

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

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



**ĐÀO NGỌC AN**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG  
BẢO VỆ GAN CỦA “CAO LÔNG GIẢI ĐỘC  
GAN” TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC**

**HÀ NỘI, NĂM 2023**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

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



**ĐÀO NGỌC AN**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG  
BẢO VỆ GAN CỦA “CAO LÔNG GIẢI ĐỘC  
GAN” TRÊN THỰC NGHIỆM**

**Chuyên ngành: Y học cổ truyền**

**Mã số: 8720115**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học:**

- 1. TS. Nguyễn Thị Minh Thu**
- 2. TS. Phạm Thanh Tùng**

**HÀ NỘI, NĂM 2023**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Đào Ngọc An, học viên cao học khóa 14 - Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam. Tôi xin cam đoan:

1. Luận văn này do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Thị Minh Thu, TS. Phạm Thanh Tùng.
2. Nội dung của luận văn không trùng lặp với bất cứ một nghiên cứu nào khác được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu trong luận án hoàn toàn trung thực và khách quan, được xác nhận của cơ sở nghiên cứu.

*Hà Nội, ngày tháng năm 2023*

**Tác giả luận văn**

Đào Ngọc An

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin được tỏ lòng biết ơn sâu sắc, lời cảm ơn trân trọng nhất đến: Đảng uỷ, Ban Giám đốc, Phòng Đào tạo Sau đại học cùng toàn thể các thầy cô giáo - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam; Ban giám đốc, phòng Kế hoạch tổng hợp, khoa Nội tổng hợp, Khoa Dược - Bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin được tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc thầy: TS. Nguyễn Thị Minh Thu ; TS. Phạm Thanh Tùng - Những người thầy cô đã trực tiếp hướng dẫn tận tình, cung cấp cho tôi kiến thức và phương pháp luận quý báu, giúp tôi hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh và các giảng viên, kỹ thuật viên Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội đã nhiệt tình giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy, các cô trong hội đồng chấm đề cương, hội đồng đạo đức, hội đồng chuyên đề, hội đồng chấm luận văn và các nhà khoa học, đồng nghiệp đã đóng góp những ý kiến, kinh nghiệm quý báu để luận văn hoàn thiện hơn.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn người thân trong gia đình, bạn bè, đồng nghiệp đã động viên khích lệ tôi, tạo điều kiện thuận lợi, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn !

*Hà Nội, ngày      tháng      năm 2023*

**Học viên**

Đào Ngọc An

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

<b>Viết tắt</b>	<b>Tiếng Anh</b>	<b>Tiếng Việt</b>
ALT	Alanin aminotransferase	Chỉ số enzyme gan
AST	Aspartat aminotransferase	Chỉ số enzyme gan
DĐVN		Dược điển Việt Nam
GGT	Gamma Glutamyl Transferase - gamma GT	Chỉ số enzyme gan
LD50	Lethal Dose, 50%	Liều gây chết 50% số sinh vật thí nghiệm
MDA	Malonyl dialdehyd	
SD	Standard deviation	Độ lệch chuẩn
TB		Trung bình
TCCS		Tiêu chuẩn cơ sở
YHCT		Y học cổ truyền
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế thế giới

## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ</b> .....	1
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	3
<b>1.1. Tổng quan về bệnh lý viêm gan</b> .....	3
1.1.1. Viêm gan theo y học hiện đại.....	3
1.1.2. Viêm gan theo y học cổ truyền .....	8
<b>1.2. Tổng quan về một số xét nghiệm thường dùng để đánh giá chức năng gan</b> .....	11
1.2.1. Xét nghiệm đánh giá tình trạng hoại tử tế bào gan .....	12
1.2.2. Xét nghiệm đánh giá chức năng bài tiết và khử độc của gan .....	12
1.2.3. Xét nghiệm đánh giá chức năng tổng hợp của gan .....	13
1.2.4. Mô bệnh học.....	16
<b>1.3. Tổng quan về các mô hình thực nghiệm nghiên cứu gây tổn thương gan</b> .....	16
1.3.1. Gây mô hình tổn thương gan bằng CCl <sub>4</sub> .....	16
1.3.2. Gây mô hình tổn thương gan bằng paracetamol (acetaminophen).....	17
1.3.3. Gây mô hình tổn thương gan bằng D - Galactosamin .....	18
<b>1.4. Tổng quan về một số dược liệu có tác dụng bảo vệ gan</b> .....	18
<b>1.5. Tổng quan về Cao lỏng Giải độc gan</b> .....	20
1.5.1. Xuất xứ và đặc điểm của bài thuốc .....	20
1.5.2. Đặc điểm chiết xuất Cao lỏng Giải độc gan .....	20
1.5.3. Chùm ngây .....	21
1.5.4. Chó đẻ răng cưa.....	22
1.5.5. Cà gai leo.....	26
<b>CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	30

<b>2.1. Chất liệu nghiên cứu</b> .....	30
2.1.1. Chế phẩm làm nghiên cứu.....	30
2.1.2. Thuốc, hóa chất, máy móc phục vụ nghiên cứu .....	30
<b>2.2. Đối tượng nghiên cứu</b> .....	31
2.2.1. Đối tượng nghiên cứu độc tính cấp.....	31
2.2.2. Đối tượng nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan .....	31
<b>2.3. Phương pháp nghiên cứu</b> .....	31
2.3.1. Thiết kế nghiên cứu.....	31
2.3.2. Phương pháp nghiên cứu đánh giá độc tính cấp của Cao lỏng Giải độc gan .....	32
2.3.3. Phương pháp nghiên cứu đánh giá tác dụng bảo vệ gan của Cao lỏng Giải độc gan .....	33
<b>2.4. Địa điểm nghiên cứu</b> .....	34
<b>2.5. Thời gian nghiên cứu</b> .....	34
<b>2.6. Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu</b> .....	34
2.6.1. Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu độc tính cấp.....	34
2.6.2. Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan .....	34
<b>2.7. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu</b> .....	35
<b>2.8. Sai số và các không chế sai số</b> .....	35
<b>2.9. Đạo đức nghiên cứu</b> .....	35
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU</b> .....	37
<b>3.1. Kết quả đánh giá độc tính cấp của Cao lỏng Giải độc gan</b> .....	37
3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột trong vòng 72 giờ sau uống thuốc.....	37
3.1.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc .....	38
3.1.3. Kết quả theo dõi chuột sau 7 ngày uống thuốc .....	38

<b>3.2. Kết quả đánh giá tác dụng bảo vệ gan của Cao lỏng giải độc gan</b> .....	40
3.2.1. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên trọng lượng chuột .....	40
3.2.2. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ AST trong huyết thanh chuột .....	41
3.2.3. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ ALT trong huyết thanh chuột .....	42
3.2.4. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ GGT trong huyết thanh chuột .....	43
3.2.5. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên nồng độ Albumin trong huyết thanh chuột .....	44
3.2.6. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên nồng độ Bilirubin toàn phần trong huyết thanh chuột .....	45
3.2.7. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên chỉ số MDA trong gan chuột	46
3.2.8. Hình ảnh đại thể gan chuột .....	47
3.2.9. Hình ảnh vi thể gan chuột .....	51
<b>CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN</b> .....	58
<b>4.1. Về độc tính cấp của Cao lỏng Giải độc gan</b> .....	58
4.1.1. Ảnh hưởng lên tình trạng chung của chuột .....	59
4.1.2. Số chuột chết .....	59
4.1.3. Ảnh hưởng lên trọng lượng chuột .....	59
<b>4.2. Về tác dụng bảo vệ gan của Cao lỏng Giải độc gan</b> .....	60
4.2.1. Cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g/kg .....	60
4.2.2. Cao lỏng Giải độc gan liều 24,3g/kg .....	63
<b>KẾT LUẬN</b> .....	65
<b>KIẾN NGHỊ</b> .....	66
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Bảng điểm đánh giá tổn thương vi thể gan chuột.....	33
Bảng 3.1. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc.....	38
Bảng 3.2. Kết quả theo dõi trọng lượng của chuột sau 7 ngày dùng thuốc .....	39
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của cao lỏng lên trọng lượng gan chuột .....	40
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ AST trong huyết thanh chuột .....	41
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ ALT trong huyết thanh chuột .....	42
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ GGT trong huyết thanh chuột .....	43
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên nồng độ Albumin trong huyết thanh chuột .....	44
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên nồng độ Bilirubin toàn phần trong huyết thanh chuột.....	45
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên chỉ số MDA trong gan chuột .....	46
Bảng 3.10. Hình ảnh đại thể gan chuột sau 8 ngày uống thuốc thử .....	47
Bảng 3.11. Hình ảnh vi thể gan chuột sau 10 ngày uống thuốc thử .....	51

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Hình ảnh sản phẩm cao lỏng .....	21
Hình 1.2. Chùm ngây .....	21
Hình 1.3. Chó đẻ răng cưa .....	24
Hình 1.4. Cà gai leo .....	27
Hình 3.1. Mỏ chuột lô 4 sau 7 ngày uống thuốc .....	40
Hình 3.2. Hình ảnh đại thể gan chuột lô chứng sinh học .....	49
Hình 3.3. Hình ảnh đại thể gan chuột lô mô hình .....	49
Hình 3.4. Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống Legalon .....	50
Hình 3.5. Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống Cao lỏng liều 8,1g/kg .....	50
Hình 3.6. Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống Cao lỏng liều 24,3g/kg .....	51
Hình 3.7. Hình thái vi thể gan chuột lô chứng .....	52
Hình 3.8. Hình thái vi thể gan chuột lô chứng sinh học .....	53
Hình 3.9. Hình thái vi thể gan chuột lô mô hình (chuột số 13) .....	54
Hình 3.10. Hình thái vi thể gan chuột lô mô hình (chuột số 14) .....	54
Hình 3.11. Hình thái vi thể gan chuột lô mô hình Silymarin (chuột số 26) .....	55
Hình 3.12. Hình thái vi thể gan chuột lô mô hình Silymarin (chuột số 27) .....	56
Hình 3.13. Hình ảnh vi thể gan chuột lô uống Cao lỏng liều 8,1g/kg (chuột số 39) .....	56
Hình 3.14. Hình ảnh vi thể gan chuột lô uống Cao lỏng liều 8,1g/kg (chuột số 41) .....	57
Hình 3.15. Hình ảnh vi thể gan chuột lô uống Cao lỏng liều 24,3g/kg (chuột số 30) .....	58

Hình 3.16. Hình ảnh vi thể gan chuột lô uống Cao lỏng liều 24,3g/kg ( chuột số 32 ) ..... 58

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Gan là cơ quan lớn nhất của cơ thể, đảm nhận nhiều chức năng quan trọng và phức tạp, trong đó chức năng đặc thù và quan trọng nhất của gan là khử độc và chuyển hoá các chất, cơ quan chính biến đổi các chất độc nội hoặc ngoại sinh thành các chất không độc để đào thải ra ngoài. Có thể nói gan là cơ quan bảo vệ cơ thể, giúp cơ thể loại các chất độc trong cơ thể [11]. Để có thể làm tốt nhiệm vụ, các tế bào gan có khả năng phục hồi rất cao và nhanh, tuy nhiên do làm nhiệm vụ khử độc, gan cũng là nơi dễ bị nhiễm độc nhất.

Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) Việt Nam có tỷ lệ mắc ung thư gan theo giới tính nam cao thứ 3 thế giới, chỉ đứng sau Mông Cổ và Lào. Tại Việt Nam, ung thư gan đứng đầu trong các loại ung thư phổ biến nhất ở nam giới và thứ 5 ở nữ giới với số mắc năm 2018 là 25.335 ca. Tỷ lệ mắc ở nam giới nước ta là 39/100.000 dân, trong khi nữ giới là 9,5/100.000 dân. Tỷ lệ mắc bệnh là 23,2 trên 100.000 người ở cả hai giới [12].

Các nguyên nhân gây ra bệnh lý tại gan như vi khuẩn, virus, kí sinh trùng, rượu, thuốc hoặc hoá chất độc khi xâm nhập vào gan có thể gây viêm gan cấp, viêm gan mạn, có thể tiến triển tới xơ gan hoặc ung thư gan [11].

Hiện nay, viêm gan do virus có thể điều trị bằng thuốc kháng virus như interferon, lamivudin..., tuy nhiên những thuốc này có giá thành cao, nhiều tác dụng không mong muốn và hiện nay đã xuất hiện dòng virus đột biến kháng thuốc. Viêm gan do thuốc, hóa chất hiện chưa có thuốc điều trị đặc hiệu, những bệnh nhân này chủ yếu được điều trị bằng các thuốc bảo vệ gan và làm tăng phục hồi tổn thương tế bào gan. Một số thuốc bảo vệ gan được nhập vào Việt Nam như silymarin (Legalon), biphenyl dimethyl dicarboxylat (Fortex)... có tác dụng tương đối tốt song giá thành tương đối cao, không phù hợp với điều kiện kinh tế của đa số người bệnh khi phải dùng thuốc dài ngày.

Việt Nam là nước có nguồn dược liệu phong phú và đa dạng, trong đó có nhiều dược liệu được dùng để chữa bệnh gan mật như: nhân trần, sài đất, actiso, diệp hạ châu, cà gai leo...việc góp phần tìm kiếm và bổ sung thêm các dược liệu có tác dụng bảo vệ gan sẵn có trong tự nhiên là hết sức cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn.

Ở Việt Nam và trên thế giới đã có những nghiên cứu về tác dụng giải độc, bảo vệ gan và chống oxy hóa của thành phần chiết xuất từ dược liệu, tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng giải độc khi phối hợp cây chùm ngây, chó đẻ răng cưa, cà gai leo. Sản phẩm “ Cao lỏng Giải độc gan” được chiết xuất từ cây chùm ngây, chó đẻ răng cưa và cà gai leo của bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên có tác dụng bảo vệ gan được ra đời. Tuy nhiên, bằng chứng khoa học về độc tính cấp, tác dụng bảo vệ gan của sản phẩm vẫn chưa được làm rõ. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài: **“Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng bảo vệ gan của ‘Cao lỏng Giải độc gan’ trên thực nghiệm”** với 2 mục tiêu nhằm giải quyết vấn đề trên :

- 1. Đánh giá độc tính cấp của “ Cao lỏng Giải độc gan” trên thực nghiệm**
- 2. Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của “ Cao lỏng Giải độc gan” trên mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol ở chuột nhắt trắng**

## Chương 1

### TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

#### 1.1. Tổng quan về bệnh lý viêm gan

##### 1.1.1. Viêm gan theo y học hiện đại

###### 1.1.1.1. Khái niệm

Viêm gan là bệnh lý thường gặp trong các bệnh về gan mật. Dựa vào tiến triển của bệnh, viêm gan được chia làm hai loại: viêm gan cấp và viêm gan mạn [11].

Viêm gan cấp: là tổn thương tại gan với sự có mặt của các tế bào viêm trong mô gan dưới 6 tháng. Hoặc dựa vào các tổn thương giải phẫu bệnh lý: có các hoại tử ở trung tâm tiểu thùy.

Viêm gan mạn: Khi đã có những tổn thương với tế bào viêm ở gan trên 6 tháng. Giải phẫu bệnh lý: có những tổn thương hoại tử ở xung quanh tiểu thùy, có thể kèm theo xơ hoá.

Tuy nhiên không phải lúc nào sự phân loại về mặt giải phẫu và thời gian cũng trùng nhau. Nếu hình ảnh giải phẫu giống bệnh viêm gan cấp nhưng thời gian tiến triển của bệnh trên 6 tháng vẫn được xếp là viêm gan mạn. Hoặc nếu thời gian tiến triển của bệnh dưới 6 tháng nhưng hình ảnh giải phẫu giống viêm gan mạn, thì vẫn được xếp là viêm gan mạn.

###### 1.1.1.2. Nguyên nhân

Có nhiều nguyên nhân gây ra viêm gan, ta có thể xếp loại nguyên nhân như sau:

- Do virus: Virus viêm gan A, B, C, D, E;
- Do vi khuẩn hoặc ký sinh trùng: Leptospirose, thương hàn, sốt Q, bệnh amip, bệnh Samonella;

- Viêm gan do nhiễm độc thuốc, hóa chất;
- Viêm gan do rượu;
- Viêm gan do thiếu oxy: Thắt động mạch gan, hội chứng Budd Chiari, suy tuần hoàn gan (do suy tim);
- Viêm gan do chuyển hóa: Viêm gan ở người có thai, bệnh Wilson, hemosidero- hemosiderinosis.

Trong các nhóm nguyên nhân trên thì viêm gan do virus, do rượu và viêm gan do ngộ độc thuốc – hóa chất (đặc biệt là viêm gan do PAR) là nhóm nguyên nhân hay gặp nhất [17].

### **1.1.1.3. Cơ chế bệnh sinh**

\* Cơ chế bệnh sinh của viêm gan do rượu: Trong cơ thể, gan là cơ quan chuyển hóa rượu quan trọng nhất. Trên 90% lượng rượu hấp thu vào cơ thể sẽ được chuyển hóa tại gan. Phần còn lại sẽ được thải ra ngoài qua phổi và thận [33]. Phần lớn rượu được chuyển hóa tại gan theo hai giai đoạn:

Giai đoạn 1: Chuyển hóa rượu thành acetaldehyd được thực hiện bởi ba hệ thống enzym: (1) Alcohol dehydrogenase (ADH) có sự tham gia của coenzym NAD nằm trong bào tương; (2) hệ thống oxy hóa rượu ở micrososome (Microsomal Ethanol Oxidating System – MEOS) và (3) các men catalase.

Giai đoạn 2: Acetaldehyd được hình thành là một chất độc, sẽ nhanh chóng được enzym acetaldehyd dehydrogenase 2 (ALDH2) chuyển thành acetat. Như vậy ethanol được chuyển hoá chủ yếu nhờ enzym alcohol dehydrogenase (ADH) và enzym acetaldehyd dehydrogenase 2 (ALDH2) [33],[37].

Ở những người uống một lượng lớn rượu thì đầu tiên khi nồng độ cồn trong máu cao, hệ thống MEOS sẽ hoạt động. Hệ thống enzym này được tìm thấy ở màng của mạng lưới nội bào tương. Enzym quan trọng nhất của hệ

thống này là cytochrom P450 bởi enzym này không chỉ có vai trò trung tâm trong chuyển hóa rượu mà còn tham gia vào việc giáng hóa rất nhiều chất của chính cơ thể cũng như chất lạ từ bên ngoài vào. Cytochrom P450 2E1 (CYP 2E1), một dưới typ của cytochrom P450, có vai trò quan trọng nhất trong chuyển hóa alcohol thành acetaldehyd. Trong 50 năm kể từ khi được tác giả Charles Lieber (1968) phát hiện, các nhà khoa học đã chứng minh rằng việc sử dụng thường xuyên thức uống có cồn sẽ gây cảm ứng làm tăng hoạt độ hệ thống enzym này lên 10 lần. Một đặc điểm cực kỳ quan trọng là phản ứng giáng hóa này sẽ giải phóng ra các gốc oxy tự do hoạt động (ROS) và gây ra stress oxy hóa dẫn đến tổn thương tế bào gan [51].

Việc thường xuyên sử dụng một lượng lớn alcohol sẽ làm tăng hoạt động của hai enzym khác nữa tham gia vào quá trình chuyển acetaldehyd thành acetate. Đó là các enzym xanthinoxidase và aldehydoxidase. Thông qua hoạt động của hai enzym này, thêm một lượng lớn các gốc tự do gây độc được giải phóng, góp phần tạo nên những tổn thương gan do rượu [51].

\* Cơ chế bệnh sinh của viêm gan do thuốc và hóa chất: Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về tổn thương gan do thuốc nhưng cơ chế của hầu hết các loại thuốc vẫn chưa được biết rõ [49]. Một loại thuốc có thể có nhiều cơ chế khác nhau gây tổn thương gan. Nhìn chung, tổn thương gan do thuốc được chia chủ yếu theo 2 cơ chế chính sau:

- Tổn thương gan do phản ứng đặc ứng (dị ứng đặc biệt ở từng bệnh nhân): Trong đó thuốc gây ra một đáp ứng miễn dịch chống lại gan [49]. Các đặc điểm chính của loại tổn thương này bao gồm: phản ứng không phụ thuộc liều, phản ứng liên quan đến các biểu hiện quá mẫn (sốt, ớn lạnh, phát ban da, tăng bạch cầu ưa acid), phản ứng có thời gian tiềm tàng (khoảng thời gian từ khi bắt đầu dùng thuốc đến khi khởi phát tổn thương gan), thời gian tiềm tàng



khi tái sử dụng thuốc ngắn hơn khi sử dụng thuốc lần đầu và thỉnh thoảng có sự xuất hiện của các kháng thể tự miễn trong huyết thanh [38], [49]. Các kháng thể tự miễn đã được tìm thấy trong các trường hợp viêm gan gây ra bởi halothan, acid tienilic, dihydralazin, thuốc chống co giật, papaverin và nitrofurantoin [38], [49].

- Tổn thương gan do quá liều: một số thuốc được biết chắc là khi dùng liều cao, kéo dài hoặc khi sử dụng chung với một số thuốc khác sẽ gây tương tác thuốc do các thuốc này làm ảnh hưởng đến chức năng chuyển hóa, giải độc của gan như thuốc giảm đau hạ sốt (paracetamol), thuốc kháng lao...[49].

Các hình thức gây tổn thương tế bào gan: Ít nhất 6 hình thức gây tổn thương gan đã được nhận diện:

1. Thay đổi nội môi calci trong tế bào dẫn tới tách rời hoạt động của các sợi actin trên bề mặt tế bào gan, màng tế bào bị vỡ dẫn tới hiện tượng tiêu tế bào;

2. Sự gãy vỡ sợi actin có thể xuất hiện ở gần các kênh (canaliculus), phần đặc biệt của tế bào gan đảm trách bài tiết mật. Mất quá trình tạo nhung mao và ngừng bơm vận chuyển như MRP3 (multidrug-resistance-associated protein-3) giúp ngăn ngừa bài tiết bilirubin và các phức hợp hữu cơ khác;

3. Nhiều phản ứng của tế bào gan kéo theo hệ cytochrom P-450 chứa hem, sản sinh phản ứng năng lượng cao dẫn tới gắn đồng hóa trị thuốc với enzym, tạo nên các phức hợp mới không có chức năng;

4. Các phức hợp thuốc - enzym di trú lên bề mặt tế bào trong các bọc nhỏ tác động giống như kháng nguyên đích của tế bào T đến tấn công ly giải, kích thích nhiều dạng đáp ứng miễn dịch (tế bào T và các cytokin);

5. Hoạt hóa con đường chết theo chương trình thông qua receptor TNF- $\alpha$  hoặc Fas dẫn tới chết tế bào theo chương trình;

6. Một số thuốc ức chế chức năng ty thể bằng tác động kép lên quá trình p-oxy hóa (tác động sản sinh năng lượng bằng ức chế tổng hợp NAD và FAD, gây giảm sản sinh ATP) và các enzym trong chuỗi hô hấp tế bào. Các acid béo tự do không được chuyển hóa và thiếu hô hấp yếm khí dẫn tới tích tụ lactat và các gốc tự do. Các gốc ROS có thể làm đứt gãy các DNA của ty thể. Kiểu tổn thương này là đặc trưng của nhiều tác nhân khác nhau bao gồm cả các chất ức chế sao chép ngược nucleosid (nucleoside reverse-transcriptase inhibitors) - gắn trực tiếp vào DNA của ty thể như acid valproic, tetracyclin và aspirin [59].

\* Vai trò của các gốc tự do trong cơ chế bệnh sinh của tổn thương gan:

- Hầu hết cơ chế bệnh sinh bệnh gan do các nguyên nhân khác nhau đều liên quan đến sự phát sinh của các gốc tự do độc hại trong cơ thể. Gốc tự do độc hại đã được chứng minh có vai trò trong một loạt các bệnh lý của các cơ quan trong cơ thể [34],[50],[52].

- Gốc tự do có thể là nguyên tử, phân tử, các ion (anion và cation) mà lớp điện tử ngoài cùng có chứa điện tử không cặp đôi (điện tử cô độc hoặc hóa trị tự do). Số lượng điện tử không cặp đôi có thể là một hoặc nhiều. Gốc tự do có thể là nguyên tử ( $\text{Cl}\cdot$ ,  $\text{O}_2\cdot^-$ ), là nhóm nguyên tử ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{OH}$ ), là phân tử ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}$ ) [13],[45].

- Hầu như tất cả các trạng thái bệnh lý quan trọng đều do ROS gây ra, bao gồm gốc hydroxyl, gốc superoxid anion, hydro peroxid, hypochlorit, oxy đơn bội, gốc oxid nitric và gốc peroxyinitrit [13].

- Các gốc tự do có thể có nguồn gốc nội sinh hoặc ngoại sinh. Trong cơ thể luôn có sự cân bằng nội môi giữa ROS và các chất chống oxy hóa. Khi cơ thể nhiễm chất độc, stress tâm lý, viêm, nhiễm khuẩn... làm tăng cao số lượng các ROS trong cơ thể dẫn đến sự mất cân bằng giữa các chất chống oxy hóa

với các ROS gọi là stress oxy hóa [18],[41].

- Các gốc tự do này có thể tác động tới màng hoặc nhân tế bào, gây ra các phản ứng sinh học có hại cho phân tử DNA, protein, carbohydrat và lipid [39]. Các gốc tự do tấn công các đại phân tử quan trọng dẫn đến tổn thương tế bào và phá vỡ cân bằng nội môi gây ra chết tế bào [57].

### ***1.1.2. Viêm gan theo y học cổ truyền***

#### ***1.1.2.1. Đại cương theo y học cổ truyền***

Khái niệm: Bệnh viêm gan được miêu tả trong chứng hoàng đản hiệp thống của y học cổ truyền [31].

Trên lâm sàng được chia làm 2 thể là cấp tính và mạn tính. Thể cấp tính do thấp nhiệt gây ra, thuộc phạm vi chứng dương hoàng (nếu có hoàng đản); thể mạn tính do sự giảm sút công năng của các tạng can, tỳ thuộc phạm vi chứng âm hoàng (nếu có vàng da kéo dài).

Viêm gan mạn tính thường xảy ra sau khi mắc các bệnh viêm gan cấp (viêm gan virus hay viêm gan nhiễm độc), sau khi mắc bệnh sốt rét hoặc suy dinh dưỡng kéo dài.

Trong các y văn cổ của Y học cổ truyền không có bệnh danh xơ gan. Nhưng qua các biểu hiện triệu chứng lâm sàng thường thấy triệu chứng của bệnh này như ăn kém, đau hạ sườn phải, gan to, lách to, vàng da, vàng mắt... thì bệnh được xếp vào phạm vi các chứng “hiệp thống”, “hoàng đản”, “tích tụ”.

#### ***Chứng hoàng đản***

Trong “Hoàng đế nội kinh”- Một bộ sách kinh điển nhất của Y học Trung hoa vào thế kỷ thứ VIII trước công nguyên ở chương “Bình nhân khí tượng luận” đã mô tả chứng bệnh có biểu hiện vàng da, vàng mắt, tiểu tiện vàng... trên lâm sàng và gọi đó là hoàng đản. Ngoài ra tập sách cũng đã đề cập tới những nguyên nhân gây bệnh từ sự thay đổi của môi trường bên ngoài

như: Thử, Thấp, Nhiệt... kết hợp với sự suy yếu chức năng của các nội tạng bên trong mà phát bệnh. Đến thời Hán ở Trung quốc vào thế kỷ thứ II – III sau công nguyên trong bộ sách “Kim quỹ yếu lược” đã phân Hoàng đản ra thành 5 loại: Hoàng đản, Cốc đản, Tửu đản, Nữ lao đản và Hắc đản, cũng như các phương pháp điều trị tương ứng như thanh nhiệt trừ thấp, thẩm thấp lợi tiểu thoái hoàng... với các bài thuốc cổ phương điều trị có hiệu quả như “Nhân trần cao thang”, “Nhân trần ngũ linh tán” ... vẫn còn nguyên giá trị đến ngày nay và được các thầy thuốc YHCT sử dụng có hiệu quả trên lâm sàng. Ở Việt Nam thế kỷ thứ XIV danh y Tuệ Tĩnh cũng phân Hoàng đản ra thành 5 loại, nhưng lấy Hoàng đản thay Hắc đản và ông cũng đưa ra một số vị thuốc để điều trị như Chi tử, ý dĩ, Hoàng cầm... trong bộ sách “Nam dược thần hiệu” của mình.

*Chứng hiệp thống:*

Là những biểu hiện đau tức nặng vùng hạ sườn phải, một dấu hiệu cơ năng thường gặp trong các bệnh lý gan mật như viêm gan mạn tính, xơ gan...Chứng hiệp thống: với giải nghĩa theo từ Hán Việt: “Hiệp” là vùng mạng sườn và “Thống” là đau: hiệp thống là đau vùng mạng sườn. Trong sách “Linh khu” - một trong những bộ sách kinh điển của YHCT ra đời trước công nguyên ở Trung quốc trong thiên “Ngũ tà” có viết: Tà ở can thì mạng sườn đau, vì mạng sườn có đường đi của can kinh.

*Chứng tích tụ:*

Trong Y học hiện đại một trong những triệu chứng lâm sàng thường gặp của xơ gan là thấy gan lách to. Trong Y học cổ truyền thuộc vào chứng “Tích tụ”. Trong sách Nội kinh nói “Tà khí lưu đọng, tích tụ hình thành”. Ngay từ thời xa xưa các nhà y học cũng nhận thấy rằng sự hình thành tích tụ là do tà khí lưu trệ, khí huyết không thông mà gây ra. Sách Nạn kinh phân

biệt giữa tích và tụ một cách tương đối “tích là do ngũ tạng sinh ra, tụ là do lục phủ sinh thành, tích là âm khí tụ là dương khí..”. Trong sách Kim quỹ yếu lược đã có những lý luận sâu về nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh và điều trị chứng tích tụ.

#### **1.1.2.2. Thể khí trệ**

**Triệu chứng lâm sàng :** Đau tức nặng ở vùng hạ sườn phải, mỗi khi tinh thần bị kích động tức giận thì đau tăng. Ăn uống kém, miệng đắng, người mệt mỏi, khi gắng sức thì nước tiểu vàng, chất lưỡi bình thường, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch huyền.

**Pháp điều trị :** Sơ can lý khí, kiện tỳ

**Bài thuốc :**

Sài hồ sơ can thang gia vị bao gồm các vị thuốc : Sài hồ 12 gam, Hương phụ 8 gam, Bạch thược 16 gam, Hoài sơn 12 gam, Cam thảo 6 gam, Chỉ xác 10 gam, Liên nhục 16 gam. Tất cả làm thang, sắc uống ngày 01 thang chia 2 lần

**Gia giảm:** Đau tức mạng sườn nhiều thêm Thanh bì, Bạch giới tử. Khí uất hóa hỏa gây cảm giác nóng rát, mạch huyền sắc gia Đan bì, Chi tử. Buồn nôn gia thêm Bán hạ, Sinh khương [18].

#### **1.1.2.3. Thể huyết ứ**

**Triệu chứng lâm sàng:** Đau như kim châm ở vùng hạ sườn phải, đau thường cố định, không di chuyển, về đêm đau tăng lên, đôi khi sờ thấy một khối rắn ở hạ sườn phải, chất lưỡi tím sẫm, mạch trầm sáp.

**Pháp điều trị:** Hoạt huyết khứ ứ

**Bài thuốc:**

Huyết phủ trục ứ thang bao gồm các vị thuốc: Đương quy 16 gam Hồng hoa 8 gam, Chỉ xác 10 gam, Sinh địa 12 gam, Cam thảo 6 gam, Sài hồ 10 gam, Đào nhân 8 gam, Cát cánh 10 gam, Ngưu tất 12 gam, Xích thược 12 gam,

Xuyên khung 8 gam. Tất cả làm thang, sắc uống ngày 01 thang chia 2 lần.

**Gia giảm:** Xuất huyết gia thêm Tam thất. Huyết ứ nặng gây ra gan to lách to đau nhiều nhưng thể trạng bệnh nhân còn tốt gia thêm: Tam lăng, Nga truật, Xuyên sơn giáp.

#### **1.1.2.4. Thể can đởm thấp nhiệt**

**Triệu chứng lâm sàng:** Đau tức ở vùng hạ sườn phải, miệng đắng, ngực có cảm giác đầy tức, ăn kém, không muốn ăn, đôi khi có cảm giác buồn nôn, nôn, củng mạc mắt vàng, da vàng, có thể kèm theo sốt, đại tiện táo, nước tiểu vàng, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng nhớt, mạch huyền sắc.

**Pháp điều trị:** Thanh nhiệt lợi thấp thoái hoàng

#### **Bài thuốc:**

Nhân trần ngũ linh tán gia giảm bao gồm các vị thuốc Nhân trần 16 gam Phục linh 16 gam, Trạch tả 12 gam, Đẳng sâm 16 gam, Bạch truật 16 gam, Trư linh 12 gam, Xa tiền tử 12 gam, Ý dĩ 16 gam. Tất cả làm thang, sắc uống ngày 01 thang chia 2 lần.

**Gia giảm:** Nếu đại tiện táo, bụng chướng đầy gia Đại hoàng, Mang tiêu. Sốt cao gia Hoàng bá Chi tử.

#### **1.1.2.5. Thể âm hư nội nhiệt**

**Triệu chứng lâm sàng:** Đau tức vùng hạ sườn phải, miệng đắng, miệng khô, họng khô, đại tiện táo, nước tiểu vàng, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi hơi vàng, mạch huyền tế.

**Pháp điều trị:** Tư âm dưỡng can

#### **Bài thuốc:**

Nhất quán tiền gia giảm bao gồm các vị thuốc: Sa sâm 16 gam Kỷ tử 12 gam, Sinh địa 12 gam, Bạch thược 12 gam, Đương quy 12 gam, Mạch môn 12 gam, Xa tiền tử 12 gam, Hà thủ ô 16 gam. Tất cả làm thang, sắc uống ngày

01 thang chia 2 lần

Gia giảm: Nội nhiệt mạnh gây miệng khô đắng, chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng nhòn gia Nữ trinh tử, Phục linh [18].

## **1.2. Tổng quan về một số xét nghiệm thường dùng để đánh giá chức năng gan**

### ***1.2.1. Xét nghiệm đánh giá tình trạng hoại tử tế bào gan***

Khi tế bào gan bị tổn thương, một số enzym có nhiều trong gan sẽ được giải phóng vào máu, do vậy để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, người ta thường định lượng các enzym có nguồn gốc ở gan trong máu và thăm dò hình thái mô bệnh học của gan [24].

Trên lâm sàng, để thăm dò sự huỷ hoại tế bào gan, thường xác định hoạt độ các enzym transaminase trong huyết thanh. Transaminase hay aminotransferase là những enzym nội bào, sự tăng của các enzym này phản ánh tình trạng tổn thương tế bào gan, vì khi gan bị tổn thương, các enzym này thường thay đổi sớm nhất và có tính chất đặc trưng. Có hai loại enzym được chú ý nhất là AST và ALT.

#### ***1.2.1.1. AST (aspartat aminotransferase)***

Enzym này cư trú trong bào tương và ty thể của tế bào. AST hiện diện ở cơ tim và cơ vân nhiều hơn ở gan. Ngoài ra, AST còn có ở thận, não, tụy, phổi, bạch cầu và hồng cầu. Bình thường AST < 40 UI/L [17], [24].

#### ***1.2.1.2. ALT (alanin aminotransferase)***

Là enzym chỉ cư trú ở bào tương, hiện diện chủ yếu ở bào tương của tế bào gan cho nên sự tăng ALT nhạy và đặc hiệu hơn AST trong các bệnh gan. Bình thường ALT < 40 UI/L [17], [24].

Thông qua hoạt độ AST và ALT trong huyết thanh có thể đánh giá được mức độ tổn thương tế bào gan, nếu hoạt độ ALT tăng cao hơn AST, tổn

thương ở mức tế bào là chủ yếu. Khi hoạt độ AST tăng cao thì ngược lại, tế bào gan đã bị tổn thương ở mức dưới tế bào, vào tới ty thể. Chỉ số De Ritis (AST/ALT) cho ta biết tổn thương ở mức tế bào hoặc dưới tế bào, Tỷ số này  $> 1$  gặp trong các tổn thương gan mạn tính như xơ gan hoặc nếu AST/ALT  $> 2$  rất gợi ý đến tổn thương gan do rượu vì lúc đó ALT thường thấp. Khi AST/ALT  $> 4$  gợi ý đến viêm gan bùng phát do bệnh Wilson. Khi AST/ALT  $< 1$  thường gặp trong hoại tử tế bào gan cấp như trong viêm gan virus cấp [3], [24], [36].

Viêm gan virus cấp: AST, ALT đều tăng rất cao so với bình thường (có thể  $> 1000\text{U/l}$ ), nhưng mức độ tăng của ALT cao hơn so với AST, tăng sớm trước khi có vàng da, ở tuần đầu vàng da (tăng kéo dài trong viêm gan mạn tiến triển). Hoạt độ AST, ALT tăng hơn 10 lần, điều đó cho biết tế bào nhu mô gan bị hủy hoại mạnh.

AST tăng  $> 10$  lần bình thường cho biết tế bào nhu mô gan bị tổn thương cấp tính. Nếu tăng ít hơn thì có thể xảy ra với các dạng chấn thương gan khác. AST, ALT tăng cao nhất ở 2 tuần đầu rồi giảm dần sau 7 - 8 tuần.

Viêm gan do nhiễm độc: AST, ALT đều tăng nhưng chủ yếu tăng ALT, có thể tăng gấp 100 lần so với bình thường. Đặc biệt tăng rất cao trong nhiễm độc rượu cấp có mê sảng, nhiễm độc tetrachlorua carbon ( $\text{CCl}_4$ ), morphin hoặc nhiễm độc chất độc hóa học... Tỷ lệ AST/ALT  $> 1$ , với AST tăng khoảng 7 - 8 lần so với bình thường, thường gặp ở người bị bệnh gan và viêm gan do rượu.

Viêm gan mạn, xơ gan do rượu và các nguyên nhân khác: AST tăng từ 2 - 5 lần, ALT tăng ít hơn, mức độ tăng AST nhiều hơn so với ALT [17], [24].

## ***1.2.2. Xét nghiệm đánh giá chức năng bài tiết và khử độc của gan***

### ***1.2.2.1. Bilirubin huyết thanh***



Bilirubin là sản phẩm chuyển hóa của hemoglobin và các enzym có chứa hem. 95% bilirubin được tạo ra từ sự thoái biến của hồng cầu. Bilirubin gồm hai thành phần là bilirubin gián tiếp (GT) và bilirubin trực tiếp (TT). Bilirubin GT còn được gọi là bilirubin tự do, tan trong mỡ, gắn kết với albumin huyết tương nên không được lọc qua cầu thận. Khi đến gan, bilirubin GT được liên hợp với acid glucuronic để trở thành bilirubin TT. Bilirubin này còn được gọi là bilirubin liên hợp, tan được trong nước và được bài tiết chủ động vào các tiểu quản mật [17], [24].

#### ***1.2.2.2. GGT (Gamma Glutamyl Transferase - gamma GT)***

GGT có thể được coi là enzym đầu tiên chịu tác động một khi xảy ra các bệnh lý gan và đường mật. Đây là một xét nghiệm rất nhạy để đánh giá rối loạn chức năng bài tiết của gan nhưng cũng không đặc hiệu do bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố.

Trong trường hợp viêm gan, xơ gan do rượu, viêm gan nhiễm trùng, viêm gan mãn tính, áp xe gan, kén sỏi lá gan, tăng lipid máu, xơ gan do mật tiên phát, viêm đường mật xơ hóa, sỏi mật, ung thư biểu mô đường mật... GGT tăng cao hơn bình thường. Nguyên nhân thường gặp nhất của tăng GGT đơn thuần là tình trạng nghiện rượu mạn tính, tắc mật, sau uống một số thuốc gây cảm ứng enzym ở gan (acetaminophen, phenytoin) và một số trường hợp gan nhiễm mỡ không do rượu [17], [24].

#### ***1.2.3. Xét nghiệm đánh giá chức năng tổng hợp của gan***

##### ***1.2.3.1. Albumin huyết thanh***

Gan là nơi duy nhất tổng hợp albumin cho cơ thể. Albumin duy trì áp lực keo trong lòng mạch và là chất vận chuyển các chất trong máu đặc biệt là thuốc. Bình thường albumin 35 -55 g/L. Do khả năng dự trữ của gan rất lớn và thời gian bán hủy của albumin kéo dài (khoảng 3 tuần) nên lượng albumin

máu chỉ giảm trong các bệnh gan mạn tính ( xơ gan) hoặc khi tổn thương gan rất nặng. Ở bệnh nhân xơ gan cổ trướng, lượng albumin giảm còn do bị thoát vào trong dịch báng [17], [24].

### **1.2.3.2. Globulin huyết thanh**

Được sản xuất từ nhiều nơi khác nhau trong cơ thể, gồm nhiều loại protein vận chuyển các chất trong máu và các kháng thể tham gia hệ thống miễn dịch thể dịch.

Trong xơ gan, globulin tăng cao. Ngoài ra, kiểu tăng của các loại globulin cũng có thể gợi ý đến một số bệnh gan đặc biệt, ví dụ IgG tăng trong viêm gan tự miễn, IgM tăng trong xơ gan ứ mật nguyên phát [17], [24].

### **1.2.3.3. Các yếu tố đông máu**

Xơ gan dẫn tới sự rối loạn của các yếu tố đông - cầm máu:

\* Rối loạn cầm máu ở bệnh nhân xơ gan: Giảm số lượng tiểu cầu, giảm chất lượng tiểu cầu.

\* Rối loạn đông máu ở bệnh nhân xơ gan

Giảm các yếu tố đông máu phụ thuộc vitamin K: Bao gồm các yếu tố II, VII, IX, X và 2 chất ức chế đông máu là protein C và protein S thuộc nhóm các protein phụ thuộc vitamin K

Giảm các yếu tố đông máu không phụ thuộc vitamin K: Gan tổng hợp một số yếu tố đông máu không phụ thuộc vitamin K: yếu tố V, yếu tố I cũng giảm rõ rệt nhưng không thường xuyên trừ khi có đông máu rải rác trong lòng mạch.

Giảm fibrinogen còn do tiêu thụ nhiều vào quá trình đông máu và tiêu fibrin thứ phát, do đó xét nghiệm lượng fibrinogen trong máu thường giảm có khi dưới 1g/l, mặt khác khi có xuất huyết tiêu hoá fibrinogen sẽ bị mất nhiều hơn [17], [24].

#### **1.2.4. Mô bệnh học**

Để đánh giá tổn thương gan trên thực nghiệm, ngoài các xét nghiệm sinh hoá máu, còn thông qua đánh giá mô bệnh học để quan sát đại thể và cấu trúc vi thể gan.

Ngoài ra, để góp phần tìm hiểu cơ chế tác dụng của thuốc có liên quan đến tác dụng chống oxy hóa hay không, thường định lượng malonyl dialdehyd (MDA). Mô hình gây tổn thương gan bằng CCl<sub>4</sub> và PAR trong cơ chế đều có điểm chung là các chất này bị chuyển hóa ở gan và tạo thành các gốc tự do, các gốc tự do này sẽ phản ứng với lớp lipid kép của màng tế bào gây ra sự peroxy hóa lipid màng tế bào, từ đó gây tổn thương và hủy hoại tế bào gan. MDA là sản phẩm sinh ra trong quá trình peroxi hóa lipid màng tế bào do đó xác định nồng độ MDA trong gan có thể đánh giá được quá trình peroxi hóa lipid.

#### **1.3. Tổng quan về các mô hình thực nghiệm gây tổn thương gan**

Để đánh giá khả năng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan, trước hết phải gây được mô hình tổn thương gan thực nghiệm gần với thực tế và rõ ràng về cơ chế có tính ứng dụng cao. Có ba nhóm nguyên nhân chính gây ra viêm gan là do virus, do thuốc và do nhiễm độc (rượu, bia và hóa chất). Vì vậy việc xây dựng mô hình viêm gan trên thực nghiệm thường đưa vào 3 nhóm nguyên nhân này.

Mô hình gây viêm gan virus trên thực nghiệm bằng các chủng virus, trong đó điển hình là virus viêm gan B được thực hiện bằng cách dùng virus viêm gan trên động vật thực nghiệm là tinh tinh hoặc vượn, tuy nhiên ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào ứng dụng mô hình này. Hiện nay, việc sử dụng các hóa chất thông thường để gây mô hình tổn thương gan thực nghiệm được áp dụng nhiều nhất, các hóa chất thường được sử dụng như: PAR, CCl<sub>4</sub>, D-

galactosamin, ethanol erythromycin estolat, aflatoxin B, thioacetamid. Mỗi một mô hình gây tổn thương gan đều có cơ chế riêng đặc hiệu [43], [48], [54]. Cách tạo mô hình: Tiêm phúc mạc chuột hoặc cho chuột uống hoặc cho chuột uống PAR, ethanol, CCl<sub>4</sub> hoặc chiếu xạ toàn thân tia Cobalt 60 với nhiều liều lượng khác nhau để gây ra các mức độ tổn thương gan.

### ***1.3.1. Gây mô hình tổn thương gan bằng CCl<sub>4</sub>***

CCl<sub>4</sub> là một dung môi hữu cơ, bản chất không độc. Tuy nhiên khi vào cơ thể, CCl<sub>4</sub> bị chuyển hóa qua hệ thống enzym oxy hóa thuốc cytoP450, cụ thể là isoenzym, cyp2E1, tạo ra các gốc tự do có hoạt tính cao không ổn định và thời gian tồn tại ngắn. Các gốc tự do này dễ dàng phản ứng với các acid béo chưa no của màng tế bào, quá trình peroxid hóa lipid này sẽ làm phá hủy màng tế bào, biến tính protein, gây ra tổn thương dưới tế bào rất nặng nề. Mức độ tổn thương tế bào gan được thể hiện rõ ở hoạt độ enzym AST, ALT, vì vậy định lượng AST và ALT được xem là thông số quan trọng để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan [48].

### ***1.3.2. Gây mô hình tổn thương gan bằng paracetamol (acetaminophen)***

Sau khi vào cơ thể, paracetamol sẽ được chuyển hóa theo các con đường sau: PAR được chuyển hoá tạo thành các chất không còn hoạt tính, chiếm 90% thông qua quá trình glucuro - hợp và sulfo - hợp. Chỉ có 5 - 15% được chuyển hoá qua CYP để tạo thành NAPQI là chất chuyển hoá gây độc với tế bào gan. Có 3 isoenzym của cytochrom P450 tham gia chuyển hoá PAR là CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4, nhưng chủ yếu do CYP2E1. Vì vậy, các yếu tố ảnh hưởng đến enzym này đều ảnh hưởng tới lượng NAPQI được tạo ra [58].

NAPQI là một chất độc với tế bào, nó gắn vào protein tế bào gan, gây viêm và hoại tử tế bào gan. Với liều điều trị, một lượng nhỏ NAPQI tạo ra sẽ liên hợp với glutathion - chất chống oxy hóa tự nhiên của cơ thể sẵn có trong

gan để tạo ra hợp chất không gây độc đào thải ra ngoài. Tuy nhiên, nếu tốc độ sinh NAPQI lớn hơn tốc độ khử độc bởi GSH trong gan thì lượng NAPQI dư thừa sẽ tác động lên dòng calci ở ty thể dẫn tới tổn thương tế bào bằng cách tạo ra các gốc oxy hóa tự do, nhóm hydroxyl, các gốc nitrit và nitrat. Sau đó sẽ làm tăng hoạt hóa tế bào Kupffer và tăng sản xuất các chất trung gian gây độc tế bào như cytokin và gốc tự do dẫn đến sự chết theo chương trình và hủy hoại tế bào [53]. Ngoài ra PAR cũng làm tăng quá trình peroxy hóa lipid màng tạo ra gốc tự do phá hủy tế bào gan do làm giảm glutathion [52].

### ***1.3.3. Gây mô hình tổn thương gan bằng D - Galactosamin***

D - Galactosamin được sử dụng lần đầu tiên để gây độc tế bào gan trên chuột cống trắng vào năm 1968. Sau đó D - Galactosamin được sử dụng gây tổn thương tế bào gan trên thỏ, chó, chuột nhắt. Liều dùng để D- Galactosamin gây được tổn thương tế bào gan giao động tùy thuộc vào loài, ví dụ ở chuột cống gây tổn thương ở liều 100 - 400 mg/kg [43] ở chuột nhắt 1g/kg [58]. D - Galactosamin gây tổn thương tế bào gan do làm tăng nồng độ TNF -  $\alpha$  (tumor necrosis factor) trong huyết tương. TNF- $\alpha$  là yếu tố gây nên sự chết theo chương trình của tế bào thông qua con đường phụ thuộc vào caspase. Hơn thế nữa tế bào gan rất nhạy cảm với quá trình viêm được gây nên bởi sự chết theo chương trình của tế bào [58].

## **1.4. Tổng quan về một số dược liệu có tác dụng bảo vệ gan**

Các thuốc bảo vệ gan có tác dụng duy trì sự ổn định của tế bào gan, làm cho tế bào gan bền vững trước sự tấn công của các tác nhân gây bệnh. Các thuốc có thể tác dụng theo nhiều cơ chế như:

Ngăn cản sự chuyển hoá thành các chất độc với gan của một số hóa chất hoặc thuốc khi đưa vào cơ thể.

Dọn sạch gốc tự do (là yếu tố tấn công hủy hoại tế bào gan) khi các gốc

tự do đã được hình thành.

Làm vững bền màng tế bào, giúp tế bào tăng sức chống đỡ đối với các tác nhân gây bệnh.

Hiện nay đã có một số thuốc bảo vệ gan được nghiên cứu và sử dụng trong điều trị như: silymarin, biphenyl dimethyl dicarboxylat, livolin, argynin-veyron ... và đặc biệt có nhiều thuốc có nguồn gốc từ thảo dược như:

**Ngũ vị tử** (*Schizandra chinensis* Baill): Ngũ vị tử có nguồn gốc khu vực Đông Nam Á và quả ngũ vị tử khô của loài này được dùng trong y học để trị nhiều bệnh trong đó có tác dụng bảo vệ tế bào gan, làm giảm enzym gan [8].

Nguyễn Nhược Kim, Mai Thị Kim Loan (1999) dùng bài thuốc "Nghiệm phương" YHCT để điều trị bệnh viêm gan mạn và xơ gan giai đoạn còn bù, thấy thuốc có tác dụng cải thiện các triệu chứng lâm sàng, giảm enzym gan và bilirubin toàn phần hiệu quả tương tự như Fortex [19].

**Cây cúc gai đen** (*Silybum marianum*): có tác dụng bảo vệ tế bào gan và gầy như không có độc tính, đã được biết đến như một dược phẩm điều trị viêm gan ở châu Âu từ thế kỷ 16 với tên thường được nhắc đến là silymarin. Silymarin có tác dụng bảo vệ gan thông qua các cơ chế [25].

Bảo vệ màng tế bào, ổn định màng, ngăn cản sự tấn công của một số chất độc vào gan. Ức chế quá trình peroxi hoá lipid, dọn sạch gốc tự do, giảm sử dụng glutathion của tế bào gan.

Kích thích sự tổng hợp protein, làm nhanh chóng phục hồi hệ enzym trong tế bào, phục hồi màng tế bào bị tổn thương, làm tăng quá trình phân bào, kích thích tái tạo tế bào gan [25].

**Cây Actiso:** Theo y học cổ truyền, atiso có vị đắng, tính mát, hương thơm dịu, là một cây thuốc quý có tác dụng làm sạch các độc tố trong gan, làm mát gan, giải nhiệt, giảm cholesterol trong máu giúp cải thiện sức khỏe.

Bởi vậy actiso được coi là “ thần dược” giúp hỗ trợ điều trị các bệnh viêm gan, suy gan[21].

**Nhân trần** (*Adenosmacaeruleum* R.Br): là vị thuốc thường được dùng để chữa bệnh vàng da, bệnh về đường mật, có tác dụng làm tăng tiết mật, tăng giải độc gan, thanh nhiệt, trừ thấp, chống viêm, kháng khuẩn, chữa các chứng hoàng đản nhiễm trùng, chữa cảm mạo do phong nhiệt [21].

**Nghệ** (*Curcuma longa* L.): có tác dụng kích thích các tế bào gan bài tiết ra mật là do chất paratolyl methyl cacbinol và tác dụng thông mật của hoạt chất curcumin được chiết xuất từ nghệ. Curcuminoid đã được chứng minh có tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan cấp trên thực nghiệm. [22].

## 1.5. Tổng quan về Cao lỏng giải độc gan

### 1.5.1. Xuất xứ và cơ sở xây dựng bài thuốc

“ Cao lỏng Giải độc gan “ là bài thuốc theo kinh nghiệm của Bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên rút ra từ trong quá trình điều trị lâm sàng, có tác dụng bảo vệ tế bào gan, ức chế hoạt động của virus, hồi phục tế bào và giảm enzym gan, giúp gan hoạt động hiệu quả hơn.

- Dựa vào lý luận của y học cổ truyền, các triệu chứng biểu hiện của bệnh.
- Dựa vào tính năng các vị thuốc phù hợp để điều trị triệu chứng bệnh gan. Bài thuốc có tác dụng: Thanh can giải độc, ích can gồm 3 vị thuốc đã trình bày ở trên. Với đặc điểm phối ngũ :

- + Quân dược: Cà gai leo : tác dụng thanh can giải độc, lợi thủy thấp
- + Thần dược : Chùm ngây thanh can, Chó đẻ răng cưa tiêu độc giúp cà gai leo thanh nhiệt độc ở can, lợi thấp thoái hoàng.

Dựa vào tác dụng dược lý và thành phần hóa học của các vị thuốc đã được chứng minh có tác dụng bảo vệ tế bào gan, ức chế hoạt động của virus, giúp gan hoạt động hiệu quả hơn, hỗ trợ sức đề kháng

### 1.5.2. Đặc điểm chiết xuất Cao lỏng Giải độc gan

Cao toàn phần được chiết xuất tại Khoa Dược - Bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên, đạt tiêu chuẩn cơ sở và Dược điển Việt Nam V, gồm các loại dược liệu sau:

Chùm ngây	<i>Moringa oleifera</i>	Đạt TCCS
Chó đẻ răng cưa	<i>Phyllanthus amarus</i>	ĐDVN V
Cà gai leo	<i>Solanum hainanense</i>	ĐDVN V

Thành phần 250ml chứa: Cà gai leo 80 g, Chó đẻ răng cưa 80 g, Chùm ngây 80 g.



**Hình 1.1. Hình ảnh sản phẩm cao lỏng**

### 1.5.3. Chùm ngây

**Tên khoa học:** *Moringa oleifera* Lamk,  
họ: Chùm ngây (Moringaceae)

**Bộ phận sử dụng:** Vỏ cây, lá, rễ, hoa, hạt



**Hình 1.2. Chùm ngây**



**Tính vị quy kinh:** vị ngọt hơi đắng, quy kinh Tỳ và Bàng Quang

**Công năng chủ trị:** hoạt huyết, thông phủ khí, chỉ thống, lợi tiêu

**Thành phần hóa học:**

Lá chùm ngây chứa các chất gồm và 2 alcaloid là moringin và moringinin.

Vỏ thân chứa chất bezylanin và  $\beta$  sitosterol

Các bộ phận của cây chứa nhiều khoáng chất quan trọng, và là một nguồn cung cấp chất đạm, vitamins, beta-carotene, acid amin và nhiều hợp chất phenolics. Cây Chùm Ngây cung cấp một hỗn hợp pha trộn nhiều hợp chất như zeatin, quercetin, beta-sitosterol caffeoylquinic acid và kaempferol, rất hiếm gặp tại các loài cây khác [21].

**Tác dụng dược lý:**

*Tác dụng của quả Chùm Ngây trên cholesterol và lipid trong máu:*

Nghiên cứu tại ĐH Baroda, Kalabhavan, Gujarat (Ấn Độ) về hoạt tính trên các thông số lipid của quả Chùm Ngây, thử trên thỏ, ghi nhận : Thỏ cho ăn Chùm Ngây (200mg/kg mỗi ngày) hay uống lovastatin (6mg/kg/ ngày) trộn trong một hỗn hợp thực phẩm có tính cách tạo cholesterol cao, thử nghiệm kéo dài 120 ngày. Kết quả cho thấy Chùm Ngây và Lovastatin có tác dụng gây hạ cholesterol, phospholipid, triglyceride, VLDL, LDL hạ tỷ số cholesterol/ phospholipid trong máu so với thỏ trong nhóm đối chứng. Khi cho thỏ bình thường dùng Chùm Ngây hay Lovastatin : mức HDL lại giảm nhưng nếu thỏ bị cao cholesterol thì mức HDL lại gia tăng. Riêng Chùm Ngây còn có thêm tác dụng làm tăng sự thải loại cholesterol qua phân [21].

*Tác dụng chống viêm*

Chất chiết từ rễ chùm ngây có tác dụng ức chế chất carrageenan gây ra phù nề ở chân chuột. Một số nghiên cứu khác cho thấy dịch chiết từ hạt chùm

ngây có sự đối kháng với ovalbumin gây ra viêm đường hô hấp ở lợn. Các thử nghiệm chỉ mới dừng lại ở quy mô thí nghiệm trên động vật, tuy nhiên đây là tiềm năng rất lớn trong việc sử dụng các chất chiết từ chùm ngây để điều trị các bệnh viêm khớp, suyễn,.. [14].

### ***Tình hình nghiên cứu về tác dụng bảo vệ gan***

Nghiên cứu “Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dịch chiết chùm ngây (*Moringa oleifera*) trên chuột gây tổn thương gan bằng carbon tetrachloride” của nhóm nghiên cứu Phí Thị Cẩm Miện cho kết quả : Dịch chiết chùm ngây ở liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày có tác dụng bảo vệ gan thông qua việc làm giảm nồng độ AST, ALT, LDH, MDA và hạn chế tổn thương gan gây ra bởi CCl<sub>4</sub> trên mô hình chuột nhắt trắng dòng BALB/c [23].

Nghiên cứu thực nghiệm tác dụng bảo vệ gan của chế phẩm từ lá chùm ngây (*Moringa oleifera* Lam.) trên tổn thương gan mạn do ethanol. Viên nang Chùm ngây ở liều uống 1 viên/kg và 2 viên/kg thể hiện tác dụng ức chế sự gia tăng hoạt độ GOT trong huyết tương chuột từ tuần thứ 3 của mô hình và ức chế sự gia tăng hoạt độ GPT trong huyết tương chuột từ tuần đầu tiên của mô hình. Viên nang Chùm ngây làm giảm hàm lượng MDA và làm tăng hàm lượng GSH trong dịch đồng thể gan chuột, cho thấy viên nang Chùm ngây có tác dụng bảo vệ gan chuột trước tổn thương oxy hóa gây bởi ethanol. Tác dụng của viên nang Chùm ngây tương tự như silymarin (0,1 g/kg) [21].

#### ***1.5.4. Chó đẻ răng cưa***

***Tên khoa học:*** còn có tên thường gọi là Diệp hạ châu, *Phyllanthus urinaria* L. Schum. et Thonn, họ: Euphorbiaceae (Thầu dầu)

***Bộ phận dùng:*** Toàn cây, rửa sạch, dùng tươi hay sấy khô.



**Hình 1.3. Chó đẻ răng cưa**

**Tính vị quy kinh:** Cam, khô, lương. Vào các kinh can, phế

**Công năng, chủ trị :** Tiêu độc, sát trùng, tiêu viêm, tán úr, thông huyết

**Liều dùng, cách dùng :** Ngày dùng từ 8 g đến 20 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc [8].

**Thành phần hóa học:**

Flavonoid: kaempferol, quercetin, rutin.

Triterpen: stigmasterol, stigmasterol – 3 – O – b – glucosid, b – sitosterol, b – sitosterol glucosid, lup – 20 – en – 3b – ol.

Tanin: acid elagic, acid 3, 3', 4 – tri – O – methyl elagic, acid galic.

Phenol: methylbrevifolin carboxylat.

Acid hữu cơ: acid succinic, acid ferulic, acid dotriacontanoic.

Các thành phần khác: n-octadecan, acid dehydrochebulic methyl ester, triacontanol, phylanthurinol acton.

Lignan: phylanthin (Không nhầm Phylantin = methoxysecurinin là alcaloid có nhân quinolizidin với phylantin là lignan).

**Tác dụng dược lý:**

*Tác dụng bảo vệ tế bào gan*

Trong thí nghiệm về hoạt tính bảo vệ gan của cây diệp hạ châu đắng

chống lại tổn thương gan gây thực nghiệm trên chuột cống trắng, cao cồn toàn vây (liều uống 100mg/kg x 7) đã biểu lộ tác dụng bảo vệ đáng kể thông qua những thông số hoá sinh của huyết thanh và gan. Phân đoạn chiết với butanol có hoạt tính bảo vệ gan cao nhất, liều uống 50mg/kg x 7 có tác dụng bảo vệ 35 – 85 %. Phân đoạn chiết với nước có tác dụng bảo vệ gan nhẹ (20 – 40%) [21].

Phyllanthin và hypophyllanthin có tác dụng bảo vệ tế bào gan chuột cống trắng chống tính độc hại tế bào gây bởi carbon tetraclohid và galactosamin. Chất triterpen triacontanol phân lập từ cây chó đẻ có tác dụng bảo vệ gan chống lại tính độc hại tế bào gây bởi galactosamin trên tế bào gan chuột cống trắng.

#### *Tác dụng kháng virus viêm gan B*

Trong một nghiên cứu lâm sàng sơ bộ với một dạng bào chế từ toàn bộ cây diệp hạ châu đắng (trừ rễ) trên người mang siêu vi khuẩn viêm gan B, với liều 200mg trong 30 ngày, trong tổng số 37 bệnh nhân điều trị, có 22 người (59%) đã mất kháng nguyên bề mặt HBsAg của viêm gan B khi xét nghiệm ở ngày 15 – 20 sau khi kết thúc điều trị. Ở nhóm bệnh nhân dùng placebo, chỉ có 1 bệnh nhân trong số 23 bệnh nhân đối chứng (4%) có kết quả xét nghiệm về kháng nguyên HBsAg như trên. Đã theo dõi một số đối tượng được điều trị với chế phẩm từ diệp hạ châu đắng đến 9 tháng, không có trường hợp nào kháng nguyên bề mặt trở lại. Quan sát lâm sàng thấy có ít hoặc không có tác dụng độc [21].

#### *Tình hình nghiên cứu về tác dụng bảo vệ gan*

Theo Bùi Hoàng Anh và cộng sự với nghiên cứu “*Tác dụng bảo vệ gan, chống oxy hóa của viên nén BogaTN trên thực nghiệm*” cho thấy viên nén BogaTN liều 1,55g cao khô dược liệu/kg/ngày gồm 7 vị thuốc kỷ tử, nhân

trần, cà gai leo, diệp hạ châu, đan bì, nhân trần, hà thủ ô, ngũ vị tử có tác dụng bảo vệ gan cấp tính trên mô hình gây độc gan bằng paracetamol, thông qua làm giảm hoạt độ AST, ALT, GGT so với lô mô hình, làm tăng nồng độ albumin, xu hướng giảm nồng độ bilirubin toàn phần và có tác dụng cải thiện tổn thương giải phẫu bệnh gan chuột so với lô mô hình [1].

Nghiên cứu “*Tác dụng bảo vệ gan, phục hồi tổn thương gan và chống oxy hoá của viên nang cứng Silymax Complex trên thực nghiệm*” của Đàm Đình Tranh và cộng sự về Viên nang cứng *Silymax Complex* là sản phẩm phối hợp của silymarin (chiết xuất từ quả và hạt của cây cúc gai), curcuminoid (chiết xuất từ Nghệ) và cao khô của các dược liệu: Diệp hạ châu, Ngũ vị tử và Nhân trần. Trong 1 viên nang có chứa 200mg Diệp hạ châu tương đương 1400 mg dược liệu. Trên mô hình đánh giá tác dụng bảo vệ gan, *Silymax Complex* cả 2 mức liều 0,53 g/ kg/ngày và 1,59 g/kg/ngày có tác dụng bảo vệ gan cấp tính trên mô hình gây độc gan bằng paracetamol, thông qua làm giảm hoạt độ ALT trong huyết thanh, xu hướng làm tăng nồng độ albumin và cải thiện tổn thương giải phẫu bệnh gan chuột so với lô mô hình [26].

Tại Việt Nam, khá nhiều công trình nghiên cứu về tác dụng điều trị viêm gan của Diệp hạ châu đã được tiến hành, chẳng hạn: nhóm nghiên cứu của Lê Võ Định Tường (Học Viện Quân Y – 1990 – 1996) đã thành công với chế phẩm Hepamarin từ *Phyllanthus amarus*; nhóm nghiên cứu của Trần Danh Việt, Nguyễn Thượng Dong (Viện Dược Liệu) với bột *Phyllanthin* (2001) [21].

### **1.5.5. Cà gai leo**

**Tên khoa học:** *Solanum hainanense* Hance, họ: Solanaceae (Cà)



**Hình 1.4. Cà gai leo**

**Bộ phận dùng:** Thu hái quanh năm bộ phận trên mặt đất, tốt nhất vào lúc cây bắt đầu ra hoa. Toàn cây được chặt thành từng đoạn dài từ 2 cm đến 5 cm, sau đó phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C.

**Tính vị quy kinh:** vị hơi the, tính ấm, hơi có độc.

**Công năng, chủ trị :** có tác dụng tán phong thấp, tiêu độc, tiêu đờm, trừ ho, giảm đau, cầm máu.

**Liều dùng, cách dùng:** Ngày dùng 16 – 20 gam, dưới dạng thuốc sắc. Thường dùng kết hợp với các vị thuốc khác [8].

#### **Thành phần hóa học**

Toàn cây và nhiều nhất là rễ cà gai leo chứa alkaloid, tinh bột, saponosid, flavonoid.

Rễ và lá cà gai leo chứa cholesterol,  $\beta$  – sitosterol, lanosterol, dihydrolanosterol; alkaloid mới là solasodenon; hai aglycon là solasodin và neochlorogenin. Ngoài ra, rễ còn chứa  $3\beta$  – hydroxyl –  $5\alpha$  – pregnan – 16 – on. Khi thủy phân dịch chiết rễ, phần đường thu được gồm D-glucose, D-galactose, L-rhamnose (Hoàng Thanh Hương). Theo Dictionary of Natural Products on CD-ROM (1997) và Trung dược từ hải (1997), Cà gai leo có chứa solasodenon và  $3\beta$  – hydroxyl –  $5\alpha$  – pregnan – 16 – on [21].

***Tác dụng dược lý :******Tác dụng chống viêm:***

Trong mô hình gây phù thực nghiệm chân chuột bằng kaolin tạo nên giai đoạn cấp tính của phản ứng viêm tương ứng với những biến đổi về mạch máu gây thoát huyết tương ở khoảng ngoài tế bào, rễ và thân lá cà gai leo có tác dụng ức chế phù rõ rệt (rễ với liều 13.5/ kg và thân lá với liều 22.5 kg trở lên).

Đối với giai đoạn bán cấp của phản ứng viêm tương ứng với sự tạo thành tổ chức hạt, trong mô hình gây u hạt thực nghiệm với amian, rễ và thân lá cà gai leo có tác dụng ức chế rõ rệt (rễ với liều từ 5g/kg và thân lá từ 10g/kg chuột trở lên) [21].

***Tác dụng bảo vệ gan:***

Đã nghiên cứu tác dụng bảo vệ của rễ cây cà gai leo chống độc lực của nọc rắn Cobra trên chuột nhắt trắng và thấy cà gai leo có tác dụng bảo vệ chuột thí nghiệm chống độc lực của liều cao nọc rắn, làm tăng một cách có ý nghĩa tỷ lệ chuột sống sót so với chuột đối chứng không uống cà gai leo [21].

***Tình hình nghiên cứu về tác dụng bảo vệ gan***

Nghiên cứu “ Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cây cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour.) trên mô hình gây tổn thương gan bằng Paracetamol ở chuột nhắt trắng ” của nhóm nghiên cứu Trương Thị Thu Hiền và Hoàng Anh Tuấn ( Học viện quân y ) cho thấy các chế phẩm cao nước (SP1) và cao methanol (SP2) cây Cà gai leo ở liều 10 g bột dược liệu khô/kg thể trọng/ngày có tác dụng bảo vệ gan thông qua giảm hoạt độ AST, ALT và cholesterol toàn phần trong huyết thanh trên mô hình gây độc gan chuột thực nghiệm bằng paracetamol. Trong đó, chế phẩm SP2 có tác dụng bảo vệ gan chuột thực nghiệm tốt hơn chế phẩm SP1. Đặc biệt, chế phẩm SP2 có tác dụng bảo vệ gan chuột thực nghiệm tương đương với lô đối chứng tham khảo uống

silymarin liều 50 mg/kg thể trọng/ngày [15].

Trên mô hình viêm gan mạn tính gây ra do CCl<sub>4</sub>, viên nén Livganic có thành phần Cà gai leo liều 0,6 g/kg và 1,8 g/kg làm giảm tỷ lệ chuột chết, cải thiện hình ảnh đại thể và giải phẫu bệnh vi thể, làm hạn chế gia tăng trọng lượng gan, cải thiện chức năng gan (làm tăng albumin và tăng cholesterol), làm tăng số lượng hồng cầu và số lượng huyết sắc tố [27].

Đề tài “Nghiên cứu Cây gai cà leo làm thuốc chống viêm và ức chế xơ gan” do TS. Nguyễn Thị Minh Khai làm chủ nhiệm. Kết quả đề tài đã chứng minh glycoalcaloid trong cao toàn phần Cà gai leo là hoạt chất chính có tác dụng ức chế sự phát triển của xơ gan, chống viêm, bảo vệ gan. [21].

Viên nang CTHeptaB 500mg dựa trên bài thuốc kinh nghiệm bao gồm cà gai leo, chi tử, đinh lăng, linh chi, cỏ nhỏ sữa lá, đại hoàng, đông trùng hạ thảo, hà thủ ô; trong đó có chứa 150mg cà gai leo. Theo Trần Thị Mỹ Linh, viên nang CTHeptaB liều 0,96g / kg/ ngày và liều 1,92g / kg/ ngày có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan bằng chuột nhắt trắng [21].



## Chương 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Chất liệu nghiên cứu

##### 2.1.1. Chế phẩm làm nghiên cứu

Cao lỏng Giải độc gan

Thành phần 250ml chứa: Cà gai leo 80g, Chó đẻ răng cưa 80g, Chùm ngây 80g. Liều dùng dự kiến trên người là 35 ml/ngày (33.6 g dược liệu).

Nghiên cứu thử nghiệm liều tương ứng 35ml/ngày/người (33,6g dược liệu).

Cao toàn phần chiết xuất tại Khoa Dược - Bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên đạt tiêu chuẩn cơ sở và Dược điển Việt Nam V [8]. Gồm các loại dược liệu sau:

Chùm ngây	<i>Moringa oleifera</i>	Đạt TCCS
Chó đẻ răng cưa	<i>Phyllanthus urinaria L.</i>	ĐĐVN V
Cà gai leo	<i>Solanum hainanense</i>	ĐĐVN V

##### 2.1.2. Thuốc, hoá chất, máy móc phục vụ nghiên cứu

Silymarin viên nang 140 mg, biệt dược Legalon, do Công ty Madaus GmbH, Đức sản xuất.

Paracetamol viên nén sủi bọt 500 mg (biệt dược Efferalgan), do công ty Sanofi-Aventis sản xuất.

Dung dịch CMC 0,5% (dung môi pha silymarin).

Kít định lượng các enzym và chất chuyển hóa trong máu: AST, ALT của hãng DIALAB.

Thiopental lọ bột pha tiêm 1g của Đức.

Các hóa chất nghiên cứu dùng để xác định hàm lượng MDA trong gan: Acid ascorbic, muối Mohr, acid thiobarbituric, kali clorid, acid tricloacetic...

Các hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học do Trung tâm Chẩn đoán và phát hiện sớm Ung thư cung cấp.

Máy xét nghiệm sinh hóa Erba Chem 5 V3 (Án Độ).

Máy đo quang phổ tử ngoại khả kiến Specord210 (AnalytikJena, Đức)

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

Kim đầu tù cho chuột uống. Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

## **2.2. Đối tượng nghiên cứu**

### **2.2.1. Đối tượng nghiên cứu độc tính cấp**

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 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

### **2.2.2. Đối tượng nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan**

Chuột nhắt trắng, chủng *Swiss*, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 25 ± 2g, của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

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

## **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.3.1. Thiết kế nghiên cứu**

Về các phương pháp nghiên cứu liên quan đến các nội dung thực hiện:

- Nghiên cứu thực nghiệm có đối chứng
- Sử dụng các quy trình chiết xuất trên lý thuyết để tìm ra quy trình chiết xuất phù hợp với nguyên liệu

Cỡ mẫu nghiên cứu: Theo hướng dẫn của Bộ Y tế và tổ chức Y tế thế giới (WHO).

### ***2.3.2. Phương pháp nghiên cứu đánh giá độc tính cấp của Cao lỏng giải độc gan***

Đánh giá độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của thuốc thử trên chuột nhắt trắng theo đường uống theo hướng dẫn của Bộ Y tế và Tổ chức y tế thế giới theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon [4], [32], [42], [60].

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

Chuột được chia thành 04 lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống thuốc thử 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 tuyến tính 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 thuốc thử.

### ***2.3.3. Phương pháp nghiên cứu đánh giá tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hóa của Cao lỏng giải độc gan***

Nghiên cứu được tiến hành mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol ở chuột nhắt trắng theo hướng dẫn của Bộ Y tế và Tổ chức y tế thế giới như sau

[4], [22], [33], [40], [61]:

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

- Lô 1 (đối chứng): uống nước cất, 0,2 mL/10 g.

- Lô 2 (mô hình): uống nước cất 0,2 mL/10g + paracetamol 400 mg/kg
- Lô 3 (chứng dương): uống silymarin 140 mg/kg + paracetamol 400 mg/kg
- Lô 4: uống cao lỏng Giải độc gan liều 8,1 g dược liệu/kg (liều tương đương lâm sàng, hệ số ngoại suy 12) + paracetamol 400 mg/kg
- Lô 5: uống cao lỏng Giải độc gan liều 24,3 g dược liệu/kg (liều gấp 3 lâm sàng) + paracetamol 400 mg/kg

Chuột được cho uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục vào các buổi sáng trong 10 ngày. Đến ngày thứ 10, sau khi uống thuốc thử 3 giờ (chuột được nhịn đói 16-18 giờ trước đó), tiến hành gây tổn thương tế bào gan bằng cách cho chuột từ lô 2 đến lô 5 uống paracetamol liều 400 mg/kg. Sau 48 giờ gây độc bằng paracetamol:

- Lấy máu động mạch cảnh chuột để đo hoạt độ enzym AST, ALT
- Bóc tách gan:
  - + Cân trọng lượng gan
  - + Xác định hàm lượng MDA (malonyl dialdehyd) trong dịch đồng thể gan.
  - + Quan sát hình ảnh đại thể của gan ở các lô chuột
  - + Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể của 30% số gan chuột mỗi lô, đánh giá tổn thương giải phẫu bệnh theo bảng điểm

**Bảng 2.1. Bảng điểm đánh giá tổn thương vi thể gan chuột**

<b>Điểm</b>	<b>Tổn thương</b>
<b>0</b>	Bình thường, không hoại tử tế bào gan
<b>1</b>	Tổn thương tối thiểu đến nhẹ. 1 ổ tổn thương, giới hạn trong vùng trung tâm tiểu thùy. Dưới ¼ số tiểu thùy bị hoại tử

<b>2</b>	Tổn thương nhẹ đến trung bình. 1 hoặc nhiều ổ tổn thương, ở trung tâm và lân cận. $\frac{1}{2}$ số tiểu thùy bị hoại tử.
<b>3</b>	Tổn thương trung bình đến nặng. Nhiều ổ tổn thương. Số tiểu thùy bị hoại tử $< \frac{3}{4}$ và $> \frac{1}{2}$
<b>4</b>	Tổn thương nặng. Nhiều ổ tổn thương. Số tiểu thùy bị hoại tử $> \frac{3}{4}$
<b>5</b>	Tổn thương rất nặng (toàn bộ tiểu thùy). Mất tế bào gan từ tĩnh mạch trung tâm đến ranh giới với tiểu thùy lân cận.

#### **2.4. Địa điểm nghiên cứu**

Nghiên cứu thực nghiệm tại phòng thí nghiệm của Trung tâm Dược lý lâm

sàng - Trường Đại học Y Hà Nội.

#### **2.5. Thời gian nghiên cứu**

Từ tháng 4 năm 2023 đến tháng 10 năm 2023.

#### **2.6. Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu**

##### **2.6.1. Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu độc cấp**

- Liều LD<sub>0</sub> mg/kg: liều cao nhất không gây chết chuột
- Liều chết trung bình (LD<sub>50</sub>, mg/kg): liều gây chết 50% số động vật thực nghiệm.
- Liều chết tuyệt đối (LD<sub>100</sub>, mg/kg): liều thấp nhất gây chết 100% số động vật thực nghiệm
- Ảnh hưởng lên các cơ quan khác
- Tỷ lệ chuột chết

##### **2.6.2. Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan.**

- Hoạt độ enzym AST, ALT, GGT (UI/L) trong huyết thanh chuột
- Chỉ số MDA gan chuột (nmol/L)
- Nồng độ Albumin trong huyết thanh chuột (g/dL)
- Nồng độ Bilirubin trong huyết thanh chuột (mg/dL)
- Trọng lượng tương đối của gan trung bình của từng lô chuột thực nghiệm (g/10g thể trọng )
- Hình ảnh đại thể của gan trung bình của từng lô chuột thực nghiệm.
- Hình ảnh đại vi thể của gan trung bình của từng lô chuột thực nghiệm.

## 2.7. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được biểu diễn dưới dạng  $\bar{X} \pm SD$ .

Các số liệu được xử lý thống kê theo thuật toán thống kê T-test Student, test trước sau (Avant – Après) bằng phần mềm Microsoft Excel 2010. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

	$p \leq 0,05$	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,001$
<i>Khác biệt so với lô chứng trắng (lô 1)</i>	+	++	+++
<i>Khác biệt so với lô thuốc đối chứng (lô 2)</i>	*	**	***

## 2.8. Sai số và cách khống chế sai số

Để hạn chế các sai số trong quá trình nghiên cứu, nghiên cứu này thực hiện một số quy định về động vật dùng cho thử nghiệm như sau :

Cho chuột nhịn ăn trước khi tiến hành nghiên cứu 16 giờ, trọng lượng của chuột tương đối đồng đều ở các lô, điều kiện phòng thí nghiệm duy trì như nhau trong suốt thí nghiệm

## 2.9. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện với mục đích xác định độc tính cấp và tác dụng bảo vệ gan của Cao lỏng giải độc gan trên thực nghiệm nhằm mục đích góp phần xác định tính an toàn của Cao lỏng Giải độc gan ngoài ra không có bất cứ mục đích nào khác.

Nghiên cứu đã được thông qua bởi Hội đồng khoa học của Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.

Các số liệu thu thập trong nghiên cứu là hoàn toàn trung thực, có độ tin cậy và chính xác.

### Chương 3

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Kết quả đánh giá độc tính cấp của Cao lỏng giải độc gan

#### 3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột trong vòng 72 giờ sau uống thuốc

- Kết quả về tình trạng hoạt động và vận động của chuột: các chuột ở tất cả các lô hoạt động, vận động bình thường, không có chuột nào có biểu hiện của các trạng thái kích thích hoặc ức chế thần kinh; không có chuột nào có biểu hiện tổn thương thần kinh vận động.
- Kết quả về ảnh hưởng tới thần kinh thực vật của chuột : các chuột ở tất cả các lô đều không thấy biểu hiện về ảnh hưởng của thuốc lên tình trạng thần kinh thực vật; không có chuột nào có tình trạng ra mồ hôi hoặc bị khô đỏ da, đồng tử mất của các con chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bị co, giãn đồng tử.
- Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng hô hấp của chuột: các chuột ở tất cả các lô đều có tình trạng hô hấp bình thường. Chuột không có biểu hiện gì của khó thở, không thấy có tím tái hoặc các dấu hiệu bất thường khác.
- Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng ăn uống của chuột: Từ ngày thứ 2 trở đi các chuột ở tất cả các lô đã ăn uống bình thường, không có biểu hiện của việc bỏ ăn cũng như không có biểu hiện của việc ăn uống tăng lên.
- Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng chất thải của chuột: Các chuột ở tất cả các lô đều đi ngoài thành khuôn, màu sắc bình thường. Kiểm tra hậu môn của các con chuột thấy hậu môn khô, không tấy đỏ. Chuột tiểu tiện bình thường, nước tiểu màu vàng nhạt.



- Kết quả về đánh giá những biểu hiện bất thường khác : Các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường gì khác (không đau quận bụng, không bị đau hay ngứa, không đưa chân lên gãi).

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

**Bảng 3.1. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc**

Lô chuột	n	Liều uống (ml/kg)	Liều uống (g/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	45	43,2	0	Không
Lô 2	10	60	57,6	0	Không
Lô 3	10	75	72,0	0	Không
Lô 4	10	100	96,0	0	Không

**Nhận xét:** Kết quả cho thấy sau khi uống cao lỏng ở tất cả các lô dùng thuốc chuột không có hiện tượng gì đặc biệt: ăn uống, vận động bình thường, chuột không bị khó thở, đi ngoài phân khô, không thấy xuất hiện chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi được uống thuốc và trong suốt 7 ngày tiếp theo. Các lô chuột uống cao lỏng Giải độc gan liều từ 45 ml/kg đến liều tối đa 100 ml/kg không có biểu hiện độc tính cấp. Từ bảng 3.1 ta thấy, liều dung nạp tối đa của cao lỏng Giải độc gan trong thử nghiệm này là 100 ml/kg (tương ứng 96,0 g dược liệu /kg).

### 3.1.3. Kết quả theo dõi chuột sau 7 ngày uống thuốc

Chuột ở tất cả các lô được tiếp tục theo dõi đến hết ngày 7 sau uống thuốc nhận thấy: các chuột vẫn ăn uống, đi lại, hoạt động bình thường, đại tiểu tiện bình thường, lông mượt. Chuột được cân trọng lượng ở ngày 7 để

xác định sức lớn so với trước khi dùng thuốc. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.2.

**Bảng 3.2. Kết quả theo dõi trọng lượng của chuột sau 7 ngày dùng thuốc**

Lô chuột	n	Trọng lượng TB của chuột trước khi uống thuốc (g ± SD)	Trọng lượng TB của chuột ở ngày 7 (g ± SD)	P (trước-sau)
Lô 1	10	19,55 ± 1,04	25,25 ± 0,54	< 0,001
Lô 2	10	19,30 ± 1,11	25,15 ± 0,58	< 0,001
Lô 3	10	19,91 ± 0,91	24,95 ± 0,6	< 0,001
Lô 4	10	20,15 ± 0,95	25,15 ± 0,47	< 0,001
P (1-2), (1-3), (1-4), (2-3), (2-4), (3-4)		> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.2 cho thấy, trước khi uống thuốc, chuột ở các lô có trọng lượng tương đối đồng đều và khác nhau không có ý nghĩa thống kê. Sau 7 ngày uống thuốc, trọng lượng các chuột vẫn tăng đều đặn và tăng lên có ý nghĩa thống kê so với ngày 1 ( $p < 0,001$ ) nhưng trọng lượng chuột ở các lô tại cùng thời điểm nghiên cứu vẫn khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Sau khi cân trọng lượng, chuột được mổ để quan sát phủ tạng, nhận thấy: các chuột đều có gan màu nâu đỏ, nhu mô gan mềm, mịn, đồng nhất, không có bất thường; thận màu đỏ nhạt, nhu mô mềm, gồm những chấm nhỏ li ti (cầu thận), đồng nhất, không xuất huyết, không bất thường; các cơ quan khác (lách, phổi, bàng quang và ruột): bình thường (hình 3.1).



**Hình 3.1. Mổ chuột lô 4 sau 7 ngày uống thuốc**

### **3.2. Kết quả đánh giá tác dụng bảo vệ gan của Cao lỏng Giải độc gan**

#### **3.2.1. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên trọng lượng chuột**

**Bảng 3.3. Ảnh hưởng của cao lỏng lên trọng lượng gan chuột**

<b>Lô nghiên cứu (n = 10)</b>	<b>Trọng lượng gan (g/10g thể trọng)</b>	<b>p so lô chứng</b>	<b>p so lô mô hình</b>	<b>% thay đổi so với mô hình</b>
<b>Lô 1:</b> Chứng sinh học	0,58 ± 0,06			
<b>Lô 2:</b> Mô hình	0,72 ± 0,10	<b>p &lt; 0,01</b>		
<b>Lô 3:</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	0,70 ± 0,10	<b>p &lt; 0,01</b>	p > 0,05	↓2,9
<b>Lô 4:</b> Giải độc	0,69 ± 0,10	<b>p &lt; 0,05</b>	p > 0,05	↓5,4

gan, liều 8,1 g/kg				
<b>Lô 5:</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	0,73 ± 0,10	<b>p &lt; 0,01</b>	p > 0,05	↑0,3

**Nhận xét:**

- Trọng lượng gan chuột ở lô mô hình cao hơn rõ rệt so với lô chứng sinh học với  $p < 0,01$ .

- Trọng lượng gan chuột ở lô uống Legalon (silymarin) 140mg/kg, Cao lỏng 8,1g/kg và 24,3g/kg không có sự khác biệt nhiều với lô mô hình ( $p > 0,05$ )

### 3.2.2. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ AST trong huyết thanh chuột

**Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ AST trong huyết thanh chuột**

Lô nghiên cứu (n = 10)	AST (UI/L)	p so lô mô hình	% thay đổi so với mô hình
<b>Lô 1</b> Chứng sinh học	83,80 ± 17,26		
<b>Lô 2</b> Mô hình	514,50 ± 147,57***		
<b>Lô 3</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	391,30 ± 107,16***	<b>p &lt; 0,05</b>	↓23,9
<b>Lô 4</b> Giải độc gan liều 8,1 g/kg	365,50 ± 96,89***	<b>p &lt; 0,05</b>	↓29,0
<b>Lô 5</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	473,60 ± 39,09***	p > 0,05	↓7,9

\*, \*\*, \*\*\*:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ : p so với lô chứng sinh học.

**Nhận xét:**

- Hoạt độ AST ở lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ).

- Hoạt độ AST ở lô uống Legalon (silymarin) 140mg/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

- Hoạt độ AST ở lô uống Giải độc gan liều 8,1g/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ , mức giảm nhiều hơn so với silymarin liều 140mg/kg.

- Hoạt độ AST ở lô uống Giải độc gan liều 24,3g/kg có xu hướng giảm so với mô hình, nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.3. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ ALT trong huyết thanh chuột

**Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ ALT trong huyết thanh chuột**

Lô nghiên cứu	ALT (UI/L)	p so lô mô hình	% thay đổi so với mô hình
<b>Lô 1</b> Chứng sinh học	45,40 ± 8,32		
<b>Lô 2</b> Mô hình	380,60 ± 103,89***		
<b>Lô 3</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	269,80 ± 111,08***	<b>p &lt; 0,05</b>	↓29,1
<b>Lô 4</b> Giải độc gan liều 8,1 g/kg	208,10 ± 67,12***	<b>p &lt; 0,001</b>	↓45,3
<b>Lô 5</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	249,30 ± 71,84***	<b>p &lt; 0,01</b>	↓34,5

\*, \*\*, \*\*\*:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ : p so với lô chứng sinh học.

**Nhận xét:**

- Hoạt độ ALT ở lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ).

- Hoạt độ ALT ở lô uống Legalon (silymarin) 140mg/kg và cao lỏng Giải độc gan cả 2 liều 8,1g/kg và 24,3g/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ . Mức giảm của lô uống cao lỏng Giải độc gan cả 2 liều đều cao hơn lô uống silymarin, trong đó liều 8,1g/kg giảm nhiều hơn liều 24,3g/kg.

### 3.2.4. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ GGT trong huyết thanh chuột

**Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt độ GGT trong huyết thanh chuột**

Lô nghiên cứu	GGT (UI/L)	p so lô mô hình	% thay đổi so với mô hình
<b>Lô 1</b> Chứng sinh học	7,23 ± 1,84		
<b>Lô 2</b> Mô hình	13,50 ± 4,01***		
<b>Lô 3</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	9,64 ± 2,27*	<b>p &lt; 0,05</b>	↓28,6
<b>Lô 4</b> Giải độc gan liều 8,1 g/kg	7,28 ± 2,03	<b>p &lt; 0,001</b>	↓46,1
<b>Lô 5</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	11,34 ± 2,77**	$p > 0,05$	↓16,0

\*, \*\*, \*\*\*:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ : p so với lô chứng sinh học.

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

- Hoạt độ GGT ở lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ).

- Hoạt độ GGT ở lô uống Legalon (silymarin) 140mg/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

- Hoạt độ GGT ở lô uống Giải độc gan liều 8,1g/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ , mức giảm nhiều hơn so với silymarin liều 140mg/kg.

- Hoạt độ GGT ở lô uống Giải độc gan liều 24,3g/kg có xu hướng giảm so với mô hình, nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.5. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên nồng độ Albumin trong huyết thanh chuột

**Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên nồng độ Albumin trong huyết thanh chuột**

Lô nghiên cứu	Albumin (g/dL)	p so lô mô hình	% thay đổi so với mô hình
<b>Lô 1</b> Chứng sinh học	2,33 ± 0,12		
<b>Lô 2</b> Mô hình	2,44 ± 0,22		
<b>Lô 3</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	2,84 ± 0,10***	<b>p &lt; 0,001</b>	↑16,6
<b>Lô 4</b> Giải độc gan liều 8,1 g/kg	2,83 ± 0,16***	<b>p &lt; 0,001</b>	↑16,0
<b>Lô 5</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	2,86 ± 0,13***	<b>p &lt; 0,001</b>	↑17,2

\*, \*\*, \*\*\*:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ : p so với lô chứng sinh học.

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

- Nồng độ albumin ở lô mô hình và lô chứng sinh học không có sự khác biệt rõ ràng ( $p > 0,05$ ).

- Nồng độ albumin ở các lô uống Legalon (silymarin) liều 140mg/kg và cao lỏng Giải độc gan cả 2 liều 8,1g/kg và 24,3g/kg đều tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ , mức tăng giữa các lô là tương đương nhau.

### 3.2.6. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên hoạt nồng độ Bilirubin toàn phần trong huyết thanh chuột

**Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên nồng độ Bilirubin toàn phần trong huyết thanh chuột**

Lô nghiên cứu	Bilirubin (mg/dL)	p so lô mô hình	% thay đổi so với mô hình
<b>Lô 1</b> Chứng sinh học	2,67 ± 0,42		
<b>Lô 2</b> Mô hình	4,24 ± 0,85***		
<b>Lô 3</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	3,40 ± 0,39***	<b>p &lt; 0,05</b>	↓19,7
<b>Lô 4</b> Giải độc gan liều 8,1 g/kg	4,07 ± 0,49***	p > 0,05	↓3,9
<b>Lô 5</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	3,71 ± 0,74**	p > 0,05	↓12,4

\*, \*\*, \*\*\*:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ : p so với lô chứng sinh học.



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

- Nồng độ bilirubin ở các lô mô hình cao hơn rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

- Nồng độ bilirubin ở lô uống Legalon (silymarin) liều 140mg/kg giảm rõ so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

- Nồng độ bilirubin ở lô uống cao lỏng Giải độc gan cả 2 liều 8,1g/kg và 24,3g/kg có xu hướng giảm so với lô mô hình, nhưng sự khác biệt chưa rõ ràng ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.7. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên chỉ số MDA trong gan chuột

**Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan lên chỉ số MDA trong gan chuột**

Lô nghiên cứu	MDA (nmol/L)	p so lô mô hình	% thay đổi so với mô hình
<b>Lô 1</b> Chứng sinh học	5,45 ± 1,28		
<b>Lô 2</b> Mô hình	11,56 ± 2,85***		
<b>Lô 3</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	8,07 ± 1,17***	< 0,01	↓30,2
<b>Lô 4</b> Giải độc gan liều 8,1 g/kg	11,01 ± 2,29***	> 0,05	↓4,8
<b>Lô 5</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	11,66 ± 3,16***	> 0,05	↑0,8

\*, \*\*, \*\*\*:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ :  $p$  so với lô chứng sinh học.

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

- Chỉ số MDA ở lô mô hình tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

- Chỉ số MDA ở lô uống silymarin 140mg/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

- Chỉ số MDA ở các lô uống cao lỏng Giải độc gan cả 2 liều 8,1g/kg và 24,3g/kg không có sự khác biệt so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.8. Hình ảnh đại thể gan chuột

**Bảng 3.10. Hình ảnh đại thể gan chuột sau 8 ngày uống thuốc thử**

<i>Lô nghiên cứu</i>	<i>Hình ảnh đại thể gan</i>
<b>Lô 1</b> Chứng sinh học	Gan màu đỏ, mặt nhẵn, mật độ mềm, không phù nề, không xung huyết.
<b>Lô 2</b> Mô hình	Gan bạc màu, sung huyết, bề mặt không nhẵn mịn, có nhiều chấm xuất huyết. Các gan có mật độ rất lỏng lẻo.
<b>Lô 3</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, không nhìn rõ điểm tổn thương. Mật độ gan tương đối lỏng lẻo.
<b>Lô 4</b> Giải độc gan liều 8,1 g/kg	Gan một số ít bạc màu, sung huyết nhẹ, bề mặt không nhẵn mịn. Mật độ gan tương đối lỏng lẻo.

<i>Lô nghiên cứu</i>	<i>Hình ảnh đại thể gan</i>
<b>Lô 5</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	Gan một số bạc màu, sung huyết, bề mặt không nhẵn mịn. Mật độ gan tương đối lỏng lẻo.



*Hình 3.2 : Hình ảnh đại thể gan chuột lô chứng sinh học*



*Hình 3.3 : Hình ảnh đại thể gan chuột lô mô hình*



*Hình 3.4 : Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống Silymarin*



*Hình 3.5 : Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống Cao lỏng liều 8,1g/kg*

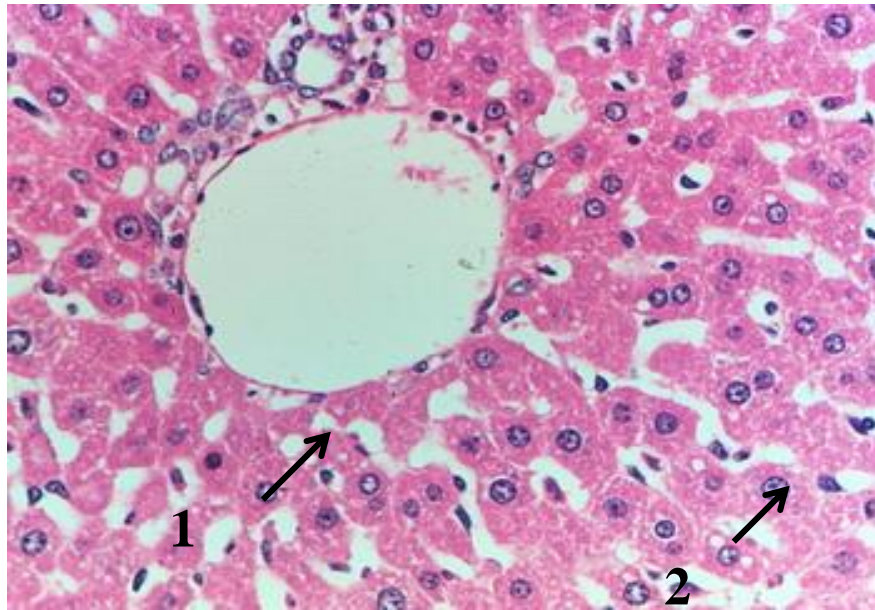


*Hình 3.6 : Hình ảnh đại thể gan chuột lô uống Cao lỏng liều 24,3g/kg*

### 3.2.9. Hình ảnh vi thể gan chuột

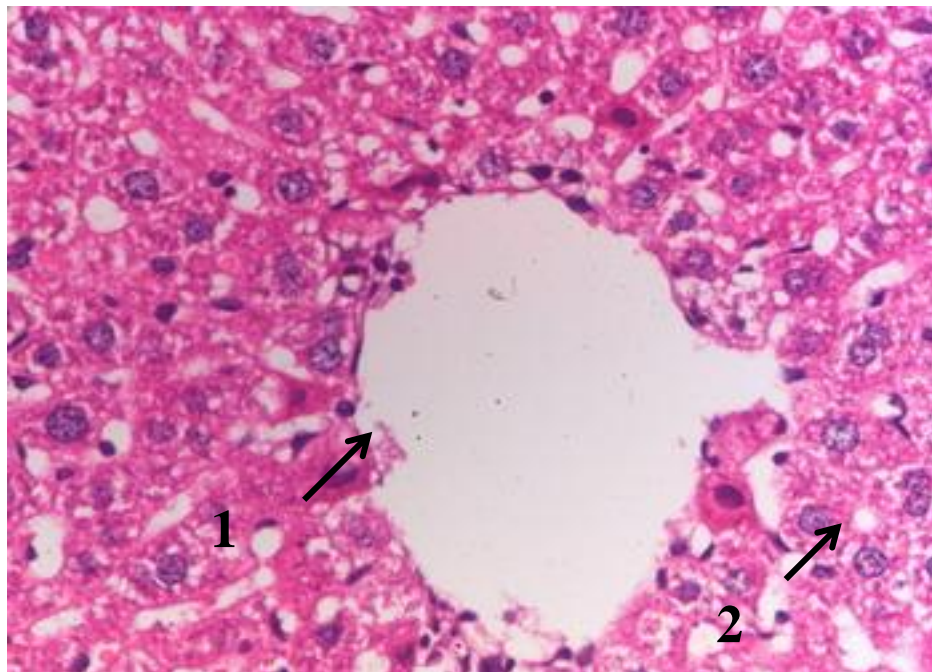
**Bảng 3.11. Hình ảnh vi thể gan chuột sau 10 ngày uống thuốc thử**

Lô nghiên cứu	Số mẫu tổn thương theo điểm đánh giá						Tổng điểm
	0	1	2	3	4	5	
<b>Lô 1</b> Chứng sinh học	0/3	2/3	1/3	0/3	0/3	0/3	<b>4</b>
<b>Lô 2</b> Mô hình	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	<b>15</b>
<b>Lô 3</b> Legalon (silymarin) 140mg/kg	0/3	0/3	1/3	1/3	1/3	0/3	<b>9</b>
<b>Lô 4</b> Giải độc gan liều 8,1 g/kg	0/3	1/3	0/3	1/3	0/3	1/3	<b>9</b>
<b>Lô 5</b> Giải độc gan liều 24,3 g/kg	0/3	1/3	0/3	1/3	0/3	1/3	<b>9</b>



**Hình 3.7: Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột số 3) (HE x 400)**

**1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy    2. Tế bào gan thoái hóa tối thiểu**  
(HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)

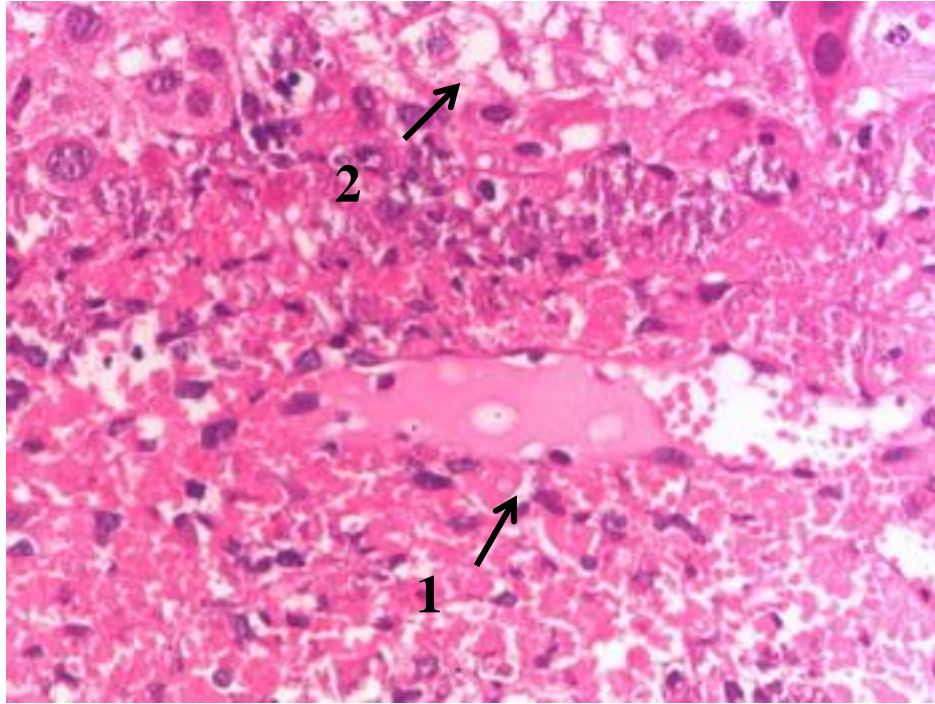


**Hình 3.8 : Hình thái vi thể gan chuột lô chứng sinh học (chuột số 2)**

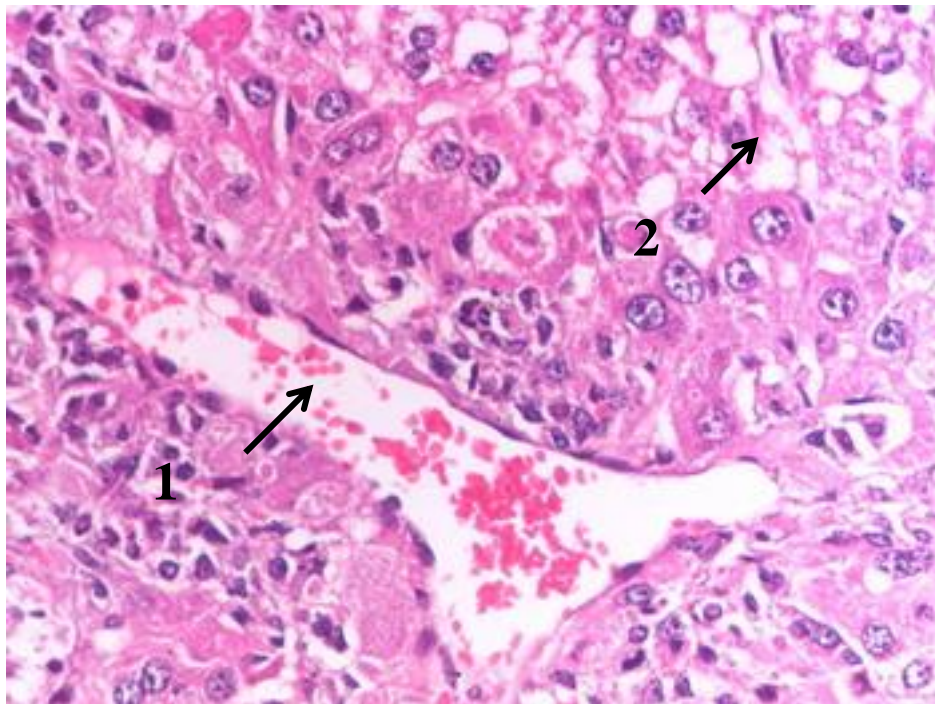
**(HE x 400)**

**1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy    2. Tế bào gan thoái hóa nhẹ**



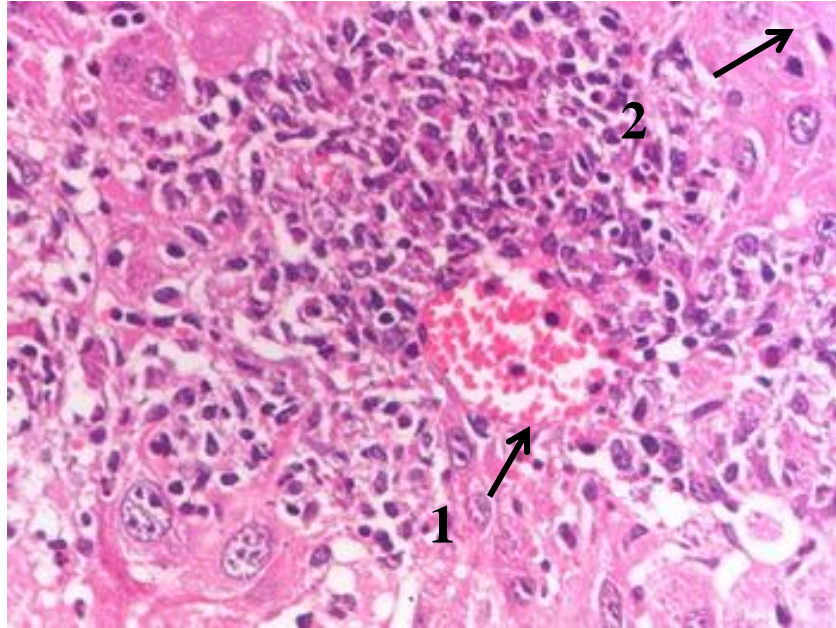


**Hình 3.9 : Hình thái vi thể gan chuột lô mô hình (chuột số 13) (HE x 400)**  
**1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy      2. Tế bào gan thoái hóa nặng**



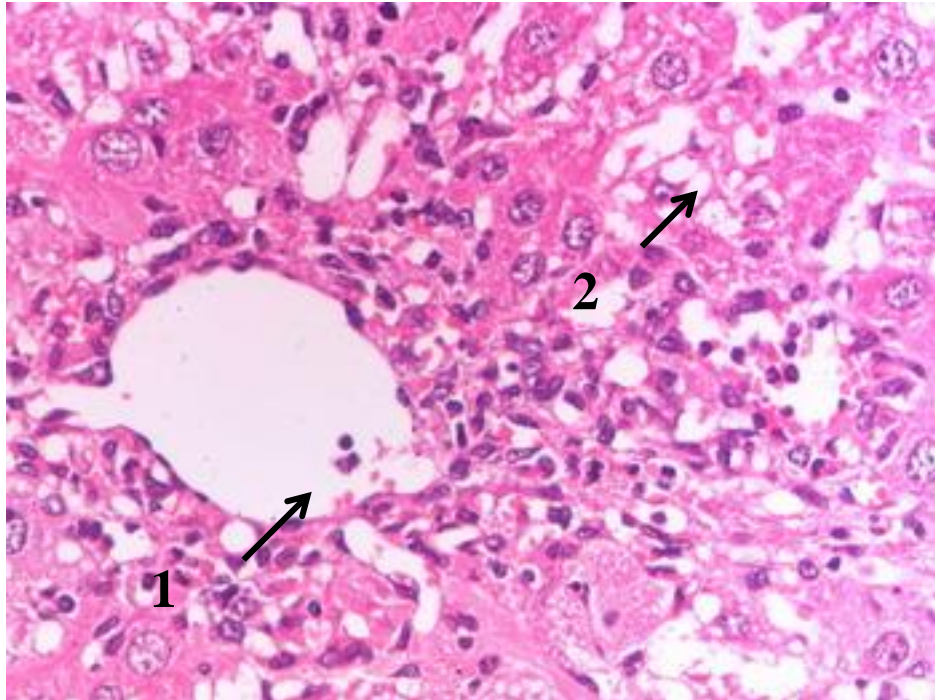
**Hình 3.10: Hình thái vi thể gan chuột lô mô hình (chuột số 14) (HE x 400)**  
**1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy      2. Tế bào gan thoái hóa nặng**





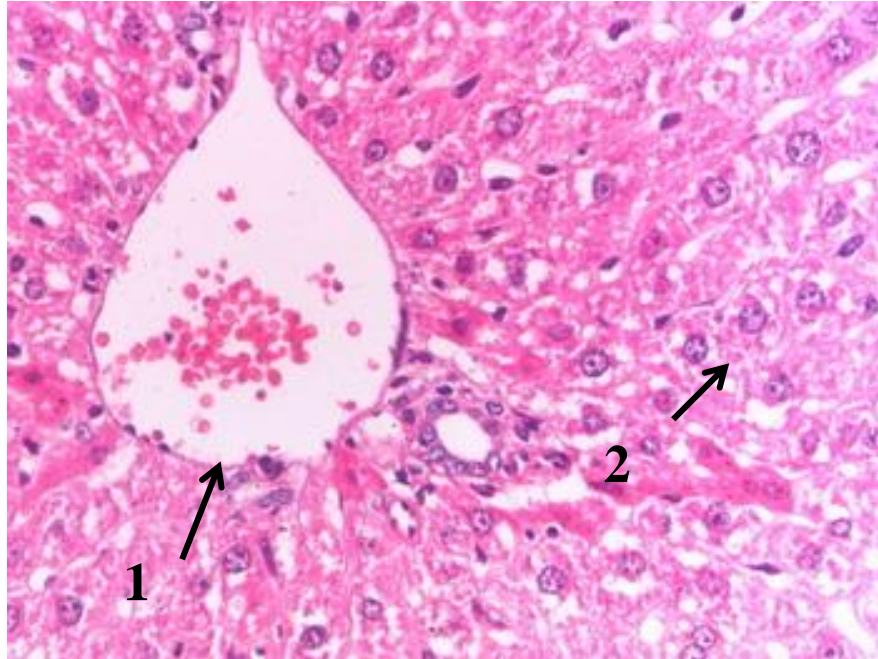
**Hình 3.11 : Hình thái vi thể gan chuột lô uống  
Silymarin 140mg/kg (HE x 400) (chuột số 26)**

**1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thụ    2. Tế bào gan thoái hóa vừa**

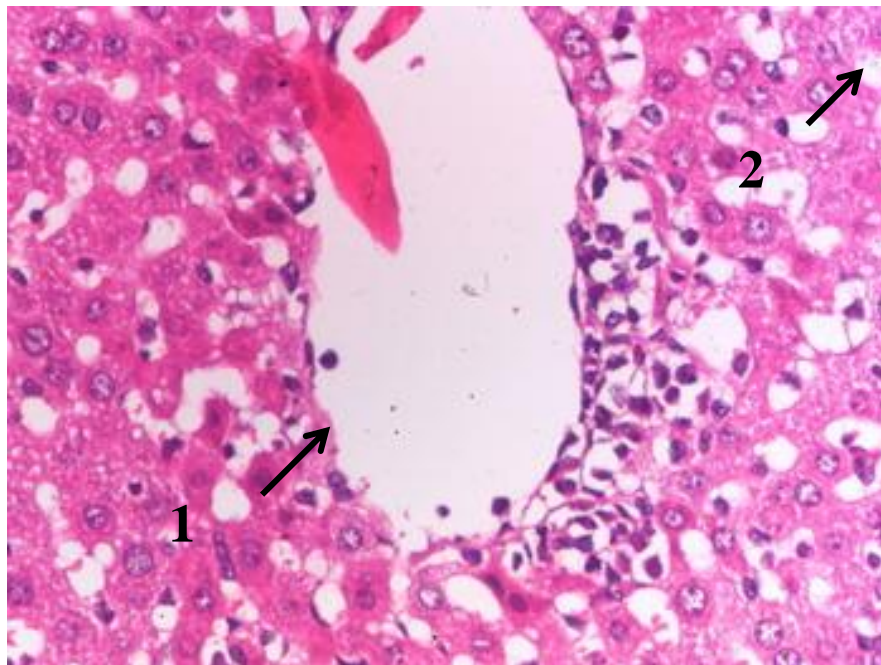


**Hình 3.12 : Hình thái vi thể gan chuột lô uống  
Silymarin 140mg/kg (HE x 400) (chuột số 27)**

**1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thụ    2. Tế bào gan thoái hóa vừa**

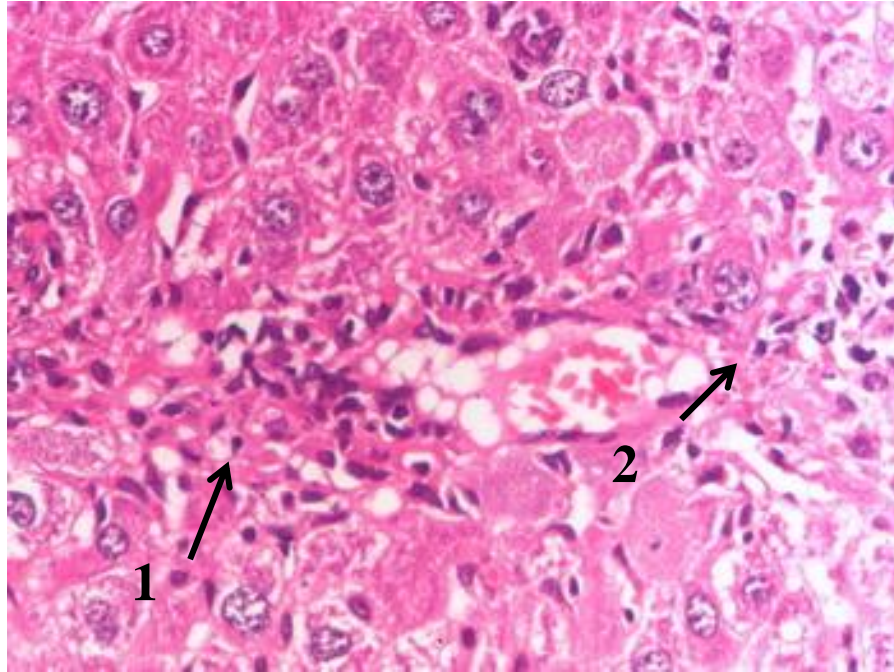


**Hình 3.13: Hình thái vi thể gan chuột lô uống  
Giải độc gan liều 8,1g/kg (HE x 400) (chuột số 39)**  
1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy    2. Tế bào gan thoái hóa nhẹ



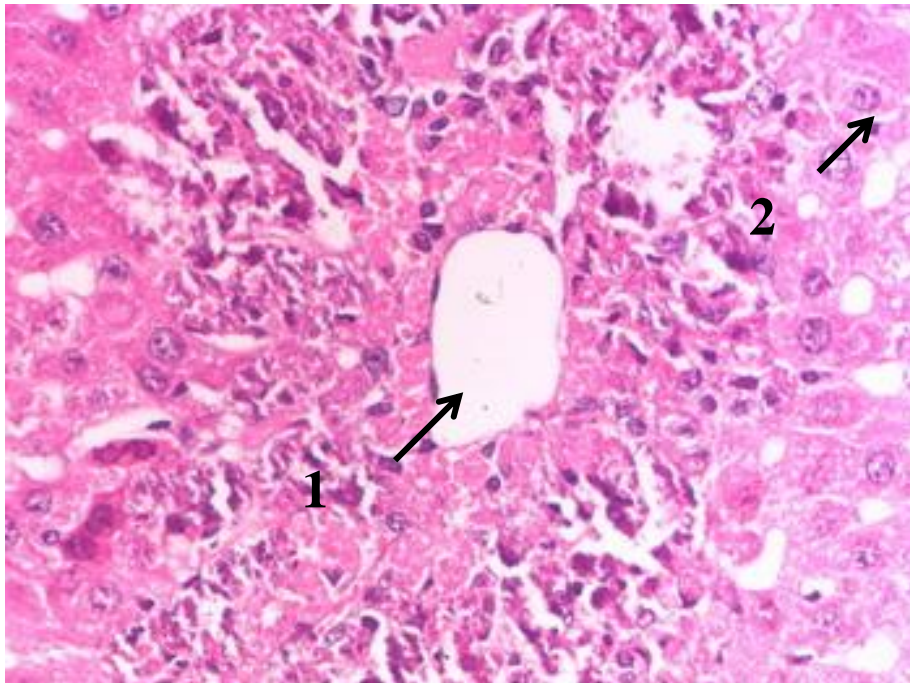
**Hình 3.14: Hình thái vi thể gan chuột lô uống  
Cao lỏng liều 8,1g/kg (HE x 400) (chuột số 41)**  
1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy    2. Tế bào gan thoái hóa vừa





**Hình 3.15 : Hình thái vi thể gan chuột lô uống  
Cao lỏng liều 24,3 g/kg (HE x 400) (chuột số 30)**

**1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy      2. Tế bào gan thoái hóa nhẹ**



**Hình 3.16 : Hình thái vi thể gan chuột lô uống  
Giải độc gan liều 24,3 g/kg (HE x 400) (chuột số 32)**

**1. Tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy      2. Tế bào gan thoái hóa nặng**

**\* Nhận xét:**

- Hình ảnh vi thể gan chuột ở lô mô hình có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng sinh học

- Lô chuột uống cao lỏng Giải độc gan cả 2 liều 8,1g/kg và 24,3g/kg có tác dụng cải thiện tổn thương giải phẫu bệnh gan chuột so với lô mô hình, tác dụng tương đương silymarin 140mg/kg

## Chương 4

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Về độc tính cấp của Cao lỏng giải độc gan

Muốn áp dụng một loại thuốc mới vào điều trị cho người bệnh, trước tiên cần phải xác định tính an toàn của thuốc. Cao lỏng Giải độc gan là chế phẩm đường uống, dùng để bảo vệ gan. Để có cơ sở khoa học khi sử dụng chế phẩm dưới dạng cao lỏng trong điều trị, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu độc tính cấp, nhằm đánh giá tính an toàn đồng thời nghiên cứu tác dụng dược lý (tác dụng bảo vệ gan) trên thực nghiệm

Đánh giá độc tính trên động vật thực nghiệm là một phần nghiên cứu rất quan trọng trong quá trình phát triển thuốc mới. Trong đó nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn thường được thực hiện. Các kết quả từ nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn sẽ cung cấp bằng chứng cho tính an toàn trước khi sử dụng trên người và là cơ sở để tính liều dùng trên lâm sàng.

Thử nghiệm đánh giá độc tính cấp là một thử nghiệm quan trọng để xác định liều LD50 của một thuốc từ đó định hướng cho việc lựa chọn liều để đánh giá tác dụng dược lý một cách phù hợp với độ an toàn của thuốc. Liều LD50 chỉ có thể được xác định trên động vật thí nghiệm và là một thông số rất quan trọng để đánh giá được độc tính của thuốc. Đánh giá độc tính cấp và xác định LD50 của thuốc thử trên chuột nhắt trắng theo đường uống theo hướng dẫn của Bộ Y tế và Tổ chức y tế thế giới [32], [42], [60].

Cơ sở chọn liều : Dựa vào kinh nghiệm dân gian, kinh nghiệm lâm sàng và liều dùng của từng dược liệu trong dược điển mà đưa ra Liều dùng Cao lỏng giải độc gan dự kiến trên người là 35 ml cao lỏng/ngày, trong đó có chứa 33.6g dược liệu với hàm lượng của 3 dược liệu là tương đương nhau, tính liều

theo kg thể trọng cho người trưởng thành là 50 kg thì liều Cao lỏng trên người là 0,672 g/kg/ngày, liều ngoại suy tương đương sang chuột nhất trắng được tính ở trên là 8,1 g/kg/ngày (tính hệ số ngoại suy trên chuột nhất là 12).

#### **4.1.1. Ảnh hưởng lên tình trạng chung của chuột**

Sau 72 giờ uống Cao lỏng giải độc gan : Không có bất thường về tình trạng hoạt động và vận động, thân kinh thực vật, tình trạng hô hấp của chuột, tình trạng ăn uống của chuột, tình trạng chất thải của chuột

#### **4.1.2. Số chuột chết**

Từ bảng 3.2 cho thấy không xuất hiện chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi được uống thuốc và trong suốt 7 ngày tiếp theo. Chuột được uống với liều tăng dần từ 45 đến 100 ml /kg thể trọng chuột tương đương với 96,0 g được liệu/kg thể trọng chuột không thấy độc tính cấp. Vì không có chuột chết nên không xác định được được LD50 của cao lỏng trên chuột nhất trắng qua đường uống ở các liều đã thử nghiệm.

#### **4.1.3. Ảnh hưởng lên trọng lượng chuột**

Kết quả từ bảng 3.2 cũng cho thấy, các chuột được lựa chọn vào nghiên cứu tương đối đồng đều về trọng lượng ở các lô, sự khác biệt về trọng lượng trước khi uống thuốc ở các lô khác nhau không có ý nghĩa thống kê (các giá trị  $p > 0,05$ ). Sau 7 ngày theo dõi, các chuột vẫn phát triển bình thường, trọng lượng tăng lên có ý nghĩa thống kê ở ngày 7 so với ngày 1 (trước khi dùng thuốc), các giá trị  $p < 0,001$ ; tuy nhiên sự khác biệt giữa các lô tại cùng thời điểm nghiên cứu khác nhau không có ý nghĩa thống kê. Đồng thời, khi mổ chuột và quan sát, các cơ quan phủ tạng chuột vẫn bình thường. Điều này chứng tỏ, cao lỏng giải độc gan không ảnh hưởng đến sức lớn của chuột, các chuột vẫn phát triển và không gây độc tính với chuột nhất trắng.

Các kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đó khi đánh giá độc tính cấp riêng biệt của từng thành phần dược liệu.

#### **4.2. Về tác dụng bảo vệ gan của Cao lỏng giải độc gan**

Để gây tổn thương gan trên thực nghiệm, người ta dùng nhiều chất hóa học khác nhau như paracetamol, carbontetrachlorid, D-galactosamin, ethanol, thioacetamid... Mỗi mô hình gây tổn thương gan có cơ chế riêng đặc hiệu. Mục đích của nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng giải độc gan của Cao lỏng nên mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol được lựa chọn bởi paracetamol gây tổn thương gan bằng cơ chế sinh ra gốc tự do (tương tự CCl<sub>4</sub>) bên cạnh đó paracetamol liều cao làm cạn kiệt hệ thống chống oxy hoá của cơ thể (hệ thống các chất thiol) [52], [53],[58].

Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, các nghiên cứu thường định lượng nồng 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. Hoạt độ AST và ALT là một trong những chỉ số quan trọng nhất đánh giá mức độ tổn thương gan. ALT là enzym có nhiều nhất ở gan, chúng khu trú 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, nồng độ ALT đã tăng cao. AST đa số khu trú trong ty thể, chỉ 1/3 AST khu trú ở 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 ngoài. Vì vậy, trong viêm gan do PAR nồng độ ALT luôn tăng cao hơn AST. Để khẳng định tác dụng bảo vệ gan của thuốc thử có thể thông qua đánh giá hoạt độ AST, ALT ở huyết thanh chuột nhắt sau khi gây tổn thương bằng PARA [24].

##### **4.2.1. Cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg**

Qua bảng 3.3, nghiên cứu cho thấy trọng lượng gan chuột ở lô uống Legalon (silymarin) 140mg/kg, Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg không có sự khác biệt nhiều với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

Trên lâm sàng, để thăm dò sự huỷ hoại tế bào gan, thường xác định hoạt độ các enzym transaminase trong huyết thanh. Transaminase hay aminotransferase là những enzym nội bào, sự tăng của các enzym này phản ánh tình trạng tổn thương tế bào gan, vì khi gan bị tổn thương, các enzym này thường thay đổi sớm nhất và có tính chất đặc trưng. Có hai loại enzym được chú ý nhất là AST và ALT [24]. Kết quả nghiên cứu qua bảng 3.4 cho thấy hoạt độ AST ở lô uống Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, giảm 29% so với mô hình, mức giảm cũng cao hơn so với silymarin liều 140mg/kg với mức giảm 23,9%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Với bảng 3.5, hoạt độ ALT ở lô uống Legalon (silymarin) 140mg/kg và cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$ . Trong đó uống cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg giảm 45,3 % nhiều hơn so với uống Legalon (silymarin) 140mg/kg là 29.1%

GGT có thể được coi là enzym đầu tiên chịu tác động một khi xảy ra các bệnh lý gan và đường mật. Đây là một xét nghiệm rất nhạy để đánh giá rối loạn chức năng bài tiết của gan nhưng cũng không đặc hiệu do bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố [13], [24]. Bảng 3.6 cho thấy hoạt độ GGT ở lô uống Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình, giảm 46,1% so với 28,6% khi dùng Silymarin là tương đối lớn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ , mức giảm nhiều hơn so với silymarin liều 140mg/kg.

Gan là nơi duy nhất tổng hợp albumin cho cơ thể. Albumin duy trì áp lực



keo trong lòng mạch và là chất vận chuyển các chất trong máu đặc biệt là thuốc. Bình thường albumin 35 -55 g/L [17], [24]. Kết quả bảng 3.7 cho thấy nồng độ albumin ở các lô uống Legalon (silymarin) liều 140mg/kg và cao lỏng Giải độc gan cả liều 8,1g/kg đều tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Về đại thể gan ở những chuột gây độc bằng paracetamol kết hợp dùng Cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg thì gan một số ít bạc màu, sung huyết nhẹ, bề mặt không nhẵn mịn. Mật độ gan tương đối lỏng lẻo. Có sự thay đổi so với lo mô hình : Gan bạc màu, sung huyết, bề mặt không nhẵn mịn, có nhiều chấm xuất huyết. Các gan có mật độ rất lỏng lẻo.

Đối với nồng độ Bilurubin và MDA khi uống Cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg thì có giảm nhưng không đáng kể, sự chênh lệch không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0.05$ .

Với kết quả nghiên cứu về tác dụng bảo vệ gan cho thấy khi phối hợp 3 loại dược liệu Cà gai leo, chó đẻ răng cưa, chùm ngây tác dụng đã tăng lên rõ rệt khi dùng đơn độc từng loại, kết quả được so sánh với một số công trình khoa học trước đó của các tác giả khi nghiên cứu đơn độc tác dụng của từng loại vị dự đề tài *Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cây cà gai leo trên mô hình gây tổn thương bằng Paracetamol ở chuột nhắt trắng* của tác giả Trương Thị Thu Hiền; Hoàng Anh Tuấn (Học viện Quân Y) cho thấy Cây Cà gai leo ở liều 10 g dược liệu khô/kg thể trọng/ngày có tác dụng bảo vệ gan thông qua tác dụng làm giảm hoạt tính AST, ALT và hạn chế một phần tổn thương gan gây ra do paracetamol trên mô hình chuột nhắt trắng, Trong đó, cao methanol của cây Cà gai leo ở liều 10 g/kg thể trọng chuột có tác dụng bảo vệ gan tốt tương đương so với chất đối chứng tham khảo (silymarin liều 50 mg/kg thể trọng)[15].

Đề tài “Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dịch chiết chùm ngây (*moringa oleifera*) trên chuột gây tổn thương gan bằng carbon tetrachloride ( $CCl_4$ )” của tác giả Phí Thị Cẩm Miện, Trần Văn Thái, (Học viện Nông nghiệp Việt Nam; Công ty cổ phần Dược phẩm quốc tế, Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam) cho thấy kết quả nghiên cứu cũng cho thấy dịch chiết chùm ngây ở liều 0,5 ml/kg khối lượng cơ thể/ngày có tác dụng bảo vệ gan tương đương so với đối chứng tham khảo là silymarin (liều 50 mg/kg khối lượng cơ thể/ngày) [23].

Công trình nghiên cứu tại Viện Dược liệu – Việt Nam (1987 – 2000) cho thấy khi dùng liều 10 – 50g/kg, Diệp hạ châu có tác dụng trên chuột thí nghiệm [21].

Như vậy có thể thấy Cao lỏng Giải độc gan chiết xuất từ 3 loại dược liệu Cà gai leo, chó đẻ răng cưa, chùm ngây có tác dụng vượt trội khi chỉ cần dùng với liều thấp là 8,1g/kg. Các chỉ số của lô uống cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g/kg thay đổi tốt hơn cả so với lô sử dụng Silymarin liều 140mg/kg.

#### **4.2.2. Cao lỏng Giải độc gan liều 24,3 g dược liệu/kg**

Qua bảng 3.3, nghiên cứu cho thấy trọng lượng gan chuột ở lô uống Giải độc gan liều 24,3g dược liệu/kg có tăng 0.3% rất nhỏ, không có sự khác biệt nhiều với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

Transaminase hay aminotransferase là những enzym nội bào, sự tăng của các enzym này phản ánh tình trạng tổn thương tế bào gan, vì khi gan bị tổn thương, các enzym này thường thay đổi sớm nhất và có tính chất đặc trưng. Có hai loại enzym được chú ý nhất là AST và ALT, tuy nhiên ALT là enzym chỉ cư trú ở bào tương, hiện diện chủ yếu ở bào tương của tế bào gan cho nên sự tăng ALT nhạy và đặc hiệu hơn AST trong các bệnh gan. Qua bảng 3.4

cho thấy hoạt độ AST ở lô uống Giải độc gan liều 24,3g dược liệu/kg có giảm 7.9% so với lô mô hình, nhưng sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Nhưng với bảng 3.5, hoạt độ ALT cao lỏng Giải độc gan liều 24,3g/kg giảm rõ rệt so với lô mô hình là 34,5% , cao hơn lô uống Legalon (silymarin) 140mg/kg , sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Nhưng uống cao lỏng Giải độc gan liều 24.3 g dược liệu/kg giảm 34.5 % nhiều hơn so với uống cao lỏng Giải độc gan liều 8.1 g/kg là 45,3%.

Bảng 3.6 cho thấy hoạt độ GGT ở lô uống cao lỏng liều 24,3g/kg có giảm so với lô mô hình, nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$

Kết quả bảng 3.7 cho thấy nồng độ albumin ở các lô uống Legalon (silymarin) liều 140mg/kg và cao lỏng Giải độc gan cả liều 24,3g dược liệu/kg đều tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . Trong đó , nồng độ albumin ở các lô cao lỏng Giải độc gan cả liều 24,3g dược liệu/kg tăng nhiều hơn cao lỏng Giải độc gan cả liều 8,1g/kg ( 17.2%>16%)

Qua bảng 3.8, nồng độ Bilurubin khi uống Cao lỏng Giải độc gan liều 24,3g/kg thì có giảm 12.4% nhưng không đáng kể, sự chênh lệch chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0.05$ .

Kết quả bảng 3.9, nồng độ MDA khi uống Cao lỏng Giải độc gan liều 24,3g dược liệu/kg thì tăng nhưng không đáng kể, sự chênh lệch chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0.05$ . Do vậy Cao lỏng Giải độc gan liều 24,3g dược liệu/kg không có tác dụng chống oxy hóa ở gan

Tóm lại, Cao lỏng Giải độc gan liều 24,3g dược liệu/kg/ngày có có tác dụng bảo vệ gan nhưng không tốt hơn so với Cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg/ngày.

## KẾT LUẬN

### 1. Đánh giá độc tính cấp của Cao lỏng giải độc gan

- Cao lỏng Giải độc gan không có biểu hiện độc tính cấp ở các liều 100 ml/kg
- Chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng của cao lỏng Giải độc gan theo đường uống.
- Cao lỏng Giải độc gan ở liều gấp 11,9 lần liều dùng có tác dụng trên chuột nhắt trắng nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt

### 2. Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của Cao lỏng giải độc gan

***- Cao lỏng Giải độc gan liều 8,1g dược liệu/kg/ngày có có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol ở chuột nhắt trắng:***

- + Làm giảm hoạt độ AST, ALT so với lô mô hình, mức giảm nhiều hơn silymarin liều 140mg/kg, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$
- + Làm tăng nồng độ albumin so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$
- + Có tác dụng cải thiện tổn thương giải phẫu bệnh gan chuột so với lô mô hình, tác dụng tương đương silymarin 140mg/kg.

***- Cao lỏng Giải độc gan liều 24,3g dược liệu/kg/ngày có có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol ở chuột nhắt trắng:***

- + Làm giảm hoạt độ ALT so với lô mô hình, mức giảm kém hơn liều 8,1g dược liệu/kg/ngày, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$
- + Làm tăng nồng độ albumin so với lô mô hình sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$

## KIẾN NGHỊ

Mặc dù đã thu được một số kết quả khả quan, nhưng do thời gian và kinh phí có hạn nên nghiên cứu mới chỉ tập trung đánh giá được độc tính cấp đường uống đến liều cao nhất là 96,0 g dược liệu /kg và tác dụng bảo vệ tế bào gan của Cao lỏng Giải độc gan.

Để có thể tiếp tục phát triển Cao lỏng Giải độc gan, chúng tôi xin đề xuất một số khuyến nghị sau:

+ Tiếp tục nghiên cứu độc tính bán trường diễn với thời gian dùng thuốc kéo dài hơn, ví dụ 3 tháng hoặc 6 tháng liên tục, và trên các cơ quan khác nhằm xác định thêm các ảnh hưởng của Cao lỏng Giải độc gan khi dùng thuốc dài ngày.

+ Nghiên cứu độc tính của Cao lỏng Giải độc gan đến chức năng sinh dục, quá trình sinh sản và phát triển, khả năng gây ung thư (nếu có) trên động vật thí nghiệm nhằm khẳng định tính an toàn của thuốc.

+ Nghiên cứu tác dụng đối với bệnh lý xơ gan, ung thư gan và viêm gan Virus trên thực nghiệm của Cao lỏng Giải độc gan trên lâm sàng nhằm làm rõ tác dụng giảm đau trong các chứng bệnh cụ thể theo YHCT.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bùi Hoàng Anh và cộng sự** (2023), “*Tác dụng bảo vệ gan, chống oxy hóa của viên nén BogaTN trên thực nghiệm*”, Tạp chí Nghiên cứu y học 164.3.
2. **Bộ môn Dược lý, trường Đại học Y Hà Nội** (2005), *Dược lý học lâm sàng*, NXB Y học, tr. 11- 30, 166-180.
3. **Bộ môn Hoá sinh, trường Đại học Y Hà Nội** (2007), *Hoá sinh*, Nhà xuất bản Y học, tr. 231- 273, 318, 371-375.
4. **Bộ Y Tế** (2007). Quyết định số 01/2007/ QĐ-BYT về việc ban hành quy định về thử thuốc trên lâm sàng.
5. **Bộ Y Tế** (2014). Công văn 19098/QLD-ĐK về việc lưu hành thuốc từ dược liệu có phối hợp mới thành phần dược liệu
6. **Bộ Y Tế** (2018). “*Quy định về thử thuốc trên lâm sàng*”, Thông tư số 29/2018/TT-BYT ngày 29 tháng 10 năm 2018.
7. **Bộ Y Tế** (2010). “*Hướng dẫn kết hợp Y học cổ truyền với Y học hiện đại*”. Thông tư 50/2010/TT-BYT.
8. **Bộ Y tế** (2017). *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học. tr 1092-1093, 1142-1143.
9. **Đỗ Huy Bích, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm và các cộng sự** (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, Hà Nội, tập 1, 401 - 403, 416 - 423, 700 - 701, 746 - 747.
10. **Nguyễn Thượng Dong và cộng sự** (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng của thuốc từ dược thảo*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 139- 150, 171-196, 279-286, 311-320.
11. **Vũ Bằng Đình, Đặng Kim Thanh** (2005). *Viêm gan virus và những*

*hậu quả*, Nhà xuất bản Y học, 382 - 400.

12. <https://benhvienk.vn/ty-le-mac-ung-thu-gan-o-viet-nam-dung-thu-3-the-gioi-nd58228.html>.
13. **Nguyễn Thị Hà** (1999). *Gốc tự do và các chất chống oxy hóa, những vấn đề hóa sinh học hiện đại*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 195-217.
14. **Trương Thị Hồng Hải** (2016) “*Cây chùm ngây (Moringa spp.)*” Nhà xuất bản nông nghiệp , Hà Nội. 42-43.
15. **Trương Thị Thu Hiền, Hoàng Anh Tuấn, Ngô Thị Tuyết Mai và cộng sự** (2018). *Tác dụng bảo vệ gan của cây cà gai leo (Solanum procumbens Lour.) trên mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol ở chuột nhắt trắng*, Tạp chí y dược học quân sự, 6, 14-21.
16. **Nguyễn Văn Hưng và cộng sự** (2018). *Giải phẫu bệnh học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 345-363.
17. **Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương** (2001) “*Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*”, Nhà xuất bản Y học, tr. 650-691.
18. **Khoa Y học cổ truyền - trường Đại học Y Hà Nội** (2012), *Bệnh học nội khoa Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, tr. 88-89.
19. **Nguyễn Nhược Kim và Mai Thị Kim Loan** (1999). "Góp phần đánh giá hiệu quả điều trị bệnh Viêm gan mạn tính và xơ gan giai đoạn còn bù bằng bài thuốc nghiệm phương YHCT", *Tạp chí Y học Cổ Truyền Việt Nam*, 302, 14-17.
20. **Trần Thị Mỹ Linh** (2020), “*Đánh giá độc tính bán trường diễn và tác dụng bảo vệ gan của viên nang CTHEPAB trên thực nghiệm*”, Luận văn thạc sỹ, Hà Nội.

21. **Đỗ Tất Lợi** (2019), “*Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*”, NXB Y học.
22. **Nguyễn Thị Tuyết Mai** (2006). *Nghiên cứu tác dụng bảo vệ và phục hồi tổn thương gan cấp của curcuminoid trên thực nghiệm*. Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại Y Hà Nội.
23. **Phí Thị Cẩm Miện, Trần Văn Thái, Đồng Huy Giới** (2017). *Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dịch chiết chùm ngây (Moringa oleifera) trên chuột gây tổn thương gan bằng carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)*, *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 2 (15), 225-233.
24. **Phan Hải Nam** (2004), “*Một số xét nghiệm hoá sinh trong lâm sàng*”, Học viện quân y, tr. 22-36.
25. **Nguyễn Thị Tố Nga, Đỗ Thị Tuyên, Đoàn Văn Việt, Nguyễn Thị Ngọc Dao** (2006), “*Tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hoá của hoạt chất silymarin được tách chiết từ cây cúc gai Silybum marianum (L.) Gaertn*”, *Tạp chí sinh học*, 28(3), tr. 88-92.
26. **Đào Văn Phan** (2000), *Silymarin (Legalon) - Đặc điểm dược lý và các ứng dụng trong lâm sàng*, Hội thảo khoa học Legalon và ứng dụng, Hà Nội, tr. 12-15.
27. **Nguyễn Phương Thanh** (2021) “*Nghiên cứu tác dụng kích thích miễn dịch và chống viêm gan mạn của viên nén Livganic trên thực nghiệm*”. Luận án tiến sỹ, Hà Nội.
28. **Đàm Đình Tranh, Nguyễn Thị Thanh Hà, Đinh Thị Thu Hằng, Phạm Thị Vân Anh** (2023), “*Tác dụng bảo vệ gan, phục hồi tổn thương gan và chống oxy hoá của viên nang cứng Silymax Complex trên thực nghiệm*”, *Tạp chí Nghiên cứu y học* 170(9), 325-336.
29. **Nguyễn Sào Trung và cộng sự** (2015). *Bài giảng lý thuyết giải phẫu*



- bệnh*, Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch TP Hồ Chí Minh, 175-193, 271-282.
30. **Tạ Thành Văn** (2018). *Hóa sinh*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 353 - 365.
  31. **Trường Đại học Y Hà Nội** (2006), *Chuyên đề nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản y học, Hà Nội tr 218-221.
  32. **Viện dược liệu** (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
  33. **A I Cederbaum** (2012). "Alcohol metabolism", *Clinics in liver disease*, 16(4), 667-685.
  34. **A Pole, M Dimri and G P Dimri** (2016). "Oxidative stress, cellular senescence and ageing", *AIMS Molecular Science*, 3(3).
  35. **Burda S., Oleszek W** (2001), "Antioxidant and antiradical activities of flavonoid", *J. Agric Food Chem.*, 49 (6), pp. 2774 - 2779.
  36. **Bui Thi Quynh N, Van SN** (2019). IDDF2019-ABS-0218 Evaluation on the protection effect of the vismisco in the liver damage induced by paracetamol in mice experiment. *Gut*, 68, A55.
  37. **CS Lieber** (1990). "Mechanism of ethanol induced hepatic injury", *Pharmacology & therapeutics*, 46(1), 1-41.
  38. **D Larrey** (2000). "Drug-induced liver diseases", *Journal of hepatology*, 32, 77-88.
  39. **D Li and S L Friedman** (1999). "Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy", *Journal of gastroenterology and hepatology*, 14(7), 618-633.
  40. **Duangporn Werawatganon, Sittikorn Linlawan, Kessarinn Thanapirom, Kanjana Somanawat, Naruemon Klaikeaw,**

- Rungsun Rerknimitr, and Prasong Siriviriyakul** (2014). *Aloe vera* attenuated liver injury in mice with acetaminophen-induced hepatitis. *BMC Complement Altern Med*, 14: 229 (doi: 10.1186/1472-6882-14-229)
41. **G J Burton and E Jauniaux** (2011). "Oxidative stress", *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 25(3), 287-299.
  42. **Gerhard Vogel H** (2012), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
  43. **Hans Gerhard Vogel** (2007), *Drug discovery and evaluation*, Springer, New York.
  44. **I S Young and J V Woodside** (2001). "Antioxidants in health and disease", *J Clin Pathol*, 54(3), 176-86.
  45. **K H Cheeseman and T F Slater** (1993). "An introduction to free radical biochemistry", *Br Med Bull*, 49(3), 481-493.
  46. **Li. H., Cao D., Yi J., Cao J., Jiang W** (2012), "Identification of the flavonoids in mungbean (*Phaseolus radiatus* L.) soup and their antioxidant activities", *Food Chem.*, 135, pp. 2942-2946.
  47. **Leng - peschlow, I** (1986), "Silibinin and N - acetyl cysteine as antidotes in paracetamol – poisoning", *Dig.dig. sci journal*, 31, pp. 480.
  48. **Naik R.S., Mujumdu A.M. et al** (2004), "Protection of liver cells from ethanol cytotoxicity by curcumin in liver slice culture in vitro", *J. Ethnopharmacol*, 95(1), pp. 31-37.
  49. **PM Dansette, E Bonierbale, C Minoletti et al** (1998). "Drug-induced immunotoxicity", *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 23(4), 443-451.

50. **P Abete, C Napoli, G Santoro et al** (1999), "Age-related decrease in cardiac tolerance to oxidative stress", *J Mol Cell Cardiol*, 31(1), 227-236.
51. **R Teschke** (2019). "Microsomal Ethanol-Oxidizing System: Success Over 50 Years and an Encouraging Future", *Alcohol Clin Exp Res*, 43(3), 386-400.
52. **R D Cristofaro, B Rocca, E Vitacolonna et al** (2003). "Lipid and protein oxidation contribute to a prothrombotic state in patients with type 2 diabetes mellitus", *J Thromb Haemost*, 1(2), 250-256.
53. **Rattan S** (2006). "Theories of biological aging: genes, proteins and free radicals", *Free Radic. Res.*, 40(12), pp. 1230-1238.
54. **Szabados Gy., Tretter L., Horval I** (1989), "Lipid peroxidation in liver and Ehrlich.
55. **Pradhan, SC., Girish, C** (2006), "Hepatoprotective Herbal Drug, Silymarin From Experimental Pharmacology to Clinical Medicine", *J. Pharm. Pharmacol.*, 52 (4), pp. 437-440.
56. **S Lotersztajn, B Julien, F Teixeira-Clerc et al** (2005), "Hepatic fibrosis: molecular mechanisms and drug targets", *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 45, 605-628.
57. **V Lobo, A Patil, A Phatak et al** (2010). "Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health", *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.
58. **Josephs MD** (2000), "Lipopolysaccharide and D-galactosamine-induced hepatic injury is mediated by TNF-alpha and not by Fas ligand", *Am. J. Physiol. Regul Integr Comp Physiol*, 278 (5), pp. 1196-2001.
59. **WM Lee** (2003). "Drug-induced hepatotoxicity", *New England*

*Journal of Medicine*, 349(5), 474-485.

60. **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.
61. **Fan X, Wang L, Huang J, Lv H, Deng X, Ci X** (2018). Pterostilbene Reduces Acetaminophen-Induced Liver Injury by Activating the Nrf2 Antioxidative Defense System via the AMPK/Akt/GSK3 $\beta$  Pathway. *Cell Physiol Biochem*, 49, 1943–1958

## PHỤ LỤC

### Phụ lục 1: Quy trình sản xuất Cao lỏng Giải độc gan

#### CHƯƠNG I. ĐẶC ĐIỂM THÀNH PHẨM

##### 1. Công thức bào chế: Cho 1 chai 250ml

Nguyên liệu	Số lượng	Nguyên liệu	Số lượng
Cà gai leo	80 g	Đường Glucose	25 g
Chó đẻ răng cưa	80 g	Acid benzoic	0,5 g
Chùm ngây	80 g	Nước tinh khiết	Vừa đủ

##### 2. Dạng thuốc: Cao lỏng

##### 3. Tiêu chuẩn:

- **Tính chất:** Chất lỏng sánh, có mùi vị đặc trưng của dược liệu, màu nâu đen, vị hơi đắng.

- **Độ tan:** Tan hoàn toàn trong dung môi

- **Độ trong, độ đồng nhất:** Cao lỏng phải sánh đồng nhất, không có váng mốc, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.

- **Tỷ trọng:** Từ 0,95 đến 1,10 (Phụ lục 6.5, Phương pháp dùng tỷ trọng kế)

- **Giới hạn kim loại nặng:** Không quá 20 phần triệu

- **Định tính:** Xuất hiện phản ứng của các nhóm chất Alcaloid (moringin và moringinin) Glycoalcaloid, Phyllanthin và hypophyllanthin

##### 4. Công dụng:

- Giải độc gan, tăng cường chức năng gan.

- Giúp bảo vệ tế bào gan

- Hạ men gan, ổn định men gan

##### 5. Liều lượng, cách dùng: Ngày dùng 30 - 40ml. Chia 2 lần

**6. Đóng gói:** Chai 250ml nút kín.

**7. Bảo quản:** Bảo quản nơi khô mát.

**8. Hạn dùng:** 12 tháng kể từ ngày sản xuất.

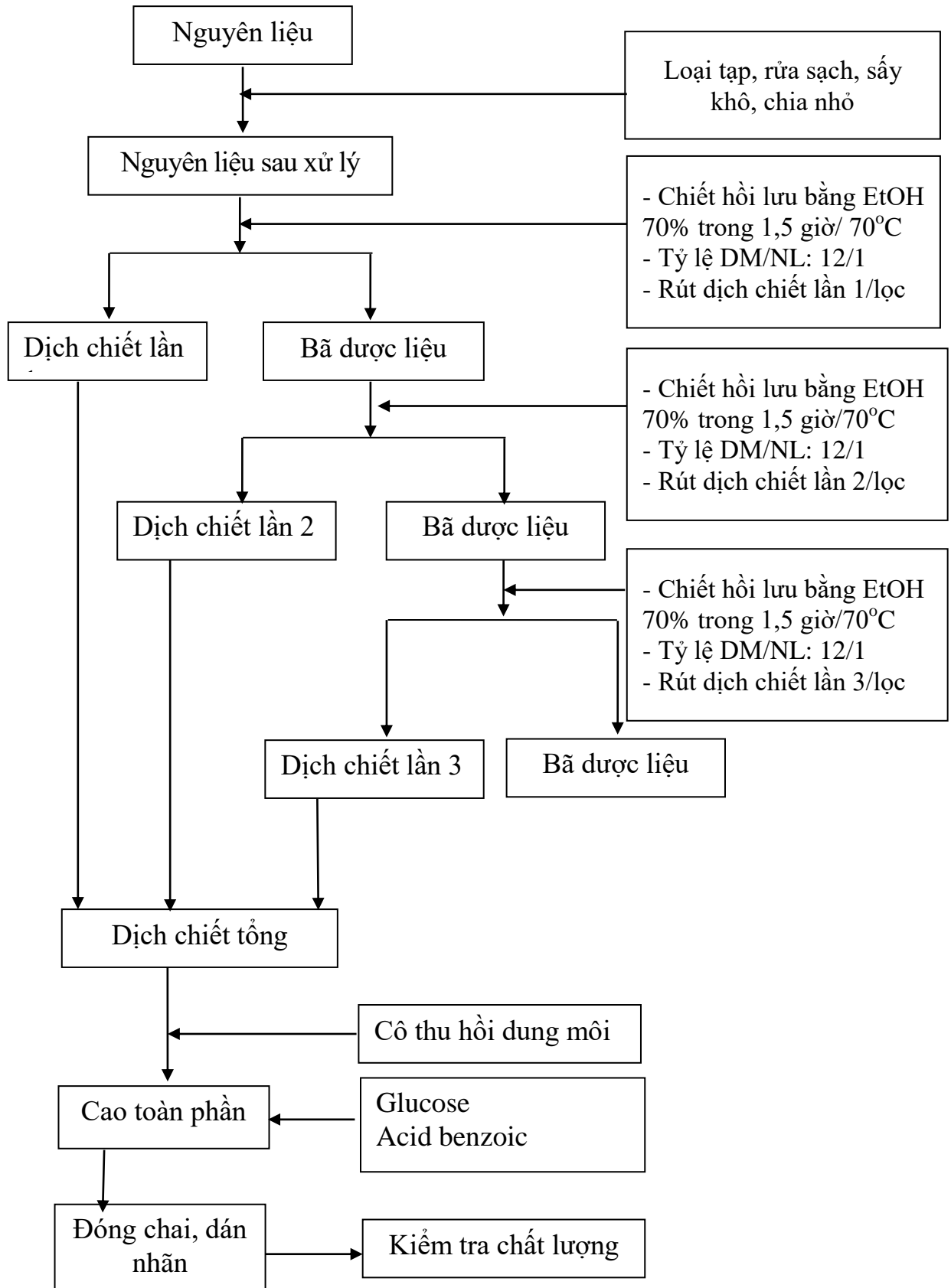
## CHƯƠNG II. ĐẶC ĐIỂM NGUYÊN PHỤ LIỆU

STT	TÊN NGUYÊN LIỆU	ĐẠT TIÊU CHUẨN
1	Cà gai leo ( <i>Herba Solani procumbensis</i> )	Đạt tiêu chuẩn DĐVN V.
2	Chó đẻ răng cưa ( <i>Herba Phyllanthi amari</i> )	Đạt tiêu chuẩn DĐVN V.
3	Chùm ngây ( <i>Radix Paeoniae lactiflorae</i> )	Đạt tiêu chuẩn DĐVN V.
4	Đường Glucose ( <i>Saccharum</i> )	Đạt tiêu chuẩn thực phẩm
5	Acid benzoic ( <i>Acidum benzoicum</i> )	Đạt tiêu chuẩn DĐVN V.
6	Nước tinh khiết	Đạt tiêu chuẩn DĐVN V.

## CHƯƠNG III. MÁY MÓC, THIẾT BỊ

STT	Tên máy móc thiết bị	ĐVT	Số lượng
1	Hệ thống chiết xuất	Hệ thống	01
2	Hệ thống cô chân không	Hệ thống	01
3	Cân kỹ thuật	Cái	01
4	Cân đĩa	Cái	01
5	Ống đong các loại	Cái	02
6	Xô Inox	Cái	04
7	Cốc thủy tinh	Cái	01
8	Túi lọc	Cái	01

## CHƯƠNG IV. SƠ ĐỒ CÁC GIAI ĐOẠN SẢN XUẤT



## **CHƯƠNG V. MÔ TẢ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT**

### *Giai đoạn sơ chế:*

- Lựa chọn nguyên liệu: Để loại bỏ những bộ phận không dùng, không đủ tiêu chuẩn làm thuốc. Tạo ra sự đồng đều về mặt kích thước.

- Rửa: Nhằm làm sạch, làm mềm nguyên liệu để thuận tiện cho việc thái phiến, định hình nguyên liệu.

- Sấy: Nguyên liệu được cho vào các khay và tiến hành sấy trong tủ sấy. Nhiệt độ sấy được cài ở 70°C.

### *Giai đoạn chiết xuất*

- Cho dược liệu đã sơ chế vào nồi nấu tuần hoàn.

- Gài vỉ nồi nấu. Đổ dung môi ngập dược liệu khoảng 20 cm

- Vận hành nồi nấu, mở van hơi từ từ, cấp hơi vào nồi chiết.

- Các thông số của quá trình chiết xuất:

+ Dung môi chiết: Ethanol 70%.

+ Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu: 12/1.

+ Thời gian chiết mỗi lần: 1,5 giờ.

+ Nhiệt độ chiết xuất: 70°C

- Rút dịch chiết, lắng, lọc.

Các tiểu phân, các tạp chất không tan, tủa hoặc vẩn đục lơ lửng trong dịch chiết, sẽ lắng xuống sau một thời gian. Thời gian để lắng tỷ lệ nghịch với kích thước của tiểu phân và hiệu số tỷ trọng của các tiểu phân chất rắn với dịch chiết, tỷ lệ thuận với độ nhớt của dịch chiết. Các tạp chất tan trong dịch chiết cần phải loại bằng nhiều cách khác nhau. Dịch chiết sau khi để lắng, gạn lọc qua vải lọc. Thu lấy dịch trong.

- Tiếp tục bổ sung dung môi. Số lần chiết xuất: 3 lần

- Cô thu hồi dung môi: Dịch chiết sau khi để lắng, lọc sẽ được tiến hành cô thu hồi dung môi. Khi cô không được gây phân hủy hoạt chất có trong dịch



chiết, do vậy cần đảm bảo các điều kiện: Cô ở nhiệt độ thấp, thời gian cô ngắn, cô dịch chiết loãng trước, dịch chiết đặc sau. Tiến hành cô thu hồi dung môi trên thiết bị tuần hoàn áp suất giảm, nhiệt độ 60°C. Dung môi thu hồi được sử dụng cho những lần chiết xuất tiếp theo.

- Cao lỏng thu được có tỷ lệ (01 ml cao lỏng tương ứng với 01 g nguyên liệu), thêm chất bảo quản, điều vị. Cao lỏng có khuynh hướng bị lắng cặn vì vậy để cao lỏng ở chỗ mát trong thời gian ít nhất 3 ngày, rồi lọc.

- Đóng gói, dán nhãn, bảo quản: Dán nhãn đúng quy chế, bảo quản nơi thoáng mát, khô ráo, nhiệt độ ít thay đổi.



**Hình 1 . Giai đoạn đóng chai, dán nhãn**

- Kiểm nghiệm thành phẩm: Kiểm nghiệm theo Tiêu chuẩn cơ sở.



*Hình 2. Giai đoạn kiểm nghiệm chất lượng thành phẩm*

## **CHƯƠNG VI: PHƯƠNG PHÁP KIỂM SOÁT VÀ KIỂM NGHIỆM**

### **1. Kiểm soát nguyên liệu**

<b>Giai đoạn kiểm tra</b>	<b>Nội dung kiểm tra</b>	<b>Số lần kiểm tra</b>	<b>Thời gian kiểm tra</b>	<b>Phương pháp kiểm tra</b>	<b>Người kiểm tra</b>
Nguyên phụ liệu	Đúng loại, tạp chất chỉ trong giới hạn cho phép, không mốc	01	Khi nhận từ kho chính	Cảm quan, đối chiếu với tiêu chuẩn.	Phụ trách kỹ thuật SX + CB được phân công thực hiện.
Cân, đong	Công thức,	01	Trước khi	3 kiểm tra	Phụ trách

	trọng lượng, thể tích		sơ chế	3 đối chiếu	kỹ thuật SX + CB được phân công thực hiện
--	-----------------------	--	--------	-------------	---

**2. Kiểm tra bán thành phẩm, bao bì, nhãn.**

<b>Giai đoạn kiểm tra</b>	<b>Nội dung kiểm tra</b>	<b>Số lần kiểm tra</b>	<b>Thời gian kiểm tra</b>	<b>Phương pháp kiểm tra</b>	<b>Người kiểm tra</b>
Bán thành phẩm	Màu sắc, mùi vị, độ trong, độ đồng nhất, tỉ trọng, giới hạn kim loại nặng	01	Trước khi đóng chai	Kiểm tra theo TCCS	Người lấy mẫu: Cán bộ phụ trách chất lượng.
Bao bì, nhãn	Đúng quy chế	01	Trước khi đóng chai	Cảm quan đối chiếu với nhãn gốc	Cán bộ kỹ thuật + Người được phân công thực hiện

**3. Kiểm tra thành phẩm, đóng gói, nhập kho.**

<b>Giai đoạn kiểm tra</b>	<b>Nội dung kiểm tra</b>	<b>Số lần kiểm tra</b>	<b>Thời gian kiểm tra</b>	<b>Phương pháp kiểm tra</b>	<b>Người kiểm tra</b>
---------------------------	--------------------------	------------------------	---------------------------	-----------------------------	-----------------------

Thành phẩm	Màu sắc, mùi vị, độ trong, độ đồng nhất, tỉ trọng, giới hạn kim loại nặng, định tính	01	Trước khi đóng chai	Gửi mẫu Trung tâm kiểm nghiệm để kiểm tra theo TCCS	Người lấy mẫu: cán bộ phụ trách chất lượng
Nhập kho	Đúng số lượng	01	Trước khi nhập kho	Đối chứng phiếu nhập kho	Thủ kho

## **CHƯƠNG VII. ĐÓNG GÓI**

Chai nhựa, nút rửa sạch, đem sấy nhẹ cho khô. Dung dịch thuốc đóng chai 250ml đã được xử lý, nút chặt, dán nhãn đúng quy chế.

## **CHƯƠNG VIII. VỆ SINH AN TOÀN LAO ĐỘNG**

Phòng sản xuất phải được vệ sinh sạch sẽ trước và sau khi sản xuất

Máy móc phải được lau chùi sạch sẽ.

Khay chậu và các dụng cụ cần thiết phải được rửa sạch, sấy khô trước khi sản xuất.

Người sản xuất phải mặc trang phục, đội mũ, đeo khẩu trang đúng quy chế trong khi làm việc.

Máy móc thiết bị phải có nội quy sử dụng

## Phụ lục 2: TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

SỞ Y TẾ THÁI NGUYÊN	<b>CAO LỎNG GIẢI ĐỘC GAN</b>	Số TC:
BỆNH VIỆN YHCT		Có hiệu lực từ : / /2021

Ban hành kèm theo quyết định số      Ngày      tháng      năm 2021

### 1. Yêu cầu kỹ thuật

#### 1.1. Công thức sản xuất

Cho 1 chai 250ml

Nguyên liệu	Số lượng	Nguyên liệu	Số lượng
Cà gai leo	80 g	Đường Glucose	25 g
Chó đẻ răng cưa	80 g	Acid benzoic	0,5 g
Chùm ngây	80 g	Nước tinh khiết	Vừa đủ

#### 1.2 Nguyên liệu, phụ liệu

STT	TÊN NGUYÊN LIỆU	ĐẠT TIÊU CHUẨN
1	Cà gai leo ( <i>Herba Solani procumbensis</i> )	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V.
2	Chó đẻ răng cưa ( <i>Herba Phyllanthi amari</i> )	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V.
3	Chùm ngây ( <i>Radix Paeoniae lactiflorae</i> )	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V.
4	Đường Glucose ( <i>Saccharum</i> )	Đạt tiêu chuẩn thực phẩm

5	Acid benzoic ( <i>Acidum benzoicum</i> )	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V.
6	Nước tinh khiết	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V.

### 1.3 Yêu cầu chất lượng:

- **Tính chất:** Chất lỏng sánh, có mùi vị đặc trưng của dược liệu, màu nâu đen, vị hơi đắng.
- **Độ tan:** Tan hoàn toàn trong dung môi
- **Độ trong, độ đồng nhất:** Cao lỏng phải sánh đồng nhất, không có váng mốc, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.
- **Tỷ trọng:** Từ 0,95 đến 1,10 (Phụ lục 6.5, Phương pháp dùng tỷ trọng kế)
- **Giới hạn kim loại nặng:** Không quá 20 phần triệu
- **Định tính:** Xuất hiện phản ứng của các nhóm chất Alcaloid (moringin và moringinin) Glycoalcaloid, Phyllanthin và hypophyllanthin

## 2. PHƯƠNG PHÁP THỬ

**2.1 Màu sắc, mùi vị:** Bằng cảm quan cao lỏng phải có màu nâu đen, thơm mùi dược liệu.

**2.2. Độ trong và độ đồng nhất:** Cao lỏng phải sánh đồng nhất, không có váng mốc, cặn bã dược liệu, vật lạ.

*Cách tiến hành:* Lấy riêng phần phía trên của chai thuốc chỉ để lại khoảng 10 ml đến 15 ml. Chuyển phần trong chai vào một bát sứ men trắng, nghiêng bát cho chúng chảy trên thành bát tạo thành một lớp để quan sát. Quan sát dưới ánh sáng tự nhiên thuốc phải đạt yêu cầu theo quy định. Nếu không đạt phải thử lại lần 2 với chai thuốc khác, nếu không đạt coi như lô thuốc không đạt.

**2.3. Tỷ trọng:** Ở 20°C: Từ Từ 0,95 đến 1,10 (Phụ lục 6.5 Phương pháp dùng tỷ trọng kế) – Tiêu chuẩn Dược điển VN V.

**2.4. Giới hạn kim loại nặng:** Phương pháp thử theo Phụ lục 9.4.8, Dược điển

Việt Nam V

### 2.5. Định tính.

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính
1	Alcaloid Glycoalcaloid	TT Mayer
		TT Bouchardat
		TT Dragendoff
2	Phyllanthin và hypophyllanthin	Sắc ký lớp mỏng

### 3. ĐÓNG GÓI, BẢO QUẢN, HẠN DÙNG

- Đóng gói: Chai 250ml.
- Nhãn rõ ràng, đúng quy chế.
- Bảo quản: Nơi khô ráo thoáng mát.
- Hạn dùng: 12 tháng kể từ ngày sản xuất.

# Phụ lục 3

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

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

Hà Nội, ngày 11 tháng 11 năm 2023

## GIẤY XÁC NHẬN

Trung tâm Dược Lý lâm sàng, Trường Đại học y Hà Nội xác nhận:

Học viên cao học: **Đào Ngọc An**

Lớp cao học: K14 ngành Y học cổ truyền Mã: 8720115

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

Đã tham gia nghiên cứu và thực hiện đề tài: **Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng bảo vệ tế bào gan của “Cao lỏng giải độc gan” trên thực nghiệm.**

Tại: Trường Đại học Y Hà Nội, với sự giúp đỡ của nghiên cứu viên và kỹ thuật viên Trung tâm Dược Lý lâm sàng.

Nội dung thực hiện: Phần nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng bảo vệ tế bào gan của “Cao lỏng giải độc gan” trên động vật thực nghiệm.

Thời gian từ: 05 / 05 / 2023 đến 31 / 10 / 2023

Cán bộ hướng dẫn khoa học: 1. TS Nguyễn Thị Minh Thu

2. TS Phạm Thanh Tùng

Giám đốc Trung tâm dược lý lâm sàng



PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh