

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

BỘ Y TẾ



LÊ MINH TRUNG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG
ĐIỀU CHỈNH RỐI LOẠN LIPID MÁU CỦA CAO
KHÔ “HẠ MỠ NK” TRÊN MÔ HÌNH NỘI SINH
THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI – 2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



LÊ MINH TRUNG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG
ĐIỀU CHỈNH RỐI LOẠN LIPID MÁU CỦA CAO
KHÔ “HẠ MỠ NK” TRÊN MÔ HÌNH NỘI SINH
THỰC NGHIỆM**

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

TS. BSCKII. Phạm Thủy Phương

HÀ NỘI – 2025

LỜI CẢM ƠN

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

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

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

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

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

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

Học viên

Lê Minh Trung

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Lê Minh Trung, học viên lớp Cao học – Khóa 15, Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, tôi xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của TS. BSCKII. Phạm Thủy Phương.

2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

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

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

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

Người viết cam đoan

Lê Minh Trung

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Rối loạn lipid máu theo Y học hiện đại.....	3
1.1.1. Khái niệm	3
1.1.2. Phân loại.....	4
1.1.3. Nguyên nhân	9
1.1.4. Triệu chứng	10
1.1.5. Chẩn đoán	12
1.1.6. Tiến triển và biến chứng.....	13
1.1.7. Điều trị	14
1.2. Rối loạn lipid máu theo Y học cổ truyền	18
1.2.1. Sự vận chuyển tân dịch trong cơ thể	18
1.2.2. Chứng đàm ẩm	19
1.2.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh.....	20
1.2.4. Phân thể lâm sàng- Biện chứng luận trị	22
1.2.5. Mối liên hệ giữa rối loạn chuyển hóa lipid và chứng đàm ẩm ...	25
1.3. Tình hình nghiên cứu thuốc YHCT điều trị rối loạn lipid máu.....	26
1.3.1. Nghiên cứu tại Việt Nam	26
1.3.2. Nghiên cứu ở nước ngoài.....	26
1.4. Tổng quan về bài thuốc nam “Hạ mỡ NK”	27
1.4.1. Xuất xứ bài thuốc.	27
1.4.2. Thành phần.....	27
1.4.3. Phân tích bài thuốc.	28
1.5. Mô hình dược lý thực nghiệm gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh.....	28
1.6. Một số phương pháp thử nghiệm độc tính cấp.....	30
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	32

2.1. Chất liệu nghiên cứu:	32
2.1.1. Bài thuốc “Hạ mỡ NK”	32
2.1.2. Nguyên vật liệu và hóa chất, thiết bị nghiên cứu	33
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	33
2.3. Động vật nghiên cứu:	34
2.4. Phương pháp nghiên cứu:	34
2.4.1. Thiết kế nghiên cứu	34
2.4.2. Cỡ mẫu	34
2.4.3. Phương pháp đánh giá bào chế cao khô hạ mỡ NK.	35
2.4.4. Nghiên cứu độc tính cấp của cao khô “Hạ mỡ NK” theo đường uống trên chuột nhắt trắng:	37
2.4.5. Nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu trên mô hình gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh.	38
2.5. Phương pháp đánh giá.....	39
2.5.1. Phương pháp đánh giá kết quả nghiên cứu độc tính cấp.....	39
2.5.2. Đánh giá kết quả tác dụng của “Hạ mỡ NK” trên mô hình nội sinh:.....	40
2.6. Phương pháp xử lý số liệu	40
2.7. Sai số và phương pháp khống chế sai số.....	40
2.8. Đạo đức nghiên cứu	40
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	42
3.1. Xây dựng quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK”	42
3.1.1. Đánh giá chất lượng nguyên liệu nghiên cứu.	42
3.1.2. Xây dựng quy trình bào chế của cao khô “Hạ mỡ NK”	42
3.1.3. Tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK”.	44
3.2. Đánh giá độc tính cấp của cao khô “Hạ mỡ NK”:	45
3.3. Tác dụng điều chỉnh lipid trên mô hình RLLM của cao khô “Hạ mỡ NK” theo cơ chế nội sinh.	46

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	52
4.1. Bàn luận về quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK”.	52
4.2. Bàn luận về đánh giá độc tính cấp và tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của cao khô "Hạ mỡ NK" trên mô hình nội sinh thực nghiệm.....	53
KẾT LUẬN	68
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

BN	: Bệnh nhân
HDL-C	: High Density Lipoprotein Cholesterol (Lipoprotein tỷ trọng cao)
LDL-C	: Low Density Lipoprotein Cholesterol (Lipoprotein tỷ trọng thấp)
Non HDL-C	: Non High Density Lipoprotein Cholesterol (Cholesterol toàn phần trừ HDL cholesterol)
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein (Lipoprotein tỷ trọng rất thấp)
TC	: Total cholesterol (Cholesterol toàn phần)
NCEP	: National cholesterol Education Program (Chương trình giáo dục Cholesterol quốc gia)
RLLM	: Rối loạn lipid máu
NC	: Nghiên cứu
TG	: Triglyceride
THA	: Tăng huyết áp
VXĐM	: Vữa xơ động mạch
WHO	: Tổ chức y tế thế giới
YHCT	: Y học cổ truyền
YHHĐ	: Y học hiện đại
OECD	: Organisation for Economic Co-operation and Development (Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế)
DĐVN	: Dược điển Việt Nam
TCVN	: Tiêu chuẩn Việt Nam
AOAC	: Association of Official Analytical Chemists (Hiệp hội các nhà hoá học phân tích chính thống)
HPLC	: High-performance liquid chromatography (Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao)

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	Phân loại rối loạn lipid, lipoprotein máu theo Fredrickson và WHO	5
Bảng 1.2.	Phân loại của EAS	6
Bảng 1.3.	Phân loại RLLM theo NCEP- ATP III (2002) và hiệp hội tim mạch VN (2008) (Định lượng lipid máu lúc đói	7
Bảng 1.4.	Phân loại nồng độ cholesterol (mg/dl) theo Hội nội tiết – đái tháo đường Việt Nam.....	8
Bảng 1.5.	Thành phần bài thuốc “Hạ mỡ NK”	27
Bảng 2.1.	Thành phần của bài thuốc “Hạ mỡ NK”	32
Bảng 2.2.	Phương pháp kiểm soát và kiểm nghiệm.....	36
Bảng 3.1.	Kết quả khối lượng cao và hàm lượng các chất trong cao tổng 2 lần chiết.	43
Bảng 3.2.	Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao khô “Hạ mỡ NK”	45
Bảng 3.3.	Mô hình rối loạn lipid máu bằng Poloxamer 407	46
Bảng 3.4.	Tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột nhắt trắng	47
Bảng 3.5.	Tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ triglycerid trong máu chuột nhắt trắng	48
Bảng 3.6.	Tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ HDL-cholesterol trong máu chuột nhắt trắng	49
Bảng 3.7.	Tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ non-HDL-Cholesterol trong máu chuột nhắt trắng	50

DANH MỤC HÌNH, SƠ ĐỒ

Hình 1.1. Cơ chế bệnh sinh rối loạn lipid máu theo YHCT	22
Hình 2.1. Động vật nghiên cứu	34
Sơ đồ 2.2. Sơ đồ nghiên cứu mô hình P-407	39
Sơ đồ 3.1. Sơ đồ quy trình bào chế của cao khô “Hạ mỡ NK	42

ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn lipid máu (RLLM) đóng vai trò quan trọng trong quá trình hình thành và tiến triển của bệnh vữa xơ động mạch (VXĐM), bệnh động mạch vành (ĐMV), và các vấn đề động mạch não khác. Các biến chứng nghiêm trọng do vữa xơ động mạch gây ra, như tăng huyết áp, nhồi máu cơ tim, và tai biến mạch máu não, đang đe dọa tính mạng [1]. Bệnh vữa xơ động mạch và bệnh động mạch vành đang trở thành nguyên nhân chính của tử vong ở các quốc gia phát triển, và tỷ lệ này đang ngày càng tăng lên [1].

Tại Việt Nam, vấn đề của xơ vữa động mạch, biểu hiện qua những dấu hiệu như suy vành, nhồi máu cơ tim, tai biến mạch máu não, đang ngày càng tăng lên theo sự phát triển của xã hội. Do đó, sự gia tăng của rối loạn lipid máu đang trở thành một trong những quan ngại hàng đầu về sức khỏe cộng đồng trong thế kỷ 21 [2]. Trong thời đại hiện đại này, y học đã đạt được nhiều tiến bộ đáng kể và đưa ra nhiều cách tiếp cận hiệu quả để ngăn chặn và can thiệp vào tình trạng rối loạn lipid máu. Một trong những xu hướng hiện nay trong điều trị hội chứng này là ứng dụng các loại thuốc có nguồn gốc tự nhiên, giúp cải thiện đáng kể hiệu quả điều trị và giảm thiểu tác dụng phụ không mong muốn đối với bệnh nhân, cũng như giảm chi phí điều trị.

Các nghiên cứu lâm sàng về y học cổ truyền đã ghi nhận nhiều điểm tương đồng giữa hội chứng rối loạn lipid máu và hội chứng đàm Do đó, có khả năng sử dụng phương pháp chữa đàm thấp trong y học cổ truyền để điều trị rối loạn lipid máu. Mặc dù nhiều loại thuốc và bài thuốc đã chứng minh hiệu quả trong thực tế lâm sàng, nhưng vẫn cần có sự nghiên cứu sâu rộng về tác dụng và độc tính của chúng. Điều này đặt ra yêu cầu về chứng minh và nghiên cứu cơ sở khoa học, khám phá tác dụng mới của thuốc y học cổ truyền, nhằm tạo điều kiện cho việc hiện đại hóa y học cổ truyền. Hiện nay, hướng nghiên cứu này đang thu hút sự quan tâm rộng rãi cả trong và ngoài

nước. Công thức của bài thuốc "Hạ mỡ NK" là một trong những bài thuốc Nam quý, do cố lương y Nguyễn Kiều truyền lại, được sử dụng để điều trị hội chứng đàm thấp, một hội chứng có nhiều đặc điểm tương đồng với rối loạn lipid máu cả về lý luận và thực tiễn thấp (nhóm nghiên cứu tạm đặt tên bài thuốc là "Hạ mỡ NK"). Bài thuốc này đã được áp dụng rộng rãi tại bệnh viện Tuệ Tĩnh và kết quả sơ bộ từ nghiên cứu về dạng thuốc sắc cho thấy hiệu quả tích cực đối với bệnh nhân được chẩn đoán rối loạn lipid máu.

Cao khô "Hạ mỡ NK" được chiết xuất các hoạt chất có tác dụng hạ lipid máu có trong dược liệu của bài thuốc. Với mong muốn đánh giá đầy đủ tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu một cách khách quan và khoa học của cao khô "Hạ mỡ NK", đề tài được thực hiện với mục tiêu:

1. Xây dựng quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao khô "Hạ mỡ NK".

2. Đánh giá độc tính cấp và tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của cao khô "Hạ mỡ NK" trên mô hình nội sinh thực nghiệm.

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Rối loạn lipid máu theo Y học hiện đại

1.1.1. Khái niệm

Lipid là loại phân tử khó tan trong nước và không hòa tan trong nước. Chúng được tìm thấy trong màng tế bào, giữ cho tế bào nguyên vẹn và hỗ trợ quá trình tạo ra các cơ quan riêng biệt.

Ngoài ra, lipid cũng là tiền thân của một số hormon và acid mật, đóng vai trò là chất truyền tín hiệu cả ngoại bào và nội bào. Các lipoprotein chuyển động các phức hợp lipid và cung cấp năng lượng cho tế bào trên toàn cơ thể [3].

Lipid chiếm vị trí quan trọng trong cung cấp năng lượng cho cơ thể, đóng góp khoảng 25%-30% tổng năng lượng. Mỗi gram lipid cung cấp 9,1 kcal. Trong cơ thể, lipid là nguồn năng lượng lớn nhất được lưu trữ dưới dạng mỡ trung tính TG ở mô mỡ. Lượng mỡ trong cơ thể thường biến động theo tuổi, giới tính và dân tộc [3].

Nhu cầu về lượng lipid còn chưa được xác định chính xác, nhưng thông thường được ước lượng vào khoảng 1g/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày. Đối với chế độ ăn, khoảng 2/3 lipid nên đến từ dầu thực vật (acid béo không bão hòa) và 1/3 từ mỡ động vật (acid béo bão hòa), với lượng cholesterol hạn chế dưới 300 mg/ngày [3].

Rối loạn lipid máu (RLLM) là trạng thái khi một hoặc nhiều chỉ số lipid bị đảo lộn, bao gồm tăng cholesterol hoặc TG, tăng LDL-C hoặc giảm HDL-C. RLLM thường xuất hiện kèm theo các bệnh lý tim mạch, nội tiết và chuyển hóa. Nó cũng là một yếu tố nguy cơ cho các bệnh lý này, có thể xuất phát từ nguyên phát hoặc do lối sống không lành mạnh. Điều trị RLLM bao

gồm thay đổi lối sống (tăng cường hoạt động thể lực, điều chỉnh chế độ ăn: hạn chế uống bia rượu, giảm lượng mỡ động vật...) hoặc sử dụng thuốc giảm lipid máu. Việc điều trị RLLM đóng góp vào việc kiểm soát và điều trị nhiều bệnh lý tim mạch, nội tiết và chuyển hóa [3].

1.1.2. Phân loại

Có nhiều cách phân loại các RLLM:

1.1.2.1. Phân loại theo De Gennes (1971):

Trên thực tế lâm sàng, để đơn giản hóa quá trình điều trị, De Gennes đề xuất một phân loại dựa trên hai thông số chính là TC và TG. Mặc dù cách phân loại này có tính cổ điển, nhưng vẫn được sử dụng phổ biến trong thực tế lâm sàng do tính thực tế và sự đơn giản của nó [4]. Phân loại này tập trung chủ yếu vào TC và TG:

Hội chứng tăng cholesterol máu đơn thuần:

- + Huyết thanh bệnh nhân lúc đói trong
- + TC máu tăng cao
- + Triglycerid bình thường
- + Tỷ lệ Cholesterol/ Triglycerid $> 2,5$.
- + LDL-C tăng

Hội chứng tăng TG máu đơn thuần:

+ Huyết thanh bệnh nhân lúc đói có màu đục như sữa ở phía trên, phía dưới tương đối trong.

- + TC máu bình thường hoặc tăng nhẹ
- + TG máu tăng rất cao
- + Tỷ lệ Triglycerid/Cholesterol $\geq 2,5$.
- + LDL-C bình thường hoặc giảm.

+ Chylomicron tăng cao đơn thuần hoặc VLDL tăng cao đơn thuần, hoặc tăng cả Chylomicron và VLDL.

Hội chứng tăng lipid máu hỗn hợp:

- + Huyết thanh lúc đói thường đục nhẹ, có thể đục đều hoặc chỉ đục phần trên.
- + TC tăng ở mức độ vừa phải
- + TG tăng nhiều hơn
- + Tỷ lệ Cholesterol/ Triglycerid $< 2,5$.
- + LDL tăng hoặc tăng VLDL và IDL

Cách phân loại này tiện dụng trên lâm sàng [4]

1.1.2.2. Phân loại theo Fredrickson:

Vào năm 1965, dựa trên kỹ thuật điện di và siêu ly tâm, Fredrickson đã thực hiện việc phân loại các rối loạn lipid máu thành 5 loại chủ yếu dựa trên thành phần lipoprotein. Sau đó, vào năm 1970, một nhóm tác giả đã tách loại II thành IIa và IIb. Từ đó, bảng phân loại này đã trở thành bảng phân loại quốc tế, được áp dụng từ năm 1970 [5], [6].

Bảng 1.1. Phân loại rối loạn lipid, lipoprotein máu theo Fredrickson và WHO (2002)

Typ	Tăng Lipoprotein (s)	Tăng Lipid
I	Chylomicrons	TG
IIa	LDL-C	Cholesterol
IIb	LDL và VLDL	TG và Cholesterol
III	VLDL và tàn dư Chylomicrons	TG và Cholesterol
IV	VLDL	TG
V	Chylomicrons và VLDL	TG và Cholesterol

LDL= lipoprotein tỉ trọng thấp; TG= triglyceride; VLDL= lipoprotein tỉ trọng rất thấp.

1.1.2.3. Phân loại theo hiệp hội xơ vữa động mạch châu Âu EAS (European Atherosclerosis Society):

Phân loại này căn cứ vào nồng độ TC và TG có trong huyết tương [7].

Bảng 1.2. Phân loại của EAS (2011)

Chỉ số Typ	Cholesterol (mmol/l)	Triglyceride (mmol/l)
Bình thường	$\leq 5,2$	$\leq 2,2$
A	5,2 - 6,5	$\leq 2,2$
B	6,5 – 7,8	$\leq 2,2$
C	$\leq 5,2$	2,2 – 5,5
D	5,2 – 7,8	2,2 – 5,5
E	$> 7,8$	$> 5,5$

1.1.2.4. Phân loại của chương trình giáo dục về cholesterol quốc gia của Hoa Kỳ - 2002 (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III - NCEP) và hiệp hội tim mạch Việt Nam (2008):

Dựa trên khuyến cáo của NCEP (2002) và Hội Tim mạch học Việt Nam năm 2008, việc đánh giá mức độ RLLM được thực hiện cho tất cả những người có độ tuổi từ 20 trở lên dựa trên kết quả xét nghiệm lipid máu [8], [9]:

Bảng 1.3. Phân loại RLLM theo NCEP- ATP III (2002) và hiệp hội tim mạch VN (2008) (Định lượng lipid máu lúc đói (mmol/L))

Thành phần lipid máu	Đơn vị (mg%)	Đơn vị (mmol/l)	Đánh giá mức độ
Cholesterol	< 200	< 5,20	Bình thường
	200 - 239	5,20 - < 6,20	Cao giới hạn
	≥ 240	≥ 6,20	Cao
Triglycerid	< 150	< 1,73	Bình thường
	150 - 199	1,73 - < 2,30	Cao giới hạn
	200 - 499	2,30 - < 5,75	Cao
	≥ 500	≥ 5,75	Rất cao
HDL-C	< 40	< 1,03	Thấp
	≥ 60	≥ 1,54	Cao
LDL-C	< 100	< 2,57	Tối ưu
	100 - 129	2,57 - < 3,34	Gần tối ưu
	130 - 159	3,34 - < 4,11	Cao giới hạn
	160 - 189	4,11 - < 4,80	Cao
	≥ 190	≥ 4,80	Rất cao

Cách phân loại này cung cấp thông tin về sự biến đổi của các thành phần lipid máu có thể gây ra rối loạn về vữa xơ động mạch (VXĐM), đồng thời đánh giá cả các thành phần có tác dụng bảo vệ chống lại VXĐM. Ngoài ra, phương pháp này cũng phân biệt mức độ rối loạn của các thành phần lipid này, với sự tập trung đặc biệt vào mức độ LDL-C trong huyết thanh.

1.1.2.5. Phân loại theo Hội nội tiết - đái tháo đường Việt Nam (2018)

Theo các khuyến cáo trước đây, rối loạn lipid máu (RLLM) được xác định là sự tăng bất thường trong nồng độ máu của các thành phần như cholesterol toàn phần (TC), LDL-cholesterol (LDL-C), và/hoặc tăng

triglycerid (TG), và/hoặc giảm HDL-cholesterol (HDL-C). Tuy nhiên, các khuyến cáo gần đây đã mở rộng danh sách này bằng cách thêm vào hai thành phần khác: tăng non-HDL-C và Apo B. Rối loạn các thành phần lipid kéo dài có thể gây tổn thương cho nhiều cơ quan, trong đó tổn thương xơ vữa động mạch là một trong những nguyên nhân chủ yếu của bệnh tim mạch xơ vữa. Hội Nội tiết Đái tháo đường Việt Nam đã đưa ra phân loại về nồng độ các thành phần lipid và mức độ đánh giá [10]:

Bảng 1.4. Phân loại nồng độ cholesterol (mg/dl) theo Hội nội tiết – đái tháo đường Việt Nam (2018)

Thành phần lipid máu	Đơn vị (mg/dl)	Đơn vị (mmol/l)	Đánh giá mức độ
Non-HDL- C	<130	< 3,38	Bình thường
	130-159	3,38- <4,16	Trên bình thường
	160-189	4,16- < 4,94	Giới hạn cao
	190-219	4,94- <5,72	Cao
	≥ 220	≥ 5,72	Rất cao
LDL- C	< 100	< 2,57	Bình thường
	100 – 129	2,57 - < 3,34	Trên bình thường
	130 – 159	3,34 - < 4,11	Giới hạn cao
	160 – 189	4,11 - < 4,80	Cao
	≥ 190	≥ 4,80	Rất cao
Triglycerid	< 150	< 1,73	Bình thường
	150 – 199	1,73 - < 2,30	Cao giới hạn
	200 – 499	2,30 - < 5,75	Cao
	≥ 500	≥ 5,75	Rất cao
HDL-C	< 40 (nam)	< 1,03	Thấp
	< 50 (nữ)	< 1,29	Cao

1.1.3. Nguyên nhân

Khi thảo luận về nguyên nhân gây ra tình trạng rối loạn lipid máu, thường nhắc đến sự kết hợp của nhiều yếu tố, bao gồm sự lão hóa của cơ thể theo độ tuổi, chế độ ăn giàu lipid, và sự khiếm khuyết của hệ thống gen.

1.1.3.1. Rối loạn lipid máu tiên phát

Rối loạn lipid máu tiên phát xuất phát từ đột biến gen có thể dẫn đến tăng tổng hợp quá mức của cholesterol (TC), triglyceride (TG), LDL-C, hoặc giảm thanh thải của TC, TG, LDL-C, hoặc giảm tổng hợp HDL-C, hoặc tăng thanh thải HDL-C. Rối loạn lipid máu tiên phát thường xuất hiện ở giai đoạn sớm của cuộc sống, đặc biệt là ở trẻ em và người trẻ tuổi, thường không liên quan đến tình trạng béo phì. Có các trường hợp tiêu biểu như sau:

- Tăng TG tiên phát: Đây là bệnh lý được di truyền theo kiểu gen lặn, biểu hiện lâm sàng thường thấy là không có tình trạng béo phì, gan lách lớn, cường lách, thiếu máu với giảm tiểu cầu, nhồi máu lách, và viêm tụy cấp gây đau bụng.

- Tăng lipid máu hỗn hợp: Đây là một bệnh lý di truyền, thường có nhiều thành viên trong gia đình mắc phải. Rối loạn lipid máu hỗn hợp có thể xuất phát từ tăng tổng hợp hoặc giảm thoái biến của các lipoprotein. Biểu hiện lâm sàng thường kèm theo tình trạng béo phì, làn da và mắt có màu vàng, khả năng kháng insulin, tiểu đường loại 2, và tăng acid uric trong máu [11].

1.1.3.2. Rối loạn lipid máu thứ phát

Nguyên nhân của rối loạn lipid máu (RLLM) thứ phát thường xuất phát từ lối sống tĩnh tại, việc tiêu thụ nhiều bia-rượu, và chế độ ăn giàu chất béo bão hòa. Các nguyên nhân thứ phát khác của RLLM bao gồm:

Tăng triglycerid thứ phát:

- + Đái tháo đường: Thường đi kèm với tăng triglyceride máu do hoạt động của enzyme lipoprotein lipase giảm. Khi kiểm soát đường huyết tốt, nồng độ triglyceride có thể giảm sau vài tuần. Tăng triglyceride máu là một yếu tố nguy cơ cho vấn đề xơ vữa động mạch ở người bệnh đái tháo đường.

+ Cushing (Hội chứng Cushing): Tình trạng này đi kèm với giảm di hóa của các lipoprotein do sự giảm hoạt động của enzyme lipoprotein lipase. Hiện tượng này trở nên rõ ràng hơn trong trường hợp có sự kèm theo kháng insulin và đái tháo đường

Sử dụng estrogen: Phụ nữ sử dụng estrogen trong thời gian dài có thể gặp tăng triglyceride do tăng tổng hợp VLDL. Trong thai kỳ, nồng độ estrogen tăng làm tăng gấp 2-3 lần nồng độ triglyceride, nhưng sẽ trở lại mức bình thường sau khoảng 6 tuần sau khi sinh.

+ Nghiện rượu: Rượu có thể gây rối loạn lipid máu, đặc biệt là tăng triglyceride. Rượu làm tăng đáng kể nồng độ triglyceride máu ở những người có tăng sản triglyceride nguyên phát hoặc do các nguyên nhân khác. Hội chứng Zieve có thể làm tăng cholesterol máu, rượu chuyển thành acetat làm giảm sự oxy hóa acid béo trong gan, dẫn đến sản xuất TG tăng, tăng sản xuất VLDL, và giảm hoạt động của enzyme LCAT (Lecithin cholesterol acyltransferase), gây tăng lượng cholesterol trong hồng cầu và thiếu máu tán huyết.

+ Bệnh thận: Trong hội chứng thận hư, có tăng sản VLDL và LDL do gan tăng tổng hợp để bù lại, trong khi lượng protein máu giảm do thải qua nước tiểu. TG tăng do albumin máu giảm, làm tăng nồng độ acid béo tự do gắn vào lipoprotein và giảm sự thủy phân TG của các lipoprotein này [11].

1.1.4. Triệu chứng

1.1.4.1. Triệu chứng lâm sàng:

Rối loạn lipid máu là một bệnh lý sinh học, phát sinh sau một khoảng thời gian dài mà không thể nhận biết được, bởi vì nó không có các triệu chứng đặc trưng. Phần lớn các biểu hiện lâm sàng của rối loạn lipid máu thường chỉ được phát hiện khi nồng độ các thành phần lipid máu tăng cao và kéo dài, hoặc khi gây ra các biến chứng ở các cơ quan như xơ vữa động mạch, nhồi máu cơ tim, tai biến mạch não, và sự xuất hiện của các ban vàng ở mi mắt, khuỷu tay, đầu gối. RLLM cũng có thể gây viêm tụy cấp. Thường xuyên, RLLM được phát hiện muộn trong nhiều bệnh lý khác nhau thuộc nhóm bệnh tim mạch - nội tiết - chuyển hóa [11].

*** Một số dấu chứng đặc hiệu ở ngoại biên của tăng lipid máu**

- Cung giác mạc (arc cornea): Xuất hiện dưới dạng màu trắng nhạt, có hình vòng tròn hoặc không hoàn toàn, bao quanh móng mắt. Thường chỉ đánh giá tăng cholesterol (loại 2a hoặc 2b) và thường quan trọng đối với những người dưới 50 tuổi.

- Ban vàng (xanthelasma): Nơi xuất hiện ở mí mắt trên hoặc dưới, có thể tập trung hoặc lan tỏa, thường gặp ở loại 2a hoặc 2b.

- U vàng gân (tendon xanthomas): Nơi xuất hiện ở gân duỗi của các ngón tay và gân Achilles, cũng như tại vị trí các khớp đốt bàn ngón tay, là đặc điểm của loại 2a.

- U vàng dưới màng xương (periosteal xanthomas): Thường thấy ở củ chày trước, trên đầu xương của mỏm khuỷu, ít phổ biến hơn so với u vàng gân.

- U vàng da hoặc củ (cutaneous or tuberous xanthomas): Nơi xuất hiện ở khuỷu và đầu gối.

- Dạng ban vàng lòng bàn tay (palmar xanthomas): Nơi xuất hiện ở các nếp gấp ngón tay và lòng bàn tay.

*** Một số dấu chứng nội tạng của tăng lipid máu**

- Nhiễm lipid võng mạc (lipemia retinalis): Phát hiện thông qua soi đáy mắt trong trường hợp TG máu cao.

- Gan nhiễm mỡ (hepatic steatosis): Xuất hiện tại từng vùng hoặc toàn bộ gan, có thể được phát hiện thông qua siêu âm hoặc chụp cắt lớp. Thường đi kèm với tăng TG máu.

- Viêm tụy cấp: Thường xảy ra khi TG vượt quá mức 10 gam/L, biểu hiện dưới dạng viêm cấp hoặc bán cấp, có triệu chứng phù nề. Amylase máu có thể bình thường hoặc tăng động.

- Xơ vữa động mạch: Là biến chứng lâu dài của tăng lipoprotein, thường kết hợp với tăng lipoprotein không biết trước đó. Có thể liên quan đến

một số yếu tố nguy cơ khác như thuốc lá và đái tháo đường. Tổn thương động mạch thường đi kèm với khẩu kính trung bình và lớn, có liên quan nhiều hơn đến tổn thương động mạch vành và tai biến mạch máu não so với viêm tắc động mạch hai chi dưới (ưu tiên đến việc hút thuốc lá). [11]

1.1.4.2. Triệu chứng cận lâm sàng:

- Định lượng bilan lipid: Các thông số lipid thường tăng sau khi ăn, do đó, để đưa ra chẩn đoán chính xác về RLLM, việc lấy mẫu máu nên được thực hiện vào buổi sáng khi chưa ăn (đói). Các thông số thường được đánh giá bao gồm: Cholesterol toàn phần, Triglycerid, LDL-Cholesterol, HDL-Cholesterol.

- Chẩn đoán RLLM được đề xuất khi có một số dấu hiệu của RLLM trên lâm sàng, như béo phì, ban vàng, và xuất hiện các biến chứng ở một số cơ quan như tim mạch, não, thận. Chẩn đoán được xác định thông qua xét nghiệm các thông số lipid khi có một hoặc nhiều rối loạn, như sau:

- + Cholesterol toàn phần > 5,2 mmol/L (200mg/dL)
- + Triglycerid > 1,7 mmol/L (150mg/dL)
- + LDL-cholesterol > 2,58mmol/L (100mg/dL)
- + HDL-cholesterol < 1,03mmol/L (40 mmol/L) [11]

1.1.5. Chẩn đoán

Các triệu chứng lâm sàng gợi ý cho RLLM bao gồm thể trạng béo phì, ban vàng, và xuất hiện các biến chứng ở một số cơ quan như đột quỵ não và bệnh mạch vành. Chẩn đoán xác định dựa vào xét nghiệm các thông số lipid trong máu, lấy mẫu máu khi đói (buổi sáng chưa ăn) để đảm bảo độ chính xác.

Chẩn đoán xác định khi có một hoặc nhiều thông số bị rối loạn [11]:

- Tăng cholesterol: TC trong máu > 5,2 mmol/l (200 mg/dl).
- Tăng Triglycerid (TG): TG > 1,7 mmol/l (150 mg/dl).
- Tăng LDL-C: LDL-C > 2,58 mmol/l (100 mg/dl).

- Giảm HDL-C: HDL-C máu $< 1,03\text{mmol/l}$ (40mg/dl).
- Rối loạn lipid máu hỗn hợp: Khi có rối loạn cả TG và TC.

Trong thực tế lâm sàng, các bác sĩ không chỉ dựa vào giá trị tuyệt đối của các chỉ số lipid máu. Ngay cả khi giá trị tuyệt đối không tăng lên, nhưng có sự thay đổi về thành phần và tỉ lệ giữa các loại lipid máu, cũng có thể là dấu hiệu của rối loạn chuyển hóa lipid. Các tỉ lệ thông thường được sử dụng bao gồm:

- TC/HDL-C: Bình thường $< 4,5\text{ mmol/l}$.
- TG/HDL-C: Bình thường $< 1,74\text{ mmol/l}$.
- LDL/HDL: Bình thường $< 3,0\text{ mmol/l}$.
- Non-HDL-C/HDL-C: Bình thường $< 3,6\text{ mmol/l}$.
- Cholesterol không HDL (Non-HDL-C): Tham số này phản ánh tình trạng lượng cholesterol có hại với cơ thể, giá trị tối ưu là $< 3,4\text{ mmol/l}$ [12].

1.1.6. Tiến triển và biến chứng.

Rối loạn lipid máu không được điều trị có thể gây ra biến chứng ở các cơ quan:

- Một số dấu chứng đặc hiệu ở ngoại biên của tăng lipid máu: cung giác mạc, các ban vàng ở mi mắt, u vàng ở gân khuỷu tay, đầu gối, bàn tay, gót chân, màng xương.
- Một số dấu chứng nội tạng của tăng lipid máu: nhiễm lipid võng mạc (lipemia retinalis), gan nhiễm mỡ, có thể gây viêm tụy cấp.
- Xơ vữa động mạch: tổn thương động mạch có khẩu kính trung bình và lớn như tổn thương động mạch vành gây nhồi máu cơ tim, tổn thương mạch máu não gây tai biến mạch não, tổn thương động mạch hai chi dưới gây viêm tắc thiếu máu hoại tử bàn chân.
- Đái tháo đường: Rối loạn lipid máu, đặc biệt là tăng triglyceride và giảm HDL-C, gây ra kháng insulin, làm giảm khả năng sử dụng glucose của cơ thể. Điều này làm tăng nguy cơ phát triển đái tháo đường type 2. Bên cạnh đó, lipid

máu cao cũng góp phần vào quá trình xơ vữa động mạch, làm tăng nguy cơ các biến chứng mạch máu lớn (bệnh tim mạch) và vi mạch (bệnh võng mạc, bệnh thận, bệnh thần kinh).

- Tăng huyết áp: Rối loạn lipid máu góp phần vào sự tổn thương nội mạc mạch máu và thúc đẩy quá trình xơ vữa động mạch, làm các động mạch trở nên cứng và hẹp. Điều này làm tăng sức cản ngoại vi, gây tăng huyết áp. Ngoài ra, tăng triglyceride còn liên quan đến việc kích hoạt hệ renin-angiotensin-aldosterone, gây giữ muối và nước trong cơ thể, từ đó làm tăng huyết áp.

1.1.7. Điều trị

1.1.7.1. Nguyên tắc chung

Để điều trị rối loạn lipid máu (RLLM), việc kết hợp thay đổi lối sống và sử dụng thuốc là quan trọng. Thay đổi lối sống được coi là biện pháp ưu tiên, bao gồm tăng cường hoạt động thể chất và vận động, đặc biệt là đối với những người thường xuyên làm công việc tĩnh tại. Đồng thời, điều chỉnh chế độ ăn phù hợp với tình trạng sức khỏe và tính chất công việc cũng là một phần quan trọng của quá trình điều trị.

Tập luyện - vận động thể lực:

- Giúp giảm cân, duy trì cân nặng lý tưởng.
- Giảm TC, TG, LDL-C và Tăng HDL-C
- Góp phần kiểm soát tốt đường huyết và huyết áp

Thời gian tập luyện - vận động thể lực khoảng 30 đến 45 phút mỗi ngày, 5 ngày mỗi tuần, cường độ và thời gian tập tùy thuộc vào tình trạng sức khỏe nhất là những người có bệnh lý huyết áp, mạch vành, suy tim... [3]

1.1.7.2. Chế độ ăn dinh dưỡng.

- Hạn chế năng lượng nhất là những người béo phì.
- Hạn chế mỡ chứa nhiều acid béo bão hòa như mỡ trong thịt heo, thịt bò, thịt cừu..., giảm cholesterol có trong lòng đỏ trứng, bơ, tôm... Tăng

lượng acid béo không bão hòa có trong các loại thực vật như dầu đậu nành, dầu ô liu, dầu bắp, trong mỡ cá...

- Khẩu phần ăn có sự cân đối giữa glucid, lipid và protid. Tránh dùng nhiều glucid (năng lượng do glucid cung cấp khoảng 50% năng lượng của phần ăn, lipid khoảng 30% và protid khoảng 20%).

- Hạn chế bia - rượu.

- Bổ sung chất xơ, vitamin, yếu tố vi lượng từ các loại rau, củ và hoa quả [3], [13].

1.1.7.3. Thuốc điều chỉnh lipid máu

Thay đổi lối sống sau 2-3 tháng mà không đem lại hiệu quả như mong muốn thì chỉ định điều trị với các loại thuốc hạ lipid máu [3], [13]:

*** Nhóm statin (HMG-CoA reductase inhibitors)**

- Tác dụng: ức chế enzym Hydroxymethylglutaryl CoA Reductase là một enzym tổng hợp TC, làm giảm TC nội sinh, kích thích tăng tổng hợp thụ thể LDL-c nên tăng thu giữ LDL-C tại gan. Kết quả sẽ giảm LDL-C, VLDL, TC, TG và tăng HDL-C. Ngoài ra nhóm statin còn giảm quá trình viêm của nội mạc mạch máu, giúp thoái triển mảng xơ vữa, tăng tổng hợp nitric oxide (ON) của tế bào nội mạc.

- Liều lượng và tên thuốc:

- + Atorvastatin: 10-20mg/ngày, liều tối đa 80 mg/ngày.

- + Rosuvastatin: 10-20mg/ngày, liều tối đa 40 mg/ngày.

- + Simvastatin: 10-20 mg/ngày, liều tối đa 80 mg/ngày.

- + Lovastatin: 20-40 mg/ngày, liều tối đa 80 mg/ngày.

- + Fluvastatin: 20-40 mg/ngày, liều tối đa 80 mg/ngày.

- + Pravastatin: 20-40 mg/ngày, liều tối đa 80 mg/ngày.

- Tác dụng không mong muốn có thể gặp: tăng men gan, tăng men cơ khi dùng liều cao, hoặc cơ địa người già, hoặc đang dùng nhiều loại thuốc như kháng sinh nhóm macrolide.

- Thận trọng đối với người bệnh có bệnh lý gan.

- Chỉ định: tăng LDL-C, tăng TC.

*** Nhóm fibrate**

- Tác dụng: làm giảm TG do kích thích PPAR alpha làm tăng oxy hóa acid béo, tăng tổng hợp enzym LPL, làm tăng thanh thải các lipoprotein giàu TG, ức chế tổng hợp apoC-III ở gan, tăng thanh thải VLDL. Các fibrat cũng làm tăng HDL do thúc đẩy trình diện apoA-I và apoA-II.

- Liều lượng và tên thuốc:

+ Gemfibrozil: liều thường áp dụng trên lâm sàng: 600 mg/ngày.

+ Clofibrat: 1000 mg/ngày.

+ Fenofibrat: 145 mg/ngày.

- Tác dụng không mong muốn:

+ Các triệu chứng rối loạn tiêu hóa như đầy hơi, trướng bụng, buồn nôn, giảm nhẹ chức năng gan, tăng men gan, sỏi mật, tăng men cơ, phát ban. Tác dụng phụ thường xảy ra khi dùng liều cao, hoặc cơ địa người già, hoặc có bệnh lý thận, gan trước.

+ Làm tăng tác dụng thuốc chống đông, nhất là nhóm kháng vitamin K.

- Không dùng cho phụ nữ có thai hoặc cho con bú, người bệnh suy gan, suy thận.

- Chỉ định điều trị: tăng TG.

*** Nhóm acid Nicotinic (Niacin, vitamin PP).**

- Thuốc có tác dụng giảm TG do ức chế phân hủy từ tổ chức mỡ và giảm tổng hợp TG ở gan, ức chế tổng hợp và ester hóa acid béo tại gan, tăng thoái biến apo B, giảm VLDL, giảm LDL, và tăng HDL (do giảm thanh thải apoA-I).

- Liều lượng và các biệt dược (Niacor, Niaspan, Slo-niacin):

+ Loại phóng thích nhanh: 100 mg/dL, liều tối đa 1000 mg/ngày.

+ Loại phóng thích nhanh: 250 mg/dL, liều tối đa 1500 mg/ngày.

+ Loại phóng thích nhanh: 500 mg/dL, liều tối đa 2000 mg/ngày.

- Tác dụng không mong muốn: đỏ bừng mặt, ngứa, các triệu chứng rối loạn tiêu hóa như đầy hơi, trướng bụng, buồn nôn, giảm nhẹ chức năng gan, tăng

men gan, sỏi mật, tăng men cơ, phát ban, tăng đề kháng insulin. Tác dụng phụ thường xảy ra khi dùng liều cao, hoặc cơ địa tuổi người già, hoặc có bệnh lý thận, gan trước.

- Chỉ định: tăng LDL-C, giảm HDL-C, tăng TG.

*** Nhóm Resin (Bile acid sequestrants)**

- Resin trao đổi ion Cl⁻ với acid mật, tăng tổng hợp acid mật từ cholesterol, làm tăng bài tiết mật và giảm cholesterol ở gan, kích thích tổng hợp thụ thể LDL-C, tăng thải LDL-C.

- Liều lượng và tên thuốc:

- + Cholestyramin: 4 -8 g/ngày, liều tối đa 32 mg/ngày.

- + Colestipol liều: 5 -10 g/ngày, liều tối đa 40 mg/ngày.

- + Colesevelam: 3750 g/ngày, liều tối đa 4375 mg/ngày.

- Chỉ định trong trường hợp tăng LDL-C.

- Tác dụng không mong muốn: các triệu chứng rối loạn tiêu hóa như đầy hơi, trướng bụng, buồn nôn, táo bón.

*** Ezetimibe**

- Thuốc ức chế hấp thụ TC tại ruột, làm giảm LDL-C và tăng HDL-C.

- Tác dụng phụ: thuốc rất ít tác dụng phụ, có thể gặp tăng men gan.

- Liều lượng: 10mg/ngày.

- Chỉ định: tăng LDL-C.

*** Omega 3 (Fish Oils)**

- Cơ chế tăng dị hóa TG ở gan.

- Liều thường áp dụng trên lâm sàng: 3g/ngày, liều tối đa 6g/ngày.

- Tác dụng không mong muốn: các triệu chứng rối loạn tiêu hóa như đầy hơi, trướng bụng, tiêu chảy.

- Chỉ định trong trường hợp tăng TG.

*** Chú ý:**

Các thuốc điều trị rối loạn lipid máu đều chuyển hóa qua gan. Do vậy trong thời gian sử dụng thuốc hạ lipid máu, cần cho các thuốc hỗ trợ và bảo vệ tế bào gan.

***Thuốc ức chế PCSK9**

Là nhóm thuốc mới, ức chế protein PCSK9 đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa LDL cholesterol.

Cơ chế tác dụng: Nhắm vào protein PCSK9 liên quan với kiểm soát thụ thể LDL. Hiệu quả giảm LDL-C khoảng 50 - 70% độc lập với điều trị nền (statin, ezetimib ...); làm giảm các biến cố tim mạch cùng với giảm LDL-C. Thuốc không có tác dụng lên HDL-C và triglycerid huyết tương. Nhóm thuốc này có hiệu quả giảm LDL-C ở tất cả bệnh nhân có khả năng biểu lộ thụ thể LDL ở gan. Do đó, thuốc ức chế PCSK9 hiệu quả ở phần lớn bệnh nhân, bao gồm bệnh nhân tăng cholesterol dị hợp tử [3], [13].

1.2. Rối loạn lipid máu theo Y học cổ truyền

Y văn của y học cổ truyền (YHCT) không có khái niệm “rối loạn lipid máu” (RLLM). Tuy nhiên, hiện nay các chuyên gia cho rằng các triệu chứng của RLLM có thể được mô tả thông qua các chứng như "đàm thấp", "đàm ẩm", "đàm trọc", "huyền vựng", "đầu thống"... và thường được xếp vào nhóm các bệnh liên quan đến yếu tố "đàm ẩm". Đàm thấp hình thành do sự vận hành bất thường của tân dịch, khi quá trình phân bố và bài tiết tân dịch bị cản trở, dẫn đến sự đình trệ và tạo ra các sản phẩm bệnh lý như đàm, ẩm, thủy, thấp. Tất cả những yếu tố này đều bắt nguồn từ sự rối loạn trao đổi thủy dịch, nhưng chúng có hình thái khác nhau. Khi đã hình thành, chúng trở thành các tác nhân gây bệnh, có thể tương hỗ, chuyển hóa lẫn nhau hoặc kết hợp gây bệnh cùng lúc, làm cho việc phân biệt trở nên khó khăn. Đàm có tính đặc dính, ẩm là chất trong loãng, thủy là chất trong suốt, còn thấp là trạng thái mù mịt. Trong lâm sàng, chúng thường được gọi chung là chứng đàm ẩm, thủy thấp, đàm thấp, thủy ẩm [16].

1.2.1. Sự vận chuyển tân dịch trong cơ thể

Tân dịch nói chung là tất cả các chất dịch bình thường trong cơ thể. Tân là chất trong, dịch là chất đục. Tân dịch là một trong những cơ sở vật chất cho sự sống, do dinh dưỡng của đồ ăn hóa ra, nhờ sự khí hóa của tam tiêu đi khắp toàn thân, nuôi dưỡng các tạng phủ, cơ nhục, kinh mạch và bì phu. Khi rối loạn vận hóa tân dịch sẽ sinh ra đàm thấp, đàm ẩm [14].

1.2.2. Chứng đàm ẩm

Đàm ẩm là kết quả của một tình trạng bệnh lý, trong đó "đàm" chỉ chất đặc, "ẩm" chỉ chất loãng. Đàm ẩm, sau khi hình thành, có thể gây ra nhiều triệu chứng bệnh, và phạm vi của các bệnh liên quan đến đàm là rất rộng [14]. Theo y văn cổ, "Chứng đàm ẩm là một loại bệnh do thủy thấp ứ đọng ở một vị trí trong cơ thể, không vận hành theo quy luật bình thường". Nói một cách khác, đàm ẩm được mô tả là sự ngưng tụ thủy thấp ở một số điểm cụ thể trong cơ thể, không tuân theo quy luật chuyển hóa thông thường. Trong thuật ngữ Nội kinh, điều này được gọi là "Tích ẩm", trong khi Kim quỹ yếu lược gọi là "Đàm ẩm" [14].

Nguồn gốc của đàm ẩm thường xuất phát từ sự biến đổi và ngưng tụ của tân dịch, có thể được tạo ra bởi nhiều yếu tố như lục dâm, thất tình, ảnh hưởng đến công năng biến đổi của ba tạng quan trọng: tỳ, phế, thận. Khi sự vận hành bình thường của chuyển hóa thủy thấp bị ảnh hưởng, tân dịch không thể được phân bố và vận hành một cách đều, dẫn đến sự ngưng tụ thành thấp, và thấp này lại chuyển hóa thành đàm ẩm. Bình thường, sự vận hành của chuyển hóa thủy thấp được điều chỉnh bởi ba tạng quan trọng này: tỳ, phế, thận. Tỳ chuyển hóa thủy thấp thành tân dịch, sau đó chuyển lên phế, phế tiếp thu thủy dịch và đưa nó xuống thận. Thận sau đó chưng hóa và khai hợp, vận chuyển một phần thanh lên phế, và phần còn lại được loại bỏ qua đường nước tiểu. Cả đàm và ẩm đều là kết quả của sự rối loạn trong chuyển hóa tân dịch.

Theo Lý Đông Viên: "Tỳ là nguồn gốc sinh ra đàm, phế là nơi chứa đàm như vậy tỳ vị không vận hành mới sinh đàm" [15].

Vương Tiết Trai nói: "Tỳ thổ không đủ sức, khí bị suy yếu, không vận chuyển được, ăn kém tiêu hóa chậm sinh đàm". Sách Thánh Tế Tổng Lục viết: "Tam tiêu là đường giao thông của các chất thủy cốc và là nơi để cho khí tới. Tam tiêu điều hòa khí huyết quân bình thì có thể làm lưu thông được các

chất thủy dịch, đưa vào trong đường kinh hóa sinh huyết mạch để nuôi dưỡng khắp cơ thể. Khi tam tiêu không lưu thông, đường mạch bế tắc, nước đọng lại không lưu hành được tụ lại thành đàm ẩm” [16].

1.2.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh

1.2.3.1. Nguyên nhân

Do ít vận động thể lực: Đàm ứ trệ lâu ngày khiến khí huyết không lưu thông, tạo điều kiện cho sự ứ trệ của khí và huyết. Trong "Tuyên minh ngũ khí luận," sách Tố vấn thiên nói: "Cửu ngọa thương khí, cửu tọa thương nhục." Sự thương tổn khí dẫn đến tình trạng khí hư, thương nhục dẫn đến tỳ hư, và tỳ khí hư làm phát sinh đàm trệ.

Do ẩm thực bất điều: Việc ăn nhiều thức ăn ngọt béo, tiêu thụ nhiều thức ăn cao lượng mỡ vị, uống nhiều rượu, và làm việc trí óc quá sức có thể làm tổn thương tỳ vị. Sự rối loạn vận hoá thủy thấp sau đó dẫn đến việc hình thành đàm thấp nội sinh.

Do thất tình (yếu tố tinh thần): Cảm xúc tiêu cực như lo nghĩ hại tỳ và giận dữ hại can có thể gây tổn thương tỳ vị. Can mộc vượng khắc tỳ thổ, làm tỳ vị bị tổn thương. Nếu tỳ thổ hư yếu, khả năng vận hoá thủy cốc giảm hoặc mất, tân dịch sẽ tụ lại thành đàm thấp. Đàm thấp ứ trệ kinh mạch và có thể dẫn đến các vấn đề sức khỏe.

Do tiên thiên bất túc (yếu tố thể chất): Theo sách Linh khu thiên "Thọ yếu cương nhu," con người có sự khác biệt về cương, nhu, cường, nhược, dài, ngắn, âm, dương. Tiên thiên bất túc có thể làm thận khí bất túc, thận dương hư không ôn ấm được tỳ dương, tỳ không vận hóa được thủy thấp, từ đó gây ra hiện tượng sinh đàm [14], [17].

1.2.3.2. Cơ chế bệnh sinh

Bệnh có đặc điểm "bản hư, tiêu thực," trong đó "tiêu" thường là đàm trọc và huyết ứ, "bản" liên quan đến công năng của các tạng phủ, đặc biệt là tỳ, thận, can, và tâm, với sự tác động đặc biệt đối với tỳ và thận [17]. Các nguyên nhân bao gồm ẩm thực thất điều, thất tình hoặc tiên thiên bất túc, làm cho công năng của các tạng phủ bị rối loạn và hư suy [14], [18].

Tạng tỳ: Tỳ chịu trách nhiệm cho sự sinh đàm. Khi tỳ khí hư, khả năng vận hóa thủy thấp giảm, dẫn đến chất thanh khó di chuyển lên, chất trọc khó giảm xuống, và chất tinh vi của thủy cốc không thể vận hóa và lưu chuyển bình thường. Điều này dẫn đến việc tụ lại và hình thành đàm trọc gây bệnh. Ngoài ra, khi tỳ thổ suy yếu, không kiểm soát được thủy thấp, thủy thấp có thể ngưng đọng trong kinh mạch, tạng phủ và bì phu, tạo thành đàm, gây cản trở lưu thông của khí huyết, tân dịch và thủy cốc [14], [18].

Do lưu thông khí huyết, tân dịch, thủy cốc giảm sút, cơ thể không nhận được đủ dinh dưỡng, dẫn đến tình trạng mệt mỏi. Sự mệt mỏi kéo dài có thể làm tăng quá trình khí hoá tại phế và giảm sự hoạt động của bàng quang, dẫn đến sự xuất hiện của đoản khí và hao khí [14].

Theo Hải Thượng Lãn Ông, "Đàm sinh hoá là do tỳ, căn bản của đàm là do ở thận. Hễ có chứng đàm, không ở tạng nọ thì ở tạng kia. Đàm vốn là tân dịch trong cơ thể, nó tùy theo vị trí tà cảm vào mà thành tên bệnh. Vì chính khí bị hư, không có sự cai quản, tà thừa cơ nhập vào, kích động sinh ra đàm mà không phải vì đàm mà sinh bệnh" [15].

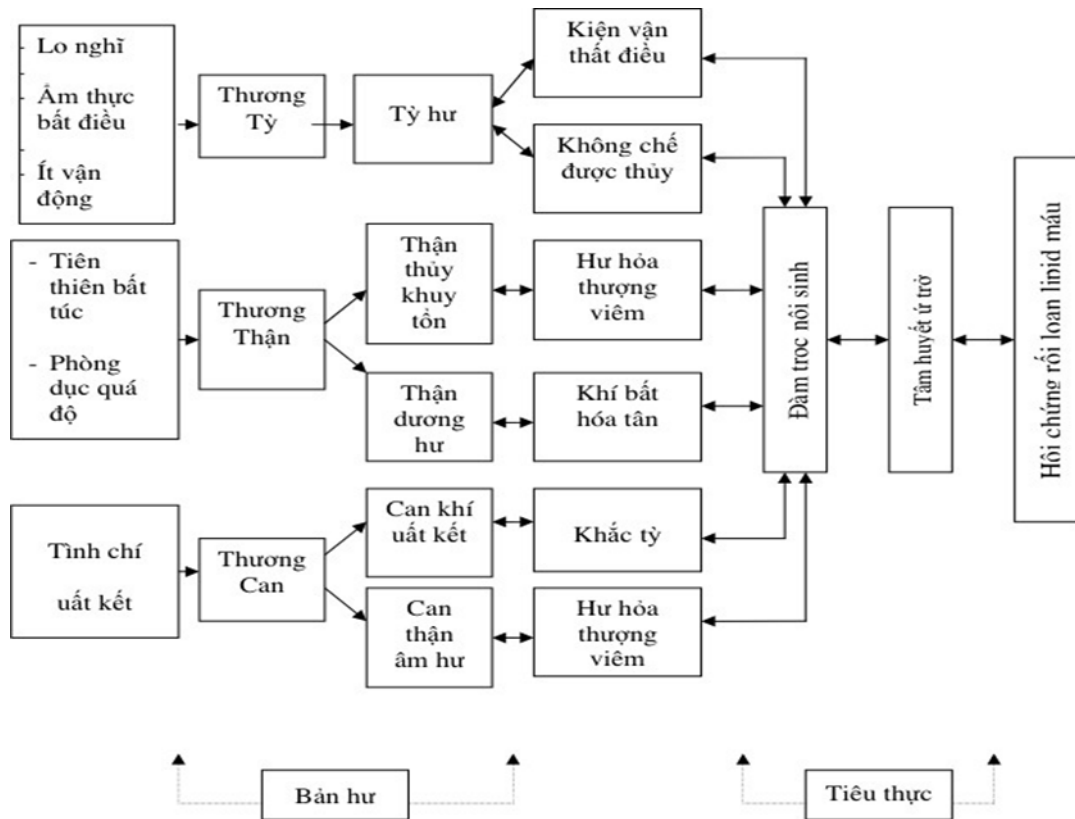
Theo YHCT, "Đàm do tỳ hư không vận hóa được thủy thấp, thận dương hư không ôn dưỡng tỳ dương nên không vận hóa được thủy cốc và không khí hoá được nước, phế khí hư không túc giáng thông điều thủy đạo, trên lâm sàng thấy: đờm nhiều, ngực sườn đầy tức..." [14].

Tạng thận: Thận là nguồn gốc của đàm. Thận dương hư suy và hỏa không ôn ấm được tỳ thổ, làm cho thủy thấp tân dịch không hóa khí và tràn lên thành đàm. Thận âm hư và hư hỏa ở hạ tiêu bốc lên hun nấu tân dịch cũng tạo ra đàm [14].

Tạng phế: Phế hư mất khả năng túc giáng thông điều thủy đạo, dẫn đến thủy dịch ngưng lại và hình thành đàm [14].

Tạng can: Các chứng uất đàm, khí đàm, kinh đàm, phong đàm mà cổ nhân đã nói không có loại nào mà không có quan hệ tới can. Tình chí uất kết gây tổn thương đến can, can khí uất kết khắc tỳ thổ, làm tỳ thổ tổn thương và không vận hóa được thủy thấp, gây ra đàm trệ [14].

Cơ chế bệnh sinh rối loạn lipid máu theo YHCT được thể hiện qua sơ đồ sau:



Hình 1.1. Cơ chế bệnh sinh rối loạn lipid máu theo YHCT

1.2.4. Phân thể lâm sàng- Biện chứng luận trị

Theo Hải Thượng Lãn Ông: "Trị đàm tiên trị khí, khí thuận đàm tự tiêu" và "nhất thiết không nên vét sạch đàm đi vì đàm vốn có sẵn từ lúc sơ sinh và cũng là vật để nuôi sống, chỉ loại bỏ phần đàm dư thừa mà thôi," "bệnh đàm có hư có thực... thực thời công, hư thời bổ nhưng công phải có thứ tự, bổ phải lần tìm cội nguồn... chữa đàm không nên dùng phép công" [19].

Cần tìm nguyên nhân để trị vì "đàm vốn không sinh ra bệnh mà vì bệnh mới sinh ra đàm". Nếu chữa đàm mà không biết nguyên nhân thì đàm ngày càng nhiều [18].

Điều trị đàm thấp bao gồm các phương pháp: hóa đàm, tiêu đàm và điều đàm. Đàm ở hội chứng RLLM là đàm vô hình, lưu hành và ứ đọng ở huyết mạch nên khi điều trị, sử dụng phương pháp hóa đàm để điều trị. Điều

trị nguyên nhân sinh ra đàm, làm cho đàm tự hết, hóa đàm thường kết hợp với các phương pháp điều trị như kiện tỳ hòa vị, vì tỳ vận hóa thấp; tiêu đàm, điều đàm được sử dụng cho các trường hợp bệnh ở mức độ nặng hơn [20].

Theo YHCT, RLLM tương đương với chứng đàm thấp, có đặc điểm là "bản hư tiêu thực". Tùy thuộc vào thể bệnh cấp hay hoãn mà lựa chọn phù chính hay khu tà làm chủ, hoặc cả hai theo nguyên tắc tiêu bản đồng trị. Bản hư chủ yếu là tỳ thận hư tổn, tiêu thực chủ yếu là đàm trọc, huyết ứ. Trị bản phải chú ý bổ tỳ, ích thận. Trị tiêu phải chú ý phương pháp hóa đàm trừ thấp, thanh lý thông hạ, hoạt huyết hóa ứ [18], [21].

Theo tài liệu của tác giả Trịnh Tiêu Du trong nguyên tắc chỉ đạo nghiên cứu lâm sàng Trung – Tân dược, chứng đàm thấp bao gồm các thể lâm sàng sau [22].

1.2.4.1. Tỳ thận dương hư

+ Triệu chứng: sợ lạnh, chân tay lạnh, mệt mỏi vô lực, chóng mặt, đi ngoài phân nát, ăn kém, bụng đầy chướng, có thể kèm theo phù mắt hoặc tay chân. Chất lưỡi nhợt, rêu trắng, mạch trầm tế.

+ Pháp điều trị: Kiện tỳ ích thận, trợ dương thông lạc

+ Bài thuốc điển hình: Lý trung hoàn hợp với Hữu quy hoàn gia giảm [23], [24], [25].

Nhân sâm 4 g	Thục địa 8 g	Thỏ ti tử 4 g	Đương quy 3 g
Bạch truật 4 g	Sơn dược 4 g	Chế phụ tử 2 g	Đỗ trọng 4 g
Can khương 4 g	Chích thảo 4 g	Câu kỷ tử 4 g	Nhục quế 2 g

Các vị tán mịn, mật hoàn viên. Ngày uống 3 lần, mỗi lần 12-16 g

1.2.4.2. Đàm trọc trở trệ:

+ Triệu chứng: hình thể béo bệu, đầu căng nặng, tức nặng ngực, tay chân tê bì nặng nề. Có thể kèm theo tâm quý, mất ngủ, nhọt miệng, ăn kém, đại tiện nát dính. Chất lưỡi bệu, rêu trơn dính, mạch hoạt.

+ Pháp điều trị: Thanh hóa đàm trọc, ích khí kiện tỳ.

Bán hạ 08g Thiên ma 10g Phục linh 12g Đại táo 4g

Trần bì 12g Bạch truật 12g Cam thảo 04g Sinh khương 4g

+ Bài thuốc: Bán hạ bạch truật thiên ma thang gia giảm [23], [24], [25].
Sắc uống ngày 1 thang uống chia 3 lần.

1.2.4.3. Âm hư dương亢

+ Triệu chứng: đau đầu, chóng mặt, phiền táo, dễ cáu gắt, mặt đỏ, miệng đắng, mất ngủ, đại tiện táo, tiểu tiện sền đỏ. Chết lưỡi đỏ hoặc tím, rêu vàng, mạch huyền tế.

+ Pháp điều trị: Tư dưỡng thận âm, bình can tiềm dương.

+ Bài thuốc điển hình: Nhất quán tiễn gia giảm [23], [24], [25].

Sa sâm 12g Câu kỷ tử 24g Sinh địa 16g

Đương qui 12g Mạch đông 12g Xuyên luyện tử 6g

Sắc uống ngày 1 thang uống chia 3 lần.

1.2.4.4. Thử khí trệ huyết ứ:

+ Triệu chứng: Ngực sườn trướng, đau có tính chất chạy, đau nhói vùng trước tim, tâm phiền bất an, rìa đầu lưỡi có ban ứ hoặc điểm ứ. mạch trầm sáp

+ Pháp điều trị: Kiện tỳ hóa đàm - hoạt huyết khứ ứ.

+ Phương thuốc: “Qua lâu giới bạch bán hạ thang” hợp phương “Đào hồng tứ vật thang” gia vị [23], [24], [25].

Qua lâu nhân 12g Quế chi 12g Sinh khương 12g Xích thực 12 g

Bán hạ 12g Bạch linh 14g Đào nhân 8g Xuyên khung 12 g

Chỉ thực 12g Hạnh nhân 12g Đương quy 12 g Sinh địa 20 g.

Hồng hoa 8g

Sắc uống ngày 1 thang uống chia 3 lần.

1.2.4.5. Can thận âm hư

+ Triệu chứng: chóng mặt, ù tai, lưng gối mỏi, ngũ tâm phiền nhiệt, đạo hãn, miệng khô, mất ngủ, hay quên, đại tiện táo. Chất lưỡi đỏ, ít rêu, mạch tế sác.

+ Pháp điều trị: Tư bổ can thận, dưỡng âm thanh nhiệt.

+ Bài thuốc điển hình: Lục vị địa hoàng hoàn gia giảm [23], [24], [25].

Thục địa	32g	Son được	6 g	Phục linh	12 g
----------	-----	----------	-----	-----------	------

Son thù nhục	16 g	Trạch tả	12g	Đan bì	12 g
--------------	------	----------	-----	--------	------

Sắc uống ngày 1 thang uống chia 3 lần.

1.2.5. *Mối liên hệ giữa rối loạn chuyển hóa lipid và chứng đàm ảm*

Theo YHHĐ, RLLM là bệnh rối loạn chuyển hoá liên quan đến độ tuổi, chế độ ăn uống, vận động, stress và chuyển hoá, di truyền.

Theo YHCT, chứng đàm thấp có liên quan đến sự lưu thông của thủy dịch, sự mạnh yếu của các tạng tỳ, phế, thận. Khi tuổi cao, công năng của các tạng tỳ, phế, thận suy giảm, dẫn đến công năng vận hoá thủy thấp bị đình trệ mà sinh chứng đàm thấp. Hải Thượng Lãn Ông nói: “Tuổi khoảng 40, âm khí giảm còn một nửa, sự hoạt động đã sút kém”. Tuổi cao khiến thận khí suy giảm, tóc bạc, răng rụng, lục phủ ngũ tạng ngày càng suy tổn [26].

Dựa trên nhiều nghiên cứu lâm sàng và cận lâm sàng, cũng như các nghiên cứu trong và ngoài nước đã đi sâu phân tích và tìm hiểu về mối liên hệ giữa RLLM của YHHĐ và chứng đàm thấp của YHCT. Người ta nhận thấy giữa rối loạn lipid máu của YHHĐ và chứng đàm thấp của YHCT có nhiều điểm tương đồng. Từ đó, việc kết hợp phương pháp điều trị RLLM giữa YHHĐ và YHCT đã mang lại hiệu quả tốt [26], [27].

Các yếu tố trực tiếp hoặc gián tiếp gây tổn thương công năng của tạng phủ, đặc biệt là ba tạng tỳ, phế, thận, đưa đến xuất hiện chứng đàm thấp. Đàm được hình thành và phân bố rộng rãi theo hệ khí, gây ra nhiều biểu hiện lâm sàng như chứng đầu thống, huyễn vựng, tâm quý... tương ứng với các biểu hiện lâm sàng của rối loạn lipid máu theo quan điểm Y học hiện đại [27].

1.3. Tình hình nghiên cứu thuốc YHCT điều trị rối loạn lipid máu

1.3.1. Nghiên cứu tại Việt Nam

Nghiên cứu vị thuốc: các vị thuốc đã được đi sâu nghiên cứu để điều trị rối loạn lipid máu gồm: viên "Giảo cổ lam", viên "Hạ mỡ máu ngư tử", cây Rau mương, Năm Hồng chi [28], [29], [30].

Nghiên cứu bài thuốc:

+ Năm 2012, Hà Thị Thanh Hương nghiên cứu tác dụng điều trị RLLM bằng “Côm tiêu phì linh”. Kết quả điều trị trên 70 bệnh nhân sau 2 tháng điều trị cho thấy: CT giảm 17,19%, TG giảm 26,82%, LDL- C giảm 18,29% và HDL- C tăng 10,57% [31].

+ Năm 2015, Trương Quốc Chính nghiên cứu tác dụng của bài thuốc "Hạ mỡ NK" trong thời gian 60 ngày trên 36 bệnh nhân rối loạn lipid máu nguyên phát thể đậm thấp. Kết quả, cholesterol giảm 16,55%; triglycerid giảm 32,17%; LDL- C giảm 15,26% và HDL- C tăng 9,09% [32].

+ Vinatan: Năm 2019, Phạm Thanh Tùng đã nghiên cứu bài thuốc ở dạng viên nang cứng, gồm các vị thuốc: Giảo cổ lam, Chè xanh trên bệnh nhân rối loạn lipid máu, cho kết quả: TC giảm: 23,53%, TG giảm: 23,85%, LDL-C giảm 32,83%, HDL-C tăng: 11,82% [33].

1.3.2. Nghiên cứu ở nước ngoài

Nghiên cứu vị thuốc: Trung Quốc đã đi sâu nghiên cứu tác dụng điều trị rối loạn lipid máu của Bạch quả, Một dược, Thảo quyết minh, Sài hồ, Thiên hoa phấn, Đại hoàng, Trạch tả, Sơn tra, Hà thủ ô, Thổ miết trùng [34], [35].

- Nghiên cứu bài thuốc:

+ Bạch kim giáng chỉ phương: gồm Uất kim 7 g, Bạch phàn 3 g. Kết quả điều trị trên 334 bệnh nhân: CT giảm trung bình 85,8 mg%, TG 70,6 mg%, lipoprotein giảm trung bình 175,69%.

+ Giáng linh chỉ phương: gồm Hà thủ ô, Trạch tả, Hoàng tinh, Kim anh tử, Sơn tra đều 3g, Thảo quyết minh 6g, Mộc hương 1g, nấu cao chế viên. Với thời gian điều trị 3 tháng, kết quả cho thấy: CT giảm 82,44 mg%, hiệu quả tốt là 67,6%; TG giảm 150,15 mg%, đạt hiệu quả tốt 52,73% [34], [35].

1.4. Tổng quan về bài thuốc nam “Hạ mỡ NK”.

1.4.1. Xuất xứ bài thuốc.

Công thức bài thuốc "Hạ mỡ NK" có nguồn gốc từ bài thuốc Nam được lương y Nguyễn Kiều truyền lại, thường được sử dụng để điều trị chứng đàm thấp. Hội chứng này có nhiều điểm tương đồng với rối loạn lipid máu cả về lý luận và thực tiễn. Bài thuốc đã được áp dụng trong thực tế lâm sàng tại Bệnh viện Tuệ Tĩnh – Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam để điều trị rối loạn lipid máu. Nhóm nghiên cứu tạm đặt tên là “Hạ mỡ NK”. “Hạ mỡ NK” được nghiên cứu sơ bộ trên mô hình thực nghiệm và trên lâm sàng cho hiệu quả tích cực trong việc giảm lipid máu ở dạng thuốc sắc.

1.4.2. Thành phần.

Bảng 1.5. Thành phần bài thuốc “Hạ mỡ NK”

Thành phần	Tên khoa học	Khối lượng (g)	Tiêu chuẩn
Rễ Cỏ tranh	<i>Rhizoma Imperatae cylindricae</i>	12 gam	DĐVN V
Nguru tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	12 gam	DĐVN V
Thảo quyết minh	<i>Semen Cassiae torae</i>	12 gam	DĐVN V
Tỳ giải nam	<i>Rhizoma Smilax ferox</i>	12 gam	TCCS
Hạ khô thảo	<i>Spica Prunellae</i>	12 gam	DĐVN V
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	06 gam	DĐVN V
Bán hạ nam	<i>Rhizoma Typhonium trilobatum</i>	08 gam	DĐVN V
Hòe hoa	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	12 gam	DĐVN V
Hà diệp	<i>Folium Nelumbinis nuciferae</i>	12 gam	DĐVN V

- Công dụng: Hành khí, táo thấp, hóa đàm.

- Chủ trị: Chứng đàm thấp: Người nặng nề, béo, thích nằm, toàn thân mệt mỏi, mắt vàng, buồn nôn, bụng trướng, chàm tiêu, tứ chi rã rời, lưỡi bệu, có vết răng hằn, rêu lưỡi trắng dày, mạch trầm hoạt. Tương ứng với YHHĐ là hội chứng rối loạn lipid máu.

1.4.3. Phân tích bài thuốc.

Bài thuốc “Hạ mỡ HK” tác động tổng hợp vào nhiều cơ chế để trị đàm.

Tác động trực tiếp điều trị đàm (trị tiêu) như: Lợi thủy thẩm thấp, nhuận tràng thông tiện, hoạt huyết hóa ứ:

- Bán hạ nam chế tảo thấp hóa đàm, trần bì lý khí hóa đàm theo nguyên lý “trị đàm tiên trị khí, khí thuận đàm tự tiêu”.

- Hạ khô thảo nam có tác dụng thanh hóa nhiệt đàm.

- Ngưu tất nam tác dụng hoạt huyết hóa ứ, thông kinh, trừ đàm.

- Tỳ giải nam (Kim cang) thẩm thấp lợi thủy, thảo quyết minh (hạt muồng) nhuận tràng thông tiện trừ đàm đại trường, rẽ cỏ tranh lợi tiểu để đưa đàm thấp ra ngoài qua đường nhị tiện. Tác động gián tiếp qua tác dụng vào tạng tỳ và tạng can theo cơ chế bệnh sinh tỳ hư sinh đàm thấp và can thận âm hư, hư hỏa thượng viêm thiêu đốt tân dịch thành đàm...

- Hà diệp có tác dụng thanh nhiệt giải thử, lương huyết chỉ huyết nhưng đồng thời lại có tác dụng làm thăng phát thanh dương, tác động tích cực đến quá trình thăng thanh của tỳ, giúp vận hóa đàm trọc trở trệ.

- Hòe hoa tác dụng thanh nhiệt lương huyết, hư hỏa được thanh không thiêu đốt tân dịch thành đàm...

Toàn bài có tác dụng hành khí, tảo thấp, hóa đàm. Bài thuốc lấy công làm chính nhưng không quá mãnh liệt nên không hại đến chính khí [36].

Bài thuốc được chiết nước thành cao khô toàn phần thu được 20,1 gam cao khô/ ngày tương đương với 1 thang thuốc sắc 98 gam dược liệu.

1.5. Mô hình dược lý thực nghiệm gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh

Để nghiên cứu thuốc điều trị RLLM cần phải gây được mô hình RLLM. Các mô hình có thể thuộc loại: gây tăng cholesterol máu ngoại sinh bằng cách đưa cholesterol theo đường thức ăn và gây tăng cholesterol máu nội sinh bằng cách tăng tổng hợp cholesterol hoặc phối hợp cả hai loại này. Mặc dù tỷ lệ các loại lipid thay đổi trong mô hình nghiên cứu trên động vật có sự khác biệt với hội chứng RLLM ở người nhưng phần lớn các mô hình nghiên cứu này cho kết quả có sự tương quan cao với thử nghiệm lâm sàng.

Các chất hay được sử dụng để gây mô hình tăng cholesterol máu nội sinh là Tween 80 (Polysorbate 80), Triton WR-1339 (Tyloxapol) và Poloxamer 407 (P-407), được chứng minh có cơ chế là làm tăng tổng hợp cholesterol tại gan.

Tween 80 là một chất hoạt động bề mặt không ion hóa, là dẫn xuất của sorbitol và acid oleic. Tween 80 ở dạng lỏng, nhớt, màu vàng, tan trong nước và có vị hơi đắng, được sử dụng chủ yếu như một chất nhũ hóa trong sản xuất thực phẩm, mỹ phẩm, thuốc và vaccin. Tác dụng gây tăng lipid máu của Tween 80 được quan sát thấy lần đầu tiên ở trên thỏ bởi Kellner, Correll và Ladd [37], [38]. Và sau đó là ở trên chuột nhắt bởi Cornforth, Hart, Rees và Stock [39]. Phí Thị Ngọc sử dụng Tween 80 trên thỏ theo mô hình của Kell, Correll và Ladd bằng cách tiêm tĩnh mạch vành tai dung dịch Tween 80 20% trong NaCl 0,9% với liều 2,5 mL/kg cân nặng, kết quả cho thấy nồng độ TC tăng 167% và TG là 913%.

Triton WR-1339 là chất diện hoạt, dùng đường toàn thân trên chuột nhắt hoặc chuột cống nhin đói hoặc không nhin đói sẽ gây tăng TC và TG huyết thanh. Quá trình tăng này có hai giai đoạn: giai đoạn 1 là tăng đột ngột cholesterol và đạt đỉnh 24 giờ sau khi tiêm Triton, sau đó là giai đoạn 2 giảm dần nồng độ cholesterol về bình thường trong 24 giờ tiếp theo. Theo một nghiên cứu của Nandakumar và cộng sự, sử dụng mô hình của Moreover Paoletti gây tăng cholesterol bằng Triton WR-1339 đường tiêm tĩnh mạch liều 200 mg/kg trên chuột nhắt, nồng độ TC tăng 290% và TG tăng 415% [40]. Tại Việt Nam, Huỳnh Ngọc Trinh và cộng sự đã sử dụng Tyloxapol 3% đường tiêm màng bụng với liều 300 mg/kg trên chuột nhắt trắng để gây mô hình tăng lipid máu, kết quả TC tăng 130% và TG tăng 170% [41].

Poloxamer 407 (Pluronic® F-127, P-407) là một chất hoạt động bề mặt không ion hóa ưa nước, có ít độc tính với LD50 theo đường tiêm màng bụng lớn hơn 15g/kg trên thỏ và 1,8g/kg trên chuột nhắt [42], [43], [44]. Millar và

cộng sự tiến hành so sánh mô hình gây tăng lipid máu trên chuột nhắt bằng Triton WR-1339 liều 500 mg/kg và P-407 liều 1g/kg cho thấy P-407 làm tăng rõ rệt nồng độ TC và TG máu sau 24 giờ, P-407 có ưu điểm so với Triton WR-1339 là có ít tác dụng phụ hơn [42], [43]. Loginova và cộng sự cũng đã tiến hành so sánh mức độ gây RLLM trên chuột nhắt bằng Triton WR-1339 liều 500 mg/kg và P-407 liều 500 mg/kg cho thấy mức tăng TC và TG huyết thanh rõ rệt hơn trên những chuột được tiêm P-407. Có sự khác biệt giữa hai mô hình về các thành phần LP tham gia vào quá trình hình thành XVĐM: VLDL và LDL tăng cao hơn trên mô hình sử dụng P-407 [44].

Triton WR-1339 và Tween-80 đều gây RLLM nhưng kết quả không ổn định, không làm rối loạn rõ rệt nồng độ lipid máu của động vật thí nghiệm. Trong nghiên cứu của Mai Phương Thanh đã lựa chọn liều P-407 là 200 mg/kg, kết quả nồng độ TC và nồng độ non-HDL-C tăng gấp khoảng 3 lần so với nhóm chứng, giúp đánh giá hiệu quả của các thuốc tốt hơn [45].

1.6. Một số phương pháp thử nghiệm độc tính cấp

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

- Liều an toàn;
- Liều dung nạp tối đa;
- Liều gây ra độc tính có thể quan sát được;
- Liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có);
- Liều LD₅₀ gần đúng (nếu có thể xác định được);
- Những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục (nếu có).

a/ Mô hình theo Litchfield - wilcoxon:

- Nguyên tắc: Mô hình được Litchfield- Wilcoxon đề xuất năm 1949 sau khi xem xét, cải tiến và cố gắng khắc phục những hạn chế của một số phương pháp trước đó. Kết quả được ghi đồ thị trên giấy log- probit và được tính theo

phương pháp toán đồ có hiệu chỉnh, do vậy cho kết quả chính xác hơn. Trước đây, phương pháp thường được áp dụng trong tính giá trị LD₅₀ cho những chất có độc tính cao [46].

b/ Mô hình thử:

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

- Khuyến cáo: Để bảo vệ động vật, các mô hình sử dụng số ít động vật thí nghiệm được ưu tiên lựa chọn [46].

c/ Mô hình liều cố định:

- Nguyên tắc: Mô hình thử liều cố định được các nước thuộc OECD áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 420). Thử nghiệm được thực hiện với các mức liều xác định 5,50,300,2000,5000mg/kg hay 1,0/kg ĐVTN.

Lựa chọn liều thử đầu tiên liều thử trên một nhóm 5 động vật thí nghiệm. Thử nghiệm tiếp tục cho đến khi xác định mức độ độc dựa trên đáp ứng động vật thí nghiệm chết hoặc không và các triệu chứng ngộ độc, khả năng hồi phục quan sát được. Xác định giá trị LD₅₀ gần đúng (nếu có). Phép thử phù hợp với tất cả trường hợp cần xác định độc tính cấp [46].

d/ Mô hình Tăng- Giảm:

- Nguyên tắc: Mô hình thử Tăng- Giảm được các nước thuộc OECD áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 425) [46]. Thử nghiệm được tiến hành trên các mức liều được tính theo hệ số bước nhảy liều, thực hiện lần lượt trên từng động vật thí nghiệm theo tiến trình tăng hoặc giảm liều và tiếp tục cho đến khi đạt điều kiện dừng lại. Đánh giá kết quả bằng quan sát các biểu hiện và triệu chứng ngộ độc theo qui định chung và tính giá trị LD₅₀ gần đúng (nếu có) theo qui định riêng của phương pháp [46].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu:

2.1.1. Bài thuốc “Hạ mỡ NK”

Bảng 2.1. Thành phần của bài thuốc “Hạ mỡ NK” [47], [48], [49]

Thành phần	Tên khoa học	Khối lượng (g)	Tiêu chuẩn
Rễ Cỏ tranh	<i>Rhizoma Imperatae cylindrica</i>	12 gam	ĐĐVN V
Ngưu tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	12 gam	ĐĐVN V
Thảo quyết minh	<i>Semen Cassiae torae</i>	12 gam	ĐĐVN V
Tỳ giải nam	<i>Rhizoma Smilax ferox</i>	12 gam	TCCS
Hạ khô thảo	<i>Spica Prunellae</i>	12 gam	ĐĐVN V
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	06 gam	ĐĐVN V
Bán hạ nam	<i>Rhizoma Typhonium trilobatum</i>	08 gam	ĐĐVN V
Hòe hoa	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	12 gam	ĐĐVN V
Hà diệp	<i>Folium Nelumbinis nuciferae</i>	12 gam	ĐĐVN V

Bài thuốc được bào chế thành cao khô (phụ lục 2). Đạt tiêu chuẩn cơ sở (phụ lục 3).

Liều dùng dự kiến trên người lớn trên lâm sàng: 20,1 gam cao khô được liệu/ngày.

Tác dụng: Hành khí, táo thấp, hóa đàm.

Nguồn thuốc được cung cấp và nghiên cứu bào chế tại Viện dược liệu Trung ương theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V và tiêu chuẩn cơ sở.

2.1.2. Nguyên vật liệu và hóa chất, thiết bị nghiên cứu

Hóa chất và dụng cụ xét nghiệm:

- Poloxamer 407 (Sigma – Singapore)
- Atorvastatin viên nén 10mg (STADA–Việt Nam)
- Kit định lượng các chất chuyển hóa trong máu: TC, TG, HDL-C, của hãng DIALAB GmbH (Áo), định lượng trên máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Erba (Ấn Độ).

Máy móc phục vụ nghiên cứu:

- Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Erba (Ấn Độ).
- Máy li tâm HETECH (Đức)
- Cân phân tích Precisa (Thụy Sĩ)
- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Kim đầu tù cho chuột uống.
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

Thiết bị dụng cụ quy trình sản xuất cao khô:

TT	Tên thiết bị	Số lượng	Thông số kỹ thuật	Mục đích
1	Cân (5 kg ; 20 kg ; 100 kg)	03		
2	Hệ thống chiết 2 nồi và cô thu hồi tuần hoàn 3000 lít	01	500 kg/ mẻ	Chiết xuất, cô cao lỏng
3	Tủ sấy chân không	01	100 kg/ mẻ	Sấy cao lỏng
4	Máy nghiền, rây đa năng	01		Nghiền
5	Thiết bị lọc chân không Inox	01		Lọc dịch
6	Hệ thống nồi hơi và đường ống dẫn hơi	01	750kg hơi/ giờ	Cung cấp nhiệt
7	Máy đóng gói	01		

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Nghiên cứu được tiến hành tại Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội, Trung tâm ứng dụng khoa học công nghệ dược liệu- Viện dược liệu
- Thời gian từ tháng 04 năm 2024 đến tháng 10 năm 2024

2.3. Động vật nghiên cứu:

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 – 22g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội 5-10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp, uống nước tự do.



Hình 2.1. Động vật nghiên cứu

2.4. Phương pháp nghiên cứu:

2.4.1. Thiết kế nghiên cứu

- Nghiên cứu độc tính cấp theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon.
- Nghiên cứu tác dụng của cao toàn phần hạ mỡ NK trên mô hình gây rối loạn Lipid máu nội sinh

2.4.2. Cỡ mẫu

Chọn chuột có trọng lượng theo mục đích nghiên cứu:

- Nghiên cứu độc tính cấp: 30 con chuột nhắt trắng, chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g.
- Tác dụng điều chỉnh rối loạn Lipid máu theo mô hình nội sinh: 50 con chuột nhắt trắng, chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 25 ± 2 g.

2.4.3. Phương pháp đánh giá bào chế cao khô hạ mỡ NK.

- Nghiên cứu phân tích đánh giá chất lượng dược liệu:

Các dược liệu Bán hạ nam Trần bì, Thảo quyết minh, Hạ khô thảo, Hòe hoa, Rễ cỏ tranh, Ngưu tất, Hà diệp, Tỳ giải nam được kiểm tra các chỉ tiêu chất lượng theo các chuyên luận tương ứng trong Dược điển Việt Nam V.

- Nghiên cứu quy trình bào chế cao khô “Hạ mỡ NK”.

- Sơ đồ công đoạn sản xuất:

- Mô tả quy trình sản xuất:

❖ Chuẩn bị sản xuất

- Vệ sinh dụng cụ sản xuất: Các thùng chứa, xô nhựa, khay inox phải được rửa sạch, sấy khô trước khi dùng cho sản xuất. Máy móc thiết bị phải được vệ sinh sạch sẽ trước và sau khi sử dụng. Phải khử trùng trước khi sản xuất.

- Kiểm tra độ an toàn của máy móc thiết bị: Trước khi vận hành phải kiểm tra độ an toàn của các máy móc thiết bị để phòng chống cháy nổ, tai nạn xảy ra.

❖ Cân, sơ chế dược liệu

- Cân theo đúng định mức hồ sơ lô

- Sơ chế dược liệu : loại tạp, rửa sạch, để ráo nước

❖ Chiết xuất

- Thiết bị sử dụng: Bình chiết 2 vỏ dung tích 3000 lít x 2 nôi.

- Khối lượng dược liệu: Khoảng 98kg/nôi.

- Dung môi chiết: nước ăn uống

- Lượng dung môi: cao hơn bề mặt dược liệu 30-50cm.

- Phương pháp chiết xuất: chiết nóng ở nhiệt độ sôi của nước. Nôi chiết được tiếp tục đun sôi 2 giờ nữa thì rút dịch chiết.

❖ Lọc, cô dịch lọc thành cao lỏng

- Dịch chiết được lọc qua màng lọc của hệ thống (rây 0,5cm) để loại bỏ các mảnh vụn dược liệu, các chất bẩn, giúp thuận lợi cho việc thu hồi.

- Dịch chiết được cô thu hồi bằng máy thu hồi tuần hoàn dung tích 3000 lít đến khi thu được cao lỏng $\frac{1}{4}$ (4kg dược liệu ~ 1 kg cao lỏng) (áp suất – 50 mmbar; nhiệt độ cô khoảng 70-80 °C) – khối lượng cao thu được khoảng 25kg ~ 26 lít cao lỏng.

❖ Sấy cao, nghiền, rây cao khô

- Sấy cao hỗn hợp bằng tủ sấy chân không đến khi thu được cao khô (độ ẩm <5%). Khối lượng cao thu được khoảng 8-10 kg.

- Nghiền cao khô bằng máy nghiền búa, cỡ rây 0,5 cm.

- Bán thành phẩm tiến hành kiểm nghiệm theo TCCS đã được phê duyệt, nếu đạt thì tiến hành đóng gói.

❖ Đóng gói và bảo quản

- Cao khô hỗn hợp dược liệu – cao khô “hạ mỡ NK” được đựng trong 2 lần túi polyethylen, hàn kín.

- Ghi nhãn rõ ràng, đúng qui chế.

- Bảo quản nơi khô, mát, tránh ánh sáng, nhiệt độ dưới 30⁰C.

- Phương pháp kiểm soát và kiểm nghiệm:

Bảng 2.2. Phương pháp kiểm soát và kiểm nghiệm

STT	Đối tượng	Giai đoạn	Nội dung	Phương pháp	Người thực hiện
1	Nguyên liệu	Chuẩn bị SX	Đạt tiêu chuẩn quy định, có phiếu KN	TCCS	Phòng QC
2	Dược liệu	Sơ chế, chế biến	Đúng quy định	Cảm quan	Người SX
3	Dược liệu	Chiết xuất	Thời gian, nhiệt độ, số lần chiết, lượng nước, kích thước rây	Cảm quan, đồng hồ	Người SX
4	Dịch chiết	Cô cao lỏng	Độ ẩm, nhiệt độ, khối lượng cao	Cảm quan, cân	Người SX
5	Cao lỏng	Tinh chế cao	Nhiệt độ cô, lượng ethanol 96%, kích thước rây	Cảm quan, cón kế	Người SX
6	Cao đặc	Sấy cao, nghiền, rây	Độ ẩm cao, nhiệt độ sấy, khối lượng cao	Đồng hồ	Người SX
7	Thành phẩm	Đóng gói	Khối lượng; Có nhãn đúng quy chế và ghi đủ số lô, người đóng gói	Cảm quan, TCCS	Phòng QC, IPC, Kho

- *Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK”:*

- Tính chất: Thử bằng cảm quan.
- Mất khối lượng do làm khô: Tiến hành thử theo phương pháp xác định mất khối lượng do làm khô, Phụ lục 9.6, DĐVN V [50].
- Độ mịn: Tiến hành xác định qua rây số 355.
- Định tính: Phản ứng hóa học (định tính nhóm hợp chất Flavonoid); Phương pháp HPLC [51].
- Định lượng: Phương pháp HPLC (Phụ lục 5.3, DĐVN V) [51].
- Tro toàn phần: Tiến hành thử theo phương pháp TCVN 8124:2009 [52].
- Kim loại nặng: Tiến hành thử theo phương pháp AOAC 999.11 [53].
- Giới hạn nhiễm khuẩn: Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí theo TCVN 4884-1:2015 [54] ; xác định tổng số bào tử nấm men, mốc theo TCVN 8275-2: 2010 [55]; xác định nhiễm *Staphylococcus aureus* theo TCVN 4830-2:2005 [56]; xác định nhiễm *E. coli* theo TCVN 6846:2007 [57]; xác định nhiễm *Salmonella* theo ISO 6579-1:2017 [58].

2.4.4. Nghiên cứu độc tính cấp của cao khô “Hạ mỡ NK” theo đường uống trên chuột nhắt trắng:

Xác định độc tính cấp và LD₅₀ của cao khô “Hạ mỡ NK” theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon, quy chế đánh giá an toàn thuốc YHCT của Bộ Y tế và theo hướng dẫn của OECD [46], [59], [60].

Nghiên cứu độc tính cấp của cao khô “Hạ mỡ NK” trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu:

Cân 25 gam, thêm 20 ml được 42 ml vừa đủ. Đây là dung dịch đậm đặc nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống bằng kim chuyên dụng. Dung dịch đậm đặc này dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của cao khô “Hạ mỡ NK”. Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm.

Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống cao khô “Hạ mỡ NK” với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể.

Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống cao khô “Hạ mỡ NK”. Từ số liệu thu được, tính LD₅₀ theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon [60].

2.4.5. Nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu trên mô hình gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh.

Áp dụng mô hình gây rối loạn chuyển hóa lipid máu nội sinh: Sử dụng mô hình Poloxamer-407 của Millar và cộng sự [61].

Chuẩn bị dung dịch P-407 2% bằng cách pha 0,4g P-407 trong nước muối sinh lý 0,9% vừa đủ 20 mL, để tủ lạnh qua đêm để làm tăng độ tan của P-407.

Kim và xylanh dùng để tiêm chuột được ngâm trong nước đá trước khi sử dụng.

Chuột nhắt trắng được chia làm 5 lô, mỗi lô 10 con. Các lô được tiêm và uống thuốc như sau:

Lô 1 (chứng sinh học): Tiêm màng bụng nước muối sinh lý 0,9% với thể tích 0,1mL/10g thể trọng chuột và uống nước cất.

Lô 2 (mô hình): Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1mL/10g) và uống nước cất.

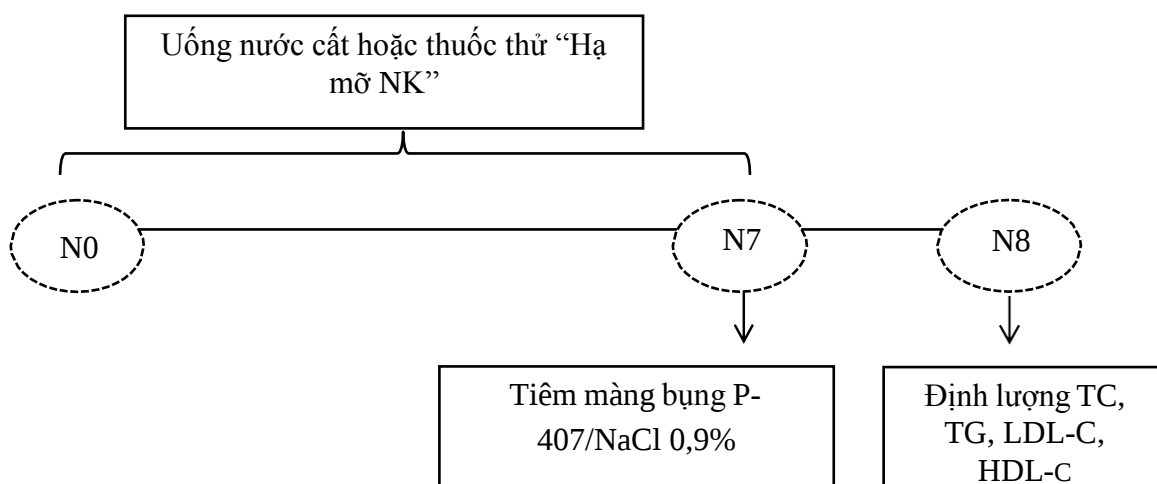
Lô 3 (uống Atorvastatin): Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1mL/10g) và uống Atorvastatin liều 100 mg/kg.

Lô 4 (lô trị 1): Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1 mL/10g), uống cao khô “Hạ mỡ NK” liều 4,8 g dược liệu “Hạ mỡ NK” /kg/ngày (tương đương liều dự kiến lâm sàng, tính theo hệ số 12)

Lô 5 (lô trị 2): Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1 mL/10g), uống cao khô “Hạ mỡ NK” liều 14,5 g dược liệu “Hạ mỡ NK” /kg/ngày (gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng).

Chuột nhắt trắng được uống nước cất và “Hạ mỡ NK” 7 ngày liên tục trước khi tiêm màng bụng dung dịch P-407. Sau khi được tiêm P-407, chuột được cho nhịn đói hoàn toàn nhưng vẫn được uống nước tự do. Sau 24 giờ kể từ khi được tiêm P-407, tất cả các chuột được lấy máu động mạch cảnh làm xét nghiệm định lượng TG, TC, HDL-C. Non - HDL-C được tính theo công thức:

$$\text{Non-HDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C} \text{ (mmol/L)}$$



Sơ đồ 2.2. Sơ đồ nghiên cứu mô hình P-407

2.5. Phương pháp đánh giá

2.5.1. Phương pháp đánh giá kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (nôn, co giật, kích động, rối loạn bài tiết) và đếm số lượng chuột chết (nếu có) trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Tiếp tục theo dõi tình trạng chuột sau 7 ngày uống thuốc. Xác định độc tính cấp và LD₅₀ của “Hạ mỡ NK” trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

2.5.2. Đánh giá kết quả tác dụng của “Hạ mỡ NK” trên mô hình nội sinh:

Tác dụng điều chỉnh lipid máu của “Hạ mỡ NK” với liều tương đương liều lâm sàng và gấp 3 lần liều lâm sàng hàm lượng 4,8g/kg và 14,5g/kg.

So sánh tác dụng hai hàm lượng trên của “Hạ mỡ NK” liều tương đương liều lâm sàng và gấp 3 liều lâm sàng với kết quả của lô chứng, lô mô hình P-407 và lô chứng dương.

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập và xử lý bằng phương pháp và thuật toán thống kê y sinh học trên phần mềm SPSS 20.0.

Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$.

Kiểm định các giá trị bằng t-test Student; test trước sau.....

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.7. Sai số và phương pháp không chế sai số

- Sai số các phương pháp thu thập số liệu
- Các phương pháp được áp dụng để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình thu thập, phân tích và xử lý số liệu:
 - + Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh, không có dị tật hay dấu hiệu bất thường. Thời gian thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là thống nhất cùng một thời điểm.
 - + Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm. Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.
 - Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

2.8. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột nhắt trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê. Những chuột chết trong quá trình làm thí nghiệm (nếu có) và số chuột sau khi thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định. Việc lựa chọn động vật thí nghiệm,

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

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

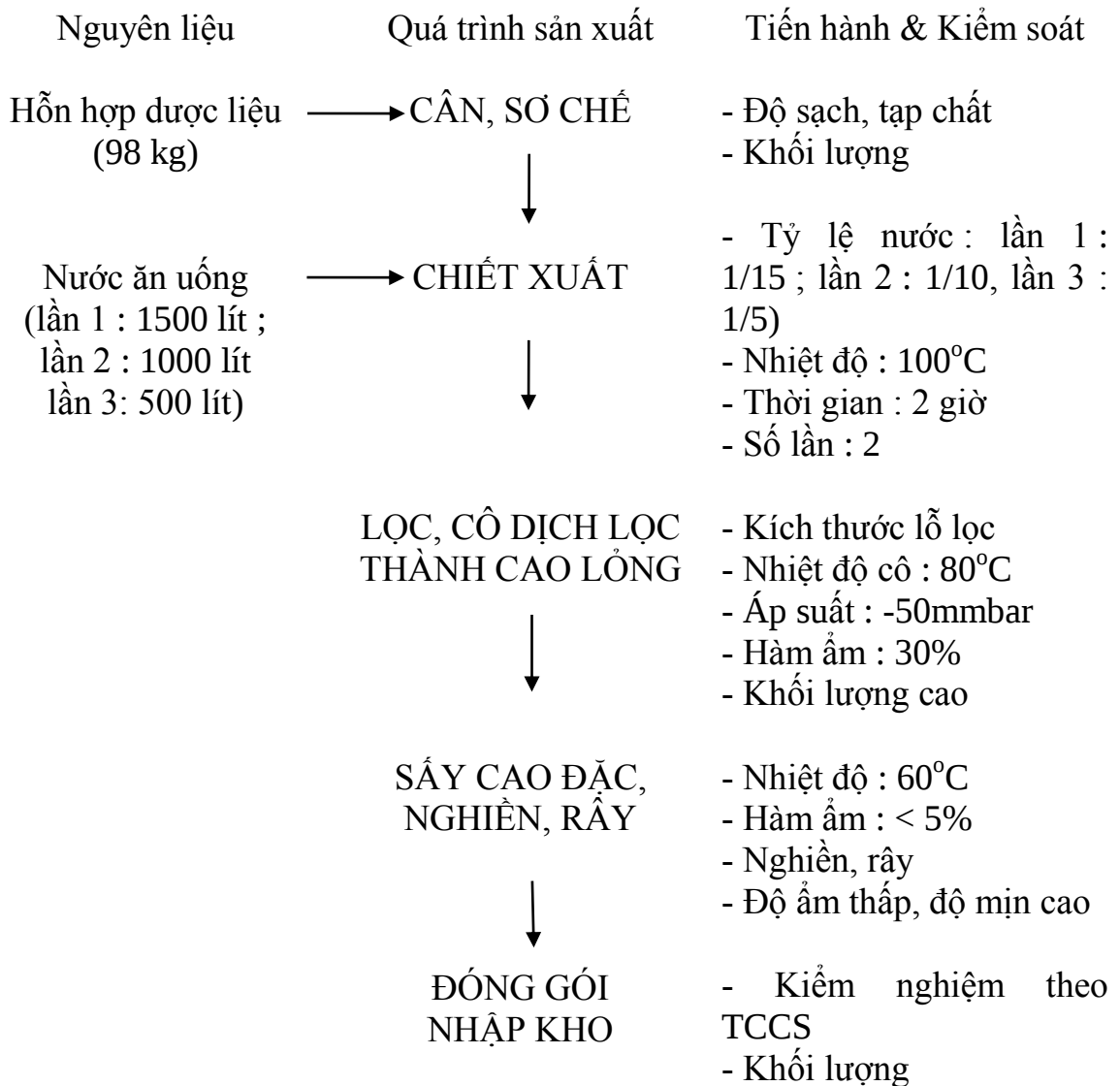
3.1. Xây dựng quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK”.

3.1.1. Đánh giá chất lượng nguyên liệu nghiên cứu.

- Các nguyên liệu nghiên cứu đầu vào đạt tiêu chuẩn dược điển Việt Nam V.
- Tỷ giải Nam đạt tiêu chuẩn cơ sở.

3.1.2. Xây dựng quy trình bào chế của cao khô “Hạ mỡ NK”.

3.1.2.1. Sơ đồ quy trình bào chế của cao khô “Hạ mỡ NK”.



Sơ đồ 3.1. Sơ đồ quy trình bào chế của cao khô “Hạ mỡ NK”

3.1.2.2. Kết quả định lượng chất đánh dấu trong mẫu cao tổng và số lần chiết.

Cao khô "Hạ mỡ NK" với liều dùng trong một ngày gồm 9 vị tổng 98 g dưới đây được chiết với dung môi H₂O theo phương pháp sắc tại 60°C trong 2 giờ với tỷ lệ rắn/lỏng tương ứng 1/15. Quá trình chiết được lặp lại 3 lần, cô quay dưới áp suất giảm tại 60°C về cao lỏng, sau đó được sấy tĩnh tại 60°C về cao đặc (hàm ẩm <5%). Cao đặc chuyển vào túi lỵnon và bảo quản trước khi sử dụng tại nhiệt độ 4°C tránh ánh sáng trong tủ lạnh.

Bán hạ nam chế	08g	Tỳ giải nam	12g
Trần bì	06g	Rễ cỏ tranh	12g
Thảo quyết minh	12g	Ngưu tất	12g
Hồ hoa	12g	Hà diệp	12g
Hạ khô thảo	12g		

Áp dụng phương pháp định lượng vừa xây dựng ở trên, khối lượng cao cũng như hàm lượng các chất trong cao tổng 3 lần chiết được tổng hợp trong bảng dưới đây

Bảng 3.1: Kết quả khối lượng cao và hàm lượng các chất trong cao tổng 2 lần chiết.

Khối lượng cao	Chiết lần 1 (12.6g – hàm ẩm 4,2%) Chiết lần 2 (6.2g – hàm ẩm 3,4%) Chiết lần 3 (1.3g – hàm ẩm 3,6%)
Tổng Flavonoid theo Quercetin	1.11 % (g/g)
Tổng Saponin theo Acid Oleanoic	0.56 % (g/g)
Tổng Polysaccharide theo D-glucose	8.75 % (g/g)
Rutin	0.41 % (g/g)
Quercetin	0.081 % (g/g)
Hesperidine	0.150 % (g/g)
Acid Oleanoic	0.032 % (g/g)

Nhận xét: Bảng 3.1 trình bày kết quả thu được từ quá trình chiết xuất cao khô “Hạ mỡ NK” qua hai lần chiết. Sau chiết lần 1, khối lượng cao thu được là 12,6 g với hàm ẩm 4,2%, trong khi chiết lần 2 thu được 6,2 g với hàm ẩm 3,4%, chiết lần 3 thu được 1.3g với hàm ẩm 3,6%.

Phân tích thành phần trong cao tổng cho thấy tổng Flavonoid tính theo Quercetin đạt 1,11%, tổng Saponin theo Acid Oleanoic là 0,56%, và tổng Polysaccharide theo D-glucose là 8,75%. Ngoài ra, một số hợp chất cụ thể cũng được xác định gồm Rutin 0,41%, Quercetin 0,081%, Hesperidine 0,150%, và Acid Oleanoic 0,032%.

3.1.3. Tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK”.

* Chất lượng thành phẩm:

- *Tính chất:* Bột mịn, màu nâu nhạt, mùi thơm đặc trưng của dược liệu, vị hơi mặn.
- *Độ đồng nhất:* Bột phải đồng nhất, không được có chỗ đậm, chỗ nhạt.
- *Mất khối lượng do làm khô:* Không quá 5,0 %.
- *Tro toàn phần:* Không quá 6,0%.
- *Định tính:* Chế phẩm phải thể hiện phép thử định tính của Rutin, Hesperidine, trên SKLM; thể hiện sự có mặt của Saponin; Polysaccharide; Flavonoid bằng phản ứng định tính hóa học đặc trưng của nhóm chất.
- *Định lượng:* Hàm lượng Rutin trong cao không thấp hơn 0,01%; Hesperidine không thấp hơn 0,001% trên HPLC; Polysaccharide toàn phần không thấp hơn 0,5% so với α -D-glucose
- *Giới hạn nhiễm khuẩn:* Đạt yêu cầu theo bảng 13.6.6, phụ lục 13.6, Dược điển Việt Nam V (tổng số vi sinh vật hiếu khí $\leq 10^4$ CFU/g; Tổng số nấm $\leq 10^2$ 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)
- *Kim loại nặng (Pb):* Không quá 20 phần triệu

3.2. Đánh giá độc tính cấp của cao khô “Hạ mỡ NK”:

Chuột nhắt trắng được uống cao khô toàn phần hạ mỡ NK từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10g, 4 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc, theo dõi thấy các liều cao khô toàn phần hạ mỡ NK không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống cao khô toàn phần hạ mỡ NK.

Bảng 3.2. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao khô “Hạ mỡ NK”.

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (g “Hạ mỡ NK”/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	30	17,85	0	Không
Lô 2	10	45	26,78	0	Không
Lô 3	10	60	35,71	0	Không
Lô 4	10	75	44,64	0	Không
Lô 5	10	100	59,52	0	Không

Nhận xét: Bảng 3.2 trình bày kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao khô “Hạ mỡ NK” trên mô hình chuột thí nghiệm. Nghiên cứu được tiến hành trên 5 lô chuột, mỗi lô gồm 10 cá thể, với mức liều sử dụng tăng dần từ 30 ml/kg đến 100 ml/kg, tương ứng với hàm lượng cao khô từ 17,85 g/kg đến 59,52 g/kg.

Kết quả ghi nhận cho thấy, ở tất cả các mức liều được thử nghiệm, không có cá thể chuột nào tử vong. Tỷ lệ chết trong cả 5 lô đều là 0%, ngay cả ở mức liều cao nhất là 100 ml/kg. Đồng thời, không quan sát thấy bất kỳ dấu hiệu bất thường nào về hành vi, thể trạng hay phản ứng lâm sàng ở các cá thể chuột trong suốt quá trình nghiên cứu.

3.3. Tác dụng điều chỉnh lipid trên mô hình RLLM của cao khô “Hạ mỡ NK” theo cơ chế nội sinh.

Bảng 3.3. Mô hình rối loạn lipid máu bằng Poloxamer 407

Chỉ số lipid	Chứng sinh học (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$, mmol/L)	Mô hình (n = 10) ($\bar{X} \pm SD$, mmol/L)
TC	$4,18 \pm 1,12$	$9,93 \pm 1,10$ ***
TG	$0,97 \pm 0,16$	$8,19 \pm 2,65$ ***
HDL-C	$0,80 \pm 0,23$	$1,52 \pm 0,40$ ***
non-HDL-C	$3,38 \pm 1,03$	$8,41 \pm 1,29$ ***

Nhận xét: Bảng 3.3 trình bày kết quả đánh giá mô hình rối loạn lipid máu do Poloxamer 407 gây ra trên chuột thí nghiệm. Nghiên cứu được thực hiện trên hai nhóm: nhóm chứng sinh học (n = 10) và nhóm mô hình rối loạn lipid máu (n = 10). Các chỉ số lipid máu được đo lường gồm TC, TG, HDL-C và non-HDL-C với kết quả biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($\bar{X} \pm SD$) theo đơn vị mmol/L.

Kết quả thu được cho thấy, ở nhóm mô hình rối loạn lipid máu, tất cả các chỉ số lipid đều tăng cao hơn rõ rệt so với nhóm chứng sinh học. Cụ thể, chỉ số TC ở nhóm mô hình là $9,93 \pm 1,10$ mmol/L, cao hơn hơn gấp đôi so với nhóm chứng sinh học ($4,18 \pm 1,12$ mmol/L). Chỉ số TG cũng có sự gia tăng mạnh, từ $0,97 \pm 0,16$ mmol/L ở nhóm chứng sinh học lên $8,19 \pm 2,65$ mmol/L ở nhóm mô hình.

Bên cạnh đó, chỉ số HDL-C ở nhóm mô hình tăng từ $0,80 \pm 0,23$ mmol/L lên $1,52 \pm 0,40$ mmol/L. Đồng thời, chỉ số non-HDL-C ở nhóm mô hình đạt $8,41 \pm 1,29$ mmol/L, cao hơn đáng kể so với nhóm chứng sinh học ($3,38 \pm 1,03$ mmol/L).

Sự khác biệt giữa hai nhóm ở tất cả các chỉ số đều có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa rất cao. (***)

Bảng 3.4. Tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu (n= 10)	Nồng độ cholesterol toàn phần (mmol/L)	Mức giảm so với lô mô hình	p so với lô 2	p so với lô 3
Lô 2: Mô hình	9,93 ± 1,10			
Lô 3: Atorvastatin 100mg/kg	7,68 ± 2,13	22,7%	p < 0,01	
Lô 4: “Hạ mỡ NK” liều 4,8g cao khô/kg/ngày	7,94 ± 1,76	20,4%	p < 0,01	p > 0,05
Lô 5: “Hạ mỡ NK” liều 14,5g cao khô/kg/ngày	8,13 ± 1,30	18,1%	p < 0,01	p > 0,05

Nhận xét: Bảng 3.4 trình bày tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột nhắt trắng bị gây rối loạn lipid máu. Nghiên cứu được tiến hành trên 4 lô chuột, mỗi lô gồm 10 cá thể. Lô 2 là nhóm mô hình rối loạn lipid máu không được điều trị, lô 3 sử dụng Atorvastatin với liều 100 mg/kg/ngày làm nhóm đối chứng dương, trong khi lô 4 và lô 5 lần lượt được điều trị bằng cao khô “Hạ mỡ NK” với liều 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày.

Kết quả cho thấy, lô mô hình (lô 2) có nồng độ TC trung bình là $9,93 \pm 1,10$ mmol/L. Khi sử dụng Atorvastatin (lô 3), nồng độ cholesterol toàn phần giảm xuống còn $7,68 \pm 2,13$ mmol/L, tương ứng mức giảm 22,7% so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

Hai nhóm sử dụng cao khô “Hạ mỡ NK” cũng ghi nhận mức giảm TC so với lô mô hình. Cụ thể, ở lô 4 (liều 4,8 g/kg/ngày), cholesterol toàn phần giảm xuống còn $7,94 \pm 1,76$ mmol/L, tương ứng mức giảm 20,4%, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với lô mô hình. Ở lô 5 (liều 14,5 g/kg/ngày), nồng độ TC đo được là $8,13 \pm 1,30$ mmol/L, giảm 18,1% so với lô mô hình, với mức ý nghĩa thống kê tương tự ($p < 0,01$).

Khi so sánh giữa các nhóm điều trị, sự khác biệt giữa lô 4, lô 5 với lô Atorvastatin không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

Bảng 3.5. Tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ triglycerid trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu (n=10)	Nồng độ Triglycerid (mmol/L)	Mức giảm so với lô mô hình	p so với lô 2	p so với lô 3
Lô 2: Mô hình	8,19 ± 2,65			
Lô 3: Atorvastatin 100mg/kg	9,80 ± 3,29	- 19,7 %	p > 0,05	
Lô 4: “Hạ mỡ NK” liều 4,8g cao khô/kg/ngày	7,26 ± 2,16	11,4 %	p > 0,05	p > 0,05
Lô 5: “Hạ mỡ NK” liều 14,5g cao khô/kg/ngày	7,35 ± 2,23	10,3 %	p > 0,05	p > 0,05

Nhận xét: Bảng 3.5 trình bày tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ triglycerid trong máu chuột nhắt trắng bị gây rối loạn lipid máu. Nghiên cứu được thực hiện trên 4 lô chuột, mỗi lô gồm 10 cá thể. Trong đó, lô 2 là lô mô hình rối loạn lipid máu không được điều trị, lô 3 sử dụng Atorvastatin với liều 100 mg/kg/ngày làm nhóm đối chứng dương, còn lô 4 và lô 5 lần lượt sử dụng cao khô “Hạ mỡ NK” với liều 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày.

Kết quả cho thấy, lô mô hình (lô 2) có nồng độ triglycerid trung bình là 8,19 ± 2,65 mmol/L. Ở nhóm sử dụng Atorvastatin (lô 3), nồng độ triglycerid đạt 9,80 ± 3,29 mmol/L, tăng 19,7% so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Hai nhóm sử dụng cao khô “Hạ mỡ NK” đều ghi nhận mức giảm nồng độ triglycerid so với lô mô hình. Cụ thể, ở lô 4 (liều 4,8 g/kg/ngày), triglycerid giảm xuống còn 7,26 ± 2,16 mmol/L, tương ứng mức giảm 11,4% so với lô mô hình. Ở lô 5 (liều 14,5 g/kg/ngày), nồng độ TG đo được là 7,35 ± 2,23 mmol/L, giảm 10,3% so với lô mô hình.

Tuy nhiên, khi so sánh với lô mô hình và lô Atorvastatin, sự khác biệt về nồng độ TG ở các nhóm điều trị đều không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 3.6. Tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ HDL-cholesterol trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu (n=10)	Nồng độ HDL-C (mmol/L)	p so với lô 2	p so với lô 3
Lô 2: Mô hình	1,52 ± 0,40		
Lô 3: Atorvastatin 100mg/kg	2,02 ± 0,69 (↑ 32,9 %)	p > 0,05	
Lô 4: “Hạ mỡ NK” liều 4,8 g cao khô /kg/ngày	1,64 ± 0,19 (↑ 7,9 %)	p > 0,05	p > 0,05
Lô 5: “Hạ mỡ NK” liều 14,5 g cao khô /kg/ngày	1,55 ± 0,48 (↑ 1,97%)	p > 0,05	p > 0,05

Nhận xét: Bảng 3.6 trình bày tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ HDL-cholesterol (HDL-C) trong máu chuột nhắt trắng bị gây rối loạn lipid máu. Thí nghiệm được tiến hành trên 4 lô chuột, mỗi lô gồm 10 cá thể. Trong đó, lô 2 là nhóm mô hình rối loạn lipid máu không được điều trị, lô 3 là nhóm đối chứng dương được điều trị bằng Atorvastatin (100 mg/kg/ngày), còn lô 4 và lô 5 lần lượt được điều trị bằng cao khô “Hạ mỡ NK” với liều 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày.

Kết quả cho thấy, ở lô mô hình (lô 2), nồng độ HDL-C trung bình là 1,52 ± 0,40 mmol/L. Khi sử dụng Atorvastatin (lô 3), nồng độ HDL-C tăng lên 2,02 ± 0,69 mmol/L, tương ứng mức tăng 32,9% so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Hai nhóm chuột được điều trị bằng cao khô “Hạ mỡ NK” cũng ghi nhận sự gia tăng nồng độ HDL-C, nhưng ở mức độ thấp hơn. Cụ thể, ở lô 4 (liều 4,8 g/kg/ngày), HDL-C tăng lên 1,64 ± 0,19 mmol/L, tương ứng mức tăng 7,9% so với lô mô hình. Ở lô 5 (liều 14,5 g/kg/ngày), nồng độ HDL-C đạt 1,55 ± 0,48 mmol/L, tương ứng mức tăng 1,97%. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa các nhóm điều trị với lô mô hình cũng như với lô Atorvastatin đều không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 3.7. Tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ non-HDL-Cholesterol trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu (n=10)	Nồng độ Non-HDL-Cholesterol (mmol/L)	Mức độ giảm so với mô hình	p so với lô 2	p so với lô 3
Lô 2: Mô hình	8,41 ± 1,29			
Lô 3: Atorvastatin 100mg/kg	5,66 ± 1,87	32,7 %	p < 0,01	
Lô 4: “Hạ mỡ NK” liều 4,8 g cao khô /kg/ngày	6,30 ± 1,62	25,1%	p < 0,01	p > 0,05
Lô 5: “Hạ mỡ NK” liều 14,5g cao khô /kg/ngày	6,58 ± 1,11	21,8 %	p < 0,01	p > 0,05

Nhận xét: Bảng 3.7 trình bày tác dụng của cao khô “Hạ mỡ NK” lên nồng độ non-HDL-Cholesterol trong máu chuột nhắt trắng bị gây rối loạn lipid máu. Thí nghiệm được tiến hành trên 4 lô chuột, mỗi lô gồm 10 cá thể. Lô 2 là nhóm mô hình rối loạn lipid máu không được điều trị, lô 3 là nhóm đối chứng dương được điều trị bằng Atorvastatin (100 mg/kg/ngày), còn lô 4 và lô 5 lần lượt được điều trị bằng cao khô “Hạ mỡ NK” với liều 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày.

Kết quả cho thấy, ở lô mô hình (lô 2), nồng độ non-HDL-Cholesterol trung bình là 8,41 ± 1,29 mmol/L. Khi sử dụng Atorvastatin (lô 3), nồng độ này giảm xuống còn 5,66 ± 1,87 mmol/L, tương ứng mức giảm 32,7% so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01).

Hai nhóm chuột được điều trị bằng cao khô “Hạ mỡ NK” cũng ghi nhận sự giảm nồng độ non-HDL-Cholesterol. Cụ thể, ở lô 4 (liều 4,8 g/kg/ngày), nồng độ non-HDL-Cholesterol giảm xuống còn $6,30 \pm 1,62$ mmol/L, tương ứng mức giảm 25,1% so với lô mô hình, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Ở lô 5 (liều 14,5 g/kg/ngày), nồng độ non-HDL-Cholesterol đạt $6,58 \pm 1,11$ mmol/L, tương ứng mức giảm 21,8% so với lô mô hình, cũng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

Tuy nhiên, khi so sánh giữa hai lô điều trị bằng cao khô “Hạ mỡ NK” với lô Atorvastatin (lô 3), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK”.

Cao khô “Hạ mỡ NK” được thu nhận dưới dạng bột mịn, màu nâu nhạt với mùi thơm đặc trưng và vị hơi mặn, đặc trưng bởi sự có mặt của các hợp chất dược lý như Flavonoid, Saponin và Polysaccharide, đồng thời đảm bảo độ đồng nhất cao trong toàn bộ lô sản xuất. Từ bảng 3.1 và kết quả chất lượng thành phẩm tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK” cho thấy, quá trình sấy khô và nghiền được kiểm soát chặt chẽ đã giúp giảm mất khối lượng do làm khô xuống dưới 5,0%, giữ cho hàm ẩm ở mức thấp, từ đó hạn chế tối đa sự phát triển của vi sinh vật và kéo dài thời gian bảo quản; hàm lượng tro toàn phần dưới 6,0% càng khẳng định hiệu quả của quy trình loại bỏ các tạp chất vô cơ và khoáng chất không mong muốn. Các phép thử định tính bằng sắc ký lớp mỏng và phản ứng hóa học đã xác nhận sự có mặt của các hợp chất hoạt tính quan trọng như Rutin, Hesperidine cùng với các nhóm Flavonoid, Saponin và Polysaccharide, góp phần nâng cao khả năng chống oxy hóa, điều hòa chuyển hóa lipid và bảo vệ tim mạch của sản phẩm. Phân tích định lượng bằng HPLC cho kết quả hàm lượng Rutin đạt 0,41%, Hesperidine 0,150%, Polysaccharide toàn phần 8,75%, tổng Flavonoid theo Quercetin 1,11% và tổng Saponin theo Acid Oleanoic đạt 0,56%, minh chứng cho việc quy trình chiết xuất được tối ưu nhằm thu hồi tối đa các hợp chất dược lý có hoạt tính sinh học. Qua ba lần chiết xuất, lần đầu thu được 12,6 g cao khô với hàm ẩm 4,2% và lần thứ hai thu được 6,2 g với hàm ẩm 3,4%, lần 3 thu được 1,3 g với hàm ẩm 3,6%, kết quả cho thấy, lần chiết thứ 3 tại cùng điều kiện đã gần như chiết kiệt, hàm lượng chỉ chiếm khoảng 5% so với tổng cao chiết được. Các chỉ tiêu về vi sinh vật và kim loại nặng đều nằm trong giới hạn an toàn: tổng

số vi sinh vật hiếu khí không vượt quá 10^4 CFU/g, tổng số nấm $\leq 10^2$ CFU/g, không phát hiện các tác nhân gây bệnh như Salmonella, E. coli và Staphylococcus aureus, đồng thời hàm lượng kim loại nặng như Pb không vượt quá 20 ppm, đảm bảo an toàn cho người sử dụng theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [62]. Từ đó, cao khô “Hạ mỡ NK” không chỉ đáp ứng các tiêu chí chất lượng về mặt cảm quan, hóa học và vi sinh mà còn thể hiện tiềm năng ứng dụng cao trong hỗ trợ điều trị hạ mỡ máu, mở ra hướng nghiên cứu lâm sàng sâu rộng nhằm tối ưu hóa quy trình sản xuất và phát triển các chế phẩm dược liệu

Việc nghiên cứu bào chế chiết xuất cao khô “Hạ mỡ NK” đóng vai trò quan trọng trong quy trình hiện đại hoá y học cổ truyền, đáp ứng nhu cầu điều trị các bệnh rối loạn lipid máu. Cao khô được xem như là bước tiến khoa học, vừa giữ được tác dụng dược lý của bài thuốc đông y truyền thống, vừa khắc phục nhược điểm trong việc bào quản, vận chuyển và sử dụng. Quy trình chiết xuất cao khô cho phép tạo ra sản phẩm có tính ổn định cao, giảm nguy cơ biến đổi hóa học trong quá trình lưu trữ và bảo toàn tác dụng lâu dài. Thêm vào đó, quy trình nghiên cứu khoa học của cao khô đã khẳng định rằng sản phẩm này hoàn toàn khả thi trong việc ứng dụng rộng rãi trong y học cổ truyền hiện đại.

4.2. Bàn luận về đánh giá độc tính cấp và tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của cao khô "Hạ mỡ NK" trên mô hình nội sinh thực nghiệm.

Đánh giá độc tính cấp của một chế phẩm dược phẩm là một trong những bước quan trọng nhất trong quá trình phát triển và nghiên cứu thuốc. Mục tiêu chính của nghiên cứu này là xác định mức độ an toàn của chế phẩm khi được sử dụng trong một khoảng thời gian ngắn, thường là một lần hoặc vài lần trong ngày, và xác định liệu nó có thể gây ra các triệu chứng ngộ độc hay không. Độc tính cấp có thể được đánh giá thông qua các chỉ số như liều an toàn, liều dung nạp tối đa, liều gây tử vong (LD_{50}) và các triệu chứng ngộ

độc điển hình [46]. Các nghiên cứu này cung cấp thông tin quan trọng về việc thiết lập liều dùng an toàn trong các nghiên cứu tiếp theo cũng như trong quá trình sản xuất, giúp dự đoán các nguy cơ và biện pháp phòng ngừa khi sử dụng thuốc. Cao khô “Hạ mỡ NK” là một chế phẩm được nghiên cứu trong bối cảnh này, và mục đích của nghiên cứu là đánh giá độc tính cấp của chế phẩm này trên chuột nhắt trắng, một loài động vật gặm nhấm thường xuyên được sử dụng trong các nghiên cứu dược lý và độc tính. Chuột nhắt trắng có đặc điểm sinh lý khá gần gũi với con người, vì vậy các kết quả nghiên cứu trên chúng có thể có giá trị tham khảo cao trong việc dự đoán phản ứng của cơ thể người đối với các chế phẩm thuốc. Kết quả từ bảng 3.2, các lô chuột nhắt trắng đã được cho uống cao khô “Hạ mỡ NK” ở các liều khác nhau, từ liều thấp nhất là 0,25 ml/10g đến liều cao nhất là 100 ml/kg (tương đương với 59,52 g cao khô “Hạ mỡ NK”/kg). Sau khi uống thuốc, các chuột không xuất hiện bất kỳ triệu chứng bất thường nào trong vòng 72 giờ theo dõi. Điều này có nghĩa là cao khô “Hạ mỡ NK” không gây ra những phản ứng độc tính cấp tính rõ rệt trong các liều thử nghiệm. Các triệu chứng ngộ độc, như yếu tố biểu hiện qua thay đổi hành vi, tình trạng sức khỏe, hay dấu hiệu tử vong, đều không xuất hiện dù chuột được sử dụng thuốc ở liều rất cao. Đây là một kết quả đáng mừng, cho thấy chế phẩm này có khả năng dung nạp tốt trong khoảng liều thử nghiệm mà không gây tổn thương rõ rệt cho cơ thể chuột.

Cần phải nhấn mạnh rằng việc không ghi nhận triệu chứng ngộ độc chỉ trong thời gian 72 giờ không có nghĩa là thuốc này hoàn toàn an toàn trong tất cả các điều kiện. Việc nghiên cứu về độc tính cấp chỉ là một bước đầu trong quá trình đánh giá tính an toàn của một dược phẩm. Để có thể đánh giá đầy đủ, các nghiên cứu tiếp theo cần phải kiểm tra tác động của cao khô “Hạ mỡ NK” trong một thời gian dài hơn, từ vài ngày đến vài tuần hoặc thậm chí vài tháng, để đánh giá những ảnh hưởng tiềm ẩn đối với sức khỏe khi sử dụng thuốc kéo dài. Đồng thời, các nghiên cứu cần được thực hiện ở nhiều liều lượng khác nhau và trên các loài động vật khác để đảm bảo tính khách quan và toàn diện của kết quả.

Kết quả nghiên cứu hiện tại cũng cho thấy, liều cao khô “Hạ mỡ NK” mà động vật có thể dung nạp tốt nhất mà không gây độc tính cấp tính là 100 ml/kg, tương đương với 59,52 g cao khô “Hạ mỡ NK”/kg. Liều này được coi là liều dung nạp tối đa, là mức cao nhất mà thuốc có thể được sử dụng mà không gây ra phản ứng ngộ độc cấp tính. Mặc dù không có triệu chứng ngộ độc xảy ra, việc tính toán và xác định liều này là rất quan trọng trong việc thiết lập các nghiên cứu tiếp theo về tác dụng dài hạn của chế phẩm, và để có thể thiết lập liều lượng an toàn cho người tiêu dùng.

Trong một nghiên cứu về độc tính cấp, một chỉ số quan trọng không thể thiếu là liều gây tử vong 50% (LD_{50}), tức là liều gây chết cho 50% số động vật trong nghiên cứu. Tính LD_{50} theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon cho biết chưa xác định được LD_{50} trên chuột nhắt trắng của cao khô “Hạ mỡ NK” trên đường uống [60]. Việc không ghi nhận tác dụng phụ hay triệu chứng ngộ độc trong thời gian thử nghiệm ngắn hạn không có nghĩa là chế phẩm này hoàn toàn không gây hại trong suốt quá trình sử dụng dài hạn. Chính vì vậy, các thử nghiệm tiếp theo cần phải mở rộng phạm vi nghiên cứu bằng cách đánh giá tác động lâu dài của cao khô “Hạ mỡ NK” đối với các cơ quan nội tạng quan trọng như gan, thận, hệ thần kinh và tim mạch. Các chỉ số sinh hóa trong máu, mức độ thay đổi các chỉ số chức năng gan thận, hoặc các biểu hiện về huyết áp, nhịp tim là những yếu tố quan trọng giúp đánh giá tác động lâu dài của thuốc đối với cơ thể. Những chỉ số này sẽ giúp dự đoán và phát hiện ra các triệu chứng độc tính tiềm ẩn mà không thể quan sát ngay lập tức, đặc biệt là khi sử dụng thuốc kéo dài. Ngoài ra, trong quá trình nghiên cứu về độc tính cấp, một yếu tố không thể thiếu là sự theo dõi kỹ lưỡng về hành vi và tình trạng sức khỏe của động vật thử nghiệm. Các thay đổi về hành vi như mất hoạt động, giảm ăn uống, hoặc các biểu hiện bất thường khác có thể là những dấu hiệu đầu tiên của ngộ độc. Trong nghiên cứu này, những thay đổi này không được quan sát, điều này cho thấy cao khô “Hạ mỡ NK” không ảnh

hưởng mạnh đến hành vi của chuột trong thời gian thử nghiệm. Tuy nhiên, cần phải thận trọng khi áp dụng kết quả này vào thực tế, vì các yếu tố như độ tuổi, thể trạng và các bệnh lý khác của người dùng có thể ảnh hưởng đến phản ứng của cơ thể khi sử dụng thuốc. Đặc biệt, mặc dù nghiên cứu này chưa chỉ ra bất kỳ triệu chứng ngộ độc cấp tính nào, nhưng để đảm bảo tính an toàn tuyệt đối, việc tiến hành thử nghiệm với các liều lượng cao hơn và trên các loài động vật khác nhau, đặc biệt là loài động vật có hệ thống sinh lý gần gũi với con người như khỉ, cần được thực hiện. Các nghiên cứu lâm sàng sớm trên người cũng sẽ là bước quan trọng tiếp theo để đánh giá tính an toàn của cao khô “Hạ mỡ NK” trong điều kiện thực tế.

Từ bảng 3.3 trình bày kết quả đánh giá mô hình rối loạn lipid máu do Poloxamer 407 gây ra trên chuột thí nghiệm cho thấy, ở nhóm mô hình rối loạn lipid máu, tất cả các chỉ số lipid đều tăng cao hơn rõ rệt so với nhóm chứng sinh học. Cụ thể, chỉ số TC ở nhóm mô hình là $9,93 \pm 1,10$ mmol/L, cao hơn gấp đôi so với nhóm chứng sinh học ($4,18 \pm 1,12$ mmol/L). Chỉ số TG cũng có sự gia tăng mạnh, từ $0,97 \pm 0,16$ mmol/L ở nhóm chứng sinh học lên $8,19 \pm 2,65$ mmol/L ở nhóm mô hình. Bên cạnh đó, chỉ số HDL-C ở nhóm mô hình tăng từ $0,80 \pm 0,23$ mmol/L lên $1,52 \pm 0,40$ mmol/L. Đồng thời, chỉ số non-HDL-C ở nhóm mô hình đạt $8,41 \pm 1,29$ mmol/L, cao hơn đáng kể so với nhóm chứng sinh học ($3,38 \pm 1,03$ mmol/L). Mô hình rối loạn lipid máu (RLLM) theo cơ chế nội sinh được thực hiện thông qua việc sử dụng các chất hoạt động bề mặt không ion hóa như Tween 80, Triton WR-1339 hoặc Poloxamer 407 (P-407) qua đường toàn thân, thay vì bổ sung lipid ngoại sinh qua chế độ ăn uống. Điều này tạo ra một mô hình rối loạn lipid máu tự nhiên mà không bị ảnh hưởng bởi yếu tố ngoại sinh, cho phép nghiên cứu các cơ chế sinh lý bên trong cơ thể. Các chất hoạt động bề mặt này đã được chứng minh có khả năng tác động mạnh mẽ vào quá trình chuyển hóa lipid, đặc biệt là cholesterol tại gan, làm giảm khả năng bài tiết cholesterol,

dẫn đến sự gia tăng nồng độ lipid trong máu, bao gồm cholesterol và TG. Mô hình gây tăng lipid máu nội sinh bằng cách sử dụng các chất hoạt động bề mặt như Poloxamer 407 (P-407) đã được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu và đánh giá các thuốc điều trị rối loạn lipid máu [63]. Các nghiên cứu này không chỉ giúp xác định hiệu quả của các liệu pháp được lý mà còn cung cấp thông tin quan trọng về cơ chế bệnh lý của rối loạn lipid máu. Vì mô hình này phản ánh đúng cơ chế nội sinh, không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố ngoại sinh như chế độ ăn uống, nó trở thành một công cụ lý tưởng cho việc sàng lọc và phát triển các thuốc điều trị RLLM.

Dựa trên các nghiên cứu đã được thực hiện trong và ngoài nước, bao gồm công trình của Nguyễn Trọng Thông và Nguyễn Phương Thanh, liều lượng Poloxamer 407 (P-407) thích hợp để sử dụng cho chuột nhắt trắng trong việc xây dựng mô hình RLLM nội sinh được xác định là 200 mg/kg chuột [64]. Đây là mức liều đã được thử nghiệm và chứng minh là có hiệu quả trong việc tạo ra sự thay đổi đáng kể về nồng độ lipid trong máu, đặc biệt là tăng nồng độ TC và TG, mà không gây ra các tác dụng phụ không mong muốn nghiêm trọng cho chuột thí nghiệm. P-407, bản chất là một chất hoạt động bề mặt không ion hóa, có cấu trúc polymer và thuộc nhóm polyoxypropylene-polyoxyethylene. Khi được tiêm qua đường màng bụng, chất này tác động trực tiếp đến các enzym và con đường chuyển hóa lipid trong gan. Cụ thể, P-407 ức chế enzyme lipoprotein lipase, một enzyme chủ chốt trong quá trình phân giải TG trong các hạt lipoprotein, từ đó dẫn đến sự tích tụ TG trong máu. Đồng thời, P-407 cũng tác động đến các con đường liên quan đến tổng hợp cholesterol, khiến nồng độ TC trong máu tăng cao. Sự thay đổi này phản ánh rõ ràng tình trạng rối loạn lipid máu nội sinh do P-407 gây ra. Sau khi tiêm P-407 vào chuột, sự gia tăng lipid máu xảy ra rất nhanh, thường bắt đầu trong vòng vài giờ và đạt đỉnh sau 24 giờ. Nồng độ lipid máu, bao gồm cả TC và TG, ở thời điểm này thường tăng đáng kể so với mức ban

đầu. Điều này chứng minh rằng P-407 có khả năng gây ra sự thay đổi chuyển hóa lipid một cách mạnh mẽ và có hệ thống. Tuy nhiên, sau giai đoạn đỉnh điểm, nồng độ lipid máu sẽ bắt đầu giảm dần và trở về mức bình thường, phản ánh sự phục hồi tự nhiên của cơ thể chuột thí nghiệm. Do đặc điểm này, thời điểm 24 giờ sau khi tiêm P-407 được chọn làm mốc thời gian quan trọng để đo lường và đánh giá nồng độ lipid trong máu. Đây là thời điểm mà mức lipid máu đạt đỉnh, cho phép các nhà nghiên cứu thu thập dữ liệu chính xác nhất về mức độ rối loạn lipid máu do P-407 gây ra. Việc chọn thời điểm này cũng giúp đảm bảo tính đồng nhất và độ tin cậy của kết quả nghiên cứu, từ đó làm cơ sở để đánh giá hiệu quả của các biện pháp can thiệp hoặc các loại thuốc thử nghiệm trong việc điều chỉnh nồng độ lipid máu. Theo quan sát từ các thí nghiệm, chuột nhất trắng sau khi được tiêm Poloxamer 407 (P-407) với liều 200 mg/kg đều không xuất hiện bất kỳ dấu hiệu bất thường nào về sức khỏe. Cụ thể, chuột vẫn duy trì được các hoạt động sinh lý hoàn toàn bình thường. Chúng thể hiện sự nhanh nhẹn trong di chuyển, linh hoạt trong các hành vi sinh hoạt hàng ngày, đồng thời giữ được các đặc điểm ngoại hình khỏe mạnh như mắt sáng, lông mượt, và phân khô. Không có trường hợp chuột nào trong số các cá thể thí nghiệm bị suy giảm chức năng sinh lý, tổn thương bề ngoài, hoặc tử vong trong suốt quá trình thử nghiệm. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đó tiến hành trên chuột nhất trắng [65]. Điều này là minh chứng rõ ràng rằng liều lượng P-407 được lựa chọn là phù hợp và an toàn để sử dụng trong việc xây dựng mô hình RLLM nội sinh.

Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu tiếp tục sử dụng mô hình RLLM nội sinh để đánh giá hiệu quả của thuốc "Hạ mỡ NK" trong việc cải thiện tình trạng lipid máu. Thuốc đối chứng được sử dụng là Atorvastatin, một dẫn xuất của nhóm statin, được biết đến rộng rãi và sử dụng phổ biến trong điều trị các rối loạn lipid máu, đặc biệt là tăng TC. Atorvastatin hoạt động thông qua cơ chế ức chế HMG-CoA reductase, một enzyme đóng vai trò

quan trọng trong quá trình tổng hợp cholesterol tại gan. Khi enzym này bị ức chế, quá trình tổng hợp cholesterol nội sinh giảm đi đáng kể. Đồng thời, sự giảm tổng hợp cholesterol tại gan sẽ kích thích tăng biểu hiện các receptor LDL trên màng tế bào gan, từ đó tăng cường khả năng bắt giữ và chuyển hóa LDL-C từ máu về gan để phân hủy. Nhờ cơ chế tác động kép này, Atorvastatin không chỉ làm giảm đáng kể nồng độ TC trong máu mà còn có tác dụng đặc biệt hiệu quả trong việc giảm LDL-C [66]. Vì vậy, Atorvastatin được lựa chọn làm thuốc đối chứng trong nghiên cứu.

Mặc dù trong thực tế điều trị lâm sàng, các thuốc statin như Atorvastatin thường cần ít nhất 4 tuần để phát huy tác dụng tối đa, nhưng trong bối cảnh nghiên cứu tiền lâm sàng, thời gian tiến hành mô hình RLLM nội sinh thường rất ngắn, chỉ kéo dài trong khoảng 7 ngày. Điều này đòi hỏi nhóm nghiên cứu phải sử dụng một chiến lược điều chỉnh liều lượng thuốc phù hợp để đảm bảo rằng tác dụng giảm lipid máu có thể được quan sát rõ ràng trong khoảng thời gian hạn chế này. Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu đã lựa chọn sử dụng liều Atorvastatin cao hơn nhiều so với liều điều trị thông thường cho chuột, cụ thể là 100 mg/kg/ngày trên chuột nhắt trắng. Liều này gấp khoảng 5 lần liều điều trị lâm sàng thông thường ở chuột nhắt trắng và được tính toán tương đương với liều điều trị ở người. Quyết định này dựa trên các nghiên cứu trước đây, chẳng hạn như nghiên cứu của Ayman Saber Mohamed (2018), trong đó Atorvastatin được sử dụng với liều 80 mg/kg/ngày trên chuột cống trắng để đánh giá tác dụng giảm lipid máu trong thời gian ngắn [67]. Cách tiếp cận này cho thấy rằng việc tăng liều là cần thiết để tạo ra hiệu quả đủ lớn và rõ ràng, giúp đánh giá chính xác khả năng của thuốc trong điều chỉnh các chỉ số lipid máu. Liều lượng Atorvastatin 100 mg/kg/ngày được áp dụng trong nghiên cứu không chỉ đảm bảo tác dụng giảm TC và LDL-C, mà còn giúp tạo nên một so sánh đáng tin cậy giữa Atorvastatin và thuốc "Hạ mỡ NK". Bằng cách này, nhóm nghiên cứu có thể đánh giá được hiệu quả của "Hạ mỡ NK" khi so sánh với một loại thuốc đối chứng mạnh và

đã được chứng minh hiệu quả. Ngoài ra, việc sử dụng liều cao Atorvastatin cũng giúp giải quyết một thách thức lớn trong mô hình RLLM nội sinh. Đây là mô hình gây rối loạn lipid máu thông qua cơ chế hóa học, dẫn đến sự gia tăng mạnh mẽ các chỉ số lipid máu như TC, LDL-C và TG chỉ trong thời gian ngắn. Với liều lượng cao, Atorvastatin có thể khắc phục được tình trạng này và làm giảm các chỉ số lipid máu đủ mạnh để so sánh tác dụng với các thuốc mới, đồng thời đảm bảo tính rõ ràng và độ chính xác của kết quả nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 3.4 cho thấy, lô chuột uống Atorvastatin với liều 100 mg/kg/ngày đã giảm rõ rệt nồng độ TC so với nhóm mô hình. Cụ thể, nồng độ TC giảm tới 22,7%, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Kết quả này chứng tỏ tác dụng rõ rệt của Atorvastatin trong việc giảm TC, đồng thời khẳng định hiệu quả của Atorvastatin như một thuốc điều trị tăng cholesterol máu, vốn đã được khẳng định trong nhiều nghiên cứu trước đây [66].

Bên cạnh đó, nhóm nghiên cứu cũng thử nghiệm với hai lô chuột uống cao khô “Hạ mỡ NK” với các liều khác nhau là 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày. Kết quả cho thấy cả hai liều đều làm giảm nồng độ TC so với nhóm mô hình, với mức giảm lần lượt là 20,4% và 18,1%, và sự khác biệt này cũng có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Tuy nhiên, khi so sánh giữa lô uống Atorvastatin và lô uống cao khô “Hạ mỡ NK”, không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p > 0,05$), điều này có nghĩa là hiệu quả của cao khô “Hạ mỡ NK” trong việc giảm TC là tương đương với tác dụng của Atorvastatin trong điều kiện thí nghiệm này. Một trong những yếu tố giải thích cho kết quả này chính là thành phần chính trong cao khô “Hạ mỡ NK” là Ngưu Tất. Theo nghiên cứu của Đoàn Thị Nhu, cây Ngưu Tất có tác dụng làm giảm cholesterol máu ở hơn 65% bệnh nhân, đồng thời giảm tỷ lệ TC ở trên 73% bệnh nhân, cho thấy Ngưu Tất có tác dụng tích cực trong việc giảm TC [68]. Đây có thể là một trong những lý do giải thích cho việc thuốc “Hạ mỡ NK” có hiệu quả tương đương với Atorvastatin trong việc giảm nồng độ TC trong nghiên cứu.

Bên cạnh Nguru Tất, cao khô “Hạ mỡ NK” còn có sự kết hợp với Rễ cỏ tranh, một vị thuốc khác có tác dụng đáng chú ý trong việc giảm tốc độ hấp thu cholesterol trong cơ thể. Nghiên cứu của Jung YK và cộng sự cho thấy Polysaccharide chiết xuất từ Rễ cỏ tranh có khả năng giảm mức độ glycated hemoglobin, chất béo trung tính, TC và LDL-C trong huyết thanh của chuột mắc bệnh tiểu đường [69]. Điều này chứng tỏ rằng Rễ cỏ tranh có tác dụng giảm cholesterol và cải thiện các chỉ số lipid máu, giúp hỗ trợ quá trình điều trị các bệnh lý liên quan đến rối loạn lipid máu. Từ những kết quả trên, có thể thấy rằng cao khô “Hạ mỡ NK” với sự kết hợp của các vị thuốc như Nguru Tất và Rễ cỏ tranh có tác dụng giảm TC hiệu quả, không thua kém so với Atorvastatin trong nghiên cứu này. Điều này mở ra triển vọng sử dụng các vị thuốc truyền thống trong điều trị các rối loạn lipid máu, một hướng đi đầy hứa hẹn trong việc phát triển các liệu pháp điều trị hiện đại.

TG là một chất lipid được tổng hợp chủ yếu tại gan từ các acid béo, protein và glucose. Chất này đóng vai trò quan trọng trong việc cung cấp năng lượng cho cơ thể, vì nó được lưu trữ trong các mô mỡ và cơ bắp, và khi cơ thể cần năng lượng, TG sẽ được phân giải và giải phóng thành các acid béo tự do để sử dụng. Nồng độ TG trong máu là một trong những chỉ số quan trọng để đánh giá sự cân bằng lipid của cơ thể. Việc đo lường nồng độ TG máu có thể giúp phản ánh mức độ rối loạn lipid và cung cấp thông tin về tình trạng sức khỏe tổng thể, đặc biệt là đối với những người có nguy cơ mắc bệnh lý tim mạch và đột quỵ. Kết quả từ bảng 3.5 cho thấy, nhóm chuột uống Atorvastatin liều 100mg/kg không làm giảm nồng độ TG so với lô mô hình, với giá trị $p > 0,05$. Điều này có nghĩa là không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm Atorvastatin và nhóm mô hình. Một số yếu tố có thể giải thích cho kết quả này, trong đó có khả năng tác dụng của Atorvastatin đối với TG không rõ rệt trong điều kiện thí nghiệm của chúng tôi, hoặc do liều lượng sử dụng chưa đủ mạnh để tạo ra sự thay đổi đáng kể trong nồng độ TG của chuột thí nghiệm. Tuy nhiên, khi xem xét các lô chuột uống cao khô “Hạ mỡ NK” với liều 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày, chúng ta thấy rằng cả hai lô

này đều có xu hướng làm giảm nồng độ TG so với lô mô hình, với mức giảm lần lượt là 11,4% và 10,3%. Tuy nhiên, sự khác biệt này không đạt được mức ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Mặc dù sự giảm TG này không rõ rệt như mong đợi, nhưng nó vẫn có ý nghĩa trong việc chỉ ra rằng "Hạ mỡ NK" có tác dụng giảm TG, mặc dù hiệu quả của nó không hoàn toàn giống với Atorvastatin.

Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, nghiên cứu của Trần Thị Hồng Ngải, trong đó các lô chuột sử dụng cao khô "Hạ mỡ NK" ở cả liều thấp và liều cao đều có xu hướng làm giảm nồng độ TG so với lô mô hình. Các mức giảm lần lượt là 9,3% và 12,44%, nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) [70]. Sự tương đồng giữa kết quả nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu của Trần Thị Hồng Ngải cho thấy tác dụng giảm TG của cao khô "Hạ mỡ NK" có thể đến từ các thành phần trong thảo dược, đặc biệt là từ Lá sen và Bán hạ nam. Tác dụng hạ TG của các thành phần thảo dược này đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu. Nghiên cứu của Lee và cộng sự (2010) chỉ ra rằng khi thỏ ăn chế độ ăn giàu chất béo và được bổ sung dịch chiết nước từ Hà diệp với tỷ lệ 0,5% và 1%, nồng độ TG của chúng giảm đáng kể, lần lượt là 30% và 46,6% [71]. Điều này cho thấy Lá sen có khả năng hạ TG rõ rệt khi được bổ sung trong chế độ ăn. Tác dụng này có thể liên quan đến các hoạt chất trong Lá sen, bao gồm Catechin và Quercetin. Các hoạt chất này đã được chứng minh có tác dụng điều chỉnh chuyển hóa lipid trong cơ thể, làm giảm sự tổng hợp TG và ảnh hưởng đến các gen điều hòa quá trình tổng hợp lipid. Cụ thể, Catechin có khả năng làm giảm sự biểu hiện của các gen như sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) và fatty acid synthase (FAS), hai yếu tố quan trọng trong quá trình tổng hợp lipid, đặc biệt là TG, trong cơ thể chuột béo phì do chế độ ăn béo. Bên cạnh đó, Quercetin cũng có tác dụng tương tự, làm giảm sự biểu hiện của SREBP-1c tại gan, qua đó giảm tổng hợp TG trong cơ thể chuột ăn chế độ ăn phương

Tây [72]. Trong một nghiên cứu của Kim Y. J và cộng sự, sản phẩm chiết xuất nước từ rễ cây Bán hạ đã được chứng minh có tác dụng làm giảm cân, giảm lượng TG và acid béo tự do trong máu của chuột Zucker thực nghiệm, một mô hình chuột béo phì và kháng insulin [73]. Nghiên cứu này chỉ ra rằng chiết xuất từ rễ cây Bán hạ không chỉ có tác dụng điều hòa lipid máu mà còn hỗ trợ giảm cân, qua đó giúp cải thiện các yếu tố nguy cơ đối với bệnh lý tim mạch và đái tháo đường type 2, những bệnh lý thường đi kèm với sự gia tăng TG và rối loạn lipid máu.

HDL-C có tác dụng vận chuyển TC thừa từ ngoại biên về gan, tại đây TC được thoái hóa và đào thải theo đường mật. Cho nên HDL-C còn được gọi là “Cholesterol tốt cho cơ thể” và đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa và phòng chống VXĐM. Vì thế, việc làm tăng nồng độ HDL-C chứng tỏ việc chuyển hóa trong cơ thể tốt và sự đào thải tốt lượng Cholesterol dư thừa góp phần làm giảm tỷ lệ mắc các bệnh VXĐM. Kết quả từ bảng 3.6 cho thấy rằng cả lô uống Atorvastatin 100mg/kg/ngày và các lô uống "Hạ mỡ NK" với liều 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày đều có xu hướng làm tăng nồng độ HDL-cholesterol (HDL-C) trong máu so với lô mô hình. Cụ thể, mức tăng HDL-C ở lô Atorvastatin là 7,9%, trong khi lô cao khô "Hạ mỡ NK" liều 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày lần lượt có mức tăng 1,97%. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa các nhóm này và lô mô hình không đạt mức ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), điều này có thể chỉ ra rằng mặc dù cả hai liệu pháp điều trị đều có ảnh hưởng tích cực đến nồng độ HDL-C, nhưng hiệu quả không đủ rõ rệt để được xem là có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả này hoàn toàn tương đồng với nghiên cứu của Phạm Thanh Tùng, trong đó cả lô trị liệu thấp và lô trị liệu cao đều có xu hướng làm tăng nồng độ HDL-C so với lô mô hình, nhưng sự khác biệt vẫn không đạt được mức ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) [74]. Điều này cho thấy rằng, mặc dù các phương pháp điều trị này có tác dụng tích cực trong việc điều chỉnh nồng độ HDL-C, nhưng hiệu quả của chúng chưa

đủ mạnh để tạo ra sự thay đổi rõ rệt trong thời gian nghiên cứu. Một trong những lý giải cho sự tăng nhẹ nồng độ HDL-C có thể là do tác dụng của các thành phần thảo dược có trong cao khô "Hạ mỡ NK", đặc biệt là Rutin trong Hòe Hoa. Rutin được biết đến là một Flavonoid có tác dụng bảo vệ mạch máu và cải thiện các chỉ số lipid máu. Theo nghiên cứu của P. Stanely Mainzen Prince và N. K. Kannan, khi Rutin được dùng cho chuột tiểu đường qua đường uống, nó đã làm giảm đáng kể mức LDL-C và VLDL-C trong máu, đồng thời làm tăng nồng độ HDL-C [75]. Cơ chế này được giải thích là nhờ khả năng ức chế quá trình tạo ra Hydroperoxit, một chất gây hại cho tế bào, đồng thời bảo vệ α -tocopherol trong các lipoprotein khỏi bị tiêu thụ do quá trình oxy hóa trong LDL. Kết quả là quá trình này giúp ngăn ngừa sự hình thành VXĐM, một yếu tố quan trọng trong sự phát triển của các bệnh lý tim mạch. Điều này cho thấy rằng, mặc dù nghiên cứu không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, nhưng có thể lý giải tác dụng làm tăng HDL-C của "Hạ mỡ NK" là nhờ vào sự góp mặt của các thành phần như Rutin, giúp cải thiện sự chuyển hóa lipid và bảo vệ mạch máu.

Non-HDL-C là tổng cholesterol của các hạt lipoprotein chứa apolipoprotein B (apoB), được coi là "cholesterol xấu" vì có khả năng gây VXĐM. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng non-HDL-C có mối quan hệ chặt chẽ với bệnh tim mạch, thậm chí còn được cho là liên quan nhiều hơn so với LDL-C. Mối quan hệ này đặc biệt rõ ràng ở những người có mức TG cao hoặc thấp, điều này cho thấy non-HDL-C là một yếu tố nguy cơ quan trọng trong việc phát triển các bệnh lý tim mạch, bao gồm VXĐM, đột quỵ và các bệnh về tim. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc giảm non-HDL-C giúp cải thiện kết quả lâm sàng và làm giảm tỷ lệ mắc các bệnh tim mạch đáng kể [76]. Kết quả từ bảng 3.7 cho thấy, việc uống Atorvastatin với liều 100mg/kg/ngày cùng hai lô uống cao khô "Hạ mỡ NK" liều 4,8 g/kg/ngày và 14,5 g/kg/ngày đều có tác dụng giảm rõ rệt nồng độ non-HDL-C so với lô mô

hình. Mức giảm non-HDL-C ở lô uống "Hạ mỡ NK" liều 4,8 g/kg/ngày đạt 25,1%, trong khi ở lô uống cao khô "Hạ mỡ NK" liều 14,5 g/kg/ngày giảm 21,8%, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Kết quả này cho thấy cả hai liều dùng "Hạ mỡ NK" đều có tác dụng làm giảm nồng độ non-HDL-C rõ rệt, góp phần cải thiện tình trạng lipid máu của chuột thí nghiệm. Khi so sánh kết quả nghiên cứu với các nghiên cứu trước đây, mức giảm non-HDL-C ở lô trị liệu thấp (4,8 g/kg/ngày) thấp hơn khoảng 1,02 lần so với nghiên cứu của Đỗ Linh Quyên (25,7%) nhưng lại cao hơn khoảng 2 lần so với nghiên cứu của Phạm Thanh Tùng (11,32%). Điều này cho thấy cao khô "Hạ mỡ NK" có hiệu quả tương đối tốt trong việc giảm non-HDL-C ở mức độ liều thấp, và sự cải thiện này có thể xuất phát từ các thành phần hoạt chất trong cao khô "Hạ mỡ NK" tác động đến quá trình chuyển hóa lipid trong cơ thể. Ở lô trị liệu cao (14,5 g/kg/ngày), mức giảm non-HDL-C thấp hơn nghiên cứu của Đỗ Linh Quyên (51,7%) và nghiên cứu của Phạm Thanh Tùng (26,75%) lần lượt khoảng 2 và 1 lần [74], [77]. Mặc dù có sự khác biệt giữa các nghiên cứu, nhưng mức độ giảm non-HDL-C ở cả hai liều của cao khô "Hạ mỡ NK" vẫn cho thấy hiệu quả rõ rệt, chứng tỏ rằng sản phẩm này có khả năng giảm non-HDL-C tương đương với hoặc gần bằng các phương pháp điều trị thông dụng như Atorvastatin. Điều này cũng chỉ ra rằng việc sử dụng cao khô "Hạ mỡ NK" trong thời gian ngắn có thể mang lại hiệu quả cải thiện chỉ số lipid máu, đặc biệt là non-HDL-C, một yếu tố quan trọng trong việc giảm nguy cơ mắc các bệnh tim mạch và xơ vữa động mạch.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, Atorvastatin 100 mg/kg/ngày có tác dụng rõ rệt trong việc hạn chế các rối loạn lipid máu, đặc biệt là làm giảm nồng độ TC và non-HDL-C so với nhóm mô hình. Mức giảm lần lượt là 22,7% và 32,7%. Tuy nhiên, một điểm đáng chú ý là nồng độ TG lại có xu hướng tăng trong nhóm sử dụng Atorvastatin, cho thấy Atorvastatin không có hiệu quả rõ rệt trong việc giảm TG, mặc dù thuốc này được biết đến với tác dụng làm

giảm các chỉ số lipid khác như TC và non-HDL-C. Điều này phản ánh rằng, trong bối cảnh sử dụng Atorvastatin, mặc dù cholesterol được kiểm soát tốt, nhưng TG vẫn có thể tăng do tác động không trực tiếp của thuốc lên các quá trình chuyển hóa lipid trong cơ thể. Mặc dù có tác dụng giảm TC và non-HDL-C, cao khô "Hạ mỡ NK" vẫn chưa có tác dụng làm giảm TG có ý nghĩa thống kê. Một nguyên nhân có thể do sự tác động của P-407, một hợp chất có khả năng ức chế enzyme lipoprotein lipase mao mạch (LPL), một enzyme quan trọng trong việc thủy phân TG huyết tương [61]. Việc ức chế LPL dẫn đến sự gia tăng mạnh nồng độ TG trong cơ thể. Điều này giải thích tại sao dù các thuốc thử đã được sử dụng liên tục trong 7 ngày trước khi gây mô hình, nhưng nồng độ TG trong nhóm sử dụng Atorvastatin và cao khô "Hạ mỡ NK" lại không có sự thay đổi đáng kể so với nhóm mô hình. P-407 có thể đã tác động mạnh mẽ lên quá trình thủy phân TG, gây ra sự tăng nồng độ TG vượt mức trong các nhóm thử nghiệm.

Một số dược liệu trong thành phần của cao khô "Hạ mỡ NK" đã được chứng minh có tác dụng hạ lipid máu thông qua cơ chế thay đổi hoạt động của các enzyme quan trọng liên quan đến chuyển hóa lipid trong cơ thể. Nghiên cứu tại Trung Quốc đã chỉ ra rằng Thảo quyết minh có tác dụng phòng ngừa và điều trị tình trạng tăng lipid máu, chủ yếu thông qua cơ chế ức chế tổng hợp cholesterol. Cả chiết xuất ethanol và chiết xuất nước từ Thảo quyết minh đều làm giảm rõ rệt nồng độ TC, TG, và LDL-C trong huyết thanh, đồng thời làm tăng HDL-C [78]. Điều này cho thấy Thảo quyết minh có khả năng cải thiện đáng kể các chỉ số lipid máu, góp phần vào việc phòng ngừa và điều trị các bệnh lý tim mạch và xơ vữa động mạch, qua đó giảm nguy cơ các bệnh lý liên quan đến lipid máu cao như bệnh động mạch vành, đột quỵ và bệnh tim mạch. Thêm vào đó, nghiên cứu của Raushan Kumar và cộng sự (2021) cũng chỉ ra tác dụng tích cực của Hesperidin, một hợp chất có trong cao Trần bì, trong việc giảm nồng độ TC và TG trên chuột cống trắng bị rối loạn lipid máu

do P-407 gây ra [79]. Hesperidin có tác dụng bảo vệ chống lại các stress oxy hóa và sự mất cân bằng oxy hóa khử do P-407 gây ra ở chuột. Bên cạnh đó, Raushan chỉ ra rằng hợp chất Flavonoid như Quercetin trong Hạ khô thảo, Thảo quyết minh và Lá sen giúp ức chế sinh tổng hợp cholesterol bằng cách ức chế HMG Co-A reductase, enzym đóng một vai trò quan trọng trong việc kiểm soát nồng độ lipid trong huyết tương và các mô khác, đồng thời làm tăng sự biểu hiện của enzym C7 α H tăng chuyển hóa cholesterol thành acid mật, từ đó làm giảm nồng độ TC trong máu, góp phần điều chỉnh tình trạng RLLM do P-407 gây ra [79]. Những nghiên cứu này hỗ trợ mạnh mẽ hiệu quả của các thành phần trong cao khô "Hạ mỡ NK" đối với việc điều trị và phòng ngừa rối loạn lipid máu.

KẾT LUẬN

1. Xây dựng quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK”:

– Quy trình bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của cao khô “Hạ mỡ NK” đã được xây dựng đầy đủ. Các dược liệu trong bài thuốc được kiểm tra và đạt tiêu chuẩn về hàm lượng, chất chiết theo các chỉ tiêu trong Dược điển Việt Nam V và tiêu chuẩn cơ sở.

2. Đánh giá độc tính cấp và tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của cao khô “Hạ mỡ NK” trên mô hình nội sinh thực nghiệm.

2.1. Đánh giá độc tính cấp:

– Cao khô “Hạ mỡ NK” ở liều 59,52g/kg (liều gấp 12,33 liều dùng dự kiến trên người) không gây độc tính cấp trên chuột nhắt trắng trên đường uống.

– Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng của cao khô “Hạ mỡ NK” trên đường uống.

2.2. Tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của cao khô “Hạ mỡ NK” trên mô hình nội sinh thực nghiệm

– Cao khô “Hạ mỡ NK” với liều 4,8g/kg/ngày (tương đương liều dùng lâm sàng) và 14,5g/kg/ngày (gấp 3 lần liều lâm sàng) có xu hướng làm tăng nồng độ HDL-cholesterol và giảm TG.

– Cả hai liều đều làm giảm TC và non-HDL-cholesterol ở chuột nhắt trắng gây rối loạn lipid máu gây ra bởi P-407. Liều 4,8g/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến lâm sàng) có tác dụng điều chỉnh RLLM tốt hơn so với liều 14,5g/kg/ngày (Liều gấp 3 lần liều dự kiến lâm sàng).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Tierney, McPhee, Papadakis** (2008), “*Chẩn đoán và điều trị Y học hiện đại*” năm 2008, Nhà xuất bản Y học, tr. 825 – 848
2. **Phạm Tử Dương** (2002), “*Hội chứng rối loạn lipid máu và vữa xơ động mạch*”- Bài giảng sau đại học Cục Quân Y, Hà Nội, tr. 11-18.
3. **Bộ y tế** (2014), *Chẩn đoán và điều trị bệnh nội tiết chuyển hoá*, Nhà xuất bản Y học, tr.255-263.
4. **Trần Hữu Dàng, Nguyễn Hải Thuỷ** (2008): “*Giáo trình sau đại học chuyên ngành nội tiết và chuyển hoá*”. Nhà xuất bản Đại học Huế, tr. 246-303
5. **Đỗ Trung Quân** (2015), Rối loạn lipid và lipoprotein huyết, *Bệnh nội tiết và chuyển hóa*, NXB giáo dục Việt Nam , 2015. tr. 324-338.
6. **Fredrickson D.S., Lees R.S.** (1965), “A system of phenotyping hyperlipoproteinemia”, *Circulation*, 31, pp. 321-327.
7. **ESC/EAS Guidelines** (2011), "ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias", *European Heart Journal* (32), pp. 1769-1818.
8. **National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel** (2002), “Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report”, *Circulation*, 106(25), pp. 3143-3421.
9. **Hội Tim mạch học Việt Nam** (2008), Khuyến cáo 2008 của hội Tim mạch học Việt Nam về chẩn đoán và điều trị rối loạn lipid máu, *Khuyến cáo 2008 về các bệnh lý tim mạch và chuyển hóa*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 476-502.
10. **Hội nội tiết- Đái tháo đường Việt Nam** (2018)- “*Khuyến cáo về chẩn đoán và điều trị bệnh đái tháo đường*”- Nhà xuất bản Y học – Hà Nội 2018, tr. 199-202.

11. **Bộ Y tế** (2017), Rối loạn chuyển hóa lipid máu, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội tiết - chuyển hóa*, Nhà xuất bản Y học, tr.255-264.
12. **Hội nội tiết- Đái tháo đường Việt Nam** (2018)- “*Khuyến cáo về chẩn đoán và điều trị bệnh đái tháo đường*”- Nhà xuất bản Y học – Hà Nội 2018, tr. 199-202.
13. **Nguyễn Như Hồ** (2021), “*Rối loạn chuyển hóa Lipid máu*”, Dược lâm sàng và điều trị, Nhà xuất bản Y học – 2021, tr.127-157.
14. **Hoàng Bảo Châu** (1997), Đàm thấp, Nội khoa Y học cổ truyền, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 326 - 343.
15. **Hải Thượng Lãn Ông** (1997), Hải Thượng Y Tông Tâm lĩnh, quyển 2, Nhà xuất bản y học, Hà Nội, 561- 562.
16. **Trần Thúy, Đào Thanh Thủy, Trương Việt Bình** (1996), Đàm ẩm, Chuyên đề nội khoa Y học cổ truyền, Hà Nội, Nhà xuất bản Y học, 392-399.
17. **Nguyễn Nhược Kim** (1996), Đàm và phương pháp điều trị đàm qua các bài thuốc cổ phương, Tạp chí Y học cổ truyền, 11, 7-8.
18. **Viện Y học cổ truyền Quân đội** (2002), Hội chứng tăng lipid máu và bệnh vữa xơ động mạch, Kết hợp đông tây y chữa một số bệnh khó, 38 - 45.
19. **Hải Thượng Lãn Ông, Lê Hữu Trác** (2012), Hải thượng Y tông tâm lĩnh, quyển 1, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội - 2012, tr. tr.332-333, 352-356.
20. **Trần Quốc Bảo** (2017), “*Lý luận cơ bản Y học cổ truyền*”, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 193-325; 420-432.
21. **Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội** (2017), *Bệnh học Nội khoa Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, 215-217.
22. **中華人民共和國衛生部.中藥新藥臨床研究指導則.北京：中國醫藥科技出版社**, (2002): Bộ Y tế CHND Trung Hoa (2002). *Nguyên tắc chỉ đạo nghiên cứu lâm sàng về Trung-Tân dược*, NXB Khoa học kỹ thuật Y dược Trung Quốc, tr. 86.

23. 邓中甲 (2021), 方剂学. 新世纪 – 全国高等中医院校规划教材, 供 中 医 药 类 专 业 用。中国中医药出版社.Đặng Trung Giáp (2021). Phương tễ học. Giáo trình dành cho các trường đại học Trung y được trong toàn quốc- Thế kỷ mới.
24. 贾波, 李冀 (2012), 方剂学, 上海科学技术出版社. Cô Ba, Lý Ký (2012). Phương tễ học. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật Thượng Hải, Trung Quốc.
25. **Lê Bảo Lưu** (2021), “Phương tễ học”, Nhà xuất bản Y học. Tr 89, 124, 130, 135, 139, 274
26. **Phạm Vũ Khánh và cộng sự** (2011), “*Lão khoa Y học cổ truyền*”, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 98-116.
27. **Bộ môn Nội - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam** (2015), (Rối loạn chuyển hóa lipid máu), *Bài giảng điều trị học nội khoa Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, tr. 163-167.
28. **Trương Việt Bình và Phạm Thanh Tùng** (2014), Đánh giá hiệu quả điều trị hội chứng rối loạn lipid máu của viên Giao cổ lam, Kỷ yếu các công trình nghiên cứu khoa học, 116- 124.
29. **Bùi Thị Kim Hoa và Nguyễn Thị Bay** (2007), Nghiên cứu tác dụng hạ lipid máu của viên nang hạ mỡ ngư tất trên bệnh nhân rối loạn lipid máu, Nhà xuất bản Y học Thành phố Hồ Chí Minh, 11(2), 76- 83.
30. **Nguyễn Thị Sơn** (2007), Thăm dò tác dụng hạ lipid máu trên lâm sàng của cây rau mương, Y học Thành phố Hồ Chí Minh, 11(2), 68- 70.
31. **Hà Thị Thanh Hương** (2012), Nghiên cứu độc tính bán trường diễn và hiệu quả điều trị hội chứng rối loạn lipid máu nguyên phát của cốm tiêu phỉ linh, Luận văn bác sỹ chuyên khoa II, Trường Đại học Y Hà Nội.
32. **Trương Quốc Chính** (2015), Đánh giá tác dụng của bài thuốc Hạ mỡ NK trên bệnh nhân rối loạn lipid máu nguyên phát thể đàm thấp, Tạp chí Y dược cổ truyền Việt Nam, 2, 41-42.

33. **Phạm Thanh Tùng (2019)**, Nghiên cứu tác dụng của viên nang cứng Vinatan trong điều trị hội chứng rối loạn Lipid máu trên lâm sàng”, Tạp chí Y dược học cổ truyền Việt Nam, số đặc biệt – 2019, tr.134-142.
34. **Trần Văn Kỳ (1992)**, Những điểm mới trong điều trị nội khoa Đông Tây y kết hợp tại Trung Quốc, Viện y học cổ truyền TP.HCM.
35. **Trần Văn Kỳ (2004)**, Chứng mỡ máu ca, Đông y điều trị bệnh rối loạn chuyển hóa và nội tiết, Nhà xuất bản mũi Cà Mau, 60- 78.
36. **Trương Việt Bình, Nguyễn Xuân Việt (2015)**. “*Lương Y Nguyễn Kiều- Một dấu son của nền y học dân tộc Việt Nam thế kỷ 20*”, Học viện y dược học cổ truyền Việt Nam.
37. **Kellner A, Correll JW, Ladd AT (1951)**. Sustained hyperlipemia induced in rabbits by means of intravenously injected surface-active agents. J Exp Med, 93(4), 373-384
38. **Kellner A, Correll JW, Ladd AT (1951)**. The influence of intravenously administered surface-active agents on the development of experimental atherosclerosis in rabbits. J Exp Med, 93(4), 385-398
39. **Cornforth JW, Hart PD’A, Rees RJW, et al. (1951)**. Antituberculous effect of certain surface-active polyoxyethylene ethers in mice. Nature, 168, 150-153
40. **Nandakumar K, Singh R, Bansal SK (2004)**. Effect of curcumin on triton WR 1339 induced hypercholesterolemia in mice. Indian J Pharmacol, 36(6), 382-383.
41. **T. Huynh Ngoc, Q. Nguyen Ngoc, A. Tran T Van, et al. (2008)**. Hypolipidemic Effect of Extracts from *Abelmoschus esculentus* L. (Malvaceae) on Tyloxapol-Induced Hyperlipidemia in Mice. Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences, 42-46.
42. **Millar JS, Cromley DA, Coy MG (2005)**. Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339. Journal of Lipid Research, 46, 2023-2028.

43. **Blonder JM, Baird L, Fulfs JC, et al.**(1999). Dose-dependent hyperlipidemia in rabbits following administration of poloxamer 407 gel. *Life Sci*, 65, 261-266
44. **Johnston TP, Palmer WK**(1997). Effect of poloxamer 407 on the activity of microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 29(5),580-585.
45. **Mai Phương Thanh** (2013), Nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của bài thuốc Chỉ thực đạo trệ hoàn trên thực nghiệm, Luận văn cao học, Trường Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.
46. **Bộ Y tế** (2015), "*Quyết định về việc ban hành "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu"*". Bộ Y tế - 2105.
47. **Bộ Y tế** (2017), "*Dược điển Việt Nam V*", Nhà xuất bản Y học.
48. **Trần Minh Ngọc, Phạm Thủy Phương, Phạm Quốc Bình và cs.** "Xây dựng phương pháp định lượng đồng thời một số hoạt chất trong cao chiết nước bài thuốc "Hạ mỡ NK" bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao kết hợp detector dad", *Tạp chí Dược học*, số 7-2020, tr.50-55.
49. **Võ Văn Chi** (2013) "*Từ điển cây thuốc Việt Nam*". Nhà xuất bản Y học, Tr .764-842.
50. **Bộ Y tế** (2017), "*Dược điển Việt Nam V*", Nhà xuất bản Y học, tr.PL-203
51. **Bộ Y tế** (2017), "*Dược điển Việt Nam V*", Nhà xuất bản Y học, tr.PL-147 - PL-149.
52. **Bộ Khoa học và Công nghệ** (2009). *Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8124:2009 (ISO 2171:2007) - Ngũ cốc, đậu đỗ và phụ phẩm - Xác định hàm lượng tro bằng phương pháp nung*, TCVN 8124:2009.

53. **Bộ Khoa học và Công nghệ** (2014). *Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 10643:2014 (AOAC 999.11) - Thực phẩm - Xác định hàm lượng chì, cadimi, đồng, sắt và kẽm - Phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử sau khi tro hóa khô*, TCVN 10643:2014 (AOAC 999.11).
54. **Bộ Khoa học và Công nghệ** (2015). *Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013) - Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30°C bằng kỹ thuật đổ đĩa*, TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013)
55. **Bộ Khoa học và Công nghệ** (2010). *Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8275-2:2010 - Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng nấm men và nấm mốc - Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc trong các sản phẩm có hoạt độ nước nhỏ hơn hoặc bằng 0,95*, TCVN 8275-2:2010.
56. **Bộ Khoa học và Công nghệ** (2005). *Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4830-2:2005 (ISO 6888-2:1999, AMD 1:2003) - Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp định lượng staphylococci có phản ứng dương tính coagulase (Staphylococcus aureus và các loài khác) trên đĩa thạch - Phần 2: Kỹ thuật sử dụng môi trường thạch fibrinogen huyết tương thỏ*, TCVN 4830-2:2005 (ISO 6888-2:1999, AMD 1:2003).
57. **Bộ Khoa học và Công nghệ** (2007). *Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 6846:2007 (ISO 7251:2005) - Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng Escherichia coli giả định - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất*, TCVN 6846:2007 (ISO 7251:2005).
58. **Bộ Khoa học và Công nghệ** (2017). *Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 10780-1:2017 (ISO 6579-1:2017) - Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp phát hiện, định lượng và xác định typ huyết thanh của Salmonella - Phần 1: Phương pháp phát hiện Salmonella spp*, TCVN 10780-1:2017.

59. **Đỗ Trung Đàm** (2014), *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
60. **Organization of Economic Co-operation and Development - OECD** (2001), *The OECD Guideline for Testing of Chemicals: 423 Acute Oral Toxicity- Acute Toxic Class Method*, OECD, Paris, France, 2001.
61. **Millar JS, Cromley DA, Coy MG** (2005), Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339. *Journal of Lipid Research*, 46, pp.2023-2028.
62. **Bộ Y tế** (2022), “*Dược điển Việt Nam V*”, Nhà xuất bản Y học.
63. **Naik H, Kolur A, Maled D, et al** (2014),. Effect of Poloxamer 407 on serum VLDL, LDL and HDL levels of rabbits. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. 4(3):221. doi:10.5455/njppp.2014.4.040620141.
64. **Nguyễn Trọng Thông, Nguyễn Phương Thanh, Vũ Thị Ngọc Thanh, Đàm Đình Tranh** (2013), “Xây dựng mô hình gây rối loạn lipid máu bằng hỗn hợp dầu cholesterol chứa lượng thấp acid cholic trên chuột cống trắng”, *Tạp chí Nghiên cứu Dược và thông tin thuốc*, số 5/2013.
65. **Chaudhary HR** (2013), Brocks DR. The Single Dose Poloxamer 407 Model of Hyperlipidemia; Systemic Effects on Lipids Assessed Using Pharmacokinetic Methods, and its Effects on Adipokines. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 16(1):65-73. doi:10. 18433/J37G7M.
66. **Kones R, Rumana U** (2015). Current Treatment of Dyslipidemia: A New Paradigm for Statin Drug Use and the Need for Additional Therapies. *Drugs*. 75(11): 1187-1199. doi:10.1007/s40265-015-0428-4
67. **Mohamed AS, Ibrahim WM, Zaki NI, et al** (2019),. Effectiveness of *Coelatura aegyptiaca* Extract Combination with Atorvastatin on Experimentally Induced Hyperlipidemia in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2019: e9726137. doi:10.1155/2019/9726137

68. **Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Quang Hoan** (1998), Nghiên cứu dược lý cây Ngưu tất về tác dụng hạ Cholesterol máu và hạ huyết áp, *Tạp chí Dược học* số, 1(86)- 1998, tr.3-5.
69. **Jung YK, Shin D. Imperata cylindrica**: A Review of Phytochemistry, Pharmacology, and Industrial Applications. *Molecules*. 2021;26(5):1454. doi:10.3390/molecules 26051454.
70. **Trần Thị Hồng Ngải** (2019), "Nghiên cứu tính an toàn, kết quả điều trị rối loạn lipid máu của bài thuốc HSN trên thực nghiệm và lâm sàng", Luận án tiến sỹ y học, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam
71. **Lee HJ, Chen CC, Chou FP, et al** (2010). Water Extracts from Nelumbo Nucifera Leaf Reduced Plasma Lipids and Atherosclerosis in Cholesterol-Fed Rabbits. *Journal of Food Biochemistry*, Vol. 34, Issue 4, pp.779-795
72. **Kobori M, Masumoto S, Akimoto Y, Oike H** (2011). Chronic dietary intake of Quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice. *Mol Nutr Food Res*, 55, pp.530-540.
73. **Kim Y. J., Y. O. Shin, Y. W. Ha, et al.** (2006), Anti-obesity effect of Pinellia ternata extract in Zucker rats, *Biol Pharm Bull*, 29(6), 1278-1281.
74. **Phạm Thanh Tùng** (2019), "Nghiên cứu tính an toàn và tác dụng của viên nang cứng VINATAN trong điều trị hội chứng rối loạn lipid máu trên thực nghiệm và lâm sàng", Luận án tiến sỹ y học, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam
75. **P. Stanely Mainzen Prince and N. K. Kannan** (2006), Protective effect of Rutin on lipids, lipoproteins, lipid metabolizing enzymes and glycoproteins in streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, JPP 2006, 58: 1373–1383.
76. **Hội Tim mạch học Quốc gia Việt Nam** (2015), “Khuyến cáo về chẩn đoán và điều trị rối loạn lipid máu” - 2015.

77. **Đỗ Linh Quyên** (2019), "Nghiên cứu độc tính và tác dụng của cao lỏng HVT trên hội chứng lipid máu", Luận án Tiến sĩ y học, Viện Y học cổ truyền Quân đội
78. **Dong X, Fu J, Yin X, et al. Cassiae semen** (2010), A review of its phytochemistry and pharmacology. *Mol Med Rep.* 2017;16(3):2331-2346. doi:10.3892/mmr.2017.6880
79. **Kumar R, Akhtar F, Rizvi SI** (2021). Protective effect of Hesperidin in Poloxamer-407 induced hyperlipidemic experimental rats. *Biol Futur.* 72(2): 201-210. doi:10.1007/s42977-020-00053-1.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Tiêu chuẩn cơ sở của dược liệu tỳ giải nam	i
Phụ lục 2. Quy trình bào chế cao khô "Hạ mỡ NK"	v
Phụ lục 3. Tiêu chuẩn cơ sở cao khô "Hạ mỡ NK"	xi
Phụ lục 4. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao khô "Hạ mỡ NK" trên thực nghiệm.	xv
Phụ lục 5. Nhật ký nghiên cứu độc tính cấp cao khô “Hạ mỡ NK”	xxii
Phụ lục 6. Kết quả nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của cao khô "Hạ mỡ NK" trên mô hình nội sinh thực nghiệm.	xxvii
Phụ lục 7. Nhật ký nghiên cứu tác dụng điều chỉnh RLLM trên mô hình nội sinh của cao khô “Hạ mỡ NK”	xxxix

Phụ lục 1. Tiêu chuẩn cơ sở của dược liệu tỳ giải nam

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

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

**DƯỢC LIỆU
TỖ GIẢI NAM (KIM CANG GAI)**

Số tiêu chuẩn:.....



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

BỘ Y TẾ HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỎ TRUYỀN VIỆT NAM	Dược liệu TỶ GIẢI NAM (KIM CANG GAI) (<i>Rhizoma Smilaxis ferox</i>)	Số TC: 01/1018
		Có hiệu lực từ ngày ký

Ban hành theo quyết định số 351/QĐ – HVYDHCTVN ngày 02/5/2018 của giám đốc học viện Y dược học cỏ truyền Việt Nam.

Dược liệu là thân rễ phơi hay sấy khô của cây Nam tỷ giải hay còn gọi là Kim cang gai (*Smilax ferox* Wall ex Kunth), họ Kim cang (Smilacaceae).

I. YÊU CẦU KỸ THUẬT

- 1.1. **Mô tả:** Phiến lát không đều, cạnh không đều, kích thước thay đổi, dày 2 mm đến 5 mm. Mặt ngoài màu nâu hơi vàng hoặc đen hơi nâu, có rải rác vết của các rễ nhỏ, dạng hình nón nhô lên. Mặt cắt màu trắng hơi xám đến màu nâu hơi xám, các đốm màu nâu hơi vàng của các bó mạch rải rác. Chất xốp hơi có dạng bọt biển. Mùi nhẹ, không rõ rệt, vị hơi đắng.
- 1.2. **Bột:** Phải có đặc điểm của bột Tỷ giải nam.
- 1.3. **Định tính:** Phải có phản ứng định tính của Tỷ giải nam.
- 1.4. **Độ ẩm:** Không quá 12,0 %.
- 1.5. **Tro toàn phần:** Không quá 5,0 %.
- 1.6. **Tạp chất:** Không quá 1,0 %.
- 1.7. **Kim loại nặng:** Không quá 20 ppm.
- 1.8. **Chất chiết được:** Không được ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

II. PHƯƠNG PHÁP THỬ

- 2.1. **Mô tả:** Kiểm tra bằng cảm quan, vị thuốc phải đạt yêu cầu đã nêu.

2.2. Soi bột: Thử theo ĐĐVN V - Phụ lục 12.8 - Định tính dược liệu và các chế phẩm bằng kính hiển vi.

Bột màu nâu hơi vàng nhạt. Soi kính hiển vi thấy: nhiều hạt tinh bột. Các hạt tinh bột đơn, hình trứng, hình bầu dục hoặc gần hình cầu, hình tam giác hoặc các loại hình bất định; một số hạt nhọn ở một đầu; một số có nhiều mắt hay mấu, đường kính 10 μm đến 70 μm ; rốn hạt là khe hình chữ V, hình điểm, đa số có vân không rõ. Tinh thể calcioxalat hình kim, xếp thành bó, dài 90 μm đến 210 μm . Các tế bào mô mềm hình bầu dục hoặc hình chữ nhật, thành hơi dày, có lỗ rõ rệt. Các tế bào bản màu vàng hơi nâu, hình nhiều cạnh, thành tế bào thẳng.

2.3. Định tính: Phương pháp sắc ký lớp mỏng

a. Dụng cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng silica gel GF₂₅₄.
- *n*-Butyl acetate, ethyl acetat, methanol, acid formic (PA).
- Dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT).
- Dung dịch acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol (TT).

b. Tiến hành:

- **Bản mỏng:** Silica gel GF₂₅₄ đã hoạt hóa ở $100 \pm 5^\circ\text{C}$ trong 30 phút.
- **Dung môi khai triển:** *n*-Butyl acetate - methanol - acid formic - nước (16:3:1:1).
- **Dung dịch thử:** Lấy 2 g dược liệu thử, cắt nhỏ, cho vào bình nón nút mài 100 ml, thêm 25 ml methanol (TT), siêu âm 30 phút, lọc. Dịch lọc bốc hơi trên bếp cách thủy đến còn 2 ml dược dung dịch thử.
- **Dung dịch đối chiếu:** Lấy khoảng 2 g dược liệu Tỳ giải nam, cắt nhỏ, cho vào bình nón 100 ml, tiến hành chiết tương tự dung dịch thử.
- **Cách tiến hành:** Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μl mỗi dung dịch đối chiếu và 10 μl dung dịch thử. Tiến hành sắc ký theo Dược điển Việt Nam V - Phụ lục 5.4. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol (TT), sau đó phun chồng dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT), để khô và sấy bản mỏng ở $100 \pm 5^\circ\text{C}$, đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường.
- **Kết quả:** Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và có giá trị R_f tương đương với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.4. Độ ẩm: Thử theo ĐĐVN V - Phụ lục 9.6 - Xác định mất khối lượng do làm khô (1g, 100 $^\circ\text{C}$, 4 h).

2.5. Tro toàn phần: Thử theo ĐĐVN V - Phụ lục 9.8 - Xác định tro toàn phần.

- 2.6. **Tạp chất:** Thử theo ĐĐVN V - Phụ lục 12.11 - Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu.
- 2.7. **Kim loại nặng:** Thử theo ĐĐVN V - Phụ lục 9.4.8 - Xác định giới hạn các tạp chất - Phương pháp 3.
Dùng 1 g bột dược liệu và 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.
- 2.8. **Chất chiết được trong dược liệu:** Thử theo ĐĐVN V - Phụ lục 12.10 - Xác định các chất chiết được trong dược liệu.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng, dùng *ethanol* 70 % làm dung môi.

III. ĐÓNG GÓI, GHI NHÃN, BẢO QUẢN.

- Đóng gói: Trong bao bì kín, khô ráo.
- Nhãn: In rõ ràng, đúng qui định.
- Bảo quản: Để nơi khô ráo, nhiệt độ dưới 30 °C, tránh ánh sáng.

Hà Nội, ngày...²⁶ tháng...¹²... năm 2018

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI



Phạm Quốc Bình

TRƯỞNG NHÓM NGHIÊN CỨU



Trần Thị Thu Hiền

GIÁM ĐỐC



Đậu Xuân Cảnh

VIỆN NGHIÊN CỨU
YDCT TỰ TỈNH



Trần Văn Thanh

Phụ lục 2. Quy trình bào chế cao khô "Hạ mỡ NK"

VIỆN DƯỢC LIỆU
TRUNG TÂM ỨNG DỤNG KHOA HỌC
CÔNG NGHỆ DƯỢC LIỆU

**QUY TRÌNH BÀO CHẾ
CAO KHÔ HẠ MỠ NK**

- I. CÔNG THỨC CHO 01 LÔ BÀO CHẾ**
- II. ĐẶC ĐIỂM NGUYÊN PHỤ LIỆU**
- III. SƠ ĐỒ QUY TRÌNH BÀO CHẾ**
- IV. MÔ TẢ QUY TRÌNH BÀO CHẾ**
- V. DANH MỤC TRANG THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ**
- VI. TỔ CHỨC BÀO CHẾ VÀ AN TOÀN LAO ĐỘNG**
- VII. PHƯƠNG PHÁP KIỂM SOÁT VÀ KIỂM NGHIỆM**

Năm 2024



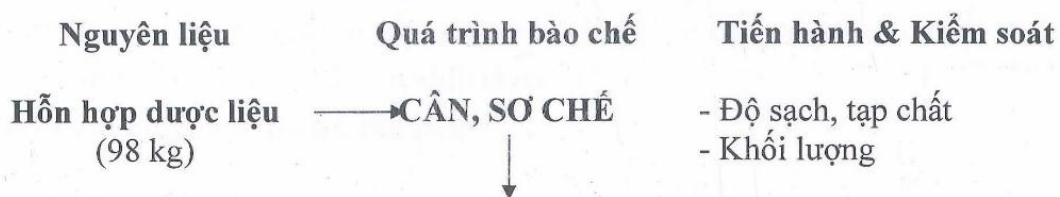
I. CÔNG THỨC CHO 01 LÔ BÀO CHẾ (10 kg cao khô Hạ mỡ NK)

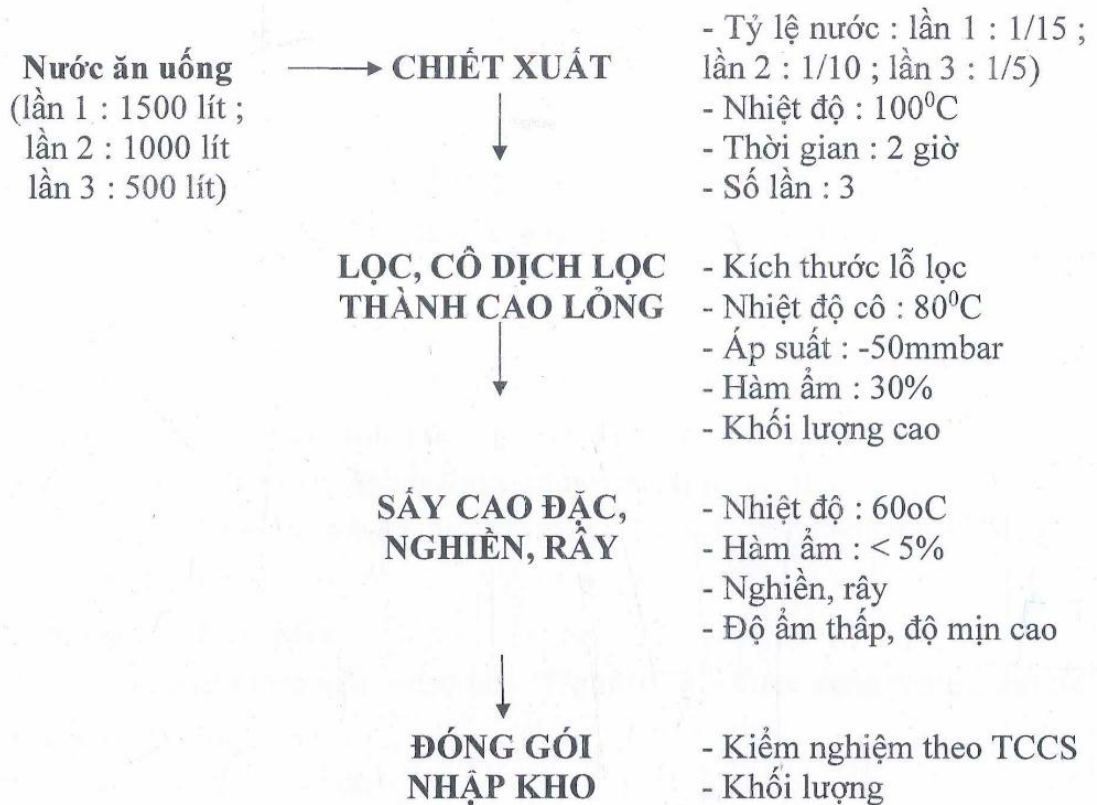
Nguyên liệu	Khối lượng – Thể tích 1 lô (kg)	Hư hao	Khối lượng – Thể tích thực (kg)
Trần bì	06	10%	6,6
Tỳ giải nam	12	10%	13,2
Ngưu tất	12	10%	13,2
Rễ cỏ tranh	12	10%	13,2
Thảo quyết minh	12	10%	13,2
Hòe hoa	12	10%	13,2
Lá sen	12	10%	13,2
Hạ khô thảo	12	10%	13,2
Bán hạ nam	08	10%	8,8
Nước tinh khiết	Vừa đủ theo quy trình		
Nước ăn uống	Vừa đủ theo quy trình		

II. ĐẶC ĐIỂM NGUYÊN PHỤ LIỆU

Tên nguyên liệu	Tên khoa học	Tiêu chuẩn
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	DĐVN V
Tỳ giải nam	<i>Rhizoma Smilax ferox</i>	TCCS
Ngưu tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	DĐVN V
Rễ cỏ tranh	<i>Rhizoma Imperatae cylindrica</i>	DĐVN V
Thảo quyết minh	<i>Semen Cassiae torae</i>	DĐVN V
Hòe hoa	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	DĐVN V
Lá sen	<i>Folium Nelumbinis nuciferae</i>	DĐVN V
Hạ khô thảo	<i>Spica Prunellae</i>	DĐVN V
Bán hạ nam	<i>Rhizoma Typhonium trilobatum</i>	DĐVN V
Nước tinh khiết	<i>Aqua destillata</i>	DĐVN V
Nước ăn uống	<i>Aqua</i>	QCVN

III. SƠ ĐỒ GIAI ĐOẠN BÀO CHẾ





IV. MÔ TẢ QUÁ TRÌNH BÀO CHẾ

4.1. Chuẩn bị

- Vệ sinh dụng cụ: Các thùng chứa, xô nhựa, khay inox phải được rửa sạch, sấy khô trước khi dùng cho sản xuất. Máy móc thiết bị phải được vệ sinh sạch sẽ trước và sau khi sử dụng. Phải khử trùng trước khi bào chế.
- Kiểm tra độ an toàn của máy móc thiết bị: Trước khi vận hành phải kiểm tra độ an toàn của các máy móc thiết bị để phòng chống cháy nổ, tai nạn xảy ra.

4.2. Cân, sơ chế dược liệu

- Cân theo đúng định mức hồ sơ lô
- Sơ chế dược liệu : loại tạp, rửa sạch, để ráo nước

4.3. Chiết xuất

- Thiết bị sử dụng: Bình chiết 2 vỏ dung tích 3000 lít x 2 nồi.
- Khối lượng dược liệu: Khoảng 98kg/nồi.
- Dung môi chiết: nước ăn uống
- Lượng dung môi: cao hơn bề mặt dược liệu 30-50cm.
- Phương pháp chiết xuất: chiết nóng ở nhiệt độ sôi của nước. Nồi chiết được tiếp tục đun sôi 2 giờ nữa thì rút dịch chiết.

4.4. Lọc, cô dịch lọc thành cao lỏng

- Dịch chiết được lọc qua màng lọc của hệ thống (rây 0,5cm) để loại bỏ các mảnh vụn được liệu, các chất bẩn, giúp thuận lợi cho việc thu hồi.
- Dịch chiết được cô thu hồi bằng máy thu hồi tuần hoàn dung tích 3000 lít đến khi thu được cao lỏng $\frac{1}{4}$ (4kg được liệu ~ 1 kg cao lỏng) (áp suất – 50 mmbar; nhiệt độ cô khoảng 70-80 °C) – khối lượng cao thu được khoảng 25kg ~ 26 lít cao lỏng.

4.5. Sấy cao, nghiền, rây cao khô

- Sấy cao hỗn hợp bằng tủ sấy chân không đến khi thu được cao khô (độ ẩm <5%). Khối lượng cao thu được khoảng 8-10 kg.
- Nghiền cao khô bằng máy nghiền búa, cỡ rây 0,5 cm.
- Bán thành phẩm tiến hành kiểm nghiệm theo TCCS đã được phê duyệt, nếu đạt thì tiến hành đóng gói.

4.6. Đóng gói và bảo quản

- Cao khô hỗn hợp được liệu – cao khô “Hạ mỡ NK” được đựng trong 2 lần túi polyetylen, hàn kín.
- Ghi nhãn rõ ràng, đúng qui chế.
- Bảo quản nơi khô, mát, tránh ánh sáng, nhiệt độ dưới 30°C.

V. DANH MỤC TRANG THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ

TT	Tên thiết bị	Số lượng	Thông số kỹ thuật	Mục đích
1	Cân (5 kg ; 20 kg ; 100 kg)	03		
2	Hệ thống chiết 2 nồi và cô thu hồi tuần hoàn 3000 lít	01	500 kg/ mẻ	Chiết xuất, cô cao lỏng
3	Tủ sấy chân không	01	100 kg/ mẻ	Sấy cao lỏng
4	Máy nghiền, rây đa năng	01		Nghiền
5	Thiết bị lọc chân không Inox	01		Lọc dịch
6	Hệ thống nồi hơi và đường ống dẫn hơi	01	750kg hơi/ giờ	Cung cấp nhiệt
7	Máy đóng gói	01		

VI. TỔ CHỨC BẢO CHẾ VÀ AN TOÀN LAO ĐỘNG

- Thực hiện đúng nội quy, quy chế về an toàn lao động, phòng cháy chữa cháy và an toàn nồi hơi.
- Sử dụng máy móc đúng nội quy.

- Đối với những người làm việc trong môi trường có ô nhiễm bụi cần phải được trang bị những thiết bị bảo hộ cần thiết như: Quần áo bảo hộ, khẩu trang...
- Đối với những người lao động tiếp xúc với dung môi hóa chất có khả năng cháy nổ độc hại phải cần thiết tuân thủ những nội quy về công tác an toàn lao động như: Trong khu vực có hóa chất dễ cháy nổ như methanol, cần phải có biển báo cấm lửa, cấm hút thuốc. Tất cả các dụng cụ, thiết bị điện như ổ cắm, phích điện đều là loại an toàn, phòng chống cháy nổ, không để hóa chất dễ cháy nổ cùng với các chất duy trì sự cháy, không để gần nguồn phát điện. Nhất thiết phải tiến hành công việc khi tiếp xúc với hóa chất dễ cháy nổ trong khu vực thông thoáng có gió tự nhiên hoặc cưỡng bức (quạt hút). Nếu nơi có khí độc phải có hệ thống hút đảm bảo chất độc trong môi trường xung quanh khu vực làm việc, nhất là nguồn nước, phải xử lý chất thải đạt tiêu chuẩn vệ sinh cho phép trước khi thải vào môi trường, phải đeo khẩu trang khi tiếp xúc với chất độc.

VII. PHƯƠNG PHÁP KIỂM SOÁT VÀ KIỂM NGHIỆM

1. Phương pháp kiểm soát:

STT	Đối tượng	Giai đoạn	Nội dung	Phương pháp	Người thực hiện
1	Nguyên liệu	Chuẩn bị SX	Đạt tiêu chuẩn quy định, có phiếu KN	TCCS	Phòng QC
2	Dược liệu	Sơ chế, chế biến	Đúng quy định	Cảm quan	Người SX
3	Dược liệu	Chiết xuất	Thời gian, nhiệt độ, số lần chiết, lượng nước, kích thước rây	Cảm quan, đồng hồ	Người SX
4	Dịch chiết	Cô cao lỏng	Độ ẩm, nhiệt độ, khối lượng cao	Cảm quan, cân	Người SX
5	Cao lỏng	Tinh chế cao	Nhiệt độ cô, lượng ethanol 96%, kích thước rây	Cảm quan, cón kè	Người SX
6	Cao đặc	Sấy cao, nghiền, rây	Độ ẩm cao, nhiệt độ sấy, khối lượng cao	Đồng hồ	Người SX
7	Thành	Đóng gói	Khối lượng; Có nhãn	Cảm	Phòng

	phẩm		đúng quy chế và ghi đủ số lô, người đóng gói	quan, TCCS	QC, IPC, Kho
--	------	--	--	------------	--------------

2. Phương pháp kiểm nghiệm:

Sản phẩm được kiểm nghiệm theo TCCS cao khô “Hạ mỡ NK”.

NGƯỜI XÂY DỰNG QUY TRÌNH

Hà Nội, ngày 15 tháng 5 năm 2024



PHÓ GIÁM ĐỐC
Nguyễn Thị Phương



Phụ lục 3. Tiêu chuẩn cơ sở cao khô "Hạ mỡ NK"

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

VIỆN DƯỢC LIỆU	CAO KHÔ "HẠ MỠ NK"	Số TC:
TRUNG TÂM ỨNG DỤNG KHCN DƯỢC LIỆU		Có hiệu lực từ ngày ký

Cao khô "Hạ mỡ NK" là cao khô của hỗn hợp dược liệu có tỷ lệ như sau: Trần bì 6g; tỳ giải nam 12g; ngưu tất 12g; rễ cỏ tranh 12g; thảo quyết minh 12g; hòe hoa 12g; lá sen 12g; hạ khô thảo 12g; bán hạ nam 8g

I – YÊU CẦU KỸ THUẬT

1.1. Công thức điều chế cho 1 kg cao:

Tên nguyên liệu	Tên khoa học	Khối lượng	Tiêu chuẩn
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	0,6 kg	ĐDVN V
Tỳ giải nam	<i>Rhizoma Smilax ferox</i>	1,2 kg	TCCS
Ngưu tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	1,2 kg	ĐDVN V
Rễ cỏ tranh	<i>Rhizoma Imperatae cylindrica</i>	1,2 kg	ĐDVN V
Thảo quyết minh	<i>Semen Cassiae torae</i>	1,2 kg	ĐDVN V
Hòe hoa	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	1,2 kg	ĐDVN V
Lá sen	<i>Folium Nelumbinis nuciferae</i>	1,2 kg	ĐDVN V
Hạ khô thảo	<i>Spica Prunellae</i>	1,2 kg	ĐDVN V
Bán hạ nam	<i>Rhizoma Typhonium trilobatum</i>	0,8 kg	ĐDVN V
Nước tinh khiết	<i>Aqua destillata</i>	Vừa đủ theo quy trình	ĐDVN V
Nước ăn uống	<i>Aqua</i>		QCVN

1.2. Nguyên liệu:

Tên nguyên liệu	Tên khoa học	Tiêu chuẩn
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	Đạt TC ĐDVN V
Tỳ giải nam	<i>Rhizoma Smilax ferox</i>	TCCS
Ngưu tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	Đạt TC ĐDVN V
Rễ cỏ tranh	<i>Rhizoma Imperatae cylindrica</i>	Đạt TC ĐDVN V
Thảo quyết minh	<i>Semen Cassiae torae</i>	Đạt TC ĐDVN V
Hòe hoa	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	Đạt TC ĐDVN V
Lá sen	<i>Folium Nelumbinis nuciferae</i>	Đạt TC ĐDVN V
Hạ khô thảo	<i>Spica Prunellae</i>	Đạt TC ĐDVN V
Bán hạ nam	<i>Rhizoma Typhonium trilobatum</i>	Đạt TC ĐDVN V
Ethanol 96 %	<i>Ethanolum 96 %</i>	Đạt TC ĐDVN V
Nước tinh khiết	<i>Aqua purificata</i>	Đạt TC ĐDVN V

1.3. Chất lượng thành phẩm:

1.3.1. Tính chất: Bột mịn, màu nâu nhạt, mùi thơm đặc trưng của dược liệu, vị hơi mặn.

1.3.2. Độ đồng nhất: Bột phải đồng nhất, không được có chỗ đậm, chỗ nhạt.

1.3.3. Mất khối lượng do làm khô: Không quá 5,0 %.

1.3.4. Tro toàn phần: Không quá 6,0%.

1.3.5. Định tính: Chế phẩm phải thể hiện phép thử định tính của rutin, hesperidine, trên SKLM; thể hiện sự có mặt của saponin; polysaccharide; flavonoid bằng phản ứng định tính hóa học đặc trưng của nhóm chất.

1.3.6. Định lượng: Hàm lượng rutin trong cao không thấp hơn 0,01%; hesperidine không thấp hơn 0,001% trên HPLC; polysaccharide toàn phần không thấp hơn 0,5% bằng định lượng UV-VIS so với α -D-glucose

1.3.7. Giới hạn nhiễm khuẩn: Đạt yêu cầu theo bảng 13.6.6, phụ lục 13.6, Dược điển Việt Nam V (tổng số vi sinh vật hiếu khí $\leq 10^4$ CFU/g; Tổng số nấm $\leq 10^2$ 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)

1.3.8. Kim loại nặng (Pb): Không quá 20 phần triệu

II - PHƯƠNG PHÁP THỬ

2.1. Tính chất: Kiểm tra bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

2.2. Độ đồng nhất: Lấy khoảng 10g bột, cho vào cối sứ, dùng đầu chày ấn nhẹ, quan sát bằng mắt thường, không được có chỗ đậm, chỗ nhạt.

2.3. Mất khối lượng do làm khô: Thử theo Dược Điển Việt Nam V - Phụ lục 9.6, Xác định mất khối lượng do làm khô (Lấy 1,0 g mẫu thử, sấy ở 105 °C trong 4 giờ, áp suất thường).

2.4. Tro toàn phần: Thử theo Dược Điển Việt Nam V - Phụ lục 9.8, Xác định tro toàn phần.

2.5. Định tính:

* *Phản ứng hóa học.*

A. Lấy khoảng 0,5 g chế phẩm cho vào cốc có mỏ 50 ml, thêm 5 ml nước cất (TT) khuấy kỹ, lọc vào ống nghiệm. Thêm vào dịch lọc 1- 2 giọt dung dịch chì acetat 10% (TT), xuất hiện tủa trắng.

B. Lấy khoảng 0,5 g chế phẩm cho vào cốc có mỏ 50 ml, thêm 10 ml nước nóng (70-75°C, khuấy kỹ, lọc. Pha loãng dịch lọc 10 lần bằng nước cất được dung dịch thử. Lấy 4 ml dung dịch thử cho vào ống nghiệm, thêm 1- 2 giọt thuốc thử iod- iodide (TT), xuất hiện màu xanh.

C. Lấy khoảng 1 g chế phẩm cho vào cốc có mỏ 50 ml, thêm 20 ml nước cất (TT) khuấy kỹ, lọc. Lấy 5 ml dung dịch thử cho vào ống nghiệm, thêm 5 ml ethanol (TT), xuất hiện dạng treo trong.

D. Acid hóa dạng treo trong thu được ở phản ứng C bằng dung dịch acid hydroclorid 3N, lắc kỹ, đun nóng trong bếp cách thủy 10 phút, xuất hiện tủa bông trắng.

* *Định tính bằng sắc ký lớp mỏng*

Thử theo Dược điển Việt Nam V, Phụ lục 5.4, Phương pháp sắc ký lớp mỏng

- *Bản mỏng:* silica gel GF₂₅₄

- *Dung môi khai triển*: *n*-propanol : ethyl acetat : acid acetic : nước (4: 3: 1: 2)
- *Thuốc thử*: H₂SO₄/ethanol 10%.
- *Dung dịch thử*: Cân 0,5 g chế phẩm, thêm 20,0 ml nước cất lắc đều, đun nóng ở nhiệt độ 50-60°C trong 1 giờ, lọc. Thêm 5 ml HCl đặc vào dịch lọc, tiếp tục đun hồi lưu 1 giờ, lọc, cô cạn, hòa lẫn trong 2 ml dung môi methanol, dùng dịch thu được làm dung dịch thử.
- *Dung dịch đối chiếu*: pha dung dịch 1mg/ml của hesperidine và rutin trong methanol; Tiến hành như chiết với dung dịch thử thu được dung dịch chấm sắc ký.
- *Cách tiến hành*:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch đối chiếu và dung dịch mẫu thử. Tiến hành sắc ký với hệ pha động đã được bão hòa trong bình triển khai sắc ký khoảng 20 phút. Sau khi triển khai được 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun thuốc thử H₂SO₄/ethanol 10%. Đốt nóng ở 105-110°C đến khi hiện vết.

- *Yêu cầu*: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

2.6. Định lượng:

* Định lượng rutin và hesperidin

Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột chế phẩm cho vào bình nón 10 ml, làm ẩm bằng methanol (TT) (để tránh vón cục). Thêm 5 ml methanol lắc kỹ, tiếp tục thêm methanol đến vạch. Lọc thu dịch làm mẫu thử.

Mẫu chuẩn: Pha dung dịch chuẩn gốc 1mg rutin/ml và 1 mg hesperidine/ml làm dung dịch chuẩn gốc. Từ đó pha dãy chuẩn có nồng độ 0,1ng, 0,5ng, 0,9 ng, 1,3ng, 1,7ng/ml của rutin và hesperidin.

Điều kiện sắc ký: cột C18 (25cm, 0,4µm); dung môi khai triển MeOH: 0,001% HCOOH trong nước (30:70); tốc độ dòng: 0,8 ml/phút.

Đường tuyến tính: $Y = aX + b$, Y là diện tích peak, X là nồng độ ng/ml của rutin hoặc hesperidine

Hàm lượng rutin và hesperidin trong cao được tính theo công thức

$$H (\%) = \frac{(Y-b) \cdot V \cdot 10^{-9} \cdot I \cdot 100}{a \cdot m \times (100-P)}$$

Trong đó:

a, b: là hệ số đường tuyến tính

Y: là diện tích peak

V(ml): thể tích mẫu thử

I: hệ số tinh khiết của chuẩn

P (%): Hàm ẩm của mẫu thử

m (g): Khối lượng mẫu thử đã cân để định lượng

*Định lượng polysaccharide bằng phương pháp phenol – sulfuric

- Chuẩn bị dung dịch D-glucose chuẩn: Cân chính xác khoảng 250mg D-glucose tinh khiết. Cho vào bình định mức 250ml. Hòa tan trong nước vừa đủ 250ml tạo dung dịch D-

glucose chuẩn gốc có nồng độ chính xác khoảng 1mg/ml. Tiến hành pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc thành dãy dung dịch chuẩn có hàm lượng 25, 75, 125, 175, 225 µg/ml.

- Chuẩn bị mẫu thử: Cân chính xác khoảng 25- 150 mg cao chiết bài thuốc Mỡ máu NK.cho vào bình định mức. Cho thêm nước định mức chính xác 250ml.

- Tiến hành phản ứng: Mỗi mẫu chuẩn và mẫu thử lấy 4ml cho vào ống nghiệm. Mỗi ống thêm vào 4ml dung dịch phenol 5%, và 20ml dung dịch H₂SO₄ 96% lắc đều. Sau đó đặt vào cốc nước đun sôi cách thủy trong vòng 2 phút, rồi làm lạnh ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Lấy mẫu 125 µg/ml phân tích ở UV-VIS trong dãy bước sóng toàn diện. Xác định đỉnh hấp phụ ở khoảng 486 nm. Tiếp theo đo độ hấp phụ của các dung dịch khác tại bước sóng 486 nm. Rồi dựng đường chuẩn $y=ax+b$ tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ dung dịch D-glucose. Từ đó hàm lượng polysaccharide tổng trong cao được tính theo công thức:

$$F(\%) = C_x * 10^6 * S * 10/(100-h) * 1/m * 100\%$$

Trong đó:

F: Là hàm lượng polysaccharide toàn phần tính theo glucose có trong mẫu (%)

C_x: Là nồng độ polysaccharide toàn phần có trong mẫu tính theo glucose (µg/ml)

h: Độ ẩm của cao Hạ mỡ NK

m: Là khối lượng mẫu ban đầu (g)

S: Là độ pha loãng

2.7. Giới hạn nhiễm khuẩn: Tiến hành thử theo ĐĐVN V, Phụ lục 13.6 – Thử giới hạn nhiễm khuẩn, phương pháp đĩa thạch

2.8. Kim loại nặng (Pb): Lấy 1 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 3, Xác định giới hạn các tạp chất, Phụ lục 9.4.8, Dược Điển Việt Nam V.

Dùng 2ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

III - ĐÓNG GÓI, GHI NHÃN, BẢO QUẢN

- **Đóng gói:** Cao Hạ mỡ NK được đựng trong 2 lần túi polyethylen, hàn kín.

- **Ghi nhãn:** Rõ ràng, đúng quy chế.

- **Bảo quản:** Nơi khô ráo, thoáng mát, nhiệt độ dưới 30°C.

Hà Nội, ngày 01 tháng 06 năm 2024

TRUNG TÂM ỨNG DỤNG KHCN DƯỢC LIỆU

GIÁM ĐỐC



PHÓ GIÁM ĐỐC

Nguyễn Thị Phương

**Phụ lục 4. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao khô "Hạ mỗ NK"
trên thực nghiệm.**

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI
BỘ MÔN DƯỢC LÝ

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH
CẤP CỦA CAO KHÔ TOÀN PHẦN
“HẠ MỖ NK” TRÊN THỰC NGHIỆM**

Nơi tiến hành nghiên cứu: Bộ môn Dược lý

Trường Đại học Y Hà Nội

Cán bộ nghiên cứu: BSKII. Phạm Thủy Phương

PGS.TS. Phạm Quốc Bình

PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh

BS. Lê Minh Trung

Tập thể nhóm nghiên cứu

11/2/2023

1. Nguyên liệu và đối tượng nghiên cứu

❖ **Thuốc nghiên cứu** Thành phần bài thuốc:

Thành phần	Tên khoa học	Đơn vị	Khối lượng
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	g	06
Tỳ giải nam	<i>Rhizoma Smilax ferox</i>	g	12
Ngưu tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	g	12
Rễ cỏ tranh	<i>Rhizoma Imperatae cylindrica</i>	g	12
Thảo quyết minh	<i>Semen Cassiae torae</i>	g	12
Hòe hoa	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	g	12
Lá sen	<i>Folium Nelumbinis nuciferae</i>	g	12
Hạ khô thảo	<i>Spica Prunellae</i>	g	12
Bán hạ nam	<i>Rhizoma Typhonium trilobatum</i>	g	08

Cao khô toàn phần dược liệu (cao chiết nước) “Hạ mỡ NK” (sau đây gọi là “Hạ mỡ NK2”) được chiết xuất từ bài thuốc “Hạ mỡ NK” của Lương y Nguyễn Kiều đạt tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần, qui trình bào chế và tiêu chuẩn của cao khô toàn phần “Hạ mỡ NK” được trình bày trong file đính kèm riêng.

Liều dùng dự kiến trên lâm sàng: 20,1 gam cao khô dược liệu/ngày tương đương với 1 thang thuốc sắc 98 g dược liệu.

Thuốc thử đạt tiêu chuẩn cơ sở: Thành phần, qui trình bào chế viên nang và tiêu chuẩn cơ sở có file riêng.

Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu:

Cân 25 gam, thêm 20 ml được 42 ml vừa đủ. Đây là dung dịch đậm đặc nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống bằng kim chuyên dụng. Dung dịch đậm đặc này dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của cao toàn phần “Hạ mỡ NK”

1.1.2. Đối tượng nghiên cứu

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

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

1.2. Máy móc phục vụ nghiên cứu

- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Kim đầu tù cho chuột uống.
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

1.3. Địa điểm - Thời gian nghiên cứu

Địa điểm: Nghiên cứu tiến hành tại Bộ môn Dược lý – Đại học Y Hà Nội.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 4/2024

1.4. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp của cao toàn phần “Hạ mỡ NK” theo đường uống trên chuột nhắt trắng

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của cao toàn phần “Hạ mỡ NK” trên chuột nhắt trắng theo đường uống [1], [2].

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

Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống cao toàn phần “Hạ mỡ NK” với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD_{50} của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc thử.

1.5. Xử lý số liệu

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

2. Kết quả nghiên cứu

Chuột nhắt trắng được uống cao toàn phần “Hạ mỡ NK” từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 4 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc nhất, theo dõi thấy các liều cao toàn phần “Hạ mỡ NK” không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao toàn phần “Hạ mỡ NK”

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (g “Hạ mỡ NK2”/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	30	17,85	0	Không
Lô 2	10	45	26,78	0	Không
Lô 3	10	60	35,71	0	Không
Lô 4	10	75	44,64	0	Không
Lô 5	10	100	59,52	0	Không

Kết quả bảng 1 cho thấy: các lô chuột uống cao toàn phần “Hạ mỡ NK2” ở liều từ 30ml/kg tương ứng 17,85 gam cao khô được liệu “Hạ mỡ NK2”/kg đến liều tối đa 100 ml/kg tương ứng với 59,52 gam cao khô được liệu “Hạ mỡ NK2”/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của cao toàn phần “Hạ mỡ NK2” là: 100 ml/kg tương ứng với 59,52 gam cao khô được liệu “Hạ mỡ NK2”/kg.

3. Kết luận:

- Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng của cao khô toàn phần “Hạ mỡ NK2” trên đường uống.

- Cao khô toàn phần “Hạ mỡ NK2” không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 59,52 gam “Hạ mỡ NK2”/kg.

- Cao khô toàn phần “Hạ mỡ NK2” ở liều gấp 12,33 lần liều dùng dự kiến trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống (Tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều tối đa 20,1 gam cao khô được liệu “Hạ mỡ NK2”/ngày/người).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

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

Hà Nội, ngày 16 tháng 7 năm 2024

Trưởng nhóm nghiên cứu

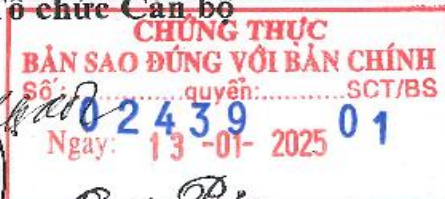
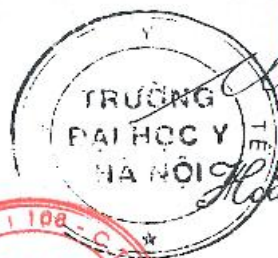


PGS.TS. PHẠM THỊ VÂN ANH

Trường Đại học Y Hà Nội xác nhận

Chữ ký trên của PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh là đúng

Ph. Trưởng phòng Tổ chức Cán bộ



**CÔNG CHỨNG VIÊN
CAO THỊ THU HUYỀN**

Phụ lục 5. Nhật ký nghiên cứu độc tính cấp cao khô “Hạ mỡ NK”

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 4/2024

Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội

LÔ 1

STT	Dấu	Cân nặng		Liều dùng (ml/kg)	Liều dùng (g dược liệu/kg)	Tỷ lệ chết	DH bất thường trong 72 h đầu
		Trước	Sau				
1	Trắng	16	22	30.0	17.85	0	0
2	Đầu	18	19	30.0	17.85	0	0
3	Đầu-Tay P	19	23	30.0	17.85	0	0
4	Tay T	21.5	24	30.0	17.85	0	0
5	Lưng-TP	20	21	30.0	17.85	0	0
6	Sườn P	19	18	30.0	17.85	0	0
7	Sườn T	18	19	30.0	17.85	0	0
8	Chân P	18	20	30.0	17.85	0	0
9	Chân T	21	22	30.0	17.85	0	0
10	Đuôi	24	24	30.0	17.85	0	0

LÔ 2

STT	Đầu	Cân nặng		Liều dùng (ml/kg)	Liều dùng (g được liệu/kg)	Tỷ lệ chết	DH bất thường trong 72 h đầu
		Trước	Sau				
11	Trắng	19	21	45	26.78	0	0
12	Đầu	18	18	45	26.78	0	0
13	Tay P	20	21	45	26.78	0	0
14	Tay T	22	22	45	26.78	0	0
15	Lưng-TT	24	25	45	26.78	0	0
16	sườn P	18	26	45	26.78	0	0
17	Sườn T	18	25	45	26.78	0	0
18	Chân P	18	19	45	26.78	0	0
19	Chân T	22	23	45	26.78	0	0
20	Đầu - Đuôi	21	22	45	26.78	0	0

LÔ 3

STT	Dấu	Cân nặng		Liều dùng (ml/kg)	Liều dùng (g được liệu/kg)	Tỷ lệ chết	DH bất thường trong 72 h đầu
		Trước	Sau				
1	Trắng	18	19	60.0	35.71	0	0
2	Đầu	18	22	60.0	35.71	0	0
3	Tay P	16	21	60.0	35.71	0	0
4	Tay T	21	17	60.0	35.71	0	0
5	Lưng	18	18	60.0	35.71	0	0
6	Sườn P	20	26	60.0	35.71	0	0
7	Đầu-TT	18	19	60.0	35.71	0	0
8	Đầu-TP	21	22	60.0	35.71	0	0
9	Chân T-TT	18	19	60.0	35.71	0	0
10	Đuôi	20	23	60.0	35.71	0	0

LÔ 4

STT	Dấu	Cân nặng		Liều dùng (ml/kg)	Liều dùng (g được liệu/kg)	Tỷ lệ chết	DH bất thường trong 72 h đầu
		Trước	Sau				
1	Trắng	18	19	75	44.64	0	0
2	Đầu	18	22	75	44.64	0	0
3	Tay P	16	25	75	44.64	0	0
4	Tay T	18	18	75	44.64	0	0
5	Lưng	20	22	75	44.64	0	0
6	Sườn P	16	20	75	44.64	0	0
7	Đầu-TT	16	18	75	44.64	0	0
8	Đầu-TP	20	24	75	44.64	0	0
9	Chân T-TT	21	25	75	44.64	0	0
10	Đuôi	20	20	75	44.64	0	0

LÔ 5

STT	Đầu	Cân nặng		Liều dùng (ml/kg)	Liều dùng (g được liệu/kg)	Tỷ lệ chết	DH bất thường trong 72 h đầu
		Trước	Sau				
1	Trắng	18	19	100	59.52	0	0
2	Đầu	18	22	100	59.52	0	0
3	Tay P	16	25	100	59.52	0	0
4	Tay T	18	18	100	59.52	0	0
5	Lưng	20	22	100	59.52	0	0
6	Sườn P	16	20	100	59.52	0	0
7	Đầu-TT	16	18	100	59.52	0	0
8	Đầu-TP	20	24	100	59.52	0	0
9	Chân T-TT	21	25	100	59.52	0	0
10	Đuôi	20	20	100	59.52	0	0

**Phụ lục 6. Kết quả nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của
cao khô "Hạ mỡ NK" trên mô hình nội sinh thực nghiệm.**

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

BỘ MÔN DƯỢC LÝ

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG
ĐIỀU CHỈNH RỐI LOẠN LIPID MÁU CỦA
CAO TOÀN PHẦN “HẠ MỠ NK”
TRÊN MÔ HÌNH NỘI SINH THỰC NGHIỆM**

Nơi tiến hành nghiên cứu: **Bộ môn Dược lý
Trường Đại học Y Hà Nội**

Cán bộ nghiên cứu: **BSCKII. Phạm Thủy Phương
PGS.TS. Phạm Quốc Bình
PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh
BS. Lê Minh Trung
Tập thể nhóm nghiên cứu**

1. Chất liệu và phương pháp nghiên cứu

1.1. Chất liệu nghiên cứu

❖ *Thuốc nghiên cứu: Thành phần bài thuốc:*

Thành phần	Tên khoa học	Đơn vị	Khối lượng
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	g	06
Tỳ giải nam	<i>Rhizoma Smilax ferox</i>	g	12
Ngưu tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	g	12
Rễ cỏ tranh	<i>Rhizoma Imperatae cylindrica</i>	g	12
Thảo quyết minh	<i>Semen Cassiae torae</i>	g	12
Hồ hoa	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	g	12
Lá sen	<i>Folium Nelumbinis nuciferae</i>	g	12
Hạ khô thảo	<i>Spica Prunellae</i>	g	12
Bán hạ nam	<i>Rhizoma Typhonium trilobatum</i>	g	08

Cao khô dược liệu (cao chiết nước) “Hạ mỡ NK” (sau đây gọi là “Hạ mỡ NK2”) được chiết xuất từ bài thuốc “Hạ mỡ NK” của Lương y Nguyễn Kiều đạt tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần, qui trình bào chế và tiêu chuẩn của cao khô toàn phần “Hạ mỡ NK” được trình bày trong file đính kèm riêng.

Liều dùng dự kiến trên lâm sàng: 20,1 gam cao khô dược liệu/ngày

Thuốc thử đạt tiêu chuẩn cơ sở: Thành phần, qui trình bào chế viên nang và tiêu chuẩn cơ sở có file riêng.

❖ *Hóa chất và dụng cụ xét nghiệm*

- Poloxamer 407 (Sigma – Singapore)
- Atorvastatin viên nén 10mg (STADA–Việt Nam)
- Kit định lượng các chất chuyển hóa trong máu: TC, TG, HDL-C, của hãng DIALAB GmbH (Áo), định lượng trên máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Erba (Ấn Độ).

❖ *Máy móc phục vụ nghiên cứu*

- Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Erba (Ấn Độ)
- Máy li tâm HETECH (Đức)
- Cân phân tích Precisa (Thụy Sĩ)

❖ *Địa điểm - Thời gian nghiên cứu*

Địa điểm: Nghiên cứu tiến hành tại Bộ môn Dược lý – Đại học Y Hà Nội.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 4/2024

1.2. Động vật thực nghiệm

Chuột nhắt trắng, chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 25 ± 2 g, của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương. Động vật được nuôi từ 7-10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn riêng, nước uống tự do tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội.

1.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu trên mô hình gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh

Chuẩn bị dung dịch P-407 2% bằng cách pha 0,4g P-407 trong nước muối sinh lý 0,9% vừa đủ 20 mL, để tủ lạnh qua đêm để làm tăng độ tan của P-407. Kim và xylanh dùng để tiêm chuột được ngâm trong nước đá trước khi sử dụng.

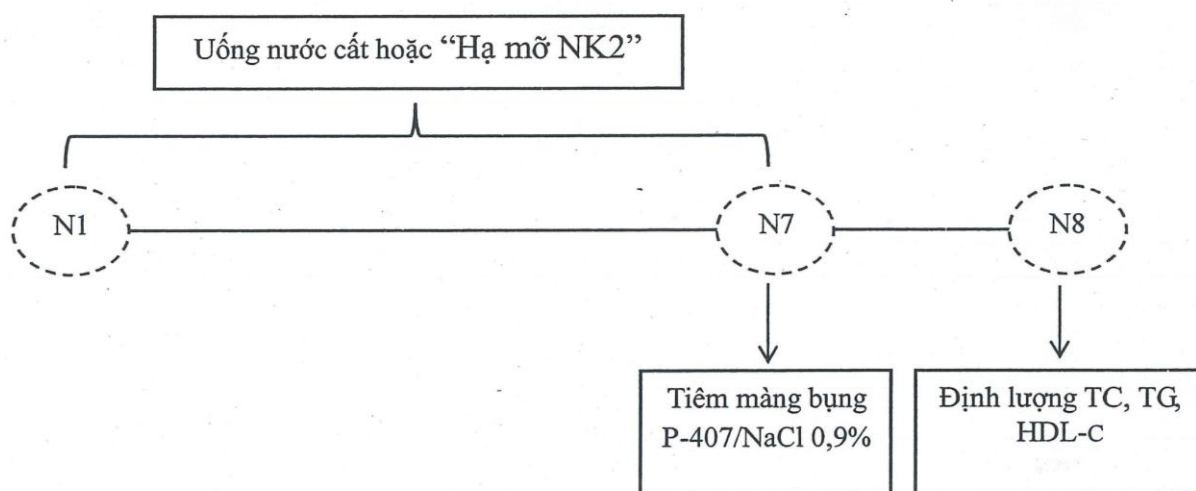
Chuột nhắt trắng được chia làm 5 lô, mỗi lô 10 con. Các lô được tiêm và uống thuốc như sau:

- Lô 1 (chứng sinh học): Tiêm màng bụng nước muối sinh lý 0,9% với thể tích 0,1mL/10g thể trọng chuột và uống nước cất.
- Lô 2 (mô hình): Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1mL/10g) và uống nước cất.
- Lô 3 (uống atorvastatin): Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1mL/10g) và uống atorvastatin liều 100 mg/kg.
- Lô 4 (lô trị 1): Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1 mL/10g), uống “Hạ mỡ NK2” liều 4,8g cao khô được liệu/kg/ngày (tương đương liều dự kiến lâm sàng, tính theo hệ số 12)
- Lô 5 (lô trị 2): Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1 mL/10g), uống “Hạ mỡ NK2” liều 14,5g cao khô được liệu/kg/ngày (gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng).

Chuột nhắt trắng được uống nước cất và thuốc thử 7 ngày liên tục trước khi tiêm màng bụng dung dịch P-407. Sau khi được tiêm P-407, chuột được cho nhịn đói hoàn toàn nhưng vẫn được uống nước tự do. Sau 24 giờ kể từ khi được tiêm P-407, tất cả các chuột được lấy máu động mạch cảnh làm xét nghiệm định lượng TG, TC, HDL-C. Non - HDL-C được tính theo công thức:

$$\text{Non-HDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C} \text{ (mmol/L)}$$

Sơ đồ nghiên cứu



1.4. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo t-test - Student và test trước sau (Avant-après). Biểu diễn $\pm$ SD.

Quy ước (so với lô chứng) *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

2. Kết quả nghiên cứu

Tác dụng điều chỉnh lipid máu trên mô hình nội sinh

Bảng 2.1. Mô hình rối loạn lipid máu bằng Poloxamer 407

Chỉ số lipid	Chứng sinh học — (n = 10) ($X \pm SD$, mmol/L)	Mô hình (n = 10) ($X \pm SD$, mmol/L)
TC	$4,18 \pm 1,12$	$9,93 \pm 1,10$ ***
TG	$0,97 \pm 0,16$	$8,19 \pm 2,65$ ***
HDL-C	$0,80 \pm 0,23$	$1,52 \pm 0,40$ ***
non-HDL-C	$3,38 \pm 1,03$	$8,41 \pm 1,29$ ***

Kết quả bảng 2.1 cho thấy:

Tiêm màng bụng dung dịch P-407 2% liều 200 mg/kg (0,1mL/10g) có tác dụng gây rối loạn lipid máu rõ rệt: ở lô mô hình, TG tăng gấp 8,4 lần; TC tăng 2,4 lần; HDL-C tăng 1,9 lần và non-HDL-C tăng 2,5 lần.

Bảng 2.2. Tác dụng của “Hạ mỡ NK2” lên nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu (n= 10)	Nồng độ cholesterol toàn phần (mmol/L)	Mức giảm so với lô mô hình	p so với lô 2	p so với lô 3
Lô 2: Mô hình	9,93 ± 1,10			
Lô 3: Atorvastatin 100mg/kg	7,68 ± 2,13	22,7%	p < 0,01	
Lô 4: “Hạ mỡ NK2” liều 4,8g cao khô được liệu/kg/ngày	7,94 ± 1,76	20,4%	p < 0,01	p > 0,05
Lô 5: “Hạ mỡ NK2” liều 14,5g cao khô được liệu/kg/ngày	8,13 ± 1,30	18,1%	p < 0,01	p > 0,05

Kết quả bảng 2.2 cho thấy: Nồng độ cholesterol toàn phần của chuột nhắt trắng ở lô mô hình và các lô dùng thuốc tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm màng bụng dung dịch P-407 để gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh.

- Lô uống atorvastatin liều 100mg/kg làm giảm rõ nồng độ cholesterol toàn phần so với lô mô hình (giảm 22,7%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01).

- Cả 2 lô uống “Hạ mỡ NK2” liều 4,8g cao khô được liệu/kg/ngày và “Hạ mỡ NK2” liều 14,5g cao khô được liệu/kg/ngày đều làm giảm nồng độ cholesterol toàn phần so với lô mô hình (giảm 20,4% và 18,1%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01). Không có sự khác biệt khi so sánh với lô dùng atorvastatin (p > 0,05)

Bảng 2.3. Tác dụng của “Hạ mỡ NK2” lên nồng độ triglycerid trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu (n=10)	Nồng độ Triglycerid (mmol/L)	Mức giảm so với lô mô hình	p so với lô 2	p so với lô 3
Lô 2: Mô hình	8,19 ± 2,65			
Lô 3: Atorvastatin 100mg/kg	9,80 ± 3,29	- 19,7 %	p > 0,05	
Lô 4: “Hạ mỡ NK2” liều 4,8g cao khô được liệu/kg/ngày	7,26 ± 2,16	11,4 %	p > 0,05	p > 0,05
Lô 5: “Hạ mỡ NK2” liều 14,5g cao khô được liệu/kg/ngày	7,35 ± 2,23	10,3 %	p > 0,05	p > 0,05

Kết quả bảng 2.3 thể hiện:

Nồng độ triglycerid máu của chuột nhắt trắng ở các lô mô hình và các lô dùng thuốc tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm màng bụng dung dịch P-407 để gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh.

Lô uống atorvastatin liều 100mg/kg không làm giảm nồng độ triglycerid so với lô mô hình (p>0,05).

Các lô uống “Hạ mỡ NK2” liều 4,8g cao khô được liệu/kg/ngày và lô uống “Hạ mỡ NK2” liều 14,5g cao khô được liệu/kg/ngày đều có xu hướng làm giảm nồng độ triglycerid so với lô mô hình (11,4% và 10,3%), tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 2.4. Tác dụng của “Hạ mỡ NK2” lên nồng độ HDL-cholesterol trong máu chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu (n=10)	Nồng độ HDL-C (mmol/L)	p so với lô 2	p so với lô 3
Lô 2: Mô hình	1,52 ± 0,40		
Lô 3: Atorvastatin 100mg/kg	2,02 ± 0,69 (↑ 32,9 %)	p > 0,05	
Lô 4: “Hạ mỡ NK2” liều 4,8 g cao khô được liệu /kg/ngày	1,64 ± 0,19 (↑ 7,9 %)	p > 0,05	p > 0,05
Lô 5: “Hạ mỡ NK2” liều 14,5 g cao khô được liệu /kg/ngày	1,55 ± 0,48 (↑ 1,97%)	p > 0,05	p > 0,05

Kết quả bảng 2.4 thể hiện;

Nồng độ HDL-cholesterol trong máu của chuột nhắt trắng ở các lô mô hình và các lô dùng thuốc tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm màng bụng dung dịch P-407 để gây rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh.

Ở cả lô uống atorvastatin 100mg/kg/ngày và các lô uống “Hạ mỡ NK2” liều 4,8 g cao khô được liệu /kg/ngày và liều 14,5 g cao khô được liệu /kg/ngày đều có xu hướng làm tăng nồng độ HDL-cholesterol máu so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

**Bảng 2.5. Tác dụng của “Hạ mỡ NK2” lên nồng độ
non-HDL-Cholesterol trong máu chuột nhắt trắng**

Lô nghiên cứu (n=10)	Nồng độ Non- HDL-Cholesterol (mmol/L)	Mức độ giảm so với mô hình	p so với lô 2	p so với lô 3
Lô 2: Mô hình	8,41 ± 1,29			
Lô 3: Atorvastatin 100mg/kg	5,66 ± 1,87	32,7 %	p < 0,01	
Lô 4: “Hạ mỡ NK2” liều 4,8 g cao khô được liệu /kg/ngày	6,30 ± 1,62	25,1%	p < 0,01	p > 0,05
Lô 5: “Hạ mỡ NK2” liều 14,5g cao khô được liệu /kg/ngày	6,58 ± 1,11	21,8 %	p < 0,01	p > 0,05

Kết quả bảng 2.5 thể hiện:

Nồng độ Non- HDL- Cholesterol máu của chuột nhắt trắng ở các lô mô hình và các lô dùng thuốc tại thời điểm 24 giờ sau khi tiêm màng bụng dung dịch P-407 để gây rối loạn lipid máu nội sinh.

Lô uống atorvastatin liều 100mg/kg và 2 lô uống “Hạ mỡ NK2” liều 4,8 cao khô được liệu /kg/ngày và liều 14,5g cao khô được liệu/kg/ngày đều làm giảm rõ nồng độ non-HDL Cholesterol so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p< 0,01). Không có sự khác biệt khi so sánh với atorvastatin liều 100mg/kg (p>0,05).

3. Kết luận

- Cao khô toàn phần “Hạ mỡ NK2” liều 4,8g cao khô được liệu /kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng) và liều 14,5g cao khô được liệu /kg/ngày (liều gấp 3 liều dự kiến dùng lâm sàng trên người) có xu hướng làm tăng nồng độ HDL-Cholesterol, và làm giảm Triglycerid.
- Cao khô “Hạ mỡ NK2” liều 4,8g cao khô được liệu /kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng) và liều 14,5g cao khô được liệu /kg/ngày (liều gấp 3 liều dự kiến dùng lâm sàng trên người) có tác dụng làm giảm nồng độ cholesterol toàn phần (TC) và non-HDL-Cholesterol trên chuột nhắt trắng gây mô hình rối loạn lipid máu bằng P-407.
- Cao khô “Hạ mỡ NK2” liều 4,8g cao khô được liệu /kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng) có xu hướng tác dụng tốt hơn liều 14,5g cao khô được liệu /kg/ngày (liều gấp 3 liều dự kiến dùng lâm sàng trên người).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Trọng Thông (2017), “Thuốc điều trị rối loạn lipoprotein máu”, *Dược lý học*, tập 2, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, tr. 176-185.
2. Seidl PR (2002), “Pharmaceuticals from natural products: current trends”, *Animals of the Brazilian Academy of Sciences*, 74(1), pp. 145-150.
3. Millar JS, Cromley DA, McCoy MG (2005), “Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339”, *Journal of Lipid Research*, 46, pp. 2023-2028
4. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel (2002), “Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report”, *Circulation*, 106(25), pp. 3143-3421
5. Johnston TP, Nguyen LB, Chu WA and Shefer S (2001), “Potency of select statin drugs in a new mouse model of hyperlipidemia and atherosclerosis”, *International Journal of Pharmaceutics*, 229(1-2), pp. 75-86
6. Leon C, Wasan KM, Sachs-Barrable K, Johnston TP (2006), “Acute P-407 administration to mice causes hypercholesterolemia by inducing cholesterolgenesis and down-regulating low-density lipoprotein receptor expression”, *Pharm Res*, 23(7), pp. 1597-607
7. Li H, Dong B, Park SW et al (2009), “Hepatocyte nuclear factor 1 α plays a critical role in PCSK9 gene transcription and regulation by the natural hypocholesterolemic compound berberine”, *J Biol Chem*, 284(42), pp. 28885-28895
8. Cao Y, Bei W, Hu Y et al (2012), “Hypocholesterolemia of Rhizoma Coptidis alkaloids is related to the bile acid by up-regulated CYP7A1 in hyperlipidemic rats”, *Phytomedicine*, 19(8-9), pp. 686-692

9. Dan H, Wu J, Peng M et al (2011), "Hypolipidemic effects of Alismatis rhizome on lipid profile in mice fed high-fat diet", *Saudi Med J*, 32(7), pp. 701-707.

Hà Nội, ngày 30 tháng 7 năm 2024

Trưởng nhóm nghiên cứu



PGS.TS. PHẠM THỊ VÂN ANH

Trường Đại học Y Hà Nội xác nhận

Chữ ký trên của PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh là đúng

P. Trưởng phòng Tổ chức Cán bộ



CÔNG CHỨNG VIÊN
CAO THỊ THU HUYỀN

Phụ lục 7. Nhật ký nghiên cứu tác dụng điều chỉnh RLLM trên mô hình nội sinh của cao khô “Hạ mỡ NK”

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 4/2024

Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội

Lô 1: Chứng sinh học

STT	Dấu	TC		TG		HDL-C		LDL-C			Non - HDL	
		mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L	A-mg/dL	F-mg/dL	mg/dL	mmol/l
1	Trắng	3.5	135.1	0.9	79.6	0.82	31.7	2.3	79.3	87.51	103.44	2.68
2	Đầu	2.2	84.9	0.6	53.1	0.54	21.0	1.4	38.9	53.32	63.94	1.66
3	Tay P	4.7	181.5	1.0	88.5	1.29	49.7	3.0	119.4	114.07	131.77	3.41
4	Tay T	4.4	169.9	0.9	79.6	0.96	37.0	3.0	110.6	116.95	132.88	3.44
5	Lưng	3.9	150.6	1.1	97.3	0.63	24.3	2.8	90.0	106.81	126.28	3.27
6	Sườn P	3.0	115.8	1.0	88.5	0.55	21.1	2.0	60.3	77.03	94.73	2.45
7	Sườn T	4.2	162.2	1.0	88.5	0.92	35.4	2.8	102.0	109.06	126.76	3.28
8	Chân P	5.0	193.1	1.2	106.2	0.65	25.1	3.8	126.6	146.71	167.95	4.35
9	Chân T	6.2	239.4	1.1	97.3	0.82	31.6	4.9	169.9	188.31	207.78	5.38
10	Đuôi	4.7	181.5	0.9	79.6	0.87	33.6	3.4	121.0	131.94	147.87	3.83
TB		4.18	161.39	0.97	85.84	0.80	31.05	2.93	101.80	113.17	130.34	3.38
SD		1.12	43.06	0.16	14.48	0.23	8.76	0.97	37.02	37.63	39.66	1.03

Lô 2: Mô hình

STT	Dấu	TC		TG		HDL-C		LDL-C			Non - HDL	
		mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L	A-mg/dL	F-mg/dL	mg/dL	mmol/l
13	Trắng	10.4	401.5	10.0	885.0	1.10	42.4	4.8	174.1	182.15	359.14	9.30
14	Đầu	11.9	459.5	12.9	1141.6	1.25	48.3	4.8	180.0	182.84	411.16	10.65
15	Tay P	11.4	440.2	4.6	407.1	0.96	37.2	8.3	294.9	321.54	402.95	10.44
16	Tay T	9.1	351.4	7.6	672.6	1.84	70.9	3.8	167.2	145.94	280.45	7.26
17	Lưng	9.5	366.8	8.8	778.8	1.84	71.1	3.7	161.9	139.94	295.70	7.66
18	Sườn P	8.9	343.6	4.1	362.8	1.21	46.8	5.8	216.0	224.26	296.83	7.69
19	Sườn T	9.6	370.7	7.7	681.4	1.53	59.2	4.6	182.9	175.17	311.46	8.07
20	Chân P	10.4	401.5	10.0	885.0	2.24	86.6	3.6	174.1	137.95	314.94	8.16
21	Chân T	9.7	374.5	6.7	592.9	1.71	66.1	4.9	202.3	189.83	308.42	7.99
22	Đuôi	8.4	324.3	9.5	840.7	1.48	57.1	2.6	112.6	99.08	267.22	6.92
TB		9.93	383.40	8.19	724.78	1.52	58.57	4.69	186.60	179.87	324.83	8.41
SD		1.10	42.53	2.65	234.60	0.40	15.33	1.57	46.75	60.74	49.67	1.29
p so với chứng		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.000	0.009	0.000	0.000

Lô 3: Chứng dương (Atorvastatin 100 mg/kg)

STT	Dấu	TC		TG		HDL-C		LDL-C			Non - HDL	
		<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>A-mg/dL</i>	<i>F-mg/dL</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/l</i>
23	Đầu	8.8	339.8	8.3	734.5	1.34	51.8	3.7	145.6	141.07	287.97	7.46
24	Tay P	4.8	185.3	8.1	716.8	1.04	40.2	0.1	9.8	1.77	145.13	3.76
25	Tay T	7.6	293.4	15.4	1362.8	2.10	81.1	-1.5	-9.2	-60.23	212.34	5.50
26	Lưng	10.3	397.7	11.3	1000.0	2.87	110.8	2.3	149.9	86.88	286.88	7.43
27	Sườn P	8.5	328.2	9.9	876.1	2.13	82.4	1.9	109.7	70.56	245.79	6.37
28	Chân P	8.8	339.8	6.7	592.9	2.07	79.9	3.8	171.1	141.28	259.87	6.73
27B	Sườn T	3.2	123.6	8.6	761.1	1.93	74.5	-1.807	-53.8	-103.16	49.05	1.27
29	Chân T	7.3	281.9	5.6	495.6	1.10	42.4	2.2	136.5	140.34	239.45	6.20
30	Đuôi	8.7	335.9	15.2	1345.1	2.58	99.7	-1.2	32.2	-32.82	236.21	6.12
31	Đầu-Lưng	8.8	339.8	8.9	787.6	3.00	116.0	1.8	136.0	66.25	223.77	5.80
TB		7.68	296.53	9.80	867.26	2.02	77.88	1.11	82.77	45.19	218.65	5.66
SD		2.13	82.26	3.29	291.16	0.69	26.70	2.09	80.06	89.07	72.17	1.87
p so với mô hình		0.008	0.008	0.244	0.244	0.063	0.063	0.000	0.002	0.001	0.001	0.001
p so chứng		0.0002	0.0002	0.0000	0.0000	0.0001	0.0001	0.0225	0.5037	0.0392	0.0033	0.003

Lô 5 Hạ mỡ NK2 liều cao (14.5g/kg)

STT	Dầu	TC		TG		HDL-C		LDL-C			Non - HDL	
		<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>A-mg/dL</i>	<i>F-mg/dL</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/l</i>
62	Trắng	8.5	328.2	7.9	699.1	2.52	97.2	2.4	141.5	91.16	230.99	5.98
63	Đầu	10.2	393.8	10.1	893.8	1.36	52.7	4.2	165.6	162.36	341.12	8.84
64	Tay P	7.8	301.2	6.5	575.2	1.53	58.9	3.3	139.5	127.21	242.26	6.27
65	Lưng	7.4	285.7	6.1	539.8	1.56	60.3	3.1	132.0	117.45	225.41	5.84
65B	Sườn P	8.2	316.6	6.8	601.8	1.45	56.0	3.7	148.6	140.25	260.60	6.75
66	Sườn T	9.1	351.4	3.3	292.0	2.09	80.7	5.5	235.6	212.24	270.65	7.01
67	Chân P	9.5	366.8	7.5	663.7	1.81	69.8	4.3	182.6	164.25	297.00	7.69
68	Chân T	5.8	223.9	10.5	929.2	0.95	36.6	0.1	6.3	1.50	187.34	4.85
69	Đuôi	8.0	308.9	5.4	477.9	1.27	49.0	4.3	164.0	164.31	259.88	6.73
70	Đầu- Đuôi	6.8	262.5	9.4	831.9	0.97	37.5	1.6	58.6	58.68	225.05	5.83
TB		8.13	313.90	7.35	650.44	1.55	59.87	3.24	137.43	123.94	254.03	6.58
SD		1.30	50.01	2.23	197.45	0.48	18.72	1.57	63.93	60.71	42.90	1.11
p so với mô hình		0.004	0.004	0.453	0.453	0.867	0.867	0.053	0.065	0.054	0.003	0.003
p so với lô 3		0.575	0.575	0.067	0.067	0.098	0.098	0.019	0.109	0.033	0.199	0.199
p so với lô 6		0.787	0.787	0.928	0.928	0.600	0.600	0.720	0.842	0.721	0.661	0.661

0.000338

Lô 4 Hạ mỡ NK2 liều thấp (4.8g/kg)

STT	Dấu	TC		TG		HDL-C		LDL-C			Non - HDL	
		<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/L</i>	<i>A-mg/dL</i>	<i>F-mg/dL</i>	<i>mg/dL</i>	<i>mmol/l</i>
52	Trắng	9.1	351.4	10.5	929.2	1.82	70.3	2.5	121.0	95.21	281.05	7.28
53	Đầu	5.6	216.2	5.3	469.0	1.41	54.5	1.8	82.2	67.91	161.72	4.19
54	Tay P	9.3	359.1	10.6	938.1	1.64	63.5	2.8	126.3	107.96	295.57	7.66
55	Tay T	10.1	390.0	6.0	531.0	1.81	70.0	5.6	227.4	213.77	319.96	8.29
56	Lưng - SP	6.8	262.5	5.9	522.1	1.57	60.6	2.5	114.3	97.52	201.95	5.23
57	Sườn P	6.5	251.0	4.9	433.6	1.32	50.8	3.0	119.8	113.44	200.17	5.18
58	Sườn T	5.1	196.9	6.1	539.8	1.56	60.2	0.8	52.1	28.75	136.71	3.54
59	Chân P	9.0	347.5	8.6	761.1	1.74	67.1	3.4	147.8	128.18	280.39	7.26
60	Chân T	9.1	351.4	8.8	778.8	1.90	73.3	3.2	148.0	122.30	278.05	7.20
61	Đầu-Lưng	8.8	339.8	5.9	522.1	1.61	62.2	4.5	183.8	173.14	277.57	7.19
TB		7.94	306.56	7.26	642.48	1.64	63.25	3.00	132.26	114.82	243.31	6.30
SD		1.76	68.08	2.16	190.86	0.19	7.15	1.33	49.19	51.39	62.70	1.62
p so với mô hình		0.007	0.007	0.401	0.401	0.393	0.393	0.018	0.021	0.019	0.005	0.005
p so với lô 3		0.770	0.770	0.056	0.056	0.112	0.112	0.027	0.113	0.046	0.425	0.425