

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



VŨ THỊ THÚY LINH

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, BÁN TRƯỜNG DIỄN  
VÀ TÁC DỤNG CHỐNG LOÉT DẠ DÀY  
CỦA CAO CHIẾT CÂY TRAI HOA TRẦN  
(*Murdannia nudiflora* (L.) Brenan) TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC**

**HÀ NỘI – 2023**

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



**VŨ THỊ THÚY LINH**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP, BÁN TRƯỜNG DIỄN  
VÀ TÁC DỤNG CHỐNG LOÉT DẠ DÀY  
CỦA CAO CHIẾT CÂY TRAI HOA TRẦN  
(*Murdannia nudiflora* (L.) Brenan) TRÊN THỰC NGHIỆM**

**Chuyên ngành Y học cổ truyền**

**Mã số: 8720115**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học:**

- 1. PGS.TS. VŨ ĐỨC LỢI**
- 2. TS.BS. TRẦN ĐỨC HỮU**

**HÀ NỘI – 2023**

## LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, tôi xin trân trọng bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới:

Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng đào tạo Sau Đại học, các Bộ môn, Khoa phòng cùng các thầy cô trong Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và làm luận văn.

PGS.TS. Vũ Đức Lợi và TS.BS. Trần Đức Hữu, người Thầy đã trực tiếp hướng dẫn định hướng đề tài và trang bị cho tôi kiến thức chuyên ngành, sửa chữa thiếu sót trong luận văn, động viên tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu.

Đảng ủy, Ban Giám Đốc, Phòng Kế hoạch tổng hợp, các khoa phòng của Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, Bộ môn Dược lý - Đại học Y Hà Nội đã tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi hoàn thành nghiên cứu.

Các thầy cô trong Hội đồng thông qua đề cương và Hội đồng bảo vệ luận văn Thạc sĩ của Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, những người thầy, người cô đã cho tôi những ý kiến đóng góp quý báu trong quá trình hoàn thiện luận văn này.

Đề tài cấp nhà nước mã số: ĐTĐL.CN-27/21 đã tài trợ kinh phí cho đề tài

Cuối cùng, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới bố mẹ, gia đình và người thân đã luôn bên cạnh, khuyến khích tôi trong suốt quá trình học tập. Tôi xin được cảm ơn tới bạn bè đồng nghiệp đã luôn động viên, khích lệ tôi để vượt qua những khó khăn trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

*Hà Nội, ngày 27 tháng 11 năm 2023.*

**Vũ Thị Thúy Linh**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Vũ Thị Thúy Linh**, học viên cao học khóa 14 - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, 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 PGS.TS. Vũ Đức Lợi và TS.BS. Trần Đức Hữu
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

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

*Hà Nội, ngày 28 tháng 11 năm 2023*

**Người viết cam đoan**

**Vũ Thị Thúy Linh**



## CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ALT	Alanine Aminotransferase
AST	Aspartate transaminase
ĐVTN	Động vật thực nghiệm
HP	Helicobacter Pylori
INDO	Indomethacin
LD50	Liều gây chết trung bình
<i>M. nudiflora</i>	<i>Murdannia nudiflora</i> (L.) Brenan
MNC2	Mẫu nghiên cứu
NSAIDs	Thuốc chống viêm không Steroid
NXB	Nhà xuất bản
PPI	Proton pump inhibitor (thuốc ức chế bơm proton)
PUD	Peptic ulcer disease
VLDD	Viêm loét dạ dày
YHCT	Y học cổ truyền
YHHĐ	Y học hiện đại
OXH	Oxy hóa

## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ .....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....</b>	<b>3</b>
1.1. Tổng quan về viêm loét dạ dày theo YHHD.....	3
1.1.1. Định nghĩa về loét dạ dày.....	3
1.1.2. Nguyên nhân và các yếu tố ảnh hưởng .....	3
1.1.3. Cơ chế bệnh sinh của viêm loét dạ dày .....	3
1.1.4. Chẩn đoán xác định.....	5
1.1.5. Chẩn đoán phân biệt.....	5
1.1.6. Điều trị .....	6
1.1.7. Dịch tễ học bệnh viêm loét dạ dày.....	8
1.2. Tổng quan về viêm loét dạ dày theo YHCT .....	9
1.2.1. Định nghĩa theo YHCT .....	9
1.2.2. Bệnh nguyên theo YHCT .....	10
1.2.3. Bệnh cơ theo YHCT.....	10
1.2.4. Phân thể điều trị theo YHCT .....	11
1.3. Một số nghiên cứu về các bài thuốc, vị thuốc YHCT .....	14
1.4. Tổng quan về cây trai hoa trần ( <i>M. nudiflora</i> ).....	15
1.4.1. Công dụng của cây trai hoa trần theo YHCT .....	15
1.4.2. Tác dụng sinh học của cây trai hoa trần.....	16
1.4.3. Một số sản phẩm chứa thành phần cây thuốc thuộc chi Murdannia .....	19
1.5. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính.....	20
1.5.1. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp .....	20
1.5.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính bán trường diễn .....	22
1.6. Các mô hình gây loét dạ dày trên thực nghiệm.....	24
1.6.1. Mô hình thắt môn vị Shay trên chuột cống trắng .....	24

1.6.2. Mô hình loét dạ dày bằng Indomethacin .....	25
1.6.3. Gây viêm loét cấp bằng acid hydrochloric .....	25
1.6.4. Mô hình gây loét dạ dày bằng cysteamin .....	26
<b>CHƯƠNG 2 ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>27</b>
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	27
2.2. Hoá chất, máy móc dùng trong nghiên cứu .....	27
2.3. Động vật nghiên cứu .....	28
2.4. Phương pháp nghiên cứu .....	28
2.4.1. Đánh giá độc tính của cao phân đoạn ethylacetat cây trai hoa trần trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng .....	28
2.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống loét của cao phân đoạn ethylacetat cây trai hoa trần trên mô hình gây loét dạ dày bằng Indomethacin ..	30
2.5. Thời gian và địa điểm nghiên cứu .....	32
2.6. Sơ đồ nghiên cứu.....	33
2.7. Phương pháp xử lý số liệu .....	34
2.8. Sai số và cách khống chế sai số .....	34
2.9. Đạo đức trong nghiên cứu .....	34
<b>Chương 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>35</b>
3.1. Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của cao chiết phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng.....	35
3.1.1. Đánh giá độc tính cấp của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên chuột nhắt trắng. ....	35
3.1.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên chuột cống trắng.....	36
3.1.3. Hình thái đại thể và cấu trúc vi thể gan thận của chuột sau 12 tuần nghiên cứu.....	48

3.1.4. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống loét của cao phân đoạn ethyl acetat từ cây trai hoa trần trên mô hình gây loét dạ dày bằng Indomethacin.....	52
<b>Chương 4. BÀN LUẬN .....</b>	<b>62</b>
4.1. Bàn luận về độc tính cấp và bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần ( <i>M. nudiflora</i> ).....	62
4.1.1. Độc tính cấp của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần	62
4.1.2. Độc tính bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần .....	62
4.2. Bàn luận về tác dụng chống loét dạ dày của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên mô hình gây loét bằng Indomethacin .....	66
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>70</b>
<b>KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>72</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Thang điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày-tá tràng .....	32
Bảng 3.1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần .....	35
Bảng 3.2: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Thể trọng chuột.....	36
Bảng 3.3: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Số lượng hồng cầu trong máu chuột cống trắng .....	37
Bảng 3.4: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến hàm lượng Huyết sắc tố trong máu chuột cống trắng .....	38
Bảng 3.5: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến hàm lượng Hematocrit trong máu chuột cống trắng .....	39
Bảng 3.6: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột cống trắng .....	39
Bảng 3.7: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Số lượng bạch cầu trong máu chuột cống trắng .....	40
Bảng 3.8: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Công thức bạch cầu trong máu chuột cống trắng .....	41
Bảng 3.9: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Tiểu cầu trong máu chuột cống trắng .....	42
Bảng 3.10: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến hoạt độ AST (GOT) trong máu .....	43
Bảng 3.11: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến hoạt độ ALT (GPT) trong máu.....	44
Bảng 3.12: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Bilirubin toàn phần trong máu chuột.....	45

Bảng 3.13:	Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Albumin trong máu chuột .....	46
Bảng 3.14:	Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến nồng độ Cholesterol toàn phần trong máu chuột.....	47
Bảng 3.15:	Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Creatinin trong máu chuột.....	48
Bảng 3.16:	Ảnh hưởng của MNC2 đến số tổn thương trung bình ở dạ dày .....	53
Bảng 3.17.	Ảnh hưởng của MNC2 đến chỉ số loét dạ dày .....	55
Bảng 3.18.	Điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột .....	55
Bảng 3.19.	Hình ảnh mô bệnh học dạ dày .....	57

## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1: Ảnh hưởng của MNC2 đến số lượng tổn thương ở dạ dày .	52
Biểu đồ 3.2: Ảnh hưởng của MNC2 đến mức độ tổn thương dạ dày trên quan sát đại thể .....	54
Biểu đồ 3.3: Các thông số đánh giá trên hình ảnh vi thể.....	56

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Sản phẩm Herbal one .....	20
Hình 1.2. Sản phẩm Ya – Pak King.....	20
Hình 1.3. Sản phẩm Beijing Grass supplement.....	20
Hình 1.4. Sản phẩm Abhaibhubejhr .....	20
Hình 2.1. <i>Murdannia nudiflora</i> .....	27
Hình 2.2: Mô hình nghiên cứu độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và tác dụng chống loét dạ dày của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần.....	33
Hình 3.1. Hình thái vi thể gan chuột lô chứng sau 12 tuần uống mẫu thử	49
Hình 3.2: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 sau 12 tuần uống mẫu thử ..	49
Hình 3.3. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 sau 12 tuần uống mẫu thử ..	50
Hình 3.4: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột số 05) .....	50
Hình 3.5: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 sau 12 tuần uống mẫu thử ..	51
Hình 3.6: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 sau 12 tuần uống mẫu thử ..	51
Hình 3.7. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng sinh học (mã DD09)..	59
Hình 3.8. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô mô hình (mã DD13) .....	59
Hình 3.9. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô misoprostol (mã DD25).....	60
Hình 3.10. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều cao .....	60
Hình 3.11. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều thấp.....	61



## ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm loét dạ dày (VLDD) là thuật ngữ dùng để chỉ bệnh lý tổn thương loét thành dạ dày [1]. Đây là bệnh phổ biến ở nước ta cũng như trên thế giới, chiếm 5-10% dân số, tỷ lệ mắc hằng năm 0,1-1,5% tùy nghiên cứu, khác nhau giữa các quốc gia, thường liên quan mắc *Helicobacter pylori* (HP) và sử dụng NSAIDs [2]. Bệnh là hậu quả của sự mất cân bằng giữa các yếu tố tấn công (acid, pepsin, *Helicobacter pylori* (HP), NSAIDs, rượu...) và yếu tố bảo vệ niêm mạc (prostaglandin, chất nhầy và bicarbonat, tuần hoàn niêm mạc, hàng rào biểu mô). Nếu không được điều trị kịp thời, LDDTT có thể dẫn đến những biến chứng như thủng ổ loét, xuất huyết tiêu hóa, hẹp môn vị thậm chí là ung thư dạ dày. Y học hiện đại (YHHĐ) có rất nhiều nghiên cứu về nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh, cũng như các loại thuốc điều trị như: thuốc kháng acid, thuốc ức chế bơm proton  $H^+$ , thuốc bảo vệ niêm mạc dạ dày, kháng sinh diệt HP.... Tuy nhiên do cơ chế bệnh sinh phức tạp, bệnh hay tái phát phải điều trị nhiều đợt và các thuốc YHHĐ có nhiều tác dụng không mong muốn. [3]

Theo y học cổ truyền (YHCT) viêm loét dạ dày được xếp vào phạm vi của chứng “Vị quản thống” [1]. Nguyên nhân gây bệnh do tình chí bị kích thích, can khí uất kết hoặc do ăn uống thất thường tỳ mất khả năng kiện vận; hàn tà nhân đó xâm nhập gây khí trệ huyết ứ mà sinh ra các cơn đau, điều trị chủ yếu dùng các bài thuốc cổ phương như Sài hồ sơ can thang, Hoàng kỳ kiến trung thang, Hóa can tiễn... [1]

Bên cạnh các bài thuốc uống cổ phương lâu đời, gần đây với ý tưởng tìm kiếm và phát triển nguồn dược liệu Việt Nam có nhiều vị thuốc YHCT đã được nghiên cứu áp dụng điều trị bệnh LDDTT đem lại hiệu quả tốt như Dạ cẩm, chè dây, Khôi tía, Bồ công anh, Chút chút... Bên cạnh đó cây trai hoa trần (*Murdannia nudiflora* (L.) Bernan) từ lâu đã được sử

dụng để điều trị bệnh dạ dày đóng vai trò như một chất làm săn se [4], [5], [6]. Trong một số nghiên cứu trên thế giới về thành phần hóa học của cây trai hoa trần có một số hợp chất như alcaloit, saponin, tannin và flavonoid các chất này có tác dụng chống viêm, giảm đau và làm săn se niêm mạc rất tốt [5].

Để cung cấp bằng chứng khoa học về tính an toàn và hiệu quả của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần, chúng tôi tiến hành đề tài: ***“Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng chống loét dạ dày của cao chiết từ cây trai hoa trần (Murdannia nudiflora (L.) Bernan) trên thực nghiệm”***, với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên thực nghiệm.*

2. *Đánh giá tác dụng chống loét dạ dày của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên thực nghiệm.*

## CHƯƠNG 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### **1.1. Tổng quan về viêm loét dạ dày theo YHHD**

##### ***1.1.1. Định nghĩa về loét dạ dày***

VLDD là tổn thương bề mặt niêm mạc lan xuống qua lớp cơ niêm do tác động của dịch vị dạ dày, tổn thương có thể lan xuống lớp cơ, thanh mạc và có thể gây thủng [2]. Thuật ngữ Peptic ulcer disease (PUD) được hiểu là loét dạ dày hoặc cả hai. Trên hình ảnh nội soi ổ loét thường có kích thước lớn hơn 5 mm, nếu nhỏ hơn 5 mm gọi là trợt

##### ***1.1.2. Nguyên nhân và các yếu tố ảnh hưởng***

Có nhiều nguyên nhân gây viêm loét dạ dày nhưng trên lâm sàng chủ yếu do các nhóm nguyên nhân sau:

- Các yếu tố về ăn uống: ăn uống thất thường, sử dụng chất kích thích, gia vị, cà phê, thuốc lá...

- Các yếu tố về thần kinh tâm lý: stress, tâm lý lo âu sợ hãi

- Các yếu tố di truyền cơ địa: bệnh hay gặp ở các cặp sinh đôi cùng trứng, người có tình trạng tăng pepsinogen huyết có tính gia đình, tăng tiết acid tiêu phát do tăng khối lượng tế bào bả sinh

- Trào ngược dịch mật-tụy từ tá tràng lên dạ dày

- Các thuốc NSAID, AINS và aspirin: những bệnh nhân dùng các thuốc này thường có những ổ loét cấp tính và thường là nhiều ổ. [4], [5]

Thực ra các yếu tố nêu trên chỉ là yếu tố nguy cơ làm tăng tỷ lệ mắc bệnh, tạo điều kiện thuận lợi cho một nguyên nhân nào đó gây bệnh [7]

##### ***1.1.3. Cơ chế bệnh sinh của viêm loét dạ dày***

Từ trước đến nay đã có nhiều giả thuyết được đưa ra nhằm giải thích cơ chế bệnh sinh của viêm và loét dạ dày như : thuyết rối loạn vi tuần hoàn của Virchow (1852), thuyết tiêu mô của Quink (1882) và Claude Bernard (1886),

thuyết cơ học của Ashoff (1912), thuyết võ não – nội tạng của Bukop và Kursin (1952) [8]. Tuy nhiên mỗi thuyết nói trên chỉ đề cập tới một vài yếu tố thuận lợi, đôi khi cùng phối hợp trong quá trình hình thành viêm và loét, nói chung chưa đủ sức thuyết phục trong việc cắt nghĩa nguyên nhân bệnh sinh của VDDMT.

Quan điểm hiện nay cho rằng: cơ chế bệnh sinh của viêm và loét dạ dày vẫn là các yếu tố tấn công vượt trội các yếu tố bảo vệ, trong đó acid – pepsin là yếu tố bệnh sinh quyết định, còn HP là một tác nhân quan trọng [5], [9].

Các quan sát thực nghiệm, lâm sàng và điều trị, đã không thể phủ nhận ý kiến này. Do đó nghiên cứu tập trung vào hai mặt:

- Cơ chế làm tăng các yếu tố tấn công (gồm acid và pepsinogen).
- Cơ chế làm giảm các yếu tố bảo vệ (gồm chất nhầy, bicarbonate, sự tái tạo, và dòng máu tưới niêm mạc).

Hậu quả dẫn đến sự tăng tái hấp thu ngược chiều của ion  $H^+$  từ lòng dạ dày vào trong niêm mạc gây toan tại chỗ, phù nề và hoại tử mô, kéo theo sự tiêu protein gây viêm nặng hơn gây loét. [1]

Steven F. Moss (2016) đã khái quát về đối trọng giữa các yếu tố tấn công và yếu tố bảo vệ ở niêm mạc dạ dày bình thường như sau [10] :

<p>Các yếu tố tấn công:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Acid</li> <li>- Pepsin</li> <li>- Non steroid</li> <li>- Trào ngược dịch mật - tụy vào dạ dày</li> <li>- HP</li> </ul>	<p>Các yếu tố bảo vệ:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Chất nhầy</li> <li>- Bicarbonat</li> <li>- Các cầu nối tế bào</li> <li>- Lưu lượng máu</li> <li>- Sức bền của niêm mạc</li> </ul>	<p>Sự sửa chữa tái tạo niêm mạc:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sự tăng sinh tái tạo và hồi phục của các tế bào NMDD</li> <li>- Các yếu tố phát triển</li> </ul>
---	--	--

#### **1.1.4. Chẩn đoán xác định**

\* Lâm sàng:

- Triệu chứng: đau bụng hoặc khó chịu vùng thượng vị là triệu chứng nổi bật nhất, đau thường có tính chất chu kỳ, âm ỉ có lúc trở thành cơn. Tùy vị trí ổ loét mà tính chất đau có thể khác nhau.

- Loét hành tá tràng: cơn đau thường xuất hiện lúc đói hoặc sau bữa ăn 2 - 3 giờ, đau trở lên về đêm (23 giờ đến 2 giờ sáng), đau giảm nhanh khi bệnh nhân ăn hoặc dùng thuốc trung hòa acid.

- Loét dạ dày: đau bụng ngay sau bữa ăn (trong vòng 30 phút sau ăn), đáp ứng kém với bữa ăn và thuốc trung hòa acid.

- Ngoài ra còn gặp các triệu chứng khác ợ hơi sau ăn, đầy chướng bụng, ăn mau no, buồn nôn, nôn.

- Khoảng 2/3 các bệnh nhân loét dạ dày không có triệu chứng và đến khám vì các biến chứng của ổ loét như xuất huyết tiêu hóa, thủng hoặc tắc ruột. [2]

\* Cận lâm sàng:

- Chụp X-quang dạ dày có bariun: hiện nay ít dùng. Trên hình ảnh có thể thấy: Hình ảnh ổ loét là ổ đọng thuốc hình tròn hay oval...

- Nội soi dạ dày: là phương pháp có giá trị chẩn đoán xác định. Nội soi cung cấp thông tin về vị trí, kích thước, tính chất ổ loét.

- Chụp cắt lớp vi tính: chỉ định khi nghi ngờ có biến chứng loét dò vào ổ bụng, nghi ngờ ung thư.

- Test xác định HP: tìm kháng nguyên của HP trong phân, ure test, tìm kháng thể kháng HP trong máu, test C<sup>13</sup>, C<sup>14</sup>.

- Thăm dò acid dịch vị của dạ dày [2], [11]

#### **1.1.5. Chẩn đoán phân biệt**

- Ung thư dạ dày thể loét, bệnh loét dạ dày Crohn, viêm mạch...

- Phát hiện biến chứng (chảy máu), giúp tiên lượng (theo hình ảnh nội soi) và can thiệp điều trị cầm máu

- Một số phương pháp cận lâm sàng chẩn đoán biến chứng: X-quang bụng không chuẩn bị (ổ loét gây tắc ruột, thủng), CT bụng (ổ loét gây rò tạng lân cận, thủng)... [2]

### **1.1.6. Điều trị**

#### **1.1.6.1. Nguyên tắc điều trị**

- Không dùng phối hợp các thuốc cùng cơ chế.
- Không dùng nhóm acid cùng lúc với các thuốc khác.
- Điều trị nội khoa (chống loét, điều trị triệu chứng) là chủ yếu
- Phẫu thuật khi điều trị nội khoa không có kết quả
- Mục tiêu của điều trị là làm liền ổ loét, giảm đau và ngăn ngừa biến chứng do loét, kết hợp tăng cường yếu tố bảo vệ niêm mạc:

- + Dùng các thuốc bao phủ niêm mạc và băng bó ổ loét.

- + Dùng thuốc kích thích sản xuất chất nhầy (mucin) hoặc các phương pháp kích thích sự tái tạo niêm mạc bằng Laser cường độ thấp - Heli - Neon.

- + Diệt trừ HP: Dùng các kháng sinh và các chất diệt khuẩn như bismuth. [11]

#### **1.1.6.2. Các thuốc điều trị chủ yếu**

- Nhóm thuốc kháng acid (Antacids) Là các thuốc có chứa nhôm hoặc calci, magnesl hydroxit, nhóm này có tác dụng trung hoà acid không ảnh hưởng đến bài tiết dịch vị cũng như pepsin, 1-3 giờ sau bữa ăn và đi ngủ.

- Nhóm ức chế thụ thể Histamin H2. Hiện nay thường dùng các loại: Cimetidin, Ranitidin 300mg, Famotidin 40mg, Nizatadin 300mg

Ưu điểm của thuốc nhóm này là rẻ tiền, an toàn nhưng các thuốc này khả năng ức chế acid dịch vị yếu hơn so với nhóm PPI.

- Nhóm ức chế bơm Proton (Proto Pump Inhibitors - PPI)

Đây là nhóm thuốc ức chế acid dịch vị mạnh nhất hiện nay thường dùng các nhóm sau: Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol, Esomeprazol...

- Nhóm bảo vệ niêm mạc dạ dày:

+ Sucrafat: bảo vệ tế bào bao bọc ổ loét, ngăn sự khuếch tán ngược của ion H<sup>+</sup>, ức chế pepsin và hấp phụ muối mật: có tác dụng phòng loét cấp tính và làm lành loét mạn tính mà không ảnh hưởng tới bài tiết dịch vị và pepsin. Nên uống từ 30 phút đến 60 phút trước ăn.

+ Bismuth: vừa có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày vừa có tác dụng diệt H. pylori.

+ Misoprostol: là đồng đẳng với prostaglandin E, có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày vì làm tăng bài tiết chất nhầy và bicarbonat đồng thời làm tăng dòng máu tới niêm mạc dạ dày. Hàm lượng viên 200mcg. Liều dùng thường 400mcg - 800mcg/ngày, uống. Hiếm ít dùng do tác dụng phụ [2], [12], [13]

#### 1.1.6.3. Điều trị loét do H.P

**Thường phối hợp thuốc chống loét và kháng sinh. Các phác đồ thường dùng: [3], [13], [14]**

Tên phác đồ	Thời gian (ngày)	Cách sử dụng
Phác đồ 3 thuốc	7 – 14	PPI + A + C
Phác đồ 3 thuốc có Levofloxacin	10	PPI + A + L
Phác đồ nối tiếp	10	5 ngày đầu: PPI + A, 5 ngày kế: PPI + C + Ti
Phác đồ 4 thuốc không có Bismuth	10	PPI + A + C + M / Ti
Phác đồ 4 thuốc có Bismuth	14	PPI + M + Te + B
Ghi chú: PPI: Thuốc ức chế bơm Proton, A: Amoxicilline, C: Clarithromycine, L: Levofloxacin, Te: Tetracycline, Ti: Tinidazol, M: Metronidazole, B: Bismuth		

Hầu hết các trường hợp loét dạ dày liền ổ loét sau 8 tuần điều trị, một số ít ổ loét không liền được xem là kháng thuốc hay loét dai dẳng (refractory): trong trường hợp này phải tìm nguyên nhân để điều trị

#### *1.1.6.4. Điều trị ngoại khoa (phẫu thuật)*

Mục đích là can thiệp và các yếu tố bệnh sinh của bệnh:

- Chỉ định mổ trong các trường hợp biến chứng, loét hay tái phát điều trị nội khoa không kết quả cần xem xét đến các yếu tố tâm lý, xã hội, kinh tế cũng như các nguy cơ liên quan đến phẫu thuật.

- Đối với các loét ác tính thì phẫu thuật là biện pháp duy nhất để ngăn ngừa ung thư di căn. [14]

#### *1.1.6.5. Thay đổi lối sống*

+ Bỏ thuốc lá, thuốc lào và đề phòng khi dùng NSAIDs.

+ Ăn uống dễ tiêu, giảm ăn gia vị, đồ ăn cay nóng, điều độ, ăn lỏng khi đau. [2], [13]

#### *1.1.7. Dịch tễ học bệnh viêm loét dạ dày*

Trên thế giới ước tính tỷ lệ mắc bệnh loét dạ dày tá tràng (PUD) hàng năm dao động từ 0,1 đến 0,3%. Tỷ lệ mắc PUD ở những người nhiễm *H.P* là khoảng 1% mỗi năm, tỷ lệ này cao gấp 6 đến 10 lần so với những người không bị nhiễm bệnh. Tỷ lệ mắc PUD tăng theo tuổi đối với cả loét tá tràng và dạ dày. Một đánh giá có hệ thống của bảy nghiên cứu từ các nước phát triển cho thấy tỷ lệ mắc PUD trong một năm dựa trên dân số là 0,1 đến 1,5% dựa trên chẩn đoán của bác sĩ và 0,1 đến 0,19% dựa trên dữ liệu nhập viện [15]

Theo Hội khoa học Tiêu hóa, tại Việt Nam có tới 26% dân số mắc bệnh viêm loét dạ dày tá tràng. Đặc biệt, người mắc ung thư dạ dày đang dần trẻ hóa, đa phần dưới 40 tuổi chiếm tỉ lệ khoảng 20 – 25%. Đây là một con số đáng báo động về tình hình mắc bệnh viêm loét dạ dày [16]



## **1.2. Tổng quan về viêm loét dạ dày theo YHCT**

Dạ dày theo quan điểm của YHHĐ có nhiều chức năng tương tự như Tỳ vị trong YHCT. Hải Thượng Lãn Ông trong “Khôn hóa thái chân” đã miêu tả về hình thái, vị trí của tỳ vị: Vị lớn một thước năm tấc, bề ngang năm tấc, dài một thước sáu tấc, nằm ngang và cong, chứa được thủy cốc ba đấu năm thăng. Dung lượng của vị thường chứa 2 đấu cốc, 1 đấu thủy thì đầy [17]. Tỳ là “thương lãn chi quan”, tỳ chủ thu nạp thủy cốc, tỳ vị giúp tiêu hóa đồ ăn thức uống, thủy cốc thấm nhuần ra lục phủ mà sinh ra khí, điều hòa ngũ tạng mà sinh ra huyết, giải ra tứ chi, tràn đầy vào cơ nhục. Vì vậy người xưa cho rằng tỳ vị là gốc của hậu thiên. Tỳ vị vận hóa thủy cốc thành chất tinh vi đưa đến nuôi dưỡng toàn thân, trên thì thấm vào phế, dưới thì đến can thận, để nuôi dưỡng phần âm, thúc đẩy phần dương để đảm bảo duy trì âm dương trong cơ thể được điều hòa [17], [18].

Trong YHCT, bệnh VLDDTT thuộc phạm vi chứng “Vị quản thống”. Sách “Nội kinh” có ghi: Vị quản thống là chỉ vùng thượng vị đau âm ỉ hay dữ dội, đau từng cơn kèm theo có ợ hơi, ợ chua [1], [12].

### **1.2.1. Định nghĩa theo YHCT**

“Vị thống” hay còn gọi là “Vị quản thống” là chứng bệnh lấy triệu chứng đau vùng thượng vị gần tim làm chủ chứng [19].

“Vị quản thống” là bệnh danh được ghi lại sớm nhất trong sách “Nội kinh”, trong “Linh khu – Tà khí tạng phủ bệnh hình” viết: “Vị bệnh giả, phúc sên chương, vị quản đương tâm nhi thống” lần đầu tiên chỉ ra mối quan hệ giữa can, tỳ với sự phát sinh chứng “Vị quản thống” [19].

Như vậy trong YHCT không có bệnh danh viêm loét dạ dày, mà tất cả các bệnh lý gây nên chứng đau ở vùng thượng vị (vùng vị quản) thì đều được quy nạp vào chứng “Vị quản thống” [20], [21].

### **1.2.2. Bệnh nguyên theo YHCT**

Vị quản thống có nhiều nguyên nhân gây bệnh tương đối phức tạp, được các y văn mô tả gồm: Do lục dâm, do tình chí bị tổn thương (Can khí phạm vị), do ăn uống không điều độ, do sinh hoạt thất thường (ở nơi ẩm thấp...), do tỳ vị hư hàn... Một số tác giả chia nguyên nhân gây bệnh gồm: Do nội nhân (thất tình-tình chí uất ức), do ngoại nhân (thời tiết), do bất nội ngoại nhân (ăn uống, bảm tổ suy nhược)... Song quy nạp lại có 4 nhóm nguyên nhân chính sau đây [20]:

- Ngoại tà phạm vị: ngoại tà hàn, thấp, nhiệt xâm nhập làm khí cơ ở vị trở trệ, bất thông tắc thống, trong đó nhiều nhất là hàn tà [19], [20].

- Ăn uống thương vị: ăn uống không điều độ, quá no hoặc quá đói, tổn thương tỳ vị, vị khí ủng trệ, vị mất hòa giáng, bất thông tắc thống. Ăn uống đồ ăn cay nóng quá độ, béo ngọt, uống rượu gây uẩn thấp mà sinh nhiệt, thương đến tỳ vị, vị khí mất hòa giáng [20].

- Tình chí không thông sướng: Tình chí uất ức làm cho can không sơ thông, can khí uất kết hoành nghịch phạm vị, vị mất chức năng hòa giáng gây đau gọi là can khí phạm vị (can khắc tỳ- can vị bất hòa) [14].

- Bảm tổ hư suy (Tiên thiên bất túc): tỳ vị là thương lâm chi quan, là cơ quan thu nạp và vận hóa thủy cốc, nếu bảm tổ tỳ vị hư nhược, chức năng vận hóa kém, khí cơ không thông sướng, hoặc trung tiêu hư hàn mất đi ôn dưỡng mà sinh ra đau [19].

### **1.2.3. Bệnh cơ theo YHCT**

Như vậy, Vị quản thống có liên quan nhiều nhất đến 3 tạng vị, tỳ, can. Giai đoạn đầu, bệnh ở vị, bệnh lâu ngày làm ảnh hưởng tới tỳ, đồng thời bệnh có liên quan mật thiết tới tạng can. Tạng tỳ chủ về vận hóa thủy cốc là gốc của hậu thiên. Phủ vị có chức năng thu nạp. Tỳ và vị có chức năng tiêu hóa đồ ăn thức uống, biến tinh hoa của đồ ăn thức uống thành khí huyết đi nuôi dưỡng toàn bộ cơ thể. Tỳ và vị có liên quan chặt chẽ với

nhau: tỳ chủ vận hóa, vị chủ thu nạp, tỳ lấy thăng làm nhuận, vị lấy giáng làm hòa. Nếu vị không thu nạp thì sẽ ảnh hưởng đến sự vận hóa của tỳ. Ngược lại, nếu tỳ không vận hóa được thủy cốc, làm thủy cốc bị ú trệ sẽ ảnh hưởng đến chức năng thu nạp của vị. Nếu vị không giáng được thì bụng sẽ đầy chướng đau, khí nghịch lên gây ợ hơi, ợ chua và buồn nôn. Tạng can có chức năng sơ tiết giúp cho sự thăng giáng của tỳ vị được điều hòa, tạng can có quan hệ tương khắc với tạng tỳ. Nếu hai tạng tương khắc được giữ ở thế quân bình thì sự tiêu hóa thức ăn diễn thuận lợi. Nếu tạng can khắc tạng tỳ quá sẽ gây bệnh cho tạng tỳ, can khí uất kết làm tỳ không thăng, vị không giáng làm sự tiêu hóa bị ảnh hưởng. Đây được gọi là chứng can khí phạm vị hay còn gọi là can vị bất hòa [20], [21].

#### **1.2.4. Phân thể điều trị theo YHCT**

Vì đau ở vùng vị quản nên pháp điều trị chính là lấy thông giáng hòa vị làm đại pháp (hòa vị giáng khí). Thực thì lấy trừ tà làm chủ, hư thì lấy bổ, điều dưỡng tạng phủ làm chủ và trợ giúp thông giáng. Cấp tính khi đau thì có điều trị tiêu. Nếu nặng thì trừ tà, nếu vẫn đau âm ỉ kéo dài thì điều trị bản và bổ để hoãn, tiêu bản kiêm trị. Nguyên tắc điều trị là thông thì bất thông.

Phân thể điều trị: Căn cứ vào các nguyên nhân và chứng trạng biểu hiện, y học cổ truyền chia vị quản thống thành 2 thể là can khí phạm vị ( trong thể này lại chia nhỏ làm 3 thể là thể khí trệ, thể huyết ú và thể hỏa uất) và thể tỳ vị hư hàn được trình bày theo thứ tự như sau:

##### **1.2.4.1. Thể khí trệ**

-Triệu chứng: Đau thượng vị từng cơn, đau lan ra cạnh sườn, có khi đau ra lưng, kèm theo bụng đầy trướng và ấn đau (cự án), hay ợ hơi khi ợ hơi được thì đỡ đau. Chát lưỡi hơi đỏ, rêu lưỡi trắng hoặc hơi vàng mỏng. Mạch huyền [1], [20].

- Pháp điều trị: Sơ can hòa vị, lý khí chỉ thống.

- Phương thuốc: Sài hồ sơ can thang gia giảm [1]

Sài hồ	12g	Xuyên khung	08g
Chi xác	08g	Hương phụ	08g
Bạch thược	12g	Trần bì	08g
Cam thảo	06g		

Sắc uống ngày 01 thang, chia 2 lần

- Phân tích bài thuốc: Bài thuốc có tác dụng tuyên phát uất trệ; Sài hồ tuyên phát khí dương, giải uất làm cho dương khí thông ra ngoài; Chi xác phá khí trệ; Bạch thược hoà huyết; Cam thảo hoà hoãn trung tiêu, điều vị để giải uất nhiệt; Sài hồ, Cam thảo dùng chung để điều hoà trung tiêu, sơ thông khí uất; Chi xác phối hợp với Bạch thược để thông kinh tán kết; Hương phụ, Xuyên khung để hành khí lý khí; Sài hồ phối hợp với Chi xác, Hương phụ để thăng thanh giáng trọc. [22]

#### 1.2.4.2. *Thể hỏa uất:*

- Triệu chứng: Đau thượng vị nhiều, đau nóng rát, cự án. Ợ chua nhiều, miệng khô đắng. Chát lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng. Mạch huyền sắc [1], [20].

- Pháp điều trị: Sơ can thanh nhiệt chỉ thống.

- Phương thuốc: Hóa can tiễn hợp Tả kim hoàn [1]

Thanh bì	08g	Trần bì	06g
Bạch thược	12g	Đan bì	08g
Chi tử	08g	Trạch tả	08g
Thỏ bối mẫu	06g	Hoàng liên	08g
Ngô thù du	02g		

Sắc uống ngày 01 thang, chia 2 lần

- Phân tích bài thuốc: Thanh bì sơ can lý khí; Trần bì lý khí hòa vị; Bạch thược dưỡng huyết nhu can hoãn cấp chỉ thống; Đan bì, Chi tử thanh can tả nhiệt; Thỏ bối mẫu thanh nhiệt tán kết; Trạch tả thẩm thấp tả nhiệt. Các vị có tác dụng sơ can lý khí, tả nhiệt hòa vị. Kết hợp với Hoàng liên

tính khô hàn để chữa vị nhiệt nôn mửa: dùng ít Ngô thù để phản tá nhằm khai can uất, giáng nghịch khí. Hai vị này hợp thành bài thuốc đều có tác dụng tân khai khô giáng, ngừng nôn thối đau chữa vị nhiệt nôn mửa với người can vị bất hòa lại càng thích hợp [22]

#### 1.2.4.3. *Thẻ huyết ú:*

- 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 sắc hữu lực (bệnh thể cấp) [1], [20].

+ 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 ú huyết, rêu lưỡi nhuận. Mạch hư đại hoặc tế sáp (bệnh thể hoãn) [1], [20].

- Pháp điều trị: [1]

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

+ Hư chứng: Bổ huyết chỉ huyết.

- Phương thuốc:

+ Thực chứng: Thất tiểu tán.

Bồ hoàng, Ngũ linh chi lượng bằng nhau

Hai vị thuốc tán bột mịn, trộn đều. Mỗi ngày uống 8-12g, chia 2 lần

+ Hư chứng: Hoàng thổ thang gia giảm hoặc Tứ quân tử thang gia vị.

Đất lòng bép (Hoàng thổ)	10g	Địa hoàng	12g
A giao	12g	Cam thảo	12g
Phụ tử chế	12g	Hoàng cầm	12g
Bạch truật	12g	Đảng sâm	12g

Sắc uống ngày 01 thang, chia 2 lần. Riêng A giao hòa vào nước sắc để uống, không sắc cùng.

- Phân tích bài thuốc: Phương này tiêu biểu cho các thể ôn dược chỉ huyết. Đất lòng bép ôn trung hòa vị, sáp tràng cố hạ, có tác dụng chỉ thổ,

chỉ tả, và chỉ huyết. Gọi là tam chỉ chủ dược. Phụ tử, Bạch truật ôn dương kiện tỳ; Thục địa, A giao tư âm, dưỡng huyết, nên thích hợp chữa chứng tỳ dương không mạnh lên không nhiếp được huyết, huyết hãm ở trong mà dẫn đến tiện huyết không cầm. Ôn dương tắt dùng Phụ tử tính ấm, phối ngũ Địa hoàng, A giao, tư âm dưỡng huyết; Cam thảo cam hoãn hòa trung. Lại dùng Hoàng cầm khổ hàn để làm phản tá, để khỏi dẫn đến căng táo quá mà huyết động. Ấy là pháp cương nhu tương tế (cứng mềm dựa vào nhau) ôn dương mà không thương âm, tư âm mà không phạt tỳ

#### 1.2.4.4. *Thể tỳ vị hư hàn:*

-Triệu chứng: Đau âm ỉ vùng thượng vị, đau liên miên, nôn nhiều nôn ra nước trong, 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.. Rêu lưỡi trắng, chất lưỡi nhợt bệu, mạch trầm nhược [1], [20].

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

- Phương thuốc: Hoàng kỳ kiến trung thang gia giảm [1]

Hoàng kỳ	16g	Sinh khương	06g
Cam thảo	06g	Bạch thược	08g
Hương phụ	08g	Qué chi	08g
Đại táo	12g	Mạch nha	30g

Tất cả các vị thuốc trừ Mạch nha sắc lấy nước bỏ bã, hòa với Mạch nha uống khi còn ấm, ngày uống 01 thang chia 2 lần.

### 1.3. Một số nghiên cứu về các bài thuốc, vị thuốc YHCT

- Nghiên cứu về bài thuốc Ô kim gồm: Thương truật, Hoài sơn, Xuyên khung, Trần bì, Cam thảo, Sơn tra, Hương phụ, Ô tặc cốt, Uất kim, các tác giả Nguyễn Sỹ Lâm, Phạm Lan Thanh, Nguyễn Thị Nhuận và cộng sự thấy bài thuốc có tác dụng hạ toan, giảm đau từ từ và tác dụng tốt đối với thể hàn [23]

- Nghiên cứu về thuốc “BV” và lá Khôi chữa một số bệnh dạ dày của Nguyễn Tuất và cộng sự cho thấy bột “BV” và lá Khôi có tác dụng tốt đối với thể can khí phạm vị mà không có tác dụng đối với thể tỳ vị hư hàn [23]

- Tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Tạ Long và cộng sự đã nghiên cứu tác dụng viên Almaca (Thành phần: hydroxyd Alumin, hydroxyd magie và Mai mực chế) trong điều trị một số thể viêm loét dạ dày, hành tá tràng. Kết quả cho thấy, viên Almaca dùng liều lượng thông thường có tác dụng làm giảm đau rõ rệt và sớm trên 80% bệnh nhân với một đợt điều trị 20-30 ngày. Thuốc có hiệu quả điều trị rõ hơn đối với các thể loét hành tá tràng có độ acid dịch vị cao. Trên nội soi, 54,7% bệnh nhân đã liền sẹo và 24,6% gần liền sẹo. Những hình ảnh viêm phù nề, trợt, xuất huyết đều giảm rõ rệt. Tác dụng giảm đau tốt đạt tỷ lệ 83,3% [23]

- Phạm Văn Trịnh và cộng sự nghiên cứu tác dụng của viên VIFATA (Thành phần: cao Tầm sa, cao Trần bì, cao Mộc hương, Magie cacbonat, tinh dầu Bạc hà) trong điều trị viêm dạ dày, hành tá tràng, cho thấy thuốc có tác dụng giảm đau, giảm viêm tốt, độ an toàn cao, thuốc có tác dụng tốt với thể can khí phạm vị. Những nghiên cứu tiếp theo cho thấy viên VIFATA có tác dụng tốt trong cắt cơn đau do loét dạ dày, hành tá tràng với tỷ lệ 82,5% sau 3 tháng điều trị [24].

#### **1.4. Tổng quan về cây trai hoa trần (*M. nudiflora*)**

##### ***1.4.1. Công dụng của cây trai hoa trần theo YHCT***

- Bộ phận dùng: Phần trên mặt đất của cây - *Herba Murdannia nudiflora*. Ở Trung Quốc gọi là Khoả hoa thủy trúc diệp [25]

- Tính vị quy kinh: có vị nhạt, tính âm; Tứ Xuyên cổ truyền y học: "Ngọt nhạt, tính bình, không độc." Đi vào kinh phế, kinh tam tiêu, kinh can.

- Tác dụng: Thanh nhiệt giải độc, giảm ho cầm máu. Trị phế nhiệt ho, nôn ra máu, áp xe sữa, áp xe phổi, sung độc không rõ nguyên nhân [25]



Ở Việt Nam, cây được dùng để điều trị ho ra máu, nhọt độc, sưng vú, lở ngứa, rần cắn. Cây tươi cũng được sử dụng bằng cách giã và đắp ngoài da

- Liều dùng 10-15g khô, sắc uống.

Trên thế giới, cây đã được sử dụng một cách truyền thống trong chữa bệnh hen suyễn, bệnh phong, bệnh vè dạ dày, buồn nôn, tiêu chảy và có vai trò như một chất làm se. Ngoài ra, cây cũng được sử dụng để điều trị mụn nhọt, mụn cơm, viêm quầng đỏ ở da, lao, quai bị và bệnh lậu. Bột nhão từ gốc cây đã được sử dụng điều trị bệnh hen suyễn, bột nhão từ lá cây được sử dụng điều trị cầm máu và bột nhão toàn cây được sử dụng để đắp vào các tổn thương trong bệnh phong [4], [5], [6].

Ở Châu Phi, cây được sử dụng trong các trường hợp chảy máu cấp như bệnh trĩ, ho ra máu, chảy máu cam, chảy máu tử cung. Chiết xuất từ toàn cây cũng được sử dụng để điều trị các bệnh mạn tính như tiểu đường, bệnh ngoài da và xơ vữa động mạch

Ngoài ra, nhờ hàm lượng lớn alcaloit mà cây Trai hoa trần còn có tác dụng giảm đau Sự có mặt của các hợp chất phenolic và flavonoid được biết đến là những chất có khả năng chống oxy hóa mạnh, dùng để phòng chống bệnh ung thư và làm giảm hoạt động của các khối u [6].

#### ***1.4.2. Tác dụng sinh học của cây trai hoa trần***

##### ***1.4.2.1. Tác dụng chống oxy hóa***

Năm 2015, nghiên cứu của Muhammad đã đánh giá hoạt động chống oxy hóa của dịch chiết methanol được đo bằng cách sử dụng phương pháp xác định khả năng ức chế DPPH – một loại gốc tự do. Các phép định tính sơ bộ cho thấy dịch chiết metanol của cây chứa các thành phần alcaloit, flavonoid, tannin và saponin trong đó flavonoid là một thành phần có tác dụng chống oxy hóa mạnh, có khả năng bắt giữ các gốc



tự do, có thể là hoạt chất mang lại hoạt tính chống oxy hóa cho dịch chiết cây [5].

Năm 2017, Shah Dawood và các cộng sự đã đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết metanol từ *M. nudiflora*. Các nghiên cứu in vitro đã chỉ ra rằng chiết xuất có hoạt tính chống oxy hóa mạnh và có khả năng loại bỏ các gốc tự do 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) một cách hiệu quả [6].

*M. nudiflora* còn được dùng để chế tạo các nano vàng hoạt động như các tác nhân chống OXH tiềm năng, là tác nhân kiểm soát sinh học chống lại các vi khuẩn gây bệnh [26]

#### 1.4.2.2. Tác dụng giảm đau

Năm 2014, nghiên cứu của Bhargab Nath Patwari và cộng sự đã tiến hành chiết xuất và đánh giá tác dụng giảm đau của dịch chiết từ *Murdannia nudiflora* trên chuột bạch bằng phương pháp thử trên đĩa nóng. Kết quả cho thấy dịch chiết etanol của cây có tác dụng giảm đau rõ rệt so với morphine sulfat – một thuốc giảm đau tiêu chuẩn, từ đó kết luận dịch chiết ethanol của *M. nudiflora* có thể chứa các hợp chất có hoạt tính giảm đau [27]

Trong nghiên cứu trên, việc sàng lọc sơ bộ chiết xuất etanol và metanol của cây cho thấy sự hiện diện của alkaloid, saponin, tannin và flavonoid. Các alkaloid có nhiều tác dụng sinh học quan trọng như: tác động lên thần kinh trung ương và thần kinh phó giao cảm, gây tê tại chỗ, điều hòa huyết áp, giảm đau mạnh... Do đó sự hiện diện của chúng trong chiết xuất của cây có thể là nguyên nhân gây ra tác dụng giảm đau [27]

#### 1.4.2.3. Tác dụng kháng khuẩn

Một nghiên cứu năm 2014 đã chứng minh chiết xuất nước của *Murdannia nudiflora* có hoạt tính kháng khuẩn, thể hiện ở khả năng ức chế đối với một số loại vi khuẩn. Hoạt tính ức chế *Bacillus subtilis* và

*Staphylococcus aureus* cũng được thể hiện nhưng khá thấp. Nghiên cứu cũng xác định được MIC 12,25 mg/ml là nồng độ thấp nhất của chiết xuất dạng nước có hoạt tính chống lại *P. aeruginosa* [6]

#### 1.4.2.4. Tác dụng bảo vệ gan

Năm 2017, Muhammad và các cộng sự đã nghiên cứu đánh giá tiềm năng bảo vệ gan của *M. nudiflora* trong chống lại tổn thương gan do CCl<sub>4</sub> ở chuột. Chuột được xử lý trước với dịch chiết methanol của *M. nudiflora* trong 14 ngày, 2 ngày sau đó được gây độc bằng cách tiêm CCl<sub>4</sub>. Kết quả cho thấy sử dụng *M. nudiflora* làm giảm đáng kể tác động độc tính của CCl<sub>4</sub>, với sự giảm các dấu hiệu tổn thương gan trong huyết thanh cụ thể là nồng độ các men gan ALT và AST. Dịch chiết từ *M. nudiflora* cũng làm tăng mức độ chống oxy hóa của glutathione gan (GSH) và các enzym chống oxy hóa, đồng thời cải thiện sự hình thành malondialdehyde (MDA) ở gan do CCl<sub>4</sub> gây ra ở chuột [28].

#### 1.4.2.5. Tác dụng chống ung thư

Trong cây trai hoa trần có chứa một lượng lớn alcaloit, flavonoid và phenolic là các chất có hoạt tính chống OXH mạnh, được biết đến như tác nhân chính chống lại stress OXH và sự nhân lên của các tế bào ung thư

Nghiên cứu của Palaniselvam Kuppusamy và các cộng sự năm 2016 đã cho kết quả rằng các hạt Au và Ag tạo ra từ dịch chiết xuất của *M. nudiflora* có tác dụng đáng kể trong việc làm giảm khả năng sống và tăng độc tính đối với các tế bào ung thư ruột kết HCT-116 với nồng độ IC<sub>50</sub> tương ứng là 200 và 100 µg/ml [28].

Các nghiên cứu của Muhammad năm 2017 và 2018 cũng chỉ ra một số thành phần trong dịch chiết của cây có vai trò trong ức chế các khối u ví dụ như phytol, phenol 2,4-bis (1,1-dimethylethyl). Vì vậy, cây có tiềm năng để nghiên cứu về tác dụng trong điều trị bệnh ung thư [6].

#### 1.4.2.6. Tác dụng khác

Các nghiên cứu về tác dụng sinh học của cây thuộc chi *Murdannia* chỉ ra thêm tác dụng chống viêm và chống loét dạ dày

Năm 2020, nghiên cứu và phân lập một số hợp chất và tác dụng chống viêm loét dạ dày của cây bao tử (*Murdannia bacteara*) của Nguyễn Việt Hà cho kết quả: cao phân đoạn dịch chiết ethyl acetat liều 0,035 gcao/kg/ngày uống trong 7 ngày liên tục có tác dụng chống loét dạ dày, tương đương misoprostol 50 µg/kg [29].

Năm 2021, nghiên cứu về tác dụng sinh học của *M. loriformis* của Azham Mohamad và cộng sự cho kết quả: Uống chiết xuất *M. loriformis* ở liều 400 mg/kg làm tăng đáng kể lượng chất nhầy thành dạ dày và giảm tiết axit dạ dày trong mô hình thắt môn vị. Trong mô hình, chuột thắt môn vị được điều trị bằng *M. loriformis* chiết xuất đã làm giảm đáng kể tổng lượng axit và thể tích dạ dày bên cạnh việc tăng pH dạ dày so với nhóm đối chứng [30]

#### 1.4.3. Một số sản phẩm chứa thành phần cây thuốc thuộc chi *Murdannia*

Theo nghiên cứu, các loài trong chi *Murdannia* có nhiều tác dụng như trên tuy nhiên việc ứng dụng để tạo ra các sản phẩm, thuốc để điều trị, bảo vệ sức khỏe còn khá ít.

Hiện nay, tại Thái Lan đã nghiên cứu và bào chế ra một số loại thuốc chủ yếu từ *M. loriformis* hay còn được gọi là cỏ Bắc Kinh nhằm giúp phát tán độc tố trong cơ thể, chống viêm, tăng miễn dịch, phòng chống ung thư như: [31], [32]



Hình 1.1. Sản phẩm Herbal one



Hình 1.2. Sản phẩm Ya – Pak King



Hình 1.3. Sản phẩm Beijing Grass supplement



Hình 1.4. Sản phẩm Abhaibhubejhr

## 1.5. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính

### 1.5.1. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp

#### 1.5.1.1. Mục tiêu

Thử độc tính cấp nhằm cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của thuốc; điều trị ngộ độc cấp; thiết lập mức liều cho những thử nghiệm độc tính tiếp theo. Do vậy, các phép thử độc tính cấp cần xác định [33]

- Liều an toàn;
- Liều dung nạp tối đa;
- Liều gây ra độc tính có thể quan sát được;
- Liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có);
- Liều LD50 gần đúng (nếu có thể xác định được);

Những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục (nếu có).

#### 1.5.1.2. Mô hình thử

\* Nguyên tắc lựa chọn:

- Tùy theo mục đích của mỗi nghiên cứu và loại mẫu thử và những thông tin sẵn có để lựa chọn mô hình thử thích hợp. Loại động vật gặm nhấm thường được sử dụng là chuột nhắt, chuột cống; loài không gặm nhấm có thể dùng là chó hoặc khỉ. Số nhóm và số lượng cho mỗi nhóm tùy theo mô hình áp dụng [33].

- Thử sơ bộ: thường được thực hiện trong hầu hết các mô hình thử. Kết quả trong thử nghiệm sơ bộ được dùng để lựa chọn, bố trí thử nghiệm chính thức. Có thể thử trên một loài động vật (gặm nhấm) với những trường hợp thông tin cho thấy mẫu thử hoặc các chất liên quan có thể không độc hoặc ít độc. Với các chế phẩm có độc cao hoặc có yêu cầu đặc biệt về khoa học, cần thiết thử trên hai loài ĐVTN (gặm nhấm và không gặm nhấm) [33]

- Khuyến cáo: Để bảo vệ động vật, các mô hình sử dụng số ít động vật thí nghiệm được ưu tiên lựa chọn

- Có nhiều mô hình thử như: Mô hình liều cố định; Mô hình Tăng-Giảm; Mô hình thử theo Behrens; Mô hình theo Litchfield – wilcoxon nhưng do tính chính xác cao nhất nên trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp Litchfield – Wilcoxon:

Mô hình được Litchfield- Wilcoxon là mô hình đã cải tiến và cố gắng khắc phục những hạn chế của một số phương pháp trước đó. Kết quả được ghi đồ thị trên giấy log- probit và được tính theo phương pháp toán đồ có hiệu chỉnh, vì vậy cho kết quả chính xác hơn. Trước đó, phương pháp thường được áp dụng trong tính giá trị LD50 cho những chất có độc tính cao [33].

### *1.5.1.3. Các chỉ số theo dõi đánh giá*

Theo dõi ĐVTN trong vòng 7 ngày sau khi dùng thuốc. Thời gian theo dõi có thể ngắn hơn (5 ngày) nếu thấy các biểu hiện ngộ độc đã hết, hoặc kéo dài hơn (14 ngày) nếu biểu hiện ngộ độc chưa rõ ràng hoặc cần theo dõi thêm về khả năng hồi phục. Ghi chép và mô tả bất kì triệu chứng, biểu hiện khác thường nào của ĐVTN, nếu có.

Các chỉ tiêu cần quan sát bao gồm:

- Tình trạng hoạt động, khả năng tiêu thụ thức ăn, nước uống, tình trạng phân, nước tiểu.

- Trọng lượng cơ thể: xác định trọng lượng trước khi kết thúc thí nghiệm.

- Biểu hiện độc cấp tính đặc biệt ngay sau khi dùng thuốc

- Xác định số lượng ĐVTN có biểu hiện ngộ độc; thời gian bắt đầu thể hiện triệu chứng độc, thời gian kéo dài các triệu chứng, khả năng hồi phục.

- Số lượng ĐVTN bị chết (nếu có) thời gian chết ứng với mỗi mức liều đã thử.

- Chết tiên đoán. Những ĐVTN ở tình trạng suy kiệt, hấp hối kéo dài, không có khả năng sống sót (ĐVTN không thể ăn uống trong khoảng thời gian theo dõi, được tiên đoán là sẽ chết), thì được tính như là trường hợp ĐVTN bị chết.

### ***1.5.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính bán trường diễn***

#### *1.5.2.1. Mục tiêu:*

Sau khi đã có thông tin về độc tính cấp sẽ tiến hành thử độc tính dài ngày trên động vật và mẫu thử được dự định sử dụng hoặc tiếp xúc dài ngày trên người.

Thử độc tính dài ngày nhằm xác định khả năng dung nạp của động vật thí nghiệm khi dùng mẫu thử nhiều lần. Thông tin cần xác định có những biểu hiện độc tính sau khi dùng dài ngày, bao gồm:

- Mức liều không hoặc có gây thay đổi đáng kể tới chức năng, cơ quan hoặc một số biểu hiện sống có thể quan sát được trên động vật thí nghiệm;

- Những độc tính có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục nếu có [33].

#### *1.5.2.2. Lựa chọn mô hình thử*

Mô hình, mức liều thử căn cứ vào các thông tin của mẫu thử và kết quả thử độc tính cấp để thiết kế.

Nếu mẫu thử không thể hiện độc tính cấp hoặc rất ít độc, có thể thử trên 1 loài động vật (gặm nhấm).

Trường hợp mẫu thử thể hiện độc tính cấp cao, liều gây độc gần với liều có tác dụng dược lý, cần thiết thử trên 2 loài động vật (gặm nhấm và không gặm nhấm) [33].

#### *1.5.2.3. Thời gian thử*

Thời gian thử trên động vật được tính dựa theo thời gian dự kiến dùng trên người hoặc có thể thử với các khoảng thời gian xác định, thời gian thử còn phụ thuộc vào đích của thử nghiệm là cung cấp thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn nào. Thời gian có thể ngắn hơn (14-28 ngày) trong trường hợp cần thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn 1 hoặc 2,; thời gian thử cần dài hơn (28-90 ngày) khi cần cung cấp thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn 3. Hiện nay, tài liệu hướng dẫn của các nước tham gia hòa hợp ICH giới thiệu tính thời gian thử độc tính theo 2 cách:

- Thời gian thử thuốc bằng 3-4 lần thời gian dự kiến dùng trên người.

- Thời gian thử theo từng khoảng xác định: 14 ngày, 28 hoặc 90 ngày. Lựa chọn từng khoảng thời gian thử tùy theo yêu cầu từng mẫu và điều kiện thử nghiệm. Đánh giá mức độ độc sẽ được xem xét trên báo cáo kết quả tương ứng với từng khoảng thời gian đã thử [33]



#### 1.5.2.4. Liều dùng

Mức liều thử thường được tính từ các thông tin thu được từ thử độc tính cấp, và được quy đổi tương đương theo liều giữa các loài nếu thử trên loài khác nhau. Với những nghiên cứu đầy đủ, thử nghiệm được thiết kế với 3 mức liều (tương đương 3 nhóm thử):

- Liều thấp: mức liều đủ để mẫu thử có tác dụng dược lý hoặc điều trị (tức là tương đương mức liều dự kiến dùng để điều trị cho người)
- Liều trung bình: mức liều có thể không gây những độc tính quan sát được hoặc gây ảnh hưởng không đáng kể;
- Liều cao: mức liều dự kiến sẽ quan sát được biểu hiện ngộ độc trên cơ quan của ĐVTN hoặc đến mức thể tích giới hạn cao nhất mà ĐVTN có thể dùng được [33].

### 1.6. Các mô hình gây loét dạ dày trên thực nghiệm

#### 1.6.1. Mô hình thắt môn vị Shay trên chuột cống trắng

*Nguyên tắc:*

Shay và cộng sự (1945) đã đề xuất phương pháp thắt môn vị trên chuột cống. Đây là phương pháp mô phỏng tình trạng tăng tiết acid cũng như làm chậm tháo rỗng dạ dày tương tự bệnh hẹp môn vị, từ đó gây viêm loét dạ dày [34], [35]

Sử dụng chuột cống trắng cân nặng từ 150 - 170 g, chia ngẫu nhiên thành các lô khác nhau. Trước ngày uống liều thuốc cuối cùng, chuột để nhịn đói 24 - 48 giờ nhưng vẫn cho uống nước trước khi làm thực nghiệm. Gây mê chuột, mở ổ bụng bộc lộ môn vị dạ dày chuột. Dùng chỉ phẫu thuật thắt môn vị (tránh thắt vào động mạch tạng), rồi khâu đóng thành bụng. Sau đó, các lô chuột được uống nước muối sinh lý, thuốc đối chiếu và thuốc nghiên cứu. Sau 19 giờ, giết chuột, mở ổ bụng, cắt phần dạ dày ra khỏi ổ bụng. Dịch vị trong dạ dày được đo thể tích và quay li tâm để xác định độ acid bằng NaOH 0,1N. Dạ dày được mở dọc theo bờ cong lớn, rửa bằng nước muối sinh lý, thấm khô và cố định trên đĩa. Niêm mạc dạ dày được soi dưới kính hiển vi để kiểm tra



mức độ tổn thương. Các vết loét thường xuất hiện nhiều ở dạ dày và hang vị. Đánh giá mức độ tổn thương: Đếm số vết loét và đánh giá mức độ tổn thương theo phương pháp tính điểm [36]

### **1.6.2. Mô hình loét dạ dày bằng Indomethacin**

- *Nguyên tắc:* 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 viêm.

- *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, chàm loét, vết xuất huyết, loét sâu, thủng.

- *Thông số đánh giá:*

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

- *Ưu điểm:* mô hình đơn giản, dễ thực hiện.

- *Nhược điểm:* kết quả phụ thuộc vào kỹ thuật của nghiên cứu viên

### **1.6.3. Gây viêm loét cấp bằng acid hydrochloric**

- *Nguyên tắc*

Vai trò gây viêm loét dạ dày của acid hydrochloric (HCl) đã được các nhà khoa học tìm ra. Mô phỏng những bệnh nhân tăng tiết acid (hội chứng Zollinger Ellison, bệnh tăng acid nguyên phát...), mô hình gây loét bằng acid hydrochloric sẽ gây nên tình trạng thừa acid trong dạ dày dẫn đến viêm loét dạ dày cấp ở động vật thí nghiệm

Chuột được uống thuốc từ 5 - 10 ngày trước khi làm thực nghiệm. Sau khi cho chuột uống liều gần cuối, chuột để nhịn đói nhưng vẫn cho uống nước trong 18 giờ. Sau 30 phút uống thuốc lần cuối cùng, chuột bị gây loét bằng dung dịch acid HCl 0,6 M với liều 5 ml/kg chuột. Sau 1 giờ, giết chuột, tách

lấy dạ dày. Mở dạ dày theo bờ cong lớn, rửa dạ dày bằng nước ấm, ngâm trong dung dịch formalin rồi đem soi dưới kính hiển vi để kiểm tra mức độ tổn thương và hiệu quả điều trị của thuốc [35], [37].

#### **1.6.4. Mô hình gây loét dạ dày bằng cysteamin**

- *Nguyên tắc:* 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 viêm [38]

- *Tiến hành:* Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô nghiên cứu với tỉ lệ đực/cái như nhau ở mỗi lô. Chuột ở các lô được uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục trong thời gian 10 ngày. Tại ngày thứ 10 của nghiên cứu, sau 1 giờ uống thuốc, chuột ở các lô 2, 3, 4 được uống cysteamin liều 400 mg/kg hai lần, khoảng cách giữa hai lần uống cách nhau 4 giờ. Chuột được nhịn ăn 18 tiếng trước khi uống cysteamin. Sau 24 giờ kể từ khi được uống cysteamin lần cuối, tất cả các chuột được gây mê bằng thiopental để đánh giá kết quả [39]

Quan sát bằng kính lúp độ phóng đại 10 lần, đánh giá mức độ loét theo thang điểm như sau [40]:

Không có loét (no lesion): 0 điểm.

Loét bề mặt niêm mạc (superficial mucosal erosion): 1 điểm.

Loét sâu (deep ulcer or transmural ulcer): 2 điểm.

Thủng (perforated or penetrated ulcer): 3 điểm.

-*Các chỉ số đánh giá*

Tỷ lệ chuột có loét dạ dày ở mỗi lô.

Diện tích ổ loét trung bình (mm<sup>2</sup>)

Hình ảnh đại thể dạ dày chuột.

Hình ảnh vi thể dạ dày của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô.

-*Ưu điểm:* mô hình đơn giản, dễ thực hiện

-*Nhược điểm:* kết quả phụ thuộc vào kỹ thuật của nghiên cứu viên

## CHƯƠNG 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Cao dược liệu phân đoạn ethyl acetat từ phần trên mặt đất của cây trai hoa trần (*M.nudiflora*) (Quy trình chiết cao dược trình bày trong Phụ lục 3). Ký hiệu là MNC2

- Mẫu cây trai hoa trần có hoa được thu hái tại TT Thanh Sơn, huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ ngày 08 tháng 5 năm 2023. Mẫu thực vật đã được Lê Hồng Dương, giảng viên Bộ môn Dược liệu- Dược học cổ truyền, Trường Đại học Y Dược, ĐHQGHN giám định tên khoa học là *Murdannia nudiflora* (L.) Bernan (Phiếu giám định số: 45/2023-UMP).



*Hình 2.1. Murdannia nudiflora*

#### 2.2. Hoá chất, máy móc dùng trong nghiên cứu

- Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần, creatinin của hãng Hospitex Diagnostics (Italy) và hãng DIALAB GmbH (Áo), định lượng trên máy Screen master của hãng Hospitex Diagnostics (Italy).

- Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX - Diagnostics, định lượng trên máy Vet abc™ Animal Blood Counter.
- Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.
- Indomethacin viên nén 25 mg (Kwality Pharmaceutical - Ấn Độ)
- Misoprostol STELLA viên nén 200 mcg (STELLA - Việt Nam)
- Nước muối sinh lý (Braun)
- Chloral hydrate (Shanghai Zhanyun Chemical Co.Ltd - Trung Quốc)
- Formaldehyd, các hóa chất làm giải phẫu bệnh.
- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Kim đầu tù cho chuột uống.
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1 ml.
- Các dụng cụ thí nghiệm khác.

### **2.3. Động vật nghiên cứu**

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

Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng  $200 \pm 20$  g do Cơ sở động vật thí nghiệm Đan Phượng – Hà Nội cung cấp.

Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý 7 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. Đánh giá độc tính của cao phân đoạn ethylacetat cây trai hoa trần trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng***

##### ***2.4.1.1. Đánh giá độc tính cấp***

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên chuột nhắt trắng theo phương pháp Litchfield- Wilcoxon [33].

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhện ăn qua đêm. Chuột nhắt trắng được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần 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 LD50 của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống MNC2

#### *2.4.1.2. Đánh giá độc tính bán trường diễn*

- Nghiên cứu độc tính bán trường diễn đường uống trên chuột cống trắng được tiến hành theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới về thuốc có nguồn gốc dược liệu. [35]

- Chuột cống trắng được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (chứng sinh học) (n = 10): uống nước cất 10ml/kg/ngày.

+ Lô trị 1 (n = 10): uống thể tích tương tự với hàm lượng cao chiết từ cây trai hoa trần liều 180 mg cao/kg thể trọng chuột/ngày.

+ Lô trị 2 (n = 10): uống thể tích tương tự với hàm lượng cao chiết từ cây trai hoa trần liều 540 mg cao/kg thể trọng chuột/ngày.

- Chuột được uống nước hoặc thuốc thử trong 12 tuần liên tục, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

\* Các chỉ tiêu theo dõi:

- Tình trạng chung, thể trọng của chuột.

- Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.

- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.

- Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: AST, ALT.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

- Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử.

- Mô bệnh học: Sau 12 tuần uống mẫu thử, chuột cống trắng được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột ở mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu và phát hiện sớm ung thư (do PGS.TS. Lê Đình Roanh đọc kết quả vi thể).

#### ***2.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống loét của cao phân đoạn ethylacetat cây trai hoa trần trên mô hình gây loét dạ dày bằng Indomethacin***

*Cách tiến hành:*

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

+ Lô 1 (Chứng sinh học): Uống nước cất 10 mL/kg

+ Lô 2 (Mô hình): Uống nước cất 10 mL/kg + uống INDO.

+ Lô 3 (Misoprostol): Uống misoprostol 50 µg/kg + uống INDO

+ Lô 4 (MNC2 liều cao): uống MNC2 liều 360 mg cao/kg + uống INDO

+ Lô 5 (MNC2 liều thấp): uống MNC2 liều 180 mg cao/kg + uống INDO

Chuột ở các lô được uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục trong thời gian 10 ngày. Tại ngày thứ 10 của nghiên cứu, sau 1 giờ uống thuốc, chuột ở các lô từ 2 đến 5 được uống INDO liều 40 mg/kg một lần duy nhất. Chuột được nhịn ăn 18 tiếng trước khi uống INDO. Sau 6 giờ kể từ



khi uống INDO, tất cả các chuột được gây mê bằng chloral hydrate, 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 cs (2021) [41] 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:

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

- + Hình ảnh đại thể dạ dày chuột

***Bảng 2.1. Thang điểm đánh giá tổn thương vi thể da dày-tá tràng***

	<b>Điểm 0</b>	<b>Điểm 1</b>	<b>Điểm 2</b>	<b>Điểm 3</b>
Độ sâu của tổn thương trượt	Tế bào bình thường, không tổn thương trượt	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

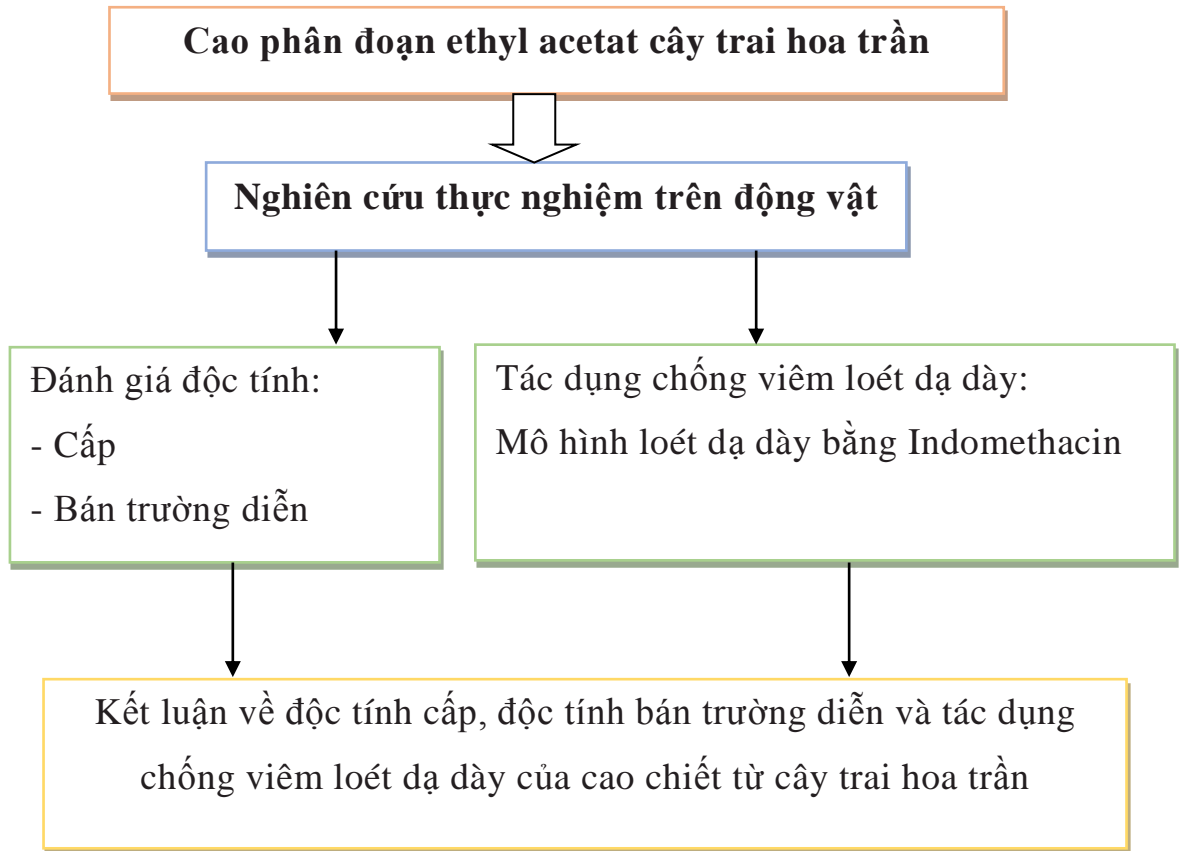
+ Hình ảnh vi thể dạ dày của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô. Đánh giá mức độ tổn thương trên hình ảnh vi thể dạ dày theo thang điểm của Simões S và cộng sự [42] và được điều chỉnh như trong Bảng 2.1. Điểm tổn thương vi thể được tính bằng tổng điểm của các tham số đánh giá, với điểm tối đa có thể là 15.

### **2.5. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 04 năm 2023 đến tháng 9 năm 2023.
- Địa điểm nghiên cứu:
  - + Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.
  - + Bộ môn Dược lý - Đại học Y Hà Nội.



## 2.6. Sơ đồ nghiên cứu



*Hình 2.1: Mô hình nghiên cứu độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và tác dụng chống loét dạ dày của cao chiết phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần.*

## 2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được thu thập và xử lý bằng phương pháp thống kê T-test Student. Số liệu được biểu diễn dưới dạng:  $X \pm SD$ . 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 cống trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

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

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết 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. Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của cao chiết phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng.**

**3.1.1. Đánh giá độc tính cấp của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên chuột nhắt trắng.**

Chuột nhắt trắng được uống cao MNC2 từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc, theo dõi thấy các liều cao MNC2 không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 24, 48, 72 giờ sau uống thuốc và trong suốt 7 ngày tiếp theo. Theo dõi kết quả lô chuột được trình bày ở bảng 3.1.

**Bảng 3.1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần**

Lô chuột	n	Thể tích uống (ml dung dịch đậm đặc/kg)	Liều uống (gam cao/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	45	12,85	0	Không
Lô 2	10	60	17,14	0	Không
Lô 3	10	75	21,42	0	Không

**Nhận xét:** Các lô chuột uống cao MNC2 liều từ 45 ml dung dịch đậm đặc/kg tương đương 12,85 gam cao/kg đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 21,42 gam cao/kg không có biểu hiện độc tính cấp (đây là lượng thuốc tối đa mà chuột có thể dung nạp được). Từ bảng 3.1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của cao MNC2 là: 21,42 gam cao/kg.

**3.1.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên chuột cống trắng.**

**3.1.2.1. Tình trạng chung**

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở cả 3 lô hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô.

**3.1.2.2. Sự thay đổi thể trọng chuột**

**Bảng 3.2: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Thể trọng chuột.**

Thời gian	Trọng lượng (g)			p (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
<b>Trước uống</b>	158,0 ± 49,6	157,3 ± 19,0	160,0 ± 22,6	> 0,05
<b>Sau uống 4 tuần</b>	177,0 ± 41,4	170,9 ± 26,6	181,0 ± 23,3	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
<b>Sau uống 8 tuần</b>	225,0 ± 56,6	202,7 ± 36,4	207,0 ± 33,7	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	< 0,05	< 0,05	< 0,05	
<b>Sau uống 12 tuần</b>	248,0 ± 64,8	230,9 ± 35,3	254,0 ± 27,2	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy:

Sau 8 tuần và 12 tuần, trọng lượng chuột ở lô chứng sinh học, lô trị 1 và lô trị 2 đều tăng có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống mẫu thử ( $p < 0,05$ ).

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về trọng lượng chuột giữa các lô dùng mẫu thử với lô chứng sinh học tại tất cả các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

## 3.1.2.3. Đánh giá chức năng tạo máu

**Bảng 3.3: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Số lượng hồng cầu trong máu chuột cống trắng**

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/L)			p (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
<b>Trước uống</b>	10,5 ± 1,2	10,1 ± 0,9	9,7 ± 1,1	> 0,05
<b>Sau uống 4 tuần</b>	10,9 ± 1,5	10,8 ± 1,3	10,5 ± 1,1	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
<b>Sau uống 8 tuần</b>	10,0 ± 0,6	9,5 ± 1,1	9,6 ± 1,1	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
<b>Sau uống 12 tuần</b>	10,2 ± 1,2	10,2 ± 1,1	10,1 ± 0,8	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, số lượng hồng cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.4: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến hàm lượng Huyết sắc tố trong máu chuột cống trắng**

Thời gian	Số lượng huyết sắc tố (g/dL)			p (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
<b>Trước uống</b>	13,3 ± 0,5	13,4 ± 1,1	13,1 ± 1,0	> 0,05
<b>Sau uống 4 tuần</b>	13,1 ± 1,0	12,5 ± 1,0	12,5 ± 0,9	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
<b>Sau uống 8 tuần</b>	13,1 ± 1,2	12,5 ± 1,8	13,4 ± 1,2	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
<b>Sau uống 12 tuần</b>	13,8 ± 1,4	13,7 ± 1,5	14,1 ± 1,7	> 0,05
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.4 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, số lượng huyết sắc tố ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.5: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trắng đến hàm lượng Hematocrit trong máu chuột cống trắng**

Thời gian	Hematocrit (%) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	47,4 ± 4,1	48,4 ± 6,1	50,6 ± 5,4	> 0,05
Sau uống 4 tuần	48,5 ± 4,4	51,3 ± 10,1	52,2 ± 6,6	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	45,3 ± 3,6	45,1 ± 6,4	47,1 ± 5,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	46,8 ± 6,4	47,0 ± 6,0	48,6 ± 4,5	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.5 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, hematocrit ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.6: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trắng đến Thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột cống trắng**

Thời gian	Thể tích trung bình hồng cầu (fL) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	48,9 ± 4,3	48,2 ± 3,5	52,6 ± 6,6	> 0,05
Sau uống 4 tuần	49,7 ± 2,7	50,5 ± 1,8	52,3 ± 1,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	48,6 ± 3,1	47,1 ± 2,4	48,5 ± 1,5	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	47,7 ± 4,1	46,3 ± 1,8	49,0 ± 1,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.6 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, thể tích trung bình hồng cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.7: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trắng đến Số lượng bạch cầu trong máu chuột cống trắng**

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	9,3 ± 1,9	10,1 ± 1,8	9,4 ± 1,5	> 0,05
Sau uống 4 tuần	9,2 ± 0,9	9,0 ± 1,8	10,0 ± 1,1	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	9,8 ± 1,8	9,4 ± 3,0	10,2 ± 2,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	10,0 ± 1,6	11,7 ± 2,9	10,6 ± 1,7	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.7 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, số lượng bạch cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).



**Bảng 3.8: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Công thức bạch cầu trong máu chuột cống trắng**

Thời gian	Công thức bạch cầu ( $\bar{X} \pm SD$ )					
	Lô chứng (n = 10)		Lô trị 1 (n = 10)		Lô trị 2 (n = 10)	
	<i>Lympho</i> (%)	<i>Trung tính</i> (%)	<i>Lympho</i> (%)	<i>Trung tính</i> (%)	<i>Lympho</i> (%)	<i>Trung tính</i> (%)
<b>Trước uống</b>	68,7 ± 6,1	17,2 ± 5,0	69,6 ± 7,4	16,7 ± 5,6	73,5 ± 7,2	14,9 ± 3,5
<b>Sau 4 tuần</b>	65,4 ± 8,5	16,7 ± 3,4	70,4 ± 7,2	14,8 ± 3,1	70,5 ± 6,9	14,6 ± 4,1
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
<b>Sau 8 tuần</b>	69,3 ± 4,1	15,6 ± 4,4	72,5 ± 5,2	14,3 ± 3,5	73,9 ± 9,2	14,7 ± 1,9
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
<b>Sau 12 tuần</b>	70,9 ± 2,8	14,6 ± 3,5	74,4 ± 6,2	14,8 ± 3,1	71,0 ± 5,6	13,8 ± 3,0
<b>p (test trước-sau)</b>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.8 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, công thức bạch cầu (phần trăm bạch cầu lympho và bạch cầu trung tính) ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so với trước khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.9: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến Tiểu cầu trong máu chuột cống trắng**

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	556,8 ± 94,8	579,8 ± 100,5	573,6 ± 73,6	> 0,05
Sau uống 4 tuần	575,8 ± 73,1	612,3 ± 134,8	617,7 ± 73,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	559,7 ± 53,8	608,4 ± 87,0	576,8 ± 103,4	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	554,1 ± 73,3	570,4 ± 106,1	581,9 ± 121,6	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.9 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, số lượng tiểu cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

3.1.2.4. Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan

**Bảng 3.10: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trắng đến hoạt độ AST (GOT) trong máu**

Thời gian	Hoạt độ AST (UI/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	80,2 ± 6,2	86,3 ± 10,9	86,2 ± 13,1	> 0,05
Sau uống 4 tuần	77,7 ± 9,4	88,6 ± 11,7	85,6 ± 12,1	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	80,3 ± 12,5	88,0 ± 19,9	87,6 ± 15,6	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	79,3 ± 4,3	123,0 ± 13,0	111,2 ± 14,0	< <u>0,001</u>
p (test trước-sau)	> 0,05	< <u>0,001</u>	< <u>0,01</u>	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.10 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần, hoạt độ AST ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

Sau 12 tuần, hoạt độ AST ở lô trị 1 và lô trị 2 tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p < 0,001$  và  $p < 0,01$ ). Tuy nhiên, giá trị AST bình thường ở chuột cống dao động từ 50 đến 150 IU/L [43], [44]. Như vậy giá trị AST ở lô trị 1 và lô trị 2 sau 12 tuần vẫn nằm trong giới hạn bình thường ở chuột cống.

**Bảng 3.11: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần đến hoạt độ ALT (GPT) trong máu**

Thời gian	Hoạt độ ALT (UI/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	35,0 ± 7,1	35,2 ± 3,2	34,0 ± 3,0	> 0,05
Sau uống 4 tuần	30,4 ± 5,8	36,4 ± 10,2	33,5 ± 6,5	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	36,3 ± 7,3	37,4 ± 11,3	38,2 ± 5,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	32,7 ± 5,3	45,5 ± 6,6	42,3 ± 15,5	$p_{1-chứng} < 0,001$ $p_{2-chứng} > 0,05$
p (test trước-sau)	> 0,05	$< 0,001$	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.11 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần, hoạt độ ALT ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

Sau 12 tuần:

- Hoạt độ ALT ở lô trị 1 tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và trước khi uống ( $p < 0,001$ )

- Hoạt độ ALT ở lô trị 2 có xu hướng tăng so với lô chứng sinh học và trước khi uống nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê.

- Giá trị ALT bình thường ở chuột cống dao động từ 10 đến 40 IU/L [43], [44]. Như vậy giá trị trung bình ALT ở 2 lô dùng mẫu thử chỉ tăng hơn 1 chút so với giới hạn trên của mức bình thường ở chuột cống trắng.

## 3.1.2.5. Đánh giá chức năng gan

**Bảng 3.12: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trắng đến Bilirubin toàn phần trong máu chuột**

Thời gian	Nồng độ bilirubin toàn phần (mmol/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	9,1 ± 0,7	9,0 ± 0,7	9,3 ± 0,8	> 0,05
Sau uống 4 tuần	9,2 ± 0,6	9,4 ± 0,9	9,6 ± 0,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	8,9 ± 0,3	9,3 ± 0,7	8,9 ± 0,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	9,2 ± 0,6	9,2 ± 0,6	9,2 ± 0,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.12 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, nồng độ bilirubin toàn phần ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.13: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trắng đến Albumin trong máu chuột**

Thời gian	Nồng độ albumin (g/dL) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	3,5 ± 0,3	3,3 ± 0,4	3,3 ± 0,3	> 0,05
Sau uống 4 tuần	3,4 ± 0,3	3,5 ± 0,3	3,4 ± 0,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	3,4 ± 0,2	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	3,5 ± 0,3	3,5 ± 0,2	3,6 ± 0,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.13 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, nồng độ albumin ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.14: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trắng đến nồng độ Cholesterol toàn phần trong máu chuột**

Thời gian	Nồng độ cholesterol toàn phần (mg/dL) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	52,9 ± 11,0	55,4 ± 10,0	49,1 ± 4,2	> 0,05
Sau uống 4 tuần	59,8 ± 9,1	58,5 ± 9,6	53,4 ± 6,8	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	53,1 ± 4,1	54,9 ± 8,7	51,6 ± 10,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	55,3 ± 7,8	58,3 ± 8,8	52,1 ± 10,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.14 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, nồng độ cholesterol toàn phần ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

### 3.1.2.6. Đánh giá chức năng thận

**Bảng 3.15: Ảnh hưởng của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trắng đến Creatinin trong máu chuột**

Thời gian	Nồng độ creatinin (mg/dL) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	77,7 ± 6,1	75,1 ± 5,7	78,6 ± 7,6	> 0,05
Sau uống 4 tuần	73,7 ± 7,1	73,7 ± 4,8	79,3 ± 7,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	74,9 ± 6,7	73,7 ± 6,6	74,6 ± 6,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	73,2 ± 5,6	72,3 ± 6,3	76,1 ± 9,4	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 3.15 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, ở cả lô trị 1 (uống mẫu thử MNC2 liều 180 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống mẫu thử MNC2 liều 540 mg/kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

### 3.1.3. Hình thái đại thể và cấu trúc vi thể gan thận của chuột sau 12 tuần nghiên cứu

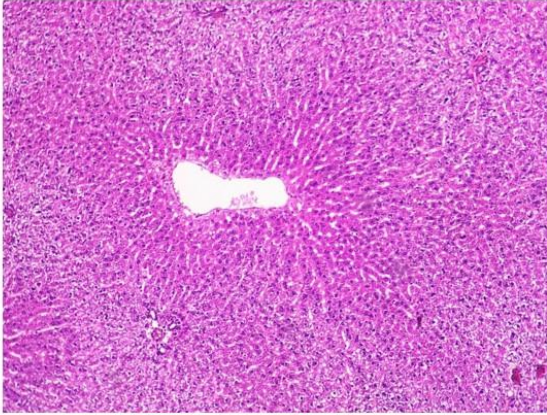
\* **Hình thái đại thể của gan và thận:** Trên tất cả các chuột thực nghiệm (cả lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của gan và thận.



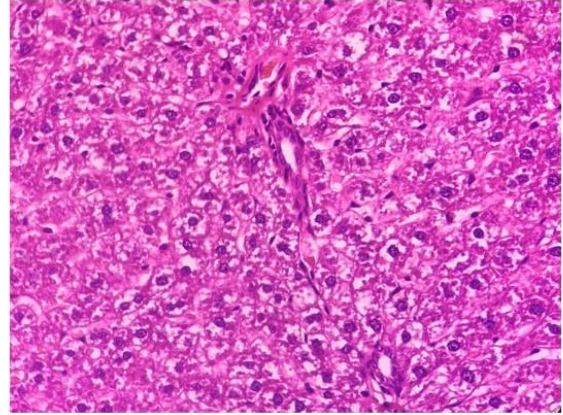
**\* Hình thái vi thể của gan và thận:**

- Hình thái vi thể của gan:

GPB 06\_Gan; 100X



GPB 06\_Gan; 400X

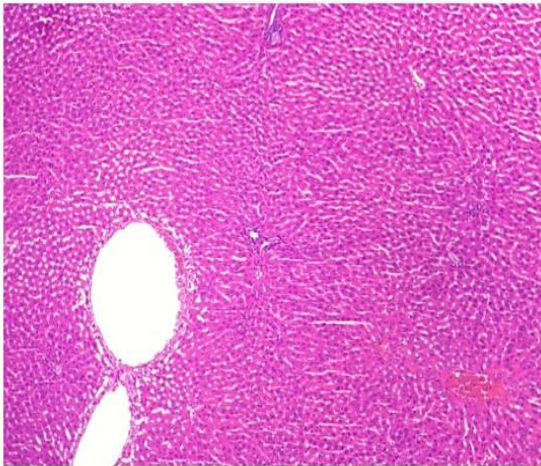


**Hình 3.1. Hình thái vi thể gan chuột lô chứng sau 12 tuần uống mẫu thử**  
(HE x 100 và HE x 400)

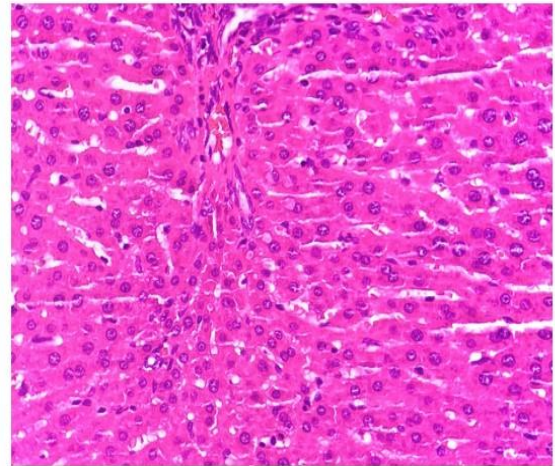
(HE x 100: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 100 lần)

HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)

GPB 56\_Gan; 100X



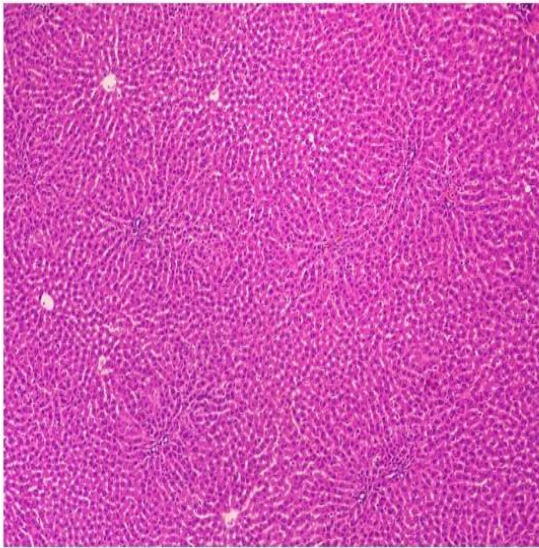
GPB 56\_Gan; 400X



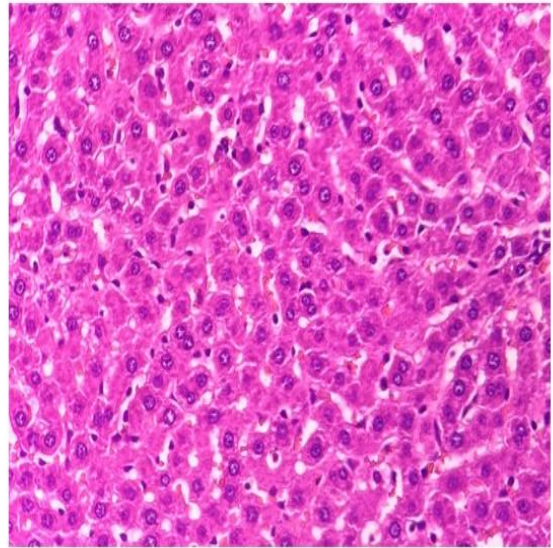
**Hình 3.2: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 sau 12 tuần uống mẫu thử**  
(chuột số 56) (HE x 100 và HE x 400)



GPB 46\_Gan; 100X



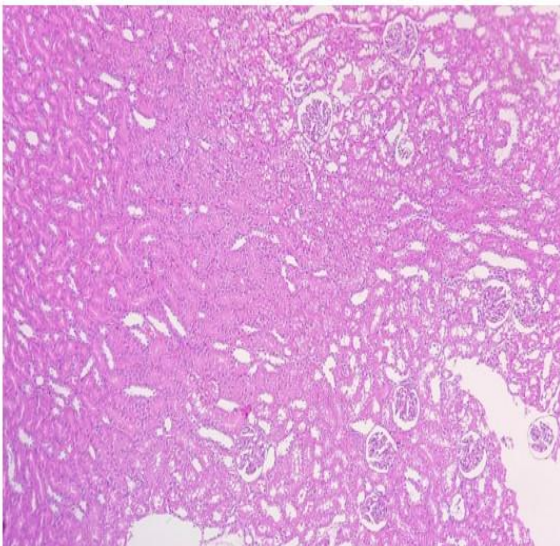
GPB 46\_Gan; 400X



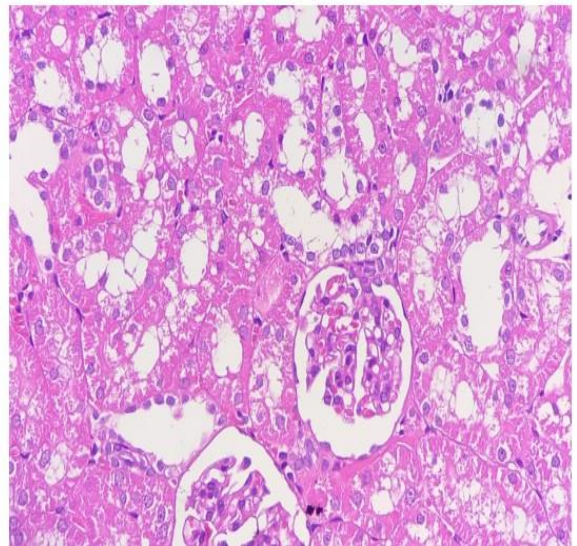
**Hình 3.3. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 sau 12 tuần uống mẩu thử**  
(chuột số 46) (HE x 100 và HE x 400)

- Hình thái vi thể thận:

GPB 05\_Thận; 100X



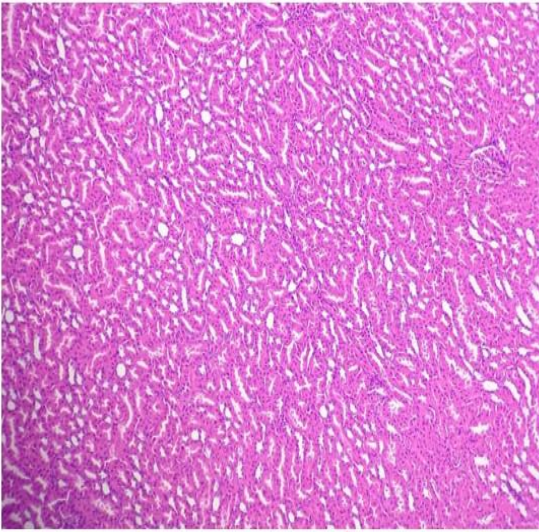
GPB 05\_Thận; 400X



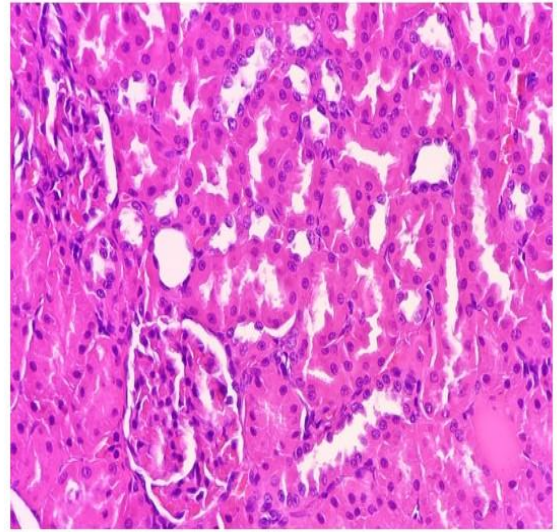
**Hình 3.4: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột số 05)**  
(HE x 100 và HE x 400)



GPB 51\_Thận; 100X

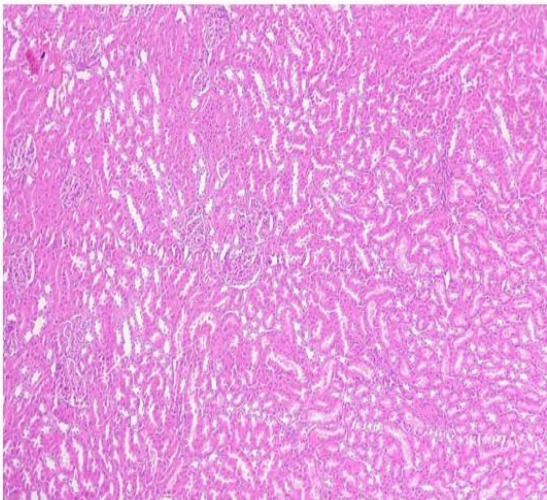


GPB 51\_Thận; 400X

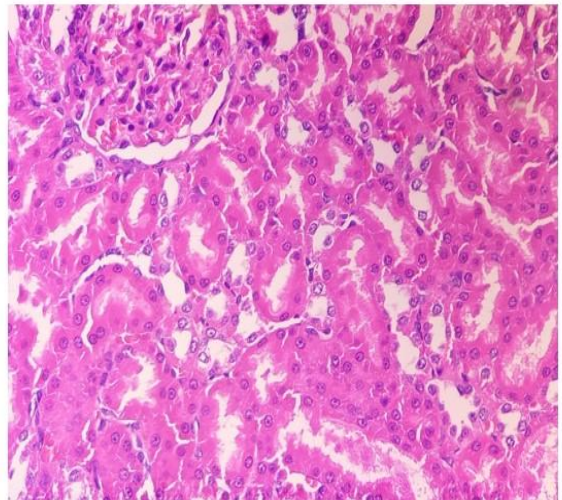


**Hình 3.5: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 sau 12 tuần uống mẫu thử (chuột số 51) (HE x 100 và HE x 400)**

GPB 38\_Thận; 100X



GPB 38\_Thận; 400X

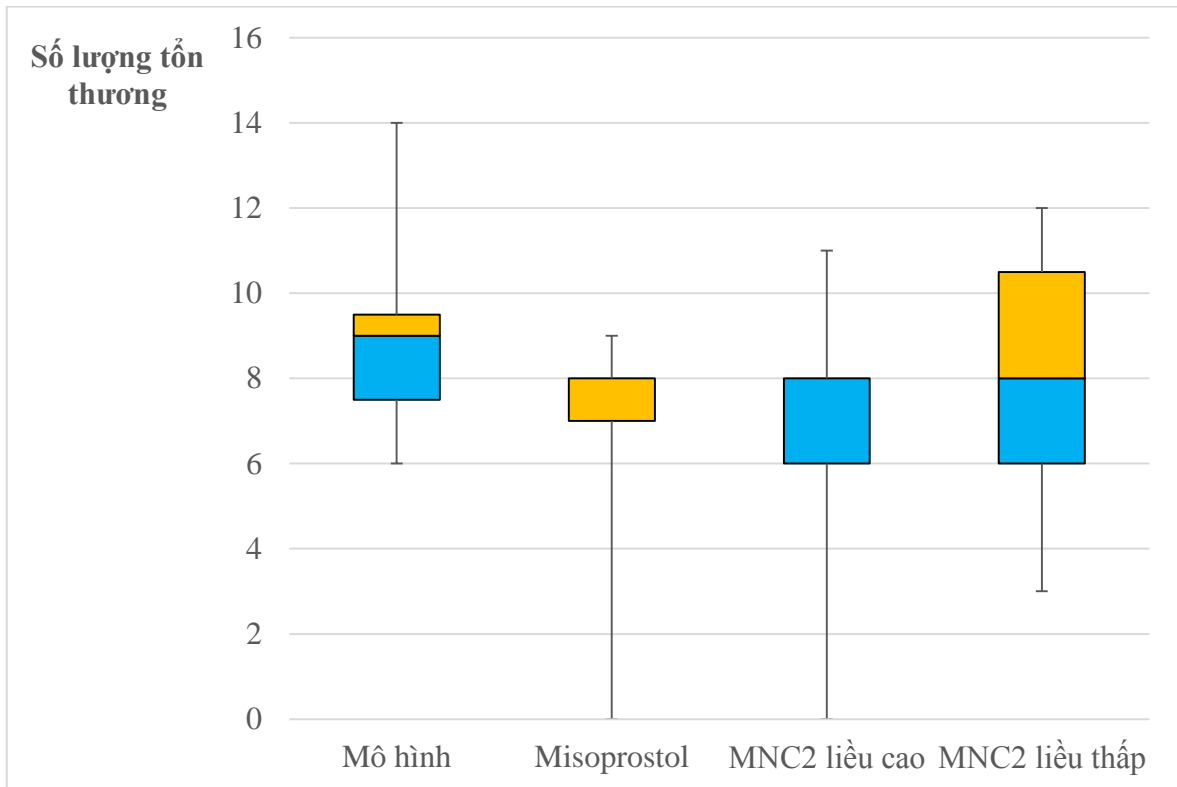


**Hình 3.6: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 sau 12 tuần uống mẫu thử (chuột số 38) (HE x 100 và HE x 400)**

**Nhận xét:** Sau 12 tuần uống mẫu thử, cấu trúc vi thể gan và thận của lô trị 1 và lô trị 2 không có sự khác biệt so với lô chứng sinh học.

**3.1.4. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống loét của cao phân đoạn ethyl acetat từ cây trai hoa trần trên mô hình gây loét dạ dày bằng Indomethacin**

**3.1.4.1. Ảnh hưởng của MNC2 đến số lượng tổn thương ở dạ dày**



**Biểu đồ 3.1: Ảnh hưởng của MNC2 đến số lượng tổn thương ở dạ dày**

**Nhận xét:** Biểu đồ 3.1 trình bày số lượng tổn thương ở dạ dày của các lô nghiên cứu trên quan sát đại thể

- Lô mô hình: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 7-10. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 14 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 6.
- Lô uống misoprotol: Số lượng tổn thương ít hơn so với lô mô hình, dao động chủ yếu trong khoảng 7-8. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 9 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.

- Lô uống MNC2 liều cao: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 6-8. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 11 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.
- Lô uống MNC2 liều thấp: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 6-11. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 12 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 3.

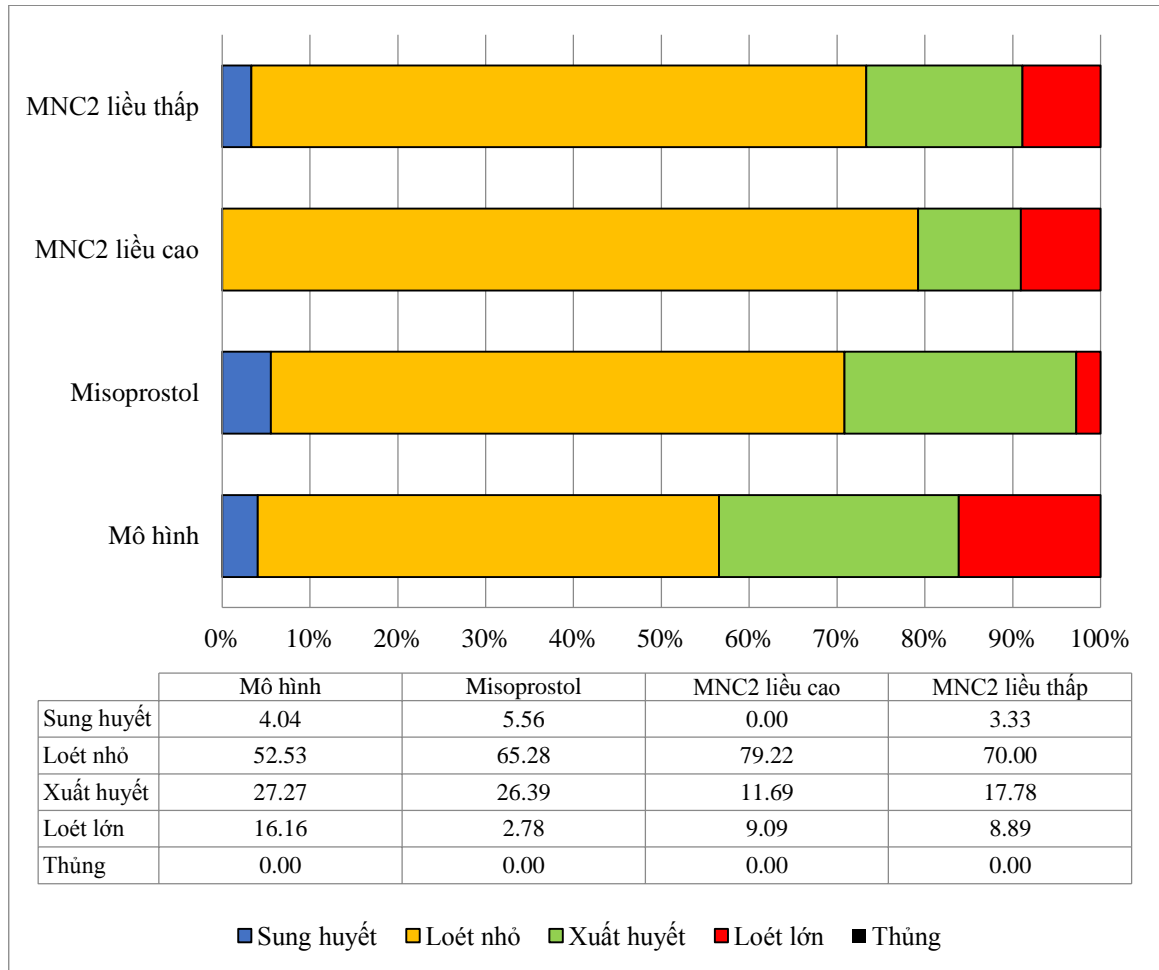
**Bảng 3.16: Ảnh hưởng của MNC2 đến số tổn thương trung bình ở dạ dày**

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ loét	Số tổn thương ( $\bar{X} \pm SD$ )
Lô 2: Mô hình	10	10/10	9,00 $\pm$ 2,41
Lô 3: Misoprostol	10	9/10	6,55 $\pm$ 2,88
Lô 4: MNC2 liều cao	10	9/10	7,00 $\pm$ 3,10
Lô 5: MNC2 liều thấp	10	10/10	8,18 $\pm$ 2,82

Nhận xét: Kết quả nghiên cứu ở Bảng 3.17 cho thấy:

- 100% chuột ở lô mô hình có hình ảnh loét dạ dày.
- Misoprostol và các lô uống MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm số lượng tổn thương trung bình so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

### 3.1.4.2. Ảnh hưởng của MNC2 đến mức độ tổn thương ở dạ dày



**Biểu đồ 3.2: Ảnh hưởng của MNC2 đến mức độ tổn thương dạ dày trên quan sát đại thể**

Kết quả ở Biểu đồ 3.2 cho thấy:

- Không quan sát thấy tình trạng thủng dạ dày ở tất cả các lô nghiên cứu.
- Loại tổn thương chủ yếu được quan sát thấy ở các lô nghiên cứu là loét nhỏ. Các lô được điều trị trước bằng misoprostol và MNC2 đều có tỷ lệ loét nhỏ cao hơn so với lô mô hình, cao nhất là MNC2 liều cao với 79,22%.
- Các loại tổn thương nặng (xuất huyết, loét lớn) gặp với tỷ lệ cao nhất ở lô mô hình (43,43%), sau đó giảm dần theo thứ tự các lô như sau: misoprostol (29,17%) > MNC2 liều thấp (26,67%) > MNC2 liều cao (20,78%).

**Bảng 3.17. Ảnh hưởng của MNC2 đến chỉ số loét dạ dày**

Lô nghiên cứu (n=10)	Tỷ lệ loét	Chỉ số loét (UI)	% ức chế loét
Lô 2: Mô hình	10/10	4,50 ± 0,63	---
Lô 3: Misoprostol	9/10	3,18 ± 1,27**	29,29
Lô 4: MNC2 liều cao	9/10	3,36 ± 1,50*	25,25
Lô 5: MNC2 liều thấp	10/10	4,00 ± 1,07	11,11

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)

**Nhận xét:** Kết quả ở Bảng 3.18 cho thấy:

- Misoprostol làm giảm có ý nghĩa thống kê chỉ số loét so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ), tỷ lệ ức chế loét là 29,29%.

- MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống MNC2 liều cao.

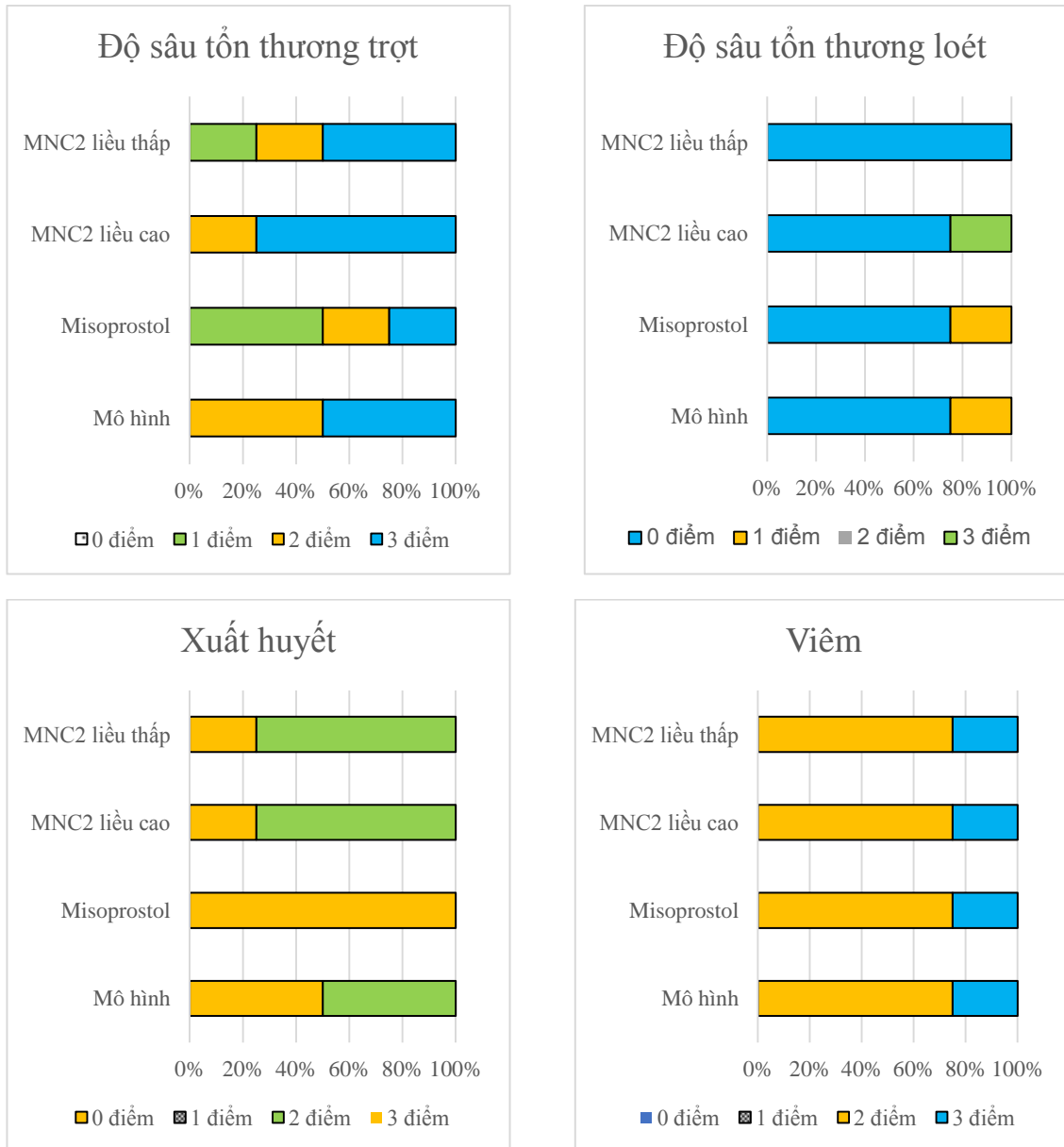
#### 3.1.4.3. Ảnh hưởng của MNC2 đến hình ảnh mô bệnh học dạ dày chuột

**Bảng 3.18. Điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột**

Lô nghiên cứu	Tổng điểm vi thể				Tổng điểm trung bình
	Mẫu DD1	Mẫu DD2	Mẫu DD3	Mẫu DD4	
Chứng	0	0	0	0	0,00
Mô hình	7	6	6	5	6,00 ± 0,82
Misoprostol	4	6	3	4	4,25 ± 1,26
MNC2 liều cao	11	7	7	4	7,25 ± 2,87
MNC2 liều thấp	7	6	7	4	6,00 ± 1,41

**Nhận xét:** Quan sát điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột ở Bảng 3 nhận thấy, mức độ tổn thương có xu hướng cải thiện ở lô uống misoprostol với điểm vi thể trung bình thấp hơn chưa có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình. Điểm vi thể trung bình ở các lô uống MNC2 chưa có sự cải thiện so với lô mô hình.





**Biểu đồ 3.3: Các thông số đánh giá trên hình ảnh vi thể**

Biểu đồ 3.3 trình bày cụ thể về điểm tổn thương của từng thông số đánh giá trên quan sát vi thể.

- Không có hình ảnh apoptosis ở tất cả các mẫu dạ dày.
- Độ sâu của tổn thương trượt: Mức độ trượt nặng được quan sát thấy ở lô mô hình và các lô uống MNC2 với  $\geq 50\%$  mẫu dạ dày có độ sâu tổn thương ở mức toàn bộ niêm mạc (3 điểm). Misoprostol có tác dụng làm giảm mức độ trượt với 50% mẫu dạ dày có mức độ trượt chỉ lên đến 1/3 độ dày niêm mạc (1 điểm).



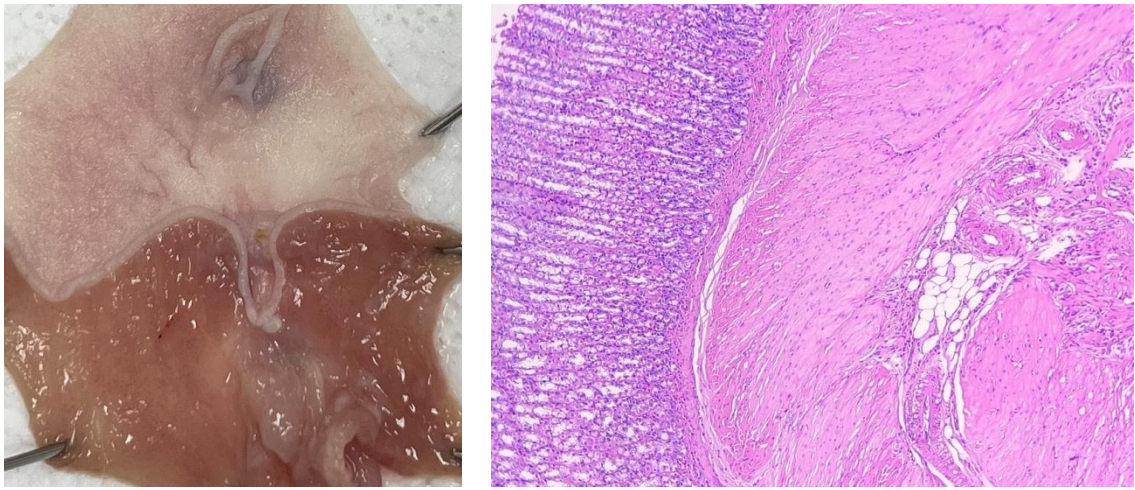
- Độ sâu của tổn thương loét: Tổn thương loét sâu đến tầng cơ chỉ được quan sát thấy ở 1/4 mẫu dạ dày của lô uống MNC2 liều cao. Tổn thương loét ở các lô mô hình, misoprostol có mức độ tổn thương giới hạn tại cơ niêm (1 điểm). 100% mẫu dạ dày của lô uống MNC2 liều thấp có hình ảnh tế bào bình thường, không tổn thương loét (0 điểm).
- Xuất huyết: Tình trạng xuất huyết nhẹ (2 điểm) được quan sát thấy ở  $\geq$  50% mẫu dạ dày của các lô mô hình và 2 lô uống MNC2.
- Viêm: Tất cả các mẫu dạ dày đều có tình trạng viêm, phần lớn có mức độ viêm nhẹ (2 điểm). Mức độ viêm nặng (3 điểm) được quan sát thấy ở 1/4 mẫu dạ dày ở cả 4 lô gây loét bằng INDO.

**Bảng 3.19. Hình ảnh mô bệnh học dạ dày**

Lô	Hình ảnh vi thể
	Các mảnh cắt đều là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài
Chứng sinh học	<u>4/4</u> mảnh cắt có hình ảnh 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.
Mô hình	<p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh rải rác một số điểm có tổn thương loét hoại tử đến lớp cơ niêm. Mô đệm xâm nhập nhiều bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>2/4</u> mảnh cắt có hình ảnh trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm tấy đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện một số điểm viêm tấy trên 2/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p>

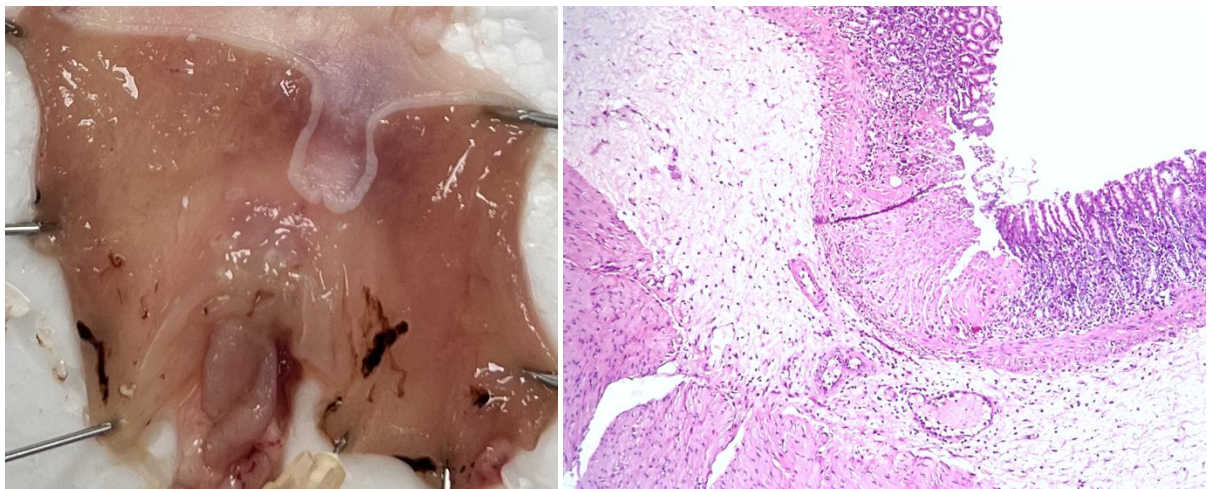
Lô	Hình ảnh vi thể
Misoprostol	<p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm tấy đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>2/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm tấy đến 1/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác hoặc nhiều bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh 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.</p>
MNC2 liều cao	<p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh một số vùng có tổn thương loét hoại tử đến tầng cơ, rải rác xuất huyết nhẹ. Mô đệm phù nề, xâm nhập nhiều bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>2/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm tấy trên 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm tấy đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p>
MNC2 liều thấp	<p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm tấy đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>2/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm tấy trên 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính</p> <p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm tấy đến 1/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm phù nề xuất hiện nhiều bạch cầu hạt trung tính.</p>

\*Hình ảnh đại thể và vi thể



**Hình 3.7. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng sinh học (mã DD09)**

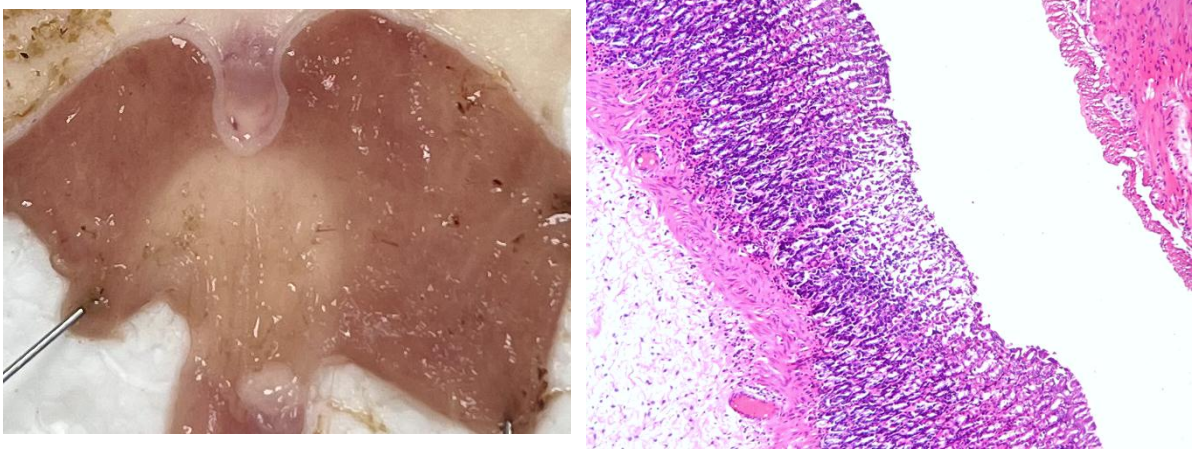
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Không xuất hiện tổn thương trên các tầng mô (HE,  $\times 100$ )



**Hình 3.8. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô mô hình (mã DD13)**

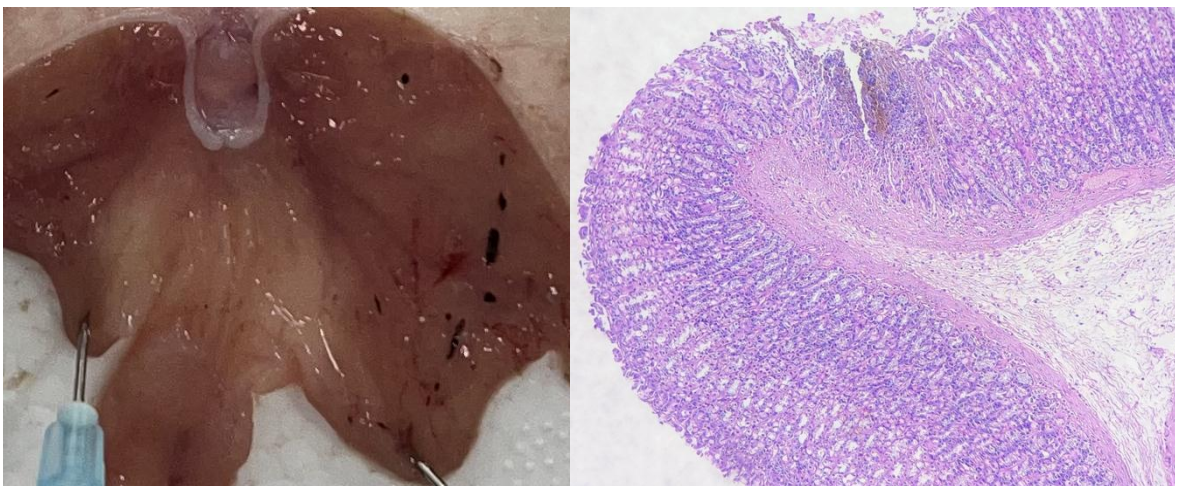
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Rải rác một số điểm có tổn thương loét hoại tử đến lớp cơ niêm. Mô đệm xâm nhập nhiều bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )





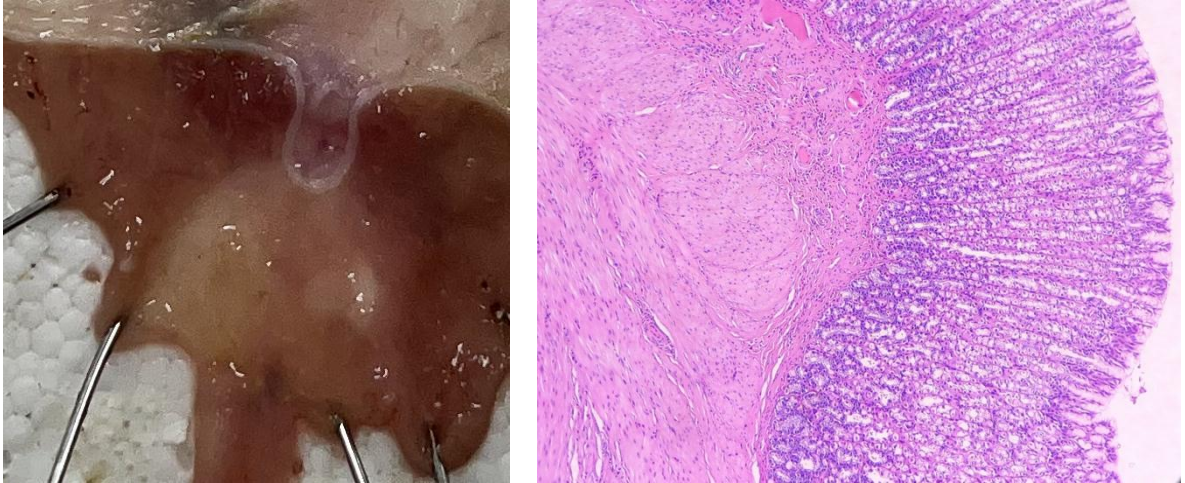
**Hình 3.9. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô misoprostol (mã DD25)**

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. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trợt đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )



**Hình 3.10. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều cao  
(mã DD85)**

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. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trợt trên 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )



**Hình 3.11. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều thấp**

(mã DD99)

*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. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trọt đến 1/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm phù nề xuất hiện nhiều bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )*

## Chương 4

### BÀN LUẬN

#### **4.1. Bàn luận về độc tính cấp và bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần (*M. nudiflora*)**

##### **4.1.1. Độc tính cấp của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần**

Con người là vốn quý nhất, tất cả các thuốc trước khi dùng trên người đều phải được đảm bảo an toàn. Vì vậy, thử độc tính của thuốc trên động vật thực nghiệm là việc làm bắt buộc đối với các nghiên cứu thuốc mới. Kết quả nghiên cứu về độc tính còn là cơ sở cho việc tính toán liều dùng và dự phòng các tác dụng không mong muốn có thể xảy ra [44], [45].

Nghiên cứu độc tính cấp của cao chiết cây trai hoa trần được tiến hành bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon.

Kết quả nghiên cứu về độc tính cấp ở bảng 3.1 cho thấy các lô chuột uống cao MNC2 liều từ 45 ml dung dịch đậm đặc/kg tương đương 12,85 gam cao/kg đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 21,42 gam cao/kg không có biểu hiện độc tính cấp. Từ bảng 3.1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của cao MNC2 là: 21,42 gam cao/kg (Tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhất 12, liều tối đa 1,5 gam/ngày/người). Đồng thời, không thấy có sự biến đổi bất thường, không có chuột nào chết trong vòng 72 giờ. Đây là thể tích tối đa chuột có thể dung nạp nhưng không thấy chuột nào chết, do đó chưa xác định được liều gây chết 50% (LD 50) của mẫu cao chiết cây trai hoa trần theo đường uống theo phương pháp Litchfield- Wilcoxon. Kết quả trên đã khẳng định tính an toàn của cây trai hoa trần.

##### **4.1.2. Độc tính bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần**

Mặc dù thử độc tính cấp thấy MNC2 dùng cho chuột với liều gấp gần 15 lần liều dự kiến trên người không thấy có biểu hiện của ngộ độc cấp.



Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của cao chiết cây trai hoa trần được tiến hành trên chuột cống trắng. Kết quả đánh giá độc tính bán trường diễn được thể hiện qua theo dõi các chỉ số về toàn trạng chuột, chỉ số huyết học, hóa sinh máu đánh giá chức năng gan thận. Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống mẫu thử, sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu nghiên cứu.

#### *4.1.2.1. Ảnh hưởng lên tình trạng chung, thể trọng của chuột.*

Cân nặng của tất cả chuột đều tăng so với trước khi nghiên cứu. Sau 8 tuần và 12 tuần, trọng lượng chuột ở lô chứng sinh học, lô trị 1 và lô trị 2 đều tăng có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống mẫu thử ( $p < 0,05$ ) và chuột ở tất cả các lô đều ăn uống hoạt động bình thường, lông mượt, phân không thay đổi. Điều này phù hợp với sinh lý phát triển của chuột trong điều kiện nuôi nhốt và được nuôi ăn bằng công cụ và khẩu phần chuyên dụng.

Đồng thời, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về trọng lượng chuột giữa các lô dùng mẫu thử với lô chứng sinh học tại tất cả các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ). Như vậy MNC2 không làm ảnh hưởng xấu đến tình trạng chung và mức độ tăng trưởng của chuột khi uống thuốc liên tục trong 12 tuần kể cả ở lô chuột uống liều cao gấp 3 lần liều có tác dụng tương đương trên người.

#### *4.1.2.2. Đánh giá chức phận tạo máu của chuột nghiên cứu.*

Máu là một tổ chức rất quan trọng vì máu liên quan mật thiết với mọi bộ phận, cơ quan trong cơ thể. Về mặt bệnh lý, máu chịu ảnh hưởng của tất cả các tổ chức đó nhưng đồng thời cũng bị ảnh hưởng và phản ánh tình trạng riêng của cơ quan tạo máu [45].

Máu phản ánh trạng thái của cơ quan tạo máu, nên thuốc có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết các thành phần của máu sẽ bị thay đổi [45]. Vì vậy, các xét nghiệm về số lượng hồng cầu, thể tích trung

bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu của chuột thí nghiệm được xác định.

Kết quả các bảng từ 3.3 đến bảng 3.9 đều cho thấy sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống MNC2, các chỉ số trên ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

#### *4.1.2.3. Đánh giá mức độ tổn thương gan của chuột nghiên cứu.*

Trong cơ thể gan là cơ quan đảm nhận nhiều chức năng rất quan trọng. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết [45]. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, người ta thường định lượng hoạt độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh. Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan.

ALT là enzyme có nhiều nhất ở gan, chúng có trong bào tương của tế bào nhu mô gan. Khi tổn thương hủy hoại tế bào gan, thậm chí chỉ cần thay đổi tính thấm của màng tế bào gan, hoạt độ của ALT đã tăng cao. Khác với ALT, 2/3 AST khu trú trong ty thể, chỉ có 1/3 trong bào tương của tế bào. Khi tổn thương tế bào gan ở mức độ dưới tế bào, AST trong ty thể được giải phóng ra. Vì vậy trong viêm gan nói chung hoạt độ ALT luôn tăng cao hơn AST. Trong nghiên cứu này, hoạt độ ALT và AST trong máu chuột ở hai lô trị không thay đổi sau 4 tuần, 8 tuần uống MNC2 so với lô chứng (bảng 3.10) và không thay đổi giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, sau 12 tuần, nồng độ AST trên chuột ở cả 2 liều tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so với trước khi uống mẫu thử nhưng vẫn nằm trong giới hạn bình



thường trên chuột cống. Nồng độ ALT ở chuột dùng liều 180 mg/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê; ở chuột dùng liều 540 mg/kg/ngày có xu hướng tăng nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và trước khi uống; giá trị trung bình ALT ở chuột dùng cả 2 liều tăng hơn 1 chút so với giới hạn trên của mức bình thường ở chuột cống [43]. Như vậy giá trị AST, ALT ở lô trị 1 và lô trị 2 sau 12 tuần vẫn nằm trong giới hạn bình thường ở chuột cống.

Đánh giá chức năng bài tiết và chuyển hóa mật của gan thông qua định lượng bilirubin toàn phần (bảng 3.12). Kết quả cho thấy, hàm lượng albumin, cholesterol và bilirubin toàn phần trong máu chuột không thay đổi sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống thuốc. Điều đó chứng tỏ khả năng tổng hợp và chuyển hóa protid, lipid và bài tiết mật của gan không bị ảnh hưởng khi uống MNC2 liều 180mg cao/kg/ngày và liều 540mg cao/kg/ngày liên tục trong 12 tuần.

Điều này bước đầu chứng tỏ MNC2 liều 180mg cao/kg/ngày và liều 540mg cao/kg/ngày không ảnh hưởng đến chức năng gan của chuột.

#### *4.1.2.4. Đánh giá chức năng thận của chuột nghiên cứu.*

Thận là cơ quan tiết niệu, có vai trò qua trọng bậc nhất để đảm bảo sự hằng định nội môi. Thận cũng rất dễ bị tổn thương bởi các chất độc nội sinh và ngoại sinh. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây tổn thương thận, ảnh hưởng đến chức năng thận. Để đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến chức năng thận, người ta định lượng nồng độ creatinin trong huyết thanh [45]. Creatinin là thành phần đậm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận bị tổn thương, creatinin huyết thanh tăng sớm hơn ure. Vì vậy, hiện nay định lượng creatinin huyết thanh được sử dụng nhiều để đánh giá chức năng thận, là chỉ tiêu tin cậy và quan trọng hơn urê.

Kết quả ở bảng 3.15 cho thấy Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, ở cả lô trị 1 (uống mẫu thử MNC2 liều 180 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống mẫu thử MNC2 liều 540 mg/kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

#### 4.1.2.5. Đánh giá mô bệnh học.

Mẫu cao chiết cây trai hoa trần sau 12 tuần uống liên tục không gây biến đổi bệnh lý nào về mặt đại thể và vi thể trên gan và thận chuột ở tất cả các chuột thực nghiệm. Điều này tương đồng với kết quả trong đánh giá mức độ tổn thương gan trong nghiên cứu này, khi chỉ số enzyme AST trên chuột ở cả 2 liều tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so với trước khi uống mẫu thử nhưng vẫn nằm trong giới hạn bình thường trên chuột cống và giá trị trung bình ALT ở chuột dùng cả 2 liều tăng hơn 1 chút so với giới hạn trên của mức bình thường ở chuột cống.

Tóm lại, kết quả nghiên cứu về độc tính bán trường diễn trên chuột thực nghiệm của MNC2 liều 180 mg/kg/ngày và liều 540 mg/kg/ngày không ảnh hưởng tới thể trạng, trọng lượng, chức phận của hệ thống tạo máu, chức năng gan và thận của chuột thực nghiệm. MNC2 là cao chiết phân đoạn ethylacetat cây trai hoa trần, với kết quả nghiên cứu về độc tính trên của MNC2 ở thực nghiệm trên cho thấy cao chiết phân đoạn ethylacetat cây trai hoa trần có thể sử dụng dài được trên người.

## 4.2. Bàn luận về tác dụng chống loét dạ dày của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần trên mô hình gây loét bằng Indomethacin

Cơ chế bảo vệ niêm mạc dạ dày có nhiều trong đó 2 cơ chế hay được đề cập đến là bao phủ vết loét ngăn cản sự tấn công của acid, pepsin và kích thích tiết chất nhày thông qua kích thích tổng hợp prostaglandin. Indomethacin nói riêng và các thuốc chống viêm không steroid nói chung

ức chế enzym cylooxygenase do đó làm giảm tổng hợp prostaglandin dẫn đến giảm bài tiết chất nhày và bicarbonat, tạo điều kiện cho HCl và pepsin tấn công gây tổn thương niêm mạc và hệ thống mạch máu dưới niêm mạc, giảm lưu lượng máu nuôi dưỡng niêm mạc gây viêm loét dạ dày [46]. Do đó, gây loét dạ dày bằng indomethacin là mô hình kinh điển dùng để nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày của thuốc theo cơ chế tăng cường yếu tố bảo vệ mà chủ yếu là tăng chất nhày bảo vệ niêm mạc. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng indomethacin liều 40 mg/kg dùng một lần duy nhất đường uống để gây mô hình loét dạ dày ở chuột cống trắng. Đây là mô hình được sử dụng từ lâu, tuy nhiên hiện nay vẫn rất phổ biến trên thế giới [47], [48]. Kết quả nghiên cứu ở bảng 1 và bảng 2 cho thấy, các lô uống MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm số lượng tổn thương trung bình so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Kết quả này của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu tác dụng điều trị viêm loét dạ dày của cao chiết lá Khôi đốm trên mô hình gây loét bằng cách thắt môn vị của Bùi Thị Xuân và cộng sự cho thấy lô dùng liều 150mg/kg/ngày (liều tương đương trên người) làm giảm tỷ lệ chuột có loét sau thắt môn vị là 90% [45]. Các loại tổn thương nặng (xuất huyết, loét lớn) gặp với tỷ lệ cao nhất ở lô mô hình (43,43%), sau đó giảm dần theo thứ tự các lô như sau: misoprostol (29,17%) > MNC2 liều thấp (26,67%) > MNC2 liều cao (20,78%). Mẫu cao chiết cây trai hoa trần ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống MNC2 liều cao ( $p < 0,05$ ), tỷ lệ ức chế loét là 25,25%.

Kết quả này của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu tác dụng điều trị viêm loét dạ dày của cao chiết lá *Sanchezia nobilis* Hokk.F trên mô hình gây loét bằng cách thắt môn vị của Bùi Thị Xuân và cộng sự

cho thấy mẫu cao liều 150mg/kg/ngày và liều 450mg/kg/ngày làm giảm số điểm loét trung bình và chỉ số loét so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) [45]. So sánh với nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày của bột dinh dưỡng (Cám lúa gạo, Ý dĩ, Đẳng sâm, Bạch truật, Hoài sơn) trên mô hình gây loét dạ dày bằng indomethacin cho thấy giảm chỉ số loét, số ổ loét, mức độ loét so với lô mô hình ở mức liều 3,5g/kg, giảm tỷ lệ loét rõ rệt ( $p < 0,05$ ), phần trăm ức chế loét là 52,5% trên lô uống liều 7g/kg [46] thì kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho tỷ lệ ức chế loét thấp hơn tuy nhiên điều này hoàn toàn hợp lý do trong nghiên cứu chúng tôi chỉ sử dụng một vị đơn lẻ.

Cơ chế gây loét của Indomethacin là làm giảm tiết chất nhày. Vì vậy, MNC2 có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày chống loét một phần do kích thích tiết chất nhày ở niêm mạc dạ dày. Do kết quả nghiên cứu của chúng tôi MNC2 ở liều thấp 180 mg cao/kg chưa thấy tác dụng. Điều đó cũng có nghĩa là tác dụng bảo vệ dạ dày của MNC2 hoàn toàn không phải trung hòa acid tức thì mà có thể tác dụng theo cơ chế đã nói trên. Tác dụng của MNC2 liều cao tương đương misoprostol liều 50 mcg/kg. Misoprostol là thuốc tương tự prostaglandin E1 có khả năng chống loét do kích thích tiết nhày và bicarbonate ở dạ dày, duy trì lượng máu đến niêm mạc dạ dày.

Từ kết quả nghiên cứu này có thể nhận định cao chiết cây trai hoa trần liều 360mg/kg có tác dụng bảo vệ dạ dày theo cơ chế tăng cường bảo vệ niêm mạc, bao phủ và kích thích tiết chất nhày và bicarbonate. Tuy tác dụng khi sử dụng đơn lẻ chưa cao, nhưng dược liệu hứa hẹn cho hiệu quả trên các trường hợp nhẹ, sau khi điều trị đợt cấp bằng thuốc tân dược hay dùng kết hợp để làm giảm tác dụng không mong muốn trên dạ dày của một số thuốc. Kết hợp với tính vị quy kinh và công dụng theo YHCT của cao chiết cây trai hoa trần dự kiến có thể sử dụng kết hợp cao chiết với

các bài thuốc trong điều trị ở tất cả các thể YHCT, đặc biệt trong thể tỳ vị hư hàn tuy nhiên cần có các nghiên cứu chuyên sâu hơn để đánh giá tác dụng của cao chiết trong từng thể YHCT.

## KẾT LUẬN

### **1. Kết luận về độc tính cấp và bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần (*M.nudiflora*)**

*a/ Kết luận về độc tính cấp của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần (*M.nudiflora*)*

Cao phân đoạn ethyl acetat không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 21,42 gam cao/kg chuột thực nghiệm (gấp 59,5 lần liều dự kiến trên người) theo đường uống (chưa xác định được LD<sub>50</sub>).

*b/ Kết luận về độc tính bán trường diễn của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần (*M.nudiflora*)*

Sau 4 tuần, 8 tuần uống, mẫu thử MNC2 với 2 mức liều 180 mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người) và 540 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người) không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng.

Sau 12 tuần uống, mẫu thử MNC2 với 2 mức liều 180 mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người) và 540 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người) có xu hướng làm tăng ALT trên chuột cống trắng.

### **2. Kết luận về tác dụng chống loét dạ dày của cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần (*M.nudiflora*)**

Cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần có xu hướng làm giảm số lượng tổn thương so với lô mô hình.

Các lô uống MNC2 có tỷ lệ tổn thương loét nặng (xuất huyết, loét lớn) thấp hơn so với lô mô hình.

MNC2 có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống MNC2 liều cao.

MNC2 chưa thể hiện tác dụng cải thiện mức độ một số tổn thương trên vi thể (trợt, xuất huyết, viêm) so với lô mô hình. 100% mẫu dạ dày

của lô uống MNC2 liều thấp có hình ảnh tế bào bình thường, không tổn thương loét (0 điểm), tuy nhiên ở mức liều cao có ghi nhận 1/4 mẫu dạ dày có tổn thương loét sâu đến tầng cơ.

## KIẾN NGHỊ

Qua nghiên cứu trên thực nghiệm cho thấy cao phân đoạn ethyl acetat cây trai hoa trần (*M.nudiflora*) có tính an toàn, có tác dụng chống loét dạ dày nên chúng tôi xin đưa ra một số kiến nghị như sau:

- Đánh giá tác dụng giảm đau của cao chiết trên động vật thực nghiệm.
- Thực hiện các nghiên cứu thực nghiệm về đánh giá tác dụng và cơ chế chống loét của cao chiết cây trai hoa trần
- Tiếp tục đánh giá tác dụng chống loét và tính an toàn trên thử nghiệm lâm sàng.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] **Bộ Y Tế** (2020), Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh theo y học cổ truyền, kết hợp y học hiện đại, NXB Y học, p. 111.
- [2] **Đào Xuân Cơ** (2022), Cẩm nang chẩn đoán và điều trị bệnh nội khoa, Bộ Y Tế- Bệnh viện Bạch Mai.
- [3] **Hội Khoa học Tiêu hóa Việt Nam** (2013), Khuyến cáo chẩn đoán và điều trị *Helicobacter pylori* tại Việt Nam, NXB Y Học.
- [4] **E. A. Patwari Bhargab** (2014), “Patwari Bhargab, etPhytochemical standardization and analgesic activity of *Murdannia nudiflora* (L) Brenan,” *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 6, n° 7, pp. 512-515.
- [5] **D. U. I. M. Shah MD** (2017), “The potential protective effect of *Commelina nudiflora* L. against carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatotoxicity in rats, mediated by suppression of oxidative stress and inflammation,” *Environ Health Prev Med*, vol. 22, n° 1.
- [6] **M. D. S. a. M. Iqbal** (2018), “Antioxidant activity, phytochemical analysis and total polyphenolics content of essential oil, methanol extract and methanol fractions from *Commelina nudiflora*,” *International Journal of Pharmacy and Pharmaceu*, vol. 10, n° 1, pp. 36-43.
- [7] **Z. Y. Tsimmerman YS** (2017), “Kyoto consensus - the new etiological classification of chronic gastritis and its discussion” *Klin Med (Mosk)*, vol. 95, n° 2, p. 181.
- [8] **M. P. F. C. v. c. s. Olar L.** (2017), “Evaluation of *Helicobacter pylori* infection in patients with eso-gastro-duodenal pathology.,” *Rom J Morphol Embryol*, vol. 58, n° 3, pp. 809-815.

- [9] **Nguyễn Xuân Huyền** (2003), *Bệnh loét dạ dày tá tràng*, NXB Y học.
- [10] **M. SF** (2016), “The Clinical Evidence Linking *Helicobacter pylori* to Gastric Cancer,” *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, pp. 183-191.
- [11] **Phạm Thị Thu Hồ** (2004), “Bài giảng bệnh học nội khoa Tập II,” em *Chẩn đoán và điều trị loét dạ dày-tá tràng*, Trường Đại học Y Hà Nội, pp. 231-243.
- [12] **GS Ngô Quý Châu** (2012), *Bệnh học nội khoa Tập 2*, Trường ĐH Y Hà Nội: NXB Y học.
- [13] **Bệnh viện Chợ Rẫy** (2018), *Phác đồ điều trị nội khoa*, NXB Y học.
- [14] **Bộ môn Nội** (2007), *Bệnh học tiêu hóa Sau Đại học*, Học viện Quân Y.
- [15] **Jiajia Ren** (2022), “The global burden of peptic ulcer disease in 204 countries and territories from 1990 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019,” *International Journal of Epidemiology*, vol. 51, n° 5, pp. 1666-1676.
- [16] **Bệnh viện Bạch Mai**, “moh.gov.vn,” 6 6 2019. [Online]. Available: [https://moh.gov.vn/chuong-trinh-muc-tieu-quoc-gia/-/asset\\_publisher/7ng11fEWgASC/content/chuyen-gia-tieu-hoa-chi-ra-ly-do-khien-benh-viem-da-day-tang-cao](https://moh.gov.vn/chuong-trinh-muc-tieu-quoc-gia/-/asset_publisher/7ng11fEWgASC/content/chuyen-gia-tieu-hoa-chi-ra-ly-do-khien-benh-viem-da-day-tang-cao)
- [17] **Hải Thượng Lãn Ông-Lê Hữu Trác** (1997), “Hải thượng y tông tâm lĩnh,” em *Vị quản thống*, NXB Y học.
- [18] **Hội Đông Y Hà Nội** (2013), *Sinh lý bệnh và luận trị tạng tỳ*, NXB Y học.
- [19] **张伯礼, 吴勉花**(2022), *中医内科学, "胃脘痛"*, 中国中医药出版社.  
(Trương Bá Lễ, Ngô Miễn Hoa (2022), *Trung Y nội khoa học, "Vị quản thống"*, NXB Trung Y dược Trung Quốc.

- [20] **Nguyễn Thị Thu Hà** (2016), “ Bệnh học Nội khoa Y học cổ truyền,” *Vị quản thống*, NXB Y học, pp. 195-196.
- [21] **Trần Thúy** (1999), “Bài giảng Y học cổ truyền,” em *Viêm loét dạ dày-tá tràng*, NXB Y học.
- [22] **Hoàng Anh Tuấn, Hoàng Duy Tân** (2009), *Phương tế học*, NXB Thuận Hóa.
- [23] “Tóm tắt các công trình nghiên cứu khoa học” (1957), Viện y Dược học cổ truyền Việt Nam.
- [24] **Phạm Văn Trịnh** (1995), “ Luận án tiến sỹ khoa học Y Dược,” em *Góp phần nghiên cứu tác dụng điều trị cắt cơn đau loét dạ dày tá tràng của viên VIFATA*, Trường Đại học Y Hà Nội.
- [25] [Online].(2023).<https://baike.baidu.com/item/%E8%A3%B8%E8%8A%B1%E6%B0%B4%E7%AB%B9%E5%8F%B6/1666794?fromtitle=Murdannia%20nudiflora%20%28L.%29%20Brenan&fromid=11368139&fr=aladdin>.
- [26] **E. A. Kuppusamy Palaniselvam** (2015), “Commelina nudiflora L. edible weed as a novel source for gold nanoparticles synthesis and studies on different physical–chemical and biological properties,” *Journal of Industrial and Engineering Chemistry.*, pp. 59-67.
- [27] **E. A. Patwari B. N** (2014), “Phytochemical screening and analgesic effects of ethanolic extract of plant Murdania nudiflora (L) Brenan (Commelinaceae) in albino mice using hot plate method,” *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.*, vol. 6, n° 7, pp. 512-515.
- [28] **E. A. Kuppusamy P** (2016), “In Vitro Anticancer Activity of Au, Ag Nanoparticles Synthesized Using Commelina nudiflora L. Aqueous Extract Against HCT-116 Colon Cancer Cells,” *Biol Trace Elem Res.*, vol. 173, n° 2, pp. 297-305.

- [29] **N. V. Hà** (2020), “Nghiên cứu và phân lập một số hợp chất và tác dụng chống viêm loét dạ dày của cây bao tử (*Murdannia bacteara*),” Đại học Bách Khoa Hà Nội.
- [30] **A. Mohamad** (2021), “*Murdannia loriformis*: A Review of Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology,” *Hindawi*.
- [31] [Online]:<http://www.healthandwellbeingtips.net/medication-and-treatment/angel-grass-in-cancer-treatment>.
- [32] [Online]: <https://www.herbsthatham.com/herbs-in-capsule-m/compound-murdannia-loriformis-capsule>.
- [33] **Bộ Y tế -Cục khoa học Công nghệ và Đào tạo** (2015), Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu.
- [34] **Vũ Đức Lợi** (2016), “Phytochemical and anti- inflammatory effect from the leaf of *Sanchezia speciosa* Leonard growing in Viet Nam,” *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, vol. 8, n° 7, pp. 309-315.
- [35] **A. W. Herling** (2016), “Part XI: Activity on the Gastrointestinal Tract, Indomethacin induced ulcers in rats,” em *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*.
- [36] **M. U. B. A. a. A. N shaheen** (2017), “In vitro cytotoxicity of *Sanchezia speciosa* extract on human epithelial cervical cancer (Hela) cell line,” *Acta Poloniae Pharmaceutica*.
- [37] **J. C. O. Seline Omondi** (2015), “Phytochemical analysis of 50 selected plants found in the University Botanic Garden Maseno, Kenya for their chemotaxonomic values,” *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine*, pp. 130-135.

- [38] **Adeyemi EO** (2005), “Mechanisms of action of leptin in preventing gastric ulcer,” *World J Gastroenterol*, vol. 11, n° 27.
- [39] **Liu CM** (2013), “Quercetin protects mouse brain against lead-induced neurotoxicity,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 61, n° 31, pp. 7630-7635.
- [40] **A. E. Abd-Ellah, K. M. M. E. Y. B. e a. M. H. Mohamed** (2006), “Macro-and micromorphology of *Sanchezia nobilis* Hook. cultivated in Egypt: leaf, stem and flower,” *Bulletin of Pharmaceutical Science*, vol. 29, n° 2.
- [41] **Raish M** (2021), “Gastroprotective Effect of Sinapic Acid on Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats: Involvement of Nrf2/HO-1 and NF- $\kappa$ B Signaling and Antiapoptotic,” *Front Pharmacol*.
- [42] **L. R. C. M. M. M. d. C. M. C. L. Simões S** (2019), “Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation,” *Animal Model Exp Med*, vol. 2, n° 2, pp. 121-126.
- [43] **WHO** (1993), “Working group on the safety and efficacy of herbal medicine,” em *Report of regional office for the western pacific of the WHO, March*, pp. pp. 33-51.
- [44] **Nguyễn Thế Khánh** (2001), *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, NXB Y học, pp. tr 36-41.
- [45] **Trường ĐH Y Hà Nội-Bộ môn Hoá sinh** (2001), *Hoá sinh*, NXB Y học, pp. 646-685.
- [46] **Nguyễn Ngọc Lanh** (1999), “Cơ chế bệnh sinh loét dạ dày tá tràng,” em *Bài giảng sau đại học*, Bộ môn miễn dịch- Sinh lý bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội.

- [47] **S. A. R. G. R. K. e. a. Anurag M** (2009), “Effect of *Feronia elephantum* (Corr) Fruit Pulp Extrac on Indomethacin-induced Gastric Ulcer in Albino Rats,” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 8, n° 6, pp. 509-514.
- [48] **N. G. Dengz G** (2008), “Effects of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) on indomethacin-induced ulcer model in rats,” *Turk J Gastroenterol*, vol. 16, n° 2, pp. 85-88, 2008.
- [49] **Bùi Thị Xuân và cộng sự** (2022), “Nghiên cứu tác dụng điều trị viêm loét dạ dày của cao chiết lá *Sanchezia nobilis* Hook.F trên thực nghiệm”, *Tạp chí nghiên cứu Y học*, vol 160, pp 278-289.
- [50] **Đặng Kim Thu và cộng sự** (2018), “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*, vol 34, no 2, pp 43-50.

## PHỤ LỤC 1

### TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI	Cao khô cây Trai hoa trần	TC-06-CK
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC	<i>Extractum</i> <i>Murdannia nudiflora</i>	Có hiệu lực kể từ ngày kí

**\*Nguồn gốc:** Cao khô của phần trên mặt đất cây Trai hoa trần (*Murdannia nudiflora*), họ Thài lài (*Commelinaceae*)

### I. YÊU CẦU KỸ THUẬT

#### 1.1. Tính chất

Khối bột khô toai, đồng nhất, màu xanh lục sẫm, dễ hút ẩm, có mùi thơm đặc trưng của dược liệu, không có mùi nấm mốc, vị ngọt nhẹ.

#### 1.2. Độ mất khối lượng do làm khô

Không quá 5,0 %

#### 1.3. Độ mịn

Lấy 20g chế phẩm, không ít hơn 95% phần tử qua được rây số 180 và không quá 40% qua được rây số 125.

#### 1.4. Định tính

Cao phải thể hiện phép thử định tính của Flavonoid, terpenoid từ cây Trai hoa trần.

#### 1.5. Định lượng

Hàm lượng Flavonoid toàn phần trong cao chiết không ít hơn 4,1 %.

**1.6. Tro toàn phần:** Không quá 5 %.

**1.7. Kim loại nặng:** Không quá 10 ppm

**1.8. Độ nhiễm khuẩn:** Đạt mức 4- Theo ĐBVN 5



## **II. PHƯƠNG PHÁP THỬ**

**2.1. Tính chất:** bằng cảm quan, mẫu cao phải có những đặc điểm đã nêu.

### **2.2. Mất khối lượng do làm khô**

Tiến hành theo phương pháp xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6, ĐDVN V). Cao khô phân đoạn phải được làm thành mảnh nhỏ đường kính không quá 3 mm; lượng đem thử từ 2 g đến 5 g; chiều dày lớp mẫu thử đem sấy là 5 mm và không quá 10 mm nếu có cấu tạo xốp. Nhiệt độ và thời gian sấy theo yêu cầu của chuyên luận riêng.

### **2.3. Độ mịn**

Tiến hành xác định độ mịn của bột theo Phụ lục 3.5, ĐDVN V. Lấy 20 g mẫu cao, không ít hơn 95% phần tử qua được rây số 180 và không quá 40% qua được rây số 125.

### **2.4. Định tính**

-Tiến hành:

Đối với cao khô ta cần định tính Flavonoid là chất có hoạt chất sinh học chính trong dược liệu Trai hoa trần.

Phản ứng hóa học

Lấy khoảng 2g bột cao, thêm 10ml ethanol 90%. Đun sôi trong 3 phút, để nguội, lọc. Lấy 2ml dịch lọc, pha loãng với 10ml ethanol 90% rồi chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

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

Ống 2: Thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyl 20% (TT), xuất hiện màu vàng đậm.

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

### **2.5. Định lượng**



Flavonoid toàn phần trong mẫu cao có thể chiết xuất bằng dung môi methanol hoặc ethanol. Chiết flavonoid toàn phần từ mẫu cao bằng phương pháp chiết siêu âm dụng dung môi MeOH.

Dung dịch thử gốc: Cân chính xác khoảng 0.4 g cao phân đoạn vào cốc có mỏ, thêm 2,0 ml MeOH, lắc cho tan cao rồi chuyển vào bình định mức 10,0 ml, lấy MeOH tráng cốc 2 lần và thêm đến vạch được dung dịch thử gốc. Từ dung dịch trên lấy chính xác 1ml cho vào bình định mức 50,0 ml và thêm đến vạch bằng MeOH được dung dịch thử gốc có độ hấp thụ quang A (0.2-0.8 Abs).

#### *Chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc*

Dung dịch chuẩn gốc: cân chính xác khoảng 10,0 mg quercetin cho vào bình định mức dung tích 10,0 ml, hòa tan và thêm đến vạch bằng MeOH. Thu được dung dịch quercetin chuẩn nồng độ 1mg/ml. Từ dung dịch này pha loãng bằng MeOH thành dung dịch quercetin chuẩn gốc có nồng quercetin 100 µg/ml bằng cách lấy 10ml dung dịch chuẩn gốc trên cho vào bình định mức 100,0 ml và thêm MeOH đến vạch.

#### *Chuẩn bị dung dịch để đo quang*

Chuẩn bị dung dịch thử: Lấy 1,0ml dung dịch thử gốc cho vào bình định mức dung tích 10,0 ml. Thêm vào bình 4ml nước cất; 0,3ml NaNO<sub>2</sub> 5%; 0,5 ml dung dịch AlCl<sub>3</sub>/EtOH 5%; 2 ml NaOH 1M lắc đều. Sau khoảng 20 phút thêm nước cất vừa đủ 10ml lắc đều đem đi đo độ hấp thụ.

Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn: pha 1 dãy dung dịch chuẩn quercetin có nồng độ biến thiên trong khoảng 5-50 µg/ml

*Lắc đều. Sau khoảng 20 phút thêm nước cất vừa đủ 25ml, lắc đều, đem đi đo độ hấp thụ.*

- Chuẩn bị mẫu trắng: thay 1,0ml dung dịch thử bằng 1,0ml nước cất các bước còn lại tiến hành tương tự.

#### *Tiến hành đo quang*

+ Quét phổ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn. Từ kết quả phổ hấp thụ xác định bước sóng định lượng là bước sóng cực đại. Thực

nghiệm cho thấy cực đại ở bước sóng 425nm, lựa chọn bước sóng định lượng là 425nm.

+ Tiến hành đo độ hấp thụ của dãy chuẩn tại bước sóng 425nm xây dựng đường chuẩn quercetin.

+ Tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch thử tại bước sóng 425nm, dựa vào phương trình đường chuẩn tính ra nồng độ của flavonoid toàn phần có trong mẫu tính theo quercetin.

#### *Cách tính kết quả*

Đo độ hấp thụ của dãy chuẩn từ đó xây dựng đường chuẩn quercetin. Do độ hấp thụ của mẫu chuẩn. Xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong mẫu dược liệu theo công thức sau:

$$F(\%) = C_x \times 10^{-6} \times 50 \times 10 \times \frac{100}{100 - h} \times \frac{1}{m} \times 100 (\%)$$

Trong đó: F: là hàm lượng flavonoid toàn phần có trong dược liệu (%)

$C_x$ : là nồng độ flavonoid toàn phần trong dung dịch thử tính theo quercetin (Giá trị này được phần mềm trong máy quang phổ UV- VIS Cary 60 tính ra dựa vào đường chuẩn quercetin và độ hấp thụ  $A_x$  của mẫu thử ) (mg/ml)

$h$ : là độ ẩm của dược liệu (Độ ẩm Trai hoa trần xác định trên cân hàm ẩm là: 8.3 (%))

$m$ : là khối lượng mẫu ban đầu (g)

50×10: là độ pha loãng

## **2.6. Tro toàn phần**

Tiến hành theo phương pháp xác định tro toàn phần, phương pháp 1 (Phụ lục 9.8, ĐĐVN V).

## **2.7. Kim loại nặng**

Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành theo phương pháp 3 (Phụ lục 9.4.8, ĐĐVN V). Dùng 1,0 ml dung dịch mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

**2.8. Độ nhiễm khuẩn:** Tiến hành theo phương pháp thử giới hạn nhiễm khuẩn, phương pháp đĩa thạch (Phụ lục DĐVN V).

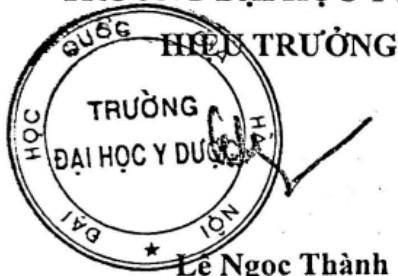
### 3. ĐÓNG GÓI, BẢO QUẢN

- Đựng trong bao bì kín, tránh ánh sáng.
- Nhãn trình bày rõ ràng, đúng quy chế.
- Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát.

Hà Nội, ngày 28 tháng 12 năm 2022

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC

NGƯỜI XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN



Lê Ngọc Thành

PGS.TS. Vũ Đức Lợi



## PHỤ LỤC 2



### TRƯỜNG ĐẠI HỌC DƯỢC HÀ NỘI BỘ MÔN THỰC VẬT

\*\*\*\*\*

### PHIẾU GIÁM ĐỊNH TÊN KHOA HỌC

Số: 45/2023

Người thu mẫu: Lê Hồng Dương  
Người gửi mẫu: Lê Hồng Dương  
Ngày thu mẫu: 08/5/2023  
Nơi thu mẫu: TT Thanh Sơn, huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ  
Mô tả mẫu: Mẫu tươi gồm cả cây mang lá, hoa

**Kết quả giám định:** Căn cứ vào các tài liệu thực vật hiện có tại Trường Đại học Dược Hà Nội với các đặc điểm của các bộ phận mẫu cây, đã xác định mẫu trên có:

- Tên khoa học: *Murdannia nudiflora* (L.) Brenan
- Họ: Commelinaceae
- Tên thường gọi: Lỗ trai trần

Hà Nội, ngày 24 tháng 7 năm 2023

Phụ trách Bộ môn

Người giám định

TS. Hoàng Quỳnh Hoa

ThS. Nghiêm Đức Trọng

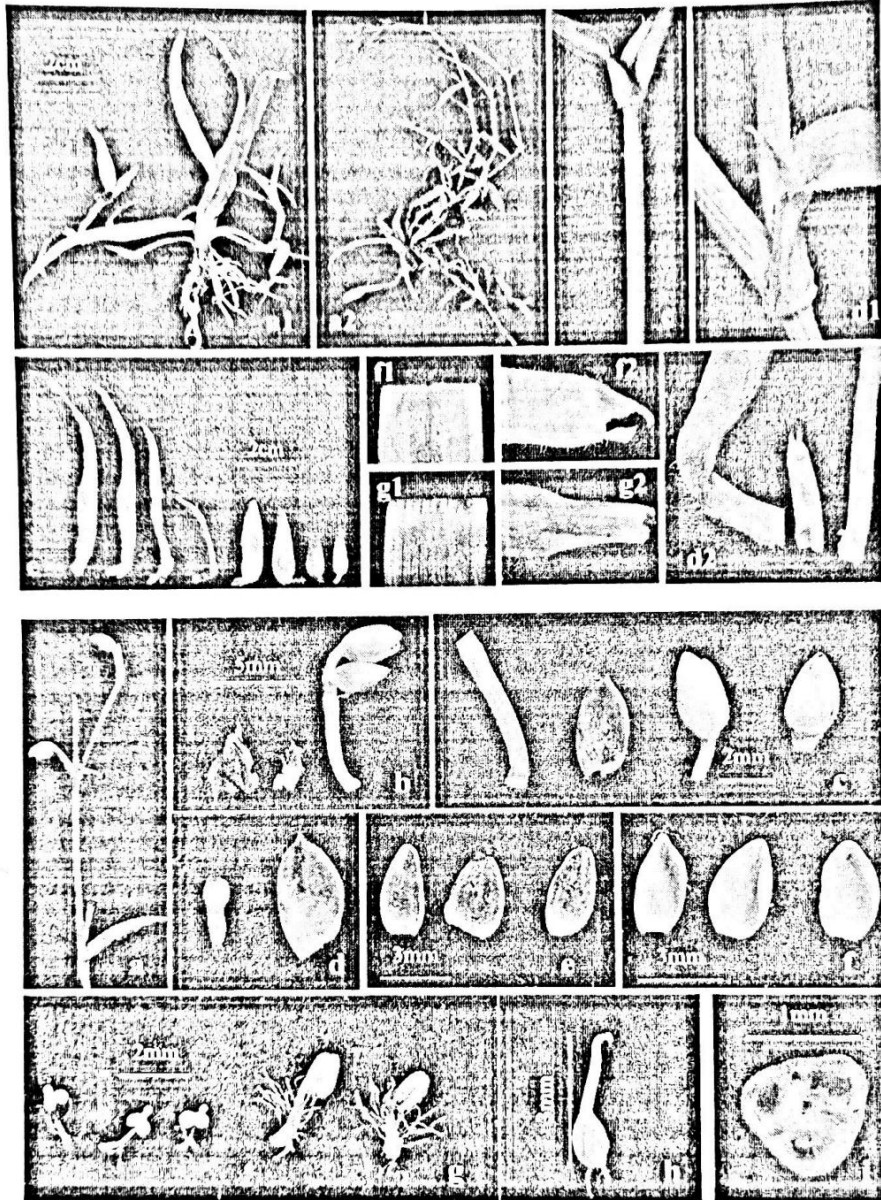
#### Tài liệu tham khảo

1. Phạm Hoàng Hộ (2003), *Cây cỏ Việt Nam*, NXB Trẻ, Quyển III
2. Deyuan Hong, Robert A. DeFilipps (2000), Commelinaceae R. Brown, in: Wu, Z. Y. & P. H. Raven (eds.), *Flora of China. Vol. 24 (Flagellariaceae through Marantaceae)*, Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.

## PHỤ LỤC

Hình ảnh mẫu Lỗ trai trần (*Murdannia nudiflora* (L.) Brenan)

Kèm theo Phiếu giám định số 45/2023 ngày 24/7/2023



### **PHỤ LỤC 3**

#### **QUY TRÌNH CHIẾT CAO**

Quy trình chiết cao: Phần trên mặt đất của cây (3,0 kg) được ngâm chiết bằng dung môi EtOH 80% (3 lần, mỗi lần 10 L), sử dụng thiết bị chiết siêu âm ở 40 °C trong vòng 30 phút. Lọc các dịch chiết EtOH thu được qua giấy lọc, gộp dịch lọc và cất loại dung môi dưới áp suất giảm, thu được 220 g cao chiết tổng ethanol. Hoà cao tổng với 1 lít nước rồi chiết phân bố với các dung môi có độ phân cực tăng dần: n-hexan, ethyl acetat. Các dịch chiết n-hexan, EtOAc được cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được phân đoạn tương ứng n-hexan (35,1 g) và ethyl acetat (46,2 g). Sử dụng cao phân đoạn ethyl acetat để nghiên cứu độc tính và tác dụng chống loét. Phân tán cao khô phân đoạn ethyl acetat này trong nước rồi dùng cho chuột uống theo liều thử như mô hình.

## PHỤ LỤC 4

### ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CÂY TRAI HOA TRẦN (*M. nudiflora*)

- Tên khoa học: *Murdannia nudiflora* (L.) Brenan
- Họ: Commelinaceae
- Tên Tiếng Việt: Trai hoa trần, Rau Rươi, Rau trai
- Bộ phận thường dùng: phần cây trên mặt đất.

#### 1. Đặc điểm thực vật của loài *Murdannia nudiflora*

Trai hoa trần là một loài thảo mộc mảnh, sống hàng năm hoặc lâu năm. Cây mọc lan tỏa và gần nhau, thân đơn giản hoặc phân nhánh, dài 15-30 cm, có thể tới 50 cm. Thân cây tròn và mọng nước, rủ xuống bên dưới, có ít lông hoặc không lông, mọc rễ ở các đốt. Rễ dạng sợi, mảnh, màu trắng hoặc nâu, không có lông hoặc có lông mịn. Rễ bị xơ

Cây có các lá đơn, thường mọc xen kẽ trên thân cây. Lá khá dày, thuôn dài đến hình mác, đỉnh tù hoặc nhọn, có gân song song. Những lá lớn có hình mác, thẳng, những lá nhỏ hơn hình trứng thuôn dài, với kích thước dài 3-10 cm và rộng 4-10 mm, nhẵn hoặc có lông thưa ở cả 2 mặt lá. Bẹ lá dài 0,2-1 cm, màu xanh nhạt, có lông nhung và rãnh trong suốt, ôm lấy thân.

Cụm hoa mọc ở nách lá hoặc tận cùng của ngọn, không phân nhánh hoặc có 2-3 nhánh, có cuống dài 2-8 cm. Cụm hoa có mo bao bọc mang 1-10 hoa, màu tím đến màu hồng hoa cà. Lá bắc gần giống lá tuy nhiên khá mỏng, hình trứng thuôn dài 2,5 - 3,5 mm, có cuống thẳng, mảnh, dài 3 - 5 mm, mép nhẵn, có lông. Mỗi hoa có 3 lá đài hình bầu dục, dài 3,5-5 mm. Hoa lưỡng tính hoặc hoa đực, cuống dài 2-5 mm. Một hoa có 3 cánh dài 3-7 mm, rộng 3-5 mm, hình trứng, màu tím. Hoa có 2-4 nhị bất thụ, 3 nhị



hữu thụ. Nhị dạng sợi, có nhiều lông, bao phấn hình elip, có màu hơi xanh. Bầu 3 ô, mỗi ô 3 noãn, màu trắng đục .

Quả nang dài 2,5-5mm, hình trứng hoặc elip, có 3 ô, mỗi ô có 1-2 hạt. Hạt màu vàng nâu có vỏ ngoài mịn hoặc dạng lưới, có gân .



**Hình 1. *Murdannia nudiflora***

## **2. Đặc điểm phân bố loài *Murdannia nudiflora***

*M. nudiflora* (L.) Brenan có nguồn gốc từ châu Á nhiệt đới và cận nhiệt đới, cụ thể là ở một số quốc gia như Trung Quốc, Ấn Độ, Malaysia, Indonesia và Philippines. Sau đó nó đã lan sang các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới khác của Châu Phi, Châu Á, Châu Đại Dương, Trung, Bắc và Nam Mỹ

Cây phân bố chủ yếu ở những nơi ẩm ướt, ngập úng hoặc có nhiều nước như dọc theo bờ kênh tưới tiêu, những cánh đồng lúa, đầm lầy, dọc theo những con mương và ở những nơi râm mát

Ở nước ta, cây thường mọc ở ven đường đi, ven rừng, ven suối, ven sông hay các thung lũng ở nơi ẩm mát. Cây đã được tìm thấy ở rất nhiều tỉnh thành trên cả nước như Lào Cai, Lạng Sơn, Bắc Giang, Hòa Bình, Thừa Thiên – Huế, Đà Nẵng, Thành phố Hồ Chí Minh...

### **3. Thành phần hóa học của cây trai hoa trần**

*Murdannia nudiflora* có các thành phần theo tỷ lệ như sau: nước 90,1%; protein 1,7%; lipid 0,5%; cellulose 2%, dẫn xuất không protein 4,2%, khoáng toàn phần 1,5% . Nhiều nghiên cứu chỉ ra trong dịch chiết của cây có sự hiện diện của các hợp chất phytosterol, alcaloit, flavonoid, tannin, saponin, cacbohydrat

Năm 2015, trong nghiên cứu đánh giá tính chất chống oxy hóa và kháng khuẩn invitro của chiết xuất *Murdannia nudiflora*, Kuppusami và cộng sự đã tiến hành chiết xuất các hợp chất từ cây với các dung môi phân cực khác nhau là hexan, cloroform, etyl acetat, etanol và nước. Kết quả GC-MS của các dịch chiết chỉ ra sự có mặt của 26 hợp chất, trong đó các hợp chất có tác dụng sinh học là:

- + Phytol (1)
- + Vitamin B12 (2)
- + Muscimol (3)
- + Axit n-decanoic (4)

Năm 2017, Muhammad và các cộng sự trong 1 thí nghiệm đánh giá tiềm năng của *M. nudiflora* trong việc chống lại nhiễm độc gan do CCl<sub>4</sub> ở chuột, khi chạy GC-MS với dịch chiết metanol của *M. nudiflora* đã cho thấy sự xuất hiện của 9 hợp chất bao gồm: Phenol (5), Benzyl alcohol (6), Eugenol (7), Phenol, 2,4-bis (1,1- dimethylethyl) (8), Axit dodecanoic (9), Axit ethyl hexadecanoic (10), axit n-adexecanoic (11), Axit 9,12-Octadecadienoic (Z, Z) (12) và Phytol (1).

Năm 2018, Muhammad và cộng sự tiếp tục nghiên cứu các thành phần trong dịch chiết của *Murdannia nudiflora*. Tinh dầu, dịch chiết metanol và các phân đoạn của dịch chiết metanol (n-hexan, cloroform, etyl acetat và n-butanol) được phân tích bằng sắc kí khí khối phổ GC-MS. Kết quả xác định được một số thành phần có hoạt tính sinh học là indole

(13), 2-methoxy-4-vinylphenol (14), 2-pentadecanone 6,10,14-trimethyl phenol (15), Benzyl alcohol (6), Eugenol (7), Phenol, 2, 4-bis (1,1-dimethylethyl) (8), Axit ethyl hexadecanoic (10), Axit n-hexadecanoic (axit palmitic) (11), Phytol (1) và Axit 9,12-octadecadienoic acid (12). Tất cả các hợp chất được xác định trên và các dẫn xuất của chúng thường được báo cáo với các đặc tính kháng khuẩn, chống oxy hóa, chống viêm và chống khối u.

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI  
BỘ MÔN DƯỢC LÝ  
TRUNG TÂM DƯỢC LÝ LÂM SÀNG

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



**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU  
ĐỘC TÍNH CẤP CỨU CỦA MẪU THỬ CAO ĐẶC MNC2  
TRÊN THỰC NGHIỆM**

**Nơi tiến hành nghiên cứu:** Bộ môn Dược lý  
và Trung tâm Dược lý lâm sàng Trường Đại học Y Hà Nội

HÀ NỘI - 2023



## **1. Nguyên liệu và đối tượng nghiên cứu**

### **1.1. Thuốc nghiên cứu:**

- Tên mẫu thử: MNC2
- Dạng bào chế: cao dược liệu
- Liều dự kiến trên người 1,5 gam cao/người/ngày.

Mẫu cao MNC2 do PGS. Vũ Đức Lợi cung cấp.

(Thành phần, qui trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao MNC2 có file riêng).

#### **- Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu:**

Cân 10 gam cao thêm nước cất thu được 35 ml vừa đủ. Đây là dung dịch đậm đặc có thể cho chuột nhắt trắng uống bằng kim chuyên dụng. Dung dịch đậm đặc này dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của cao MNC2

### **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 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 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 của cao MNC2 theo đường uống trên chuột nhắt trắng***

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của cao MNC2 trên chuột nhắt trắng theo đường uống [1], [2].

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

Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống cao MNC2 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<sub>50</sub> của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống cao MNC2 .

#### **1.5. Xử lý số liệu**

Các số liệu được xử lý thống kê theo thuật toán thống kê T-test Student bằng phần mềm Microsoft Excel.

## **2. Kết quả nghiên cứu**

Chuột nhắt trắng được uống cao MNC2 từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc, theo dõi thấy các liều cao MNC2 không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử.

Kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao MNC2**

<b>Lô chuột</b>	<b>n</b>	<b>Liều (ml dung dịch đậm đặc/kg)</b>	<b>Liều (gam/kg)</b>	<b>Tỷ lệ chết (%)</b>	<b>Dấu hiệu bất thường khác</b>
Lô 1	10	45	12,85	0	Không
Lô 2	10	60	17,14	0	Không
Lô 3	10	75	21,42	0	Không

Kết quả bảng 1 cho thấy: các lô chuột uống cao MNC2 liều từ 45 ml dung dịch đậm đặc/kg tương đương 12,85 gam cao/kg đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 21,42 gam cao/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của cao MNC2 là: 21,42 gam cao/kg.

### **3. Kết luận:**

- Chưa xác định được LD<sub>50</sub> trên chuột nhắt trắng của cao MNC2 theo đường uống.
- cao MNC2 không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 21,42 gam cao/kg.
- cao MNC2 ở liều gấp 59,5 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 1,5 gam/ngày/người).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Gerhard Vogel H.** (2016), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
2. **World Health Organization (2013)**, *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.

Hà Nội, ngày 01 tháng 11 năm 2023

**Trưởng Bộ môn Dược lý**  
**Giám Đốc Trung tâm Dược lý lâm sàng**



**PGS.TS. BS. Phạm Thị Vân Anh**



TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI  
BỘ MÔN DƯỢC LÝ  
TRUNG TÂM DƯỢC LÝ LÂM SÀNG

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



**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN  
CỦA MẪU THỬ MNC2 TRÊN THỰC NGHIỆM**

Nơi tiến hành nghiên cứu: **Bộ môn Dược lý – Đại học Y Hà Nội**  
Thời gian tiến hành nghiên cứu: **6/2023 - 10/2023**

Hà Nội – 2023



# I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

## 1.1. Chất liệu nghiên cứu

### 1.1.1. Mẫu thử

- Tên mẫu thử: MNC2
- Dạng bào chế: Cao dược liệu

### 1.1.2. Dụng cụ, hóa chất nghiên cứu

- Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu : ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần, creatinin của hãng Hospitex Diagnostics (Italy) và hãng DIALAB GmbH (Áo), định lượng trên máy Screen master của hãng Hospitex Diagnostics (Italy).

- Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX - Diagnostics, định lượng trên máy Vet abc™ Animal Blood Counter.

- Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

## 1.2. Đối tượng nghiên cứu

- Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khỏe mạnh, thuần chủng.
- Động vật thí nghiệm được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường đại học Y Hà Nội từ 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

**Địa điểm nghiên cứu: Trường ĐH Y Hà Nội và Học Viện YDHCTVN**

## 1.3. Phương pháp nghiên cứu

### *Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của mẫu thử MNC2 [1],[2],[3]*

Chuột cống trắng, cả 2 giống, được chia làm 3 lô:

- Lô chứng: uống nước cất 1 mL/100 g/ngày.
- Lô trị 1: Uống mẫu thử MNC2 liều 180 mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người, hệ số ngoại suy trên chuột cống là 6), uống 1 mL/100 g/ngày.
- Lô trị 2: Uống mẫu thử MNC2 liều 540 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người), uống 1 mL/100 g/ngày.

Chuột được uống nước và mẩu thử liên tục trong 12 tuần, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

*Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:*

- Tình trạng chung, thể trọng của chuột.

- Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.

- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.

- Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: ALT, AST.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống mẩu thử, sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẩu thử.

- Mô bệnh học:

Sau 12 tuần uống mẩu thử, chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột ở mỗi lô.

#### **1.4. Xử lý số liệu**

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo T-test-Student và test trước-sau (Avant-après). Kết quả được trình bày dưới dạng  $\bar{X} \pm SD$ . Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 2.1. Tình trạng chung

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở cả 3 lô hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô.

### 2.2. Sự thay đổi trọng lượng chuột

**Bảng 2.1. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến trọng lượng chuột**

Thời gian	Trọng lượng (g)			p (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	158,0 ± 49,6	157,3 ± 19,0	160,0 ± 22,6	> 0,05
Sau uống 4 tuần	177,0 ± 41,4	170,9 ± 26,6	181,0 ± 23,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	225,0 ± 56,6	202,7 ± 36,4	207,0 ± 33,7	> 0,05
p (test trước-sau)	<b>≤ 0,05</b>	<b>≤ 0,05</b>	<b>≤ 0,05</b>	
Sau uống 12 tuần	248,0 ± 64,8	230,9 ± 35,3	254,0 ± 27,2	> 0,05
p (test trước-sau)	<b>≤ 0,05</b>	<b>≤ 0,05</b>	<b>≤ 0,05</b>	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.1 cho thấy:

Sau 8 tuần và 12 tuần, trọng lượng chuột ở lô chứng sinh học, lô trị 1 và lô trị 2 đều tăng có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống mẫu thử ( $p < 0,05$ ).

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về trọng lượng chuột giữa các lô dùng mẫu thử với lô chứng sinh học tại tất cả các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

### 2.3. Đánh giá chức phận tạo máu

**Bảng 2.2. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến số lượng hồng cầu**

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	10,5 ± 1,2	10,1 ± 0,9	9,7 ± 1,1	> 0,05
Sau uống 4 tuần	10,9 ± 1,5	10,8 ± 1,3	10,5 ± 1,1	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	10,0 ± 0,6	9,5 ± 1,1	9,6 ± 1,1	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	10,2 ± 1,2	10,2 ± 1,1	10,1 ± 0,8	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.2 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, số lượng hồng cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 2.3. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến số lượng huyết sắc tố**

Thời gian	Số lượng huyết sắc tố (g/dL) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	13,3 ± 0,5	13,4 ± 1,1	13,1 ± 1,0	> 0,05
Sau uống 4 tuần	13,1 ± 1,0	12,5 ± 1,0	12,5 ± 0,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	13,1 ± 1,2	12,5 ± 1,8	13,4 ± 1,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	13,8 ± 1,4	13,7 ± 1,5	14,1 ± 1,7	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.3 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, số lượng huyết sắc tố ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 2.4. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến hematocrit**

Thời gian	Hematocrit (%) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	47,4 ± 4,1	48,4 ± 6,1	50,6 ± 5,4	> 0,05
Sau uống 4 tuần	48,5 ± 4,4	51,3 ± 10,1	52,2 ± 6,6	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	45,3 ± 3,6	45,1 ± 6,4	47,1 ± 5,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	46,8 ± 6,4	47,0 ± 6,0	48,6 ± 4,5	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.4 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, hematocrit ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 2.5. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến thể tích trung bình hồng cầu**

Thời gian	Thể tích trung bình hồng cầu (fL) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	48,9 ± 4,3	48,2 ± 3,5	52,6 ± 6,6	> 0,05
Sau uống 4 tuần	49,7 ± 2,7	50,5 ± 1,8	52,3 ± 1,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	48,6 ± 3,1	47,1 ± 2,4	48,5 ± 1,5	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	47,7 ± 4,1	46,3 ± 1,8	49,0 ± 1,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.5 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, thể tích trung bình hồng cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 2.6. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến số lượng bạch cầu**

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	9,3 ± 1,9	10,1 ± 1,8	9,4 ± 1,5	> 0,05
Sau uống 4 tuần	9,2 ± 0,9	9,0 ± 1,8	10,0 ± 1,1	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	9,8 ± 1,8	9,4 ± 3,0	10,2 ± 2,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	10,0 ± 1,6	11,7 ± 2,9	10,6 ± 1,7	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.6 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, số lượng bạch cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 2.7. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến công thức bạch cầu**

Thời gian	Công thức bạch cầu ( $\bar{X} \pm SD$ )					
	Lô chứng (n = 10)		Lô trị 1 (n = 11)		Lô trị 2 (n = 10)	
	<i>Lympho</i> (%)	<i>Trung</i> <i>tính</i> (%)	<i>Lympho</i> (%)	<i>Trung</i> <i>tính</i> (%)	<i>Lympho</i> (%)	<i>Trung</i> <i>tính</i> (%)
Trước uống	68,7 ± 6,1	17,2 ± 5,0	69,6 ± 7,4	16,7 ± 5,6	73,5 ± 7,2	14,9 ± 3,5
Sau 4 tuần	65,4 ± 8,5	16,7 ± 3,4	70,4 ± 7,2	14,8 ± 3,1	70,5 ± 6,9	14,6 ± 4,1
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau 8 tuần	69,3 ± 4,1	15,6 ± 4,4	72,5 ± 5,2	14,3 ± 3,5	73,9 ± 9,2	14,7 ± 1,9
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau 12 tuần	70,9 ± 2,8	14,6 ± 3,5	74,4 ± 6,2	14,8 ± 3,1	71,0 ± 5,6	13,8 ± 3,0
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.7 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, công thức bạch cầu (phần trăm bạch cầu lympho và bạch cầu trung tính) ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so với trước khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).



**Bảng 2.8. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến số lượng tiểu cầu**

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	556,8 ± 94,8	579,8 ± 100,5	573,6 ± 73,6	> 0,05
Sau uống 4 tuần	575,8 ± 73,1	612,3 ± 134,8	617,7 ± 73,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	559,7 ± 53,8	608,4 ± 87,0	576,8 ± 103,4	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	554,1 ± 73,3	570,4 ± 106,1	581,9 ± 121,6	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.8 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, số lượng tiểu cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

#### 2.4. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan

**Bảng 2.9. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến hoạt độ AST**

Thời gian	Hoạt độ AST (UI/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	80,2 ± 6,2	86,3 ± 10,9	86,2 ± 13,1	> 0,05
Sau uống 4 tuần	77,7 ± 9,4	88,6 ± 11,7	85,6 ± 12,1	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	80,3 ± 12,5	88,0 ± 19,9	87,6 ± 15,6	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	79,3 ± 4,3	123,0 ± 13,0	111,2 ± 14,0	<b>&lt; 0,001</b>
p (test trước-sau)	> 0,05	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,01</b>	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.9 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần, hoạt độ AST ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

Sau 12 tuần, hoạt độ AST ở lô trị 1 và lô trị 2 tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p < 0,001$  và  $p < 0,01$ ). Tuy nhiên, giá trị AST bình thường ở chuột cống dao động từ 50 đến 150 IU/L [4], [5]. Như vậy giá trị AST ở lô trị 1 và lô trị 2 sau 12 tuần vẫn nằm trong giới hạn bình thường ở chuột cống.

**Bảng 2.10. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến hoạt độ ALT**

Thời gian	Hoạt độ ALT (UI/L) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	35,0 ± 7,1	35,2 ± 3,2	34,0 ± 3,0	> 0,05
Sau uống 4 tuần	30,4 ± 5,8	36,4 ± 10,2	33,5 ± 6,5	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	36,3 ± 7,3	37,4 ± 11,3	38,2 ± 5,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	32,7 ± 5,3	45,5 ± 6,6	42,3 ± 15,5	<u><math>p_{1-chứng} &lt; 0,001</math></u> $p_{2-chứng} > 0,05$
p (test trước-sau)	> 0,05	<u><math>&lt; 0,001</math></u>	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.10 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần, hoạt độ ALT ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

Sau 12 tuần:

- Hoạt độ ALT ở lô trị 1 tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và trước khi uống ( $p < 0,001$ )
- Hoạt độ ALT ở lô trị 2 có xu hướng tăng so với lô chứng sinh học và trước khi uống nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê.
- Giá trị ALT bình thường ở chuột cống dao động từ 10 đến 40 IU/L [4], [5]. Như vậy giá trị trung bình ALT ở 2 lô dùng mẫu thử chỉ tăng hơn 1 chút so với giới hạn trên của mức bình thường ở chuột cống trắng.

## 2.5. Đánh giá chức năng gan

**Bảng 2.11. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến nồng độ bilirubin toàn phần**

Thời gian	Nồng độ bilirubin toàn phần (mmol/L)			p (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	9,1 ± 0,7	9,0 ± 0,7	9,3 ± 0,8	> 0,05
Sau uống 4 tuần	9,2 ± 0,6	9,4 ± 0,9	9,6 ± 0,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	8,9 ± 0,3	9,3 ± 0,7	8,9 ± 0,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	9,2 ± 0,6	9,2 ± 0,6	9,2 ± 0,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.11 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, nồng độ bilirubin toàn phần ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 2.12. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến nồng độ albumin**

Thời gian	Nồng độ albumin (g/dL) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	3,5 ± 0,3	3,3 ± 0,4	3,3 ± 0,3	> 0,05
Sau uống 4 tuần	3,4 ± 0,3	3,5 ± 0,3	3,4 ± 0,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	3,4 ± 0,2	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	3,5 ± 0,3	3,5 ± 0,2	3,6 ± 0,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.12 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, nồng độ albumin ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 2.13. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến nồng độ cholesterol toàn phần**

Thời gian	Nồng độ cholesterol toàn phần (mg/dL) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	52,9 ± 11,0	55,4 ± 10,0	49,1 ± 4,2	> 0,05
Sau uống 4 tuần	59,8 ± 9,1	58,5 ± 9,6	53,4 ± 6,8	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	53,1 ± 4,1	54,9 ± 8,7	51,6 ± 10,2	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	55,3 ± 7,8	58,3 ± 8,8	52,1 ± 10,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.13 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, nồng độ cholesterol toàn phần ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

## 2.6. Đánh giá chức năng thận

**Bảng 2.14. Ảnh hưởng của mẫu thử MNC2 đến nồng độ creatinin**

Thời gian	Nồng độ creatinin (mg/dL)			p (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 11)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống	77,7 ± 6,1	75,1 ± 5,7	78,6 ± 7,6	> 0,05
Sau uống 4 tuần	73,7 ± 7,1	73,7 ± 4,8	79,3 ± 7,3	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 8 tuần	74,9 ± 6,7	73,7 ± 6,6	74,6 ± 6,9	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống 12 tuần	73,2 ± 5,6	72,3 ± 6,3	76,1 ± 9,4	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**Nhận xét:** Kết quả ở bảng 2.14 cho thấy:

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, ở cả lô trị 1 (uống mẫu thử MNC2 liều 180 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống mẫu thử MNC2 liều 540 mg/kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống mẫu thử ( $p > 0,05$ ).

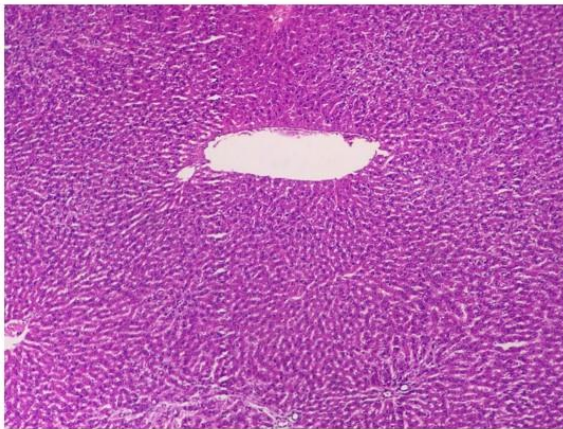
## 2.7. *Đánh giá hình thái và cấu trúc vi thể gan, thận của chuột*

» *Hình thái đại thể của gan và thận*: Trên tất cả các chuột thực nghiệm (cả lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của gan và thận.

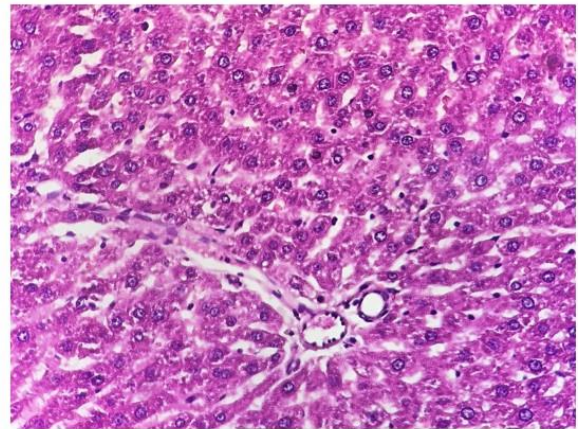
» *Hình thái vi thể của gan và thận*:

- *Hình thái vi thể gan*:

GPB 04\_Gan; 100X



GPB 04\_Gan; 400X



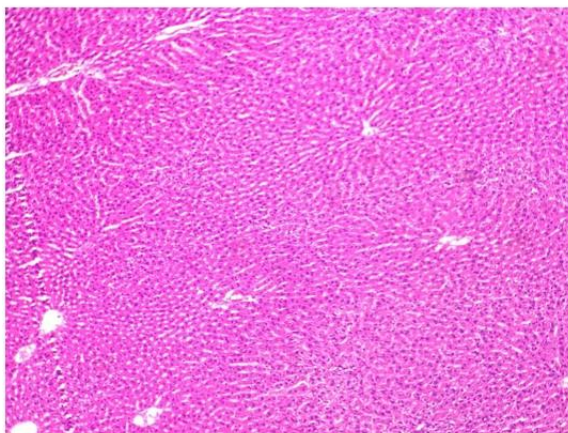
**Hình 2.1. Hình thái vi thể gan ở chuột lô chứng (chuột số 04)**

(HE x 100 và HE x 400)

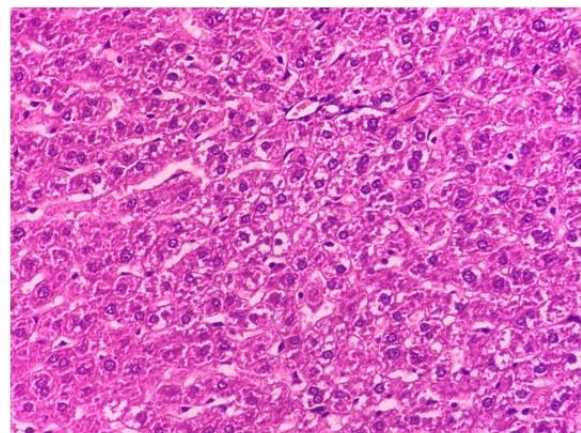
(HE x 100: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 100 lần)

HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)

GPB 05\_Gan; 100X



GPB 05\_Gan; 400X

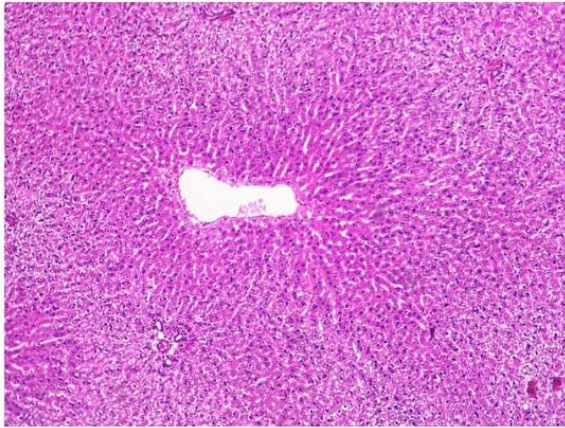


**Hình 2.2. Hình thái vi thể gan ở chuột lô chứng (chuột số 05)**

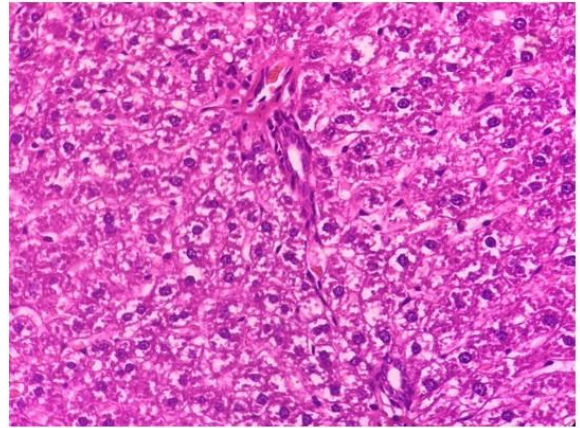
(HE x 100 và HE x 400)



GPB 06\_Gan; 100X

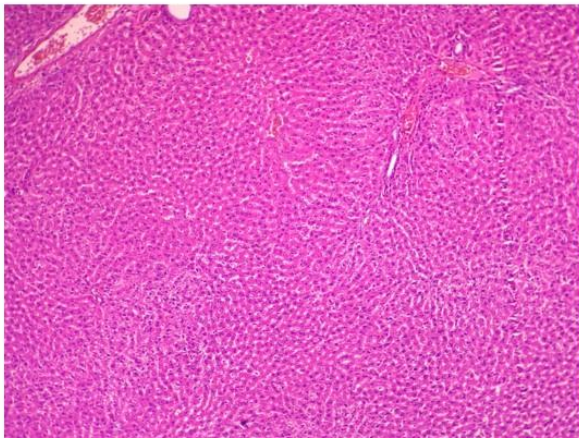


GPB 06\_Gan; 400X

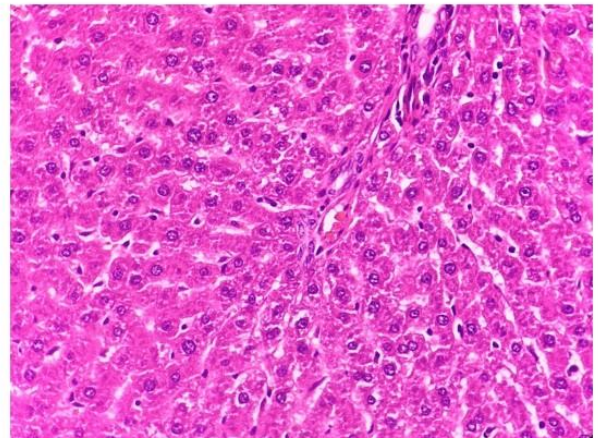


**Hình 2.3. Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột số 06)**  
(HE x 100 và HE x 400)

GPB 51\_Gan; 100X



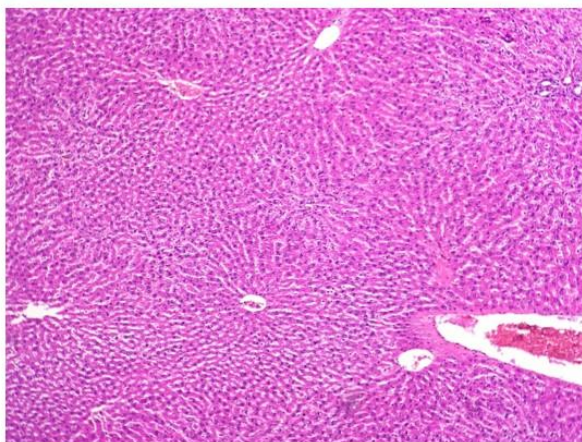
GPB 51\_Gan; 400X



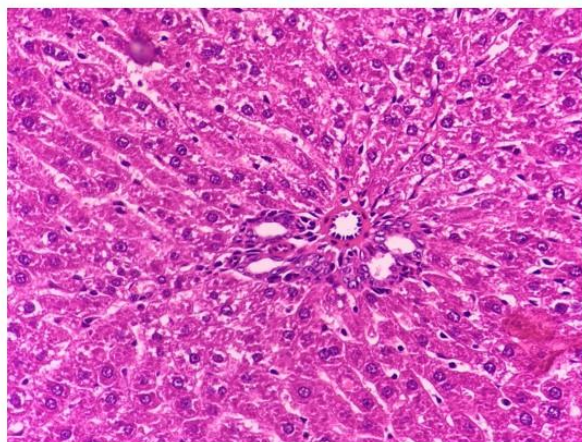
**Hình 2.4. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1**  
**sau 12 tuần uống mẫu thử**  
(chuột số 51)(HE x 100 và HE x 400)



GPB 52\_Gan; 100X

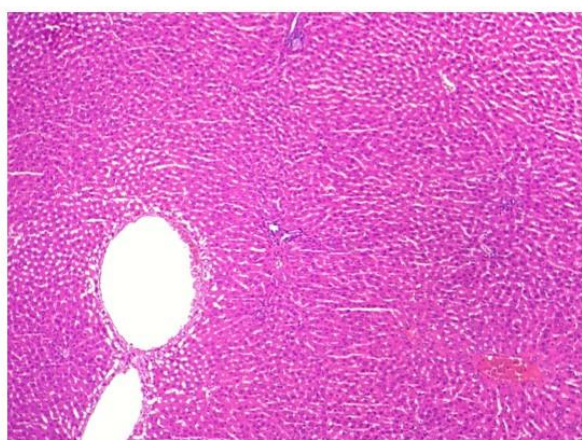


GPB 52\_Gan; 400X

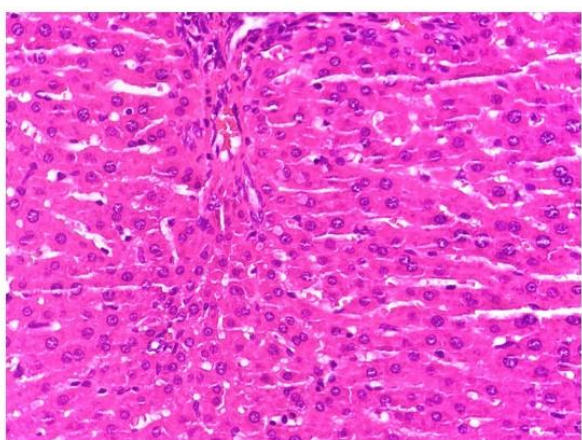


**Hình 2.5. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 52) (HE x 400)**

GPB 56\_Gan; 100X



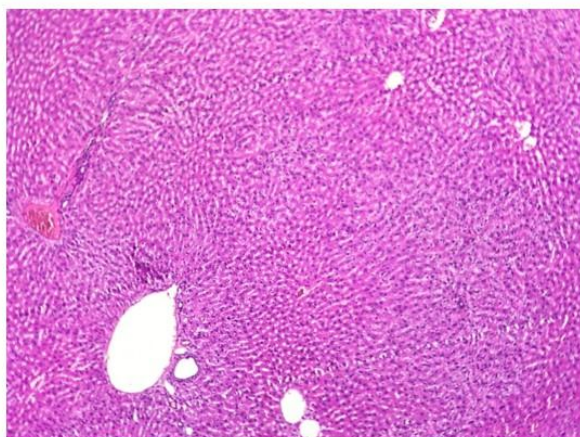
GPB 56\_Gan; 400X



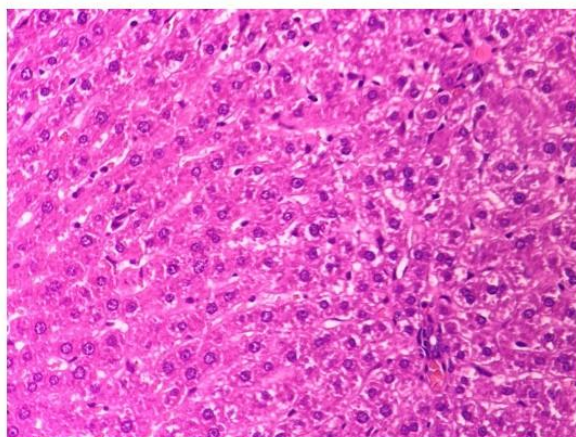
**Hình 2.6. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 56)(HE x 100 và HE x 400)**



GPB 38\_Gan; 100X

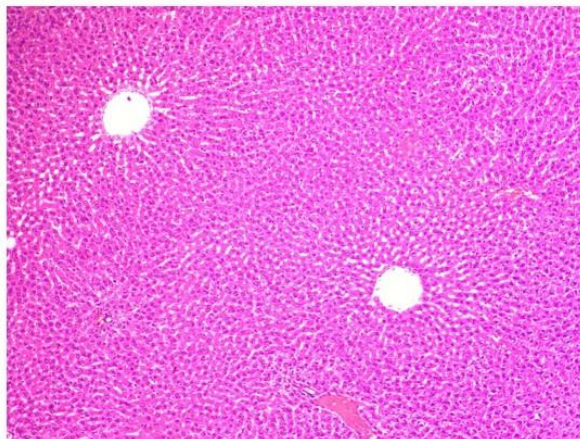


GPB 38\_Gan; 400X

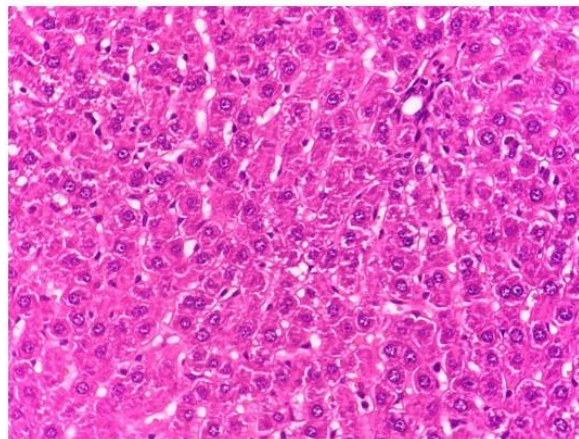


**Hình 2.7. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 38)(HE x 100 và HE x 400)**

GPB 44\_Gan; 100X



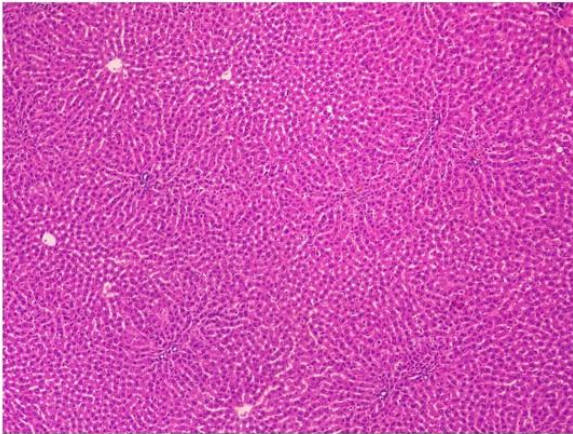
GPB 44\_Gan; 400X



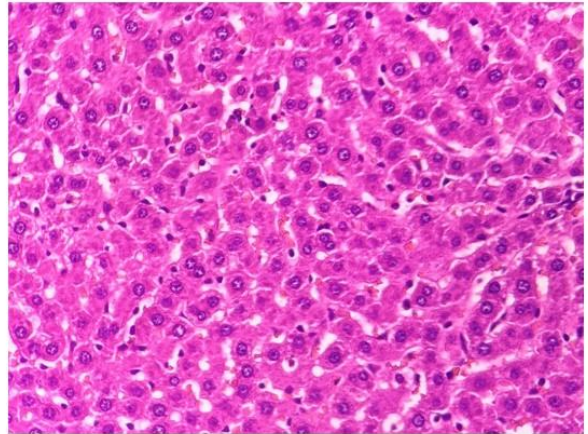
**Hình 2.8. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 44)(HE x 100 và HE x 400)**



GPB 46\_Gan; 100X



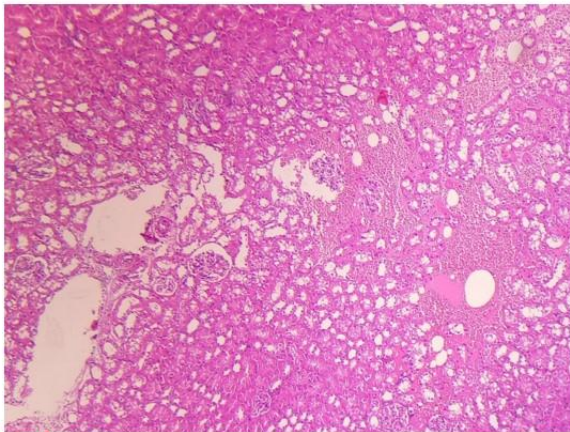
GPB 46\_Gan; 400X



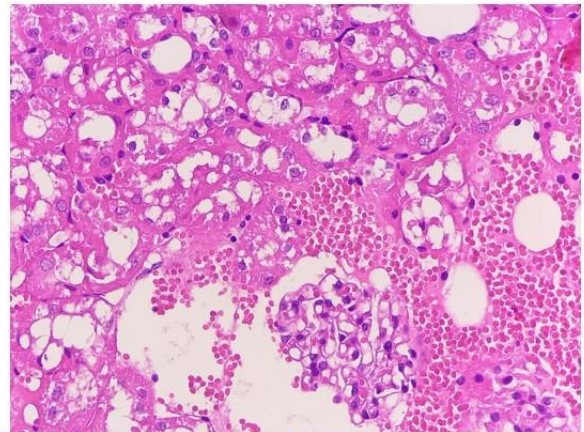
**Hình 2.9. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 46)(HE x 100 và HE x 400)**

- **Hình thái vi thể thận:**

GPB 04\_Thận; 100X



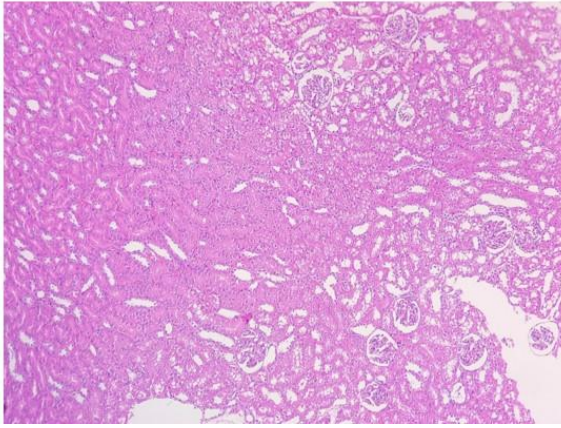
GPB 04\_Thận; 400X



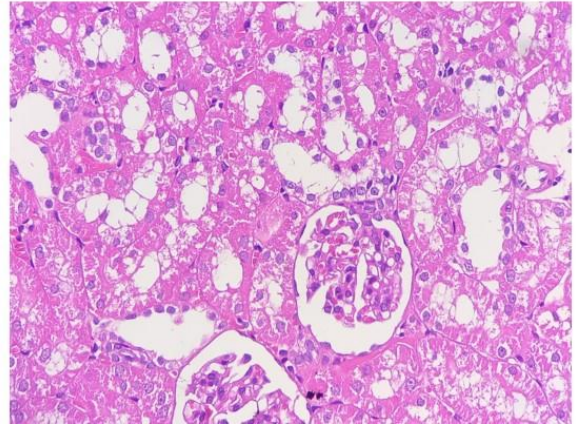
**Hình 2.10: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột số 04)  
(HE x 100 và HE x 400)**



GPB 05\_Thận; 100X

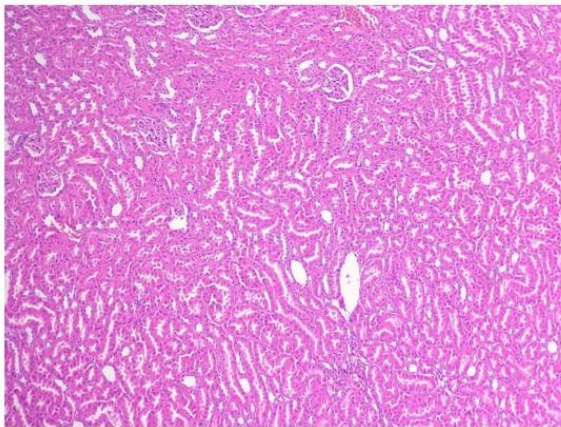


GPB 05\_Thận; 400X

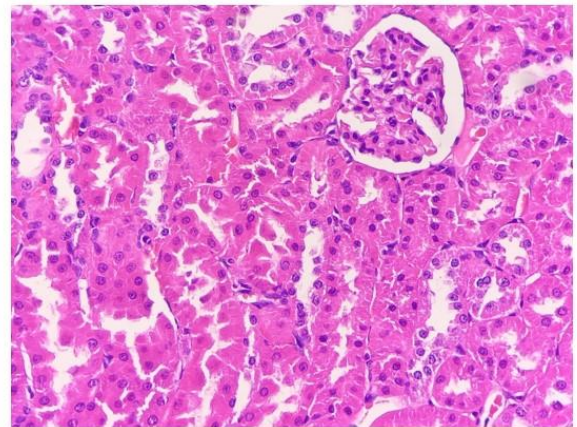


**Hình 2.11: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột số 05)**  
(HE x 100 và HE x 400)

GPB 06\_Thận; 100X



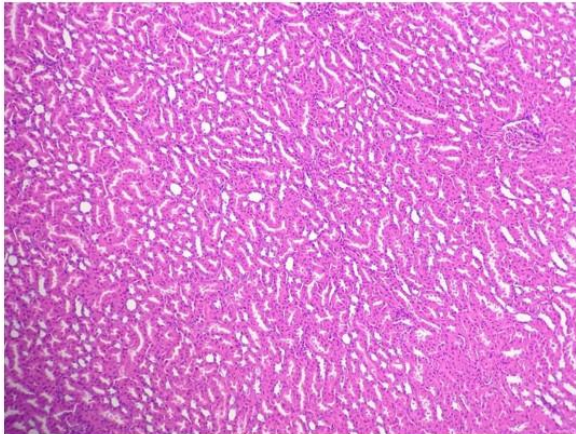
GPB 06\_Thận; 400X



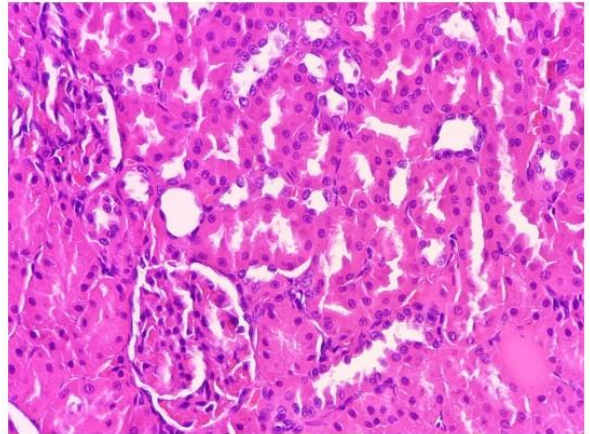
**Hình 2.12: Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột số 06)**  
(HE x 100 và HE x 400)



GPB 51\_Thận; 100X

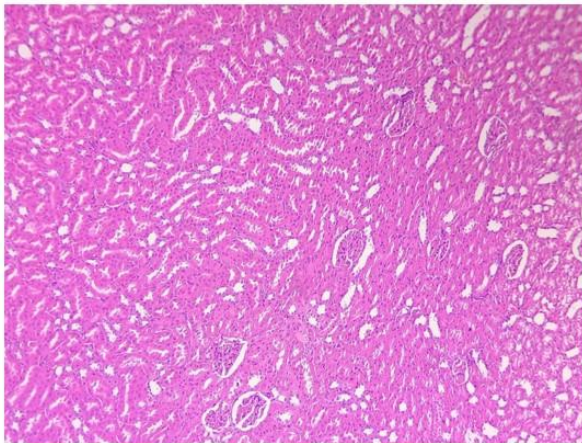


GPB 51\_Thận; 400X

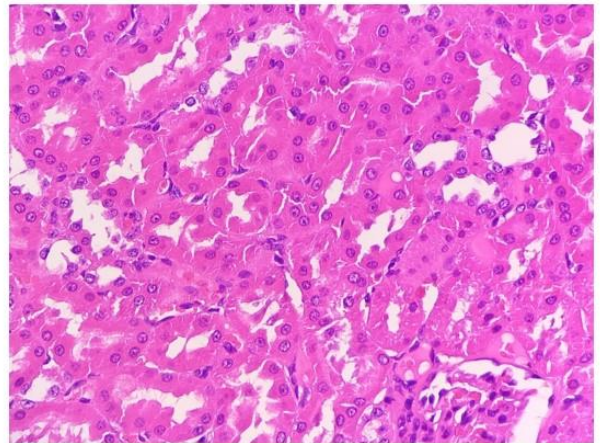


*Hình 2.13: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 51) (HE x 100 và HE x 400)*

GPB 52\_Thận; 100X



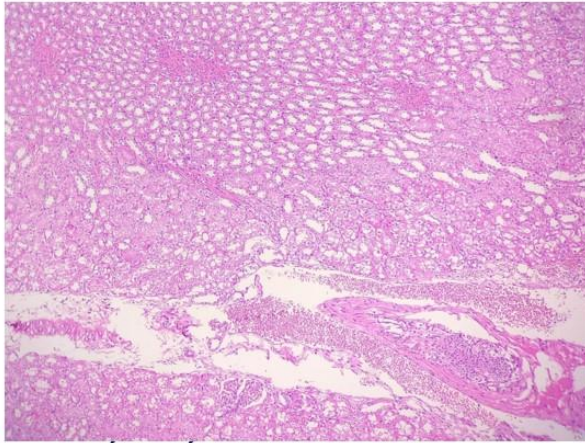
GPB 52\_Thận; 400X



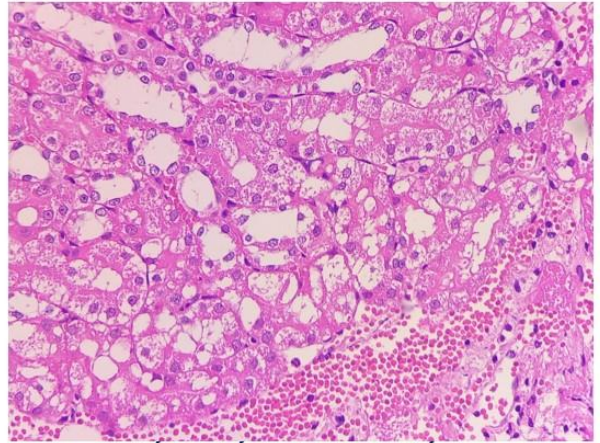
*Hình 2.14: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 52)(HE x 100 và HE x 400)*



**GPB 56\_Thận; 100X**

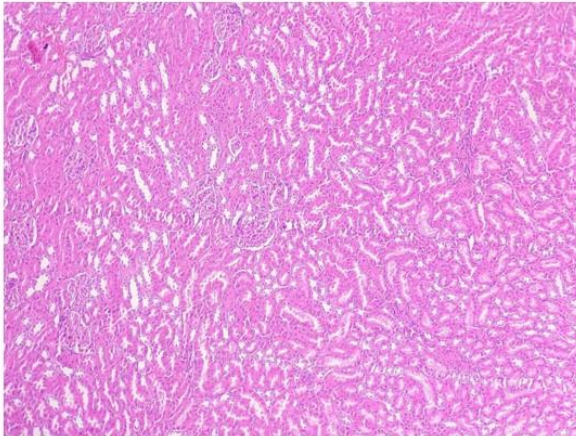


**GPB 56\_Thận; 400X**

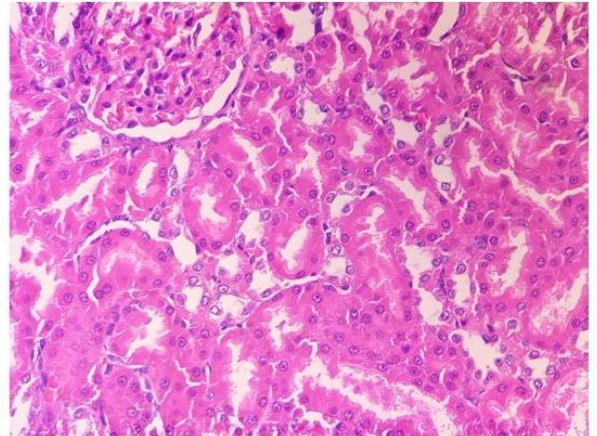


**Hình 2.15: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 56)(HE x 100 và HE x 400)**

**GPB 38\_Thận; 100X**



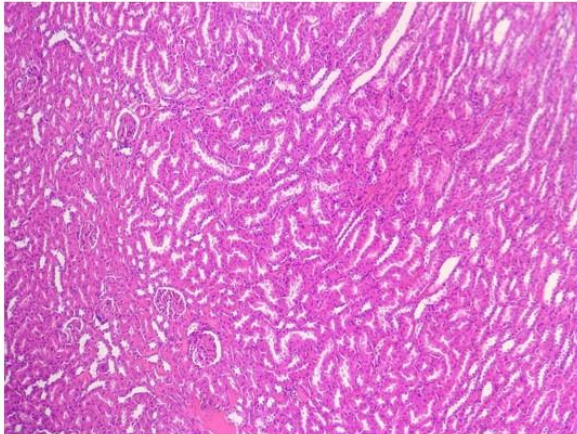
**GPB 38\_Thận; 400X**



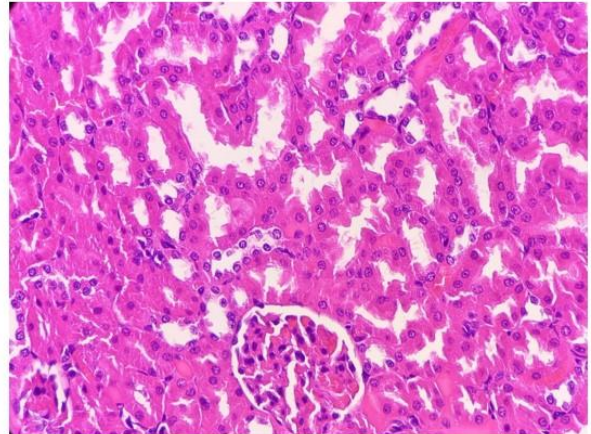
**Hình 2.16: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 38)(HE x 100 và HE x 400)**



GPB 44\_Thận; 100X

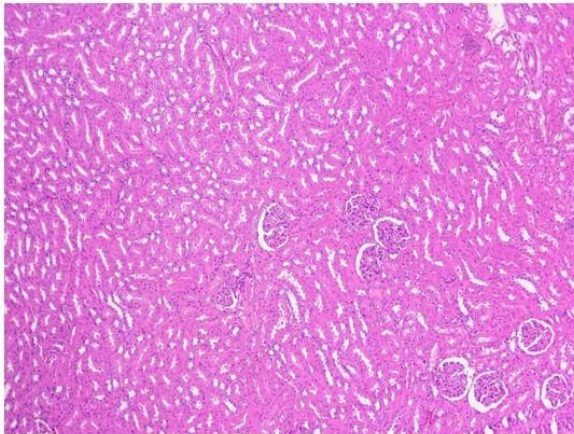


GPB 44\_Thận; 400X

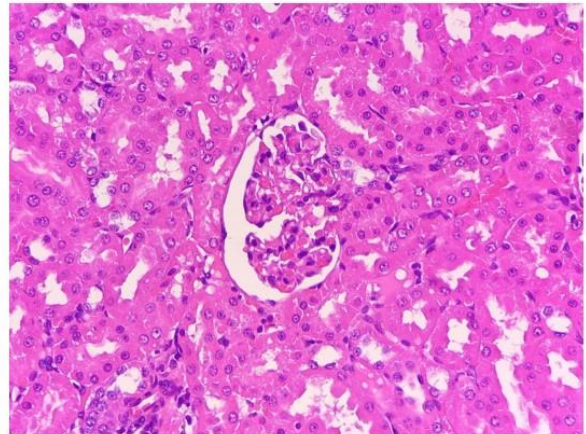


*Hình 2.17: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 44)(HE x 100 và HE x 400)*

GPB 46\_Thận; 100X



GPB 46\_Thận; 400X



*Hình 2.18: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2  
sau 12 tuần uống mẫu thử  
(chuột số 46)(HE x 100 và HE x 400)*

**Kết luận về giải phẫu bệnh:** Sau 12 tuần uống mẫu thử, cấu trúc vi thể gan và thận của lô trị 1 và lô trị 2 không có sự khác biệt so với lô chứng sinh học.

### III. NHẬN XÉT

Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn theo đường uống của mẫu thử MNC2 trên hai lô chuột cống trắng, lô trị 1 uống mẫu thử MNC2 liều tương đương liều dự kiến lâm sàng (180 mg/kg/ngày) và lô trị 2 uống liều cao gấp 3 lần liều dự kiến lâm sàng (540 mg/kg/ngày) liên tục trong thời gian 12 tuần cho thấy:

- Về tình trạng chung và trọng lượng chuột: cả 2 mức liều của mẫu thử MNC2 không làm ảnh hưởng xấu đến tình trạng chung của chuột và trọng lượng của chuột cống trắng sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử.

- Về chức phận tạo máu: mẫu thử MNC2 không làm thay đổi kết quả các xét nghiệm gồm số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu so với lô chứng sinh học và so với trước khi uống.

- Về xét nghiệm hoạt độ các enzym AST, ALT:

+ Sau 4 tuần và 8 tuần: mẫu thử MNC2 cả 2 liều nghiên cứu không làm thay đổi hoạt độ AST và ALT trong máu chuột cống trắng so với lô chứng sinh học và so với trước khi uống.

+ Sau 12 tuần, nồng độ AST trên chuột ở cả 2 liều tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so với trước khi uống mẫu thử nhưng vẫn nằm trong giới hạn bình thường trên chuột cống. Nồng độ ALT ở chuột dùng liều 180 mg/kg/ngày tăng có ý nghĩa thống kê; ở chuột dùng liều 540 mg/kg/ngày có xu hướng tăng nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và trước khi uống; giá trị trung bình ALT ở chuột dùng cả 2 liều tăng hơn 1 chút so với giới hạn trên của mức bình thường ở chuột cống.

- Về chức năng gan: mẫu thử MNC2 không làm thay đổi kết quả nồng độ bilirubin toàn phần, cholesterol toàn phần và albumin trong máu chuột cống trắng so với lô chứng sinh học.



- Về chức năng thận: mẫu thử MNC2 không làm thay đổi kết quả xét nghiệm creatinin trong máu chuột cống trắng.

- Hình thái đại thể và cấu trúc vi thể gan, thận: không có sự khác về hình ảnh đại thể và cấu trúc vi thể gan và thận giữa các lô uống mẫu thử MNC2 với lô chứng sinh học sau 12 tuần uống mẫu thử.

#### **IV. KẾT LUẬN**

Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của mẫu thử MNC2 cho thấy:

- Sau 4 tuần uống, mẫu thử MNC2 với 2 mức liều 180 mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người) và 540 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người) không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng.

- Sau 8 tuần uống, mẫu thử MNC2 với 2 mức liều 180 mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người) và 540 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người) không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng.

- Sau 12 tuần uống, mẫu thử MNC2 với 2 mức liều 180 mg/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người) và 540 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người) có xu hướng làm tăng ALT trên chuột cống trắng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gerhard Vogel H. (2008), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
2. World Health Organization (2000), *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
3. Venkatasubbu GD, Ramasamy S, Gaddam PR, et al. Acute and subchronic toxicity analysis of surface modified paclitaxel attached hydroxyapatite and titanium dioxide nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. 2015;10:137-148.
4. P.E. Sharp, M.C. La Regina, M.A. Suckow (1998), *The Laboratory Rat*, CRC Press, 1998.
5. Kazi Md. Mahmudul Hasan, Nasrin Tamanna, Md. Anwarul Haque (2018), Biochemical and histopathological profiling of Wistar rat treated with Brassica napus as a supplementary feed, *Food Science and Human Wellness*, Volume 7, Issue 1, 77-82,

Hà Nội, ngày 01 tháng 11 năm 2023

**Trưởng Bộ môn Dược lý**  
**Giám Đốc Trung tâm Dược lý lâm sàng**



**PGS.TS. BS. Phạm Thị Vân Anh**

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**  
**BỘ MÔN DƯỢC LÝ**  
**TRUNG TÂM DƯỢC LÝ LÂM SÀNG**



**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ**  
**LOÉT DẠ DÀY-TÁ TRÀNG CỦA MẪU THỬ**  
**MNC2 TRÊN THỰC NGHIỆM**

Địa điểm nghiên cứu: **Bộ môn Dược lý và**  
**Trung tâm Dược lý lâm sàng**

**Hà Nội - 2023**

# **I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

## **1. Thuốc nghiên cứu**

- Tên thuốc: MNC2
- Dạng bào chế: Cao dược liệu
- Liều dùng trên chuột cống: 180 mg cao/kg/ngày và 360 mg cao/kg/ngày

## **2. Hoá chất và máy phục vụ nghiên cứu**

### **2.1. Thuốc, hoá chất phục vụ nghiên cứu**

- Indomethacin viên nén 25 mg (Kwality Pharmaceutical - Ấn Độ)
- Misoprostol STELLA viên nén 200 mcg (STELLA - Việt Nam)
- Nước muối sinh lý (Braun)
- Chloral hydrate (Shanghai Zhanyun Chemical Co.Ltd - Trung Quốc )
- Formaldehyd, các hóa chất làm giải phẫu bệnh.

### **2.2. Máy phục vụ nghiên cứu**

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

## **3. 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 – Đại học Y Hà Nội.

**Địa điểm Nghiên cứu: Bộ môn Dược lý – Đại học Y Hà Nội, Học viện YDHCTVN.**

## **4. 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 indomethacin (INDO) liều duy nhất 40 mg/kg trên chuột cống trắng [1-3].

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

- Lô 1 (Chứng sinh học): Uống nước cất 10 mL/kg
- Lô 2 (Mô hình): Uống nước cất 10 mL/kg + uống INDO.
- Lô 3 (Misoprostol): Uống misoprostol 50 µg/kg + uống INDO
- Lô 4 (MNC2 liều cao): uống MNC2 liều 360 mg cao/kg + uống INDO
- Lô 5 (MNC2 liều thấp): uống MNC2 liều 180 mg cao/kg + uống INDO

Chuột ở các lô được uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục trong thời gian 10 ngày. Tại ngày thứ 10 của nghiên cứu, sau 1 giờ uống thuốc, chuột ở các lô từ 2 đến 5 được uống INDO liều 40 mg/kg một lần duy nhất. Chuột được nhịn ăn 18 tiếng trước khi uống INDO. Sau 6 giờ kể từ khi uống INDO, tất cả các chuột được gây mê bằng chloral hydrate, 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 cs (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:

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

- + Hình ảnh đại thể dạ dày chuột

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

	<b>Điểm 0</b>	<b>Điểm 1</b>	<b>Điểm 2</b>	<b>Điểm 3</b>
Độ sâu của tổn thương loét	Tế bào bình thường, không tổn thương loét	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.

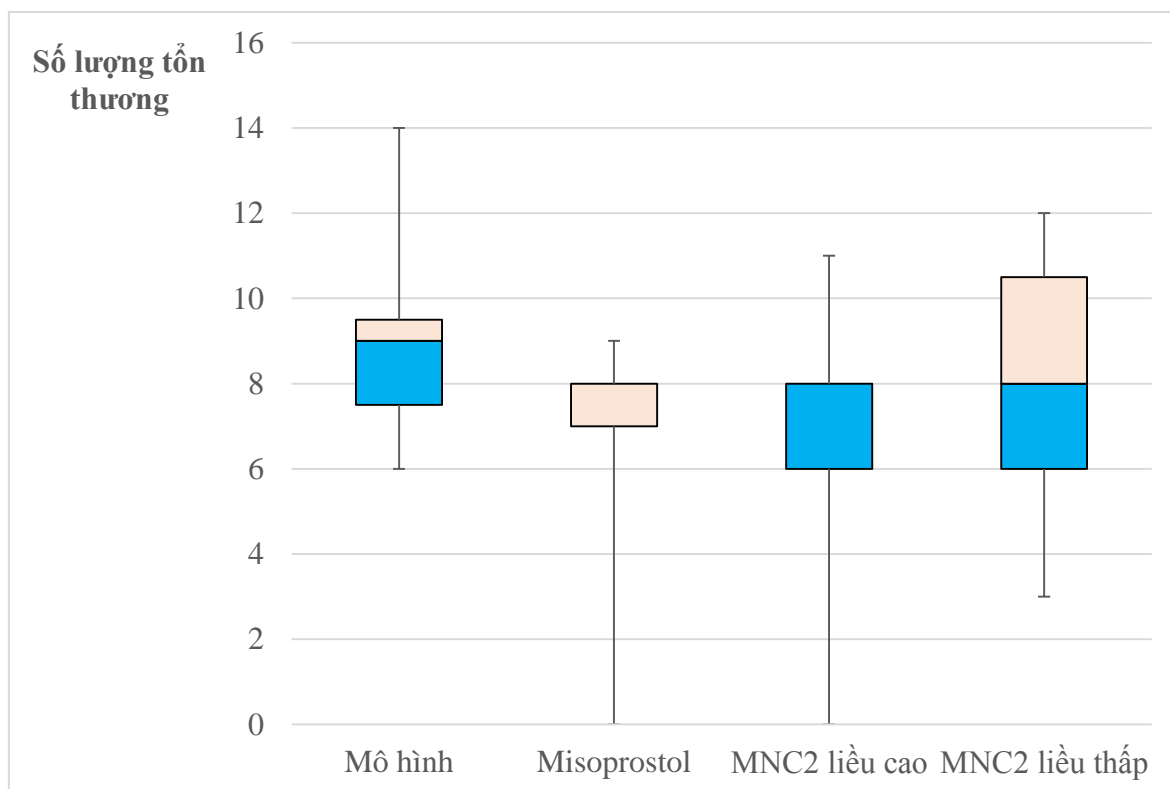
## **5. Xử lý số liệu**

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 MNC2 đến số lượng tổn thương ở dạ dày-tá tràng



**Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của MNC2 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 7-10. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 14 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 6.
- Lô uống misoprotol: Số lượng tổn thương ít hơn so với lô mô hình, dao động chủ yếu trong khoảng 7-8. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 9 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.
- Lô uống MNC2 liều cao: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 6-8. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 11 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 0.

- Lô uống MNC2 liều thấp: Số lượng tổn thương dao động chủ yếu trong khoảng 6-11. Số lượng tổn thương nhiều nhất được quan sát thấy là 12 tổn thương, số lượng tổn thương ít nhất là 3.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của MNC2 đến số lượng tổn thương ở dạ dày-tá tràng**

Lô nghiên cứu	Số lượng tổn thương			
	Min	Max	Median	Q1:Q3
Mô hình	6	14	9	7,5 : 9,5
Misoprostol	0	9	7	7,0 : 8,0
MNC2 liều cao	0	11	8	6,0 : 8,0
MNC2 liều thấp	3	12	8	6,0 : 10,5

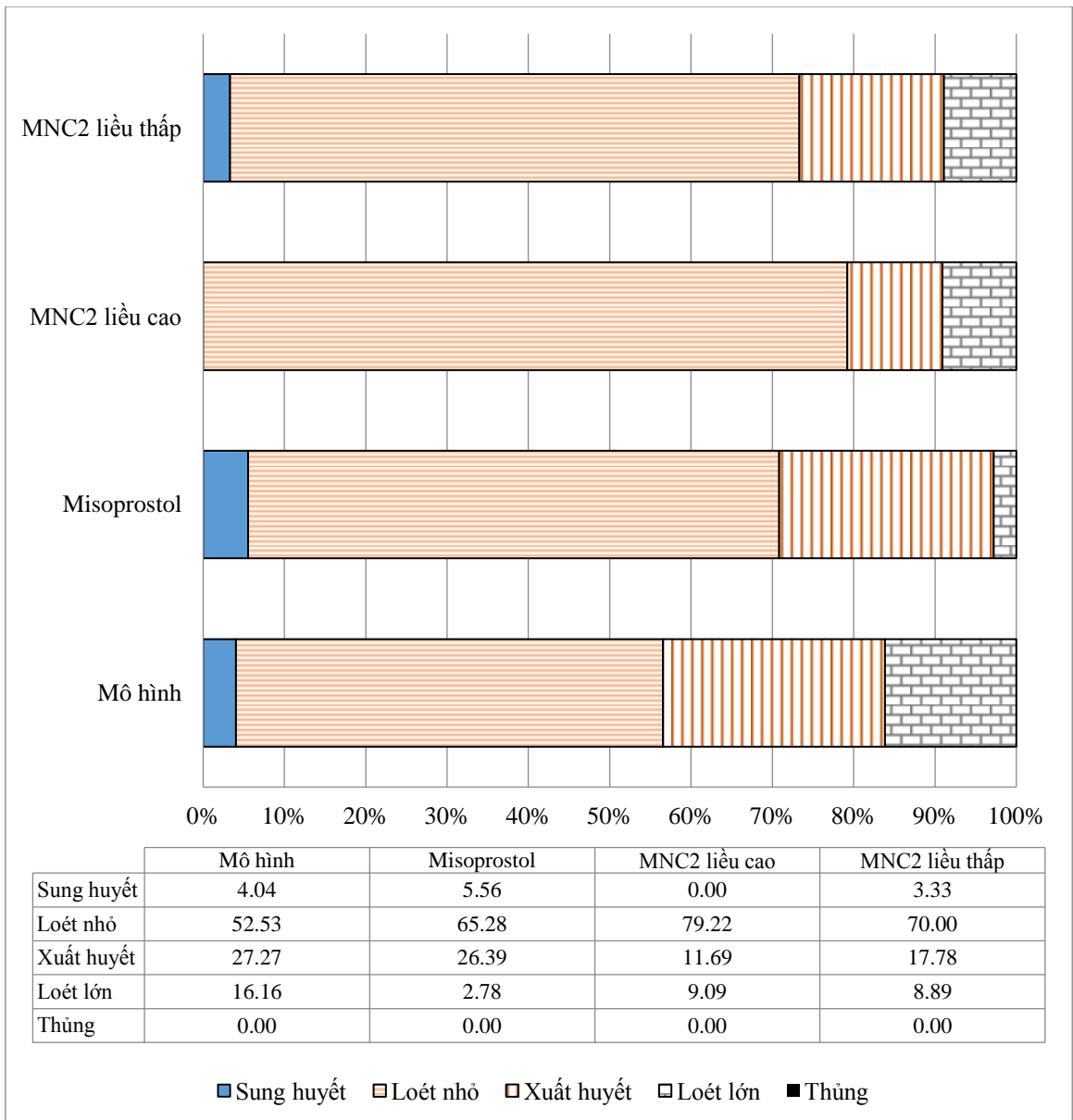
**Bảng 2. Ảnh hưởng của MNC2 đến số tổn thương trung bình ở dạ dày- tá tràng**

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ loét	Số tổn thương ( $\bar{X} \pm SD$ )
Lô 2: Mô hình	11	11/11	9,00 $\pm$ 2,41
Lô 3: Misoprostol	11	10/11	6,55 $\pm$ 2,88
Lô 4: MNC2 liều cao	11	10/11	7,00 $\pm$ 3,10
Lô 5: MNC2 liều thấp	11	11/11	8,18 $\pm$ 2,82

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 2 cho thấy:

- 100% chuột ở lô mô hình có hình ảnh loét dạ dày-tá tràng.
- Misoprostol và các lô uống MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm số lượng tổn thương trung bình so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

## **2.2. Ảnh hưởng của MNC2 đến mức độ tổn thương ở dạ dày-tá tràng**



**Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của MNC2 đến mức độ tổn thương dạ dày-tá tràng trên quan sát đại thể**

Kết quả ở Biểu đồ 2 cho thấy:

- Không quan sát thấy tình trạng thủng dạ dày ở tất cả các lô nghiên cứu.
- Loại tổn thương chủ yếu được quan sát thấy ở các lô nghiên cứu là loét nhỏ. Các lô được điều trị trước bằng misoprostol và MNC2 đều có tỷ lệ loét nhỏ cao hơn so với lô mô hình, cao nhất là MNC2 liều cao với 79,22%.
- Các loại tổn thương nặng (xuất huyết, loét lớn) gặp với tỷ lệ cao nhất ở lô mô hình (43,43%), sau đó giảm dần theo thứ tự các lô như sau: misoprostol (29,17%) > MNC2 liều thấp (26,67%) > MNC2 liều cao (20,78%).

**Bảng 3. Ảnh hưởng của MNC2 đến chỉ số loét dạ dày- tá tràng**

Lô nghiên cứu (n=11)	Tỷ lệ loét	Chỉ số loét (UI)	% ức chế loét
Lô 2: Mô hình	11/11	4,50 ± 0,63	---
Lô 3: Misoprostol	10/11	3,18 ± 1,27**	29,29
Lô 4: MNC2 liều cao	10/11	3,36 ± 1,50*	25,25
Lô 5: MNC2 liều thấp	11/11	4,00 ± 1,07	11,11

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy:

- Misoprostol làm giảm có ý nghĩa thống kê chỉ số loét so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ), tỷ lệ ức chế loét là 29,29%.
- MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống MNC2 liều cao.

### **2.3.Ảnh hưởng của MNC2 đến hình ảnh mô bệnh học dạ dày chuột**

**Bảng 3. Điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột**

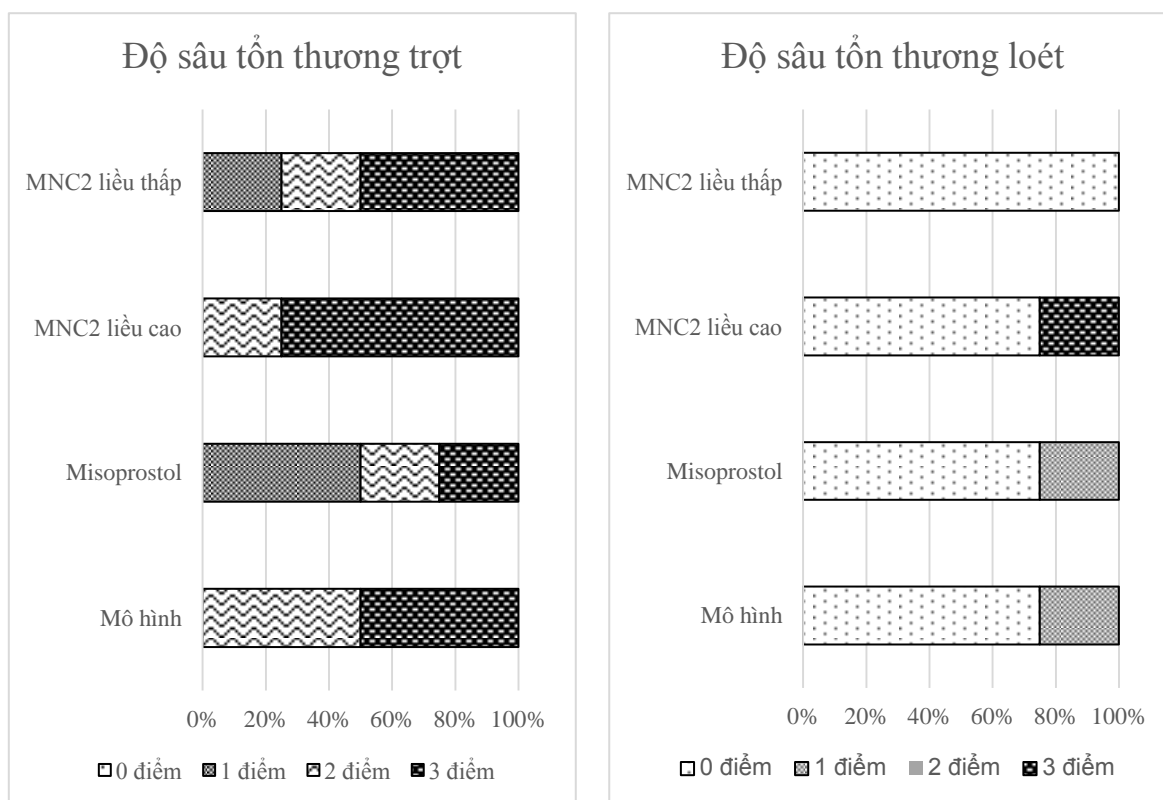
Lô nghiên cứu	Tổng điểm vi thể				Tổng điểm trung bình
	Mẫu DD1	Mẫu DD2	Mẫu DD3	Mẫu DD4	
Chứng	0	0	0	0	0,00
Mô hình	7	6	6	5	6,00 ± 0,82
Misoprostol	4	6	3	4	4,25 ± 1,26
MNC2 liều cao	11	7	7	4	7,25 ± 2,87
MNC2 liều thấp	7	6	7	4	6,00 ± 1,41

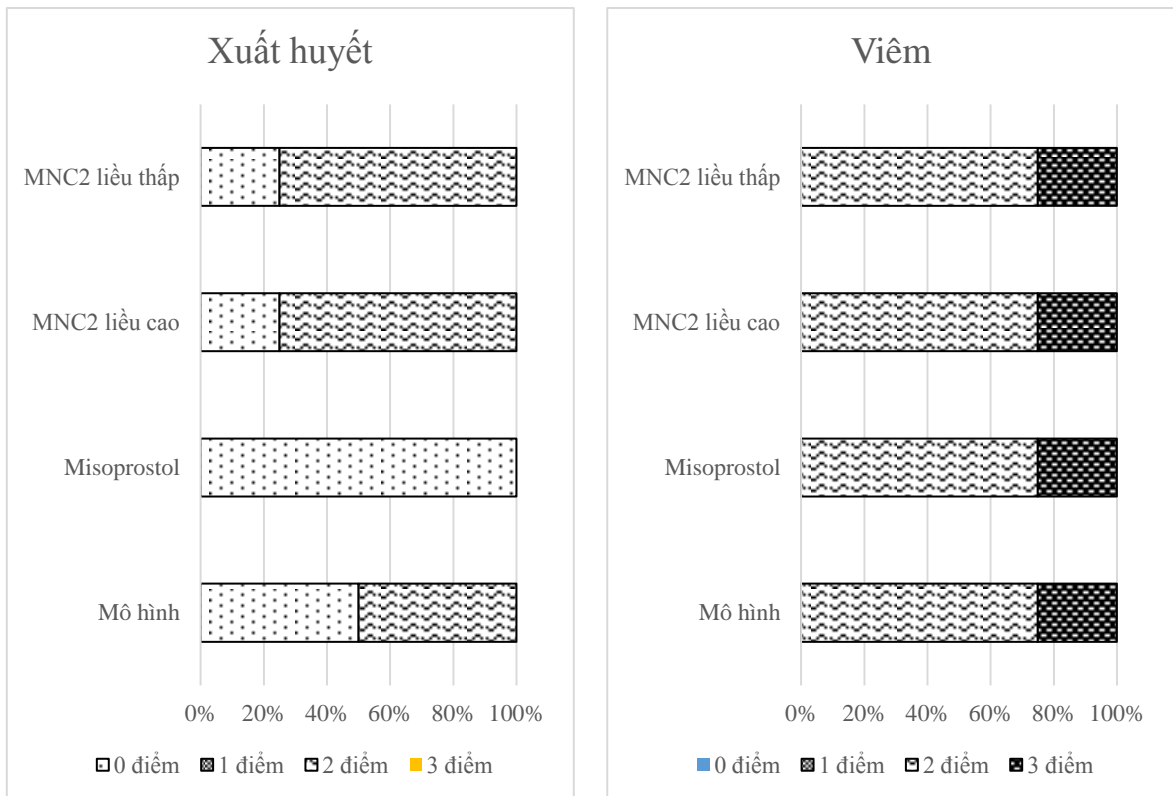
Quan sát điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột ở Bảng 3 nhận thấy, mức độ tổn thương có xu hướng cải thiện ở lô uống misoprostol với điểm vi thể

trung bình thấp hơn chưa có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình. Điểm vi thể trung bình ở các lô uống MNC2 chưa có sự cải thiện so với lô mô hình.

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 apoptosis ở tất cả các mẫu dạ dày.
- Độ sâu của tổn thương trượt: Mức độ trượt nặng được quan sát thấy ở lô mô hình và các lô uống MNC2 với  $\geq 50\%$  mẫu dạ dày có độ sâu tổn thương ở mức toàn bộ niêm mạc (3 điểm). Misoprostol có tác dụng làm giảm mức độ trượt với 50% mẫu dạ dày có mức độ trượt chỉ lên đến 1/3 độ dày niêm mạc (1 điểm).





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

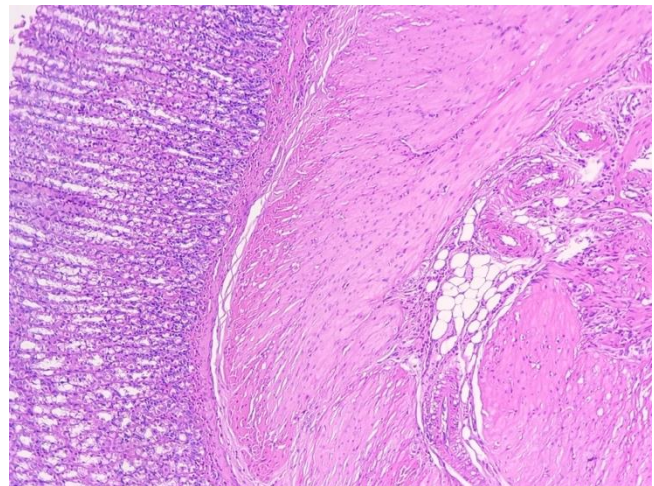
- Độ sâu của tổn thương loét: Tổn thương loét sâu đến tầng cơ chỉ được quan sát thấy ở 1/4 mẫu dạ dày của lô uống MNC2 liều cao. Tổn thương loét ở các lô mô hình, misoprostol có mức độ tổn thương giới hạn tại cơ niêm (1 điểm). 100% mẫu dạ dày của lô uống MNC2 liều thấp có hình ảnh tế bào bình thường, không tổn thương loét (0 điểm).
- Xuất huyết: Tình trạng xuất huyết nhẹ (2 điểm) được quan sát thấy ở  $\geq 50\%$  mẫu dạ dày của các lô mô hình và 2 lô uống MNC2.
- Viêm: Tất cả các mẫu dạ dày đều có tình trạng viêm, phần lớn có mức độ viêm nhẹ (2 điểm). Mức độ viêm nặng (3 điểm) được quan sát thấy ở 1/4 mẫu dạ dày ở cả 4 lô gây loét bằng INDO.



**Bảng 4. Hình ảnh mô bệnh học dạ dày**

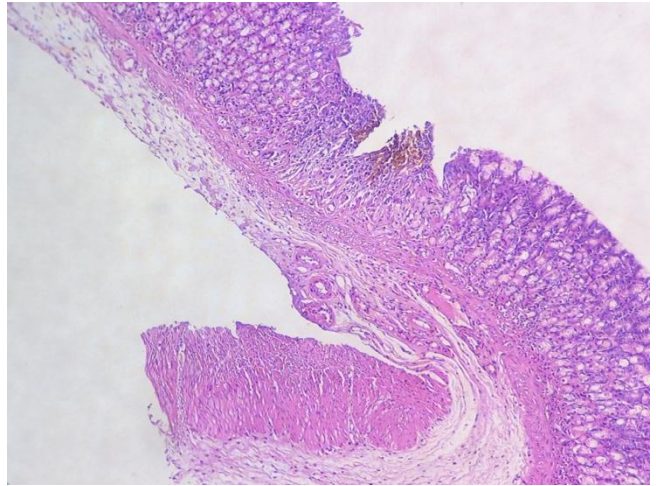
Lô	Hình ảnh vi thể
<p>Các mảnh cắt đều là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài</p>	
<p>Chứng sinh học</p>	<p><u>4/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc được bao phủ bởi một lớp biểu mô trụ đơn phía dưới là mô liên kết thưa. Không xuất hiện tổn thương trên các tầng mô.</p>
<p>Mô hình</p>	<p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh rải rác một số điểm có <b>tổn thương loét</b> hoại tử đến lớp cơ niêm. Mô đệm xâm nhập <b>nhiều</b> bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>2/4</u> mảnh cắt có hình ảnh trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm <b>trọt đến 2/3</b> chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có <b>xuất huyết nhẹ</b>. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện một số điểm viêm <b>trọt trên 2/3</b> chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p>
<p>Misoprostol</p>	<p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm <b>trọt đến 2/3</b> chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>2/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm <b>trọt đến 1/3</b> chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác hoặc <b>nhiều</b> bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh rải rác một số điểm có <b>tổn thương loét</b> hoại tử đến lớp cơ niêm. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p>
<p>MNC2 liều cao</p>	<p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh một số vùng có <b>tổn thương loét</b> hoại tử đến <b>tầng cơ</b>, rải rác <b>xuất huyết nhẹ</b>. Mô đệm phù nề, xâm nhập <b>nhiều</b> bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>2/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm <b>trọt trên 2/3</b> chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có <b>xuất huyết nhẹ</b>. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><u>1/4</u> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm</p>

Lô	Hình ảnh vi thể
	<b>trọt đến 2/3</b> chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.
MNC2 liều thấp	<p><b>1/4</b> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm <b>trọt đến 2/3</b> chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có <b>xuất huyết nhẹ</b>. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính.</p> <p><b>2/4</b> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm <b>trọt trên 2/3</b> chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có <b>xuất huyết nhẹ</b>. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính</p> <p><b>1/4</b> mảnh cắt có hình ảnh tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm <b>trọt đến 1/3</b> chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm phù nề xuất hiện <b>nhều</b> bạch cầu hạt trung tính.</p>



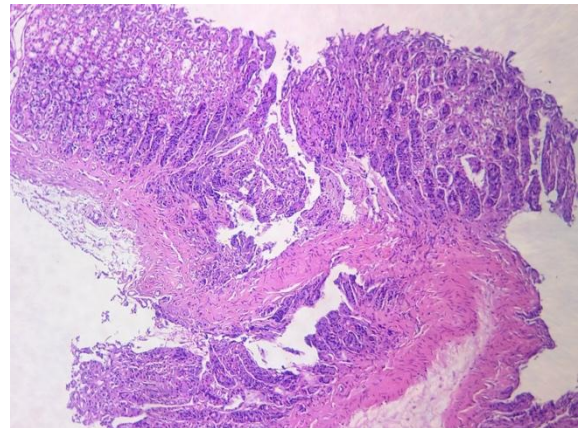
**Hình 1.** Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô chứng sinh học (mã DD09)

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 mô hình (mã DD20)**

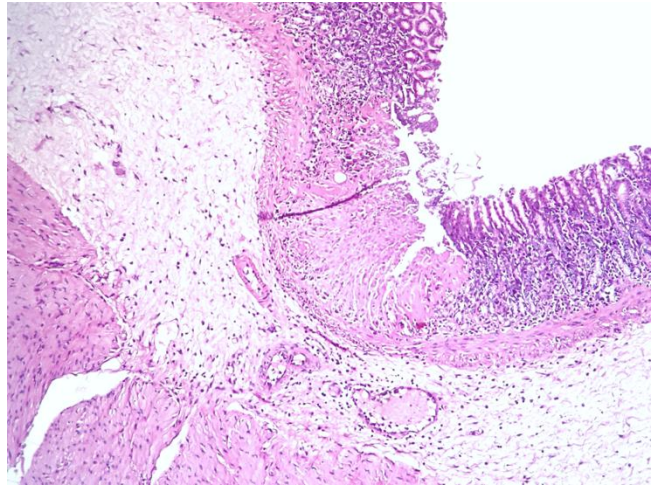
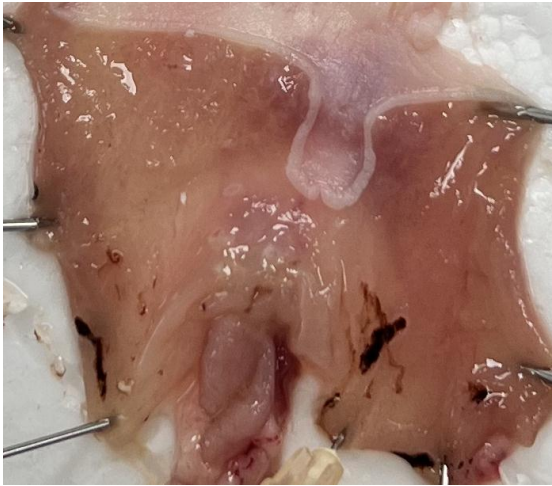
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trọt đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )



**Hình 3. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô mô hình (mã DD22)**

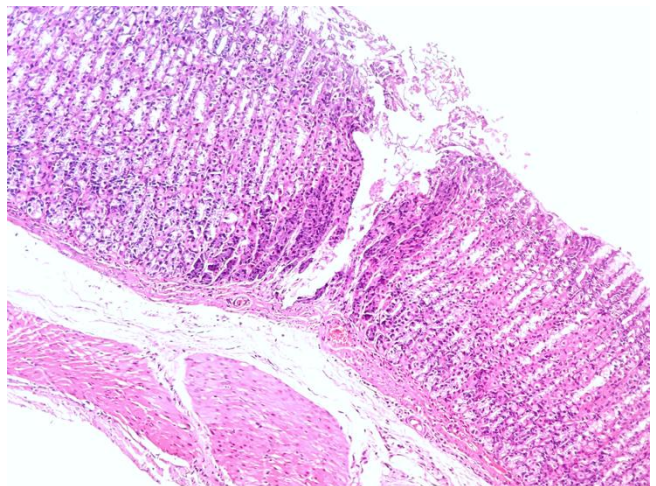
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Trên tầng niêm mạc xuất hiện một số điểm viêm trọt trên 2/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )





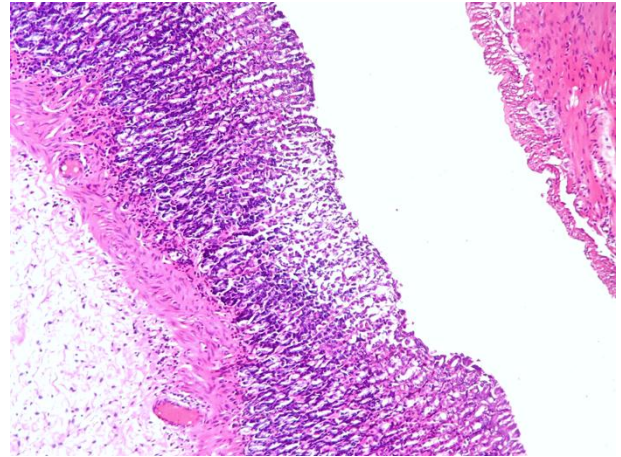
**Hình 4. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô mô hình (mã DD13)**

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 nhiều bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )



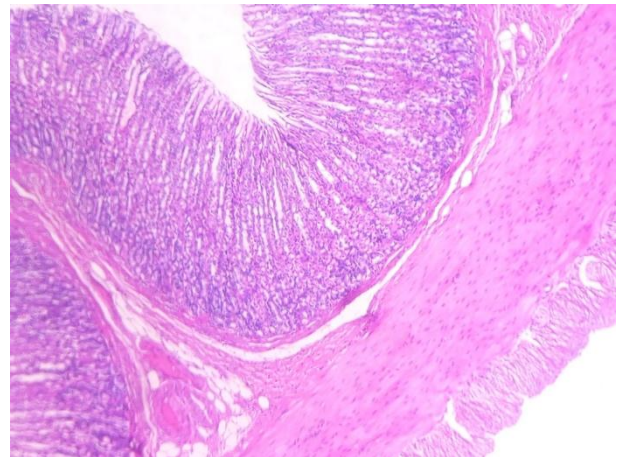
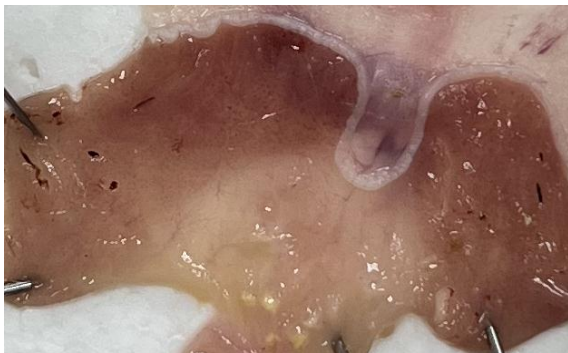
**Hình 5. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô misoprostol (mã DD26)**

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 (HE,  $\times 100$ )



**Hình 6. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô misoprostol (mã DD25)**

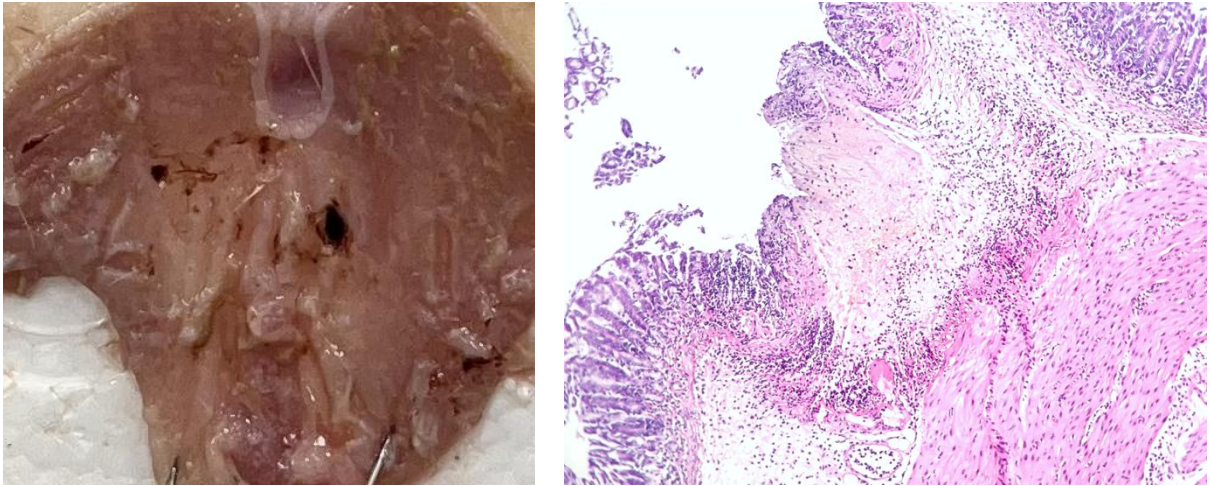
*Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trọt đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE, ×100)*



**Hình 7. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô misoprostol (mã DD31)**

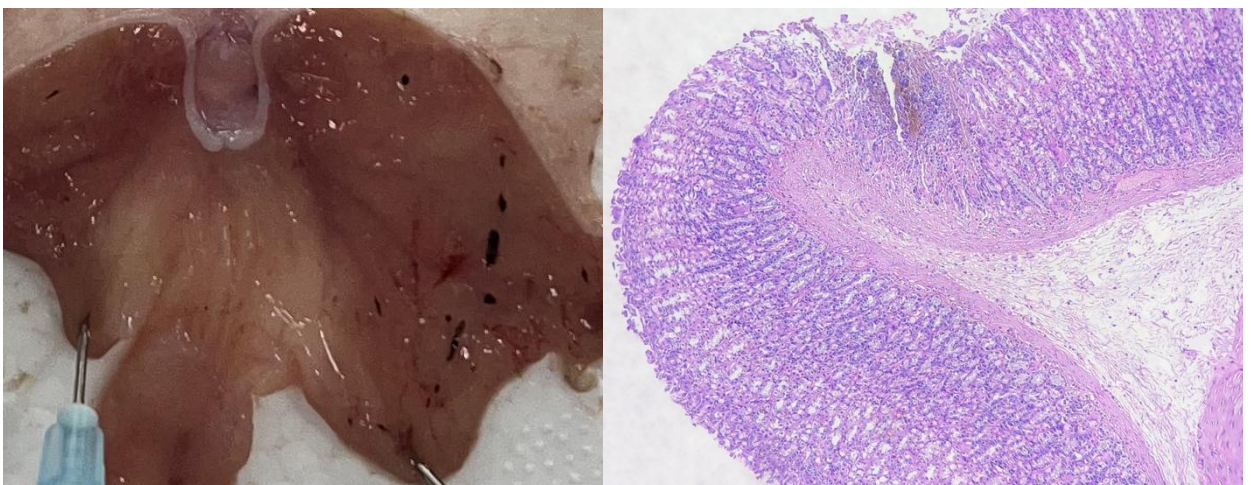
*Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trọt đến 1/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE, ×100)*





**Hình 8. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều cao (mã DD83)**

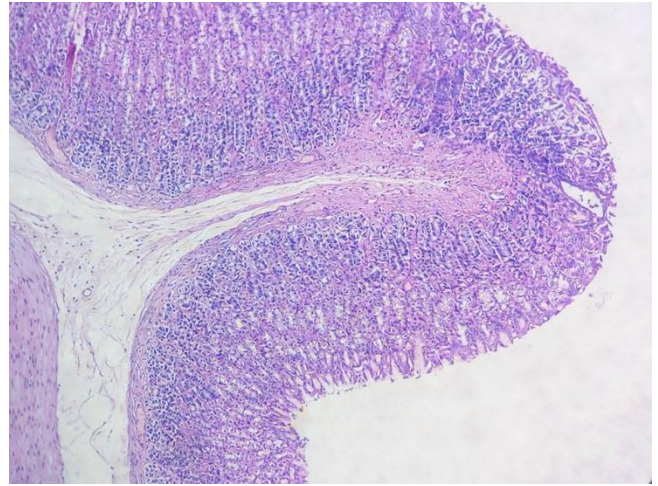
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Một số vùng có tổn thương loét hoại tử đến tầng cơ, rải rác xuất huyết nhẹ. Mô đệm phù nề, xâm nhập nhiều bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )



**Hình 9. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều cao (mã DD85)**

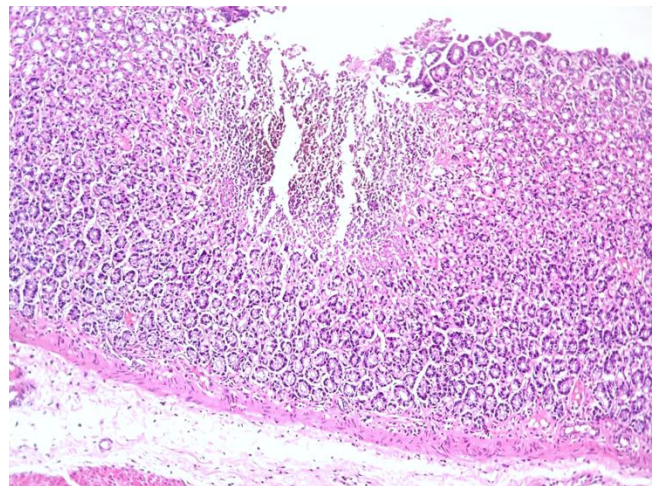
Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trợt trên 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE,  $\times 100$ )





**Hình 10. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều cao (mã DD86)**

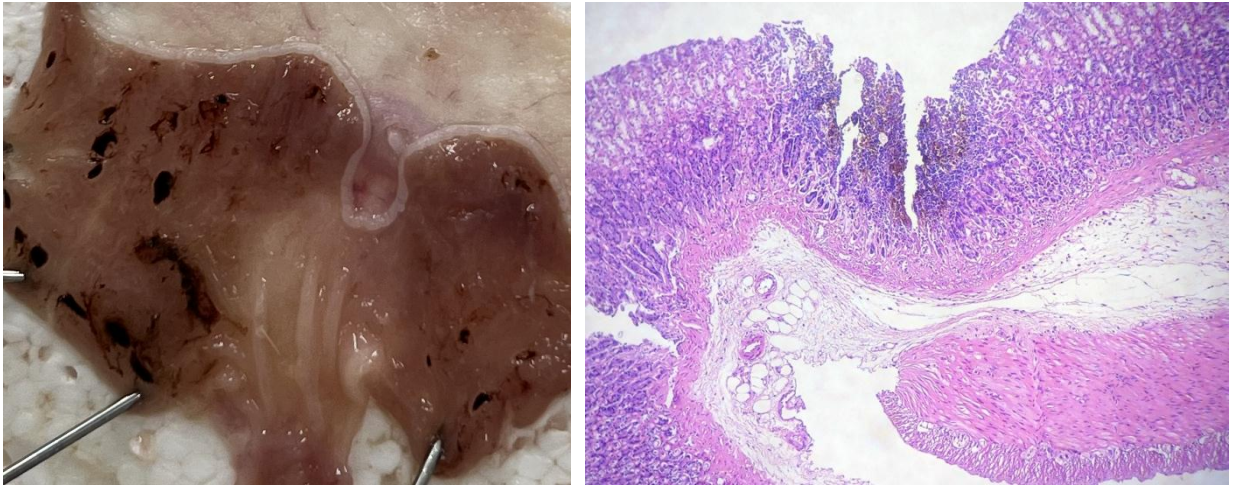
*Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trot đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE, ×100)*



**Hình 11. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều thấp (mã DD90)**

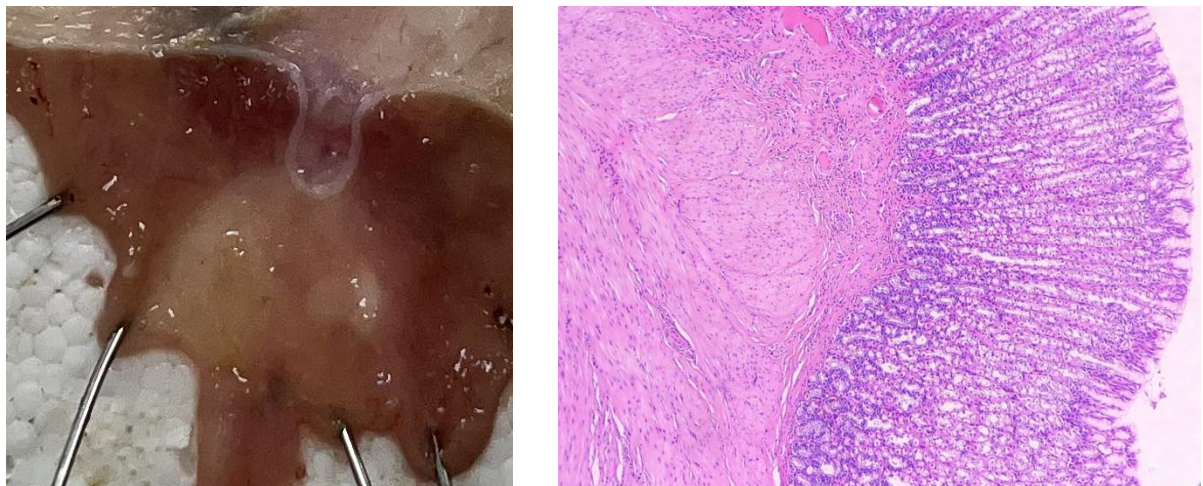
*Mảnh cắt là mô dạ dày với cấu trúc đầy đủ 4 tầng: tầng niêm mạc, tầng dưới niêm mạc, tầng cơ và tầng vỏ ngoài. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trot đến 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE, ×100)*





**Hình 12. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều thấp (mã DD98)**

*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. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trọt trên 2/3 chiều dày lớp biểu mô, một số điểm có xuất huyết nhẹ. Mô đệm xâm nhập rải rác bạch cầu hạt trung tính (HE, ×100)*



**Hình 13. Đại thể và vi thể dạ dày chuột lô MNC2 liều thấp (mã DD99)**

*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. Trên tầng niêm mạc xuất hiện rải rác điểm viêm trọt đến 1/3 chiều dày lớp biểu mô. Mô đệm phù nề xuất hiện nhiều bạch cầu hạt trung tính (HE, ×100)*

### III. KẾT LUẬN

Kết quả đánh giá tác dụng chống loét dạ dày-tá tràng của mẫu thử MNC2 ở các mức liều 180 và 360 mg cao/kg/ngày uống liên tục trong 10 ngày trên mô hình gây loét dạ dày-tá tràng ở chuột cống trắng bằng indomethacin cho thấy:

- Trên quan sát đại thể:
  - + MNC2 có xu hướng làm giảm số lượng tổn thương so với lô mô hình, tuy nhiên số tổn thương trung bình chưa có sự khác biệt so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).
  - + Các lô uống MNC2 có tỷ lệ tổn thương loét nặng (xuất huyết, loét lớn) thấp hơn so với lô mô hình.
  - + MNC2 có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống MNC2 liều cao.
- Trên quan sát vi thể: MNC2 chưa thể hiện tác dụng cải thiện mức độ một số tổn thương trên vi thể (trợt, xuất huyết, viêm) so với lô mô hình. 100% mẫu dạ dày của lô uống MNC2 liều thấp có hình ảnh tế bào bình thường, không tổn thương loét (0 điểm), tuy nhiên ở mức liều cao có ghi nhận 1/4 mẫu dạ dày có tổn thương loét sâu đến tầng cơ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ozbakiş Dengiz G, Gürsan N. Effects of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) on indomethacin-induced ulcer model in rats. *Turk J Gastroenterol.* 2008; **16(2)**:85-88
2. Indomethacin Induced Ulcers in Rats, *Drug discovery and evaluation 2008*, J.3.7.2: 1236 – 1237.
3. Anurag Mishra, Sandeep Arora, Rajiv Gupta, Manvi, Rajesh Kumar, Punia and Ashish Kumar Sharma. Effect of *Feronia elephantum* (Corr) Fruit Pulp Extrac on Indomethacin-induced Gastric Ulcer in Albino Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2009;**8(6)**:509-514.
4. Raish M, Shahid M, Bin Jordan 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.

Hà Nội, ngày 05 tháng 11 năm 2023

**TRƯỞNG BỘ MÔN DƯỢC LÝ**  
**GIÁM ĐỐC TRUNG TÂM DƯỢC LÝ LÂM SÀNG**



**PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh**