BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

HÀ QUÝ ANH

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG CHỐNG LOÉT DẠ DÀY - TÁ TRÀNG, GIẢM ĐAU CỦA VIÊN NANG AN DẠ TRÊN THỰC NGHIỆM

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

HÀ NỘI – 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

HÀ QUÝ ANH

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG CHỐNG LOÉT DẠ DÀY - TÁ TRÀNG, GIẢM ĐAU CỦA VIÊN NANG AN DẠ TRÊN THỰC NGHIỆM

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 87 20 115

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Vũ Đức Lợi

2. TS. Trần Quang Minh

HÀ NỘI – 2024

LỜI CẢM ƠN

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

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Vũ Đức Lợi và TS. Trần Quang Minh, những người thầy hướng dẫn đã luôn theo sát, thường xuyên giúp đỡ, cho tôi nhiều ý kiến quý báu, sát thực trong quá trình học tập, nghiên cứu để hoàn thành luận văn này. Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Nhà nước, mã số: ĐTĐL.CN-27/21.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Viện nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam và Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội đã quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong việc nghiên cứu, thu thập, hoàn thiện số liệu để hoàn thành đề tài.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn đến các thầy, các cô trong Hội đồng thông qua đề cương luận văn đã cho tôi nhiều ý kiến quý báu trong quá trình hoàn thiện luận văn này. Tôi vô cùng biết ơn gia đình, bạn bè, anh chị em đồng nghiệp đã động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

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

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 10 tháng 12 năm 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi tên là Hà Quý Anh, học viên Cao học khóa 15 chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của tới PGS.TS. Vũ Đức Lợi và TS Trần Quang Minh. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác trước đó.

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

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

Hà Nội, ngày 10 tháng 12 năm 2024

Người viết cam đoan

Hà Quý Anh

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ 1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN 3
1.1. Tình hình mắc bệnh loét dạ dày – tá tràng ở Việt Nam và thế giới 3
1.1.1. Việt Nam 3
1.1.2. Trên thế giới 3
1.2. Tổng quan về loét dạ dày – tá tràng theo YHHĐ 4
1.2.1. Giải phẫu – sinh lý dạ dày – tá tràng 4
1.2.2. Định nghĩa về loét dạ dày – tá tràng: 5
1.2.3. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh của loét dạ dày- tá tràng: 6
1.2.4. Chẩn đoán 7
1.2.5. Điều trị 7
1.3. Tổng quan về đau theo YHHĐ 10
1.3.1. Khái niệm 10
1.3.2 Phân loại cảm giác đau 10
1.3.3. Ngưỡng đau 12
1.3.4. Các receptor đau 12
1.3.5. Một số loại thuốc giảm đau 13
1.4. Tổng quan về loét dạ dày – tá tràng theo YHCT 14
1.4.1. Định nghĩa 14
1.4.2. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh 14
1.4.3. Điều trị 14
1.5. Một số nghiên cứu về thuốc y học cổ truyền trong điều trị loét dạ dày - tá tràng: 18
1.5.1. Bột lá cây Khôi đốm 18
1.5.2. Hoàn cứng Dạ dày HĐ: 18

1.5.3. Kiện tỳ chỉ thống HV 18
1.5.4. Viên nang cứng dạ dày Tuệ Tĩnh 18
1.5.5. Bột dinh dưỡng sử dụng một số dược liệu trồng ở vùng Tây Bắc . 19
1.6. Giới thiệu về Viên nang An Dạ 19
1.7. Giới thiệu về vị thuốc Cỏ rươi lá bắc sử dụng trong Viên nang An Dạ .. 20
1.7.1. Công dụng của Cỏ rươi lá bắc theo YHCT: 20
1.7.2. Nghiên cứu gần đây về tác dụng sinh học của Cỏ rươi lá bắc 21
1.8. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính cấp: 22
1.9. Các mô hình nghiên cứu chống loét dạ dày – tá tràng trên động vật thực nghiệm 24
1.9.1. Mô hình loét dạ dày – tá tràng bằng Indomethacin 24
1.9.2. Mô hình loét dạ dày – tá tràng bằng Cysteamin 25
1.9.3. Mô hình gây loét dạ dày bằng thuốc Corticoid 26
1.9.4. Mô hình gây loét dạ dày bằng NSAID 27
1.9.5. Mô hình gây loét dạ dày bằng ethanol 27
1.9.6. Mô hình gây loét bằng kẹp động mạch tạng gây thiếu máu cục bộ-tái tưới máu 27
1.9.7. Mô hình gây loét bằng thắt môn vị 28
1.10. Một số mô hình đánh giá tác dụng giảm đau trên thực nghiệm: 28
1.10.1. Phương pháp rê kim 28
1.10.2. Phương pháp dùng mâm nóng 29
1.10.3. Phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic 29
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 30
2.1. Chất liệu nghiên cứu 30
2.2. Dụng cụ, hóa chất, máy móc phục vụ nghiên cứu 30
2.3. Động vật nghiên cứu 31
2.4. Phương pháp nghiên cứu 31

2.4.1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang An Dạ bằng đường uống theo phương pháp Lichfield – Wilcoxon trên chuột nhắt trắng..... 32
2.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng, giảm đau của viên nang An Dạ. 32
2.5. Thời gian và địa điểm nghiên cứu..... 38
2.6. Sơ đồ nghiên cứu..... 39
2.7. Xử lý số liệu 39
2.8. Sai số và cách khống chế sai số 39
2.9. Đạo đức trong nghiên cứu..... 40
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU..... 41
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang An Dạ..... 41
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng, giảm đau của viên nang An Dạ..... 42
3.2.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng..... 42
3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ theo phương pháp rê kim 48
3.2.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ theo phương pháp mâm nóng..... 50
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN..... 52
4.1. Độc tính cấp của viên nang An Dạ 52
4.2. Nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng..... 53
4.2.1. Mô hình gây loét dạ dày – tá tràng bằng Cysteamin 53
4.2.2. Thuốc đối chứng trên thực nghiệm..... 55
4.2.3. Tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng của viên nang An Dạ 55
4.3. Bàn luận về tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ 58
4.3.1. Thuốc đối chứng Codein photphat..... 58
4.3.2. Đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình rê kim..... 59

4.3.3. Đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình mâm nóng (hot-plate).... 60
KẾT LUẬN 63
KIẾN NGHỊ 64
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

CYS	: Cysteamin
HP	: *Helicobacter pylori*
MNC	: Mẫu nghiên cứu
NSAID	: Thuốc chống viêm, giảm đau không steroid
PCAB	: Thuốc ức chế axit cạnh tranh Kali
YHCT	: Y học cổ truyền
YHHĐ	: Y học hiện đại
MNC	: Mẫu nghiên cứu

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Nguyên phụ liệu sản xuất viên nang An Dạ 20
Bảng 2.1. Thang điểm đánh giá mức độ loét của Raish M và cộng sự..... 35
Bảng 2.2. Thang điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày 36
Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Viên nang An Dạ..... 41
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến số lượng tổn thương ở dạ dày – tá tràng..... 42
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến số tổn thương trung bình ở dạ dày - tá tràng 43
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến chỉ số loét dạ dày - tá tràng..... 45
Bảng 3.5. Bảng điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột 46
Bảng 3.6. Tác dụng giảm đau của Viên nang An Dạ trên chuột bằng máy đo phản ứng đau..... 49
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Viên nang An Dạ lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột..... 50

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến số lượng tổn thương ở dạ dày – tá tràng..... 42
Biểu đồ 3.2. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến mức độ tổn thương dạ dày - tá tràng trên quan sát đại thể..... 44
Biểu đồ 3.2. Các thông số đánh giá trên hình ảnh vi thể..... 47

DANH MỤC SƠ ĐỒ, HÌNH

Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu 39
Hình 1.1. Giải phẫu dạ dày 4
Hình 1.2. Viên nang An Dạ 19
Hình 2.1. Viên nang An Dạ 30

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo một nghiên cứu năm 2021 có khoảng 8,4% dân số thế giới bị Viêm loét dạ dày - tá tràng [1]. Tỷ lệ mắc bệnh loét dạ dày - tá tràng ở người lớn là 5% cao hơn so với trẻ em (chỉ khoảng 1-1,5%) [2]. Bệnh này cũng là một bệnh phổ biến ở nước ta với 6-7% mắc bệnh [3]. Chất lượng cuộc sống của bệnh nhân bị ảnh hưởng bởi bệnh và các biến chứng của loét dạ dày - tá tràng [4].

Theo y học hiện đại, loét dạ dày – tá tràng là bệnh lý đường tiêu hoá với nguyên nhân là sự mất cân bằng giữa yếu tố bảo vệ tại chỗ và yếu tố gây loét ở niêm mạc dạ dày [5]. Có nhiều nguyên nhân nhưng trên lâm sàng thực tế có 3 nguyên nhân chính sau: Loét do các kháng viêm giảm đau, loét do stress, loét do *Helicobacter pylory* [6]. Bệnh có thể dẫn đến những biến chứng như thủng ổ loét, xuất huyết tiêu hóa, hẹp môn vị,... nếu không được điều trị kịp thời. Các thuốc điều trị theo y học hiện đại gồm: thuốc ức chế bơm proton, thuốc trung hòa acid dịch vị, thuốc kháng histamin,... [7] .

Theo y học cổ truyền, bệnh với các triệu chứng tương ứng với loét dạ dày – tá tràng được mô tả trong phạm vi bệnh Vị Quản Thống là chứng bệnh biểu hiện đau vùng vị quản, nguyên nhân do tì vị, khí huyết thất điều gây nên [8]. Từ lâu YHCT đã điều trị bệnh này bằng các vị thuốc có nguồn gốc tự nhiên và được chứng minh có kết quả tốt. Hiện người dân có nhu cầu sử dụng thuốc chế phẩm từ nguyên liệu thiên nhiên trong điều trị loét dạ dày – tá tràng. Một số nghiên cứu gần đây có thể kể đến như Chế phẩm dạ dày HP Gia Phát [9], Viên nang cứng dạ dày Tuệ Tĩnh [26], Kiện tỳ chỉ thống HV [3], Bột lá cây Khôi Đốm [10],…

Viên nang An Dạ là chế phẩm sử dụng cao khô loài *Murdannina bracteata* (Cỏ rươi lá bắc) là cây thuốc đã được sử dụng rộng rãi trong dân

gian và gần đây trên thế giới đã có nghiên cứu chứng minh cây thuốc có tác dụng trong điều trị loét dạ dày - tá tràng [11]. Tuy nhiên, hiện tại chưa có nghiên cứu về độc tính cấp và tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng, giảm đau của viên nang An Dạ. Do vậy, để cung cấp bằng chứng về sự an toàn và tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng, giảm đau của viên nang An Dạ, chúng tôi tiến hành đề tài: "**Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng, giảm đau của viên nang An Dạ trên thực nghiệm**" với hai mục tiêu sau:

1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang An Dạ theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon.

2. Đánh giá tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng và giảm đau của viên nang An Dạ trên thực nghiệm.

CHƯƠNG 1
TỔNG QUAN

1.1. Tình hình mắc bệnh loét dạ dày – tá tràng ở Việt Nam và thế giới

1.1.1. Việt Nam

Theo thống kê tỷ lệ mắc bệnh loét dạ dày – tá tràng ở Việt Nam chiếm khoảng 6-7% dân số [3] .

Tỷ lệ nhiễm loét dạ dày – tá tràng có *Helicobacter pylory* ở thành phố Hồ Chí Minh là 64,7%, ở miền Bắc Việt Nam từ 53% đến 72,8% số ca bị loét dạ dày – tá tràng. Tỷ lệ nhiễm *Helicobacter pylory* khoảng 53-89,5% ca bệnh người lớn tại một số bệnh viện thành phố lớn, ở lứa tuổi từ 15-75 là 56%-75,2% [12].

Một nghiên cứu tại tỉnh Vĩnh Phúc 2021 cho thấy trong những người tham gia nghiên cứu, phần lớn người bệnh loét dạ dày tá tràng có chất lượng cuộc sống theo thang điểm SF-36: 4,6% người bệnh có chất lượng cuộc sống ở mức độ thấp, mức độ trung bình với 69,0% [4].

1.1.2. Trên thế giới

Theo một nghiên cứu gần đây năm 2021, có khoảng 8,4% dân số thế giới Viêm loét dạ dày - tá tràng [1]. Ở Iran tỷ lệ loét dạ dày tá tràng dao động từ 13,6% đến 47,2% [2].

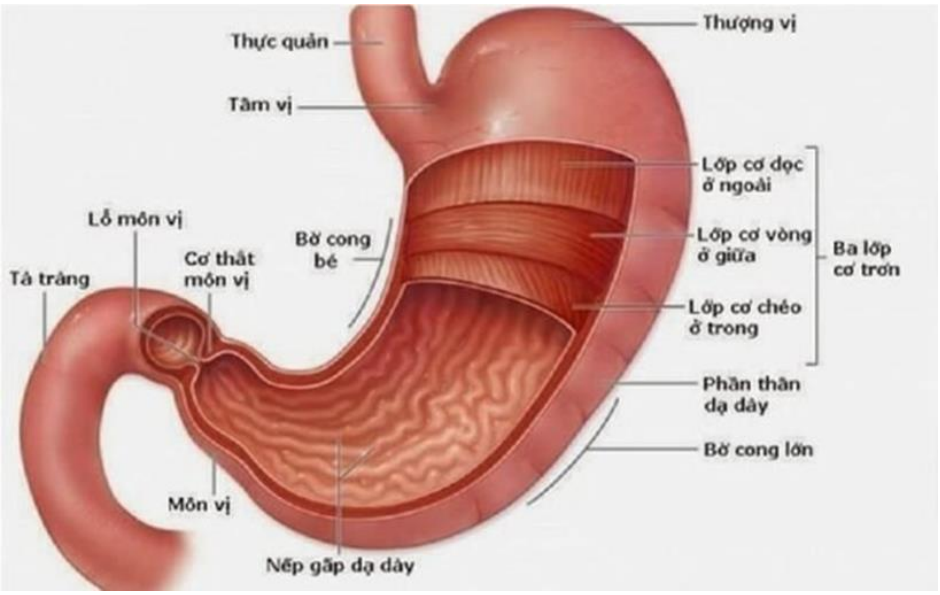
Theo một nghiên cứu Tỷ lệ loét dạ dày – tá tràng ở người lớn là 5 % cao hơn nhiều so với trẻ em chỉ khoảng 1.5%. Loét dạ dày - tá tràng ở trẻ em thường tiên phát, chủ yếu là mạn tính và khu trú ở tá tràng có nguyên nhân chủ yếu do nhiễm HP (khoảng 80%) hoặc không rõ nguyên nhân (khoảng 20%) [13].

1.2. Tổng quan về loét dạ dày – tá tràng theo YHHĐ

1.2.1. Giải phẫu – sinh lý dạ dày – tá tràng

Dạ dày chứa thức ăn, thức ăn được trộn lẫn với acid, chất nhầy, pepsin, thành vị trấp rồi xuống tá tràng theo từng đợt với tốc độ phù hợp cuối cùng được hấp thu ở ruột non [14].

Dạ dày nằm ở các vùng thượng vị, rốn, hạ sườn trái của bụng. Dạ dày theo giải phẫu là phần giãn to nhất của ống tiêu hóa ở giữa ruột non vàt thực quản. Sự biến đổi của lượng thức ăn mà nó chứa và ảnh hưởng bởi các tạng xung quanh sẽ khiến hình thể, vị trí dạ dày biến đổi theo. Người ta đã tiến hành đo tích của dạ dày: trẻ sơ sinh (khoảng 30 ml), tuổi dậy thì (1000 ml) ở người trưởng thành (1500 ml).



Hình 1.1. Giải phẫu dạ dày [15]

Dạ dày kể từ trên xuống dưới là phần tâm vị, đáy vị, thân vị và phần môn vị. Khi rỗng dạ dày có hình chữ J, hai đầu là tâm vị ở trên và môn vị ở dưới với hai thành trước và sau, hai bờ cong bé và lớn.

- Tâm vị: hay phần tâm vị là vùng dạ dày vây quanh lỗ tâm vị. Tâm vị có bờ trái liên tiếp với bờ cong lớn tại 4 một góc nhọn gọi là khuyết tâm vị, còn bờ phải là thực quản liên tiếp với bờ cong nhỏ.

Vị trí tâm vị nằm bên trái đường giữa, sau sụn sườn VII, cách chỗ sụn sườn VII gắn với xương ức 2,5 cm.

- Các bờ cong: bờ cong nhỏ là bờ phải (bờ sau – trên) của dạ dày, từ tâm vị đi xuống dưới rồi cong sang phải tới môn vị. Bờ cong lớn hướng về phía trước – dưới và dài gấp năm lần bờ cong nhỏ, bắt đầu từ khuyết tâm vị, đầu tiên chạy lên về phía sau – trên và sang trái viền quanh đáy vị như một vòm, với nơi cao nhất của vòm ở ngang mức khoang gian sườn V trái, sau đó nó cong xuống dưới và ra trước, hơi lồi sang trái, kéo dài tới sụn sườn X, sau đó hướng sang phải tới môn vị.

- Thân vị: nằm dưới đáy vị. Ở dưới, thân vị ngăn cách với phần môn vị bởi mặt phẳng đi ngang qua giới hạn trái của chỗ phình vị hang môn vị của bờ cong lớn và khuyết góc của bờ cong nhỏ.

- Đáy vị: cách thực quản bởi khuyết tâm vị, là phần dạ dày nằm ở trên và bên trái lỗ tâm vị,.

– Môn vị: là phần nằm ngang có thể chia làm 2 phần hang môn vị, môn vị và ống môn vị [15]**.**

1.2.2. Định nghĩa về loét dạ dày – tá tràng:

Định nghĩa loét dạ dày - tá tràng là bệnh lí với tình trạng niêm mạc dạ dày bị tổn thương bề mặt vượt quá lớp cơ niêm do tác động của dịch vị dạ dày. Do số lượng bệnh nhân nhiều, bệnh mạn tính và dễ tái phát, chi phí điều trị cao và có thể gây một số biến chứng nên là vấn đề lớn với sức khỏe cộng đồng [16].

1.2.3. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh của loét dạ dày- tá tràng:

Nguyên nhân của bệnh	Các yếu tố thuận lợi	Hình ảnh giải phẫu bệnh
Nguyên nhân do sự mất cân bằng giữa yếu tố bảo vệ và yếu tố tấn công. **Yếu tố tấn công:** + Acid clohydric và pepsin dịch vị. + Vi khuẩn HP. + Thuốc chống viêm **Yếu tố bảo vệ:** + Các muối bicarbonat + Chất nhầy mucin + Mao mạch niêm mạc dạ dày. + Tế bào biểu mô toàn vẹn và được tái tạo	- Các yếu tố di truyền học, môi trường sống. - Bệnh u tụy, xơ gan, viêm gan. - Thần kinh căng thẳng, stress - Nhịp điệu và tính chất thức ăn bị rối loạn - Chức năng nội tiết bị rối loạn -	- Quan sát được hình ảnh bệnh lí từ niêm mạc, các lớp dưới niêm mạc - Có thể phân chia các ổ loét theo tính chất loét như sau: + Loét mới: thoái hóa niêm mạc gần chỗ loét, chỗ loét có tổ chức xơ và bạch cầu, dưới niêm mạc huyết quản giãn và nhiều bạch cầu, tuyến ngắn và ít. + Loét cũ: ổ loét có hình dạng méo mó, ở giữa không có niêm mạc, với tuyến ít. Quanh ổ loét tổ chức liên kết có sự tăng sinh huyết quản dày, tổ chức đệm nhiều tế bào viêm, . + Loét sẹo: hình ảnh ổ loét có niêm mạc bao phủ, bên dưới niêm mạc không có tổ chức xơ khó xác định. + Loét chai: hình ảnh ổ loét to, có bờ cao, tính chất rắn cứng, tuyến ít, với lớp niêm mạc xung quanh rúm ró.

[17]

1.2.4. Chẩn đoán

Chẩn đoán loét dạ dày dựa vào các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng

a) Triệu chứng lâm sàng

- Triệu chứng của viêm dạ dày là những cơn đau thượng vị âm ỉ, đau không lan và có liên quan tới bữa ăn. Đây là điểm khác biệt so với loét dạ dày. Trong loét dạ dày có những cơn đau thượng vị nhiều hơn, có tính chu kì và thành từng đợt, đau tăng lên ngay sau ăn, thường kèm với nôn và sụt cân, đau lan ra sau lưng nếu có biến chứng. Khám lâm sàng thường không có gì đặc biệt, có thể thấy co cứng nhẹ hoặc phát hiện các biến chứng của loét dạ dày

- Tuy nhiên điểm này cũng rất ít có ý nghĩa trong chẩn đoán phân biệt. Loét và viêm chủ yếu được chẩn đoán dựa trên nội soi và mô bệnh học.

- Đau tăng dần khi có các yếu tố nguy cơ tác dụng như uống rượu bia, hút thuốc lá [17].

b) Cận lâm sàng

- Nội soi dạ dày -tá tràng: Đây là phương pháp chẩn đoán xác định có giá trị nhất.

- Chụp dạ dày - tá tràng có barit: Hiện ít được sử dụng.

Test HP: Các test không xâm nhập bao gồm test hơi thở ure, tìm kháng nguyên trong phân, test huyết thanh học [17].

c) Điều trị loét dạ dày

- Do cơ chế bệnh sinh là sự mất cân bằng giữa yếu tố tấn công và yếu tố bảo vệ niêm mạc. Loét dạ dày có thể được điều trị bằng các phương pháp làm giảm yếu tố tấn công (thuốc giảm tiết acid, trung hòa acid, kháng sinh diệt HP) và tăng cường yếu tố bảo vệ (sucralfat, bismuth, prostaglandin) [17].

1.2.5. Điều trị

Nguyên tắc điều trị:

- Điều trị để cân bằng giữa các yếu tố bảo vệ và các tấn công bằng cách dùng thuốc ức chế axit, loại bỏ các yếu tố tấn công kèm đó dùng các thuốc tăng cường các yếu tố bảo vệ niêm mạc dạ dày.

Cần phối hợp các biện pháp điều chỉnh lối sống (chế độ ăn uống, nghỉ ngơi, làm việc) và chế độ điều trị bằng thuốc [18], [19].

a/ Nội khoa

- Nhóm thuốc kháng acid:

Nhóm thuốc có nhiều điểm chưa tối ưu: tác dụng ngắn, phải dùng nhiều lần trong ngày, không có lợi nếu bệnh nhân dùng lâu. Thành phần chính gồm $Mg(OH)_2$, $Al(OH)_3$.

- Nhóm kháng thụ thể H2:

Cơ chế tác dụng là tranh chấp với histamin nên ức chế thụ thể H2 ở tế bào thành dạ dày. Làm giảm cả dịch vị kích thích lẫn bài tiết dịch vị cơ bản: Giảm 90% bài tiết dịch vị cơ bản, 50 – 70% bài tiết dịch vị 24h.

- Nhóm ức chế bơm Proton:

Là dẫn xuất của nhóm chất Benzimidazole. Có khả năng ức chế enzym K+/H+ – ATPase hoạt động nên thuốc tác động khâu cuối của quá trình bài tiết acid dịch vị. Chính vì vậy nhóm thuốc này được coi là nhóm có khả năng cao nhất trong kiểm soát bài tiết acid dịch vị.

Về thời gian tác dụng: Tác dụng chậm hơn các nhóm kháng acid khác tuy nhiên đây là nhóm thuốc ức chế bài tiết lâu và mạnh nhất. Ngoài ra nhóm thuốc này ít có tác dụng phụ hơn so với nhóm thuốc kháng thụ thể H2, ghi nhận thuốc có thể có tác dụng phụ như tiêu chảy nhẹ, gây nhức đầu.

- Thuốc tăng cường bảo vệ niêm mạc:

Bismuth: là nhóm thuốc phổ biến có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày và diệt HP

Misoprostol: có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày do làm tăng yếu tố

bảo vệ (tăng bài tiết chất nhầy, bicarbonat, tăng dòng máu tới niêm mạc dạ dày).

Sucralfate: thành phần chính là Sulfat + Saccharose + Al(OH)3. Thời gian tác dụng nhanh (tạo lớp nhầy bảo vệ niêm mạc dạ dày) nhưng có yếu điểm thời gian gây táo bón và tác dụng ngắn.

Rebamipide: đồng phân của 2-(1H)-quinolinone. Tác dụng kháng viêm tại chỗ trên niêm mạc ống tiêu hóa, kích thích lên niêm mạc dạ dày tăng bài tiết Prostaglandin nội sinh, từ đó giúp cải thiện quá trình lành vết loét, đặc biệt hiệu quả với ổ loét ≥ 2cm. [20]

- Thuốc ức chế Axit cạnh tranh Kali

K+ATPase H, K-ATPase của dạ dày tế bào thành của dạ dày bơm axit, là bước cuối cùng của quá trình tiết axit ở dạ dày. Sự kích thích của tế bào thành dạ dày sẽ di chuyển H,K-ATPase vào các ống tiểu quản chế tiết, và sau đó enzym có thể bơm axit bằng cách liên kết với độ dẫn K+ và Cl−. Thuốc ức chế axit cạnh tranh Kali (PCAB), có biệt dược là Vonoprazan có tác dụng ức chế hệ thống enzyme H+, K+-ATPase theo cách cạnh tranh Kali thông qua cơ chế này ngăn chặn sự tiết axit dạ dày cơ bản và sự tiết axit do bị kích thích ở bề mặt bài tiết của tế bào thành dạ dày. Mặc dù cả hai nhóm thuốc đều ức chế H+, K+-ATPase, nhưng cơ chế tác dụng của PCAB khác với cơ chế tác dụng của thuốc ức chế bơm proton sẽ tạo thành liên kết cộng hóa trị disulphide với dư lượng cystein trên H+, K+-ATPase, dẫn đến bất hoạt enzyme, trong khi PCAB cản trở sự liên kết của K+ với H+, K+-ATPase. [21] [22].

b/ Điều trị ngoại khoa:

Điều trị ngoại khoa hạn chế, chỉ phẫu thuật khi:

- Điều trị nội khoa thất bại với xuất huyết tiêu hóa do chảy máu dạ dày - hành tá tràng.

- Thủng dạ dày – hành tá tràng.
- Ung thư hóa.
- Hẹp môn vị. [18]

d/ Điều trị không dùng thuốc:

- Trong điều trị và phòng ngừa tái phát bệnh thì chế độ ăn uống và sinh hoạt có vai trò rất quan trọng. Bệnh nhân nên:

+ Bỏ hút thuốc và đề phòng khi dùng NSAID.

+ Nên ăn nhiều bữa nhỏ trong ngày, không nên để quá đói hoặc quá no.

+ Không ăn bữa cuối cùng gần giấc ngủ.

+ Nên hạn chế thuốc lá và rượu bia.

+ Tránh làm việc căng thẳng. [18]

1.3. Tổng quan về đau theo YHHĐ

1.3.1. Khái niệm

Theo Hiệp hội Nghiên cứu Cơn đau Quốc tế (IASP) năm 2020 định nghĩa đau là: "Một trải nghiệm cảm giác và cảm xúc khó chịu liên quan đến hoặc giống với cảm giác liên quan đến tổn thương mô thực tế hoặc tiềm ẩn." [23]

1.3.2 Phân loại cảm giác đau

a) Theo cơ chế gây đau

Khi phân loại đau theo cơ chế, có thể phân loại thành 3 loại dưới đây**:**

- Đau do cảm thụ thần kinh
- Đau do nguyên nhân thần kinh
- Đau do căn nguyên tâm lý

* Đau do cảm thụ thần kinh:

Đây là cơ chế thường gặp nhất trong phần lớn các chứng đau cấp tính.

Nguyên nhân đau do cảm thụ thần kinh là do sự thái quá về kích thích đau mà bắt đầu từ các thụ thể cảm nhận cảm giác đau, sau đó kích thích được dẫn truyền hướng tâm về thần kinh trung ương.

* Đau do nguyên nhân thần kinh:

Có thể thấy ở một số trường hợp đau thần kinh do bị chèn ép tăng, rễ hay đám rồi thần kinh (hội chứng ống, u bướu, đau thần kinh tọa do thoát vị đĩa đệm,…). Thực chất là đau có nguyên nhân thực thể. [24]

* Đau do căn nguyên tâm lý:

Đau do căn nguyên tâm lý có đặc điểm là những cảm giác bản thể hay nội tạng, ám ảnh nhiều hơn là đau thực thụ, bệnh nhân thường mô tả đau có tính phong phú, không rõ ràng hoặc luôn thay đổi và thường lan tỏa, triệu chứng học không điển hình.

Đau do căn nguyên tâm lý thường gặp trong các trường hợp như: bệnh rối loạn cảm xúc, tự kỷ ám thị ,… [24]

b) Theo tính chất đau

* Đau rát là cảm giác đau khi bị da bị bỏng cháy.

* Đau nhói là cảm giác đau như bị dao cắt vào da. Cảm giác này cũng có thể sẽ xuất hiện trong trường hợp một vùng da rộng trên cơ thể bị kích thích mạnh.

* Đau nội tạng: Đây không phải là cảm giác đau trên bề mặt cơ thể mà là cảm giác đau sâu bên trong cơ thể. Một cảm giác đau nội tạng nhẹ nhưng tích hợp lại từ một vùng rộng cũng gây ra một cảm giác rất khó chịu cho bệnh nhân [24]

c) Theo thời gian và tính chất đau

* Đau mạn tính:

- Đau mạn tính là đau có tính chất dai dẳng, tái phát nhiều lần. Ảnh hưởng đến thực thể và cả về tâm lý và xã hội của bệnh nhân.

* Đau cấp tính:

- Đau cấp tính là đau có cường độ mạnh mẽ, đau mới xuất hiện. [24]

1.3.3. Ngưỡng đau

- Ngưỡng đau được định nghĩa là cường độ kích thích nhỏ nhất có thể gây nên cảm giác đau.

- Khi tăng cường độ kích thích khác nhau nhận thấy có tới 22 mức nhận biết khác nhau về độ đau (đi từ mức không đau đến mức đau nhất) ở người bình thường. Cường độ kích thích nhẹ đòi hỏi thời gian dài mới gây được cảm giác đau, nhưng với cường độ kích thích mạnh sẽ gây ra cảm giác đau sau một thời gian ngắn (1 giây)

- Phương pháp phổ biến để đo cường độ kích thích gây ra được cảm giác đau là dùng nhiệt tác động vào da (đo nhiệt độ) và dùng kim châm vào da với áp lực nhất định (đo áp suất).

- Nhờ ngưỡng đau người ta đưa ra các thước đo về đau khi tiến hành nghiên cứu. Có sự khác nhau giữa các cá thể về ngưỡng đau nhưng ngược lại phản ứng với cảm giác đau lại rất khác nhau giữa các cá thể và các chủng tộc. [24]

1.3.4. Các receptor đau

a) Cấu trúc receptor đau:

- Là các đầu tự do của dây thần kinh. Vị trí phân bố rộng trên lớp nông của da và các mô bên trong như màng não, lều tiểu não, màng xương, thành động mạch. [25]

b) Các kích thích gây ra cảm giác đau

- Hầu hết các receptor tiếp nhận cả 3 loại kích thích cơ học, nhiệt, hoá học tuy nhiên cũng có receptor nhạy cảm hơn với áp suất, nhiệt độ quá cao,…

- Ngoài ra receptor còn chịu tác động của nhiệt độ quá cao, thấp. Nói chung cảm giác đau nhanh gây lên bởi kích thích cơ học và nhiệt, trong khi đau chậm có thể được gây ra bởi cả ba kích thích kể trên. [25]

1.3.5. Một số loại thuốc giảm đau

Thuốc giảm đau có thể được chia làm 3 loại:

- Paracetamol và thuốc chống viêm không steroid (thuốc giảm đau không phải loại Morphin)

- Thuốc giảm đau loại Morphin.

- Thuốc giảm đau hỗ trợ: giúp tăng hiệu quả hoặc giảm tác dụng không mong muốn của các thuốc giảm đau trên. [20]

Ngoài ra để điều trị các cơn đau do co thắt cơ trơn còn sử dụng thuốc có tác dụng chống co thắt theo nhiều cơ chế khác nhau dùng để điều trị triệu chứng các cơn đau do co thắt đường tiêu hóa, đường mật và cả đường sinh dục, tiết niệu:

- Thuốc hủy phó giao cảm:

  Atropin sulfat:

  Hủy phó giao cảm cả trung ương và ngoại biên

  Hyoscin N – butylbromid

  Chỉ có tác dụng hủy phó giao cảm ngoại biên

- Thuốc chống co thắt cơ trơn trực tiếp:

  Papaverin hydroclorid

Papaverin là một alcaloid trong nhựa khô của quả cây thuốc phiện, không có tác dụng giảm đau, gây ngủ giống morphin. Tác dụng chủ yếu là giãn cơ trơn đường tiêu hóa, đường mật và đường tiết niệu.

Alverin citrat

So với papaverin, độc tính kém gấp 3 lần tuy nhiên mạnh gấp 3 lần. Tác dụng trực tiếp lên cơ trơn tử cung và đường tiêu hóa. [26]

1.4. Tổng quan về loét dạ dày – tá tràng theo YHCT

1.4.1. Định nghĩa

Theo Y học cổ truyền loét dạ dày – tá tràng được xếp vào phạm vi của chứng "Vị quản thống". Nội kinh viết: Vị quản thống là chỉ vùng thượng vị đau âm ỉ hay dữ dội, đau từng cơn kèm theo có ợ hơi, ợ chua. [27].

1.4.2. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh

YHCT cho rằng nguyên nhân của Vị quản thống là do can khí uất kết phạm vị, khi trệ huyết ứ hoặc do tì vị hư hàn làm rối loạn chức năng vận hoá và thăng giáng của vị khí [28].

Có 3 nguyên nhân chính sau đây:

- **Do tình chí :** can khí phạm vị (can khắc tỳ- can vị bất hòa), do tình chí uất ức khiến can không sơ thông, can khí uất kết hoành nghịch phạm vị, vị mất chức năng hòa giáng gây đau.

- **Do ăn uống**: Do ăn uống không điều độ, ăn nhiều thức ăn đồ uống thô, chua, cay, nóng, no đói thất thường,... làm vị mất hòa giáng mà gây đau.

- **Do thể chất hư nhược:** Thể chất hư nhược lại lao lực quá độ kéo dài, ăn uống thất thường làm tỳ vị không được ôn dưỡng. Dẫn đến tỳ vị hư hàn trên lâm sàng có thể thấy bệnh nhân đau âm ỉ, thiện án... [27]

1.4.3. Điều trị

Có thể vị quản thống thành 2 thể chính là can khí phạm vị, tỳ vị hư hàn theo triệu chứng và nguyên nhân, từ đó có pháp phương điều trị cụ thể [27].

1.4.3.1. Thể can khí phạm vị

Thể can khí phạm vị gồm các thể: khí trệ, hỏa uất và huyết ứ [27]

a/ Thể khí trệ

- Triệu chứng: Đau thượng vị từng cơn, đau lan ra cạnh sườn, có khi đau ra lưng, khi đau không thích xoa nắn, kèm theo bụng đầy trướng, ợ hơi, ợ

chua và đại tiện phân táo. Người dễ cáu gắt, tức giận thì đau tăng lên, rêu lưỡi trắng nhợt, chất lưỡi hồng, mạch huyền.

- Pháp điều trị: Sơ can hòa vị, lý khí chỉ thống.
- Phương thuốc: Sài hồ sơ can thang gia giảm hoặc Tiêu dao tán gia giảm.

- Sài hồ sơ can thang gia giảm

Sài hồ 12g	Cam thảo 4g
Chỉ xác 8g	Hương phụ 8g
Bạch thược 12g	Thanh bì 8g
Xuyên khung 8g	

- Sài hồ, chỉ xác, hương phụ: sơ can lý khí hòa vị chỉ thống
- Thanh bì: hòa vị giáng nghịch
- Bạch thược: dưỡng huyết nhu can
- Xuyên khung: hoạt huyết hóa ứ
- Cam thảo: điều hòa bài thuốc, hòa hoãn giảm đau

Gia giảm :

+ Nếu đau nhiều: khổ luyện tử, diên hồ sách
+ Ợ chua nhiều: ô tặc cốt

- Tiêu dao tán gia giảm

Sài hồ 12g	Chích cam thảo 6g
Đương quy 16g	Bạch truật 16g
Bạch thược 16g	Bạc hà 12g
Bạch linh 16g	Sinh khương 8g

[27]

b/ Thể hỏa uất

- Triệu chứng: Đau thượng vị nhiều, đau nóng rát, cự án. Ợ chua nhiều, miệng khô đắng. Chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng. Mạch huyền sác.
- Pháp điều trị: Sơ can thanh nhiệt chỉ thống.

- Phương thuốc: Hóa can tiễn hợp Tả kim hoàn.

- Hóa can tiễn hợp Tả kim hoàn gia giảm

Thanh bì 8g	Trần bì 8g
Hoàng liên 8g	Chi tử 8g
Bạch thược 12g	Đan bì 8g
Ngô thù 4g	Bối mẫu 8g
Trạch tả 8g	

[27]

c/ Thể huyết ứ

- Triệu chứng: Đau dữ dội ở một vị trí nhất định vùng thượng vị, cự án. Trên lâm sàng chia thành 2 trường hợp là Thực chứng và Hư chứng.

+ Thực chứng: Nôn ra máu, đi ngoài phân đen, môi đỏ lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng. Mạch huyền sác hữu lực.

+ Hư chứng: Nếu chảy máu nhiều kèm theo sắc mặt nhợt, người mệt mỏi, môi nhợt, chân tay lạnh, ra mồ hôi, chất lưỡi bệu có điểm ứ huyết, rêu lưỡi nhuận. Mạch hư đại hoặc tế sáp.

- Pháp điều trị:

+ Thực chứng: Hoạt huyết thông lạc, lương huyết chỉ huyết.

+ Hư chứng: Bổ huyết chỉ huyết.

- Phương thuốc:

+ Thực chứng: Thất tiếu tán.

- Thất tiêu tán : Bồ hoàng và ngũ linh chi lượng bằng nhau 12g

  Bồ hoàng : Hoạt huyết chỉ huyết

  Ngũ linh chi : hoạt huyết giảm đau

- Đối pháp lập phương

Sinh địa 8g	Cam thảo 4g
Hoàng cầm 8g	Bồ hoàng 6g

Trắc bá diệp 6g Chi tử 6g

A giao 6g

Do can khí uất kết, khí uất hóa hỏa, hỏa bức huyết vong hành dẫn tới chứng trạng trên.

+ Hư chứng: Tứ quân tử thang gia vị.

Tứ quân tử thang gia giảm

Đẳng sâm 16g Hoàng kỳ 12g

Bạch truật 12g A giao 8g

Phục linh 12g Tây thảo 8g

Cam thảo 6g

[27].

1.4.3.2. Thể tì vị hư hàn

- Triệu chứng: Đau âm ỉ vùng thượng vị, gặp lạnh đau tăng, khi đau thích xoa nắn và chườm nóng, kèm theo sợ lạnh, chân tay lạnh, ăn uống kém, thích ăn đồ nóng ấm. Người bệnh thường xuyên đầy bụng, đại tiện phân nát và đôi khi nôn ra nước trong. Rêu lưỡi trắng trơn, chất lưỡi bệu, mạch trầm tế.

- Pháp điều trị: Ôn trung kiện tỳ, hòa vị chỉ thống.

- Phương thuốc: Hoàng kỳ kiến trung thang gia giảm.

- Hoàng kỳ kiến trung thang gia giảm

Quế chi 8g Đại táo 4 quả

Bạch thược 8g Hoàng kỳ 16g

Sinh khương 6g Hương phụ 8g

Cam thảo 6g Cao lương khương 6g

[27].

1.5. Một số nghiên cứu về thuốc y học cổ truyền trong điều trị loét dạ dày - tá tràng:

1.5.1. Bột lá cây Khôi đốm

Theo nghiên cứu tại Đại học Quốc Gia Hà Nội, Nguyễn Văn Tuất và cộng sự đã nghiên cứu tác dụng của bột lá cây Khôi Đốm bệnh nhân viêm loét dạ dày - hành tá tràng. Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của phân đoạn n-hexan và ethyl acetat chiết xuất từ lá cây Khôi đốm bằng phương pháp mâm nóng và phương pháp rê kim chỉ ra tác dụng giảm đau rõ rệt trên với liều 192 mg/kg/ngày của phân đoạn n-hexan, 16 mg/kg/ ngày, 48 mg/kg/ngày của phân đoạn ethyl acetat và phân đoạn ethyl acetat với liều dùng 64 mg/kg/ngày khi dùng liên tục 7 ngày [10].

1.5.2. Hoàn cứng Dạ dày HĐ:

Gần đây, hai nhà khoa học Nguyễn Thị Thanh Tú, Phạm Thị Huệ đã tiến hành nghiên cứu Hoàn cứng Dạ dày HĐ (Lá khôi, Ô tặc cốt, Sa nhân, Mộc Hương, Hương phụ), nghiên cứu chứng minh được thuốc có tác dụng trên bệnh nhân loét dạ dày tá tràng có *Helicobacter pylori* âm tính: liền sẹo ổ loét và cải thiện các triệu chứng bệnh [29]**.**

1.5.3. Kiện tỳ chỉ thống HV

Nghiên cứu gần đây với Kiện Tỳ Chỉ Thống HV. Bài thuốc gồm: Đảng sâm, Hoài sơn, Bạch truật, Trần bì, Bán hạ, Mộc hương, Chỉ xác, Sa nhân, Bạch linh, Hậu phác, Sa sâm, Cam thảo. Nghiên cứu trên mô hình chuột cống gầy loét dạ dày - tá tràng bằng indomethacin chỉ ra với liều 15g/kg/ngày và liều 30g/kg/ngày liên trục trong 7 ngày có tác dụng bảo vệ dạ dày - tá tràng. [3]

1.5.4. Viên nang cứng dạ dày Tuệ Tĩnh

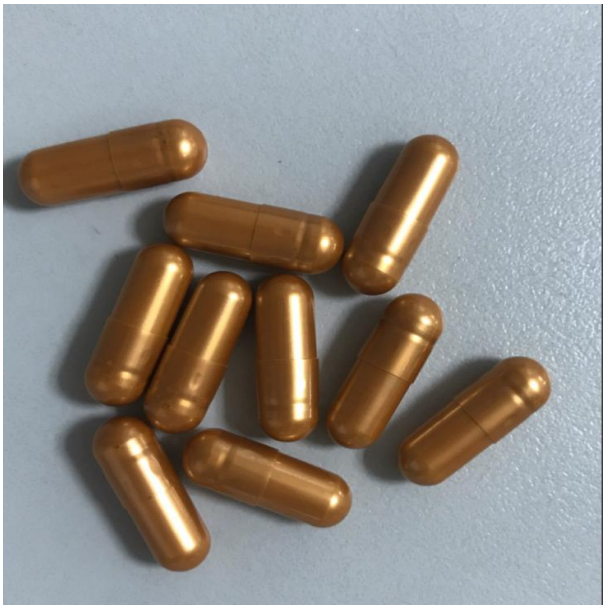
Gần đây có một nghiên cứu do Phạm Quốc Sự và cộng sự thực hiện. Nghiên cứu về Viên nang cứng dạ dày Tuệ Tĩnh trên mô hình chuột cống gây

loét dạ dày - tá tràng bằng cysteamin đã kết luận với liều 0,252 g/kg/ngày và liều 0,756 g/kg/ngày liên tục trong 7 ngày Viên nang cứng dạ dày Tuệ Tĩnh có xu hướng tác dụng bảo vệ dạ dày - tá tràng [30].

1.5.5. Bột dinh dưỡng sử dụng một số dược liệu trồng ở vùng Tây Bắc

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày - tá tràng của bột dinh dưỡng (gồm Cám lúa gạo, Đảng sâm, Bạch Truật, Ý dĩ, Hoài Sơn) đã chỉ ra tác dụng bảo vệ tá tràng nhờ làm giảm đáng kể điểm loét, chỉ số loét trên chuột [31].

1.6. Giới thiệu về Viên nang An Dạ



Hình 1.2. Viên nang An Dạ

- Dạng bào chế: Viên nang cứng

- Công thức bào chế và nguyên phụ liệu sản xuất cho cho 1 viên nang cứng (theo Bảng 2.1) dưới đây:

Bảng 1.1. Thành phần Viên Nang An Dạ

Cao khô loài *Murdannina bracterata*	400 mg	Đạt tiêu chuẩn cơ sở
Phụ liệu (tinh bột, magnesi stearat, talc, aerosil)	Vừa đủ	Đạt tiêu chuẩn cơ sở

Bảng 1.1. Nguyên phụ liệu sản xuất viên nang An Dạ

Bột cao khô dược liệu	Đạt tiêu chuẩn cơ sở
Lactose	Đạt tiêu chuẩn BP 2009
Magnesi stearat	Đạt tiêu chuẩn BP 2009
Talc	Đạt tiêu chuẩn BP 2009
PVP	Đạt tiêu chuẩn BP 2009

1.7. Giới thiệu về vị thuốc Cỏ rươi lá bắc (Murdannia bracteata) sử dụng trong Viên nang An Dạ

1.7.1. Công dụng của Cỏ rươi lá bắc (Murdannia bracteata) theo YHCT:

- Tên khoa học: *Murdannia bracteata* (C.B.Clarke) J.K.Morton ex D.Y.Hong), họ Thài lài (Commelinaceae) [32]. Tên tại Việt Nam: Trai lá hoa, Cỏ rươi lá bắc [33].

- Theo y học cổ truyền, Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteate*) có vị ngọt, tính bình, quy kinh Phế [34].

- Tại Trung Quốc toàn cây dùng làm thuốc: giải đờm, tán ứ. Nó được sử dụng cho bệnh bìu, ho lao, đau họng, sốt cao, ho ra máu, nôn ra máu, máu trong phân, bệnh trĩ và đi tiểu đau. Nó được sử dụng bên ngoài cho các vết loét, nhọt và chất độc sưng tấy [35]. Theo nghiên cứu phân tích tài nguyên cây thuốc ở bán đảo Lôi Châu *Murdannia bracteata* có tác dụng trừ đờm, giảm ho, thanh nhiệt, giải độc [36]. Một nghiên cứu tại Quảng Tây nêu ra *Murdannia bracteata* có tác dụng giải đờm, tiêu ứ, thanh nhiệt, thông niệu [37].

- Tại Trung Quốc, Malaysia loài *Murdannia bracteata* dùng làm thuốc chữa viêm hạch lympho, tiểu buốt, ghẻ lở, các bệnh về dạ dày, gan, ung thư và tiểu đường [38], [39].

1.7.2. Nghiên cứu gần đây về tác dụng sinh học của Cỏ rươi lá bắc (Murdannia bracteata):

a) Tác dụng chống viêm, giảm đau:

- Vai trò của NO trong sự nhạy cảm với cơn đau đã được chứng minh bởi Yonehara và cộng sự từ năm 1977 [40]. Oxit nitric (NO) là một phân tử truyền tin đa năng có tác dụng thư giãn nội mô. Enzyme tổng hợp NO - nitric oxit synthase (NOS) được phân làm 3 loại: tế bào nội mô (eNOS), tế bào thần kinh (nNOS) và nitric oxit synthase cảm ứng (iNOS) [41]. Trong một nghiên cứu đánh giá dược lý của các đồng dạng synthase oxit nitric và sự đa dạng hạ lưu của tín hiệu NO trong việc duy trì tình trạng quá mẫn cảm về nhiệt và cơ học sau chấn thương dây thần kinh ngoại biên ở chuột đã chỉ ra nNOS và iNOS đều tham gia vào việc sản xuất NO để duy trì cơn đau thần kinh [42].

- Vào năm 2007, nghiên cứu của Wang Guei Jane cùng các cộng sự đã phân lập các hoạt chất trong Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*) và thử tác dụng trên iNOS ở các đại thực bào được hoạt hóa bởi lipopolysaccharid (LPS). Kết quả nghiên cứu chỉ ra *Murdannia bracteata* có các thành phần được phân lập (ở lá cây): bracteanolid A, bracteanolid B và isovitexin đã được phân lập và xác định từ *Murdannia bracteata* bằng quá trình sản xuất NO xét nghiệm. Tất cả các hợp chất đều ức chế sản xuất NO. Ức chế sự sản sinh NO sẽ giảm các tổn thương viêm khác nhau ở mô. Ngoài ra tác dụng điều hòa hoạt động iNOS có tính chọn lọc, vì nó không ảnh hưởng đến quá trình giãn mạch do giải phóng NO nội mạc khi bị kích thích bởi acetylcholin [43].

Các nghiên cứu trên đã chỉ ra hướng giải thích cho khả năng chống chống viêm, giảm đau của Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*).

b) Tác dụng kháng *Helicobacter pylori*:

- Một nghiên cứu lớn tại Đài Loan, người ta thử nghiệm và sàng lọc tác dụng *kháng Helicobacter pylori (HP) của* dịch chiết 50 loài thảo dược Đài

Loan. Thử nghiệm thực hiện trên 10 chủng HP. Trong đó 50 loài thảo dược được thử nghiệm, *Murdannia bracteata* cho hoạt tính ức chế 8/10 chủng HP thử nghiệm - kháng HP ở mức trung bình [11].

c) Tác dụng giãn mạch:

- Chang Yung Sing và cộng sự (2006) đã sàng lọc tác dụng giãn mạch của 6 loài thảo dược Malaysia, trong đó *Murdannia bracteata*. Kết quả cho thấy *Murdannia bracteata* có tác dụng giãn mạch nhưng không quá mạnh. Nghiên cứu được tiến hành như sau: Dược liệu được chiết bằng các dung môi: ethanol 50%, nước và ethanol 95% sau đó thử tác dụng trên động mạch chủ (đã tách ra và cắt thành các vòng) của chuột. Qua phân tích phổ FTIR, các nhà nghiên cứu cho rằng hoạt tính giãn mạch của dược liệu được ảnh hưởng bởi hàm lượng flavonoid [44].

d) Tác dụng chống oxy hóa:

- Năm 2010 Mun Fei Yam và các cộng sự đã công bố nghiên cứu chỉ ra dịch chiết ethanol lá của loài *Murdannia bracteata* có tác dụng chống oxy hóa dựa trên hoạt tính ức chế lipid peroxidas, thu dọn gốc 2,2′-diphenyl-1-picrylhydrazyl (viết tắt DPPH) và chống oxy hóa tương đương chế phẩm trolox [44].

1.8. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính cấp:

Thử độc tính cấp mục tiêu nhằm cung cấp thông tin cho việc

- Xếp loại mức độ độc của thuốc;
- Điều trị ngộ độc cấp;
- Đề xuất mức liều cho những thử nghiệm tiếp theo.

Do vậy, các phép thử độc tính cấp cần xác định: Liều an toàn; Liều dung nạp tối đa; Liều gây ra độc tính có thể quan sát được; Liều LD_{50} gần đúng (nếu có thể xác định được); Liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có); Ghi nhận triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được và khả năng hồi phục trên động vật (nếu có) [45].

a) Mô hình theo Litchfield – Wilcoxon:

- Năm 1949 sau khi xem xét, cải tiến và cố gắng khắc phục những hạn chế của một số phương pháp trước đó các nhà khoa học đã đề xuất mô hình được Litchfield- Wilcoxon. Phương pháp này cho kết quả chính xác hơn do kết quả được ghi đồ thị trên giấy log- probit và được tính theo phương pháp toán đồ có hiệu chỉnh. Trước đây, để tính giá trị LD_{50} cho những chất có độc tính cao người ta hay dùng phương pháp này [45].

b) Mô hình thử:

- Nguyên tắc lựa chọn: Dựa vào mục đích của nghiên cứu, loại mẫu thử và những thông tin sẵn để chọn mô hình thử phù hợp. Các loài động vật hay sử dụng như: Loài không gặm nhấm (chó, khỉ), loài gặm nhấm (chuột nhắt, chuột cống). Số nhóm và số lượng cho mỗi nhóm dự theo mô hình áp dụng. Khuyến cáo: Ưu tiên lựa chọn ác mô hình sử dụng số ít động vật thí nghiệm để bảo vệ động vật [45]

c) Mô hình liều cố định:

- Nguyên tắc: Mô hình thử liều cố định được các nước thuộc OECD áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 420). Thử nghiệm được thực hiện với các mức liều xác định 5,50,300,2000,5000mg/kg hay 1,0/kg ĐVTN. Lựa chọn liều thử đầu tiên liều thử trên một nhóm 5 ĐVTN. Thử nghiệm tiếp tục cho đến khi xác định mức độ độc dựa trên đáp ứng ĐVTN chết hoặc không và các triệu chứng ngộ độc, khả năng hồi phục quan sát được. Xác định giá trị LD_{50} gần đúng (nếu có). Phép thử phù hợp với tất cả trường hợp cần xác định độc tính cấp [45].

d) Mô hình Tăng - Giảm:

- Các nước thuộc OECD áp dụng mô hình thử Tăng - Giảm và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 425). Thử nghiệm được tiến hành trên các mức liều được tính theo hệ số bươc nhảy liều, thực hiện lần lượt trên từng ĐVTN

theo tiến trình tăng hoặc giảm liều và tiếp tục cho đến khi đạt điều kiện dừng lại. Kết quả được đánh giá bằng cách quan sát biểu hiện, triệu chứng ngộ độc theo qui định chung và tính giá trị LD_{50} gần đúng (nếu có) theo qui định riêng của phương pháp [45].

1.9. Các mô hình nghiên cứu chống loét dạ dày – tá tràng trên động vật thực nghiệm

Đánh giá hiệu quả của thuốc trên mô hình gây bệnh ở động vật là một khâu quan trọng để phát triển thuốc mới. Loét dạ dày – tá tràng có thể được tạo ra bằng cách sử dụng thuốc và hóa chất, gây stress, phẫu thuật trên các loại động vật khác nhau, động vật phổ biến nhất là chuột cống.

1.9.1. Mô hình loét dạ dày – tá tràng bằng Indomethacin

Indomethacin (INDO) là thuốc chống viêm nhóm NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drug) có tác dụng ức chế mạnh quá trình tổng hợp prostagladin là những chất trung gian hóa học trong quá trình viêm. Indomethacin ức chế cả hai enzyme COX-1 và COX-2, dẫn tới ức chế tổng hợp prostagladin E_2 và prostagladin I_2 từ acid arachidonic, làm giảm bài tiết chất nhầy và bicarbonat, tạo điều kiện cho HCl và pepsin tấn công gây tổn thương niêm mạc và gây viêm loét dạ dày [46].

- Gây loét dạ dày chuột bằng cách cho uống Indomethacin, chuột biểu hiện phản ứng viêm với các mức độ loét dạ dày khác nhau. Các thuốc có khả năng ức chế sự xuất hiện loét dạ dày được coi là có tác dụng chống loét [47] [48].

- Tiến hành: gây loét dạ dày bằng Indomethacin uống liều 30 – 40mg/kg (chuột nhịn ăn 1 ngày trước khi uống Indomethacin), quan sát mức độ loét bằng kính lúp với các mức độ: dạ dày bình thường, sung huyết, chấm loét, vệt xuất huyết, loét sâu, thủng.

- Thông số đánh giá:

+ Tỉ lệ chuột chết ở mỗi lô
+ Tỷ lệ chuột có loét dạ dày ở mỗi lô
+ Chỉ số loét
+ Hình ảnh đại thể dạ dày chuột
+ Hình ảnh vi thể dạ dày chuột
+ Phần trăm ức chế loét

1.9.2. Mô hình loét dạ dày – tá tràng bằng Cysteamin

Nguyên nhân gây loét dạ dày tá tràng là do sự mất cân bằng giữa các yếu tố tấn công và yếu tố bảo vệ, lớp tế bào niêm mạc dạ dày bị tổn thương ở các mức độ khác nhau bởi acid dịch vị và pepsin. Hiện nay có rất nhiều mô hình gây loét trên thực nghiệm khác nhau, sử dụng các thuốc đối chứng dương phù hợp với cơ chế gây loét khác nhau, trong đó có sử dụng cơ chế tác nhân gây loét dạ dày – tá tràng bởi tác dụng phụ của thuốc. Một trong các mô hình đó là mô hình gây loét dạ dày – tá tràng bằng Cysteamin.

Cysteamin làm giảm nồng độ của somatostatin ở niêm mạc tá tràng, làm tăng sinh các gốc oxy hóa, làm giảm khả năng loại bỏ các gốc tự do, tăng biểu hiện endothelin-1, một chất có tác dụng co mạch làm ảnh hưởng đến khả năng tưới máu, giảm lưu lượng máu niêm mạc tá tràng kèm theo tăng thiếu máu mô và giảm oxy máu, làm tăng nồng độ gastrin huyết tương, từ đó gây tăng tiết acid dịch vị [57].

- Tiến hành: Chuột được gây loét bằng cách cho uống cysteamin liều 400 mg/kg vào 2 lần cách nhau 4 giờ. Sau khi uống cysteamin liều đầu tiên 24 giờ, mổ lấy tá dạ dày chuột, mổ dọc theo bờ tự do để đánh giá mức độ tổn thương. Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô nghiên cứu. Chuột cống trắng ở các lô được uống mẫu thử hoặc nước cất liên tục trong thời gian 7 - 10 ngày. Tại ngày thứ 7 - 10 của nghiên cứu, sau 1 giờ uống mẫu thử, chuột ở các lô từ 2 đến 5 được uống cysteamin liều 400 mg/kg x 2 lần cách nhau 4 giờ. Chuột được nhịn ăn 18 tiếng trước khi uống cysteamin. Sau 24 giờ kể từ khi uống CYS, tất cả các chuột được gây mê bằng chloralhydrate,

mổ bụng, quan sát dạ dày - tá tràng để đánh giá kết quả. Chuột được mổ bụng, bộc lộ dạ dày. Phần ống tiêu hóa từ thực quản (sát tâm vị) đến ruột non (cách môn vị 3 cm) được cắt riêng rẽ, mở tá tràng và dạ dày bằng kéo theo đường bờ cong lớn. Rửa sạch bằng nước muối sinh lý, thấm bề mặt vết loét bằng formaldehyd 5%, cố định dạ dày - tá tràng trên tấm xốp bằng ghim. Quan sát và đánh giá mức độ loét. Các chỉ số đánh giá [58], [59]:

+ Tỷ lệ chuột có loét dạ dày - tá tràng ở mỗi lô nghiên cứu.

+ Số lượng tổn thương dạ dày- tá tràng trung bình ở mỗi lô.

+ Chỉ số loét (Ulcer Index – UI) là điểm mức độ loét đại thể của mỗi lô.

+ Phần trăm ức chế loét được tính theo công thức:

$$\% \text{ Ức chế loét} = \frac{(\text{UI mô hình} - \text{UI thuốc thử}) \times 100}{\text{UI mô hình}}$$

+ Đánh giá đại thể dạ dày chuột.

+ Đánh giá vi thể dạ dày chuột.

Trong nghiên cứu này sử dụng cysteamine đường uống để gây mô hình loét dạ dày – tá tràng. Đây là mô hình được sử dụng phổ biến trên thế giới.

Ưu điểm: tiến hành thuận tiện, tỉ lệ gây loét cao, giá thành phù hợp, tỉ lệ động vật bị chết trong quá trình thực hiện nghiên cứu thấp giúp hạn chế gây sai số trong quá trình nghiên cứu. Nhược điểm: Phụ thuộc nhiều vào kĩ thuật của kĩ thuật viên [65].

Do vậy mô hình gây loét dạ dày – tá trằng bằng cysteamin là mô hình gây loét dạ dày – tá tràng lựa chọn trong nghiên cứu này.

1.9.3. Mô hình gây loét dạ dày bằng thuốc Corticoid

Sử dụng chuột cống trắng cân nặng 150 – 200 g. Chuột được uống cortison liều cao (1 mg – 3 mg/150 mg chuột) trong 12 ngày liền, hay uống prednisolon liều cao (5 mg - l0 mg/150 mg chuột) trong 4 ngày liền. Thực nghiệm cho thấy, prednisolon có khả năng gây loét cao hơn cortison [46]. Các thuốc nhóm corticoid có tác dụng không mong muốn trên hệ tiêu hóa là tăng

tiết dịch vị (acid và pepsin), giảm sản xuất chất nhày, giảm prostaglandin (do ức chế phospholipase A2). Dựa trên đặc điểm tác dụng này một số tác giả đã sử dụng nhóm thuốc corticoid để gây loét dạ dày [45].

1.9.4. Mô hình gây loét dạ dày bằng NSAID

Yi-chen Lee và cộng sự (2017) tiến hành nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày của polyphenol trong tảo trên mô hình gây loét dạ dày bằng indomethacin. Chuột được gây loét bằng cách cho uống indomethacin liều duy nhất 35 mg/kg. Sau khi cho uống indomethacin 4 giờ, tiến hành giết chuột, lấy dạ dày mở dọc bờ cong lớn, đánh giá mức độ loét [49] .

1.9.5. Mô hình gây loét dạ dày bằng ethanol

Morufu và cộng sự (2018) đã nghiên cứu tác dụng của đậu Bambara trên mô hình gây loét dạ dày chuột cống bằng ethanol. Một giờ sau khi cho chuột uống 1mL cồn tuyệt đổi (96%), mổ lấy dạ dày chuột và thu thập dịch vị. Kết quả cho thấy ethanol gây ra các tổn thương niêm mạc dạ dày chuột như xuất huyết, hoại tử, phù nề thâm nhiễm bạch cầu ở lớp dưới niêm mạc [50].

1.9.6. Mô hình gây loét bằng kẹp động mạch tạng gây thiếu máu cục bộ- tái tưới máu

Trên thực tế, những bệnh nhân thiếu máu, bệnh nhân xơ gan cổ trướng thì tỷ lệ loét dạ dày là khá cao. Vai trò bảo vệ dạ dày của mạch máu nuôi dạ dày là lấy đi ion H^+ và cung cấp các yếu tố làm liền loét [43]. Đây là cơ sở lý thuyết của mô hình gây loét bằng kẹp động mạch tạng gây thiếu máu cục bộ-tái tưới máu.

Cho chuột uống thuốc trong một khoảng thời gian từ 5 - 10 ngày trước khi làm thực nghiệm. Để chuột nhịn đói trong 24 giờ nhưng vẫn được uống nước sau khi uống liều gần cuối. Chuột được cho uống liều cuối cùng trước khi gây loét khoảng 30 - 60 phút,. Gây mê chuột, phẫu thuật mở ổ bụng chuột, dạ dày

chuột được truyền vào HCl 0,15 M liều 1 ml/100g. Kẹp động mạch trái dạ dày trong 5 phút để gây thiếu máu cục bộ và để 30 phút tái tưới máu sau khi bỏ kẹp ra. Đánh giá tổn thương dạ dày bằng kính hiển vi và so sánh với lô chứng sau khi giết chuột và mở dạ dày dọc theo bờ cong lớn rồi ngâm trong dung dịch formalin. [43], [44].

1.9.7. Mô hình gây loét bằng thắt môn vị

L. p. Takem và cộng sự (2014) tiến hành nghiên cứu tác dụng chống loét của Phragmanthera capitatas s. Balle trên mô hình gây loét dạ dày bằng thắt môn vị. Chuột được gây mê bằng cách tiêm màng bụng và mở bụng bằng một đường nhỏ dưới ức. Thắt phần môn vị của dạ dày rồi khâu đóng thành bụng chuột. Mô lấy dạ dày đánh giá sau 4 giờ. Kết quả cho thấy, thắt môn vị làm ứ đọng acid dịch vị, phá vỡ hàng rào bảo vệ niêm mạc, gây loét dạ dày ở 100% chuột [52].

1.10. Một số mô hình đánh giá tác dụng giảm đau trên thực nghiệm:

1.10.1. Phương pháp rê kim

Đây là mô hình phổ biến trong nghiên cứu hành vi đau ở loài gặm nhấm. Thử nghiệm rê kim là thử nghiệm cơ học duy nhất có thể được sử dụng đáng tin cậy không chỉ ở chuột cống mà còn ở chuột nhắt. Thử nghiệm bắt nguồn từ một quy trình lâm sàng để đánh giá chứng đau do dị cảm, đặc biệt là ở những bệnh nhân bị đau thần kinh. Các sợi von Frey (hoặc lông von Frey) là những sợi lông bằng nhựa, dài 5 cm và có nhiều đường kính khác nhau, được cố định trên dụng cụ bôi. Đầu của chúng không sắc nhưng cùn. Chúng được bôi tại chỗ cho đến khi uốn cong, tại thời điểm đó, chúng tạo ra áp lực được hiệu chuẩn. Thường tác dụng lực chủ yếu lên gan bề mặt gan bàn chân khi con vật. Phản ứng dự kiến là rút chân lại [69].

Ưu điểm phương pháp: tiến hành nhanh và rẻ tiền, có thể thử nghiệm lặp lại trên cùng một loài động vật trong thời gian ngắn mà không gây tổn

thương mô. Phương pháp này sử dụng tác nhân cơ học là đầu kim tác động. Gan bàn chân chuột được tác động bởi đầu kim với tốc độ lực là 0,5 g/s. Thời gian phản ứng đau của tính đến khi chuột có phản ứng rút gan bàn chân ra khỏi tác nhân gây đau. [53], [10].

1.10.2. Phương pháp dùng mâm nóng (hot-plate)

Mô hình mâm nóng là mô hình thí nghiệm được sử dụng phổ biến để nghiên cứu hành vi đau ở loài gặm nhấm. Quy trình này bao gồm việc đặt chuột lên bề mặt được làm nóng và đo thời gian cho đến khi con vật phản ứng với nhiệt bằng cách liếm chân hoặc nhảy.

Ưu điểm phương pháp: tiến hành nhanh và rẻ tiền, có thể thử nghiệm lặp lại trên cùng một loài động vật trong thời gian ngắn mà không gây tổn thương mô. Bên cạnh đó phương pháp này cũng tồn tại những nhược điểm. Ở các loài gặm nhấm như chuột cống và chuột nhắt, nơi chúng có khả năng liếm chân hoặc cố gắng thoát khỏi không gian mà chúng đang được đặt vào, bất kể có kích thích nhiệt hay không khiến việc quan sát gặp khó khăn [70]. Với cách đo thời gian cho đến khi con vật phản ứng với nhiệt bằng cách liếm chân tiến hành như sau: đặt chuột lên mâm nóng, luôn duy trì ở nhiệt độ 56^{o} C. Tính thời gian từ lúc đặt chuột vào mâm nóng đến khi chuột liếm chân sau. Loại bỏ những chuột phản ứng trước 8 giây và sau 60 giây [54], [10].

1.10.3. Phương pháp gây đau quặn bằng acid acetic

Acid acetic sau khi tiêm phúc mạc ổ bụng chuột sẽ tạo ra kích thích gây viêm đau. Khi kích thích vượt qua ngưỡng đau của chuột sẽ gây ra đáp ứng với đau của chuột gọi là cơn đau quặn, với các biểu hiện sau: uốn oằn thân, thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Thuốc có tác dụng giảm đau sẽ làm tăng ngưỡng đau, do đó thời gian xuất hiện đau quặn sẽ muộn hơn và số cơn đau quặn sẽ ít hơn. Tác dụng giảm đau được đánh giá với phương pháp gây quặn đau bằng acid acetic [60].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

Hình 2.1. Viên nang An Dạ

- Chế phẩm viên nang An Dạ: sản phẩm của đề tài mã số ĐTĐL.CN-27/21 do Trường Đại học Y Dược - ĐHQGHN bào chế và cung cấp (Phụ lục 1,2).

- Thành phần của mỗi viên nang An Dạ gồm:

  + Cao khô loài *Murdannia bracteata*: 400mg, đạt tiêu chuẩn cơ sở

  + Tá dược (tinh bột, magnesi stearat, talc, aerosil): vừa đủ 550 mg một viên

- Liều dùng dự kiến trên người 4 viên/người/ngày.

2.2. Dụng cụ, hóa chất, máy móc phục vụ nghiên cứu

- Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học đạt tiêu chuẩn thí nghiệm

- Hoá chất và máy huyết học ABX Micros ES 60 của Pháp.

- Thuốc và hóa chất để đối chứng tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày gồm: cysteamin, famotidine viên nén 300mg

- Nước muối sinh lý 0.9%

- Formaldehyd

- Codein phosphat

- Cồn 70 độ Máy Hot plate

- Máy đo phản ứng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 (Ugo Basile, Ý).

- Dụng cụ và vật liệu dùng trong nghiên cứu (bông, khay, gạc, kéo, panh...).

- Dụng cụ phẫu thuật, máy ảnh, kính lúp, kính hiển vi và các dụng cụ thí nghiệm khác của Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội, Học Viện YDHCTVN.

2.3. Động vật nghiên cứu

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

Chuột cống trắng chủng *Wistar*, thuần chủng, cả hai giống, nặng 200 ± 20 gam.

Động vật được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

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

2.4. Phương pháp nghiên cứu

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

2.4.1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang An Dạ bằng đường uống theo phương pháp Lichfield – Wilcoxon trên chuột nhắt trắng

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD_{50} của viên nang An Dạ bằng phương pháp Litchfield –Wilcoxon [45]:

- Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm ít nhất 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Chuột nhắt trắng cả 2 giống được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con.
- Cho từng lô chuột uống thuốc thử trong vòng 24 giờ 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 72 giờ đầu (nếu có) sau khi uống thuốc. Nếu chuột chết, mổ chuột để đánh giá tổn thương đại thể của các cơ quan. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD_{50} (Lethal dose 50 – liều chết 50%) của chế phẩm viên nang An Dạ theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon
- Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột trong vòng 7 ngày sau khi uống thuốc về sự ăn uống, hoạt động thần kinh, đi lại, leo trèo, bài tiết.

2.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng, giảm đau của viên nang An Dạ.

2.4.2.1. Nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày- tá tràng dựa trên mô hình gây loét dạ dày - tá tràng trên chuột bằng cysteamine

Tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng của mẫu nghiên cứu viên nang An Dạ (viết tắt: MNC) được đánh giá trên mô hình gây loét dạ dày - tá tràng bằng uống cysteamin (CYS) liều 400 mg/kg x 2 lần trên chuột cống trắng.

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô nghiên cứu, mỗi lô 10 con.

- Lô Chứng sinh học: Uống nước cất 10 mL/kg

- Lô Mô hình: Uống nước cất 10 mL/kg + uống CYS.

- Lô Famotidin: Uống famotidin 50 mg/kg + uống CYS

- Lô Viên nang An Dạ liều thấp (MNC liều thấp): uống viên nang An Dạ liều 264 mg bột/kg + uống CYS, tương đương liều điều trị dự kiến trên người (Trong phần nghiên cứu này hệ số ngoại suy trên chuột cống trắng là 6, hệ số ngoại suy trong phần nghiên cứu tác dụng giảm đau trên chuột nhắt trắng là 12, vì vậy liều dùng mẫu nghiên cứu trên động vật thí nghiệm ở MNC liều thấp và MNC liều cao trong các nghiên cứu trên chuột nhắt trắng sẽ gấp đôi trên chuột cống trắng).

- Lô Viên nang An Dạ liều cao (MNC liều cao): uống viên nang An Dạ liều 528 mg bột/kg + uống CYS

Chuột cống trắng ở các lô được uống mẫu thử hoặc nước cất liên tục trong thời gian 10 ngày. Tại ngày thứ 10 của nghiên cứu, sau 1 giờ uống mẫu thử, chuột ở các lô từ 2 đến 5 được uống CYS liều 400 mg/kg x 2 lần cách nhau 4 giờ. Chuột được nhịn ăn 18 tiếng trước khi uống CYS. Sau 24 giờ kể từ khi uống CYS, tất cả các chuột được gây mê bằng chloralhydrate, mổ bụng, quan sát dạ dày - tá tràng để đánh giá kết quả.

Tất cả chuột được đánh số mã hóa, nghiên cứu viên làm mù để không biết chuột ở lô nào, nhằm mục đích hạn chế sai số. Chuột được mổ bụng, bộc lộ dạ dày. Phần ống tiêu hóa từ thực quản (sát tâm vị) đến ruột non (cách môn vị 3 cm) được cắt riêng rẽ, mở tá tràng và dạ dày bằng kéo theo đường bờ cong lớn. Rửa sạch bằng nước muối sinh lý, thấm bề mặt vết loét bằng formaldehyd 5%, cố định dạ dày - tá tràng trên tấm xốp bằng ghim. Quan sát bằng kính lúp độ phóng đại 10 lần.

- **Các chỉ số đánh giá:**

+ Tỷ lệ chuột có loét dạ dày - tá tràng ở mỗi lô nghiên cứu.

+ Số lượng tổn thương dạ dày- tá tràng trung bình ở mỗi lô.

+ Chỉ số loét (Ulcer Index – UI) là điểm mức độ loét đại thể của mỗi lô.

+ Phần trăm ức chế loét được tính theo công thức:

$$\% \text{ Ức chế loét} = \frac{(\text{UI mô hình} - \text{UI thuốc thử}) \times 100}{\text{UI mô hình}}$$

+ Hình ảnh đại thể dạ dày chuột : Điểm đánh giá mức độ loét của từng lô chuột

+ Hình ảnh vi thể dạ dày chuột : Điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày của từng lô chuột

Bảng 2.1. Thang điểm đánh giá mức độ loét của Raish M và cộng sự (2021)

Triệu chứng	**Điểm**
Dạ dày bình thường (Normal colored stomach)	0
Sung huyết (Red coloration)	0.5
Xuất huyết (Hemorrhagic spots)	1
1-5 loét nhỏ (1-5 small ulcers)	2
Nhiều loét nhỏ (many small ulcers)	3
Nhiều loét nhỏ và lớn (many small and large ulcers)	4
Thủng dạ dày (stomach full of ulcers with perforations)	5

Hình ảnh đại thể dạ dày chuột được quan sát bằng kính lúp độ phóng đại 10 lần, đánh giá mức độ loét theo thang điểm của Raish M và cộng sự [51] ở bảng 2.1.

Bảng 2.2. Thang điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày

	Điểm 0	**Điểm 1**	**Điểm 2**	**Điểm 3**
Độ sâu của tổn thương trợt	Tế bào bình thường, không tổn thương trợt	Lên đến 1/3 độ dày niêm mạc	Lên đến 2/3 độ dày niêm mạc	Toàn bộ niêm mạc
Độ sâu của tổn thương loét	Tế bào bình thường, không tổn thương loét	Tổn thương giới hạn tại cơ niêm	Tổn thương vượt qua cơ niêm, giới hạn ở tầng dưới niêm mạc	Tổn thương loét sâu đến tầng cơ
Xuất huyết	Tế bào bình thường, không xuất huyết	Tại chỗ	Nhẹ	Nặng
Viêm	Tế bào bình thường, không viêm	Có thể quan sát được	Nhẹ	Nặng
Apoptosis	Tế bào bình thường, không apoptosis	Có thể quan sát được	Nhẹ	Nặng

+ Hình ảnh tổn thương vi thể dạ dày chuột sẽ được đánh giá thang điểm của Simões S và cộng sự (2019) [59] và được điều chỉnh như trong Bảng 2.2. Đánh giá dựa trên hình ảnh vi thể dạ dày của 30% số chuột ở mỗi lô. Điểm tổn thương vi thể được tính bằng tổng điểm của các tham số đánh giá, với điểm tối đa có thể là 15.

2.4.4.2 Nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ theo phương pháp rê kim

Tác dụng giảm đau của mẫu nghiên cứu viên nang An Dạ (viết tắt: MNC) được đánh giá theo phương pháp rê kim. Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 11 con

Lô 1 Chứng sinh học: uống nước cất liều 0,2 mL/10 g/ngày.

Lô 2 Codein phosphat: Uống Codein phosphat 20 mg/kg.

Lô 3 Viên nang An Dạ liều thấp (MNC liều thấp): Uống MNC liều 528 mg bột/kg/ngày. Tương đương liều điều trị dự kiến trên người (hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12).

Lô 4 Viên nang An Dạ liều cao (MNC liều cao): Uống MNC liều 1056 mg bột/kg/ngày.

Chuột các lô được uống nước hoặc thuốc mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 7 ngày liên tục.

Đo thời gian phản ứng với đau của chuột và lực gây đau đối với chuột (sử dụng máy Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của Ugo Basile) trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 2 giờ. So sánh thời gian phản ứng với kích thích đau trước và sau khi uống thuốc thử.

2.4.4.3. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ trên theo phương pháp mâm nóng

Tác dụng giảm đau của mẫu nghiên cứu viên nang An Dạ (viết tắt: MNC) được đánh giá theo phương pháp mâm nóng. Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 11 con:

Lô 1 Chứng sinh học: uống nước cất liều 0,2 mL/10 g/ngày.

Lô 2 Codein: Uống Codein phosphat 20 mg/kg.

Lô 3 Viên nang An Dạ liều thấp (MNC liều thấp): Uống MNC liều 528 mg bột/kg/ngày. Tương đương liều điều trị dự kiến trên người (hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12).

Lô 4 Viên nang An Dạ liều cao (MNC liều cao): Uống MNC liều 1056 mg bột/kg/ngày.

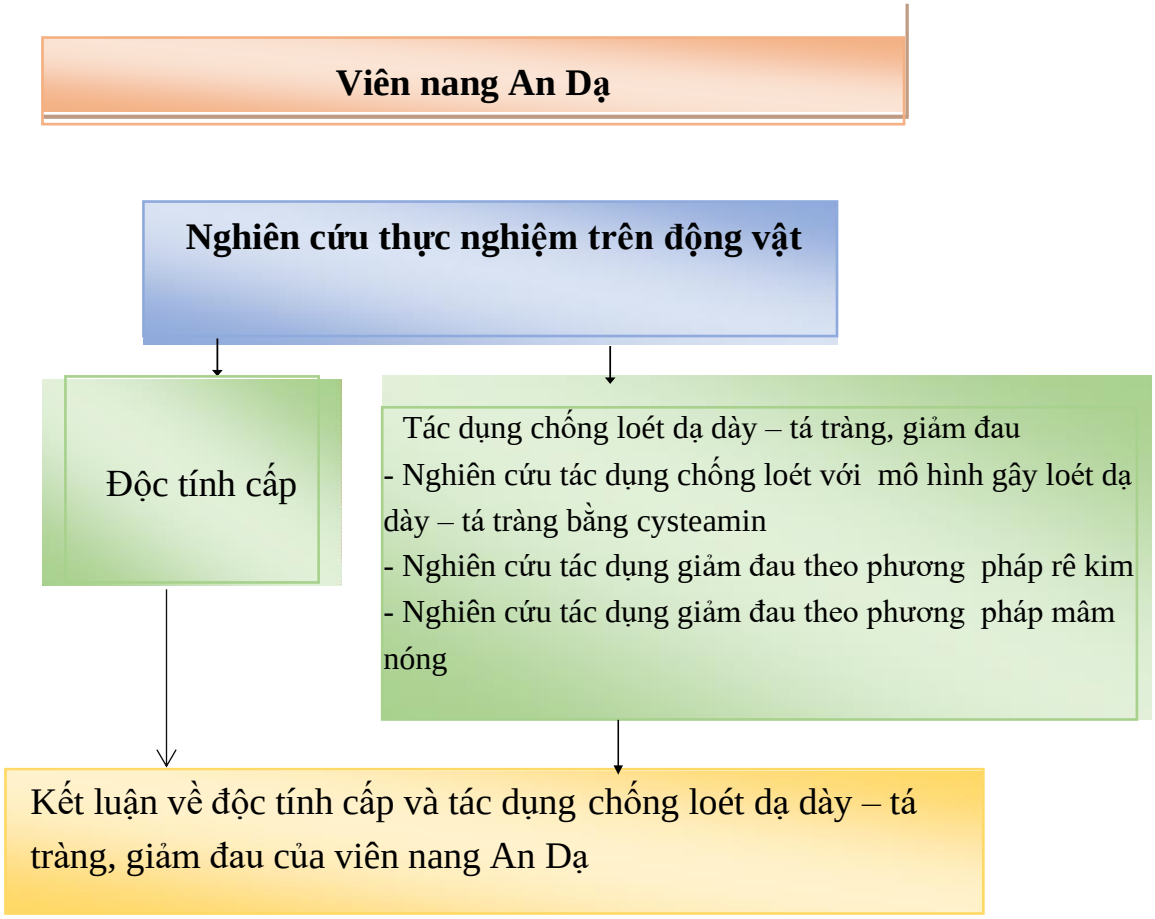
Chuột các được uống nước hoặc thuốc mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 7 ngày liên tục. Đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 2 giờ. Đặt chuột lên mâm nóng (hot plate) luôn duy trì ở nhiệt độ 56^0C bằng hệ thống ổn nhiệt. Tính thời gian từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột liếm chân sau. Loại bỏ những chuột phản ứng 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.

2.5. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 05 năm 2024 đến tháng 09 năm 2024

- Địa điểm nghiên cứu: tại Viện Nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và Trung tâm Dược lý lâm sàng - Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

2.6. Sơ đồ nghiên cứu



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu

2.7. Xử lý số liệu

Các giá trị ở mỗi lô được tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn ($\overline{X} \pm SD$). So sánh hai giá trị trung bình: test t-student. Xử lý số liệu theo phần mềm Microsoft Excel 2019, Probit và SPSS 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.8. Sai số và cách khống chế sai số

- Sai số các phương pháp thu thập số liệu.

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

+ Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh,

không có dị tật hay dấu hiệu bất thường.

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

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

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

2.9. Đạo đức trong nghiên cứu

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

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

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

CHƯƠNG 3
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang An Dạ

Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Viên nang An Dạ

Lô chuột	n	Liều (ml dung dịch đậm đặc/kg)	Liều (Viên/kg)	Liều (gam bột dược liệu/kg	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	45	33,75	18,56	0	Không
Lô 2	10	60	45,0	24,75	0	Không
Lô 3	10	75	56,25	30,93	0	Không

Kết quả Bảng 3.1 cho thấy: Tất cả các chuột đã thử nghiệm ở các liều khác nhau, thậm chí lô chuột uống tới liều tối đa chuột có thể dung nạp được là 30,93 g bột dược liệu/kg/ngày, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào khi theo dõi liên tục trong 7 ngày sau khi uống mẫu thử. Không xác định được LD_{50} của mẫu thử.

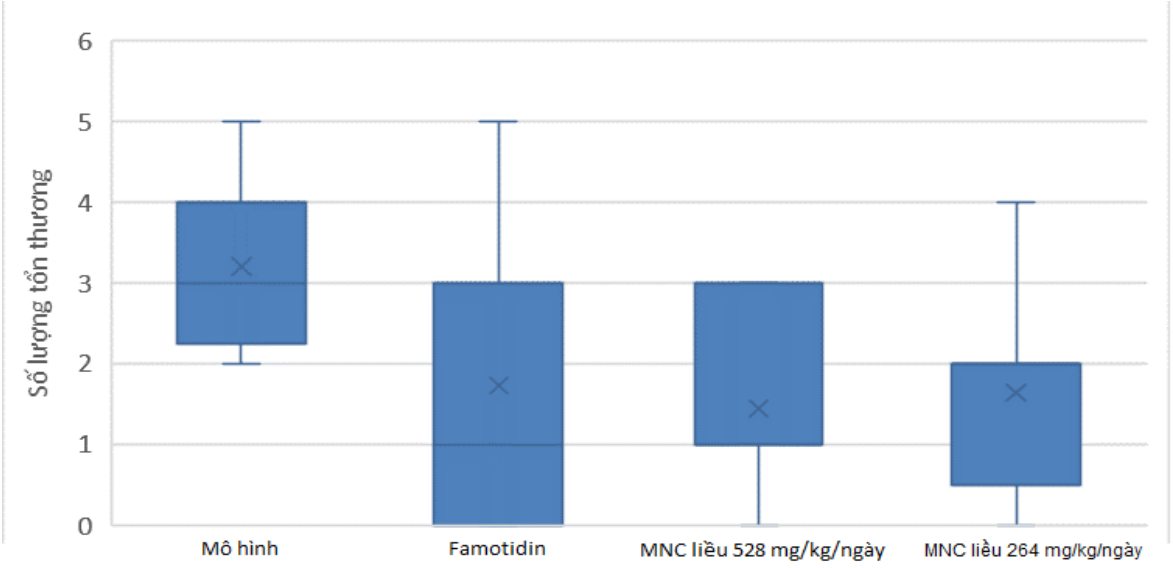
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng, giảm đau của viên nang An Dạ

3.2.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng

3.2.1.1. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến số lượng tổn thương ở dạ dày – tá tràng

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến số lượng tổn thương ở dạ dày – tá tràng

Lô nghiên cứu	Số lượng tổn thương			
	Min	Max	Median	Q1:Q3
Mô hình	2	5	3	2,25:4
Famotidin	0	5	1	0:3
Lô Viên nang An Dạ liều thấp (MNC liều thấp)	0	4	2	0,5:2
Lô Viên nang An Dạ liều cao (MNC liều cao)	0	3	1	1:3



Biểu đồ 3.1. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến số lượng tổn thương ở dạ dày – tá tràng

Biểu đồ 3.1 và Bảng 3.2 trình bày số lượng tổn thương ở dạ dày-tá tràng của các lô nghiên cứu trên quan sát đại thể cho thấy:

- Lô mô hình: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 2,25-4. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 5 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 2.
- Lô uống famotidin: Số lượng tổn thương ít hơn so với lô mô hình, dao động chủ yếu trong khoảng 0-3. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 5 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.
- Lô Viên nang An Dạ liều thấp (MNC liều thấp): Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 0.5-2. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 4 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.
- Lô Viên nang An Dạ liều cao (MNC liều cao): Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 1-3. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 3 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến số tổn thương trung bình ở dạ dày - tá tràng

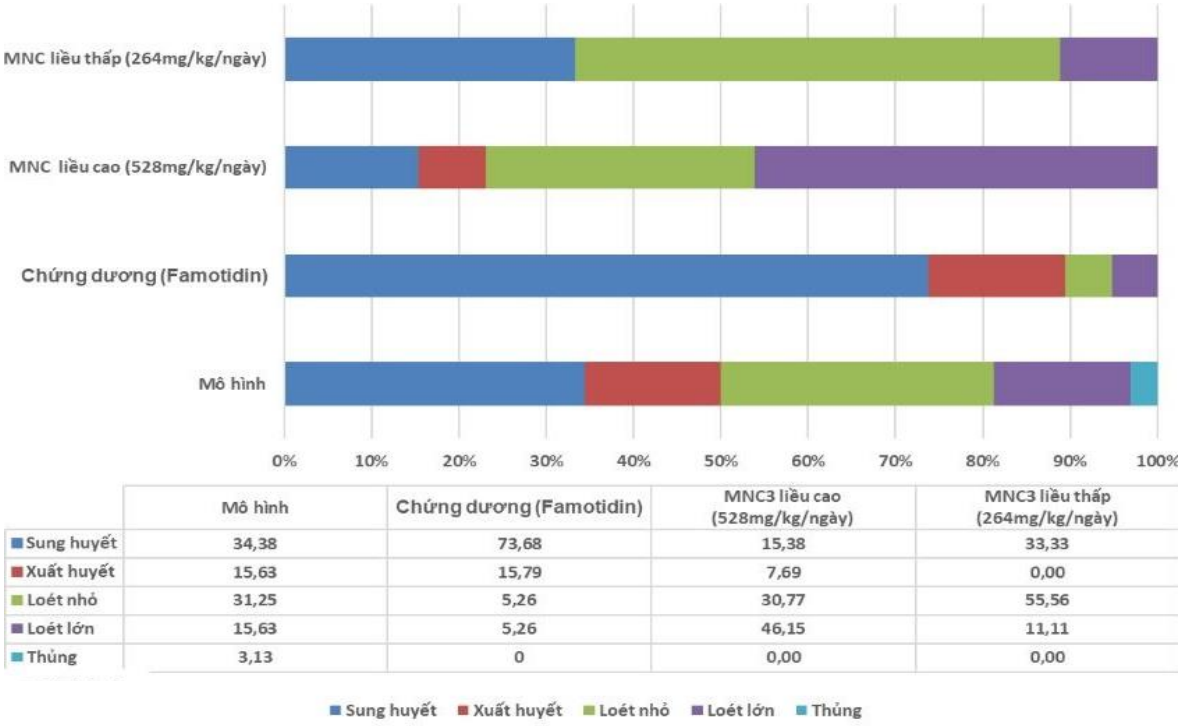
Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ loét	Số tổn thương ($\bar{X}$ ± SD)
Mô hình	10	7/10	3,2 ± 1,0
Famotidin	10	2/10	1,7 ± 1,8*
Lô Viên nang An Dạ liều thấp (MNC liều thấp)	10	6/10	1,6 ± 1,3*
Lô Viên nang An Dạ liều cao (MNC liều cao)	10	6/10	1,4 ± 1,2*

*p < 0,05 so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)

Kết quả Bảng 3.3 cho thấy:

- 70% chuột ở lô mô hình có hình ảnh loét dạ dày - tá tràng.

- Famotidin và viên nang An Dạ ở các mức liều nghiên cứu đều làm giảm số lượng tổn thương trung bình so với lô mô hình, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê (p< 0,05).



	Mô hình	Chứng dương (Famotidin)	MNC3 liều cao (528mg/kg/ngày)	MNC3 liều thấp (264mg/kg/ngày)
Sung huyết	34,38	73,68	15,38	33,33
Xuất huyết	15,63	15,79	7,69	0,00
Loét nhỏ	31,25	5,26	30,77	55,56
Loét lớn	15,63	5,26	46,15	11,11
Thủng	3,13	0	0,00	0,00

Biểu đồ 3.2. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến mức độ tổn thương dạ dày - tá tràng trên quan sát đại thể

Kết quả Biểu đồ 3.2. cho thấy:

- Tình trạng thủng dạ dày chỉ xuất hiện ở lô mô hình.

- Tổn thương nặng như xuất huyết không xuất hiện ở MNC liều 264 mg/kg/ngày nhưng vẫn tồn tại ở MNC liều 528 mg/kg/ngày (7,69%), đã giảm so với mô hình (15,63%) và Famotidin (15,79%).

- Tổn thương loét nhỏ xuất hiện cao nhất ở lô MNC liều 264 mg/kg/ngày (55,56%) sau đó là lô mô hình (31,25%) và MNC liều 528 mg/kg/ngày (30,17%), tỷ lệ xuất huyết thấp nhất ở lô uống Famotidin (5,26%).

- Tổn thương loét lớn xuất hiện cao nhất ở MNC liều 528 mg/kg/ngày (46,15%), sau đó là lô mô hình (15,63%), MNC liều 264 mg/kg/ngày (11,11%), Famotidin (5,26%),

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến chỉ số loét dạ dày - tá tràng

Lô nghiên cứu (n=10)	Tỷ lệ loét	Chỉ số loét (UI)	% ức chế loét
Mô hình	7/10	2,7 ± 1,5	- -
Famotidin	2/10	0,8 ± 1,2*	70,37
Lô Viên nang An Dạ liều thấp (MNC liều thấp)	6/10	1,1 ± 1,0*	59,26
Lô Viên nang An Dạ liều cao (MNC liều cao)	6/10	2,6 ± 1,8	3,7

*p < 0,05 so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)

Kết quả Bảng 3.4 cho thấy:

- Famotidine làm giảm chỉ số loét có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình (p < 0,05). MNC liều 264 mg/kg/ngày làm giảm chỉ số loét có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình (p < 0,05).
- Chỉ số loét ở lô dùng MNC liều 528 mg/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình (p > 0,05).

Bảng 3.5. Bảng điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột

Lô nghiên cứu (n=10)	**Tổng điểm trung bình**
Chứng sinh học	0,00
Mô hình	2,70 ± 3,10
Famotidin	4,30 ± 2,90
Lô Viên nang An Dạ liều thấp (MNC liều thấp)	0,67 ± 1,15
Lô Viên nang An Dạ liều cao (MNC liều cao)	3,00 ± 1,00

*p < 0,05 so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)

Bảng 3.5 cho thấy mức độ tổn thương có xu hướng cải thiện ở các lô uống Viên nang An Dạ liều 264 mg/kg/ngày, thể hiện ở điểm vi thể trung bình ở lô này thấp hơn so với lô mô hình không được dùng thuốc nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Biểu đồ 3.2. Các thông số đánh giá trên hình ảnh vi thể

Biểu đồ 3.2 trình bày cụ thể về điểm tổn thương của từng thông số đánh giá trên quan sát vi thể:

- Không có hình ảnh xuất huyết ở tất cả các mẫu dạ dày.
- Độ sâu của tổn thương trợt:

Mức độ trợt nặng được quan sát thấy ở lô mô hình với 33,33% mẫu dạ dày có độ sâu tổn thương ở mức toàn bộ niêm mạc (3 điểm); 33,33% mẫu có độ sâu tổn thương lên đến 1/3 độ dày niêm mạc.

100% mẫu dạ dày ở lô MNC liều 528 mg/kg/ngày đều quan sát tổn thương trợt (trong đó mức điểm 1, 2,3 đều chiếm tỷ lệ là 33,33%).

Không quan sát thấy tổn thương trợt ở lô uống MNC liều 264 mg/kg/ngày.

- Độ sâu của tổn thương loét:

Tổn thương loét ở lô mô hình có 33,33% mẫu dạ dày có hình ảnh tổn thương loét giới hạn ở cơ niêm.

100% mẫu dạ dày của các lô uống MNC có hình ảnh tế bào bình thường, không tổn thương loét (0 điểm).

- Xuất huyết:

100% mẫu dạ dày không có tổn thương dạng xuất huyết

- Viêm:

66,67% mẫu dạ dày ở lô mô hình và 100% mẫu dạ dày ở lô MNC liều 528 mg/kg/ngày quan sát được viêm (mức độ 1).

Mức độ viêm nhẹ (2 điểm) được quan sát thấy ở 33,33% mẫu dạ dày ở lô MNC liều 264 mg/kg/ngày.

- Apotosis:

Lô mô hình có 33,33% mẫu dạ dày có thể quan sát được apoptosis (mức độ 1).

Ở lô uống MNC các liều đều không quan sát thấy apoptosis.

3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ theo phương pháp rê kim

Bảng 3.6. Tác dụng giảm đau của Viên nang An Dạ trên chuột bằng máy đo phản ứng đau

Lô chuột (n = 11)	**Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau (gam)**		**p sự thay đổi lực gây đau so với lô chứng sinh học**	**Thời gian phản ứng đau (giây)**		**p sự thay đổi thời gian phản ứng đau so với lô chứng sinh học**
	Trước	**Sau**		**Trước**	**Sau**	
Lô 1 (Chứng sinh học)	8,12 ± 1,29	8,09 ± 1,26		4,68 ± 0,84	4,66 ± 0,78	
Lô 2 (Codein 20mg/kg/ngày)	8,65 ± 1,12	10,11 ± 1,48	p< 0,01	4,93 ± 0,67	5,81 ± 0,92	**p< 0,01**
$p_{trước-sau}$	**< 0,01**			**< 0,01**		
Lô 3 (MNC liều thấp 528 mg/kg/ngày)	7,26 ± 1,85	8,67 ± 2,04	p> 0,05	4,11 ± 1,12	4,97 ± 1,23	**p> 0,05**
$p_{trước-sau}$	**< 0,05**			**<0,05**		
Lô 4 (MNC liều cao 1056 mg/kg/ngày)	7,37 ± 0,91	8,94 ± 1,28	p> 0,05	4,11 ± 0,59	5,15 ± 0,77	**p> 0,05**
$p_{trước-sau}$	**< 0,05**			**<0,01**		

Kết quả ở Bảng 3.6. cho thấy:

- Không có sự khác biệt về lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau của chuột ở tất cả các lô nghiên cứu tại thời điểm trước uống thuốc (p>0,05).

- Codein 20 mg/kg/ngày có tác dụng tăng rõ rệt có ý nghĩa thống kê về thời gian phản ứng phản ứng đau, lực gây đau của chuột so với thời điểm trước khi uống Codein (p< 0,01) và so với lô chứng sinh học (p<0,001).

- Viên nang An Dạ ở cả hai liều nghiên cứu đều làm tăng có ý nghĩa thống kê lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc (p< 0,05), tuy nhiên mức tăng này chưa khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học (p> 0,05).

3.2.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ theo phương pháp mâm nóng

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Viên nang An Dạ lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột

Lô chuột (n = 11)	**Thời gian phản ứng với nhiệt độ (s)**		**$p_{trước-sau}$**
	Trước	**Sau**	
Lô 1 (Chứng sinh học)	16,36 ± 3,12	15,98 ± 2,41	> 0,05
Lô 2 (Codein 20 mg/kg)	14,18 ± 3,01	21,20 ± 5,46**	< 0,001
Lô 3 (MNC liều thấp 528 mg/kg/ngày)	16,29 ± 4,90	18,58 ± 4,94	> 0,05
Lô 4	14,40 ± 2,98	20,03 ± 4,16*	< 0,01

Lô chuột (n = 11)	**Thời gian phản ứng với nhiệt độ (s)**		**$p_{trước-sau}$**
	Trước	**Sau**	
(MNC liều cao 1056 mg/kg/ngày)	$p_{4-3} > 0,05$	$p_{4-3} > 0,05$	

*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 khi so sánh với nhóm chứng

Kết quả ở bảng 3.7 cho thấy:

- Không có khác biệt có ý nghĩa thống kê về thời gian phản ứng với nhiệt độ ở tất cả các lô nghiên cứu tại thời điểm trước uống thuốc (p>0,05).
- Codein 20 mg/kg/ngày có tác dụng kéo dài rõ rệt có ý nghĩa thống kê về thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống codein (p < 0,001) và so với lô chứng sinh học (p<0,01).
- Các lô dùng viên nang An Dạ:
  + Liều thấp 528 mg/kg/ngày: có xu hướng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc và so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).
  + Liều cao 1056 mg/kg/ngày: kéo dài có ý nghĩa thống kê thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc (p < 0,01) và so với lô chứng sinh học (p < 0,05).

CHƯƠNG 4
BÀN LUẬN

4.1. Độc tính cấp của viên nang An Dạ

Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang An Dạ trên chuột nhắt trắng theo đường uống bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon và theo hướng dẫn của Bộ Y tế (Bộ Y Tế, 2015).

Viên nang An Dạ có đường dùng là đường uống, vì vậy khi thử nghiệm trên động vật thực nghiệm, thuốc cũng được sử dụng bằng đường uống theo đúng như đường dùng dự kiến trên người.

Tiến hành cụ thể: chia chuột thí nghiệm thành 3 lô, mỗi lô 10 con, nhịn ăn qua đêm. Cho chuột uống viên nang An Dạ 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 viên nang An Dạ. Khi thao tác cho chuột uống thuốc bằng kim đầu tù, đòi hỏi kỹ thuật viên có kinh nghiệm để tránh làm chuột bị tổn thương thực quản hay đưa nhầm thuốc vào khí quản gây sặc, chết chuột, ảnh hưởng tới kết quả nghiên cứu. Lượng thuốc đưa vào chuột cần đảm bảo đưa vào trong dạ dày chuột toàn vẹn. Nếu có hiện tượng chuột bị chết trong quá trình uống thuốc, cần phẫu tích để tìm hiểu nguyên nhân. Nguyên nhân có thể là kích thích gây co giật, hoặc suy gan, suy thận, hay có thể do trong quá trình uống thuốc, chuột bị tiêu chảy

nặng dẫn tới mất nước mà chết, …. Trong lô nghiên cứu độc tính cấp, không có chuột nào bị chết, vì vậy không có bất cứ nguyên nhân nào kể trên.

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang An Dạ trên chuột nhắt trắng (Bảng 3.1) cho thấy: liều từ 45 ml/kg tương đương 33,75 viên/kg (18.56g bột dược liệu/kg) đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 56.25 viên/kg (30,93g bột dược liệu/kg) không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử không xuất hiện độc tính cấp. Viên nang An Dạ ở liều gấp 58,5 lần liều dùng dự kiến trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống (Tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều tối đa trên người là 4 viên/ngày). Trong nghiên cứu này chưa xác định được LD_{50} của viên nang An Dạ theo đường uống trên chuột nhắt trắng và không thấy xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc lần đầu và trong suốt 7 ngày sau uống thuốc. Việc không phát hiện thấy các biểu hiện bất thường của tình trạng bị độc khi dùng mẫu thử liều cao, chứng tỏ viên nang có tính an toàn cao. Kết quả này thực hiện được một trong những nội dung mục tiêu 1 của đề tài nghiên cứu.

4.2. Nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng

4.2.1. Mô hình gây loét dạ dày – tá tràng bằng Cysteamin

Nguyên nhân gây loét dạ dày tá tràng là do sự mất cân bằng giữa các yếu tố tấn công và yếu tố bảo vệ, lớp tế bào niêm mạc dạ dày bị tổn thương ở các mức độ khác nhau bởi acid dịch vị và pepsin. Hiện nay có rất nhiều mô hình gây loét trên thực nghiệm khác nhau, sử dụng các thuốc đối chứng dương phù hợp với cơ chế gây loét khác nhau, trong đó có sử dụng cơ chế tác nhân gây loét dạ dày – tá tràng bởi tác dụng phụ của thuốc. Nghiên cứu này được tiến hành với mô hình gây loét dạ dày – tá tràng bằng cysteamin.

Cysteamin làm giảm nồng độ của somatostatin ở niêm mạc tá tràng, làm tăng sinh các gốc oxy hóa, làm giảm khả năng loại bỏ các gốc tự do, tăng biểu hiện endothelin-1, một chất có tác dụng co mạch làm ảnh hưởng đến khả năng tưới máu, giảm lưu lượng máu niêm mạc tá tràng kèm theo tăng thiếu máu mô và giảm oxy máu, làm tăng nồng độ gastrin huyết tương, từ đó gây tăng tiết acid dịch vị (Szabo S, Reichlin S và cộng sự, 1981). Mặc dù cơ chế tạo ra loét chưa được hiểu rõ hoàn toàn, nhưng nhiều nghiên cứu chỉ ra nguyên nhân hình thành vết loét tá tràng do cysteamin kích thích tốc độ tiết axit, pepsin ở dạ dày và ức chế tiết chất nhầy kiềm từ tuyến Brunner ở tá tràng bởi cysteamin (Ishii Y., 1976), (Tamaki H., Onoda Y., and Kashida T, 1978). Cùng đó là sự suy giảm mức độ bicarbonate, chất nhầy và các yếu tố tăng trưởng biểu bì (Stiel D., Murray D. J., and Peters T. J, 1983), (Poulsen S. S., Olsen P. S., and Kirkegaard P., 1985), giảm khả dụng sinh học của somatostatin và làm tăng đáng kể nồng độ gastrin trong huyết thanh, liên quan đến sự gia tăng tiết axit dạ dày (Khomenko T., Szabo S., Deng X., Ishikawa H., Anderson G. J., and McLaren G. D, 2009). Ngoài ra cysteamin còn có tác dụng làm giảm đáng kể quá trình trung hòa axit ở tá tràng gần, giảm nồng độ dopamine trong dạ dày tuyến và tá tràng, ức chế nhu động dạ dày (Okabe S., Roth J. L. A., and Pfeiffer C. J, 1971), (Lichtenberger L. M., Szabo S., and Reynolds E. S., 1977).

Trong nghiên cứu này sử dụng cysteamine đường uống để gây mô hình loét dạ dày – tá tràng. Đây là mô hình được sử dụng phổ biến trên thế giới, tiến hành thuận tiện, tỉ lệ gây loét cao, giá thành phù hợp, tỉ lệ động vật bị chết trong quá trình thực hiện nghiên cứu thấp giúp hạn chế gây sai số trong quá trình nghiên cứu (Differentiating Between Peptic Ulcer Disease & Gastritis. September 2022. https://www.gutcare.com.sg/differentiating-between-peptic-ulcer-disease-gastritis/. Accessed May 6).

4.2.2. Thuốc đối chứng trên thực nghiệm

Famotidine thuộc loại thuốc đối kháng thụ thể histamin H2 có cơ chế tác dụng: ức chế cạnh tranh tác dụng của histamin tại thụ thể H2 ở tế bào thành dạ dày, nên làm giảm thể tích bài tiết và giảm nồng độ acid dạ dày cả ở điều kiện cơ bản ban đêm và ban ngày, cũng như khi bị kích thích do thức ăn, do histamin hoặc pentagastrin. Hoạt tính đối kháng histamin ở thụ thể H2 của famotidin phục hồi chậm, do thuốc tách chậm khỏi thụ thể. So sánh theo phân tử lượng, tác dụng ức chế bài tiết acid dạ dày do kích thích của famotidin mạnh gấp 20 - 150 lần so với cimetidin và 3 - 20 lần so với ranitidin. Mức độ ức chế bài tiết acid dạ dày (đặc biệt vào ban đêm hoặc khi bị kích thích bởi thức ăn) của famotidin liên quan trực tiếp với liều lượng và thời gian dùng thuốc. Tổng thể tích dịch acid dạ dày làm tiết giảm 55 - 65% sau khi uống một liều 20 mg hoặc dùng đường tĩnh mạch 10 - 20 mg, nhưng giảm nhiều nhất khi dùng đường tĩnh mạch 20 mg. Uống một liều 40 mg vào buổi tối ức chế được tới 95% bài tiết acid dạ dày vào ban đêm và 32% vào ban ngày. Bài tiết acid ở dạ dày trong 24 giờ bị ức chế khoảng 70%. Do làm giảm thể tích dịch bài tiết acid dạ dày, famotidin gián tiếp gây giảm bài tiết pepsin (phụ thuộc liều). Famotidin có thể bảo vệ niêm mạc dạ dày khi bị kích ứng bởi một số thuốc như aspirin hoặc các thuốc chống viêm không steroid khác (Bộ Y Tế, Indomethacin, 2015).

Vì vậy, việc sử dụng Famotidine để làm thuốc đối chứng là phù hợp với cơ chế mô hình gây loét dạ dày tá tràng bằng cysteamine.

4.2.3. Tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng của viên nang An Dạ

Tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng của viên nang An Dạ được đánh giá bởi: số chuột bị loét trong lô, tỉ lệ loét, chỉ số loét trung bình (UI), % ức chế loét; đánh giá hình ảnh đại thể, vi thể.

Số lượng tổn thương của chuột uống Viên nang An Dạ liều 264 mg/kg/ngày x 10 ngày, liều 528 mg/kg/ngày x 10 ngày (theo Bảng 3.2) dao động chủ yếu trong khoảng 0.5-2, 1-3 đều giảm so với số lượng tổn thương lô mô hình (là 2.25-4); Số lượng tổn thương của chuột uống Famotidine là 0-3.

Về tỉ lệ loét (Bảng 3.3), viên nang An Dạ ở cả 2 mức liều nghiên cứu đều làm giảm số lượng tổn thương trung bình so với lô mô hình, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p< 0,05$). So sánh số tổn thương viên nang An Dạ ở cả 2 mức liều (liều cao 1,4 ± 1,2, liều thấp 1,6 ± 1,3) đều làm giảm số tổn thương trung bình so với lô mô hình có số tổn thương 3,2 ± 1,0; sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p< 0,05$).

Đánh giá mức độ tổn thương dạ dày - tá tràng trên quan sát đại thể (Biểu đồ 3.1) có thể thấy: Tình trạng thủng dạ dày chỉ xuất hiện ở lô mô hình. Tổn thương nặng như xuất huyết không xuất hiện ở MNC liều 264 mg/kg/ngày nhưng vẫn tồn tại ở MNC liều 528 mg/kg/ngày (7,69%), đã giảm so với mô hình (15,63%) và Famotidin (15,79%). Tổn thương loét nhỏ xuất hiện cao nhất ở lô MNC liều 264 mg/kg/ngày (55,56%) sau đó là lô mô hình (31,25%) và MNC liều 528 mg/kg/ngày (30,17%), tỷ lệ xuất huyết thấp nhất ở lô uống Famotidin (5,26%). Tổn thương loét lớn xuất hiện cao nhất ở MNC cao (46,15%), sau đó là lô mô hình (15,63%), MNC liều 264 mg/kg/ngày (11,11%), Famotidin (5,26%). Tuy số tổn thương ở dạ dày – tá tràng chuột khi dùng An Dạ 2 mức liều gần như nhau (liều cao 1,4 ± 1,2, liều thấp 1,6 ± 1,3) nhưng mức độ loét ở các lô là khác nhau.

Từ thang điểm đánh giá mức độ loét dạ dày – tá tràng tính ra chỉ số loét (UI) và % ức chế loét (Bảng 3.4) cho đánh giá: viên nang An Dạ liều 264 mg/kg/ngày có % ức chế loét là 59,26% có xu hướng làm giảm chỉ số loét (UI = 1,1 ± 1,0) so với lô mô hình (UI= 2,7 ± 1,5), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Viên nang An Dạ liều cao có % ức chế loét là 3,7% có xu

hướng làm giảm chỉ số loét (UI = 2,6 ± 1,8) so với lô mô hình (UI= 2,7 ± 1,5) nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Quan sát vi thể thấy:

Quan sát hình ảnh mô bệnh học dạ dày được tổng hợp ở Bảng 3.6 và Biểu đồ 3.2 cho thấy: Không có hình ảnh xuất huyết ở tất cả các mẫu dạ dày. Độ sâu của tổn thương trợt: Mức độ trợt nặng được quan sát thấy ở lô mô hình với 33,33% mẫu dạ dày có độ sâu tổn thương ở mức toàn bộ niêm mạc (3 điểm); 33,33% mẫu có độ sâu tổn thương lên đến 1/3 độ dày niêm mạc. 100% mẫu dạ dày ở lô MNC liều 528 mg/kg/ngày đều quan sát tổn thương trợt (trong đó mức điểm 1, 2,3 đều chiếm tỷ lệ là 33,33%). Không quan sát thấy tổn thương trợt ở lô uống MNC liều 264 mg/kg/ngày.

Bảng 3.5 cho thấy mức độ tổn thương có xu hướng cải thiện ở các lô uống viên nang An Dạ liều 264 mg/kg/ngày, thể hiện ở điểm vi thể trung bình ở lô này thấp hơn so với lô mô hình không được dùng thuốc nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Các kết quả trên chỉ ra viên nang An Dạ liều 264 mg/kg/ngày x10 ngày có tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng % ức chế loét là 59,26% trên chuột cống trắng với mô hình gây loét bằng cysteamin.

Dự đoán cơ chế tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng của viên nang An Dạ do viên nang có thành phần chính là Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteate*). Nghiên cứu độc tính và tác dụng chống loét dạ dày thực nghiệm của cao chiết *Murdannia bracteate* của Nguyễn Thục Anh năm 2023 cho kết quả Cao chiết phân đoạn ethyl acetat từ phần trên mặt đất của cây cỏ rươi lá bắc liều 180mg cao/kg có tác dụng ức chế loét 23,23% so với lô mô hình gây loét dạ dày bằng Idomethacin (Nguyễn Thục Anh, 2023). Nghiên cứu của nhóm tác giả Guei Jane Wang, Shih Ming Chen, Wei Chou Chen, Yu Min Chang, Tzong Huei Lee đã chỉ ra trong lá cây Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia*

bracteara) có: bracteanolid A, bracteanolid B và isovitexin, tất cả các hợp chất này đều ức chế quá trình sản xuất NO, ức chế sự sản sinh NO sẽ giảm các tổn thương viêm khác nhau ở mô (Guei Jane Wang , Shih Ming Chen, Wei Chou Chen, Yu Min Chang, Tzong Huei Lee , 2007).

Một số nghiên cứu về loài *Murdannia bracteata* ở trên thế giới: Nghiên cứu phân tích tài nguyên cây thuốc ở bán đảo Lôi Châu *Murdannia bracteata* có tác dụng trừ đờm, giảm ho, thanh nhiệt, giải độc (武丽琼 陈英敏 冯海燕 左雪冬, 2022). Nghiên cứu tại Quảng Tây nêu ra *Murdannia bracteata* có tác dụng giải đờm, tiêu ứ, thanh nhiệt, thông niệu (苏钰岚, 2022). Tại Trung Quốc toàn cây dùng làm thuốc: giải đờm, tán ứ. Nó được sử dụng cho bệnh bìu, ho lao, đau họng, sốt cao, ho ra máu, nôn ra máu, máu trong phân, bệnh trĩ và đi tiểu đau, được sử dụng bên ngoài cho các vết loét, nhọt và chất độc sưng tấy (黄雪玉, 2023). Các nghiên cứu trên là cơ sở để gợi ý viên nang An Dạ (với thành phần chính là *Murdannia bracteate*) sẽ có hiệu quả điều trị tốt Vị quản thống ở các thể: khí trệ, hỏa uất và huyết ứ do tác dụng thanh nhiệt, giải ứ (tán ứ) của *Murdannia bracteate.*

4.3. Bàn luận về tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ

4.3.1. Thuốc đối chứng Codein photphat

Codein là một dẫn chất của phenanthren, có tên khác là methylmorphin, nhóm methyl thay thế vị trí của hydro ở nhóm hydroxyl liên kết với nhân thơm trong phân tử morphin, do vậy codein có tác dụng dược lý tương tự morphin, tức là có tác dụng giảm đau và giảm ho. Codein bị chuyển hóa ở gan bởi khử methyl (tại vị trí O- và N-methyl trong phân tử) tạo thành morphin, norcodein và những chất chuyển hóa khác như normorphin và hydrocodon. Sự chuyển hóa thành morphin gián tiếp chịu tác dụng của cytochrom P450 isoenzym CYP2D6 và tác dụng này rất khác nhau do ảnh hưởng của cấu trúc

gen. So với morphin, codein được hấp thu tốt hơn ở dạng uống, ít gây táo bón và ít gây co thắt mật hơn. Codein và muối của nó có tác dụng giảm đau trong trường hợp đau nhẹ và vừa. Codein bị chuyển hóa ở gan bởi khử methyl (tại vị trí O- và N-methyl trong phân tử) tạo thành morphin, norcodein và những chất chuyển hóa khác như normorphin và hydrocodon. Sự chuyển hóa thành morphin gián tiếp chịu tác dụng của cytochrom P450 isoenzym CYP2D6 và tác dụng này rất khác nhau do ảnh hưởng của cấu trúc gen (Bộ Y Tế, 2015).

Trong nghiên cứu này sử dụng Codein photphat làm thuốc đối chứng nhằm đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ trên mô hình rê kim và mâm nóng.

4.3.2. Đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình rê kim

Mô hình rê kim là mô hình phổ biến trong nghiên cứu hành vi đau ở loài gặm nhấm. Thử nghiệm rê kim là thử nghiệm cơ học duy nhất có thể được sử dụng đáng tin cậy không chỉ ở chuột cống mà còn ở chuột nhắt. Thử nghiệm bắt nguồn từ một quy trình lâm sàng để đánh giá chứng đau do dị cảm, đặc biệt là ở những bệnh nhân bị đau thần kinh. Các sợi von Frey (hoặc lông von Frey) là những sợi lông bằng nhựa, dài 5 cm và có nhiều đường kính khác nhau, được cố định trên dụng cụ bôi. Đầu của chúng không sắc nhưng cùn. Chúng được bôi tại chỗ cho đến khi uốn cong, tại thời điểm đó, chúng tạo ra áp lực được hiệu chuẩn. Thường tác dụng lực chủ yếu lên gan bề mặt gan bàn chân khi con vật. Phản ứng dự kiến là rút chân lại (Barrot, 2012).

Trong nghiên cứu này để đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình rê kim tiến hành dùng đầu kim tác động vào gan bàn chân chuột chuột sẽ phản ứng bằng cách rút gan bàn chân ra khỏi đầu kim. Đo thời gian phản ứng với đau của chuột và lực gây đau đối với chuột (sử dụng máy Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của Ugo Basile) trước khi uống thuốc và sau khi uống

thuốc lần cuối cùng 2 giờ. So sánh thời gian phản ứng với kích thích đau trước và sau khi uống thuốc thử. Mô hình sử dụng tác nhân gây đau là yếu tố cơ học thông qua thời gian phản ứng với đau và cường độ lực gây đau để đánh giá tác dụng giảm đau của Viên nang An Dạ trên chuột.

Kết quả nghiên cứu (Bảng 3.7) cho thấy MNC ở cả hai liều nghiên cứu đều làm tăng có ý nghĩa thống kê lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc ($p< 0,05$), tuy nhiên mức tăng này chưa khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p> 0,05$).

Như vậy, viên nang An Dạ không có tác dụng giảm đau với tác nhân cơ học khi thử nghiệm trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp rê kim với liều 528 mg/kg/ngày và 1056 mg/kg/ngày trong 7 ngày liên tục.

4.3.3. Đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình mâm nóng (hot-plate)

Mô hình mâm nóng là mô hình thí nghiệm được sử dụng phổ biến để nghiên cứu hành vi đau ở loài gặm nhấm. Quy trình này bao gồm việc đặt chuột lên bề mặt được làm nóng và đo thời gian cho đến khi con vật phản ứng với nhiệt bằng cách liếm chân hoặc nhảy. Mô hình có nhiều ưu điểm như tiến hành nhanh và rẻ tiền, có thể thử nghiệm lặp lại trên cùng một loài động vật trong thời gian ngắn mà không gây tổn thương mô. Bên cạnh đó phương pháp này cũng tồn tại những nhược điểm. Ở các loài gặm nhấm như chuột cống và chuột nhắt, nơi chúng có khả năng liếm chân hoặc cố gắng thoát khỏi không gian mà chúng đang được đặt vào, bất kể có kích thích nhiệt hay không khiến việc quan sát gặp khó khăn (Mun Fei Yam , Yean Chun Loh , Chuan Wei Oo , Rusliza Basir , 2020). Thử nghiệm nhiều lần trên cùng một cá thể có thể xuất hiện sai số do tính học của cá thể, có nghĩa là thời gian phản ứng sẽ giảm dần và hành vi liếm thực sự như một phản ứng của động vật đối với các kích thích nhiệt sẽ biến mất. Đôi khi, động vật có

xu hướng thể hiện hành vi tương tự như khi chúng phản ứng với một kích thích ngay cả trên tấm không được làm nóng (áp dụng nhiệt độ gây hại không đổi) (M T Bardo, R A Hughes, 1979), (Gamble G.D., Milne R.J. , 1989;96), (Van Ree J.M., Leys A, 1985), (Patricia V Turner , Daniel SJ Pang , Jennifer LS Lofgren , 2019).

Kết quả nghiên cứu (Bảng 3.8) cho thấy:

+ Liều 528 mg/kg/ngày: có xu hướng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc và so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

+ Liều 1056 mg/kg/ngày: kéo dài có ý nghĩa thống kê thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc ($p < 0,01$) và so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Như vậy, viên nang An Dạ có tác dụng giảm đau với tác nhân nhiệt độ khi thử nghiệm trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp mâm nóng với liều 1056 mg/kg/ngày trong 7 ngày liên tục .

Dự đoán cơ chế tác dụng nêu trên của viên nang An Dạ do viên nang có thành phần chính là Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteate*). Khi các đại thực bào được hoạt hóa, việc sản sinh quá mức nitric oxid (NO) thông qua NO synthase cảm ứng (iNOS) là một trong những yếu tố gây viêm, ngoài ra Oxit nitric (NO) là một phân tử truyền tin đa năng có tác dụng thư giãn nội mô có vai trò trong sự nhạy cảm với cơn đau (Yonehara, M Takemura, M Yoshimura, K Iwase, H G Seo, N Taniguchi, Y Shigenaga, 327–335). Năm 2006, Wang Guei Jane cùng các cộng sự đã tiến hành nghiên cứu phân lập các hoạt chất và thử tác dụng trên iNOS ở các đại thực bào được hoạt hóa bởi lipopolysaccharid (LPS) để chứng tỏ tác dụng chống viêm của *Murdannia bracteata*. Cụ thể, các thành phần hóa học được phân lập từ lá của *Murdannia bracteata*: bracteanolid A (1), bracteanolid B (2) và isovitexin (4) ức chế sự sản sinh nitric oxid (NO), hạn chế các tổn thương viêm khác nhau ở mô khi

đại thực bào sản xuất quá nhiều NO. Tác dụng điều hòa hoạt động iNOS là chọn lọc, vì nó không ảnh hưởng đến quá trình giãn mạch do giải phóng NO nội mạc khi bị kích thích bởi acetylcholin (Guei Jane Wang , Shih Ming Chen, Wei Chou Chen, Yu Min Chang, Tzong Huei Lee , 2007). Kết quả nghiên cứu về tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ với thành phần chính là loài *Murdannia bracteata* đồng thuận với nghiên cứu về loài *Murdannia bracteata* theo Y học cổ truyền: tại Trung Quốc toàn cây dùng làm thuốc: giải đờm, tán ứ. Được sử dụng cho bệnh bìu, ho lao, đau họng, sốt cao, ho ra máu, nôn ra máu, máu trong phân, bệnh trĩ và đi tiểu đau, được sử dụng bên ngoài cho các vết loét, nhọt và chất độc sưng tấy (黄雪玉, 2023).

KẾT LUẬN

1. Kết luận về nghiên cứu độc tính cấp của viên nang An Dạ

Chưa xác định được LD_{50} của viên nang An Dạ trên đường uống. Viên nang An Dạ không gây độc tính cấp trên chuột nhắt trắng ở liều 30,93 g bột dược liệu/kg (gấp 58,5 lần liều dùng dự kiến trên người).

2. Kết luận về tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng của viên nang An Dạ

Viên nang An Dạ liều 264 mg/kg/ngày x 10 ngày trên chuột cống trắng làm giảm chỉ số loét có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$) với % ức chế loét là 59,26%.

3. Kết luận về tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ

3.1. Tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ theo phương pháp rê kim

Viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày và 1056 mg/kg/ngày uống trong 7 ngày trên chuột nhắt trắng đều làm tăng có ý nghĩa thống kê lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với thời điểm trước khi uống mẫu thử ($p< 0,05$), mức tăng so với lô chứng sinh học chưa có giá trị thống kê ($p> 0,05$).

3.2. Tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ theo phương pháp mâm nóng

Viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày uống trong 7 ngày liên tục trên chuột nhắt trắng sự khác biệt về thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc và so với lô chứng sinh học chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Viên nang An Dạ liều 1056 mg/kg/ngày uống trong 7 ngày liên tục kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống mẫu thử có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) và so với lô chứng sinh học có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

KIẾN NGHỊ

Qua nghiên cứu trên thực nghiệm cho thấy viên nang An Dạ là sản phẩm có tính an toàn cao, có tác dụng hỗ trợ chống loét dạ dày- tá tràng, giảm đau. Do vậy đề tài đưa ra một số kiến nghị như sau:

- Thực hiện thêm các nghiên cứu về tính an toàn và tác dụng không mong muốn với thời gian dài hơn và trên các cơ quan khác (thần kinh trung ương, sinh sản,...) của động vật khi dùng viên nang An Dạ

- Thực hiện thêm nghiên cứu về cơ chế tác dụng khác của viên nang An Dạ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Salari N, Darvishi N, Shohaimi S, "The global prevalence of peptic ulcer in the world: A systematic review and meta-analysis.," *Indian J Surg*., 2021.

[2] Sayehmiri K, et al, "Prevalence of peptic ulcer in Iran: Systematic review and metaanalysis methods.," in Prevalence of peptic ulcer in Iran: Systematic review and metaanalysis methods. Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences. 2018; 23: 8., 2018.

[3] Phạm Thị Vân Anh và cộng sự, "Nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày - tá tràng của bài thuốc "Kiện tỳ chỉ thống HV" trên thực nghiệm Bài thuốc "Kiện tỳ chỉ thống HV," *Tạp chí y dược có truyén Việt Nam*. 2021. số 03(36): 25-32.

[4] Hà Thị Mai Hương và cộng sự, "Chất lượng cuộc sống của người bệnh loét dạ dày- tá tràng tại bệnh viện đa khoa tỉnh Vĩnh Phúc năm 2021". *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2022,156 (8): p. 310.

[5] Đoàn Văn Phan chủ biên , "*Bài 27 Thuốc điều chỉnh rối loạn tiêu hoá,"*. Dược lý học, NXB Y học, 2013, p. 350.

[6] Ngô Quý Châu chủ biên , "*Loét dạ dày tá tràng*," Bệnh học nội khoa tập 2 - YHN, NXB Y học, 2012, p. 24.

[7] Đào Văn Phan, "*Dược lý học lâm sàng, Trường Đại học Y Hà Nội*," Dược lý học lâm sàng, Nhà xuất bản Y học, 2018.

[8] Trần Quốc Bảo, BS Huỳnh Nguyễn Lộc, "*Vị thống," Bệnh học nội khoa y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng* (Dùng cho sau đại học), Hà Nội, Nhà Xuất bản Y học, 2020, p. 251.

[9] Thanh Tùng và cộng sự, "Đánh giá tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng của chế phẩm dạ dày hp gia phát trên động vật thực nghiệm,". *Tạp chí*

nghiên cứu y học, Hà Nội, 2021, pp. 78-85.

[10] Vũ Đức Lợi và cộng sự, "Nghiên cứu tác dụng giảm đau của phân đoạn dịch chiết từ lá cây Khôi Đốm (Sanchezia nobilis Hook.f.)," *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Y Dược*, 2018, Tập 34, Số 2, pp. 26-30.

[11] Wang YC, Huang TL, "Screening of anti-Helicobacter pylori herbs deriving from Taiwanese folk medicinal plants," *FEMS Immunol Med Microbiol* . 2005;43(2): 295-300.

[12] Hội khoa học tiêu hóa Việt Nam, "Khuyến cáo chẩn đoán và điều trị Helicobacter pylori tại Việt Nam.," 2013.

[13] Đào Văn Phan, "*Thuốc chữa viêm loét dạ dày," Dược lý học*, NXB Y học, 2006, pp. 401-407.

[14] Phạm Thị Minh Đức chủ biên, *Sinh lý học tập 1* (Dùng cho đào tạo sau đại học), NXB Y học, 2023, p. 420.

[15] Bộ môn Giải Phẫu, Trường Đại học Y Hà Nội, "*Dạ dày ruột non và tuỵ," Giải phẫu người, Hà Nội*, Nhà xuất bản Y học, 2023, p. 244 – 245..

[16] Đào Văn Long, "*Loét dạ dày tá tràng*," Bệnh học nội khoa tập II, NXB Y học, 2012, pp. 24-31.

[17] Choi SH, Kim DM, Lee J, Yun NR, "Endoscopic characteristics of infection-associated peptic ulcers. *Helicobacter*.," 2017.

[18] Trường đại học Y Hà Nội, "*Nội khoa Y học cổ truyền*," Nội khoa Y học cổ truyền, NXB Y học, 2006, pp. 154-159.

[19] Khoa Y học cổ truyền, Trường đại học Y Hà Nội, "*Viêm loét dạ dày- tá tràng*," Chuyên đề nội khoa y học cổ truyền, NXB Y Học, 2006, pp. 209-213.

[20] Đào Văn Phan chủ biên , *Dược lý học*, NXB Y Học, 2013, p. 128.

[21] "https://go.drugbank.com/drugs/DB11739".

[22] Jai Moo Shin, Keith Munson, Olga Vagin, and George Sachscorresponding author, "The gastric HK-ATPase: structure, function, and inhibition," *Pflugers Arch.*, 2009, p. 457(3): 609–622..

[23] Srinivasa N. Raja et al, "The Revised IASP definition of pain: concepts, challenges, and compromises," https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ pmc/ articles/PMC7680716/, 2020.

[24] Nguyễn Hữu Thành và cộng sự, "*Mục 1 Cảm Giác Đau*," Châm Cứu Tổng Hợp, NXB Y học, 2015, pp. 297-303.

[25] Phạm Thị Minh Đức chủ biên, *"Chức năng cảm giác của hệ thần kinh*," Sinh lý học (Dùng cho đào tạo sau đại học) tập 2, NXB Y Học, 2023, pp. 340-341.

[26] Đào Văn Phan chủ biên, *Dược lý học*, Nhà Xuất Bản Giáo Dục Việt Nam, 2013, pp. 368 - 369.

[27] Nguyễn Thị Thu Hà và cộng sự, "Viêm dạ dày và tá tràng (Vị quản thống)," Quyết định 5013/QĐ-BYT Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh theo y học cổ truyền, kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại, Bộ Y Tế, 2020.

[28] Trần Thái Hà và Trần Quang Đạt, "*Vị Quản Thống,"* Châm cứu, xoa bóp, dưỡng sinh, chữa và phòng một sô chứng bệnh ở người cao tuổi, NXB Y học, 2022, p. 275.

[29] Nguyễn Thị Thanh Tú, Phạm Thị Huệ, "Nghiên cứu tác dụng của viên hoàn cứng “Dạ dày HĐ” trong điều trị loét dạ dày tá tràng có helicobacter pylori âm tính," *Y học lâm sàng Bệnh viện Trung ương Huế* - Số 85/2023, 2023, pp. 73-79.

[30] Phạm Quốc Sự và cộng sự, "Đánh giá tác dụng của viên nang cứng dạ dày tuệ tĩnh trên mô hình loét dạ dày - tá tràng bằng Cysteamin ở động vật thực nghiệm," *Tạp chí Nghiên cứu Y học* (9) - 2022, p. 124.

[31] Đặng Kim Thu và cộng sự, "Nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày, tá tràng

của bột dinh dưỡng sử dụng một số dược liệu trồng ở vùng Tây Bắc," *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Y Dược*, Tập 34, Số 2 (2018), pp. 43-50.

[32] Võ Văn Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam,* Tập 2, NXB Y Học, 2012.

[33] Vũ Đức Lợi và cộng sự, "Nghiên cứu đặc điểm thực vật cây Cỏ rươi lá bắc (Murdannia bracteata (C.B.Clarke) J.K.Morton ex D.Y.Hong)," in *Tạp chí Khoa học Y dược – Đại học Quốc gia Hà Nội*. 2021 Số 2, pp. 32-38.

[34] Phạm Hoàng Hộ, *Cây cỏ Việt Nam,* Tập 3, Nhà xuất bản Y học, 2015, Tr. 376-380.

[35] 黄雪玉, 广西中越边境喀斯特地区药用植物资源调查与分析, 生命科学学院, 2023, p. 311.

(Huang Xueyu," *Khảo sát và Phân tích Tài nguyên Cây thuốc ở Khu vực Karst trên Biên giới Trung Quốc - Việt Nam tại Quảng Tây"*, Trường Khoa học Đời sống, 2023, tr.311

[36] 武丽琼 陈英敏 冯海燕 左雪冬, "雷州半岛药用植物资源调查与分析," 热带农业科学, 热带农业科学, 2022, pp. 1-8.

(Wu Liqiong, Chen Yingmin, Feng Haiyan, Zuo Xuedong, "Khảo sát và phân tích tài nguyên cây thuốc ở bán đảo Lôi Châu," *Khoa học nông nghiệp nhiệt đới, Khoa học nông nghiệp nhiệt đới,* 2022, trang 1-8.

[37] 苏钰岚, " 广西荔浦市药用植物资源调查与评价," 硕士学位论文, 生命科学学院 学科, 2022, p. 161.

(Su Yulan, *"Điều tra, đánh giá tài nguyên cây thuốc ở thành phố Lipu, Quảng Tây,"* Luận văn Thạc sĩ, Trường Khoa học Đời sống, 2022, tr.161)

[38] R, Govaerts et al, "World Checklist of Monocotyledons Database in ACCESS: 1–54382," in Govaerts R (2004), World Checklist of

Monocotyledons Database in ACCESS: 1–54382, The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew., 2004.

[39] Chang Yung Sing et al, "Vasorelaxation study and tri-step infrared spectroscopy analysis of Malaysian local Herbs," *Journal of pharmacopuncture* , 19(2), 2016, p. 145.

[40] Yonehara, M Takemura, M Yoshimura, et al, "Nitric oxide in the rat spinal cord in Freund's adjuvant-induced hyperalgesia.," *Jpn. J. Pharmacol.* 75, 327–335 10.1254/jjp.75.327, 327–335, p. 327–335.

[41] Marco Aurélio M. Freire, Joanilson S. Guimarães,Walace Gomes Leal, and Antonio Pereira, "Pain Modulation by Nitric Oxide in the Spinal Cord," *Front Neurosci*. 2009 Sep; 3(2), 2009, p. 175–181..

[42] Mitsuo Tanabe, Yoshinori Nagatani, Kazuya Saitoh, et al, "Pharmacological assessments of nitric oxide synthase isoforms and downstream diversity of NO signaling in the maintenance of thermal and mechanical hypersensitivity after peripheral nerve injury in mice.," Neuropharmacology 56, 2009, p. 702–708..

[43] Guei Jane Wang, Shih Ming Chen, Wei Chou Chen, et al, "Selective inducible nitric oxide synthase suppression by new bracteanolides from Murdannia bracteata," *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 2007, p. 221227.

[44] Ooi KL, Loh SI et al. "Growth inhibition of human liver carcinoma HepG2 cells and α-glucosidase inhibitory activity of Murdannia bracteata (CB Clarke) Kuntze ex JK Morton extracts," *Journal of Ethnopharmacology,* 162, 2015, pp. 55-60.

[45] Bộ Y Tế, "Về việc ban hành tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu". Số 141/QĐ-K2ĐT, 27/10/2015.," 2015.

[46] Đào Văn Phan, *Dược lý học,* NXB Giáo dục Việt Nam, 2013.

[47] J.-A. G, N. V, Anassori E và cộng sự, "Antiulcer properties of Glycyrrhiza glabra L. extract on experimental models of gastric ulcer in mice," Iranian journal of pharmaceutical research:IJPR, vol. 14, no. 4, p. 1163, 2015.

[48] C Carrasco-Pozoa, R L Castillo, C Beltránc, et al, "Molecular mechanisms of gastrointestinal protection by quercetin against indomethacin-induced damage," *Journal of Nutrition Biochemistry,* 2016, no. 27, pp. 289-298.

[49] Lee Y.-C., Cheng C.-W., Lee H.-J.j el al., "Apple Polyphenol Suppresses Indomethacin-Induced Gastric Damage in Experimental Animals by Lowering Oxidative Stress Status and Modulating the MAPK Signaling Pathway.," *J Med Food,* 2017, pp. 1113-1120..

[50] Besong EE, Obimma JN, "Gastroprotective Effect of Ethanolic Extract of Vigna Subterranea in Ethanol-induced Gastric Mucosal Ulceration in Rats.," *Indian J Physiol Pharmacol.*, 2018.

[51] Prasenjit Mitra, Tanaya Ghosh, Prasanta Kumar Mitra., "Anti-peptic Ulcer Activity of TLC Separated Fractions of Root Extract of Astilbe rivularis in rats," *European Journal of Biotechnology and Bioscience,* 2013, pp. 1(1):47-52..

[52] L, Takem, "Gastroprotective and anti-ulcer activities of aqueous extract of Phragmanthera capitata s. Balle in rats.," *Int J Phann Sci Res,* 5:3560-3565., 2014, pp. 5:3560-3565..

[53] Funai Y, P.A., Uta D et al. Systemic dexmedetomidine augments inhibitory synaptic transmission in the superficial dorsal horn through activation of descending noradrenergic control: an in vivo patch-clamp analysis of analgesic mechanisms. Pain, 2014., 2014, p. 617–628..

[54] HG, Vogel , Vogel HG, Chapter H: Analgesic, AntiInflammatory, and Anti-Pyretic Activity, Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays. 3rd edition, *Springer,* 2008, pp. 670-773.

[55] Raish M, Shahid M, Bin Jardan YA, et a, Gastroprotective Effect of Sinapic Acid on Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats: Involvement of Nrf2/HO-1 and NF-κB Signaling and Antiapoptotic Role, Front Pharmacol, 2021.

[56] Simões S, Lopes R, Campos MCD, et al. "Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation." *Animal Model Exp Med*, 2019, pp. 2(2):121-126..

[57] Szabo S, Reichlin S et al. "Somatostatin in rat tissues is depleted by cysteamine administration.," *Endocrinology*, 1981, pp. 2255-2257.

[58] F. Y. a. H. M. Ishii Y. "Gastric acid stimulating action of cysteamine in the rat," *European Journal of Pharmacology*. vol. no. 2, pp. 331–336, 2-s2.0-0017238726., 1976.

[59] Tamaki H., Onoda Y., and Kashida T, "Gastric secretion and duodenal ulcer formation induced by cysteamine in rats," *Japanese Journal of Pharmacology*, vol. no. 4, no. 2-s2.0-0018084452., pp. 647–649, 1978.

[60] Stiel D., Murray D. J., and Peters T. J, "Mucosal enzyme activities, with special reference to enzymes implicated in bicarbonate secretion, in the duodenum of rats with cysteamine-induced ulcers," Clinical Science, vol. no. 3, no. 2-s2.0-0020655, p. 341–347, 1983.

[61] Poulsen S. S., Olsen P. S., and Kirkegaard P., "Healing of cysteamine-induced duodenal ulcers in the rat," Digestive Diseases and Sciences, vol. 30, no. no. 2, p. 161–167, 1985.

[62] Khomenko T., Szabo S., Deng X., et al. "Khomenko T., Szabo S., Deng X., Ishikawa H., Anderson G. J., and McLaren G. D., Role of iron in the pathogenesis of cysteamine-induced duodenal ulceration in rat," *American Journal of Physiology*, vol. 296, no. no. 6, p. 21277–1286, 2009.

[63] Okabe S., Roth J. L. A., and Pfeiffer C. J, "A method for experimental,

penetrating gastric and duodenal ulcers in rats-observations on normal healing," *The American Journal of Digestive Diseases*, no. 3, p. 277–284, 1971.

[64] Lichtenberger L. M., Szabo S., and Reynolds E. S., "Gastric emptying in the rat is inhibited by the duodenal ulcerogens, cysteamine and propionitrile," *Gastroenterology*, vol. 13, no. 5, p. 1072–1076, 1977.

[65] Differentiating Between Peptic Ulcer Disease & Gastritis. September 2022. https://www.gutcare.com.sg/differentiating-between-peptic-ulcer-disease-gastritis/. Accessed May 6.

[66] Bộ Y Tế, "Indomethacin," *Dược thư Quốc gia Việt Nam*, tái bản lần 2, 2015, pp. 808-809.

[67] Nguyễn Thục Anh, "Nghiên cứu độc tính và tác dụng chống loét dạ dày thực nghiệm của cao chiết cỏ rươi lá bắc [Murdannia bracteata (C.B.Clarke) J.K.Morton ex D.Y.Hong]", Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam, 2023.

[68] Bộ Y Tế, "Codein Photphat," Dược Thư Quốc Gia Việt Nam, Hà Nội, NXB Khoa học và Kĩ Thuật, 2015, pp. 459-460.

[69] M. Barrot, "Tests and models of nociception and pain in rodents," Neuroscience, vol. 211, pp. 39-50, 2012.

[70] Mun Fei Yam, Yean Chun Loh, Chuan Wei Oo, Rusliza Basir, "Overview of Neurological Mechanism of Pain Profile Used for Animal “Pain-Like” Behavioral Study with Proposed Analgesic Pathways," Int J Mol Sci. 2020 Jun 19;21(12), p. 21, 2020.

[71] M T Bardo, R A Hughes, "Exposure to a nonfunctional hot plate as a factor in the assessment of morphine-induced analgesia and analgesic tolerance in rats," *Pharmacol Biochem Behav*. 1979;10(4):, pp. 481-5, 1979 .

[72] Gamble G.D., Milne R.J. "Repeated exposure to sham testing procedures

reduces reflex withdrawal and hot-plate latencies: Attenuation of tonic descending inhibition?," *Neurosci. Lett*. 1989;96, p. 312–317, 1989;96.

[73] Van Ree J.M., Leys A. "Behavioral effects of morphine and phencyclidine in rats: The influence of repeated testing before and after single treatment," *Eur. J. Pharmacol*. 1985-113, p. 353–362, 1985.

[74] Patricia V Turner, Daniel SJ Pang, Jennifer LS Lofgren. "A Review of Pain Assessment Methods in Laboratory Rodents," *Comp Med*. 2019 Dec;69(6), p. 451–467, 2019.

[75] Trần Quốc Bảo, *Bệnh học nội khoa y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng, NX*B Y học, 2020, pp. 661 - 662.

[76] Szelenyi I, Thiemer K., "Distention ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects.," *Arch Toxicol*. 1978, 1978, pp. 99-105.

[77] R. S. Szabo S. "Somatostatin in rat tissues is depleted by cysteamine administration.," *Endocrinology,* 1981, pp. 2255-2257.

[78] Cabeza et al. "Effect of melatonin against gastric injury caused by ischemia- reperfusion," Biological Rhythm Reseach Published., 2002, pp. 319- 332.

[79] Gerhard Vogel et al, "Drug discovery and evaluation Pharmacological assays. Chapter J: Activity on the gastrointestinal tract, ulcer through immobilization," *Springer*. J.3.7.2, 2006, pp. 868-869.

[80] Antonio J.M., Gracioso J.S., Toma W., et al(2004), "Antiulcerogenic activity of ethanol extract of Solanum variabile (false “jurubeba”)," J*ournal of ethnopharmacology,* 93(1), 2004, pp. 83-88..

[81] GH, Vogel, "Drug discovery and evaluation: pharmacological assays," Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. Springer Science & Business Media, 833- 872., *Springer Science & Business Media,* 2013,

pp. 833- 872..

[82] M Joshi, M Dorababu, T Prabha, M Kumar and R Goel, "Pterocarpus marsupium on NIDDM- induced rat gastric ulceration and mucosal offensive and defensive factors," Indian Journal of Pharmacology(36), 2004, pp. 296- 302..

[83] Phạm Bá Tuyến, Nguyễn Trọng Thông. Đỗ Thị Phương và cộng sự "Nghiên cứu tác dụng kháng Helicobacter Pylori và chống loét tá tràng cùa HPmax.," *Tạp chí nghiên cứu Y học.* 3(80), Hà Nội, 2021, pp. 109-115..

[84] Gerhard Vogel, H. Drug discovery and evaluation Pharmacological assays, Springer, 2016.

[85] W. H. Organization. " Working group on the safety and efficacy of herbal medicine," in Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization., 2013.

[86] Bộ Y Tế. "Thông tư 03/2012/TT-BYT, Thông tư hướng dẫn về thử thuốc trên lâm sàng.", 2012.

[87] Nguyễn Tô Hiệu, Hồ Cảnh Hậu, Lê Thị Hồng Hạnh và Lê Thị Huyền Trang, "Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của viên dạ dày 105 trên động vật thực nghiệm," *Tạp chí Y Dược quân sự*, số 5, pp. 20-29, 2023.

[88] Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương và cộng sự. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập I,II, Hà Nộ*i: NXB Khoa học và kỹ thuật, 2006.

[89] Prasenjit Mitra, Tanaya Ghosh, Prasanta Kumar Mitra. "Anti-peptic Ulcer Activity of TLC Separated Fractions of Root Extract of Astilbe rivularis in rats," in *European Journal of Biotechnology and Bioscience, European,* 2013, pp. 1(1):47-52.

[90] Nguyễn Trọng Hồng Phúc, "Mô hình chuột Mus musculus Viêm loét dạ

dày bởi ethanol, acetic acid và aspirin," *Tạp chí khoa học trường Đại học Cần Thơ,* vol. 57, no. 2A, pp. 67-77, 2021.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG CHỐNG LOÉT DẠ DÀY - TÁ TRÀNG, GIẢM ĐAU CỦA VIÊN NANG AN DẠ TRÊN THỰC NGHIỆM

Địa điểm nghiên cứu:
Viện Nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và Trung tâm Dược lý lâm sàng - Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.
Thời gian nghiên cứu:
05-09/2024

HÀ NỘI - 2024

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP CỦA VIÊN NANG AN DẠ TRÊN THỰC NGHIỆM

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Thuốc nghiên cứu:

Viên nang An Dạ (550mg/viên) gồm: 400mg Cao khô Cỏ Rươi Lá Bắc (*Murdannia bracteara*), tá dược (tinh bột, magnesi stearat, talc, aerosil): vừa đủ 550mg một do Trường Đại học Y Dược, ĐHQGHN bào chế và cung cấp.

1.2. Đối tượng nghiên cứu

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

Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Viện nghiên cứu 5-10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột (do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp), uống nước tự do.

1.3. Máy móc phục vụ 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.

1.4. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp theo hướng dẫn Bộ Y Tế về Hướng dẫn thử thuốc tiền lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu [1] [2][3]

Chuột nhắt trắng trọng lượng 20 ± 2g được chia thành từng lô, mỗi lô 10 con. Cho từng lô chuột uống thuốc thử với liều từ liều cao nhất không gây chết tới liều thấp nhất gây chết 100% chuột. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Theo dõi số chuột chết và tình trạng chung của chuột trong 7 ngày sau khi uống thuốc (ăn uống, hoạt động thần kinh, đi lại, leo trèo, bài tiết, ...). Tất cả chuột được mổ để đánh giá tổn thương đại thể.

Xác định liều chết 50% (LD 50) theo tỷ lệ chuột chết trong 7 ngày.

1.5. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý, tính toán LD50 (nếu có) bằng phần mềm probit

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Viên nang An Dạ

Lô chuột	n	Liều (ml dung dịch đậm đặc/kg)	Liều (Viên/kg)	Liều (gam bột dược liệu/kg	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	45	33,75	18,56	0	Không
Lô 2	10	60	45,0	24,75	0	Không
Lô 3	10	75	56,25	30,93	0	Không

Kết quả bảng 1 cho thấy: Tất cả các chuột đã thử nghiệm ở các liều khác nhau, thậm chí lô chuột uống tới liều tối đa chuột có thể dung nạp được là 30.93g bột dược liệu/kg/ngày (1 viên tương ứng 550mg bột dược liệu), không xuất hiện triệu chứng bất thường nào khi theo dõi liên tục trong 7 ngày sau khi uống mẫu thử. Không xác định được LD_{50} của mẫu thử.

III. KẾT LUẬN

- Chưa xác định được LD_{50} trên chuột nhắt trắng của Viên nang An Dạ theo đường uống.

- Viên nang An Dạ không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 56,25 viên /kg hay 30,93 gam bột dược liệu/kg.

- Viên nang An Dạ ở liều gấp 58,5 lần liều dùng dự kiến trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống (Tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều tối đa 4 viên/ngày/người).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y Tế (2015)**, "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu". Số 141/QĐ-K2ĐT, 27/10/2015.,"
2. **Gerhard Vogel H.** (2016), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
3. **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

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG LOÉT DẠ DÀY - TÁ TRÀNG CỦA VIÊN NANG AN DẠ TRÊN MÔ HÌNH GÂY LOÉT BẰNG CYSTEAMIN Ở ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mẫu nghiên cứu

- Tên mẫu nghiên cứu: MNC
- Dạng bào chế: Viên nang chứa 550 mg bột dược liệu
- Liều dùng trên người: 4 viên/ngày = 2,2g bột dược liệu/ngày
- Liều dùng trên chuột cống trắng: 264 mg bột/kg/ngày và 528 mg bột/kg/ngày

1. Hoá chất và máy phục vụ nghiên cứu

1.1. Thuốc, hoá chất phục vụ nghiên cứu

- Cysteamin (hãng Energy Chemical, Trung Quốc)
- Famotidin viên nén 40 mg (Công ty cổ phần Dược phẩm Trung ương Vidiphar)
- Nước muối sinh lý (Braun)
- Chloralhydrate (Shanghai Zhanyun Chemical Co.Ltd - Trung Quốc)
- Formaldehyd, các hóa chất làm giải phẫu bệnh.

1.2.Máy phục vụ nghiên cứu

- Bộ dụng cụ phẫu thuật
- Máy chụp hình
- Kính lúp, kính hiển vi

2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 180 – 220g. Chuột được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý ĐH Y Hà Nội

1. Phương pháp nghiên cứu

Tác dụng chống loét dạ dày – tá tràng của các mẫu thử MNC được đánh giá trên mô hình gây loét dạ dày - tá tràng bằng uống cysteamin (CYS) liều 400 mg/kg x 2 lần trên chuột cống trắng [1-3].

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô nghiên cứu, mỗi lô 10 con với tỉ lệ đực/cái như nhau ở mỗi lô.

- Lô Chứng sinh học: Uống nước cất 10 mL/kg
- Lô Mô hình: Uống nước cất 10 mL/kg + uống CYS.
- Lô Famotidin: Uống famotidin 50 mg/kg + uống CYS
- Lô MNC liều 264 mg bột/kg/ngày (MNC liều thấp): uống MNC liều 264 mg bột/kg/ngày + uống CYS (tương đương liều điều trị dự kiến trên người, hệ số ngoại suy trên chuột cống trắng là 6).
- Lô MNC liều 528 mg bột/kg/ngày (MNC liều cao): uống MNC liều 528 mg bột/kg/ngày + uống CYS

Chuột ở các lô được uống mẫu thử hoặc nước cất liên tục trong thời gian 10 ngày. Tại ngày thứ 10 của nghiên cứu, sau 1 giờ uống mẫu thử, chuột ở các lô từ 2 đến 5 được uống CYS liều 400 mg/kg x 2 lần cách nhau 4 giờ. Chuột được nhịn ăn 18 tiếng trước khi uống CYS. Sau 24 giờ kể từ khi uống CYS, tất cả các chuột được gây mê bằng chloralhydrate, mổ bụng, quan sát dạ dày-tá tràng để đánh giá kết quả.

- Tất cả chuột được đánh số mã hóa, nghiên cứu viên làm mù để không biết chuột ở lô nào, nhằm mục đích hạn chế sai số.
- Chuột được mổ bụng, bộc lộ dạ dày. Phần ống tiêu hóa từ thực quản (sát tâm vị) đến ruột non (cách môn vị 3 cm) được cắt riêng rẽ, mở tá tràng và dạ dày bằng kéo theo đường bờ cong lớn. Rửa sạch bằng nước muối sinh lý, thấm bề mặt vết loét bằng formaldehyd 5%, cố định dạ dày- tá tràng trên tấm xốp bằng ghim.
- Quan sát bằng kính lúp độ phóng đại 10 lần, đánh giá mức độ loét theo thang điểm của Raish M và cộng sự (2021) [4] như sau:

+ Dạ dày bình thường (Normal stomach): 0 điểm.
+ Sung huyết (Red coloration): 0,5 điểm.
+ Xuất huyết (Hemorrhagic spots): 1,0 điểm.
+ 1-5 loét nhỏ (1-5 small ulcers): 2,0 điểm
+ Nhiều loét nhỏ (many small ulcers): 3,0 điểm
+ Nhiều loét nhỏ và lớn (many small and large ulcers): 4,0 điểm.
+ Thủng dạ dày (stomach full of ulcers with perforations): 5,0 điểm.

- Các chỉ số đánh giá:

+ Tỷ lệ chuột có loét dạ dày-tá tràng ở mỗi lô nghiên cứu.
+ Số lượng tổn thương dạ dày- tá tràng trung bình ở mỗi lô.

+ Chỉ số loét (Ulcer Index – UI) là điểm mức độ loét đại thể của mỗi lô.

+ Phần trăm ức chế loét được tính theo công thức:

$$\% \text{ Ức chế loét} = \frac{(UI\ mô\ hình - UI\ thuốc\ thử) \times 100}{UI\ mô\ hình}$$

+ Hình ảnh đại thể dạ dày chuột

***Bảng 1.1*. Thang điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày-tá tràng**

	Điểm 0	**Điểm 1**	**Điểm 2**	**Điểm 3**
Độ sâu của tổn thương trợt	Tế bào bình thường, không tổn thương trợt	Lên đến 1/3 độ dày niêm mạc	Lên đến 2/3 độ dày niêm mạc	Toàn bộ niêm mạc
Độ sâu của tổn thương loét	Tế bào bình thường, không tổn thương loét	Tổn thương giới hạn tại cơ niêm	Tổn thương vượt qua cơ niêm, giới hạn ở tầng dưới niêm mạc	Tổn thương loét sâu đến tầng cơ
Xuất huyết	Tế bào bình thường, không xuất huyết	Tại chỗ	Nhẹ	Nặng
Viêm	Tế bào bình thường, không viêm	Có thể quan sát được	Nhẹ	Nặng
Apoptosis	Tế bào bình thường, không apoptosis	Có thể quan sát được	Nhẹ	Nặng

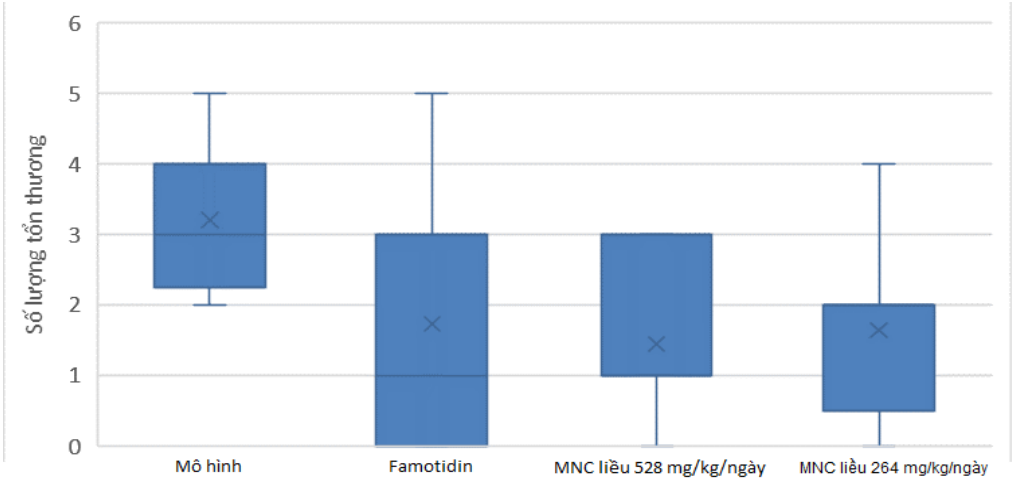
+ Hình ảnh vi thể dạ dày của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô. Đánh giá mức độ tổn thương trên hình ảnh vi thể dạ dày theo thang điểm của Simões S và cộng sự [5] và được điều chỉnh như trong Bảng 1.1. Điểm tổn thương vi thể được tính bằng tổng điểm của các tham số đánh giá, với điểm tối đa có thể là 15.

3. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.0, sử dụng test thống kê thích hợp. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

2.1.Ảnh hưởng của MNC đến số lượng tổn thương ở dạ dày-tá tràng



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của MNC đến số lượng tổn thương ở dạ dày-tá tràng

Biểu đồ 1 và Bảng 1 trình bày số lượng tổn thương ở dạ dày - tá tràng của các lô nghiên cứu trên quan sát đại thể

- Lô mô hình: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 2,25-4. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 5 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 2.
- Lô uống famotidin: Số lượng tổn thương ít hơn so với lô mô hình, dao động chủ yếu trong khoảng 0-3. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 5 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.
- Lô uống MNC liều 528 mg/kg/ngày: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 1-3. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 3 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.
- Lô uống MNC liều 264 mg/kg/ngày: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 0,5-2. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 4 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.

Bảng 1. Ảnh hưởng của MNC đến số lượng tổn thương ở dạ dày-tá tràng

Lô nghiên cứu	Số lượng tổn thương			
	Min	Max	Median	Q1:Q3
Mô hình	2	5	3	2,25:4
Famotidin	0	5	1	0:3
MNC liều 264 mg/kg/ngày	0	4	2	0,5:2
MNC liều 528 mg/kg/ngày	0	3	1	1:3

Bảng 2. Ảnh hưởng của MNC đến số tổn thương trung bình ở dạ dày - tá tràng

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ loét	Số tổn thương

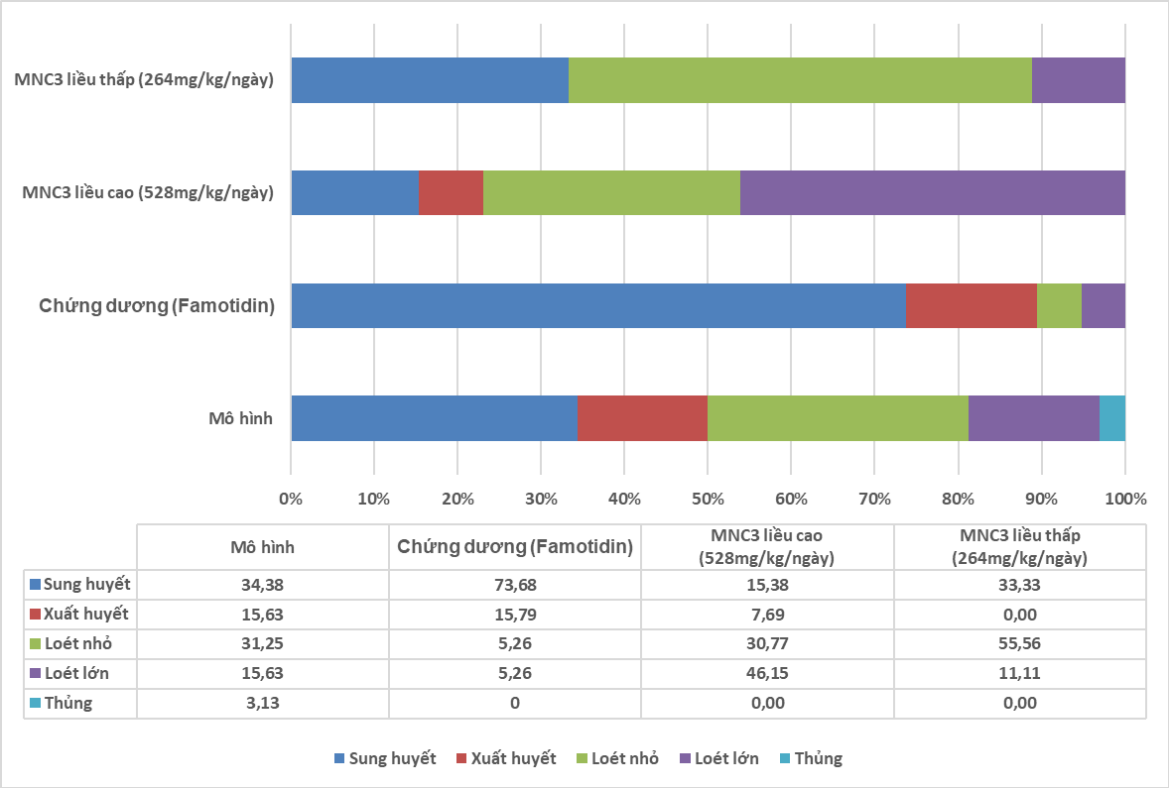
			($\underline{X}$ ± SD)
Mô hình	10	7/10	3,2 ± 1,0
Famotidin	10	2/10	1,7 ± 1,8*
MNC liều 264 mg/kg/ngày	10	6/10	1,6 ± 1,3*
MNC liều 528 mg/kg/ngày	10	6/10	1,4 ± 1,2*

**p < 0,05 so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)*

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 2 cho thấy:

- 70% chuột ở lô mô hình có hình ảnh loét dạ dày-tá tràng.
- Famotidin và MNC ở các mức liều nghiên cứu đều làm giảm số lượng tổn thương trung bình so với lô mô hình, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p< 0,05$).

2.2. Ảnh hưởng của MNC đến mức độ tổn thương ở dạ dày-tá tràng



	Mô hình	Chứng dương (Famotidin)	MNC3 liều cao (528mg/kg/ngày)	MNC3 liều thấp (264mg/kg/ngày)
Sung huyết	34,38	73,68	15,38	33,33
Xuất huyết	15,63	15,79	7,69	0,00
Loét nhỏ	31,25	5,26	30,77	55,56
Loét lớn	15,63	5,26	46,15	11,11
Thủng	3,13	0	0,00	0,00

***Biểu đồ 2**. Ảnh hưởng của MNC đến mức độ tổn thương dạ dày - tá tràng trên quan sát đại thể*

Kết quả ở Biểu đồ 2 cho thấy:

- Tình trạng thủng dạ dày chỉ xuất hiện ở lô mô hình.
- Tổn thương nặng như xuất huyết không xuất hiện ở MNC liều 264 mg/kg/ngày nhưng vẫn tồn tại ở MNC liều 528 mg/kg/ngày (7,69%), đã giảm so với mô hình (15,63%) và Famotidin (15,79%).
- Tổn thương loét nhỏ xuất hiện cao nhất ở lô MNC liều 264 mg/kg/ngày (55,56%) sau đó là lô mô hình (31,25%) và MNC liều 528 mg/kg/ngày (30,17%), tỷ lệ xuất huyết thấp nhất ở lô uống Famotidin (5,26%).
- Tổn thương loét lớn xuất hiện cao nhất ở MNC liều 528 mg/kg/ngày (46,15%), sau đó là lô mô hình (15,63%), MNC liều 264 mg/kg/ngày (11,11%), Famotidin (5,26%),

***Bảng 3**. Ảnh hưởng của MNC đến chỉ số loét dạ dày- tá tràng*

Lô nghiên cứu (n=10)	Tỷ lệ loét	Chỉ số loét (UI)	% ức chế loét
Mô hình	7/10	2,7 ± 1,5	- -
Famotidin	2/10	0,8 ± 1,2*	70,37
MNC liều 528 mg/kg/ngày	6/10	2,6 ± 1,8	3,7
MNC liều 264 mg/kg/ngày	6/10	1,1 ± 1,0*	59,26

**p < 0,05 so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)*

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy:

- Famotidine làm giảm chỉ số loét có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).
- MNC liều 264 mg/kg/ngày làm giảm chỉ số loét có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$). Chỉ số loét ở lô dùng MNC liều 528 mg/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p > 0,05$).

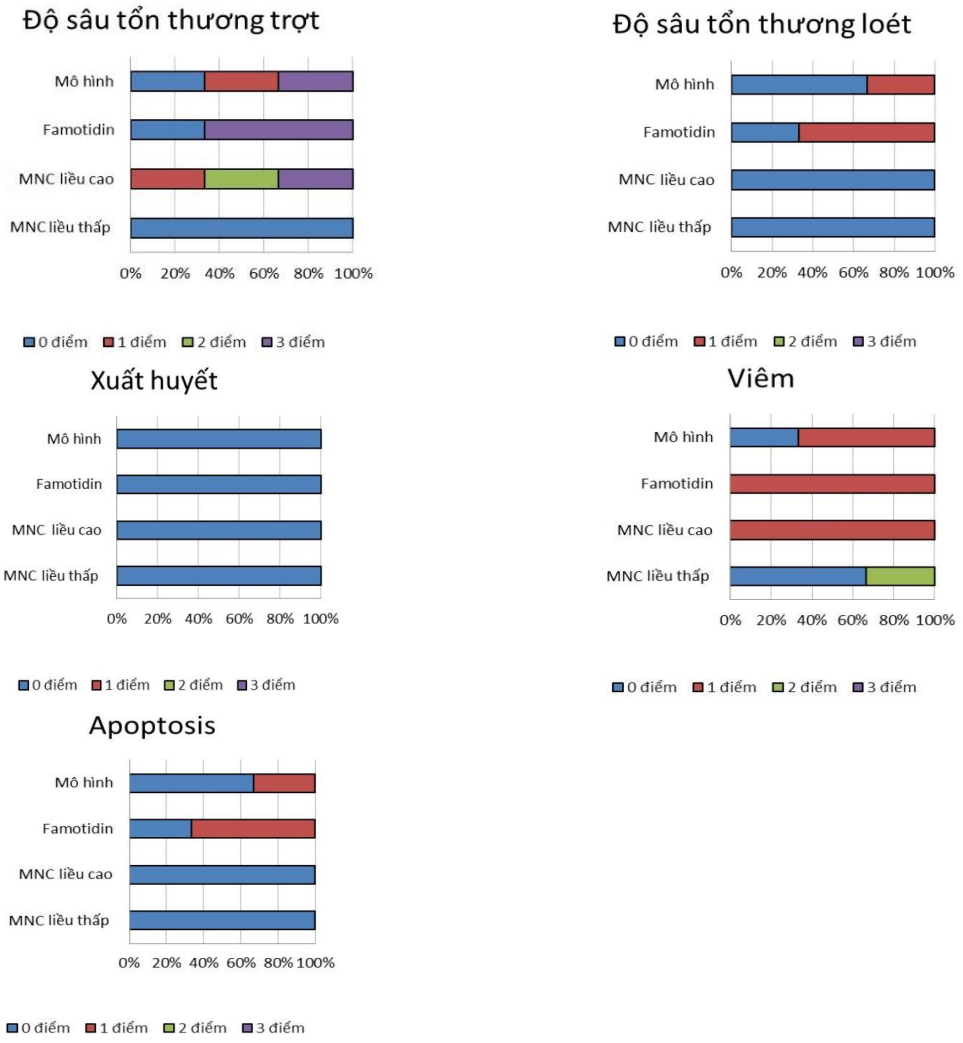
2.3.Ảnh hưởng của MNC đến hình ảnh mô bệnh học dạ dày chuột

Bảng 4. Điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột

Lô nghiên cứu	**Tổng điểm trung bình**
Chứng	0,00
Mô hình	2,70 ± 3,10
Famotidin	4,30 ± 2,90
MNC liều 528 mg/kg/ngày	3,00 ± 1,00
MNC liều 264 mg/kg/ngày	0,67 ± 1,15

**p < 0,05 so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)*

Quan sát điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột ở Bảng 4 nhận thấy mức độ tổn thương có xu hướng cải thiện ở các lô uống MNC liều 264 mg/kg/ngày, thể hiện ở điểm vi thể trung bình ở lô này thấp hơn so với lô mô hình không được dùng thuốc nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0.05$).



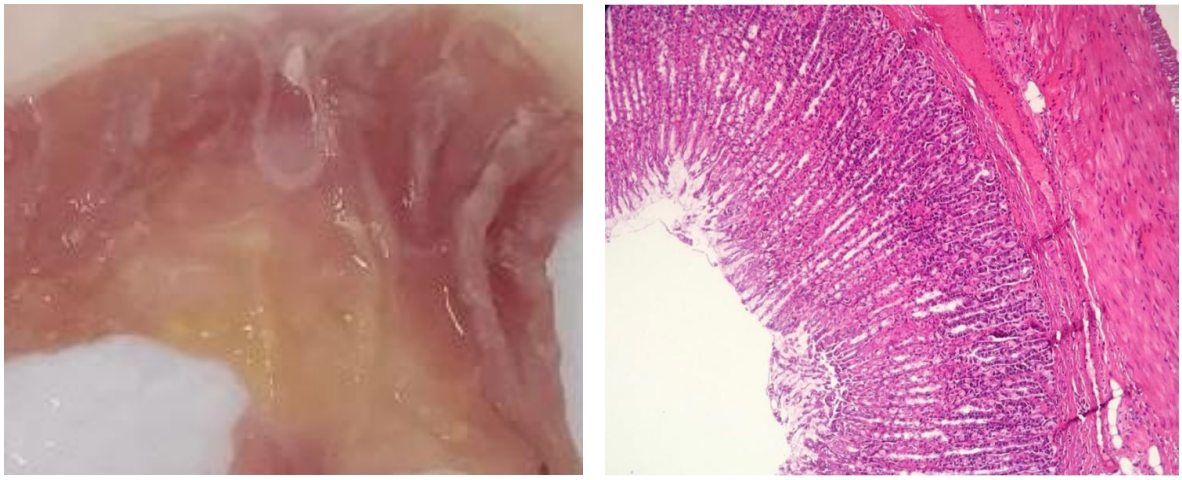
***Biểu đồ 3*. Các thông số đánh giá trên hình ảnh vi thể**

Biểu đồ 3 trình bày cụ thể về điểm tổn thương của từng thông số đánh giá trên quan sát vi thể.

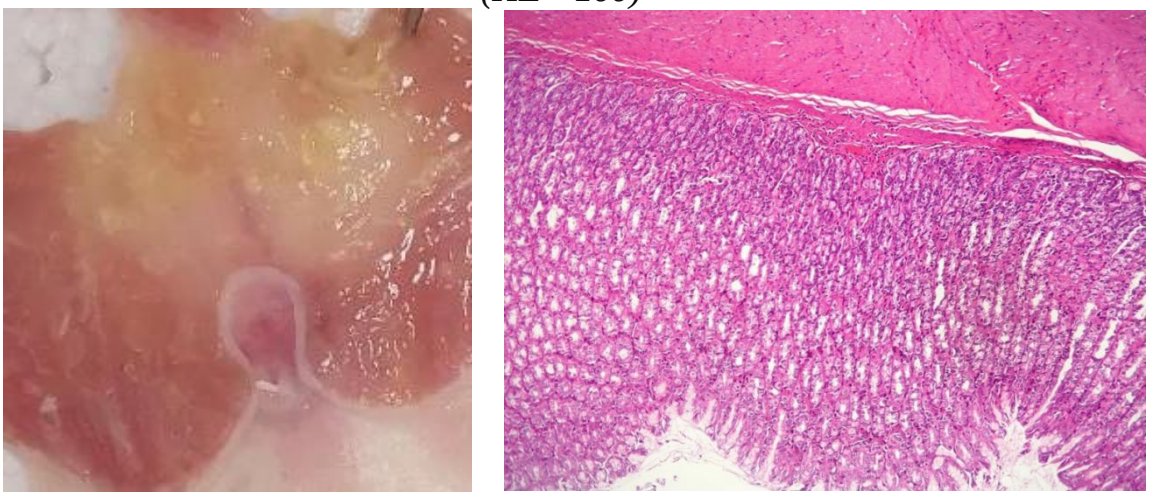
- Không có hình ảnh xuất huyết ở tất cả các mẫu dạ dày.
- Độ sâu của tổn thương trợt: Mức độ trợt nặng được quan sát thấy ở lô mô hình với 33,33% mẫu dạ dày có độ sâu tổn thương ở mức toàn bộ niêm mạc (3 điểm); 33,33% mẫu có độ sâu tổn thương lên đến 1/3 độ dày niêm mạc. 100% mẫu dạ dày ở lô MNC liều 528 mg/kg/ngày đều quan sát tổn thương trợt (trong đó mức điểm 1, 2,3 đều chiếm tỷ lệ là 33,33%). Không quan sát thấy tổn thương trợt ở lô uống MNC liều 264 mg/kg/ngày
- Độ sâu của tổn thương loét: Tổn thương loét ở lô mô hình có 33,33% mẫu dạ dày có hình ảnh tổn thương loét giới hạn ở cơ niêm. 100% mẫu dạ dày của các lô uống MNC có hình ảnh tế bào bình thường, không tổn thương loét (0 điểm).
- Xuất huyết: 100% mẫu dạ dày không có tổn thương dạng xuất huyết
- Viêm: 66,67% mẫu dạ dày ở lô mô hình và 100% mẫu dạ dày ở lô MNC liều 528 mg/kg/ngày quan sát được viêm (mức độ 1). Mức độ viêm nhẹ (2

điểm) được quan sát thấy ở 33,33% mẫu dạ dày ở lô MNC liều 264 mg/kg/ngày.

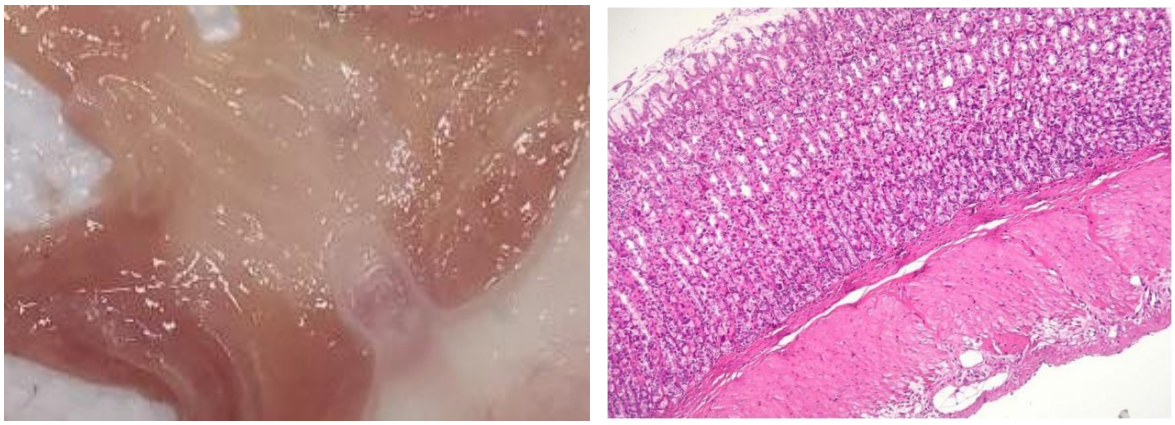
- Apotosis: Lô mô hình có 33,33% mẫu dạ dày có thể quan sát được apoptosis (mức độ 1). Ở lô uống MNC các liều đều không quan sát thấy apoptosis.



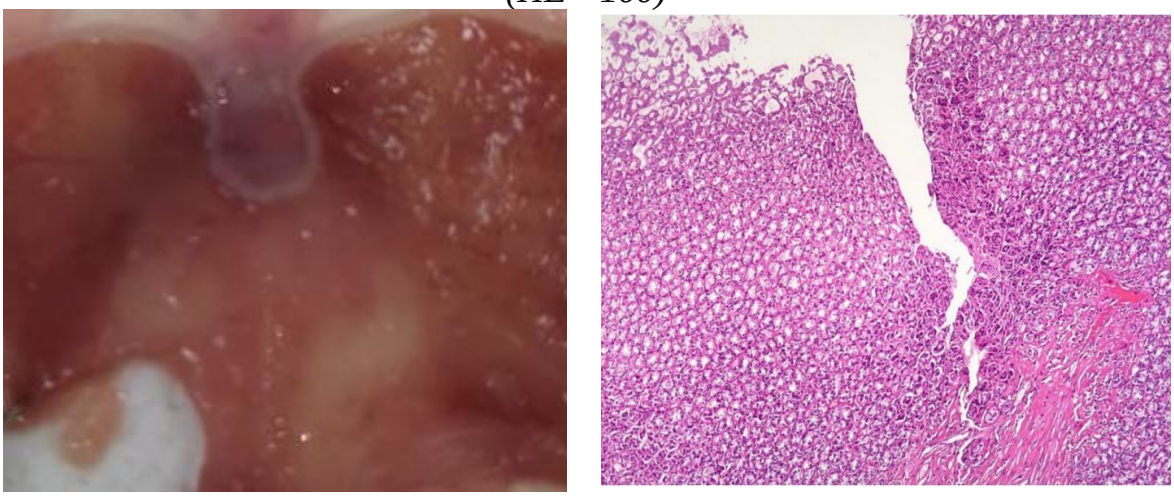
***Hình 1*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng sinh học** (mã VLDD-C01)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Không xuất hiện tổn thương trên các tầng mô (HE ×100)



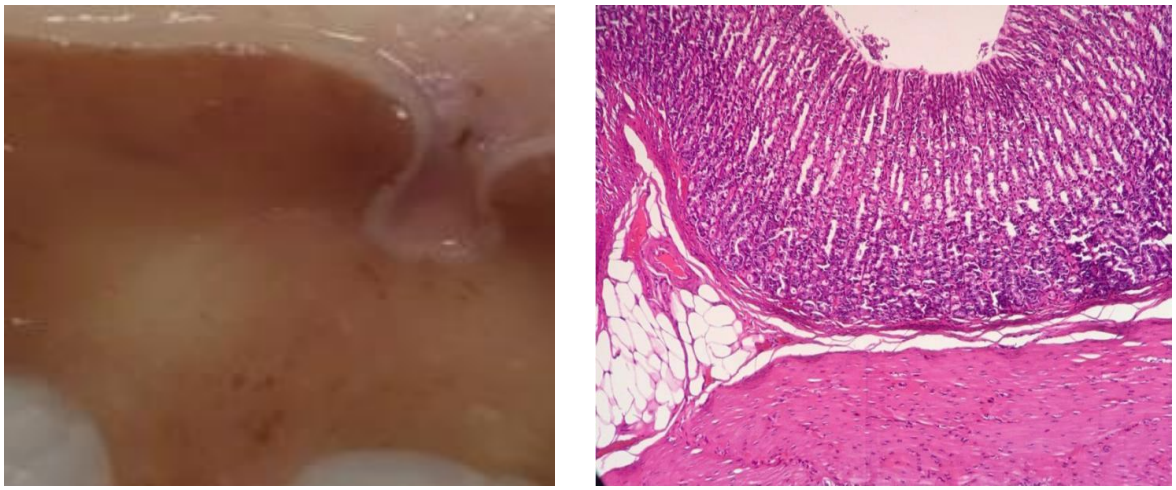
***Hình 2*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng sinh học** (mã VLDD-C05)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Không xuất hiện tổn thương trên các tầng mô (HE ×100)



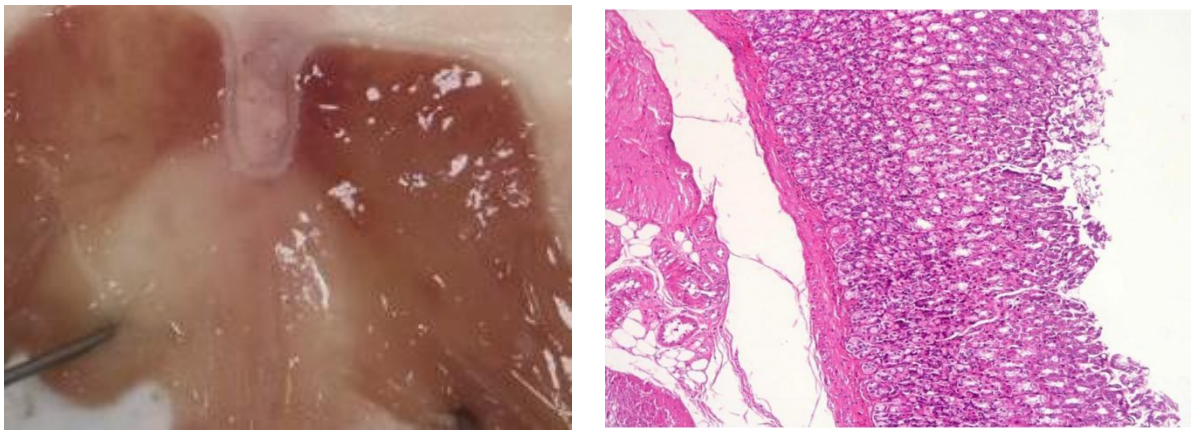
***Hình 3*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng sinh học** (mã VLDD-C09)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Không xuất hiện tổn thương trên các tầng mô (HE ×100)



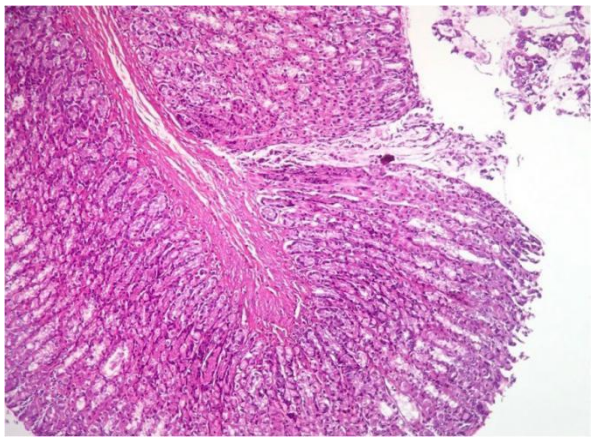
***Hình 4*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô mô hình** (mã VLDD-C15)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Rải rác một số điểm có tổn thương loét hoại tử đến lớp cơ niêm. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính và lympho bào (HE ×100)



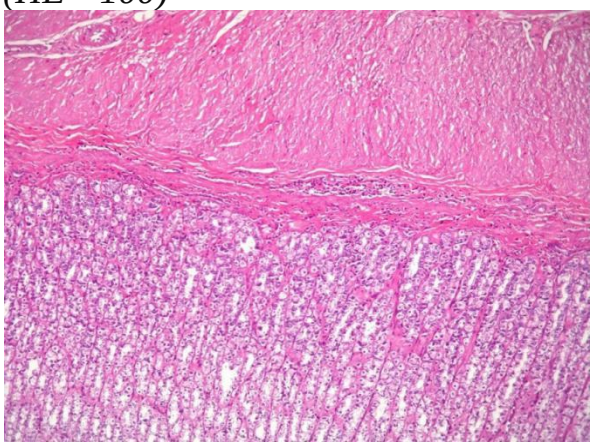
***Hình 5*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô mô hình** (mã VLDD-C16)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Không xuất hiện tổn thương trên các tầng mô (HE ×100)



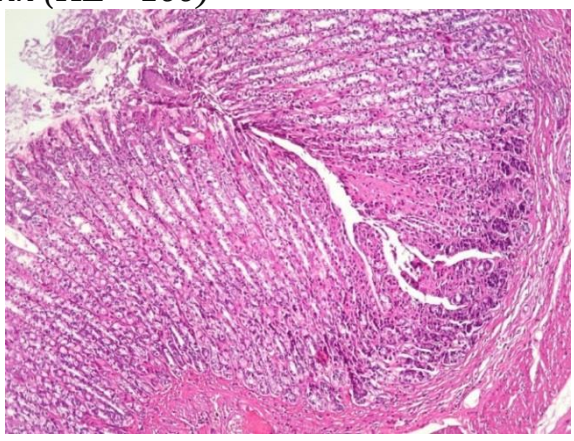
***Hình 6*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô mô hình** (mã VLDD-C17)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Rải rác một số vùng niêm mạc bong tróc ở 1/3 trên của lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE ×100)



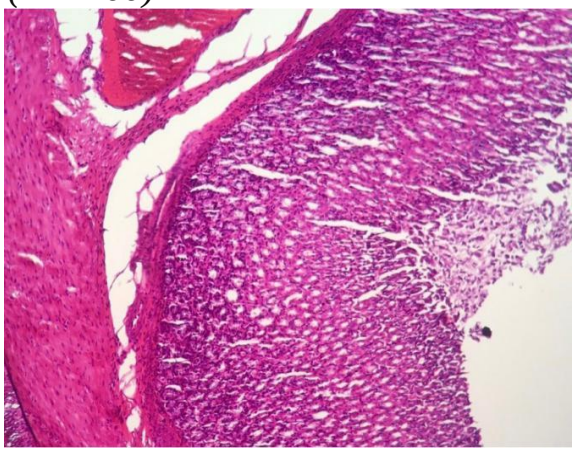
***Hình 7*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng dương** (mã VLDD-C22)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Rải rác một số điểm có tổn thương loét hoại tử đến lớp cơ niêm. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính và lympho bào. (HE ×100)



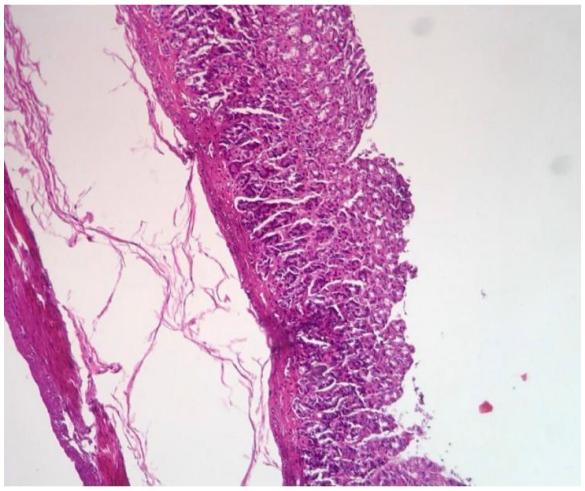
***Hình 8*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng dương** (mã VLDD-C24)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE ×100)



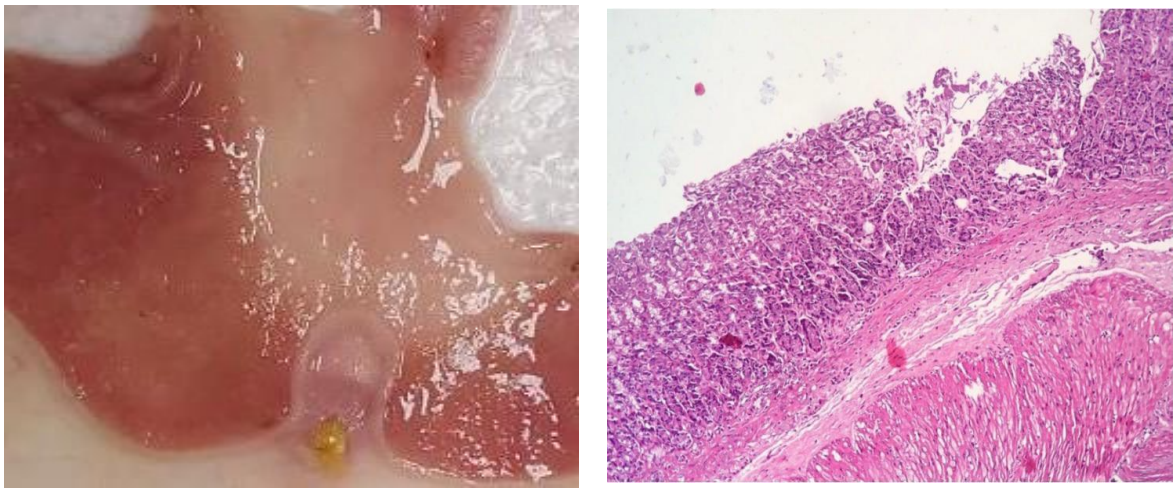
***Hình 9*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng dương** (mã VLDD-C32)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Rải rác một số điểm có tổn thương loét hoại tử đến lớp cơ niêm. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính và lympho bào (HEx100)



***Hình 10*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC liều 528 mg/kg/ngày** (mã VLDD-C76)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Rải rác một số vùng niêm mạc bong tróc ở 1/3 trên của lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính và lympho bào (HE ×100)

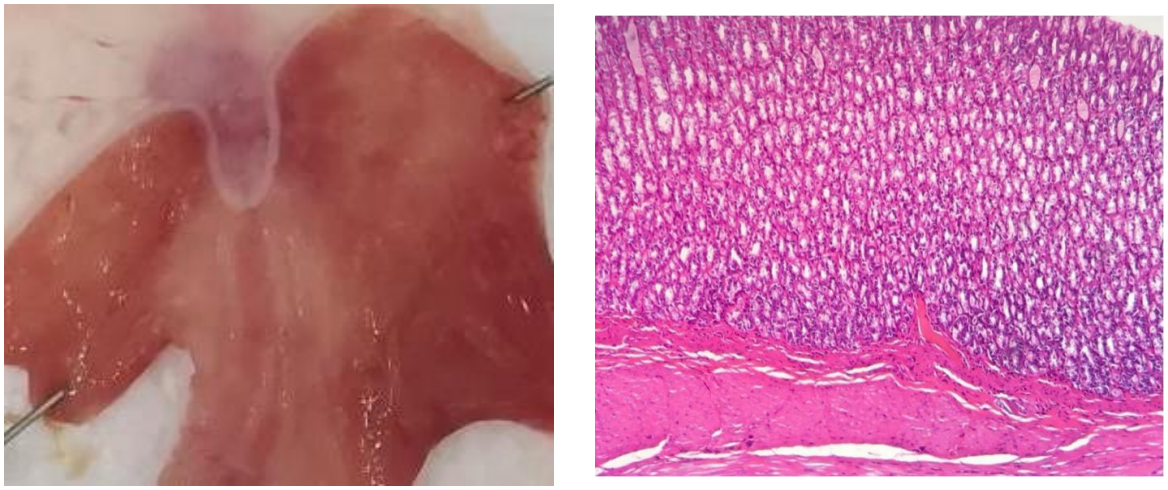


***Hình 11*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC liều 528 mg/kg/ngày** (mã VLDD-C79)
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Rải rác một số vùng niêm mạc bong tróc đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính và lympho bào (HE ×100)



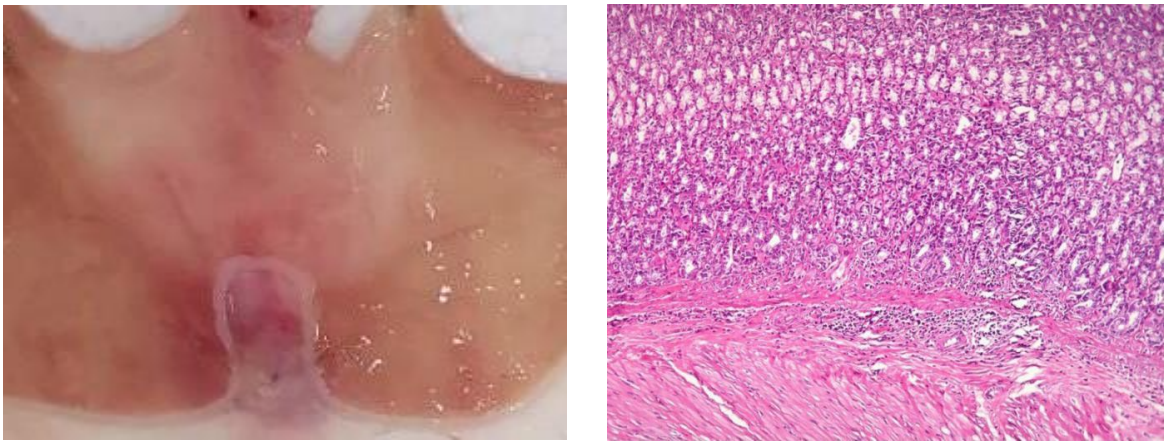
***Hình 12*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC liều 528 mg/kg/ngày** (mã VLDD-C81)

Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Rải rác một số vùng niêm mạc bong tróc toàn bộ chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính và lympho bào (HE ×100)



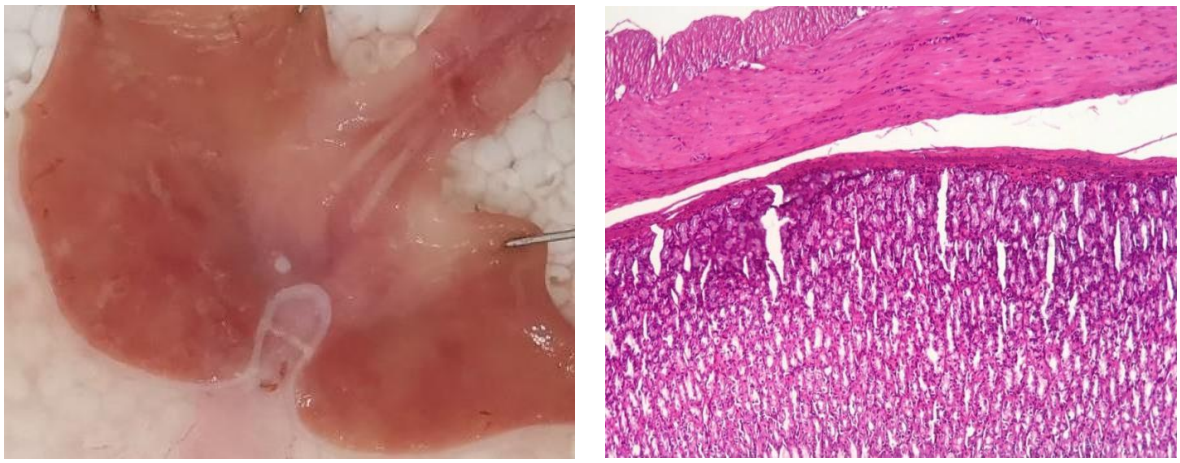
***Hình 13*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC liều 264 mg/kg/ngày** (mã VLDD-C85)

Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Không xuất hiện tổn thương trên các tầng mô (HE ×100)



***Hình 14*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC liều 264 mg/kg/ngày** (mã VLDD-C93)

Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn chế nhày lành tính. Mô đệm xâm nhập nhiều lympho bào và bạch cầu hạt trung tính (HE ×100)



***Hình 15*. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC liều 264 mg/kg/ngày** (mã VLDD-C94)

Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Không xuất hiện tổn thương trên các tầng mô (HE ×100)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Selye H, Szabo S. Experimental Model for Production of Perforating Duodenal Ulcers by Cysteamine in the Rat . Nature. 1973; 244(5416): 458-459.
2. Singh, R., Gupta, A., & Patel, S. (2022). Pharmacological Screening Model and Its Treatment of Peptic Ulcer Disease. Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology, 1(5), 36–47.
3. Hoshino R, Kagoshima M, Shimada H. [Effects of 3-hydroxymethyl-2-methylimidazo [2, 1-b] benzothiazole (NIK-228) on gastric acid secretion and various experimental peptic ulcers in rats]. Nihon Yakurigaku Zasshi. 1991 May;97(5):287-96.
4. Raish M, Shahid M, Bin Jardan YA, Ansari MA, Alkharfy KM, Ahad A, Abdelrahman IA, Ahmad A, Al-Jenoobi FI. Gastroprotective Effect of Sinapic Acid on Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats: Involvement of Nrf2/HO-1 and NF-κB Signaling and Antiapoptotic Role. Front Pharmacol. 2021;12:622815. doi: 10.3389/fphar.2021.622815.
5. Simões S, Lopes R, Campos MCD, Marruz MJ, da Cruz MEM, Corvo L. Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation. Animal Model Exp Med. 2019;2(2):121-126.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GIẢM ĐAU CỦA VIÊN NANG AN DẠ TRÊN MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mẫu nghiên cứu

- Tên mẫu nghiên cứu: MNC
- Dạng bào chế: Viên nang chứa 550 mg bột dược liệu
- Liều dùng trên người (dự kiến): 4 viên/ngày = 2,2g bột dược liệu/ngày
- Liều dùng trên chuột : 528 mg bột/kg/ngày và 1056 mg bột/kg/ngày

2. Hoá chất và máy phục vụ nghiên cứu

2.1. Thuốc, hoá chất phục vụ nghiên cứu

- Codein phosphat, cồn 70 độ, Máy đo ngưỡng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 (Ugo Basile, Ý).

2.2. Máy phục vụ nghiên cứu

- Máy chụp hình
- Dụng cụ và vật liệu dùng trong nghiên cứu (bông, khay, gạc, kéo, panh...)

3. Đối tượng nghiên cứu

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

4. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp mâm nóng (Hot plate)

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 11 con:

Lô 1 (Chứng sinh học): uống nước cất liều 0,2 mL/10 g/ngày.

Lô 2: Uống Codein phosphat 20 mg/kg.

Lô 3: Uống MNC liều 528 mg bột/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12).

Lô 4: Uống MNC liều 1056 mg bột/kg/ngày

Chuột các lô được uống nước hoặc thuốc mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 7 ngày liên tục.

Đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 2 giờ. Đặt chuột lên mâm nóng (hot plate) luôn duy trì ở nhiệt độ 56^0C bằng hệ thống ổn nhiệt. Tính thời gian từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột liếm chân sau. Loại bỏ những chuột phản ứng 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.

Phương pháp rê kim

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 11 con

Lô 1 (Chứng sinh học): uống nước cất liều 0,2 mL/10 g/ngày.

Lô 2: Uống Codein phosphat 20 mg/kg.

Lô 3: Uống MNC liều 528 mg bột/kg/ngày (tương đương liều dự kiến trên người, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12).

Lô 4: Uống MNC liều 1056 mg bột/kg/ngày

Chuột các lô được uống nước hoặc thuốc mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 7 ngày liên tục.

Đo thời gian phản ứng với đau của chuột và lực gây đau đối với chuột (sử dụng máy Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của Ugo Basile) trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 2 giờ. So sánh thời gian phản ứng với kích thích đau trước và sau khi uống thuốc thử.

3. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.0, sử dụng test thống kê thích hợp. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả đánh giá tác dụng dụng giảm đau theo phương pháp mâm nóng

Bảng 1. Ảnh hưởng của mẫu nghiên cứu MNC lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng

Lô chuột (n = 11)	**Thời gian phản ứng với nhiệt độ (s)**		**$p_{trước-sau}$**
	Trước	**Sau**	
Lô 1 (Chứng sinh học)	16,36 ± 3,12	15,98 ± 2,41	> 0,05
Lô 2 (Codein 20 mg/kg)	14,18 ± 3,01	21,20 ± 5,46**	< 0,001
Lô 3 (Mẫu MNC 528 mg/kg/ngày)	16,29 ± 4,90	18,58 ± 4,94	> 0,05
Lô 4 (Mẫu MNC 1056 mg/kg/ngày)	14,40 ± 2,98	20,03 ± 4,16*	*< 0,01*

**p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 khi so sánh với nhóm chứng*

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy:

- Không có khác biệt có ý nghĩa thống kê về thời gian phản ứng với nhiệt độ ở tất cả các lô nghiên cứu tại thời điểm trước uống thuốc (p>0,05).
- Codein 20 mg/kg/ngày có tác dụng kéo dài rõ rệt có ý nghĩa thống kê về thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống codein (p < 0,001) và so với lô chứng sinh học (p<0,01).
- Các lô MNC:

+ Liều 528 mg/kg/ngày: có xu hướng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc và so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).
+ Liều 1056 mg/kg/ngày: kéo dài có ý nghĩa thống kê thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc ($p < 0,01$) và so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$)

2. Kết quả đánh giá tác dụng dụng giảm đau theo phương pháp rê kim

Bảng 2. Tác dụng giảm đau của mẫu nghiên cứu MNC trên chuột nhắt trắng bằng máy đo phản ứng đau

Lô chuột (n = 11)	**Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau (gam)**		**Thời gian phản ứng đau (giây)**	
	Trước	**Sau**	**Trước**	**Sau**
Lô 1 (Chứng sinh học)	8,12 ± 1,29	8,09 ± 1,26 $p_{trước\text{-}sau}$ >0,05	4,68 ± 0,84	4,66 ± 0,78 $p_{trước\text{-}sau}$ >0,05
Lô 2 (Codein 20mg/kg/ ngày)	8,65 ± 1,12	10,11 ± 1,48** $p_{trước\text{-}sau}$ < 0,01	4,93 ± 0,67	5,81 ± 0,92** $p_{trước\text{-}sau}$ < 0,01
Lô 3 (Mẫu MNC 528 mg/kg/ngày)	7,26 ± 1,85	8,67 ± 2,04 $p_{trước\text{-}sau}$ < 0,05	4,11 ± 1,12	4,97 ± 1,23 $p_{trước\text{-}sau}$ < 0,05
Lô 4 (Mẫu MNC 1056 mg/kg/ngày)	7,37 ± 0,91	8,94 ± 1,28 $p_{trước\text{-}sau}$ < 0,05 $p_{4\text{-}3}$ > 0,05	4,11 ± 0,59	5,15 ± 0,77 $p_{trước\text{-}sau}$ < 0,01 $p_{4\text{-}3}$ > 0,05

**p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 khi so sánh với nhóm chứng*

Kết quả ở Bảng 2. cho thấy:

- Không có sự khác biệt về lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau của chuột ở tất cả các lô nghiên cứu tại thời điểm trước uống thuốc (p>0,05).
- Codein 20 mg/kg/ngày có tác dụng tăng rõ rệt có ý nghĩa thống kê về thời gian phản ứng phản ứng đau, lực gây đau của chuột so với thời điểm trước khi uống codein (p < 0,01) và so với lô chứng sinh học (p<0,001).
- MNC ở cả hai liều nghiên cứu đều làm tăng có ý nghĩa thống kê lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc (p< 0,05), tuy nhiên mức tăng này chưa khác biệt rõ rệt so với lô chứng sinh học (p> 0,05).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H. Gerhard Vogel, Wolfgang H. Vogel, “Chapter : Analgesic, AntiInflammatory, and Anti-Pyretic Activity”, Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays. 3rd edition, Springer, 2008, pp. 670-773.

2. Funai Y, P.A., Uta D, “Systemic dexmedetomidine augments inhibitory synaptic transmission in the superficial dorsal horn through activation of descending noradrenergic control: an in vivo patch-clamp analysis of analgesic mechanisms.” Pain, 2014. 155(3): p. 617–628.