

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN THỊ PHƯƠNG THẢO

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG
CHỐNG VIÊM, CHỐNG DỊ ỨNG CỦA CAO LỎNG
“TIÊU ĐỘC DƯỠNG PHU” TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

HÀ NỘI – 2026

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN THỊ PHƯƠNG THẢO

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG
CHỐNG VIÊM, CHỐNG DỊ ỨNG CỦA CAO LỎNG
“TIÊU ĐỘC DƯỠNG PHU” 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. NGUYỄN TRƯỜNG NAM

2: TS. QUÁCH THỊ YẾN

HÀ NỘI – 2026

LỜI CẢM ƠN

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

Tôi xin được tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới TS. Nguyễn Trường Nam và TS. Quách Thị Yến, người thầy đã trực tiếp hướng dẫn tận tình, cung cấp cho tôi kiến thức và phương pháp luận quý báu, giúp tôi hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân, giảng viên Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y đã quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong việc nghiên cứu, thu thập, hoàn thiện số liệu để hoàn thành đề tài.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy, các cô trong hội đồng thông qua đề cương, hội đồng chấm luận văn đã cho tôi nhiều ý kiến quý giá trong quá trình hoàn thiện luận văn này

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

Tôi xin trân trọng cảm ơn !

Hà Nội, ngày tháng năm 2026

Học viên

Nguyễn Thị Phương Thảo

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Thị Phương Thảo, học viên cao học khóa 16 - Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam. Tôi xin cam đoan:

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

Hà Nội, ngày tháng năm 2026

Người viết cam đoan

Nguyễn Thị Phương Thảo

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Tổng quan về độc tính cấp.....	3
1.1.1. Định nghĩa	3
1.1.2. Mục tiêu.....	4
1.1.3. Động vật thực nghiệm	4
1.1.4. Mức liều thử và cách dùng thuốc	4
1.1.5. Một số mô hình gây độc tính cấp	5
1.2. Tổng quan về viêm.....	5
1.2.1. Định nghĩa	5
1.2.2. Cơ chế bệnh sinh	6
1.2.3. Chẩn đoán và điều trị.....	8
1.3. Tổng quan về dị ứng	9
1.3.1. Định nghĩa	9
1.3.2. Cơ chế bệnh sinh	9
1.3.3. Chẩn đoán và điều trị.....	11
1.4. Tổng quan về viêm da cơ địa theo y học hiện đại và y học cổ truyền.....	12
1.4.1. Viêm da cơ địa theo y học hiện đại	12
1.4.2. Viêm da cơ địa theo y học cổ truyền	19
1.5. Một số mô hình trên thực nghiệm.....	21
1.5.1. Mô hình gây viêm cấp tính trên thực nghiệm	21
1.5.2. Mô hình gây viêm mạn tính trên thực nghiệm	22
1.5.3. Mô hình gây ngứa trên thực nghiệm.....	22
1.6. Tổng quan về cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	23
1.6.1. Xuất xứ cao lỏng	23
1.6.2. Căn cứ lựa chọn phương thuốc	24
1.6.3. Phân tích bài thuốc theo quân, thần, tá, sứ	24
1.7. Tình hình nghiên cứu viêm da cơ địa	25

1.7.1. Tại Việt Nam.....	25
1.7.2. Trên thế giới.....	26
1.8. Tổng quan về quy trình sản xuất, tiêu chuẩn cơ sở của cao thuốc	27
1.8.1. Tổng quan về tiêu chuẩn cơ sở.....	27
1.8.2. Phương thức xây dựng tiêu chuẩn cơ sở.....	27
1.8.3. Phương pháp xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao thuốc	28
1.9. Tổng quan về thuốc sử dụng đối chứng trong nghiên cứu	28
1.9.1. Diclofenac.....	28
1.9.2. Prednisolon	29
1.9.3. Loratadin.....	30
Chương 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU...	31
2.1. Chất liệu nghiên cứu	31
2.2. Đối tượng nghiên cứu	33
2.2.1. Đối tượng nghiên cứu	33
2.2.2. Tiêu chuẩn lựa chọn và điều kiện nuôi dưỡng động vật thí nghiệm.	34
2.3. Phương tiện, máy móc, hóa chất trong nghiên cứu	35
2.3.1. Thuốc và hoá chất dùng trong nghiên cứu	35
2.3.2. Máy móc và dụng cụ phục vụ nghiên cứu	36
2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu	38
2.5. Phương pháp, chỉ tiêu nghiên cứu	38
2.5.1. Nghiên cứu quy trình bào chế, tiêu chuẩn cơ sở của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên thực nghiệm.....	38
2.5.2. Đánh giá độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên thực nghiệm.....	39
2.5.3. Đánh giá tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên thực nghiệm	41
2.6. Phương pháp xử lý dữ liệu trong nghiên cứu	44
2.7. Phân tích sai số và biện pháp giảm thiểu	44
2.8. Đạo đức trong nghiên cứu.....	45

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	46
3.1. Kết quả nghiên cứu bào chế, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và đánh giá tác độ tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	46
3.1.1. Kết quả nghiên cứu bào chế cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	46
3.1.2. Kết quả xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	50
3.1.3. Kết quả đánh giá độ tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”.	55
3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độ dưỡng phu” trên thực nghiệm.	57
3.2.1. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	57
3.2.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	61
Chương 4: BÀN LUẬN	64
4.1. Bàn luận về quy trình bào chế, tiêu chuẩn cơ sở và độ tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	64
4.1.1. Về quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao lỏng “Tiêu độ dưỡng phu”	64
4.1.2. Bàn luận về độ tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	67
4.2. Bàn luận tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độ dưỡng phu” trên thực nghiệm.	69
4.2.1. Bàn luận tác dụng chống viêm của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”	69
4.2.2. Bàn luận tác dụng chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” ..	75
KẾT LUẬN.....	79
KHUYẾN NGHỊ.....	81
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng anh	Tiếng việt
$\bar{X}$	mean	Giá trị trung bình
AAD	Atopic dermatitis	Hội da liễu Hoa Kỳ
ĐĐVN	Vietnamese Pharmacopoeia	Dược điển Việt Nam
FLG	Filaggrin gene	Gen filaggrin
Ig	Immuno globulin	Globulin miễn dịch
SD	Standard Deviation	Độ lệch chuẩn
TCCS	In-house standard	Tiêu chuẩn cơ sở
Th	Helper T lymphocyte	Lympho T hỗ trợ
TLR	Toll-like receptors	Thụ thể Toll- like
TT	Reagent	Thuốc thử
VDCĐ	Atopic dermatitis	Viêm da cơ địa
YHCT	Traditional medicine	Y học cổ truyền
YHHĐ	Modern medicine	Y học hiện đại

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1.	Thành phần bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phụ”.....	31
Bảng 2.2.	Số lượng động vật nghiên cứu	35
Bảng 3.1.	Ảnh hưởng của kích thước dược liệu	46
Bảng 3.2.	Khối lượng cao thu được từ các lần chiết ở các thời gian chiết khác nhau	47
Bảng 3.3.	Bảng hiệu suất chiết suất cao.....	48
Bảng 3.4.	Hiệu suất chiết xuất quy mô 10 thang thuốc	50
Bảng 3.5.	Kết quả kiểm tra giới hạn nhiễm khuẩn cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”	54
Bảng 3.6.	Kết quả thử nghiệm thăm dò liều ban đầu.....	55
Bảng 3.7.	Kết quả về tình trạng của chuột	56
Bảng 3.8.	Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô sau khi uống mẫu thử ..	57
Bảng 3.9.	Thể tích bàn chân gây viêm của chuột nghiên cứu.....	57
Bảng 3.10.	Ảnh hưởng của mẫu thử tới tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân gây viêm của chuột ở các thời điểm sau gây viêm.....	58
Bảng 3.11.	Phần trăm ức chế phù viêm bàn chân chuột	59
Bảng 3.12.	Kết quả đánh giá trọng lượng u hạt tươi.....	59
Bảng 3.13.	Kết quả đánh giá trọng lượng u hạt khô	60
Bảng 3.14.	Ảnh hưởng của mẫu thử tới thời gian xuất hiện gãi	61
Bảng 3.15.	Ảnh hưởng của cao lỏng tới tổng số lần gãi	63

DANH MỤC SƠ ĐỒ, BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1.	Số lần gãi của các lô nghiên cứu đo được ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm Compound 48/80.	62
--------------	--	----

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 2.1.	Chuột cống trắng thuần chủng Wistar	33
Hình 2.2.	Chuột nhắt trắng thuần chủng Swiss	34
Hình 2.3.	Kim cong đầu tù	37
Hình 2.4.	Máy quay cô chân không.....	37
Hình 2.5.	Máy đo thể tích bàn chân chuột.....	37
Hình 2.6.	Cân phân tích 10^{-4}	37
Hình 3.1.	Quy trình bào chế cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”	49
Hình 3.2.	Sắc ký đồ lớp mỏng định tính Phòng phong	51
Hình 3.3.	Sắc ký đồ lớp mỏng định tính Ngưu bàng tử	52
Hình 3.4.	Sắc ký đồ lớp mỏng định tính Thương truật.....	54

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm và dị ứng là các vấn đề sức khỏe phổ biến, có xu hướng gia tăng do ảnh hưởng từ môi trường. Viêm có thể dẫn đến tổn thương mô và phát triển các bệnh mạn tính [1]. Dị ứng là một dạng đáp ứng miễn dịch quá mức với các tác nhân gây bệnh [2]. Có nhiều bệnh lý liên quan đến viêm, dị ứng, điển hình là viêm da cơ địa. Viêm da cơ địa (Atopic dermatitis, VDCĐ) là bệnh mạn tính thường tái phát và tiến triển từng đợt [3] với biểu hiện của viêm và dị ứng. Những triệu chứng của VDCĐ như ngứa, xung huyết, tuy không gây nguy hiểm đến tính mạng nhưng gây cảm giác khó chịu, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của người bệnh [4].

Trên thế giới, tỉ lệ mắc bệnh VDCĐ có triệu chứng của viêm và dị ứng ngày càng tăng, gấp 2 đến 3 lần ở các quốc gia công nghiệp hóa, với khoảng 15% đến 20% trẻ em và 1% đến 3% người lớn bị ảnh hưởng [5],[6]. Trong số những trẻ mắc VDCĐ, có 38,3% tái phát từng đợt và 18,7% có các triệu chứng dai dẳng [7]. Tại Việt Nam, nghiên cứu ở Quận 1, thành phố Hồ Chí Minh tỷ lệ mắc VDCĐ là 15,3% ở trẻ sơ sinh dưới 5 tuổi [8]. Với những tác động bất lợi đáng kể việc phòng ngừa, điều trị các triệu chứng viêm, dị ứng của bệnh VDCĐ lên người bệnh, việc phòng ngừa, điều trị và đề phòng đợt cấp tránh tái phát của bệnh là vấn đề quan trọng.

Nguyên nhân và cơ chế của bệnh rất phức tạp. Theo Y học hiện đại (YHHĐ), cơ chế gây bệnh liên quan đến nhiều yếu tố như di truyền, môi trường, rối loạn chức năng hàng rào da và phản ứng miễn dịch bất thường. Việc điều trị hiện nay chủ yếu nhằm kiểm soát triệu chứng bằng các thuốc kháng histamin và corticosteroid tại chỗ; tuy nhiên, hiệu quả lâu dài còn hạn chế và tỉ lệ tái phát cao khi dừng thuốc. Vì vậy, việc tìm kiếm các biện pháp điều trị bổ trợ có hiệu quả bền vững nguồn gốc từ dược liệu ngày càng được quan tâm.

Theo lý luận y học cổ truyền, các biểu hiện của VDCĐ liên quan đến phong, thấp, nhiệt làm khí huyết vận hành trở trệ, chính khí suy giảm, hình thành tình trạng bản hư tiêu thực. Nguyên tắc điều trị là vừa khu trừ tà khí, vừa điều hòa khí huyết nhằm cải thiện triệu chứng và hạn chế tái phát. Hiện nay có rất nhiều tác giả trên thế

giới và Việt Nam nghiên cứu về vấn đề này cho thấy xu thế sử dụng các chế phẩm có nguồn gốc YHCT đang tăng lên [9].

Bài thuốc cổ phương “Tiêu phong tán” từ lâu đời được sử dụng điều trị ban chẩn và ngứa trong chứng phong chẩn trên lâm sàng dưới dạng thuốc sắc đạt kết quả khả quan [10]. Vì vậy dựa vào yhct chúng tôi gia giảm và cải dạng bài thuốc dưới dạng bài thuốc thành cao lỏng Tiêu độc dưỡng phu với mong muốn mang lại sự thuận tiện, bảo quản tốt hơn, sử dụng đúng liều lượng. Tuy nhiên, độ an toàn và hiệu quả chống viêm, chống dị ứng của chế phẩm này chưa được nghiên cứu một cách hệ thống và đầy đủ trong điều kiện thực nghiệm.

Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: **Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên thực nghiệm.** Với hai mục tiêu:

1. Nghiên cứu quy trình bào chế, tiêu chuẩn cơ sở và đánh giá độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên thực nghiệm.

2. Đánh giá tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên thực nghiệm.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về độc tính cấp

1.1.1. Định nghĩa

Độc tính (toxicity) của thuốc là đặc tính được biểu hiện thông qua các tác dụng không mong muốn, có hại đối với cơ thể. Các biểu hiện độc tính có thể ở mức độ nhẹ như buồn nôn, mẩn ngứa, thay đổi vận động hoặc hành vi; nhưng cũng có thể ở mức độ nặng, thậm chí đe dọa tính mạng hoặc gây tử vong.

Độc tính cấp (acute toxicity) của thuốc là độc tính xuất hiện sau khi sử dụng thuốc một lần hoặc vài lần trong vòng 24 giờ. Nghiên cứu độc tính cấp của thuốc trên động vật thực nghiệm nhằm đánh giá mức độ an toàn ban đầu của thuốc và đặc biệt là xác định liều gây tử vong trung bình (mean lethal dose), tức là liều lượng làm chết 50% số động vật thí nghiệm trong những điều kiện xác định, được ký hiệu là LD₅₀ (lethal dose 50%) [11], [12].

* Một số khái niệm liên quan trong nghiên cứu độc tính cấp

Liều chết (LD – lethal dose): Là liều thuốc gây chết động vật thí nghiệm. Khái niệm này chỉ áp dụng trong nghiên cứu trên động vật, không áp dụng cho người.

Liều chết tuyệt đối (ALD – absolute lethal dose, hay LD₁₀₀): Là liều nhỏ nhất gây chết 100% số động vật thí nghiệm. Khi sử dụng liều cao hơn LD₁₀₀, tất cả động vật đều tử vong.

Liều chết trung bình (MLD – mean lethal dose, hay LD₅₀): Là liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm trong những điều kiện xác định.

Liều chết tối thiểu: Là liều thuốc khi thử nghiệm trên một lô động vật bắt đầu ghi nhận có động vật tử vong. Tùy theo số lượng động vật thử nghiệm, liều chết tối thiểu có thể được biểu thị dưới dạng LD₅, LD₁₀ hoặc LD₂₅.

Liều dưới liều chết (ILD – infralethal dose), hay liều dung nạp tối đa (MTD – maximum tolerated dose): Là liều lớn nhất không gây chết động vật thí nghiệm, thường được ký hiệu là LD₀. Ở liều này, động vật có thể xuất hiện các biểu hiện nhiễm độc ở mức độ nhẹ hoặc nặng, nhưng không tử vong.

Liều an toàn (NOAEL – No Observed Adverse Effect Level): Là mức liều cao nhất không gây ra bất kỳ tác dụng bất lợi nào có thể quan sát được trên động vật thí nghiệm, bao gồm các dấu hiệu ngộ độc điển hình và khả năng hồi phục (nếu có) [11].

1.1.2. Mục tiêu

Thử nghiệm độc tính cấp được tiến hành nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc phân loại mức độ độc của thuốc, hỗ trợ xử trí ngộ độc cấp, đồng thời làm căn cứ xác định khoảng liều an toàn cho các nghiên cứu độc tính bán trường diễn và mạn tính tiếp theo [13].

Cụ thể, các phép thử độc tính cấp cần xác định các thông số sau:

Liều an toàn

Liều dung nạp tối đa

Liều gây độc có thể quan sát được

Liều thấp nhất gây chết động vật thí nghiệm (nếu có)

Giá trị LD₅₀ gần đúng (nếu có thể xác định)

1.1.3. Động vật thực nghiệm

Thử nghiệm độc tính cấp thường được tiến hành trên ít nhất hai loài động vật có vú, trong đó có một loài không gặm nhấm; tuy nhiên, trong điều kiện cụ thể có thể chấp nhận thử nghiệm trên một loài động vật [11]. Các loài gặm nhấm thường sử dụng là chuột nhắt hoặc chuột cống, loài không gặm nhấm thường là chó hoặc khỉ. Trong nghiên cứu này, chuột nhắt được sử dụng làm động vật thực nghiệm.

Số lượng động vật được sử dụng theo nguyên tắc tối thiểu cần thiết, thường 3–5 con cho mỗi mức liều. Đường dùng thuốc trong thử nghiệm được lựa chọn tương tự đường dùng dự kiến trên người, bao gồm đường uống, đường tiêm hoặc đường hô hấp.

1.1.4. Mức liều thử và cách dùng thuốc

Mức liều thử được tính theo ml/kg thể trọng cho tất cả các lô. Đối với chuột nhắt trắng dùng đường uống, thể tích thích hợp là 0,2–0,5 ml/20 g, có thể tăng tối đa 0,8–1,0 ml/20 g; nếu dùng thể tích lớn nên chia làm nhiều lần để tránh ảnh hưởng cơ học lên dạ dày.

Khi dùng đường tiêm (tĩnh mạch, bắp, phúc mạc, dưới da), đường dùng được lựa chọn tương tự đường dự kiến trên người; dung dịch tiêm cần đảm bảo vô trùng, pH phù hợp và làm ấm khoảng 37°C khi tiêm thể tích lớn.

Trong thử nghiệm độc tính cấp, thuốc thường dùng một lần. Dung môi hòa tan ưu tiên dùng nước cất; nếu thuốc không tan, đường uống dùng hỗn dịch đồng nhất, đường tiêm dùng dung môi dự kiến cho người [11].

1.1.5. Một số mô hình gây độc tính cấp

- *Mô hình Litchfield – Wilcoxon:*

Động vật thường dùng là chuột nhắt trắng, cả hai giống, khỏe mạnh. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi dùng thuốc, uống nước tự do. Thuốc được cho uống theo các mức liều tăng dần, từ liều cao nhất không gây chết đến liều thấp nhất gây chết 100% và các liều trung gian, số chuột chết ở các liều trung gian (nếu có), ghi nhận số chuột chết ở từng liều để xác định LD₅₀. Đây là mô hình được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu trong và ngoài nước và được áp dụng trong nghiên cứu này [14].

- *Mô hình thử Tăng – Giảm*

Thực hiện thử nghiệm bằng cách áp dụng các liều theo thứ tự, mỗi liều được đưa vào một thời điểm, và giữa các liều phải có khoảng thời gian ít nhất là 48 giờ. Đối với động vật đầu tiên, liều thấp nhất được thử nghiệm gần với liều LD₅₀ được ước tính [15]; nếu động vật sống thì tăng liều 3,2 lần, nếu chết thì giảm liều 3,2 lần cho con tiếp theo. Quan sát tình trạng của từng động vật để quyết định liều thử tiếp theo [14].

- *Mô hình phân loại độc*

Thử nghiệm theo quy trình bậc thang, mỗi bước sử dụng 3 con cùng giới. Tùy thuộc động vật có chết hay không trong một bước thử mà xác định cho bước thử tiếp theo, như không cần thử thêm nữa, hoặc thử thêm 3 con nữa với cùng mức liều đó hoặc thử thêm trên 3 con nữa ở mức liều cao hơn hoặc thấp hơn [15]

1.2. Tổng quan về viêm

1.2.1. Định nghĩa

Viêm là một phản ứng sinh lý của cơ thể đối với các yếu tố gây hại như vi khuẩn, virus, chấn thương, hoặc các yếu tố hóa học. Mục tiêu của viêm là bảo vệ cơ

thể và tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lành vết thương. Tuy nhiên, khi phản ứng viêm trở nên quá mức hoặc kéo dài, nó có thể dẫn đến các bệnh lý mãn tính và tổn thương mô [1].

1.2.2. Cơ chế bệnh sinh

Viêm là một phản ứng sinh lý, bệnh lý phức tạp của cơ thể, có sự tham gia của các tế bào miễn dịch cùng các chất trung gian hóa học, nhằm bảo vệ cơ thể trước các tác nhân gây hại. Dựa theo diễn tiến và đặc điểm tổn thương, viêm được phân thành hai thể chính là viêm cấp tính và viêm mạn tính [16].

- Nguyên nhân gây viêm được chia thành hai nhóm chính:

Nguyên nhân bên ngoài: Bao gồm vi khuẩn (tác nhân thường gặp nhất), các yếu tố vật lý, hóa học, cơ học và các yếu tố sinh học (như phản ứng miễn dịch giữa kháng nguyên và kháng thể).

Nguyên nhân bên trong: Bao gồm tình trạng hoại tử tổ chức do nghẽn mạch, xuất huyết, viêm tắc động mạch, các rối loạn thần kinh dinh dưỡng và các bệnh tự miễn [16].

- Viêm cấp

Viêm cấp là phản ứng bảo vệ sinh lý của cơ thể trước các tác nhân gây tổn thương như vi sinh vật, yếu tố vật lý, hóa học hoặc các sản phẩm hoại tử mô. Phản ứng này khởi phát nhanh, diễn tiến trong thời gian ngắn và đặc trưng bởi các biến đổi sớm của vi tuần hoàn, sự tham gia của nhiều loại tế bào viêm và các hệ thống protein huyết tương.

Những biến đổi chủ yếu trong viêm

Tại ổ viêm, có ba biến đổi chủ yếu gồm: rối loạn tuần hoàn, rối loạn chuyển hóa và tổn thương mô kèm tăng sinh tế bào. Việc phân chia này mang tính tương đối nhằm thuận tiện cho nghiên cứu; trên thực tế, các biến đổi này xảy ra đồng thời và liên quan chặt chẽ với nhau.

Khi ổ viêm lan rộng hoặc phản ứng viêm mạnh, có thể xuất hiện các biến đổi toàn thân do các yếu tố từ ổ viêm đi vào máu (chất gây sốt, sản phẩm chuyển hóa acid) và đáp ứng chung của cơ thể như tăng bạch cầu và tăng hoạt động miễn dịch.

+ Rối loạn tuần hoàn tại ổ viêm

Rối loạn tuần hoàn là biến đổi xuất hiện sớm nhất trong viêm, xảy ra ngay sau khi tác nhân gây viêm tác động. Theo Conheim, rối loạn tuần hoàn tại ổ viêm bao gồm bốn hiện tượng chính: rối loạn vận mạch, hình thành dịch rỉ viêm, bạch cầu xuyên mạch và thực bào.

Ban đầu xảy ra co mạch thoáng qua, tiếp theo là sung huyết động mạch do tác động của các chất trung gian viêm như histamin, prostaglandin, leukotrien và nitric oxide. Sung huyết động mạch giúp tăng cung cấp oxy và dưỡng chất cho tế bào viêm, tạo điều kiện thuận lợi cho thực bào. Khi quá trình viêm kéo dài, sung huyết tĩnh mạch và ứ máu xuất hiện, góp phần cô lập ổ viêm và chuẩn bị cho quá trình sửa chữa mô.

+ Dịch rỉ viêm

Dịch rỉ viêm được hình thành do tăng áp lực thủy tĩnh, tăng tính thấm thành mạch và tăng áp lực thẩm thấu tại ổ viêm. Dịch rỉ có hàm lượng protein cao, giàu tế bào viêm và các chất trung gian sinh học.

Thành phần dịch rỉ bao gồm các protein huyết tương (albumin, globulin, fibrinogen), bạch cầu và các chất trung gian viêm như histamin, bradykinin, prostaglandin, leukotrien và cytokin. Dịch rỉ có vai trò bảo vệ, nhưng khi tích tụ quá nhiều có thể gây chèn ép mô và rối loạn chức năng cơ quan.

+ Bạch cầu xuyên mạch và thực bào

Khi thành mạch tăng tính thấm, bạch cầu di chuyển ra khỏi lòng mạch nhờ các phân tử bám dính và chất hóa ứng động, sau đó xuyên mạch đến ổ viêm. Trong viêm cấp, bạch cầu trung tính chiếm ưu thế sớm, tiếp theo là đại thực bào và lympho bào.

Thực bào là quá trình bạch cầu bắt giữ và tiêu hủy tác nhân gây viêm thông qua cơ chế không phụ thuộc oxy và phụ thuộc oxy. Quá trình này góp phần loại bỏ yếu tố gây viêm nhưng cũng có thể gây tổn thương mô nếu diễn ra quá mức.

+ Tổn thương mô

Tại ổ viêm, tổn thương mô gồm tổn thương tiên phát do tác nhân gây viêm trực tiếp gây ra và tổn thương thứ phát do các rối loạn viêm kéo dài như thiếu oxy, enzyme và chất trung gian viêm. Tổn thương thứ phát thường chiếm ưu thế và có thể làm lan rộng mức độ tổn thương.

+ Tăng sinh tế bào và lành vết thương

Khi phản ứng viêm giảm dần, quá trình sửa chữa mô được khởi phát. Nếu cấu trúc mô còn bảo tồn, tế bào nhu mô có thể tái sinh; trong trường hợp tổn thương nặng, mô xơ sẽ thay thế tổ chức bị phá hủy. Nguyên bào sợi và hiện tượng tân tạo mạch đóng vai trò trung tâm trong quá trình này [16].

- Viêm mạn tính

Viêm mạn tính thường hình thành khi phản ứng viêm cấp không được giải quyết triệt để hoặc khi tác nhân gây viêm tồn tại kéo dài trong cơ thể. Trong những trường hợp này, quá trình viêm không còn mang tính đáp ứng cấp tính mà chuyển sang trạng thái viêm kéo dài, tiến triển âm thầm, với các dấu hiệu sưng, nóng, đỏ, đau không rõ rệt. Đặc điểm mô bệnh học nổi bật của viêm mạn tính là sự xâm nhập chủ yếu của lympho bào và đại thực bào, kèm theo tình trạng phá hủy mô và tăng sinh mô liên kết dẫn đến xơ hóa.

Cơ chế bệnh sinh của viêm mạn liên quan đến sự hoạt hóa kéo dài của các tế bào viêm, đặc biệt là đại thực bào và lympho bào, làm duy trì sản xuất các cytokine tiền viêm như TNF- α và IL-6. Sự tồn tại dai dẳng của các chất trung gian này không chỉ gây tổn thương mô tại chỗ mà còn ảnh hưởng đến chức năng cơ quan, dẫn đến hậu quả lâu dài như hình thành sẹo xơ hoặc suy giảm chức năng không hồi phục. Viêm mạn tính có thể gặp trong nhiều bệnh lý như nhiễm trùng kéo dài, bệnh tự miễn hoặc do tác động lâu dài của các yếu tố môi trường và được xem là cơ chế bệnh sinh nền tảng của nhiều bệnh mạn tính nghiêm trọng, bao gồm bệnh tim mạch, viêm khớp dạng thấp và các bệnh lý đường tiêu hóa [17].

1.2.3. Chẩn đoán và điều trị

Các dấu hiệu điển hình của viêm bao gồm đỏ (do tăng lưu lượng máu), sưng (do tăng thẩm thấu và tích tụ dịch trong mô), nóng (do tăng nhiệt độ tại khu vực viêm), đau (do kích thích các đầu dây thần kinh) và mất chức năng tại vùng viêm [18]. Những triệu chứng này là kết quả của việc tăng cường các quá trình sinh hóa và tế bào nhằm loại bỏ các yếu tố gây hại và sửa chữa mô tổn thương.

Chẩn đoán viêm chủ yếu dựa trên sự phối hợp giữa biểu hiện lâm sàng, các xét nghiệm cận lâm sàng và chẩn đoán hình ảnh. Trong đó, các xét nghiệm máu

thường được sử dụng gồm tốc độ lắng máu (Erythrocyte Sedimentation Rate – ESR) và protein C phản ứng (C-reactive protein – CRP), phản ánh mức độ hoạt hóa của phản ứng viêm. Bên cạnh đó, các phương tiện chẩn đoán hình ảnh như siêu âm và chụp cắt lớp vi tính (Computed Tomography – CT scan) có vai trò hỗ trợ đánh giá vị trí, mức độ và phạm vi tổn thương viêm.

Điều trị viêm chủ yếu dựa vào các nhóm thuốc chống viêm và điều trị nguyên nhân:

Thuốc kháng viêm không steroid (Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs - NSAIDs) có tác dụng ức chế tổng hợp prostaglandin, giúp giảm đau, hạ sốt và chống viêm trong các trường hợp viêm nhẹ đến trung bình.

Corticosteroid được sử dụng trong các trường hợp viêm nặng hoặc viêm mạn tính, có tác dụng ức chế mạnh phản ứng viêm và miễn dịch; tuy nhiên, việc sử dụng kéo dài cần thận trọng do nguy cơ tác dụng không mong muốn [19].

Kháng sinh hoặc các thuốc điều trị đặc hiệu được chỉ định khi viêm có nguyên nhân nhiễm trùng.

Bên cạnh đó, các biện pháp hỗ trợ như nghỉ ngơi, vật lý trị liệu và chăm sóc dinh dưỡng hợp lý cũng đóng vai trò quan trọng trong quá trình hồi phục.

1.3. Tổng quan về dị ứng

1.3.1. Định nghĩa

Dị ứng là một phản ứng quá mức của hệ thống miễn dịch đối với các chất lạ không gây hại, gọi là dị nguyên. Những dị nguyên này có thể là phấn hoa, bụi, thực phẩm, thuốc, động vật hoặc các yếu tố môi trường khác. Mặc dù các chất này không gây hại cho cơ thể, hệ thống miễn dịch lại nhận diện chúng như một mối đe dọa và phản ứng thái quá, dẫn đến các triệu chứng dị ứng. Phản ứng dị ứng có thể biểu hiện ở nhiều mức độ từ nhẹ như hắt hơi, ngứa, đến những biểu hiện nặng như sốc phản vệ có thể gây nguy hiểm đến tính mạng nếu không được điều trị kịp thời [2].

1.3.2. Cơ chế bệnh sinh

Dị ứng là một dạng đáp ứng miễn dịch quá mẫn của cơ thể đối với các dị nguyên ngoại lai, trong đó cơ chế thường gặp nhất là quá mẫn typ I qua trung gian

IgE. Quá trình dị ứng là kết quả của sự phối hợp phức tạp giữa hệ miễn dịch dịch thể, miễn dịch tế bào và các chất trung gian hóa học, với vai trò trung tâm của tế bào mast (mast cell) và bạch cầu ái kiềm (basophil).

Ở giai đoạn mẫn cảm (sensitization phase), khi cơ thể lần đầu tiếp xúc với dị nguyên (như phấn hoa, bụi nhà, thức ăn, thuốc...), dị nguyên được các tế bào trình diện kháng nguyên (đặc biệt là tế bào tua – dendritic cell) bắt giữ và trình diện cho tế bào lympho T hỗ trợ (Th). Dưới tác động của các cytokine đặc hiệu, đặc biệt là IL-4 và IL-13, tế bào Th biệt hóa theo hướng Th2, kích thích tế bào lympho B chuyển lớp kháng thể và sản xuất IgE đặc hiệu với dị nguyên. Các IgE này nhanh chóng gắn vào thụ thể có ái lực cao FcεRI trên bề mặt tế bào mast và basophil, tạo nên trạng thái mẫn cảm của cơ thể đối với dị nguyên đó [20], [21].

Khi cơ thể tái tiếp xúc với cùng dị nguyên, dị nguyên sẽ gắn đồng thời với nhiều phân tử IgE đã cố định trên bề mặt tế bào mast và basophil, gây hiện tượng bắt chéo IgE. Quá trình này dẫn đến hoạt hóa tế bào và khởi phát hiện tượng phóng thích hạt (degranulation), giải phóng hàng loạt chất trung gian hóa học tiền tạo và mới tạo.

Các chất trung gian được giải phóng gồm:

Histamine: gây giãn mạch, tăng tính thấm thành mạch, kích thích đầu mút thần kinh cảm giác gây ngứa, đồng thời gây co thắt cơ trơn phế quản và đường tiêu hóa.

Serotonin và heparin: góp phần vào rối loạn vận mạch và đáp ứng viêm tại chỗ.

Leukotriene (LTC₄, LTD₄, LTE₄) và prostaglandin (đặc biệt PGD₂): có tác dụng co thắt cơ trơn mạnh và kéo dài, tăng tiết nhầy, duy trì phản ứng viêm dị ứng.

Các cytokine và chemokine (IL-4, IL-5, IL-6, TNF-α...): thu hút và hoạt hóa bạch cầu ái toan, lympho và các tế bào viêm khác, góp phần hình thành pha muộn của phản ứng dị ứng [22],[23].

Phản ứng dị ứng thường diễn ra qua hai giai đoạn. Pha sớm xuất hiện trong vòng vài phút sau khi tiếp xúc dị nguyên, chủ yếu do tác động của histamine và các chất trung gian tiền tạo, biểu hiện bằng ngứa, ban đỏ, phù nề, chảy mũi, co thắt phế quản. Pha muộn xuất hiện sau vài giờ, liên quan đến sự xâm nhập của các tế bào viêm như bạch cầu ái toan, đại thực bào và lympho T, dẫn đến tình trạng viêm kéo dài, tổn thương mô và làm bệnh dễ tái phát [24].

Như vậy, cơ chế sinh lý của dị ứng không chỉ đơn thuần là phản ứng tức thời qua trung gian IgE, mà còn là một quá trình viêm miễn dịch phức tạp, có sự tham gia của nhiều loại tế bào và chất trung gian. Việc hiểu rõ cơ chế này là cơ sở khoa học quan trọng cho các chiến lược điều trị hiện nay, bao gồm thuốc kháng histamine, corticosteroid, thuốc ổn định màng tế bào mast và các liệu pháp sinh học nhắm trúng đích IgE hoặc cytokine Th2.

1.3.3. Chẩn đoán và điều trị

1.3.3.1. Chẩn đoán

a. Chẩn đoán lâm sàng

Bệnh dị ứng là nhóm bệnh lý thường gặp, phát sinh do đáp ứng miễn dịch quá mẫn của cơ thể đối với các dị nguyên từ môi trường, thức ăn, thuốc hoặc các yếu tố tiếp xúc khác. Trên lâm sàng, bệnh dị ứng có thể biểu hiện ở nhiều cơ quan, trong đó thường gặp nhất là dị ứng hô hấp, dị ứng da và dị ứng thực phẩm.

Các biểu hiện lâm sàng của bệnh dị ứng thường đa dạng, bao gồm ngứa, ban đỏ, mày đay, phù mạch, viêm da mạn tính tái phát, hắt hơi, chảy nước mũi, khò khè, khó thở hoặc rối loạn tiêu hóa. Đặc điểm chung là triệu chứng thường xuất hiện hoặc nặng lên sau khi tiếp xúc với dị nguyên và có xu hướng tái phát [25],[26].

Chẩn đoán dị ứng chủ yếu dựa vào khai thác bệnh sử chi tiết, đặc biệt là tiền sử tiếp xúc với dị nguyên, yếu tố khởi phát, tiền sử dị ứng cá nhân và gia đình, kết hợp với khám lâm sàng nhằm xác định loại hình dị ứng và mức độ bệnh.

b. Cận lâm sàng

Một số xét nghiệm và test dị ứng có thể được sử dụng để hỗ trợ chẩn đoán và xác định dị nguyên gây bệnh, bao gồm:

Test áp da (patch test): thường áp dụng trong chẩn đoán viêm da tiếp xúc dị ứng.

Test lấy da (skin prick test) hoặc định lượng IgE đặc hiệu: giúp xác định dị nguyên trong dị ứng hô hấp và dị ứng thực phẩm.

Các xét nghiệm cận lâm sàng khác được chỉ định tùy theo biểu hiện lâm sàng cụ thể và mức độ bệnh [27].

1.3.3.2. Điều trị bệnh dị ứng

Nguyên tắc điều trị bệnh dị ứng nhằm loại bỏ hoặc hạn chế tiếp xúc với dị nguyên, kiểm soát phản ứng viêm dị ứng và giảm triệu chứng, đồng thời phòng ngừa tái phát.

a. Điều trị không dùng thuốc

Tránh hoặc hạn chế tối đa tiếp xúc với dị nguyên đã được xác định.

Giáo dục người bệnh nhận biết yếu tố khởi phát và cách phòng tránh.

Đối với dị ứng da, việc chăm sóc và phục hồi hàng rào bảo vệ da bằng các chất dưỡng ẩm đóng vai trò quan trọng, đặc biệt trong viêm da cơ địa mạn tính [28].

b. Điều trị bằng thuốc

Các thuốc thường được sử dụng trong điều trị dị ứng bao gồm:

Thuốc kháng histamin: là nhóm thuốc nền tảng, giúp giảm ngứa, mề đay và các triệu chứng dị ứng.

Corticosteroid: dùng tại chỗ hoặc toàn thân trong các trường hợp bệnh mức độ trung bình đến nặng nhằm kiểm soát phản ứng viêm.

Một số thuốc khác như thuốc ổn định màng tế bào mast, thuốc ức chế leukotriene hoặc thuốc giãn phế quản được chỉ định tùy theo thể bệnh và mức độ nặng [28].

1.4. Tổng quan về viêm da cơ địa theo y học hiện đại và y học cổ truyền

1.4.1. Viêm da cơ địa theo y học hiện đại

1.4.1.1. Định nghĩa

Viêm da cơ địa là bệnh mạn tính tiến triển từng đợt, thường bắt đầu ở trẻ nhỏ với đặc điểm là ngứa và có tổn thương dạng chàm. Bệnh thường xuất hiện ở những cá thể có tiền sử bản thân hay gia đình mắc các bệnh có yếu tố dị ứng như: hen, viêm mũi xoang dị ứng, sẩn ngứa, dị ứng thuốc, mề đay [22].

1.4.1.2. Dịch tễ học

Trên thế giới tỷ lệ mắc bệnh VDCĐ, đã tăng gấp 2 đến 3 lần ở các quốc gia công nghiệp hóa, với khoảng 15% đến 20% trẻ em và 1% đến 3% người lớn bị ảnh hưởng trên toàn thế giới [5],[6]. Các nghiên cứu dựa trên dân số tại Hoa Kỳ cho thấy tỷ lệ mắc bệnh là khoảng 10,7% đối với trẻ em và 7,2% đối với người lớn [26],[29].

Khoảng 20% trẻ em phát triển bệnh VDCĐ trước 2 tuổi sẽ có các triệu chứng bệnh dai dẳng; 17% sẽ có các triệu chứng không liên tục khi được 7 tuổi, chỉ có 16,8% người lớn mắc bệnh VDCĐ khởi phát sau tuổi vị thành niên [30],[31]. Một nghiên cứu theo dõi triển vọng năm 2014 về trẻ em mắc bệnh VDCĐ từ nhẹ đến trung bình đã báo cáo rằng ở mọi lứa tuổi bao gồm cả độ tuổi lên đến 26 tuổi, 80% số người tham gia có ≥ 5 năm theo dõi vẫn tiếp tục có các triệu chứng hoặc tiếp tục sử dụng thuốc để điều trị bệnh VDCĐ [32].

Ở Việt Nam, chưa có thống kê về tỷ lệ mắc bệnh VDCĐ trong dân cư. Từ 1995 - 2000 tại Viện Da liễu Trung ương, VDCĐ chiếm 4,2% trong tổng số các bệnh da và chiếm 48,1% bệnh viêm da do nhiễm khuẩn, tiếp xúc và cơ địa; tỷ lệ VDCĐ so với 3 loại trên theo các năm là 38,7% (1995), 73,7% (1999), 63,5% (2000). Năm 2002, viêm da chiếm 33%, trong đó VDCĐ chiếm 73% [33].

1.4.1.3. Cơ chế bệnh sinh

Cơ chế sinh bệnh của VDCĐ là đa yếu tố. Hai yếu tố nguy cơ chính liên quan chặt chẽ đến sự phát triển của VDCĐ là tiền sử gia đình mắc bệnh dị ứng và đột biến gen filaggrin (*FLG*) [34]. Gen *FLG* cho phép hình thành profilaggrin, sau đó phân hủy thành các monome filaggrin. Việc thiếu các monome này làm tổn hại đến hàng rào biểu bì, cho phép các chất gây dị ứng, chất kích thích và vi khuẩn kích hoạt phản ứng miễn dịch quá mức [35].

Rối loạn miễn dịch: Mặc dù cơ chế bệnh sinh của viêm da cơ địa còn nhiều điều chưa rõ ràng, song nhiều tác giả cho rằng rối loạn điều hòa miễn dịch đóng một vai trò quan trọng trong tiến triển bệnh. Trong giai đoạn cấp tính có hiện tượng phù nề và thâm nhiễm nhiều tế bào trình diện kháng nguyên, tế bào Langerhans, đại thực bào ở thượng bì. Tại trung bì, giai đoạn này có sự hiện diện của lympho TCD4.

Giai đoạn mạn tính có sự tăng sinh tế bào sừng, thâm nhiễm tế bào Langerhans, tế bào mast, bạch cầu ưa acid. Bạch cầu đa nhân trung tính không có trừ khi có sự hiện diện của tụ cầu vùng gây bệnh.

Gia tăng các chất tiền viêm, hóa ứng động, cytokin. Trong giai đoạn cấp tính vai trò của lympho T hỗ trợ (Th_2) chiếm ưu thế và nó sản xuất các chất IL4, IL5, IL6, IL 13 (liên quan tới đáp ứng miễn dịch dịch thể). Trong khi đó ở giai đoạn mạn tính vai trò của Th_1 rất quan trọng với việc tiết ra các chất IL2, IFN-a (liên quan tới miễn dịch trung gian tế bào).

Cả Th₁ và Th₂ đều gia tăng trong bệnh viêm da cơ địa, kích thích lympho B sản xuất IgE. IgE gắn trên bề mặt các tế bào Mast. Các chất hóa học trung gian từ các tế bào Mast (Histamin là chủ yếu) sẽ được giải phóng khi có phản ứng viêm và gây ngứa [36].

Bệnh nhân VDCĐ có hàng rào da bị khiếm khuyết dễ bị khô da và các chất gây kích ứng và dị ứng từ môi trường dẫn đến viêm, ngứa và các triệu chứng lâm sàng điển hình của VDCĐ. Việc gãi da cũng kích thích các tế bào sừng giải phóng các cytokine gây viêm như TNF-alpha, IL-1 và IL-6. Giảm peptide kháng khuẩn (beta-defensin ở người, cathelicidin) trong lớp biểu bì của bệnh nhân dị ứng cũng góp phần vào sự xâm nhập của tụ cầu vàng được thấy ở hơn 90% bệnh nhân viêm da dị ứng. *S. aureus* có thể làm trầm trọng thêm tình trạng viêm của các tổn thương VDCĐ và dẫn đến nhiễm trùng thứ phát [37],[38].

Một số yếu tố có liên quan tới sự xuất hiện bệnh hoặc làm bệnh nặng lên đã được các nhà nghiên cứu đề cập từ lâu: yếu tố thần kinh, đặc biệt là stress, thay đổi thời tiết, khí hậu, dị ứng thức ăn, dị nguyên từ không khí, chất tẩy rửa, chất bảo quản...[39]

* Các tế bào đóng vai trò quan trọng

- Tế bào trình diện kháng nguyên (antigen - presenting cells)

Tế bào này đóng vai trò quan trọng trong việc phát hiện các dị nguyên thông qua các thụ thể nhận biết như Toll-like receptors (TLR).

Có 2 loại tế bào trình diện kháng nguyên: Dendritic cells (DCs) và Inflammatory dendritic epidermal cells (IDECs), chúng có vai trò trong việc trình diện các dị nguyên cho tế bào Th₂ sản xuất IL4.

- Lympho T

Đây là các tế bào có vai trò quan trọng trong sinh bệnh học của bệnh viêm da cơ địa, đặc biệt trong giai đoạn cấp tính. Thực nghiệm trên động vật không gây được các thương tổn eczema da nếu không có Lympho T.

Th₂ có vai trò trong giai đoạn cấp tính, còn Th₁ gây kích thích và hoạt hóa các tế bào sừng chết theo chương trình. Người ta cũng phát hiện T điều hòa miễn dịch (Treg) có chức năng ức chế sự đáp ứng của Th₁ và Th₂. Ngoài ra Th₁₇ sản xuất ra IL17 có vai trò quan trọng trong cơ chế viêm ở viêm da cơ địa cũng như bệnh vẩy nến.

- Các tế bào sừng: Các tế bào này cũng đóng vai trò cơ bản trong việc gia tăng viêm trong viêm da cơ địa.

***Vai trò của IgE**

Có tới 80% bệnh nhân viêm da cơ địa có nồng độ IgE trong máu cao. Sự tổng hợp quá mức IgE trong viêm da cơ địa liên quan tới “gen” cơ địa và rối loạn miễn dịch. Phản ứng viêm do IgE gây nên có hai pha: phản ứng tức thời do các dị nguyên gắn vào IgE gắn trên bề mặt các tế bào Mast làm chúng phóng thích các chất hóa học trung gian. Phản ứng muộn gây các triệu chứng và thương tổn mạn tính. Tuy nhiên, vai trò của IgE trong cơ chế bệnh sinh của viêm da cơ địa vẫn còn tiếp tục được bàn luận [36].

1.4.1.4. Chẩn đoán và điều trị

*** Chẩn đoán**

a. Lâm sàng

****Quá trình tiến triển lâm sàng qua 4 giai đoạn:***

- Giai đoạn đỏ da: ngứa nhiều, ban đỏ rải rác và phù lớp thượng bì.
- Giai đoạn hình thành các mụn nước.
- Giai đoạn rỉ nước và bội nhiễm gây ra tổn thương chốc lở.
- Giai đoạn đóng vảy: tiến triển lâu dài và hình thành mảng lichen hóa.

Bệnh viêm da cơ địa có các biểu hiện khác nhau tùy theo lứa tuổi

**** Viêm da cơ địa ở trẻ nhũ nhi***

+ Bệnh phát sớm khoảng 3 tuần sau sinh, thường cấp tính với các đám đỏ da, ngứa, sau đó xuất hiện nhiều mụn nước nông, dễ vỡ, xuất tiết và đóng vảy, có thể bội nhiễm, hạch lân cận sưng to.

+ Vị trí hay gặp nhất là 2 má, có thể ở da đầu, trán, cổ, thân mình, mặt dưới các chi. Khi trẻ biết bò có thể xuất hiện tổn thương ở đầu gối. Không thấy tổn thương ở vùng tả lót.

+ Trẻ có thể dị ứng với một số thức ăn như sữa, hải sản, thịt bò, thịt gà... Khi không ăn các thức ăn gây dị ứng thì bệnh viêm da cơ địa giảm rõ rệt.

+ Bệnh hay tái phát, mạn tính và rất nhạy cảm với các yếu tố như nhiễm trùng, mọc răng, tiêm chủng, thay đổi khí hậu hay môi trường sống.

+ Hầu hết bệnh sẽ tự khỏi khi trẻ được 18-24 tháng.

** Viêm da cơ địa ở trẻ em*

- + Thường từ viêm da cơ địa nhũ nhi chuyển sang.
- + Thương tổn là các sẩn đỏ, vết trợt, da dày, mụn nước khu trú hay lan toả cấp tính kèm theo nhiễm khuẩn thứ phát.
- + Vị trí hay gặp nhất là ở khoeo, nếp gấp khuỷu tay, mi mắt, hai bên cổ, cẳng tay, ở cổ có sạm da mạng lưới, ít khi ở mặt duỗi các chi.
- + Bệnh thường trở nên cấp tính khi trẻ tiếp xúc với lông súc vật, gia cầm, mặc đồ len, dạ...
- + Nếu tổn thương trên 50% diện tích da, trẻ thường suy dinh dưỡng.
- + 50% sẽ khỏi khi trẻ được 10 tuổi.

** Viêm da cơ địa ở thanh thiếu niên và người lớn*

- + Biểu hiện là mụn nước, sẩn đỏ dẹt, có vùng da mỏng trên mảng da dày, lichen hoá, ngứa.
- + Vị trí hay gặp: nếp gấp khuỷu, khoeo, cổ, rốn, vùng da quanh mắt đối với thanh thiếu niên. Khi bệnh lan toả thì vùng nặng nhất là các nếp gấp.
- + Viêm da lòng bàn tay, chân: gặp ở 20-80% người bệnh, là dấu hiệu đầu tiên của viêm da cơ địa ở người lớn.
- + Viêm da quanh mi mắt, chàm ở vú.
- + Tiến triển mạn tính, ảnh hưởng nhiều bởi các dị nguyên, môi trường, tâm sinh lý người bệnh.

** Các biểu hiện khác của viêm da cơ địa*

- + Khô da: do tăng mất nước qua biểu bì.
- + Dày da lòng bàn tay, bàn chân, dày sừng nang lông, lông mi thưa.
- + Viêm môi bong vảy.
- + Dấu hiệu ở mắt, quanh mắt: mi mắt dưới có thể có 2 nếp gấp, tăng sắc tố quanh mắt, viêm kết mạc tái diễn có thể gây lộn mi, có thể có đục thủy tinh thể.
- + Chứng da vẽ nổi trắng [25].

b. Cận lâm sàng:

- Tăng nồng độ IgE trong huyết thanh.
- Mô bệnh học: thượng bì có xốp bào xen kẽ với hiện tượng á sừng; trung bì có sự xâm nhập của bạch cầu lympho, mono, dưỡng bào, có hoặc không có các tế bào ái kiềm. Trường hợp lichen hoá có hiện tượng tăng sản thượng bì.

- Test lấy và test áp: để xác định dị nguyên [25].

c. Chẩn đoán xác định

Có rất nhiều tiêu chuẩn được đưa ra để chẩn đoán viêm da cơ địa. Dưới đây chúng tôi giới thiệu 1 tiêu chuẩn chính hay được sử dụng trong chẩn đoán viêm da cơ địa: Tiêu chuẩn chẩn đoán Hội Da liễu Hoa Kỳ 2003 (AAD) cập nhật 2014 [40].

Tiêu chuẩn chẩn đoán Hội Da liễu Hoa Kỳ 2003 cập nhật 2014

Tiêu chuẩn bắt buộc phải có	- Ngứa. - Thương tổn chàm (cấp, bán cấp, mạn tính): Tổn thương với hình thái điển hình theo từng độ tuổi, xuất hiện ở mặt, cổ, mặt duỗi chi ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ; hiện tại hoặc trước đó có sang thương ở vùng mặt gập có thể ở bất kỳ lứa tuổi nào. - Tiền căn bệnh mạn tính hoặc tái phát.
Tiêu chuẩn quan trọng: trong phần lớn các trường hợp và hỗ trợ chẩn đoán	- Tuổi khởi phát sớm ở lứa tuổi nhỏ - Có yếu tố cơ địa: Tiền sử cá nhân, gia đình bị dị ứng. - Phản ứng IgE tăng. - Khô da.
Tiêu chuẩn hỗ trợ: giúp gợi ý chẩn đoán nhưng không đặc hiệu	- Phản ứng mạch máu không điển hình (da vẽ nổi màu trắng,...). - Dày sừng nang lông/vảy phấn trắng lòng bàn tay nhiều đường kẽ/da vảy cá/ thay đổi mắt và quanh mắt. - Sang thương ở những khu vực khác (miệng, tai...). - Tăng sừng quanh nang lông/lichen hóa/sẩn ngứa.

1.4.1.5. Điều trị

a. Nguyên tắc điều trị

- Dùng thuốc chống khô da, dịu da.
- Chống nhiễm trùng.
- Chống viêm.
- Tư vấn cho người bệnh và gia đình biết cách điều trị và phòng bệnh.

b. Điều trị cụ thể

+ Corticoid được dùng nhiều trong điều trị viêm da cơ địa. Trẻ nhỏ dùng loại hoạt tính yếu như: hydrocortison 1-2,5%. Trẻ lớn và người lớn dùng loại có hoạt tính trung bình: desonid, clobetason butyrat. Với những tổn thương lichen hóa, vị trí da dày có thể dùng loại corticoid hoạt tính mạnh hơn như clobetasol propionat.

Lưu ý: với tổn thương vùng da mỏng, nhạy cảm như mặt dùng mỡ corticoid nhẹ hơn, ít ngày, còn vùng da dày, lichen hoá thì dùng loại mạnh hơn để giảm ngứa, giảm viêm. Cần tính để lượng thuốc bôi trong 1 tuần và giảm liều một cách từ từ, tránh tái phát.

+ Có thể dùng mỡ kháng sinh hoặc mỡ corticoid có thêm kháng sinh để chống nhiễm khuẩn.

+ Đắp dung dịch Jarish, thuốc tím 1/10.000, nước muối sinh lý 0,9%.

+ Làm ẩm da bằng urea 10%, petrolatum đối với vùng da khô.

+ Thuốc bột sừng bong vảy như mỡ salicyl 5%, 10%, mỡ goudron, ichthyol, crysophanic.

+ Thuốc ức chế miễn dịch tacrolimus nồng độ 0,03-0,1% rất hiệu quả đối với viêm da cơ địa, tuy nhiên thuốc đắt tiền và hay gặp kích ứng da trong thời gian đầu sử dụng, giãn mạch

+ Tắm hàng ngày bằng nước ấm với xà phòng có ít chất kiềm.

+ Sau khi tắm dùng các thuốc làm ẩm da [25].

1.4.1.6. Tiến triển và biến chứng

- Khoảng 70% trẻ bị viêm da cơ địa sẽ khỏi khi lớn lên. Còn lại 30% kéo dài dai dẳng.

- Khoảng 30-50% người bệnh viêm da cơ địa sẽ xuất hiện thêm các bệnh dị ứng khác như viêm mũi dị ứng, hen phế quản [25].

- Mắt: viêm kết mạc dày sừng trong viêm da cơ địa với các triệu chứng ngứa, cảm giác bỏng, chảy nước mắt, tiết dịch có thể ảnh hưởng tới thị lực.

- Nhiễm trùng: hay gặp nhất là nhiễm virus herpes (Eczema herpeticum). Tự cầu vàng có mặt trên da sẽ gây bệnh bất kỳ lúc nào nếu có điều kiện thuận lợi (suy dinh dưỡng, giảm miễn dịch, loét thương tổn).

- Viêm da bàn tay: đặc biệt đối với những người tiếp xúc với dầu mỡ, xà phòng, hóa chất.

- Trong một số trường hợp do bội nhiễm không được điều trị kịp thời có thể gây viêm cầu thận cấp [36].

1.4.2. Viêm da cơ địa theo y học cổ truyền

1.4.2.1. Bệnh danh

VDCĐ theo YHCT gọi là Thấp chẩn, Nga chẩn, Ban chẩn, Phong chẩn, Thạch sang, Thấp sang, Huyết phong sang [41].

1.4.2.2. Bệnh nguyên và bệnh cơ

Bệnh nguyên

Bất nội ngoại nhân: do bẩm thụ doanh huyết bất túc, biểu vệ không bền, phong nhiệt kiêm thấp uất nhân chỗ hư xâm phạm vào cơ phu gây vít lấp doanh vệ, chèn ép tẩu lý ở trong mà thành chẩn. Thấp uất làm khốn tỳ, lại do ăn uống đồ béo, ngọt, nướng, rán làm hại tỳ, làm tỳ không đảm nhận tốt chức năng vận hóa đồ ăn uống sinh thấp.

Nội nhân: một trạng thái tình chí như lo lắng, căng thẳng, kéo dài...có liên quan tới khởi phát viêm da cơ địa hoặc làm bệnh nặng lên.

Ngoại nhân: Phong, nhiệt, thấp tà kết hợp với nhau gây bệnh [10].

1.4.2.3. Phân thể và điều trị

+ *Thể thấp nhiệt*

Thể này thường gặp ở giai đoạn VDCĐ cấp tính.

Bệnh phát cấp, diễn biến ngắn. Tổn thương da đỏ và nóng, phù nề nhiều, xuất tiết nhiều. Tâm phiền, miệng khát, đại tiện táo, tiểu tiện ít và đỏ, rêu lưỡi vàng. Tình trạng này là do thấp nhiệt cùng thịnh, xâm phạm vào bì phu rồi gây nên bệnh.

Pháp điều trị: thanh nhiệt lợi thấp, lương huyết giải độc.

Bài thuốc Long đởm tả can thang gia giảm: Nhiệt thịnh: gia bạch mao căn, thạch cao; Nhiệt độc thịnh: gia đại thanh diệp; Đại tiện táo: gia đại hoàng.

Cũng có thể dùng Thanh nhiệt lợi thấp thang.

+ ***Thể tỳ hư thấp thịnh***

Thể này thường gặp ở giai đoạn VDCĐ bán cấp.

Bệnh kéo dài; tổn thương da thô và dày, có thể có xuất tiết nhẹ, thường có vảy da; miệng khát, đại tiện khô hoặc lỏng, chất lưỡi nhợt, lưỡi bệu, có ngán răng, rêu lưỡi trắng nhớt, mạch trầm hoãn hoặc hoạt. Tình trạng này là do tỳ hư, thấp thịnh làm cho bì phu không được nuôi dưỡng mà sinh bệnh.

Pháp điều trị: kiện tỳ, táo thấp, dưỡng huyết nhuận phu.

Bài thuốc: trừ thấp vị linh thang gia giảm: Thấp thịnh, xuất tiết nhiều thì gia: tỳ giải, xa tiền tử.

+ ***Thể huyết hư phong táo (tỳ hư huyết táo)***

Thể này thường gặp ở giai đoạn VDCĐ mạn tính.

Bệnh diễn biến mạn tính; tổn thương da dày, nứt nẻ, hay có vảy máu; chất lưỡi nhợt, rêu lưỡi trắng, mạch trầm tế hoặc trầm hoãn. Tình trạng này do bệnh lâu ngày làm hao tổn âm huyết, huyết hư sinh phong hóa táo gây nên bệnh [10].

Pháp điều trị: dưỡng huyết sơ phong, trừ thấp nhuận táo.

Bài thuốc: Tiêu phong tán hoặc Tứ vật tiêu phong tán gia giảm; Thấp thịnh gia: xa tiền tử, trạch lan; Ngứa nhiều gia: bạch tật lê, khổ sâm.

Châm cứu

Trong điều trị VDCĐ cần châm các huyết khúc trì, túc tam lý, huyết hải; châm loa tai các điểm: thận, phế, nội tiết, thần môn.

* ***Điều trị tại chỗ***

+ ***Giai đoạn cấp tính:***

Khi bệnh mới phát chỉ đỏ tại chỗ, sẩn và mụn nước chưa vỡ, chưa xuất tiết thì nên dùng các thuốc ôn hoà tiêu viêm, tránh kích thích. Chọn cách đắp ướt các thuốc như thuốc rửa Lô cam thạch, dung dịch 2% băng phiến.

Khi các mụn nước đã vỡ và xuất tiết nhiều thì nên dùng các thuốc thu liễm, tiêu viêm... nhằm thúc đẩy da hồi phục. Có thể sắc lấy nước đặc đắp ướt những thuốc sau: Rau sam 60g. Hoàng bá, sinh địa mỗi vị 30g. Bồ công anh, long đóm thảo, cúc hoa, mỗi vị 30g.

Khi có bội nhiễm có thể thêm vào nước đắp các vị như xuyên tâm liên, sài đất, bản lam căn.

Khi xuất tiết nhiều có thể dùng Tam diệu tán, hoặc Trừ thấp tán, trộn với glycerin thành cao lỏng rồi bôi lên tổn thương.

Giai đoạn cuối của giai đoạn cấp tính là giai đoạn bong vảy, nếu xử lý không tốt sẽ rất dễ làm cho bệnh kéo dài và chuyển thành mạn tính. Thuốc nên dùng là các bài Cao thanh lương, Cao hoàng liên.

+ *Giai đoạn bán cấp:*

Nguyên tắc điều trị lúc này là tiêu viêm, trừ ngứa, thu liễm. Có thể sử dụng mỡ oxyd kẽm, Trừ thấp tán, Tân tam diệu tán luyện với dầu thực vật thành cao, dầu tử thảo 5%, dầu địa du-oxyd kẽm 10%.

+ *VDCĐ mạn tính:*

Nguyên tắc điều trị là chống khô da, chữa ngứa, ức chế sự tăng sinh của biểu bì, tiêu trừ tình trạng viêm thâm nhiễm trong lớp chân bì. Có thể chọn cao hoàng liên, cao dầu đậu đen 10%- 20% [10].

1.5. Một số mô hình trên thực nghiệm

1.5.1. Mô hình gây viêm cấp tính trên thực nghiệm

Mô hình 1: Phù nề bàn chân chuột bằng carrageenan

- Phương pháp: Tiêm carrageenan (1%, 50 μ L) vào mô dưới da của bàn chân chuột. Mức độ phù nề được đo bằng thước đo điện tử hoặc thiết bị đo thể tích sau 1, 2, 3 và 4 giờ.
- Cơ chế: Carrageenan kích hoạt giải phóng histamin, serotonin, prostaglandin, gây viêm cấp tính.
- Đánh giá: Thể tích phù nề (mL) và phân tích mô học [42].

Trong phạm vi nghiên cứu của đề tài, chúng tôi đã sử dụng mô hình này.

Mô hình 2: Viêm màng bụng bằng thioglycollate (Thioglycollate-induced peritonitis)

- Phương pháp: Tiêm thioglycollate (3%, 1mL) vào khoang màng bụng chuột. Sau 4-24 giờ, dịch màng bụng được thu thập và đếm số lượng bạch cầu.
- Cơ chế: Kích thích sự xâm nhập của bạch cầu trung tính vào khoang màng bụng.
- Đánh giá: Số lượng tế bào miễn dịch (đếm bằng hemocytometer) [43].

1.5.2. Mô hình gây viêm mạn tính trên thực nghiệm

Mô hình 1: Phương pháp gây u hạt trên chuột cống trắng

- Phương pháp : Chuột được cấy hạt amian vô khuẩn ($30 \pm 0,1\text{mg}$) vào dưới da lưng hai bên của chuột. Điều trị thuốc hoặc hợp chất thử nghiệm liên tục trong 7-14 ngày. Thu hoạch vật liệu kích thích cùng mô hạt xung quanh, sấy khô và cân trọng lượng khô

- Cơ chế: Vật liệu kích thích gây viêm mạn tính, dẫn đến sự xâm nhập của tế bào viêm (bạch cầu đa nhân, đại thực bào) và tăng sinh mô liên kết.

- Trọng lượng mô hạt phản ánh mức độ viêm mạn. Thuốc chống viêm làm giảm sự hình thành mô hạt qua cơ chế giảm sản xuất cytokine viêm và hạn chế sự tăng sinh tế bào.

- Đánh giá: Trọng lượng mô hạt khô: Là chỉ số chính, giảm trọng lượng cho thấy tác dụng chống viêm [44].

Trong phạm vi nghiên cứu của đề tài, chúng tôi đã sử dụng mô hình này.

Mô hình 2: Viêm khớp bằng Freund's Complete Adjuvant (FCA)

- Phương pháp: Tiêm FCA (0,1mL) vào mô dưới da ở đuôi chuột. Theo dõi các triệu chứng viêm khớp trong 21 ngày.

- Cơ chế: FCA gây đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào, tương tự bệnh viêm khớp dạng thấp.

- Đánh giá: Sung khớp, điểm số viêm khớp và phân tích mô bệnh học [45].

Mô hình 3: Viêm đại tràng bằng Dextran Sulfate Sodium (DSS)

- Phương pháp: Cho chuột uống nước chứa DSS (2-5%) trong 7-10 ngày. Theo dõi trọng lượng cơ thể, tiêu chảy và mất máu.

- Cơ chế: DSS gây tổn thương lớp niêm mạc ruột, dẫn đến viêm mạn tính.

- Đánh giá: Chỉ số bệnh lý (Disease Activity Index –DAI), phân tích mô học ruột.

1.5.3. Mô hình gây ngứa trên thực nghiệm

Mô hình 1: Nghiên cứu được tiến hành trên mô hình gây hành vi gãi ở chuột nhắt trắng do compound 48/80 (compound 48/80-induced mouse scratching behavior model) [46]

Compound 48/80: Hoạt chất gây giải phóng histamine từ tế bào mast, dẫn đến phản ứng ngứa mạnh (Wilson & Bautista, 2014).

Sử dụng Compound 48/80 để gây tình trạng dị ứng biểu hiện bằng triệu chứng ngứa trên da chuột, đánh giá mức độ chống dị ứng của thông qua tác dụng làm giảm phản xạ gãi của chuột.

Trong phạm vi nghiên cứu của đề tài, chúng tôi đã sử dụng mô hình này.

Mô hình 2: Mô hình tự phát và sinh lý

Sử dụng các chất gây ngứa tự nhiên như protease hoặc cytokine (IL-31) để kích hoạt cảm giác ngứa thông qua đường dẫn thần kinh tự nhiên [47].

Mô hình 3: Mô hình cơ học hoặc vật lý

Kích thích cơ học bằng cách sử dụng lông bàn chải hoặc kích thích điện nhẹ trên da để đo lường ngưỡng kích thích và phản ứng gãi [48].

1.6. Tổng quan về cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”

1.6.1. Xuất xứ cao lỏng

Cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” được bào chế từ bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phu”, là phương thuốc được xây dựng trên nền tảng bài “Tiêu phong tán”. Tiêu phong tán là bài thuốc cổ phương có công năng sơ phong, dưỡng huyết, thanh nhiệt, trừ thấp, được ghi chép trong sách Ngoại khoa chính tông của Trần Thực Công, thời nhà Minh [89].

Trên cơ sở kế thừa bài thuốc cổ phương, bài “Tiêu độc dưỡng phu” đã được gia giảm, trong đó giảm vị Mộc thông và gia thêm các vị Phù bình và Sài đất. Theo YHCT, Phù bình có tác dụng khu phong, thấu biểu, chỉ dương, giúp dẫn phong tà thoát ra ngoài bì phu, từ đó giảm ngứa nhanh. Sài đất có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, tiêu viêm, góp phần cải thiện các biểu hiện viêm và dị ứng trên da [49], [50]. Việc gia giảm này nhằm nâng cao hiệu quả điều trị các bệnh lý da liễu có biểu hiện viêm, dị ứng, ngứa, đồng thời đảm bảo tính an toàn và phù hợp với thực tiễn sử dụng hiện nay.

Để tăng tính tiện lợi cho người sử dụng và đánh giá kết quả điều trị một cách chính xác nên chúng tôi đã chuyển đổi bài thuốc thành dạng chế phẩm cao lỏng để tiện đánh giá và sử dụng.

Cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” gồm 14 vị thuốc: Phòng phong, Kinh giới, Thuyền thoái, Ngưu bàng tử, Thương truật, Khô sâm, Thạch cao, Tri mẫu, Đương quy, Sinh địa, Hồ ma nhân, Sài đất, Phù bình, Cam thảo (Phụ lục 3).

Công dụng: Sơ phong, dưỡng huyết, thanh nhiệt, chỉ ngứa

Chỉ định: Điều trị bệnh nhân bệnh phong chẩn, thấp chẩn, viêm da cơ địa, mề đay mạn tính.

Chống chỉ định: Không dùng cho người mẫn cảm với bất kỳ thành phần nào của chế phẩm.

1.6.2. Căn cứ lựa chọn phương thuốc

VDCĐ thường diễn biến kéo dài cơ chế bệnh sinh liên quan đến chức năng tỳ vị kém, cộng thêm ăn uống không điều độ làm tổn thương tỳ vị, dẫn đến mất chức năng vận hóa. Hậu quả là thấp nhiệt nội sinh, tích tụ ở cơ bì, gặp phải phong nhiệt tà xâm nhập cơ thể, thấm vào huyết mạch, gây ứ huyết, huyết nhiệt bốc hơi. Lâu ngày, âm bị tổn thương, huyết hao kiệt sinh táo, khí huyết mất điều hòa, da không được nuôi dưỡng, dẫn đến phát bệnh. Ngoài ra, ở người có cơ địa huyết táo, khi bị ngoại cảm phong nhiệt tà, tà khí phong nhiệt tụ lại bên ngoài, tà khí táo nhiệt bốc hơi bên trong, cũng có thể gây bệnh.

Yếu tố chính gây bệnh là do phong tà gây ra. Vì vậy muốn giảm ngứa thì phải sơ phong. Theo quan niệm “Trị phong tiên trị huyết, huyết hành phong tất diệt” vì vậy cần chữa phong trước tiên phải chữa huyết, khí huyết lưu thông, phong tự diệt. Bài thuốc “Tiêu phong tán” trong sách Ngoại khoa chính tông, với công năng sơ phong, dưỡng huyết, thanh nhiệt trừ thấp. Phương pháp điều trị này vừa sơ tán phong tà, vừa thanh trừ thấp nhiệt, điều hòa khí huyết, đạt hiệu quả vừa phù chính trừ tà, vừa trị gốc lẫn ngọn, kết hợp điều trị trong ngoài.

Với kinh nghiệm điều trị lâm sàng khi chúng tôi gia giảm thêm vị phù bình và sài đất thấy được hiệu quả bài thuốc tăng tác dụng tốt hơn. Bài thuốc có tác dụng sơ phong, dưỡng huyết, trừ thấp, thanh nhiệt, chỉ ngứa.

1.6.3. Phân tích bài thuốc theo quân, thần, tá, sứ

Theo y học cổ truyền bài thuốc có tác dụng sơ phong, dưỡng huyết, trừ thấp, thanh nhiệt, chỉ ngứa. Ngứa do phong, muốn trị ngứa phải sơ phong trước. Nên trong thành phần Phòng Phong và Kinh Giới có tác dụng trừ phong. Thuyền Thoái và Ngưu Bàng Tử đều có tính hàn, giúp tán phong nhiệt, bốn vị thuốc này phối hợp có tác dụng sơ phong tán tà, chỉ ngứa, làm quân dược. Khi phong kèm theo thấp tà

kết tụ ở da làm dịch nước tràn ra, bài thuốc có thêm Thương Truật và Khổ Sâm, Phù Bình làm thần dược, chuyên trừ thấp tà. Phù bình vừa khu phong lại hành thủy có khả năng thông đạt bì phu, lợi thủy thẩm thấp. Thương Truật và Khổ Sâm đều giúp táo thấp, Thương Truật có thể trừ phong, Khổ Sâm giúp thanh nhiệt, làm thấp nhiệt được thanh giải.

Phong là dương tà, dễ hóa thành nhiệt, phong nhiệt kèm thấp nhiệt tích tụ nội bộ, gây ứ trệ huyết mạch, do đó bài thuốc bổ sung thêm Thạch Cao và Tri Mẫu để thanh nhiệt mà không tổn thương âm. Sài đất để thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm. Đương Quy chủ yếu dưỡng huyết, Sinh Địa và Hồ Ma Nhân chủ yếu dưỡng âm nhuận táo. Sự phối hợp các vị thuốc này giúp bổ huyết dưỡng âm, đồng thời ngăn chặn tính ôn táo của các vị thuốc trong bài, đạt được mục tiêu "trị phong tiên trị huyết, huyết hành phong tất diệt", làm tá dược. Cam Thảo Sinh điều hòa các vị thuốc, có tác dụng thanh nhiệt giải độc, làm sứ dược [49], [50], [51].

1.7. Tình hình nghiên cứu viêm da cơ địa

1.7.1. Tại Việt Nam

Nguyễn Mạnh Tuyền, Phạm Thái Hà Văn (2021) đánh giá tác dụng chống dị ứng thực nghiệm của viên nang hỗ trợ điều trị eczema. Cho kết quả ở các liều thử, chế phẩm đều làm giảm số lần gãi của chuột và ức chế sự gia tăng chiều dày bàn chân chuột tại các thời điểm đánh giá. Tác dụng chống dị ứng tương tự prednisolone 6mg/Kg thể trọng [52]. Nghiên cứu này có ưu điểm là sử dụng mô hình thực nghiệm khách quan; tuy nhiên, mới dừng lại ở đánh giá tác dụng sinh học, chưa gắn với quy trình bào chế, tiêu chuẩn chất lượng và tính an toàn của chế phẩm.

Ngô Thị Bạch Yến, Trịnh Thị Diệu Thường (2023) nghiên cứu hiệu quả lâm sàng của phương pháp cấy chỉ trong hỗ trợ điều trị bệnh nhân viêm da cơ địa. Cho kết quả cấy chỉ 2 tuần/lần có hiệu quả giảm các triệu chứng khách quan ở bệnh nhân viêm da cơ địa nhẹ đến trung bình, giúp cải thiện chất lượng cuộc sống, không có các tác dụng phụ [53]. Tuy nhiên, nghiên cứu mang tính lâm sàng thuần túy, không đánh giá cơ chế tác dụng hay hiệu quả sinh học trên mô hình thực nghiệm.

Ngô Minh Vinh và cộng sự (2022) đã nghiên cứu thực trạng sợ corticosteroid bôi ở bệnh nhân viêm da cơ địa tại Bệnh viện Da liễu Thành phố Hồ Chí Minh. Kết

quả cho thấy tỷ lệ bệnh nhân viêm da cơ địa có tâm lý sợ corticosteroid bôi còn tương đối cao, điều này có thể ảnh hưởng đến tuân thủ điều trị và hiệu quả kiểm soát bệnh [54]. Nghiên cứu này góp phần làm rõ nhu cầu tìm kiếm các liệu pháp thay thế an toàn, song không đi sâu vào đánh giá giải pháp điều trị cụ thể.

1.7.2. Trên thế giới

Theo Liu Fangrong và cs (2023) nghiên cứu tác dụng của kem Zhi yang Run fu lên biểu hiện protein và gene của IL-4 và IFN- γ trong tổn thương da của chuột bị viêm da dị ứng. Cho thấy kem Zhi yang Run fu có hiệu quả rõ rệt trong điều trị các triệu chứng VDCĐ [55]. Tuy nhiên, nghiên cứu chủ yếu tập trung vào một cơ chế miễn dịch và một mô hình thực nghiệm.

Theo Seon Gyeong Bak và cs (2023) đánh giá tác dụng của chiết xuất Đậu đen và hợp chất của nó hemiphloin chống VDCĐ như viêm da dị ứng [56]. Song nghiên cứu chưa đề cập đến tính an toàn dài hạn và tiêu chuẩn hóa chế phẩm.

Theo Yuan-Cui Meng và cs (2022) đánh giá hiệu quả của kem dưỡng da từ Lô cam thạch như một liệu pháp bổ trợ cho thuốc mỡ mometasone furoate trong điều trị VDCĐ ở trẻ sơ sinh [57]. Tuy nhiên, nghiên cứu mang tính bổ trợ lâm sàng, chưa đánh giá độc tính và cơ chế tác dụng một cách toàn diện.

Từ tổng quan các nghiên cứu trong và ngoài nước cho thấy, mặc dù đã có nhiều công trình chứng minh hiệu quả của các phương pháp và chế phẩm trong điều trị viêm da cơ địa, song vẫn tồn tại một số hạn chế và khoảng trống nghiên cứu:

- Phần lớn các nghiên cứu tập trung vào lâm sàng hoặc một mô hình thực nghiệm đơn lẻ.
- Ít nghiên cứu tiến hành đồng thời bào chế chế phẩm, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở, đánh giá độc tính và đánh giá tác dụng sinh học một cách hệ thống.
- Chưa có nhiều nghiên cứu tiếp cận theo hướng kết hợp giữa y học cổ truyền và y học hiện đại một cách toàn diện, từ khâu bào chế đến đánh giá hiệu quả và tính an toàn.

Xuất phát từ những hạn chế trên, đề tài này được thực hiện nhằm xây dựng quy trình bào chế cao lỏng Tiêu độc dưỡng phu, thiết lập tiêu chuẩn cơ sở, đánh giá tính an toàn và khảo sát tác dụng trên nhiều mô hình thực nghiệm, góp phần cung cấp cơ sở khoa học đầy đủ hơn cho việc ứng dụng chế phẩm trong hỗ trợ điều trị viêm da cơ địa.

1.8. Tổng quan về quy trình sản xuất, tiêu chuẩn cơ sở của cao thuốc

1.8.1. Tổng quan về tiêu chuẩn cơ sở

Tiêu chuẩn cơ sở (TCCS) là tiêu chuẩn do tổ chức kinh tế, tổ chức xã hội – nghề nghiệp, cơ quan nhà nước, đơn vị sự nghiệp và các cơ quan, tổ chức khác công bố để áp dụng trong các hoạt động của tổ chức đó. Tiêu chuẩn cơ sở được xây dựng dựa trên các kết quả nghiên cứu khoa học và công nghệ, tiến bộ kỹ thuật, kinh nghiệm, nhu cầu và khả năng thực tiễn của cơ sở. Các tiêu chuẩn quốc gia, tiêu chuẩn quốc tế, khu vực hoặc nước ngoài tương ứng được khuyến khích sử dụng để xây dựng hoặc chấp nhận thành TCCS [58].

Tiêu chuẩn cơ sở đóng vai trò quan trọng trong việc đảm bảo chất lượng, an toàn và hiệu quả của sản phẩm trong các lĩnh vực như dược phẩm, thực phẩm, và sản phẩm y học cổ truyền. Trong bối cảnh thị trường ngày càng yêu cầu tính minh bạch và độ tin cậy, TCCS đóng vai trò như một công cụ để thiết lập các tiêu chí cụ thể nhằm kiểm soát chất lượng sản phẩm một cách đồng nhất. Việc xây dựng TCCS không chỉ đáp ứng yêu cầu pháp lý, là cơ sở để sản phẩm được phép lưu hành trên thị trường, mà còn tạo niềm tin cho người tiêu dùng thông qua việc minh bạch hóa các chỉ tiêu đánh giá.

1.8.2. Phương thức xây dựng tiêu chuẩn cơ sở

- Chấp nhận tiêu chuẩn quốc gia, tiêu chuẩn quốc tế, tiêu chuẩn khu vực hoặc tiêu chuẩn nước ngoài tương ứng thành TCCS. Khi xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của dược liệu và cao thuốc, ta phải tham khảo các chuyên luận về TCCS của dược điển nước ngoài, như Dược điển Hoa Kỳ, dược điển Anh, Dược điển Trung Quốc, trên cơ sở các chuyên luận về TCCS dược liệu và cao thuốc quy định trong DĐVN V [49].

- Xây dựng mới TCCS trên cơ sở sử dụng các kết quả nghiên cứu khoa học và công nghệ, các kết quả thử nghiệm, đánh giá, phân tích và thực nghiệm. Dựa trên cơ sở chuyên luận về cao thuốc trong phụ lục 1.1, DĐVN V, tiến hành thử nghiệm, đánh giá chất lượng của các mẻ thành phẩm để xây dựng TCCS cho cao thuốc. Cao thuốc phải đạt yêu cầu chất lượng chung được quy định trong phụ lục 1.1 và đạt yêu cầu các phép thử định tính dược liệu có trong bài thuốc.

1.8.3. Phương pháp xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao thuốc

Cao thuốc là chế phẩm được chế bằng cách cô hoặc sấy đến thể chất quy định các dịch chiết thu được từ dược liệu thực vật hay động vật với các dung môi thích hợp.

Cao lỏng thành phẩm của một bài thuốc phải đạt các yêu cầu chất lượng theo quy định trong chuyên luận riêng (nếu có) và các yêu cầu chung của dược quy định trong phụ lục 1, ĐĐVN V. Ngoài ra, khi xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao thuốc được chiết xuất từ bài thuốc y học cổ truyền phải đạt yêu cầu định tính đối với một số dược liệu là thành phần chính (Quân, Thần) của bài thuốc.

Các phương pháp kiểm nghiệm yêu cầu chất lượng của cao thuốc được quy định trong phụ lục 1, ĐĐVN V bao gồm:

- Phương pháp cảm quan: Thông qua quan sát thể chất, màu sắc, mùi vị, để nhận diện các đặc điểm cơ bản của cao thuốc. Phương pháp này giúp xác định sơ bộ tính chất, độ trong và độ đồng nhất của cao thuốc.

- Phương pháp lý – hóa: Xác định các thông số về thể tích đóng gói, tỷ trọng, mất khối lượng do làm khô, xác định giới hạn nhiễm khuẩn của cao thuốc thành phẩm.

- Phương pháp định tính: Bao gồm các kỹ thuật định tính được quy định trong chuyên luận riêng hoặc TCCS của dược liệu là thành phần chính của bài thuốc [49].

1.9. Tổng quan về thuốc sử dụng đối chứng trong nghiên cứu

1.9.1. Diclofenac

Trong nghiên cứu này, diclofenac được sử dụng làm thuốc chứng dương với liều 15 mg/kg/ngày. Diclofenac là thuốc chống viêm không steroid (Non-steroidal Anti-Inflammatory Drug – NSAID), có tác dụng chống viêm mạnh và được sử dụng rộng rãi trong các mô hình thực nghiệm đánh giá tác dụng chống viêm.

Cơ chế tác dụng chống viêm chủ yếu của diclofenac là ức chế có hồi phục enzym cyclooxygenase (COX), từ đó ức chế quá trình sinh tổng hợp prostaglandin, làm giảm nồng độ PGE₂ và PGF_{1α} những chất trung gian hóa học quan trọng tham gia vào phản ứng viêm. Sự giảm tổng hợp prostaglandin góp phần làm hạn chế hiện tượng giãn mạch, tăng tính thấm thành mạch và đau tại ổ viêm.

Bên cạnh đó, diclofenac còn có tác dụng làm vững bền màng lysosom tại ổ viêm. Trong quá trình thực bào, các đại thực bào và bạch cầu đa nhân có thể giải phóng các enzyme của lysosom như hydrolase, aldolase, phosphatase acid, collagenase, elastase..., làm tổn thương mô và thúc đẩy phản ứng viêm tiến triển. Việc ổn định màng lysosom giúp ngăn cản sự phóng thích các enzym phân giải, từ đó góp phần ức chế quá trình viêm.

Ngoài ra, diclofenac còn có thể tham gia vào một số cơ chế khác như đối kháng với các chất trung gian hóa học của phản ứng viêm thông qua cạnh tranh cơ chất với enzym, ức chế sự di chuyển của bạch cầu đến ổ viêm, cũng như ức chế phản ứng kháng nguyên – kháng thể, góp phần làm giảm mức độ viêm. Như vậy, Diclofenac được lựa chọn làm thuốc chứng dương trong nghiên cứu của chúng tôi

1.9.2. Prednisolon

Prednisolon là thuốc thuộc nhóm glucocorticoid, có tác dụng chống viêm mạnh và điển hình, thường được sử dụng làm thuốc đối chứng dương trong các nghiên cứu thực nghiệm đánh giá tác dụng chống viêm. Thuốc được tổng hợp từ cấu trúc của hydrocortison (cortisol), trong đó việc bổ sung nối đôi tại vị trí C1–C2 của nhân steroid giúp tăng hoạt tính chống viêm lên khoảng 4–5 lần so với cortisol, đồng thời làm giảm tác dụng giữ muối nước.

Cơ chế chống viêm của prednisolon chủ yếu thông qua điều hòa biểu hiện gen. Thuốc khuếch tán qua màng tế bào, gắn với thụ thể glucocorticoid (GR) trong bào tương, tạo thành phức hợp glucocorticoid – thụ thể, sau đó được vận chuyển vào nhân tế bào và gắn vào các yếu tố đáp ứng glucocorticoid (Glucocorticoid Response Elements – GREs) tại vùng promoter của gen đích. Quá trình này dẫn đến tăng tổng hợp các protein trung gian có tác dụng chống viêm, đặc biệt là Annexin-1 (lipocortin-1) – protein có vai trò ức chế phospholipase A₂, từ đó làm giảm giải phóng acid arachidonic và giảm tổng hợp prostaglandin, leukotrien, là các chất trung gian quan trọng của phản ứng viêm.

Bên cạnh đó, prednisolon còn ức chế hoạt hóa các yếu tố phiên mã tiền viêm như NF- κ B và AP-1, thông qua việc cảm ứng các protein ức chế (IkB) và ức chế hoạt tính của các phức hợp đồng hoạt hóa có chức năng histone acetyltransferase. Cơ chế này làm giảm phiên mã các gen mã hóa cytokine, enzym và các chất trung gian gây viêm, góp phần hạn chế phản ứng viêm tại mô tổn thương.

Ngoài tác dụng ở mức phân tử, prednisolon còn thể hiện tác dụng chống viêm ở mức tế bào thông qua ức chế sự di chuyển và tích tụ của bạch cầu tại ổ viêm, làm giảm phóng thích enzym tiêu hủy từ bạch cầu và đại thực bào, từ đó hạn chế tổn thương mô và sự tiến triển của quá trình viêm [60], [61].

1.9.3. Loratadin

Loratadin là thuốc kháng histamin H1 thế hệ thứ hai, được sử dụng rộng rãi trong điều trị các bệnh lý dị ứng nhờ tác dụng chọn lọc trên thụ thể H1 ngoại vi và ít gây an thần ở liều điều trị. Thuốc có tác dụng đối kháng cạnh tranh với histamin tại thụ thể H1, từ đó ức chế các đáp ứng sinh học của histamin như tăng tính thấm thành mạch, giãn mạch, góp phần làm giảm phù nề và ngứa – những biểu hiện thường gặp trong các phản ứng dị ứng và viêm dị ứng.

Trong phản ứng quá mẫn tức thì, histamin là một trong những chất trung gian hóa học chủ yếu được phóng thích từ dưỡng bào và bạch cầu ưa base, đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn sớm của phản ứng dị ứng. Loratadin có tác dụng ức chế rõ rệt giai đoạn sớm này thông qua việc ngăn chặn tác động của histamin lên thụ thể H1. Bên cạnh đó, một số nghiên cứu cho thấy loratadin còn có khả năng làm giảm sự di chuyển và hoạt hóa của các tế bào viêm, cũng như giảm giải phóng các chất trung gian viêm ở giai đoạn muộn của phản ứng dị ứng, góp phần làm hạn chế tiến triển của quá trình viêm.

Về đặc điểm dược động học, loratadin được hấp thu nhanh qua đường tiêu hóa và được chuyển hóa tại gan thành chất chuyển hóa còn hoạt tính thông qua hệ enzym cytochrome P450. Do thuốc khó qua hàng rào máu – não, loratadin không gây an thần ở liều điều trị thông thường, đây là ưu điểm quan trọng giúp thuốc được sử dụng an toàn trong các nghiên cứu thực nghiệm cũng như trong thực hành lâm sàng. Tuy nhiên, tác dụng an thần có thể xuất hiện khi sử dụng liều cao hoặc khi có tương tác thuốc ảnh hưởng đến chuyển hóa qua gan.

Nhờ các đặc điểm trên, loratadin thường được lựa chọn làm thuốc đối chứng dương trong các mô hình dị ứng và viêm dị ứng, đặc biệt là các mô hình đánh giá tác dụng giảm ngứa, giảm phù nề và ức chế phản ứng viêm qua trung gian histamin [61], [62]

Chương 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

- Mẫu nghiên cứu: Bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phụ”, với thành phần bày được trình ở bảng 2.1. Các dược liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V (ĐDVN V) [49].

Bảng 2.1. Thành phần bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phụ”

STT	Dược liệu	Tên khoa học	Hàm lượng (gam)	Tiêu chuẩn
1	Phòng phong	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	15	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
2	Kinh giới	<i>Herba Elsholtziae ciliatae</i>	15	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
3	Thuyền thoái	<i>Periostracum Cicadae</i>	20	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
4	Ngưu bàng tử	<i>Fructus Arctii lappae</i>	10	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
5	Thương truật	<i>Rhizoma Atractylodis</i>	10	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
6	Khô sâm	<i>Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis</i>	10	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
7	Sài đất	<i>Herba Wedeliae</i>	12	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
8	Thạch cao	<i>Gypsum fibrosum</i>	10	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
9	Tri mẫu	<i>Rhizoma Anemarrhenae</i>	10	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V
10	Đương quy	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	10	Đạt tiêu chuẩn ĐDVN V

STT	Dược liệu	Tên khoa học	Hàm lượng (gam)	Tiêu chuẩn
11	Sinh địa	<i>Radix Rehmanniae glutinosae</i>	10	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
12	Hồ ma nhân	<i>Semen Sesami Nigrum</i>	10	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
13	Cam thảo	<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>	06	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
14	Phù bình	<i>Herba Pistiae</i>	12	Đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V
Tổng			160	

Từ các dược liệu khô của bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phu”, tiến hành nghiên cứu chiết xuất, bào chế cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” (TDDP) và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao lỏng TDDP. Cao lỏng TDDP đạt tiêu chuẩn cơ sở được sử dụng là chế phẩm nghiên cứu để đánh giá độc tính cấp và tác dụng chống viêm, chống dị ứng trên động vật thực nghiệm.

Theo kinh nghiệm sử dụng lâm sàng, bài thuốc được dùng cho bệnh nhân trong 24h với tổng liều dược liệu khô là 160g. Theo quy ước tính liều, lấy cân nặng người là 50kg, liều dược liệu tương ứng là 3,2g dược liệu/kg/24h.

Bài thuốc được bào chế dưới dạng cao lỏng tỷ lệ 2:1, nên 2g dược liệu khô tương ứng với 1mL cao lỏng. Từ đó nhóm nghiên cứu ước tính liều dùng dự kiến trên lâm sàng của cao lỏng là 1,6mL cao lỏng/kg/24h.

Liều dùng trong nghiên cứu thực nghiệm được tính dựa trên liều cao lỏng dược liệu. Việc quy đổi liều từ người sang động vật thí nghiệm được thực hiện theo nguyên tắc diện tích bề mặt cơ thể. Theo đó, liều dự kiến có tác dụng ở chuột cống trắng (hệ số 7) là 11,2mL/kg/24h, và ở chuột nhắt trắng (hệ số 12) là 19,2mL/kg/24h [63].

- Quy trình bào chế: Phụ lục 2
- Tiêu chuẩn sản xuất: Đạt tiêu chuẩn sản xuất cơ sở

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

Động vật thí nghiệm sử dụng trong nghiên cứu bao gồm chuột nhắt trắng thuần chủng Swiss (Swiss albino mouse) và chuột cống trắng thuần chủng dòng Wistar, thuộc cả hai giới, khỏe mạnh, không có biểu hiện bệnh lý, được cung cấp bởi Ban Động vật – Học viện Quân y.

- Trong nghiên cứu độc tính cấp và đánh giá tác dụng chống dị ứng, đối tượng thí nghiệm là chuột nhắt trắng thuần chủng Swiss, khối lượng cơ thể từ 18–22g. Tổng số chuột Swiss sử dụng trong các thí nghiệm này lần lượt là 27 con (độc tính cấp) và 50 con (chống dị ứng).

- Trong nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm, đối tượng thí nghiệm là chuột cống trắng thuần chủng dòng Wistar, khối lượng cơ thể từ 180–220g, với tổng số 80 con, trong đó 40 con được sử dụng để khảo sát tác dụng chống viêm cấp và 40 con dùng cho nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn tính.



Hình 2.1. Chuột cống trắng thuần chủng Wistar



Hình 2.2. Chuột nhắt trắng thuần chủng Swiss

2.2.2. Tiêu chuẩn lựa chọn và điều kiện nuôi dưỡng động vật thí nghiệm

Trước khi đưa vào nghiên cứu, toàn bộ động vật thí nghiệm được sàng lọc và đánh giá tình trạng sức khỏe dựa trên các tiêu chí: bộ lông bóng mượt, mắt sáng trong, vùng hậu môn khô sạch, khả năng vận động linh hoạt, hành vi sinh hoạt bình thường, ăn uống tốt, phân và nước tiểu không có dấu hiệu bất thường. Công tác tuyển chọn được thực hiện bởi hai kỹ thuật viên có kinh nghiệm, sau đó được cán bộ nghiên cứu trực tiếp kiểm tra và xác nhận lại, nhằm đảm bảo tính đồng nhất của mẫu nghiên cứu.

Động vật được nuôi dưỡng trong điều kiện tiêu chuẩn của phòng thí nghiệm, với chu kỳ chiếu sáng 12 giờ sáng – 12 giờ tối, nhiệt độ môi trường duy trì ở mức $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Chuột được cung cấp thức ăn chuyên dụng cho động vật thí nghiệm và nước uống đun sôi để nguội, cho ăn uống tự do. Trước khi tiến hành các thí nghiệm, toàn bộ động vật được nuôi thích nghi trong phòng thí nghiệm liên tục trong 7 ngày.

Đối tượng nghiên cứu trên thực nghiệm được tóm tắt dưới bảng 2.2

Bảng 2.2. Số lượng động vật nghiên cứu

Động vật	n	Tiêu chuẩn	Nghiên cứu
Chuột nhắt trắng thuần chủng Swiss	77	Cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng 18 - 22g	- Nghiên cứu độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” (27 con) - Nghiên cứu tác dụng chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” (50 con)
Chuột cống trắng chủng Wistar	80	Cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng 180 - 220g	- Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” (40 con) - Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” (40 con)

2.3. Phương tiện, máy móc, hóa chất trong nghiên cứu

2.3.1. Thuốc và hoá chất dùng trong nghiên cứu

2.3.1.1. Hóa chất dùng trong nghiên cứu bào chế và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao lỏng

- Các dung môi chiết xuất: cloroform, methanol, ethanol, n-Hexan, ethyl acetat, nước... đạt tiêu chuẩn của DĐVN V.

- Các thuốc thử, hóa chất khác: thuốc thử Dragendorff, magnesi sulfat, acid sulfuric, acid hydrocloric, phenolphthalein, amoniac, acid acetic, dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb, dung dịch đậm acetat pH 3,5, dung dịch thioacetamid, atractylodin chuẩn, p-dimethylaminobenzaldehyd...

2.3.1.2. Thuốc và hoá chất dùng trong nghiên cứu đánh giá độc tính và tác dụng chống viêm, chống dị ứng

- Prednisolon (viên nén 5mg - Hataphar - Việt Nam).
- Dung dịch natri clorid 0,9% (B. Braun – Đức).
- Carrageenin bột pha dung dịch 1% (Sigma-Aldrich – Hoa Kỳ).
- Calypsol dung dịch tiêm 50mg/mL (Gedeon Richter – Hungary).
- Diclofenac natri, viên nén 25mg (Trophaco – Việt Nam).
- Loratadin, viên nén 10mg (Danapha – Việt Nam).
- Compound 48/80, bột pha dung dịch 0,4% dùng (Sigma-Aldrich – Hoa Kỳ).

2.3.2. Máy móc và dụng cụ phục vụ nghiên cứu

2.3.2.1. Máy móc và dụng cụ dùng trong nghiên cứu bào chế, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao lỏng

- Các dụng cụ, thiết bị nghiên cứu thường quy (máy xay bột dược liệu, pipet định mức, ống đong, cốc có mỏ, màng lọc...)
- Nồi chiết tuần hoàn dung môi
- Thiết bị lọc dịch chiết
- Nồi trung gian chứa dịch chiết
- Nồi cô chân không
- Thiết bị cắt quay chân không EYELA, N1200B, Nhật.
- Bản mỏng silicagel GF_{254} ; silicagel G , Silica gel F_{254} . Giấy pH
- Các dụng cụ sắc ký: Bản mỏng TLC Silica gel GF_{254} tráng sẵn hiện màu bằng đèn UV và thuốc thử hiện màu, mao quản sắc ký, bình sắc ký.
- Đèn tử ngoại (UV) phát các bức xạ từ 254 – 365nm
- Cân phân tích Sartorius độ chính xác 0,0001g - Đức.
- Cân kỹ thuật điện tử ACB-Plus độ chính xác 0,01g - Anh.
- Tủ sấy - Trung Quốc.

2.3.2.2. Máy móc và dụng cụ dùng trong nghiên cứu đánh giá độc tính và tác dụng chống viêm, chống dị ứng

- Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer, Cat. No 7140, Ugo Basile - Italy).
- Cân phân tích 10^{-4} , model CP224S (Sartorius - Đức).
- Kim cong đầu tù chuyên dụng dùng cho chuột uống thuốc, sản xuất tại Nhật Bản.
- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác.
- Các thiết bị, dụng cụ xét nghiệm mô bệnh học: máy đúc parafin, máy cắt bệnh phẩm, giá đựng bệnh phẩm, bể nhuộm bằng thủy tinh, kính hiển vi đọc và chụp tiêu bản, ...



Hình 2.3. Kim cong đầu tù



Hình 2.4. Máy quay cô chân không



**Hình 2.5. Máy đo thể tích bàn
chân chuột**



Hình 2.6. Cân phân tích 10^{-4}

2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được triển khai trong khoảng thời gian từ tháng 03 năm 2025 đến hết tháng 9 năm 2025 tại Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y.

Các tiêu bản phục vụ đánh giá được thực hiện và phân tích tại Khoa Giải phẫu bệnh và Pháp y, Bệnh viện Quân y 103, trực thuộc Học viện Quân y.

2.5. Phương pháp, chỉ tiêu nghiên cứu

2.5.1. Nghiên cứu quy trình bào chế, tiêu chuẩn cơ sở của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên thực nghiệm

2.5.1.1. Nghiên cứu quy trình bào chế cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”

Cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” được bào chế từ bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phu” theo phương pháp sắc với dung môi là nước, chiết cả bài thuốc theo phương pháp cổ truyền, không chiết riêng từng vị thuốc. Quá trình bào chế cao lỏng được tiến hành theo các bước sau:

- Xác định các dược liệu đầu vào đạt tiêu chuẩn ĐĐVN V.
- Cân các dược liệu đạt tiêu chuẩn kiểm nghiệm đầu vào theo công thức.
- Rửa các dược liệu bằng nước sạch, loại bỏ các tạp chất lạ (nếu có).
- Thêm nước ngập dược liệu, đun sôi và tiếp tục gia nhiệt để hỗn hợp sôi nhỏ thêm 2 giờ nữa, để nguội.
- Lọc loại tạp, thu được dịch chiết.
- Khảo sát số lần chiết:

Khảo sát số lần chiết để đảm bảo chiết vừa đủ kiệt hoạt chất có trong bài thuốc.

Tiến hành chiết theo phương pháp đã chọn 4 lần, thu được các dịch chiết lần lượt là D1 (dịch chiết thứ nhất), D2 (dịch chiết thứ hai), D3 (dịch chiết thứ ba) và D4 (dịch chiết thứ tư). Lấy 20mL mỗi dịch chiết, cô đến khô trên cách thủy. Cấn được hòa tan trở lại bằng 1mL ethanol 96 %, được dung dịch thử chấm sắc ký. Tiến hành sắc ký lớp mỏng song song với dung dịch chuẩn và cách tiến hành như sau:

+ Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 1,0g bột phòng phong chuẩn vào bình nón nút mài 50mL, thêm 20mL aceton, siêu âm 20 phút, lọc, cô dịch lọc trong cách thủy đến cấn, hòa cấn trong 1mL ethanol 96 %.

+ Dung môi khai triển: Hỗn hợp của *Cloroform* - *methanol* (4:1, thể tích/ thể tích).

+ Bản mỏng: Silica gel GF_{254} .

+ Tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Dựa vào sắc ký đồ để xác định sự dương tính hay âm tính của phòng phong trong dịch chiết. Khi dịch chiết thứ n âm tính với phản ứng định tính của phòng phong thì lần chiết thứ n-1 được coi như đã chiết kiệt hoạt chất.

- Gộp các dịch chiết, cô đến cao lỏng 2:1 (từ 2g dược liệu bào chế ra 1mL cao lỏng) được cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”.

2.5.1.2. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”.

Xây dựng TCCS của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên các chỉ tiêu sau:

- Hình thức: Về màu sắc, mùi vị, độ đồng nhất, độ tan trong nước, cặn bã dược liệu hoặc tạp chất lạ.

- Định tính: Có phản ứng định tính của phòng phong, ngưi bàng tử và thương truật, xác định theo phương pháp sắc ký lớp mỏng.

- Giới hạn nhiễm khuẩn: Theo yêu cầu của DĐVN V [49].

2.5.2. Đánh giá độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên thực nghiệm

Xác định độc tính cấp đường uống và LD_{50} của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon, theo quy định của Bộ y tế [55], [56]. Để xác định độc tính cấp, cao lỏng được cô quay chân không thành các cao đặc hơn để cho chuột uống liều cao hơn với cùng thể tích 0,2mL/10g/lần x 3 lần. Liều dùng sau đó được quy đổi ra liều cao lỏng ban đầu (cao 2:1).

2.5.2.1. Thăm dò liều ban đầu

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss* 03 con, cân nặng $20,0 \pm 2,0$ g. Cao lỏng nghiên cứu được cho chuột uống ở 3 mức liều khác nhau ở cùng thể tích 0,2mL/10g/lần, uống tối đa ngày 3 lần. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Đánh giá tình trạng chuột trong thời gian 72h và trong thời gian 7 ngày sau khi uống mẫu thử, từ đó chọn ra các liều thử nghiệm chính thức.

2.5.2.2. Thử nghiệm chính thức

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss* được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 6 con, được uống cao lỏng với thể tích 0,2mL/10g thể trọng/lần nhưng với các liều tăng dần, tối đa 3 lần/24 giờ, mỗi lần uống cách nhau ít nhất 3 giờ. Thông thường chuột được uống thuốc vào các khung giờ 8 giờ, 11 giờ và 14 giờ trong ngày. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Theo dõi sát để đánh giá tình trạng chuột trong thời gian 72h và tiếp tục đánh giá cho đến hết thời gian 14 ngày sau khi uống mẫu thử.

2.5.2.3. Chỉ tiêu đánh giá kết quả độc tính cấp

Thông qua biểu hiện bất thường xảy ra ngay sau uống thuốc trong vòng 72 giờ:

Tình trạng chung của chuột: hoạt động tự nhiên, ăn uống, tư thế, màu sắc (mũi, tai, đuôi), lông, phân, nước tiểu.

Quá trình diễn biến bắt đầu và có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...).

Khả năng, thời gian hồi phục và số lượng chuột chết.

Quan sát các biểu hiện nhiễm độc muộn và khả năng hồi phục các biểu hiện nhiễm độc. Tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 14 sau khi uống cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”. Các chỉ tiêu theo dõi tương tự như theo dõi trong 72 giờ đầu.

Tất cả chuột chết (nếu có) được mổ để đánh giá tổn thương đại thể và xác định nguyên nhân gây độc.

Tìm liều cao nhất không gây chết chuột, liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và các liều trung gian, số chuột chết ở các liều trung gian (nếu có).

Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính (sử dụng giấy probit hoặc phần mềm excel) để xác định LD₅₀ của mẫu thử.

Nếu không có chuột chết, xác định liều dung nạp tối đa của chuột.

2.5.3. Đánh giá tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên thực nghiệm

2.5.3.1. Đánh giá tác dụng chống viêm cấp

Tác dụng chống viêm cấp của mẫu thử được khảo sát thông qua mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenin, dựa trên nguyên lý của phương pháp Winter và cộng sự (1968) [64].

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

- + Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.
- + Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Diclofenac sodium liều 15mg/kg/ngày.
- + Lô 3 (lô trị 1): Uống cao lỏng liều 11,2mL/kg/24h.
- + Lô 4 (Lô trị 2): Uống cao lỏng liều 22,4mL/kg/24h.

Các chế phẩm thử hoặc nước cất được cho chuột uống liên tục trong 5 ngày trước khi tiến hành gây viêm. Vào ngày thứ 5, sau khi uống thuốc 1 giờ, phản ứng viêm được khởi phát bằng cách tiêm 0,1mL dung dịch carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý ngay trước khi sử dụng) vào gan bàn chân sau bên phải của chuột. Trong suốt thời gian thí nghiệm, chuột được nhin ăn qua đêm nhưng vẫn được cung cấp nước uống tự do.

Thể tích bàn chân chuột (tính đến khớp cổ chân) được xác định bằng máy đo thể tích chuyên dụng (Plethysmometer) tại các thời điểm: trước khi gây viêm (V0) và sau khi tiêm carrageenin 2 giờ (V2), 4 giờ (V4), 6 giờ (V6) và 24 giờ (V24). Mức độ phù viêm được đánh giá thông qua tỷ lệ phần trăm tăng thể tích bàn chân so với giá trị ban đầu, đồng thời hiệu quả chống viêm của các lô dùng thuốc được biểu thị bằng phần trăm ức chế phù, tính trên cơ sở so sánh mức tăng thể tích bàn chân của các lô thử nghiệm với lô đối chứng sinh lý.

Mức độ thay đổi thể tích bàn chân chuột sau gây viêm được xác định dựa trên tỷ lệ phần trăm tăng thể tích, tính theo công thức:

$$X\% = [(V_t - V_0) / V_0] \times 100$$

Trong đó:

- X% biểu thị phần trăm tăng thể tích bàn chân chuột.
- V₀ là thể tích bàn chân chuột được đo trước khi tiêm Carrageenin.

- Vt là thể tích bàn chân chuột tại các thời điểm khảo sát V2, V4, V6 và V24, tương ứng sau 2, 4, 6 và 24 giờ kể từ khi tiêm Carrageenin.

Hiệu quả ức chế phù của thuốc thử nghiệm được đánh giá thông qua mức độ làm giảm tỷ lệ tăng thể tích bàn chân chuột so với lô đối chứng sinh lý. Chỉ số này được biểu diễn bằng phần trăm và tính theo công thức:

$$Y\% = [(Mc - Mt) / Mc] \times 100$$

Trong đó: Y% là phần trăm giảm mức độ phù bàn chân chuột; Mc là tỷ lệ phần trăm tăng thể tích bàn chân chuột của lô đối chứng; Mt là tỷ lệ phần trăm tăng thể tích bàn chân chuột của lô được sử dụng thuốc nghiên cứu.

- *Chỉ tiêu đánh giá tác dụng chống viêm cấp*

+ Thể tích bàn chân chuột tại các thời điểm đo sau 2, 4, 6 và 24 giờ kể từ khi tiêm Carrageenin

+ Mức độ tăng thể tích bàn chân chuột.

+ Tỷ lệ ức chế phù viêm

2.5.3.2. *Đánh giá tác dụng chống viêm mạn*

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp gây u hạt amian dưới da (amian granuloma method) của Ducrot, Julon và cộng sự (1963) [65]. Trong đó chuột cống trắng được phân ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô gồm 10 con. Sau khi nhịn ăn qua đêm, chuột được cho uống thuốc thử hoặc nước cất với cùng thể tích 10mL/kg/24h, cụ thể:

+ Lô 1 (lô chứng): uống nước cất.

+ Lô 2 (tham chiếu): uống Prednisolon liều 15mg/kg.

+ Lô 3 (trị 1): Uống cao lỏng liều 11,2mL/kg/24h.

+ Lô 4 (trị 2): Uống cao lỏng liều 22,4mL/kg/24h.

Sau 30 phút kể từ khi dùng thuốc, chuột được gây mê nhẹ bằng Calypsol và tiến hành cấy một hạt amian vô khuẩn có khối lượng $30 \pm 0,1$ mg vào dưới da vùng gáy. Việc cho uống thuốc được duy trì liên tục trong 6 ngày tiếp theo; đến ngày thứ 7, chuột được phẫu tích để lấy khối u hạt bao quanh hạt amian, cân bằng cân phân tích với độ chính xác 10^{-4} g và xác định khối lượng thực của u hạt sau khi trừ khối

lượng hạt amian, kết quả được quy đổi theo mg/100g khối lượng chuột. Mẫu u hạt sau đó được sấy ở 56°C trong 12 giờ và cân lại để xác định khối lượng khô.

Tỷ lệ phần trăm giảm khối lượng u hạt của lô thử so với lô chứng được tính theo công thức:

$$X \% = [(Mc - Mt)/Mc] \times 100$$

Trong đó: X% là tỷ lệ % giảm trọng lượng u hạt của lô thử so với lô chứng;

Mc là khối lượng u hạt trung bình của lô đối chứng và Mt là khối lượng u hạt trung bình của lô dùng thuốc nghiên cứu.

Việc so sánh khối lượng u hạt tươi, khô cũng như tỷ lệ % giảm khối lượng u hạt giữa các lô được sử dụng để đánh giá tác dụng ức chế viêm mạn của các chế phẩm thử nghiệm.

- Chỉ tiêu đánh giá tác dụng chống viêm mạn

- + Trọng lượng u hạt tươi.
- + % giảm trọng lượng u hạt tươi
- + Trọng lượng u hạt khô.
- + % giảm trọng lượng u hạt khô

2.5.3.3. Đánh giá tác dụng chống dị ứng trên mô hình gây ngứa

Nghiên cứu được tiến hành trên mô hình gây hành vi gãi ở chuột nhắt trắng do Compound 48/80 theo mô tả bởi Kwan-Kyu Park và cộng sự (2013), có sửa đổi [66].

- Thiết kế nghiên cứu: Chuột nhắt trắng chia thành các lô, mỗi lô 10 con:

- + Lô 1 (lô chứng): không gây ngứa, uống nước cất.
- + Lô 2 (mô hình): gây ngứa, uống nước cất.
- + Lô 3 (tham chiếu): gây ngứa, uống loratadin liều 10mg/kg.
- + Lô 4 (lô trị 1): gây ngứa, uống cao lỏng liều 19,2mL/kg/24h.
- + Lô 5 (lô trị 2): gây ngứa, uống cao lỏng liều 38,4mL/kg/24h.

Một ngày trước khi tiến hành thí nghiệm, chuột được cạo lông ở phần da lưng phía đầu cổ. Vào ngày thử nghiệm, chuột được nhốt vào lồng acrylic (22 x 22 x 24 cm) trong khoảng 10 phút để thích nghi với điều kiện thí nghiệm. Sau đó, chuột được cho uống nước cất, cao lỏng nghiên cứu hoặc thuốc tham chiếu

loratadin theo như phân lô. Một giờ sau khi điều trị, chuột được tiêm dưới da cổ Compound 48/80 0,4% pha trong nước muối sinh lý 0,9% liều 4mg/kg với thể tích 0,1mL/10g chuột để gây ngứa. Ngay sau tiêm, chuột được đưa trở lại lồng quan sát, mỗi chuột một lồng.

- *Chỉ tiêu đánh giá tác dụng chống dị ứng*

Chỉ tiêu nghiên cứu: Theo dõi phản ứng gãi của từng chuột ở các lô, gồm:

- + Thời gian từ lúc tiêm Compound 48/80 đến khi chuột bắt đầu gãi.
- + Số lần gãi trong mỗi 5 phút trong vòng 20 phút sau khi tiêm Compound 48/80.

2.6. Phương pháp xử lý dữ liệu trong nghiên cứu

Dữ liệu nghiên cứu được tổng hợp và xử lý bằng các phương pháp thống kê y sinh, sử dụng phần mềm Microsoft Excel kết hợp với SPSS phiên bản 20.0. Các kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình kèm theo độ lệch chuẩn ($\bar{X} \pm SD$).

Sự khác biệt giữa các nhóm độc lập được phân tích bằng phương sai một yếu tố (one-way ANOVA), kết hợp với phép kiểm hậu nghiệm thích hợp để so sánh từng cặp. Trong trường hợp so sánh giữa hai nhóm, kiểm định t Student được áp dụng. Mức ý nghĩa thống kê được xác định khi $p \leq 0,05$.

2.7. Phân tích sai số và biện pháp giảm thiểu

Trong quá trình nghiên cứu, nhóm tác giả nhận thức rõ khả năng phát sinh sai lệch từ khâu thu thập đến xử lý số liệu nên đã áp dụng nhiều biện pháp kiểm soát chặt chẽ. Cụ thể, các cá thể động vật thí nghiệm được tuyển chọn có tình trạng sức khỏe tốt, đặc điểm sinh học tương đối đồng nhất và không xuất hiện biểu hiện bất thường nhằm giảm sai khác ban đầu. Toàn bộ các thao tác thực nghiệm giữa các nhóm được tiến hành đồng thời theo cùng một quy trình và mốc thời gian để đảm bảo tính so sánh. Việc đo lường và ghi nhận kết quả được thực hiện cẩn trọng bằng hệ thống thiết bị phòng thí nghiệm đã được hiệu chuẩn, kết hợp xử lý dữ liệu bằng phần mềm chuyên dụng để nâng cao độ tin cậy. Bên cạnh đó, các tiêu chí đánh giá được xây dựng rõ ràng, phù hợp với mục tiêu nghiên cứu; toàn bộ dữ liệu và thông tin liên quan đều được lưu giữ đầy đủ thông qua sổ theo dõi và hình ảnh minh họa nhằm hạn chế tối đa sai số và nâng cao tính chính xác của kết quả.

2.8. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu này đã được Hội đồng bảo vệ đề cương của Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam thẩm định và chấp thuận Số 4733/QĐ-HVYDCT trước khi triển khai, đồng thời toàn bộ quá trình thực hiện đều bám sát nội dung đề cương đã được phê duyệt. Thí nghiệm được tiến hành trên chuột cống trắng và chuột nhắt trắng với số lượng động vật được sử dụng ở mức cần thiết thấp nhất, nhưng vẫn bảo đảm độ tin cậy khoa học và yêu cầu phân tích thống kê. Việc thu thập, xử lý và phân tích số liệu được thực hiện một cách khách quan, trung thực. Tất cả động vật thí nghiệm, bao gồm những trường hợp tử vong trong quá trình nghiên cứu (nếu có) và số chuột sau khi kết thúc thí nghiệm, đều được xử lý đúng theo các quy định hiện hành. Bên cạnh đó, việc lựa chọn động vật, điều kiện nuôi dưỡng, chăm sóc và sử dụng trong thí nghiệm đều tuân thủ nghiêm ngặt hướng dẫn của Bộ Y tế về thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng đối với thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu bào chế, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và đánh giá tác động tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”

3.1.1. Kết quả nghiên cứu bào chế cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”

Bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phụ” được chiết bằng nước theo phương pháp chiết nóng. Tiến hành khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất.

- Khảo sát ảnh hưởng của kích thước dược liệu

Các dược liệu sử dụng trong nghiên cứu đều đáp ứng yêu cầu chất lượng theo Dược điển Việt Nam V. Sau khi kiểm nghiệm, dược liệu được xử lý bằng cách nghiền bằng máy nghiền búa, sàng qua rây có kích thước mắt 2,0mm và bảo quản trong túi nilon kín. Dược liệu được cân theo đúng tỷ lệ của bài thuốc, sau đó trộn đồng nhất. Quá trình chiết xuất được thực hiện bằng dung môi nước với tỷ lệ dược liệu so với dung môi là 1:10, thời gian chiết 3 giờ; dịch chiết thu được được lọc và cô đến khi đạt dạng cao lỏng với tỷ lệ 2:1, sau đó tiếp tục cô đặc. Hàm ẩm của cao đặc được xác định để tính lượng cao khô quy đổi, từ đó làm cơ sở đánh giá hiệu suất chiết xuất. Số liệu trình bày ở Bảng 3.1 cho thấy mẫu dược liệu được nghiền thô cho hiệu suất chiết cao hơn (15,08%) so với mẫu dược liệu dạng phiến (13,10%), vì vậy dược liệu nghiền thô được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm khảo sát và tối ưu hóa các thông số của quy trình chiết xuất

Bảng 3.1 Ảnh hưởng của kích thước dược liệu

Mẫu thử		Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao đặc (g)	Hàm ẩm (%)	Cao khô (g)	Hiệu suất (%)
Phiến	Lần 1	80,62	13,12	19,30	10,59	13,13
	Lần 2	80,21	12,58	19,60	10,11	12,61
	Lần 3	80,35	13,46	19,10	10,89	13,55
	$\bar{X} \pm SD$				10,53±0,39	13,10±0,47
Bột thô	Lần 1	80,32	14,56	18,90	11,81	14,70
	Lần 2	80,47	14,98	19,20	12,10	15,04
	Lần 3	80,55	15,35	18,60	12,49	15,51
	$\bar{X} \pm SD$				12,14 ± 0,34	15,08 ± 0,41

- Khảo sát thời gian và số lần chiết xuất

Trên cơ sở lựa chọn phương pháp chiết nóng bằng nước và sử dụng dược liệu ở dạng bột thô, nghiên cứu tiến hành khảo sát thời gian chiết với các điều kiện khác nhau, bao gồm: chiết 0,5 giờ mỗi lần trong 4 lần liên tiếp; chiết 1 giờ mỗi lần trong 4 lần; và chiết 2 giờ mỗi lần trong 4 lần. Dịch chiết của từng lần được thu riêng, cô đặc đến cao khô tuyệt đối và xác định khối lượng cao thu được sau mỗi lần chiết. Kết quả thu hồi cao dược liệu ở các lần chiết khác nhau được trình bày tại Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Khối lượng cao thu được từ các lần chiết ở các thời gian chiết khác nhau

Thời gian/số lần		Khối lượng dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Tỷ lệ % so với toàn bộ cao chiết
0,5 h	Lần 1	80,16	6,42	59,50
	Lần 2		2,66	24,65
	Lần 3		1,15	10,66
	Lần 4		0,56	5,19
	Tổng		10,79	100
1 h	Lần 1	80,25	9,68	65,23
	Lần 2		3,76	25,34
	Lần 3		1,11	7,48
	Lần 4		0,29	1,95
	Tổng		14,84	100
2 h	Lần 1	80,31	10,39	67,34
	Lần 2		4,27	27,67
	Lần 3		0,54	3,50
	Lần 4		0,23	1,49
	Tổng		15,43	100

Nhận xét:

- Tiến hành khảo sát thời gian và số lần chiết dựa trên cao chiết được nhận thấy:
- + Khi thời gian chiết tăng thì lượng cao chiết được cũng tăng lên. Khối lượng cao thu được ở tập trung chủ yếu ở 3 lần chiết đầu tiên lần lượt 94,81%; 98,05% và 98,51%.

+ Nhận thấy lượng cao thu được với thời gian chiết 1h/lần (14,84g) không khác biệt nhiều so với 2h/lần (15,43g). Lựa chọn thời gian chiết là 1h/lần sẽ tiết kiệm chi phí hơn so với 2h/lần. Đồng thời tổng khối lượng cao thu được ở 3 lần chiết đầu trong điều kiện 1h/lần (98,05%), ở lần chiết 4 sản phẩm thu được rất ít (1,95%). Mặt khác dịch chiết lần thứ 4 âm tính với phản ứng định tính của phòng phong, nên lần chiết thứ 3 được coi như đã chiết kiệt hoạt chất.

- Khảo sát tỉ lệ dược liệu/dung môi

Trên cơ sở các điều kiện chiết đã được lựa chọn trước đó, bao gồm sử dụng nước làm dung môi, tiến hành chiết ở nhiệt độ sôi, mỗi lần chiết kéo dài 1 giờ và lặp lại 3 lần, nghiên cứu tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của các tỷ lệ dung môi khác nhau là 1/8, 1/10 và 1/12. Dịch chiết tổng được cô đặc đến cao khô tuyệt đối và xác định khối lượng cao thu được. Hiệu suất chiết cao thu được tương ứng với từng tỷ lệ được tổng hợp và trình bày trong Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Bảng hiệu suất chiết suất cao

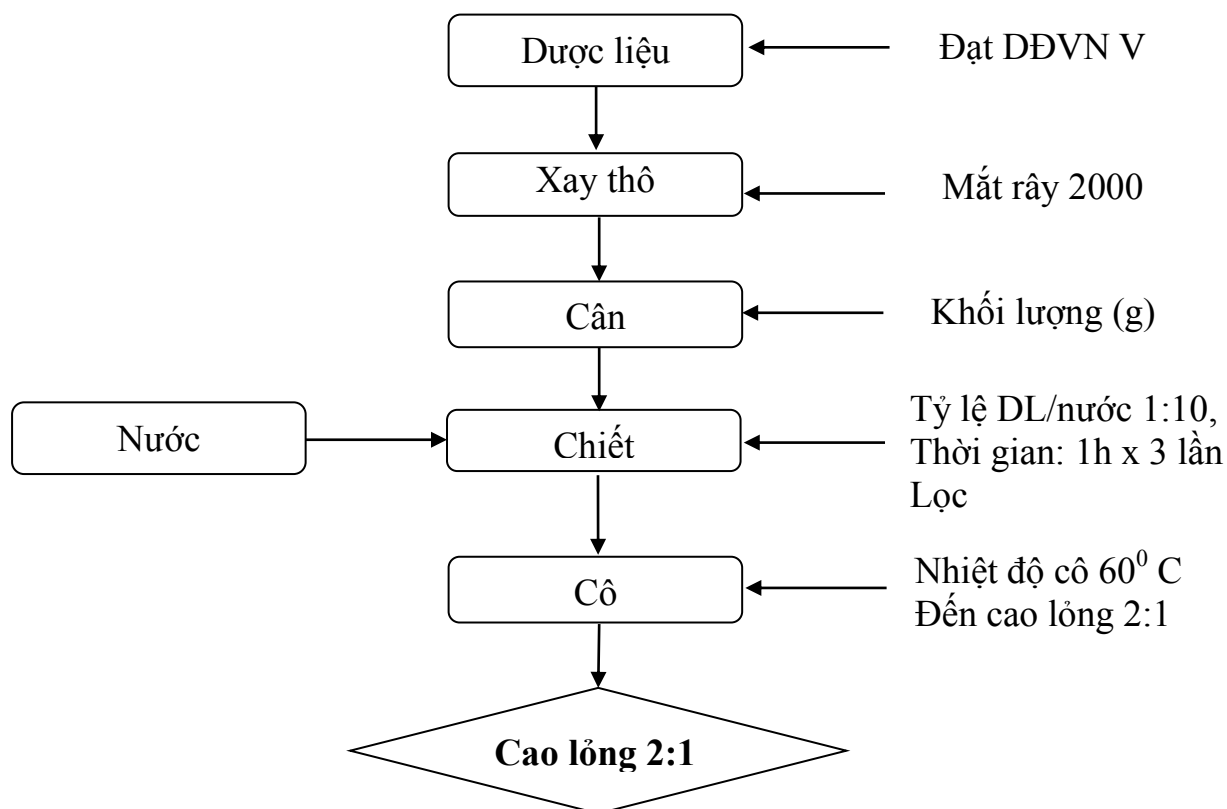
Tỷ lệ Dược liệu/ Dung môi		Khối lượng Dược liệu (g)	Khối lượng cao (g)	Hiệu suất (%)
1/8	Lần 1	80,12	12,05	15,04
	Lần 2	80,06	11,81	14,75
	Lần 3	80,21	11,66	14,54
	$\bar{X} \pm SD$		11,84 $\pm$ 0,20	14,78 $\pm$ 0,25
1/10	Lần 1	80,16	15,12	18,86
	Lần 2	80,03	15,68	19,59
	Lần 3	80,09	14,98	18,70
	$\bar{X} \pm SD$		15,26 $\pm$ 0,37	19,05 $\pm$ 0,47
1/12	Lần 1	80,12	15,65	19,53
	Lần 2	80,05	16,06	20,06
	Lần 3	80,18	15,19	18,94
	$\bar{X} \pm SD$		15,63 $\pm$ 0,44	19,51 $\pm$ 0,56

Nhận xét:

Kết quả bảng 3.3 cho thấy hiệu suất chiết xuất cao toàn phần khi chiết với tỉ lệ dược liệu/dung môi là 1/8 (14,78%) là thấp nhất, ở tỷ lệ 1/10 khối lượng cao khô tuyệt đối thu được là 15,26g và hiệu suất chiết xuất 19,05% không khác biệt nhiều so với sử dụng tỉ lệ dược liệu/dung môi là 1/12 với lượng cao khô tuyệt đối là 15,63g và hiệu suất chiết xuất là 19,51%.

Kết luận: Từ kết quả khảo sát các điều kiện chiết xuất cao từ hỗn hợp dược liệu bài thuốc đã lựa chọn các điều kiện chiết xuất như sau:

- Dược liệu được xay thô qua mắt rây 2.000
- Dung môi chiết xuất: Nước
- Nhiệt độ chiết xuất: chiết hồi lưu ở nhiệt độ sôi của dung môi (khoảng 100°C)
- Thời gian chiết: chiết 3 lần, mỗi lần 1h
- Tỉ lệ dược liệu/dung môi: 1/10



Hình 3.1. Quy trình bào chế cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”

- Áp dụng quy trình chiết xuất

Tiến hành chiết xuất với 3 mẻ dược liệu theo quy trình đã xây dựng, mỗi mẻ 1600g dược liệu tương đương với 10 thang thuốc. Kết quả hiệu suất chiết xuất cao dược liệu được trình bày trong bảng 3.4. cho thấy quy trình chiết suất ổn định ở quy mô 10 thang thuốc (1600g) dược liệu đầu vào

Bảng 3.4. Hiệu suất chiết xuất quy mô 10 thang thuốc

Mẻ	Dược liệu (g)	Cao đặc (g)	Hàm ẩm (%)	Cao khô tuyệt đối (g)	Hiệu suất (%)
Mẻ 1	1600,19	381,08	18,60	310,20	19,39
Mẻ 2	1600,12	372,24	17,90	305,61	19,10
Mẻ 3	1600,06	366,82	18,20	300,06	18,75
$\bar{X} \pm SD$				305,29 $\pm$ 5,08	19,08 $\pm$ 0,32

3.1.2. Kết quả xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”

Nghiên cứu xây dựng các chỉ tiêu đánh giá chất lượng cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” dựa trên các chỉ tiêu theo hướng dẫn của Dược Điển Việt Nam V: hình thức, định tính và giới hạn nhiễm khuẩn.

3.1.2.1. Hình thức

Cao ở dạng dịch lỏng, màu nâu, không có nấm mốc, mùi thơm dược liệu, vị ngọt, hơi đắng..

3.1.2.2. Định tính

a. Phòng phong:

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

*** Dụng cụ và thuốc thử**

- Bản mỏng Silica gel GF_{254} , Merk
- Dung dịch acetone, ethanol 96%.
- Dung môi triển khai sắc ký: Hỗn hợp của chloroform – methanol (4:1, v/v)

Lấy 20mL cao lỏng, cô đến khô trên cách thủy. Cắn được hòa tan trở lại bằng 1mL ethanol 96%, được dung dịch thử chấm sắc ký. Tiến hành sắc ký lớp mỏng song song với dung dịch chuẩn và cách tiến hành như sau:

+ Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 1,0g bột phòng phong chuẩn vào bình nón nút mài 50mL, thêm 20mL acetone, siêu âm 20 phút, lọc, cô dịch lọc trong cách thủy đến cạn, hòa cồn trong 1mL ethanol 96%.

+ Dung môi khai triển: Hỗn hợp của chloroform – methanol (4:1, v/v)

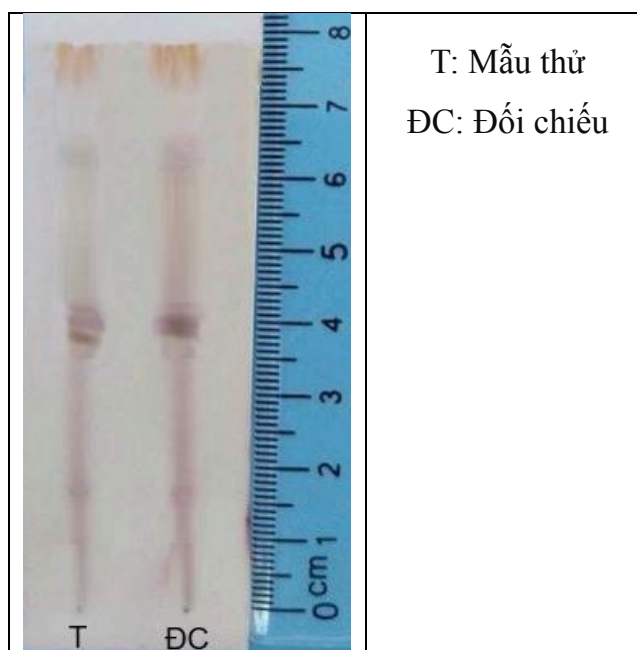
+ Bản mỏng: Silica gel GF_{254} , Merk, hoạt hoá ở 100 - 105°C trong 30 phút

* *Thuốc thử hiện màu:*

Phun dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol (TT).

+ Tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254nm. Phun dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT).

Kết quả: Sắc ký đồ của mẫu thử có các vết cùng màu, cùng R_f với vết của mẫu đối chiếu (hình 3.2).



Hình 3.2. Sắc ký đồ lớp mỏng định tính Phòng phong

b. Ngưu Bàng Tử:

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (DĐVN V, phụ lục 5.4)

* *Dụng cụ và thuốc thử*

- Bản mỏng Silica gel G, Merk, hoạt hoá ở 100 - 105°C trong 30 phút

- Dung dịch methanol (TT), ethanol 96 % (TT).
- Dung môi triển khai sắc ký: *Cloroform – methanol– nước* (40 : 8 : 1).
- Thuốc thử hiện màu: Phun dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT).
- *Dung dịch mẫu thử:*

Lấy 20mL cao lỏng, cô đến cạn trên cách thủy. Hòa tan cạn trong 2mL *methanol (TT)* được *dung dịch thử*.

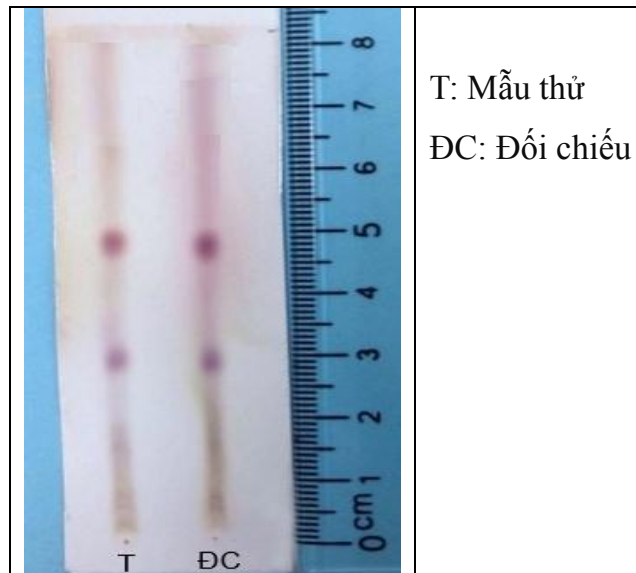
** Dung dịch mẫu đối chiếu*

Lấy 0,5g bột Nguru bàng tử chuẩn (mẫu chuẩn), thêm 20mL *ethanol 96% (TT)*, chiết siêu âm 30 phút, lọc. Bóc hơi dịch lọc tới cạn, hòa cạn trong 2mL *methanol (TT)* được *dung dịch mẫu đối chiếu*.

** Tiến hành sắc ký*

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường.

Kết quả: Sắc ký đồ của mẫu thử có các vết cùng màu, cùng R_f với vết của mẫu đối chiếu (hình 3.3).



Hình 3.3. Sắc ký đồ lớp mỏng định tính Nguru bàng tử

c. Thương truật:

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (ĐBVN V, phụ lục 5.4)

- Dụng cụ và thuốc thử

- + Bản mỏng Silica gel F254, Merk, hoạt hoá ở 100 - 105°C trong 30 phút
- + Dung dịch *ethyl acetal* (TT), ethanol tuyệt đối (TT).
- + Dung môi triển khai sắc ký: n - Hexan – ethyl acetat (10:0,8).
- + Thuốc thử hiện màu: dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd 5% trong dung dịch acid sulfuric 10% (TT).

- Dung dịch mẫu thử

Lấy 20mL cao lỏng, cô đến cạn trên cách thủy. Hòa tan cặn bằng 1mL ethanol tuyệt đối, được dung dịch chấm sắc ký.

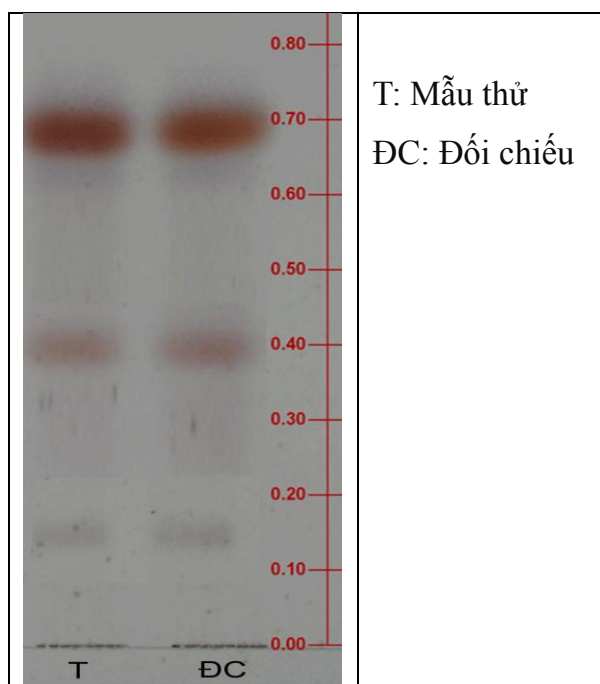
- Dung dịch mẫu đối chiếu

Lấy 1g bột Thương truật chuẩn (mẫu chuẩn), 10mL ethyl acetal (TT), siêu âm 15 min, lọc, lấy dịch lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cặn trong 1mL ethanol tuyệt đối được dung dịch mẫu đối chiếu.

- Tiến hành sắc ký

Chấm riêng rẽ 10μl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd 5 % trong dung dịch acid sulfuric 10 % (TT), sấy bản mỏng ở 105°C tới khi hiện rõ vết (khoảng 2 phút).

Kết quả: Sắc ký đồ của mẫu thử có các vết cùng màu, cùng R_f với vết của mẫu đối chiếu (hình 3.4)



Hình 3.4. Sắc ký đồ lớp mỏng định tính Thương truật

3.1.2.3. Giới hạn nhiễm khuẩn

Giới hạn nhiễm khuẩn được thử theo phụ lục 13.6 (thử giới hạn nhiễm khuẩn) - DDVN V. Kết quả mẫu cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” đạt yêu cầu mức 4 theo Dược điển Việt Nam V thể hiện trong bảng 3.5.

Bảng 3.5. Kết quả kiểm tra giới hạn nhiễm khuẩn cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”

Chỉ tiêu và tiêu chuẩn áp dụng	Kết quả	Yêu cầu
Thử giới hạn nhiễm khuẩn: Phương pháp đĩa thạch	1580 CFU/g	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 10.000 CFU/g
	18 CFU/g	Tổng số nấm men và mốc không quá 100 CFU/g
	< 25 CFU/g	<i>Enterobacteria</i> không quá 500 CFU/g
	Không phát hiện thấy	Không được có <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Salmonella</i> trong 1g

Kết quả trên cho thấy mẫu thử cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” đạt giới hạn nhiễm khuẩn theo mức 4, phụ lục 13.6, ĐĐVN V.

Từ kết quả đánh giá chất lượng cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”, tiêu chuẩn cơ sở của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” được xây dựng như sau:

+ *Tính chất*: Cao lỏng, màu nâu, không có nấm mốc, mùi thơm dược liệu, vị ngọt, hơi đắng..

+ *Định tính*: Chế phẩm phải thể hiện phép thử định tính của dược liệu: phòng phong, ngưu bàng tử và thương truật. Đánh giá định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, theo ĐĐVN V, phụ lục 5.4.

+ *Độ nhiễm khuẩn*: Phải đạt yêu cầu mức 4, phụ lục 13.6, ĐĐVN IV.

3.1.3. Kết quả đánh giá độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”

3.1.3.1. Kết quả thử nghiệm thăm dò liều ban đầu

Bảng 3.6. Kết quả thử nghiệm thăm dò liều ban đầu

Chuột thí nghiệm	Liều dùng (mL/kg thể trọng)	Kết quả theo dõi trong 72 giờ đầu	Kết quả theo dõi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 14
Chuột 1	20mL/kg	Chuột bình thường	Chuột bình thường
Chuột 2	40mL/kg	Chuột bình thường	Chuột bình thường
Chuột 3	60mL/kg	Chuột bình thường	Chuột bình thường

Nhận xét:

Bảng 3.6 cho thấy, cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” cho chuột uống ở mức liều 20mL/kg; 40mL/kg; 60mL/kg ở cùng thể tích 0,2mL/10g/lần x 3 lần (tức 60 mL/kg). Sau khi uống chuột ở trạng thái bình thường. Sau 72h uống thuốc, không có chuột thí nghiệm nào bị chết. Sau 14 ngày uống thuốc cho thấy các chuột hoạt động, vận động bình thường, đi ngoài phân bình thường, không có chuột nào chết cũng như có biểu hiện độc tính. Với các mức liều cho uống, chưa thấy có chuột nào có biểu hiện độc tính. Vì vậy liều thử chính thức được chọn là ở các mức liều tương đương hoặc cao hơn so với các mức liều đã dùng trong thử nghiệm thăm dò.

3.1.3.2. Kết quả thử nghiệm chính thức

a. Kết quả về tình trạng của chuột

Bảng 3.7. Kết quả về tình trạng của chuột

(n= 06 con/lô, liều theo thử nghiệm)

Tình trạng	Lô 1 (60mL/kg)	Lô 2 (90mL/kg)	Lô 3 (120mL/kg)	Lô 4 (150mL g/kg)
Hoạt động, vận động trong 72 giờ đầu	Hoạt động, vận động bình thường			
Hoạt động, vận động trong 14 ngày	Hoạt động, vận động bình thường			
Tình trạng ăn uống sau 72 giờ	Tình trạng ăn uống bình thường			
Tình trạng ăn uống sau 7 ngày	Tình trạng ăn uống bình thường			
Tình trạng chất thải sau 72 giờ	Tình trạng chất thải bình thường			
Tình trạng chất thải sau 7 ngày	Tình trạng chất thải bình thường			
Tình trạng thần kinh thực vật sau 72 giờ	Tình trạng thần kinh thực vật bình thường			
Tình trạng thần kinh thực vật sau 7 ngày	Tình trạng thần kinh thực vật bình thường			
Tình trạng hô hấp sau 72 giờ	Tình trạng hô hấp bình thường			
Tình trạng hô hấp sau 7 ngày	Tình trạng hô hấp bình thường			
Biểu hiện bất thường khác sau 72 giờ	Không có biểu hiện bất thường			
Biểu hiện bất thường khác sau 7 ngày	Không có biểu hiện bất thường			

Nhận xét:

- Chuột uống mẫu thử ở các lô với các mức liều từ 60mL/kg đến 150mL/kg, theo dõi chuột ở các lô sau 72h cũng như sau 14 ngày uống mẫu thử thấy tình trạng chuột ở các lô (gồm tình trạng hoạt động, vận động; tình trạng ăn uống; chất thải; thần kinh thực vật; hô hấp và các biểu hiện khác) đều bình thường, không có bất thường.

b. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô sau khi uống mẫu thử

Bảng 3.8. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô sau khi uống mẫu thử

Lô chuột	Số chuột sống/chết sau 72 giờ	Số chuột sống/chết sau 7 ngày
Lô 1 (60mL/kg)	06/0	06/0
Lô 2 (90mL/kg)	06/0	06/0
Lô 3 (120mL/kg)	06/0	06/0
Lô 4 (150mL/kg)	06/0	06/0

Nhận xét:

- Chuột uống mẫu thử ở các lô với các mức liều từ 60mL/kg đến 150mL/kg, theo dõi chuột ở các lô sau 72h cũng như sau 14 ngày uống mẫu thử không thấy có chuột nào chết.

Như vậy, chưa xác định thấy chuột có biểu hiện độc tính cũng như không xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng. Liều dung nạp tối đa của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trong thử nghiệm độc tính cấp ở chuột nhắt trắng là 150mL/kg.

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên thực nghiệm.

3.2.1. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”

3.2.1.1. Tác dụng chống viêm cấp

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.9, 3.10 và 3.11

Bảng 3.9. Thể tích bàn chân gây viêm của chuột nghiên cứu

($n = 10$ ở mỗi lô, $\bar{X} \pm SD$)

Lô chuột	Thể tích bàn chân gây viêm của chuột (mL)				
	V0	V2	V4	V6	V24
Lô chứng (1)	2,23 $\pm$ 0,22	3,39 $\pm$ 0,30	3,45 $\pm$ 0,29	3,36 $\pm$ 0,33	2,53 $\pm$ 0,22
Diclofenac (2)	2,27 $\pm$ 0,28	2,94 $\pm$ 0,27	3,00 $\pm$ 0,23	2,97 $\pm$ 0,28	2,46 $\pm$ 0,23
TĐDP-1 (3)	2,22 $\pm$ 0,19	2,91 $\pm$ 0,22	2,94 $\pm$ 0,19	2,91 $\pm$ 0,24	2,40 $\pm$ 0,19
TĐDP-2 (4)	2,18 $\pm$ 0,18	2,80 $\pm$ 0,27	2,88 $\pm$ 0,23	2,84 $\pm$ 0,27	2,36 $\pm$ 0,24
P_{2,3,4-1}	> 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	> 0,05
P_{3,4-2}; P₄₋₃	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

One-way ANOVA và t-Student

Nhận xét:

Sau khi gây viêm bằng carragenin, hiện tượng phù nề bàn chân được ghi nhận rõ ràng ở toàn bộ chuột thí nghiệm. Mức độ phù tăng dần theo thời gian và đạt cực đại tại thời điểm 4 giờ sau tiêm ở tất cả các lô nghiên cứu, sau đó có xu hướng giảm tại thời điểm 6 giờ.

So với lô mô hình, thể tích bàn chân của chuột ở các lô được điều trị bằng TĐDP và lô sử dụng diclofenac giảm có ý nghĩa thống kê tại các thời điểm 2, 4 và 6 giờ sau tiêm carragenin ($p < 0,01$). Khi so sánh hiệu quả giữa các lô dùng TĐDP với nhau, cũng như giữa các lô dùng TĐDP và lô diclofenac, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của mẫu thử tới tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân gây viêm của chuột ở các thời điểm sau gây viêm

Các lô thí nghiệm		% tăng thể tích bàn chân gây viêm của chuột ở các thời điểm sau gây viêm			
		V2	V4	V6	V24
Lô chứng	(1)	51,90±7,74	54,87±6,28	50,65±6,12	13,48±3,34
Diclofenac	(2)	29,83±7,60	32,71±7,84	31,16±7,52	8,69±3,67
TĐDP-1	(3)	31,02±6,05	32,73±6,20	31,24±7,20	8,10±2,90
TĐDP-2	(4)	28,29±6,01	32,11±4,39	30,07±6,75	8,11±3,79
P_{2,3,4-1}		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,01
P_{3,4-2}; P₄₋₃		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

One-way ANOVA và t-Student

Nhận xét:

So với lô chứng (lô 1), % tăng thể tích bàn chân gây viêm của chuột ở các lô dùng thuốc diclofenac (lô 2) và các lô dùng TĐDP (lô 3, lô 4) giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$ tại V₂, V₄, V₆ và $p < 0,01$ tại V₂₄).

Khi đối chiếu các lô sử dụng TĐDP với nhau và so sánh thêm với lô đối chứng dùng diclofenac, mức độ gia tăng thể tích bàn chân do viêm ở chuột giữa các lô không ghi nhận sự chênh lệch có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.11. Phần trăm ức chế phù viêm bàn chân chuột

Thời điểm sau gây viêm	Phần trăm ức chế phù viêm bàn chân chuột (%)			
	Lô chứng	TĐDP-1	TĐDP-2	p
V2	42,53	40,22	45,49	> 0,05
V4	40,38	40,34	41,47	
V6	38,48	38,32	40,65	
V24	35,51	39,87	39,79	
$\bar{x} \pm SD$	39,23 $\pm$ 2,98	39,69 $\pm$ 0,93	41,85 $\pm$ 2,52	

One-way ANOVA

Nhận xét:

Sau 2 giờ kể từ khi gây phù viêm, lô sử dụng thuốc Diclofenac và các lô được dùng TĐDP đều ghi nhận tác dụng ức chế phản ứng viêm một cách rõ ràng. Tỷ lệ % ức chế phù viêm của các lô này lần lượt đạt 42,53%, 40,22% và 45,49%. Hiệu quả chống viêm được biểu hiện mạnh nhất tại các thời điểm 2 giờ và 4 giờ sau gây phù. Ở các thời điểm tiếp theo, tác dụng có xu hướng giảm dần nhưng vẫn được duy trì ở mức tương đối cao, luôn trên 35% cho đến thời điểm theo dõi cuối. So sánh kết quả cho thấy tỷ lệ % ức chế phù bàn chân chuột ở các lô dùng TĐDP với cả hai mức liều là tương đương với lô dùng diclofenac, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các lô ($p > 0,05$).

3.2.1.2. Tác dụng chống viêm mạn

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.12, 3.13

Bảng 3.12. Kết quả đánh giá trọng lượng u hạt tươi

Lô nghiên cứu	Trọng lượng u hạt tươi		p
	$\bar{x} \pm SD$	% giảm trọng lượng u hạt tươi	
Mô hình (1)	116,69 $\pm$ 38,32	-	$p_{2,3,4-1} < 0,01$
Prednisolon (2)	64,45 $\pm$ 17,13	44,77%	
TĐDP-1 (3)	67,64 $\pm$ 13,49	42,03%	$p_{3,4-2} > 0,05$
TĐDP-2 (4)	66,41 $\pm$ 23,02	43,09%	$p_{3,4} > 0,05$

One-way ANOVA và phép kiểm hậu nghiệm (post-hoc)

Nhận xét:

Kết quả cho thấy, việc sử dụng Prednisolon cũng như TĐDP ở hai lô thí nghiệm đều làm giảm đáng kể cân nặng u hạt tươi so với lô chứng uống nước cất, với mức ý nghĩa thống kê cao ($p < 0,001$). So với lô mô hình, tỷ lệ giảm cân nặng u hạt tươi ở các lô này lần lượt đạt 44,77%, 42,03% và 43,09%.

Phân tích so sánh giữa lô Prednisolon và hai lô sử dụng TĐDP không ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa thống kê về cân nặng u hạt tươi ($p > 0,05$).

Bảng 3.13. Kết quả đánh giá trọng lượng u hạt khô

Lô nghiên cứu	Trọng lượng u hạt khô		p
	$\bar{x} \pm SD$	% giảm trọng lượng u hạt khô	
Mô hình (1)	39,07 $\pm$ 13,39	-	$p_{2,3,4-1} < 0,01$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3,4} > 0,05$
Prednisolon (2)	21,70 $\pm$ 4,54	44,44	
TĐDP-1 (3)	22,60 $\pm$ 4,74	42,15	
TĐDP-2 (4)	21,85 $\pm$ 5,16	44,07	

One-way ANOVA và phép kiểm hậu nghiệm (post-hoc)

Nhận xét:

Kết quả nghiên cứu cho thấy cân nặng u hạt khô ở các lô được xử trí bằng Prednisolon và TĐDP (hai lô) đều giảm rõ rệt khi đối chiếu với lô mô hình uống nước cất; sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Mức độ giảm cân nặng u hạt khô so với lô mô hình tương ứng là 44,44%, 42,15% và 44,07%.

Khi tiến hành so sánh nội bộ giữa lô Prednisolon và hai lô sử dụng TĐDP, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về cân nặng u hạt khô ($p > 0,05$).

3.2.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”

3.2.2.1. Kết quả đánh giá thời gian xuất hiện gãi.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.14

Bảng 3.14. Ảnh hưởng của mẫu thử tới thời gian xuất hiện gãi

($n = 10$ ở mỗi lô, $\bar{X} \pm SD$).

Lô nghiên cứu	Trung bình thời gian xuất hiện gãi (giây)	p
Lô chứng bệnh (1)	258,03 $\pm$ 73,03	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
Loratadin (2)	352,76 $\pm$ 86,01	
TDDP-1 (3)	346,48 $\pm$ 86,84	
TDDP-2 (4)	359,61 $\pm$ 90,50	

One-way ANOVA và phép kiểm hậu nghiệm (post-hoc)

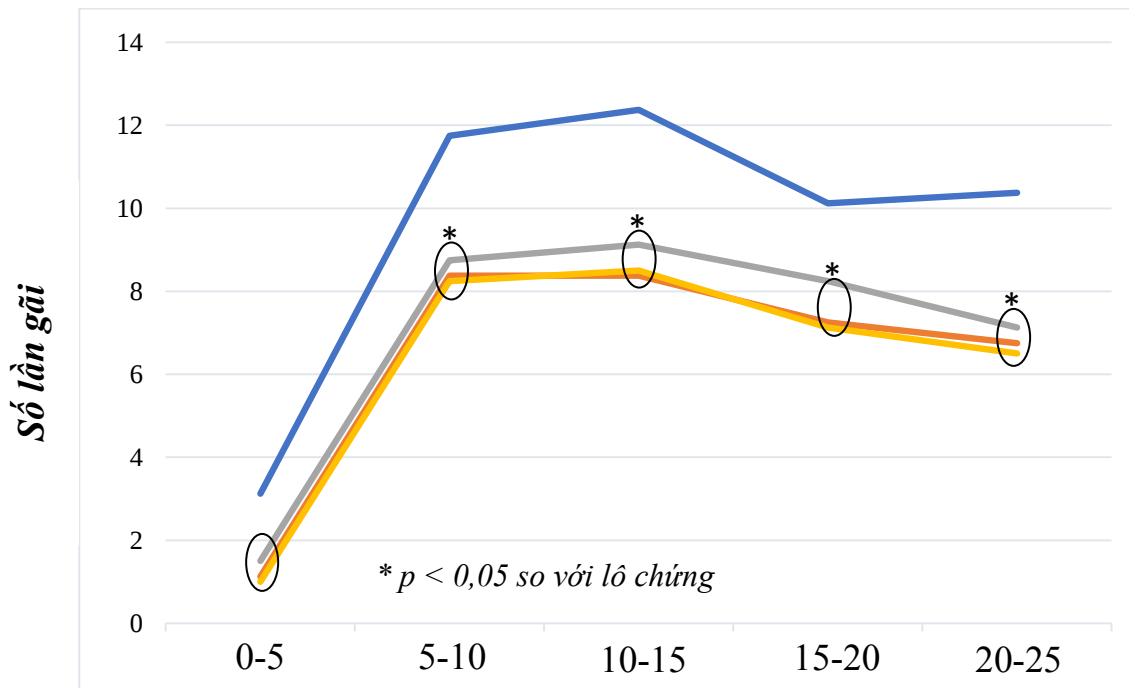
Nhận xét:

Kết quả bảng 3.14 cho thấy:

- So với lô chứng, các lô dùng cao lỏng và lô dùng thuốc tham chiếu Loratadin có trung bình thời gian xuất hiện gãi lớn hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).
- Không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về thời gian xuất hiện gãi giữa các lô dùng cao lỏng TDDP và lô tham chiếu loratadin ($p > 0,05$)

3.2.2.2. Kết quả đánh giá số lần gãi trong từng khoảng thời gian 5 phút

Kết quả được thể hiện ở biểu đồ 3.1.



Các khoảng thời gian 5 phút sau tiêm Compound 48/80

Biểu đồ 3.1. Số lần gãi của các lô nghiên cứu đo được

ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm Compound 48/80.

Kết quả biểu đồ 3.1 cho thấy:

Trong cả 5 khoảng thời gian đo, số lần gãi ở các lô dùng cao lỏng liều 19,2 g/kg/24h (màu xanh lá cây), lô dùng cao lỏng liều 38,4g/kg/24h (màu xanh nước biển) và lô tham chiếu dùng Loratadin (màu nâu) đều có xu hướng thấp hơn so với lô chứng bệnh (màu xanh da trời). Tuy nhiên, tại khoảng thời gian đo 0-5 phút, sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Tại các khoảng thời gian đo 5-10 phút, 10-15 phút, 15-20 phút, và 20-25 phút số lần gãi ở các lô dùng cao lỏng TDDP và lô dùng Loratadin giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$). Sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2.2.3. Kết quả đánh giá tổng số lần gãi trong 25 phút sau tiêm Compound 48/80.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.15.

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của cao lỏng tới tổng số lần gãi ($n = 10$).

Lô nghiên cứu	Số lần gãi trong 25 phút sau tiêm Compound 48/80.	Tỷ lệ (%) giảm số lần gãi so với lô chứng bệnh
Lô chứng bệnh (1)	47,75 ± 7,91	-
Loratadin (2)	31,88 ± 9,43	33,25 %
TDDP-1 (3)	34,75 ± 7,92	27,23 %
TDDP-2 (4)	31,75 ± 9,60	34,29 %
<i>p</i>	$p_{2,3,4-1} < 0,01$ $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	-

One-way ANOVA và phép kiểm hậu nghiệm (post-hoc)

Kết quả ở bảng 3.5 cho thấy: so với lô chứng bệnh, tổng số lần gãi trong 25 phút sau tiêm Compound 48/80 ở lô dùng thuốc tham chiếu Loratadin và hai lô dùng cao lỏng TDDP đều giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Tính toán ở trong khoảng thời gian 25 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số lần gãi ở lô dùng Loratadin liều 10mg/kg/ngày, và các lô dùng cao lỏng cả 2 mức liều 19,2g/kg/24h và 38,40g/kg/ngày, lần lượt là 33,25 %; 27,23 %; và 34,29 %.

- So với lô tham chiếu dùng Loratadin liều 10mg/kg/ngày, số lần gãi trong cả 25 phút sau tiêm Compound 48/80 ở các lô dùng cao lỏng cả 2 mức liều (19,2 g/kg/24h và 38,40g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So với ở lô dùng cao lỏng liều thấp, ở lô dùng cao lỏng liều cao có số lần gãi trong cả 25 phút sau tiêm Compound 48/80 ít hơn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về quy trình bào chế, tiêu chuẩn cơ sở và độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”

4.1.1. Về quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu

Theo quan điểm của Y học cổ truyền, bài thuốc được xây dựng trên nguyên tắc điều trị chỉnh thể, trong đó các vị dược liệu không tồn tại độc lập mà được sắp xếp và phối hợp theo trật tự quân, thần, tá, sứ, mỗi vị đảm nhiệm một vai trò nhất định trong toàn phương. Sự phối hợp này tạo nên mối quan hệ tương hỗ và điều hòa lẫn nhau giữa các vị thuốc, giúp phát huy công năng chung, mở rộng phạm vi tác dụng và hạn chế những thiên lệch có thể xảy ra khi sử dụng từng vị thuốc riêng rẽ. Chính đặc điểm phối ngũ chặt chẽ này đã hình thành nên bản chất tác dụng tổng hợp và toàn diện của bài thuốc cổ truyền [67].

Xuất phát từ nền tảng lý luận đó, việc lựa chọn phương pháp chiết xuất toàn bài thuốc theo phương pháp cổ truyền, thay vì tiến hành tách chiết riêng lẻ từng vị, được xem là phù hợp cả về mặt học thuật lẫn thực tiễn bào chế. Chiết xuất toàn phương cho phép duy trì sự hài hòa vốn có giữa các nhóm vị thuốc có tác dụng chủ đạo và hỗ trợ, qua đó hạn chế nguy cơ làm biến đổi hoặc làm suy giảm hiệu quả tổng hợp của phương thuốc trong quá trình chiết xuất. Đồng thời, cách tiếp cận này cũng phù hợp với quan điểm điều trị của Y học cổ truyền, coi trọng tác dụng toàn diện, điều hòa và bền vững của bài thuốc đối với cơ thể, đặc biệt trong các chứng bệnh có cơ chế bệnh sinh phức tạp và dễ tái phát [67].

Bên cạnh ý nghĩa về mặt lý luận, phương pháp chiết xuất toàn bài thuốc còn thể hiện nhiều ưu điểm rõ rệt về mặt kỹ thuật và khả năng ứng dụng. Quy trình chiết xuất tương đối đơn giản, dễ chuẩn hóa và thuận lợi cho việc triển khai ở quy mô lớn, qua đó góp phần giảm chi phí sản xuất và tạo tiền đề cho việc phát triển các chế phẩm có nguồn gốc từ bài thuốc cổ truyền theo hướng ứng dụng thực tiễn.

Tuy nhiên, việc áp dụng phương pháp chiết xuất toàn phương chỉ phù hợp khi các dược liệu cấu thành có đặc điểm chiết xuất tương đối đồng nhất, không có

sự khác biệt lớn về tính chất dược liệu cũng như điều kiện chiết tách. Trong trường hợp các vị thuốc đòi hỏi những điều kiện chiết xuất quá khác biệt về dung môi, nhiệt độ hoặc thời gian, việc chiết xuất chung có thể làm giảm hiệu quả khai thác dược tính của từng vị.

Trong bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phụ”, phần lớn các dược liệu đều có phương pháp sử dụng truyền thống là sắc với nước, với thời gian và cách thức đun sắc tương đối tương đồng theo quy trình bào chế đông dược. Các vị thuốc không yêu cầu những điều kiện chiết xuất đặc thù riêng biệt, do đó bảo đảm tính phù hợp khi áp dụng phương pháp chiết xuất toàn bài. Trên cơ sở này, nhóm nghiên cứu lựa chọn phương pháp chiết xuất bằng nhiệt nóng với dung môi là nước, vừa phù hợp với lý luận Y học cổ truyền, vừa đáp ứng yêu cầu về tính khả thi, tính ổn định và khả năng ứng dụng trong nghiên cứu cũng như trong sản xuất.

Kết quả khảo sát số lần và thời gian chiết cho thấy khi tăng số lần chiết, lượng cao thu được có xu hướng tăng, song mức tăng giảm dần qua các lần chiết tiếp theo. Cụ thể, phần lớn khối lượng cao được thu hồi trong ba lần chiết đầu tiên, với tỷ lệ thu hồi đạt trên 98%, trong khi các lần chiết sau chỉ đóng góp một tỷ lệ rất nhỏ. Hiện tượng này phù hợp với quy luật khuếch tán và hòa tan của các hợp chất tan trong nước, trong đó các hoạt chất có khả năng hòa tan cao được giải phóng sớm, còn các thành phần khó tan hoặc gắn chặt với cấu trúc mô dược liệu chỉ được chiết ra với lượng rất hạn chế ở các lần sau. Nhiều nghiên cứu về bào chế cao dược liệu cũng ghi nhận rằng sau 2–3 lần chiết, dược liệu thường được coi là đã chiết kiệt về mặt hoạt chất chính, và việc tiếp tục chiết chỉ làm tăng hàm lượng tạp chất hơn là nâng cao giá trị điều trị của chế phẩm.

So sánh giữa hai điều kiện thời gian chiết 1 giờ/lần và 2 giờ/lần, kết quả cho thấy sự khác biệt về khối lượng cao thu được là không đáng kể. Trong khi đó, việc kéo dài thời gian chiết làm tăng tiêu hao năng lượng, kéo dài thời gian bào chế và làm tăng chi phí sản xuất. Đặc biệt, ở điều kiện chiết 1 giờ/lần, sau ba lần chiết, dịch chiết ở lần tiếp theo đã âm tính với phản ứng định tính Phòng phong, chứng tỏ các thành phần đặc trưng của vị thuốc này đã được giải phóng gần như hoàn toàn. Kết quả này cho thấy việc lựa chọn chiết 3 lần, mỗi lần 1 giờ là hợp lý, vừa bảo đảm thu hồi tối ưu các hoạt chất, vừa tránh chiết kéo dài không cần thiết và phù hợp với yêu cầu tiết kiệm năng lượng trong sản xuất.

Đối với tỷ lệ dược liệu/dung môi, kết quả khảo sát cho thấy khi lượng dung môi không đủ (tỷ lệ 1/8), hiệu suất chiết thấp, do khả năng hòa tan và khuếch tán của các hợp chất bị hạn chế. Khi tăng tỷ lệ dung môi lên 1/10, hiệu suất chiết tăng rõ rệt và gần đạt ngưỡng tối ưu. Việc tiếp tục tăng lên 1/12 không làm tăng đáng kể lượng cao thu được, nhưng lại kéo theo nhiều bất lợi về kỹ thuật như tăng thể tích dịch chiết, kéo dài thời gian cô đặc và làm tăng nguy cơ chiết theo các tạp chất tan trong nước. Trên cơ sở đó, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/10 được xem là tối ưu, bảo đảm cân bằng giữa hiệu suất chiết, tính kinh tế và khả năng kiểm soát chất lượng.

Trong quá trình bào chế theo Y học cổ truyền, việc tiến hành chiết xuất lặp lại nhiều lần có vai trò quan trọng nhằm thu nhận đầy đủ tinh chất của dược liệu, bảo đảm các vị thuốc được phát huy công năng theo nguyên lý “lấy thủy dẫn dược, tận thu tinh hoa”. Tuy nhiên, song song với việc thu nhận các thành phần có tác dụng, quá trình đun sắc nhiều lần cũng làm hòa tan một lượng đáng kể các tạp chất có nguồn gốc từ bã dược liệu, như các chất mùn, chất keo và polysaccharid không đặc hiệu. Những thành phần này không giữ vai trò chủ đạo trong việc phát huy công năng của phương thuốc theo lý luận Y học cổ truyền [67].

Xét trên phương diện kỹ thuật, sự hiện diện của các tạp chất không cần thiết có thể làm cho dịch chiết trở nên đục, nặng, ảnh hưởng đến cảm quan, độ ổn định của chế phẩm và gây khó khăn trong quá trình cô đặc, chuẩn hóa hàm lượng. Do đó, việc tiến hành lọc loại bỏ tạp chất trước khi cô cao được xem là một khâu quan trọng trong quy trình bào chế cao thuốc. Bước xử lý này giúp làm trong dịch chiết, giảm khối lượng không cần thiết và nâng cao chất lượng cao thuốc thu được [49].

Đặc biệt đối với các bài thuốc có số lượng vị nhiều và khối lượng dược liệu lớn, việc kiểm soát tốt khâu lọc tạp có ý nghĩa quyết định trong việc thu được cao đặc có khối lượng gọn, hàm lượng “tinh chất hữu hiệu” cao và ổn định hơn trong bảo quản. Trên phương diện tổng thể, bước lọc loại tạp trước khi cô cao không chỉ mang ý nghĩa kỹ thuật mà còn phù hợp với tư duy tinh luyện dược chất của Y học cổ truyền, góp phần chuẩn hóa quy trình bào chế, kiểm soát chất lượng và từng bước hiện đại hóa các chế phẩm có nguồn gốc từ Y học cổ truyền [49].

4.1.2. Bàn luận về độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”

Theo khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organization – WHO) cũng như các hướng dẫn quốc tế về đánh giá an toàn tiền lâm sàng đối với thuốc có nguồn gốc từ dược liệu, việc khảo sát độc tính cấp là bước bắt buộc và có ý nghĩa quan trọng [68]. Đặc biệt, đối với các bài thuốc nghiệm phương hoặc các chế phẩm chưa có nghiên cứu đầy đủ về độ an toàn trên người, nghiên cứu độc tính cấp không chỉ nhằm xác định nguy cơ gây tử vong mà còn giúp nhận diện sớm các biểu hiện bất lợi trên hành vi, thần kinh và chức năng sinh lý của động vật thí nghiệm. Đây là cơ sở quan trọng để quyết định việc tiếp tục triển khai các nghiên cứu độc tính dài hạn và đánh giá hiệu quả điều trị.

Cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” được xây dựng từ bài thuốc “Tiêu phong tán” giảm vị mộc thông gia thêm vị phù bình, sài đất, không nằm trong hệ thống các cổ phương kinh điển đã được sử dụng rộng rãi và lâu dài. Do đó, việc tiến hành đánh giá độc tính cấp trên mô hình động vật thực nghiệm là hoàn toàn cần thiết và phù hợp với các yêu cầu khoa học hiện hành. Việc lựa chọn chuột nhắt trắng thuộc cả hai giới trong nghiên cứu nhằm tăng tính đại diện của quần thể thí nghiệm và hạn chế các sai lệch tiềm ẩn do khác biệt về giới tính, vốn đã được ghi nhận có thể ảnh hưởng đến dược động học và đáp ứng độc tính của thuốc.

Cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” được sử dụng theo đường uống, đây cũng là đường dùng được khuyến cáo trong các nghiên cứu độc tính cấp đối với thuốc uống, do phản ánh sát nhất con đường hấp thu, chuyển hóa và thải trừ của thuốc trong cơ thể. Phương pháp đưa thuốc trực tiếp vào dạ dày bằng kim cho ăn chuyên dụng được áp dụng nhằm bảo đảm độ chính xác của liều dùng, đồng thời giảm sai số giữa các cá thể. Tuy nhiên, đây là kỹ thuật đòi hỏi trình độ chuyên môn và sự cẩn trọng cao, bởi nếu thao tác không đúng có thể gây tổn thương thực quản, dạ dày, sặc thuốc hoặc stress cho động vật, từ đó ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu.

Nhận thức rõ những nguy cơ này, toàn bộ quá trình cho chuột uống thuốc và theo dõi sau dùng trong nghiên cứu đều được thực hiện bởi các kỹ thuật viên và nghiên cứu viên có kinh nghiệm, tuân thủ nghiêm ngặt quy trình thao tác chuẩn. Việc theo dõi tình trạng sức khỏe của động vật thí nghiệm được tiến hành liên tục và

chặt chẽ, với sự tham gia của ít nhất hai nghiên cứu viên trong mỗi ca theo dõi nhằm bảo đảm tính khách quan. Các phương án xử trí và phẫu tích được chuẩn bị sẵn sàng trong trường hợp có chuột tử vong, nhằm xác định chính xác nguyên nhân và loại trừ các yếu tố kỹ thuật gây nhiễu [69].

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong suốt thời gian theo dõi sau khi dùng thuốc, chuột nhắt trắng không xuất hiện bất kỳ biểu hiện bất thường nào về trạng thái chung, hành vi, vận động, ăn uống hay phản xạ thần kinh. Đặc biệt, không ghi nhận trường hợp chuột tử vong và không xác định được LD₅₀ tại liều thử cao nhất là 150mL/kg. Theo các tiêu chí phân loại độc tính cấp thường được sử dụng trong nghiên cứu tiền lâm sàng, kết quả này cho thấy cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” có độc tính cấp rất thấp, thậm chí có thể xếp vào nhóm không gây độc tính cấp tính đáng kể khi sử dụng theo đường uống.

Trong các nghiên cứu độc tính cấp, tử vong ở động vật thí nghiệm có thể xảy ra thông qua nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm tác động lên hệ thần kinh trung ương gây co giật hoặc ức chế hô hấp, tổn thương chức năng gan và thận dẫn đến rối loạn chuyển hóa, rối loạn điện giải do tiêu chảy hoặc nôn kéo dài, hoặc các tổn thương cơ học như tắc ruột, xuất huyết nội tạng. Việc không ghi nhận bất kỳ biểu hiện lâm sàng bất lợi hay trường hợp tử vong nào trong nghiên cứu này cho thấy chế phẩm không gây ảnh hưởng cấp tính đáng kể lên các cơ quan và hệ thống chức năng quan trọng của cơ thể trong phạm vi liều khảo sát.

Theo lý luận y học cổ truyền, bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phụ” có tác dụng sơ phong, dưỡng huyết, trừ thấp, thanh nhiệt, chỉ ngứa. Thành phần bài thuốc có các vị như Phòng phong, Thuyền thoái, Kinh giới, Ngưu bàng tử, Phù bình giữ vai trò khu phong, chỉ ngứa; Thương truật, Thạch cao, Khổ sâm, Tri mẫu, Sài đất, có tác dụng trừ thấp, thanh nhiệt; Sinh địa, Đương quy có tác dụng lương huyết, dưỡng huyết; trong khi Cam thảo vừa điều hòa các vị thuốc, vừa góp phần giảm độc và bảo vệ tỳ vị. Sự phối ngũ này không chỉ nâng cao hiệu quả điều trị mà còn đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa tính vị và bằng chứng nghiên cứu thực nghiệm cho thấy không tìm thấy liều gây độc tính LD₅₀ [49], [50], [51].

Thực tế lâm sàng và theo Dược điển Việt Nam V cho thấy phần lớn các vị thuốc có mặt trong bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phu” đều là những dược liệu thường dùng, có lịch sử sử dụng lâu dài và tương đối an toàn khi dùng đường uống với liều lượng thích hợp. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của đề tài phù hợp với các công bố trước đây về độc tính cấp của chiết xuất nước một số vị thuốc chủ yếu như Phòng phong và Ngưu bàng tử, trong đó ghi nhận không gây độc tính rõ rệt trên động vật thí nghiệm ở liều cao [63], [64]. Điều này cho thấy việc chiết xuất toàn bài theo phương pháp cổ truyền đã bảo tồn được tính điều hòa của phương thuốc, đồng thời không làm phát sinh độc tính cấp.

Tuy nhiên, cũng cần lưu ý rằng độc tính cấp chỉ phản ánh tác động của thuốc trong thời gian ngắn, chủ yếu liên quan đến các biểu hiện tức thì và nguy cơ gây tử vong. Kết quả không ghi nhận độc tính cấp không đồng nghĩa với việc thuốc hoàn toàn an toàn khi sử dụng kéo dài. Do đó, mặc dù kết quả nghiên cứu bước đầu khẳng định cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” không xác định độc tính cấp LD50, nhưng để có cơ sở khoa học đầy đủ cho việc ứng dụng trên lâm sàng, đặc biệt trong các bệnh mạn tính cần điều trị kéo dài, việc tiếp tục tiến hành các nghiên cứu độc tính bán trường diễn là hết sức cần thiết. Các nghiên cứu này cần được thiết kế để đánh giá toàn diện các chỉ số sinh hóa, huyết học và mô bệnh học, qua đó làm rõ hơn ảnh hưởng của chế phẩm lên chức năng gan, thận và các cơ quan đích khi sử dụng lâu dài.

4.2. Bàn luận tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên thực nghiệm.

4.2.1. Bàn luận tác dụng chống viêm của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tác dụng chống viêm của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” được khảo sát trên hai mô hình. Viêm cấp trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenin và viêm mạn trên mô hình gây u hạt thực nghiệm. Điều này phù hợp với phản ứng viêm trên lâm sàng trong các bệnh da liễu có viêm, dị ứng, thường không dừng lại ở một đợt cấp mà có xu hướng kéo dài thành bệnh lý mạn tính.

4.2.1.1. Bàn luận tác dụng chống viêm cấp

Tác dụng chống viêm cấp của mẫu nghiên cứu được đánh giá trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenin theo phương pháp của Winter và cộng sự (1962).. Carrageenin là polysaccharid cao phân tử, cấu tạo từ các polymer của β -(1,3)-D-galactose và β -(1,4)-3,6-anhydro-D-galactose, thuộc nhóm polysaccharid sulfat chiết xuất từ tảo đỏ [70]. Khi đưa vào cơ thể, carrageenin gây phản ứng viêm chủ yếu thông qua đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu, với sự tham gia chủ yếu của đại thực bào và bạch cầu đa nhân trung tính.

Mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenin là một mô hình đơn giản, kinh điển và được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu thực nghiệm để đánh giá tác dụng chống viêm cấp của các hoạt chất. Viêm được gây ra tại vị trí tiêm dưới da gan bàn chân chuột, biểu hiện bằng sưng phù, đỏ và tăng cảm giác đau, nhưng không gây tổn thương hay hủy hoại toàn thân cho động vật.

Phản ứng viêm do carrageenin gây ra diễn tiến theo hai pha. Giai đoạn sớm (1–2 giờ đầu) chủ yếu liên quan đến giải phóng histamin, serotonin và bradykinin, gây giãn mạch và tăng tính thấm thành mạch triệu chứng đỏ da và phù; giai đoạn muộn (3–6 giờ) gắn với tăng tổng hợp prostaglandin, leukotrien và các cytokine gây viêm triệu chứng đỏ, nóng và phù tăng rõ rệt [16],[64].

Trong mô hình này thuốc chứng dương được lựa chọn là diclofenac, đây là một trong những thuốc phổ biến nhất được lựa chọn để điều trị tình trạng viêm cấp, hoạt động bằng cách ức chế con đường cyclooxygenase (COX), thông qua đó ngăn ngừa sự tổng hợp prostaglandin và các eicosanoid khác [71].

Kết quả bảng 3.9 cho thấy sau khi gây viêm bằng carrageenin, thể tích bàn chân chuột ở lô mô hình tăng rõ rệt theo thời gian và đạt cực đại tại thời điểm 4 giờ, phù hợp với đặc điểm tiến triển điển hình của viêm cấp. Ở các lô được điều trị bằng diclofenac và cao lỏng TDDP, thể tích bàn chân chuột tại các thời điểm 2, 4 và 6 giờ đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,01$), chứng tỏ TDDP có tác dụng ức chế rõ rệt phản ứng phù viêm cấp. Tại thời điểm 2 giờ, tương ứng với giai đoạn rối loạn vận mạch của viêm, nơi các chất trung gian như histamin, serotonin, bradykinin và biến đổi mạch máu (giãn mạch, tăng tính thấm) đóng vai trò chi phối.

Việc TĐDP làm giảm phù ở thời điểm này gợi ý chế phẩm có thể can thiệp vào từ sớm của phản ứng viêm, qua đó hạn chế sự hình thành phù nề. Khi phân tích tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân (bảng 3.10), kết quả cho thấy TĐDP và diclofenac đều làm giảm rõ rệt mức độ phù viêm tại các thời điểm 2, 4 và 6 giờ ($p < 0,001$) và tác dụng được duy trì đến 24 giờ ($p < 0,01$). Đáng chú ý, không ghi nhận khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai mức liều TĐDP cũng như khi đối chiếu với diclofenac ($p > 0,05$). Điều này cho thấy trong điều kiện thực nghiệm, hiệu quả chống viêm cấp của TĐDP ở cả hai liều không có giá trị thống kê so với thuốc đối chứng. Kết quả trên được củng cố thêm qua tỷ lệ % ức chế phù viêm thể hiện qua mức độ thay đổi thể tích bàn chân chuột (bảng 3.11), các lô dùng TĐDP đạt hiệu quả chống viêm được biểu hiện mạnh tại thời điểm 2 giờ và 4 giờ sau gây phù, đạt mức ức chế trên 40% tại 2–4 giờ, đồng thời vẫn duy trì trên 35% đến 24 giờ.

Theo lý luận của Y học cổ truyền các biểu hiện sưng, nóng, đỏ trong phản ứng viêm là do phong, thấp, nhiệt xâm nhập vào bì phu, kinh lạc, làm khí huyết vận hành không thông. Trong bệnh viêm da cơ địa với những đợt cấp của bệnh viêm da mạn tính thể hiện, tỳ hư, huyết hư và vệ khí bất cố là căn bản, tạo điều kiện cho phong, thấp, nhiệt thừa cơ xâm nhập và lưu trú tại bì phu, dẫn đến khí huyết vận hành không thông, tà chính giao tranh kéo tà khí thực kết hợp với chính khí hư mà sinh ra bản hư tiêu thực. Trong viêm cấp, phù nề xuất hiện nhanh và mạnh là đặc trưng của tiêu thực viêm da cơ địa. Do vậy, phản ứng viêm cấp trong viêm da cơ địa không đơn thuần là phong, thấp, nhiệt thực chứng, mà thường xuất hiện trên nền chính khí suy yếu [72]. Nhóm dược liệu như Phòng phong, Kinh giới, Thuyền thoái, Phù bình và Ngưu bàng tử có tác dụng tán phong, giải độc, chỉ dương, góp phần làm giảm các biểu hiện viêm cấp tính ở phần biểu. Kết quả cho thấy TĐDP làm giảm rõ rệt phù viêm cấp trên mô hình carrageenin, phản ánh khả năng ức chế phản ứng viêm sớm của bài thuốc. Tác dụng này có thể liên quan đến các pháp trị khu phong, trừ thấp, thanh nhiệt, giải độc, là pháp điều trị thường được vận dụng trong giai đoạn bệnh cấp hoặc trong các đợt bùng phát của bệnh viêm da mạn tính của YHCT. Việc kiểm soát tốt phản ứng viêm cấp có ý nghĩa quan trọng trong việc làm giảm nhanh các biểu hiện viêm như phù nề và ngứa, qua đó hạn chế tổn thương lan

rộng và kéo dài. Tác dụng này phù hợp với nguyên tắc điều trị tiêu thực hay khứ tà để phù chính, nhằm kịp thời khu trừ tà khí đang thịnh [16], [25], [72].

Các kết quả thực nghiệm thu được phù hợp với nhiều nghiên cứu được lý hiện đại đã công bố. Nghiên cứu của Zhou và cộng sự (2017) cho thấy prim-O-glucosylcimifugin, hoạt chất đặc trưng của Phòng phong, có khả năng ức chế đáp ứng viêm qua trung gian lipopolysaccharide (LPS) trên dòng tế bào đại thực bào RAW 264.7, thể hiện qua việc làm giảm biểu hiện các cytokine tiền viêm [73]. Đối với Ngưu bàng tử, các tổng quan của Gao và cộng sự (2018) và Zhai và cộng sự (2022) cho thấy hai hoạt chất chính là arctiin và arctigenin có tác dụng kháng viêm rõ rệt, thể hiện qua khả năng ức chế phù viêm gây bởi carrageenin và làm giảm phản ứng viêm mạn trên nhiều mô hình thực nghiệm [74], [75]. Các kết quả này cho thấy Ngưu bàng tử không chỉ tác động lên viêm cấp mà còn có khả năng điều hòa quá trình viêm kéo dài. Bên cạnh đó, Kinh giới (*Elsholtzia ciliata*) và Thuyền thoái (*Periostracum Cicadae*) cũng đã được nhiều nghiên cứu chứng minh có hoạt tính chống viêm và điều hòa miễn dịch, góp phần làm giảm cả phản ứng viêm cấp và viêm mạn [76], [77].

4.2.1.2. Bàn luận tác dụng chống viêm mạn

Tác dụng chống viêm mạn của cao lỏng TDDP được đánh giá thông qua mô hình gây u hạt. Vật lạ được sử dụng là amian. Cơ thể sẽ phản ứng lại bằng cách tập trung nhiều tế bào, làm tăng sinh mô bào lưới và nguyên bào sợi, tạo ra các mô liên kết bao quanh vật lạ, từ đó hình thành nên u hạt [65].

Thuốc có tác dụng chống viêm mạn tính sẽ thể hiện bằng việc ức chế sự tạo thành u hạt, làm giảm khối lượng u hạt. Prednisolon là thuốc đối chứng dương kinh điển được lựa chọn bởi có tác dụng chống viêm mạn tính do ức chế đáp ứng miễn dịch chủ yếu qua trung gian tế bào do các lympho bào T đảm nhận. Việc so sánh khối lượng u hạt giữa các lô uống thuốc thử và đối chứng, có thể đánh giá được thuốc nghiên cứu có tác dụng chống viêm mạn hay không.

Kết quả bảng 3.12 việc sử dụng Prednisolon cũng như TDDP ở hai lô thí nghiệm đều làm giảm đáng kể cân nặng u hạt tươi so với lô chứng uống nước cất, với mức ý nghĩa thống kê cao ($p < 0,001$). So với lô chứng, tỷ lệ giảm cân nặng u

hạt tươi ở các lô này lần lượt đạt 44,77%, 42,03% và 43,09%. Phân tích so sánh giữa lô Prednisolon và hai lô sử dụng TDDP không ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa thống kê về cân nặng u hạt tươi ($p > 0,05$), chứng tỏ tác dụng của các lô can thiệp là tương đương nhau. Tương tự, bảng 3.13 cho thấy cân nặng u hạt khô ở các lô được xử trí bằng Prednisolon và TDDP (hai lô) đều giảm rõ rệt khi đối chiếu với lô mô hình uống nước cất; sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Mức độ giảm cân nặng u hạt khô so với lô mô hình tương ứng là 44,44%, 42,15% và 44,07%. Khi tiến hành so sánh nội bộ giữa lô Prednisolon và hai lô sử dụng TDDP, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về cân nặng u hạt khô ($p > 0,05$), cho thấy hiệu quả của ba lô là tương đương nhau. Việc giảm đồng thời u hạt tươi và u hạt khô củng cố nhận định rằng TDDP có tác dụng chống viêm từ sớm đến muộn, vừa ức chế hiện tượng viêm, phù nề, vừa hạn chế tiến triển tăng sinh và tái cấu trúc mô.

Ở giai đoạn viêm mạn, VDCĐ là bệnh lý mạn tính, có những đợt cấp tái phát nhiều lần nên bệnh cơ chủ yếu thuộc phạm trù bản hư tiêu thực phản ánh tình trạng chính khí hư suy, khí huyết hư tổn, kết hợp với thấp tà lưu trú lâu ngày tại bì phu. Hệ quả là các biểu hiện lâm sàng đặc trưng như ngứa dai dẳng, tổn thương da tái phát nhiều lần, da khô, dày, rãnh da nổi rõ (lichen hóa) và dễ tiết dịch viêm [72]. Kết quả TDDP làm giảm trọng lượng u hạt viêm trên mô hình amian có ý nghĩa thống kê, cho thấy bài thuốc có khả năng ức chế tiến triển của viêm mạn tính, gợi ý đến tác dụng điều hòa khí huyết, hóa thấp và bồi bổ chính khí, và cải thiện bệnh lý tại tổ chức viêm theo YHCT, góp phần hạn chế tình trạng viêm kéo dài và tổn thương mô. Điều này phù hợp với yêu cầu điều trị các bệnh viêm mạn theo nguyên tắc công bổ kiêm trị, trong đó vừa chú trọng khu trừ tà khí uất trệ lâu ngày, vừa phải quan tâm đến phục hồi và duy trì chính khí. Nhóm dược liệu gồm Thương truật, Khổ sâm, Sài đất, Tri mẫu và Thạch cao có tác dụng xử lý căn nguyên nhiệt độc, thấp nhiệt, là yếu tố bệnh sinh quan trọng trong các chứng viêm mạn, sang chấn, ngứa kéo dài. Thương truật có công năng tảo thấp kiện tỳ, kiêm trừ phong, giúp cải thiện vận hóa của tỳ vị, từ đó ngăn thấp tà sinh thêm. Khổ sâm có tác dụng thanh nhiệt tảo thấp, giải độc, là vị thuốc quan trọng trong các thể thấp nhiệt ở da. Thạch cao phối hợp với Tri mẫu nhằm thanh khí nhiệt, tả hỏa mà không tổn thương

âm dịch, giúp kiểm soát phản nhiệt và phát sinh từ phong dương, đồng thời tránh tình trạng thanh nhiệt quá mức gây hao âm [49].

Đáng chú ý, Sài đất được gia thêm và giữ vai trò nổi bật trong nhóm này nhờ công năng thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm, giúp làm giảm đỏ, nóng, sưng và ngứa, đặc biệt thích hợp trong các thể phong nhiệt, thấp nhiệt uẩn kết. Việc sử dụng Sài đất không chỉ tăng cường hiệu quả thanh nhiệt giải độc mà còn góp phần giảm phản ứng viêm tại chỗ, qua đó hỗ trợ cải thiện tổn thương da và rút ngắn thời gian hồi phục [49]. Như vậy, trong nhóm thanh nhiệt, trừ thấp, Sài đất đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát viêm tại da, phối hợp hài hòa với Thương truật, Khổ sâm, Thạch cao và Tri mẫu, phù hợp với cơ chế bệnh sinh của viêm da cơ địa theo YHCT.

Bên cạnh đó, các vị dưỡng huyết, sinh tân như Đương quy, Sinh địa, Hồ ma nhân và Cam thảo giúp điều hòa toàn phương, hạn chế tổn thương chính khí khi sử dụng lâu dài.

Các kết quả thu được trong nghiên cứu khoa học có tính tương đồng với công năng, chủ trị của các vị thuốc. Đối với Thương truật (*Atractylodes Rhizoma*), tổng quan của Liu và cộng sự (2021) cho thấy dược liệu này chứa nhiều hợp chất sesquiterpenoid có tác dụng ức chế phản ứng viêm và điều hòa miễn dịch [78]. Đáng chú ý, các sesquiterpen lacton trong Thương truật đã được chứng minh có khả năng ức chế sự hoạt hóa của tế bào mast và hạn chế giải phóng các chất trung gian gây viêm. Sài đất được ghi nhận có tác dụng chống viêm rõ rệt trên các mô hình thực nghiệm, thể hiện qua khả năng làm giảm phù viêm gây bởi carrageenan và ức chế hình thành u hạt trên mô hình cotton pellet. Các tác dụng này chủ yếu liên quan đến wedelolactone và nhóm flavonoid, với cơ chế ức chế các chất trung gian viêm sớm như histamin và serotonin. [79]. Khổ sâm thể hiện tác dụng chống dị ứng và chống viêm rõ rệt thông qua việc ức chế hoạt hóa tế bào mast. Nhiều nghiên cứu cho thấy chiết xuất rễ Khổ sâm có khả năng làm giảm phản ứng sốc phản vệ da thụ động, ức chế giải phóng histamin từ tế bào mast kích thích bởi Compound 48/80, đồng thời làm giảm nồng độ các cytokine viêm như TNF- α , IL-6 và IL-8. Cơ chế tác dụng được xác định có liên quan đến ức chế con đường tín hiệu NF- κ B và các kinase p38 MAPK, JNK, qua đó góp phần ổn định tế bào mast và hạn chế phản ứng viêm, dị ứng [80]. Nghiên cứu của Kim và cộng sự (2017) cho thấy chiết xuất thân

rễ Tri mẫu (*Anemarrhena asphodeloides*), với nhóm saponin steroid là thành phần hoạt tính chính, có tác dụng chống viêm rõ rệt thông qua ức chế các con đường tín hiệu NF- κ B và p38 MAPK trong đại thực bào, làm giảm biểu hiện iNOS, COX-2 và các cytokine viêm [81]. Bên cạnh đó, tác dụng chống viêm và cải thiện viêm da dị ứng của Tri mẫu chủ yếu liên quan đến các saponin steroid như anemarsaponin và timosaponin, cùng với mangiferin, có khả năng ức chế các con đường tín hiệu viêm NF- κ B, MAPK và STAT6, qua đó làm giảm sản xuất cytokine viêm, ổn định đáp ứng miễn dịch và góp phần cải thiện tổn thương viêm cũng như chức năng hàng rào bảo vệ da.

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy cao lỏng Tiêu độc dưỡng phụ có tác dụng ức chế phản ứng viêm trên cả mô hình viêm cấp (giảm phù nề, giảm sưng nóng) vừa hiệu quả ở giai đoạn mạn (giảm viêm, giảm kết tủa hạt), chứng tỏ bài thuốc có khả năng điều hòa chỉnh thể, phù hợp với mô hình bệnh lý lâm sàng VDCĐ. Sự kết hợp giữa tả thực tà ở giai đoạn cấp và bổ bản ở giai đoạn mạn tính chính là ưu điểm vượt trội của TDDP so với nhiều thuốc trị viêm hiện đại vốn chỉ tác động vào trung gian hóa học.

Sự phù hợp giữa kết quả nghiên cứu và lý luận YHCT góp phần làm rõ cơ sở khoa học cho tác dụng chống viêm của TDDP, đồng thời tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tiếp tục đánh giá các tác dụng khác của bài thuốc trên mô hình bệnh lý viêm da cơ địa.

4.2.2. Bàn luận tác dụng chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ”

Trong nghiên cứu này, tác dụng chống dị ứng và chống ngứa của cao lỏng TDDP được đánh giá trên mô hình gây ngứa bằng Compound 48/80, một mô hình kinh điển thường được sử dụng trong nghiên cứu dị ứng và sàng lọc các thuốc chống dị ứng, chống ngứa.

Compound 48/80 là sản phẩm polymer hóa của n-methyl-p-methoxy-phenethylamine với formaldehyde (gồm 3–6 đơn phân), có vai trò như một chất kích thích giải phóng histamin từ tế bào mast. Chất này gây phóng hạt trực tiếp tế bào mast theo cơ chế không phụ thuộc IgE, dẫn đến giải phóng nhanh các chất trung gian dị ứng, đặc biệt là histamin, đồng thời kích thích giải phóng tiếp các chất trung gian khác tham gia vào phản ứng dị ứng

Khi sử dụng ở liều thấp, Compound 48/80 gây phù và ngứa rõ rệt, do đó thường được áp dụng trong các mô hình dị ứng và đánh giá tác dụng giảm ngứa. Phản ứng dị ứng do Compound 48/80 gây ra gồm hai giai đoạn chính. Giai đoạn khởi phát xảy ra trong vài phút đầu sau tiêm trong da, do phóng hạt tế bào mast giải phóng histamin, serotonin và tryptase, làm xuất hiện cảm giác ngứa sớm tại chỗ. Giai đoạn dị ứng sớm xuất hiện trong khoảng 5–30 phút, với biểu hiện ngứa dữ dội, số lần gãi tăng rõ rệt, kèm theo đỏ da và phù nhẹ. Đây là giai đoạn quan trọng nhất và thường được sử dụng làm chỉ tiêu chính để đánh giá hiệu quả của các thuốc kháng histamin hoặc thuốc ổn định tế bào mast [82].

Kết quả cho thấy cao lỏng TDDP làm chậm thời gian xuất hiện hành vi gãi so với lô chứng bệnh (bảng 3.14), chứng tỏ chế phẩm có khả năng ức chế giai đoạn khởi phát của phản ứng dị ứng. Hiệu quả này so sánh được với thuốc đối chứng dương loratadin khi không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các lô can thiệp. Đồng thời, TDDP làm giảm rõ rệt số lần gãi theo từng khoảng thời gian từ 5 đến 25 phút sau tiêm Compound 48/80 (biểu đồ 3.1), cho thấy tác dụng chống dị ứng được duy trì trong suốt giai đoạn phản ứng đang tiến triển.

Phân tích tổng số lần gãi trong 25 phút (bảng 3.15) cho thấy cả hai mức liều của TDDP đều làm giảm có ý nghĩa thống kê hành vi gãi so với lô chứng bệnh, với tỷ lệ giảm khoảng 27–34%, sự khác biệt ở các lô sử dụng TDDP không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với loratadin. Mặc dù liều cao có xu hướng giảm số lần gãi nhiều hơn, sự khác biệt này chưa đạt ý nghĩa thống kê. Việc cao lỏng làm giảm rõ rệt đáp ứng ngứa trên mô hình này cho thấy chế phẩm có khả năng ức chế quá trình giải phóng chất trung gian dị ứng hoặc làm giảm đáp ứng của cơ thể với các chất này, qua đó thể hiện tác dụng chống dị ứng rõ rệt.

Theo quan điểm của y học cổ truyền, các biểu hiện dị ứng và ngứa da thường thuộc phạm trù phong chẩn, căn nguyên bệnh sinh chủ yếu liên quan đến phong tà kết hợp với nhiệt và thấp, xâm nhập phần biểu hoặc phát sinh nội sinh do huyết nhiệt và huyết hư sinh phong. Khi phong tà lưu trú tại bì phu, tà khí dễ động và lan nhanh, gây cảm giác ngứa xuất hiện sớm, tiến triển nhanh và tái phát nhiều lần. Trong đó, phong được xem là căn nguyên trực tiếp gây ngứa, bởi phong có tính dương, hay động, hay thăng, phù hợp với đặc điểm khởi phát nhanh và di chuyển của triệu chứng ngứa trong dị ứng. Bên cạnh phong tà, nhiệt tà làm tăng mức độ

viêm, biểu hiện bằng đỏ da và nóng tại chỗ; thấp tà gây trở trệ vận hành tân dịch, dẫn đến phù nề và dịch rỉ; trong khi đó huyết hư là yếu tố nền làm da mất nuôi dưỡng, khiến tổn thương da kéo dài và dễ tái phát. Sự phối hợp của các yếu tố phong, nhiệt, thấp trên nền huyết hư giải thích tính chất vừa cấp tính, vừa dai dẳng của các bệnh lý dị ứng da theo YHCT [83].

Từ cơ chế bệnh sinh đó, nguyên tắc điều trị theo YHCT không chỉ dừng lại ở chỉ ngứa, mà cần phối hợp khu phong để loại trừ căn nguyên gây ngứa, thanh nhiệt, giải độc nhằm kiểm soát phản ứng viêm, trừ thấp để giảm phù nề và tiết dịch, đồng thời dưỡng huyết để phục hồi chức năng bì phu và hạn chế tái phát. Nguyên tắc này có sự tương đồng với mục tiêu điều trị của y học hiện đại, bao gồm ức chế phản ứng dị ứng, kiểm soát quá trình viêm và phục hồi hàng rào bảo vệ da, qua đó góp phần nâng cao hiệu quả điều trị và tính bền vững lâu dài [82], [83], [84].

Bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phu” được phối ngũ phù hợp với các nguyên tắc điều trị trên. Nhóm vị khu phong, tán tà, chỉ ngứa gồm Phòng phong, Kinh giới, Thuyền thoái và Nguru bàng tử, Phù bình có vai trò chủ đạo trong việc giảm ngứa, giải biểu và làm tiêu phong tà. nhóm Phòng phong và Kinh giới giữ vai trò chủ đạo trong khu phong giải biểu, trực tiếp tác động vào căn nguyên gây ngứa. Thuyền thoái và Nguru bàng tử đều có tính hàn, công năng tán phong nhiệt, thanh phế lợi yết, phối hợp với Phòng phong và Kinh giới, có tác dụng sơ phong tán tà, thanh nhiệt và chỉ ngứa, phù hợp với các biểu hiện ngứa khởi phát nhanh, tái diễn của viêm da cơ địa. Trong trường hợp phong tà kết hợp thấp tà, thấp nhiệt uẩn kết tại bì phu làm da phù nề, tiết dịch, tổn thương kéo dài, bài thuốc được gia thêm Thương truật, Khổ sâm và đặc biệt là Phù bình làm nhóm thần dược, nhằm tăng cường trừ thấp và thanh thấp nhiệt. Thương truật có tác dụng táo thấp kiện tỳ, kiềm trừ phong, giúp ngăn thấp tà sinh thêm; Khổ sâm có công năng thanh nhiệt táo thấp, giải độc, đặc biệt phù hợp với thể thấp nhiệt ở da. Phù bình là vị thuốc có đặc điểm nổi bật khi vừa khu phong, vừa hành thủy, có khả năng thông lợi bì phu, lợi thủy thẩm thấp. Việc gia Phù bình trong bài Tiêu phong tán không chỉ làm tăng hiệu quả chỉ ngứa, mà còn giúp giải quyết đồng thời phong và thấp, góp phần cải thiện tổn thương da, hạn chế tiết dịch và giảm nguy cơ tái phát.

Ở các trường hợp bệnh kéo dài hoặc tái phát nhiều lần, âm huyết và tân dịch tổn thương thường là yếu tố khiến ngứa dai dẳng. Vì vậy, sự phối hợp các vị dưỡng

huyết, tư âm, nhuận táo, điều hòa như Đương quy, Sinh địa, Hồ ma nhân và Cam thảo có ý nghĩa quan trọng trong việc nuôi dưỡng bì phu, cải thiện tình trạng khô da, hạn chế huyết hư sinh phong và điều hòa toàn phương. Như vậy, xét trên lý luận YHCT, bài thuốc vừa trừ tà để kiểm soát triệu chứng, vừa phù chính để điều hòa cơ địa và phòng ngừa tái phát, phù hợp với đặc điểm bệnh sinh của các bệnh dị ứng mạn tính như viêm da cơ địa.

Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu. Kinh giới, một vị thuốc thường dùng trong các chứng phong chẩn, phong ngứa theo YHCT, đã được nhiều nghiên cứu ghi nhận có khả năng ức chế phản ứng dị ứng và làm giảm phóng thích histamin trên các mô hình dị ứng thực nghiệm [86]. Phòng phong, đặc biệt các chromon glycosid như prim-O-glucosylecimifugin, được chứng minh có tác dụng ổn định dưỡng bào và ức chế phản ứng dị ứng trên cả mô hình qua trung gian IgE và mô hình Compound 48/80 [73]. Điều này cho thấy vị thuốc không chỉ tác động lên dị ứng phụ thuộc IgE mà còn can thiệp trực tiếp vào hoạt hóa tế bào mast. Nguu bàng tử, với các lignan như arctiin và arctigenin, được ghi nhận có tác dụng chống dị ứng và chống viêm thông qua điều hòa các đường tín hiệu liên quan đến phản ứng miễn dịch [87]. Bên cạnh đó, glycyrrhizin trong Cam thảo đã được ghi nhận có tác dụng điều hòa miễn dịch và chống dị ứng, góp phần làm tăng hiệu quả tổng hợp của bài thuốc [88], [85].

Như vậy, tác dụng chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” có thể được lý giải là kết quả của sự phối hợp hiệp đồng đa vị, đa cơ chế, vừa phù hợp với lý luận YHCT về điều trị phong, nhiệt, thấp, vừa phù hợp với các bằng chứng được lý hiện đại về ức chế dưỡng bào, giảm phóng thích histamin và điều hòa đáp ứng miễn dịch.

Tóm lại thông qua sự thống nhất giữa kết quả thực nghiệm và lý luận YHCT cho thấy TDDP không chỉ đơn thuần chống viêm, chống dị ứng mà còn điều chỉnh khí huyết, tạng phủ, kinh lạc giúp kiểm soát quá trình viêm, dị ứng một cách bền vững. Điều này không chỉ khẳng định giá trị của bài thuốc trong điều trị các bệnh lý viêm, dị ứng theo y học cổ truyền mà còn gợi mở tiềm năng phát triển chế phẩm như một lựa chọn hỗ trợ hoặc thay thế trong bối cảnh lạm dụng thuốc kháng histamin và corticoid hiện nay.

KẾT LUẬN

1. Quy trình bào chế, tiêu chuẩn cơ sở và đánh giá tác độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên thực nghiệm

- Quy trình bào chế: Trên cơ sở kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất cao từ hỗn hợp dược liệu của bài thuốc, nghiên cứu lựa chọn điều kiện chiết tối ưu gồm dược liệu được xay thô qua rây 2.000, sử dụng nước làm dung môi, tiến hành chiết hồi lưu ở nhiệt độ sôi của dung môi (khoảng 100°C), chiết 3 lần liên tiếp, mỗi lần trong 1 giờ, với tỷ lệ dược liệu so với dung môi là 1/10.

- Tiêu chuẩn cơ sở: Tiêu chuẩn cơ sở của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” được xây dựng dựa trên các chỉ tiêu gồm hình thức chế phẩm (đánh giá màu sắc, mùi vị, độ đồng nhất, khả năng tan trong nước và sự hiện diện của cặn bã dược liệu hoặc tạp chất lạ), chỉ tiêu định tính (xác định sự có mặt của Phòng phong, Ngưu bàng tử và Thương truật bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng) và chỉ tiêu giới hạn nhiễm khuẩn, bảo đảm phù hợp với quy định của Dược điển Việt Nam V.

- Độc tính cấp: không ghi nhận biểu hiện độc tính và không xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng; liều dung nạp tối đa của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” đạt 150mL/kg.

2. Tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” trên thực nghiệm.

- Tác dụng chống viêm:

Trên mô hình phù bàn chân cấp tính, cao lỏng TDDP ở cả hai mức liều làm giảm có ý nghĩa thống kê phần trăm tăng thể tích bàn chân tại các thời điểm 2, 4 và 6 giờ so với lô mô hình ($p < 0,001$). Không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mức độ ức chế phù giữa các lô TDDP và lô diclofenac ($p > 0,05$). Tỷ lệ ức chế phù của TDDP được duy trì ở mức 38–45% trong 6 giờ đầu sau gây viêm.

Trên mô hình viêm mạn, TDDP làm giảm đáng kể trọng lượng u hạt tươi và u hạt khô so với lô mô hình ($p < 0,01$). Đồng thời, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mức độ ức chế phản ứng viêm giữa TDDP và prednisolon ($p > 0,05$).

- Tác dụng chống dị ứng:

Cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” thể hiện tác dụng chống dị ứng rõ rệt trên mô hình gây ngứa bằng Compound 48/80, chế phẩm làm chậm có ý nghĩa thống kê thời gian xuất hiện hành vi gãi và làm giảm số lần gãi ở hầu hết các khoảng thời gian theo dõi cũng như tổng số lần gãi trong 25 phút sau tiêm so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$ đến $p < 0,01$). Không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về các chỉ tiêu đánh giá hành vi gãi giữa các lô dùng cao lỏng Tiêu độc dưỡng phụ và lô dùng loratadin ($p > 0,05$).

KHUYẾN NGHỊ

Từ các kết quả nghiên cứu thu được, quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” hiện mới dừng ở mức sơ bộ. Do đó, trong thời gian tới cần tiếp tục chuẩn hóa và hoàn thiện quy trình bào chế, cũng như xây dựng đầy đủ tiêu chuẩn cơ sở nhằm phục vụ sản xuất thử nghiệm và từng bước hướng tới ứng dụng trong thực tiễn.

Song song với đó, cần triển khai nghiên cứu độc tính bán trường diễn để đánh giá mức độ an toàn của chế phẩm khi sử dụng lặp lại trong thời gian dài. Trên kết quả an toàn thu được, nghiên cứu tiếp theo nên được mở rộng sang thử nghiệm lâm sàng, trước mắt ở giai đoạn I/II, nhằm đánh giá tính an toàn, khả năng dung nạp và hiệu quả điều trị ban đầu của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên người bệnh. Đây là lộ trình cần thiết để khẳng định đầy đủ hơn giá trị khoa học và tiềm năng ứng dụng lâm sàng của chế phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nathan C., Ding A.** (2024). Inflammation. *New England Journal of Medicine*, 390(1), 1–14. doi:10.1056/NEJMra2307365.
2. **Joseph M. Dougherty, Khalid Alsayouri & Adam Sadowski (2025).** *Allergy. StatPearls Publishing.*
3. **Salvati L., Cosmi L., Annunziato F.** (2021). From emollients to biologicals: targeting atopic dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10381.
4. **Langan S.M., Irvine A.D., Weidinger S.** (2020). Atopic dermatitis. *The Lancet*, 396(10247), 345–360. doi:10.1016/S0140-6736(20)31286-1.
5. **Nutten S.** (2015). Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 66(Suppl 1), 8–16. doi:10.1159/000370220.
6. **Eichenfield L.F., Tom W.L., Chamlin S.L. et al.** (2014). Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: Section 1. Diagnosis and assessment. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 70(2), 338–351. doi:10.1016/j.jaad.2013.10.010.
7. **Illi S., von Mutius E., Lau S., Nickel R., Grüber C., Niggemann B., Wahn U.; Multicenter Allergy Study Group.** (2004). The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and the association with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(5), 925–931. doi:10.1016/j.jaci.2004.01.77. PMID: 1513 1576.
8. **Nguyễn Thị Hồng Huyền, Phạm Thị Minh Hồng.** (2016). Điều tra tỷ lệ mắc bệnh viêm da cơ địa (AD) và các yếu tố liên quan đến mức độ nghiêm trọng của AD ở trẻ em từ 2 tháng đến 5 tuổi tại quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 20(1), 18–24
9. **Bùi Thị Diễm Kiều, Nguyễn Ngọc Như Huyền, Bùi Kim Ngân và cộng sự** (2023). Khảo sát thái độ của sinh viên trong việc áp dụng y học cổ truyền để điều trị các vấn đề về da tại Trường Đại học Y Dược Cần Thơ năm 2022. *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*, 62, 165–172. doi:10.58490/ctump.2023i62.1444

10. **Trần Văn Sáu** (2018). *Bệnh học Y học cổ truyền*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
11. **Đỗ Trung Đàm** (2014), Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội
12. **Viện dược liệu** (2006), Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật.
13. **Bộ Y tế** (2018), hông tư 29/2018/ -BY , hông tư quy định về thử thuốc trên lâm sàng.
14. **Puzanov, I.el al.** (2017), “Managing toxicities associated with immune checkpoint inhibitors: consensus recommendations from the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) Toxicity Management Working Group”, J Immunother Cancer. 5(1), tr95.
15. **Adamson, R.H.**(2016), “The acute lethal dose 50 (LD50) of caffeine in albino rats”, Regul Toxicol Pharmacol. 80, tr.274-6.
16. **Trường Đại học Y Hà Nội, Bộ môn Miễn dịch – Sinh lý bệnh** (2022). *Sinh lý bệnh học*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, Chương Viêm.
17. **Gaikwad V.V., Gitaje S.R., Joshi S.D., et al.** (2025). *Mechanisms of inflammation associated with chronic diseases: A brief review*. Journal of Advances in Medicine and Medical Research, 37(3), 48–56. doi: 10.9734/jammr/2025/v37i34092
18. **Cohen J.** (2007). The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*, 420(6917), 685–691. doi:10.1038/nature01326
19. **Nathan C., Ding A.** (2024). Inflammation. *New England Journal of Medicine*, 390(1), 1–14. doi:10.1056/NEJMr2307365
20. **Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S.** (2021). *Cellular and Molecular Immunology*, 10th edition, Elsevier, Philadelphia.
21. **Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C.** (2021). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 10th edition, Elsevier, Philadelphia.

22. **Wang J., Zhou Y., Zhang H., et al. (2023).** Pathogenesis of allergic diseases and implications for therapeutic interventions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 344. doi:10.1038/s41392-023-01344-4
23. **Gehlhaar P., Schaper-Gerhardt K., Gutzmer R., et al. (2025).** Histamine and Th2 cytokines regulate the biosynthesis of cysteinyl-leukotrienes and expression of their receptors in human mast cells. *Inflammation Research*, 74(1), 1–12
24. **Eichenfield L.F., Tom W.L., Chamlin S.L. et al. (2023).** Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: Section 1. Diagnosis and assessment. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 88(3), 427–442
25. **Bộ Y tế (2015).** *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh da liễu*. Ban hành kèm theo Quyết định số 75/QĐ-BYT ngày 13/01/2015. Bộ Y tế, Hà Nội
26. **Nutten S. (2015).** Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 66(Suppl 1), 8–16. doi:10.1159/000370220.
27. **Langan S.M., Irvine A.D., Weidinger S. (2020).** Atopic dermatitis. *The Lancet*, 396(10247), 345–360.
28. **Sicherer S.H., Sampson H.A. (2023).** Food allergy: a review and update on diagnosis and management. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 151(1), 46–58.
29. **Eichenfield L.F., Tom W.L., Chamlin S.L. et al. (2014).** Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: Section 1. Diagnosis and assessment. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 70(2), 338–351. doi:10.1016/j.jaad.2013.10.010.
30. **Boothe W.D., Tarbox J.A., Tarbox M.B. (2017).** Atopic dermatitis: pathophysiology. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1027, 21–37.
31. **Jeong N.H., Lee S., Choi J.K. et al. (2020).** Polyozellin alleviates atopic dermatitis-like inflammatory and pruritic responses in activated keratinocytes and mast cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 122, 109743.

32. **Margolis J.S., Abuabara K., Bilker W. et al.** (2014). Persistence of mild to moderate atopic dermatitis. *JAMA Dermatology*, 150(6), 593–600. doi: 10.1001/jamadermatol.2013.10271.
33. **Nguyễn Thị Hương, Trần Ngọc Liên, Phạm Hoàng Khâm** (2015). Nghiên cứu ảnh hưởng của cao lỏng TP4 đối với trạng thái chung và chỉ số huyết học trên động vật thực nghiệm. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 432(1), 136–140.
34. **Hansen-Sackey E.B.** (2025). *Atopic Dermatitis: Pathophysiology and Emerging Treatments. Dermatology and Therapy*, 5(4), 40.
35. **Al-Naqeeb J., Danner S., Fagnan L.J. et al.** (2019). The burden of childhood atopic dermatitis in the primary care setting: a report from the Meta-LARC consortium. *Journal of the American Board of Family Medicine*, 32(2), 191–200.
36. **Leung D.Y.M., Guttman-Yassky E.** (2023). Deciphering the complexities of atopic dermatitis: shifting paradigms in treatment approaches. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 151(5), 1231–1243
37. **Murota H., Yamaga K., Ono E. et al.** (2018). Sweat in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Allergology International*, 67(4), 455–459.
38. **Hulshof L., Overbeek S.A., Wyllie A.L. et al.** (2018). Exploring immune development in infants with moderate to severe atopic dermatitis. *Frontiers in Immunology*, 9, 630.
39. **Boothe W.D., Tarbox J.A., Tarbox M.B.** (2017). Atopic dermatitis: Pathophysiology. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1027, 21–37.
40. **Eichenfield L.F., Ahluwalia J., Waldman A. et al.** (2017). Current guidelines for the evaluation and management of atopic dermatitis: a comparison of the Joint Task Force Practice Parameter and American Academy of Dermatology guidelines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139(4 Suppl), S49–S57.
41. **Thư Viện Pháp Luật** (2020). Quyết định số 2782/QĐ-BYT ngày 24/7/2015 của Bộ Y tế về danh mục bệnh y học cổ truyền áp dụng trong thanh toán bảo hiểm y tế.

42. **Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W.** (1962). Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 111(3), 544–547.
43. **Gouveia-Figueira S., Nording M.L.** (2015). Review on inflammatory markers in human studies: How can breathomics help to discover new tools for breath analysis? *Frontiers in Immunology*, 6, 102.
44. **Ducrot R., Julon M. et al.** (1963). Étude de l'activité anti-inflammatoire des corticoïdes par la méthode des granulomes chez le rat.
45. **Billingham M.E., Davies G.E.** (1979). Experimental models of arthritis. *British Journal of Experimental Pathology*, 60(2), 89–94.
46. **Kim K.H., Lee W.R., Park K.K.** (2013). Bee venom ameliorates compound 48/80-induced atopic dermatitis-related symptoms. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 6(12), 2896–2903.
47. **Wilson S.R., Bautista D.M.** (2014). Role of transient receptor potential channels in acute and chronic itch. *Seminars in Immunopathology*, 36, 185–203
48. **LaMotte R.H., Dong X.** (2016). Peripheral and central mechanisms of itch. *Neuron*, 89(3), 461–473.
49. **Bộ Y tế (2018).** *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
50. **Đỗ Tất Lợi (2015).** *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
51. **Viện Dược liệu (2011).** *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
52. **Nguyễn Mạnh Tuyển, Phạm Thái Hà Văn (2021).** Đánh giá tác dụng chống dị ứng thực nghiệm của viên nang hỗ trợ điều trị eczema. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 503(1). doi:10.51298/vmj.v503i1.733
53. **Nguyễn Thị Bạch Yến, Nguyễn Thị Diệu Thường (2023).** Hiệu quả phương pháp cấy chỉ trong hỗ trợ điều trị bệnh nhân viêm da cơ địa. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 520(1B). doi:10.51298/vmj.v520i1B

54. **Ngô Minh Vinh, Nguyễn Thị Mỹ Hạnh, Châu Quốc Khánh và cộng sự** (2022). Thực trạng sử dụng corticosteroid bôi ở bệnh nhân viêm da cơ địa tại Bệnh viện Da liễu Thành phố Hồ Chí Minh. *Journal of Clinical Medicine and Pharmacy*, 17(4). doi: 10.52389 /ydls.v17i4.1235.
55. **Liu F.R., Xu C.P., Liu C.S. et al.** (2024). Effects of antipruritic moisturizing lotion on IL-4 and IFN- γ protein and gene expression in skin lesions of atopic dermatitis mouse model. *Journal of Hunan University of Chinese Medicine*, 44(1), 22–29.
56. **Bak S.G.** (2023). Effects of *Vigna angularis* extract and its active compound hemiphloin against atopic dermatitis-like skin inflammation.
57. **Meng Y.C., Fan J.C., Bian W.N.** (2022). Effectiveness of calamine lotion as an adjunctive therapy to mometasone furoate ointment in the treatment of infant eczema: a retrospective study. *Medicine (Baltimore)*, 101(35).
58. **Bộ Khoa học và Công nghệ** (2021). *Thông tư số 11/2021/TT-BKHCN về xây dựng và áp dụng tiêu chuẩn*. Bộ Khoa học và Công nghệ, Hà Nội.
59. **Đào Văn Phan** (2003). "Thuốc hạ sốt, giảm đau, chống viêm - Dược lý học lâm sàng", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 166-180
60. **Nguyễn Thị Mai Hoàng** (2018). "Nguyên tắc sử dụng Corticoid", Nhà xuất bản HCM, HCM, tr. 33 - 44.
61. **Đinh Hiếu Nhân** (2020). *Dược lý học đại cương*. Nhà xuất bản Y học, Thành phố Hồ Chí Minh.
62. **Bộ Y tế** (2014). "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh về dị ứng – miễn dịch lâm sàng", Nhà xuất bản Y học, Hà Nội tr. 117.
63. **Nguyễn Thượng Dong** (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 311–320.
64. **Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W.** (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drug. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 111, 544–574.

65. **Ducrot R., Julon L. et al.** (1965). *Tumor screening methods in pharmacology*. Academic Press, New York, 114–115
66. **Kim K.H., Lee W.R., Park K.K.** (2013). Bee venom ameliorates compound 48/80-induced atopic dermatitis-related symptoms. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 6(12), 2896–2903
67. **Nguyễn Nhược Kim. Phương tế học.** Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2009.
68. **World Health Organization** (2004). *Guidelines on safety monitoring of herbal medicines in pharmacovigilance systems*. World Health Organization, Geneva.
69. **Bộ Y tế** (2015), Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu, Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015, tr. 13 17.
70. **Gereniu, C. R. N., Saravana, P. S., & Chun, B. S.** (2018). Recovery of carrageenan from Solomon Islands red seaweed using ionic liquid-assisted subcritical water extraction. *Separation and Purification Technology*, 196, 309–317.
71. **Osafo N., Agyare C., Obiri D.D., et al.** (2017). *Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. In: *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs*. IntechOpen, Geneva. doi:10.5772/68090.
72. **Nguyễn Thị Bay, Nguyễn Lê Việt Hùng** (2024). *Da liễu y học cổ truyền*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh.
73. **Liu X. et al.** (2017). Anti-allergic effects of *Saposhnikovia divaricata* and its constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 176–184.
74. **Gao Q., Yang M., Zuo Z.** (2018). Overview of the anti-inflammatory effects, pharmacokinetic properties and clinical efficacies of arctigenin and arctiin from *Arctium lappa* L. *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(5), 787–801.
75. **Zhai X., Lin M., Zhang F. et al.** (2022). Fructus Arctii (*Arctium lappa* L.): ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 74(6), 801–815.

76. **Li X., Zhang Y., Chen J. et al.** (2025). Anti-inflammatory effects of *Elsholtzia ciliata* extract on experimental inflammation models. *Journal of Ethnopharmacology*, 320, 116870.
77. **Lee S., Kim J., Park S. et al.** (2024). Immunomodulatory effects of *Periostracum Cicadae* on dendritic cells and inflammatory responses. *Journal of Ethnopharmacology*, 312, 116480.
78. **Liu Y., Wang X., Wang L. et al.** (2021). *Atractylodis Rhizoma*: traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113576.
79. **Sureshkumar S., Sivakumar T., Chandrasekar M.J.N., et al.** (2010). Investigating the anti-inflammatory and analgesic activity of leaves of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr. in standard experimental animal models. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9(1), 41–47.
80. **Hong M.H., Lee J.Y., Jung H.J., et al.** (2009). Extract of *Sophora flavescens* Aiton inhibits the production of inflammatory cytokines through inhibition of NF- κ B/I κ B signaling pathway in human mast cell line HMC-1. *Toxicology in Vitro*, 23(2), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2008.12.002>
81. **Kim B.R., Cho Y.C., Le H.T.T. et al.** (2017). Suppression of inflammation by the rhizome of *Anemarrhena asphodeloides* via regulation of nuclear factor- κ B and p38 signal transduction pathways in macrophages. *Biomedical Reports*, 7(4), 357–362. doi:10.3892/br.2017.895.
82. **Nguyễn Mạnh Tuyển và cộng sự** (2017), “Đánh giá tác dụng chống viêm dị ứng và làm bền tế bào mast của cao đặc EZ trên thực nghiệm”, Tạp chí Y học Việt Nam.
83. **Trường Đại học Y Hà Nội** (2005), Bài giảng Y học cổ truyền, tập 1, Nhà xuất bản Y học.
84. **World Health Organization** (2019). *WHO benchmarks for training in traditional Chinese medicine*. World Health Organization, Geneva
85. **Li S., Zhang B., Zhang N.** (2018). Systems pharmacology approaches for traditional herbal formulas. *Journal of Ethnopharmacology*, 219, 1–12.

86. **Kim H.K. et al.** (2014). Anti-allergic and anti-inflammatory effects of *Elsholtzia ciliata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 198–205.
87. **Shin H.S. et al.** (2015). Anti-allergic effects of *Arctium lappa* fruit extract. *International Journal of Molecular Medicine*, 36(3), 733–740.
88. **Zhou X., Seto S.W., Chang D. et al.** (2020). Synergistic effects of Chinese herbal medicine: a comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 34(9), 2199–2214
89. **Chen S.G.** (2007). *Waike Zhengzong* (Orthodox Manual of External Medicine). People's Medical Publishing House, Beijing. (Original work published 1617).

Phụ lục 1

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

CAO LÔNG “TIÊU ĐỘC DƯỠNG PHU”

1. Nguồn gốc: Cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu” được bào chế theo phương pháp chiết xuất dược liệu của bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phu” với nước cất, chiết nóng (100°C, 1h x 3 lần), dịch chiết được loại tạp, cô dưới áp suất thấp thành cao lỏng 2:1.

Công thức bài thuốc “Tiêu độc dưỡng phu”:

TT	Dược liệu	Tên khoa học	Hàm lượng (gam)
1	Phòng phong	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	15
2	Kinh giới	<i>Herba Elsholtziae ciliatae</i>	15
3	Thuyền thoái	<i>Periostracum Cicadae</i>	20
4	Ngưu bàng tử	<i>Fructus Arctii lappae</i>	10
5	Thương truật	<i>Rhizoma Atractylodis</i>	10
6	Khổ sâm	<i>Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis</i>	10
7	Sài đất	<i>Herba Wedeliae</i>	12
8	Thạch cao	<i>Gypsum fibrosum</i>	10
9	Tri mẫu	<i>Rhizoma Anemarrhenae</i>	10
10	Đương quy	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	10
11	Sinh địa	<i>Rehmannia glutinosa (Gaertn.) Libosch.</i>	10
12	Hồ ma nhân	<i>Semen Sesami Nigrum</i>	10
13	Cam thảo	<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>	06
14	Phủ bình	<i>Herba Pistiae</i>	12
Tổng cộng			160 (g)

2. Yêu cầu chất lượng

2.1. *Tính chất*: Dịch lỏng, màu nâu, không có nấm mốc, mùi thơm được liệu, vị ngọt, hơi đắng.

2.2. *Định tính*: Chế phẩm phải thể hiện phép thử định tính của được liệu: phòng phong, ngư bàng tử và thương truật. Đánh giá định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, theo DDVN V, phụ lục 5.4.

2.3. *Độ nhiễm khuẩn*: Tổng số vi sinh vật hiếu khí không quá 10^4 CFU/g; tổng số nấm không quá 10^2 CFU/g; Không quá 10^2 CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 g. Không có *Salmonella* trong 10 g. Không có *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* trong 1 g. Phụ lục 13.6, “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”- DDVN V.

3. Phương pháp thử

3.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

3.2. Định tính

Theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4- DDVN V)

3.3. Độ nhiễm khuẩn

Tiến hành thử theo phương pháp đĩa thạch, Phụ lục 13.6, “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”- DDVN V.

4. Đóng gói, ghi nhãn, bảo quản

Đóng trong chai nhựa kín.

Nhãn rõ ràng, đúng quy chế.

Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh sáng.

Hà Nội, ngày 12 tháng 03 năm 2025

CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN



GIÁM ĐỐC
ThS.BS. Đinh Minh Mẫn

Phụ lục 2
QUY TRÌNH BẢO CHẾ

QUY TRÌNH BẢO CHẾ CAO LÔNG “TIÊU ĐỘC DƯỠNG PHU”

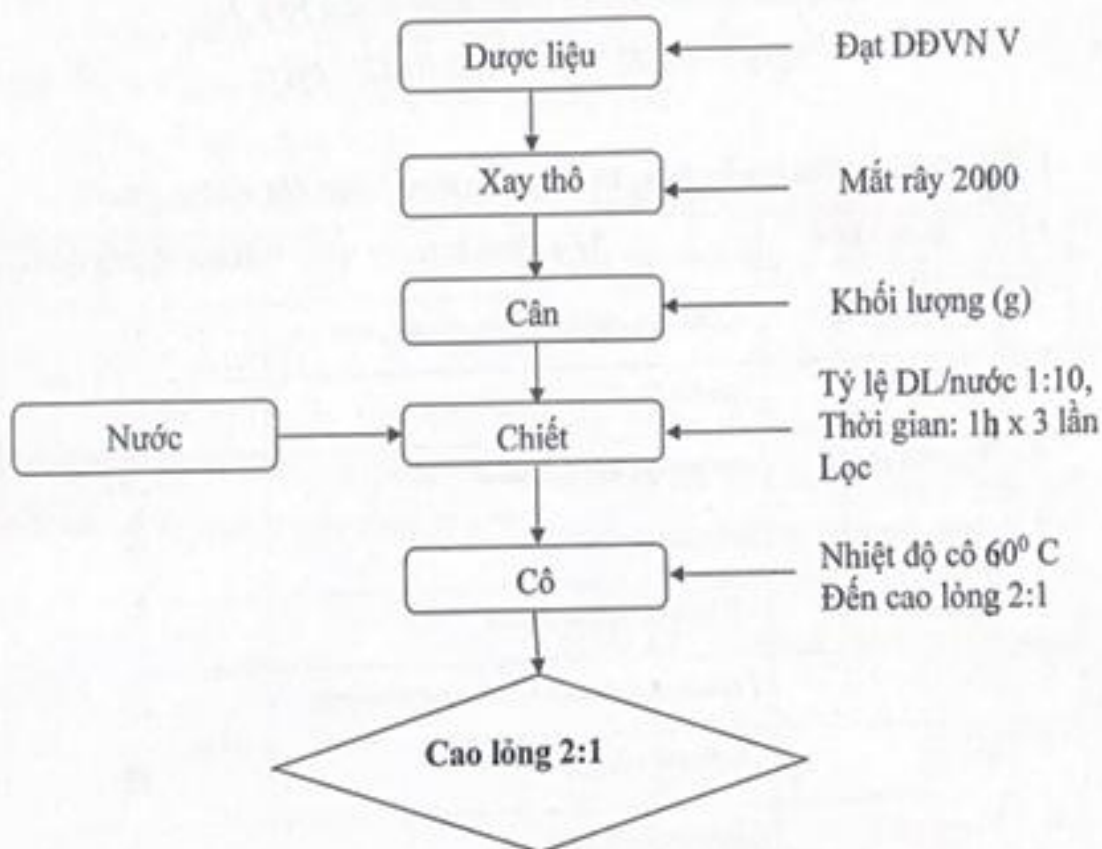
(bào chế tại công ty cổ phần dược phẩm Phú Tín,
ngày 12/03/2025, lô sx: TDDP12032025)

1. Thành phần bài thuốc dùng bào chế cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phu”

TT	Dược liệu	Tên khoa học	Hàm lượng (gam)
1	Phòng phong	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	15
2	Kinh giới	<i>Herba Elsholtziae ciliatae</i>	15
3	Thuyền thoái	<i>Periostracum Cicadae</i>	20
4	Ngưu bàng tử	<i>Fructus Arctii lappae</i>	10
5	Thương truật	<i>Rhizoma Atractylodis</i>	10
6	Khổ sâm	<i>Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis</i>	10
7	Sài đất	<i>Herba Wedeliae</i>	12
8	Thạch cao	<i>Gypsum fibrosum</i>	10
9	Tri mẫu	<i>Rhizoma Anemarrhenae</i>	10
10	Đương quy	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	10
11	Sinh địa	<i>Rehmannia glutinosa (Gaertn.) Libosch.</i>	10
12	Hồ ma nhân	<i>Semen Sesami Nigrum</i>	10
13	Cam thảo	<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>	06
14	Phù bình	<i>Herba Pistiae</i>	12
Tổng cộng			160 (g)



2. Sơ đồ quy trình bào chế cao lỏng



Hình 1. Quy trình bào chế cao lỏng “HHV”

3. Thuyết minh chi tiết quy trình

3.1. Giai đoạn chuẩn bị

- Kiểm tra vệ sinh và khả năng vận hành các máy móc và thiết bị liên quan.
- Kiểm tra và cân dược liệu.
- Chuẩn bị bao bì.
- Kiểm tra hồ sơ lô sản xuất kèm theo.

3.2. Giai đoạn chiết xuất

- Dược liệu đạt tiêu chuẩn ĐDVN V, xay thô qua mắt rây 2000, sau khi được cân theo tỷ lệ của bài thuốc được chuyển vào hệ thống chiết.
- Cho nước cất vào bình chiết, ngập trên dược liệu, đậy nắp kín, cài đặt các thông số và tiến hành chiết xuất theo điều kiện sau:
 - + Lượng nước cất dùng chiết (lít): gấp 10 lần khối lượng dược liệu (kg).

+ Nhiệt độ chiết: 100°C.

+ Thời gian và số lần chiết: chiết 3 lần, mỗi lần 1h (60 phút).

Trong quá trình chiết xuất cần kiểm tra và kiểm soát tốt các thông số về nhiệt độ, thời gian, và hoạt động của hệ thống chiết.

- Thu và xử lý dịch chiết:

Sau lần chiết đầu tiên, bơm dịch chiết sang bình trung gian qua hệ thống lọc dịch chiết. Sau đó cấp dung môi (nước cất) cho lần chiết thứ 2, lần thứ 3 và tiếp tục chiết xuất.

3.3. Quá trình cô đặc

Dịch chiết lần 1, lần 2 và lần 3 được gộp chung và được chuyển từ bình chiết sang bình đựng trung gian nhờ bơm áp suất giảm và được lọc qua bộ lọc. Cô đặc dịch chiết đến cao 2:1 ở điều kiện nhiệt độ 60°C, áp suất chân không 50 bar.

Hà Nội, ngày 12 tháng 03 năm 2025

CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN



GIÁM ĐỐC
ThS.BS. *Đinh Minh Mẫn*



Phụ lục 3
ĐẶC ĐIỂM CÁC VỊ THUỐC TRONG CAO LỎNG
“TIÊU ĐỘC DƯỠNG PHU”

1. Phòng phong

- Tên khoa học: *Radix Saposhnikoviae divaricatae*. Họ Hoa tán *Apiaceae*
- Bộ phận dùng: rễ
- Thành phần hoá học: trong phòng phong *Ledebouriella seseloides* có các chất manit, những chất có tính chất phenola với độ chảy 92oC, glucosit đắng, các chất đường; phòng phong *Siler divaricatum* có 0,05% tinh dầu.
- Tác dụng dược lý: kháng khuẩn, kháng bạch hầu, giải nhiệt, kháng viêm và ảnh hưởng đến chức năng miễn dịch, tác động lên hệ thống trung khu thần kinh (tác dụng chống đau, trấn tĩnh, hạ sốt.....) .
- Tính vị, quy kinh: Tân, cam, ôn. Quy kinh: bàng quang, can, phế, tỳ, vị.
- Công năng , chủ trị:
Công năng: Giải biểu trừ phong hàn, trừ phong thấp, trừ co thắt.
Chủ trị: Đau đầu do hàn, mày đay, phong thấp tê đau, uốn ván.

2. Kinh giới

- Tên khác: Bán biên tô, Tiểu kinh giới, Bài hương thảo
- Tên khoa học: *Herba Elsholtziae ciliatae*. Thuộc họ bạc hà *Lamiaceae* (*Labiatae*).
- Bộ phận dùng: Đoạn ngọn cành mang lá, hoa còn tươi hay đã phơi hay sấy khô của cây Kinh giới
- Tác dụng dược lý: Cây kinh giới chứa khoảng 1,8% tinh dầu, với thành phần chủ yếu là các hoạt chất như d. menton và d. limone. Các hoạt chất này có tác dụng thúc đẩy lưu thông máu, tiêu viêm, an thần, hạ sốt và chống dị ứng.
- Tính vị, quy kinh: Tân, vị khổ, ôn. Quy kinh can, phế.
- Công năng, chủ trị:
Công năng: Giải biểu, khu phong, chỉ ngứa, tuyên độc thấu chẩn.

Chủ trị: Cảm mạo, phong hàn, phong nhiệt, phong cảm khẩu, mụn nhọt, dị ứng, sỏi mọc không tốt. Sao đen: Chỉ huyết. Chủ trị: Rong huyết, băng huyết, thổ huyết, đại tiện ra máu.

- Kiên ky: Biểu hư, tự ra mồ hôi nhiều, không có ngoại cảm, phong hàn không nên dùng.

3. Thuyền thoái

- Tên khoa học: Periostracum Cicadidea. Họ Ve sầu (Cicadidea).

- Bộ phận dùng: Xác lột vỏ của con ve sầu lúc có cánh

- Tính vị, quy kinh: Cam, hàn. Quy kinh: phế, can.

- Công năng, chủ trị :

Công năng: Tán phong nhiệt, giải kinh, thấu chẩn, tiêu màng.

Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, đau họng, tiếng khàn; sỏi không mọc, phong chẩn, ngứa, mắt đỏ có màng, kinh phong.

4. Nguru bàng tử

- Tên khoa học: Fructus Arctii lappae

- Bộ phận dùng: quả chín phơi khô của cây Nguru bàng. họ Cúc (Asteraceae).

- Thành phần hóa học : Trong quả nguru bàng (gọi nhầm là hạt) người ta đã chiết xuất được 25-30% chất béo và một chất glucosid gọi là actiin $C_{27}H_{34}O_{11}$. H_2O . Ngoài ra còn chất lappin (analoit) khi thủy phân chất actiin (arctiin) bằng axit nhẹ, ta sẽ được chất actigenin $C_{21}H_{24}O_6$ và glucoza. Trong chất béo thành phần chủ yếu gồm các glyxerit của các axit panmitic, stearic và oleic.

- Tác dụng dược lí: Đông y thường và chỉ dùng quả (gọi nhầm là hạt) để chữa cảm cúm, thông tiểu và chữa sốt, chữa sưng vú, cổ họng sưng đau, viêm phổi, viêm tai. Đối với mụn nhọt đang nung mủ, hoặc trang nhạc thì có tác dụng chóng vỡ và khô. Đối với bệnh sỏi đậu cũng có tác dụng làm cho chóng khô.

- Tính vị, quy kinh: Tân, khô, hàn. Quy kinh: phế, vị.

- Công năng, chủ trị

Công năng :Giải biểu nhiệt, tuyên phế, thấu chẩn, giải độc, thông lợi hầu họng.

Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, ho đờm nhiều, sỏi, hầu họng sưng đau, quai bị, ngứa, mụn nhọt, đơn độc, nhọt độc sưng lở.

5. Thương truật

- Tên gọi khác: Mao truật, xích truật
- Tên khoa học: (Rhizoma Atractylodis), họ Cúc (Asteraceae).
- Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi khô của cây Mao thương truật hoặc cây Bắc thương truật
- Thành phần hóa học:
 - + Thân rễ thương truật chứa glycosid kali atractylat, hydroxyatractylon, acetoxyatractylon, hinesol.
 - + Tinh dầu thương truật có p.cymen, β – selenen, Ar- curcumen, elemol, β – eudesmol. (Chinese drugs of plant origin, tập I, 1992)
- Tác dụng dược lí :
 - + Glycosid kali atractylat trong thương truật có tác dụng trên đường máu, đầu tiên gây tăng, sau đó gây hạ đường máu có thể đến mức co giật, làm giảm lượng glycogen trong gan và cơ và làm tăng nhẹ trong tim, có hoạt tính kích thích miễn dịch.
 - + Phân đoạn polysaccharid thô có tác dụng kéo dài thời gian sống. Thành phần Polysaccharid có vai trò chủ yếu trong hoạt tính bảo vệ chống nhiễm Candida albicans ở chuột nhắt trắng gây nhiễm.
 - + Có tác dụng ức chế đối với một loại vi khuẩn gây bệnh ngoài da.
- Tính vị, quy kinh: Tân, khô, ôn. Quy kinh: tỳ, vị.
- Công năng, chủ trị

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).

6. Thạch cao

- Tên gọi khác : đại thạch cao, bạch hồ, băng thạch.
- Tên khoa học: Gypsum fibrosum
- Tên khác: Đại thạch cao, Băng thạch

- Tính vị, quy kinh: Sinh thạch cao: Cam, tân, đại hàn. Quy kinh: phế, vị, tam tiêu, tâm bào. Đoạn thạch cao: Cam, tân, sáp, hàn.

- Công năng, chủ trị

Công năng : Sinh thạch cao: Thanh nhiệt tả hòa, trừ phiền chí khát. Chủ trị: Thực nhiệt ở phần khí của phế vị (sốt cao, mồ hôi nhiều khát nhiều, mạch hồng đại), nhiệt độc thịnh ở kinh mạch (sốt cao phát ban), giai đoạn sau của bệnh ôn (còn sốt nhẹ, tâm phiền, miệng khô, hơi đỏ), viêm lợi.

Đoạn thạch cao: Thu thấp, sinh cơ, liễm sang, chỉ huyết. Chủ trị: Dùng ngoài điều trị vết loét không thu miệng, ngứa do thấp chân, bỏng nước, bỏng lửa, ngoại thương chảy máu.

- Kiên kỵ: Chứng hư hàn không dùng.

7. Tri mẫu

- Tên khoa học: *Rhizoma Anemarrhenae*. Thuộc họ Hành Alliaceae.

- Bộ phận dùng: thân , rễ

- Thành phần hoá học

Trong tri mẫu có một chất saponin gọi là asphonin. Ngoài ra còn một chất có tính thể chưa xác định.

- Tác dụng dược lí : tri mẫu thường được dùng làm thuốc chữa ho, tiêu đờm, chữa sốt, sốt do viêm phổi.

- Tính vị, quy kinh: Khổ, cam, hàn. Quy kinh: phế, vị, thận.

- Công năng, chủ trị

Công năng: Thanh nhiệt, tả hỏa, trừ phiền chí khát, nhuận táo.

Chủ trị: Nhiệt bệnh có sốt cao khát nước, phế thận âm hư; nội nhiệt, tiêu khát, táo bón.

- Kiên kỵ: Người hư hàn không nên dùng.

8. Đương quy

- Tên khoa học : *Radix Angelicae sinensis*. Thuộc họ Hoa tán apraceae

- Bộ phận dùng : rễ

-Thành phần hoá học: đương quy có chứa butilidene phthalide, N- valephenone

- o - carboxylic acide, caroten, beta - sitosterol.

- Tác dụng dược lý: thành phần hoà tan của đương quy làm hưng phấn, tăng co bóp tử cung, làm tăng huyết sắc tố và hồng cầu, tăng lưu lượng vành, giảm rối loạn nhịp tim, hạ lipid máu, chống ngưng tụ tiểu cầu, chống sự hình thành huyết khối. Tác dụng chống viêm, chống nhiễm khuẩn, giảm đau, an thần, làm tăng chức năng miễn dịch đặc hiệu, làm giãn cơ trơn phế quản, bảo vệ gan, phòng chống thiếu vitamin E.

- Tính vị, quy kinh: Cam tân ôn. Quy kinh: can, tâm, tỳ.

- Công năng, chủ trị

Công năng: Bổ huyết, hoạt huyết, điều kinh, giảm đau, nhuận tràng.

Chủ trị: Huyết hư, chóng mặt. Kinh nguyệt không đều, bế kinh, đau bụng kinh, táo bón do huyết hư. Phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn. Đương quy chích rượu: Dùng điều trị bế kinh, đau bụng kinh, phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn.

- Kiên ky: Tỳ vị có thấp nhiệt, đại tiện lỏng không nên dùng.

9. Sinh Địa

- Tên gọi khác : Địa hoàng

- Tên khoa học: *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. Họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

- Bộ phận dùng: rễ củ

- Tính vị quy kinh: vị: can, khô; tính: hàn. Quy kinh: tâm, can, thận.

- Thành phần hóa học:

+ Rễ củ địa hoàng chứa: Iridoid glycosid, Ionon glucosid, Carbohydrat. Stachyose là thành phần chính của dịch chiết nước của rễ củ. Ngoài ra, còn có 1-ethyl- β -D-galactopyranosid.

+ Các thành phần khác là acid amin 0,15-6,15%, ester của acid béo 0,01%, β -sitosterol, daucosterol, acid palmitic, acid succinic, campesterol, acid α -aminobutyric.

+ Phần trên mặt đất chứa catalpol, ajugol, aucubin, dihydrocatalpol và monomelitosid. Lá chứa các flavon chrysoeriol.

- Tác dụng dược lý :

+ Địa hoàng có hoạt tính chặn miễn dịch in vivo; thành phần có hoạt tính là 2-phenylethyl glycosid

- Công năng, chủ trị

Công năng : bổ âm, thanh nhiệt, lương huyết.

Chủ trị: Nhiệt bệnh có sốt cao khát nước, phế thận âm hư; nội nhiệt tiêu khát, ruột ráo táo bón.

10. Hồ ma nhân

- Tên gọi khác : Còn gọi là Mè, Du Tử Miêu, Cự Thắng Tử, Chi Ma, Bắc Chi Ma, Hồ Ma.

-Tên khoa học: Semen Sesami Nigrum .Thuộc họ Vừng Pedaliaceae.

- Bộ phận dùng: hạt già phơi khô

-Thành phần hóa học

Trong hạt vừng có từ 40-55% dầu, có khi lên tới 60%. Ngoài ra còn chừng 5-6% nước, 20- 22% chất protein, 5% tro, trong đó có 1,7mg đồng, 1% canxi oxalat, 6,3-8,8% chất không có nitơ, pentozan, lexitin, phytin và cholin.

Dầu vừng chứa khoảng 12-16% axit đặc (7,7% axit panmitic, 4,6% axit stearic, 0,4% axit arachidic), 75-80% axit lỏng (trong đó có 48% axit oleic, 30% axit linolic và, 0,04% axit lignoxeric). Phần không xà phòng hóa được chiếm 0,9-1,7% và chừng 1% lexitin.

Trong dầu vừng Villelavecchia và Fabris còn phân tích được chất sesamin

$C_{20}H_{18}O_6$, với tỷ lệ chừng 0,25-1%. Ngoài ra còn chừng 0,1% chất sesamol là một phenol có công thức $C_7H_6O_3$

- Tác dụng dược lí:

Trong tây y dùng dầu vừng thay dầu ô liu để chế thuốc tiêm, thuốc cao dán nhọt.

- Tính vị, quy kinh: Vị ngọt, tính bình, không độc. Quy kinh: tỳ, can, thận.

- Công năng, chủ trị

Công năng: Bổ can thận, đường huyết, chỉ huyết, nhuận tràng thông tiện, lợi sữa.

Chủ trị: Thiếu máu do huyết hư, tóc bạc sớm, xuất huyết do giảm tiểu cầu, táo bón, sau đẻ ít sữa.

- Kiêng kỵ: Tỳ vị hư hàn, ỉa chảy không dùng.

11. Cam thảo

- Tên gọi khác: bắc cam thảo, cam thảo, sinh cam thảo, quốc lão.

- Tên khoa học: Radix et Rhizoma Glycyrrhizae. Thuộc họ Cánh bướm Fabaceae (Papilionaceae).

- Bộ phận dùng: rễ và thân rễ còn vỏ hoặc đã cạo lớp vỏ, được phơi hay sấy khô

-Thành phần hóa học

Trong cam thảo người ta đã phân tích thấy 3- 8% glucoza, 2,4-6,5% sacaroza, 25-30% tinh bột, 0,3-0,35% tinh dầu, 2-4% asparagin, 11- 30mg% vitamin C, các chất anbuminoit, gồm, nhựa v.v...

Nhưng hoạt chất chính trong cam thảo là chất glyxyridin (glycyrrhizin) với tỷ lệ 6-14%, có khi tới 23%.

- Tác dụng dược lí: tác dụng giải độc, tác dụng như cortisol, kháng viêm, chống dị ứng, tác dụng đối với vị toan (nước chua của dạ dày), tác dụng tiêu giết đối với cơ trơn ống tiêu hóa, tác dụng của nội tiết tố dục tính, lợi tiểu, tiêu viêm, chữa táo bón

- Tính vị, quy kinh: Cam, bình. Quy kinh: tâm, phế, tỳ, vị và thông 12 kinh.

- Công năng, chủ trị

Kiện tỳ ích khí, nhuận phế chỉ ho, giải độc, chỉ thống, điều hòa tác dụng các thuốc.

Chích Cam thảo: Bỏ tỳ, ích khí, phục mạch. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, mệt mỏi yếu sức, hóa đờm chỉ ho, đánh trống ngực, mạch kết đại (mạch dừn), loạn nhịp tim.

Sinh Cam thảo: Giải độc tả hỏa. Chủ trị: Đau họng, mụn nhọt, thải độc.

- Kiêng kỵ: Không dùng chung với các vị Đại kích, Nguyên hoa, Hải táo, Cam toại

12. Khổ sâm

- Tên khoa học: Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis. Họ thầu dầu (Euphorbiaceae)

- Bộ phận dùng: lá và cành đã được phơi và sấy khô

- Thành phần hóa học: lá khổ sâm chứa alcaloid toàn phần 0,32% flavonoid toàn phần 2,87% tanin, hợp chất polyphenol

- Tác dụng dược lí: tác dụng kháng sinh đối với trực khuẩn lỵ và đồng thời có tác dụng kháng amip lỵ làm đơn bào co thành kén. Tác dụng an thần, lợi tiểu, chống dị ứng, tác dụng chống oxy hóa in vitro

- Tính vị, quy kinh: Vị đắng, hơi ngọt, hơi chát; tính mát. Quy kinh: can, đại tràng.
- Công năng chủ trị:

Công năng: Thanh nhiệt, tiêu độc, sát trùng.

Chủ trị: Ung nhọt, lở loét ngoài da, viêm mũi, tiểu ra máu, viêm loét dạ dày tá tràng, tiêu hóa kém.

13. Sài đất

- Tên khác: Còn gọi là húng trám, ngổ núi, cúc giáp, hoa múc.
- Tên khoa học: *Herba Wedeliae*. Họ Cúc (Asteraceae)
- Bộ phận dùng : phần trên mặt đất còn tươi hoặc phơi sấy khô của cây sài đất
- Thành phần hoá học: Cây sài đất đã được T. R. Govindachari, K. Nagarajan nghiên cứu từ năm 1956 và đã lấy được từ lá ra một chất lacton gọi là wedelolacton $C_{16}H_{10}O_7$ với tỷ lệ 0,05%. Theo cấu trúc wedelolacton vừa là một flavonoid vừa là một cumarin.

Theo sự nghiên cứu của Bộ môn dược liệu trường Đại học dược Hà Nội, trong sài đất có tinh dầu, rất nhiều muối vô cơ. Hoạt chất cho đến nay vẫn chưa xác định được.

- Tác dụng dược lí: Giảm đau, giảm sốt và kháng sinh rõ rệt, không thấy độc tính.
- Tính vị, quy kinh: Vị hơi mặn, hơi đắng, tính lương. Quy kinh: tâm, phế, vị.
- Công năng, chủ trị

Công năng: Thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm.

Chủ trị: Mụn nhọt, ngứa lở, dị ứng, rôm sảy ở trẻ em.

14. Phù Bình

- Tên gọi khác : bèo cái
- Tên khoa học: *Herba Pistiae*. Thuộc họ Ráy (Araceae).
- Bộ phận dùng: Cả cây bỏ rễ đã phơi hay sấy khô của cây Bèo cái
- Thành phần hóa học: Bèo cái đã được nhiều người nghiên cứu. Theo báo cáo của Sở nghiên cứu khoa học nông nghiệp Hoa Trung thì trong bèo cái có nước 93,13%, chất khô 6,87%, chất hữu cơ 5,09%, chất protit thô 0,63%, chất béo thô 0,29%, xenluloza 1,24%, chất không chứa nitơ 2,93%, tro 1,78%, photpho 0,185%.

Theo Watt, trong tro của bèo cái có chứa tới 75% kali clorua và 25% kali sunfat.

- Tác dụng dược lý:

Bèo cái có tác dụng kháng khuẩn đối với một số chủng vi khuẩn gây bệnh trong thử nghiệm in vitro. Hoạt tính lợi tiêu của bèo cái có một phần do tác dụng của kali, nhưng chủ yếu do các thành phần khác.

- Tính vị, quy kinh: Tân, hàn. Quy kinh: phế, thận.

- Công năng, chủ trị

Công năng: Phát hãn khu phong, hành thủy tiêu phù.

Chủ trị: Ngoại cảm, mày đay (phong chẩn, ẩm chẩn), đơn độc, phù thũng.

Dùng ngoài: Giã nát với ít muối để đắp hoặc sắc nước đặc, xông rửa.

- Kiên kỵ: Không phải thực nhiệt, thực tà, người ra mồ hôi nhiều, thể hư không nên dùng. Có thai, cấm dùng [39],[40],[41].

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

GIẤY XÁC NHẬN

Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y xác nhận học viên Nguyễn Thị Phương Thảo thực hiện nội dung nghiên cứu thực nghiệm của đề tài luận văn “Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên thực nghiệm” tại Bộ môn từ 03/2025 đến 09/2025.

Các nội dung nghiên cứu:

1. Nghiên cứu quy trình sản xuất, tiêu chuẩn cơ sở và đánh giá độc tính cấp của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên thực nghiệm
2. Đánh giá tác dụng chống viêm, chống dị ứng của cao lỏng “Tiêu độc dưỡng phụ” trên thực nghiệm.

Học viện Quân y xác nhận chữ ký của
Đại tá PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân, chủ
nhiệm Bộ môn Dược lý là đúng



Đại tá
Vũ Đình Phú

Hà Nội, ngày 09 tháng 12 năm 2025
Chủ nhiệm Bộ môn

Đại tá PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân