

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



ĐẶNG THỊ MINH

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GIẢM ĐAU,
CHỐNG VIÊM VÀ HẠ ACID URIC MÁU CỦA
VIÊN NANG CỨNG “ĐỊNH THỐNG PHONG”
TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

HÀ NỘI - 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



ĐẶNG THỊ MINH

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GIẢM ĐAU,
CHỐNG VIÊM VÀ HẠ ACID URIC MÁU CỦA
VIÊN NANG CỨNG “ĐỊNH THỐNG PHONG”
TRÊN THỰC NGHIỆM**

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS Vũ Ngọc Thắng
2. PGS.TS Đoàn Minh Thụy

HÀ NỘI - 2023

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt thời gian học tập và nghiên cứu tại Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam, tôi đã nhận được nhiều sự giúp đỡ tạo điều kiện của các tập thể, cá nhân, gia đình, bạn bè. Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc tới:

Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng Đào tạo Sau Đại học, các Bộ môn, khoa phòng và các thầy cô trong Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam. đã quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi học tập và nghiên cứu để hoàn thành đề tài này.

Với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới TS Vũ Ngọc Thắng và PGS.TS Đoàn Minh Thụy đã trực tiếp chỉ bảo tôi những kinh nghiệm quý báu, luôn tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và thực hiện luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn quý Thầy, Cô - những nhà khoa học trong Hội đồng thông qua đề cương và Hội đồng chấm luận văn đã đóng góp cho tôi nhiều ý kiến quý báu và khoa học để tôi hoàn thành luận văn này.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến những người thân trong gia đình cùng những người bạn đã luôn bên tôi, chia sẻ và tạo mọi điều kiện tốt nhất cho tôi trong thời gian học tập, nghiên cứu và hoàn thiện luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn !

Hà Nội, ngày 28 tháng 12 năm 2023.

Đặng Thị Minh

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Đặng Thị Minh**, học viên cao học khóa 14 - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS Vũ Ngọc Thắng và PGS.TS Đoàn Minh Thụy
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

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

Hà Nội, ngày 28 tháng 12 năm 2023

Người viết cam đoan

Đặng Thị Minh

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Quan điểm của Y học hiện đại về bệnh gút.....	3
1.1.1. Đại cương về bệnh gút	3
1.1.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh.....	4
1.1.3. Triệu chứng và tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh gút	5
1.1.4. Điều trị bệnh gút.....	7
1.2. Quan điểm của y học cổ truyền về bệnh gút	10
1.2.1. Bệnh danh.....	10
1.2.2. Bệnh nguyên và cơ chế bệnh sinh	10
1.2.3. Chẩn đoán và điều trị theo thể bệnh YHCT	13
1.3. Một số nghiên cứu điều trị bệnh gút (thống phong) bằng y học cổ truyền.....	15
1.3.1. Nghiên cứu thực nghiệm	15
1.3.2. Nghiên cứu lâm sàng	19
1.4. Mô hình dược lý thực nghiệm đánh giá tác dụng giảm đau, chống viêm và hạ acid uric máu	22
1.4.1. Đánh giá tác dụng giảm đau.....	22
1.4.2. Đánh giá tác dụng chống viêm.....	24
1.4.3. Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu	25
1.5. Tổng quan về viên nang cứng “Định Thống Phong”	25
1.5.1. Xuất xứ, thành phần, công thức bào chế	25
1.5.2. Phân tích thành phần dược liệu trong viên nang cứng ĐTP	27
1.5.3. Các nghiên cứu đã thực hiện về viên nang cứng ĐTP.....	28
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	29
2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu	29

2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu.....	29
2.1.2. Động vật nghiên cứu	29
2.1.3. Thuốc và hóa chất nghiên cứu.....	30
2.1.4. Dụng cụ, máy móc, thiết bị	30
2.2. Phương pháp nghiên cứu	31
2.2.1. Đánh giá tác dụng giảm đau.....	31
2.2.2. Đánh giá tác dụng chống viêm.....	33
2.2.3. Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu	34
2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	35
2.3.1. Địa điểm nghiên cứu	35
2.3.2. Thời gian nghiên cứu	35
2.4. Sơ đồ nghiên cứu	35
2.5. Xử lý số liệu.....	36
2.6. Sai số và phương pháp khống chế sai số	36
2.7. Đạo đức trong nghiên cứu	36
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	37
3.1. Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau.....	37
3.1.1. Tác dụng giảm đau trung ương bằng phương pháp mâm nóng	37
3.1.2. Tác dụng giảm đau ngoại vi trên mô hình gây đau quặn	38
3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm.....	44
3.3. Kết quả đánh giá tác dụng hạ acid uric máu	49
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	50
4.1. Bàn luận về tác dụng giảm đau của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm.	50
4.1.1. Trên mô hình mâm nóng	50
4.1.2. Trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic.....	52
4.2. Bàn luận về tác dụng chống viêm của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm	56

4.3. Bàn tác dụng hạ acid uric máu của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm.	60
KẾT LUẬN	63
KIẾN NGHỊ	65
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

ACR	American College of Rheumatology (Hội Thấp khớp học Hoa Kỳ)
ALT	Alanin amino transferase
AST	Aspartat amino transferase
AU	Acid uric
ĐTP	Định Thống Phong
EDTA	Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid
EULAR	European League Against Rheumatism (Liên đoàn chống bệnh thấp khớp Châu Âu)
FDA	Food and Drug Administration (Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ)
HGPRT	Hypoxanthine-guanine Phosphor Ribosyl Transferase
hUAT	human uric acid transporter
LD	Lethal dose (liều gây chết)
NSAIDs	Nonsteroidal anti- inflammatory drugs (Thuốc chống viêm không chứa steroid)
URAT	Urate transporter
PRPP	Phospho Ribosyl Pyro Phosphate
UAT	Uric Acid Transporter
XO	Xanthin oxydase
YHCT	Y học cổ truyền
YHHĐ	Y học hiện đại

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	Khả năng ức chế XO của một số thảo dược	15
Bảng 1.2.	Thành phần của bài thuốc HPA và viên nang cứng ĐTP	26
Bảng 1.3.	Công thức bào chế viên nang cứng ĐTP	27
Bảng 3.1.	Thời gian phản ứng của chuột trên mô hình mâm nóng.....	37
Bảng 3.2.	Kết quả số cơn đau quặn trong 10 phút đầu	38
Bảng 3.3.	Kết quả số cơn đau quặn trong 10 phút tiếp theo	39
Bảng 3.4.	So sánh số cơn đau quặn trong cùng một lô	41
Bảng 3.5.	Tổng số cơn đau quặn của chuột trong 20 phút.....	43
Bảng 3.6.	Thể tích bàn chân chuột (ml) tại các thời điểm nghiên cứu	44
Bảng 3.7.	% tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm sau 30 phút và 60 phút	46
Bảng 3.8.	% tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm sau 90 phút và 120 phút	47
Bảng 3.9.	Nồng độ acid uric máu chuột của các lô nghiên cứu.....	49

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. % ức chế phù bàn chân chuột của các lô nghiên cứu	48
--	----

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh gút (Gout) là một bệnh rối loạn chuyển hóa do tăng acid uric trong máu dẫn đến kết tủa các tinh thể monosodium urat trong và xung quanh khớp, thường gây viêm khớp cấp tính hoặc mạn tính tái phát [1]. Theo Mats Dehlin và cộng sự (2020) tỷ lệ lưu hành của gút trên thế giới dao động từ dưới 1% đến 6,8%; tỷ lệ mắc mới là 0,58 – 2,89 trên 1000 người/năm và đang gia tăng ở các nước đang phát triển [2]. Một loạt các yếu tố có thể lý giải cho sự gia tăng này là tuổi thọ con người ngày càng cao; thay đổi trong thói quen ăn uống, sinh hoạt; tỷ lệ người béo phì và mắc hội chứng chuyển hóa ngày càng tăng [3]. Tại Việt Nam, nghiên cứu của tác giả Phạm Văn Tú (2020) cho thấy tỷ lệ mắc bệnh gút chiếm 12,1% trong nhóm bệnh nhân nam giới dưới 40 tuổi [4]. Nếu không được chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời, bệnh tiến triển ngày càng nặng dẫn đến hủy hoại khớp ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của bệnh nhân và là gánh nặng cho gia đình và xã hội [5].

Trong điều trị bệnh gút mạn tính, y học hiện đại (YHHĐ) chú trọng sử dụng các thuốc hạ acid uric (AU) máu. Tuy nhiên, việc điều trị này cũng thường kéo dài nhiều tháng do đó để tránh khởi phát đợt cấp của bệnh, YHHĐ cũng thường kết hợp thuốc hạ acid uric máu với Colchicin và các thuốc chống viêm [6], [7]. Các thuốc này có tác dụng nhanh, hiệu quả tốt nhưng có nhiều tác dụng không mong muốn như: các thuốc chống viêm giảm đau gây viêm, loét đường tiêu hóa [8], thuốc Colchicin gây tiêu chảy và các rối loạn tiêu hóa [9], Allopurinol là thuốc hạ acid uric được sử dụng phổ biến hiện nay, tuy nhiên thuốc có thể gây dị ứng thuốc với tỉ lệ cao ở người châu Á [10], [11].

Trong Y học cổ truyền (YHCT) không có bệnh danh bệnh gút, dựa trên những biểu hiện lâm sàng người ta có thể liên hệ với chứng “Thống phong” [12], [13], [14]. Đây là chứng bệnh được biết đến từ lâu, các thầy thuốc

YHCT đã đưa ra nhiều phương pháp cũng như vị thuốc và bài thuốc để điều trị bệnh đạt hiệu quả cao. Năm 2013, tác giả Trần Đăng Đức và cộng sự đã nghiên cứu thành công bài thuốc HPA có tác dụng kiện tỳ bổ thận, táo thấp hóa đàm, khu phong trừ thấp, hoạt huyết hóa ứ, chỉ thống đã được nghiên cứu trên lâm sàng với hiệu quả rất rõ rệt: tác dụng hạ AU máu 96%, tác dụng giảm đau đạt 78% khá và tốt [15]. Ngoài ra, dây gấm và hy thiêm thảo đã được chứng minh tác dụng giảm đau, chống viêm, hạ acid uric máu có nhiều lợi ích trong điều trị gút [16], [17]. Kế thừa các kết quả nghiên cứu trước đó, viên nang cứng “Định Thống Phong” được nghiên cứu bào chế trên cơ sở bài thuốc HPA và phối hợp với dây gấm, hy thiêm thảo với mong muốn tạo ra một sản phẩm mới có tác dụng hạ AU máu, chống viêm, giảm đau và ít tác dụng không mong muốn. Do bổ sung thêm 2 vị và chuyển dạng bào chế nên chế phẩm cần được đánh giá tác dụng trên động vật thực nghiệm, do vậy: **“Nghiên cứu tác dụng giảm đau, chống viêm và hạ acid uric máu của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm”** được tiến hành với hai mục tiêu:

- 1. Đánh giá tác dụng giảm đau, chống viêm của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm.*
- 2. Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Quan điểm của Y học hiện đại về bệnh gút

1.1.1. Đại cương về bệnh gút

1.1.1.1. Định nghĩa

Bệnh gút (Gout) là bệnh khớp vi tinh thể, do rối loạn chuyển hóa các nhân purin có đặc điểm chính là tăng acid uric máu, gây lắng đọng tinh thể monosodium urat, và là một trong những bệnh được biết đến rất sớm, từ năm 2600 trước công nguyên [8]. Đây là bệnh do rối loạn chuyển hóa và là bệnh viêm khớp phổ biến nhất ở nam giới [18].

1.1.1.2. Dịch tễ học

Các nghiên cứu trên thế giới đều chỉ ra rằng bệnh gút ngày càng phổ biến ở các nước tiên tiến với tỉ lệ mắc gia tăng nhanh. Ở Châu Đại Dương, tỷ lệ mắc bệnh gút cao nhất thế giới, đặc biệt ở một số nhóm dân tộc cụ thể như thổ dân Đài Loan và Maori với tỷ lệ mắc trên 10%. Một nghiên cứu ở Úc cho thấy, tỷ lệ mắc dao động từ 1,5% ở người trên 20 tuổi trong giai đoạn 2008-2013 đến 6,8% với những trường hợp bệnh gút tự báo cáo trên toàn bộ dân số năm 2015 [19], [20], [21], [22]. Ở Bắc Mỹ: tỷ lệ mắc bệnh gút ở Mỹ là khác cao, với 3 - 4% người trưởng thành bị ảnh hưởng trong năm 2007 - 2008. Khảo sát nghiên cứu về Sức khỏe và Dinh dưỡng Quốc gia (NHANES) năm 2015 - 2016, tỷ lệ mắc bệnh gút được chuyên gia y tế chẩn đoán là 3,9% [23], [24]. Ở Châu Âu: bệnh gút phổ biến ở châu Âu, với nghiên cứu ở Pháp, Đức, Hy Lạp, Italia, Hà Lan, Tây Ban Nha, Anh cho thấy tỷ lệ tái phát gút dao động từ 1 - 4% trong giai đoạn 2003 - 2014 [25]. Châu Á: tỷ lệ mắc bệnh gút khác nhau rõ rệt giữa các nước châu Á. Một phân tích tổng hợp năm 2017 của 30 nghiên cứu cho thấy tỷ lệ mắc bệnh gút ở người trưởng thành Trung Quốc là 1,1% với tỷ lệ lưu hành tăng từ 1,0% trong năm 2000 - 2005 lên 1,3%

trong năm 2010 – 2016 [26], [27]. Nghiên cứu tại Hàn Quốc chỉ ra rằng, tỷ lệ mắc bệnh gút tăng từ 0,35% năm 2007 lên 0,76% năm 2015 và sự đoán tăng lên 1,66% năm 2025 [28]. Ngược lại, một nghiên cứu tại các Tiểu Vương Quốc Ả Rập thống nhất cho thấy tỷ lệ mắc bệnh gút là 0,1% [29].

Ở Việt Nam (2015), theo thống kê tại Khoa cơ xương khớp Bệnh viện Bạch Mai, bệnh gút đứng thứ 4 trong 15 bệnh khớp nội trú thường gặp nhất (chiếm tỉ lệ 8%) [30]. Nghiên cứu của tác giả Phạm Văn Tú (2020) cho thấy tỷ lệ mắc bệnh gút chiếm 12,1% trong nhóm bệnh nhân nam giới dưới 40 tuổi [4]. Năm 2023, Nghiên cứu của Nguyễn Thị Bích Ngọc cho thấy tỉ lệ tăng acid uric máu và tỉ lệ bệnh gút ở người trưởng thành đến khám tại phòng khám Y học Gia đình, bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh lần lượt là 34,5% (43,6% ở nam và 26,4% ở nữ) và 5,2% (9,1% ở nam và 1,6% ở nữ) [31].

1.1.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh

1.1.2.1. Nguyên nhân

Các nghiên cứu hiện nay đều chỉ ra rằng tăng acid uric máu và bệnh gút có mối liên quan chặt chẽ [1], [8]. Tùy theo nguyên nhân gây ra bệnh, bệnh gút được phân thành gút nguyên phát, gút thứ phát và gút do các bất thường về enzym.

Gút nguyên phát chiếm tỉ lệ > 95% trường hợp tăng acid uric máu và gút, nguyên nhân còn chưa rõ, có thể do nhiều yếu tố như: dinh dưỡng (ăn nhiều đạm [8], uống nhiều rượu bia [30]...), gen và di truyền (1/3 bệnh nhân gút có cha mẹ bị bệnh gút [8]). Gút thứ phát chiếm tỉ lệ 2 – 5% các trường hợp gút. Gút do bất thường về enzym là bệnh di truyền hiếm gặp do thiếu hụt toàn bộ hoặc một phần enzym Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT), hoặc tăng hoạt tính của enzym Phosphoribosyl pyrophosphate (PRPP) [8].

1.1.2.2. Cơ chế bệnh sinh

Cơ chế bệnh sinh chính của bệnh gút là sự tích lũy acid uric ở mô, tạo nên các microtophi. Khi các hạt tôphi tại sụn khớp bị vỡ sẽ khởi phát cơn gút cấp; sự lắng đọng vi tinh thể cạnh khớp, trong màng hoạt dịch, trong mô sụn và mô xương sẽ dẫn đến bệnh xương khớp mạn tính do gút; sự có mặt vi tinh thể urat tại mô mềm, bao gân tạo nên hạt tôphi, và cuối cùng, viêm thận kẽ (bệnh thận do gút) là do tinh thể urat lắng đọng tại tổ chức kẽ của thận. Acid uric niệu tăng và sự toan hóa nước tiểu dẫn đến sỏi tiết niệu trong bệnh gút [8].

1.1.3. Triệu chứng và tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh gút

1.1.3.1. Triệu chứng bệnh gút

Tiến triển của bệnh gút diễn biến qua 4 giai đoạn: Tăng acid uric máu; viêm gút cấp tính; gút gian phát; bệnh gút mạn tính có hạt tôphi [8].

❖ Tăng acid uric máu không có triệu chứng

Đó là trường hợp tăng acid uric máu nhưng không có triệu chứng của gút như viêm khớp hay sỏi urat thận. Hầu hết bệnh nhân tăng acid uric máu không có triệu chứng trong suốt cuộc đời [8].

❖ Gút cấp tính

Viêm một khớp gặp trong 85%-90% trường hợp khởi phát gút với khớp bàn ngón chân cái thường gặp.

Con điển hình: thường xuất hiện tự phát, khởi phát đột ngột vào ban đêm.

- Thường gặp ở các khớp ở chi dưới như: Ngón chân cái, bàn ngón chân và gối.

- Khớp đau dữ dội, bỏng rát. Khám khớp sưng, nóng, đỏ, đau.

- Đáp ứng tốt với colchicin, các triệu chứng viêm thuyên giảm hoàn toàn sau 48 giờ.

- Con gút cấp có thể tự khỏi trong vòng 1 - 2 tuần hoặc không cần điều trị [8].

❖ **Gút gian phát**

Là thời kỳ giữa các đợt viêm khớp. Hầu hết bệnh nhân bị đợt gút thứ hai sau 6 tháng đến 2 năm. Khoảng 62% bệnh nhân bị tái phát trong năm đầu. 16% trong thời gian từ 1 đến 2 năm, 11% từ 2 đến 5 năm, 4% từ 5 đến 10 năm và 7% không bị tái phát trong khoảng từ 10 năm trở lên [8].

❖ **Gút mạn tính**

Sau khi cơn gút cấp kết thúc, giữa các đợt cấp hoàn toàn không có triệu chứng lâm sàng. Tùy theo tình trạng của mỗi bệnh nhân mà có thể có các cơn thưa vài tháng, thậm chí vài năm mới có một cơn. Đôi khi có các cơn liên tiếp, cơn càng mau, mức độ cơn càng trầm trọng. Tổn thương có thể ở khớp ban đầu, song thường gặp là tổn thương thêm các khớp khác: Ngón chân cái bên đối diện, khớp bàn - ngón, khớp cổ chân, gôi. Các khớp ở bàn tay hiếm gặp ở giai đoạn gút cấp, song rất thường gặp ở giai đoạn gút mạn tính. Có thể tìm thấy tinh thể urat trong dịch khớp và phát hiện các tổn thương xương trên phim chụp X - quang. Cuối cùng, sau khoảng 10 đến 20 năm với các đợt gút cấp, bệnh nhân sẽ xuất hiện hạt tôphi, bệnh thận do gút [1].

1.1.3.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán

Tiêu chuẩn Bennett – Wood (1968):

A. Hoặc tìm thấy tinh thể urat trong dịch khớp hay hạt tôphi.

B. Hoặc có ít nhất hai trong số các tiêu chuẩn sau:

+ Tiền sử hoặc hiện tại có ít nhất hai đợt sưng khớp với tính chất khởi phát đột ngột, sưng đau dữ dội và khỏi hoàn toàn trong vòng 2 tuần.

+ Tiền sử hoặc hiện tại có một đợt sưng khớp bàn ngón chân cái với tính chất như trên.

+ Có hạt tôphi.

+ Đáp ứng tốt với colchicin (giảm viêm, giảm đau trong vòng 48 giờ trong tiền sử hoặc hiện tại).

Chẩn đoán xác định khi có tiêu chuẩn A hoặc 2 yếu tố của tiêu chuẩn B [1], [8].

1.1.3.3. Chẩn đoán phân biệt

Viêm khớp nhiễm khuẩn, viêm khớp phản ứng, viêm khớp dạng thấp, viêm khớp giả gút, viêm mô tế bào, ngộ độc chì mạn tính... [12].

1.1.4. Điều trị bệnh gút

❖ *Nguyên tắc điều trị*

- Điều trị các đợt cấp.
- Dự phòng cơn gút cấp.
- Giảm nồng độ AU máu, ngăn chặn đợt cấp và lắng đọng tinh thể urat.
- Phẫu thuật cắt bỏ hạt tôphi.
- Giáo dục bệnh nhân về phòng và quản lý bệnh.

1.1.4.1. Điều trị gút cấp tính

- Gút cấp cần được điều trị ngay trong vòng 24 giờ khởi phát.
- Thuốc hạ AU đang dùng thì cần được dùng tiếp trong cơn gút cấp.
- NSAIDs, corticoid hoặc colchicin phù hợp cho lựa chọn đầu tiên trong gút cấp và phối hợp thuốc cho những trường hợp nặng và khó chữa.
- Phương pháp điều trị kết hợp được chấp nhận bao gồm:
 - + Colchicin và NSAIDs.
 - + Steroid đường uống (khi không đáp ứng NSAIDs) và colchicin.
 - + Steroid trong tiêm với tất cả các phương thức khác [32].

1.1.4.2. Điều trị gút mạn tính

Mục đích: tránh các cơn gút cấp, tránh tổn thương các tạng. Thường phải hạ acid uric máu dưới 60 mg/l (360 μ mol/l). Để đạt được mục tiêu cần thực hiện tốt chế độ ăn và chế độ dùng thuốc [33].

❖ Thuốc ức chế tổng hợp acid uric

Hiện nay, có hai thuốc ức chế tổng hợp acid uric được sử dụng trong điều trị bệnh gút là allopuriol và febuxostat [33], [34].

Allopurinol là thuốc được chỉ định đầu tiên trong điều trị hạ acid uric máu, do Febuxostat gây tăng tỉ lệ bệnh lý về tim mạch và giá thành cao hơn nhiều so với Allopurinol [33].

Allopurinol: hấp thu qua đường uống khoảng 80%, đạt nồng độ tối đa trong máu sau 30 – 60 phút. Allopurinol cũng bị chuyển hóa bởi XO thành aloxanthin, vẫn còn hoạt tính, vì thế tác dụng kéo dài, chỉ uống mỗi ngày một lần. Tác dụng không mong muốn thường gặp của allopurinol là ngứa, ban đỏ ngoài da, mày đay... [35].

Liều dùng: 50-100 mg/ngày, sau đó tăng dần liều 50 – 100mg hai tuần/lần. Có thể dùng đến 200-400 mg/24 giờ. Allopurinol cần được dùng với liều thấp nhất có thể giảm urat huyết thanh xuống mức dưới 5-6 mg/dL. Liều thường dùng nhất là 300 mg/ngày. Tuy nhiên tỷ lệ bệnh nhân không đạt mục tiêu trên là 21% - 55%. Ở những đối tượng này cần dùng liều cao hơn (tối đa 800mg/ngày) [8].

Febuxostat: Là thuốc có tác dụng ức chế chọn lọc men xanthine oxidase. Thuốc có cấu trúc hoá học khác allopurinol và không chứa purin. Thuốc có tác dụng ức chế tổng hợp acid uric mạnh, làm giảm nồng độ acid uric máu tốt hơn allopurinol Chủ yếu chuyển hoá ở gan. Nhìn chung là thuốc an toàn và dung nạp tốt. Có thể dùng liều 80-120 mg/ngày. Febuxostat làm giảm 50-80% kích thước hạt tôphi sau 1 năm và ~50% hạt tôphi biến mất sau 2 năm điều trị. Febuxostat là một giải pháp tốt cho bệnh nhân không dung nạp hay quá mẫn với allopurinol Thuốc dùng được cho bệnh nhân suy thận ở mức độ nhẹ và trung bình mà không phải chỉnh liều [8].

❖ Các thuốc tăng thải acid uric

Probenecid (Benemid), Sulfinpyrazon (Auturan), Benzbromaron, Lesinurad

Cơ chế: các thuốc nhóm này có tác dụng ức chế tái hấp thu acid uric ở ống thận, tăng thải AU qua thận, tăng AU niệu, làm giảm AU máu [8].

Chỉ định: các trường hợp không dung nạp với các thuốc ức chế tổng hợp AU

Chống chỉ định: gút có tổn thương thận hoặc tăng AU niệu (trên 600mg/24h), sỏi thận [8], [34].

❖ Các thuốc tiêu acid uric: Pegloticase

Uricase là enzym tiêu urat, chuyển acid uric thành allantoin dễ hòa tan. Pegloticase là chất giống uricase, được sử dụng tại Mỹ từ 4/2010 [36]. Thuốc đã được chứng minh có khả năng làm giảm kích thước hạt tôphi trên bệnh nhân gút mạn tính. Do các uricase có tính kháng nguyên nên có thể xuất hiện các kháng thể kháng lại thuốc, làm giảm tác dụng thuốc và các phản ứng do tiêm truyền khá thường gặp, bao gồm cả shock phản vệ [8].

❖ Kiểm hóa nước tiểu

Kiểm hóa niệu bằng các loại nước khoáng có kiềm hoặc nước kiềm natri bicarbonat 1,4 %: uống khoảng 250 – 500 ml mỗi ngày [8].

1.1.4.3. Các phương pháp điều trị khác

❖ Phục hồi chức năng

Trong cơn gút cấp tính, điều trị phục hồi bằng nhiệt lạnh trị liệu, điện phân trị liệu, siêu âm trị liệu, bất động khớp nhằm giảm đau, chống viêm.

Trong giai đoạn gút mạn tính thì vận động khớp nhẹ nhàng, giảm đau bằng dòng điện xoay chiều, xoa bóp các khớp, cơ [37].

❖ Chế độ dinh dưỡng và vận động

- Hạn chế thực phẩm giàu purine, phủ tạng động vật, cá hồi, sò điệp, thịt cừu, bê, dê, thịt hun khói.

- Tránh thức uống có cồn.

- Chế độ ăn giảm béo, giảm các đồ uống có nhiều đường fructose để ngăn ngừa xơ vữa động mạch, giảm cân.

- Ăn nhiều rau xanh, uống nhiều nước và không nên ăn chay.
- Tránh các stress [36].

❖ Điều trị ngoại khoa

Phẫu thuật cắt bỏ hạt tôphi được chỉ định trong trường hợp gút kèm biến chứng loét, bội nhiễm hạt tôphi hoặc hạt tôphi kích thước lớn, ảnh hưởng đến vận động hoặc vì lý do thẩm mỹ. Khi phẫu thuật lưu ý cho dùng colchicin nhằm tránh khởi phát cơn gút cấp [8].

1.2. Quan điểm của y học cổ truyền về bệnh gút

1.2.1. Bệnh danh

Theo YHCT, bệnh gút có tên là Thống phong [13], [38].

Ngoài danh từ “Thống phong”, trong YHCT còn sử dụng nhiều bệnh danh khác để chỉ bệnh gút như: lịch tiết phong, bạch hổ lịch tiết phong, lịch tiết, tý chứng... YHCT xếp bệnh thống phong thuộc phạm trù chứng tý (Tý có nghĩa là bế tắc, không thông) [13].

1.2.2. Bệnh nguyên và cơ chế bệnh sinh

1.2.2.1. Cơ chế bệnh sinh

Trong chương “Tê thấp” sách Nam Dược thần hiệu, Tuệ Tĩnh đã viết “Nguyên nhân gây bệnh là do nguyên khí hư yếu; phong, hàn và thấp, ba khí xâm nhập vào mà sinh bệnh. Nếu phong thắng thì đau chạy khắp, gọi là phong tý hay hành tý. Hàn khí thắng thì đau nhức dữ dội, gọi là hàn tý hay thống tý. Thấp khí thắng thì đau nhức cố định một chỗ, tê dại, cầu không biết đau, gọi là thấp tý hay trước tý” [38].

1.2.2.2. Bệnh nguyên

Theo lý luận của Đông y, nguyên nhân gây bệnh của thống phong nằm trong ba phạm trù gây bệnh, đó là: nội nhân, ngoại nhân và bất nội ngoại nhân.

- Nội nhân

Đó là khi nguyên khí suy kém, chính khí hư, tà khí (lục dâm: phong, hàn, thử, thấp, táo và hỏa) nhân đó mà xâm nhập vào cơ thể gây ra bế tắc kinh mạch; khí huyết vận hành khó khăn, ngưng trệ; công năng của các tạng phủ bị suy giảm, đặc biệt là ba tạng: can, tỳ, thận làm nguồn cung cấp dinh dưỡng cho các cơ quan, tổ chức bị thiếu hụt; quá trình hóa – sinh – dịch – biến bị rối loạn; những chất mới cần thiết không được tạo ra; sản phẩm chuyển hóa không được bài trừ kịp thời, ứ đọng lại, trở thành yếu tố gây bệnh [38].

+ **Tạng thận** là “tiên thiên chi bản”, chủ về khí hóa, thủy dịch. Do vậy, khi thận khí bất túc hoặc bẩm phú không đầy đủ, chức năng khí hóa không hoàn toàn, các sản phẩm chuyển hóa của cơ thể không được kịp thời bài tiết ra ngoài sẽ ứ đọng lại, lâu ngày sinh ra đàm trọc gây bế tắc kinh mạch. Quan điểm này rất gần với nghiên cứu của y học hiện đại trong chuyển hóa purin. Có khoảng 600mg acid uric mà cơ thể đào thải ra ngoài mỗi ngày. Vì vậy chức năng thanh thải acid uric của thận suy giảm cũng là một nguyên nhân gây tăng acid uric máu.

+ Chứng thống phong do đàm trọc ứ đọng lâu ngày mà gây bệnh. **Tạng tỳ** là “hậu thiên chi bản”, có công năng chủ yếu là vận hóa đồ ăn, thức uống, thủy dịch, có nhiệm vụ thăng thanh, giáng trọc những chất tinh vi từ đồ ăn, thức uống được tỳ thăng lên phế, rồi chuyển hóa thành huyết dịch để đi nuôi cơ thể. Những chất cặn bã được đưa xuống dưới để bài tiết ra ngoài. Khi công năng của tỳ kiện vận, thì cơ thể sẽ được nuôi dưỡng đầy đủ. Khi tỳ khí suy kém, thì thủy cốc không được vận hóa hoàn toàn, thanh khí không thăng, trọc khí không giáng, chuyển hóa bị rối loạn “thanh trọc hỗn tạp” (Lý Đông Viên), sản phẩm dư thừa của chuyển hóa ứ đọng lại, sinh ra đàm ẩm. Đàm ẩm lắng đọng lâu dần trở thành trọc độc, gây bệnh cho cơ thể. YHHT cũng cho rằng, chức năng tiêu hóa, chuyển hóa có ý nghĩa sống còn đối với cơ thể. Rối loạn

chuyển hóa purin cũng có ý nghĩa tương đồng với chức năng vận hóa của tạng Tỳ trong YHCT. Sản phẩm thoái giáng cuối cùng của purin là acid uric, cũng có thể coi như chất đàm trọc.

+ **Tạng can** có vai trò cực kỳ quan trọng trong cơ thể con người. Vì thế, người xưa gọi can là: “Tướng quân chi quan”. Can có nhiệm vụ điều tiết tất cả mọi hoạt động của lục phủ, ngũ tạng, kinh mạch, khí huyết trong toàn thân; điều tiết quá trình hóa – sinh – dịch – biến và các hoạt động tinh thần, tình chí. Quan niệm của YHCT về chức năng của tạng can rất rộng, liên quan đến nhiều cơ quan của cơ thể sống. Nhiều tác giả nghiên cứu về tạng can đã nhận thấy có sự tương đồng giữa chức năng sơ tiết với chức năng của hệ thống thần kinh thể dịch, bao gồm cả thần kinh chức năng, thần kinh cao cấp và hệ thống nội tiết của cơ thể.

- Ngoại nhân

Đó là sự tác động của ngoại cảnh, môi trường đến cơ thể sống. Trong chứng tý, 3 trong số 6 tà khí (phong, hàn, thấp) thường phối hợp với nhau, nhân lúc chính khí của cơ thể suy yếu (sức đề kháng giảm), tẩu lý sơ hở mà xâm nhập vào kinh mạch, phủ tạng để gây bệnh [38].

+ **Phong tà:** là nguyên nhân gây bệnh rất thường gặp và thường phối hợp với các tà khí khác như: hàn, thấp, táo, hỏa để gây ra các chứng bệnh trên lâm sàng. Đặc tính gây bệnh của phong là khởi phát nhanh, triệu chứng râm rộ, luôn biến hóa thay đổi. Trong các bệnh cơ khớp, nếu đau không có điểm cố định mà thường di chuyển, thay đổi sẽ được quy loại là “hành tý” – do phong thắng (phong tà đóng vai trò chính).

+ **Hàn tà:** gây bệnh khi qua cơ da xâm nhập vào, gọi là “thương hàn”, có khi nhập thẳng vào tạng phủ, gọi là “trúng hàn”. Đặc tính gây bệnh của hàn tà là ngưng trệ, co rút, đau đón, làm cho khí huyết vận hành không thông. Trên lâm sàng, các chứng đau có đặc điểm như: đau cố định, không di chuyển; gặp

lạnh đau tăng lên; được chườm nóng thì đỡ, đều được quy là “thống tý do hàn thắng” (hàn tà đóng vai trò chính).

+ **Thấp tà:** thường xuất hiện trong môi trường khí hậu ẩm thấp (độ ẩm cao). Thấp tà gây bệnh thường là từ từ, lâu dài, với các đặc tính như: dính nhớt, nặng, đục, làm tổn hại dương khí và cản trở khí cơ. Trên lâm sàng thường xuất hiện các triệu chứng như: người nặng nề, toàn thân ê ẩm, đau nhức, phù sưng, bệnh tình kéo dài, dai dẳng, chữa trị khó khăn, thường quy là “trước tý”, do thấp thắng (thấp đóng vai trò chính).

- Bất nội ngoại nhân

Đây là thói quen sinh hoạt như uống nhiều rượu bia, hút thuốc lá, ăn uống không vệ sinh, không điều độ; chế độ làm việc – nghỉ ngơi không hợp lý, trong đó chế độ ăn uống đóng một vai trò rất quan trọng đối với nguyên nhân gây bệnh thống phong [38].

1.2.3. Chẩn đoán và điều trị theo thể bệnh YHCT

Thống phong được chia thành 4 thể: Thể phong thấp nhiệt; Thể phong hàn thấp; Thể đàm thấp ứ trệ và Thể khí huyết hư, can thận hư [13].

1.2.3.1. Thể phong thấp nhiệt chứng: tương đương với cơn gút cấp

Triệu chứng: Khớp sưng nóng đỏ đau phát bệnh cấp đột ngột. Một hoặc nhiều khớp. kèm phát sốt, sợ gió, miệng khát, phiền muộn bất an, ra mồ hôi, tiểu vàng, lưỡi đỏ, rêu vàng, mạch huyền hoạt sác.

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

Phương dược: Bạch hổ gia quế chi thang

Sinh thạch cao 30g; Tri mẫu 10g; Ngạnh mễ 10g; Cam thảo 6g; Quế chi 6g

1.2.3.2. Thể phong hàn thấp: tương đương với gút cấp/mạn hoặc tái phát.

Triệu chứng: Các khớp sưng đau, không nóng đỏ, co duỗi khó khăn. Hạt dưới da và hạt tôphi. Phong tà phát triển: đau khớp di chuyển, sợ gió và phát sốt. Hàn tà phát triển: đau khớp dữ dội, đau cố định. Thấp tà phát triển

manh: khớp đau nặng, có điểm cố định, tê bì chân tay. Lưỡi có rêu trắng nhòn, mạch huyền khẩn hoặc nhu hoãn.

Pháp điều trị: Khu phong, tán hàn, trừ thấp thông kinh lạc

Phương dược: Ý dĩ nhân thang

Khuong hoạt 12g; Độc hoạt 15g; Phòng phong 15g; Thương truật 10g; Đương quy 10g; Quế chi 10g; Ma hoàng 06g; Ý dĩ nhân 30g; Chế xuyên ô 06g; Sinh khương 06g; Cam thảo 06g.

1.2.3.3. *Thể đàm thấp ú trệ:* tương ứng gút mạn tính tái phát. Hạt tô phi tăng kích thước. Các khớp biến dạng, cứng khớp.

Triệu chứng: Khớp đau tái phát, dai dẳng, lúc nặng lúc nhẹ, cố định không di chuyển, sưng to, biến dạng, hạn chế vận động, hạt tô phi chạm vào không đau hoặc màu tím, loét, chảy dịch. Mạch huyền hoặc trầm hoạt, trầm sác. lưỡi bệu, rêu lưỡi trắng nhòn.

Pháp điều trị: Hoạt huyết hóa ú, hóa đàm tán kết

Phương dược: Đào hồng ẩm hợp nhị trần thang

Đào nhân 10g; Hồng hoa 10g; Đương quy 15g; Phục linh 10g; Xuyên khung 10g; Uy linh tiên 10g; Chế bán hạ 6g; Trần bì 6g; Cam thảo 6g

1.2.3.4. *Thể khí huyết hư, can thận hư:* tương đương gút mạn tính lâu ngày

Triệu chứng: Khớp đau tái phát lâu ngày không giảm khi nặng khi nhẹ. Khớp đau di động không cố định. Biến dạng, cơ cứng khớp, cử động khó khăn. Lưng gối đau mỏi, gót chân đau. Thần lực không đủ, tâm khí đoản, sắc mặt ít tươi, mạch trầm tế huyền, vô lực. Lưỡi nhòn rêu trắng.

Pháp điều trị: Bổ khí huyết, bổ can thận, khu phong thắng thấp, thông kinh lạc chỉ thống.

Phương dược: Độc hoạt tang ký sinh thang

Đẳng sâm 10g; Phục linh 15g; Đương quy 10g; Bạch thược 15g; Thục địa 15g; Đỗ trọng 15g; Ngưu tất 15g; Nhục quế 6g; Tế tân 3g; Độc hoạt 10g; Tang ký sinh 30g; Phòng phong 10g; Tần giao 10g; Cam thảo 6g.

1.3. Một số nghiên cứu điều trị bệnh gút (thống phong) bằng y học cổ truyền

1.3.1. Nghiên cứu thực nghiệm

1.3.1.1. Trên thể giới

Tại Trung Quốc, tác giả Kong LingDong và cộng sự (2000) đã tiến hành sàng lọc tác dụng ức chế enzyme XO của một số dược liệu. Kết quả: Có 69 mẫu trong tổng số 122 mẫu dịch chiết methanol của các dược liệu có khả năng ức chế XO ở nồng độ 100 µg/ml, với 29 mẫu ức chế trên 50%. Trong số các dược liệu đó, tác dụng ức chế XO của Quế chi - *Cinnamomum cassia* (Lauraceae) là mạnh nhất (IC50 là 18 µg/ml), tiếp theo là Cúc hoa - *Chrysanthemum indicum* (Asteraceae) (IC50 là 22 µg/ml) và lá của Cỏ giấp trắng - *Lycopus europaeus* (Lamiatae) (IC50 là 26 µg/ml) [39].

Một số dược liệu khác tại Trung Quốc có tác dụng ức chế XO là: Trà xanh (*Camellia sinensis* O.Ktze (*Thea chinensis* Seem.) [40], hạt nhãn (*Euphoria longama* Lamk [*Euphoria longama* (Lour.) Steud., *Nephelium longama* Lamk.] [39], Kim ngân lá mốc (*Lonicera hypoglauca*) [41].

Tại Malaysia, việc nghiên cứu thảo dược có tác dụng điều trị gút cũng được tiến hành theo hướng tìm các cây thuốc có khả năng ức chế enzyme XO và đã thu được nhiều kết quả khả quan [42].

Bảng 1.1. Khả năng ức chế XO của một số thảo dược

STT	Tên cây thuốc	Bộ phận	Khả năng ức chế XO (%)
1	Khế (<i>Averrhoa carambola</i>)	Lá	20,73 ± 0,7
2	Đu đủ (<i>Carica papaya</i>)	Lá Quả xanh Vỏ quả xanh Hoa	79,28 ± 0,3 64,41 ± 0,2 75,52 ± 0,1 57,91 ± 0,9
3	Nhãn (<i>Dimocarpus longan malesianus</i>)	Lá	39,42 ± 0,3
4	Hồng xiêm (<i>Manilkara zapota</i>)	Lá Vỏ	73,04 ± 2,7 47,33 ± 1,6

Theo Titik Sunnarni và cộng sự (2015), đã tiến hành nghiên cứu hoạt tính làm hạ acid uric máu trên động vật thực nghiệm của 4 loài dược liệu cây Mãng cầu xiêm - *Annona muricata* L, cây Na - *Annona squamosa* L, cây Na rừng - *Annona reticulata* L, and cây Na Úc - *Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th. (Annonaceae). Dược liệu được chiết bằng cách ngâm ethanol, sau đó cho chuột bị tăng acid uric máu trên thực nghiệm uống, thu thập mẫu huyết thanh sau uống 1h và 3h. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 4 dịch chiết trên đều có tác dụng đáng kể làm hạ acid uric máu. Trong đó, hoạt tính ức chế XO của *A. reticulata* thấp nhất (IC₅₀ là 171,73 µg/ml), trong khi IC₅₀ của *A. muricata*, *A. squamosa* và *S. burahol* là hơn 200 µg/ml [43].

Theo Eman Abu Gharbieh và cộng sự (2018), đã tiến hành nghiên cứu nhằm mục đích phân lập thành phần triterpenes của cây Bạch tật lê - *Tribulus arabicus* và đánh giá hoạt tính ức chế xanthine oxidase (XO) cũng như hạ axit uric máu của chiết xuất etanolic từ cây trên chuột thực nghiệm. Kết quả cho thấy hoạt tính ức chế XO mạnh (Nồng độ ức chế tối đa một nửa, IC₅₀ = 10,3 µg/mL) và làm giảm đáng kể nồng độ axit uric *in vivo* tới 79,9% [44].

Theo Eldiza Puji Rahmi và cộng sự (2020), đã tiến hành nghiên cứu cây Hoa anh thảo - *Marantodes pumilum* (Primulaceae) từ các bộ phận dùng như lá và rễ để đánh giá tác dụng chống viêm, cũng như hạ acid uric trên chuột thực nghiệm. Kết quả cho thấy, dịch chiết từ lá của cây có hoạt tính ức chế XO cao nhất (IC₅₀ = 130,5 µg/mL) và dịch chiết từ rễ của cây thì có tác dụng chống viêm tốt [45].

Theo XiaoHui Wu và cộng sự (2015), tiến hành nghiên cứu đánh giá tác dụng làm giảm acid uric máu từ dịch chiết etanol của cây Kim cang lá mỏng - *Smilax riparia* trên mô hình chuột bị tăng axit uric máu do kali oxonate. Kết quả cho thấy, dịch chiết từ cây làm giảm đáng kể nồng độ axit uric huyết thanh và tăng nồng độ axit uric trong nước tiểu (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$) [46].

Theo Ruixia Bao và cộng sự (2019), nghiên cứu tác dụng của cây Bá bệnh (mật nhân) - *Eurycoma longifolia* trong việc làm giảm acid uric máu trên chuột thực nghiệm. Kết quả cho thấy, dịch chiết từ cây làm giảm đáng kể nồng độ acid uric trong máu ở liều 100 – 200 mg/kg, đồng thời ngăn ngừa những thay đổi bệnh lý trên thận ở mô hình chuột tăng axit uric máu, góp phần cải thiện khả năng vận chuyển urat qua thận [47].

Theo Liang Guoyan và cộng sự (2019), đã tiến hành nghiên cứu dịch chiết cây Thổ phục linh - *Rhizoma smilacis glabrae*. Kết quả cho thấy, dịch chiết của cây có tác dụng giảm acid uric máu và giảm tình trạng viêm trên chuột thực nghiệm, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [48].

Theo Yi Zhang và cộng sự (2018), tiến hành nghiên cứu dịch chiết cây Tỳ giải - *Dioscorea septemloba* (Dioscoreaceae). Kết quả cho thấy ở chuột tăng axit uric máu, dịch chiết liều 25 - 50 mg/kg làm giảm nồng độ axit uric huyết thanh sau 4 giờ, bằng cách tăng thải qua đường tiểu, đồng thời góp phần giảm các tổn thương bệnh lý ở thận do tăng axit uric máu [49].

1.3.1.2. Tại Việt Nam

* Nghiên cứu *in vitro*

Theo Hoàng Thị Thanh Thảo khi nghiên cứu 91 mẫu cao toàn phần các dược liệu được lựa chọn từ 212 mẫu cây thuốc thuộc dự án “Bảo tồn nguồn cây thuốc cổ truyền” của Viện Dược liệu có tác dụng hạ acid uric tại Việt Nam đã chỉ ra 4 dược liệu có tác dụng ức chế XO với IC₅₀ (µg /ml) mạnh nhất là: Chông chông (*Smilax perfoliata* Lour) 49,3; Mũi chông (*Clinacanthus nutans*) 30,4; Thiên niên kiện (*Homalomena occulta* Lour schott) 58,1; Mán đĩa (*Archidendron clyearia* (Jack.), I. Niels) 15,6 [50].

* Nghiên cứu *in vivo*

Theo tác giả Đào Thị Vui và cộng sự (2011), nghiên cứu tác dụng hạ acid uric máu của bài thuốc từ quả chuối hột - *Musa brachycarpa* Back (Musaceae) và Củ ráy - *Alocasia macrorrhiza* (L.) Schott (Araceae) trên thực

nghiệm. Kết quả cho thấy, trên chuột gây tăng AU máu bằng kali oxonat 300mg/kg, bài thuốc dùng chuỗi hột và ráy với liều 8g/kg và 16g/kg chuột nhất trắng có tác dụng làm giảm nồng độ AU máu tương ứng là 25,70% và 20,57% so với lô chứng (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$) [51].

Theo tác giả Tạ Đăng Quang (2019), nghiên cứu tác dụng hạ acid uric máu và giảm đau của viên nang cứng Tam diệu gia vị (Hoàng bá 100 mg, thương truật 100 mg, ngư tử 40 mg, dây đau xương 100 mg, thiên niên kiện 40 mg, trừ ma diệp 40mg, quế chi 40 mg, râu ngô 40 mg) trên thực nghiệm. Kết quả cho thấy chế phẩm có tác dụng hạ acid uric máu và giảm đau trên thực nghiệm. Ở cả hai mức liều nghiên cứu (0,72 g/kg và 2,16 g/kg), chế phẩm đều có tác dụng giảm acid uric trên mô hình gây tăng acid uric máu bằng kali oxonat ở chuột nhất trắng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [52].

Theo tác giả Nguyễn Hoàng Minh (2016), đã tiến hành nghiên cứu thực nghiệm tác dụng hạ acid uric máu của các cao chiết từ lá xa kê - *Artoairpus alHlis* (Park.) F. Kết quả cho thấy, cao chiết cồn 45% (liều 0,38 - 0,76 g/kg) hay cao chiết nước (liều 0,50 - 1,00 g/kg) từ lá Xa kê đều có tác dụng ức chế sự tăng acid uric máu gây bởi kali oxonat trên chuột nhất trắng. Mức độ giảm acid uric máu của cao chiết cồn 45% trong khoảng 8,3 - 17,5% và của cao chiết nước trong khoảng 19,4 - 27,5%, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [53].

Theo tác giả Trịnh Kiều Anh (2022), nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và nghiên cứu tác dụng hạ acid uric của dịch chiết từ Củ ráy dại - *Alocasia odora* K.Koch trên thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết từ củ ráy dại ở liều 2,4 g/kg/ngày (tương đương liều lâm sàng 15g/ngày) có tác dụng chống viêm cấp khi làm giảm rõ rệt số lượng bạch cầu và hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm trên mô hình gây viêm màng bụng ở chuột (có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$). Đồng thời, dịch chiết từ củ ráy dại liều 500mg/kg cân nặng chuột nhất trắng (tương đương liều lâm sàng 2,125g) làm

giảm rõ rệt nồng độ acid uric trong máu với tỷ lệ 26,31% so với lô chứng bệnh, sự giảm này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ [54].

1.3.2. Nghiên cứu lâm sàng

1.3.2.1. Trên thế giới

Trong vài chục năm gần đây, trên cơ sở kết hợp giữa YHHĐ và YHCT, các thầy thuốc YHCT, đặc biệt ở Trung Quốc, đã tiến hành nghiên cứu nhiều bài thuốc chữa thống phong.

Tác giả Triệu Tân Hồng (2008) nghiên cứu hiệu quả của viên nang Khu trục kiện thận (Son từ cô 30g, Thương truật 15g, Tỳ giải 15g, Thổ phục linh 9g, Hoàng bá 9g, Ý dĩ nhân 18g, Ngưu tất 8g, Xa tiền tử 15g, Phòng kỷ 9g, Xích thực 9g, Huyền sâm 15g, Sinh cam thảo 30g) trong điều trị viêm khớp do gút. Nghiên cứu được thực hiện trên 168 bệnh nhân được chia ngẫu nhiên thành hai nhóm: 116 bệnh nhân nhóm điều trị được uống 3 viên Khu trục kiện thận 0,7g chia 3 lần/ngày; 52 bệnh nhân nhóm chứng được điều trị bằng viên Thông ích phong ninh (Allopurinol 100mg; Benzbromarone 20mg). Kết quả sau 2 tháng điều trị cho thấy sự khác biệt nồng độ acid uric trong máu trước và sau điều trị ở nhóm điều trị có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tỷ lệ cải thiện nồng độ acid uric máu ở nhóm điều trị là 91,3% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng là 88,5% ($p < 0,05$). Như vậy viên nang Khu trục kiện thận có tác dụng điều trị viêm khớp do gút và có hiệu quả tốt hơn viên Thông ích phong ninh [55].

Chung Hiểu Phong (2013) nghiên cứu hiệu quả điều trị của viên Hỗ trợ thống phong (Hỗ trợ, Khương hoạt, Nhân trần, Toàn quy, Hoàng bá, Thương truật, Xuyên ngưu tất, Phục linh, Trạch tả, Trư linh) trong điều trị viêm khớp cấp do gút. 130 bệnh nhân chia làm hai nhóm, nhóm điều trị gồm 65 bệnh nhân uống Hỗ trợ thống phong ngày 01 viên, 65 bệnh nhân được điều trị bằng diclofenac ngày 01 viên. Kết quả nghiên cứu sau 14 ngày cho thấy mức độ cải thiện triệu chứng lâm sàng ở nhóm nghiên cứu và nhóm

chúng lần lượt là 84,6% và 83,1%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Xét nghiệm IL-6, CRP, tốc độ máu lắng, acid uric máu, ALT, creatinin máu ở nhóm điều trị cải thiện so với nhóm chứng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) [56].

Qiu Renbin và cs (2008) nghiên cứu hiệu quả của thuốc sắc tứ diệu tán gia giảm gồm Hoàng bá 15g, Thương truật 15g, Ý dĩ 30g, Ngưu tất 15g, Kim ngân hoa 30g, Thổ phục linh 30g, Tri mẫu 15g, Xích thực 10g, Uy linh tiên 15g, Miên tỳ giải 15g, Trạch tả 10g, Ô tiêu xà 15g sắc uống ngày 2 lần trên 60 bệnh nhân gút. Đối chứng với 60 bệnh nhân gút dùng allopurinol 0,1g ngày 2 lần sáng - chiều. Kết quả nghiên cứu cho thấy Tứ diệu tán gia giảm cải thiện các triệu chứng 86,7% trường hợp cao hơn nhóm chứng 68,3% có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Nồng độ acid uric và CRP ở nhóm điều trị cải thiện tốt hơn nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$ và $p < 0,01$) [57].

Vương Lan (2011) nghiên cứu hiệu quả của bài thuốc Quế chi thực dược tri mẫu thang gia giảm (Quế chi 20g, Bạch thực 15g, Ma hoàng 10g, Tri mẫu 10g, Sinh khương 10g, Bạch truật 15g, Phòng phong 10g, Cam thảo 6g, Phụ tử 15g) trong điều trị bệnh gút. Nghiên cứu thực hiện trên 46 bệnh nhân gút ở thời điểm sau giai đoạn cấp. Kết quả cho thấy có 35 bệnh nhân khỏi, 7 bệnh nhân cải thiện và 4 bệnh nhân không hiệu quả. Tỷ lệ có hiệu quả 91% [58].

YanGang Wang (2014) nghiên cứu tác dụng của hỗn hợp chống gút Chuanhu (Kim Ngân Hoa, Cốt khí củ, Tỳ giải...) trong điều trị gút cấp. Nghiên cứu ngẫu nhiên mù đôi với colchicin trên 176 bệnh nhân được uống thuốc trong 10 ngày và theo dõi sau 12 tuần. Kết quả cho thấy tỷ lệ tái phát ở nhóm dùng Chuanhu là 12,50% và nhóm dùng colchicin là 14,77%. Chuanhu làm giảm nồng độ acid uric có ý nghĩa thống kê so với nhóm dùng colchicin ($p < 0,05$). Nồng độ AST, ALT và creatinine của nhóm colchicine cũng tăng nhiều hơn so với nhóm Chuanhu ($p < 0,05$). Như vậy, hỗn hợp

chống gút Chuanhu có thể là lựa chọn ưu việt trong điều trị viêm khớp do gút cấp tính, tỷ lệ tác dụng phụ thấp hơn và bảo vệ thận và chức năng thận vượt trội so với colchicine. Cơ chế của hỗn hợp chống gút Chuanhu trong việc giảm tỷ lệ tái phát của viêm khớp gút cấp tính và giảm nồng độ acid uric, AST, ALT và creatinine cần được nghiên cứu thêm [59].

1.3.2.2. Tại Việt Nam

Các nghiên cứu trong nước cũng tiến hành đánh giá hiệu quả của các bài thuốc cổ phương, nghiệm phương gia giảm trên thực nghiệm và lâm sàng. Các kết quả thu được cũng rất khả quan, mở ra hướng mới trong việc ứng dụng YHCT vào điều trị bệnh gút.

Nguyễn Văn Ba và cộng sự (2010) nghiên cứu tác dụng điều trị bệnh gút của bài “Tứ diệu định thống phong” trên 45 bệnh nhân tại Khoa YHCT – Bệnh viện Bạch Mai. Kết quả cho thấy thuốc có tác dụng giảm đau, giảm sưng và hạ acid uric máu trên lâm sàng (hiệu quả chung của thuốc đạt 91,1% trong đó có 28,9% bệnh nhân đạt nồng độ acid uric máu dưới 420 $\mu\text{mol/l}$). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với trước điều trị [60].

Hoàng Văn Bính và cộng sự (2008) nghiên cứu tác dụng điều trị bệnh gút của bài “GLP hạ acid uric máu” trên 60 bệnh nhân tại Bệnh viện YHCT Hà Đông. Kết quả cho thấy thuốc có tác dụng giảm đau, giảm sưng và hạ acid uric máu trên cả hai nhóm bệnh nhân gút mạn và đợt cấp của gút mạn (hiệu quả chung của thuốc đạt 95% trong đó loại tốt 16,66%, khá 51,56%, trung bình 26,66% và kém 5%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với trước điều trị [61].

Đặng Thị Như Hoa và cộng sự (2011) nghiên cứu tác dụng điều trị bệnh gút của “Cao vương tôn” trên 60 bệnh nhân tại Bệnh viện YHCT Yên Bái. Kết quả cho thấy thuốc có tác dụng giảm đau, giảm sưng khớp ở nhóm đợt cấp của gút mạn. Trên cả hai nhóm gút mạn (30 bệnh nhân) và đợt cấp của gút mạn (30 bệnh nhân), thuốc đều có tác dụng hạ acid uric máu (hiệu quả

chung của bài thuốc là 88,83%, trong đó loại tốt chiếm 13,33%, loại khá 48,33%, loại trung bình 26,67% và loại kém 11,67%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với trước điều trị [62].

Nguyễn Đình Thuyên và cộng sự (2010) nghiên cứu tác dụng điều trị bệnh gút của bài thuốc Khổ phục thang trên 33 bệnh nhân tại Viện YHCT Quân đội. Kết quả cho thấy thuốc có tác dụng giảm sưng đau khớp và hạ acid uric máu trên lâm sàng (hiệu quả chung của thuốc đạt 90,9%, trong đó loại tốt chiếm 66,7%, loại khá 15,1%, loại trung bình 9,1% và loại kém 9,1%). Sự khác biệt so với trước điều trị có ý nghĩa thống kê [63].

Nguyễn Thị Tuyết Minh (2018) nghiên cứu tác dụng hỗ trợ của cốm tan Tứ diệu tán trên 120 bệnh nhân gút mạn tại Viện YHCT Quân đội. Kết quả sau 30 ngày điều trị số khớp sưng, số khớp đau trung bình giảm có ý nghĩa thống kê so với trước điều trị. Mức giảm nồng độ acid uric máu so với trước điều trị là $200,42 \pm 100,14 \mu\text{mol/l}$ (hiệu quả chung của bài thuốc đạt 98,33%, trong đó loại tốt chiếm 65%, loại khá 23,33%, loại trung bình 10%, loại kém 1,67%) [64].

1.4. Mô hình dược lý thực nghiệm đánh giá tác dụng giảm đau, chống viêm và hạ acid uric máu

1.4.1. Đánh giá tác dụng giảm đau

Để nghiên cứu tác dụng giảm đau trên động vật thực nghiệm, hiện tại có nhiều phương pháp khác nhau như phương pháp gây đau bằng nhiệt, bằng điện, bằng cơ học, bằng hoá chất [65].

1.4.1.1. Phương pháp gây đau bằng nhiệt

Gây đau bằng nhiệt tức là dùng nhiệt độ để kích thích trên động vật thí nghiệm. Nhiệt độ ở đây có thể dùng bóng đèn điện có công suất lớn, có khi lại dùng thêm kính hội tụ để tập trung ánh sáng vào điểm định kích thích, dùng bức xạ nhiệt, dùng nước nóng hoặc dùng tấm kim loại nóng.

Nơi tác động thường là da, đuôi hoặc chân chuột. Nhưng vấn đề quan trọng là làm thế nào để người nghiên cứu nhận biết được, chuột biểu hiện ra bên ngoài như thế nào là chuột nhận cảm được tổn thương (đau).

Thông số xác định thường dựa vào thời gian từ khi chuột tiếp xúc với kích thích nhiệt đến khi chuột nhận cảm được tổn thương, gọi là tiềm thời (latency time) mà biểu hiện là chuột quẫy đuôi khi chuột cảm nhận được nóng ở đuôi; chuột liếm chân hoặc nhảy để định thoát ra khỏi nóng; da chuột mấp máy, co cơ da khi cảm nhận được da bị nóng hoặc chuột kêu chít chít... [65].

1.4.1.2. Phương pháp gây đau bằng cơ học

Có nhiều cách gây đau bằng cơ học như kẹp đuôi chuột công trắng hoặc chuột nhắt trắng, kẹp ngón chân chuột lang, ép đuôi chuột, ép chân chuột, gây viêm chân chuột rồi ép chân viêm, gây đau bằng máy đo ngưỡng đau [65].

1.4.1.3. Phương pháp gây đau bằng hóa chất

Một số hoá chất có thể gây đau cho động vật thí nghiệm, thường dùng nhất là benzoquinon, phenylquinin, bradykinin, histamin, acetylcholin, aconitin. Các prostaglandin như PGE2, PGI2 và cả LTB4, cũng là những chất trung gian gây đau và tác dụng gây đau còn mạnh hơn bradykinin. Acid acetic là loại rất dễ kiếm và gây ra đau với các biểu hiện dễ nhận biết, nên cũng là loại hay dùng để gây đau.

Một số thuốc không phải là các thuốc giảm đau chính danh ví dụ các antihistamin (như carbinoxamin malea), thuốc kích thích thần kinh (như amphetamin sulfat), thuốc kích thích giao cảm hoặc đối giao cảm cũng ức chế được các biểu hiện đau của một số trong các mô hình này.

Các mô hình gây đau bằng hoá chất khá nhạy, đơn giản, dễ tiến hành và phỏng lại được kể cả các thuốc giảm đau tác dụng yếu, nhưng không đặc hiệu của riêng các thuốc giảm đau. Do đó khi áp dụng cần chú ý giải thích kết quả, và thường phải kết hợp nhiều thí nghiệm khác để kết luận.

Trong đề tài này, chúng tôi lựa chọn 2 mô hình: gây đau bằng tấm nóng (hot plate) và gây quặn đau bằng acid acetic thuộc 2 nhóm nguyên nhân gây đau: nhiệt độ và hoá học do tính đơn giản, dễ tiến hành, có tính chính xác cao để đánh giá về hiệu quả giảm đau ngoại vi và giảm đau trung ương [65].

1.4.2. Đánh giá tác dụng chống viêm

1.4.2.1. Phương pháp gây phù thực nghiệm

Từ 1937, Selye đã mô tả các triệu chứng khi tiêm lòng trắng trứng vào phúc mạc chuột cống trắng. Đó là sau khi tiêm, xảy ra tăng thân nhiệt cấp, phù và ngứa ở miệng, mũi, lưỡi, tai, chân và bộ phận sinh dục. Các triệu chứng này lại được mô tả vào năm 1948, rồi sau đó vào năm 1968 trong nhiều chuyên luận với tên là “phù dạng phản vệ” (anaphylactoid edema), sau đó là “viêm dạng phản vệ” (anaphylactoid inflammation). Phản ứng phản vệ (anaphylaxis) cũng có các triệu chứng trên (nhiều khi rất mạnh), nhưng chỉ xảy ra sau khi con vật đã được mẫn cảm từ trước với tác nhân gây phản vệ.

Về sau, người ta thấy rằng phù dạng phản vệ cũng có thể gây ra với các chất khác. Một kiểu phù dạng phản vệ có thể thu được khi dùng tại chỗ các chất gây phù. Gây phù tại chỗ có đặc điểm là phù tốt, kéo dài khá lâu và độc tính không lớn, tác dụng có hại trên hệ tim mạch ít. Phù dạng phản vệ tại chỗ cũng có các biểu hiện sưng, nóng, đỏ, đau và rối loạn chức phận của cơ quan có liên quan, tức là cũng có 5 dấu hiệu cơ bản của quá trình viêm.

Các chất gây phù thực nghiệm ở chân chuột: lòng trắng trứng; men bia; formalin; dextran; cao lanh; carrageenin; hợp chất 48/80; hyaluronidase; polymycin B; tinh dầu thông; gel bentonit; histamin; serotonin; bradykinin; [65].

1.4.2.2. Phương pháp gây viêm màng phổi, màng bụng thực nghiệm

Cơ chế của phương pháp gây rỉ dịch màng phổi cũng tương tự với phương pháp gây phù thực nghiệm. Viêm làm tăng sự rỉ dịch kể cả rỉ dịch màng phổi. Các thuốc chống viêm làm giảm sự tiết dịch rỉ màng phổi do một

số tác nhân gây viêm. Thực nghiệm đã chứng minh, thể tích dịch màng phổi do tinh dầu thông giảm rất nhiều nếu dùng thuốc chống viêm.

Dịch rỉ màng phổi thường được gây ra khi tiêm tác nhân gây viêm vào trong màng phổi của chuột cống trắng già có khối lượng trên 170 g; mỗi lần thí nghiệm khối lượng các chuột không nên hơn kém nhau quá 50 g. Chuột già có lớp màng phổi ngoài không dính sát vào lớp màng phổi trong nên dễ tiêm hơn.

Theo dõi thể tích dịch rỉ màng phổi sau khi tiêm chất gây viêm vào trong màng phổi được 4 giờ (có thể từ 2 đến 6 giờ), sau khi đã gây chết chuột bằng CHCl_3 . Nếu có điều kiện, có thể định lượng các chất trung gian gây viêm như histamin, serotonin và các sản phẩm của quá trình viêm như PG, LT...tùy theo yêu cầu.

Các tác nhân thường dùng để gây rỉ dịch màng phổi: tinh dầu thông; carrageenin; phẩm xanh Evans; phẩm xanh Evans [65].

1.4.3. Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác dụng hạ acid uric máu được thực hiện trên mô hình gây tăng acid uric máu bằng kali oxonat trên chuột nhắt trắng theo Maira Ribeiro de Souza và cộng sự [66]. Mô hình gây tăng acid uric này được các nhà nghiên cứu sử dụng rất phổ biến trên thực nghiệm để đánh giá tác dụng hạ acid uric của thuốc. Nguyên tắc của phương pháp này là dùng kali oxonat để ức chế enzym uricase (1 loại enzym này có vai trò chuyển hóa acid uric thành allantoin một dạng dễ tan hơn và đào thải ra ngoài qua thận). Do đó, khi enzym uricase bị ức chế sẽ dẫn đến nồng độ acid uric trong máu tăng cao.

1.5. Tổng quan về viên nang cứng “Định Thống Phong”

1.5.1. Xuất xứ, thành phần, công thức bào chế

- Viên nang cứng “Định Thống Phong” - có xuất xứ từ bài thuốc HPA (gồm các vị: Ngưu tất, tỳ giải, thổ phục linh, hoàng kỳ, ích mẫu, thiên niên

kiện, thương truật, trần bì, phá cố chi, kê huyết đằng, hà thủ ô đỏ, bán hạ chế và hoạt thạch) gia thêm hy thiêm thảo và dây gắm.

Thành phần của bài thuốc HPA và viên nang cứng ĐTP được trình bày trong bảng 1.2 dưới đây

Bảng 1.2. Thành phần của bài thuốc HPA và viên nang cứng ĐTP

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Bài thuốc HPA	Viên nang cứng ĐTP
1	Hoàng kỳ	<i>Radix Astragali membranacei</i>	20g	20g
2	Thiên niên kiện	<i>Rhizoma Homalomenae occultae</i>	12g	12g
3	Hà thủ ô đỏ	<i>Radix Fallopieae multiflorae</i>	15g	15g
4	Ngưu tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	20g	20g
5	Tỳ giải	<i>Rhizoma Dioscoreae</i>	20g	20g
6	Hoạt thạch	<i>Talcum</i>	10g	10g
7	Ích mẫu	<i>Herba Leonuri japonici</i>	15g	15g
8	Thương truật	<i>Rhizoma Atractylodis</i>	15g	15g
9	Kê huyết đằng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	15g	15g
10	Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perettne</i>	12g	12g
11	Bán hạ chế	<i>Rhizoma Pinelliae</i>	12g	12g
12	Thổ phục linh	<i>Rhizoma Smilacis glabrae</i>	20g	20g
13	Phá cố chi	<i>Fractus Psoraleae corylifoliae</i>	8g	8g
14	Hy thiêm	<i>Herba Siegesbeckiae</i>		20g
15	Dây gắm	<i>Radix et Caulis Gneti montani</i>		20g
Tổng			194g	234g

- Công thức bào chế của viên nang cứng ĐTP

Viên nang cứng ĐTP đạt tiêu chuẩn cơ sở; mỗi viên nang có khối lượng 600 mg, chứa 530 mg hỗn hợp bột cao khô ĐTP và natri hydrocarbonat. Công thức bào chế cho 01 viên nang cứng ĐTP như sau:

Bảng 1.3. Công thức bào chế viên nang cứng ĐTP

Thành phần	Khối lượng
Hỗn hợp bột cao khô ĐTP và natri hydrocarbonat	530 mg
Tá dược (Lactose, avicel, magnesi stearat...)	vừa đủ 01 viên

1.5.2. Phân tích thành phần dược liệu trong viên nang cứng ĐTP

Pháp điều trị : Khu phong, thanh nhiệt trừ thấp, thông kinh hoạt lạc.

Phân tích bài thuốc:

- *Quân dược*:

- + Hoàng kỳ: ích khí cố biểu, tiêu viêm, bài nùng sinh cơ, lợi thủy tiêu thũng. Ôn dưỡng tỳ dương kiêm bổ vệ khí.
- + Hà thủ ô: bổ ích can thận, dưỡng huyết, bổ huyết, tiêu viêm.
- + Bán hạ chế: táo thấp hóa đàm, hòa vị chỉ nôn, tiêu viêm, tán kết.
- + Thương truật: hóa thấp, kiện tỳ, trừ phong thấp.
- + Phá cố chỉ: ôn bổ thận dương, làm khỏe mạnh gân xương, kiện tỳ

- *Thần dược*:

- + Thiên niên kiện: trừ phong thấp, lợi gân cốt, làm mạnh gân xương.
- + Hy thiêm: thanh nhiệt, trừ phong thấp, giải độc.
- + Tỳ giải: lợi thủy trừ thấp, hóa trọc, hành huyết khứ ứ, tiêu viêm, giải độc.
- + Hoạt thạch: hành thủy lợi niệu, thanh nhiệt.
- + Dây gấm: khu phong, trừ thấp, thư cân hoạt huyết, giải độc, tiêu viêm
- + Thổ phục linh: trừ phong thấp, thanh nhiệt giải độc.
- + Kê huyết đằng: bổ huyết hành huyết, trừ phong, thông kinh lạc, mạnh gân cốt.

- *Tá sứ dược*:

- + Trần bì: lý khí kiện tỳ, táo thấp hóa đàm.
- + Ngưu tất: hoạt huyết, bổ can thận, mạnh gân xương.
- + Ích mẫu: hoạt huyết, khứ ứ, lợi thủy tiêu thũng, tiêu viêm [13], [38].

1.5.3. Các nghiên cứu đã thực hiện về viên nang cứng ĐTP

Viên nang cứng ĐTP được nghiên cứu, bào chế bởi Trung tâm Nhiệt đới Việt- Nga (Bộ Quốc phòng). Để làm cơ sở cho việc sử dụng chế phẩm trong điều trị, các nghiên cứu về độc tính (bao gồm độc tính cấp, độc tính bán trường diễn), tác dụng trên động vật thực nghiệm và nghiên cứu tác dụng trên lâm sàng đã được tiến hành. Tuy nhiên, trước khi nghiên cứu về tác dụng, nghiên cứu về độc tính của sản phẩm cần được tiến hành. Qua các nghiên cứu về độc tính cấp và độc tính bán trường diễn cho thấy: Khi dùng đến liều 4800 mg/kg (trên chuột nhắt trắng), viên nang cứng ĐTP không xuất hiện độc tính cấp ở các mức liều đã thử nghiệm, chưa xác định được LD₅₀ trên thực nghiệm; với 2 mức liều 500 mg/kg và 1500 mg/kg trên chuột cống trắng trong thời gian 56 ngày đã không làm ảnh hưởng tới trọng lượng cơ thể; các chỉ số huyết học; hoạt độ enzym AST, ALT; nồng độ albumin, cholesterol toàn phần, creatinin; hình ảnh đại thể và vi thể gan, lách, thận chuột [89].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu

Viên nang cứng Định Thống Phong do Trung tâm Nhiệt đới Việt Nga, Bộ Quốc phòng cung cấp, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Mỗi viên nang cứng có khối lượng trung bình bột thuốc trong nang là 600mg, trong đó 530mg hỗn hợp bột cao khô ĐTP và natri hydrocarbonat.

Dự kiến liều có tác dụng trên người là 6 viên/ngày (tương ứng 72 mg/kg/ngày).

Quy đổi ra liều trên chuột cống trắng (hệ số 7), mức liều dùng cho chuột cống là 500 mg/kg/ngày. Liều trên chuột nhắt trắng (hệ số 12) là 860 mg/kg/ngày.

Bột thuốc trong viên nang cứng được phân tán trong nước cất và được cho chuột uống qua kim cong đầu tù chuyên dụng.

2.1.2. Động vật nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, trọng lượng 20 ± 2 g, cả 2 giống, khỏe mạnh do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

- Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 ± 20 g do Trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng - Hà Nội cung cấp.

- Động vật được nuôi dưỡng theo chế độ tiêu chuẩn tại phòng thí nghiệm Viện Kiểm nghiệm, nghiên cứu dược và trang thiết bị y tế Quân đội từ 5 - 7 ngày trước nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu được ăn bằng thức ăn tiêu chuẩn dành riêng, uống nước sạch tự do.

Số lượng chuột thí nghiệm được trình bày ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Số lượng động vật thực nghiệm

Động vật	n	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng chủng Swiss	40	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g	Nghiên cứu tác dụng giảm đau bằng phương pháp ngâm nóng
	40	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g	Nghiên cứu tác dụng giảm đau trên mô hình gây quặn đau bằng acid acetic
	50	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g	Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu
Chuột cống trắng chủng Wistar	40	Cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 - 200g	Nghiên cứu tác dụng chống viêm

2.1.3. Thuốc và hóa chất nghiên cứu

- Codein phosphat do Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương cung cấp.
- Viên nén aspirin 100 mg (Công ty Cổ phần Traphaco, Việt Nam).
- Indomethacin, viên nén 25 mg, công ty Cổ phần dược phẩm Hà Tây.
- Allopurinol, viên nén 300mg, công ty TNHH Liên Doanh Stada, Việt Nam.
- Carrageenin (Sigma, Mỹ).
- Acid acetic, PA (Merck, Đức).
- Kali oxonat (Delta Microscopies, Mỹ).

2.1.4. Dụng cụ, máy móc, thiết bị

- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Máy hot plate model - DS37 (Ugo Basile, Ý).

- Máy đo thể tích chân chuột (Plethysmometer), model 7140 (Ugo Basile, Ý).

- Máy xét nghiệm sinh hóa Evolution 3000 (Biochemical, Ý).

- Kim uống thuốc đầu tù; dụng cụ thí nghiệm khác (bơm kim tiêm 1ml, kéo, kẹp kocher, chày cối, găng tay cao su, khẩu trang y tế...).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

2.2.1. Đánh giá tác dụng giảm đau

2.2.1.1. Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương

- Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của viên nang cứng ĐTP bằng phương pháp “mâm nóng” (hot plate), theo mô tả bởi Woolfe Gand và cộng sự, có sửa đổi phù hợp [67].

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

- Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất liều 0,2 ml/10g/ngày.

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

- Lô 3 (lô trị 1): Uống viên nang cứng Định Thống Phong liều 860 mg/kg/ngày (tương đương với liều sử dụng trên người).

- Lô 4 (lô trị 2): Uống viên nang cứng Định Thống Phong liều 2580 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều sử dụng trên người).

Chuột được uống nước, thuốc tham chiếu hoặc viên nang cứng ĐTP mỗi ngày 01 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 ml/10g trọng lượng/ngày trong 5 ngày liên tục.

Đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ. Thời gian phản ứng với nhiệt của chuột là thời gian được xác định từ khi đặt chuột lên mâm nóng (duy trì ở nhiệt độ 56⁰C) đến khi chuột liếm chân sau. Ở thời điểm trước khi cho chuột

uống thuốc, loại bỏ những chuột phản ứng quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây). So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước và sau khi uống thuốc.

2.2.1.2. Đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên

Sử dụng phương pháp gây quặn đau bằng acid acetic, tiến hành theo mô tả của Koster và cộng sự [68]. Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (lô chứng sinh lý): Uống nước cất liều 0,2 ml/10g/ngày.
- Lô 2 (lô tham chiếu): Uống aspirin liều 150 mg/kg/ngày.
- Lô 3 (lô trị 1): Uống viên nang cứng Định Thống Phong liều 860 mg/kg/ ngày.
- Lô 4 (lô trị 2): Uống viên nang cứng Định Thống Phong liều 2580 mg/kg/ngày.

Chuột ở các lô được uống nước cất hoặc thuốc thử mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng trong 5 ngày liên tục. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc 1 giờ, tiến hành gây đau quặn bằng cách tiêm phúc mạc dung dịch acid acetic 0,6% liều 0,1 ml/10g thể trọng. Chuột sẽ xuất hiện những cơn đau quặn biểu hiện như thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Đếm số cơn đau quặn mỗi 5 phút trong thời gian 20 phút kể từ khi tiêm acid acetic. So sánh các cơn đau quặn của chuột giữa các lô với nhau.

Tính % ức chế đau quặn theo công thức:

$$A(\%) = 100.(Dc - Dt):Dc$$

Trong đó:

- A%: Tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô thuốc tham chiếu và lô thử thuốc.
- Dc: Số cơn đau quặn của lô chứng.
- Dt: Số cơn đau quặn của lô thuốc tham chiếu và lô thử thuốc.

2.2.2. Đánh giá tác dụng chống viêm

* Thí nghiệm:

Tác dụng chống viêm cấp được đánh giá trên mô hình gây phù chân chuột cống trắng bằng carrageenin theo phương pháp được mô tả bởi Winter Charles A và cộng sự [69].

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

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất liều 0,2 ml/10g/ngày.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống indomethacin liều 10 mg/kg.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống viên nang cứng Định Thống Phong liều 500 mg/kg/ngày.

+ Lô 4 (Lô trị 2): Uống viên nang cứng Định Thống Phong liều 1500 mg/kg/ngày.

Chuột được uống thuốc hoặc nước cất 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý, ngay trước khi tiêm) 0,1 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột, chân trái không tiêm làm chân chứng. Chuột được nhịn đói qua đêm, nước uống tự do.

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer) vào các thời điểm: Trước khi gây viêm (V_0); sau khi gây viêm 1 giờ (V_1), 2 giờ (V_2) và 3 giờ (V_3) và 4 giờ (V_4).

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

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

Trong đó:

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

+ V_0 là thể tích bàn chân chuột ngay sau khi tiêm carrageenin.

+ V_t là V_1 , V_2 , V_3 và V_4 (thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau 1, 2, 3 và 4 giờ sau khi tiêm carrageenin).

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

$$Y\% = \frac{X_c - X_t}{X_c} \times 100$$

Trong đó:

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

M_c là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột của lô chứng và M_t là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột của lô dùng thuốc nghiên cứu và lô thuốc tham chiếu.

2.2.3. Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu

** Thí nghiệm:*

Tác dụng hạ acid uric máu được thực hiện trên mô hình gây tăng acid uric máu bằng kali oxonat trên chuột nhắt trắng theo Maira Ribeiro de Souza và cộng sự [66].

+ Chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng sinh học): Uống nước cất liều 0,2 ml/10g/ngày
- Lô 2 (chứng bệnh): Uống nước cất liều 0,2 ml/10g/ngày + tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat.
- Lô 3 (chứng dương): Uống allopurinol liều 20 mg/kg + tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat.
- Lô 4 (lô trị 1): Uống viên nang cứng Định Thống Phong liều 860 mg/kg/ngày + tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat.
- Lô 5 (lô trị 2): Uống viên nang cứng Định Thống Phong liều 2580 mg/kg/ngày + tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat.

Chuột được uống dung môi pha thuốc (nước cất), thuốc đối chứng hoặc chế phẩm thử với cùng thể tích 0,2 ml/10g trọng lượng chuột vào một giờ nhất định hàng ngày trong vòng 5 ngày trước khi gây mô hình. Ngày thứ

năm của nghiên cứu, 1 giờ trước khi uống thuốc lần cuối, chuột ở các lô được tiêm màng bụng kali oxonat liều 200 mg/kg (lô chứng trắng được tiêm dung môi pha kali oxonat là CMC-Na 0,5%) với thể tích 0,1ml/10 g thể trọng chuột. Sau khi uống thuốc lần cuối 2 giờ, lấy máu động mạch cảnh định lượng nồng độ AU huyết thanh.

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.3.1. Địa điểm nghiên cứu

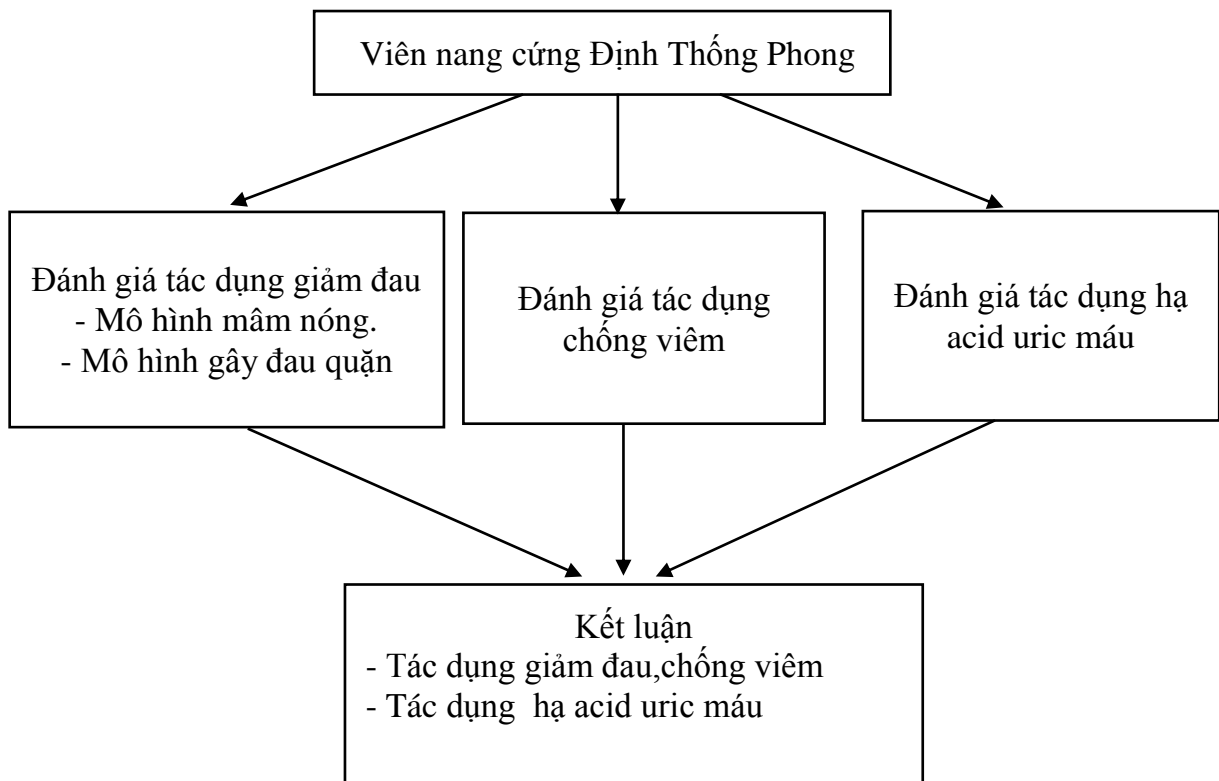
- Viện Kiểm nghiệm nghiên cứu dược và trang thiết bị y tế Quân đội - Cục Quân y.

- Bộ môn Dược lý - Học viện Quân y.

2.3.2. Thời gian nghiên cứu

Tháng 4/2023 đến tháng 10/2023

2.4. Sơ đồ nghiên cứu



2.5. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, so sánh bằng ANOVA test sử dụng phần mềm SPSS 20.0. Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.6. Sai số và phương pháp không chế sai số

Sai số các phương pháp thu thập số liệu

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

- Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh, không có dị tật hay dấu hiệu bất thường. Thời gian thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là thống nhất cùng một thời điểm.

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

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

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm phù hợp, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê. Số chuột sau khi thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định. Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản nhằm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế” của Bộ Y tế.

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo quy định chung trong nghiên cứu y sinh học.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau

3.1.1. Tác dụng giảm đau trung ương bằng phương pháp hâm nóng

Kết quả thời gian phản ứng của chuột ở các lô được thể hiện trong bảng sau

Bảng 3.1. Thời gian phản ứng của chuột trên mô hình hâm nóng

Lô nghiên cứu	Thời gian phản ứng (giây)		p trước- sau
	Thời điểm ban đầu	Sau 5 ngày	
Lô chứng (1) (n=10)	11,94 ± 1,07	12,50 ± 1,48	0,320
Lô thuốc tham chiếu (2) (n=10)	13,55 ± 3,59	28,76 ± 2,38	< 0,001
Lô ĐTP liều 1 (3) (n=10)	11,30 ± 0,87	25,72 ± 2,70	< 0,001
Lô ĐTP liều 2 (4) (n=10)	12,79 ± 1,30	27,73 ± 3,49	< 0,001
p giữa các lô	> 0,05	p ₁₋₂ < 0,001 p ₁₋₃ < 0,001 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,05 p ₂₋₄ > 0,05 p ₃₋₄ > 0,05	

Nhận xét: Kết quả trên cho thấy, ở thời điểm trước khi uống thuốc, không có sự khác nhau có ý nghĩa về thời gian phản ứng với nhiệt của chuột giữa các lô ($p > 0,05$). Ở thời điểm sau 5 ngày uống thuốc, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở các lô thuốc tham chiếu, ĐTP liều 1 và ĐTP liều 2 lần lượt là $28,76 \pm 2,38$ giây, $25,72 \pm 2,70$ giây và $27,73 \pm 3,49$ giây đều cao hơn rõ rệt so với lô chứng ($p < 0,001$). Nhận thấy, ở lô ĐTP liều 1, thời gian phản ứng với nhiệt thấp hơn đáng kể so với lô thuốc tham chiếu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tuy nhiên, thời gian phản ứng với nhiệt giữa lô

thuốc tham chiếu và lô ĐTP liều 1 so với lô ĐTP liều 2 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Khi so sánh giữa thời điểm trước và sau khi uống thuốc cho thấy, ở các lô dùng thuốc tham chiếu, lô ĐTP liều 1 và ĐTP liều 2 có thời gian phản ứng với nhiệt tại thời điểm sau khi uống thuốc cao hơn rõ rệt so với thời điểm trước khi uống thuốc (p đều $< 0,001$).

3.1.2. Tác dụng giảm đau ngoại vi trên mô hình gây đau quận

3.1.2.1. Kết quả số cơn đau quận trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic

Kết quả số cơn đau quận trung bình của các lô chuột trong mỗi 5 phút được trình bày trong các bảng 3.2 và bảng 3.3:

Bảng 3.2. Kết quả số cơn đau quận trong 10 phút đầu

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quận trung bình	
	0 - 5 phút	5 - 10 phút
Lô chứng (1) (n=10)	2,50 ± 0,97	11,60 ± 1,35
Lô thuốc tham chiếu (2) (n=10)	0,80 ± 1,40	8,10 ± 1,10
Lô ĐTP liều 1 (3) (n=10)	0,90 ± 1,29	7,40 ± 1,35
Lô ĐTP liều 2 (4) (n=10)	0,80 ± 1,14	7,50 ± 0,97
p	$p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,01$ $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$

Nhận xét:

Trong khoảng thời gian 0 - 5 phút, số cơn đau quặn của lô chứng là $2,50 \pm 0,97$ cao hơn đáng kể so với các lô thuốc tham chiếu là $0,80 \pm 1,40$, lô ĐTP liều 1 là $0,90 \pm 1,29$ và lô ĐTP liều 2 là $0,80 \pm 1,14$ với các giá trị p đều $< 0,01$. Không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê về số cơn đau quặn trung bình của chuột ở lô dùng thuốc tham chiếu với các lô dùng viên nang cứng ĐTP và giữa hai lô dùng viên nang cứng ĐTP với nhau (các giá trị p đều $> 0,05$).

Trong khoảng thời gian 5 - 10 phút, số cơn đau quặn của lô chứng là $11,60 \pm 1,35$ cao hơn rõ rệt so với các lô dùng thuốc tham chiếu là $8,10 \pm 1,10$, lô ĐTP liều 1 là $7,40 \pm 1,35$ và lô ĐTP liều 2 là $7,50 \pm 0,97$ với các giá trị p đều $< 0,001$. Không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê về số cơn đau quặn trung bình của chuột ở lô dùng thuốc tham chiếu với các lô dùng viên nang cứng ĐTP và giữa hai lô dùng viên nang cứng ĐTP với nhau (các giá trị p đều $> 0,05$).

Bảng 3.3. Kết quả số cơn đau quặn trong 10 phút tiếp theo

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quặn trung bình	
	10 - 15 phút	15 - 20 phút
Lô chứng (1) (n=10)	$12,20 \pm 0,79$	$9,70 \pm 1,34$
Lô thuốc tham chiếu (2) (n=10)	$8,10 \pm 0,88$	$6,90 \pm 1,10$
Lô ĐTP liều 1 (3) (n=10)	$8,80 \pm 0,92$	$7,10 \pm 0,99$
Lô ĐTP liều 2 (4) (n=10)	$8,20 \pm 1,40$	$7,30 \pm 1,34$
p	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$

Nhận xét:

Trong khoảng thời gian 10 - 15 phút, số cơn đau quặn của lô chứng là $12,20 \pm 0,79$ cao hơn rõ rệt so với các lô thuốc tham chiếu là $8,10 \pm 0,88$, lô ĐTP liều 1 là $8,80 \pm 0,92$ và lô ĐTP liều 2 là $8,20 \pm 1,40$ với các giá trị p đều $< 0,001$. Không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê về số cơn đau quặn trung bình của chuột ở lô dùng thuốc tham chiếu với các lô dùng viên nang cứng ĐTP và giữa hai lô dùng viên nang cứng ĐTP với nhau (các giá trị p đều $> 0,05$).

Trong khoảng thời gian 15 - 20 phút, số cơn đau quặn của lô chứng là $9,70 \pm 1,34$ cao hơn đáng kể so với các lô dùng thuốc tham chiếu là $6,90 \pm 1,10$, lô ĐTP liều 1 là $7,10 \pm 0,99$ và lô ĐTP 2 là $7,30 \pm 1,34$ với các giá trị p đều $< 0,001$. Không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê về số cơn đau quặn trung bình của chuột ở lô dùng thuốc tham chiếu với các lô dùng viên nang cứng ĐTP và giữa hai lô dùng viên nang cứng ĐTP với nhau (các giá trị p đều $> 0,05$).

Khi so sánh số cơn đau quặn trung bình giữa các khoảng thời gian trong cùng một lô cho kết quả được trình bày trong bảng 3.4

Bảng 3.4. So sánh số cơn đau quận trong cùng một lô

	Lô chứng (n=10)	Lô thuốc tham chiếu (n=10)	Lô ĐTP liều 1 (n=10)	Lô ĐTP liều 2 (n=10)
0 – 5 phút (a)	2,50 ± 0,97	0,80 ± 1,40	0,90 ± 1,29	0,80 ± 1,14
5 – 10 phút (b)	11,60 ± 1,35	8,10 ± 1,10	7,40 ± 1,35	7,50 ± 0,97
10 – 15 phút (c)	12,20 ± 0,79	8,10 ± 0,88	8,80 ± 0,92	8,20 ± 1,40
15 – 20 phút (d)	9,70 ± 1,34	6,90 ± 1,10	7,10 ± 0,99	7,30 ± 1,34
p	p _{a-b} < 0,001 p _{a-c} < 0,001 p _{a-d} < 0,001 p _{b-c} > 0,05 p _{b-d} < 0,05	p _{a-b} < 0,001 p _{a-c} < 0,001 p _{a-d} < 0,001 p _{b-c} > 0,05 p _{b-d} < 0,05	p _{a-b} < 0,001 p _{a-c} < 0,001 p _{a-d} < 0,001 p _{b-c} = 0,01 p _{b-d} > 0,05	p _{a-b} < 0,001 p _{a-c} < 0,001 p _{a-d} < 0,001 p _{b-c} > 0,05 p _{b-d} < 0,05

Nhận xét:

Trong cùng lô chứng, số cơn đau quận ở thời điểm 0 – 5 phút là $2,50 \pm 0,97$ thấp hơn rõ rệt so với các thời điểm còn lại, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê (các giá trị p đều < 0,001). Trong đó, số cơn đau quận ở thời điểm 5 – 10 phút là $11,60 \pm 1,35$ cao hơn đáng kể so với số cơn đau ở thời điểm 15 – 20 phút là $9,70 \pm 1,34$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (với $p < 0,05$). Số cơn đau quận ở thời điểm 5 – 10 phút và thời điểm 10 – 15 phút không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Trong cùng lô thuốc tham chiếu, số cơn đau quận ở thời điểm 0 – 5 phút là $0,80 \pm 1,40$ thấp hơn rõ rệt so với các thời điểm còn lại, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê (các giá trị p đều < 0,001). Trong đó, số cơn đau quận ở

thời điểm 5 – 10 phút là $8,10 \pm 1,10$ cao hơn đáng kể so với số cơn đau ở thời điểm 15 – 20 phút là $6,90 \pm 1,10$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (với $p < 0,05$). Số cơn đau quận ở thời điểm 5 – 10 phút và thời điểm 10 – 15 phút không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Trong cùng lô ĐTP liều 1, số cơn đau quận ở thời điểm 0 – 5 phút là $0,90 \pm 1,29$ thấp hơn rõ rệt so với các thời điểm còn lại, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê (các giá trị p đều $< 0,001$). Trong đó, số cơn đau quận ở thời điểm 5 – 10 phút là $7,40 \pm 1,35$ thấp hơn đáng kể so với số cơn đau ở thời điểm 10 – 15 phút là $8,80 \pm 0,92$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (với $p = 0,01$). Số cơn đau quận ở thời điểm 5 – 10 phút và thời điểm 15 – 20 phút không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Trong cùng lô ĐTP liều 2, số cơn đau quận ở thời điểm 0 – 5 phút là $0,80 \pm 1,14$ thấp hơn rõ rệt so với các thời điểm còn lại, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê (các giá trị p đều $< 0,001$). Trong đó, số cơn đau quận ở thời điểm 5 – 10 phút là $7,50 \pm 0,97$ cao hơn đáng kể so với số cơn đau ở thời điểm 15 – 20 phút là $7,30 \pm 1,34$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (với $p < 0,05$). Số cơn đau quận ở thời điểm 5 – 10 phút và thời điểm 10 – 15 phút không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

3.1.2.2. *Kết quả tổng số cơn đau quặn trong thời gian theo dõi sau khi tiêm acid acetic*

Kết quả tổng số cơn đau quặn của chuột trong 20 phút sau khi tiêm được trình bày trong bảng sau:

Bảng 3.5. Tổng số cơn đau quặn của chuột trong 20 phút

Lô nghiên cứu	Tổng số cơn đau quặn trung bình trong 20 phút	% giảm so với lô chứng
Lô chứng (1) (n=10)	36,0 ± 2,49	
Lô thuốc tham chiếu (2) (n=10)	23,9 ± 2,60	33,61
Lô ĐTP liều 1 (3) (n=10)	24,2 ± 2,30	32,78
Lô ĐTP liều 2 (4) (n=10)	23,8 ± 2,20	33,89
p	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$	

Nhận xét: Tổng số cơn đau quặn trong 20 phút của lô chứng là $36,0 \pm 2,49$ cao hơn rõ rệt so với lô thuốc tham chiếu ($23,9 \pm 2,60$), lô ĐTP liều 1 ($24,2 \pm 2,30$) và lô ĐTP liều 2 ($23,8 \pm 2,20$) với p đều $< 0,001$. Không có sự khác nhau có ý nghĩa ($p > 0,05$) khi so sánh giữa lô dùng thuốc tham chiếu với lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 và giữa lô ĐTP liều 1 với lô ĐTP liều 2. % giảm số cơn đau của các lô thuốc tham chiếu, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 so với lô chứng lần lượt là 33,61%, 32,78% và 33,89%.

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm

Kết quả thể tích bàn chân chuột của các lô nghiên cứu được trình bày trong bảng sau đây:

Bảng 3.6. Thể tích bàn chân chuột (ml) tại các thời điểm nghiên cứu

	Ban đầu	Sau 30 phút	Sau 60 phút	Sau 90 phút	Sau 120 phút
Lô chứng (1) (n=10)	1,10 ± 0,13	1,32 ± 0,10	1,50 ± 0,17	1,64 ± 0,16	1,75 ± 0,16
Lô thuốc tham chiếu (2) (n=10)	1,20 ± 0,11	1,37 ± 0,11	1,47 ± 0,11	1,54 ± 0,09	1,66 ± 0,17
Lô ĐTP liều 1 (3) (n=10)	1,07 ± 0,07	1,25 ± 0,07	1,33 ± 0,09	1,43 ± 0,14	1,58 ± 0,21
Lô ĐTP liều 2 (4) (n=10)	1,01 ± 0,14	1,14 ± 0,12	1,21 ± 0,12	1,30 ± 0,15	1,40 ± 0,17
p		p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₄ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,05 p ₃₋₄ < 0,05	p ₁₋₄ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05 p ₂₋₄ < 0,001	p ₁₋₃ < 0,05 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,05	p ₁₋₃ < 0,05 p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₄ < 0,05 p ₃₋₄ < 0,05

Nhận xét:

Tại thời điểm ban đầu, thể tích bàn chân chuột ở lô chứng (1,10 ± 0,13 ml), lô thuốc tham chiếu (1,20 ± 0,11 ml), lô ĐTP liều 1 (1,07 ± 0,07 ml) và lô ĐTP liều 2 (1,01 ± 0,14 ml) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, với p đều > 0,05. Trong đó thể tích bàn chân chuột ở lô thuốc tham chiếu là lớn nhất.

Tại thời điểm sau 30 phút, thể tích bàn chân chuột ở lô chứng ($1,32 \pm 0,10$ ml), lô thuốc tham chiếu ($1,37 \pm 0,11$ ml), lô ĐTP liều 1 ($1,25 \pm 0,07$ ml) và lô ĐTP liều 2 ($1,14 \pm 0,12$ ml). Trong đó, thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 1 thấp hơn đáng kể so với lô thuốc tham chiếu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Mặt khác, thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 2 thấp hơn rõ rệt so với lô chứng, lô thuốc tham chiếu (có ý nghĩa thống kê với p đều $< 0,001$) và thấp hơn lô ĐTP liều 1 (có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$).

Tại thời điểm sau 60 phút, thể tích bàn chân chuột ở lô chứng ($1,50 \pm 0,17$ ml), lô thuốc tham chiếu ($1,47 \pm 0,11$ ml), lô ĐTP liều 1 ($1,33 \pm 0,09$ ml) và lô ĐTP liều 2 ($1,21 \pm 0,12$ ml). Trong đó, thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 1 thấp hơn đáng kể so với lô thuốc tham chiếu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Mặt khác, thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 2 thấp hơn rõ rệt so với lô chứng (có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$) và lô thuốc tham chiếu (có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$).

Tại thời điểm sau 90 phút, thể tích bàn chân chuột ở lô chứng ($1,64 \pm 0,16$ ml), lô thuốc tham chiếu ($1,54 \pm 0,09$ ml), lô ĐTP liều 1 ($1,43 \pm 0,14$ ml) và lô ĐTP liều 2 ($1,30 \pm 0,15$ ml). Trong đó, thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 thấp hơn rõ rệt so với lô chứng (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p đều $< 0,05$). Mặt khác, thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 2 thấp hơn đáng kể so với lô thuốc tham chiếu (có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$) và lô ĐTP liều 1 (có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$).

Tại thời điểm sau 120 phút, thể tích bàn chân chuột ở lô chứng ($1,75 \pm 0,16$ ml), lô thuốc tham chiếu ($1,66 \pm 0,17$ ml), lô ĐTP liều 1 ($1,58 \pm 0,21$ ml) và lô ĐTP liều 2 ($1,40 \pm 0,17$ ml). Trong đó, thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 thấp hơn rõ rệt so với lô chứng (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p đều $< 0,05$). Mặt khác, thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 2 thấp hơn đáng kể so với lô thuốc tham chiếu và lô ĐTP liều 1 (có ý nghĩa thống kê với p đều $< 0,05$).

Bảng 3.7. % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm sau 30 phút và 60 phút

Lô nghiên cứu	% tăng thể tích bàn chân chuột sau 30 phút	% tăng thể tích bàn chân chuột sau 60 phút
Lô chứng (1) (n=10)	120,49 ± 6,97	136,74 ± 10,37
Lô chứng dương (2) (n=10)	114,90 ± 9,97	123,47 ± 8,55
Lô ĐTP liều 1 (3) (n=10)	117,83 ± 7,62	125,00 ± 9,25
Lô ĐTP liều 2 (4) (n=10)	112,99 ± 6,93	120,98 ± 6,92
p	$p_{1-4} < 0,05$	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,001$

Nhận xét: Sau khi gây viêm, thể tích bàn chân chuột đều tăng ở các lô so với thời điểm ban đầu. Tuy nhiên so với lô chứng, thì tỉ lệ % tăng thể tích của lô ĐTP liều 1 và ĐTP liều 2 vẫn thấp hơn đáng kể.

Tại thời điểm sau 30 phút, % tăng thể tích bàn chân chuột của lô ĐTP liều 1 là $117,83 \pm 7,62$ và lô ĐTP liều 2 là $112,99 \pm 6,93$, trong đó % tăng thể tích bàn chân của lô ĐTP liều 2 thấp hơn và có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (với $p < 0,05$).

Tại thời điểm sau 60 phút, % tăng thể tích bàn chân chuột của lô chứng dương ($123,47 \pm 8,55$), lô ĐTP liều 1 ($125,00 \pm 9,25$) và lô ĐTP liều 2 ($120,98 \pm 6,92$) đều thấp hơn lô chứng và sự khác biệt đều có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Trong đó, % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 2 so với lô chứng là thấp hơn rõ rệt nhất, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

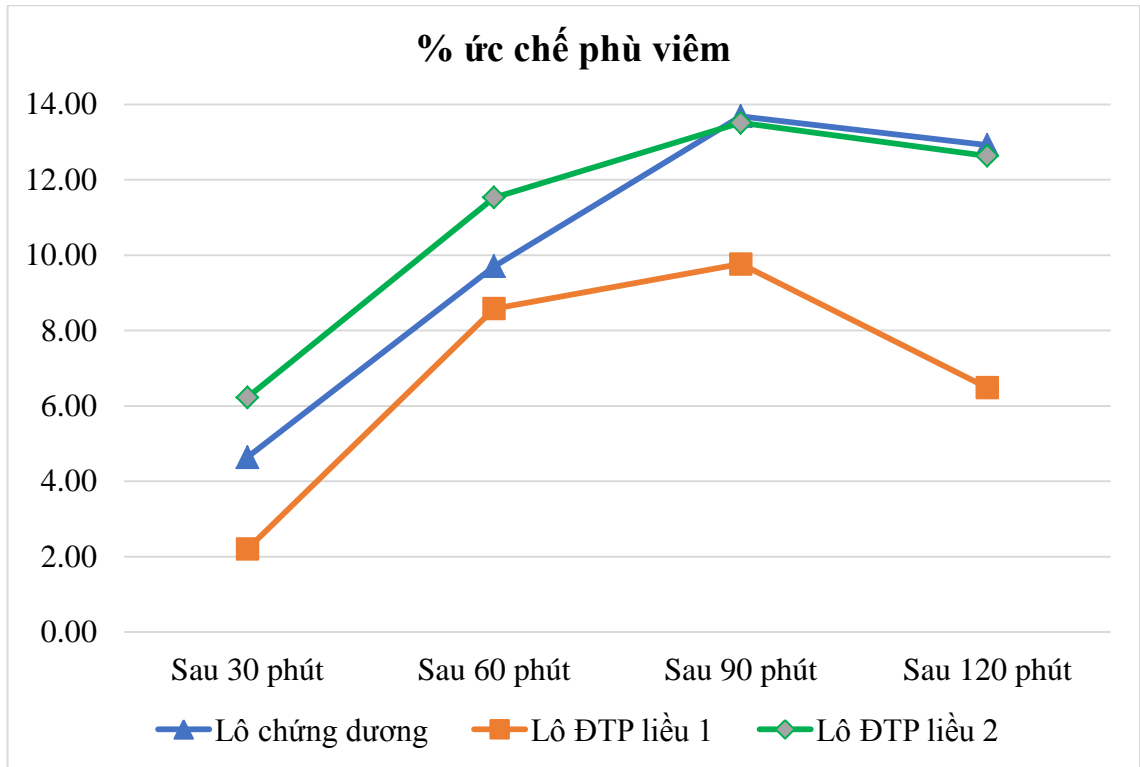
Bảng 3.8. % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm sau 90 phút và 120 phút

Lô nghiên cứu	% tăng thể tích bàn chân chuột sau 90 phút	% tăng thể tích bàn chân chuột sau 120 phút
Lô chứng (1) (n=10)	149,55 ± 12,76	159,64 ± 12,94
Lô chứng dương (2) (n=10)	129,08 ± 8,97	139,01 ± 12,80
Lô ĐTP liều 1 (3) (n=10)	134,94 ± 14,94	149,28 ± 22,11
Lô ĐTP liều 2 (4) (n=10)	129,34 ± 9,77	139,47 ± 14,20
p	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-4} < 0,001$	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$

Nhận xét:

Tại thời điểm sau 90 phút, % tăng thể tích bàn chân chuột của lô chứng dương (129,08 ± 8,97), lô ĐTP liều 1 (134,94 ± 14,94) và lô ĐTP liều 2 (129,34 ± 9,77) đều thấp hơn đáng kể so với lô chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, trong đó % tăng thể tích bàn chân của lô ĐTP liều 2 thấp hơn so với lô chứng với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,001$.

Tại thời điểm sau 120 phút, % tăng thể tích bàn chân chuột của lô chứng dương (139,01 ± 12,80), lô ĐTP liều 1 (149,28 ± 22,11) và lô ĐTP liều 2 (139,47 ± 14,20) đều thấp hơn đáng kể so với lô chứng, tuy nhiên chỉ có sự khác biệt rõ rệt và có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa lô chứng dương, lô ĐTP liều 2 so với lô chứng. % tăng thể tích bàn chân chuột của lô ĐTP liều 1 so với lô chứng không có sự khác biệt (với $p > 0,05$).



Biểu đồ 3.1. % ức chế phù bàn chân chuột của các lô nghiên cứu

Nhận xét: Qua biểu đồ nhận thấy, % ức chế phù viêm của lô ĐTP liều 2 cao hơn so với lô chứng dương. % ức chế phù viêm tăng dần sau 30 phút, 60 phút, tốt nhất là ở thời điểm sau 90 phút, và giảm dần ở thời điểm sau 120 phút.

3.3. Kết quả đánh giá tác dụng hạ acid uric máu

Bảng 3.9. Nồng độ acid uric máu chuột của các lô nghiên cứu

Lô nghiên cứu	n	Nồng độ acid uric ($\mu\text{mol/L}$)	Giảm so với lô mô hình (%)
Lô chứng sinh lý (1)	10	$77,80 \pm 31,95$	
Lô mô hình (2)	10	$126,30 \pm 52,88$	
Lô chứng dương (3)	10	$76,50 \pm 15,15$	39,43
Lô ĐTP liều 1 (4)	10	$79,50 \pm 12,80$	37,05
Lô ĐTP liều 2 (5)	10	$78,40 \pm 21,50$	37,93
p		$p_{2-1} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{2-5} < 0,05$	

Nhận xét: Qua bảng trên có thể nhận thấy, nồng độ acid uric máu của các lô chứng sinh lý, chứng dương, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 đều thấp hơn rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$), cụ thể nồng độ acid uric máu của lô chứng dương là thấp nhất ($76,50 \pm 15,15 \mu\text{mol/L}$), tiếp đến là lô ĐTP liều 2 ($78,40 \pm 21,50 \mu\text{mol/L}$), và đến lô ĐTP liều 1 ($79,50 \pm 12,80 \mu\text{mol/L}$). Tuy nhiên giữa các lô chứng sinh lý, lô chứng dương, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 thì không có sự khác biệt rõ rệt về nồng độ acid uric máu (với $p > 0,05$). % Giảm nồng độ acid uric trong máu của lô chứng dương so với lô mô hình chiếm tỷ lệ lớn nhất là 39,43%; % giảm nồng độ acid uric máu của lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 so với lô mô hình lần lượt là 37,05% và 37,93%.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về tác dụng giảm đau của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm.

Trong cơn gút cấp, đau là triệu chứng phổ biến và cũng là triệu chứng điển hình của bệnh. Đây là triệu chứng làm bệnh nhân khó chịu, ảnh hưởng tới chất lượng cuộc sống. Giảm đau cũng là một trong những mục tiêu điều trị của bệnh gút. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng hai mô hình thử nghiệm để đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang cứng Định Thống Phong: mô hình mâm nóng để đánh giá tác dụng giảm đau trung ương và sử dụng mô hình gây đau quặn bằng acid acetic để nghiên cứu tác dụng giảm đau ngoại biên.

4.1.1. Trên mô hình mâm nóng

Phương pháp mâm nóng dùng tác nhân gây đau là nhiệt độ, khi nhiệt tác động lên các đầu mút dây thần kinh ở trên da và niêm mạc, cảm giác đau được truyền về não bộ và từ đó cơ thể có đáp ứng thích hợp. Receptor đau có ở da và ở các mô là những đầu mút tự do của dây thần kinh. Chúng được phân bố rộng trên lớp nông của da, niêm mạc và ở các mô bên trong (các mô nằm sâu có ít receptor đau hơn) [67]. Do đó, trong mô hình mâm nóng, phản ứng đầu tiên của chuột nghiên cứu, là do nhiệt tác động lên các đầu mút thần kinh. Sau đó, cảm giác đau được truyền về sừng sau tủy sống và đến trung tâm nhận thức cảm giác đau ở thân não và trung tâm dưới vỏ não, từ đó cơ thể sẽ có những đáp ứng phù hợp. Trong mô hình này, thời gian phản ứng với cảm giác đau của động vật được dùng để đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của thuốc nghiên cứu.

Kết quả bảng 3.1 cho thấy: ở thời điểm trước khi uống thuốc, không có sự khác nhau về thời gian phản ứng với nhiệt của chuột giữa các lô với $p > 0,05$. Ở thời điểm sau 5 ngày uống thuốc, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở các lô thuốc tham chiếu ($28,76 \pm 2,38s$), lô ĐTP liều 1 ($25,72 \pm 2,70s$) và lô ĐTP liều 2 ($27,73 \pm 3,49s$) đều cao hơn đáng kể so với lô chứng ($p < 0,001$). Mặc dù thời gian phản ứng với nhiệt của lô thuốc tham chiếu là cao nhất, tuy nhiên không có sự khác biệt rõ rệt về thời gian giữa lô thuốc tham chiếu và lô ĐTP liều 1 với lô ĐTP liều 2 ($p > 0,05$).

Thuốc tham chiếu chúng tôi sử dụng trong mô hình nghiên cứu này là Codein, đây là một dẫn chất của phenanthren, có tác dụng dược lý tương tự như morphin. Là thuốc giảm đau trung ương, codein ức chế tất cả các điểm chốt trên đường dẫn truyền cảm giác đau của hệ thần kinh trung ương như tủy sống, hành tủy, đồi thị và vỏ não. Ngoài ra, codein còn làm tăng ngưỡng nhận cảm giác đau và giảm các đáp ứng phản xạ với đau theo cơ chế trung ương [70], vì thế nên được sử dụng làm chứng dương trong nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu trên cho thấy viên nang cứng Định Thống Phong ở cả hai mức liều 860 mg/kg/ngày (tương đương với liều dùng trên người) và 2580 mg/kg/ngày (gấp 03 liều dùng trên người) trên chuột nhất trắng, có tác dụng giảm đau, thông qua việc kéo dài thời gian phản ứng của chuột với nhiệt độ và tác dụng này gần như tương đương tác dụng giảm đau của thuốc tham chiếu.

Theo quan điểm của YHCT “bất thông thì tắc thông” có nghĩa là khi khí cơ trong cơ thể vận hành thông xướng, không có trở ngại thì không gây đau; ngược lại nếu khí huyết ứ trệ không thông thì sẽ gây đau. Đồng thời “bất vinh thì cũng tắc thông” có nghĩa là khí huyết trong cơ thể đầy đủ, khí thuận huyết hòa, các cơ quan tạng phủ được nuôi dưỡng tốt, nhu nhuận thì không gây đau; ngược lại nếu khí hư huyết ít không nuôi dưỡng được cân, cơ nhục,

kinh mạch, tạng phủ thì sẽ gây đau. Trong thành phần của viên nang cứng Định Thống Phong có các vị thuốc giảm đau theo 2 cơ chế trên của YHCT. Cụ thể, Hoàng kỳ có tác dụng ích khí cố biểu, bổ khí, do khí là soái của huyết, khí hành thì huyết hành giúp cho khí cơ thông xương. Hà thủ ô bên cạnh tác dụng bổ ích can thận còn có tác dụng bổ huyết, dưỡng huyết. Dây gấm có tác dụng thông kinh, thư cân hoạt huyết. Kê huyết đằng có tác dụng bổ huyết, hoạt huyết, thông kinh lạc. Ngưu tất hoạt huyết, mạnh gân xương và Ích mẫu có tác dụng hoạt huyết, khử ú. Ngoài ra, một số vị thuốc đã được các nghiên cứu dược lý học hiện đại chỉ ra, có tác dụng giảm đau như hoạt chất β -eudesmol trong thương truật có tác dụng giảm đau trên mô hình mâm nóng [71], bên cạnh đó ngưu tất cũng đã được chứng minh làm giảm đau trên mô hình này với mức liều 600 và 900mg/kg [72].

4.1.2. Trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic

Các cơn đau do một tác nhân bên ngoài tạo ra có thể tạo ra phản xạ và phản ứng có ý thức nhằm bảo vệ cơ thể khỏi những tác hại có thể xảy ra. Khi đau các dây thần kinh phản ứng với các kích thích và truyền thông tin qua các sợi hướng tâm đến thần kinh trung ương. Tủy sống có liên quan nhiều đến quá trình tích hợp, điều chỉnh và chuyển tiếp cơn đau. Các xung động gây đau đi lên tủy sống đến các trung tâm xử lý của não. Các con đường chủ yếu để dẫn truyền cơn đau là đường trong đồi thị. Thông qua các tác dụng dược lý của thuốc có thể thay đổi các cơn đau bằng cách giảm truyền tín hiệu đau đến não hoặc bằng cách tăng tín hiệu ức chế protein kinase C từ thần kinh trung ương.

Để đánh giá tác dụng giảm đau theo cơ chế ngoại biên, có thể sử dụng nhiều mô hình dược lý, tuy nhiên phổ biến, hay dùng nhất là mô hình gây đau quận thực nghiệm. Tác nhân gây đau quận thường sử dụng là acid acetic và phenylquinon [67]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng acid acetic để

nghiên cứu tác dụng giảm đau thông qua việc tăng nồng độ các enzym liên quan đến tổng hợp các prostaglandin gây đau như cyclooxygenase (COX) và lipoxygenase (LOX) và tăng giải phóng các chất nội sinh gây viêm như bradykinin, prostaglandin, histamin. Chuột được tiêm vào ổ bụng dung dịch acid acetic. Pha đáp ứng đầu tiên là do kích thích trực tiếp lên sợi cảm giác của thủ thuật tiêm và thuốc tiêm, pha đáp ứng muộn hơn là của phản ứng viêm và giải phóng ra các chất trung gian hóa học gây đau. Cụ thể, acid acetic kích thích các đại thực bào và dưỡng bào có mặt ở phúc mạc từ đó làm giải phóng các chất gây đau: TNF- α , IL-1 β , IL-8. Aspirin được lựa chọn làm thuốc tham chiếu bởi aspirin ức chế enzym cyclooxygenase (COX), dẫn đến ức chế tổng hợp prostaglandin, thromboxan và các sản phẩm khác như prostacyclin của COX; làm giảm tính cảm thụ của các ngọn dây thần kinh cảm giác với các chất gây đau [70].

Kết quả bảng 3.2 và bảng 3.3 cho thấy: Trong mỗi 5 phút sau khi tiêm acid acetic, số cơn đau quận của lô chứng đều cao hơn đáng kể so với các lô thuốc tham chiếu, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2. Không có sự khác nhau có ý nghĩa ($p > 0,05$) về số cơn đau quận khi so sánh giữa lô thuốc tham chiếu với lô ĐTP liều 1, lô ĐTP liều 2 và khi so sánh giữa lô ĐTP liều 1 với lô ĐTP liều 2.

Kết quả bảng 3.4 cho thấy: tổng số cơn đau quận trong 20 phút của lô chứng là $36,0 \pm 2,49$ cao hơn đáng kể so với lô thuốc tham chiếu ($23,9 \pm 2,60$), lô ĐTP liều 1 ($24,2 \pm 2,30$) và lô ĐTP liều 2 ($23,8 \pm 2,20$) với p đều $< 0,001$. Không có sự khác nhau có ý nghĩa ($p > 0,05$) khi so sánh giữa các lô thuốc tham chiếu, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2. % giảm số cơn đau của các lô thuốc tham chiếu, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 so với lô chứng lần lượt là 33,61%, 32,78% và 33,89%.

Giai đoạn đầu của đau quặn (pha sớm) từ 0-5 phút được phân loại là cơn đau thần kinh, do acid acetic kích thích trực tiếp các thụ thể đau tại vùng phúc mạc của chuột và là phản ứng cấp tính. Pha muộn từ 15-20 phút sau khi tiêm, được phân loại là đau do phản ứng viêm gây bởi sự phóng thích các chất trung gian hóa học như histamin, serotonin, prostaglandin và bradykinin, đồng thời kích hoạt các tế bào thần kinh ở sừng sau tủy sống. Có thể thấy, số cơn đau quặn tại các thời điểm có sự khác nhau, cụ thể số cơn đau quặn của lô ĐTP liều 2 tại các thời điểm đều giảm hơn so với lô ĐTP liều 1 và tổng số cơn đau quặn của lô ĐTP liều 2 là thấp nhất, như vậy tác dụng giảm đau của các lô ĐTP trên thực nghiệm phụ thuộc vào liều, liều cao cho tác dụng giảm đau tốt hơn liều thấp. Đồng thời, việc làm giảm số cơn đau quặn của lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 cũng khá tương đồng với lô thuốc tham chiếu (sử dụng aspirin).

Qua những kết quả trên cho thấy viên nang cứng Định Thống Phong ở 2 mức liều 860 mg/kg/ngày (tương đương với liều dùng trên người) và 2580 mg/kg/ngày (gấp 03 liều dùng trên người) trên chuột nhắt trắng có tác dụng giảm đau, làm giảm số cơn đau quặn sau khi gây đau bằng acid acetic.

Như vậy, viên nang ĐTP đã thể hiện tác dụng giảm đau theo cả hai cơ chế trung ương và ngoại biên. Kết quả của nghiên cứu này được củng cố bởi những bằng chứng đã chỉ ra rằng nhiều thành phần, dược liệu trong công thức bào chế của viên nang ĐTP có tác dụng giảm đau, chống viêm như: ngưu tất có tác dụng chống viêm, thường dùng trong các bài thuốc giảm đau xương khớp [73]. Hy thiêm có tác dụng giảm đau, chống viêm. Chiết xuất ethanol thô của Hy thiêm có hoạt động chống tăng axit uric máu. Hơn nữa, các nghiên cứu in vivo cho thấy chiết xuất giảm 31,4% nồng độ axit uric huyết thanh, ức chế 32,7% xanthine oxidase, giảm 30,4% thể tích phù chân, giảm triệu chứng trong viêm màng hoạt dịch do urat và tác dụng giảm đau có ý nghĩa thống kê

ở liều 120 mg/kg so với nhóm đối chứng. Phân tích hóa học của n-butanol-soluble fraction cho thấy hàm lượng phenolic cao, được xác định là chất tương tự axit caffeic và flavonone. Nghiên cứu này cho thấy cơ chế chống tăng axit uric máu và chống viêm của Hy thiêm có liên quan đến tác dụng ức chế XO của các thành phần phenolic [17]. Ích mẫu tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic và chống viêm. Khoảng 140 hợp chất hóa học đã được phân lập từ Ích mẫu và các thành phần chính đã được xác định là ancaloit, diterpen và flavone. Trong số các hợp chất hoạt động này, tác dụng của leonurine và stachydrine đã được nghiên cứu rộng rãi. Các thành phần hoạt động chính trong *Leonurus japonicus* có tác dụng dược lý rộng, như hoạt động bảo vệ tim mạch, chống oxy hóa, bảo vệ thần kinh và chống ung thư [74]. Thương truật có tác dụng chống viêm, dùng điều trị các bệnh về xương khớp. Thương truật chứa sesquiterpenes, sesquiterpenoids, polyethylene alkynes, phytosterol... elemol, β -selinene và atractylone. Chiết xuất từ Thương truật có thể có tác dụng chống ung thư, chống béo phì và chống viêm [75]. Phá cố chỉ, tỳ giải, thổ phục linh và hoàng kỳ đều có tác dụng chống viêm [76], [77], [78], [79]. Các nghiên cứu chỉ ra rằng coumarin, flavonoid và meroterpenes là thành phần chính của Phá cố chỉ. Các chiết xuất và thành phần hoạt tính của Phá cố chỉ đã chứng minh có nhiều hoạt động sinh học, bao gồm có hoạt tính estrogen, chống ung thư, chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống trầm cảm, chống viêm và bảo vệ tế bào gan [76]. Khoảng 200 hợp chất hóa học đã được phân lập từ Thổ Phục Linh và các thành phần chính được xác định là flavonoid và flavonoid glycoside, axit phenolic và steroid. Các nghiên cứu in vivo và in vitro cho thấy các thành phần hoạt động chính của Thổ phục linh có hoạt động dược lý khác nhau như gây độc tế bào, chống viêm và tác dụng điều hòa miễn dịch, chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan, kháng vi-rút, kháng khuẩn và các hoạt động bảo vệ tim mạch [78]. Hoàng kỳ là một trong những loại vị thuốc cổ truyền Trung Quốc được sử dụng rộng rãi

nhất, có tác dụng kích thích miễn dịch, chất chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan, lợi tiểu, chống ung thư và chống viêm. Thành phần của Hoàng kỳ bao gồm hơn 100 hợp chất, trong đó có flavonoid, saponin, polysaccharit và axit amin [79].

4.2. Bàn luận về tác dụng chống viêm của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm

Trong cơ chế bệnh sinh của Gút, các khớp cũng như tổ chức xung quanh khớp bị lắng đọng tinh thể urat kéo dài, dẫn đến phá hủy màng hoạt dịch, bao khớp, mô khớp, từ đó gây viêm khớp mạn tính, biến dạng khớp. Các tinh thể urat lắng đọng lâu ngày sẽ hình thành nên hạt tophi, khi các hạt tophi này vỡ sẽ gây ra cơn gút cấp với biểu hiện sưng, nóng, đỏ, đau. Trên lâm sàng, để đánh giá tác dụng hỗ trợ điều trị gút của một thuốc, không phải chỉ đánh giá tác dụng hạ acid uric máu, mà còn phải nghiên cứu tác dụng chống viêm và giảm đau.

Winter từ những năm 60 của thế kỉ trước đã sử dụng phương pháp gây phù bàn chân sau của chuột bằng carrageenin để đánh giá tác dụng chống viêm của thuốc [69], đến nay phương pháp này vẫn thường xuyên được sử dụng để nghiên cứu tác dụng chống viêm của thuốc trên động vật thực nghiệm [80].

Carrageenin là polysaccharid cấu tạo từ các polymer của β -(1,3)-D-galactose và β -(1,4)-3,6-hydro-D-galactose. Do là hợp chất cao phân tử nên khi vào trong cơ thể, carrageenin trở thành kháng nguyên và gây viêm thông qua cơ chế miễn dịch kháng nguyên- kháng thể (nó làm kích thích đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính tập trung tại vị trí carrageenin xâm nhập để làm nhiệm vụ thực bào và đồng thời giải phóng ra các chất trung gian hóa học gây viêm, phù, đau). Carrageenin gây viêm cấp gần giống như cơ chế bệnh sinh của phản ứng viêm, theo 2 pha: pha 1 đặc trưng bởi sự giải phóng của

histamin, serotonin; pha 2 đặc trưng bởi sự giải phóng của bradykinin, protease, các prostaglandin. Do có cơ chế gây viêm như vậy nên carrageenin phù hợp để gây viêm trong nghiên cứu tác dụng của các chất, dược liệu hoặc thuốc có tác dụng ức chế riêng lẻ đối với từng pha hoặc đồng thời các chất trung gian hóa học ở cả 2 pha của phản ứng viêm. Do vậy carrageenin được lựa chọn là tác nhân gây viêm trong nghiên cứu này. Khi tiêm carrageenin vào dưới da gan bàn chân chuột, sẽ gây nên phù viêm bàn chân chuột. Mẫu nghiên cứu có tác dụng kháng viêm sẽ làm giảm mức độ phù bàn chân chuột. Trong nghiên cứu của chúng tôi, thuốc đối chứng được sử dụng là một thuốc chống viêm thuộc nhóm Nonsteroid.

Kết quả bảng 3.6 và bảng 3.7 cho thấy: với lô ĐTP liều 1, tại thời điểm sau 30 phút và sau 60 phút, thể tích bàn chân chuột đều thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô thuốc đối chứng; đồng thời tại thời điểm sau 90 phút và sau 120 phút thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô chứng. Với lô ĐTP liều 2, tại các thời điểm sau khi gây viêm đều thấp hơn đáng kể so với lô chứng, lô thuốc đối chứng và lô ĐTP liều 1, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Kết quả bảng 3.8 và bảng 3.9 cho thấy: ban đầu tại thời điểm sau 30 phút, chỉ có lô ĐTP liều 2 là % tăng thể tích bàn chân chuột thấp hơn có ý nghĩa so với lô chứng (với $p < 0,05$); nhưng sau đó tại các thời điểm 60 phút, 90 phút và 120 phút thì cả lô ĐTP liều 1, lô ĐTP liều 2 và lô thuốc đối chứng % tăng thể tích bàn chân chuột đều thấp hơn so với lô chứng, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Từ đó có thể thấy % tăng thể tích bàn chân chuột của các lô uống ĐTP, thấp hơn đáng kể so với lô chứng; % tăng thể tích bàn chân chuột của lô ĐTP liều 1 cao hơn so với liều 2 tuy nhiên chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Như vậy có thể thấy rằng viên nang cứng Định Thống Phong liều 1500mg/kg thể hiện tác dụng giảm viêm, giảm phù nề ở ngay thời điểm sau 30 phút; trong khi đó liều 500mg/kg (tương đương liều dùng trên người) bắt đầu có tác dụng giảm viêm, giảm phù nề sau 60 phút.

Viên nang cứng ĐTP có tác dụng chống viêm trên mô hình gây phù viêm bằng carrageenin do làm ức chế, giảm phù bàn chân chuột và tác dụng có xu hướng phụ thuộc vào liều. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với những nghiên cứu đã được công bố về tác dụng của các dược liệu có trong công thức bào chế của viên nang cứng ĐTP.

Theo nghiên cứu của Nut Koonrungsesomboon và cộng sự đã cho thấy Thương truật thể hiện tác dụng chống viêm thông qua việc ức chế 5 – lipoxygenase (5-LOX) và cyclooxygenase-1 (COX-1) [81].

Ngưu tất đã được chứng minh có tác dụng chống viêm, thường được dùng trong các bài thuốc giảm đau xương, khớp; đặc biệt cơ chế chống viêm được xác định là thông qua việc ức chế sự sản xuất nitric oxid (NO) và biểu hiện iNOS cũng như hoạt động của yếu tố nhân kappa B (NF- κ B) trong các đại thực bào chuột [73]. Đồng thời, Ngưu tất có dụng ức chế các cytokine gây viêm như IL-1 β , TNF- α , cyclooxygenase-2 (COX-2), prostaglandin E2 (PGE2) qua đó làm giảm quá trình viêm của cơ thể [82].

Thiên niên kiện là một dược liệu được sử dụng rộng rãi trong điều trị các bệnh lý xương khớp. Một nghiên cứu gần đây đã tìm được 19 Sesquiterpenoids (1-19) từ rễ Thiên niên kiện. Các phân lập này cho thấy tác dụng chống viêm mạnh mẽ thông qua ức chế COX-2, PGE2 tùy thuộc vào mức liều sử dụng [83].

Khi phân lập dịch chiết ethanol của hy thiêm được hoạt chất là kerinol. Tác dụng chống viêm của kerinol tương tự piroxicam tại thời điểm 4h trên mô

hình viêm cấp phủ chân chuột, ức chế đáng kể sự viêm khớp mạn tính gây ra bởi CFA (complete Freund's adjuvant). Một trong những cơ chế về tác dụng chống viêm của kerinol là khả năng ức chế cytokin: IL - beta TNF-alpha [84].

Theo tác giả Đỗ Trung Đàm (1996) nghiên cứu vai trò của thổ phục linh trong các bài thuốc chữa thấp khớp, cho thấy thổ phục linh có tác dụng chống viêm trên các mô hình thực nghiệm viêm cấp và mạn tính [85].

Nhiều hợp chất được phân lập từ phá cố chỉ đã được công bố có tác dụng chống viêm như bavachinin, bakuchiol, bavachin, neobavaisoflavon, psoralidin... với cơ chế thông qua việc ức chế sản xuất iNOS trong các đại thực bào bằng cách làm bất hoạt, giảm khả năng sản xuất NF- κ B; ức chế cyclooxygenase-2 và 5-lipoxygenase [76]. Một số dược liệu khác trong công thức bào chế của ĐTP như: Thương truật, tỳ giải, thổ phục linh, hoàng kỳ và hy thiêm đều đã được chứng minh có tác dụng chống viêm thông qua việc ức chế sản xuất NO, thông qua con đường NF- κ B [76], [77], [78], [79]. Do vậy có thể viên nang cứng ĐTP cũng gây tác dụng chống viêm thông qua cơ chế này.

Đối với các đợt gút cấp, thì theo lý luận YHCT sẽ tương ứng với Thống phong thể phong thấp nhiệt. Phong thấp nhiệt thừa lúc chính khí của cơ thể hư tổn, vệ ngoại bất cố xâm phạm vào kinh mạch; kèm theo công năng thăng thanh giáng trọc của tạng thận và tỳ bị rối loạn làm cho trọc độc bị ứ ở trong; cùng với chế độ ăn nhiều đạm, uống nhiều rượu càng làm cho thấp nhiệt dễ phát sinh. Thấp nhiệt tà xâm nhập cơ thể gây tắc nghẽn kinh lạc, khí huyết ứ trệ tại khớp gây đau, co duỗi khó khăn. Thành phần của viên nang cứng Định Thống Phong có các vị thuốc có tác dụng khu phong, trừ thấp và thanh nhiệt, tiêu viêm. Cụ thể, Thiên niên kiện có tác dụng khu phong, trừ thấp, lợi gân xương. Hy thiêm và Thổ phục linh trừ phong thấp, thanh nhiệt. Tỳ giải và Ích

mẫu lợi thủy trừ thấp, tiêu viêm, giải độc. Hoạt thạch thanh nhiệt. Hoàng kỳ ích khí, tiêu viêm. Bán hạ chế tảo thấp, tiêu viêm tán kết. Thương truật trừ phong thấp, kiện tỳ táo thấp.

4.3. Bàn tác dụng hạ acid uric máu của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm.

Nguyên nhân chính của bệnh gút là do tăng acid uric, chính vì vậy việc điều trị giúp làm giảm acid uric cũng là một trong những vấn đề quan trọng đáng được lưu tâm. Các thuốc hạ acid uric máu hiện nay chủ yếu được chia thành hai nhóm theo cơ chế tác dụng: thuốc ức chế tổng hợp acid uric (ức chế enzym xanthin oxidase) và thuốc tăng thải trừ acid uric qua thận.

Enzym uricase có ở hầu hết các loài động vật có vú, có vai trò chuyển hóa acid uric thành allantoin một dạng dễ tan hơn và đào thải ra ngoài qua thận. Khi thiếu hụt enzym uricase dẫn đến nồng độ acid uric trong máu người và động vật có vú tăng cao. Do đó, ức chế uricase là một phương pháp hiệu quả và được dùng phổ biến để gây tăng acid uric máu trên động vật thực nghiệm. Gây tăng acid uric trên động vật thực nghiệm bằng chất ức chế uricase như kali oxonat đã được Starvic và cộng sự giới thiệu từ khá lâu. Sau khi tiêm kali oxonat vào màng bụng chuột sẽ gây tăng acid uric máu nhanh trong thời gian ngắn. Nồng độ acid uric máu đạt đỉnh tại thời điểm hai giờ sau khi tiêm và tiếp đó giảm dần, đến giờ thứ tám thì trở về gần như bình thường. Mô hình gây tăng cấp acid uric bằng kali oxonat được các nhà nghiên cứu sử dụng rất phổ biến trên thực nghiệm để đánh giá tác dụng hạ acid uric của thuốc [86].

Qua bảng 3.10 có thể nhận thấy, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 có tác dụng làm giảm nồng độ acid uric máu tốt hơn so với lô mô hình, cụ thể nồng độ acid uric máu của lô ĐTP liều 2 giảm còn $78,40 \pm 21,50 \mu\text{mol/L}$ và lô ĐTP liều 1 giảm còn $79,50 \pm 12,80 \mu\text{mol/L}$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p

< 0,001 ở cả 02 mức liều nghiên cứu là 580 mg/kg/ngày và liều 1740 mg/kg/ngày. Thuốc đối chứng Allopurinol cũng thể hiện tác dụng hạ acid uric máu tốt hơn so với lô chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Do Allopurinol là thuốc ức chế mạnh enzym xanthin oxydase, làm giảm tổng hợp acid uric máu, đồng thời nó cũng làm tăng thải acid uric qua nước tiểu, vì vậy allopurinol làm giảm đáng kể nồng độ acid uric trong máu. % Giảm nồng độ acid uric trong máu của lô chứng (Allopurinol) so với lô mô hình chiếm tỷ lệ lớn nhất là 39,43%; % giảm nồng độ acid uric máu của lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 so với lô mô hình lần lượt là 37,05% và 37,93%.

Kết quả nghiên cứu cho thấy ở cả hai lô dùng viên nang cứng Định Thống Phong có nồng độ acid uric thấp hơn đáng kể so với lô mô hình, như vậy viên nang cứng Định Thống Phong ở cả 2 mức liều có tác dụng hạ acid uric máu khi gây tăng bằng kali oxonat; cơ chế của tác dụng này có thể do viên nang cứng ĐTP đã ức chế enzym xanthin oxidase từ đó làm hạ acid uric máu.

Trong thành phần của viên nang cứng Định Thống Phong có chứa hy thiêm, là dược liệu đã được chứng minh có tác dụng ức chế enzym xanthin oxidase và hạ acid uric máu trên mô hình gây tăng acid uric máu bằng kali oxonat, hy thiêm có chứa nhiều flavonoid quercetin là một flavonol điển hình, có khả năng ức chế xanthin oxidase mạnh [74]. Ngoài ra, thổ phục linh trong viên nang cứng Định Thống Phong cũng có tác dụng hạ acid uric máu thông qua việc ức chế enzym xanthin oxidase, như trong nghiên cứu của Nguyễn Thủy Dương đã chỉ ra điều này [87].

Bên cạnh việc ức chế enzym xanthin oxidase, thì 1 số vị thuốc trong viên nang cứng Định Thống Phong còn có tác dụng lợi tiểu (hay tác dụng lợi thủy thâm thấp theo quan điểm Y học cổ truyền), góp phần tăng thải acid uric qua thận. Theo lý luận Y học cổ truyền, tạng tỳ là “hậu thiên chi bản”, có

công năng chủ yếu là vận hóa đồ ăn, thức uống, thủy dịch. Khi công năng của tạng tỳ suy giảm hay tỳ khí suy kém, thì thủy cốc không được vận hóa, thanh khí không thăng, trọc khí không giáng, chuyển hóa bị rối loạn. Sản phẩm dư thừa của chuyển hóa ứ đọng lại, sinh ra đàm ẩm. Rối loạn trong chuyển hóa nhân purin cũng có ý nghĩa tương đồng với việc rối loạn chức năng vận hóa của tạng Tỳ trong Y học cổ truyền. Sản phẩm thoái giáng cuối cùng của purin là acid uric, cũng có thể coi như chất đàm trọc. Tạng thận là “tiên thiên chi bản”, chủ về khí hóa, thủy dịch. Có vai trò trong bài tiết các sản phẩm chuyển hóa của cơ thể ra ngoài. Quan điểm này cũng tương đồng với chức năng thanh thải acid uric của thận. Do đó, để điều trị bệnh gút, trong viên nang cứng Định Thống Phong có kết hợp các vị thuốc có tác dụng lợi niệu trừ thấp như tỳ giải, thổ phục linh, ích mẫu.

KẾT LUẬN

Qua các nghiên cứu trên thực nghiệm của viên nang cứng Định Thống Phong, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau :

1. Về tác dụng giảm đau, chống viêm của viên nang cứng Định Thống Phong trên thực nghiệm

1.1. Tác dụng giảm đau của viên nang cứng Định Thống Phong trên thực nghiệm.

Viên nang cứng Định Thống Phong ở 02 mức liều 860 mg/kg và 2580 mg/kg thể trọng, có tác dụng giảm đau trên mô hình mâm nóng và mô hình gây đau quận ở chuột nhắt trắng. Trên mô hình mâm nóng: Các lô uống viên nang cứng ĐTP làm tăng thời gian phản ứng với nhiệt của chuột nhắt trắng; trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic: Các lô uống viên nang cứng ĐTP đã làm giảm số cơn đau lần lượt là 32,78% và 33,89% so với lô chứng.

1.2. Tác dụng chống viêm của viên nang cứng Định Thống Phong trên thực nghiệm.

Viên nang cứng Định Thống Phong ở 02 mức liều 500 mg/kg và 1500 mg/kg thể trọng, có tác dụng chống viêm thông qua ức chế phù viêm trên mô hình gây viêm bằng carrageenin ở chuột cống trắng. Sau khi gây viêm từ 30 đến 120 phút, % tăng thể tích bàn chân chuột ở các lô ĐTP đều thấp hơn so với lô chứng. Sự khác biệt thể hiện rõ rệt tại thời điểm sau 120 phút, % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 lần lượt là $149,28 \pm 22,11$ và $139,47 \pm 14,20$ giảm hơn so với lô chứng là $159,64 \pm 12,94$.

2. Về tác dụng hạ acid uric máu của viên nang cứng “Định Thống Phong” trên thực nghiệm

Viên nang cứng Định Thống Phong ở 02 mức liều 860 mg/kg và 2580 mg/kg thể trọng, có tác dụng hạ acid uric máu trên mô hình gây tăng acid uric

máu bằng kali oxonat ở chuột nhất trắng. Nồng độ acid uric máu của các lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 đều thấp hơn rõ rệt so với lô mô hình. % giảm nồng độ acid uric máu của lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 so với lô mô hình lần lượt là 37,05% và 37,93%.

KIẾN NGHỊ

Tiếp tục tiến hành các nghiên cứu nhằm đánh giá tính an toàn của viên nang cứng Định Thống Phong trên thực nghiệm, làm cơ sở cho việc thử nghiệm sản phẩm trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Ngọc Lan (2015). *Bệnh học Cơ xương khớp nội khoa*. Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, Trường Đại học Y Hà Nội. 187-188.
2. Dehlin M., Jacobsson L., Roddy E. (2020). Global epidemiology of gout: prevalence, incidence, treatment patterns and risk factors. *Nature Reviews Rheumatology*, **16**(7), 380–390.
3. Roddy E., Doherty M. (2010). Gout. Epidemiology of gout. *Arthritis research & therapy*, **12**, 1–11.
4. Phạm Văn Tú (2020). Nghiên cứu nồng độ acid uric máu và một số yếu tố nguy cơ ở nam giới dưới 40 tuổi đến khám tại bệnh viện Đại học Y Hà Nội. *Luận văn tốt nghiệp Bác sĩ chuyên khoa cấp II*, Trường Đại Học Y Hà Nội.
5. Sigurdardottir V., Drivelegka P., Svärd A. et al. (2017). Work disability in gout: a population-based case–control study. *Annals of the rheumatic diseases*, 10(11): 212-223.
6. Feng X., Li Y., và Gao W. (2015). Prophylaxis on gout flares after the initiation of urate-lowering therapy: a retrospective research. *International journal of clinical and experimental medicine*, **8**(11), 21460.
7. Perez-Ruiz F., Dalbeth N., và Romain P. (2020). Pharmacologic urate-lowering therapy and treatment of tophi in patients with gout, *Uptodate*. 376-380.
8. Trường Đại học Y Hà Nội (2012), *Bệnh học nội khoa tập 2*, Nhà xuất bản y học, 171.
9. Slobodnick A., Shah B., Krasnokutsky S. et al. (2018). Update on colchicine, 2017. *Rheumatology*, **57**(suppl_1), i4–i11.

10. Dean L. và Kane M. (2012). Allopurinol therapy and HLA-B* 58: 01 Genotype. 2013 Mar 26 [updated 2020 Dec 9]. Medical genetics summaries [Internet] Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US)(PMID: 28520356).
11. van Nguyen D., Chu H.C., Vidal C. et al. (2021). Genetic susceptibilities and prediction modeling of carbamazepine and allopurinol-induced severe cutaneous adverse reactions in Vietnamese. *Pharmacogenomics*, **22(1)**, 1–12.
12. Nguyễn Minh Hà (2011). *Thống phong (Bệnh gút) Đông – Tây Y chẩn đoán và điều trị*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 56-58, .
13. Trường Đại học Y Hà Nội – Khoa Y học cổ truyền (2012). *Bệnh học nội khoa Y học cổ truyền (Sách đào tạo bác sĩ chuyên khoa Y học cổ truyền)*. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 204-207., .
14. Bộ Y tế (2007), *Bệnh học và điều trị nội khoa (kết hợp Đông – Tây Y)*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 538-546., .
15. Phạm Thị Lý, Nguyễn Văn Nam (2013). Đánh giá tác dụng điều trị gút mạn của bài thuốc HPA, *Tạp chí y dược học cổ truyền quân sự*, (1): 1-5.
16. Nguyễn Thị Hồng Lĩnh, Nguyễn Mạnh Đạt (2020). Bước tiến mới trong việc điều trị bệnh xương khớp từ Cây dây gắm. *Tạp chí Khoa học và công nghệ Việt Nam*, (11): 42-44. .
17. Nguyen T.D., Thuong P.T., Hwang I.H. et al. (2017). Anti-hyperuricemic, anti-inflammatory and analgesic effects of Siegesbeckia orientalis L. resulting from the fraction with high phenolic content. *BMC complementary and alternative medicine*, **17**, 1–9.
18. Roddy E., Choi H.K. (2014). Epidemiology of gout. *Rheumatic Disease Clinics*, **40(2)**, 155–175.
19. Robinson P.C., Taylor W.J., Dalbeth N. (2015). An observational study of gout prevalence and quality of care in a national Australian general practice population. *The Journal of rheumatology*, **42(9)**, 1702–1707.

20. González-Chica D.A., Vanlint S., Hoon E. et al. (2018). Epidemiology of arthritis, chronic back pain, gout, osteoporosis, spondyloarthropathies and rheumatoid arthritis among 1.5 million patients in Australian general practice: NPS MedicineWise MedicineInsight dataset. *BMC musculoskeletal disorders*, **19**(1), 1–10.
21. Ting K., Gill T., Keen H. et al. (2016). Prevalence and associations of gout and hyperuricaemia: results from an Australian population-based study. *Internal medicine journal*, **46**(5), 566–573.
22. Pisaniello H.L., Lester S., Gonzalez-Chica D. et al. (2018). Gout prevalence and predictors of urate-lowering therapy use: results from a population-based study. *Arthritis Research & Therapy*, **20**(1), 1–10.
23. Zhu Y., Pandya B.J., Choi H.K. (2011). Prevalence of gout and hyperuricemia in the US general population: the National Health and Nutrition Examination Survey 2007–2008. *Arthritis & Rheumatism*, **63**(10), 3136–3141.
24. Chen-Xu M., Yokose C., Rai S. et al. (2019). Contemporary Prevalence of Gout 425 and Hyperuricemia in the United States and Decadal Trends: The National Health and Nutrition 426 Examination Survey, 2007-2016. *Arthritis Rheumatol*, **71**(991–999), 427.
25. Branco J.C., Rodrigues A.M., Gouveia N. et al. (2016). Prevalence of rheumatic and musculoskeletal diseases and their impact on health-related quality of life, physical function and mental health in Portugal: results from EpiReumaPt—a national health survey. *RMD open*, **2**(1), e000166.
26. Zeng S., Gong Y., Zhang Y. et al. (2015). Changes in the prevalence of rheumatic diseases in Shantou, China, in the past three decades: a COPCORD study. *PLoS One*, **10**(9), e0138492.

27. Chen Y., Tang Z., Huang Z. et al. (2017). The prevalence of gout in mainland China from 2000 to 2016: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Public Health*, **25**, 521–529.
28. Kim J.-W., Kwak S.G., Lee H. et al. (2017). Prevalence and incidence of gout in Korea: data from the national health claims database 2007–2015. *Rheumatology international*, **37**, 1499–1506.
29. Al Saleh J., Sayed M.E., Monsef N. et al. (2016). The prevalence and the determinants of musculoskeletal diseases in Emiratis attending primary health care clinics in Dubai. *Oman medical journal*, **31**(2), 117.
30. Tu H.-P., Tung Y.-C., Tsai W.-C. et al. (2017). Alcohol-related diseases and alcohol dependence syndrome is associated with increased gout risk: a nationwide population-based cohort study. *Joint Bone Spine*, **84**(2), 189–196.
31. Ngọc N.T.B., Thủy N.T., Vinh N.N. và cs. (2023). Tỷ lệ tăng acid uric máu, tỷ lệ bệnh gout và các yếu tố liên quan ở người trưởng thành đến phòng khám y học gia đình, bệnh viện đại học Y dược thành phố Hồ Chí Minh. *Tạp chí Y học Việt Nam*, **531**(2).
32. Nguyễn Mai Hồng (2016). Cập nhật điều trị bệnh gút. *Hội thảo chuyên đề Cập nhật chẩn đoán – điều trị bệnh gút và các yếu tố nguy cơ*. Hội Y học Hà Nội – Hội thấp khớp học Hà Nội, 49-66..
33. Bộ Y Tế (2013), *Dược lý học (Dùng cho đào tạo bác sĩ đa khoa)*, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, 167-171..
34. Bệnh viện Bạch Mai (2011). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị Bệnh Nội khoa (cẩm nang nghiệp vụ của bác sĩ lâm sàng)*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 286-288, .
35. Drug and Therapeutics Bulletin (2018). Latest guidance on the management of gout. *BMJ*,362:k2893.

36. Burns C.M., Wortmann R.L. (2012). Latest evidence on gout management: what the clinician needs to know. *Therapeutic advances in chronic disease*, **3(6)**, 271–286.
37. Ted R. Mikuls (2017). *Urat-Lowering Therapy. Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology*. Tenth Edition, Elsevier Saunder, Philadenphia, 1, 1061-1074, .
38. Nguyễn Bá Tĩnh (2007), *Tuệ Tĩnh toàn tập – Nam dược thần hiệu*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 140-142., .
39. Kong L., Cai Y., Huang W. et al. (2000). Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *Journal of ethnopharmacology*, **73(1–2)**, 199–207.
40. Chen G., Tan M.-L., Li K.-K. et al. (2015). Green tea polyphenols decreases uric acid level through xanthine oxidase and renal urate transporters in hyperuricemic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **175**, 14–20.
41. Vương Thừa Đức, Thẩm Phi An, Hồ Âm Kỳ (2009). *Phong thấp bệnh học trong Trung y*, Nhà xuất bản vệ sinh nhân dân, 299-407.
42. Hou C.-W., Lee Y.-C., Hung H.-F. et al. (2012). Longan seed extract reduces hyperuricemia via modulating urate transporters and suppressing xanthine oxidase activity. *The American journal of Chinese medicine*, **40(05)**, 979–991.
43. Sunarni T., Leviana F., Fidrianny I. et al. (2015). Antihyperuricemic activity of four plants Annonaceae using hyperuricemic rats model and enzyme assay. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **8(6)**, 250–253.
44. Abu-Gharbieh E., Shehab N.G., Almasri I.M. et al. (2018). Antihyperuricemic and xanthine oxidase inhibitory activities of *Tribulus arabicus* and its isolated compound, ursolic acid: In vitro and in vivo investigation and docking simulations. *PLoS One*, **13(8)**, e0202572.

45. Rahmi E.P., Kumolosasi E., Jalil J. et al. (2020). Anti-hyperuricemic and anti-inflammatory effects of *Marantodes pumilum* as potential treatment for gout. *Frontiers in pharmacology*, **11**, 289.
46. Wu X.-H., Wang C.-Z., Wang S.-Q. et al. (2015). Anti-hyperuricemia effects of allopurinol are improved by *Smilax riparia*, a traditional Chinese herbal medicine. *Journal of ethnopharmacology*, **162**, 362–368.
47. Bao R., Liu M., Wang D. et al. (2019). Effect of *eurycoma longifolia* stem extract on uric acid excretion in hyperuricemia mice. *Frontiers in Pharmacology*, **10**, 1464.
48. Liang G., Nie Y., Chang Y. et al. (2019). Protective effects of *Rhizoma smilacis glabrae* extracts on potassium oxonate-and monosodium urate-induced hyperuricemia and gout in mice. *Phytomedicine*, **59**, 152772.
49. Zhang Y., Jin L., Liu J. et al. (2018). Effect and mechanism of dioscin from *Dioscorea spongiosa* on uric acid excretion in animal model of hyperuricemia. *Journal of Ethnopharmacology*, **214**, 29–36.
50. Hoàng Thị Thanh Thảo (2013). Sàng lọc các cây thuốc Việt Nam có tác dụng ức chế Xanthin oxidase in vitro. *Tạp chí dược liệu*, 18(6): 361-367.
51. Đào Thị Vui (2011). Nghiên cứu tác dụng hạ acid uric máu của bài thuốc từ quả chuối hột và củ ráy trên thực nghiệm. *Tạp chí dược học*, 51(12): 45-47. .
52. Tạ Đăng Quang (2019). Nghiên cứu tác dụng hạ acid uric máu và giảm đau của viên nang cứng Tam điều gia vị trên thực nghiệm. *Tạp chí dược học*, 59(12): 59-65. .
53. Nguyễn Hoàng Minh (2016). Nghiên cứu thực nghiệm tác dụng hạ acid uric máu của các cao chiết từ lá xa kê. *Tạp chí dược học*, (6): 145-150. .
54. Trịnh Kiều Anh (2022). *Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và nghiên cứu tác dụng hạ acid uric của dịch chiết từ Củ ráy dại (Alocasia odora K.Koch) trên thực nghiệm*. Luận văn thạc sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội. .

55. Triệu Tân Hồng, Lý Vĩnh Toàn (2008). Quan sát lâm sàng về hiệu quả điều trị của viên Khu trục kiện thận trong điều trị viêm khớp do gút. *Tạp chí Trung y Hà Bắc*, (4): 214-217.
56. Chung Hiểu Phong (2013). Nghiên cứu quan sát lâm sàng hiệu quả điều trị của viên Hồ trượng thống phong trong điều trị viêm khớp cấp do gút. *Tạp chí sử dụng dược lâm sàng*, 6(4): 61-62. .
57. Renbin Q., Ruizi S., Dejiu L. et al. (2008). Treatment of 60 cases of gouty arthritis with modified Simiao Tang. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, **28(2)**, 94–97.
58. Vương Lan (2011). Nghiên cứu quan sát lâm sàng hiệu quả điều trị của thuốc sắc Quế chi thực dược tri mẫu thang trong điều trị gút. *Tạp chí y học cổ truyền Trung Quốc*, 6(159): 997-998. .
59. Wang Y., Wang L., Li E. et al. (2014). Chuanhu anti-gout mixture versus colchicine for acute gouty arthritis: a randomized, double-blind, double-dummy, non-inferiority trial. *International Journal of Medical Sciences*, **11(9)**, 880.
60. Nguyễn Văn Ba (2010). *Đánh giá tác dụng điều trị của viên nén Tứ diệu định thống phong trên bệnh nhân gút*. Luận văn thạc sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
61. Hoàng Văn Bính (2008). *Đánh giá tác dụng của bài thuốc “GLP hạ acid uric máu” trong bệnh gút*. Luận văn tốt nghiệp Bác sĩ chuyên khoa cấp II, Trường Đại học Y Hà Nội.
62. Đặng Thị Như Hoa, Nguyễn Nhược Kim (2011). Đánh giá an toàn và tác dụng điều trị bệnh gút của cao vương tôn. *Tạp chí nghiên cứu Y học*, 76(5): 41-45. .
63. Nguyễn Đình Thuyên, Vũ Thị Khánh Vân (2010). Nghiên cứu tác dụng hạ acid uric máu của bài thuốc Khổ phục thang trên bệnh nhân gút. *Tạp chí Y học thực hành*, 728 (7): 37 – 39. .

64. Nguyễn Thị Tuyết Minh (2018). *Nghiên cứu độc tính và tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh gút mạn tính của cốm tam Tứ diệu tán*. Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội, .
65. Đỗ Trung Đoàn (2017), *Phương pháp dược lý nghiên cứu tác dụng giảm đau. Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý*. Nhà xuất bản y học Hà Nội, 357-533.
66. de Souza M.R., de Paula C.A., de Resende M.L.P. et al. (2012). Pharmacological basis for use of *Lychnophora trichocarpa* in gouty arthritis: anti-hyperuricemic and anti-inflammatory effects of its extract, fraction and constituents. *Journal of ethnopharmacology*, **142(3)**, 845–850.
67. Gerhard H. Vogel and Wolfgang H. Vogel (1997), Chapter H. Analgesic, anti-inflammatory, and antipyretic activity; H.1.2.4. Hot plate method; H.2.0.2. Writhing tests, In: *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York: 370-371.
68. Koster R. (1959). Acetic acid for analgesics screening. *Fed proc*, 412–417.
69. EA W.C.R., Nuss G. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rats as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med*, **111**, 544–7.
70. Bộ Y tế (2022). *Dược thư Quốc gia Việt Nam*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
71. Edwards Sarah E., Rocha Inês da Costa, Williamson Elizabeth M. et al (2015). Peony. *Phytopharmacy*, *John Wiley & Sons, Ltd*, 294-297., .
72. Barua C.C., Talukdar A., Begum S.A. et al. (2010). Antinociceptive activity of methanolic extract of leaves of *Achyranthes aspera* Linn.(Amaranthaceae) in animal models of nociception. *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol 48, pp. 817-821..

73. He X., Wang X., Fang J. et al. (2017). The genus *Achyranthes*: A review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities. *Journal of ethnopharmacology*, **203**, 260–278.
74. Shang X., Pan H., Wang X. et al. (2014). *Leonurus japonicus* Houtt.: ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **152(1)**, 14–32.
75. Jun X., Fu P., Lei Y. et al. (2018). Pharmacological effects of medicinal components of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. *Chinese Medicine*, **13**, 1–10.
76. Zhang X., Zhao W., Wang Y. et al. (2016). The chemical constituents and bioactivities of *Psoralea corylifolia* Linn.: a review. *The American journal of Chinese medicine* *The American journal of Chinese medicine*, **44(01)**, 35–60.
77. Salehi B., Sener B., Kilic M. et al. (2019). *Dioscorea* plants: a genus rich in vital nutra-pharmaceuticals-A review. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, **18(Suppl1)**, 68.
78. Hua S., Zhang Y., Liu J. et al. (2018). Ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology of *Smilax glabra*: An important traditional Chinese medicine. *The American Journal of Chinese Medicine*, **46(02)**, 261–297.
79. Fu J., Wang Z., Huang L. et al. (2014). Review of the botanical characteristics, phytochemistry, and pharmacology of *Astragalus membranaceus* (Huangqi). *Phytotherapy research*, **28(9)**, 1275–1283.
80. Patil K.R., Mahajan U.B., Unger B.S. et al. (2019). Animal models of inflammation for screening of anti-inflammatory drugs: implications for the discovery and development of phytopharmaceuticals. *International journal of molecular sciences*, **20(18)**, 4367.

81. Koonrungsesomboon N., Na-Bangchang K., Karbwang J. (2014). Therapeutic potential and pharmacological activities of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **7(6)**, 421–428.
82. Ding H., Qian W., Xu J. (2017). Effect of *Achyranthes bidentata* Blume extract on carrageenan-induced chronic prostatitis in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **16(4)**, 855–859.
83. Yang J.-L., Dao T.T., Hien T.T. et al. (2019). Further sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena occulta* and their anti-inflammatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **29(10)**, 1162–1167.
84. Wang J., Zhou Y., Ye Y. et al. (2011). Topical anti-inflammatory and analgesic activity of kirenol isolated from *Siegesbeckia orientalis*. *Journal of ethnopharmacology*, **137(3)**, 1089–1094.
85. Đỗ Trung Đàm, (1996). Nghiên cứu vai trò của thảo phục linh trong các bài thuốc chữa thấp khớp. *Tạp chí Y học Cổ truyền Việt Nam*, 6:7-8. .
86. Chang B.S. (2014). Ancient insights into uric acid metabolism in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **111(10)**, 3657–3658.
87. Nguyễn Thủy Dương (2011). *Nghiên cứu triển khai mô hình gây tăng acid uric máu thực nghiệm và áp dụng thăm dò tác dụng của hy thiêm thảo, thảo phục linh*. Đề tài nghiên cứu cấp trường, Đại học Dược Hà Nội.
88. Bộ Y Tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, 1080, 1088, 1180, 1188, 1193, 1206, 1207, 1211, 1275, 1340, 1344, 1348, 1358, 1366.
89. Trần Thanh Tuấn, Vũ Ngọc Thắng (2023). *Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nang cứng định thông phong trên động vật thực nghiệm*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới của Trung tâm Nhiệt đới Việt- Nga, số 33.

PHỤ LỤC

1. Hoàng kỳ

- Tên khoa học: *Radix Astragali membranacei*.
- Bộ phận dùng:
- Tinh vị quy kinh: Cam, ôn. Vào các kinh phế, tỳ.
- Công năng: Bổ khí cố biểu, lợi tiểu, trừ mù, sinh cơ.
- Chủ trị: Khí hư mệt mỏi, kém ăn; trung khí hạ hãm, tiêu chảy lâu ngày, sa tạng phủ, tiện huyết, rong huyết; ra mồ hôi; nhọt độc khó vỡ; nội nhiệt tiêu khát; viêm thận mạn.

Hoàng kỳ chích mật: Kiên tỳ ích khí.

Hoàng kỳ phiến: cố biểu, lợi tiểu, trừ mù sinh cơ.

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 9 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán [88].

2. Thiên niên kiện

- Tên khoa học: *Rhizoma Homalomenae occultae*.
- Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thiên niên kiện.
- Tinh vị quy kinh: Khô, tân, cam, ôn. Quy vào các kinh can, thận.
- Công năng: Trừ phong thấp, cường cân cốt.
- Chủ trị: Phong hàn thấp gây nên: Thất lưng và đầu gối lạnh đau, chân co rút tê bại.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc hoặc ngâm rượu. Dùng ngoài: Thân rễ tươi giã nát, sao nóng, bóp vào chỗ đau nhức, hoặc ngâm Thiên niên kiện khô với rượu xoa bóp chỗ đau nhức, tê bại và phong thấp.
- Kiêng kỵ: Không dùng cho người âm hư hỏa vượng, mềm khô, họng đắng [88].

3. Hà thủ ô đỏ:

- Tên khoa học: *Radix Fallopiae multiflorae*.
- Bộ phận dùng: Rễ củ phơi hay sấy khô của cây Hà thủ ô đỏ
- Tính vị quy kinh: Khô, cam, sáp, ôn. Vào các kinh can, thận.
- Công năng: Dưỡng huyết, bổ can thận, nhuận tràng thông tiện, làm xanh tóc.
- Chủ trị: Huyết hư thiếu máu, da xanh, gầy, đau lưng, di tinh, tóc bạc sớm, táo bón.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 6 g đến 12 g Hà thủ ô đỏ đã chế, dạng thuốc sắc hoặc rượu thuốc [88].

4. Nguru tất

- Tên khoa học: *Radix Achyranthis bidentatae*
- Bộ phận dùng: Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Nguru tất
- Tính vị quy kinh: Khô, toan, bình. Vào các kinh can, thận.
- Công năng: Hoạt huyết thông kinh, mạnh gân cốt, bổ can thận.
- Chủ trị: Dùng trị đau lưng gối, mỏi gân xương; bế kinh, kinh nguyệt không đều, tăng huyết áp.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc.
- Kiêng kỵ: Phụ nữ có thai, băng huyết không dùng [88].

5. Tỳ giải

- Tên khoa học: *Rhizoma Dioscoreae*.
- Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tỳ giải
- Tính vị quy kinh: Khô, bình. Vào các kinh can thận, vị, bàng quang.
- Công năng: Phân thanh trừ trọc, khu phong trừ thấp.

- Chủ trị: Cao lâm (đái đục), bạch đới quá nhiều; sang độc do thấp nhiệt, đau lưng đầu gối.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc, phối hợp trong các bài thuốc.
- Kiêng kỵ: Không dùng cho người âm hư hỏa vượng, đau lưng do thận hư [88].

6. Hoạt thạch

- Tên khoa học: *Talcum*.
- Tính vị quy kinh: Cam, đạm, hàn. Quy vào kinh vị, bàng quang.
- Công năng: Lợi tiểu thẩm thấp, thanh nhiệt giải thử.
- Chủ trị: Lâm lậu, thạch lâm kèm tiểu khó và đau nóng, bứt rứt háo khát do thử thấp, tiết tả do thấp nhiệt.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 10 g đến 20 g, dạng thuốc bột, sắc hoặc hòa với nước uống. Phối hợp trong các bài thuốc.
- Kiêng kỵ: Không dùng cho phụ nữ có thai và người có chứng dương hư [88].

7. Ích mẫu

- Tên khoa học: *Herba Leonuri japonici*.
- Bộ phận dùng: Phần trên mặt đất đã được cắt thành từng đoạn phơi hay sấy khô của cây Ích mẫu
- Tính vị quy kinh: Khô, tân, hơi hàn. Vào các kinh can, tâm bào.
- Công năng: Hoạt huyết khứ ứ, lợi thủy tiêu phù.
- Chủ trị: Rối loạn kinh nguyệt, kinh đau, kinh bế, khí hư bạch đới, rong kinh, rong huyết. huyết hôi ra không hết, phù thũng, tiểu tiện không lợi.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.
- Kiêng kỵ: Không dùng cho người huyết hư không có huyết ứ [88].

8. Thương truật

- Tên khoa học: *Rhizoma Atractylodis*
- Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi khô của cây Mao thương truật
- Tính vị quy kinh: Tân, khô, ôn. Vào các kinh tỳ, vị.
- Công năng: Kiện tỳ táo thấp, khu phong trừ thấp, phát hãn giải biểu.
- Chủ trị: Thấp trệ ở trung tiêu (bụng đầy buồn nôn, ăn không ngon), phong thấp do hàn thấp là chính, ngoại cảm phong hàn và thấp (người nặng nề uể oải, không có mồ hôi).
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc [88].

9. Kê huyết đằng

- Tên khoa học: *Caulis Spatholobi suberecti*
- Bộ phận dùng: Thân đã thái thành phiến phơi hay sấy khô của cây Kê huyết đằng.
- Tính vị quy kinh: Khô, cam, ôn. Vào các kinh can, thận.
- Công năng: Hoạt huyết thông lạc, bổ huyết.
- Chủ trị: Chứng huyết hư gây huyết ứ trệ, bế thống kinh, chấn thương tụ huyết, phong thấp đau lưng, đau xương khớp.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 10 g đến 16 g, dạng thuốc sắc [88].

10. Trần bì

- Tên khoa học: *Pericarpium Citri reticulatae perettne*.
- Bộ phận dùng: Vỏ quả chín đã phơi hoặc sấy khô và để lâu năm của cây Quýt.
- Tính vị quy kinh: tân, ôn. Vào hai kinh phế, tỳ.
- Công năng: Lý khí kiện tỳ, hóa đờm ráo thấp.
- Chủ trị: Bụng đau, đầy trướng, kém ăn, nôn mửa, ỉa lỏng, ho đờm nhiều.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc [88].

11. Bán hạ

- Tên khoa học: *Rhizoma Pinelliae*.
- Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Bán hạ
- Tính vị quy kinh: Tân, ôn, có độc. Vào hai kinh tỳ, vị.
- Công năng: Giáng nghịch cầm nôn, tiêu đờm hóa thấp, tán kết tiêu ỉ.
- Chủ trị: Ho có đờm, nôn mửa, chóng mặt đau đầu do đờm thấp, đờm hạch, đờm kết với khí gây mai hạch khí.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 3 g đến 9 g (sau khi chế biến theo yêu cầu chữa bệnh), dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Dùng ngoài tán nhỏ, làm bột trộn với rượu đắp nơi đau,
Chế gừng: Dùng trong trường hợp bị nôn, bị ho.
Tẩm phèn chua: Dùng trong trường hợp có đờm.
Pháp bán hạ: Dùng trong trường hợp nhiều đờm.
Bán hạ sống: Dùng ngoài để đắp mụn nhọt sưng đau.
- Kiêng kỵ : Âm huyết hư, tân dịch kém và người có thai không nên dùng. Không kết hợp với các thuốc loại Ô đầu [88].

12. Thổ phục linh

- Tên khoa học: *Rhizoma Smilacis glabrae*.
- Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thổ phục linh, còn có tên là Khúc khắc.
- Tính vị quy kinh: Cam, đạm, bình. Vào các kinh can, vị.
- Công năng: Trừ thấp, giải độc, lợi niệu, thông lợi các khớp.
- Chủ trị: Tràn nhạc, lở ngứa, giang mai, tiểu đục, xích bạch đới, đau nhức xương khớp, trúng độc thủy ngân.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 12 g đến 30 g, dạng thuốc sắc, cao thuốc hoặc hoàn tán.
- Kiêng kỵ: Không nên uống nước chè khi dùng thuốc, không dùng cho người có can thận âm hư [88].

13. Phá cốt chi

- Tên khoa học: *Fractus Psoraleae corylifoliae*.
- Bộ phận dùng: Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Bồ cốt chi.
- Tinh vị quy kinh: Tân, khô, ôn. Vào kinh thận, tỳ và tâm bào.
- Công năng: Bổ mệnh môn hỏa, chỉ tả.
- Chủ trị: Liệt dương, di tinh, đái dầm, niệu tân, thắt lưng đầu gối đau có cảm giác lạnh, ngũ canh tả. Dùng ngoài trị bạch biến, hói trán.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Dạng cồn thuốc 20% đến 30%, bôi chỗ đau
- Kiêng kỵ: Âm hư hòa động, tiểu tiện ra máu, đại tiện táo bón, viêm đường tiết niệu không nên dùng [88].

14. Hy thiêm

- Tên khoa học: *Herba Siegesbeckiae*.
- Bộ phận dùng: Bộ phận trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Hy thiêm.
- Tinh vị quy kinh: Khô, hàn. Vào các kinh can, thận.
- Công năng: Trừ phong thấp, thanh nhiệt, giải độc.
- Chủ trị: Đau lưng, gối, xương khớp; chân tay tê buốt, mụn nhọt.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 9 g đến 12 g, dạng thuốc sắc [88].

15. Dây gắm

- Tên khoa học: *Radix et Caulis Gneti montani*.
- Bộ phận dùng: Thân và rễ
- Tinh vị quy kinh: vị đắng, tính bình. Quy kinh
- Công năng: khu phong, trừ thấp, thư cân hoạt huyết, giải độc, tiêu viêm, sát trùng
- Chủ trị: đau nhức xương khớp và chứng thống phong (bệnh gút), ngộ độc, sốt rét. Cành dùng để chỉ thống, liền gân xương, trị bong gân, gãy xương. Rễ được dùng để điều trị chứng hạch tất phong
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 15-30g.

BỘ QUỐC PHÒNG
TRUNG TÂM NHIỆT ĐỐI
VIỆT - NGA

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

Số: 1851 /QĐ-TTNDVN

Hà Nội, ngày 24 tháng 5 năm 2023

QUYẾT ĐỊNH
Ban hành 02 tiêu chuẩn cơ sở trong lĩnh vực quân sự, quốc phòng

TỔNG GIÁM ĐỐC

Căn cứ Quyết định số 1338/1998/QĐ-BQP ngày 09/10/1998 của Bộ trưởng Bộ Quốc phòng về việc ban hành Điều lệ công tác kỹ thuật ngành Tiêu chuẩn – Đo lường – Chất lượng Quân đội nhân dân Việt Nam;

Căn cứ Thông tư số 25/2020/TT-BQP ngày 07/3/2020 của Bộ Quốc phòng Quy định về xây dựng, ban hành và áp dụng tiêu chuẩn, quy chuẩn kỹ thuật trong lĩnh vực quân sự, quốc phòng;

Căn cứ Biên bản ngày 10/5/2023 của Hội đồng Khoa học công nghệ nghiệm thu tiêu chuẩn cơ sở trong lĩnh vực quân sự quốc phòng;

Theo đề nghị của Trưởng phòng Hậu cần-Kỹ thuật.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành 02 tiêu chuẩn cơ sở trong lĩnh vực quân sự, quốc phòng; nội dung như sau:

TCQS 73:2023/NĐVN, BỘT CAO KHÔ ĐỊNH THỐNG PHONG;
TCQS 74:2023/NĐVN, VIÊN NANG CỨNG ĐỊNH THỐNG PHONG.

(có 02 tiêu chuẩn cơ sở kèm theo).

Điều 2. 02 tiêu chuẩn trên được phổ biến và áp dụng thống nhất trong toàn Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký. Phòng Hậu cần - Kỹ thuật, Viện Y sinh Nhiệt đới và các cơ quan, đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- P TGD KH;
- V YSNĐ (02), P TTKHQ;
- Lưu: VT, HCKT. H06.



Thiếu tướng Đặng Hồng Triển

TCQS

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

TCQS 73:2023/NĐVN

BỘT CAO KHÔ ĐỊNH THỐNG PHONG

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 1851/QĐ-TTNDVN ngày 24 tháng 5 năm 2023 của
Tổng Giám đốc Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga)*

HÀ NỘI – 2023

Mục lục

	Trang
1 Phạm vi áp dụng	5
2 Tài liệu viện dẫn	5
3 Quy định chung	6
3.1 Điều kiện kiểm tra	6
3.1.1 Điều kiện môi trường.....	6
3.1.2 Điều kiện bảo đảm	6
3.2 Phương tiện đo, phương tiện kiểm tra và dụng cụ, vật tư, hóa chất.....	6
4 Yêu cầu kỹ thuật.....	8
4.1 Yêu cầu chung	8
4.1.1 Yêu cầu ngoại quan	8
4.1.2 Yêu cầu về nguyên vật liệu.....	8
4.1.3 Yêu cầu bảo chế.....	8
4.2 Chỉ tiêu kỹ thuật	8
5 Phương pháp kiểm tra.....	9
5.1 Lấy mẫu	9
5.2 Kiểm tra yêu cầu kỹ thuật chung	9
5.2.1 Kiểm tra ngoại quan	9
5.2.2 Kiểm tra nguyên vật liệu.....	9
5.3 Kiểm tra chỉ tiêu kỹ thuật	9
5.3.1 Kiểm tra độ ẩm	9
5.3.2 Kiểm tra độ mịn.....	9
5.3.3 Kiểm tra tro toàn phần	9
5.3.4 Kiểm tra hàm lượng kim loại nặng	9
5.3.5 Kiểm tra giới hạn nhiễm khuẩn	10
5.3.6 Kiểm tra định lượng đồng thời astilbin và resveratrol bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-UV)	10
6 Xử lý chung	12

7 Bao gói, ghi nhãn, vận chuyển, bảo quản và bảo hành	12
7.1 Bao gói	12
7.2 Ghi nhãn	12
7.3 Vận chuyển.....	12
7.4 Bảo quản.....	12
7.5 Bảo hành.....	12



Lời nói đầu

Cơ quan biên soạn: Ban biên soạn tiêu chuẩn Viện Y sinh Nhiệt đới/ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Cơ quan đề nghị ban hành: Viện Y sinh Nhiệt đới/ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Cơ quan trình duyệt: Phòng Hậu cần - Kỹ thuật/ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Cơ quan xét duyệt và ban hành: Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Bột cao khô Định Thống Phong

1 Phạm vi áp dụng

- Tiêu chuẩn này quy định các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra đối với bột cao khô Định Thống Phong dùng làm nguyên liệu bào chế chế phẩm bảo vệ sức khỏe;
- Bột cao khô Định Thống Phong được bào chế từ dược liệu bằng phương pháp chiết nóng, dung môi là cồn 70°.

2 Tài liệu viện dẫn

- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN I-1:2017 về Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Phần 1: Phương pháp kiểm nghiệm thuốc;
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN I-2:2017 về Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Phần 2: Nguyên liệu hóa dược;
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN I-4:2017 về Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Phần 4: Dược liệu và thuốc từ dược liệu.
- TCVN 7993:2009, Thực phẩm – xác định các nguyên tố vết - xác định thủy ngân bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử hơi-lạnh (cvaas) sau khi phân hủy bằng áp lực;
- TCVN 8126:2009, Thực phẩm - xác định chì, cadimi, kẽm, đồng và sắt - Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sau khi đã phân hủy bằng vi sóng;
- TCVN 4884-1:2015, Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật – phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 3 °C bằng kỹ thuật đổ đĩa;
- TCVN 8275-2:2010, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng nấm men và nấm mốc – phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc trong các sản phẩm có hoạt độ nước nhỏ hơn hoặc bằng 0,95;
- TCVN 6848:2007, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng *Coliform* – Kỹ thuật đếm khuẩn lạc;
- TCVN 4991:2005, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng *Clostridium perfringens* trên đĩa thạch – Kỹ thuật đếm khuẩn lạc;
- TCVN 6846:2007, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng *Escherichia coli* giả định - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất;
- TCVN 10780-2:2015, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện, định lượng và xác định kiểu huyết thanh của *Salmonella* - phần 2: Định lượng bằng kỹ thuật số đếm có xác suất lớn nhất được thu nhỏ.

CHÚ THÍCH: Trong trường hợp các tài liệu viện dẫn có sự sửa đổi, bổ sung hoặc được thay thế thì thực hiện theo văn bản đã được sửa đổi, bổ sung hoặc ban hành mới.

TCQS 73:2023/NĐVN

3 Quy định chung

3.1 Điều kiện kiểm tra

3.1.1 Điều kiện môi trường

- Điều kiện nhiệt độ môi trường kiểm tra: $(25 \pm 5) ^\circ\text{C}$; độ ẩm tương đối: Từ 55 % đến 75 %;
- Điều kiện đối với khu vực kiểm tra: Khu vực kiểm tra phải là phòng kín, đảm bảo vệ sinh, có diện tích phù hợp cho việc sắp đặt các trang thiết bị và nguyên vật liệu để tránh lẫn lộn, tạp nhiễm.

3.1.2 Điều kiện bảo đảm

- Điều kiện kỹ thuật viên kiểm tra;
 - + Kỹ thuật viên phải có trình độ từ trung cấp trở lên, được huấn luyện, đào tạo và/hoặc có kinh nghiệm để thực hiện và giám sát quá trình kiểm tra chất lượng bột cao khô Định Thống Phong;
 - + Mang mặc quần áo sạch sẽ phù hợp cho quá trình kiểm tra, không hút thuốc, ăn uống, nhai và giữ thực phẩm tại các khu vực kiểm tra.
- Điều kiện tiện ích:
 - + Phải có hệ thống thông gió, lọc và xả không khí, nước sử dụng phải đạt tiêu chuẩn “nước tinh khiết nguyên liệu” theo quy định tại phần 2, TCVN I-2:2017;
 - + Hệ thống chiếu sáng: Phải trang bị chiếu sáng đầy đủ thuận lợi cho việc kiểm tra, vệ sinh, bảo trì và các hoạt động khác;
 - + Hệ thống xử lý nước và rác thải: Nước và các chất thải khác trong khu kiểm tra phải được xử lý một cách an toàn, hợp vệ sinh, phải định danh rõ thùng chứa và/hoặc đường dẫn ống chất thải.

3.2 Phương tiện đo, phương tiện kiểm tra và dụng cụ, vật tư, hóa chất

- Danh mục phương tiện đo được quy định tại Bảng 1.

Bảng 1 – Danh mục phương tiện đo

Phương tiện đo	Đặc tính kỹ thuật	
	Phạm vi đo	Sai số
1. Cân kỹ thuật	Từ 0 g đến 1 000 g	$\pm 0,15$ g
2. Cân phân tích	Từ 0 g đến 210 g	$\pm 0,0015$ g
3. Bình định mức 5 ml	Từ 0 ml đến 5 ml	$\pm 0,025$ ml
4. Bình định mức 10 ml	Từ 0 ml đến 10 ml	$\pm 0,025$ ml
5. Bình định mức 25 ml	Từ 0 ml đến 25 ml	$\pm 0,040$ ml
6. Bình định mức 50 ml	Từ 0 ml đến 50 ml	$\pm 0,06$ ml
7. Bình định mức 100 ml	Từ 0 ml đến 100 ml	$\pm 0,100$ ml
8. Micropipet	Dung tích từ 10 μl đến 100 μl , $d = 0,02$ μl	$\pm 0,1$ μl
9. Thiết bị sắc ký lỏng HPLC đầu dò huỳnh quang (hoặc DAD)	Dải sóng từ 190 nm đến 800 nm	± 2 nm

CHÚ THÍCH: Các phương tiện đo trên phải được kiểm định/hiệu chuẩn và còn trong thời hạn hiệu lực.

- Danh mục phương tiện kiểm tra được qui định tại Bảng 2.

Bảng 2 – Danh mục phương tiện kiểm tra

Phương tiện kiểm tra	Công dụng, đặc tính kỹ thuật
1. Thiết bị đo pH	Sử dụng để kiểm tra độ kiềm, axit của dung dịch; Phạm vi đo từ 0 đến 20.
2. Bể điều nhiệt	Sử dụng duy trì nhiệt độ của nước ở một nhiệt độ không đổi; Phạm vi đo từ 5 °C đến 100 °C.
3. Nhiệt kế	Sử dụng để kiểm tra nhiệt độ; Phạm vi đo từ 0 °C đến 50 °C
4. Ẩm kế	Sử dụng để kiểm tra độ ẩm; Phạm vi đo từ 0 % RH đến 100 % RH
5. Rây 125	Sử dụng để kiểm tra kích thước hạt của bột nguyên liệu; Cỡ mắt rây: 0,125 mm, đường kính sợi 0,090 mm
6. Rây 180	Sử dụng để kiểm tra kích thước hạt của bột nguyên liệu; Cỡ mắt rây: 0,180 mm, đường kính sợi 0,012 5 mm
7. Thước vạch	Sử dụng để kiểm tra kích thước sản phẩm; Phạm vi đo từ 0 mm đến 500 mm
CHÚ THÍCH: Các phương tiện kiểm tra trên phải được kiểm tra kỹ thuật đo lường.	

- Dụng cụ, vật tư, hóa chất được quy định tại Bảng 3

Bảng 3 – Dụng cụ, vật tư, hóa chất

Dụng cụ, vật tư, hóa chất	Đặc tính kỹ thuật
1. Phễu thủy tinh xóp	Dung tích phễu 80 ml, đường kính đĩa 40 mm
2. Phễu chiết thủy tinh	Dung tích phễu 500 ml và 1 000 ml
3. Bình cầu cổ nhám 100 ml	Từ 0 ml đến 100 ml
4. Bình cầu đáy bằng 100 ml	Từ 0 ml đến 100 ml
5. Bình nón thủy tinh	Dung tích 50, 250, 1 000 ml
6. Cốc thủy tinh	Dung tích 25, 50, 100 ml
7. Màng lọc tiệt trùng	Đường kính lỗ 0,45 µm
8. Giấy lọc	Đường kính giấy lọc 300 mm
9. Đĩa lọc bằng giấy	Đường kính lỗ 10 µm
10. Cột pha đảo Lightversil C18	Kích thước (250,0 x 4,6) mm; kích thước hạt nhỏ 5,00 µm
11. Bếp chiết hình cầu	Nhiệt độ: Từ 100 °C tới 450 °C
12. Bể rửa siêu âm	Tần số siêu âm: 37 kHz
13. Máy khuấy từ	Tốc độ khuấy: Từ 100 r/min đến 1 000 r/min
14. Tủ sấy	Phạm vi điều chỉnh nhiệt từ 50 °C đến 220 °C
15. Ethanol	Độ tinh khiết không nhỏ hơn 99 %
16. Astilbin	Độ tinh khiết không nhỏ hơn 98 %
17. Resveratrol	Độ tinh khiết không nhỏ hơn 99 %

TCQS 73:2023/NĐVN

4 Yêu cầu kỹ thuật

4.1 Yêu cầu chung

4.1.1 Yêu cầu ngoại quan

- Yêu cầu ngoại quan bột cao khô Định Thống Phong: Bột mịn, đồng nhất, màu nâu sẫm, không bị vón cục;
- Yêu cầu quy cách đóng gói bột cao khô Định Thống Phong: Bột được đựng trong túi chân không (túi nhựa trong), có nhãn và thông tin đầy đủ.

4.1.2 Yêu cầu về nguyên vật liệu

- Nguyên liệu để bào chế bột cao khô Định Thống Phong là các loại dược liệu do đơn vị có tiêu chuẩn GMP về sản xuất dược liệu cung cấp, đi kèm hồ sơ chứng nhận về chất lượng và xuất xứ của các nguyên vật liệu;
- Nguyên liệu đạt chất lượng theo Tiêu chuẩn quốc gia TCVN I-4:2017 về Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Phần 4: Dược liệu và thuốc từ dược liệu;
- Tá dược bảo quản: Sodium benzoate đạt tiêu chuẩn theo quy định của TCVN I-2:2017.

4.1.3 Yêu cầu bào chế

Bột cao khô Định Thống Phong đạt yêu cầu về các chỉ tiêu kỹ thuật theo Điều 4.2.

4.2 Chỉ tiêu kỹ thuật

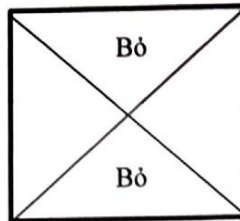
Bảng 4 - Chỉ tiêu kỹ thuật

Chỉ tiêu kỹ thuật	Mức, yêu cầu	Phương pháp kiểm tra
1. Độ ẩm, %RH, không lớn hơn	5,00	5.3.1
2. Độ mịn - Lượng bột qua rây số 180, %, không nhỏ hơn - Lượng bột qua rây số 125, %, không lớn hơn	95,00 40,00	5.3.2
3. Tro toàn phần, %, không lớn hơn	4,00	5.3.3
4. Hàm lượng kim loại nặng - Pb, mg/kg, không lớn hơn - Cd, mg/kg, không lớn hơn - Hg, mg/kg, không lớn hơn	3,00 1,00 0,10	5.3.4
5. Giới hạn nhiễm khuẩn - Tổng số sinh vật hiếu khí, CFU/g, không lớn hơn - Tổng số nấm men, nấm mốc, CFU/g, không lớn hơn - <i>Coliforms</i> , CFU/g, không lớn hơn - <i>Cl. Perfringens</i> , CFU/g, không lớn hơn - <i>E. Coli</i> , CFU/g - <i>Salmonella spp.</i> , CFU/25g	10 ⁴ 10 ² 10 ¹ 10 ¹ Không phát hiện Không phát hiện	5.3.5
6. Định lượng astilbin và resveratrol - Hàm lượng astilbin, %, không nhỏ hơn - Hàm lượng resveratrol, %, không nhỏ hơn	0,80 0,06	5.3.6

5 Phương pháp kiểm tra

5.1 Lấy mẫu

- Trước khi lấy, xem xét sản phẩm có đồng nhất về màu sắc và độ vón cục, nếu không đồng nhất về màu sắc hoặc có độ vón cục từ 12 mm trở lên phải chọn riêng và lấy mẫu theo từng loại;
- Lấy ngẫu nhiên mẫu (gói bột) theo từng lô sản xuất, lấy mẫu ở 3 vị trí khác nhau: trên, giữa, dưới sau đó trộn thành mẫu chung;
- Dàn đều lượng mẫu chung thành lớp phẳng hình vuông dày không quá 20 mm, chia mẫu thành 2 đường chéo, bỏ 2 phần đối diện, trộn đều 2 phần còn lại và chia tiếp cho đến khi lượng mẫu còn lại tương ứng từ 2 đến 4 lần mẫu thử cần lấy, đó là mẫu trung bình thí nghiệm;
- Chia mẫu trung bình thí nghiệm thành các mẫu lưu và mẫu kiểm nghiệm.



Hình 1 - Sơ đồ gộp mẫu

5.2 Kiểm tra yêu cầu kỹ thuật chung

5.2.1 Kiểm tra ngoại quan

- Kiểm tra ngoại quan và quy cách đóng gói bột cao khô Định Thống Phong bằng mắt thường;
- Kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu theo quy định tại 4.1.1.

5.2.2 Kiểm tra nguyên vật liệu

- Kiểm tra dược liệu, tá dược và hồ sơ nguyên vật liệu bào chế bột cao khô Định Thống Phong;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại 4.1.2.

5.3 Kiểm tra chỉ tiêu kỹ thuật

5.3.1 Kiểm tra độ ẩm

- Kiểm tra độ ẩm được thực hiện theo phương pháp 1, Điều 9.6 của TCVN I-1:2017;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 01 Bảng 4.

5.3.2 Kiểm tra độ mịn

- Độ mịn được xác định theo phép thử Cỡ bột và rây tại Điều 3.5 của TCVN I-1:2017;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 02 Bảng 4.

5.3.3 Kiểm tra tro toàn phần

- Kiểm tra được thực hiện theo Điều 9.8 của TCVN I-1:2017;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 03 Bảng 4.

5.3.4 Kiểm tra hàm lượng kim loại nặng

5.3.4.1 Kiểm tra hàm lượng Pb

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 8126:2009;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 04 Bảng 4.

5.3.4.2 Kiểm tra hàm lượng Cd

TCQS 73:2023/NĐVN

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 8126:2009;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 04 Bảng 4.

5.3.4.3 Kiểm tra hàm lượng Hg

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 7993:2009;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 04 Bảng 4.

5.3.5 Kiểm tra giới hạn nhiễm khuẩn

5.3.5.1 Kiểm tra tổng số vi sinh vật hiếu khí

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 4884-1:2015;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 Bảng 4.

5.3.5.2 Kiểm tra tổng số nấm men, nấm mốc

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 8275-2:2010;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 Bảng 4.

5.3.5.3 Kiểm tra lượng *E. Coli*

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 6846:2007;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 Bảng 4.

5.3.5.4 Kiểm tra lượng *Salmonella spp*

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 10780-2:2015;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 Bảng 4.

5.3.5.5 Kiểm tra lượng *Coliforms*

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 6848:2007;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 Bảng 4.

5.3.5.6 Kiểm tra lượng *Cl. Perfringens*

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 4991:2005;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 Bảng 4.

5.3.6 Kiểm tra định lượng đồng thời astilbin và resveratrol bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-UV)

- Nguyên tắc
- + Thử theo chuyên luận phương pháp định lượng đồng thời astilbin và resveratrol bằng phương pháp HPLC-UV;
- + Nguyên tắc hoạt động với nguyên tắc là tách một mẫu gồm hỗn hợp nhiều thành phần thành các bộ phận cấu thành nên nó dựa trên sự khác biệt về ái lực giữa các phân tử khác nhau với 2 pha là pha động và pha tĩnh (được sử dụng trong quá trình tách).
- Chuẩn bị dung dịch chạy sắc ký
- + Dung dịch chuẩn resveratrol: Cân chính xác 5,00 mg chất chuẩn resveratrol vào bình định mức 5 ml. Thêm 3 ml ethanol, siêu âm đến tan hoàn toàn, định mức bằng ethanol đến 5ml thu được dung dịch resveratrol chuẩn có nồng độ chính xác 1 mg/ml. Từ dung dịch này, tiến hành pha loãng bằng ethanol theo các tỷ lệ khác nhau để thu được dãy dung dịch chuẩn 4,5; 9,0; 15,0; 30,0; 60,0 µg/ml;
- + Dung dịch chuẩn astilbin: Chuẩn bị tương tự dung dịch chuẩn resveratrol. Nồng độ dãy dung dịch chuẩn 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 200,0 µg/ml;

TCQS 73:2023/NĐVN

+ Dung dịch thử: Cân chính xác 0,60 g cao dược liệu đã xác định độ ẩm, thêm 50 ml ethanol, sau đó chiết hồi lưu trong 30 min, để nguội, lọc vào bình định mức 50 ml, định mức bằng ethanol đến vạch định mức. Lọc dịch qua màng cellulose acetat 0,45 µm thu được dịch thử.

- Chạy sắc ký

Điều kiện sắc ký:

Cột pha đảo: Chiều dài × đường kính trong: (250,0 × 4,6) mm; kích thước hạt nhỏ 5,00 µm.

Detector: Bước sóng phát hiện 306 nm.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Thể tích tiêm mẫu: 10 µl.

Pha động: Acetonitril (Kênh B) và nước chứa H₃PO₄ 0,1% (Kênh A).

Bảng 5 - Chương trình rửa giải

Điều kiện dung môi pha động		
Thời gian	Kênh A, (%)	Kênh B, (%)
Từ 0,01 min đến 20 min	75	25
	50	50
Từ 20 min đến 25 min	50	50
	30	70
Từ 25 min đến 30 min	30	70
	10	90
Từ 30 min đến 35 min	10	90
	10	90
Từ 35 min đến 55 min	10	90
	75	25
55 min	stop	

- Xử lý kết quả

Hàm lượng astilbin và resveratrol có trong mẫu thử tính theo khối lượng khô kiệt được tính bằng công thức (1):

$$X (\%) = \frac{C \times V \times 100 \times P \times 100}{M \times 1000 \times (100 - B)} \quad (1)$$

Trong đó:

X là hàm lượng astilbin (hoặc resveratrol) có trong mẫu thử, %;

C là nồng độ chất chuẩn astilbin (hoặc resveratrol) trong mẫu thử từ phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng, µg/ml;

V là thể tích mẫu thử, ml;

M là khối lượng mẫu thử, µg;

B là độ ẩm mẫu thử, %;

P là độ tinh khiết của chất chuẩn, %.

- Kết quả kiểm tra phải đạt theo qui định tại thứ tự 06 của Bảng 4.

TCQS 73:2023/NĐVN

6 Xử lý chung

- Bột cao khô Định Thống Phong sau khi kiểm tra phải đạt các yêu cầu theo quy định tại Điều 4 tiêu chuẩn này thì được phép đưa vào sản xuất viên nang cứng Định Thống Phong;
- Trường hợp kiểm tra một chỉ tiêu không đạt phải tiến hành kiểm tra lại với số lượng mẫu tăng gấp đôi. Nếu khi kiểm tra lại vẫn không đạt yêu cầu thì kết luận lô bột cao khô Định Thống Phong đó không đạt yêu cầu.

7 Bao gói, ghi nhãn, vận chuyển, bảo quản và bảo hành

7.1 Bao gói

Bột cao khô Định Thống Phong phải được đóng trong bao bì đảm bảo an toàn thực phẩm, không thấm nước và kín khí.

7.2 Ghi nhãn

Việc ghi nhãn bột cao khô Định Thống Phong phải theo quy định hiện hành và các yêu cầu sau đây:

- Vị trí ghi nhãn: Nhãn được ghi trực tiếp lên bao bì ở vị trí chính giữa;
- Nội dung nhãn bao gồm:
 - + Tên sản phẩm: Bột cao khô Định Thống Phong;
 - + Khối lượng cả bì và không bì;
 - + Địa chỉ cơ sở sản xuất;
 - + Ký hiệu và số hiệu tiêu chuẩn của sản phẩm;
 - + Số hiệu lô hàng;
 - + Thời gian sản xuất và hạn sử dụng;
 - + Phương thức bảo quản.

7.3 Vận chuyển

Khi vận chuyển phải được che mưa, nắng, tránh va đập và không ảnh hưởng tới chất lượng của sản phẩm.

7.4 Bảo quản

- Bảo quản sản phẩm ở nơi khô ráo, tránh ánh sáng, đảm bảo an toàn thực phẩm;
- Nhiệt độ bảo quản không lớn hơn 30 °C; Độ ẩm tương đối không lớn hơn 75 %.

7.5 Bảo hành

Thời hạn bảo hành 36 tháng kể từ ngày xuất xưởng./.



Thiếu tướng Đặng Hồng Triên

BỘ QUỐC PHÒNG
TRUNG TÂM NHIỆT ĐỐI
VIỆT - NGA

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

Số: 1551/QĐ-TTNDVN

Hà Nội, ngày 24 tháng 5 năm 2023

QUYẾT ĐỊNH

Ban hành 02 tiêu chuẩn cơ sở trong lĩnh vực quân sự, quốc phòng

TỔNG GIÁM ĐỐC

Căn cứ Quyết định số 1338/1998/QĐ-BQP ngày 09/10/1998 của Bộ trưởng Bộ Quốc phòng về việc ban hành Điều lệ công tác kỹ thuật ngành Tiêu chuẩn – Đo lường – Chất lượng Quân đội nhân dân Việt Nam;

Căn cứ Thông tư số 25/2020/TT-BQP ngày 07/3/2020 của Bộ Quốc phòng Quy định về xây dựng, ban hành và áp dụng tiêu chuẩn, quy chuẩn kỹ thuật trong lĩnh vực quân sự, quốc phòng;

Căn cứ Biên bản ngày 10/5/2023 của Hội đồng Khoa học công nghệ nghiệm thu tiêu chuẩn cơ sở trong lĩnh vực quân sự quốc phòng;

Theo đề nghị của Trưởng phòng Hậu cần-Kỹ thuật.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành 02 tiêu chuẩn cơ sở trong lĩnh vực quân sự, quốc phòng; nội dung như sau:

TCQS 73:2023/NĐVN, BỘT CAO KHÔ ĐỊNH THỐNG PHONG;
TCQS 74:2023/NĐVN, VIÊN NANG CỨNG ĐỊNH THỐNG PHONG.

(có 02 tiêu chuẩn cơ sở kèm theo).

Điều 2. 02 tiêu chuẩn trên được phổ biến và áp dụng thống nhất trong toàn Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký. Phòng Hậu cần - Kỹ thuật, Viện Y sinh Nhiệt đới và các cơ quan, đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- P TGD KH;
- V YSND (02), P TTKHQS;
- Lưu: VT, HCKT. H06.



Thiếu tướng Đặng Hồng Triển

TCQS

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

TCQS 74:2023/NĐVN

VIÊN NANG CỨNG ĐỊNH THỐNG PHONG

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 1851 /QĐ-TTNDVN ngày 24 tháng 5 năm 2023 của
Tổng Giám đốc Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga)*

HÀ NỘI – 2023

Mục lục

	Trang
1 Phạm vi áp dụng	5
2 Tài liệu viện dẫn	5
3 Quy định chung	6
3.1 Điều kiện kiểm tra	6
3.1.1 Điều kiện môi trường.....	6
3.1.2 Điều kiện bảo đảm.....	6
3.2 Phương tiện đo, phương tiện kiểm tra và dụng cụ, vật tư, hóa chất.....	6
4 Yêu cầu kỹ thuật.....	8
4.1 Yêu cầu chung	8
4.1.1 Yêu cầu ngoại quan	8
4.1.2 Yêu cầu về nguyên vật liệu.....	8
4.2 Chi tiêu kỹ thuật	8
5 Phương pháp kiểm tra.....	9
5.1 Lấy mẫu.....	9
5.2 Kiểm tra yêu cầu kỹ thuật chung	9
5.2.1 Kiểm tra ngoại quan	9
5.2.2 Kiểm tra nguyên vật liệu.....	9
5.3 Kiểm tra chi tiêu kỹ thuật	9
5.3.1 Kiểm tra độ rã.....	9
5.3.2 Kiểm tra độ đồng đều khối lượng	9
5.3.3 Kiểm tra mất khối lượng do làm khô	9
5.3.4 Kiểm tra hàm lượng kim loại nặng Pd, Cd và Hg.....	9
5.3.5 Kiểm tra giới hạn nhiễm khuẩn	10
5.3.6. Kiểm tra định lượng đồng thời astilbin và resveratrol bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-UV).....	10
6 Xử lý chung	12
7 Bao gói, ghi nhãn, vận chuyển, bảo quản và bảo hành	12

7.1 Bao gói	12
7.2 Ghi nhãn	12
7.3 Vận chuyển.....	12
7.4 Bảo quản.....	12
7.5 Bảo hành.....	12

Lời nói đầu

Cơ quan biên soạn: Ban biên soạn tiêu chuẩn Viện Y sinh Nhiệt đới/ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Cơ quan đề nghị ban hành: Viện Y sinh Nhiệt đới/ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Cơ quan trình duyệt: Phòng Hậu cần - Kỹ thuật/ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Cơ quan xét duyệt và ban hành: Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

Viên nang cứng Định Thống Phong

1 Phạm vi áp dụng

- Tiêu chuẩn này quy định các yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra đối với viên nang cứng Định Thống Phong có tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh gút trên lâm sàng;
- Viên nang cứng Định Thống Phong là sản phẩm được bào chế từ nguyên liệu bột cao khô Định Thống Phong có khối lượng trung bình viên là 600 mg, trong đó bao gồm nguyên liệu bột cao khô Định Thống Phong và tá dược vừa đủ.

2 Tài liệu viện dẫn

- TCQS 73:2023/NĐVN, Bột cao khô Định Thống Phong;
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN I-1:2017 về Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Phần 1: Phương pháp kiểm nghiệm thuốc;
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN I-2:2017 về Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Phần 2: Nguyên liệu hóa dược;
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN I-4:2017 về Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Phần 4: Dược liệu và thuốc từ dược liệu.
- TCVN 7993:2009, Thực phẩm – xác định các nguyên tố vết - xác định thủy ngân bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử hơi-lạnh (cvaas) sau khi phân hủy bằng áp lực;
- TCVN 8126:2009, Thực phẩm - xác định chì, cadimi, kẽm, đồng và sắt - Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sau khi đã phân hủy bằng vi sóng;
- TCVN 4884-1:2015, Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật – phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 3 °C bằng kỹ thuật đổ đĩa;
- TCVN 8275-2:2010, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng nấm men và nấm mốc – phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc trong các sản phẩm có hoạt độ nước nhỏ hơn hoặc bằng 0,95;
- TCVN 6848:2007, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng *Coliform* – Kỹ thuật đếm khuẩn lạc;
- TCVN 4991:2005, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng *Clostridium perfringens* trên đĩa thạch – Kỹ thuật đếm khuẩn lạc;
- TCVN 6846:2007, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng *Escherichia coli* giả định - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất;
- TCVN 10780-2:2015, Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện, định lượng và xác định kiểu huyết thanh của *Salmonella* - phần 2: Định lượng bằng kỹ thuật số đếm có xác suất lớn nhất được thu nhỏ.

CHÚ THÍCH: Trong trường hợp các tài liệu viện dẫn có sự sửa đổi, bổ sung hoặc được thay thế thì thực hiện theo văn bản đã được sửa đổi, bổ sung hoặc ban hành mới.

TCQS 74:2023/NĐVN

3 Quy định chung

3.1 Điều kiện kiểm tra

3.1.1 Điều kiện môi trường

- Điều kiện nhiệt độ môi trường kiểm tra: $(25 \pm 5) ^\circ\text{C}$; Độ ẩm tương đối: Từ 55 % đến 75 %;
- Điều kiện đối với khu vực kiểm tra: Khu vực kiểm tra phải là phòng kín, đảm bảo vệ sinh, có diện tích phù hợp cho việc sắp đặt các trang thiết bị và nguyên vật liệu để tránh lẫn lộn, tạp nhiễm.

3.1.2 Điều kiện bảo đảm

- Điều kiện kỹ thuật viên kiểm tra:
 - + Kỹ thuật viên phải có trình độ từ trung cấp trở lên, được huấn luyện, đào tạo và/hoặc có kinh nghiệm để thực hiện và giám sát quá trình kiểm tra chất lượng viên nang cứng Định Thống Phong;
 - + Mang mặc quần áo sạch sẽ phù hợp cho quá trình kiểm tra, không hút thuốc, ăn uống, nhai và giữ thực phẩm tại các khu vực kiểm tra.
- Điều kiện tiện ích:
 - + Phải có hệ thống thông gió, lọc và xả không khí, nước sử dụng phải đạt tiêu chuẩn “nước tinh khiết nguyên liệu” theo quy định tại phần 2, TCVN I-2:2017;
 - + Hệ thống chiếu sáng: Phải trang bị hệ thống chiếu sáng đầy đủ, thuận lợi cho việc kiểm tra, vệ sinh, bảo trì và các hoạt động khác;
 - + Hệ thống xử lý nước và rác thải: Nước và các chất thải khác trong khu kiểm tra phải được xử lý một cách an toàn, hợp vệ sinh, phải định danh rõ thùng chứa và/hoặc đường dẫn ống chất thải.

3.2 Phương tiện đo, phương tiện kiểm tra và dụng cụ, vật tư, hóa chất

- Danh mục phương tiện đo, kiểm tra được qui định tại Bảng 1.

Bảng 1 – Danh mục phương tiện đo

Phương tiện đo, kiểm tra	Đặc tính kỹ thuật	
	Phạm vi đo	Sai số
1. Cân kỹ thuật	Từ 0 g đến 1 000 g	$\pm 0,15$ g
2. Cân phân tích	Từ 0 g đến 210 g	$\pm 0,0015$ g
3. Bình định mức 5 ml	Từ 0 ml đến 5 ml	$\pm 0,025$ ml
4. Bình định mức 10 ml	Từ 0 ml đến 10 ml	$\pm 0,025$ ml
5. Bình định mức 25 ml	Từ 0 ml đến 25 ml	$\pm 0,040$ ml
6. Bình định mức 50 ml	Từ 0 ml đến 50 ml	$\pm 0,06$ ml
7. Bình định mức 100 ml	Từ 0 ml đến 100 ml	$\pm 0,100$ ml
8. Micropipet	Dung tích từ 10 μl đến 100 μl , $d = 0,02$ μl	$\pm 0,1$ μl
9. Thiết bị sắc ký lỏng HPLC đầu dò huỳnh quang (hoặc DAD)	Dải sóng từ 190 nm đến 800 nm	± 2 nm

CHÚ THÍCH: Các phương tiện đo trên phải được kiểm định/hiệu chuẩn và còn trong thời hạn hiệu lực.

- Danh mục phương tiện kiểm tra được qui định tại Bảng 2.

Bảng 2 – Danh mục phương tiện kiểm tra

Phương tiện kiểm tra	Công dụng, đặc tính kỹ thuật
1. Thiết bị đo pH	Sử dụng để kiểm tra độ kiềm, axit của dung dịch; Phạm vi đo độ pH từ 0 đến 20.
2. Bể điều nhiệt	Sử dụng duy trì nhiệt độ của nước ở một nhiệt độ không đổi; Phạm vi đo từ 5 °C đến 100 °C.
3. Nhiệt kế	Sử dụng để kiểm tra nhiệt độ; Phạm vi đo từ 0 °C đến 50 °C
4. Ẩm kế	Sử dụng để kiểm tra độ ẩm; Phạm vi đo từ 0 % RH đến 100 % RH
5. Thước vạch	Sử dụng để kiểm tra kích thước sản phẩm; Phạm vi đo từ 0 mm đến 500 mm
CHÚ THÍCH: Các phương tiện kiểm tra trên phải được kiểm tra kỹ thuật đo lường.	

- Dụng cụ, vật tư, hóa chất được quy định tại Bảng 3.

Bảng 3 – Dụng cụ, vật tư, hóa chất

Dụng cụ, vật tư, hóa chất	Đặc tính kỹ thuật
1. Phễu thủy tinh xốp	Dung tích phễu 80 ml, đường kính đĩa 40 mm
2. Phễu chiết thủy tinh	Dung tích phễu 500 ml và 1 000 ml
3. Bình cầu cổ nhám 100 ml	Từ 0 ml đến 100 ml
4. Bình cầu đáy bằng 100 ml	Từ 0 ml đến 100 ml
5. Bình nón thủy tinh	Dung tích 50, 250, 1 000 ml
6. Cốc thủy tinh	Dung tích 25, 50, 100 ml
7. Màng lọc tiệt trùng	Đường kính lỗ 0,45 µm
8. Giấy lọc	Đường kính giấy lọc 300 mm
9. Đĩa lọc bằng giấy	Đường kính lỗ 10 µm
10. Cột pha đảo Lightversil C18	Kích thước (250,0 x 4,6) mm; kích thước hạt nhỏ 5,00 µm
11. Bếp chiết hình cầu	Nhiệt độ: Từ 100 °C tới 450 °C
12. Bể rửa siêu âm	Tần số siêu âm: 37 kHz
13. Máy khuấy từ	Tốc độ khuấy: Từ 100 r/min đến 1 000 r/min
14. Tủ sấy	Phạm vi điều chỉnh nhiệt từ 50 °C đến 220 °C
15. Ethanol	Độ tinh khiết không nhỏ hơn 99 %
16. Astilbin	Độ tinh khiết không nhỏ hơn 98 %
17. Resveratrol	Độ tinh khiết không nhỏ hơn 99 %

TCQS 74:2023/NĐVN

4 Yêu cầu kỹ thuật

4.1 Yêu cầu chung

4.1.1 Yêu cầu ngoại quan

- Quy cách đóng gói: Hộp đựng bằng giấy cứng, đầy đủ thông tin về hàm lượng, cách dùng, đối tượng sử dụng, hạn sử dụng, bảo quản. Lọ đựng viên nang cứng Định Thống Phong: Lọ nhựa cứng hoặc thủy tinh, có dán nhãn đầy đủ thông tin, lọ được dán kín miệng bằng màng seal;
- Khối lượng trung bình 01 viên nang cứng Định Thống Phong: 600 mg, sai số $\pm 7,5\%$ về khối lượng, trong đó 530 mg dược chất, tá dược vừa đủ 600 mg;
- Viên nang cứng Định Thống Phong: Viên nang số 0, màu xanh, bột bên trong màu nâu sẫm.

4.1.2 Yêu cầu về nguyên vật liệu

- Nguyên liệu để bào chế viên nang cứng Định Thống Phong là bột cao khô Định Thống Phong đạt tiêu chuẩn theo TCQS 73:2023/NDVN Bột cao khô Định Thống Phong đi kèm tài liệu chứng nhận về chất lượng và xuất xứ;
- Tá dược: PVP, magnesium stearate, bột Talc, lactose monohydrat, alcohol ethylic đạt tiêu chuẩn theo quy định của TCVN I-2:2017.

4.2 Chỉ tiêu kỹ thuật

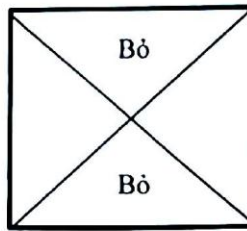
Bảng 4 – Chỉ tiêu kỹ thuật

Chỉ tiêu kỹ thuật	Mức, yêu cầu	Phương pháp kiểm tra
1. Độ rõ viên nang, min, không lớn hơn	30,00	5.3.1
2. Độ đồng đều khối lượng, độ chênh lệch so với khối lượng trung bình viên, %, không lớn hơn	$\pm 7,50$	5.3.2
3. Mất khối lượng do làm khô, %, không lớn hơn	9,00	5.3.3
4. Hàm lượng kim loại nặng - Pb, mg/kg, không lớn hơn - Cd, mg/kg, không lớn hơn - Hg, mg/kg, không lớn hơn	3,00 1,00 0,10	5.3.4
5. Giới hạn nhiễm khuẩn - Tổng số sinh vật hiếu khí, CFU/g, không lớn hơn - Tổng số nấm men, nấm mốc, CFU/g, không lớn hơn - Coliforms, CFU/g, không lớn hơn - <i>Cl. Perfringens</i> , CFU/g, không lớn hơn - <i>E. Coli</i> , CFU/g - <i>Salmonella spp</i> , CFU/25g	10^4 10^2 10^1 10^1 Không phát hiện Không phát hiện	5.3.5
6. Định lượng astilbin và resveratrol - Hàm lượng astilbin, mg/viên, không nhỏ hơn - Hàm lượng resveratrol, mg/viên, không nhỏ hơn	3,60 0,27	5.3.6

5 Phương pháp kiểm tra

5.1 Lấy mẫu

- Lấy ngẫu nhiên 03 lọ theo từng lô sản xuất, mỗi lọ lấy ngẫu nhiên 20 viên nang, bóc lấy bột bên trong viên nang trộn đều để tiến hành kiểm tra;
- Dàn đều lượng bột chung thành lớp phẳng hình vuông dày không quá 20 mm, chia mẫu thành 2 đường chéo, bỏ 2 phần đối diện, trộn đều 2 phần còn lại và chia tiếp cho đến khi lượng mẫu còn lại tương ứng từ 2 đến 4 lần mẫu thử cần lấy, đó là mẫu trung bình thí nghiệm;
- Chia mẫu trung bình thí nghiệm thành các mẫu lưu và mẫu kiểm nghiệm.



Hình 1 - Sơ đồ gộp mẫu

5.2 Kiểm tra yêu cầu kỹ thuật chung

5.2.1 Kiểm tra ngoại quan

- Sử dụng bàn kiểm tra viên nang, kiểm tra bằng mắt thường về quy cách đóng gói và bột bên trong viên nang;
- Kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu theo quy định tại 4.1.1.

5.2.2 Kiểm tra nguyên vật liệu

- Kiểm tra bột cao khô Định Thống Phong, tá dược và tài liệu minh chứng;
- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại 4.1.2.

5.3 Kiểm tra chỉ tiêu kỹ thuật

5.3.1 Kiểm tra độ rã

- Kiểm tra được thực hiện theo Điều 11.6 của TCVN I-1:2017;
- Kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu theo qui định tại thứ tự 01 Bảng 4.

5.3.2 Kiểm tra độ đồng đều khối lượng

- Kiểm tra được thực hiện theo Điều 11.3 của TCVN I-1:2017;
- Kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu theo qui định tại thứ tự 02 Bảng 4.

5.3.3 Kiểm tra mất khối lượng do làm khô

- Kiểm tra được thực hiện theo Điều 9.6 của TCVN I-1:2017;
- Kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu theo qui định tại thứ tự 03 Bảng 4.

5.3.4 Kiểm tra hàm lượng kim loại nặng Pd, Cd và Hg

5.3.4.1. Kiểm tra hàm lượng Pd

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 8126:2009;
- Kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu theo qui định tại thứ tự 04 Bảng 4.

5.3.4.2. Kiểm tra hàm lượng Cd

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 8126:2009;

TCQS 74:2023/NĐVN

- Kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu theo qui định tại thứ tự 04 Bảng 4.

5.3.4.3. Kiểm tra hàm lượng Hg

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 7993:2009;

- Kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu theo qui định tại thứ tự 04 Bảng 4.

5.3.5 Kiểm tra giới hạn nhiễm khuẩn

5.3.5.1 Kiểm tra tổng số vi sinh vật hiếu khí

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 4884-1:2015;

- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 bảng 4.

5.3.5.2 Kiểm tra tổng số nấm men, mốc

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 8275-2:2010;

- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 bảng 4.

5.3.5.3 Kiểm tra lượng *E. Coli*

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 6846:2007;

- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 bảng 4.

5.3.5.4 Kiểm tra lượng *Salmonella spp*

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 10780-2:2015;

- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 bảng 4.

5.3.5.5 Kiểm tra lượng *Coliforms*

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 6848:2007;

- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 bảng 4.

5.3.5.6 Kiểm tra lượng *Cl. Perfringens*

- Kiểm tra thực hiện theo TCVN 4991:2005;

- Kết quả phải đạt yêu cầu theo quy định tại thứ tự 05 bảng 4.

5.3.6. Kiểm tra định lượng đồng thời astilbin và resveratrol bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-UV)

- Nguyên tắc

+ Thử theo chuyên luận phương pháp định lượng đồng thời astilbin và resveratrol bằng phương pháp HPLC-UV;

+ Nguyên tắc hoạt động với nguyên tắc là tách một mẫu gồm hỗn hợp nhiều thành phần thành các bộ phận cấu thành nên nó dựa trên sự khác biệt về ái lực giữa các phân tử khác nhau với 2 pha là pha động và pha tĩnh (được sử dụng trong quá trình tách).

- Chuẩn bị dung dịch chạy sắc ký

+ Dung dịch chuẩn resveratrol: Cân chính xác 5,00 mg chất chuẩn resveratrol vào bình định mức 5 ml. Thêm 3 ml ethanol, siêu âm đến tan hoàn toàn, định mức bằng ethanol đến 5ml thu được dung dịch resveratrol chuẩn có nồng độ chính xác 1 mg/ml. Từ dung dịch này, tiến hành pha loãng bằng ethanol theo các tỷ lệ khác nhau để thu được dãy dung dịch chuẩn 4,5; 9,0; 15,0; 30,0; 60,0 µg/ml;

+ Dung dịch chuẩn astilbin: Chuẩn bị tương tự dung dịch chuẩn resveratrol. Nồng độ dãy dung dịch chuẩn 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 200,0 µg/ml;

TCQS 74:2023/NĐVN

+ Dung dịch thử: Cân chính xác 0,60 g cao dược liệu đã xác định độ ẩm, thêm 50 ml ethanol, sau đó chiết hồi lưu trong 30 min, để nguội, lọc vào bình định mức 50 ml, định mức bằng ethanol đến vạch định mức. Lọc dịch qua màng cellulose acetat 0,45 μm thu được dịch thử.

- Chạy sắc ký

Điều kiện sắc ký:

Cột pha đảo: Chiều dài \times đường kính trong: (250,0 \times 4,6) mm; kích thước hạt nhồi 5,00 μm .

Detector: Bước sóng phát hiện 306 nm.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Thể tích tiêm mẫu: 10 μl .

Pha động: Acetonitril (Kênh B) và nước chứa H_3PO_4 0,1 % (Kênh A).

Bảng 5 - Chương trình rửa giải

Điều kiện dung môi pha động		
Thời gian	Kênh A, (%)	Kênh B, (%)
Từ 0,01 min đến 20 min	75	25
	50	50
Từ 20 min đến 25 min	50	50
	30	70
Từ 25 min đến 30 min	30	70
	10	90
Từ 30 min đến 35 min	10	90
Từ 35 min đến 55 min	10	90
	75	25
55 min	stop	

- Xử lý kết quả

Hàm lượng astilbin và resveratrol có trong mẫu thử tính theo khối lượng khô kiệt được tính bằng công thức (1):

$$X = \frac{m \times C \times V \times 100 \times P \times 100}{M \times 1000 \times (100 - B)} \quad (1)$$

Trong đó:

X là hàm lượng astilbin (hoặc resveratrol) có trong mẫu thử, mg/viên;

C là nồng độ chất chuẩn astilbin (hoặc resveratrol) trong mẫu thử từ phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng, $\mu\text{g/ml}$;

m là khối lượng dược chất trong 1 viên, mg;

V là thể tích mẫu thử, ml;

M là khối lượng mẫu thử, μg ;

B là độ ẩm mẫu thử, %;

P là độ tinh khiết của chất chuẩn, %.

- Kết quả kiểm tra phải đạt theo qui định tại thứ tự 06 của Bảng 4.

TCQS 74:2023/NDVN

6 Xử lý chung

- Viên nang cứng Định Thống Phong sau khi kiểm tra phải đạt các yêu cầu theo quy định tại tiêu chuẩn này.
- Trường hợp kiểm tra một chỉ tiêu không đạt phải tiến hành kiểm tra lại với số lượng mẫu tăng gấp đôi. Nếu khi kiểm tra lại vẫn không đạt yêu cầu thì kết luận lô đó không đạt yêu cầu.

7 Bao gói, ghi nhãn, vận chuyển, bảo quản và bảo hành

7.1 Bao gói

Viên nang cứng Định Thống Phong được đóng trong lọ nhựa màu trắng đục, theo quy cách 60 viên một lọ. Lọ có túi hút ẩm silicagel và bông chống xóc và được dán màng seal. Lọ nhựa được bọc trong hộp giấy cứng kích thước (5,4 × 11,6) cm.

7.2 Ghi nhãn

Việc ghi nhãn trên lọ đựng viên nang cứng Định Thống Phong phải đáp ứng các yêu cầu sau đây:

- Vị trí ghi nhãn: Nhãn được in trên giấy decal 150 gsm, dán ở vị trí chính giữa lọ;
- Nội dung nhãn bao gồm:
 - + Tên sản phẩm: Định Thống Phong;
 - + Số lượng viên trong một lọ;
 - + Thành phần, công dụng, đối tượng sử dụng và cách dùng;
 - + Địa chỉ cơ sở sản xuất;
 - + Ký hiệu và số hiệu tiêu chuẩn của sản phẩm;
 - + Số hiệu lô hàng;
 - + Thời gian sản xuất và hạn sử dụng;
 - + Phương thức bảo quản.

7.3 Vận chuyển

Khi vận chuyển phải được che mưa, nắng, tránh va đập và không ảnh hưởng tới chất lượng của sản phẩm.

7.4 Bảo quản

- Bảo quản sản phẩm ở nơi khô ráo, tránh ánh sáng trực tiếp, đảm bảo an toàn thực phẩm;
- Nhiệt độ bảo quản không lớn hơn 30 °C; Độ ẩm tương đối không lớn hơn 75 %.

7.5 Bảo hành

Thời hạn bảo hành 36 tháng kể từ ngày xuất xưởng ./.



Thiếu tướng Đặng Hồng Triên

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

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU
TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM, GIẢM ĐAU VÀ
HẠ ACID URIC MÁU CỦA VIÊN NANG CỨNG
ĐỊNH THỐNG PHONG TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nơi tiến hành: Viện Kiểm nghiệm, nghiên cứu dược
và trang thiết bị y tế Quân đội

Hà Nội, năm 2023

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viên nang cứng Định Thống Phong (ĐTP) là sản phẩm được bào chế từ bài thuốc nghiệm phương theo lý luận của y học cổ truyền, với định hướng hỗ trợ điều trị gút; bao gồm các dược liệu: Ngưu tất, tỳ giải, thỏ phục linh, hoàng kỳ, ích mẫu, thương truật, thiên niên kiện, trần bì, phá cố chi, kê huyết đằng, hà thủ ô đỏ, bán hạ chế, hoạt thạch, dây gấm và hy thiêm thảo. Tuy được bào chế từ bài thuốc y học cổ truyền nhưng theo quy định [1], chế phẩm phải trải qua giai đoạn thử nghiệm trên động vật trước khi có thể được thử nghiệm và sử dụng trên người. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau và hạ acid uric máu của viên nang cứng ĐTP trên thực nghiệm.

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Đối tượng, nguyên vật liệu nghiên cứu

* Đối tượng nghiên cứu

Viên nang cứng ĐTP đạt tiêu chuẩn cơ sở; mỗi viên nang có khối lượng 600 mg, chứa 530 mg hỗn hợp bột cao khô ĐTP và natri hydrocarbonat. Công thức bào chế cho 01 viên nang cứng ĐTP như sau:

Bảng 1. Công thức bào chế viên nang cứng ĐTP

Thành phần	Khối lượng
Hỗn hợp bột cao khô ĐTP và natri hydrocarbonat	530 mg
Tá dược (Lactose, avicel, magnesi stearat...)	vừa đủ 01 viên

* Động vật thí nghiệm

- Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, trọng lượng 20 ± 2 g, cả 2 giống, khỏe mạnh do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

- Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 ± 20 g do Trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng- Hà Nội cung cấp.

- Động vật được nuôi dưỡng theo chế độ tiêu chuẩn tại phòng thí nghiệm Viện Kiểm nghiệm, nghiên cứu dược và trang thiết bị y tế Quân đội từ 5- 7 ngày trước nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu được ăn bằng thức ăn tiêu chuẩn dành riêng, uống nước sạch tự do.

*** Máy móc, trang thiết bị, dụng cụ, hóa chất**

- Máy đo thể tích chân chuột (Plethysmometer), model 7140, Ugo Basile, Ý,
- Máy hot plate model - DS37 (Ugo Basile, Ý),
- Máy xét nghiệm sinh hóa Evolution 3000 (Biochemical, Ý),
- Indomethacin, viên nén 25 mg, công ty Cổ phần dược phẩm Hà Tây,
- Allopurinol, viên nén 300mg, công ty TNHH Liên Doanh Stada, Việt Nam,
- Codein phosphat do Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương cung cấp,
- Acid acetic, PA (Merck, Đức),
- Viên nén aspirin 100 mg (Công ty Cổ phần Traphaco, Việt Nam),
- Kim uống thuốc đầu tù; dụng cụ thí nghiệm khác (bơm kim tiêm 1ml, kéo, kẹp kocher, chày cối, găng tay cao su, khẩu trang y tế...).

1.2. Phương pháp nghiên cứu

1.2.1. Tác dụng chống viêm

Tác dụng chống viêm của viên nang cứng ĐTP được đánh giá trên chuột cống trắng, theo phương pháp được mô tả bởi Winter Charles A. và cộng sự [2]. Chuột cống trắng đủ tiêu chuẩn được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con, chuột được uống thuốc hoặc nước cất với cùng thể tích 5 ml/kg, cụ thể như sau:

- + Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.
- + Lô 2 (lô chứng dương): Uống indomethacin liều 10 mg/kg.
- + Lô 3 (lô ĐTP liều 1): Uống viên nang cứng ĐTP liều 500 mg/kg (tương đương với liều dùng trên người).
- + Lô 4 (lô ĐTP liều 2): Uống viên nang cứng ĐTP liều 1500 mg/kg (gấp 3 lần liều dùng trên người).

Sau khi dùng thuốc 60 phút, tiến hành gây phù viêm cấp bằng cách tiêm hỗn dịch carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý, ngay trước khi tiêm), liều 0,1 ml/con vào dưới da gan bàn chân sau (bên trái) của chuột. Sau khi gây phù viêm cấp, đo lại thể tích bàn chân sau (bên trái) của chuột (nhúng bàn chân sau trái của chuột tới khớp cổ chân; trên bàn máy đo thể tích chân chuột (Plethysmometer), model 7140, Ugo Basile, Ý) ở các thời điểm sau 30 phút, 60 phút, 90 phút và 120 phút. Mức độ tăng thể tích bàn chân chuột (E%) được tính theo công thức:

$$E (\%) = V_t : V_0 \times 100$$

Trong đó: V_t : Thể tích bàn chân chuột tại thời điểm sau gây phù viêm (ml),

V_0 : Thể tích bàn chân chuột tại thời điểm ban đầu (ml).

Mức độ ức chế phù bàn chân chuột (P%) được tính theo công thức:

$$P(\%) = 100 \times (E_c - E_t) : E_c$$

Trong đó: E_c : Mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô chứng,

E_t : Mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô dùng thuốc.

1.2.2. Tác dụng giảm đau

* Trên mô hình mâm nóng

Nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang cứng ĐTP trên mô hình mâm nóng (hot plate) được mô tả bởi Woolfe Gand và cộng sự, có sửa đổi phù hợp [3], [4]. Thiết kế nghiên cứu cụ thể như sau:

Chuột nhắt trắng đủ tiêu chuẩn thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

- Lô 2 (lô thuốc tham chiếu): Uống codein phosphat liều 20 mg/kg.

- Lô 3 (lô ĐTP liều 1): Uống viên nang cứng ĐTP liều 860 mg/kg/ngày (tương đương với liều dùng trên người).

- Lô 4 (lô ĐTP liều 2): Uống viên nang cứng ĐTP liều 2580 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều dùng trên người).

Chuột được uống nước, thuốc tham chiếu hoặc ĐTP mỗi ngày 01 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 ml/10g trọng lượng/ngày trong 5 ngày liên tục.

Đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ. Thời gian phản ứng với nhiệt của chuột là thời gian được xác định từ khi đặt chuột lên mâm nóng (duy trì ở nhiệt độ 56⁰C) đến khi chuột liếm chân sau. Ở thời điểm trước khi cho chuột uống thuốc, loại bỏ những chuột phản ứng quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây). So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước và sau khi uống thuốc.

*** Trên mô hình gây đau quặn**

Nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang cứng ĐTP trên mô hình gây đau quặn được thực hiện theo mô tả của Koster và cộng sự [5], cụ thể như sau:

Chuột nhắt trắng đủ tiêu chuẩn thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

- Lô 2 (lô thuốc tham chiếu): Uống aspirin liều 150 mg/kg.

- Lô 3 (lô ĐTP liều 1): Uống viên nang cứng ĐTP liều 860 mg/kg/ngày (tương đương với liều dùng trên người).

- Lô 4 (lô ĐTP liều 2): Uống viên nang cứng ĐTP liều 2580 mg/kg/ngày (gấp 3 lần liều dùng trên người).

Chuột được uống thuốc hoặc nước cất với cùng thể tích 0,2 ml/10 g trọng lượng cơ thể liên tục trong 5 ngày. Ở ngày thứ 5, sau khi uống thuốc 60 phút, tiến hành gây đau quặn bằng cách tiêm phúc mạc dung dịch acid acetic 0,6% liều 0,1 ml/10g thể trọng. Chuột sẽ xuất hiện những cơn đau quặn biểu hiện như thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Đếm số cơn đau quặn trong mỗi 5 phút trong thời gian 20 phút kể từ khi tiêm acid acetic 0,6%. So sánh số cơn đau quặn của chuột giữa các lô.

Tính % ức chế đau quặn theo công thức:

$$A(\%) = 100.(D_c - D_i):D_c$$

Trong đó:

- A%: Tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô thuốc tham chiếu và lô thử thuốc.

- D_c : Số cơn đau quặn của lô chứng.

- D_i : Số cơn đau quặn của lô thuốc tham chiếu và lô thử thuốc.

1.2.3. Tác dụng hạ acid uric máu

Tác dụng hạ acid uric máu được thực hiện trên mô hình gây tăng acid uric máu bằng kali oxonat trên chuột nhắt trắng theo Maira Ribeiro de Souza và cộng sự [6].

Chuột nhắt trắng đạt yêu cầu được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

+ Lô 1 (lô chứng sinh lý): Uống nước cất + tiêm màng bụng CMC-Na 0,5%.

+ Lô 2 (lô mô hình): Uống nước cất + tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat.

+ Lô 3 (lô chứng dương): Uống allopurinol liều 20 mg/kg + tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat.

+ Lô 4 (lô ĐTP liều 1): Uống viên nang cứng ĐTP liều 860 mg/kg (tương đương với liều dùng trên người) + tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat.

+ Lô 5 (lô ĐTP liều 2): Uống viên nang cứng ĐTP liều 2580 mg/kg + tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat.

Chuột được uống nước cất, thuốc đối chứng hoặc chế phẩm thử với cùng thể tích 0,2 ml/10g trọng lượng chuột vào một giờ nhất định hàng ngày trong 5 ngày liên tiếp trước khi gây mô hình. Ở ngày thứ năm, 2 giờ trước khi uống thuốc lần cuối, chuột được tiêm màng bụng hỗn dịch kali oxonat (pha trong CMC-Na 0,5%) liều 250 mg/kg với thể tích 0,1 ml/10g thể trọng chuột. Sau khi uống thuốc lần cuối 2 giờ, chuột được gây mê bằng ketamin (liều 100 mg/kg), lấy máu từ động mạch chủ bụng vào ống không chống đông, được để đông trong khoảng 1 giờ ở nhiệt độ phòng và sau đó ly tâm ở tốc độ 2500 vòng trong 10 phút. Tách lấy huyết thanh để định lượng acid uric (trên máy xét nghiệm sinh hóa Evolution 3000, Biochemical, Ý; sử dụng hoá chất xét nghiệm acid uric (UA 275) của hãng Erba Lachema S.R.O.), so sánh giữa các lô.

1.3. Phân tích dữ liệu

Các kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm SD. So sánh sự khác nhau về giá trị trung bình giữa các lô sử dụng phân tích phương sai 1 chiều (One-way ANOVA) và Post Hoc least-significant differences (LSD) test với trường hợp phương sai đồng nhất; One-way ANOVA và Dunnett's T3 test với trường hợp phương sai không đồng nhất. Các kết quả thống kê được tính toán trên phần mềm SPSS Statistics 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p \leq 0,05$.

2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

2.1. Tác dụng chống viêm

Kết quả thể tích bàn chân chuột được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Thể tích bàn chân chuột (ml) tại các thời điểm nghiên cứu (n = 10)

	Ban đầu	Sau 30 phút	Sau 60 phút	Sau 90 phút	Sau 120 phút
Lô chứng	1,10 ± 0,13	1,32 ± 0,10	1,50 ± 0,17	1,64 ± 0,16	1,75 ± 0,16
Lô chứng dương	1,20 ± 0,11	1,37 ± 0,11	1,47 ± 0,11	1,54 ± 0,09	1,66 ± 0,17
Lô ĐTP liều 1	1,07 ± 0,07	1,25 [#] ± 0,07	1,33 [#] ± 0,09	1,43* ± 0,14	1,58* ± 0,21
Lô ĐTP liều 2	1,01 ± 0,14	1,14 ^{###s} ± 0,12	1,21 ^{###} ± 0,12	1,30 ^{###s} ± 0,15	1,40 ^{###s} ± 0,17

Ghi chú: *: $p < 0,05$; **: $p < 0,001$ so với lô chứng ở cùng một thời điểm,
[#]: $p < 0,05$; ^{##}: $p < 0,001$ so với lô tham chiếu ở cùng một thời điểm,
^s: $p < 0,05$ so với lô ĐTP liều 1 ở cùng một thời điểm

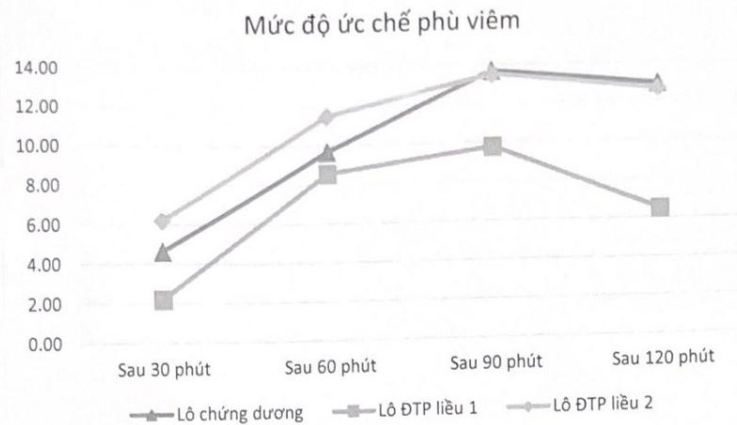
Kết quả trên cho thấy, thể tích bàn chân chuột của lô chứng dương tại các thời điểm khác nhau không có ý nghĩa ($p > 0,05$) so với lô chứng. Với lô ĐTP liều 1, tại thời điểm sau 30 phút và sau 60 phút, thể tích bàn chân chuột đều thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô chứng dương đồng thời tại thời điểm sau 90 phút và sau 120 phút thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô chứng. Với lô ĐTP liều 2, tại các thời điểm sau khi gây viêm đều thấp hơn đáng kể so với lô chứng, lô chứng dương và lô ĐTP liều 1. Việc thể tích bàn chân chuột của lô chứng dương không thấp hơn có ý nghĩa so với lô chứng và có thời điểm cao hơn có ý nghĩa so với lô ĐTP liều 1 và liều 2 là do thể tích bàn chân chuột ở thời điểm ban đầu của lô chứng dương (1,20 ± 0,11) là cao hơn so với lô chứng (1,10 ± 0,13), lô ĐTP liều 1 (1,07 ± 0,07) và liều 2 (1,01 ± 0,14).

Mức độ tăng thể tích bàn chân chuột (%) so với thời điểm ban đầu (trước khi gây viêm) được trình bày trong bảng 3 và mức độ ức chế phù bàn chân chuột được thể hiện trong hình 1:

Bảng 3. Mức độ tăng thể tích bàn chân chuột so với trước khi gây viêm (n = 10)

	Sau 30 phút	Sau 60 phút	Sau 90 phút	Sau 120 phút
Lô chứng	120,49 ± 6,97	136,74 ± 10,37	149,55 ± 12,76	159,64 ± 12,94
Lô chứng dương	114,90 ± 9,97	123,47* ± 8,55	129,08** ± 8,97	139,01* ± 12,80
Lô ĐTP liều 1	117,83 ± 7,62	125,00* ± 9,25	134,94* ± 14,94	149,28 ± 22,11
Lô ĐTP liều 2	112,99* ± 6,93	120,98** ± 6,92	129,34** ± 9,77	139,47* ± 14,20

Ghi chú: *: $p < 0,05$; **: $p \leq 0,001$ so với lô chứng ở cùng một thời điểm



Hình 1. Mức độ ức chế phù bàn chân chuột của các lô nghiên cứu

Qua kết quả ở bảng 3 cho thấy, sau khi gây viêm từ 30 đến 120 phút, thể tích bàn chân chuột đều tăng ở các lô so với thời điểm ban đầu. Tại thời điểm sau 30 phút, mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô ĐTP liều 2 thấp hơn có ý nghĩa so với lô chứng ($p = 0,042$). Tại thời điểm sau 60 phút, mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô chứng đều cao hơn các lô dùng thuốc với p lần lượt là: lô chứng dương, $p = 0,002$; lô ĐTP liều 1, $p = 0,005$ và lô ĐTP liều 2, $p < 0,001$. Tại thời điểm sau 90 phút, mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô chứng cũng đều cao hơn các lô dùng thuốc với p lần lượt là: lô chứng dương, $p < 0,001$; lô ĐTP liều 1, $p = 0,009$ và lô ĐTP liều 2, $p = 0,001$. Tại thời điểm sau 120 phút, mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô chứng dương và lô ĐTP liều 2 thấp hơn đáng kể so với lô chứng (p lần lượt là 0,012 và 0,022). Tại các thời điểm nghiên cứu, không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) về mức độ tăng thể tích bàn chân chuột giữa các lô: Lô chứng dương, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2.

2.2. Tác dụng giảm đau

* Tác dụng trên mô hình mâm nóng

Kết quả thời gian phản ứng của chuột ở các lô được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Thời gian phản ứng của chuột trên mô hình mâm nóng (n = 10)

Lô nghiên cứu	Thời gian phản ứng (giây)		p trước- sau
	Thời điểm ban đầu	Sau 5 ngày	
Lô chứng (1)	11,94 ± 1,07	12,50 ± 1,48	0,320
Lô thuốc tham chiếu (2)	13,55 ± 3,59	28,76 ± 2,38	< 0,001
Lô ĐTP liều 1 (3)	11,30 ± 0,87	25,72 ± 2,70	< 0,001
Lô ĐTP liều 2 (4)	12,79 ± 1,30	27,73 ± 3,49	< 0,001
p giữa các lô	> 0,05	p _{1-2,3,4} < 0,001 p ₂₋₃ = 0,013 p ₂₋₄ = 0,385 p ₃₋₄ = 0,094	

Kết quả trên cho thấy, ở thời điểm trước khi uống thuốc, không có sự khác nhau có ý nghĩa ($p > 0,05$) về thời gian phản ứng với nhiệt của chuột giữa các lô. Ở thời điểm sau 5 ngày uống thuốc, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở các lô thuốc tham chiếu, ĐTP liều 1 và ĐTP liều 2 đều cao hơn đáng kể so với lô chứng (p đều < 0,001); đồng thời, ở lô ĐTP liều 1 thấp hơn đáng kể so với lô thuốc tham chiếu ($p = 0,013$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$) giữa lô thuốc tham chiếu và lô ĐTP liều 1 với lô ĐTP liều 2.

Khi so sánh giữa thời điểm trước và sau khi uống thuốc cho thấy, ở các lô dùng thuốc tham chiếu và viên nang cứng ĐTP có thời gian phản ứng với nhiệt tại thời điểm sau khi uống thuốc cao hơn đáng kể so với thời điểm trước khi uống thuốc (p đều < 0,001).

* Tác dụng trên mô hình gây đau quận

Kết quả số cơn đau quận trung bình của các lô chuột trong mỗi 5 phút được trình bày trong bảng sau:

Bảng 5. Kết quả số cơn đau quận trong mỗi 5 phút (n = 10)

Lô nghiên cứu	Số cơn đau quận			
	0 - 5 phút	5 - 10 phút	10- 15 phút	15 - 20 phút
Lô chứng (1)	2,50 ± 0,97	11,60 ± 1,35	12,20 ± 0,79	9,70 ± 1,34
Lô thuốc tham chiếu (2)	0,80** ± 1,40	8,10*** ± 1,10	8,10*** ± 0,88	6,90*** ± 1,10
Lô ĐTP liều 1 (3)	0,90** ± 1,29	7,40*** ± 1,35	8,80*** ± 0,92	7,10*** ± 0,99
Lô ĐTP liều 2 (4)	0,80** ± 1,14	7,50*** ± 0,97	8,20*** ± 1,40	7,30*** ± 1,34

Ghi chú: **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ so với lô chứng trong cùng 1 cột.

Trong mỗi 5 phút sau khi tiêm acid acetic, số cơn đau quặn của lô chứng đều cao hơn đáng kể so với các lô thuốc tham chiếu, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2. Không có sự khác nhau có ý nghĩa ($p > 0,05$) về số cơn đau quặn khi so sánh giữa lô thuốc tham chiếu với lô ĐTP liều 1, lô ĐTP liều 2 và khi so sánh giữa lô ĐTP liều 1 với lô ĐTP liều 2. Kết quả tổng số cơn đau quặn trong 20 phút được trình bày trong bảng 6.

Bảng 6. Tổng số cơn đau quặn của chuột trong 20 phút ($n = 10$)

Lô nghiên cứu	Tổng số cơn đau quặn trung bình trong 20 phút	% giảm so với lô chứng âm
Lô chứng (1)	36,0 ± 2,49	
Lô thuốc tham chiếu (2)	23,9*** ± 2,60	33,61
Lô ĐTP liều 1 (3)	24,2*** ± 2,30	32,78
Lô ĐTP liều 2 (4)	23,8*** ± 2,20	33,89

Ghi chú: ***: $p < 0,001$ so với lô chứng.

Tổng số cơn đau quặn trong 20 phút của lô chứng là 36,0 ± 2,49 cao hơn đáng kể so với lô thuốc tham chiếu (23,9 ± 2,60), lô ĐTP liều 1 (24,2 ± 2,30) và lô ĐTP liều 2 (23,8 ± 2,20) với p đều $< 0,001$. Không có sự khác nhau có ý nghĩa ($p > 0,05$) khi so sánh giữa các lô thuốc tham chiếu, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2. % giảm số cơn đau của các lô thuốc tham chiếu, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 so với lô chứng lần lượt là 33,61%, 32,78% và 33,89%.

2.3. Tác dụng hạ acid uric máu

Kết quả nồng độ acid uric máu chuột ở các lô được trình bày trong bảng sau:

Bảng 7. Nồng độ acid uric máu chuột của các lô nghiên cứu

Lô nghiên cứu	n	Nồng độ acid uric ($\mu\text{mol/L}$)	Giảm so với lô mô hình (%)
Lô chứng sinh lý	10	77,80@ ± 31,95	
Lô mô hình	10	126,30 ± 52,88	
Lô chứng dương	10	76,50@ ± 15,15	39,43
Lô ĐTP liều 1	10	79,50@ ± 12,80	37,05
Lô ĐTP liều 2	10	78,40@ ± 21,50	37,93

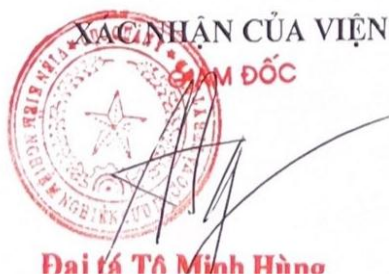
Ghi chú: @: $p = 0,001$ so với lô mô hình

Kết quả cho thấy, nồng độ acid uric máu của các lô chứng sinh lý, chứng dương, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2 đều thấp hơn rõ rệt so với lô mô hình (p đều bằng 0,001). Không có sự khác nhau có ý nghĩa về nồng độ acid uric máu giữa các lô: Lô chứng sinh lý, lô chứng dương, lô ĐTP liều 1 và lô ĐTP liều 2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Khoa học và Đào tạo- Bộ Y tế (2015) Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu Ban hành kèm theo Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015.
2. Winter Charles A., Risley Edwin A. and Nuss George W. (1962) Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 111(3): 544-547.
3. H. Gerhard Vogel and Wolfgang H. Vogel (1997), Chapter H. Analgesic, anti-inflammatory, and antipyretic activity; H.1.2.4. Hot plate method; H.2.0.2. Writhing tests, In: *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 370-371.
4. Woolfe Gand and MacDonald A. D. (1944) The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 80(3): 300-307.
5. Koster R. (1959) Acetic acid for analgesics screening. *Fed proc*, 412-417.
6. Maíra Ribeiro de Souza, Carmen Aparecida de Paula, Michelle Luciane Pereira de Resende, et al. (2012) Pharmacological basis for use of *Lychnophora trichocarpa* in gouty arthritis: anti-hyperuricemic and anti-inflammatory effects of its extract, fraction and constituents. *Journal of ethnopharmacology*, 142(3): 845-850.

Ngày tháng năm 2023
NGƯỜI THỰC HIỆN



(Handwritten signature)

TS. Vũ Ngọc Thắng

(Handwritten signature)

ThS. Nguyễn Hải Đường