

**VIỆN NGHIÊN CỨU VÀ PHÁT TRIỂN Y DƯỢC CỔ TRUYỀN DÂN TỘC
TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG THUỐC DÂN TỘC**

BÁO CÁO KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

**THẢO DƯỢC ĐẶC TRỊ BỆNH DẠ DÀY
TRONG BÀI THUỐC SƠ CAN BÌNH VỊ TÁN THỂ HỆ 2**

Chủ nhiệm đề tài: Ths.BS Nguyễn Thị Tuyết Lan

Hà Nội - 2021

MỤC LỤC

Phần 1: Tổng quan	1
1. Lý do nghiên cứu	1
2. Mục đích, nhiệm vụ nghiên cứu	2
Phần 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu	3
1. Đối tượng	3
2. Khách thể nghiên cứu	3
3. Phương pháp nghiên cứu	3
4. Thời gian và Các giai đoạn nghiên cứu	4
Phần 3: Kết quả nghiên cứu	5
1. Tổng quan kết quả nghiên cứu về ba loại thảo dược Củ gà ấp, củ gà ấp và Lá khô Tía	5
1.1. Củ gà ấp	5
1.2. Cây dạ cẩm	6
1.3. Lá khô tía	7
2. Nghiên cứu 3 loại thảo dược: Hình thái, phân tách dược chất và đánh giá tác dụng	8
2.1. Củ gà ấp (củ gà ấp)	8
2.1.1. Mô tả dược liệu	8
2.1.2. Thành phần hóa học	9
2.1.3. Nghiên cứu và thử tác dụng	10
2.2. Cây dạ cẩm	11
2.2.1. Mô tả dược liệu	11
2.2.2. Thành phần hóa học	12
2.2.3. Nghiên cứu và thử tác dụng	12
2.3. Lá Khô Tía	14
2.3.1. Mô tả dược liệu	14
2.3.2. Nghiên cứu và thử tác dụng	14
3. Kết quả thử nghiệm lâm sàng chế phẩm thuốc kết hợp giữa 3 loại thảo dược trên 400 bệnh nhân	15
3.1. Đợt 1	15
3.2. Đợt 2	16
3.3. Tổng kết kết quả thử nghiệm lâm sàng của cả 2 đợt	18
Kết luận	19

Phần 1: Tổng quan

1. Lý do nghiên cứu

Nhận thức được nhu cầu của người dân trong việc điều trị chứng đau dạ dày, cũng như là ảnh hưởng tích cực của bài thuốc đặc trị dạ dày Sơ can Bình vị tán thế hệ 1, Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Thuốc dân tộc đã tìm cách để nghiên cứu và cải tiến bài thuốc này sao cho có thể lưu giữ được tối đa những ưu điểm của bài thuốc, đồng thời cải thiện những vấn đề còn tồn đọng nhằm mang đến cho người bệnh một sản phẩm thuốc từ thảo dược thiên nhiên điều trị bệnh lý về dạ dày hiệu quả và tối ưu hơn.

Trong quá trình 10 năm điều trị cho người bệnh dạ dày bằng Sơ can Bình vị tán, Thạc sĩ, Bác sĩ Nguyễn Thị Tuyết Lan - Giám đốc chuyên môn Trung tâm Thuốc dân tộc đã dành ra nhiều thời gian để nghiên cứu, quan sát kết quả thực tế bài thuốc thế hệ 1 trên người bệnh sử dụng.

Trong suốt quá trình đó, đội ngũ bác sĩ, chuyên gia của Trung tâm Thuốc dân tộc đã nhận thấy việc kết hợp với các vị thuốc chữa dạ dày hiệu quả khác như chè dây, lá khôi, ô tặc cốt, cam thảo và đặc biệt là tinh nghệ đã mang đến hiệu quả chữa chữa trị dạ dày vô cùng hiệu quả.

Tuy nhiên, về mặt thời gian, người bệnh vẫn phải duy trì một liệu trình sử dụng tương đối dài, thông thường là từ 3 - 4 tháng để có thể điều trị dứt điểm bệnh dạ dày. Đối với những người cơ địa kháng thuốc, bệnh nặng, khả năng hấp thụ thấp, thời gian điều trị có thể dài hơn lên tới 5-6 tháng.

Chính vì vậy, trong suốt thời gian điều trị cho người bệnh, các y bác sĩ tại Thuốc dân tộc đã tiếp tục nghiên cứu thêm những loại thảo dược mới để tìm hướng cải thiện cho bài thuốc Sơ can Bình vị tán thế hệ 2 này. Trong quá trình tìm hiểu, Củ gà ấp, Cây Dạ cầm, Lá khôi tía được phát hiện ra là những vị thuốc rất quen thuộc trong YHCT thường được dùng trong công tác điều trị bệnh dạ dày, tuy nhiên chưa có một nghiên cứu khoa học hay bài thuốc dạ dày nào được kết hợp từ ba vị thuốc kể trên.

Công thức Sơ can Bình vị tán thế hệ 2 với 3 chủ dược chính là Củ gà ếp, Dạ cầm đỏ, Lá khô tía là một phát kiến mới trong việc hỗ trợ điều trị chứng đau dạ dày của Hội đồng Nghiên cứu - Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Thuốc dân tộc và Viện Nghiên cứu và Phát triển Y dược cổ truyền dân tộc.

Trong quá trình nghiên cứu từ các phương thuốc của các dân tộc vùng miền núi phía Bắc như Dao, Tày, Hội đồng nghiên cứu đã nhận ra hiệu quả của 3 vị thuốc này trong việc điều trị chứng đau dạ dày cũng như 1 số cách thức người dân tộc đang phối chế, kết hợp cùng những vị thuốc khác. Tuy nhiên, tất cả chỉ là những công thức được lưu truyền chứ chưa được nghiên cứu khoa học, bài bản.

Với những lý do kể trên, đề tài nghiên cứu về “***Thảo dược đặc trị bệnh dạ dày trong bài thuốc Sơ can Bình vị tán thế hệ 2***” được thực hiện nhằm tìm ra cách thức, tỷ lệ bào chế, kết hợp các thảo dược quý này để phát triển bài thuốc Sơ can Bình vị tán thế hệ 2 để mang đến một giải pháp đặc trị bệnh dạ dày cải tiến, rút ngắn thời gian sử dụng.

2. Mục đích, nhiệm vụ nghiên cứu

2.1. Mục đích:

Tìm được các cây thuốc truyền thống có thể ứng dụng phòng và điều trị bệnh dạ dày nhằm hạn chế các ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe người bệnh khi lạm dụng các thuốc hóa học trị liệu. Công thức phối chế để tạo nên bài thuốc Sơ can Bình vị tán thế hệ 2.

2.1. Nhiệm vụ:

- Cải tiến bài thuốc chữa đau dạ dày Sơ can Bình vị tán thế hệ 1, duy trì những thế mạnh và hiệu quả trong việc điều trị các bị lý về dạ dày, đồng thời cải thiện về mặt thời gian điều trị.

- Đẩy mạnh việc ứng dụng thảo dược vào công tác phòng và trị bệnh dạ dày bằng cách tạo ra được các chế phẩm có tính ứng dụng cao và áp dụng vào thực tiễn sản xuất.

- Kết hợp 3 loại thảo dược đặc trị dạ dày (củ gà áp, dạ cẩm đỏ, lá khôi tía) cùng các thảo dược hỗ trợ tổng hòa trong một bài thuốc nhằm nâng cao hiệu quả điều trị và rút ngắn thời gian điều trị bệnh.

- Tập hợp các nhà khoa học YHCT đầu ngành tiêu hóa nhằm hướng đến dùng thảo dược giải quyết các vấn đề về phòng trị bệnh.

- Hình thành nhóm nghiên cứu mạnh để tham gia đấu thầu các chương trình/ dự án trong nước và quốc tế.

- Tạo ra được ít nhất 1 chế phẩm thế hệ 2 có nguồn gốc thảo dược có thể ứng dụng trong phòng và trị bệnh dạ dày.

Phần 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

1. Đối tượng

Bài thuốc đặc trị dạ dày Sơ can Bình vị tán thế hệ 2: Công thức, Hiệu quả và Thời gian điều trị chấm dứt các bệnh lý về dạ dày như viêm dạ dày, đau dạ dày, loét dạ dày, trào ngược dạ dày, viêm hang vị, viêm loét bờ cong nhỏ dạ dày

2. Khách thể nghiên cứu

3 thành phần chính trong bài thuốc: Củ gà áp, Dạ cẩm đỏ, Lá khôi tía

3. Phương pháp nghiên cứu

- Động vật thí nghiệm, chủng vi khuẩn do Viện Vệ sinh dịch tễ cung cấp . Chuột nhắt trắng, trọng lượng 20g + - 2g dòng Swiss, cả hai giống đực và cái. Thỏ khỏe mạnh, trọng lượng 3kg + - 0.2k, cả hai giống đực và cái.

- Hóa chất dung môi đạt các tiêu chuẩn tinh khiết và tinh khiết phân tích

- Làm tiêu bản, chụp ảnh cây. Quan sát và phân tích vi phẫu dưới kính hiển vi

- Định tính các thành phần nói chung và các chất riêng của từng thảo dược nói riêng bằng phản ứng hóa học, sắc ký lớp mỏng và sắc ký giấy.

- Chiết xuất và phân lập các chất bằng sắc ký cột và SKLM điều chế

- Thử độc tính cấp theo phương pháp Dược điển Việt Nam, độc tính bán cấp theo xét nghiệm sinh hóa lâm sàng. Thực hiện tại phòng Đông y thực nghiệm - Viện Y học cổ truyền Việt Nam.

- Thăm do ảnh hưởng trên di truyền bằng việc phân tích tần số nhiễm sắc thể tế bào tủy xương và tinh hoàn chuột. Thực hiện tại bộ môn Sinh vật - Trường Đại học Y Hà Nội.

- Xác định hoạt tính chống oxy hóa bằng định lượng lượng malondialdehyde tạo thành trong quá trình peroxy hóa lipid trên ty thể tế bào gan chuột. Thực hiện tại bộ môn Sinh hóa Trường Đại học Y Hà Nội.

- Thăm dò khả năng thải độc theo phương pháp gián tiếp qua giấc ngủ nexo paritai - tại bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

- Xác định khả năng ức chế loét và giảm độ acid dịch vị theo phương pháp thắt môn vị của Shay và Petocz tại bộ môn Dược lý - Học viện Quân y.

- Thử tác dụng giảm đau theo phương pháp test “quần quai” (Writhing test) với tác nhân gây đau là acid acetic. Thực hiện tại Học viện Quân y.

- Thử khả năng gây ức chế vi khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên thạch - Tại Viện Kiểm nghiệm Bộ Y tế.

4. Thời gian và Các giai đoạn nghiên cứu

Tổng thời gian nghiên cứu được chia làm 6 tháng, trong đó được chia làm 3 giai đoạn

- Giai đoạn 1: Từ 15/1/2021 - 15/2/2021: Giai đoạn nghiên cứu tài liệu, tìm mẫu thử các loại thảo dược và thu thập thông tin nghiên cứu

- Giai đoạn 2: Từ 15/2/2021 - 15/4/2021: Thực địa, phân tách dược chất và bào chế sản phẩm thử. Trong đó quá trình thực địa sẽ diễn ra đầu tiên, địa điểm là tại các vùng núi Bắc Kạn nơi có người dân tộc Tày và Dao sinh sống - thu thập trực tiếp tài liệu và kinh nghiệm sử dụng thảo dược của bà con. Sau khi đã thu thập đủ dữ liệu cần thiết sẽ tiến hành phân tách dược chất và thử nghiệm, bào chế sản phẩm thử tại phòng thí nghiệm.

- Giai đoạn 3: Từ 15/4/2021 - 20/6/2021: Thử nghiệm lâm sàng trên mẫu 400 người bệnh.

Phần 3: Kết quả nghiên cứu

1. Tổng quan kết quả nghiên cứu về ba loại thảo dược Củ gà ấp, củ gà ấp và Lá khô Tía

Củ gà ấp, củ gà ấp và Lá khô tía đã được nghiên cứu nhiều lần về tác dụng trong việc điều trị các bệnh lý về dạ dày, trong đó bao gồm các thể bệnh như viêm đau, viêm loét dạ dày, viêm trợt dạ dày, trào ngược dạ dày, nhiễm khuẩn HP.

Theo như các nghiên cứu đã chỉ ra trước đây, các loại thảo dược này đều mang đến những công dụng cao, có thành phần hóa học (theo YHHĐ) và tính vị (theo YHCT) phù hợp và có dược tính cao tốt cho người bệnh dạ dày.

Theo đó, các nghiên cứu khoa học trước đây về ba loại thảo dược này đã cho ra những kết quả sau:

1.1. Củ gà ấp

Nghiên cứu tác dụng ức chế một số dòng tế bào ung thư và theo dõi tích lũy alcoloid của củ gà ấp - TS. Nguyễn Quốc Huy (2015)

- Nghiên cứu thành công tác dụng ức chế một số dòng tế bào ung thư và theo dõi tích lũy alcoloid - một hoạt chất chính có nhiều tác dụng hứa hẹn - từ cây trồng loài *Stephania dielsiana* y.c.wu (còn có tên là củ gà ấp hay Bình vôi đỏ), trong dân gian được dùng làm thuốc chữa đau dạ dày, phong thấp,...

- Các chất tinh khiết được phân lập từ các loài thuộc chi này có tác dụng kháng một số dòng tế bào ung thư như cepharanthin, tetrandrin thuộc nhóm bis benzyloquinolin. Hơn nữa, hợp chất oxostephanin đã phân lập tinh khiết từ loài *S.dielsiana* ở Việt Nam. Quá trình thử nghiệm hợp chất này cho thấy có tác dụng gây độc cả 3 dòng tế bào ung thư gan (Hep-2), ung thư cơ vân (RD) và ung thư phổi (LU) với IC50 (Inhibiting cell growth by 50% - giá trị nồng độ tại đó chất khử có khả năng ức chế 50% sự tăng trưởng của tế bào) lần lượt là 0,566; 0,755 và 1,404 µg/ml.

1.2. Cây dạ cẩm

Sử dụng trong dân gian

- Có lịch sử điều trị viêm lưỡi, loét lưỡi và họng trong Y học cổ truyền hàng trăm năm

- Dạ cẩm cũng được ghi trong Danh lục cây thuốc thiết yếu năm 1986 và những sách hướng dẫn về sử dụng cây thuốc, Dược điển Việt Nam I (1983)

Luận án tiến sĩ: “Nghiên cứu về thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Dạ cẩm” – Lại Quang Long (2001)

- Nghiên cứu tại bệnh viện trung ương quân đội 108, Tiến sĩ Lại Quang Long cho thấy Dạ cẩm có tác dụng chống viêm tốt. Dạ cẩm làm giảm 32% tình trạng viêm cấp tính và giảm 27% tình trạng viêm mãn tính. Quá trình viêm được khống chế, người bệnh không còn cảm thấy đau âm ỉ, bứt rứt dạ dày cho bệnh viêm loét gây nên.

Dạ cẩm được ứng vào điều trị bệnh đau dạ dày tại Bệnh viện Lạng Sơn (1962)

- Lần đầu tiên bệnh viện Lạng Sơn đưa cây Dạ cẩm vào điều trị bệnh đau dạ dày, xuất phát từ kinh nghiệm nhân dân dùng cây này chống loét rất tốt. Qua nghiên cứu lâm sàng cho thấy, cây Dạ cẩm có tác dụng giảm đau, trung hòa axit trong dạ dày, bớt ợ chua, vết loét se lại. Từ đó, những bài thuốc này đã vượt khỏi phạm vi tỉnh Lạng Sơn và lan ra nhiều địa phương trong toàn quốc.

Khoa dược liệu Trường đại học dược khoa đã chế tạo thành công cao mềm cho hiệu quả chữa bệnh cao (1967)

- Nghiên cứu về tác dụng chống oxy hóa, loại bỏ gốc tự do, chống viêm, kháng khuẩn của các chiết xuất methanolic các loài Hedyotis. Hedyotis capitellata thử nghiệm thể hiện đặc tính chống oxy hóa rất mạnh khi so sánh với Vitamin E (alpha-tocopherol) với phần trăm ức chế 89-98% trong thử nghiệm FTC và 60-95% trong thử nghiệm TBA. Thêm nữa Hedyotis

capitellata thể hiện tác dụng kháng khuẩn, kháng lại các vi khuẩn B. subtilis B28, MRSA and P. aeruginosa.

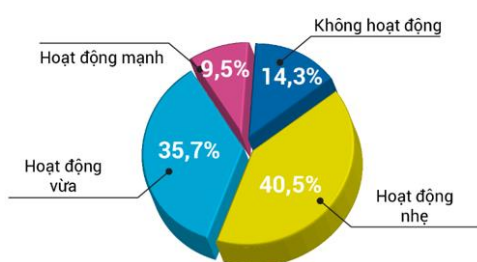
Nghiên cứu của viện Hóa học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2011)

- Năm 2011, các nhà khoa học viện Hóa học đã phân lập và tìm ra các hoạt chất hedyocatelline và hedyocapitine. Các alkaloid này không chỉ giảm đau chống viêm, mà còn có tác dụng ức chế hoạt động vi khuẩn viêm loét dạ dày HP.

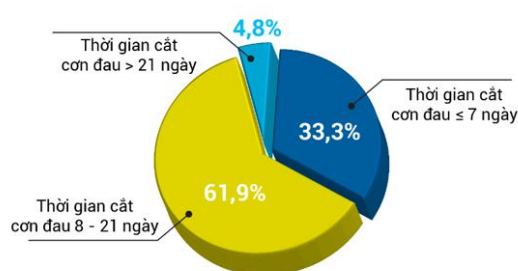
1.3. Lá khô tía

Nghiên cứu tác dụng của chế phẩm HPmax trong điều trị loét hành tá tràng có Helicobacter pylori của Phạm Bá Tuyến (2014)

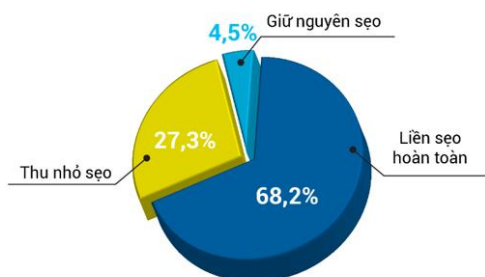
- Nghiên cứu kết hợp cây Cao khô Chè dây, Dạ cẩm và Lá Khôi
- Kết quả Hpmax có tác dụng chống loét dạ dày tá tràng, giảm đau, liền sẹo, giảm thể tích dịch rỉ viêm, chống viêm mạn tính.



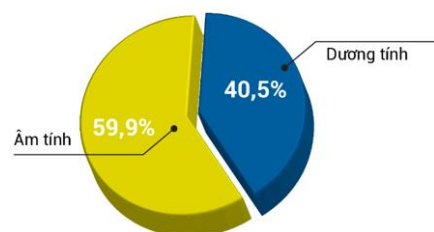
Kết quả giảm viêm dạ dày của 3 dược liệu: Chè dây, Dạ cẩm, Lá Khôi (Khô nhưng)



Kết quả cải thiện triệu chứng đau sau khi sử dụng 3 dược liệu: Chè dây, Dạ cẩm, Lá Khôi (Khô nhưng)



Tỷ lệ bệnh nhân liền sẹo sau khi sử dụng 3 dược liệu: Chè dây, Dạ cẩm, Lá Khôi (Khô nhưng)



Kết quả HP sau 4 tuần điều trị của 3 thảo dược: Chè dây, Dạ cẩm, Lá Khôi (Khô nhưng)

Biểu đồ 1: kết quả nghiên cứu tác dụng của chế phẩm HPmax trong điều trị loét hành tá tràng

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Tác dụng tốt trong giảm đau, diệt HP và liền sẹo trên bệnh nhân loét hành tá tràng HP (+)
 - Hpmax có tác dụng cắt cơn đau với tỷ lệ loại tốt là 33,3%, loại trung bình là 61,9%, loại kém là 4,8%
 - Hpmax có tác dụng diệt HP đạt 59,5%
 - Hpmax có tác dụng làm liền sẹo với tỷ lệ loại tốt là 68,2%, loại trung bình là 27,3%, loại kém là 4,5%

Nghiên cứu thành phần hóa học loài *Ardisia balansana* thuộc họ Đơn nem (Myrsinaceae) ở Việt Nam Lưu Tuấn Anh (2013)

- Về thành phần hóa học của các loài trong chi *Ardisia* kết quả đã thành công trong việc phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ lá, thân, rễ cây *Ardisia balansana*.

Nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học một số loài *Ardisia* thuộc họ Myrsinaceae ở Việt Nam của Trịnh Anh Viên (2017)

- Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 40 hợp chất trong đó có 2 hợp chất mới, 12 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Ardisia*
 - 16 ngoài ra trong nghiên cứu còn thăm dò các hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn, kháng virus và hoạt tính gây độc tế bào của một số hợp chất phân lập được.

2. Nghiên cứu 3 loại thảo dược: Hình thái, phân tách dược chất và đánh giá tác dụng

2.1. Củ gà áp (củ gà áp)

Tổng quan về củ gà áp

2.1.1. Mô tả dược liệu

củ gà áp là cây dạng dây leo, có chiều dài khoảng 2 – 3m. Rễ củ to, đa dạng, nhưng thường trơn dài, có vỏ ngoài nhẵn nheo, thịt cứng rắn màu vàng nâu nhạt.

Lá mọc so le, hình tam giác gần tròn, phiến mỏng nhẵn, góc bằng hoặc hơi lõm, đầu nhọn, mép nguyên hoặc có ít răng rất nhỏ ở phía đầu lá, hơi lượn sóng. Cuống lá dài, gân lá xếp dạng chân vịt, nửa cuống phía trên và gân lá mặt sau có màu tím hoặc hồng.

Hoa củ gà ấp nhỏ, thường mọc thành tán đơn, khác gốc. Cánh hoa màu vàng cam.

Quả có hình trứng dẹt, hạt có 4 hàng gai cong nhọn và có lỗ ở giữa.

2.1.2. Thành phần hóa học

Trong củ gà ấp có chứa nhiều chất alcaloid:

- Cyclanolin,
- L – tetrahydropalmatine,
- crebanin,...

Trong đó, L.tetrahydropalmatin (gindarin) có tác dụng an thần, gây ngủ, hạ sốt, giảm đau, giải co thắt cơ trơn.

Chi tiết về hàm lượng chất:

- Alcaloid ở mẫu củ 1,2 năm tuổi của cây trồng từ hạt lần lượt là 2.68% và 4.24%.

- Alcaloid ở mẫu củ 1,2 năm tuổi của cây trồng từ thân lần lượt là 2.06% và 3.10%.

- Theo dõi theo mùa thu hái cho thấy hàm lượng alcaloid toàn phần cao nhất vào mùa đông (4.285%), mùa thu (4.09%), mùa hạ (3.716%) và thấp nhất là mùa xuân (3.314%).

Đánh giá sự tích lũy oxostephanin trong củ của cây trồng theo thời gian:

- Ở mẫu củ 1,2 năm tuổi của cây trồng từ hạt lần lượt là 0.186% và 0.212%.

- Ở mẫu củ 1,2 năm tuổi của cây trồng từ thân lần lượt là 0.159% và 0.219%.

- Hàm lượng oxostephanin ở củ thu hái theo mùa trong năm cho thấy cao nhất là mùa đông (0.3956%), thu (0.2058%), mùa hạ (0.1557%) và thấp nhất là mùa xuân (0.1297%).

2.1.3. Nghiên cứu và thử tác dụng

Cây có vị chát, đắng tính hàn, có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, tán ứ, chỉ thống. Nhân dân địa phương thường dùng dược liệu làm thuốc chữa đau đầu, đau bụng, đau lưng, sốt rét, phù thũng, chân tay nhức mỏi, chữa kiết lỵ, đại tiện ra máu, đau bụng kinh niên, đau dạ dày.

Những tác dụng chính đối với sức khỏe

- Tác dụng hạ huyết áp nhanh, có tác dụng làm giãn mạch vành, giảm lượng tiêu hao oxy ở tim, tăng lượng máu đến mạch vành, chống rối loạn nhịp tim.

- Hỗ trợ chống dị ứng, giải nhiệt.
- Tác dụng chống viêm, giảm đau.
- Tác dụng ức chế trực khuẩn lỵ Shigella.
- Tác dụng trên hệ thống thần kinh trung ương và hệ thống hô hấp.
- Dùng ngoài, dược liệu để tươi, giã nhỏ với ít muối và gừng, đắp tại chỗ, có tác dụng chữa nhọt độc.

Các chất tinh khiết được phân lập từ các loài thuộc chi này có tác dụng kháng một số dòng tế bào ung thư như cepharanthin, tetrandrin thuộc nhóm bis benzyloquinolin. Hơn nữa, hợp chất oxostephanin đã phân lập tinh khiết từ loài *S. dielsiana* ở Việt Nam. Quá trình thử nghiệm hợp chất này cho thấy có tác dụng gây độc cả 3 dòng tế bào ung thư gan (Hep-2), ung thư cơ vân (RD) và ung thư phổi (LU) với IC50 (Inhibiting cell growth by 50% - giá trị nồng độ tại đó chất khử có khả năng ức chế 50% sự tăng trưởng của tế bào) lần lượt là 0,566; 0,755 và 1,404 µg/ml.

Các kết quả thực tế trong quá trình nghiên cứu đã đạt được như sau:

- Chiết xuất và lựa chọn thành công được 3 phân đoạn cho thử nghiệm tác dụng ức chế tế bào ung thư; Thử nghiệm được tác dụng của các phân đoạn

lên 6 dòng tế bào ung thư và 1 dòng tế bào thường; Lựa chọn được phân đoạn có tác dụng ức chế các dòng tế bào ung thư tốt nhất trong các phân đoạn chiết xuất.

Từ phân đoạn SM2, phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 5 hoạt chất tinh khiết, bao gồm: oxostephanin, thailandin, crebanin, dehydrocrebanin, dehydrocorydalmin. Riêng chất tinh khiết Thailandin được chiết xuất từ thân và lá củ gà ấp.

- Thử tác dụng ức chế 6 dòng tế bào ung thư của 3 hoạt chất tinh khiết oxostephanin, crebanin và dehydrocrebanin. Oxostephanin là hoạt chất có tác dụng ức chế các dòng tế bào ung thư mạnh nhất, có độc tính trên 5 dòng tế bào ung thư như: HeLa (tế bào ung thư cổ tử cung), HepG2, OVCAR-8 (tế bào ung thư buồng trứng), MDA và H358 (tế bào ung thư biểu mô cuống phổi và phế nang ở người). Giá trị IC50 trên các dòng tế bào đều khá thấp, đặc biệt IC50 trên dòng tế bào HeLa, HepG2, OVCAR-8 đều nhỏ hơn 1 μ g/ml. Riêng đối với dòng N87 (tế bào ung thư dạ dày), mẫu oxostephanin không thể hiện độc tính.

- Kiểm tra oxostephanin có tác động theo cơ chế gây kích hoạt con đường chết theo chương trình (apoptosis). Oxostephanin có tác dụng làm tăng tỷ lệ apoptosis của dòng tế bào OVCAR-8 lên 6,5 lần.

- Thử tác dụng gây độc tổ tế bào của phân đoạn SM2 ở in vivo. Phân đoạn SM2 là phân đoạn có tác dụng mạnh nhất trên cả 6 dòng tế bào ung thư thử nghiệm. Cả phân đoạn SM2 và chất đối chứng Taxol đều có tác động lên dòng tế bào thường HEK293, tuy nhiên mức độ tác động thấp hơn so với tác động trên các dòng tế bào ung thư. Tác dụng của SM2 trên in vivo cho thấy SM2 có tác dụng làm thoái lui thể tích khối u trên chuột là 33,7%.

2.2. Cây dạ cẩm

2.2.1. Mô tả dược liệu

Là thực vật thân bụi, leo có kích thước từ 2-3m. Thân cây nhỏ, hình trụ, bên ngoài có một lớp lông tơ. Thân cây chia thành nhiều đốt và mỗi đốt phình to, đây cũng là vị trí dịch chiết và trữ nước của cây.

Lá cây mọc so le nhau, có hình trứng hoặc hình bầu dục dài khoảng từ 6-12cm. Bề mặt trên của lá có màu xanh sẫm hơn mặt dưới, cuống lá ngắn, gân nổi trên mặt lá.

Hoa dạ cẩm có màu trắng vàng hoặc màu trắng tinh khiết tùy vào môi trường sống của cây. Hoa thường mọc thành từng cụm hoặc ở kẽ lá ở ngọn cây.

2.2.2. Thành phần hóa học

Định tính các nhóm chất hữu cơ trong dược liệu bằng phản ứng hóa học cho thấy cây dạ cẩm có thành phần chính là nhóm chất alkaloid, saponin, ancharanoid, iridoid, tanin

2.2.3. Nghiên cứu và thử tác dụng

Thử độc tính cấp:

- Dung dịch alkaloid toàn phần 1% (AN1) không gây độc cấp diễn khi dùng đường uống trên chuột nhắt ở liều dưới 1400 mg/kg thể trọng.

- Nước sắc thân, lá dược liệu, tỉ lệ 2:1 (NS1) thử trên chuột nhắt theo đường uống có LD50 = 80,00 + - 12,06 g/kg thể trọng, tương đương với 160 = - 24,12 g dược liệu khô

- Nước sắc rễ dược liệu tỉ lệ 4:1 (NS2) thử trên chuột nhắt theo đường uống có LD50 = 86,00 +- 14,00 g/kg thể trọng, tương đương với 344,00 + - 64,00 g dược liệu khô.

Thử tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau bằng acid acetic 0,6%: cả hai chế phẩm (AN1 & NS1) không thể hiện tác dụng giảm đau khi so sánh số lần quặn đau trung bình của các lô thử so với lô chứng đều có $p > 0,05$.

- Thử tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau bằng nhiệt: cả hai chế phẩm AN1 và NS1 đều có tác dụng giảm đau, tỉ lệ giảm đau của AN1 là 37,9% ở liều 39,2mg alkaloid/kg TT chuột và NS1 là 56,9% với liều 7,8g dược liệu khô/kg TT chuột khi so sánh thời gian đáp ứng trước và sau dùng so với lô chứng.

Thử tác dụng chống viêm cấp tính: Cả hai chế phẩm AN1 và NS1 thể hiện chống viêm khá mạnh, tỉ lệ ức chế phù chân chuột của AN1 là 32,35% (liều 196,1mg alkaloid), của NS1 là 24,51% với mức liều 37,4g dược liệu khô/kg TT khi so sánh với lô chứng ($P < 0,05$).

- Thử tác dụng chống viêm mạn tính: cả hai chế phẩm AN1 và NS1 thể hiện tác dụng trên chuột cống: AN1 ở liều 274,4mg/kg TT làm giảm 27,57% và NS1 ở liều 52,36g dược liệu khô/kg TT làm giảm 20,26% trọng lượng trung bình khối u hạt, trong khi ở nhóm điều trị dùng thuốc Hydrocortison (0,0002g/kg thể trọng) làm giảm 33,58% trọng lượng trung bình khối u hạt so với lô chứng.

Thử khả năng làm giảm độ acid dịch vị và chống loét: Chế phẩm AN1 (liều 0,02g/kg TT/ngày) và NS1 (4g dược liệu khô/kg TT/ngày) thể hiện tác dụng làm giảm thể tích dịch vị đạt 79,9% (AN1) và 77,3% (NS1) (so với lô chứng, với $p < 0,01$) và điểm tổn thương đại thể, chỉ số loét giảm 83,3% ở NS1 và 100% ở AN1, còn độ acid tự do và toàn phần so với lô chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Thử tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm: 14 chế phẩm đã được thử trên 5 chủng vi khuẩn Gram (+), 5 chủng vi khuẩn Gram (-), 1 vi nấm (*Candida albicans*): Nước sắc thân, lá và rễ thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên các vi khuẩn kiểm định và nấm *C. albicans*. Dịch chiết cồn thân lá, rễ và dung dịch alkaloid toàn phần ở các nồng độ khác nhau có tác dụng trên vi khuẩn Gram (+)

Thử hoạt tính ức chế vi khuẩn *Helicobacter pylori* in vitro: Nước sắc thân, lá và nước sắc rễ, alkaloid toàn phần, hedyocapitin đều có tác dụng ức chế vi khuẩn *Helicobacter Pylori*. Lượng chất tối thiểu ức chế diệt vi khuẩn HP của alkaloid toàn phần là 100mg và của hedyocapitin là 80 mg. Kết quả trình bày ở bảng:

Lượng chất thử (mg)	200	150	100	75	50	30
Đường kính mẫu AN1 (mm)	24,5	24,0	23,5	12,5	10,5	

Lượng chất thử (mg)	200	160	120	80	40	30
Đường kính mẫu KLD6 (mm)	31,1	29,0	25,8	22,5	16,0	
Đường kính mẫu Amoxicillin (mm)						27,7

2.3. Lá Khôi Tía

2.3.1. Mô tả dược liệu

Cây Khôi tía là cây thân gỗ nhỏ, cao khoảng 50 – 200cm, thân không có lông, rỗng xốp, ít phân nhánh, thân non có sẹo lá sâu, có vỏ màu xám.

Lá Khôi tía có đặc điểm: mọc so le, sát nhau ở đầu thân, phiến hình giáo ngược hoặc trứng ngược, đầu thon và nhọn, gốc thon dài. Mặt trên có màu lục sẫm, mặt dưới có màu nhạt hơn hoặc có màu đỏ tím. Mép lá có khía răng cưa nhỏ. Gân lá nổi hình mạng lưới.

Hoa Khôi tía mọc thành chùm, dài 10 - 15cm, trục chính mang 4 - 6 trục thứ cấp mang mỗi cái 5 - 10 hoa tập hợp thành tán. Cọng hoa 10-12 mm; có 5 lá đài hình tam giác hoặc thuôn, nhọn, cao 1,5 mm; 5 cánh hoa màu trắng pha hồng tím dài 3 mm. Nhị ngắn hơn cánh hoa, bao phấn hình mác nhọn, chỉ nhị rất ngắn.

Bầu hình trứng, vòi mảnh, đầu nhụy hình châm. Hạt Khôi tía có quả mọng, hình cầu, khi chín màu đỏ, có điểm tuyến, đường kính 7 - 8 mm. Hạt có hình cầu, lõm ở góc. Tái sinh bằng hạt và chồi. Có quả tháng 9 - 12.

2.3.2. Nghiên cứu và thử tác dụng

Thử khả năng ức chế tế bào ung thư dạ dày:

Kết quả dịch chiết Lá khô (Ardisia gigantifolia) có khả năng ức chế mạnh hơn so với một số loại dịch chiết bằng ethanol từ các thực vật khác lên sự sinh trưởng của các dòng tế bào ung thư dạ dày đã được báo cáo. Đồng

thời, kết quả phân tích hình ảnh trên kính hiển vi soi ngược chỉ ra sự thay đổi kiểu hình của tế bào khi được xử lý ở nồng độ 100 µg/ml. Cụ thể là hầu hết các tế bào AGS và MKN45 đã thấy rõ sự tăng kích thước đáng kể so với các tế bào không được xử lý (đối chứng). Sự tăng kích thước tế bào được cho là một trong những đặc điểm của tế bào biệt hóa (differentiation) [Zouboulis et al., 1994], [Sankaran et al., 2012] hoặc tế bào bị già hóa (senescence) [Sherwood et al., 1988], [Pospelova et al., 2013].

Kết quả đánh giá tác động của dịch chiết Lá khô lên quá trình apoptosis của tế bào ung thư dạ dày:

Kết quả này chỉ ra rằng dịch chiết Lá khô là ít độc cho các tế bào và khả năng ức chế cao sự phân nhưng ít gây ra apoptosis, đó có thể là do một cơ chế sinh học khác như sự biệt hóa tế bào gốc (stem cell differentiation), sự già hóa (cell senescence).

Ảnh hưởng của dịch chiết Lá khô (*Ardisia gigantifolia*) đến sự điều hòa chu kỳ của tế bào ung thư dạ dày: Kết quả chỉ ra rằng 2 dòng tế bào KMN45 và MKN74 đều được quan sát thấy có sự tích lũy cao các tế bào tại phase G0/G1. Như vậy, sự ức chế phân chia tế bào của hai dòng tế bào này có thể được giải thích bởi sự dừng chu kỳ tế bào ở pha G0/G1 – pha nghỉ giữa hai lần phân chia tế bào.

3. Kết quả thử nghiệm lâm sàng chế phẩm thuốc kết hợp giữa 3 loại thảo dược trên 400 bệnh nhân

Sau khi thử nghiệm tại phòng thí nghiệm, Hội đồng đã tiến thành thử nghiệm lâm sàng trên 400 người bệnh, chia ra làm 2 đợt:

3.1. Đợt 1

Có 150 người tham gia vào đợt thử nghiệm lâm sàng 1, gồm cả 2 giới tính và ở cả 3 thể bệnh viêm loét dạ dày, trào ngược dạ dày và dương tính với vi khuẩn HP, trong đó:

- 124 người bệnh (82,67%) hết hoàn toàn triệu chứng và phục hồi chức năng dạ dày sau 1 tháng sử dụng thuốc
- 19 người bệnh (12,67%) chỉ cải thiện khoảng 80% bệnh sau 1 tháng sử dụng thuốc

- 4 người bệnh (4,66%) vẫn còn các triệu chứng thường xuyên do không dùng đúng liệu trình, dùng sử dụng khi gặp tình trạng công thuốc.

Trong 124 người bệnh hết hoàn toàn triệu chứng và phục hồi chức năng dạ dày sau 1 tháng sử dụng thuốc, có 2 trường hợp đáp ứng của cơ thể sau khi dùng sử dụng như sau:

- 113 người bệnh (91,13%) không bị tái phát khi theo dõi và quan sát sau 2 tháng

- 9 người bệnh (8,87%) tái phát sau tuần thứ 2 kể từ khi dùng sử dụng thuốc do chế độ ăn uống không kiêng khem, sinh hoạt không điều độ và do các nguyên nhân khác.



Biểu đồ 2: Kết quả thử nghiệm lâm sàng Sơ can Bình vị tán thể hệ 2 - Lần 1

3.2. Đợt 2

Thời gian dùng sử dụng thuốc của đợt thử nghiệm lâm sàng thứ nhất cũng chính là lúc bắt đầu cho đợt thử nghiệm lâm sàng thứ 2 với con số là 450 người bệnh.

Kết quả thử nghiệm lâm sàng đợt 2 như sau:

- 226 người bệnh (90,44%) hết hoàn toàn triệu chứng và phục hồi chức năng dạ dày sau 1 tháng sử dụng thuốc
- 17 người bệnh (6,89%) chỉ cải thiện khoảng 80% bệnh sau 1 tháng sử dụng thuốc
- 7 người bệnh (2,67%) vẫn còn các triệu chứng thường xuyên do không dùng đúng liệu trình, dùng sử dụng khi gặp tình trạng công thuốc.

Trong 226 người bệnh hết hoàn toàn triệu chứng và phục hồi chức năng dạ dày sau 1 tháng sử dụng thuốc, có 2 trường hợp đáp ứng của cơ thể sau khi dùng sử dụng như sau:

- 206 người bệnh (91,15%) không bị tái phát khi theo dõi và quan sát sau 2 tháng
- 20 người bệnh (8,85%) tái phát sau tuần thứ 2 kể từ khi dùng sử dụng thuốc do chế độ ăn uống không kiêng khem, sinh hoạt không điều độ và do các nguyên nhân khác.



Biểu đồ 3: Kết quả thử nghiệm lâm sàng Sơ can Bình vị tán thể hệ 2 - Lần 1

3.3. Tổng kết kết quả thử nghiệm lâm sàng của cả 2 đợt

Như vậy, kết quả khám nghiệm lâm sàng trên 400 người bệnh qua 2 đợt đã thu về kết quả như sau:

- 319 người bệnh (79,8%) hết hoàn toàn triệu chứng và phục hồi chức năng dạ dày sau 1 tháng sử dụng thuốc, không bị tái phát khi theo dõi và quan sát sau 2 tháng
- 29 người bệnh (7,3 %) hết hoàn toàn triệu chứng và phục hồi chức năng dạ dày sau 1 tháng sử dụng thuốc nhưng tái phát sau tuần thứ 2 kể từ khi dừng sử dụng thuốc do chế độ ăn uống không kiêng khem, sinh hoạt không điều độ và do các nguyên nhân khác.
- 41 người bệnh (10,3%) chỉ cải thiện khoảng 80% bệnh sau 1 tháng sử dụng thuốc
- 11 người bệnh (2,8%) vẫn còn các triệu chứng thường xuyên do không dùng đúng liều trình, dùng sử dụng khi gặp tình trạng công thuốc.



Biểu đồ 4: Kết quả thử nghiệm lâm sàng Sơ can Bình vị tán thể hệ 2 - Lần 1

Kết luận

Sau quá trình nghiên cứu và thử nghiệm lâm sàng 3 loại thảo dược trên, Hội đồng nghiên cứu đã rút ra được kết luận sau:

3 loại thảo dược có tính an toàn cao:

- Trong nghiên cứu độc tính cấp trên chuột nhắt trắng theo đường uống của cả Củ gà ấp, dạ cẩm và lá khôi tía chưa thấy xuất hiện dấu hiệu bất thường ở tất cả các liều thử và liều dung nạp

- 3 loại thảo dược không làm thay đổi tình trạng chung cũng như các chỉ số huyết học, sinh hóa máu, hình thái đại thể và cấu trúc vi thể gan - thận thỏ sau 4 tuần uống thuốc liên tục và sau 2 tuần ngừng thuốc với liều 0,202g/kg tương đương liều dùng trên lâm sàng và liều 1,010 g/kg cao gấp 5 lần liều dùng cho người.

Dạ cẩm đỏ và Lá khôi tía có một số tác dụng sinh học theo hướng điều trị loét hành tá tràng, diệt HP trên động vật thực nghiệm.

- Dạ cẩm đỏ có tác dụng chống loét tá tràng trên mô hình gây loét bằng cysteamine; có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quần quai

- Lá khôi tía có tác dụng diệt *Helicobacter pylori* in vitro với liều 6,7g/ml tạo vòng vô khuẩn có đường kính là: $12,8 \pm 4,63$ mm.

Tác dụng của chế phẩm thuốc kết hợp giữa 3 loại thảo dược trong điều trị loét hành tá tràng trên lâm sàng

Chế phẩm thử có tác dụng tốt trong giảm đau, trung hòa axit, diệt HP và liền sẹo trên bệnh nhân loét hành tá tràng cụ thể là:

- Chế phẩm thuốc có tác dụng cắt cơn đau với tỷ lệ loại tốt là 33,3%, loại trung bình là 61,9%, loại kém là 4,8%

- Chế phẩm thuốc có tác dụng diệt *Helicobacter pylori* đạt 59,5%

- Chế phẩm thuốc có tác dụng làm liền sẹo với tỷ lệ là 68,2%, loại trung bình là 27,3%, loại kém là 4,5%

Tác dụng của Chế phẩm thuốc theo phân thể bệnh YHCT:

- Kết quả giảm đau ở thể can khí phạm vị: đạt tỷ lệ tốt là 40,0%, loại trung bình là 55,0%, loại kém là 5% so với thể tỳ vị hư hàn các tỷ lệ này lần lượt là 27,3%, 68,2% và 4,5%

- Kết quả trung hòa axit thể can khí phạm vị là 65% cao hơn so với thể tỳ vị hư hàn là 54,5%.

- Kết quả liền sẹo ở loét ở thể can khí phạm vị: đạt tỷ lệ tốt là 66,7%, loại trung bình là 28,6%, loại kém là 4,7% so với thể tỳ vị hư hàn các tỷ lệ này lần lượt là 69,6%, 26% và 4,4%.

Sau nghiên cứu và thử nghiệm lâm sàng, kết luận công dụng của các thảo dược: củ gà ấp, dạ cẩm đỏ, lá khôi tía có công dụng đặc trị dạ dày và được chứng minh hiệu quả qua các thử nghiệm lâm sàng. Công thức bài thuốc Sơ can Bình vị tán thể hệ 2 được chứng minh và kiểm nghiệm đem lại hiệu quả cao trong điều trị các bệnh lý về dạ dày, có thể ứng dụng rộng rãi trên đông đảo bệnh nhân.