

TẠP CHÍ



# Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

**Journal of Military Pharmaco-medicine**

ISSN 1859-0748

*Vol 48, Số chuyên đề Dược học, tháng 11/2023*

*Chào mừng 75 năm ngày Truyền thống Học viện Quân y (10/3/1949 - 10/3/2024)*

*30 năm ngày Truyền thống Trung tâm Nghiên cứu, ứng dụng và sản xuất thuốc (01/12/1993 - 01/12/2023)*

**HỌC VIỆN QUÂN Y**

**MILITARY MEDICAL UNIVERSITY**



TẠP CHÍ

# Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

HỌC VIỆN QUÂN Y XUẤT BẢN

**CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP:** PGS.TS. Nguyễn Xuân Kiên

**PHÓ CHỦ TỊCH HDBT:** PGS.TS. Nghiêm Đức Thuận

**TỔNG BIÊN TẬP:** GS.TS. Trần Việt Tiến

**ỦY VIÊN:**

PGS. TS. Trần Ngọc Tuấn

GS. TS. Nguyễn Như Lâm

PGS. TS. Vũ Nhất Định

PGS. TS. Tạ Bá Thắng

PGS. TS. Nguyễn Văn Nam

PGS. TS. Lương Công Thức

PGS. TS. Vũ Quang Vinh

GS. TS. Nguyễn Duy Bắc

GS. TS. Nguyễn Lĩnh Toàn

PGS. TS. Trịnh Thế Sơn

PGS. TS. Trịnh Nam Trung

TS. Phạm Thế Tài

GS. TS. Nguyễn Văn Ba

PGS. TS. Nguyễn Đình Ngân

PGS. TS. Hoàng Hải

TS. Nguyễn Thị Tuyết Mai

**THƯ KÝ KHOA HỌC:** PGS. TS. Đỗ Như Bình

**THƯ KÝ TÒA SOẠN:** TS. Nguyễn Thị Hoài

**TRỤ SỞ BAN BIÊN TẬP**

Tạp chí Y Dược học Quân Sự- Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, Hà Đông, Hà Nội

Điện thoại: 069. 566. 520

Email: [tcydhqs@vmmu.edu.vn](mailto:tcydhqs@vmmu.edu.vn)

**Giấy phép xuất bản số 594/GP-BTTTT do Bộ Thông tin và Truyền thông  
cấp ngày 16 - 12 - 2022**

**In tại Xưởng in Học viện Quân y**

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ**  
**SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

**MỤC LỤC**

	Trang
1 Sàng lọc một số hợp chất alkaloid ức chế EGFR bằng phương pháp docking phân tử định hướng điều trị ung thư phổi <i>Lê Thị Hương, Phan Đăng Hải, Vũ Mạnh Hùng</i> <i>Phan Hồng Minh, Bùi Thanh Tùng</i> Screening in silico EGFR receptor inhibitory activity of flavonoid compounds in the treatment of lung cancer	9
2 Nghiên cứu chiết xuất cao lỏng hành đen giàu cycloalliin <i>Nguyễn Hồng Sơn, Nguyễn Trọng Điệp, Văn Khắc Tuyên</i> <i>Nguyễn Thị Thủy, Vũ Bình Dương, Phạm Văn Hiến</i> Study on the preparation of cycloalliin-rich liquid extracted from black shallot	23
3 Định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol trong gừng ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao <i>Hồ Bá Ngọc Minh, Nguyễn Trọng Điệp, Phạm Văn Hiến</i> <i>Ngô Thị Tuyết Mai, Phạm Kỳ Anh, Vũ Bình Dương</i> Simultaneous determination method of 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, and 10-gingerol by high-performance liquid chromatography	37
4 Đánh giá sự cần thiết, giá trị thực tiễn và mức độ hợp lý trong đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở trang bị, vật tư quân y của trạm quân y trung đoàn bộ binh <i>Nguyễn Xuân Kiên, Trần Quang Trung</i> <i>Nguyễn Tuấn Quang, Nguyễn Cẩm Vân, Lê Trọng Dũng</i> Evaluation of the necessity, practical value, and reasonableness of innovating packaging methods of military medical equipment and supplies in the case of infantry regiment military medical station	53

	Trang
5	66
<p>Nghiên cứu tác dụng bảo vệ tim mạch của S-propargyl-cysteine trên chuột công trắng gây nhồi máu cơ tim cấp</p> <p style="text-align: center;"><i>Trần Bá Hiếu, Vũ Tuấn Anh, Bùi Thị Thu Hà, Lê Văn Minh</i></p> <p>Determination of the cardioprotective effects of S-propargyl-cysteine in rats induced acute myocardial infarction</p>	
6	77
<p>Đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình hydrat hóa tạo hỗn dịch nano phytosome silybin</p> <p style="text-align: center;"><i>Đặng Trường Giang, Hồ Bá Ngọc Minh, Phạm Kỳ Anh</i> <i>Vũ Bình Dương, Phạm Văn Hiến</i></p> <p>Evaluation of factors affecting the hydration process of manufacturing Nano phytosome silybin suspension</p>	
7	88
<p>Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của cao khô hành đen</p> <p style="text-align: center;"><i>Phạm Văn Hiến, Nguyễn Hồng Sơn, Nguyễn Trọng Điệp</i> <i>Lê Đức Hùng, Nguyễn Thị Thủy, Vũ Bình Dương</i></p> <p>Study on acute and sub-chronic toxicity of black shallot dry extract</p>	
8	104
<p>Sàng lọc và đánh giá tác dụng hạ đường huyết của một số dược liệu ở Việt Nam</p> <p style="text-align: center;"><i>Vũ Đức Lợi, Nguyễn Xuân Tùng, Lê Hồng Dương</i></p> <p>Screening and evaluation of antidiabetic activity of several medicinal plants in Vietnam</p>	
9	116
<p>Nghiên cứu xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng andrographolid trong hệ nano polyme bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao</p> <p style="text-align: center;"><i>Nguyễn Hoàng Hiệp, Hồ Bá Ngọc Minh, Đặng Trường Giang</i> <i>Vũ Bình Dương, Phạm Văn Hiến, Nguyễn Trọng Điệp</i></p> <p>Development and validation of a high performance liquid chromatography method for the quantification of andrographolide in polymeric nanosystem</p>	

	Trang
10 Nghiên cứu xây dựng mô hình xơ gan và đánh giá tác dụng của viên nang Nhất gan linh trên động vật thực nghiệm <i>Đình Quốc Hưng, Bùi Thị Thu Hà, Nguyễn Thị Thanh Hằng Bùi Thị Thu Hiền, Trần Thị Thu Huyền, Trần Bá Hiếu Đoàn Việt Cường, Phạm Xuân Phong Trần Thị Tuyết Nhung, Chử Văn Mến</i> Development of liver cirrhosis model and evaluation of Nhat gan linh capsules' effects in experimental animals	129
11 Phân tích một số chỉ số trong kê đơn thuốc điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Quân y 105 năm 2021 <i>Hồ Cảnh Hậu, Nguyễn Thị Lan Hương Nguyễn Cẩm Vân, Nguyễn Thị Tâm</i> Analysis of some indicators in the outpatient prescription at Military Hospital 105 in 2021	142
12 Nghiên cứu bào chế và đánh giá sinh khả dụng của viên nén pyridostigmin bromid giải phóng kéo dài <i>Tô Minh Hùng, Nguyễn Duy Chí, Nguyễn Viêt Quân Nguyễn Thanh Tuyền, Cao Thanh Hà, Đào Hồng Loan</i> Evaluation of the preparation and bioavailability of pyridostigmine bromide extended-release tablets	154
13 Ảnh hưởng của tá dược đến bào chế bột cao khô Diệp hạ châu đắng bằng phương pháp phun sấy <i>Phạm Văn Vượng, Nguyễn Hoàng Hiệp, Trần Vũ Hồng Phúc Phạm Ngọc Bình, Nguyễn Trọng Điệp</i> Effects of excipients on the preparation of phyllanthus amarus schum. et thonn dry extract powder by spray-drying	167

	Trang
14	177
Đánh giá tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu ngoại sinh của viên nang bào chế từ tỏi đen, búp giấm, trạch tả và giảo cổ lam trên chuột cống trắng	
<i>Nguyễn Hoàng Ngân, Phùng Văn Bằng, Lê Hồng Phú</i>	
<i>Trịnh Thị Hạnh, Đặng Văn Điệp</i>	
<i>Bùi Thị Bích Vân, Đỗ Thị Hương Lan</i>	
Evaluation of adjusting effects of external dyslipidemia of capsules prepared from black garlic, <i>hibiscus sabdariffa</i> L., <i>Alisma plantago-aquatica</i> L., and <i>Gynostemma pentaphyllum</i> in white rats	
15	188
Nghiên cứu xây dựng công thức hệ nano tự nhũ hóa chứa curcumin	
<i>Nguyễn Trọng Điệp, Lục Thị Nguyệt, Phan Thị Thu Hằng</i>	
Preparation of self-nanoemulsifying drug delivery system of curcumin	
16	201
Phân tích danh mục thuốc đã sử dụng tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 theo giai đoạn thực hiện thầu năm 2020	
<i>Phạm Tuấn Linh, Hoàng Anh Tuấn</i>	
<i>Lê Thu Thủy, Nguyễn Đức Trung</i>	
17	216
Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học của lá cây khế ( <i>Averrhoa carambola</i> L.)	
<i>Bùi Thị Thu Trang, Nguyễn Khắc Tiệp, Nguyễn Việt Thắng</i>	
<i>Trương Thị Hương, Bùi Thị Thúy Luyện</i>	
Study on chemical compositions of star fruit leaves ( <i>Averrhoa carambola</i> L.)	
18	227
Nghiên cứu bào chế hệ nano lipid rắn chứa famotidin	
<i>Phan Thị Thu Hằng, Đào Hoàng Lan Anh, Trịnh Nam Trung</i>	
<i>Trần Thị Phương Thảo, Nguyễn Trọng Điệp</i>	
Preparation of famotidine-loaded solid lipid nanoparticles	

	Trang
19	239
Đánh giá tác dụng an thần, cải thiện giấc ngủ của bài thuốc “An thần định trí QY” trên mô hình chuột thực nghiệm	
<i>Nguyễn Thanh Hà Tuấn</i>	
Evaluation of the sedative and sleep improvement effects of the medicine “An than dinh tri QY” in experimental mice	
20	248
Đặc điểm tổn thương bọng, căn nguyên vi sinh vật và sử dụng kháng sinh tại khoa điều trị bọng trẻ em, Bệnh viện Bông quốc gia Lê Hữu Trác	
<i>Lương Quang Anh, Vũ Thị Thu Loan</i>	
<i>Nguyễn Thị Thùy Dung, Lương Tuấn Anh</i>	
21	258
Nghiên cứu bào chế bột phytosome silybin bằng phương pháp phun sấy	
<i>Vũ Bình Dương, Đặng Trường Giang, Hồ Bá Ngọc Minh</i>	
<i>Nguyễn Hoàng Hiệp, Phạm Văn Hiến</i>	
Research on the manufacture of phytosome silybin powder by spray drying method	
22	270
Nghiên cứu tổng hợp molnupiravir từ cytidin	
<i>Nguyễn Văn Giang, Trương Thị Kim Lương</i>	
<i>Nguyễn Thị Minh Ngân, Nguyễn Thị Ngọc</i>	
<i>Đào Nguyệt Sương Huyền, Nguyễn Đình Luyện</i>	
<i>Nguyễn Văn Hải, Phạm Thị Hiền</i>	
Synthesis of molnupiravir from cytidin	
23	282
Nghiên cứu bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi	
<i>Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Thị Bảo Ngọc, Vũ Thị Thu Giang</i>	
Preparation of rutin nanoparticles by anti-solvent precipitation method	

	Trang
24 Phân tích danh mục thuốc được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020 <i>Lê Ngọc Hiếu, Nguyễn Văn Bình</i> <i>Phạm Huy Thông, Trịnh Anh Đức</i> Analysis of the list of drugs in use at the 354 Military Hospital in 2020	296
25 Phân tích đặc điểm phác đồ sử dụng thuốc điều trị ung thư tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 năm 2022 <i>Nguyễn Cẩm Vân, Nguyễn Trung Hà</i> <i>Nguyễn Tuấn Quang, Nguyễn Khánh Huyền</i> Analysis of characteristics of cancer treatment regimens at the 108 Military Central Hospital in 2022	314
26 Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của viên nang mềm Hup A trên động vật thực nghiệm <i>Lê Thị Hồng Hạnh, Đỗ Minh Trung, Trịnh Nam Trung</i> <i>Nguyễn Văn Huy, Nguyễn Văn Thư</i> Study on the acute and semi-chronic toxicity of Hup A capsule in experimental animals	330
27 Phân tích hiệu quả can thiệp của dược sĩ lâm sàng trên một số vấn đề liên quan đến thuốc kê đơn ngoại trú tại Khoa Khám bệnh, Bệnh viện Quân y 105 năm 2022 <i>Nguyễn Xuân Trung, Hồ Cảnh Hậu, Trần Văn Hải</i> <i>Nguyễn Tô Hiệu, Nguyễn Cẩm Vân, Trịnh Thị Như Ngọc</i> Analysis of intervention effectiveness of clinical pharmacists on several issues related to outpatient prescription drugs at the Department of Medical Examination, Military Hospital 105 in 2022	343

	Trang
28 Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng hạ lipid máu nội sinh của cao khô lá cây trà hoa vàng ( <i>Camellia Hakodae</i> Ninh) trên động vật thực nghiệm <i>Ngô Thị Mỹ Bình, Nguyễn Hoàng Ngân, Nguyễn Hồng Hạnh</i> Study on the acute toxicity and endogenous hypolipidemic effect of dry extract from yellow tea leaves ( <i>Camellia Hakodae</i> Ninh) in experimental animals	354
29 Phân tích mức độ tiêu thụ kháng sinh Quinolon tiêm truyền tĩnh mạch tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ năm 2020 đến 2022 <i>Phạm Văn Huy, Nguyễn Đức Trung</i> <i>Kiều Việt Anh, Nguyễn Duy Tâm</i> Study on the consumption of intravenous Quinolon at 108 Military Central Hospital from 2020 to 2022	364
30 Network pharmacology combined with chromatogram similarity analysis for biomarkers exploration of Duliang herbal formulation <i>Chu Duc Thanh, Vu Tuan Anh, Nguyen Van Thinh</i> <i>Bui Thi Thu Ha, Chu Van Men, Tran Ba Hieu</i>	379



**SÀNG LỌC MỘT SỐ HỢP CHẤT ALKALOID ỨC CHẾ EGFR  
BẰNG PHƯƠNG PHÁP DOCKING PHÂN TỬ  
ĐỊNH HƯỚNG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ PHỔI**

*Lê Thị Hương<sup>1</sup>, Phan Đăng Hải<sup>1</sup>, Vũ Mạnh Hùng<sup>2</sup>  
Phan Hồng Minh<sup>1</sup>, Bùi Thanh Tùng<sup>1\*</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Sàng lọc các hợp chất thuộc nhóm alkaloid nhằm tìm ra các chất có khả năng ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor - EGFR) định hướng điều trị ung thư phổi với hiệu quả điều trị cao, ít tác dụng phụ so với các phương pháp khác như hóa trị, xạ trị. **Phương pháp nghiên cứu:** Sử dụng phương pháp docking phân tử nhằm sàng lọc các hợp chất alkaloid có tác dụng ức chế thụ thể EGFR trong điều trị ung thư phổi. **Kết quả:** Từ 50 hợp chất ban đầu, sàng lọc được 6 hợp chất có năng lượng liên kết thấp hơn chất đối chứng dương là Gefitinib. Sau đó, chúng tôi tiến hành đánh giá các đặc tính giống thuốc sử dụng quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski và dự đoán thông số dược động học - độc tính (ADMET) thu được 3 hợp chất là Berberine Chloride, Tetrahydroberberine và Coptisine Chloride với các đặc điểm nổi trội: Hấp thu và phân bố tốt qua màng, chuyển hóa qua gan, thải trừ qua thận và ít độc tính. **Kết luận:** Berberine Chloride, Tetrahydroberberine và Coptisine Chloride là các hợp chất tiềm năng và cần được tiếp tục nghiên cứu để phát triển thành các thuốc điều trị ung thư phổi.

**Từ khóa:** Alkaloid; EGFR; Docking phân tử; Ung thư phổi không tế bào nhỏ.

**SCREENING *IN SILICO* EGFR RECEPTOR INHIBITORY ACTIVITY  
OF FLAVONOID COMPOUNDS IN THE TREATMENT  
OF LUNG CANCER**

**Abstract**

**Objectives:** To screen the alkaloid group to find compounds capable of inhibiting epidermal growth factor receptor (EGFR) in lung cancer treatment

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup>Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Bùi Thanh Tùng (tungbt.ump@vnu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 22/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.478>

with high treatment effectiveness and few side effects compared to chemotherapy and radiation therapy. **Methods:** The Molecular docking method was used to screen alkaloid compounds that inhibited EGFR receptors in the treatment of lung cancer. **Results:** From 50 compounds, we screened 6 compounds with lower binding energies than the positive control Gefitinib. Then, we evaluated the drug-like properties using five criteria of the Lipinski rule and predicted pharmacokinetic-toxicity parameters (ADMET) to obtain 3 compounds: Berberin chloride, Tetrahydroberberin, and Coptisine chloride with good membrane absorption and distribution, metabolism by the liver, renal excretion, and low toxicity. **Conclusion:** These potential compounds need further research to develop into drugs to treat lung cancer.

**Keywords:** Alkaloid; EGFR; Molecular Docking; Non-small cell lung cancer (NSCLC).

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, ung thư phổi đang là một trong những bệnh ung thư phổ biến và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới. Năm 2020, số ca mắc mới và tử vong do ung thư phổi trên thế giới vẫn chiếm tỷ lệ cao tương ứng với khoảng 2,2 triệu ca và 1,8 triệu ca [1]. Tại Mỹ, năm 2023 ước tính số ca mắc mới và tử vong do ung thư phổi ở cả 2 giới lần lượt là 238.340 ca và 127.070 ca [2]. Tại Việt Nam, thống kê cho thấy có khoảng 26.262 ca mắc mới và 23.797 ca tử vong trong năm 2020, chiếm khoảng 14,4% và 19,4% tổng số ca. Tỷ lệ tử vong do ung thư phổi đứng thứ 2 sau ung thư vú đối với nữ giới và sau ung thư gan đối với nam giới, đặc biệt ở độ tuổi  $\geq 45$  chiếm tỷ lệ cao.

Thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì là một trong bốn thành viên họ ERBB của thụ thể tyrosine kinase (RTK) [3]. EGFR kích hoạt một loạt các đường nội bào dẫn đến tăng sinh tế bào ung thư, ngăn chặn quá trình apoptosis, kích hoạt sự xâm lấn và di căn, đồng thời kích thích tân tạo mạch máu do khối u [4]. Kết quả của một số nghiên cứu đã cho thấy, đột biến kích hoạt gen EGFR có mặt chủ yếu trong bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC). Hai loại thuốc được nghiên cứu rộng rãi nhất cho đến nay bao gồm các kháng thể đơn dòng và các hợp chất phân tử nhỏ. Tuy nhiên, các phương pháp này kém hiệu quả trong việc ức chế các dạng đột biến của EGFR.

Alkaloid là một lớp lớn các phân tử hữu cơ tự nhiên, có cấu trúc hóa học

rất đa dạng với hơn 20.000 phân tử khác nhau trong sinh vật. Chúng có mặt trong cuộc sống hàng ngày của con người, trong đồ ăn, thức uống, chất kích thích, chất gây nghiện, đồng thời là thuốc chữa bệnh chống ung thư, ngăn ngừa các bệnh về tim mạch và chất diệt côn trùng [5]. Một số alkaloid từ cây thuốc và thảo dược cho thấy tác dụng chống tăng sinh và chống ung thư trên cả *in vitro* và *in vivo* với phạm vi thử nghiệm rộng như Camptothecin, Aplicyanins, Sanguinarine. Ngày nay, các alkaloid đã được sử dụng trong điều trị ung thư phổi, đặc biệt là việc áp dụng công nghệ nano giúp tăng cường sinh khả dụng, kéo dài thời gian lưu thuốc, nâng cao hiệu quả điều trị và giảm độc tính [6]. Đây là nhóm hợp chất vô cùng tiềm năng và phổ biến. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm: *Sàng lọc các hợp chất thuộc nhóm alkaloid nhằm tìm ra các chất có khả năng ức chế thụ thể EGFR, định hướng điều trị ung thư phổi với hiệu quả điều trị cao, ít tác dụng phụ so với các phương pháp khác như: Hóa trị, xạ trị.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Mô hình docking

\* *Chuẩn bị cấu trúc protein:* Cấu trúc của thụ thể EGFR (PDB ID: 6DUK) được tải về từ cơ sở dữ liệu protein

RCSB (<https://www.rcsb.org/>) dưới định dạng pdb. Sau đó, chúng tôi tiến hành loại bỏ phối tử đồng kết tinh là (2R)-2-(5-fluoro-2-hydroxyphenyl)-2-{1-oxo-6-[4-(piperazin-1-yl)phenyl]-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl}-N-(1,3-thiazol-2-yl) acetamide và phosphoaminophosphonic acid-adenylate ester, các phân tử nước và phân tử nền trong phức hợp cũng được loại bỏ bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0. Đồng thời, sử dụng phần mềm MGL Autodock tools 1.5.6. để thêm các nguyên tử hydro vào protein và tính toán điện tích Kollmans. Vùng hoạt động của EGFR được lựa chọn dựa trên các acid amin quan trọng và giới hạn bởi hộp lưới có kích thước 40 x 44 x 40Å, khoảng cách giữa các ô lưới là 0,375Å với tọa độ trục (x; y; z) = (42,148; 93,049; -63,352). Cuối cùng, protein được chuyển về định dạng pdbqt.

\* *Chuẩn bị cấu trúc phối tử:* Các hợp chất alkaloid được thu thập và tải về từ cơ sở dữ liệu PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dưới định dạng sdf. Sau đó được chuyển về định dạng pdb bằng phần mềm Chimera và tối ưu hóa năng lượng bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp (Conjugate Gradients). Cuối cùng, các hợp chất được chuyển thành định dạng file pdbqt bằng phần mềm Autodock Tools.

## 2. Đánh giá kết quả docking

Để thực hiện quá trình redock, phối tử đồng tinh thể sẽ được tách ra khỏi protein và sau đó được re-dock lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu để đánh giá mức độ chònh khít của phối tử trước và sau docking thông qua giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD). Nếu giá trị này  $< 1,5\text{\AA}$  thì quá trình docking được coi là đáng tin cậy. Đối với các chất cần docking, khả năng ức chế protein mục tiêu được đánh giá bằng điểm số docking và tương tác với các acid amin quan trọng trong hóc phản ứng so với hợp chất chứng dương. Tương tác phân tử giữa các hợp chất có năng lượng liên kết tốt với protein mục tiêu được thể hiện bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 2020.

## 3. Đánh giá quy tắc Lipinski 5

Quy tắc Lipinski 5 tiêu chí được sử dụng để đánh giá một hợp chất có hoặc không có đặc tính giống thuốc thông qua các tiêu chí: Trọng lượng phân tử, số nhóm cho/nhận liên kết hydro, logP và độ khúc xạ MR. Một phân tử hợp chất được cho là có khả năng trở thành thuốc dùng đường uống khi đáp ứng từ 2 trong 5 tiêu chí trở lên. Chúng tôi sử dụng công cụ online (<http://www.scbioitd.res.in/software/drugdesign/>

lipinski.jsp) và cấu trúc hóa học được tải từ cơ sở dữ liệu Pubchem ([www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)) của các hợp chất để đánh giá.

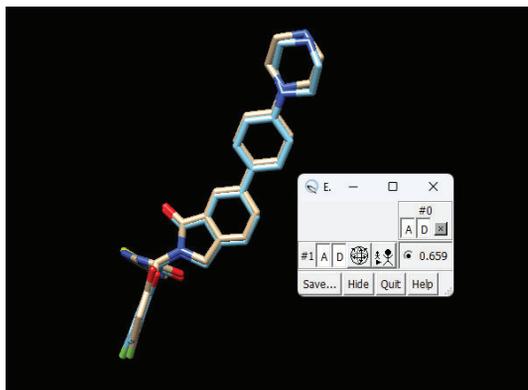
## 4. Dự đoán các thông số dược động học và độc tính (ADMET)

ADMET là mô hình giúp dự đoán các đặc tính về dược động học và độc tính của 1 hợp chất bao gồm: Hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ và độc tính. Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng pkCSM là công cụ dự đoán ADMET trực tuyến (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/pr ediction>) với dữ liệu đầu vào là công thức SMILE của các hợp chất được tải xuống từ cơ sở dữ liệu PubChem.

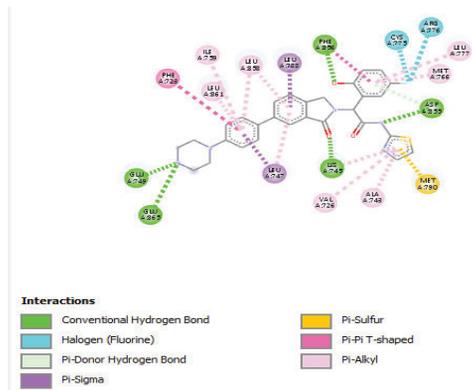
## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Đánh giá mô hình docking

Để đánh giá độ tin cậy của quá trình docking, chúng tôi đã xác định RMSD bằng cách redock phối tử đồng kết tinh vào lại vị trí hoạt động của protein bằng phần mềm Chimera. Kết quả thu được  $\text{RMSD} = 0,659\text{\AA} < 1,5\text{\AA}$ , chứng tỏ quá trình docking các hợp chất vào protein là đáng tin cậy. Giá trị RMSD và tương tác 2D giữa phối tử đồng kết tinh với EGFR tại vùng hoạt động được thể hiện tương ứng trong hình 1 và hình 2.



**Hình 1.** RMSD của phối tử đồng kết tinh trước và sau khi docking.



**Hình 2.** Tương tác của phối tử đồng kết tinh với EGFR.

## 2. Kết quả docking

Sau khi đã chuẩn bị phối tử và protein, chúng tôi tiến hành docking 50 hợp chất alkaloid và hợp chất chứng dương là Gefitinib với thụ thể EGFR. Kết quả thu được 6 hợp chất thỏa mãn có năng lượng liên kết thấp hơn so với chất chứng dương và được thể hiện trong bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả docking của 6 hợp chất alkaloid thỏa mãn.

STT	Tên hợp chất	Năng lượng liên kết (kCal/mol)
1	Beberine chlorid	-8,9
2	Coptisine chloride	-10,2
3	Rutaecarpine	-9,7
4	Sanguinarine chloride	-10,9
5	Tetrahydroberberine	-9,4
6	Tetrandrine	-9,0
+	Gefitinib (Chất đối chứng)	-8,7

Từ kết quả thu được ở bảng 1 và so sánh năng lượng liên kết của 50 hợp chất với chất chứng dương là Gefitinib (-8,7 kCal/mol), chúng tôi thu được 6 hợp chất có điểm số docking tốt nhất và có khả năng ức chế protein đích với năng lượng liên kết thấp hơn chất chứng dương là: Beberine chlorid (-8,9 kCal/mol), Coptisine chloride (-10,2 kCal/mol), Rutaecarpine (-9,7 kCal/mol), Sanguinarine chloride (-10,9 kCal/mol), Tetrahydroberberine (-9,4 kCal/mol) và Tetrandrine (-9,0 kCal/mol).

Gefitinib là một chất ức chế thụ thể tyrosine kinase của yếu tố tăng trưởng biểu bì chọn lọc và được sử dụng để điều trị ung thư phổi. Vào ngày

13/7/2015, FDA đã phê duyệt gefitinib để điều trị cho bệnh nhân NSCLC di căn khối u có đột biến exon 19 hoặc đột biến thay thế exon 21 (L858R). Theo nghiên cứu của Noronha Vanita và CS, việc kết hợp giữa Gefitinib, Pemetrexed và Carboplatin được xem như một liệu pháp điều trị đầu tay mới cho NSCLC đột biến EGFR giúp kéo dài thời gian sống và ức chế sự tiến triển của bệnh. Tuy nhiên, việc kết hợp này cũng đồng thời làm tăng độc tính của thuốc trên bệnh nhân mắc NSCLC. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng Gefitinib làm chất đối chứng dương tính để so sánh giá trị năng lượng liên kết và khả năng tương tác thụ thể EGFR với các hợp chất thuộc nhóm alkaloid.

### 3. Kết quả đánh giá quy tắc 5 tiêu chí Lipinski

**Bảng 2.** Kết quả đánh giá quy tắc 5 tiêu chí Lipinski.

STT	Tên hợp chất	Phân tử khối	HBD	HBA	LogP	MR
1	Berberin chlorid	336	0	4	3,89	94,72
2	Coptisine Chloride	320	0	4	2,58	84,60
3	Sanguinarine chloride	332	0	4	3,43	92,38
4	Rutaecarpine	287	1	3	3,26	85,68
5	Tetrahydroberberine	339	0	5	2,62	90,80
6	Tetrandrine	622	0	8	6,61	176,80

Các hợp chất đáp ứng tiêu chí của 1 thuốc dùng đường uống khi chúng thỏa mãn ít nhất 2 trong 5 tiêu chí của quy tắc 5 tiêu chí Lipinski: Khối lượng phân tử

< 500Da; tính ưa dầu cao  $\log P < 5$ ; ít hơn 5 nhóm cho liên kết hydrogen; ít hơn 10 nhóm nhận liên kết hydrogen; độ khúc xạ mol phải nằm trong khoảng 40 - 130.

Dựa vào kết quả bảng 2, tất cả 6 hợp chất đều thỏa mãn quy tắc 5 tiêu chí Lipinski. Các hợp chất này tiếp tục được đánh giá các đặc tính về dược động học - độc tính bằng dự đoán ADMET.

#### 4. Dự đoán các thông số ADMET

Chúng tôi sử dụng công cụ trực tuyến pkCSM để dự đoán các thông số dược động học và độc tính (ADMET) đối với các hợp chất có đặc tính “giống thuốc, thỏa mãn tiêu chí Lipinski. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả phân tích các thông số ADMET.

Thông số	Tetrahydroberberine	Sanguinarine chloride	Rutaecarpine	Berberin chloride	Coptisine Chloride	Tetrandrine
Độ tan trong nước (log mol/L)	2,789	-4,848	-3,459	-3,06	-3,062	-4,107
Hấp thu						
Tính thẩm màng CaCo2 (logPapp trong $10^6$ cm/s)	1,626	1,05	1,26	0,88	1,084	0,839
Hấp thu ở ruột (người) (%)	92,559	70,472	97,294	79,298	79,021	93,149
Tính thẩm qua da	-2,93	-2,714	-2,739	-2,622	-2,646	-2,735
Phân bố						
Thể tích phân bố (người) (VDss) (logL/kg)	0,952	0,142	-0,061	0,385	0,429	-0,624
Tính thẩm hàng rào máu não (logBB)	0,13	0,41	0,669	0,241	0,163	-0,618
Tính thẩm hệ thần kinh trung ương (log PS)	-1,832	-1,405	-1,795	-1,529	-1,52	-2,27

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

	Thông số	Tetrahydroberberine	Sanguinarine chloride	Rutaecarpine	Berberin chlorid	Coptisine Chloride	Tetrandrine
Chuyển hóa	Cơ chất CYP2D6	Không	Không	Không	Không	Không	Không
	Cơ chất CYP3A4	Có	Có	Có	Có	Có	Có
	Ức chế CYP2D6	Có	Không	Không	Không	Không	Không
	Ức chế CYP3A4	Không	Có	Có	Không	Không	Không
Thải trừ	Độ thanh thải toàn phần (log mL/min/kg)	1,144	1,406	0,756	1,618	1,605	0,71
	Cơ chất OCT2 trong thận	Không	Không	Không	Không	Có	Không
Độc tính	Độc tính AMES	Không	Có	Có	Có	Không	Có
	Ức chế hERG I	Không	Không	Không	Không	Không	Không
	Ức chế hERG II	Có	Có	Có	Có	Không	Có
	Độc tính gan	Có	Không	Có	Có	Có	Không
	Kích ứng da	Không	Không	Không	Không	Không	Không

Về quá trình hấp thu, tính thấm qua màng  $\text{CaCO}_2$  ( $\log P_{app}$  trong  $10^{-6}$  cm/s) và khả năng hấp thu ở ruột người (HIA) là 2 thông số quan trọng của quá trình hấp thu. Giá trị  $\text{CaCO}_2 > 0,9$  và  $\text{HIA} > 30\%$  được cho là hợp chất có tính thấm tốt qua màng và hấp thu tốt tại ruột. Bảng 3 cho thấy tất cả 6 hợp chất đều có khả năng thấm khá tốt qua màng  $\text{CaCO}_2$ , đặc biệt là Tetrahydroberberine ( $1,626 \log P_{app}$  trong  $10^{-6}$  cm/s). Về khả năng hấp thu ở ruột người, tất cả các hợp chất đều cho kết quả tốt ( $> 30\%$ ); trong đó, Rutaecarpine có khả năng hấp thu tốt nhất (97,294%)

Về phân bố, thể tích phân bố ở trạng thái ổn định (VDss) là thể tích lý thuyết của thuốc cần đạt để phân bố với nồng độ như trong huyết tương. Giá trị VD càng cao thì thuốc phân bố trong mô càng nhiều. Cụ thể, khi giá trị  $\log VD_{ss} > 0,45$  được gọi là phân bố tốt và phân bố kém nếu  $\log VD_{ss} < -0,15$ . Bảng 3 cho thấy có 3 hợp chất là Tetrahydroberberine, Berberin chlorid và Coptisine chloride có khả năng phân bố tốt với giá trị VDss lần lượt là 0,952; 0,385 và 0,429. Ngoài ra, giá trị  $\log BB$  cho biết khả năng phân bố vào não của một loại thuốc. Đây là thông số quan trọng giúp đánh giá độc tính, tác dụng phụ cũng như cải thiện các đặc tính dược lý của thuốc trong điều trị các bệnh về não. Các thuốc có giá trị  $\log BB > 0,3$  có khả năng qua hàng rào máu não tốt và  $\log BB < -1$  là phân bố kém đến não. Bên cạnh đó, tính thấm qua hệ thần kinh trung ương (CNS) được đánh giá thông qua giá trị  $\log PS$ . Nếu giá trị này  $> -2$  thì thuốc được cho là có khả năng qua được hệ thần kinh trung ương và ngược lại,  $\log PS < -3$  chứng tỏ hợp chất không có khả năng xâm nhập vào CNS. Theo bảng 3, hai hợp chất Sanguinarine và Rutaecarpine có khả năng thấm tốt qua hàng rào máu não với giá trị  $\log BB$  lần lượt là 0,41 và 0,669. Tất cả các hợp chất (trừ Tetrandrine) có khả năng thấm tốt qua hệ thần kinh trung ương.

Về chuyển hóa, hệ cytochrome P450 là hệ enzym có chức năng giải độc quan trọng trong cơ thể, chủ yếu có ở gan với 2 CYP quan trọng là CYP3A4 và CYP2D6. Tất cả 6 hợp chất đều là cơ chất của CYP3A4. Ngoài ra, Sanguinarine chloride và Rutaecarpine là 2 hợp chất ức chế CYP3A4; vì vậy, cần chú ý khi sử dụng cùng với các thuốc có chuyển hóa qua enzym này.

Về thải trừ, cả 6 hợp chất đều có mức độ thải trừ tốt. Chỉ có Coptisine chloride là cơ chất của OCT2 (chất vận chuyển cation hữu cơ 2) đóng vai trò quan trọng trong việc xử lý và đào thải thuốc cùng các chất nội sinh qua thận. Vì vậy, cần chú ý khi sử dụng đồng thời Coptisine chloride với các thuốc ức chế OCT2.

Về độc tính, độc tính AMES giúp dự đoán khả năng đột biến dẫn đến ung thư. Chỉ có Tetrahydroberberine và Coptisine chloride không có độc tính AMES. Tetrandrine và Sanguinarine là 2 hợp chất cho thấy không có khả năng gây độc tính trên gan. Tất cả các hợp chất (trừ Coptisine chloride) đều cho kết quả dự đoán ức chế hERG II; vì vậy, có khả năng gây độc tính trên tim. Ngoài ra, tất cả các hợp chất đều không gây kích ứng da.

Sau khi phân tích kết quả ADMET, chúng tôi thu được 3 hợp chất tiềm năng nhất là Berberin chlorid, Tetrahydroberberine và Coptisine chloride với các đặc tính dược động học khả quan: Tính thấm qua màng và khả năng hấp thu ở ruột tốt, thể tích phân bố tốt, thải trừ nhanh qua thận và không gây kích ứng da. Tuy nhiên, dự

đoán về độc tính của các hợp chất này cần được đánh giá và nghiên cứu sâu hơn để khắc phục và cải thiện những nhược điểm này.

Tương tác giữa Gefitinib và 3 hợp chất tiềm năng với các acid amin trong vùng hoạt động của EGFR được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4.** Kết quả tương tác giữa các acid amin của 3 hợp chất vào trung tâm hoạt động của protein.

Tên hợp chất	Năng lượng liên kết (kCal/mol)	Các acid amin tạo liên kết
Berberin chloride	-8,9	Liên kết Hydro: LYS745 Liên kết Cacbon-Hydro: ASP855, LEU861 Liên kết $\pi$ - $\pi$ : PHE723 Liên kết $\pi$ -alkyl: LEU858, LEU862, LEU747, LEU788
Tetrahydroberberine	-9,4	Liên kết Hydro: ASP842 Liên kết $\pi$ - $\sigma$ : VAL726 Liên kết Cacbon-Hydro: GLN791, LYN796 Liên kết $\pi$ -Sulfur: MET790 Liên kết $\pi$ -alkyl: ALA743, MET793, LEU792, LEU718, LEU844, ARG841
Coptisine Chloride	-10,2	Liên kết Cacbon-Hydro: ASP855, LEU861 Liên kết $\pi$ -alkyl: LEU788, MET766, LEU777, LEU747, LEU858
Gefitinib	-8,7	Liên kết Hydro: LYS745, CYS797 Liên kết alkyl: LEU844, ALA743, VAL726 Liên kết $\pi$ -Sulfur: MET790 Liên kết Halogen: LEU788

Theo bảng 4, khi so sánh tương tác của 3 hợp chất tiềm năng và chất chứng dương với đích EGFR, có thể thấy liên kết phối tử-acid amin của hầu hết các hợp chất cũng tương tự nhau. Đó là những acid amin quan trọng như LYS745, LEU788, LEU858 và LEU861. Trong đó, hợp chất Tetrahydroberberine cho thấy có nhiều tương tác tương tự chất chứng dương do liên kết với các acid amin VAL726, ALA743, LEU788, MET790 và LEU844. Ngoài ra, 2 hợp chất còn lại là Berberine chlorid và Coptisine chloride cũng có sự tương tác với thụ thể EGFR thông qua những amino acid tương tự nhau như: LEU861, LEU858, LEU747 và MET766; chủ yếu là các liên kết  $\pi$ -alkyl.

### BÀN LUẬN

Bài nghiên cứu của chúng tôi sử dụng phương pháp docking phân tử nhằm đánh giá khả năng ức chế của 50 hợp chất alkaloid với đích phân tử EGFR. Kết quả thu được 3 hợp chất có khả năng ức chế protein đích cao với các đặc tính khả quan nhất: Năng lượng liên kết thấp hơn chất đối chứng dương (Gefitinib), đáp ứng các đặc tính của thuốc sử dụng đường uống, dự đoán khả năng hấp thu và phân bố tốt, ít độc tính; đó là: Berberin chlorid, Tetrahydroberberine và Coptisine chloride.

Berberine (BBR) là một alkaloid bậc bốn isoquinoline được phân lập từ nhiều loại cây thuốc như *Hydrastis canadensis*, *Berberis aristata*, *Coptis chinensis*, *Coptis japonica*, *Phellodendron amurense* và *Phellodendron chinense* Schneid. BBR có tác dụng chống oxy hóa và nhiều đặc tính dược lý khác. BBR đã được chứng minh có hiệu quả chống viêm dạ dày ruột, tiêu chảy, tăng lipid máu, béo phì, gan nhiễm mỡ, bệnh động mạch vành, tăng huyết áp, tiểu đường, hội chứng chuyển hóa, buồng trứng đa nang và bệnh Alzheimer [7]. Gần đây, các nghiên cứu *in vitro* đã chỉ ra BBR ức chế sự tăng sinh và di cư của tế bào ung thư, đồng thời gây ra quá trình chết theo chương trình trong nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau. Theo nghiên cứu của Chen Jian và CS, Berberine chloride (BBC) gây ra sự phá vỡ chuỗi kép DNA (DSB) thông qua việc điều chỉnh giảm mức TOP2B, dẫn đến quá trình chết theo chương trình trong các tế bào NSCLC [8]. Vì vậy, đây là hợp chất tiềm năng trong phát triển thuốc. Tuy nhiên, hợp chất này có độc tính trên gan và tim nên cần tiến hành các nghiên cứu sâu hơn để khắc phục hạn chế này và phát triển thành thuốc trong điều trị ung thư phổi.

Tetrahydroberberine (THBER) là một isoquinoline alkaloid có ở một số loài thực vật. Trái ngược với berberine, THBER đã được chứng minh là có rất ít độc tính tế bào và có thể tác động lên hệ thần kinh trung ương như một chất ức chế, có tác dụng bảo vệ gan, được sử dụng để bảo vệ chống lại tổn thương do thiếu máu cục bộ - tái tưới máu não và cho thấy hoạt động chống loạn nhịp tim, oxy hóa hiệu quả [9]. Tuy nhiên, các nghiên cứu độc tính cho thấy THBER ở liều 40 mg/kg sử dụng đường uống làm tăng aspartate transaminase trong huyết thanh chuột và tổng lượng bilirubin, cũng như nồng độ malondialdehyd trong gan và gây phù gan. Điều này phù hợp với kết quả dự đoán ADMET của chúng tôi. Điểm số docking của Tetrahydroberberin là -9,4 kCal/mol cho thấy hợp chất này có khả năng ức chế mạnh protein EGFR. Hợp chất này có khả năng thấm qua màng CaCO<sub>2</sub> và thấm qua ruột tốt, khả năng thải trừ qua thận tốt. Hiện nay, các nghiên cứu về tác dụng của THBER trên bệnh ung thư phổi vẫn còn hạn chế. Vì vậy, cần đẩy mạnh nghiên cứu tác dụng trong điều trị ung thư của hợp chất này. Đồng thời, dự đoán về độc tính cũng cần được nghiên cứu sâu hơn để có kết quả đánh giá chính xác.

Coptisine là hợp chất có hoạt tính chính được tìm thấy trong thân rễ *Coptis* cho thấy tác dụng chống sốt rét đối với các chủng nhạy cảm với chloroquine (3D7) và kháng thuốc (Dd2) trong ống nghiệm cũng như mô hình sốt rét trên chuột *in vivo* [10]. Bên cạnh đó, Rao và CS đã báo cáo rằng coptisine (COP) có thể gây ra quá trình chết theo chương trình của các tế bào A549 trong NSCLC bằng cách tăng các loại phản ứng oxy hóa (ROS), phá vỡ màng ty thể và điều chỉnh sự tăng trưởng protein Bcl-2 và Bax. Kết quả docking cho thấy Coptisine chloride có khả năng tương tác tốt với protein EGFR với điểm số docking là -10,2 kCal/mol. Hợp chất này có khả năng thấm qua màng CaCO<sub>2</sub> và hấp thu tốt qua ruột, có khả năng thấm qua hàng rào máu não tốt. Đồng thời, Coptisine chloride cho thấy khả năng thải trừ tốt qua thận và không có độc tính trên gan.

Tuy nhiên, quá trình sàng lọc ảo sử dụng phương pháp docking phân tử chỉ mang tính chất dự đoán tiềm năng và đặc tính của các hợp chất dựa trên các phần mềm được tiến hành trên máy tính. Vì vậy, cần tiến hành thêm các nghiên cứu sâu hơn trên thực nghiệm để có những kết luận chính xác và đầy đủ về tiềm năng trở thành thuốc trong điều trị ung thư phổi của các hợp chất này.

Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng phương pháp docking phân tử. Đây là kỹ thuật sàng lọc ảo phổ biến hiện nay với khả năng có thể sàng lọc được lượng lớn cơ sở dữ liệu các hợp chất, được thực hiện trên máy tính thông qua các phần mềm sàng lọc, dự đoán và phân tích các đặc tính của phối tử. Kết quả của quá trình docking cho biết năng lượng liên kết và tương tác giữa phối tử-protein thông qua liên kết với các acid amin tại trung tâm hoạt động giúp chúng ta dự đoán hoạt tính ức chế protein của phân tử hợp chất. Từ đó, chọn lọc được các hợp chất tiềm năng để tiếp tục tiến hành các đánh giá tiếp theo.

Tuy nhiên, phương pháp docking trong nghiên cứu của chúng tôi sử dụng nhiều phần mềm đánh giá khác nhau. Điều này có thể làm ảnh hưởng đến kết quả do sự khác nhau giữa các phần mềm. Ngoài ra, việc xác định chính xác cấu trúc 3D của protein đích, sự khác biệt giữa mô hình và thực tế trong cơ thể người cũng là lý do khiến phương pháp sàng lọc ảo gặp nhiều khó khăn. Vì vậy, việc phối hợp các kỹ thuật *in vitro*, *in vivo* rất cần thiết trong quá trình nghiên cứu và phát triển thuốc.

### KẾT LUẬN

Berberin chlorid, Tetrahydroberberine và Coptisine chloride là các hợp chất tiềm năng ức chế thụ thể EGFR

(6DUK) với năng lượng lần lượt là -8,9; -9,4 và -10,2 kCal/mol. Các hợp chất này được đánh giá có đặc tính giống thuốc và đặc điểm dược động học khả quan như: Khả năng thấm tốt qua màng, hấp thu tốt, thải trừ qua thận, không có khả năng gây độc trên tim và kích ứng da. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu sâu hơn trên mô hình *in vivo* và *in vitro* như: Chiết xuất cao toàn phần hoặc phân đoạn cao chiết, phân tách các hợp chất, thử nghiệm trên động vật, trên cơ thể người để đánh giá và phát triển những hợp chất tiềm năng này trở thành thuốc điều trị ung thư phổi.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sung H, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021; 71(3):209-249.
2. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures*. 2023.
3. Wang Zhixiang. ErbB receptor signaling: Methods and protocols. *ErbB Receptors and Cancer*. 2017:3-35.
4. Ciardiello F and G Tortora. EGFR antagonists in cancer treatment. *New England Journal of Medicine*. 2008; 358(11):1160-1174.

5. Rajput A, R Sharma and R Bharti. Pharmacological activities and toxicities of alkaloids on human health. *Materials Today: Proceedings*. 2022; 48:1407-1415.
6. Sindhoor S, et al. A spotlight on alkaloid nanoformulations for the treatment of lung cancer. *Frontiers in Oncology*. 2022; 12.
7. Behl T, et al. Expatriating the pharmacological and nanotechnological aspects of the alkaloidal drug berberine: Current and future trends. *Molecules*. 2022; 27(12):3705.
8. Chen J, et al. Berberine chloride suppresses non-small cell lung cancer by deregulating Sin3A/TOP2B pathway in vitro and in vivo. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2020; 86:151-161.
9. Yu-Bin Ji. Research progress on pharmacological effects of tetrahydroberberine. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 2017:5270-5275.
10. Teklemichael AA, et al. Anti-malarial activity of traditional Kampo medicine Coptis rhizome extract and its major active compounds. *Malaria Journal*. 2020; 19(1):1-10.

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ CAO LÔNG HÀNH ĐEN  
GIÀU CYCLOALLIIN

Nguyễn Hồng Sơn<sup>1,2</sup>, Nguyễn Trọng Điệp<sup>1</sup>, Văn Khắc Tuyên<sup>2</sup>  
Nguyễn Thị Thủy<sup>3</sup>, Vũ Bình Dương<sup>1</sup>, Phạm Văn Hiến<sup>1\*</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Bào chế được cao lông hành đen giàu cycloalliin (CYC).  
**Phương pháp nghiên cứu:** Các thông số ảnh hưởng đến chiết xuất cao giàu CYC từ hành đen được khảo sát và lựa chọn. Áp dụng các thông số lựa chọn được để xây dựng quy trình chiết xuất 200 g/mẻ và đánh giá độ lặp lại của quy trình thông qua độ thu hồi CYC. **Kết quả:** Các thông số phù hợp của quá trình chiết xuất cao lông hành đen giàu CYC đã được khảo sát và lựa chọn. Các thông số đó bao gồm phương pháp chiết là chiết nóng, dung môi chiết là ethanol (EtOH) 50%, tỷ lệ dung môi/dược liệu là 20/1 (mL/g), số lần chiết là 2 lần, nhiệt độ chiết là 80°C, thời gian cho mỗi lần chiết là 120 phút. Áp dụng các thông số trên, nghiên cứu này đã xây dựng được quy trình chiết xuất cao lông hành đen quy mô 200 g/mẻ với hiệu suất thu hồi cycloalliin đạt  $90,3 \pm 0,6\%$ . **Kết luận:** Xây dựng thành công quy trình bào chế cao lông hành đen giàu CYC quy mô 200 g/mẻ.

**Từ khóa:** Hành đen; Cycloalliin; Cao lông.

STUDY ON THE PREPARATION OF CYCLOALLIIN-RICH LIQUID  
EXTRACTED FROM BLACK SHALLOT

**Abstract**

**Objectives:** To prepare cycloalliin-rich liquid extracted from black shallot.  
**Methods:** In-process parameters affecting the process of cycloalliin-rich liquid extraction were investigated and chosen. These parameters were applied to prepare

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Viện Y học Cổ truyền Quân đội

<sup>3</sup>Viện Kiểm nghiệm Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội, Cục Quân y

\*Tác giả liên hệ: Phạm Văn Hiến (phamvanhien181288@gmail.com)

Ngày nhận bài: 17/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.456>

the process of shallot liquid extraction at 200 g/lot scale and determine the repeatability via the recovery of CYC. **Results:** The suitable parameters of cycloalliin-rich liquid extracted from black shallot were investigated, including: Using a hot-extraction method at the temperature of 80°C, a solvent of 50% EtOH, a solvent-to-material ratio of 20/1 (mL/gram), two extraction times, and 120 minutes each time. From these parameters, an extraction process of black shallot at 200 g/lot scale was prepared with the recovery of CYC at  $90.3 \pm 0.6\%$ . **Conclusion:** An extraction process of cycloalliin-rich liquid extracted from black shallot at 200 g/lot scales was successfully established.

**Keywords:** Black shallot; Cycloalliin; Liquid extract.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, công nghệ lên men tự thân đã được ứng dụng rộng rãi để tạo ra các loại nguyên liệu có hàm lượng hoạt chất tăng nhiều lần hơn so với dược liệu nguyên bản ban đầu và tiềm năng hơn về tác dụng sinh học. Ở nước ta hiện nay, một số nguyên liệu được tạo ra từ công nghệ lên men tự thân như tỏi đen, hành đen, đang ngày càng đóng vai trò quan trọng hơn trong sản xuất các chế phẩm bảo vệ sức khỏe. Đáng chú ý, sau khi sản xuất thành công tỏi đen thì hành đen là một đối tượng nghiên cứu được quan tâm trong thời gian gần đây với thành phần hoá học và hoạt tính sinh học tiềm năng. Thành phần hoá học quan trọng trong hành đen là CYC [5, 6]. Đây là hợp chất thuộc nhóm organosulfua thường xuất hiện nhiều trong chi *Allium* thuộc họ Hành (Liliaceae). Trong đó, từ hợp chất ban đầu là L-cystein, trải qua một loạt các

quá trình chuyển hoá trong thực vật sẽ tạo ra isoalliin và cuối cùng là tạo thành CYC [3]. Đây được coi là hoạt chất chính quan trọng góp phần tạo ra nhiều tác dụng sinh học quý của hành đen [6, 7, 8].

Tuy nhiên, khác với tỏi đen, việc sử dụng hành đen để ăn trực tiếp như tỏi đen là không phổ biến do không tiện lợi, khó bóc. Do đó, hành đen cần được chiết xuất để chuyển dạng bào chế phù hợp. Xuất phát từ lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Chiết xuất cao lỏng hành đen giàu hoạt chất CYC làm cơ sở cho việc bào chế các chế phẩm từ hành đen.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên liệu, dụng cụ, thiết bị

Hành đen đạt tiêu chuẩn cơ sở (TCCS) được sản xuất tại Trung tâm Nghiên cứu, Ứng dụng và Sản xuất Thuốc, Học viện Quân y vào tháng 9/2021.

Các thiết bị, dụng cụ bao gồm: Hệ thống sắc ký hiệu năng cao e2695 kết nối detector PDA Water 996; cột sắc ký Wakopak Wakosil 5NH2, kích thước cột 25 × 4,6mm, đường kính hạt nhồi 5 $\mu$ m; cân xác định độ ẩm tự động Adam AMB310; máy đo quang phổ hấp phụ nguyên tử AAS Analytik Jena; tủ sấy YDO 200; hệ thống chiết xuất, cô thu hồi dung môi DT-100S; và các dụng cụ thiết bị thường quy khác.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Xác định hàm lượng CYC trong hành đen:*

Định lượng CYC trong nguyên liệu hành đen bằng phương pháp HPLC theo công bố của Nguyễn Hồng Sơn và CS [2].

\* *Phương pháp nghiên cứu xây dựng quy trình bào chế cao lỏng hành đen:*

- Phương pháp khảo sát lựa chọn các thông số của quá trình chiết xuất:

+ Lựa chọn phương pháp chiết xuất: Khảo sát với hai phương pháp là chiết nóng và chiết siêu âm.

Chiết nóng: Cân khoảng 10g hành đen vào bình cầu dung tích 500mL, chiết bằng EtOH 50% ở 80°C với tỷ lệ dung môi/dược liệu (DM/DL) là 20/1 (mL/g) trong 120 phút. Sau đó, để lắng

tự nhiên, gạn thu lấy dịch chiết và lọc thu lấy dịch trong. Tập trung phần dịch gạn và dịch lọc để thu được dung dịch chiết duy nhất.

Chiết siêu âm: Cân khoảng 10g hành đen vào bình thuỷ tinh chuyên dụng của thiết bị chiết, thêm EtOH 50% với tỷ lệ DM/DL là 20/1 (mL/g) và chiết trong 120 phút. Sau khi chiết, xử lý thu dịch chiết như phần chiết nóng ở trên.

Chỉ tiêu đánh giá: Dựa vào hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu và hiệu suất chiết CYC.

Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu được xác định dựa vào nồng độ cycloallin trong dịch chiết thu được, sử dụng phương pháp HPLC theo tài liệu tham khảo [2], cụ thể:

Điều kiện sắc ký: Cột Wakopak Wakosil 5NH2 (250 x 4,6mm, 5 $\mu$ m). Pha động là dung dịch H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,5% pha trong nước (A) và dung dịch H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,5% pha trong acetonitril (B) chạy theo chương trình gradient (0 - 5 phút: 16% A; 5 - 15 phút: 16 - 20% A; 15 - 20 phút: 20 - 16% A; 20 - 30 phút: 16% A). Tốc độ dòng pha động: 1,5 mL/phút. Thể tích tiêm mẫu: 10 $\mu$ L. Nhiệt độ cột: 40°C. Detector UV, bước sóng 210nm.

Mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 50mg chuẩn cycloallin vào bình định mức 50mL, thêm khoảng 40mL ACN 50%, lắc siêu âm 10 phút để tan hoàn toàn. Để yên ở nhiệt độ phòng, bổ sung vừa đủ thể tích bằng ACN 50%, lắc đều thu được dung dịch chuẩn gốc CYC có nồng độ 1,0 mg/mL. Từ chuẩn gốc CYC 1,0 mg/mL, tiến hành pha loãng bằng acetonitril 50% để thu được các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ 5 - 100 µg/mL.

Mẫu thử: Hút chính xác khoảng 1,0mL cao lỏng hành đen cho vào bình định mức 100mL, bổ sung MeOH vừa đủ, lắc đều. Hút chính xác 1,0mL dung dịch này pha loãng 50 lần, lọc qua màng lọc 0,45µm để tiêm sắc ký HPLC.

Hàm lượng CYC biểu kiến (H) được tính toán dựa vào hàm lượng CYC trong dịch chiết được xác định theo công thức:  $H \text{ (mg/g)} = (C \times V \times 100) / (m \times (100-a))$ . Với C là nồng độ CYC trong dịch chiết (mg/mL); V là thể tích dịch chiết thu được (mL); m là khối lượng cân của dược liệu (g); a là độ ẩm của hành đen (%).

Hiệu suất chiết cycloallin từ hành đen được xác định là tỷ lệ phần trăm của lượng CYC chiết được/lượng CYC trong dược liệu.

+ Khảo sát lựa chọn các thông số của quá trình chiết xuất:

Sử dụng phương pháp chiết đã lựa chọn được ở trên để tiếp tục nghiên cứu lựa chọn thông số của quá trình chiết bao gồm: Loại dung môi, tỷ lệ DM/DL, số lần chiết, nhiệt độ chiết và thời gian chiết. Cân khoảng 10g hành đen vào bình cầu, chiết với các dung môi khác nhau gồm EtOH có nồng độ từ 30 - 90%, tỷ lệ dung môi/dược liệu từ 10/1-25/1 (mL/g), số lần chiết từ 1 - 3 lần, nhiệt độ chiết từ 60°C - 90°C, thời gian chiết từ 90 - 150 phút/lần. Đối với mỗi khảo sát sau khi lựa chọn được thông số phù hợp sẽ cố định thông số đó để tiếp tục khảo sát các thông số tiếp theo.

Chỉ tiêu đánh giá: Dựa vào hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu và hiệu suất chiết CYC như phần *Khảo sát lựa chọn phương pháp chiết xuất*.

\* *Đánh giá độ ổn định của quy trình chiết xuất:*

Từ các thông số đã khảo sát được, đánh giá độ ổn định và lặp lại của quy trình chiết trên 3 mẻ quy mô 200 g/mẻ.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Kết quả định lượng CYC trong nguyên liệu hành đen đầu vào

Định lượng 5 mẫu hành đen cho thấy hàm lượng CYC là  $80,86 \pm 1,30$  mg/g tính theo khối lượng khô kiệt. Độ ẩm của dược liệu là 24,66%.

## 2. Kết quả nghiên cứu khảo sát các thông số quá trình chiết xuất

\* *Khảo sát lựa chọn phương pháp chiết xuất:*

Khảo sát với hai phương pháp: Chiết nóng và siêu âm. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của phương pháp chiết đến hiệu suất chiết CYC ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Phương pháp chiết	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
Chiết nóng	54,52 ± 1,05	67,43 ± 1,29
Chiết siêu âm	42,91 ± 0,80	53,06 ± 0,98

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, với phương pháp chiết nóng, lượng CYC chiết được và hiệu suất chiết CYC đều cao hơn hẳn so với phương pháp chiết siêu âm. Ngoài ra, theo thực tế quan sát được, phương pháp chiết siêu âm có xu hướng chiết thêm nhiều tạp, đặc biệt là các tạp ở dạng chất nhầy. Vì vậy, lựa chọn phương pháp chiết nóng để khảo sát các thông số của quy trình chiết xuất.

\* *Khảo sát lựa chọn các thông số của quá trình chiết xuất:*

- Khảo sát ảnh hưởng của loại dung môi:

Sử dụng phương pháp chiết nóng ở nhiệt độ 80°C để chiết xuất cao lỏng hành đen. Tỷ lệ DM/DL là 20/1 (g/mL), chiết 1 lần trong 120 phút. Khảo sát với các dung môi chiết gồm nước và EtOH có nồng độ khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của dung môi đến chiết xuất CYC ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Dung môi chiết	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
Nước	23,89 ± 0,33	29,54 ± 0,41
EtOH 30%	27,18 ± 0,70	33,61 ± 0,87
EtOH 50%	54,58 ± 1,55	67,51 ± 1,91
EtOH 70%	54,77 ± 0,97	67,74 ± 1,20
EtOH 90%	22,71 ± 0,88	28,08 ± 1,09

Kết quả từ bảng 2 cho thấy, loại dung môi chiết ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng hoạt chất thu được và hiệu suất chiết xuất CYC. Khi sử dụng dung môi chiết là nước, cho hiệu suất chiết thu được là thấp nhất. Khi sử dụng EtOH với các nồng độ khác nhau thì hiệu suất chiết CYC thu được cũng khác nhau. Trong khoảng nồng độ từ 30% - 70%, hiệu suất chiết có xu hướng tăng đồng biến với nồng độ EtOH. Tuy nhiên, với nồng độ EtOH là 50% và 70% thì hiệu suất thu được khác nhau không đáng kể. Kết quả thu được cũng cho thấy, khi sử dụng EtOH 90%, thì lượng CYC thu được và hiệu suất chiết giảm đi đáng kể ( $28,08 \pm 1,09\%$ ). Điều này có thể do khi tăng nồng độ EtOH lên quá cao sẽ xảy ra hiện tượng đông vón các protein, gây

khó khăn cho quá trình khuếch tán hoạt chất ra khỏi màng tế bào. Điều này đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu.

Từ các kết quả trên, với tiêu chí là lựa chọn dung môi thân thiện, không độc hại và dễ ứng dụng khi nâng cấp quy mô, nghiên cứu này lựa chọn dung môi chiết xuất là EtOH 50% để tiếp tục khảo sát các thông số tiếp theo.

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/dược liệu:

Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL từ 10/1-30/1 (mL/g). Các thông số chiết xuất cố định gồm: Phương pháp chiết là chiết nóng, nhiệt độ chiết  $80^{\circ}\text{C}$ , thời gian chiết 120 phút, chiết 1 lần, dung môi chiết là EtOH 50%. Kết quả khảo sát được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL đến chiết xuất CYC ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ , n = 5).

Tỷ lệ DM/DL (mL/g)	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
10/1	$23,27 \pm 0,74$	$28,78 \pm 0,92$
15/1	$32,27 \pm 1,14$	$39,91 \pm 1,41$
20/1	$54,49 \pm 1,47$	$67,39 \pm 1,81$
25/1	$58,35 \pm 2,40$	$72,17 \pm 2,97$
30/1	$59,11 \pm 2,37$	$73,10 \pm 2,94$

Kết quả từ bảng 3 cho thấy, tỷ lệ DM/DL ảnh hưởng trực tiếp đến lượng CYC thu được và hiệu suất chiết hoạt chất này. Theo xu hướng chung, khi tăng lượng

dung môi chiết, tỷ lệ DM/DL tăng thì hiệu suất chiết cycloallin tăng. Tuy nhiên, với các tỷ lệ DM/DL từ 20/1 - 30/1, khi tăng lượng dung môi chiết thì hiệu suất tăng lên không đáng kể. Bên cạnh đó, khi tăng lượng dung môi chiết sẽ tăng chi phí của quá trình chiết xuất do tiêu tốn nhiều dung môi, tiêu tốn năng lượng cần thiết cho quá trình cô cao ở giai đoạn sau. Vì vậy, tỷ lệ DM/DL để chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC được lựa chọn là 20/1.

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết:

Thực hiện chiết xuất cao lỏng hành đen, khảo sát số lần chiết xuất từ 1 - 3 lần. Các thông số quá trình được cố định gồm: Phương pháp chiết nóng ở nhiệt độ 80°C, thời gian chiết là 120 phút/lần, dung môi chiết là EtOH 50%, tỷ lệ dung môi/dược liệu là 20/1 (mL/g). Kết quả được trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4.** Kết quả khảo sát ảnh hưởng của số lần chiết đến chiết xuất CYC ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Số lần chiết (lần)	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
1	54,86 ± 2,13	67,85 ± 2,63
2	71,09 ± 2,24	87,92 ± 2,77
3	73,95 ± 1,71	91,47 ± 2,12

Kết quả bảng 4 cho thấy, số lần chiết ảnh hưởng đến lượng CYC thu được và hiệu suất chiết hoạt chất này. Khi chiết xuất một lần duy nhất, quá trình chiết xuất chưa chiết kiệt được hoạt chất, dẫn đến hiệu suất thu hồi hoạt chất thấp (67,85 ± 2,63%). Khi tăng số lần chiết thì hiệu suất chiết CYC tăng lên đáng kể. Tuy nhiên, khi tăng số lần chiết từ 2 lần lên 3 lần thì hiệu suất chiết hoạt chất này tăng lên không đáng kể. Nhằm tiết kiệm thời gian, chi phí (do tiêu tốn dung môi, năng lượng), lựa chọn số lần chiết là 2 lần để thực hiện các khảo sát tiếp theo.

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chiết:

Khảo sát các nhiệt độ chiết xuất trong khoảng từ 60 - 90°C. Các thông số quy trình được cố định gồm: Phương pháp chiết là chiết nóng, số lần chiết là 2 lần,

dung môi chiết là EtOH 50%, tỷ lệ DM/DL là 20/1 (mL/g). Kết quả được trình bày ở bảng 5.

**Bảng 5.** Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến chiết xuất CYC ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Nhiệt độ chiết (°C)	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
60	56,64 ± 2,04	70,05 ± 2,52
70	66,49 ± 1,88	82,24 ± 2,32
80	70,84 ± 2,03	87,61 ± 2,51
90	69,32 ± 2,55	85,73 ± 3,15

Kết quả từ bảng 5 cho thấy nhiệt độ chiết ảnh hưởng đến lượng CYC thu được và hiệu suất chiết xuất. Trong khoảng 60 - 80°C, khi tăng nhiệt độ chiết thì hiệu suất chiết CYC có xu hướng tăng lên và đạt mức cao nhất ở 80°C (87,61%). Khi tăng nhiệt độ lên 90°C thì hiệu suất chiết CYC có xu hướng giảm xuống. Vì vậy, lựa chọn nhiệt độ chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC là 80°C.

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết:

Thực hiện chiết xuất trong các khoảng thời gian chiết từ 90 - 150 phút. Các thông số quy trình cố định gồm: Phương pháp chiết nóng ở 80°C, chiết 2 lần với dung môi EtOH 50%, tỷ lệ DM/DL là 20/1 (mL/g). Kết quả được trình bày ở bảng 6.

**Bảng 6.** Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến chiết xuất CYC từ hành đen ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 5).

Thời gian mỗi lần chiết	Hàm lượng CYC biểu kiến trong dược liệu (mg/g)	Hiệu suất chiết CYC (%)
90 phút	52,67 ± 1,93	65,14 ± 2,39
120 phút	70,90 ± 1,83	87,68 ± 2,27
150 phút	71,40 ± 2,33	88,30 ± 2,88

Kết quả bảng 6 cho thấy, thời gian chiết xuất ảnh hưởng đến lượng CYC thu được và hiệu suất chiết xuất. Nhìn chung, khi tăng thời gian chiết thì lượng CYC

thu được và hiệu suất chiết đều tăng lên. Khi chiết trong 90 phút, lượng CYC và hiệu suất chiết đạt được ở mức thấp ( $65,14 \pm 2,39\%$ ), chứng tỏ thời gian chiết này chưa chiết kiệt được hoạt chất. Khi tăng thời gian chiết lên từ 120 - 150 phút thì hiệu suất chiết tăng lên đáng kể. Kết quả thực nghiệm trên cũng cho thấy, sự khác biệt về lượng CYC thu được và hiệu suất chiết thay đổi không đáng kể khi chiết ở 120 phút/lần và 150 phút/lần (hiệu suất  $87,68 \pm 2,27\%$  so với  $88,30 \pm 2,88\%$ ). Vì vậy, nhằm tiết kiệm thời gian, và chi phí năng lượng, lựa chọn thời gian chiết cho mỗi lần là 120 phút đối với chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC.

\* *Kết quả đánh giá độ ổn định của quy trình chiết xuất:*

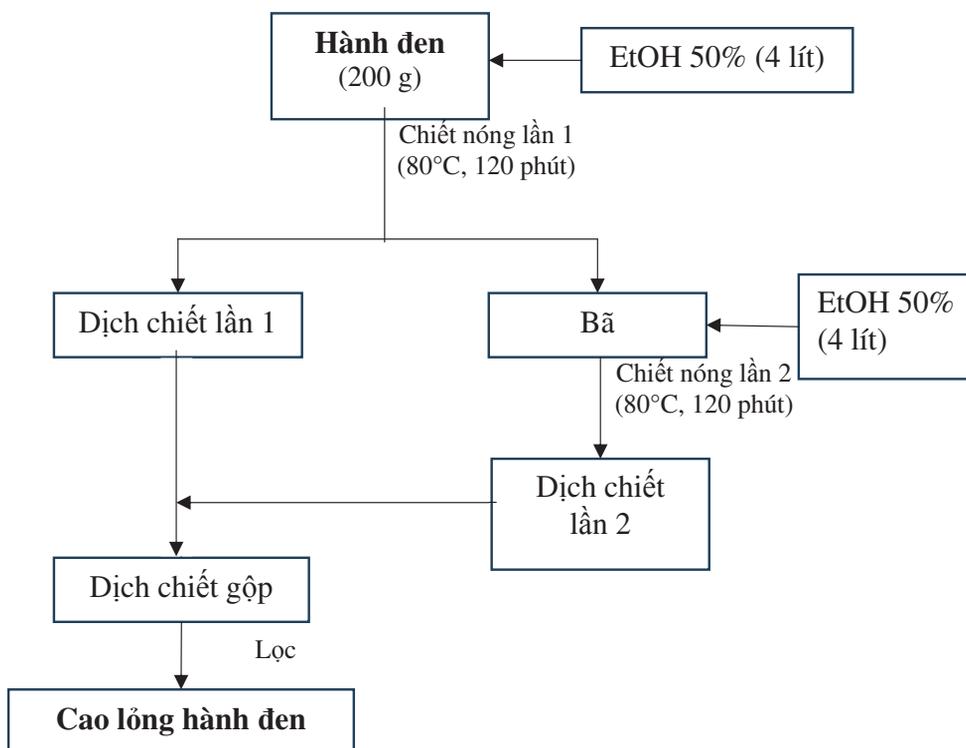
Từ các thông số đã khảo sát lựa chọn được ở trên, áp dụng để xây dựng quy trình chiết xuất ở quy mô 200g dược liệu/mẻ. Đánh giá độ lặp lại của quy trình trên 3 mẻ chiết khác nhau. Kết quả được trình bày như bảng 7.

**Bảng 7.** Kết quả đánh giá độ lặp lại của quy trình chiết xuất hành đen giàu CYC quy mô 200 g/mẻ.

Mẻ	Khối lượng dược liệu (g)	Hàm ẩm dược liệu (%)	Lượng dịch chiết thu được (lít)	Nồng độ CYC trong dịch chiết (mg/mL)	Hiệu suất chiết CYC (%)
1	200,5	24,66	7,8	13,36	89,6
2	202,1	-	7,8	13,6	90,5
3	204,5	-	7,7	13,98	90,7
$\bar{X} \pm SD$					90,3 $\pm$ 0,6

Kết quả từ Bảng 7 cho thấy, hiệu suất chiết CYC đối với quy trình 200g dược liệu/mẻ đạt từ 89,6 - 90,7%. Điều này chứng tỏ quy trình chiết xây dựng là lặp lại

và ổn định. Từ các kết quả khảo sát ở trên, quy trình chiết xuất cao lỏng giàu CYC quy mô 200g dược liệu/mẻ được đưa ra như sau:



**Hình 1.** Sơ đồ quy trình chiết xuất hành đen quy mô 200 g/mẻ.

Cân khoảng 200g hành đen cho vào túi lưới có kích thước mắt lưới khoảng 500 x 500mm và chuyển vào thiết bị chiết nóng dung tích 30L có cánh khuấy, có kết nối bộ phận làm lạnh và bộ lọc hút chân không. Thêm 4L EtOH 50%, chiết nóng ở nhiệt độ 80°C trong 120 phút, tốc độ khuấy trộn 45 vòng/phút. Sau đó, sử dụng bộ lọc hút chân không của thiết bị lọc để tách riêng phần dịch chiết và phần bã. Bã trong nồi chiết được thêm tiếp 4L EtOH 50% và chiết tiếp như lần 1. Sau khi chiết, lọc tiếp phần hỗn hợp để thu được dịch chiết gộp. Dịch chiết này được kiểm tra hàm lượng và đánh giá một số chỉ tiêu cảm quan trước khi chuyển sang giai đoạn bào chế tiếp theo.

## BÀN LUẬN

### 1. Chuẩn hoá nguyên liệu hành đen đầu vào của quá trình chiết xuất

Hành đen là loại dược liệu mới, chưa có chuyên luận trong Dược điển Việt Nam V; do đó, việc chuẩn hoá nguyên liệu hành đen đầu vào của quá trình chiết xuất là cần thiết. Nguyên liệu hành đen sử dụng trong nghiên cứu là nguyên liệu đã chuẩn hoá đạt TCCS (nội dung xây dựng TCCS của hành đen đã được thực hiện trước đó). Trong nghiên cứu này, hàm lượng CYC trong hành đen được xác định bằng phương pháp HPLC để có căn cứ đánh giá hiệu suất chiết xuất hoạt chất này từ nguyên liệu ban đầu.

### 2. Điều chế cao lỏng hành đen giàu CYC

Có thể sử dụng nhiều phương pháp để chiết xuất cao lỏng hành đen. Tuy nhiên, cần có khảo sát để lựa chọn phương pháp phù hợp, kinh tế và có khả năng nâng cấp lô mẻ hướng tới sản xuất công nghiệp.

Hiện nay, có nhiều phương pháp được ứng dụng trong chiết xuất như sử dụng sóng siêu âm, sóng viba, chiết dưới áp lực cao, chiết siêu tới hạn,... Trong đó, chiết siêu âm đã và đang được ứng dụng rộng rãi ở quy mô phòng thí nghiệm đến công nghiệp, áp

dụng thành công chiết xuất nhiều hoạt chất từ thực vật như: alcaloid, ginsenosid, phenolic, flavonoid, polysaccharid, protein và tinh dầu. Như trong nghiên cứu của Trần Phương Chi và CS đã tối ưu hóa phương pháp chiết siêu âm các hợp chất chống oxy hóa trong hành đen bằng phương pháp siêu âm dựa vào kết quả tối ưu hoá theo mô hình bề mặt đáp ứng Box-behken [9]. Tuy nhiên, phương pháp này có nhược điểm là yêu cầu máy móc, thiết bị phức tạp và khó nâng cấp quy mô sản xuất. Vì vậy, nghiên cứu này thử nghiệm với hai phương pháp chiết nóng và chiết siêu âm để khắc phục các hạn chế trên, nhằm đưa ra một quy trình chiết xuất tối giản các thiết bị, dễ triển khai. Kết quả từ nghiên cứu này cho thấy phương pháp chiết nóng cho hiệu suất chiết CYC cao hơn so với chiết siêu âm. Đây là một điểm khác biệt so với nhiều nghiên cứu khác (thông thường, chiết siêu âm cho hiệu suất cao). Mặt khác, khi sử dụng phương pháp chiết nóng xu hướng chung sẽ hạn chế được nhiều tạp hơn so với chiết siêu âm.

*\* Ảnh hưởng của loại dung môi chiết:*

Dung môi chiết là một yếu tố quan trọng trong chiết xuất hoạt chất từ dược liệu, đặc biệt là trong bào chế để sản xuất các bán thành phẩm và thành

phẩm phục vụ chăm sóc, bảo vệ sức khoẻ. Dung môi đóng vai trò hoà tan hoạt chất, đưa hoạt chất ra khỏi dược liệu. Bản chất của dung môi quyết định nhiều đến hiệu suất chiết xuất các hoạt chất. Nếu lựa chọn dung môi không tốt thì có thể chiết không kiệt hoạt chất hoặc có chứa các tạp chất, ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Trong chiết xuất công nghiệp, dung môi chiết xuất lựa chọn cần phải thân thiện với môi trường, không hoặc có rất ít tác dụng phụ ảnh hưởng tới sức khoẻ, kinh tế. Chính vì thế, các công nghệ chiết xuất xanh là ưu tiên lựa chọn hàng đầu. Trong chiết xuất có sử dụng dung môi thường ưu tiên dung môi nước hoặc cồn EtOH. Do đó, nghiên cứu này khảo sát dung môi chiết là nước và các dung môi EtOH với nồng độ khác nhau từ 30 - 90%. Nghiên cứu này xác định được dung môi phù hợp nhất là EtOH 50%. Điều này là phù hợp với nhiều nghiên cứu chiết xuất công nghiệp vì khi sử dụng nồng độ EtOH quá cao sẽ hạn chế quá trình khuếch tán chất tan vào dung môi do dễ gây đông vón protein, nếu nồng độ cồn quá thấp hiệu quả chiết xuất thường không cao do bản chất CYC và nhiều hoạt chất khác là ít tan trong nước.

*\* Ảnh hưởng của tỷ lệ DM/DL và số lần chiết:*

Khi tăng tỷ lệ DM/DL sẽ thường làm tăng hiệu suất chiết hiện tượng pha loãng nồng độ. Tuy nhiên, việc tăng tỷ lệ DM/DL sẽ tốn dung môi, dịch chiết cần thu hồi dung môi và do đó sẽ tiêu tốn năng lượng, thậm chí làm suy giảm hàm lượng hoạt chất đối với các hoạt chất kém bền trong môi trường nhiệt, ẩm. Ngược lại, nếu tỷ lệ DM/DL quá thấp sẽ không chiết kiệt được hoạt chất. Do vậy, cần nghiên cứu xác định tỷ lệ DM/DL thích hợp. Nghiên cứu này lựa chọn được tỷ lệ DM/DL là 20/1 (mL/g) là phù hợp với thực tế khi chiết xuất ở quy mô nhỏ. Tuy nhiên, khi nâng cấp lên quy mô công nghiệp, tỷ lệ DM/DL cần được đánh giá một cách thận trọng để giảm chi phí, hạ giá thành sản xuất.

*\* Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết:*

Khi nhiệt độ tăng lên thì chuyển động nhiệt (hay còn gọi là chuyển động Brown) tăng lên. Hiệu suất của quá trình chiết xuất hoạt chất phụ thuộc vào mức độ khuếch tán, sự chênh lệch nồng độ của các lớp dung môi liền kề nhau. Khi tăng nhiệt độ chiết sẽ làm tăng chuyển động Brown, làm tăng khả năng hoà tan, khuếch tán và do đó tăng hiệu suất chiết xuất. Ngoài ra, khi nhiệt độ tăng thì độ nhớt của dung môi giảm, quá trình chiết xuất được thực hiện dễ dàng hơn. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ

lên ở mức quá cao, sẽ dễ gây phân huỷ các hoạt chất, đặc biệt là các hoạt chất kém bền với ẩm và nhiệt. Vì vậy, việc lựa chọn nhiệt độ chiết xuất phù hợp là quan trọng để đảm bảo chiết kiệt hoạt chất nhưng không làm phân huỷ chúng. Nghiên cứu này cho thấy, chiết nóng ở nhiệt độ 80°C là phù hợp để chiết xuất cao lỏng giàu CYC từ hành đen. Điều này là tương tự như chiết xuất CYC từ tỏi [4].

*\* Ảnh hưởng của thời gian chiết:*

Thời gian chiết cần được đánh giá trong nghiên cứu xây dựng quy trình chiết xuất hoạt chất từ dược liệu nhằm giảm tiêu tốn năng lượng, giảm chi phí, đồng thời giúp hạn chế việc phân huỷ hoạt chất do giảm thời gian chịu tác động của môi trường nhiệt ẩm trong suốt quá trình chiết. Nghiên cứu này lựa chọn được thời gian cho mỗi lần chiết là 120 phút. Đây là khoảng thời gian phù hợp để thu được hiệu suất chiết CYC từ hành đen ở mức cao, làm cơ sở cho các khảo sát ở các quy mô chiết xuất lớn hơn hướng tới quy mô công nghiệp.

Tóm lại, trong nghiên cứu này, các thông số ảnh hưởng đến chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC đã được nghiên cứu khảo sát. Từ các thông số đã khảo sát, xây dựng được quy trình chiết xuất hành đen quy mô 200 g/mẻ. Đánh giá trên 3 mẻ chiết ở quy mô này cho thấy quy trình là lặp lại và ổn định.

## KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã lựa chọn được các điều kiện chiết phù hợp để chiết xuất cao lỏng giàu CYC từ hành đen. Các thông số lựa chọn bao gồm: Sử dụng phương pháp chiết nóng ở nhiệt độ 80°C với EtOH 50%, tỷ lệ dung môi/dược liệu là 20/1 (mL/g), chiết 2 lần, thời gian cho mỗi lần chiết là 120 phút. Từ các thông số này, nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình chiết xuất cao lỏng hành đen giàu CYC quy mô 200 g/mẻ với hiệu suất thu hồi CYC đạt  $90,3 \pm 0,6\%$ .

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Hà Nội. 2018.
2. Nguyễn Hồng Sơn và CS. Nghiên cứu định lượng cycloalliin trong hành đen bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao. *Tạp chí Dược học*. 2020; 529(60): 69-74.
3. Kim S, et al. Change in organosulfur compounds in onion (*Allium cepa* L.) during heat treatment. *Food Science and Biotechnology*. 2016; 25:115-119.
4. Lee HJ, et al. Optimization of extraction of cycloalliin from garlic (*Allium sativum* L.) by using principal components analysis. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2016; 21(2):138.

5. Moreno-Ortega A, et al. Changes in the Organosulfur and Polyphenol Compound Profiles of Black and Fresh Onion during Simulated Gastrointestinal Digestion. *Foods*. 2021; 10(2):337.
6. Nguyen Hong Son, et al. Study on preparation of black shallot dried extracts by spray drying method. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 2022; 5:167-180.
7. Tran GB and Ngo TTM. Hepatoprotective effect of black shallot (*Allium ascalonicum*) against alcohol-induced hepatic damage in Swiss albino mice. *The 2<sup>nd</sup> International Conference on Advanced Technology & Sustainable Development (ICATSD 2022)*. 2022:5-13.
8. Tran GB, et al. Chemical composition and antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer effects of ethanol extract of black shallot (*Allium ascalonicum*). *Pharmacophore*. 2013; 11:30-37.
9. Tran Phuong Chi, Bui Thi Trang, and Nguyen Thi Nu Trinh. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extractions of Antioxidant Compounds in Black Shallots (*Allium ascalonicum*) from Vietnam using Response Surface Methodology. *Malaysian Journal of Chemistry*. 2022; 24(1):26-35.

**ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI 6-SHOGAOL, 6-GINGEROL,  
8-GINGEROL, 10-GINGEROL TRONG GỪNG (*Zingiber officinale* Rosc.)  
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

*Hồ Bá Ngọc Minh<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Điệp<sup>1</sup>, Phạm Văn Hiến<sup>1</sup>  
Ngô Thị Tuyết Mai<sup>1</sup>, Phạm Kỳ Anh<sup>2</sup>, Vũ Bình Dương<sup>1\*</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Xây dựng phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol trong gừng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography - HPLC) ứng dụng trong kiểm nghiệm nguyên liệu và thành phẩm. **Phương pháp nghiên cứu:** Khảo sát, lựa chọn điều kiện sắc ký. Thăm định phương pháp phân tích theo hướng dẫn chung của ICH (International Conference on Harmonisation). **Kết quả:** Nghiên cứu đã lựa chọn được các điều kiện sắc ký gồm cột InertSustain AQ - C18 (150 x 4,6mm, 5µm), detector UV bước sóng 280nm; hệ dung môi pha động: Acetonitril (C) và acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient (0 - 10 phút, C 50%; 10 - 40 phút, C 50% - 90%; 40 - 45 phút, C 90% - 100%; 45 - 50 phút, C 100% - 50%); thể tích bơm mẫu là 10µL; tốc độ dòng pha động là 1,0 mL/phút. Thăm định phương pháp sắc ký về tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, độ chọn lọc, độ đúng và độ chính xác. **Kết luận:** Đã xây dựng được phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol. Kết quả thăm định cho thấy, phương pháp phân tích đáp ứng yêu cầu theo hướng dẫn của ICH.

**Từ khoá:** 6-shogaol; 6-gingerol; 8-gingerol; 10-gingerol; Sắc ký lỏng hiệu năng cao.

**SIMULTANEOUS DETERMINATION METHOD OF 6-SHOGAOL,  
6-GINGEROL, 8-GINGEROL, AND 10-GINGEROL  
BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

**Abstract**

**Objectives:** To develop a method to simultaneously quantify 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol in ginger using high-performance liquid

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Đại học Đại Nam

\*Tác giả liên hệ: Vũ Bình Dương (vbduong2978@gmail.com)

Ngày nhận bài: 18/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/5/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.463>

chromatography - HPLC for application in raw material testing and finished products. **Methods:** The validation was carried out in accordance with ICH guidelines. **Results:** The optimal condition of parameters was: InertSustain AQ - C<sub>18</sub> column (150 x 4.6 mm, 5 $\mu$ m); injection volume (10  $\mu$ L); the mixture of ACN (C) and acetic acid 0.1% (A) as mobile phase in gradient elution mode: (0 - 10 min, C 50%; 10 - 40 min, C 50% - 90%; 40 - 45 min, C 90% - 100%; 45 - 50 min, C 100% - 50%) with a flow rate of 1 mL/minute); detection at 280nm. The method was validated with the following criteria: System suitability, selectivity, linearity, precision, accuracy, LOD, and LOQ. **Conclusion:** The simultaneous determination of 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, and 10-gingerol was fully validated in accordance with ICH.

**Keywords:** 6-shogaol; 6-gingerol; 8-gingerol; 10-gingerol; High-performance liquid chromatography.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Gừng (*Zingiber officinale* Rosc.) là loại cây trồng mang lại giá trị kinh tế cao cho ngành nông nghiệp Việt Nam, được sử dụng như một gia vị trong chế biến các món ăn, đồng thời cũng là một trong các vị thuốc của y học cổ truyền (YHCT) có tác dụng ôn trung tán hàn để chữa một số bệnh như đau bụng, chân tay lạnh...[1, 2]. Trong những năm gần đây, gừng đã được chứng minh có các hoạt tính sinh học như: Chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn và chống ung thư...[3], nhờ vào các thành phần quan trọng như: 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol,...đem lại nhiều tác dụng có hiệu quả trong điều trị bệnh [4].

Để đánh giá chất lượng các sản phẩm có nguồn gốc từ gừng trên thị trường cần có phương pháp định lượng

phù hợp với điều kiện thực tế trong nước, dễ triển khai. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao.*

## NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên vật liệu, hóa chất và thiết bị

- Chất chuẩn 6-shogaol (Số lô: CFN99531), 6-gingerol (Số lô: CFN99931), 8-gingerol (Số lô: CFN99131), 10-gingerol (Số lô: CFN99132); acetonitril, methanol, acid acetic băng (Merck - Đức), nước cất, methanol, acetonitril đạt tiêu chuẩn HPLC, và một số hóa chất dung môi khác đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.

- Hệ thống HPLC Waters e2695 (Mỹ); Cột AQ - C18 (150 x 4,6mm, 5 $\mu$ m); Cân phân tích Mettler có độ chính xác 0,1mg (Mettler - Đức).

- Các dụng cụ thí nghiệm khác: Chày cối sứ, bình định mức, cốc có mỏ, rây và các dụng cụ khác... đạt tiêu chuẩn dùng cho phòng thí nghiệm phân tích.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### \* Chuẩn bị mẫu:

Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 1,0g gừng khô thái lát, thêm 40mL MeOH, chiết siêu âm 2 giờ ở 40°C, ly tâm lấy dịch chiết. Cho toàn bộ dịch chiết vào bình định mức 50mL. Bổ sung vừa đủ thể tích bằng MeOH, lắc siêu âm 30 phút, lọc qua màng 0,45 $\mu$ m, đem phân tích HPLC.

Mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 20mg 6-gingerol, 20mg 8-gingerol, 20mg 6-shogaol, 20mg 10-gingerol hòa tan trong MeOH để được các dung dịch chuẩn gốc có nồng độ là 2000  $\mu$ g/mL. Từ dung dịch này chuẩn bị các dãy chuẩn hỗn hợp 4 chất có nồng độ khác nhau 2,5  $\mu$ g/mL; 5  $\mu$ g/mL; 12,5  $\mu$ g/mL; 25  $\mu$ g/mL; 50  $\mu$ g/mL; 100  $\mu$ g/mL và 250  $\mu$ g/mL.

Mẫu trắng: MeOH

### \* Lựa chọn điều kiện sắc ký:

Các thông số cho quá trình sắc ký bao gồm: cột AQ - C18 (150 x 4,6mm,

5 $\mu$ m), detector UV, bước sóng 280nm; nhiệt độ cột là 30°C; thể tích bơm mẫu 10 $\mu$ L; tốc độ dòng pha động 1,0 mL/phút. [4]

Tiến hành khảo sát các hệ dung môi pha động sau:

- Hệ 1 (CT1): ACN (C): Acid acetic 1% (A) (60:40) chạy đẳng dòng 50 phút.

- Hệ 2 (CT2): ACN (C): Acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient (0 - 10 phút, C 40%; 10 - 40 phút, C 40%  $\rightarrow$  90%; 40 - 45 phút, C 90%  $\rightarrow$  100%; 45 - 50 phút, C 100%  $\rightarrow$  40%).

- Hệ 3 (CT3): ACN (C) và acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient (0 - 10 phút, C 50%; 10 - 40 phút, C 50%  $\rightarrow$  90%; 40 - 45 phút, C 90%  $\rightarrow$  100%; 45 - 50 phút, C 100%  $\rightarrow$  50%).

### \* Thẩm định phương pháp phân tích:

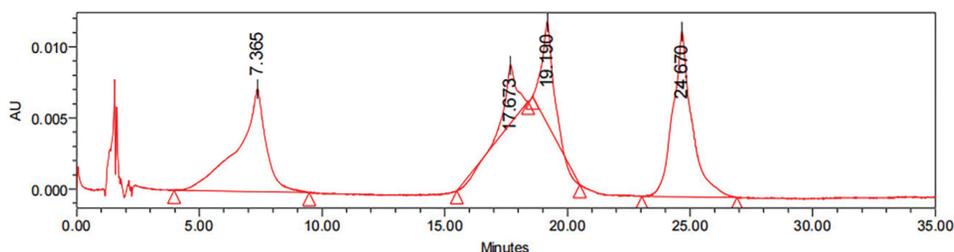
Phương pháp phân tích được thẩm định theo hướng dẫn chung của ICH về thẩm định phương pháp phân tích [5] gồm: Tính tương thích hệ thống, chọn lọc - đặc hiệu; khoảng nồng độ tuyến tính; độ chính xác; độ đúng; giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ).

\* Xử lý số liệu: Số liệu được phân tích thống kê trên phần mềm Microsoft Excel 365.

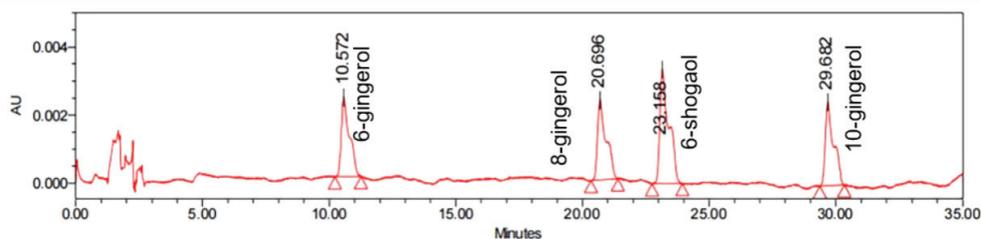
## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Kết quả lựa chọn điều kiện sắc ký

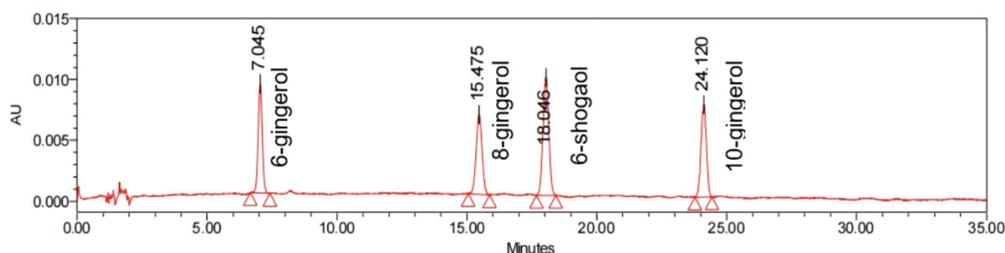
Tiến hành khảo sát các chương trình đã lựa chọn với mẫu có nồng độ từng chất là 25 µg/mL.



Hình 1. Sắc ký đồ CT1.



Hình 2. Sắc ký đồ CT2.



Hình 3. Sắc ký đồ CT3.

Kết quả cho thấy, ở sắc ký đồ (SKĐ) CT1, pic của các chất phân tích chưa cân đối, chưa tách nhau hoàn toàn; ở SKĐ CT2, pic tách nhau hoàn toàn, tuy nhiên pic chưa cân đối, chân pic bị kéo đuôi; ở SKĐ CT3, pic tách nhau hoàn toàn, hình ảnh pic cân đối, sắc nét, thời gian xuất hiện pic ngắn, hệ số bất đối xứng pic xấp xỉ bằng 1. Từ kết quả này, chúng tôi lựa chọn điều kiện CT3 để tiến hành thẩm định phương pháp định lượng.

## 2. Kết quả thẩm định phương pháp định lượng

\* *Tính tương thích hệ thống:*

Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn hỗn hợp 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol, 10-gingerol nồng độ 25 µg/mL vào hệ thống HPLC, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã xây dựng. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

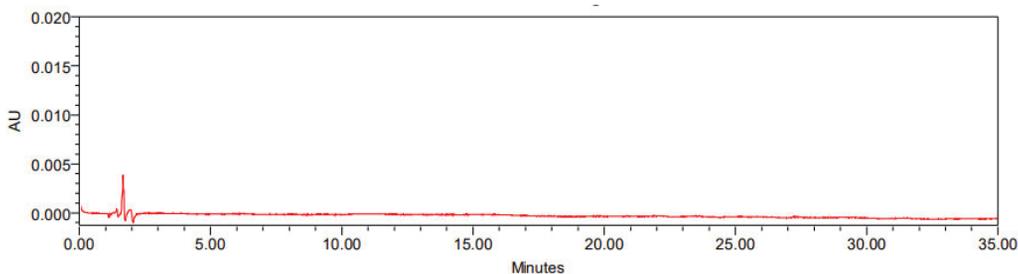
**Bảng 1.** Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống của phương pháp.

	<b>6-gingerol</b>	<b>8-gingerol</b>	<b>6-shogaol</b>	<b>10-gingerol</b>
Thời gian lưu (phút)	7,002 ± 0,110	15,363 ± 0,112	17,919 ± 0,088	24,006 ± 0,059
Diện tích pic (µAU.s)	103710 ± 271,872	106757 ± 348,459	152052 ± 870,554	108366 ± 348,906
Số đĩa lý thuyết	8531 ± 112,747	18464 ± 214,134	28398 ± 172,640	61441 ± 583,342
Hệ số kéo đuôi (As)	1,054 ± 0,014	1,015 ± 0,014	1,009 ± 0,011	1,005 ± 0,008

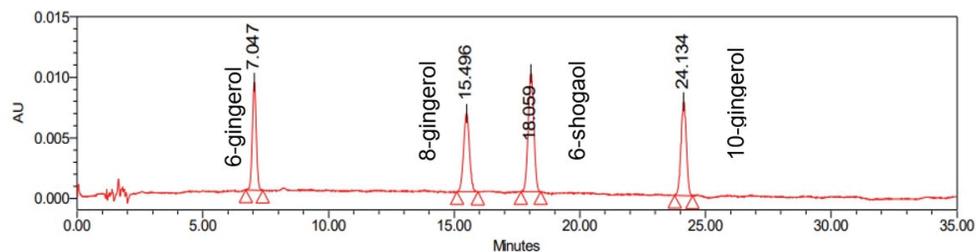
Kết quả cho thấy độ lệch chuẩn tương đối RSD % về thời gian lưu, diện tích pic, số đĩa lý thuyết và hệ số kéo đuôi của 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol, 10-gingerol đều nhỏ hơn 2%. Hệ số kéo đuôi đều nằm trong khoảng chấp nhận  $0,9 \leq As \leq 2,0$ ; số đĩa lý thuyết của các chất  $\geq 4000$  đĩa. Như vậy, phương pháp phù hợp với hệ thống phân tích.

\* *Tính đặc hiệu, chọn lọc:*

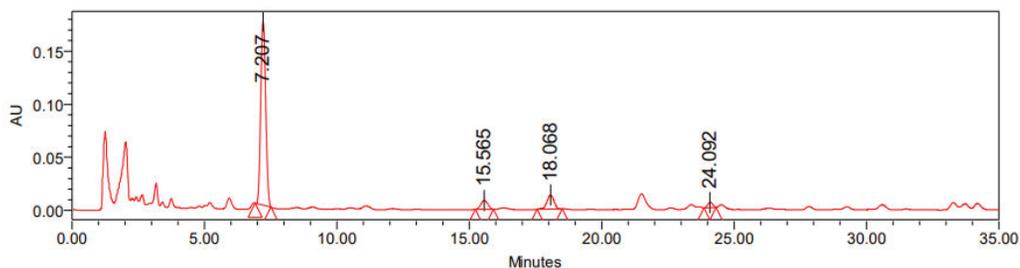
Phân tích đồng thời mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu trắng trong cùng điều kiện sắc ký, kết quả thể hiện ở hình 4, hình 5 và hình 6.



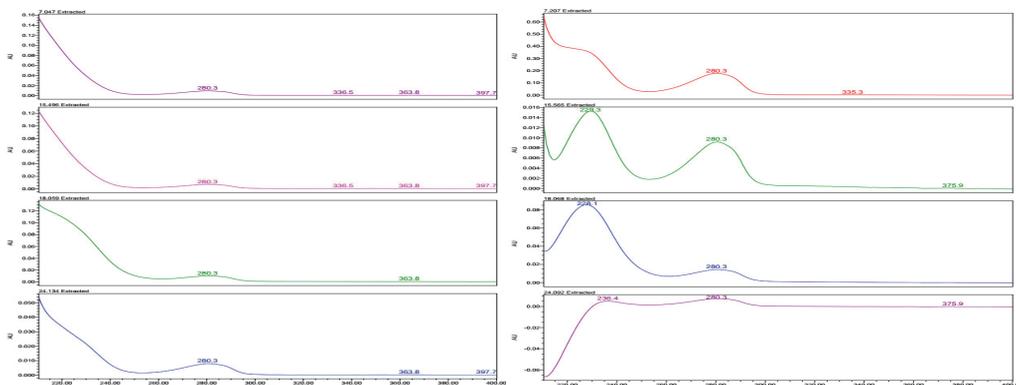
**Hình 4.** Sắc ký đồ mẫu trắng.



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu chuẩn.



Hình 6. Sắc ký đồ mẫu thử.



Hình 7. Phổ UV mẫu chuẩn và mẫu thử.

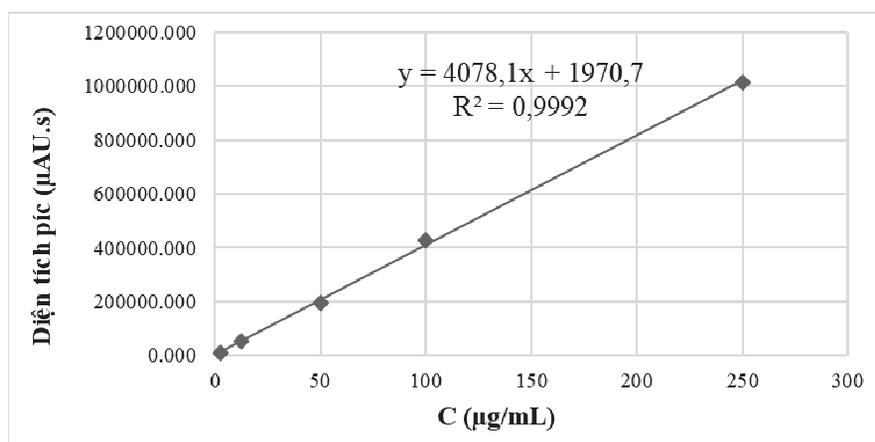
Thời gian lưu tương ứng của pic 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol và 10-gingerol trên mẫu chuẩn và mẫu thử như nhau. Mẫu trắng không xuất hiện pic ở trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu pic của chất phân tích. Pic của 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol, 10-gingerol trên mẫu thử và mẫu chuẩn là cân đối, sắc nét, độ rộng chân pic nhỏ, phổ UV của mẫu chuẩn và mẫu thử cho thấy các pic tương ứng có cùng phổ UV. Kết quả cho thấy, phương pháp này đảm bảo độ chọn lọc và đặc hiệu.

\* *Khoảng nồng độ tuyến tính:*

Kết quả khảo sát sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ với diện tích pic của 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol và 10-gingerol với khoảng nồng độ làm việc từ 2,5 µg/mL đến 250 µg/mL được thể hiện ở các bảng 2, bảng 3, bảng 4, bảng 5 và hình 7, hình 8, hình 9, hình 10, hình 11.

**Bảng 2.** Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của Spic và nồng độ của 6-gingerol.

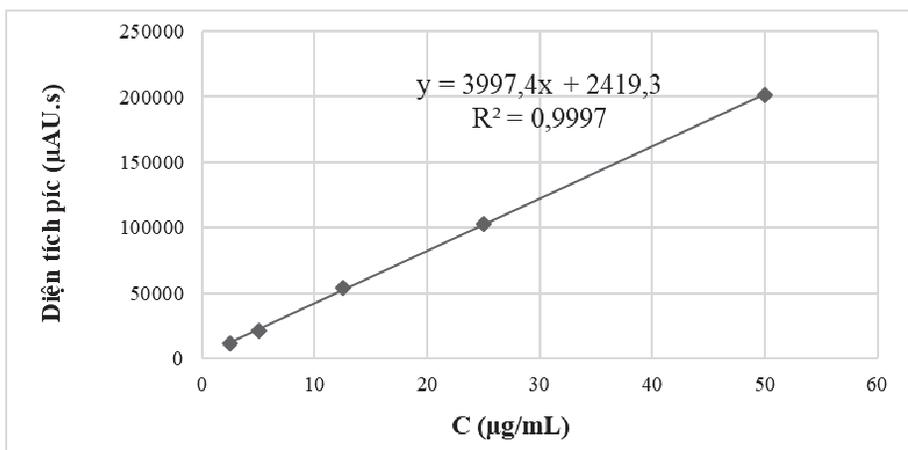
Mẫu	1	2	3	4	5
C (µg/mL)	2,45	12,25	49	98	245
Diện tích pic trung bình (µAU.s)	10749	50600	195830	429222	1015848
Phương trình hồi quy	$y = 4078,1x + 1970,7$ ( $R^2 = 0,9992$ )				



**Hình 8.** Mối quan hệ tuyến tính của diện tích và nồng độ của 6-gingerol.

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của diện tích pic và nồng độ của 8-gingerol.

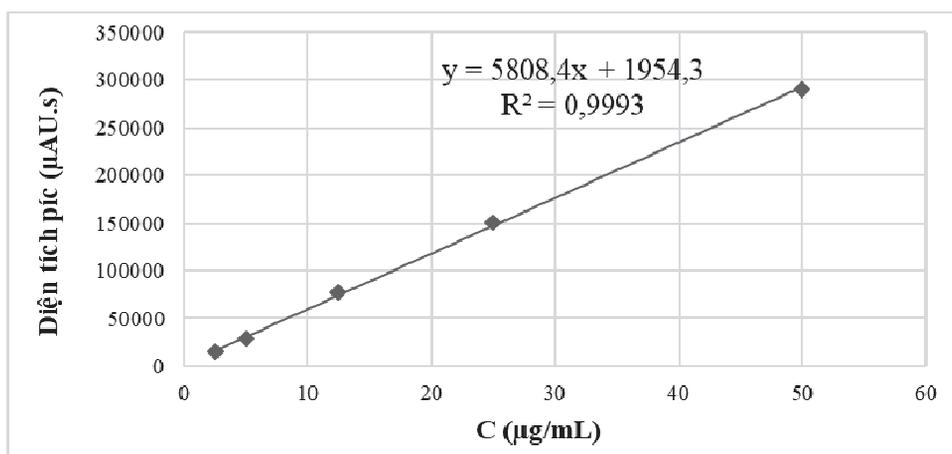
Mẫu	1	2	3	4	5
C (µg/mL)	2,45	4,9	12,25	24,5	49
Diện tích pic trung bình (µAU.s)	11473	21336	54287	103219	201539
Phương trình hồi quy	$y = 3997,4x + 2419,3$ ( $R^2 = 0,9997$ )				



Hình 9. Mối quan hệ tuyến tính của diện tích và nồng độ của 8-gingerol.

Bảng 4. Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của diện tích pic và nồng độ của 6-shogaol.

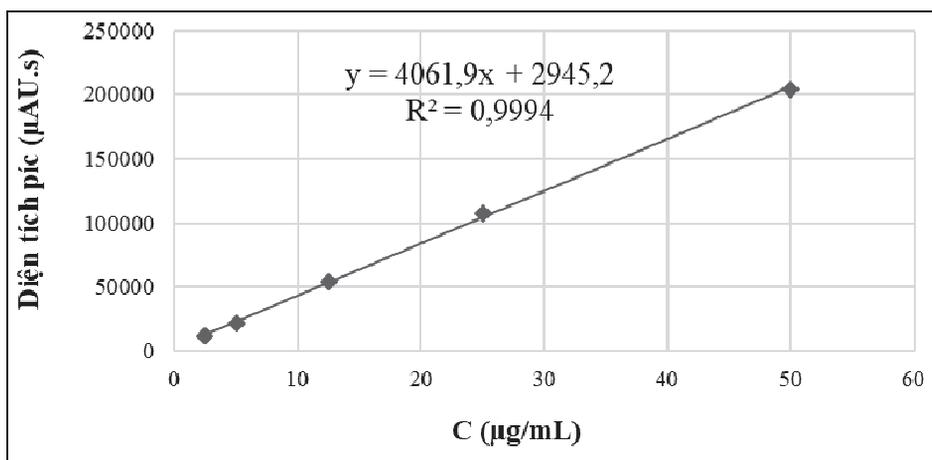
Mẫu	1	2	3	4	5
C (µg/mL)	2,45	4,9	12,25	24,5	49
Diện tích pic trung bình (µAU.s)	14864	28389	77353	150728	290234
Phương trình hồi quy	$y = 5808,4x + 1954,3$ ( $R^2 = 0,9993$ )				



Hình 10. Mối quan hệ tuyến tính của diện tích và nồng độ của 6-shogaol.

**Bảng 5.** Kết quả khảo sát sự phụ thuộc của Spíc và nồng độ của 10-gingerol.

Mẫu	1	2	3	4	5
C (µg/mL)	2,45	4,9	12,25	24,5	49
Diện tích pic trung bình (µAU.s)	12131	22019	54378	107567	204507
Phương trình hồi quy	$y = 4061,9x + 2945,2$ ( $R^2 = 0,9994$ )				



**Hình 11.** Mối quan hệ tuyến tính của diện tích và nồng độ của 10-gingerol.

Kết quả cho thấy trong khoảng nồng độ đã khảo sát, phương pháp định lượng có độ tuyến tính cao giữa đáp ứng diện tích pic và nồng độ dung dịch, sự phụ thuộc được thể hiện qua các phương trình hồi quy tuyến tính:  $y = 4078,1x + 1970,7$  ( $R^2 = 0,9992$ ) với 6-gingerol;  $y = 3997,4x + 2419,3$  ( $R^2 = 0,9997$ ) với 8-gingerol;  $y = 4061,9x + 2945,2$  ( $R^2 = 0,9994$ ) với 10-gingerol;  $y = 5808,4x + 1954,3$  ( $R^2 = 0,9993$ ) với 6-shogaol.

*\* Độ chính xác:*

Kết quả khảo sát độ chính xác trung gian của 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol và 6-shogaol qua các ngày được thể hiện lần lượt ở các bảng 6, bảng 7, bảng 8 và bảng 9 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối (RSD %) đều < 2%, đạt yêu cầu về chỉ tiêu độ chính xác.

**Bảng 6.** Kết quả đánh giá độ chính xác trong ngày và khác ngày của 6-gingerol.

Nồng độ mẫu phân tích	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3	
	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn
LQC (5 µg/mL)	20141	4,46	20420	4,52	20103	4,45
	19918	4,40	20247	4,48	20360	4,51
	20184	4,47	20439	4,53	20425	4,53
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 4,44$ SD = 0,04 RSD = 0,79%		$\bar{X} = 4,51$ SD = 0,03 RSD = 0,58%		$\bar{X} = 4,49$ SD = 0,04 RSD = 0,93%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 4,48$ ; SD = 0,03 ; RSD = 0,76%					
MQC (12,5 µg/mL)	50588	11,92	50603	11,93	50893	12,00
	50736	11,96	50635	11,93	50886	11,99
	50842	11,98	50664	11,94	50788	11,97
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 11,95$ SD = 0,03 RSD = 0,26%		$\bar{X} = 11,93$ SD = 0,01 RSD = 0,06%		$\bar{X} = 11,99$ SD = 0,01 RSD = 0,12%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 11,96$ ; SD = 0,02; RSD = 0,15%					
HQC (25 µg/mL)	105317	25,34	105064	25,28	105317	25,34
	105386	25,36	105060	25,28	105184	25,31
	105230	25,32	105020	25,27	105680	25,43
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 25,34$ SD = 0,02 RSD = 0,08%		$\bar{X} = 25,28$ SD = 0,01 RSD = 0,02%		$\bar{X} = 25,36$ SD = 0,06 RSD = 0,25%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 25,33$ ; SD = 0,03 ; RSD = 0,12%					

**Bảng 7.** Kết quả đánh giá độ chính xác trong ngày và khác ngày của 8-gingerol.

Nồng độ mẫu phân tích	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3	
	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn
HQC (5 µg/mL)	21606	4,80	21227	4,70	21120	4,68
	21484	4,77	21341	4,73	21549	4,79
	21563	4,79	21469	4,77	21248	4,71
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 4,79$ SD = 0,02 RSD = 0,32%		$\bar{X} = 4,73$ SD = 0,03 RSD = 0,64%		$\bar{X} = 4,72$ SD = 0,06 RSD = 1,17%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 4,75$ ; SD = 0,03; RSD = 0,71%					
MQC (12,5 µg/mL)	53850	12,87	54043	12,91	54043	12,91
	54061	12,92	54104	12,93	54015	12,91
	54160	12,94	54209	12,96	54056	12,92
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 12,91$ SD = 0,04 RSD = 0,31%		$\bar{X} = 12,93$ SD = 0,02 RSD = 0,16%		$\bar{X} = 12,91$ SD = 0,01 RSD = 0,04%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 12,92$ ; SD = 0,02; RSD = 0,17%					
HQC (25 µg/mL)	103906	25,39	103859	25,38	103353	25,25
	103865	25,38	103571	25,30	103413	25,26
	103551	25,30	103748	25,35	103512	25,29
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 25,36$ SD = 0,05 RSD = 0,19%		$\bar{X} = 25,34$ SD = 0,04 RSD = 0,14%		$\bar{X} = 25,27$ SD = 0,02 RSD = 0,08%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 25,32$ ; SD = 0,04; RSD = 0,14%					

**Bảng 8.** Kết quả đánh giá độ chính xác trong ngày và khác ngày của 6-shogaol.

Nồng độ mẫu phân tích	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3	
	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn
LQC (5 µg/mL)	29469	4,74	29319	4,71	29694	4,78
	29749	4,79	29234	4,70	29638	4,77
	29123	4,68	29424	4,73	29626	4,76
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 4,73$ SD = 0,05 RSD = 1,14%		$\bar{X} = 4,71$ SD = 0,02 RSD = 0,35%		$\bar{X} = 4,58$ SD = 0,01 RSD = 0,13%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 4,74$ ; SD = 0,03; RSD = 0,54%					
MQC (12,5 µg/mL)	77083	12,93	77034	12,93	77081	12,93
	77117	12,94	76800	12,89	77013	12,92
	77180	12,95	77043	12,93	77066	12,93
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 12,94$ SD = 0,01 RSD = 0,07%		$\bar{X} = 12,91$ SD = 0,02 RSD = 0,18%		$\bar{X} = 12,93$ SD = 0,01 RSD = 0,05%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 12,93$ ; SD = 0,01; RSD = 0,10%					
HQC (25 µg/mL)	150908	25,64	150893	25,64	150650	25,60
	150642	25,60	150874	25,64	150796	25,63
	150389	25,56	150801	25,63	150427	25,56
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 25,60$ SD = 0,04 RSD = 0,17%		$\bar{X} = 25,64$ SD = 0,01 RSD = 0,03%		$\bar{X} = 25,60$ SD = 0,03 RSD = 0,12%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 25,61$ ; SD = 0,03; RSD = 0,11%					

**Bảng 9.** Kết quả đánh giá độ chính xác trong ngày và khác ngày của 10-gingerol.

Nồng độ mẫu phân tích	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 3	
	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn	Diện tích pic	Nồng độ ngoại suy từ đường chuẩn
LQC (5 µg/mL)	22446	4,80	22635	4,85	22030	4,70
	22322	4,77	22329	4,77	22140	4,73
	22488	4,81	22623	4,84	22069	4,71
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 4,79$ SD = 0,02 RSD = 0,44%		$\bar{X} = 4,82$ SD = 0,04 RSD = 0,88%		$\bar{X} = 4,71$ SD = 0,01 RSD = 0,29%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 4,78$ ; SD = 0,03; RSD = 0,54%					
MQC (12,5 µg/mL)	55065	12,83	55093	12,84	55064	12,83
	55510	12,94	55079	12,83	55210	12,87
	55204	12,87	55124	12,85	55066	12,83
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 12,88$ SD = 0,06 RSD = 0,44%		$\bar{X} = 12,84$ SD = 0,01 RSD = 0,04%		$\bar{X} = 12,84$ SD = 0,02 RSD = 0,16%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 12,85$ ; SD = 0,03; RSD = 0,21%					
HQC (25 µg/mL)	108770	26,05	108512	25,99	108165	25,90
	108209	25,91	108209	25,91	108122	25,89
	108468	25,98	108505	25,99	108193	25,91
Giá trị thống kê theo từng ngày	$\bar{X} = 25,98$ SD = 0,07 RSD = 0,27%		$\bar{X} = 25,96$ SD = 0,04 RSD = 0,16%		$\bar{X} = 25,90$ SD = 0,01 RSD = 0,03%	
Giá trị thống kê cả 3 ngày	$\bar{X} = 25,95$ ; SD = 0,04; RSD = 0,15%					

\* *Độ đúng:*

Độ đúng của phương pháp được thực hiện theo phương pháp thêm chuẩn. Chiết khoảng 1,0g mẫu gừng khô theo mục chuẩn bị mẫu thử của phương pháp nghiên cứu, thêm các lượng chuẩn thích hợp (80%, 100%, 120%) đã biết nồng độ so với mẫu thử. Phân tích sắc ký theo điều kiện đã chọn được, dựa vào đường hồi quy tuyến tính, diện tích pic của mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn để ngoại suy lượng thêm vào ban đầu. Độ thu hồi hoạt chất được xác định dựa vào tỷ lệ % lượng tìm thấy đường chuẩn so với lượng thực tế thêm vào. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp với các mẫu phân tích được thể hiện ở bảng 10.

**Bảng 10.** Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp.

Lượng thêm vào Độ thu hồi	LQC	MQC	HQC
	6-gingerol ( $\bar{X} \pm SD, \%$ )	99,27 ± 1,44 (RSD = 1,45%)	98,29 ± 0,79 (RSD = 0,80%)
8-gingerol ( $\bar{X} \pm SD, \%$ )	99,32 ± 0,11 (RSD = 0,11%)	97,32 ± 1,38 (RSD = 1,42%)	98,13 ± 0,99 (RSD = 1,01%)
6-shogaol ( $\bar{X} \pm SD, \%$ )	99,04 ± 1,23 (RSD = 1,25%)	98,59 ± 0,51 (RSD = 0,52%)	102,06 ± 0,24 (RSD = 0,23%)
10-gingerol ( $\bar{X} \pm SD, \%$ )	95,74 ± 0,36 (RSD = 0,38%)	99,36 ± 0,78 (RSD = 0,79%)	100,44 ± 0,53 (RSD = 0,53%)

Kết quả cho thấy, phương pháp phân tích có độ thu hồi của 6,8,10-gingerol và 6-shogaol từ 95,74 - 102,06% với giá trị độ lệch chuẩn tương đối (RSD %) < 2%. Như vậy, phương pháp phân tích đạt yêu cầu về độ đúng.

\* *Giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng:*

Dựa vào độ độ nhiễu đường nền tại thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của chất phân tích, ta tính được LOD và LOQ theo công thức  $k \times SD/\delta$  ( $k = 3,3$  cho LOD và 10 cho LOQ).

**Bảng 11.** Kết quả khảo sát LOD và LOQ của các chất phân tích.

	<b>6-gingerol</b>	<b>8-gingerol</b>	<b>6-shogaol</b>	<b>10-gingerol</b>
SD	2,828	2,828	1,414	4,243
Hệ số góc ( $\delta$ )	4078,26	3980,83	5779,90	4062,85
LOD	0,002	0,002	0,001	0,003
LOQ	0,007	0,003	0,002	0,010

Kết quả cho thấy rằng giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của 6-gingerol lần lượt là 0,002 và 0,007  $\mu\text{g/mL}$ ; của 8-gingerol lần lượt là 0,002 và 0,003  $\mu\text{g/mL}$ ; của 6-shogaol lần lượt là 0,001 và 0,002  $\mu\text{g/mL}$ ; và của 10-gingerol lần lượt là 0,003 và 0,010  $\mu\text{g/mL}$ .

Như vậy, phương pháp phân tích định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol bằng HPLC đảm bảo tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, độ chọn lọc, độ đúng và độ chính xác cao, các kết quả đánh giá đều nằm trong giới hạn của ICH [5]. Do đó, phương pháp đã xây dựng và thẩm định này phù hợp cho định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol trong các mẫu gừng nguyên liệu, bán thành phẩm.

### **BÀN LUẬN**

Phương pháp HPLC có độ chính xác, độ nhạy cao, thời gian phân tích nhanh và phù hợp với hầu hết các phòng kiểm nghiệm trong nước. Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol bằng HPLC sử dụng AQ - C18 (150 x 4,6mm, 5 $\mu\text{m}$ ), detector UV, bước sóng 280 nm; hệ dung môi pha động: Acetonitril (C) và acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient; thể tích bơm mẫu là 10 $\mu\text{L}$ ; tốc độ dòng pha động là 1,0 mL/phút đơn giản, để

thực hiện, phương pháp có độ đặc hiệu, độ nhạy, tính tương thích hệ thống, độ chính xác và độ đúng cao. Kết quả này làm cơ sở cho việc nghiên cứu định lượng trong phép thử độ hòa tan cũng như kiểm nghiệm hàm lượng của các hợp chất phenolic trong gừng nguyên liệu và dạng bào chế.

### **KẾT LUẬN**

Đã xây dựng và thẩm định được phương pháp định lượng đồng thời 6-shogaol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol bằng HPLC sử dụng AQ - C18 (150 x 4,6mm, 5 $\mu\text{m}$ ), detector UV

đo ở 280nm; hệ dung môi pha động: Acetonitril (C) và acid acetic 0,1% (A) chạy theo chương trình gradient (0 - 10 phút, C 50%; 10 - 40 phút, C 50% - 90%; 40 - 45 phút, C 90% - 100%; 45 - 50 phút, C 100% - 50%); thể tích bơm mẫu là 10 $\mu$ l; tốc độ dung môi pha động là 1,0 mL/phút. Phương pháp đã xây dựng là tương thích với hệ thống sắc ký, đảm bảo độ chọn lọc đặc hiệu; độ đúng (> 95%) và độ chính xác cao (RSD < 2,0%) đáp ứng yêu cầu quy định của ICH.

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2004:366-369.

2. Phạm Thanh Kỳ. *Dược liệu học tập 2* (xuất bản lần thứ 1). Nhà xuất bản Y học. 2015:223-225.

3. Mao QQ, Xu XY, Cao SY, et al. Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods* (Basel, Switzerland). 2019; 8(6):185.

4. Nguyễn Xuân Quỳnh, Phạm Văn Hiến, Đặng Trường Giang, Trần Kim Thanh, Vũ Bình Dương. Định lượng đồng thời 6-gingerol và 6-shogaol trong củ gừng (*Rhizoma Zingiberis*) bằng phương pháp HPLC. *Tạp chí Dược học*. 2018; 58:46-50.

5. ICH. Validation of analytical procedures: Text and methodology, Q2R1. 2005.

**ĐÁNH GIÁ SỰ CẦN THIẾT, GIÁ TRỊ THỰC TIỄN VÀ MỨC ĐỘ  
HỢP LÝ TRONG ĐỔI MỚI PHƯƠNG PHÁP ĐÓNG GÓI CƠ SỞ TRANG BỊ,  
VẬT TƯ QUÂN Y CỦA TRẠM QUÂN Y TRUNG ĐOÀN BỘ BINH**

*Nguyễn Xuân Kiên<sup>1</sup>, Trần Quang Trung<sup>1</sup>  
Nguyễn Tuấn Quang<sup>1</sup>, Nguyễn Cẩm Vân<sup>1\*</sup>, Lê Trọng Dũng<sup>1</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Đánh giá sự cần thiết, giá trị thực tiễn và mức độ hợp lý trong đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở trang bị, vật tư quân y (VTQY) của Trạm quân y trung đoàn bộ binh (trQYeBB). **Phương pháp nghiên cứu:** Sử dụng phương pháp phát vấn thông qua phiếu đóng góp ý kiến về sự cần thiết, giá trị thực tiễn và mức độ hợp lý trong đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở trang bị, VTQY của trQYeBB. **Kết quả:** 100% ý kiến của cán bộ, giảng viên (CB, GV) đánh giá việc đổi mới phương pháp đóng gói là cần thiết; 68,7 - 96,88% ý kiến của CB, GV đánh giá phương pháp đóng gói mới có giá trị thực tiễn; 87,39 - 98,20% ý kiến của học viên (HV), 90,63 - 100% ý kiến của CB, GV đánh giá về vật liệu, kích thước, cấu tạo của gùi, túi dùng để đóng gói là phù hợp; về danh mục, khối lượng, cách sắp xếp trang bị, VTQY của các bộ phận đóng trong gùi, túi là phù hợp. **Kết luận:** Phương pháp đóng gói mới cơ sở trang bị, VTQY của trQYeBB được đánh giá là hợp lý với tỷ lệ cao. Sau khi đóng gói cơ sở theo từng bộ phận trong trạm đã giúp tiết kiệm thời gian khi triển khai, thu hồi trạm; nâng cao được tính cơ động trong thực hiện nhiệm vụ; thuận tiện cho việc cấp phát và bổ sung trang bị, VTQY khi cần thiết.

**Từ khóa:** Đổi mới phương pháp đóng gói; Cơ sở trang bị, vật tư quân y; Trạm quân y trung đoàn bộ binh.

---

<sup>1</sup>Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Cẩm Vân (nguyencamvan.hvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 28/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.482>

**EVALUATION OF THE NECESSITY, PRACTICAL VALUE,  
AND REASONABLENESS OF INNOVATING PACKAGING METHODS  
OF MILITARY MEDICAL EQUIPMENT AND SUPPLIES CASE  
OF INFANTRY REGIMENT MILITARY MEDICAL STATION**

**Abstract**

**Objectives:** To evaluate the necessity, practical value, and reasonableness of innovating packaging method of military medical equipment and supplies (MME&S) case in the Infantry regiment military medical station (IRMMS). **Methods:** Using the questionnaire method through opinion forms on the necessity, practical value, and reasonableness of innovating the MME&S case at specialized groups in the IRMMS. **Results:** 100% of the opinions of cadres and lecturers assessed that the method is necessary. 68.75% - 96.88% of cadres and lecturers' opinions rated the new packaging method as having practical value. 87.39% - 98.20% of students' opinions, 90.63% - 100% of cadres and lecturers' opinions evaluated materials, sizes, and structures of the bag; the list, volume, and arrangement of them in the bags were appropriate. **Conclusion:** The MME&S packaging for IRMMS was reasonably rated at a high level. Packing the case according to each team in the station helps save time when deploying and recovering the station, improves mobility in performing tasks, and is convenient for allocating and replenishing MME&S when needed.

**Keywords:** Innovate packing method; Military medical equipment and supplies case; Infantry regiment military medical station.

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

Trạm quân y trung đoàn bộ binh là phân đội quân y cấp chiến thuật được triển khai bằng lực lượng và phương tiện của Đại đội quân y trung đoàn [1, 2]. Trong chiến đấu, trạm được triển khai thành các tổ, bộ phận để thu dung, cấp cứu điều trị cho thương binh, bệnh binh (tbbb) theo nhiệm vụ, phạm vi cứu chữa quy định [1, 3]. Các trang bị, VTQY trước đây được đóng gói trong

vật liệu là hòm gỗ, hòm kim loại, theo từng chủng loại trang bị, cùng với cơ số thuốc (cơ số Y) đảm bảo nhiệm vụ cứu chữa bước đầu cho tbbb qua trạm [1, 4]. Phương pháp đóng gói này làm tăng khối lượng vận chuyển, ảnh hưởng đến quá trình cơ động của trạm, đồng thời rất khó khăn khi triển khai trang bị, thuốc, VTQY về các bộ phận cũng như khi thu hồi trạm. Nhận thức được sự cần thiết phải đổi mới phương

pháp đóng gói, năm 2022, Học viện Quân y đã tổ chức đóng gói cơ số trang bị, VTQY của trQYeBB theo từng tổ, bộ phận và phân công phụ trách tới từng cá nhân áp dụng trong diễn tập cuối khóa CK51. Để khẳng định giá trị của hoạt động này, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu đề tài với mục tiêu:

*1. Khảo sát, đánh giá sự cần thiết và giá trị thực tiễn của việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ số trang bị, VTQY theo từng bộ phận của trQYeBB.*

*2. Đánh giá mức độ hợp lý của vật liệu bao gói và phương pháp đóng gói mới cơ số trang bị, VTQY của trQYeBB.*

## **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1. Đối tượng nghiên cứu**

Cơ số trang bị, VTQY của trQYeBB được đóng gói thành 38 gùi, túi (có danh mục và sơ đồ đóng gói trong mỗi gùi, túi), trọng lượng dao động từ 10,7 - 15kg, có ký hiệu rõ ràng theo từng tổ, bộ phận của trạm và được phân công cho từng cá nhân phụ trách.

Các gùi, túi để đóng gói trang bị, VTQY được làm bằng vật liệu vải bạt polyamid in rằn ri chống thấm, ở giữa có lớp nhựa sóng. Gùi được thiết kế hai tầng, có vách ngăn, có cửa mở trước và trên nóc gùi, hai túi cóc hai bên, phần lưng gùi có khung đỡ bằng thép chống gỉ, tổng khối lượng 3,5kg,

kích thước dài x rộng x cao là 410 x 310 x 550mm  $\pm$  10mm. Riêng túi được thiết kế riêng theo kích thước trang bị (những trang bị không thể đóng vào gùi).

Danh mục trang bị, VTQY đã được đóng gói vào từng gùi, túi được tính toán về khối lượng và kích thước để từng cá nhân có thể mang vác cùng với quân tư trang cá nhân khi hành quân.

### **2. Phương pháp nghiên cứu**

Sử dụng phương pháp phát vấn thông qua phiếu đóng góp ý kiến được chuẩn bị sẵn phù hợp với đối tượng phỏng vấn để đánh giá mức độ hợp lý trong đổi mới phương pháp đóng gói cơ số trang bị, VTQY tại các tổ, bộ phận chuyên môn trong trQYeBB [5]. Tổ chức phát và thu phiếu xin ý kiến đóng góp của 111 HV và 32 CB, GV tham gia diễn tập trong đội hình của trQYeBB.

Các kết quả nghiên cứu được nhập, mã hóa đảm bảo tính bảo mật của số liệu nghiên cứu, sau đó được phân tích và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

### **3. Đạo đức nghiên cứu**

Nghiên cứu được các CB, GV, HV tham gia diễn tập đồng ý và cung cấp số liệu. Mọi thông tin trong nghiên cứu được đảm bảo bí mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN**

**1. Sự cần thiết và giá trị thực tiễn của việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở trang bị, VTQY theo từng bộ phận trong trạm**

Sự cần thiết của việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở:

**Bảng 1.** Đánh giá của CB, GV về sự cần thiết của việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở.

TT	Ý kiến	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1	Rất cần thiết	15	46,88
2	Cần thiết	17	53,12
3	Không cần thiết	0	0
	Tổng cộng	32	100,00

Kết quả cho thấy 100% ý kiến đều cho rằng việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở trang bị, VTQY cho từng bộ phận của trQYeBB là cần thiết, trong đó có tới 15/32 ý kiến (46,88%) đánh giá là rất cần thiết.

Giá trị thực tiễn của việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở:

**Bảng 2.** Đánh giá của CB, GV về giá trị thực tiễn của việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở.

TT	Ý kiến	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1	Tiết kiệm thời gian triển khai, thu hồi trạm	31	96,88
2	Nâng cao tính cơ động trong thực hiện nhiệm vụ	28	87,50
3	Thuận tiện cho việc cấp phát và bổ sung khi cần thiết	22	68,75
4	Ý kiến khác	0	0

Kết quả cho thấy giá trị thực tiễn của việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ sở theo từng bộ phận trong trạm đã được đánh giá cao, cụ thể:

Giúp tiết kiệm thời gian triển khai, thu hồi trạm với 31/32 ý kiến nhất trí (96,88%). Các trang bị, VTQY được tính toán cụ thể để phân chia, đóng gói theo từng bộ phận trong từng gùi, túi (mỗi gùi, túi đều có ký hiệu rõ ràng, khối lượng cụ thể, có danh mục, sơ đồ đóng gói riêng); do đó, sẽ rút ngắn được thời gian triển khai đảm bảo việc thực hiện nhiệm vụ cứu chữa tbbb được kịp thời; việc kiểm kê, kiểm soát trang bị, VTQY cũng đơn giản hơn do đã đóng gói trong từng gùi, túi theo từng bộ phận, từ đó việc thu hồi trạm cũng nhanh hơn.

Nâng cao tính cơ động trong thực hiện nhiệm vụ với 28/32 ý kiến nhất trí (87,50%). Đây là một trong ba giá trị thực tiễn quan trọng mà nghiên cứu đã xác định khi tiến hành đóng gói cơ sở bởi chỉ khi đóng gói theo từng bộ phận, trong mọi tình huống, khi có lệnh, từng bộ phận trong trạm mới có thể nhanh chóng mang theo trang bị, VTQY đã được đóng gói sẵn trong từng gùi, túi của bộ phận mình để sẵn sàng cơ động thực hiện nhiệm vụ (mỗi gùi, túi đều có quai đeo chắc chắn, có đai trợ lực).

Thuận tiện cho công tác cấp phát và bổ sung khi cần thiết với 22/32 ý kiến nhất trí (68,75%). Căn cứ vào danh mục trang bị, VTQY đã được phân chia cụ thể, chi tiết đến từng bộ phận của trạm (dụng cụ phẫu thuật trong bộ dụng cụ trung phẫu được tách riêng, đóng gói thành từng bộ dụng cụ trong hộp inox), bộ phận được sẽ nắm được số lượng cụ thể, từ đó có kế hoạch dự trù, cấp phát bổ sung theo danh mục được chính xác, công tác quản lý, bảo quản, kiểm tra - đối chiếu cũng được dễ dàng hơn trong quá trình chuẩn bị trước, trong và sau khi kết thúc nhiệm vụ.

Không có ý kiến bổ sung thêm về giá trị thực tiễn vào phiếu đánh giá.

Đây là lần đầu tiên cơ sở đồng bộ cQYe và cơ sở Y được nghiên cứu đóng gói vào từng gùi, túi cho từng tổ, bộ phận chuyên môn trong trQYeBB và phân công cụ thể cho từng cá nhân phụ trách để mang vác, do đó không tránh khỏi còn nhiều khó khăn, bất cập, chưa hợp lý trong nghiên cứu và trong thực hiện nhiệm vụ. Thông qua diễn tập, tổ chức lấy ý kiến từ các thành phần tham gia diễn tập, nghiên cứu đã thu được những ý kiến đóng góp quý báu để có cơ sở tiếp tục hoàn thiện nội dung nghiên cứu này.

**2. Đánh giá mức độ hợp lý của vật liệu bao gói và phương pháp đóng gói mới cơ sở trang bị, VTQY của trQYeBB**

Đánh giá mức độ hợp lý của vật liệu, kích thước, trọng lượng gói, túi dùng để đóng gói cơ sở:

Đối với các ý kiến đóng góp của HV, kết quả đánh giá về mức độ hợp lý của vật liệu, kích thước, trọng lượng gói, túi dùng để đóng gói cơ sở được trình bày trong bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả ý kiến đóng góp của HV về mức độ hợp lý của vật liệu, kích thước, trọng lượng gói, túi dùng để đóng gói cơ sở.

TT	Tổ, bộ phận	Tổng số phiếu	Ý kiến đánh giá			
			Hợp lý		Chưa hợp lý	
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1	Tổ Phân loại	17	12	70,59	05	29,41
2	Kíp Hậu tổng tb nhẹ	09	09	100,00	0	0
3	Kíp Hậu tổng tb nặng, vừa	13	13	100,00	0	0
4	Tổ Phẫu thuật	25	23	92,00	02	8,00
5	Tổ Chống sốc	13	13	100,00	0	0
6	Tổ Điều trị	09	09	100,00	0	0
7	Tổ Vệ sinh phòng dịch (VSPD)	13	13	100,00	0	0
8	Tổ Dược	12	10	83,33	02	16,67
	Tổng cộng	111	102	91,89	09	8,11

Kết quả cho thấy có 102/111 phiếu (91,89%) cho rằng vật liệu, kích thước, cấu tạo gùi dùng để đóng gói cơ số trang bị, VTQY cho các tổ, bộ phận trong trQYeBB là hợp lý, chỉ có 09/111 ý kiến (8,11%) cho rằng chưa hợp lý, cụ thể:

Tại tổ Phân loại, có 05 ý kiến nhận xét gùi chưa hợp lý, trong đó 03 ý kiến cho rằng gùi còn quá công kềnh; 01 ý kiến cho rằng một số gùi còn khá rộng so với lượng VTQY bên trong; 01 ý kiến cho rằng gùi phân loại (gùi chứa 02 cồng gấp, khối lượng 15kg) cần thêm đế và có chân để tránh tiếp xúc trực tiếp với mặt đất.

Tại tổ Phẫu thuật, có 02 ý kiến nhận xét gùi chưa hợp lý và đều cho rằng với kích thước của gùi như hiện tại là khá rộng (có thể để hoặc tích hợp thêm quân tư trang).

Tại tổ Dược, có 02 ý kiến nhận xét gùi chưa hợp lý, trong đó 01 ý kiến cho rằng kích thước gùi còn hơi to; 01 ý kiến cho rằng các túi cóc nên làm bằng vật liệu trong suốt hoặc vải lưới. Cả 02 ý kiến đều cho rằng nên làm thêm túi mưa bọc ngoài gùi để không ướt gùi khi trời mưa.

Đối với CB, GV, kết quả đánh giá về mức độ hợp lý của vật liệu, kích thước, cấu tạo của gùi, túi dùng để đóng gói cơ số được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4.** Kết quả đánh giá của CB, GV về mức độ hợp lý của vật liệu, kích thước, trọng lượng gùi, túi dùng để đóng gói cơ số.

STT	Nội dung đánh giá	Tổng số phiếu	Ý kiến			
			Hợp lý		Chưa hợp lý	
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1	Vật liệu của gùi, túi dùng để đóng gói cơ số	32	32	100,00	0	0
2	Kích thước của gùi, túi dùng để đóng gói cơ số	32	29	90,63	03	9,37
3	Cấu tạo của gùi, túi dùng để đóng gói cơ số	32	32	100,00	0	0

Kết quả cho thấy 100% các ý kiến đóng góp đều đánh giá vật liệu và cấu tạo của gùi, túi dùng để đóng gói cơ số phù hợp. Có 03/32 ý kiến đánh giá kích

thước của gùi, túi chưa hợp lý (9,37%). Các ý kiến chưa hợp lý cho rằng kích thước gùi còn to, công kềnh, chưa tinh gọn, việc mang vác còn gập khó khăn.

Về vấn đề này, ý định khi thiết kế gùi với kích thước như hiện tại nhằm chứa các loại trang bị, VTQY cần thiết (được đựng ở nửa dưới của gùi) và một lượng dự trữ nhất định các loại vật tư tiêu hao được để ở phần nửa trên của gùi. Tuy nhiên, trong quá trình đóng gói, các loại trang bị, VTQY đã được tính toán để tối giản, lựa chọn các loại dụng cụ, vật tư có thể gấp gọn (chậu nhựa gấp gọn, cốc uống nước gấp gọn, xô đựng rác thải y tế gấp gọn, đèn bão, đèn pin...) để thay thế các khoản mục có sẵn trong cơ sở đồng bộ cQYe không thể gấp gọn được. Do đó, mặc dù kích thước gùi chưa phù hợp theo ý kiến nhận xét của một số CB, GV, HV tham gia diễn tập, nhưng nhiều gùi đã được tính toán để làm giảm thể tích

đóng gói, kích thước và khối lượng các vật tư trong gùi, mục đích cuối cùng nhằm làm giảm khối lượng mang vác cho bộ đội, thuận tiện cho quá trình đeo khi hành quân và triển khai khi có tình huống cứu chữa tbb, từ đó có thể cân nhắc đến việc sẽ giảm kích thước và khối lượng của gùi khi tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

Đánh giá mức độ hợp lý của danh mục và sắp xếp danh mục trang bị, VTQY đóng trong gùi, túi cho từng bộ phận trong trạm:

Đối với các ý kiến đóng góp của học viên, kết quả đánh giá về mức độ hợp lý của danh mục trang bị, VTQY đóng trong gùi, túi cho từng bộ phận trong trạm được trình bày trong bảng 5.

**Bảng 5.** Kết quả ý kiến đóng góp của HV về mức độ hợp lý của danh mục trang bị, VTQY đóng trong gùi, túi cho từng bộ phận trong trạm.

TT	Tổ, bộ phận	Tổng số phiếu	Ý kiến			
			Hợp lý		Chưa hợp lý	
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1	Tổ Phân loại	17	15	88,24	02	11,76
2	Kíp Hậu tổng tb nhẹ	09	09	100,00	0	0
3	Kíp Hậu tổng tb nặng, vừa	13	13	100,00	0	0
4	Tổ Phẫu thuật	25	25	100,00	0	0
5	Tổ Chống sóc	13	13	100,00	0	0
6	Tổ Điều trị	09	06	66,67	03	33,33
7	Tổ VSPD	13	04	30,77	09	69,23
8	Tổ Dược	12	12	100,00	0	0
	Tổng cộng	111	97	87,39	14	12,61

Kết quả cho thấy có 97/111 phiếu (87,39%) cho rằng danh mục trang bị, VTQY của các tổ, bộ phận trQYeBB đóng trong gửi là hợp lý, chỉ có 14/111 ý kiến (12,61%) cho rằng danh mục được cơ sở hoá còn chưa hợp lý:

Tại tổ Phân loại, có 02 ý kiến đều cho rằng danh mục còn thiếu nhưng đều không chỉ rõ là thiếu trang bị hay VTQY nào và thiếu ở gửi nào.

Tại tổ Điều trị, có 03 ý kiến, trong đó 01 ý kiến cho rằng trong danh mục của tổ còn thiếu thuốc NSAIDs dạng tiêm, thuốc chống nôn, dịch truyền. Tuy nhiên, ý kiến này cũng không chỉ rõ là thiếu cụ thể loại thuốc nào và nếu có thì nên bổ sung số lượng là bao nhiêu. 01 ý kiến khác cho rằng nên điều chỉnh theo phương án: Thuốc và dụng cụ hộ lý, dụng cụ cấp cứu nên

cho vào cùng một gửi. 01 ý kiến cho rằng: Băng chức trách, ga trải bàn, khay quả đậu nên điều chỉnh lại giữa các gửi cho phù hợp khi triển khai bàn thay băng.

Tại tổ VSPD, có 09 ý kiến, trong đó 08/09 ý kiến cho rằng chưa có nhiên liệu, hoá chất cho máy phun khử trùng hoạt động (vôi bột, cloramin, hoá chất khử trùng, hoá chất làm sạch nước...). 09/09 ý kiến đều cho rằng chưa có cơ sở trang bị khám, điều trị cho tbbb mắc bệnh truyền nhiễm cần cách ly, đồ bảo hộ, khẩu trang, sổ sách... Có 01/09 ý kiến cho rằng nên bớt 1 bình bơm, thay bằng cơ sở bông băng.

Sau khi đóng gói, đã có sự khác nhau về khối lượng trang bị, VTQY đóng trong các gửi, túi. Kết quả đánh giá mức độ hợp lý được trình bày trong bảng 6.

**Bảng 6.** Kết quả ý kiến đóng góp của HV về mức độ hợp lý của khối lượng trang bị, VTQY trong gửi, túi.

TT	Tổ, bộ phận	Tổng số phiếu	Ý kiến			
			Hợp lý		Chưa hợp lý	
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1	Tổ Phân loại	17	15	88,24	02	11,76
2	Kíp Hậu tổng tb nhẹ	09	09	100,00	0	0
3	Kíp Hậu tổng tb nặng, vừa	13	13	100,00	0	0
4	Tổ Phẫu thuật	25	25	100,00	0	0
5	Tổ Chóng sóc	13	13	100,00	0	0
6	Tổ Điều trị	09	09	100,00	0	0
7	Tổ VSPD	13	13	100,00	0	0
8	Tổ Dược	12	12	100,00	0	0
	Tổng cộng	111	109	98,20	02	1,80

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

Kết quả cho thấy 109/111 phiếu (98,20%) cho rằng khối lượng trang bị, VTQY của các tổ, bộ phận trQYeBB được đóng gói trong các gùi, túi là hợp lý, chỉ có 02/111 ý kiến (1,80%) cho rằng khối lượng trang bị, VTQY trong một số gùi của tổ Phân loại còn chưa hợp lý, trong đó 01 ý kiến chỉ rõ khối lượng 01 gùi của tổ phân loại còn nặng, 01 ý kiến còn lại không chỉ rõ tính bất hợp lý ở gùi nào. Đây là túi có chứa 02 cáng gấp nên có tổng khối lượng là 15kg (nặng nhất so với các gùi còn lại).

Về kết quả đánh giá mức độ hợp lý trong cách sắp xếp nội dung danh mục trong gùi, túi cho từng bộ phận trong trạm được thể hiện trong bảng 7.

**Bảng 7.** Kết quả ý kiến đóng góp của HV về mức độ hợp lý trong sắp xếp nội dung danh mục trong gùi, túi cho từng bộ phận trong trạm.

TT	Tổ, bộ phận	Tổng số phiếu	Ý kiến			
			Hợp lý		Chưa hợp lý	
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1	Tổ Phân loại	17	17	100,00	0	0
2	Kíp Hậu tổng tb nhẹ	09	09	100,00	0	0
3	Kíp Hậu tổng tb nặng, vừa	13	13	100,00	0	0
4	Tổ Phẫu thuật	25	25	100,00	0	0
5	Tổ Chống sóc	13	13	100,00	0	0
6	Tổ Điều trị	09	07	77,78	02	22,22
7	Tổ VSPD	13	13	100,00	0	0
8	Tổ Dược	12	12	100,00	0	0
	Tổng cộng	111	109	98,20	02	1,80

Kết quả cho thấy 109/111 phiếu (98,20%) cho rằng cách bố trí, sắp xếp trang bị, VTQY trong các gùi của các tổ của trQYeBB trong diễn tập CK51 là hợp lý, chỉ có 02/111 ý kiến (1,80%) cho rằng cách bố trí, sắp xếp trang bị, VTQY trong một số gùi của tổ điều trị còn chưa hợp lý, trong đó 01 ý kiến đã được trình bày ở mục 1 (Thuốc và dụng cụ hộ lý hoặc dụng cụ cấp cứu nên cho vào cùng 1 gùi), 01 ý kiến còn lại cho rằng bút bi có thể để trong bộ dụng cụ khám bệnh cùng với vị trí của bút đánh dấu.

Như vậy, đa số các ý kiến đóng góp của HV về danh mục và cách sắp xếp danh mục trang bị, VTQY đóng trong túi, túi cho từng bộ phận trong trạm được đánh giá hợp lý với tỷ lệ cao. Các ý kiến đóng góp tập trung chủ yếu ở tổ VSPD, tổ Điều trị và tổ Phân loại.

Về vấn đề này, các trang bị, VTQY được đóng gói chủ yếu lấy từ cơ số đồng bộ cQYe và cơ số Y đã được ban hành nhiều năm, nhiều khoản mục không còn phù hợp với nhu cầu đảm bảo, cung ứng trên thị trường. Mặc dù tính chất vết thương, cơ cấu tổn thương, tỷ lệ tbbb cơ bản không thay đổi nhưng phác đồ điều trị, sự phát

triển của ngành dược, sự tiến bộ của khoa học - kỹ thuật dẫn đến nhiều khoản thuốc trong danh mục khó đáp ứng với nhu cầu cứu chữa tbbb hiện nay. Đó cũng là lý do mặc dù nhiều nội dung khi xây dựng chưa phù hợp nhưng cần được đầu tư về thời gian, kinh phí mới có thể xây dựng được danh mục hoàn chỉnh và đóng gói vào cơ số phù hợp hơn với nhu cầu thực tiễn thực hiện nhiệm vụ.

Đối với CB, GV, kết quả đánh giá mức độ hợp lý của danh mục trang bị, VTQY và khối lượng trang bị, VTQY trong túi, túi được thể hiện trong bảng 8.

**Bảng 8.** Kết quả đánh giá của CB, GV về mức độ hợp lý của danh mục, khối lượng trang bị, VTQY trong túi, túi.

STT	Nội dung	Tổng số phiếu	Ý kiến			
			Hợp lý		Chưa hợp lý	
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1	Tổ Phân loại	32	31	96,88	01	3,12
2	Kíp Hậu tổng tb nhẹ	32	29	90,63	03	9,37
3	Kíp Hậu tổng tb nặng, vừa	32	29	90,63	03	9,37
4	Tổ Phẫu thuật	32	31	96,88	01	3,12
5	Tổ Chống sốc	32	31	96,88	01	3,12
6	Tổ Điều trị	32	32	100,00	0	0
7	Tổ VSPD	32	30	93,75	02	6,25
8	Tổ Dược	32	32	100,00	0	0

Kết quả cho thấy:

Tại tổ Phân loại, chỉ có 01/32 ý kiến (3,12%) đánh giá chưa hợp lý và chỉ rõ danh mục của tổ còn thiếu trang bị phân loại tbbb, vạng phân loại, thuốc tê. Số lượng dụng cụ, thuốc, dịch truyền, vật tư tiêu hao chưa hợp lý (4 khoản trong danh mục).

Tại tổ Hậu tổng tb nhẹ: Chỉ có 03 ý kiến đánh giá chưa hợp lý (9,37%), trong đó 01 ý kiến cho rằng cần bổ sung thuốc cấp cứu, thuốc tê vì có dụng cụ mở khí quản, có dịch truyền (sử dụng cho bệnh binh) và 02 ý kiến cho rằng còn thiếu sổ sách, bộ dụng cụ mở khí quản và bộ dụng cụ cấp cứu chống ngạt thở là không cần thiết.

Tại tổ Hậu tổng thương binh nặng, vừa: Chỉ có 03/32 ý kiến (9,37%) đánh giá chưa hợp lý, trong đó 01 ý kiến cho rằng cần bổ sung sổ theo dõi tbbb chuyên tuyến và 02 ý kiến cho rằng còn thiếu sổ sách nhưng chưa chỉ rõ loại sổ sách thiếu.

Tại tổ Phẫu thuật: Chỉ có 01 ý kiến (3,12%) đánh giá chưa hợp lý và chỉ rõ 2 vấn đề: Danh mục của tổ cần có thêm nhiều loại thuốc kháng sinh; trong danh mục còn thiếu biên bản phẫu thuật, sổ sách liên quan đến phẫu thuật.

Tại tổ Chống sốc: Chỉ có 01 ý kiến (3,12%) đánh giá chưa hợp lý và chỉ rõ danh mục của tổ cần có thêm nhiều loại thuốc kháng sinh.

Tại tổ VSPD: Chỉ có 02 ý kiến (6,25%) đánh giá chưa hợp lý và đều cho rằng cần bổ sung thuốc tẩy uế chiến trường, hoá chất phòng dịch, khử trùng.

Tại tổ Điều trị và tổ Dược: 100% ý kiến đều đánh giá vật liệu, kích thước, cấu tạo gùi, túi và danh mục, khối lượng VTQY trong gùi, túi là hợp lý.

Với các ý kiến đánh giá chưa hợp lý trên, một số vấn đề cần được luận giải như sau: Tại trQYeBB, tổ Phẫu thuật và tổ Chống sốc là hai tổ chuyên môn chịu trách nhiệm chính trong việc cứu chữa những tb nặng, vừa, nhu cầu sử dụng thuốc kháng sinh là tất yếu. Theo quy định về tính toán nhu cầu thuốc kháng sinh, Ampicillin và Gentamicin là hai loại kháng sinh được dùng làm đơn vị quy đổi cho các kháng sinh khác, tuy nhiên đối với hai tổ chuyên môn này, nghiên cứu đã tham khảo ý kiến chuyên gia trước khi lựa chọn thuốc tiêm Cefotaxim 1g, thuốc tiêm Ciprofloxacin 20 mg/mL và Gentamicin 80mg là những kháng sinh phù hợp nhất đưa vào danh mục được đóng gói trong gùi, cũng là các kháng sinh có trong cơ số Y [3].

Về việc một số bộ dụng cụ được xây dựng mặc dù có thể chưa phù hợp với nhiệm vụ thường xuyên của tổ theo ý kiến đóng góp của một số HV (tổ Hậu tổng tb nhẹ không cần bộ dụng cụ mở

khí quản và bộ dụng cụ cấp cứu chống ngạt thở), xét theo nhiệm vụ từng tổ, bộ phận chuyên môn trong trạm, tính đến mọi tình huống có thể xảy ra trong chiến đấu, trong trường hợp tb về đông, dồn dập, tổ Hậu tổng tb nặng khó đảm bảo thực hiện nhiệm vụ kịp thời, tổ Hậu tổng tb nhẹ có vai trò nhất định trong việc cứu sống tính mạng của tb bị đe dọa. Do đó, trong quá trình xây dựng danh mục và đóng gói cơ số, vẫn cần nhắc lựa chọn đưa một số bộ dụng cụ này vào gùi của tổ Hậu tổng tb nhẹ.

### **KẾT LUẬN**

1. Đổi mới phương pháp đóng gói cơ số trang bị, VTQY trQYeBB thực sự cần thiết và có giá trị thực tiễn cao:

100% các ý kiến của CB, GV đánh giá việc đổi mới phương pháp đóng gói cơ số trang bị, VTQY theo từng bộ phận trong trạm là cần thiết.

Phương pháp đóng gói mới đã giúp tiết kiệm thời gian khi triển khai, thu hồi trạm; nâng cao được tính cơ động trong thực hiện nhiệm vụ; thuận tiện cho việc cấp phát và bổ sung trang bị, VTQY khi cần thiết.

2. Phương pháp đóng gói mới cơ số trang bị, VTQY theo từng bộ phận của trQYeBB được đánh giá là hợp lý với tỷ lệ cao:

91,89% ý kiến của HV, 90,63 - 100% ý kiến của CB, GV đánh giá vật

liệu, kích thước, trọng lượng gùi, túi dùng để đóng gói cơ số là phù hợp.

87,39% ý kiến của HV đánh giá danh mục trang bị, VTQY đóng trong gùi, túi cho từng bộ phận trong trạm là phù hợp.

98,20% ý kiến của HV, 90,63 - 100% ý kiến của CB, GV đánh giá khối lượng trang bị, VTQY và cách sắp xếp các trang bị, VTQY trong gùi, túi cho từng bộ phận trong trạm là phù hợp. 93,75% - 100% ý kiến của CB, GV đánh giá danh mục và khối lượng trang bị, VTQY trong gùi, túi là phù hợp.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Cục Quân y. *Tổ chức chỉ huy quân y tập II*. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, Hà Nội. 2009.

2. Bộ Tổng Tham mưu. Biểu tổ chức, biên chế sư đoàn bộ binh đủ quân (thời bình) thuộc Quân khu, Quân đoàn. *Quyết định số 508/QĐ-TM ban hành ngày 30/3/2018 của Tổng Tham mưu trưởng Quân đội nhân dân Việt Nam*. 2018.

3. Cục Quân y. *Điều lệ xử trí vết thương chiến tranh*. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân. Hà Nội. 1984.

4. Học viện Quân y, Trung tâm Đào tạo - Nghiên cứu Dược. *Tiếp tế Quân y*. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân. Hà Nội. 2014.

5. Bộ Y tế. *Dịch tễ dược học*. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 2014.

## NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ TIM MẠCH CỦA S-PROPARGYL-CYSTEINE TRÊN CHUỘT CÔNG TRẮNG GÂY NHỒI MÁU CƠ TIM CẤP

Trần Bá Hiếu<sup>1\*</sup>, Vũ Tuấn Anh<sup>1</sup>, Bùi Thị Thu Hà<sup>1</sup>, Lê Văn Minh<sup>2</sup>

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào cơ tim của S-propargyl-cysteine (SPRC) trên chuột công trắng gây nhồi máu cơ tim cấp (NMCT). **Phương pháp nghiên cứu:** Chuột công trắng được gây mô hình NMCT cấp bằng phương pháp thắt động mạch vành nhánh xuống trước bên trái. Tác dụng bảo vệ tim mạch của SPRC được đánh giá bằng phương pháp nhuộm màu TTC và các chỉ số CK, LDH. Cơ chế chống oxy hóa của SPRC được đánh giá thông qua các chỉ số SOD, CAT và MDA. **Kết quả:** Điều trị dự phòng bằng SPRC giúp làm giảm diện tích nhồi máu, giảm mức độ tổn thương cơ tim. Đồng thời SPRC làm tăng nồng độ SOD, CAT và giảm nồng độ MDA. **Kết luận:** SPRC chứng minh tác dụng bảo vệ tim mạch thông qua cơ chế chống oxy hóa trên mô hình NMCT cấp, tác dụng bảo vệ tim mạch của SPRC tương đương Captoril.

**Từ khóa:** S-propargyl-cysteine; Bảo vệ tim mạch; Nhồi máu cơ tim.

## DETERMINATION OF THE CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF S-PROPARGYL-CYSTEINE IN RATS INDUCED ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

### Abstract

**Objectives:** To determine the cardioprotective effects of S-propargyl-cysteine (SPRC) in rats induced acute myocardial infarction. **Methods:** Myocardial infarction (MI) was induced in rats by ligating the left anterior descending coronary artery. The concentrations of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), and TTC (2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride) staining were used to evaluate the cardioprotective effects of SPRC. The levels of superoxide dismutase (SOD),

---

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

<sup>2</sup>Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu

\*Tác giả liên hệ: Trần Bá Hiếu (manhhieu86@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 18/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 28/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.468>

catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) were used to determine the antioxidant mechanism of SPRC. **Results:** Preventive treatment with SPRC significantly reduced infarct size, CK, and LDH leakage. SPRC displayed antioxidant properties by preserving SOD and CAT levels while reducing MDA levels. **Conclusion:** SPRC demonstrated protective effects against MI via an antioxidant mechanism, and its cardioprotective impact was comparable to Captoril.

**Keywords:** S-propargyl-cysteine; Cardioprotective; Myocardial infarction.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Mặc dù gần đây đã có nhiều tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị, các bệnh tim mạch vẫn là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn thế giới; trong đó, NMCT là một trong những bệnh tim thiếu máu cục bộ phổ biến nhất. Nhiều bằng chứng đã chứng minh vai trò quan trọng của mất cân bằng oxy hóa/stress oxy hóa và viêm trong cơ chế bệnh sinh của NMCT. NMCT khởi phát mất cân bằng oxy hóa dẫn đến chết tế bào theo chương trình, hoại tử tế bào, tái cấu trúc tâm thất và rối loạn chức năng tim [1]. Do đó, tác dụng chống oxy hóa là hướng điều trị quan trọng để ngăn ngừa chết tế bào theo chương trình, bảo vệ cơ tim và bảo tồn chức năng tim.

SPRC là một hoạt chất có cấu trúc tương tự S-allylcysteine (SAC) - một trong những hoạt chất chính được chiết xuất từ tỏi. Một nghiên cứu gần đây của Wang và CS đã chứng minh cơ chế bảo vệ tim mạch của SAC trong mô hình chuột bị NMCT thông qua tác dụng chống oxy hóa và chống viêm [2]. Đáng chú ý, nhóm propargyl trong

SPRC có liên kết hóa học mạnh hơn trong cấu trúc cysteine so với nhóm allyl trong SAC nên SPRC cho thấy tiềm năng bảo vệ tim mạch hiệu quả hơn trong mô hình tim chuột thiếu máu cục bộ so với SAC [3]. Do có cấu trúc tương tự với SAC, SPRC cũng có thể có tác dụng bảo vệ tim mạch. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Đánh giá tác dụng bảo vệ tim mạch thông qua cơ chế chống oxy hóa của SPRC trong mô hình NMCT cấp trên thực nghiệm.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

Chuột cống trắng chủng Wistar, giống đực, khỏe mạnh, cân nặng 200 ± 20g do Ban chăn nuôi, Học viện Quân y cung cấp, được nuôi trong điều kiện đảm bảo vệ sinh, đầy đủ thức ăn và nước uống.

\* *Nguyên liệu hóa chất:*

SPRC 96,5% đạt TCCS được cung cấp bởi Đại học Phúc Đán (Trung Quốc). Captoril 95,7% được mua từ công ty Sigma (Mỹ). 2,3,5-Triphenyltetrazolium

chloride (TTC) và các dung môi hóa chất khác đạt tiêu chuẩn phân tích được mua từ công ty Merck (Đức). Các kit xét nghiệm SOD (CS0009), CAT (CAT100), MDA (MAK085), CK (MAK116), LDH (MAK066) dùng cho động vật được mua từ công ty Sigma (Mỹ).

*\* Thiết bị:*

Buồng làm ấm động vật thực nghiệm của hãng Ugo - Basille (Italy), máy hỗ trợ hô hấp dùng cho động vật SAR-1000 của công ty CWE (Mỹ). Các thiết bị khác đều đạt tiêu chuẩn ISO/IEC 17025, GLP và được hiệu chuẩn theo quy định.

## **2. Phương pháp nghiên cứu**

*\* Phương pháp gây mô hình NMCT cấp:*

Chuột cống trắng, được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (Lô chứng sinh lý): Không gây NMCT cấp + uống nước cất.

- Lô 2 (Lô mô hình): Gây NMCT cấp + uống nước cất.

- Lô 3 (Lô tham chiếu): Gây NMCT cấp + uống captoril 30 mg/kg/ngày.

- Lô 4 (Lô nghiên cứu): Gây NMCT cấp + uống SPRC liều 30 mg/kg/ngày.

Chuột được uống thuốc mỗi ngày 1 lần, trong 7 ngày liên tục trước khi gây NMCT cấp theo phương pháp được mô tả bởi Zhu YZ [4], cụ thể như sau: Chuột sau khi được gây mê bằng

Ketamin liều 0,01 mg/kg được cố định trên bàn mổ, đặt nội khí quản và kết nối với máy hỗ trợ hô hấp với tần số 60 lần/phút, dung tích khí 8 - 10mL. Dùng kéo nhỏ mở lồng ngực ở vị trí xương sườn 3 và 4, bộc lộ tâm nhĩ trái, dùng chỉ Prolene 6/0 thắt nhánh xuống động mạch vành bên trái (dưới tâm nhĩ trái 1 - 2mm) để gây mô hình NMCT cấp. Sự thành công của mô hình được xác định bằng phần cơ ở mỏm tim và phía dưới chỗ thắt 1 - 2mm chuyển sang màu trắng và ST chênh lên trên điện tâm đồ. Nhóm chứng sinh lý chỉ luôn kim không thắt. Sau khi thắt chuột được đóng lồng ngực, sát khuẩn, ngắt kết nối với máy hô hấp và được giữ trong buồng ấm 30 phút trước khi thả vào lồng để tiếp tục uống thuốc trong 2 ngày.

Đến ngày thứ 9 số lượng chuột còn lại của các lô lần lượt là lô chứng (n = 10), lô mô hình (n = 8), lô nghiên cứu (n = 9) và lô tham chiếu (n = 9). Sau khi gây mê chuột được lấy máu từ động mạch chủ sống lưng (2mL) để lấy huyết thanh, tim được lấy ra rửa sạch trong nước muối sinh lý lạnh, bọc giấy bạc và bảo quản ở -80°C.

Các chỉ số tổn thương cơ tim và tác dụng chống oxy hóa gồm CK, LDH và SOD; CAT, MDA được đo trong huyết thanh bằng phương pháp phân tích colorimetric trên máy Infinite M200 (hãng Tecan, Mỹ), sử dụng các bộ kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

\* Phương pháp nhuộm TTC và xác định tỷ lệ diện tích cơ tim nhồi máu:

Tim lấy ra khỏi tủ lạnh được cắt đều theo chiều ngang từ mồm tim đến cuống tim thành 6 lát mỗi lát dày khoảng 2mm. Ngâm các lát tim trong dung dịch TTC bọc kín bằng giấy bạc ở 37°C trong 30 phút. Sau 30 phút rửa sạch các lát cắt bằng nước muối sinh lý, sau đó cố định bằng dung dịch Paraformaldehyde trong 30 phút. Sau 30 phút dùng giấy thấm hút khô rồi đặt các lát cắt theo thứ tự thống nhất trên mảnh thủy tinh để tiến hành chụp ảnh. Phần cơ tim nhồi máu có màu trắng, trong khi khu vực bình thường có màu hồng. Nghiên cứu viên sẽ dùng phần mềm ImageJ để đo diện tích khu vực nhồi máu và diện tích tâm thất trái. Tỷ lệ phần trăm nhồi máu được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ phần trăm nhồi máu} = 100\% \times \frac{\text{diện tích nhồi máu}}{\text{diện tích tâm thất trái}}$$

\* Xử lý số liệu:

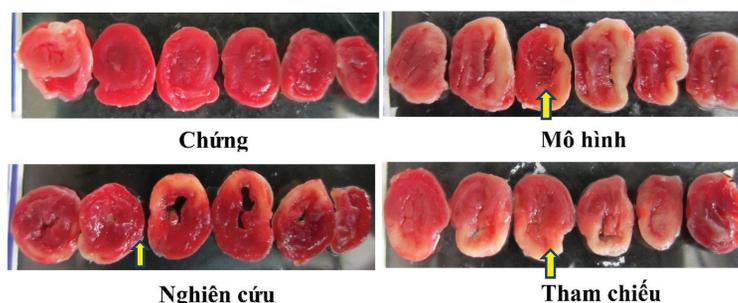
Số liệu thu được trong nghiên cứu được biểu diễn dưới dạng  $\bar{X} \pm SD$  và xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học bằng phần mềm SPSS 16.0. Giá trị trung bình được kiểm định bằng student T-test, tỷ lệ (%) bằng kiểm định  $\chi^2$  Test. Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

### 3. Đạo đức nghiên cứu

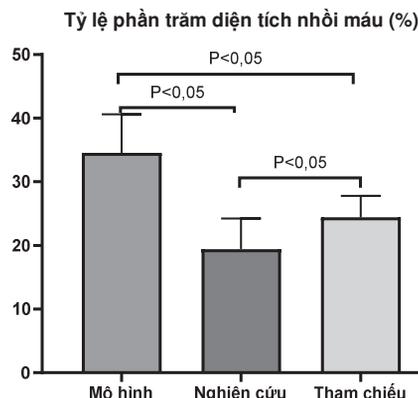
Nghiên cứu được tiến hành tại Ban chăn nuôi và Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y. Động vật thí nghiệm luôn được chăm sóc trong điều kiện vệ sinh sạch sẽ, cung cấp đầy đủ thức ăn và nước uống. Các quy trình, thao tác được thực hiện theo đúng quy định chung cho động vật thí nghiệm.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Diện tích nhồi máu



**Hình 1.** Hình ảnh lát cắt tim chuột nhuộm màu bằng TTC. Phần cơ tim nhồi máu có màu trắng (mũi tên vàng), phần cơ tim bình thường có màu hồng.

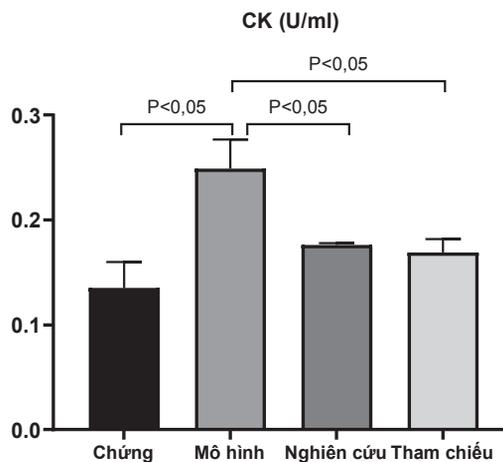


**Hình 2.** Biểu đồ phần trăm diện tích nhồi máu của các nhóm chuột thí nghiệm.

Kết quả nhuộm TTC cho thấy SPRC và Captopril làm giảm đáng kể kích thước ổ nhồi máu trong tâm thất trái so với nhóm mô hình dùng nước cất ( $19,43 \pm 4,79\%$  và  $24,43 \pm 3,34\%$  so với  $32,69 \pm 4,99\%$ ;  $p < 0,05$ ). Kích thước ổ nhồi máu ở nhóm dùng SPRC nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm dùng Captopril.

## 2. Mức độ tổn thương cơ tim

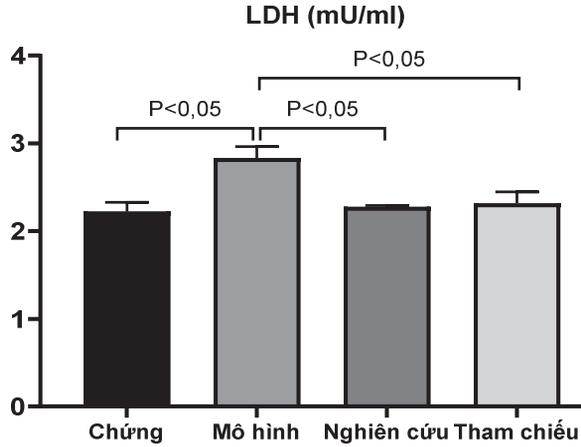
\* *Chỉ số CK:*



**Hình 3.** Biểu đồ nồng độ CK trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

So với nhóm chứng sinh lý, nồng độ CK trong huyết tương chuột ở nhóm mô hình gây NMCT cấp tăng có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, chuột được uống dự phòng bằng SPRC và Captopril giúp làm giảm đáng kể nồng độ CK trong huyết tương chuột bị NMCT cấp so với nhóm sử dụng nước cất.

\* Chỉ số LDH:

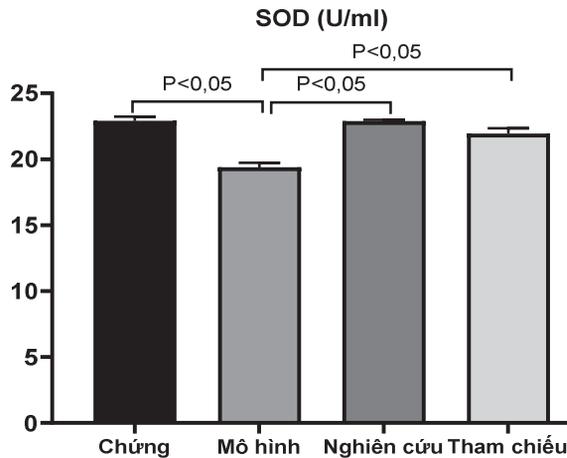


**Hình 4.** Biểu đồ nồng độ LDH trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

Chuột gây NMCT cấp làm tăng đáng kể nồng độ LDH so với nhóm chứng sinh lý. Sử dụng SPRC và Captopril dự phòng giúp ngăn ngừa hiệu quả sự tăng nồng độ LDH khi gây NMCT cấp ở nhóm nghiên cứu và nhóm tham chiếu.

### 3. Tác dụng chống oxy hóa

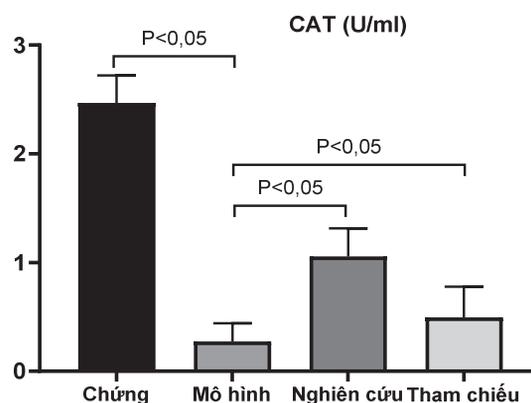
\* Chỉ số SOD:



**Hình 5.** Biểu đồ nồng độ SOD trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

So với nhóm chứng sinh lý, nồng độ SOD trong huyết tương chuột giảm đáng kể khi gây NMCT cấp. Tuy nhiên, điều trị dự phòng bằng SPRC và Captopril làm tăng đáng kể nồng độ SOD so với nhóm mô hình dự phòng bằng nước cất ( $p < 0,05$ ).

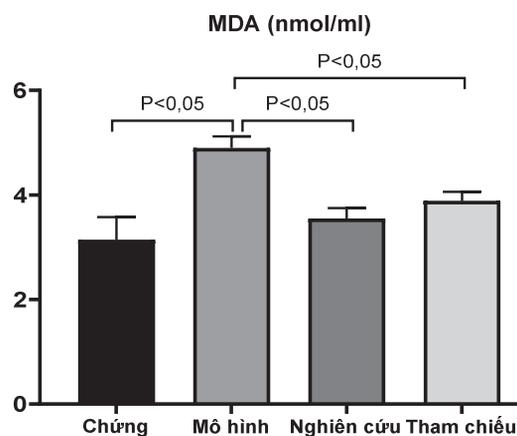
\* *Chỉ số CAT:*



**Hình 6.** Biểu đồ nồng độ CAT trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

Nồng độ CAT trong huyết tương chuột ở nhóm gây mô hình NMCT cấp giảm hơn 9 lần so với nhóm chứng sinh lý. Trong khi đó sử dụng SPRC và Captopril điều trị dự phòng giúp tăng nồng độ CAT lần lượt là 3,9 và 1,8 lần so với nhóm điều trị dự phòng bằng nước cất.

\* *Chỉ số MDA:*



**Hình 7.** Biểu đồ nồng độ MDA trong huyết tương của các nhóm chuột thí nghiệm.

So với nhóm chứng sinh lý, nồng độ MDA trong huyết tương chuột ở nhóm mô hình tăng có ý nghĩa thống kê. So với nhóm mô hình, các nhóm điều trị dự phòng bằng thuốc nghiên cứu và thuốc tham chiếu làm giảm đáng kể nồng độ MDA trong huyết tương chuột gây NMCT cấp.

## BÀN LUẬN

Nhồi máu cơ tim là một tổn thương bệnh lý rất nghiêm trọng đối với cơ tim. NMCT thường khởi phát cấp tính trong thời gian ngắn; do đó, các phương pháp điều trị thường không kịp thời để có thể phát huy tác dụng tối ưu dẫn đến những tổn thương và di chứng nghiêm trọng hoặc tử vong. Vì vậy, trên lâm sàng, điều trị dự phòng cho những bệnh nhân (BN) có nguy cơ khởi phát giúp làm giảm sự xuất hiện của bệnh hoặc giảm tổn thương và di chứng của NMCT. BN điều trị dự phòng NMCT thường phải sử dụng thuốc trong thời gian dài. Việc chọn lựa loại thuốc thích hợp cho từng BN là điều rất quan trọng, góp phần quyết định sự thành công trong việc dự phòng NMCT. Nhiều loại thuốc đang được sử dụng trong điều trị dự phòng NMCT như thuốc chống ngưng kết tiểu cầu, thuốc chống đông... Các thuốc này tiềm ẩn nhiều tác dụng không mong muốn làm phát sinh thêm các vấn đề về sức khỏe [5]. Do đó, việc nghiên cứu các loại thuốc mới đang được quan tâm nhằm hỗ trợ cho việc điều trị dự phòng NMCT trên tiêu chí giảm tối đa tỷ lệ mắc phải hoặc tái phát trên BN có nguy cơ và đảm bảo sử dụng an toàn trong thời gian dài, ít gây tác dụng không mong muốn. SPRC là một chất điều biến mới của hydro

sunfua nội sinh, được phát triển để giải quyết vấn đề của việc sử dụng hydro sunfua. Không giống như bản thân khí và nguồn cung cấp hydro sunfua ngoại sinh, SPRC được thiết kế để tác động thông qua việc thúc đẩy hoạt động của cystathionine- $\gamma$ -lyase (CSE), một loại enzyme chuyển hóa có thể tạo ra hydro sunfua nội sinh có vai trò trong việc điều trị các bệnh tim mạch như tăng huyết áp, xơ vữa động mạch và thiếu máu cơ tim cấp tính [6].

Thất động mạch vành nhánh xuống trước bên trái để tạo mô hình NMCT cấp là mô hình lần đầu tiên được áp dụng tại Việt Nam. Trước đây, trong nước thường sử dụng Isoproterenol để gây mô hình NMCT cấp [7]. Phương pháp này mặc dù thao tác đơn giản, nhưng có một số nhược điểm, đó là mô hình không đồng đều, tỷ lệ thành công thấp và khác biệt giữa các cá thể lớn do đáp ứng thuốc khác nhau. Ngoài ra, thời gian gây nhồi máu ngắn; do đó, đặc điểm bệnh lý của mô hình có nhiều khác biệt so với thực tế lâm sàng. Vì vậy, mô hình NMCT cấp bằng Isoproterenol ít có giá trị trong nghiên cứu bệnh lý và đánh giá tác dụng dược lý của thuốc. Động mạch vành nhánh xuống trước trái là động mạch chính cung cấp máu cho tim trái, nếu bị thất có thể gây NMCT ở vách liên thất và tâm thất trái. Mô hình này có tỷ lệ

thành công và độ đồng đều cao, có nhiều đặc điểm bệnh lý giống với thực tế trên lâm sàng; do đó, được áp dụng phổ biến để nghiên cứu cơ chế bệnh lý cũng như đánh giá tác dụng dược lý của thuốc trên động vật.

Các chỉ số men cơ tim có độ nhạy, độ đặc hiệu tốt, có thể định lượng được, đã được sử dụng và phát triển rộng rãi trong nghiên cứu và ứng dụng lâm sàng trong bệnh thiếu máu cơ tim. Nồng độ các chỉ số men có quan hệ mật thiết với lượng cơ tim hoại tử, giúp chẩn đoán mức độ tổn thương tế bào cơ tim [8]. Tình trạng thiếu oxy gây rối loạn chuyển hóa oxy hóa tế bào làm phát sinh quá nhiều gốc tự do. Khi thiếu oxy sẽ làm mất cân bằng giữa quá trình thanh thải gốc tự do và quá trình sản sinh gốc tự do trong cơ thể. Quá trình thanh thải gốc tự do giảm hoặc quá trình sản sinh gốc tự do tăng sẽ gây tổn thương các mô, cơ quan [9]. Thông qua chuỗi phản ứng oxy hóa của các axit béo không bão hòa trong màng tế bào và màng bào quan, làm sản sinh peroxy hóa lipid, cản trở tính lưu động và tính thấm của màng và tạo ra các chất chuyển hóa [10]. CK là một loại enzyme cần thiết để duy trì sự trao đổi chất và hoạt động chức năng trong các tế bào cơ tim bình thường. Khi các tế bào cơ tim bị kích thích bởi tình trạng thiếu oxy, tính toàn vẹn của

màng tế bào bị phá hủy do sự tấn công của các gốc oxy tự do và các chất nội bào giải phóng vào hệ thống tuần hoàn, hàm lượng của các enzym này trong huyết tương tăng lên rất nhiều. Vì vậy, nó có thể được sử dụng như một trong những chỉ tiêu để đánh giá tổn thương tổ chức hoặc tế bào cơ tim [8].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phát hiện sau khi thắt động mạch vành trái trước nhánh xuống ở chuột, hàm lượng CK và LDH trong huyết tương tăng lên đáng kể, chứng tỏ màng tế bào cơ tim đã bị tổn thương, làm cho các enzym này giải phóng vào tuần hoàn máu. Sự gia tăng rõ rệt hàm lượng MDA trong huyết tương phản ánh rằng cơ tim bị tổn thương do thiếu oxy và tích tụ các sản phẩm peroxy hóa lipid. SPRC giúp làm giảm kích thước vùng nhồi máu, giảm hàm lượng CK và LDH giải phóng từ tế bào cơ tim và giảm nồng độ MDA trong huyết tương. Những kết quả này cho thấy SPRC có tác dụng bảo vệ rõ ràng đối với tổn thương do thiếu máu cục bộ cơ tim ở chuột. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy SPRC có tác dụng bảo vệ tim mạch tương đương Captopril.

Để quan sát tiếp tác dụng bảo vệ tim mạch của SPRC có liên quan đến cơ chế chống oxy hóa hay không, nghiên cứu đã tiến hành đánh giá tác dụng của SPRC với các chất chống oxy hóa

chính, như SOD, CAT. SOD là một loại enzyme chống oxy hóa có trong tất cả các tế bào sống trong cơ thể. SOD giúp ngăn chặn quá trình oxy hóa bằng cách chuyển đổi gốc siêu muối superoxide thành oxy và hydro peroxide ( $H_2O_2$ ). Hydrogen peroxide sau đó sẽ được loại bỏ bằng cách hoạt động của các enzyme khác như peroxidase và CAT thành nước không có tác động tiêu cực đến cơ thể. Đồng thời, SOD còn có khả năng kích hoạt các hệ thống chống oxy hóa khác trong cơ thể, như glutathione peroxidase và glutathione reductase. Nhờ đó, SOD giúp cân bằng môi trường nội bào và giảm thiểu tác động gây tác hại từ gốc tự do. CAT là enzyme quan trọng trong quá trình phân hủy hydrogen peroxide thành oxy và nước. CAT sẽ tăng cường tốc độ phản ứng phân hủy hydrogen peroxide và giúp chất này được loại bỏ ra khỏi cơ thể từ đó ngăn chặn sự hình thành các chất oxy hóa tự do gây hại. Ngoài ra, CAT còn bảo vệ tế bào chống lại các tác động của gốc tự do và chất oxy hóa khác. Với vai trò chống oxy hóa, CAT sẽ giúp cơ thể duy trì cân bằng và bảo vệ tế bào tránh các tác nhân gây hại. Trong nghiên cứu này, chuột thí nghiệm được cho uống SPRC hoặc Captopril một tuần trước khi thắt động mạch vành gây NMCT cấp. Kết quả cho thấy SPRC giúp cải thiện hoạt tính của các enzyme chống oxy hóa

trong mô cơ tim sau tổn thương do thiếu máu cục bộ. Cụ thể SPRC làm tăng nồng độ SOD và CAT trong huyết tương từ đó ức chế sản sinh các sản phẩm peroxy hóa lipid nâng cao khả năng thanh thải gốc oxy tự do của cơ thể, hạn chế mức độ tổn thương cơ tim.

### KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chứng minh được SPRC có tác dụng bảo vệ tế bào cơ tim trên mô hình NMCT cấp ở chuột, thể hiện qua việc làm giảm enzym CK, LDH và tăng hoạt tính enzym chống oxy hóa SOD, CAT. Tác dụng của SPRC tương đương với Captopril.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Frangiannis NG, Smith CW and Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 2002; 53:31-47.
2. Rose P, Whiteman M, Moore PK, Zhu YZ. Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: The chemistry of potential therapeutic agents. *Nat Prod Rep.* 2005; 22:351-368.
3. Chuah SC, Moore PK, Zhu YZ. S-allylcysteine mediates cardioprotection in an acute myocardial infarction rat model via a hydrogen sulfidemediated pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007; 293:H2629-H2630.

4. Zhu YZ, Wang ZJ, Ho P, et al. Hydrogen sulfide and its cardioprotective effects in myocardial ischemia in experimental rats. *J Appl Physiol.* 2007; 102(1):261-268.
5. Đào Văn Phan. *Dược lý học lâm sàng*. Nhà xuất bản Y học - Hà Nội. 2020.
6. Pipaliya H, Vaghasiya J. Cardio protective effect of vitamin A against isoproterenol-induced myocardial infarction. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2012; 58:402-407.
7. Kan J, Guo W, Huang C, et al. S-propargyl-cysteine, a novel water-soluble modulator of endogenous hydrogen sulfide, promotes angiogenesis through activation of signal transducer and activator of transcription 3. *Antioxid Redox Signal.* 2014; 20(15): 2303-2316.
8. Capraz M, Dilek M, Akpolat T. Galic hypertension and patient education. *J Cardiology.* 2006; 121:130-131.
9. Filippo CD, Cuzzocrea S, Rossi F, et al. Oxidative stress as the leading cause of acute myocardial infarction in diabetics. *Cardiovasc. Drug Rev.* 2006; 24:77-87.
10. Davis ME, Seshadri G, Dikalov S, et al. Delivery of SOD with polyketal particles protects rats from acute myocardial infarction. *Circulation.* 2009; 120:S747.

**ĐÁNH GIÁ CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH HYDRAT HÓA  
TẠO HỖN DỊCH NANO PHYTOSOME SILYBIN**

*Đặng Trường Giang<sup>1</sup>, Hồ Bá Ngọc Minh<sup>1</sup>, Phạm Kỳ Anh<sup>2</sup>  
Vũ Bình Dương<sup>1</sup>, Phạm Văn Hiến<sup>1\*</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo hỗn dịch nano phytosome bằng phương pháp hydrat hóa màng film phức hợp silybin - phosphatidyl cholin (Si-PC). **Phương pháp nghiên cứu:** Bào chế hỗn dịch nano bằng phương pháp hydrat hoá trong pha ngoại, khảo sát ảnh hưởng của loại dung môi, thể tích dung môi, điều kiện siêu âm đến kích thước tiểu phân, độ ổn định của hệ, hiệu suất mang thuốc và độ tan, độ hòa tan của dược chất. **Kết quả:** Với điều kiện sử dụng pha ngoại là nước tỷ lệ 8:1, sử dụng sóng siêu âm công suất 720W trong thời gian 10 phút, hỗn dịch nano phytosome silybin tạo ra có kích thước tiểu phân (KTTP) là  $179,3 \pm 8,3\text{nm}$  với chỉ số PDI  $< 0,5$ ; trị tuyệt đối thế Zeta  $> 30\text{mV}$ . Dạng nano phytosome đã cải thiện độ tan của silybin trong nước (gấp 1,64 lần dạng phức hợp) và độ hòa tan của silybin trong môi trường pH 1,2 và pH 6,8 so với dạng phức hợp. **Kết luận:** Đã lựa chọn được các thông số của quá trình tạo hỗn dịch nano phytosome silybin bằng phương pháp hydrat hóa màng film kết hợp siêu âm đầu dò.

**Từ khóa:** Hỗn dịch nano; Phytosome; Hydrat hóa màng film; Siêu âm đầu dò.

**EVALUATION OF FACTORS AFFECTING  
THE HYDRATION PROCESS OF MANUFACTURING  
NANO PHYTOSOME SILYBIN SUSPENSION**

**Abstract**

**Objectives:** To evaluate some factors on the properties affecting nano phytosome suspension in the film hydration of silybin - phosphatidylcholine complex.

---

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Đại học Đại Nam

\*Tác giả liên hệ: Phạm Văn Hiến (phamvanhien181288@gmail.com)

Ngày nhận bài: 22/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.476>

**Methods:** Nano suspension was prepared using hydration method in the external phase; the effect of solvent type, solvent volume, ultrasonic conditions on particle size, stability of system, entrapment efficiency, solubility and dissolution of the drug were investigated. **Results:** With the external phase of water at the ratio of 8:1, ultrasonic waves with a power of 720W for 10 minutes, the obtained silybin phytosome nanoparticle suspension had a particle size of  $179.3 \pm 8.3$ nm with PDI < 0.5, absolute value of Zeta potential > 30mV. The solubility of silybin in the phytosome nano form increased by 1.64 times compared to the complex form, and the nano phytosome form significantly improved the rate and extent of solubilization of silybin at pH 1.2 and pH 6.8 solution compared with the complex form. **Conclusion:** The parameters of silybin phytosome nano-suspension were investigated and selected using film hydration method and ultrasonic probe.

**Keywords:** Nano suspension; Phytosome; Film hydration; Ultrasonic probe.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Kế sữa (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) được biết đến là dược liệu có các hoạt chất thuộc nhóm flavonoid, có tác dụng như chống oxy hóa, ức chế sự hủy hoại tế bào gan do các tác nhân như rượu, thuốc...; trong đó silybin là hoạt chất chính chiếm tỷ lệ lớn (50 - 70%) [1]. Theo một số nghiên cứu cho thấy silybin có sinh khả dụng theo đường uống thấp, nguyên nhân là do tính chất về độ tan và tính thấm kém của hoạt chất này [1]. Chúng tôi đã bào chế thành công phức hợp Si-PC giúp cải thiện độ tan, độ hòa tan của silybin trong một số dung môi, môi trường [2]. Để hình thành dạng phytosome thì

phức hợp phải được tiếp xúc với môi trường nước hoặc môi trường sinh lý cơ thể [3]. Lúc này, phần đuôi acid béo của phospholipid sẽ bao quanh phần phức hợp thân nước và có sự sắp xếp của nhiều phân tử phức hợp tạo thành các khối cầu có bề ngoài tương tự như liposome [4]. Dạng phytosome sẽ giúp cải thiện đáng kể về độ tan, độ hòa tan của hoạt chất. Để tạo ra dạng nguyên liệu phytosome làm tiền đề nghiên cứu ứng dụng vào các dạng bào chế, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo hỗn dịch nano phytosome bằng phương pháp hydrat hóa màng film phức hợp silybin - phosphatidyl cholin.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Nguyên liệu nghiên cứu:* Silybin 95%, phosphatidyl cholin 90% (Trung Quốc).

\* *Hóa chất, dung môi nghiên cứu:* Ethanol tuyệt đối (EtOH<sub>td</sub>), tetra hydrofuran (THF), nước cất, dung dịch HCl pH 1,2; dung dịch đệm phosphat pH 6,8 và pH 7,4; Tween 80.

\* *Thiết bị nghiên cứu:* Máy khuấy từ gia nhiệt (IKA - Malaysia), máy siêu âm đầu dò (01D882), thiết bị cô quay chân không (N1200B), bình cầu (thể tích từ 0,1 - 6 lít), máy đo kích thước tiểu phân ZT-100-Z (Horiba).

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Tạo hỗn dịch nano phytosome silybin:* Tiến hành chuẩn bị mẫu phức hợp Si-PC theo phương pháp của Đặng Trường Giang và CS [2] với 0,5g silybin 95% và 1,5g PC90% hòa tan trong 100mL hỗn hợp dung môi EtOH<sub>td</sub>:THF (97:3). Kết thúc phản ứng tiến hành cô quay dưới áp suất giảm (nhiệt độ 50°C) để thu màng film mỏng. Tiến hành hydrat hóa màng film mỏng phức hợp bằng cách nhỏ từ từ dung môi khảo sát vào màng film (kết hợp khuấy trộn), sau đó hỗn dịch được làm giảm KTTTP bằng máy siêu âm đầu

dò để tạo hỗn dịch nano phytosome silybin đồng nhất. Các yếu tố khảo sát gồm:

- Loại dung môi hydrat hóa: Nước; đệm phosphat 6,8 và 7,0.

- Lượng dung môi hydrat hóa: Tỷ lệ dung môi/chất rắn (DM/CR) là 6:1; 8:1; 10:1; 12:1 (tt/kl).

- Mức năng lượng siêu âm: 600W, 720W, 840W và 1.080W.

- Thời gian siêu âm: 3, 5, 10, 15 phút.

\* *Chỉ tiêu đánh giá:*

- Hiệu suất phytosome hóa (Entrapment Efficiency - EE):

$$EE\% = \frac{\text{Lượng Si dạng phytosome (mg)}}{\text{Lượng Si toàn phần (mg)}} \times 100$$

- Hàm lượng silybin dạng phytosome (HL Si<sub>phy</sub>): Cân một lượng bột phytosome (tương đương khoảng 0,1g silybin toàn phần) vào bình nón nút mài, thêm 15mL CHCl<sub>3</sub>, lắc trên máy lắc tròn với tốc độ 200 vòng/phút trong 10 phút, rồi chuyển dịch vào bình định mức 25mL, bổ sung CHCl<sub>3</sub> vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc dịch trên qua màng lọc 0,22μm. Sau đó, hút chính xác 5,0mL dịch lọc rồi pha loãng bằng MeOH tới nồng độ cần thiết (nằm trong khoảng nồng độ tuyến tính). Lọc qua màng 0,45μm và định lượng bằng HPLC [5].

- Hàm lượng silybin toàn phần (HL Sítp): Hòa tan một lượng bột phytosome (tương đương khoảng 0,1g silybin toàn phần) trong MeOH, pha loãng đến nồng độ thích hợp (nằm trong khoảng nồng độ tuyến tính). Lọc qua màng 0,45 $\mu$ m và định lượng bằng HPLC với các điều kiện tương tự [5].

- KTTTP, PDI: Đo trên máy Horiba SZ-100, sử dụng disposable cuvet cell, góc đo ánh sáng tán xạ 90°. Pha loãng hỗn dịch bằng nước cất (đã lọc qua màng 0,2 $\mu$ m) sao cho chỉ số đếm (count rates) nằm trong khoảng 300 - 400 kcps.

- Thế Zeta: Đo trên máy Horiba SZ-100, sử dụng zeta electrode cell. Điều kiện đo tương tự như nội dung đo KTTTP và PDI.

- Độ tan của silybin trong nước (ĐT Si/nước): Cân một lượng dư mẫu khô (phức hợp và hỗn dịch nano phytosome) vào bình nón nút mài, thêm 10mL nước cất và lắc ở tốc độ 200 vòng/phút ở 25°C trong 48 giờ. Sau khi ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 15 phút, tiến hành hút lớp dịch phía trên và lọc qua màng 0,2 $\mu$ m, pha loãng bằng methanol (nếu cần) để định lượng bằng HPLC [5, 6].

- Độ hòa tan của silybin: Cân một lượng các mẫu khô của phức hợp và

hỗn dịch nano phytosome (tương đương với 100mg silybin) cho vào trong cốc chứa môi trường thử độ hòa tan.

+ Môi trường (MT) thử gồm: MT pH 1,2: 900mL dung dịch acid HCl (thêm 0,5% Tween 80). MT pH 6,8: 900mL dung dịch đệm phosphat (thêm 0,5% Tween 80). Nhiệt độ môi trường (37  $\pm$  0,5)°C [7]

+ Đánh giá trên thiết bị kiểu cánh khuấy với tốc độ 100 vòng/phút. Tiến hành lấy 10mL dung dịch thử ở các thời điểm 10, 30, 60, 120, 180, 240 phút và ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 5 phút. Thu lấy phần dịch trong lọc qua màng 0,2 $\mu$ m và định lượng hàm lượng silybin bằng HPLC [5]. Lấy 10mL môi trường thử, cho vào ống ly tâm (chứa phần cần sau ly tâm), lắc đều, sau đó bổ sung vào cốc thử độ hòa tan.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Ảnh hưởng của loại dung môi hydrat hóa

Hydrat hóa phức hợp với các dung môi khảo sát (nước cất, đệm phosphat pH 6,8 và 7,4) với tỷ lệ DM/CR là 8:1. Làm giảm KTTTP bằng siêu âm đầu dò với công suất 720W trong 10 phút. Kết quả đánh giá các đặc tính của phytosome được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng dung môi hydrat hóa đến các đặc tính của phytosome silybin (n = 3).

Dung môi	KTTP (nm)	PDI	Thế Zeta	EE (%)	Độ tan Si/nước (µg/mL)
Nước cất	179,3 ± 8,3	0,330 ± 0,011	-65,0 ± 2,2	93,32 ± 2,90	235,10 ± 10,10
Đệm pH 6,8	189,7 ± 5,6	0,295 ± 0,007	-44,1 ± 2,1	87,07 ± 3,11	210,96 ± 9,18
Đệm pH 7,4	193,9 ± 5,2	0,292 ± 0,008	-54,4 ± 2,1	83,08 ± 2,75	190,46 ± 9,41

Hỗn dịch phytosome thu được có xu hướng bền vững (với PDI < 0,5 và trị tuyệt đối thế zeta > 30 mV) khi hydrat hóa với ba loại dung môi. Đặc biệt, hỗn dịch được tạo ra khi hydrat với nước thì các chỉ tiêu được đều cải thiện hơn (độ tan silybin trong nước, EE%, KTTP) so với hai môi trường đệm. Do đó, nước cất được lựa chọn làm dung môi hydrat hóa phức.

## 2. Ảnh hưởng của lượng dung môi hydrat hóa

Hydrat hóa phức với nước cất và làm giảm KTTP bằng siêu âm đầu dò với công suất 720W trong 10 phút. Đánh giá các chỉ tiêu của phytosome ở các tỷ lệ DM/CR (tt/kl) lần lượt là 6:1; 8:1; 10:1; 12:1. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng lượng nước hydrat hóa đến các đặc tính của phytosome silybin (n = 3).

DM/CR	6:1	8:1	10:1	12:1
Chỉ tiêu				
KTTP (nm)	276,0 ± 14,5	179,3 ± 8,3	180,7 ± 6,1	177,0 ± 7,1
PDI	0,452 ± 0,049	0,330 ± 0,011	0,339 ± 0,047	0,337 ± 0,021
Thế zeta (mV)	-49,8 ± 2,8	-65,0 ± 2,2	-56,9 ± 6,1	-65,8 ± 4,1
EE%	92,25 ± 2,80	93,32 ± 2,90	93,17 ± 2,29	93,07 ± 2,85
Độ tan Si/nước (µg/mL)	211,68 ± 6,91	235,10 ± 10,10	234,97 ± 9,03	235,37 ± 9,11

Khi tỷ lệ DM/CR thấp (6:1) thì KTTP đạt trên 270nm và chỉ số PDI gần giá trị 0,5; Ở các tỷ lệ DM/CR từ 8:1 đến 12:1 thì KTTP đạt dưới 270nm, hỗn dịch có xu thế bền vững hơn, đồng thời cải thiện được độ tan silybin trong nước. Do vậy,

lựa chọn tỷ lệ DM/CR là 8:1 (tt/kl) để thuận tiện cho quá trình tạo bột khô ở giai đoạn sau.

### 3. Ảnh hưởng của công suất siêu âm

Hydrat hóa phức hợp với nước cất (tỷ lệ DM/CR là 8:1). Làm giảm KTTP bằng siêu âm đầu dò trong 10 phút với các mức công suất lần lượt là: 600, 720, 840, 960, 1080 W. Kết quả đánh giá các đặc tính của phytosome trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của công suất siêu âm đến các đặc tính của phytosome silybin (n = 3).

Chỉ tiêu	NLSA				
	600W	720W	840W	960W	1080W
KTTP (nm)	304,4 ± 19,2	179,3 ± 8,3	155,6 ± 6,2	139,8 ± 8,4	147,8 ± 6,2
PDI	0,372 ± 0,032	0,330 ± 0,011	0,432 ± 0,052	0,336 ± 0,027	0,336 ± 0,062
Thế zeta (mV)	-33,0 ± 2,1	-65,0 ± 2,2	-27,9 ± 1,8	-25,9 ± 2,2	-28,3 ± 0,7
EE%	93,35 ± 2,53	93,32 ± 2,90	93,08 ± 2,51	93,04 ± 3,06	92,13 ± 2,50
Độ tan Si/nước (µg/mL)	208,75 ± 10,93	235,10 ± 10,10	237,88 ± 9,87	238,44 ± 9,45	236,41 ± 10,49

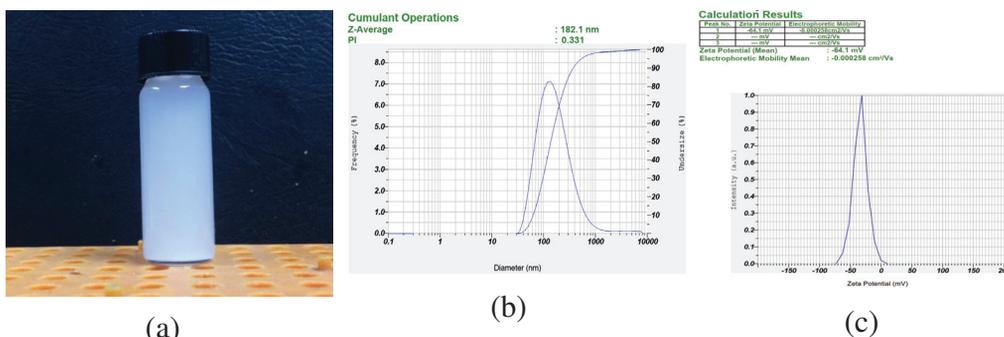
Khi tăng công suất siêu âm có xu hướng làm giảm KTTP của hệ và tăng độ tan của silybin. Ở mức công suất từ 840 - 1080W trị tuyệt đối thế zeta của hệ nhỏ hơn 30 mV (hệ ổn định kém). Ở mức công suất 600W hệ ổn định hơn tuy nhiên KTTP của hệ lại lớn hơn và độ tan silybin trong nước thấp hơn so với ở mức công suất 720W. Do đó, siêu âm với công suất 720W là phù hợp trong các giai đoạn nghiên cứu tiếp theo.

#### 4. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm

Hydrat hóa phức hợp với nước cất (tỷ lệ DM/CR là 8:1). Làm giảm KTTT bằng siêu âm đầu dò với công suất 720W trong các khoảng thời gian lần lượt là 3, 5, 10 và 15 phút. Kết quả được thể hiện ở bảng 4 và hình 1.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng thời gian siêu âm đến các đặc tính của phytosome silybin (n = 3).

Chỉ tiêu	Thời gian			
	3 phút	5 phút	10 phút	15 phút
KTTT (nm)	223,8 ± 6,7	209,3 ± 5,0	179,3 ± 8,3	181,4 ± 7,7
PDI	0,385 ±	0,341 ±	0,330 ±	0,329 ±
	0,025	0,044	0,011	0,079
Thế zeta (mV)	-33,0 ± 1,8	-51,7 ± 2,5	-65,0 ± 2,2	-51,3 ± 5,9
EE%	93,11 ± 2,92	93,28 ± 2,94	93,32 ± 2,90	93,16 ± 2,68
Độ tan Si/nước (μg/mL)	218,72 ±	219,90 ±	235,10 ±	233,99 ±
	7,03	8,72	10,10	10,26



**Hình 1.** Hình ảnh hỗn dịch nano phytosome silybin (siêu âm ở 720W, trong 10 phút).

(a) Mẫu hỗn dịch thu được; (b) KTTT và PDI; (c) thế Zeta

Khi thời gian siêu âm tăng từ 3 lên 10 phút thì KTTT của hệ giảm từ 223,8 ± 6,7nm xuống 179,3 ± 8,3nm và độ tan của silybin trong nước tăng từ 218,72 ± 7,03μg/mL lên 235,10 ± 10,10μg/mL. Tuy nhiên, các chỉ tiêu này không cải

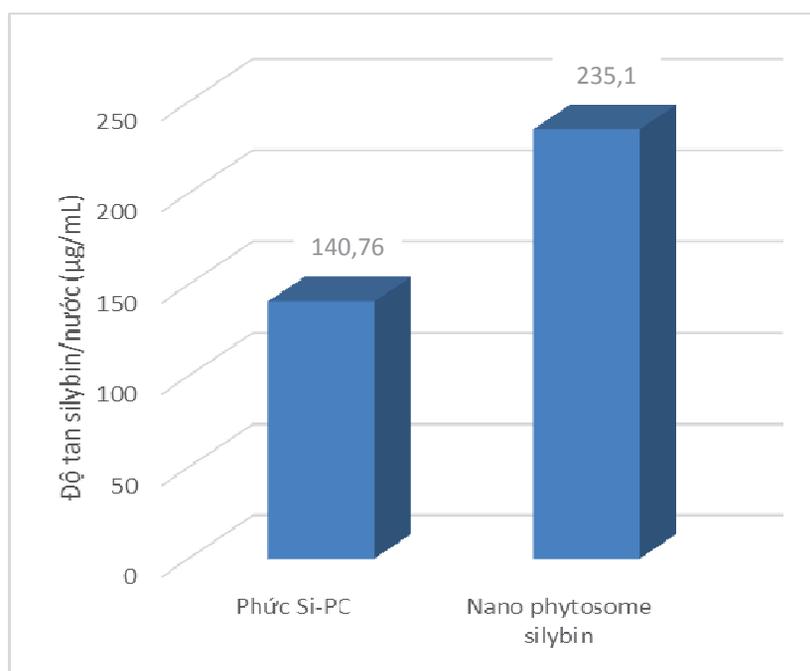
thiện thêm khi thời gian siêu âm là 15 phút. Bên cạnh đó, hệ hỗn dịch ổn định ở các điểm khảo sát (giá trị tuyệt đối thế zeta > 30mV). Vì vậy, lựa chọn thời gian siêu âm là 10 phút là phù hợp.

*\* Tóm tắt các thông số cho giai đoạn hydrat phức hợp tạo hỗn dịch nano phytosome silybin:*

- Dung môi hydrat hóa là nước cất với tỷ lệ DM/CR là 8:1.
- Làm giảm và đồng nhất KTTP của hệ bằng siêu âm đầu dò với công suất 720W trong thời gian là 10 phút.

### **5. Kết quả đánh giá độ tan của silybin trong nước**

Tiến hành đánh giá độ tan của silybin trong nước của mẫu các mẫu khô (phức hợp và hỗn dịch nano phytosome). Kết quả được thể hiện ở hình 2.

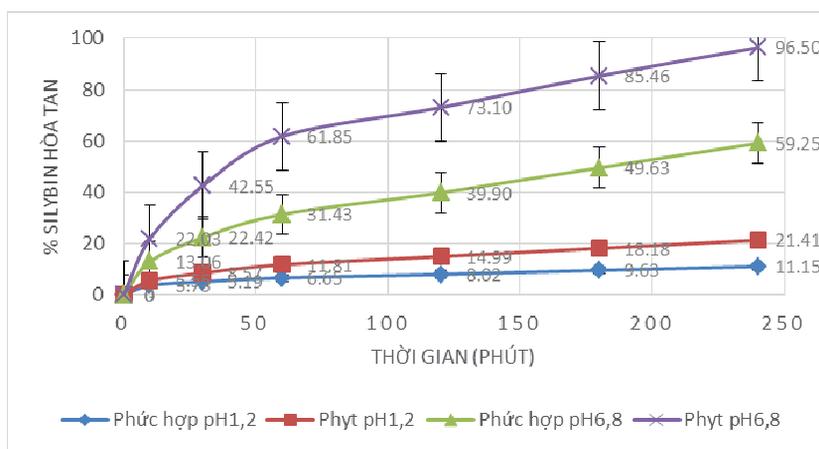


**Hình 2.** Độ tan trung bình silybin trong nước của mẫu phức hợp và mẫu nano phytosome silybin.

Kết quả ở hình 2 cho thấy, sau khi tạo hỗn dịch nano phytosome silybin từ phức hợp Si-PC đã giúp cải thiện rõ rệt độ tan của silybin trong nước lên khoảng 1,67 lần.

## 6. Kết quả đánh giá độ hòa tan của silybin trong các môi trường pH 1,2 và pH 6,8

Độ hòa tan của silybin của các mẫu khô (phức hợp và hỗn dịch nano phytosome) trong các môi trường thử (dung dịch HCl pH 1,2 và dung dịch đệm phosphat pH 6,8) được thể hiện ở hình 3.



**Hình 3.** Đồ thị biểu diễn độ hòa tan của silybin (ở dạng phức hợp và hỗn dịch phytosome) trong môi trường pH 1,2 và pH 6,8.

Kết quả ở hình 3 cho thấy, lượng silybin hòa tan (dạng hỗn dịch phytosome) ở thời điểm 10 phút và 240 phút cao hơn lần lượt là khoảng 1,5 lần và 2 lần so với dạng phức hợp. Đặc biệt, dạng hỗn dịch phytosome đã cải thiện rõ rệt độ hòa tan (tốc độ và mức độ hòa tan) so với dạng phức hợp trong môi trường pH 6,8. Sau 240 phút thì lượng silybin ở dạng nano phytosome được hòa tan gần như hoàn toàn (96,50%), trong khi đó silybin ở dạng phức hợp chỉ đạt 59,25%.

### BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự cải thiện về độ tan và độ hòa tan của silybin trong các môi trường sau quá trình hydrat hóa. Điều này một phần chứng tỏ đã có sự chuyển trạng thái từ dạng vô định hình (phức hợp) sang trạng thái các khối cầu sắp xếp đều đặn

(dạng phytosome). Kết quả cũng phù hợp với các nội dung của các tác giả đã đưa ra nhận định về sự hình thành cấu trúc phytosome (có bề ngoài tương tự như liposome) [4].

Trong các nghiên cứu bào chế dạng hỗn dịch phytosome, các tác giả thường sử dụng dịch đệm phosphat pH

6,8 và 7,4 do các dung dịch này có độ pH gần với độ pH của đường tiêu hóa [8, 9]. Trong nghiên cứu này đã góp phần cung cấp thêm thông tin về việc sử dụng nước cất là dung môi hydrat hóa phù hợp, các mẫu đều đạt hiệu suất phytosome hóa > 90%, đồng thời với tỷ lệ DM/CR là 8:1 sẽ giúp cho giai đoạn tiếp theo tạo bột khô sẽ tiết kiệm được nhiều thời gian trong quá trình bào chế.

Để làm giảm và đồng nhất KTTP của hệ hỗn dịch, trong các nghiên cứu bào chế liposome hoặc phytosome thường sử dụng các biện pháp như siêu âm hoặc đun ép qua màng [4]. Điều này giúp hệ hỗn dịch tăng độ ổn định về mặt vật lý, cải thiện diện tích tiếp xúc giữa hoạt chất và môi trường, từ đó giúp làm tăng độ tan và độ hòa tan của hoạt chất [4]. Phương pháp hydrat hóa bằng nước cất và sử dụng siêu âm đầu dò trong nghiên cứu này đã tạo ra hỗn dịch phytosome có KTTP của hệ là  $179,3 \pm 8,3\text{nm}$ , PDI là  $0,330 \pm 0,011$  và thế zeta  $-65,0 \pm 2,2\text{mV}$ . Hệ hỗn dịch nano phytosome silybin trong nghiên cứu này có các chỉ số đều cải thiện hơn và ổn định hơn so với hỗn dịch phytosome trong nghiên cứu của Chi C và CS (KTTP của hệ là  $223,5 \pm 4,8\text{nm}$ , PDI là  $0,217 \pm 0,011$  và thế zeta  $-23,14 \pm 2,73\text{mV}$ ) được hydrat hóa bằng nước cất 2 lần và sử dụng phương pháp đồng nhất hóa áp suất cao kết hợp

phối trộn với poloxamer 188 để làm giảm KTTP [10]. Nguyên nhân là do trong nghiên cứu của Chi C và CS bào chế phức hợp silybin - phosphatidyl cholin với tỷ lệ silybin/phosphatidyl cholin là 1:1. Về mặt hàm lượng silybin trong phytosome ở nghiên cứu của Chi C. là cao hơn so với kết quả của nghiên cứu này (do tỷ lệ silybin/phosphatidyl cholin là 1:2), tuy nhiên vẫn phải bổ sung thêm poloxamer 188 để ổn định hệ hỗn dịch nano. Trong nghiên cứu này không cần bổ sung thêm chất diện hoạt vì phosphatidyl cholin vừa đóng vai trò là chất mang vừa đóng vai trò là chất diện hoạt giúp hệ hỗn dịch nano phytosome silybin được ổn định hơn.

### KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu khảo sát, bước đầu chúng tôi đã lựa chọn được một số thông số phù hợp trong quá trình tạo hỗn dịch nano phytosome silybin từ phức hợp Si-PC gồm sử dụng nước cất với tỷ lệ DM/CR là 8:1 và sử dụng siêu âm đầu dò với công suất 720W trong 10 phút. Hỗn dịch nano phytosome silybin tạo ra có KTTP nhỏ hơn 300nm, hỗn dịch độ ổn định tốt với PDI < 0,5. Sau quá trình hydrat hóa các chỉ tiêu về độ tan silybin trong nước cũng như chỉ tiêu độ hòa tan silybin trong các môi trường pH 1,2 và pH 6,8 đều được cải thiện hơn.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Bijak M Silybin. A major bioactive component of milk thistle (silybum marianum L. Gaernt.)-chemistry, bioavailability, and metabolism. *Molecules*. 2017; 22(11).
2. Đặng Trường Giang, Trần Thị Hiện, Phạm Văn Hiến, Chủ Văn Mến, Nguyễn Hữu Mỹ, Trần Kim Thanh, Vũ Bình Dương. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo phức giữa silybin và phosphatidylcholin. *Tạp chí Dược học*. 2019; 521:60-64.
3. Matias D, Rijo P, Reis CP. Phytosomes as biocompatible carriers of natural drugs. *Curr Med Chem*. 2017; 24(6):568-589.
4. Phạm Thị Minh Huệ, Nguyễn Thanh Hải. *Liposome, phytosome phỏng sinh học trong bào chế*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia, Hà Nội. 2017.
5. Đặng Trường Giang, Trần Thị Hiện, Phạm Văn Hiến, Vũ Bình Dương. Định lượng đồng thời silybin A và B trong nguyên liệu và trong phức hợp silybin-phospholipid bằng HPLC. *Tạp chí Dược học*. 2019; 520:28-32,36.
6. Kumar L, Verma R. Determination of saturated solubility of propranolol using UV visible spectrophotometer. *J Der Pharmacia Lettre*. 2016; 8(17):196-201.
7. Xu Y, Li J, He B, et al. *In vitro* dissolution testing and pharmacokinetic studies of silymarin solid dispersion after oral administration to healthy pigs. *Front Vet Sci*. 2022; 9:815198.
8. Gupta NK, Dixit VK. Development and evaluation of vesicular system for curcumin delivery. *Arch Dermatol Res*. 2011; 303(2):89-101.
9. Maryana W, Rachmawati H, Mudhakhir D. Formation of phytosome containing silymarin using thin layer-hydration technique aimed for oral delivery. *J Materials today: Proceedings*. 2016; 3(3): 855-866.
10. Chi C, Zhang C, Liu Y, et al. Phytosome-nanosuspensions for silybin-phospholipid complex with increased bioavailability and hepatoprotection efficacy. *Eur J Pharm Sci*. 2020; 144:105212.

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN  
CỦA CAO KHÔ HÀNH ĐEN

Phạm Văn Hiến<sup>1\*</sup>, Nguyễn Hồng Sơn<sup>1,2</sup>, Nguyễn Trọng Điệp<sup>1</sup>  
Lê Đức Hùng<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thủy<sup>3</sup>, Vũ Bình Dương<sup>1</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của cao khô hành đen trên mô hình động vật thực nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Độc tính cấp của cao khô hành đen được đánh giá trên chuột nhắt trắng Swiss theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon. Độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen được đánh giá trên thỏ New Zealand White với liều lượng 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày và dựa vào các chỉ tiêu thường quy về xét nghiệm huyết học, sinh hoá máu và hình ảnh mô bệnh học. **Kết quả:** Chưa xác định được LD<sub>50</sub> của cao khô hành đen tới mức liều cao nhất có thể cho chuột uống. Cao khô hành đen không gây độc với liều tối đa 3000 mg/kg ở chuột nhắt trắng. Cao khô hành đen cho thỏ uống ở các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày không quan sát thấy sự thay đổi về tình trạng chung, không gây ra sự thay đổi về sự phát triển trọng lượng cơ thể thỏ; không quan sát thấy sự thay đổi có ý nghĩa về chỉ số hồng cầu, bạch cầu huyết sắc tố, nồng độ AST, ALT, creatinine và ure. Trên mô bệnh học, không thấy sự khác biệt giữa các lô thử và lô chứng về màu sắc, hình thái của gan, thận và lách. **Kết luận:** Cao khô hành đen không gây độc cấp tính với liều tối đa 3000 mg/kg trên chuột nhắt trắng và không gây độc bán trường diễn tới 28 ngày trên thỏ khi uống các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày.

**Từ khóa:** Độc tính cấp; Bán trường diễn; Cao khô hành đen.

---

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Viện Y học Cổ truyền Quân đội

<sup>3</sup>Viện Kiểm nghiệm Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội, Cục Quân y

\*Tác giả liên hệ: Phạm Văn Hiến (phamvanhien181288@gmail.com)

Ngày nhận bài: 17/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 28/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.461>

STUDY ON THE ACUTE AND SUB-CHRONIC TOXICITY  
OF BLACK SHALLOT DRY EXTRACT

**Abstract**

**Objectives:** To investigate the acute and subchronic toxicity of black shallot dry extract. **Methods:** The acute toxicity of black shallot was determined on Swiss mice according to Litchfield - Wilcoxon's method. The subchronic toxicity of black shallot was investigated on New Zealand White rabbits with the doses of 375 mg/kg/day and 750 mg/kg/day using biochemical, hematology test, and histopathology. **Results:** We had not found the maximum oral dose of LD<sub>50</sub> of black shallot dry extract. At the highest oral single dose of 3000 mg/kg, black shallot dry extract was not toxic to experimental mice. At dosage of 375 mg/kg/day and 750 mg/kg/day, black shallot dry extract did not affect the general condition and body weight of experimental rabbits. We did not find any significant change in the amount of red and white blood cells, hemoglobin, concentration of AST, ALT, creatinine, and urea between the control group and the treated group. On histopathologic images, there was no difference in the colour, morphology of liver, renal, and spleen between the control group and the treated group. **Conclusion:** Black shallot dry extract was not acute toxic at the highest oral dose of 3000 mg/kg in mice and not subchronic toxic at dose of 375 mg/kg/day and 750 mg/kg/day during 28 days.

**Keywords:** Acute toxicity; Subchronic toxicity; Black shallot dry extract.

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

Hành ta (*Allium ascalonicum* L.) là loại gia vị thường dùng, đồng thời là vị dược liệu được sử dụng trong dân gian để điều trị nhiều chứng bệnh liên quan đến tim mạch, giun sán, đau đầu và hen suyễn [1]. Theo một số nghiên cứu, hành ta sở hữu một số tác dụng sinh học quan trọng như tăng cường miễn dịch, điều hoà lipid máu, điều hoà đường máu và điều trị rối loạn trào ngược dạ dày [2].

Trong những năm gần đây, công nghệ lên men tự thân (self-fermentation) là một ứng dụng mới trong công nghệ sinh học để tạo ra các loại nguyên liệu và sản phẩm phục vụ cho việc chăm sóc và bảo vệ sức khỏe của con người. Đây là quá trình biến đổi tự chuyển hoá trong dược liệu giúp biến đổi các thành phần hoá học sẵn có trong dược liệu thành các phân tử mới, có hoạt tính tốt hơn so với nguyên liệu ban đầu [3]. Hiện nay, công nghệ lên men tự thân được ứng dụng để sản xuất nhiều

sản phẩm tốt cho sức khoẻ như tỏi đen (black garlic), trà đen (black tea), gừng đen (black ginger) và nhân sâm đen (black ginseng). Đây là công nghệ xanh, thân thiện môi trường, tạo ra nhiều sản phẩm thiết thực phục vụ chăm sóc và bảo vệ sức khoẻ. Ngoài ra, công nghệ này còn giúp biến đổi, khắc phục một số nhược điểm vốn có của các loại nguyên liệu thiên nhiên. Đặc biệt là đối với các nguyên liệu họ Hành (*Araliaceae*), công nghệ lên men giúp che dấu mùi vị khó chịu ở dạng tươi, thay đổi vị giác nhờ quá trình lên men phân các phân tử polysaccharid thành các dạng đường đơn, đường đa có vị ngọt, dễ chịu.

Trong các sản phẩm tạo ra bằng công nghệ lên men tự thân, hành đen là một loại dược liệu tương đối mới. Theo nhiều nghiên cứu, hành đen có nhiều tác dụng sinh học và thành phần hoá học tiềm năng hơn so với hành ta [4]. Từ hành đen, Nguyễn Hồng Sơn và CS đã bào chế được cao khô hành đen nhằm mục đích tạo ra dạng bán thành phẩm để phục vụ cho việc chuyển dạng bào chế tiện sử dụng (viên nén, viên nang) [5]. Để cao khô hành đen có thể đưa vào các dạng bào chế tạo ra các sản phẩm để phục vụ chăm sóc, bảo vệ sức khoẻ, các nghiên cứu về tính an toàn của cao khô hành đen cần được thực hiện. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu:

*Xác định độc tính cấp và bán trường diễn của cao khô hành đen.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên liệu, dụng cụ, thiết bị

*\* Nguyên liệu, động vật thí nghiệm:*

Cao khô hành đen được bào chế tại Trung tâm Nghiên cứu, Ứng dụng và Sản xuất Thuốc, Học viện Quân y đạt TCCS, hàm lượng cycloalliin đạt  $134,81 \pm 5,11 \mu\text{g/g}$  tính theo khối lượng khô.

Chuột nhắt trắng chủng Swiss trưởng thành, khỏe mạnh, không phân biệt giống, cân nặng 20 - 25g. Thỏ trắng chủng New Zealand White trưởng thành, khỏe mạnh, không phân biệt giống, cân nặng 2,0 - 2,5kg. Các động vật do Ban Cung cấp Động vật Thí nghiệm, Học viện Quân y cung cấp, được nuôi trong phòng thí nghiệm, ánh sáng tự nhiên, uống nước và ăn thức ăn bảo đảm theo nhu cầu.

Dụng cụ, thiết bị sử dụng gồm máy huyết học Celtas (hãng Nihon Kohden, Nhật Bản); máy xét nghiệm sinh hóa Cobas 8000 (hãng Roche - Hitachi, Đức); kính hiển vi huỳnh quang DM1000 LED (hãng Leica, Đức); kim đầu tù, xylanh, cốc mỏ, ống đong, kim tiêm, ống lấy máu chứa chất chống đông EDTA, bộ dụng cụ phẫu tích và các thiết bị, dụng cụ thường quy khác.

*\* Địa điểm và thời gian thí nghiệm:*

Nghiên cứu được thực hiện ở Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y. Các tiêu bản gan, lách, thận được chuẩn bị và phân tích tại Bộ môn - Khoa Giải phẫu bệnh, Pháp y, Bệnh viện Quân y 103.

Thời điểm xét nghiệm: Thời điểm ban đầu, 14 ngày và 28 ngày. Riêng xét nghiệm mô bệnh học được thực hiện vào ngày cuối cùng của thí nghiệm.

## **2. Phương pháp nghiên cứu**

*\* Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp:*

Độc tính cấp của cao khô hành đen được đánh giá trên mô hình chuột nhắt trắng theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới về xác định độc tính cấp của thuốc có nguồn gốc dược liệu [6]. Cụ thể, chuột nhắt trắng nặng 20 - 25g, được chia thành 07 lô, mỗi lô 10 con. Trước ngày thử nghiệm, chuột được nhịn ăn 12 giờ, uống nước theo nhu cầu. Cao khô hành đen được phân tán trong nước cất và lắc đều trên máy Vortex để có thể đạt được độ tan tối đa, sau đó được pha loãng dần để thu được các liều khác nhau. Chuột nhắt thường được cho uống với liều là 0,1 mL/10g cân nặng (hay 10 mL/kg cân nặng) x 3 lần trong ngày. Với lượng thể tích này, mức liều tối đa có thể cho chuột uống là 3000 mg/kg/ngày. Chuột được cố định trên tay và cho uống chế

phẩm thử bằng kim đầu tù để đảm bảo toàn bộ chế phẩm được đưa vào dạ dày chuột. Theo dõi trong 72 giờ sau khi uống chế phẩm thử. Đánh giá tình trạng chung (cảm quan, màu lông, phân) và tỷ lệ sống/chết. Xác định LD50 của thuốc thử (nếu có) theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon.

*\* Phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn:*

Độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen trên thỏ được thực hiện theo hướng dẫn của WHO về thuốc có nguồn gốc dược liệu [6]. Trong đó, thỏ được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 10 con (5 đực và 5 cái), mỗi con nhốt riêng một chuồng, được uống nước hoặc chế phẩm thử liên tục vào các buổi sáng sau khi ăn 1 - 2 giờ trong 28 ngày. Lô chứng sinh lý uống nước cất. Lô thử liều 1 và lô thử liều 2 được uống cao hành khô hành đen với mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày. Đánh giá dựa trên các chỉ tiêu:

- Theo dõi tình trạng chung, hoạt động, ăn uống, khối lượng cơ thể của thỏ.

- Huyết học: Số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, hàm lượng hemoglobin.

- Sinh hóa: Ure, creatinine, AST, ALT trong máu.

- Mô bệnh học: Làm chết thỏ vào ngày thứ 28 bằng cách bơm khí vào tĩnh mạch tai. Tiến hành mổ thỏ, quan sát và chụp ảnh các tạng gồm: Gan,

thận, lách ngay sau khi mổ chết. Sau quan sát, toàn bộ tạng được ngâm trong formon 10%. Các mô được khử nước trong các dung dịch ethanol tăng dần nồng độ (70, 80, 96 và 100%). Sau khi nhúng parafin, các phần ngang có độ dày 5µm được nhuộm bằng hematoxylin-eosin, và kiểm tra mô học

được tiến hành bằng kính hiển vi ánh sáng có độ phóng đại 400 lần (BX-50 Olympus Corporation, Tokyo, Nhật Bản)

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh trên động vật thực nghiệm.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao khô hành đen

Đối với cao khô hành đen, liều tối đa có thể uống là 3000 mg/kg cân nặng. Từ liều tối đa này mẫu thử đã được pha loãng dần và cho 7 lô chuột uống. Kết quả xác định tỷ lệ sống chết ở các mức liều sau khi uống cao khô hành đen được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Tỷ lệ chuột sống, chết sau 72 giờ uống cao khô hành đen.

Lô chuột	Liều (mg mẫu thử/kg chuột)	Số chuột thí nghiệm	Số chuột chết	Tỷ lệ chuột chết (%)
1	3000	10	0	0
2	2000	10	0	0
3	1500	10	0	0
4	1200	10	0	0
5	1000	10	0	0
6	857	10	0	0
7	750	10	0	0

Kết quả từ bảng 1 cho thấy, sau 72 giờ uống thuốc, không có chuột nào chết khi uống cao khô hành đen với liều từ 750 mg/kg - 3000 mg/kg trong thời gian theo dõi nên chưa xác định được LD<sub>50</sub> của cao khô hành đen. Theo dõi về tình trạng chung cho thấy chuột hoạt động và ăn uống bình thường, lông mượt, mắt trong, không bị khó thở, đi ngoài phân thành khuôn, hậu môn sạch. Như vậy, cao khô hành đen không gây độc với liều tối đa 3000 mg/kg cân nặng trên chuột nhắt trắng.

## 2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen

\* Ảnh hưởng của cao khô hành đen lên tình trạng chung và khối lượng cơ thể thỏ:

Về tình trạng chung: Trong thời gian 28 ngày thử nghiệm, thỏ lô chứng và 2 lô thử nghiệm đều hoạt động bình thường, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô, nhanh nhẹn, mắt sáng.

Về trọng lượng cơ thể thỏ: Đánh giá sự thay đổi trọng lượng cơ thể thỏ tại các thời điểm trước thí nghiệm ( $T_0$ ), sau 14 ngày ( $T_{14}$ ) và sau 28 ngày ( $T_{28}$ ). Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của cao khô hành đen đến trọng lượng thỏ ( $\bar{X} \pm SD$ ,  $n = 10$ ).

Thời điểm nghiên cứu	Trọng lượng cơ thể thỏ (kg) ở các lô nghiên cứu			P
	Chứng	Cao khô hành đen liều 1	Cao khô hành đen liều 2	
$T_0$	$2,04 \pm 0,14$	$2,04 \pm 0,13$	$2,05 \pm 0,19^{ab}$	$> 0,05$
$T_{14}$	$2,03 \pm 0,22$	$1,99 \pm 0,20$	$2,00 \pm 0,18^a$	$> 0,05$
$T_{28}$	$2,14 \pm 0,20$	$2,10 \pm 0,15$	$2,14 \pm 0,12^b$	$> 0,05$

\*Giá trị trong cùng cột có cùng ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ), không ghi ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Kết quả từ bảng 2 cho thấy, trọng lượng cơ thể của thỏ ở hai lô cho uống cao khô hành đen và lô chứng tại cùng thời điểm có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Trọng lượng thỏ ở lô uống cao khô hành đen liều 2 sau 28 ngày tăng so với thời điểm 14 ngày ( $p < 0,05$ ); tuy nhiên, so với thời điểm ban đầu sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Như vậy, cao khô hành đen với các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày sử dụng trong 28 ngày liên tục chưa thấy gây ra các thay đổi trên sự phát triển trọng lượng cơ thể thỏ.

\* Ảnh hưởng của cao khô hành đen đến một số chỉ tiêu huyết học thỏ:

Kết quả đánh giá các chỉ số về huyết học của thỏ được trình bày trong bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả xét nghiệm chỉ số hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu, tiểu cầu ở các lô thỏ nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 10).

Chỉ số	Thời điểm	Chứng (1)	Cao khô hành đen liều 1 (2)	Cao khô hành đen liều 2 (3)	p
Bạch cầu ( $10^9$ g/L)	T <sub>0</sub>	10,71 ± 3,20 <sup>ab</sup>	13,68 ± 5,22 <sup>b</sup>	14,14 ± 5,38 <sup>b</sup>	> 0,05
	T <sub>14</sub>	11,03 ± 2,30 <sup>b</sup>	13,31 ± 3,26 <sup>b</sup>	10,14 ± 2,2 <sup>ab</sup>	> 0,05
	T <sub>28</sub>	8,27 ± 1,38 <sup>a</sup>	8,78 ± 2,18 <sup>a</sup>	8,18 ± 1,55 <sup>a</sup>	> 0,05
Hồng cầu ( $10^{12}$ g/L)	T <sub>0</sub>	5,15 ± 0,83	5,52 ± 0,52 <sup>ab</sup>	5,19 ± 0,37	
	T <sub>14</sub>	5,26 ± 0,87	5,46 ± 0,47 <sup>b</sup>	5,21 ± 0,34	> 0,05
	T <sub>28</sub>	4,87 ± 0,50	5,13 ± 0,37 <sup>a</sup>	4,95 ± 0,71	
HST (g/L)	T <sub>0</sub>	108,20 ± 14,37 <sup>b</sup>	115,80 ± 10,75 <sup>b</sup>	108,60 ± 8,24	
	T <sub>14</sub>	103,70 ± 14,58 <sup>ab</sup>	109,10 ± 8,40 <sup>b</sup>	106,10 ± 5,99	> 0,05
	T <sub>28</sub>	98,20 ± 9,04 <sup>a</sup>	100,30 ± 6,38 <sup>a</sup>	99,50 ± 13,95	
Tiểu cầu ( $10^3$ g/uL)	T <sub>0</sub>	317,60 ± 51,01 <sup>b</sup>	400,30 ± 41,72 <sup>b</sup>	435,60 ± 135,14 <sup>b</sup>	p <sub>2-1</sub> < 0,05
	T <sub>14</sub>	332,00 ± 104,72 <sup>b</sup>	391,60 ± 92,08 <sup>ab</sup>	317,10 ± 137,32 <sup>a</sup>	> 0,05
	T <sub>28</sub>	246,70 ± 87,32 <sup>a</sup>	326,90 ± 93,48 <sup>a</sup>	336,20 ± 85,68 <sup>ab</sup>	p <sub>3-1</sub> < 0,05

\*Giá trị trong cùng một cột có cùng ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ), không ghi chú ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Khi so sánh ở cùng thời điểm, chỉ số tiểu cầu ở lô cao khô hành đen liều 1 cao hơn lô chứng ở thời điểm ban đầu ( $p < 0,05$ ) và lô cao khô hành đen liều 2 cao hơn lô chứng ở thời điểm sau 28 ngày ( $p < 0,05$ ). Còn lại là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Khi so sánh ở các thời điểm khác nhau của cùng một lô, chỉ số bạch cầu cả 2 lô cao khô hành đen liều 1 và liều 2 ở thời điểm sau 28 ngày đều giảm so với ban đầu, nhưng so với lô chứng thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Chỉ số hồng cầu lô uống cao khô hành đen liều 1 ở thời điểm sau 28 ngày thấp hơn thời điểm sau 14 ngày ( $p < 0,05$ ), nhưng so với thời điểm ban đầu thì sự khác

biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Ở lô uống cao khô hành đen liều 1 sau 28 ngày có huyết sắc tố thấp hơn so với sau 14 ngày và ban đầu, nhưng so với lô chứng thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Lô uống cao khô hành đen liều 1 sau 28 ngày có tiểu cầu thấp hơn so với ban đầu ( $p < 0,05$ ), còn lô cao khô hành đen liều 2 sau 14 ngày tiểu cầu giảm so với ban đầu, nhưng sau 28 ngày lại tăng và sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với ban đầu ( $p > 0,05$ ).

*\* Ảnh hưởng của cao khô hành đen lên chức năng gan, thận thử nghiệm:*

Kết quả kiểm tra các chỉ số sinh hoá máu của thử nghiệm cứu được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4.** Nồng độ AST, ALT, creatinine và ure của các lô thử ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 10).

Chỉ tiêu	Thời điểm	Chứng	Cao khô hành đen liều 1	Cao khô hành đen liều 2	P
AST (U/L)	T <sub>0</sub>	24,02 ± 13,22 <sup>b</sup>	36,14 ± 29,57	34,91 ± 21,95	> 0,05
	T <sub>14</sub>	44,54 ± 21,81 <sup>a</sup>	54,22 ± 33,35	42,15 ± 26,71	
	T <sub>28</sub>	52,07 ± 26,82 <sup>a</sup>	43,74 ± 27,03	44,19 ± 25,93	
ALT (U/L)	T <sub>0</sub>	31,77 ± 9,14 <sup>c</sup>	37,33 ± 15,85 <sup>b</sup>	32,51 ± 8,61 <sup>b</sup>	> 0,05
	T <sub>14</sub>	43,52 ± 8,44 <sup>b</sup>	50,79 ± 16,06 <sup>ab</sup>	41,68 ± 10,07 <sup>b</sup>	
	T <sub>28</sub>	63,55 ± 19,90 <sup>a</sup>	56,07 ± 17,30 <sup>a</sup>	56,46 ± 22,31 <sup>a</sup>	
Creatinine (mmol/L)	T <sub>0</sub>	77,49 ± 21,44 <sup>b</sup>	79,76 ± 15,69	77,85 ± 18,34 <sup>b</sup>	> 0,05
	T <sub>14</sub>	90,15 ± 21,78 <sup>ab</sup>	95,84 ± 25,62	88,24 ± 15,31 <sup>ab</sup>	
	T <sub>28</sub>	92,53 ± 20,59 <sup>a</sup>	85,52 ± 31,73	90,40 ± 17,63 <sup>a</sup>	
Ure (mmol/L)	T <sub>0</sub>	6,40 ± 1,84	6,53 ± 1,54	5,92 ± 1,18	> 0,05
	T <sub>14</sub>	5,98 ± 0,83	6,04 ± 1,21	6,42 ± 2,24	
	T <sub>28</sub>	5,64 ± 2,31	5,37 ± 1,16	5,20 ± 0,94	

*\*Giá trị trong cùng một cột có cùng ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ), không ghi chú ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).*

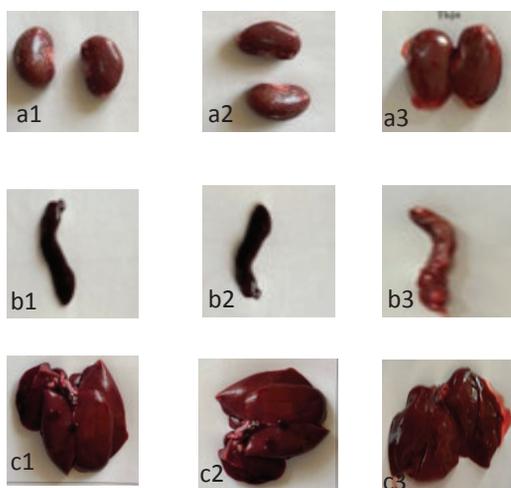
Khi so sánh ở cùng thời điểm thì hoạt độ enzyme AST, ALT và hàm lượng creatinine, ure máu của cả 2 lô uống cao khô hành đen liều 1, liều 2 không có sự thay đổi khác biệt so với lô chứng ( $p > 0,05$ ).

Khi so sánh ở các thời điểm khác nhau của cùng một lô thì lô uống cao khô hành đen liều 1 và liều 2 sau 28 ngày có hàm lượng ALT cao hơn thời điểm ban đầu ( $p < 0,05$ ), nhưng so với lô chứng là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Ở lô uống cao khô hành đen liều 2, hàm lượng creatinine máu sau 28 ngày tăng so với thời điểm ban đầu ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, hàm lượng creatinine máu sau 28 ngày tăng lên so với thời điểm sau 14 ngày không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

\* *Kết quả phân tích đại thể và mô bệnh học:*

- *Kết quả phân tích đại thể:*

Quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần cho thấy: Màu sắc, hình thái của thận, thận và lách ở hai lô dùng cao khô hành đen không khác so với lô chứng. Hình ảnh đại thể và mô bệnh học gan, thận, lách được trình bày trong hình 1.



**Hình 1.** Hình ảnh đại thể các mô thận, lách, gan của các nhóm động vật thí nghiệm.

a1, b1, c1: Thận, lách, gan của nhóm chứng

a2, b2, c2: Thận, lách, gan của uống cao khô hành đen 375 mg/kg/ngày

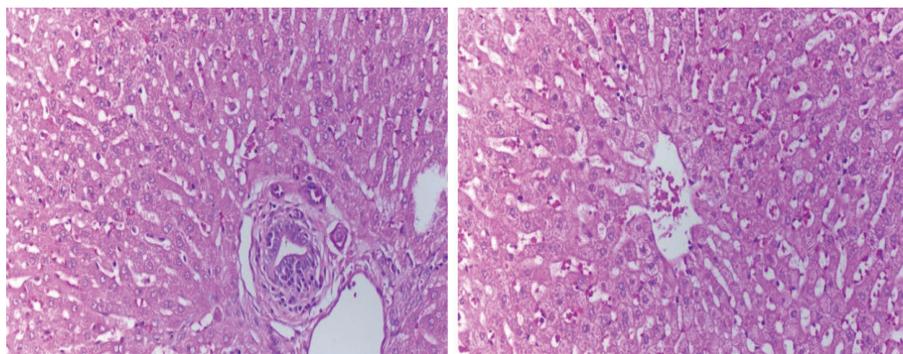
a3, b3, c3: Thận, lách, gan của uống cao khô hành đen 750 mg/kg/ngày

- Kết quả phân tích mô bệnh học:

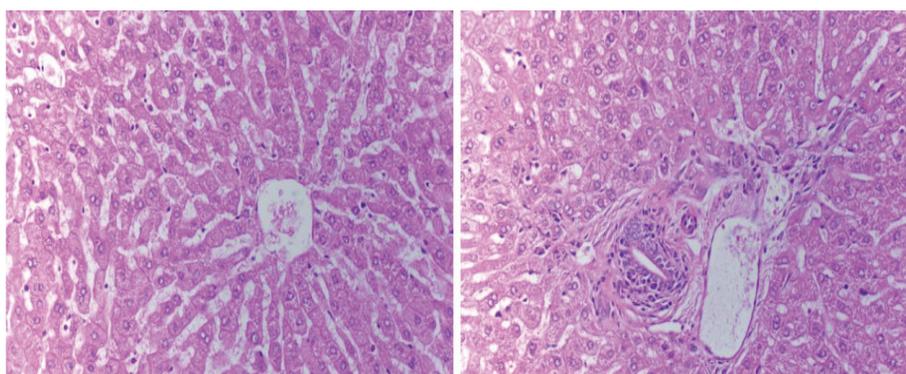
Kết quả nhận xét mô bệnh học được trình bày ở bảng 5. Hình ảnh tiêu bản mô bệnh học của các tạng gan, lách, thận được trình bày ở các hình 2, 3, 4.

**Bảng 5.** Nhận xét mô bệnh học gan, thận, lách thử thí nghiệm.

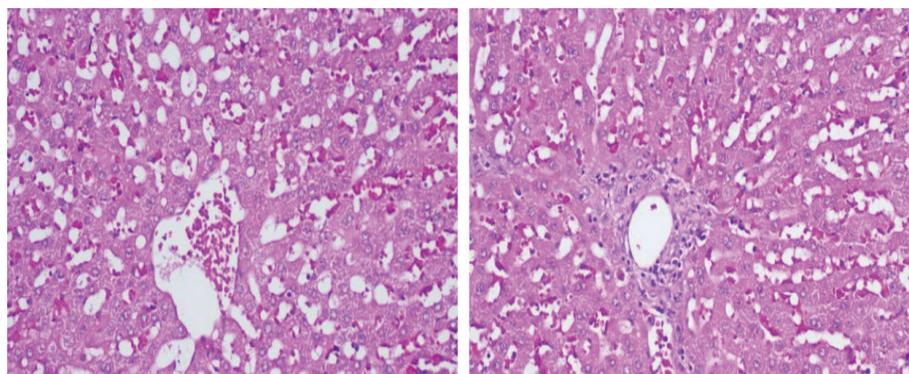
Lô NC	Vi thể
Lô 1: Chứng sinh học	<p>Gan: Các tế bào gan sắp xếp thành bè, thành dải, xen giữa là các xoang mạch. Các tế bào gan không bị thoái hóa.</p> <p>Thận: Vỏ thận có ống thận, cầu thận. Giữa các ống thận có các mạch máu. Các tế bào biểu mô ống thận không bị thoái hóa.</p> <p>Lách: Nhu mô lách có vùng tủy trắng và tủy đỏ. Vùng tủy trắng có các nang lympho khá đồng đều với động mạch bút lông ở trung tâm. Vùng tủy đỏ có dây Billroth và các xoang mạch giãn rộng chứa nhiều tế bào máu</p>
Lô 2: Uống cao khô hành đen liều 1	<p>Gan: Các tế bào gan xếp thành bè, thành dải. Có các xoang mạch giữa các tế bào. Các tế bào gan không bị thoái hóa. Các xoang mạch bị sung huyết nhẹ.</p> <p>Thận: Vỏ thận có cầu thận, ống thận. Giữa các ống thận có các mạch máu. Các tế bào biểu mô ống thận không bị thoái hóa. Các mạch máu sung huyết nhẹ.</p> <p>Lách: Nhu mô lách với vùng tủy trắng và tủy đỏ. Vùng tủy trắng có các nang lympho đồng đều với động mạch bút lông ở trung tâm. Vùng tủy đỏ có dây Billroth và các xoang mạch giãn rộng chứa nhiều tế bào máu</p>
Lô 3: Uống cao khô hành đen liều 2	<p>Gan: Các tế bào gan xếp thành bè, thành dải, ở giữa có xoang mạch. Các tế bào gan không bị thoái hóa. Các xoang mạch bị sung huyết nhẹ.</p> <p>Thận: Vỏ thận có cầu thận, ống thận. Giữa các ống thận có các mạch máu. Các tế bào biểu mô ống thận không bị thoái hóa. Các mạch máu sung huyết nhẹ.</p> <p>Lách: Nhu mô lách với vùng tủy trắng và tủy đỏ. Vùng tủy trắng có các nang lympho đồng đều với động mạch bút lông ở trung tâm. Vùng tủy đỏ có dây Billroth và các xoang mạch giãn rộng chứa nhiều tế bào máu</p>



(a)



(b)



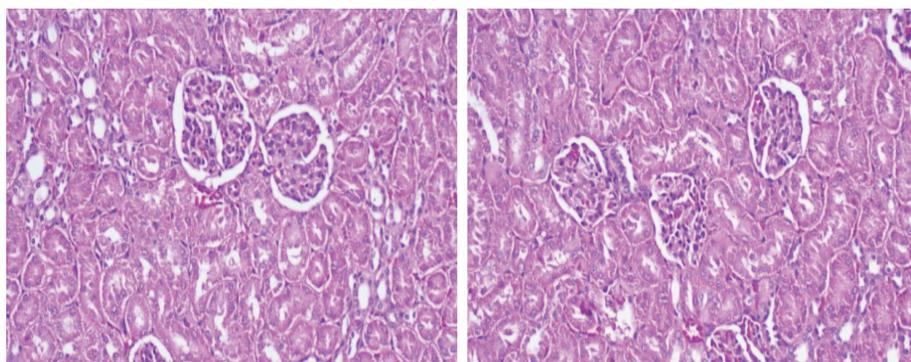
(c)

**Hình 2.** Hình ảnh vi thể gan thỏ ở các lô nghiên cứu.

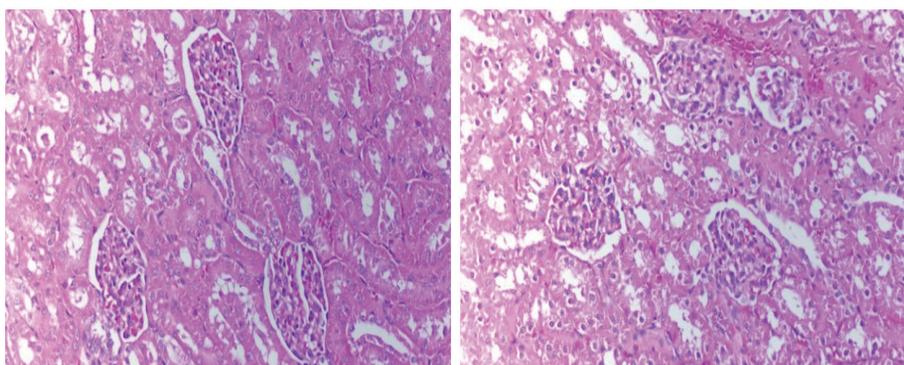
(a) Lô chứng sinh học;

(b) Lô uống cao khô hành đen liều 1;

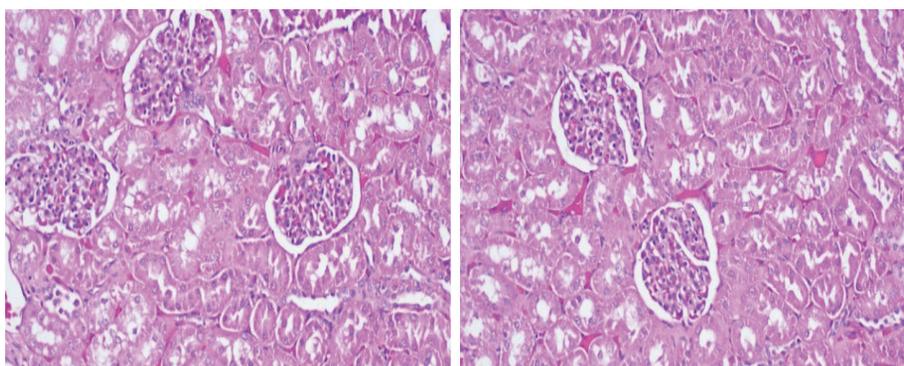
(c) Lô uống cao khô hành đen liều 2 (HE x 400).



(a)



(b)



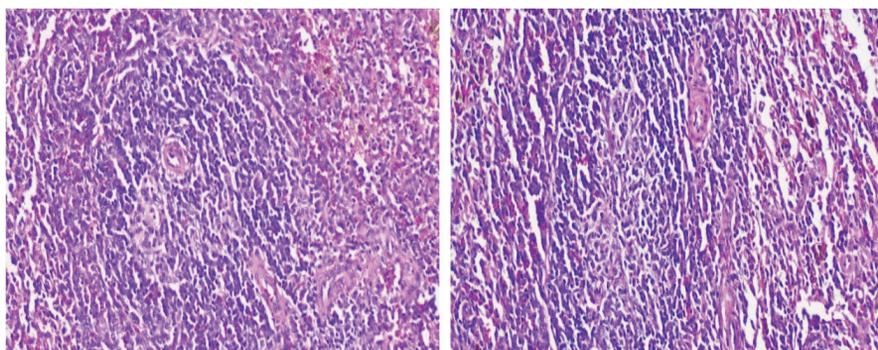
(c)

**Hình 3.** Hình ảnh vi thể thận thỏ ở các lô nghiên cứu.

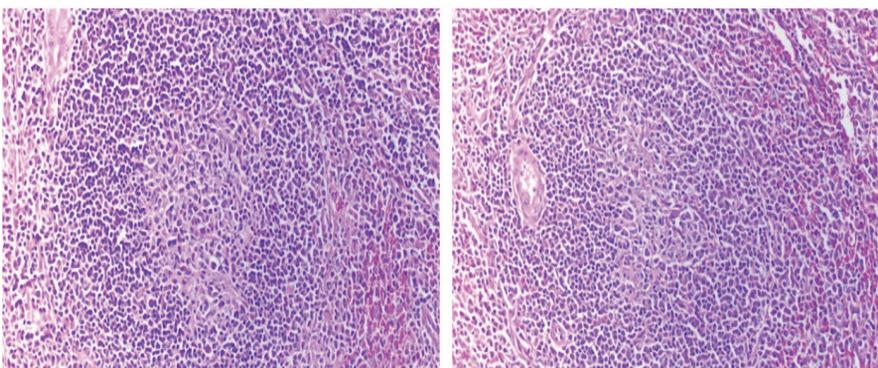
(a) Lô chứng sinh học;

(b) Lô uống cao khô hành đen liều 1;

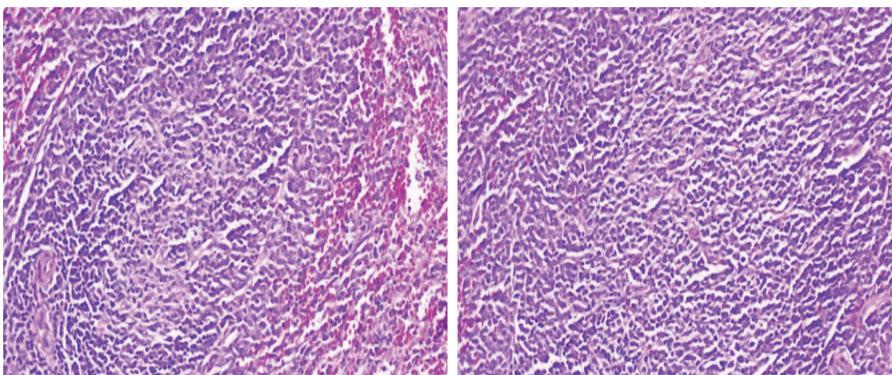
(c) Lô uống cao khô hành đen liều 2. (HE x 400).



(a)



(b)



(c)

**Hình 4.** Hình ảnh vi thể lách thỏ ở các lô nghiên cứu.

(a) Lô chứng sinh học;

(b) Lô uống cao khô hành đen liều 1;

(c) Lô uống cao khô hành đen liều 2 (HE x 400).

## BÀN LUẬN

### 1. Về độc tính cấp

Đánh giá độc tính cấp là dữ liệu ban đầu về tính an toàn của cao khô hành đen và là cơ sở để chọn liều thử tác dụng. Cao khô hành đen được bào chế từ dịch chiết EtOH hành đen đã được chứng minh là an toàn cho động vật thực nghiệm. Nghiên cứu của Trần Thị Phương Nhung đã chỉ ra dịch chiết EtOH hành đen liều 1000 - 3000 mg/kg không gây chết và không có biểu hiện nhiễm độc cấp trên chuột nhắt trắng [7]. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp của cao khô hành đen trong nghiên cứu này cho thấy, liều tối đa có thể cho chuột uống là 3000 mg/kg cân nặng. Tương ứng với liều sử dụng trên người là 250 mg/kg, nếu người nặng 60kg thì tương đương 15.000mg cao khô hành đen. Đây là mức liều tối đa có thể bơm thuốc trực tiếp vào dạ dày chuột qua kim đầu tù. Với các mức liều từ 750 - 3000 mg/kg quan sát trong 72 giờ sau khi uống, chuột vẫn bình thường, không thấy có biểu hiện ngộ độc và không có chuột nào bị chết. Vì vậy, tới mức liều tối đa có thể cho chuột uống, chưa xác định được LD<sub>50</sub> của cao khô hành đen trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Lichthfield - Wilcoxon. Từ đó, có

thể khẳng định cao khô hành đen không gây độc với liều tối đa 3000 mg/kg chuột.

### 2. Về độc tính bán trường diễn

Độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen trên thỏ trắng được đánh giá ở hai mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày liên tục. Về mức liều sử dụng này được căn cứ theo mức liều có tác dụng trên thử nghiệm sàng lọc tác dụng hạ lipid máu và tác dụng hạ glucose máu. Theo thực tế sàng lọc liều của chúng tôi để đánh giá tác dụng hạ lipid máu trên mô hình chuột nhắt trắng gây béo phì và đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên mô hình chuột nhắt trắng gây tăng đường huyết bằng streptozocin, liều cao khô hành đen có tác dụng trên chuột nhắt trắng là 1000 và 1500 mg/kg/ngày. Theo công thức quy đổi giữa liều thử trên động vật và liều tương ứng trên người [8], các mức liều này quy đổi về liều trên thỏ sẽ là 250 mg/kg/ngày và 375 mg/kg/ngày. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn liều thử độc tính ở mức thấp áp dụng cho thỏ là 375 mg/kg/ngày (tương ứng với mức liều cao nhất có tác dụng hạ lipid máu và hạ glucose máu) và liều thử độc tính bán trường diễn ở mức cao là 750 mg/kg/ngày (cao gấp 2 lần liều cao nhất có tác dụng).

Sự phát triển trọng lượng cơ thể ở hai lô dùng cao khô hành đen là bình thường, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với lô chứng sinh học. Như vậy, tình trạng chung và khối lượng cơ thể thỏ giai đoạn trưởng thành không bị ảnh hưởng khi sử dụng cao khô hành đen với các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày.

Ở lô chứng và các lô uống cao khô hành đen các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày, các chỉ số xét nghiệm sinh hoá và huyết học như AST, ALT, creatinine máu, ure máu, số lượng hồng cầu, bạch cầu, huyết sắc tố khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Chỉ số tiểu cầu ở nhóm sử dụng cao khô hành đen liều 750 mg/kg/ngày cao hơn lô chứng ở thời điểm 28 ngày ( $p < 0,05$ ); tuy nhiên, so với thời điểm ban đầu thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Đối với kết quả tăng tiểu cầu này, ở đây mới chỉ thực hiện với cỡ mẫu nhỏ (3 thỏ/lô thử) có thể gặp sai số mang tính cá thể. Tuy nhiên, theo một số nghiên cứu về ảnh hưởng của các dịch chiết họ Hành (Alliaceae) đến các chỉ số huyết học, việc sử dụng liều cao có thể gây tăng nhẹ số lượng tiểu cầu [9, 10].

Kết quả quan sát đại thể và phân tích giải phẫu bệnh mô gan, thận, lách

của hai lô dùng cao khô hành đen không khác so với lô chứng. Như vậy, cao khô hành đen không làm ảnh hưởng đến chức năng gan, thận và tạo máu của thỏ.

### KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu được độc tính cấp của cao khô hành đen trên chuột nhắt trắng và độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen trên thỏ.

Về độc tính cấp, ở mức liều cao nhất có thể cho chuột nhắt uống là 3000 mg/kg không thấy biểu hiện độc cấp tính, chưa xác định được liều  $LD_{50}$  của cao khô hành đen trên chuột nhắt.

Về độc tính bán trường diễn, cao khô hành đen khi cho thỏ uống với mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày chưa thấy gây độc tính bán trường diễn. Ở các mức liều kể trên, không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa lô chứng và lô sử dụng thuốc ở các chỉ số huyết học (hồng cầu, bạch cầu, huyết sắc tố), ở các chỉ số sinh hoá máu (ALT, AST, creatinine, ure). Quan sát hình ảnh mô bệnh học ở đại thể và vi thể của các tạng gan, thận, lách thỏ ở ngày thứ 28 sau khi sử dụng thuốc không thấy có sự khác biệt, không thấy xuất hiện tổn thương giữa nhóm đối chứng sinh lý và các nhóm sử dụng thuốc.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Võ Văn Chi. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 2009; 1071.
2. Fattorusso E, et al. Chemical composition of shallot (*Allium ascalonicum* Hort.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50(20):5686-5690.
3. Parvez S, et al. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*. 2006; 100(6):1171-1185.
4. Tran GB and Ngo TTM. Hepatoprotective effect of black shallot (*Allium ascalonicum*) against alcohol-induced hepatic damage in Swiss albino mice. *The 2<sup>nd</sup> International Conference on Advanced Technology & Sustainable Development (ICATSD 2022)*. 2022; 5-13.
5. Nguyen Hong Son, et al. Study on preparation of black shallot dried extracts by spray drying method. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 2022; 5:167-180.
6. World Health Organization. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. *Geneva*. 2000; 28-31.
7. Trần Thị Phương Nhung. Đánh giá độc tính cấp tính và bán mãn tính của chiết xuất etanol hành đen (*Allium ascalonicum* L.) trên chuột Swiss albino. *Journal of Science and Technology-IUH*. 2021; 53(5):24-36.
8. USA Food & Drug Administration. Guidance for industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. *Center for Drug Evaluation and Research (CDER)*. 2005; 7(0.001).
9. Al-Jowari SA. Effect of garlic powder (*Allium sativum*) on blood constituents in male rabbits. *Al-Nahrain Journal of Science*. 2014; 17(3):132-137.
10. Owoyele BV, et al. Haematological evaluation of ethanolic extract of *Allium ascalonicum* in male Albino rats. *Fitoterapia*. 2004; 75(3-4):322-326.

## SÀNG LỌC VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG HẠ ĐƯỜNG HUYẾT CỦA MỘT SỐ DƯỢC LIỆU Ở VIỆT NAM

Vũ Đức Lợi<sup>1\*</sup>, Nguyễn Xuân Tùng<sup>2</sup>, Lê Hồng Dương<sup>2</sup>

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme protein tyrosin phosphatase 1B (PTP1B) của sáu loại cây thuốc tại Việt Nam và đánh giá tác dụng hạ đường huyết *in vivo* của cao chiết dược liệu có khả năng ức chế enzyme tốt nhất.

**Phương pháp nghiên cứu:** Dược liệu được chiết bằng ethanol 70%. Cao chiết được đánh giá tác dụng ức chế enzyme PTP1B *in vitro*. Tác dụng hạ đường huyết *in vivo* được tiến hành trên mô hình chuột đái tháo đường gây ra bởi streptozocin.

**Kết quả:** Cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng thể hiện khả năng ức chế enzyme PTP1B mạnh nhất với giá trị IC<sub>50</sub> là 8,34 ± 2,36 µg/mL khi so sánh với chất đối chứng dương acid ursolic (IC<sub>50</sub> = 0,52 ± 0,04 µg/mL). Việc sử dụng cao chiết với liều 500 mg/kg và 1000 mg/kg làm giảm đáng kể nồng độ glucose máu và không ảnh hưởng đến trọng lượng, các chỉ số lipid của chuột thực nghiệm. **Kết luận:** Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng phát triển các sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường từ cao chiết cây thài lài trắng.

**Từ khóa:** Hạ đường huyết; Đái tháo đường tít 2; Thài lài trắng; PTP1B.

## SCREENING AND EVALUATION OF ANTIDIABETIC ACTIVITY OF SEVERAL MEDICINAL PLANTS IN VIETNAM

### Abstract

**Objectives:** To screen the protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) enzyme inhibitory activity of six medicinal plants in Vietnam and evaluate the glucose-lowering effect *in vivo* of the medicinal plant extract with the best enzyme inhibitory activity. **Methods:** Medicinal plants were extracted with ethanol 70% and were evaluated for their PTP1B enzyme inhibitory effect *in vitro*. The *in vivo* experiment was performed in a streptozocin-induced diabetic mice model.

---

<sup>1</sup>Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

\*Tác giả liên hệ: Vũ Đức Lợi (ducloi82@gmail.com)

Ngày nhận bài: 14/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.513>

**Results:** The extract from the aerial parts of *Commelina diffusa* showed the highest PTP1B enzyme inhibition with an  $IC_{50}$  value of  $8.34 \pm 2.36 \mu\text{g/mL}$  compared to positive control (ursolic acid,  $IC_{50} = 0.52 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$ ). This extract at doses of 500 mg/kg and 1000 mg/kg significantly reduced blood glucose levels and did not affect the weight and lipid profile of experimental mice. **Conclusion:** There is a high potential for developing products supporting diabetes treatment from the extract of *Commelina diffusa*.

**Keywords:** Hypoglycemic; Type 2 diabetes; *Commelina diffusa*; PTP1B.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường là một trong những bệnh không lây nhiễm phổ biến nhất trên toàn cầu và là nguyên nhân hàng đầu dẫn đến các bệnh tim mạch, mù lòa, suy thận và cắt cụt chi [1]. Đái tháo đường týp 2, còn được gọi là đái tháo đường không phụ thuộc insulin chịu trách nhiệm cho 90 - 95% tất cả các trường hợp đái tháo đường [1]. Nhìn chung, các biện pháp điều trị đái tháo đường bằng thuốc thông thường hiện nay vẫn còn các nhược điểm như chi phí cao, gây hạ đường huyết nghiêm trọng, tăng cân, hiệu quả điều trị thấp do chế độ dùng thuốc không phù hợp hoặc không hiệu quả, nhiều tác dụng phụ do chuyển hóa thuốc, thiếu tính đặc hiệu, độ tan và tính thấm thấp [2]. Vì vậy, nghiên cứu và phát triển các loại thuốc hạ đường huyết có nguồn gốc từ thiên nhiên, đặc biệt là các cây thuốc đã được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền là vô cùng cần thiết.

Từ xa xưa, tài nguyên cây thuốc đóng vai trò quan trọng trong việc chăm sóc sức khỏe, đặc biệt ở các nước có truyền thống sử dụng dược liệu. Việt Nam là một nước có nguồn thực vật phong phú với khoảng 12000 loài; trong đó, đã thống kê được 3850 loài được sử dụng làm thuốc thuộc 309 họ [3]. Đa phần các cây thuốc mọc tự nhiên, có khả năng sinh trưởng, phát triển mạnh, dễ thích nghi với điều kiện khí hậu thổ nhưỡng và cho thu hoạch nhanh chóng [3]. Do đó, tiềm năng cho việc phát triển nguồn nguyên liệu và tạo ra sản phẩm chăm sóc sức khỏe nói chung và điều trị bệnh đái tháo đường nói riêng từ dược liệu là rất lớn. Tuy nhiên, nhiều loại thảo dược chưa được nghiên cứu một cách đầy đủ, có hệ thống về mặt khoa học cũng như hoạt tính sinh học. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme PTP1B của cao chiết ethanol 70% từ*

sáu loại dược liệu và đánh giá tác dụng hạ đường huyết *in vivo* trên mô hình chuột mắc đái tháo đường do streptozocin của cao chiết có hoạt tính ức chế tốt nhất.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng trong nghiên cứu bao gồm phần trên mặt đất cây thài lài trắng (*Commelina diffusa* Burm.f.), lá cây xoài (*Mangifera indica* L.), lá cây dâu tằm (*Morus alba* L.), thân cây chạch chiu (*Tetracera scandens* (L.) Merr.), lá cây dứa thơm (*Pandanus amaryllifolius*) và phần trên mặt đất cây qua lâu trứng (*Trichosanthes ovigera* Blume). Các loại cây thuốc được thu hái vào tháng 10 năm 2022 tại tỉnh Nam Định. Mẫu nghiên cứu được giám định tên khoa học bởi ThS. Nghiêm Đức Trọng (Trường Đại học Dược Hà Nội) và ThS. Nguyễn Thúc Thu Hương (Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội). Các mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Bộ môn Dược liệu và Dược học cổ truyền, Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Các hóa chất, phụ liệu được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Protein tyrosin phosphatase 1B (PTP1B)

(BIOMOL International, Mỹ); *p*-nitrophenyl phosphat (*p*NPP), ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), dithiothreitol, streptozocin (Sigma-Aldrich, Mỹ); dimethyl sulfoxid, natri clorid, natri hydroxid, natri citrat (Merck, Đức); gliclazid (Servier, Pháp); ethanol tuyệt đối (Shouguang, Trung Quốc); nước cất một lần.

Chuột nhắt trắng sử dụng trong thử nghiệm đánh giá tác dụng hạ đường huyết *in vivo* của cao chiết dược liệu do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* Phương pháp xử lý mẫu và chiết xuất:

Quy trình xử lý mẫu và chiết xuất được tiến hành theo phương pháp đã được mô tả trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi với một số thay đổi [4]. Cụ thể, sau khi định danh, mẫu thực vật được rửa sạch, cắt thành các đoạn nhỏ và sấy khô ở nhiệt độ 55°C. Quá trình chiết xuất được thực hiện bằng cách ngâm 1,5kg từng mẫu dược liệu trong khoảng 5,0L dung môi ethanol 70% tại nhiệt độ phòng trong vòng 24 giờ. Quy trình này được thực hiện lặp lại 3 lần. Gộp các dịch chiết, lọc và cô quay chân không dưới áp suất giảm thu

được 156,2g cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng; 114,6g cao chiết lá xoài; 108,1g cao chiết lá dâu tằm; 152,7g cao chiết thân cây chắc chùi; 117,0g cao chiết lá dứa thơm và 174,5g cao chiết phần trên mặt đất cây qua lâu trứng.

\* *Phương pháp đánh giá tác dụng ức chế enzyme PTP1B:*

Trong nghiên cứu này, thử nghiệm ức chế enzyme PTP1B được thực hiện theo phương pháp được mô tả bởi Nguyen PH và CS với một số thay đổi [5]. Cụ thể, hoạt tính ức chế enzyme được tiến hành bằng cách sử dụng *p*-nitrophenyl phosphat (*p*NPP) làm cơ chất. Dung dịch đệm chứa 0,1 M NaCl, 1mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1 mM dithiothreitol (DTT) và 50mM citrat (pH 6,0) được sử dụng cho toàn bộ thử nghiệm. Mẫu thử và mẫu chứng dương được pha loãng trong dimethyl sulfoxid (DMSO) thành dãy các nồng độ khác nhau. Đối với mỗi phép thử, 10 $\mu$ L mẫu thử chứa cao chiết của các loại dược liệu ở các nồng độ khác nhau hoặc mẫu chứng dương được trộn với 20 $\mu$ L dung dịch enzyme (0,1  $\mu$ g/mL), 40 $\mu$ L dung dịch cơ chất (2mM *p*NPP) và 130 $\mu$ L dung dịch đệm trong đĩa 96 giếng. Sau đó, ủ hỗn hợp trong vòng 30 phút ở 37°C. Mẫu thử nghiệm chỉ chứa DMSO, enzyme, cơ

chất và dung dịch đệm được sử dụng làm mẫu đối chứng. Kết thúc phản ứng bằng cách thêm 10 $\mu$ L NaOH 1 M. Xác định lượng *p*-nitrophenol tạo ra do quá trình phosphoryl hóa *p*NPP bằng cách đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 405nm bằng máy quang phổ Microplate (xMark, Bio-Rad). Tất cả các thí nghiệm được tiến hành ba lần. Acid ursolic được sử dụng làm chứng dương. Tỷ lệ phần trăm ức chế hoạt độ enzyme PTP1B được tính theo công thức:

$$I (\%) = \frac{A_C - A_T}{A_C} \times 100$$

Trong đó:

I (%): Phần trăm ức chế hoạt độ enzyme PTP1B;

A<sub>C</sub>: Độ hấp thụ của mẫu đối chứng;

A<sub>T</sub>: Độ hấp thụ của mẫu thử.

Giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50%) được tính toán bằng phân tích hồi quy với việc đo hoạt tính ức chế ở các nồng độ khác nhau.

\* *Phương pháp đánh giá tác dụng hạ đường huyết in vivo:*

Tác dụng hạ đường huyết *in vivo* được đánh giá trên mô hình thực nghiệm gây đái tháo đường ở chuột bằng streptozocin (STZ) [6]. Chuột nhắt trắng khỏe mạnh được phân chia ngẫu nhiên thành năm nhóm gồm 10 con mỗi nhóm. Cho chuột nhịn đói qua

đêm và tiến hành lấy máu từ tĩnh mạch đuôi chuột để định lượng glucose máu lần 1 trước khi bắt đầu tham gia nghiên cứu. Chuột ở nhóm 1 được nuôi bằng chế độ ăn bình thường (NFD), trong khi chuột ở các nhóm khác được cho ăn bằng chế độ giàu chất béo (HFD) trong 8 tuần liên tục. Sau 8 tuần, tiến hành định lượng glucose máu lần 2 ở tất cả chuột thí nghiệm. Chuột ở nhóm 2 - 5 được gây tăng đường huyết bằng cách tiêm 100 mg/kg streptozocin. Trong khi đó, chuột ở nhóm 1 được tiêm dung dịch đệm natri citrat (pH 4,5). Sau 72 giờ kể từ khi tiêm STZ và dung dịch đệm, tiến hành định lượng glucose máu lần 3. Mức đường huyết được đo bằng máy đo đường huyết (ACON Biotech, Mỹ) và được biểu thị bằng mmol/L. Những con chuột mắc đái tháo đường sau khi tiêm STZ biểu hiện mức glucose huyết lúc đói bằng hoặc lớn hơn 10 mmol/L được đưa vào nghiên cứu. Sau đó, chuột được uống nước cất, thuốc chứng hoặc mẫu thử với các liều lượng khác nhau mỗi ngày một lần trong 14 ngày [7], cụ thể như sau:

Nhóm 1 (chứng sinh lý): Chế độ ăn NFD + tiêm dung dịch đệm natri citrat pH 4,5 + uống nước cất.

Nhóm 2 (chứng bệnh): Chế độ ăn HFD + tiêm STZ liều 100 mg/kg + uống nước cất.

Nhóm 3 (chứng dương): Chế độ ăn HFD + tiêm STZ liều 100 mg/kg + uống gliclazid liều 80 mg/kg/ngày.

Nhóm 4 (mẫu thử 1): Chế độ ăn HFD + tiêm STZ liều 100 mg/kg + uống cao chiết liều 500 mg/kg/ngày.

Nhóm 5 (mẫu thử 2): Chế độ ăn HFD + tiêm STZ liều 100 mg/kg + uống cao chiết liều 1000 mg/kg/ngày.

Để xác định hoạt tính hạ đường huyết của cao chiết dược liệu, sau khi nhịn ăn qua đêm, lấy máu toàn phần từ đuôi chuột và tiến hành định lượng mức đường huyết lúc đói của chuột tại thời điểm  $T_0$  (chưa uống thuốc),  $T_1$  (sau 1 tuần uống thuốc) và  $T_2$  (sau 2 tuần uống thuốc). Đồng thời, tiến hành xác định các chỉ số lipid bao gồm cholesterol toàn phần, lipoprotein cholesterol tỷ trọng thấp (LDL-C), lipoprotein cholesterol tỷ trọng cao (HDL-C) và triglycerid trong máu chuột sau khi kết thúc thử nghiệm bằng bộ kit chẩn đoán (Erba, Đức).

*\* Xử lý số liệu:*

Các dữ liệu được biểu diễn ở dạng  $\bar{X} \pm SD$  (SD: Độ lệch chuẩn). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS 23.0, sử dụng Test one way ANOVA, hậu kiểm Tukey. Sự khác biệt giữa các nhóm được coi là có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

### 1. Hoạt tính ức chế enzyme PTP1B

Tác dụng ức chế enzyme PTP1B của sáu loại dược liệu khảo sát được trình bày cụ thể trong bảng 1.

**Bảng 1.** Tác dụng ức chế enzyme PTP1B của các mẫu cao chiết dược liệu.

Mẫu cao chiết	Giá trị IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Phần trên mặt đất cây thài lài trắng	8,34 ± 2,36
Lá xoài	> 200
Lá dâu tằm	181,82 ± 23,04
Thân cây chạch chiu	9,64 ± 2,38
Lá dứa thơm	> 200
Phần trên mặt đất cây qua lâu trứng	> 200
Acid ursolic (Chất đối chứng)	0,52 ± 0,04

Kết quả khảo sát cho thấy cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng có khả năng ức chế enzyme PTP1B mạnh nhất với giá trị IC<sub>50</sub> nhỏ nhất là 8,34 ± 2,36 µg/mL; sau đó là cao chiết thân cây chạch chiu với giá trị IC<sub>50</sub> là 9,64 ± 2,38 µg/mL. Cao lá dâu tằm thể hiện hoạt tính ức chế enzyme PTP1B trung bình (IC<sub>50</sub> = 181,82 ± 23,04 µg/mL). Trong khi đó, cao chiết lá dứa thơm, cao chiết lá xoài và cao chiết phần trên mặt đất cây qua lâu trứng hầu như không có tác dụng ức chế enzyme PTP1B tại nồng độ khảo sát với giá trị IC<sub>50</sub> > 200 µg/mL. Cùng với các mẫu thử, tiến hành với mẫu chứng dương là acid ursolic thu được giá trị IC<sub>50</sub> là 0,52 ± 0,04 µg/mL. Dựa trên các kết quả này, cao chiết phần trên mặt đất

cây thài lài trắng được lựa chọn để đánh giá tác dụng hạ đường huyết trên *in vivo*.

PTP1B là một loại enzyme nội bào được tìm thấy trong các mô nhắm mục tiêu insulin như gan, cơ và mỡ. Enzyme này đóng vai trò chính là chất điều hòa âm tính trong quá trình truyền tín hiệu insulin bằng cách vô hiệu hóa thụ thể insulin. Do đó, ức chế PTP1B là một chiến lược điều trị tiềm năng cho tình trạng kháng insulin ở những bệnh nhân mắc đái tháo đường týp 2. Bên cạnh đó, do tham gia điều hòa âm tính con đường tín hiệu leptin gây ra tình trạng rối loạn chuyển hóa và béo phì, việc ức chế enzyme PTP1B còn có thể làm giảm béo phì - một nguy cơ chủ yếu của bệnh đái tháo đường [8].

## 2. Tác dụng hạ đường huyết *in vivo*

Ảnh hưởng của cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng đến trọng lượng của chuột thí nghiệm được trình bày chi tiết trong bảng 2.

**Bảng 2.** Trọng lượng chuột ở các nhóm nghiên cứu tại các thời điểm khảo sát.

Nhóm thử nghiệm	Trọng lượng chuột (g)			
	Trước khi ăn chế độ giàu chất béo	Sau khi ăn chế độ giàu chất béo	Sau khi tiêm streptozocin	Sau khi điều trị
Nhóm chứng sinh lý (1)	180,0 ± 14,3 <sup>a</sup>	244,0 ± 19,6 <sup>a,*</sup>	260,7 ± 21,1 <sup>a,*,#</sup>	278,4 ± 22,2 <sup>a,*,#</sup>
Nhóm chứng bệnh (2)	179,4 ± 14,2 <sup>a</sup>	250,9 ± 17,3 <sup>a,*</sup>	251,4 ± 17,8 <sup>a,*,#</sup>	243,4 ± 20,2 <sup>a,*,#</sup>
Nhóm chứng dương (gliclazid 80 mg/kg) (3)	180,8 ± 15,1 <sup>a</sup>	249,6 ± 19,3 <sup>a,*</sup>	249,6 ± 21,1 <sup>a,*,#</sup>	250,1 ± 22,3 <sup>a,*,#</sup>
Nhóm thử 1 (cao chiết liều 500 mg/kg) (4)	182,2 ± 14,6 <sup>a</sup>	250,1 ± 21,0 <sup>a,*</sup>	251,3 ± 21,6 <sup>a,*,#</sup>	252,2 ± 21,3 <sup>a,*,#</sup>
Nhóm thử 2 (cao chiết liều 1000 mg/kg) (5)	180,5 ± 14,6 <sup>a</sup>	250,4 ± 16,7 <sup>a,*</sup>	248,9 ± 17,5 <sup>a,*,#</sup>	257,1 ± 22,3 <sup>a,*,#</sup>

\*  $p < 0,01$  khi so sánh với thời điểm trước khi ăn chế độ giàu chất béo;

#  $p > 0,05$  khi so sánh với thời điểm sau khi ăn chế độ giàu chất béo; các chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Kết quả thực nghiệm cho thấy sau chế độ ăn giàu chất béo, trọng lượng chuột ở tất cả các nhóm đều tăng rõ rệt ( $p < 0,01$ ). Tuy nhiên, sau khi tiêm STZ và sau thời gian điều trị, trọng lượng chuột ở từng nhóm có sự thay đổi nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Bên cạnh đó, trọng lượng

chuột ở các nhóm khác nhau cũng không có sự khác biệt về mặt thống kê. Kết quả này đã chứng minh việc sử dụng cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng không ảnh hưởng đến trọng lượng của chuột thí nghiệm.

Trong nghiên cứu này, tác dụng hạ đường huyết *in vivo* của cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng được đánh giá trên mô hình chuột mắc đái tháo đường tít 2 gây ra bởi streptozocin. Đây là một mô hình thí nghiệm được sử dụng rộng rãi; trong đó, bệnh tiểu đường được phát triển trong khoảng 1 - 2 ngày. Các nghiên cứu đã chứng minh rằng việc tiêm STZ làm tăng đáng kể mức glucose huyết so với bình thường. Cơ chế của

bệnh đái tháo đường do tiêm STZ có thể được giải thích là do STZ có khả năng gắn vào thụ thể vận chuyển glucose và tích tụ trong tế bào  $\beta$  của tụy. Sau đó, STZ có thể phá hủy tế bào  $\beta$  bằng cách alkyl hóa ADN và làm cạn kiệt mức nicotinamid adenin dinucleotid. Ngoài ra, STZ còn có khả năng tạo ra chất tự kháng nguyên decarboxylase gây ra phản ứng miễn dịch và viêm, dẫn đến sự xâm nhập viêm của các tế bào lympho T tự miễn dịch trong đảo tụy và làm hỏng tế bào  $\beta$ . Sự phá hủy tế bào  $\beta$  tuyến tụy sẽ làm giảm nồng độ insulin huyết thanh; từ đó, làm tăng mức glucose huyết trong mô hình chuột mắc đái tháo đường tít 2 [9].

**Bảng 3.** Tác dụng của cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng đối với nồng độ glucose máu (mmol/L) ở chuột mắc đái tháo đường gây ra bởi STZ.

Nhóm thử nghiệm	Nồng độ glucose máu (g)		
	Ngày 0	Ngày 7	Ngày 14
Nhóm chứng sinh lý (1)	4,6 ± 0,5 <sup>a,*</sup>	4,6 ± 0,5 <sup>a,*</sup>	4,5 ± 0,5 <sup>a,*</sup>
Nhóm chứng bệnh (2)	13,6 ± 0,6 <sup>b,*</sup>	13,6 ± 0,6 <sup>b,*</sup>	13,5 ± 1,0 <sup>b,*</sup>
Nhóm chứng dương (gliclazid 80 mg/kg) (3)	13,5 ± 1,1 <sup>b,*</sup>	11,6 ± 0,9 <sup>b,*</sup>	9,1 ± 1,3 <sup>c,#</sup>
Nhóm thử 1 (cao chiết liều 500 mg/kg) (4)	13,7 ± 1,0 <sup>b,*</sup>	12,5 ± 1,2 <sup>b,*</sup>	10,5 ± 1,0 <sup>c,#</sup>
Nhóm thử 2 (cao chiết liều 1000 mg/kg) (5)	13,2 ± 1,2 <sup>b,*</sup>	12,1 ± 0,7 <sup>b,*</sup>	9,9 ± 0,5 <sup>c,#</sup>

Các ký hiệu khác nhau trên cùng một cột hoặc một hàng biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Bảng 3 mô tả nồng độ glucose máu của nhóm chuột không mắc đái tháo đường và các nhóm chuột mắc đái tháo đường. Có thể thấy mức glucose máu của các nhóm chuột mắc đái tháo đường do tiêm STZ cao hơn rõ rệt khi so sánh với nhóm chuột bình thường (nhóm chứng sinh lý). Bên cạnh đó, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đối với nồng độ glucose máu giữa các nhóm chuột mắc đái tháo đường trước khi được điều trị. Sau 7 ngày điều trị, nồng độ glucose máu của các nhóm điều trị bằng gliclazid và cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng có giảm nhưng không có ý nghĩa thống kê khi so sánh với thời điểm trước khi điều trị ( $p > 0,05$ ). Sau 14 ngày điều trị, nhóm chuột được điều trị bằng gliclazid có mức glucose máu giảm có ý nghĩa thống kê so với trước khi được điều trị ( $p < 0,05$ ). Tương tự, việc sử dụng lặp lại mỗi ngày cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng ở cả hai liều lượng là 500 mg/kg và 1000 mg/kg (nhóm 4 và 5) đều có tác dụng làm giảm mạnh nồng độ glucose máu ở chuột mắc đái tháo đường khi so sánh với nhóm chứng bệnh (nhóm 2) ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, mức glucose huyết ở các nhóm được điều trị bằng gliclazid hoặc cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng vẫn cao hơn đáng kể so với nhóm chứng sinh lý ( $p < 0,05$ ) tại thời điểm ngày

thứ 14. Ngoài ra, khi so sánh nồng độ glucose máu giữa nhóm chứng dương (nhóm 3) và các nhóm thử sau khi kết thúc 14 ngày điều trị, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được ghi nhận ( $p > 0,05$ ). Trong khi đó, không có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ở nồng độ glucose máu giữa các chuột trong cùng một nhóm đối với nhóm chứng sinh lý và nhóm chứng bệnh tại tất cả các thời điểm khảo sát.

Gần đây, nhóm nghiên cứu của Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội đã phân lập một số hợp chất từ phân đoạn ethyl acetat của cây thài lài trắng bao gồm: *N-trans-feruloyltyramin*, 1,2-dihydro-6,8-dimethoxy-7-hydroxy-1-(3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenyl)- $N^1, N^2$ -bis-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]-2,3-naphthalen dicarboxamid, *N-trans-p-coumaroyl-3',4'*-dihydroxyphenylethylamin, lyratol F, methyl gallat có tác dụng ức chế mạnh enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase. Đây là hai enzyme tham gia vào quá trình thủy phân, chuyển hóa carbohydrat thành các phân tử đường glucose nhỏ hơn. Do đó, việc ức chế hai enzyme này sẽ làm chậm sự hình thành glucose và làm giảm sự thẩm thấu glucose vào máu [4]. Như vậy, các hợp chất này có thể góp phần vào tác dụng hạ đường huyết chung của cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng.

**Bảng 4.** Tác dụng của cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng đối với các chỉ số lipid ở chuột mắc đái tháo đường gây ra bởi STZ sau khi kết thúc 14 ngày điều trị.

Nhóm thử nghiệm	Cholesterol toàn phần (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	Triglycerid (mmol/L)
Nhóm chứng sinh lý (1)	1,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,4 <sup>a</sup>
Nhóm chứng bệnh (2)	2,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,5 <sup>b</sup>
Nhóm chứng dương (gliclazid 80 mg/kg) (3)	2,2 ± 0,4 <sup>b</sup>	1,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,6 <sup>b</sup>
Nhóm thử 1 (cao chiết liều 500 mg/kg) (4)	2,2 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,5 <sup>b</sup>
Nhóm thử 2 (cao chiết liều 1000 mg/kg) (5)	2,5 ± 0,4 <sup>b</sup>	1,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,7 ± 0,4 <sup>b</sup>

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Đối với các chỉ số lipid, sự gia tăng có ý nghĩa thống kê đối với nồng độ cholesterol toàn phần và triglycerid ở các nhóm chuột đái tháo đường khi so sánh với nhóm chuột bình thường (nhóm chứng sinh lý) ( $p < 0,05$ ) (Bảng 4). Trong khi đó, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đối với 2 chỉ số LDL-C và HDL-C giữa các nhóm thử nghiệm ( $p > 0,05$ ). Sau khi kết thúc điều trị, tất cả các chỉ số lipid (cholesterol toàn phần, LDL-C, HDL-C, triglycerid) ở nhóm chuột đái tháo đường được điều trị bằng thuốc đối chứng (gliclazid 80 mg/kg) và hai

nhóm chuột đái tháo đường được điều trị bằng cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng (liều lượng 500 mg/kg và 1000 mg/kg) đều có sự thay đổi nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng bệnh ( $p > 0,05$ ). Điều đó chứng tỏ cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng không ảnh hưởng đến các chỉ số lipid ở mô hình chuột thực nghiệm. Tuy nhiên, theo một nghiên cứu khác được thực hiện bởi Sule OJ và CS, cao chiết methanol từ cây thài lài trắng có tác dụng làm giảm đáng kể nồng độ cholesterol toàn phần, LDL-C,

triglyceride và làm tăng rõ rệt nồng độ HDL-C khi so sánh với nhóm chứng bệnh trên mô hình chuột mắc bệnh cơ tim gây ra bởi doxorubicin [10]. Sự khác biệt này có thể là do sự khác nhau giữa 2 mô hình thử nghiệm, điều kiện thí nghiệm và loại cao chiết sử dụng.

### KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá được hoạt tính ức chế enzyme PTP1B của sáu loại dược liệu bao gồm phần trên mặt đất cây thài lài trắng, lá xoài, lá dâu tằm, thân cây chạch chiu, lá dứa thơm và phần trên mặt đất cây qua lâu trướng. Từ thực nghiệm đã xác định được cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng có hoạt tính tốt nhất với giá trị  $IC_{50}$  thu được là  $8,339 \pm 2,354 \mu\text{g/mL}$ . Tất cả sáu loại cây thuốc khảo sát đều đã được sử dụng từ lâu trong y học cổ truyền để điều trị bệnh đái tháo đường. Nghiên cứu này cũng cho thấy việc sử dụng cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng ở cả hai liều lượng 500 mg/kg và 1000 mg/kg có khả năng hạ đường huyết rõ rệt trên mô hình chuột đái tháo đường gây ra bởi STZ khi so sánh với chất đối chứng dương gliclazid ở liều 80 mg/kg. Ngoài ra, cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng không ảnh hưởng đến các chỉ số lipid và trọng lượng của chuột thí nghiệm. Kết quả này có ý nghĩa cho

việc nghiên cứu sâu hơn về cơ chế dược lý và thành phần hóa học của cao chiết phần trên mặt đất cây thài lài trắng để phân lập được các hoạt chất tiềm năng trong phòng, điều trị bệnh đái tháo đường. Bên cạnh đó, nghiên cứu đã cung cấp cơ sở khoa học cho việc sử dụng và làm tiền đề cho việc phát triển các sản phẩm chăm sóc sức khỏe dựa trên hoạt tính hạ đường huyết của cây thài lài trắng.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*. 9<sup>th</sup> edition. 2019.
2. Padhi S, Nayak AK, Behera A. Type II diabetes mellitus: A review on recent drug based therapeutics. *Biomed Pharmacother*. 2020; 131:110708. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110708>.
3. Nguyen MH, Vu VD, Nguyen VS, Hoang VT, Nguyen HD, Pham NT, Than TH, Doan C. *Report on the review of Vietnam's wildlife trade policy*. CRES/FPD/UNEP/CITES/IUED. Hanoi, Vietnam. 2007.
4. Vu DL, Nguyen TVA, Nguyen TD, Dang VH, Le HD, Nguyen XT. Anti-diabetic effect of major compounds from *Commelina diffusa*. *Rev Bras Farmacogn*. 2023; 33(3):657-661. <https://doi.org/10.1007/s43450-023-00394-7>.

5. Nguyen PH, Yang JL, Uddin MN, Park SL, Lim SI, Jung DW, Williams DR, Oh WK. Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors from *Morinda citrifolia* (Noni) and their insulin mimetic activity. *J Nat Prod.* 2013; 76(11):2080-2087. <https://doi.org/10.1021/np400533h>.
6. Hayashi K, Kojima R, Ito M. Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice. *Biol Pharm Bull.* 2006; 29(6):1110-1119. <https://doi.org/10.1248/bpb.29.1110>.
7. Pham QB, Nguyen DT, Vu VH, Pham TP, Pham QS, Duong VP, Phuong TT, Dinh TTH, Pham TVA. Antidiabetic activity of *Gomphogyne bonii* Gagnep. extract against high-fat diet and alloxan-induced type 2 diabetes in mice. *Evid Based Complementary Altern Med.* 2021; 8648209. <https://doi.org/10.1155/2021/8648209>.
8. Trinh BTD, Jäger AK, Staerk D. High-Resolution Inhibition Profiling Combined with HPLC-HRMS- SPE-NMR for Identification of PTP1B Inhibitors from Vietnamese Plants. *Molecules.* 2017; 22(7):1228. <https://doi.org/10.3390/molecules22071228>.
9. Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Curr Protoc Pharmacol.* 2015; 70:5.47.1-5.47.20. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0547s70>.
10. Sule OJ, Arhoghro EM, Erigbali P. Cardioprotective effect of *Commelina diffusa* leaf extract on doxorubicin induced cardiomyopathy in rats. *World J Pharm Pharm Sci.* 2017; 6(9):200-211. <https://doi.org/10.20959/wjpps20179-10117>.

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG VÀ THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG ANDROGRAPHOLID TRONG HỆ NANO POLYME BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Nguyễn Hoàng Hiệp<sup>1</sup>, Hồ Bá Ngọc Minh<sup>1</sup>, Đặng Trường Giang<sup>1</sup>  
Vũ Bình Dương<sup>1</sup>, Phạm Văn Hiến<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Điệp<sup>1\*</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng Andrographolid trong hệ nano polyme bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (high performance liquid chromatography - HPLC). **Phương pháp nghiên cứu:** Khảo sát các điều kiện sắc ký. Thẩm định phương pháp định lượng theo hướng dẫn của ICH về tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ đúng, độ chính xác, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng dưới. **Kết quả:** Đã xác định được các điều kiện sắc ký. Phương pháp định lượng có sự tương quan tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ Andrographolid (AG) trong khoảng nồng độ từ 5 - 30 µg/mL với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9981$ , độ lặp lại với RSD = 0,1492%, độ đúng trong khoảng từ 99,91 - 102,77%, giới hạn phát hiện 0,4 µg/mL, giới hạn định lượng 1,2 µg/mL. **Kết luận:** Đã xây dựng được phương pháp HPLC để định lượng Andrographolid trong hệ nano polyme, làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

**Từ khóa:** Andrographolid; Nano polyme; Sắc ký lỏng hiệu năng cao.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD FOR THE QUANTIFICATION OF ANDROGRAPHOLIDE IN POLYMERIC NANOSYSTEM

**Abstract**

**Objectives:** To develop and validate a high performance liquid chromatography method for the quantification of Andrographolid in polymeric nanosystem. **Methods:** Surveying chromatographic conditions validating quantification method, according to ICH guidelines in terms of system suitability, specificity,

---

<sup>1</sup>Trung tâm Nghiên cứu, ứng dụng và sản xuất thuốc, Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Trọng Điệp (diepvmu@gmail.com)

Ngày nhận bài: 17/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.462>

linearity, precision, accuracy, limit of detection, and limit of quantification. **Results:** The chromatographic conditions were determined. The quantitative method shows a close linear correlation between the peak area and Andrographolide concentration in the range of 5 - 30  $\mu\text{g/mL}$  with regression correlation coefficient  $R^2 = 0.9981$ , good repeatability with  $\text{RSD} = 0.1492\%$ , good accuracy of 99.91 - 102.77%. The limit of detection is 0.4  $\mu\text{g/mL}$  and the lower limit of quantification is 1.2  $\mu\text{g/mL}$ . **Conclusion:** A high-performance liquid chromatography method has been developed to quantify Andrographolide in polymeric nanosystems, serving as a basis for further studies.

**Keywords:** Andrographolide; Polymeric nanosystem; High performance liquid chromatography.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Andrographolid là một diterpen lacton có nhiều trong cây Xuyên Tâm Liên (*Andrographis paniculate* (Burm.f.) Wall.ex Nees), thuộc họ Ô rô (Acanthaceae). Đã có nhiều nghiên cứu khoa học cho thấy Andrographolid và các dẫn chất của nó có nhiều tác dụng dược lý như chống viêm, kháng khuẩn, kháng vi rút, kháng tế bào ung thư, bảo vệ tế bào gan, tác dụng trên hệ tim mạch, thần kinh, giảm mỡ máu, chống tiêu chảy, viêm ruột, nhiễm trùng tiết niệu dưới, viêm da, điều trị bệnh lao, viêm phế quản, viêm xoang, viêm họng hạt, ho gà, viêm phổi, viêm tai giữa... Tuy nhiên, theo hệ thống phân loại sinh dược học (BCS), Andrographolid thuộc nhóm II là nhóm các hoạt chất có độ tan kém và tính thấm tốt. Do có tính thân dầu cao, độ tan trong nước thấp và nhanh chóng bị chuyển hóa nên sinh khả dụng đường

uống của Andrographolid rất thấp [1]. Nhận thấy những lợi ích điều trị tiềm năng của Andrographolid, trong những năm gần đây đã có rất nhiều nghiên cứu khoa học được tiến hành để tìm ra biện pháp cải thiện độ tan, tính thấm, hiệu quả chuyển hóa, thải trừ, thời gian lưu trú... của hoạt chất này. Trong các dạng bào chế được tập trung nghiên cứu của Andrographolid, hệ nano polyme được coi là hiệu quả nhất để tăng sinh khả dụng của dược chất khi dùng đường uống. Để góp phần giải quyết các vấn đề liên quan đến định lượng, xác định hiệu suất nạp thuốc, hiệu suất nano hóa và xác định các thông số giải phóng của hoạt chất Andrographolid từ dạng bào chế trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi tiến hành: *Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng Andrographolid trong hệ nano polyme bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên liệu, dụng cụ, thiết bị

Chất chuẩn Andrographolid (số kiểm soát: ECO122007, hàm lượng 97,8%) được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Andrographolid nguyên liệu (hàm lượng 96,0%). Các nguyên liệu, hoá chất như poly lactic-co-glycolic acid (PLGA), lecithin, dicloromethan (DCM), methanol (MeOH), Tween 80, kali dihydrophosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) đạt tiêu chuẩn dược dụng, acetonitril (ACN), acid acetic băng, nước cất 2 lần đạt tiêu chuẩn phân tích. Các thiết bị, dụng cụ thiết bị: Cân phân tích Satorius CP224S (Mỹ), cân kỹ thuật điện tử (Sartorius-Mỹ), máy đồng nhất hóa Premix (Nhật Bản), hệ thống HPLC Alliance Waters 2695D (Mỹ), cột sắc ký Inert Sustain AQ (C18, 5 $\mu\text{m}$ , 4,6 x 150mm) và các dụng cụ nghiên cứu khác.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Chuẩn bị mẫu:*

Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác 10mg AG chuẩn vào bình định mức 100mL, thêm khoảng 50mL methanol, lắc siêu âm 15 phút để hòa tan hoàn toàn. Bổ sung thêm dung môi methanol đến vạch định mức để thu được dung dịch chuẩn gốc AG có nồng độ 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Dãy dung dịch chuẩn: Hút lần lượt 1mL, 2mL, 3mL, 4mL, 5mL, 6mL dung dịch chuẩn gốc vào các bình định

mức 20mL. Thêm dung môi methanol đến vạch định mức để thu được dãy dung dịch chuẩn có nồng độ lần lượt là 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 15  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  và 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Chuẩn bị mẫu hệ lỏng nano polyme AG: Chuẩn bị pha nội: Cân chính xác 20mg AG nguyên liệu, 60mg PLGA và 20mg Lecithin vào cốc có mỏ 50mL. Hòa tan trong 10mL hỗn hợp dung môi DCM/MeOH (tỷ lệ 9/1) ở nhiệt độ phòng.

Chuẩn bị pha ngoại: Cân chính xác 1,05g Tween 80 vào cốc có mỏ 250mL. Hòa tan hoàn toàn lượng chất điện hoạt trong 150mL nước cất.

Nhũ hóa và đồng nhất hóa: Quá trình nhũ hóa và đồng nhất được tiến hành trên máy đồng nhất hóa. Thêm từng giọt pha nội vào pha ngoại với tốc độ nhũ hóa khoảng 1.000 vòng/phút. Sau khi quá trình nhũ hóa kết thúc, tiến hành đồng nhất hóa với tốc độ và thời gian thích hợp. Duy trì nhiệt độ  $100 \pm 2^\circ\text{C}$  trong suốt quá trình nhũ hóa và đồng nhất.

Bốc hơi dung môi pha nội ở điều kiện nhiệt độ phòng trên máy khuấy từ trong khoảng 3 giờ, thu được hỗn dịch nano polyme Andrographolid.

Mẫu thử: Pha loãng một thể tích xác định hỗn dịch nano polyme AG bằng dung môi methanol đến nồng độ thích hợp. Lọc qua màng lọc 0,45 $\mu\text{m}$  trước khi tiêm vào hệ thống sắc ký.

\* *Khảo sát lựa chọn điều kiện sắc ký:* Sử dụng dung dịch chuẩn Andrographolid có nồng độ 20 µg/mL để khảo sát. Qua tham khảo tài liệu [2, 3, 4, 5, 6, 7], nghiên cứu tiến hành lựa chọn một số điều kiện sắc ký cơ bản:

Cột: Inert Sustain AQ, C18 5µm (4,6 x 150mm).

Detector: PDA.

Bước sóng hấp thụ cực đại: 223nm.

Nhiệt độ cột: Nhiệt độ phòng.

Thể tích tiêm: 10µL.

Chương trình pha động: Đẳng dòng (Isocratic).

Tốc độ dòng: 1mL/phút.

Tiến hành khảo sát một số hệ pha động:

ACN: Nước với các tỷ lệ thành phần pha động khác nhau (10/90, 25/75, 30/70).

ACN: Acid phosphoric 0,1% (40/60, v/v: thể tích/thể tích).

ACN: Acid acetic 0,4% (30/70, v/v).

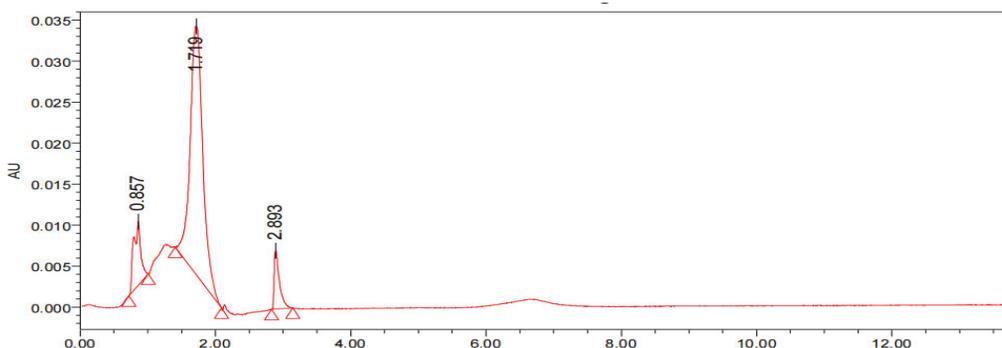
Xác định điều kiện sắc ký cho pic đạt độ đối xứng tốt, tỷ lệ diện tích pic trên nồng độ và chiều cao pic trên nồng độ lớn nhất.

\* *Thẩm định phương pháp định lượng:* Phương pháp định lượng được thẩm định căn cứ theo hướng dẫn của ICH dựa trên khảo sát các chỉ tiêu gồm độ đặc hiệu, độ tương thích hệ thống, độ tuyến tính, độ lặp lại, độ đúng, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp [8].

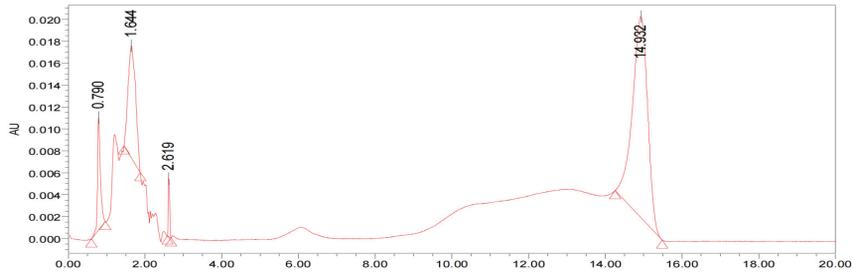
## KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 1. Kết quả xây dựng phương pháp định lượng Andrographolid trong hệ nano polyme bằng phương pháp HPLC

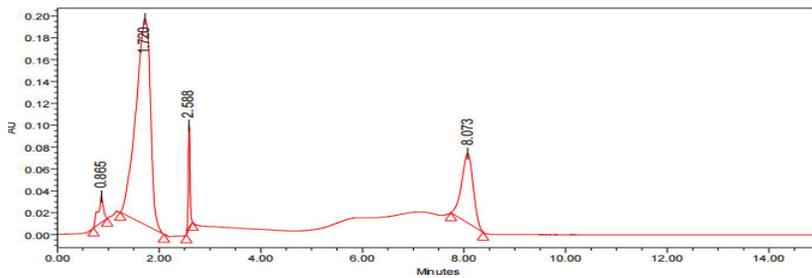
Kết quả khảo sát thành phần pha động được thể hiện ở hình 1, 2, 3, 4 và 5



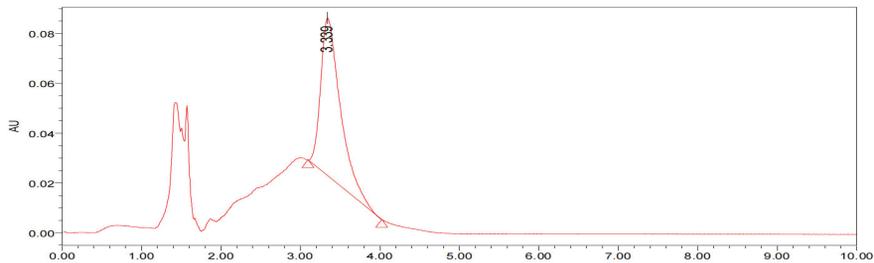
Hình 1. Sắc ký đồ mẫu chuẩn AG với hệ pha động ACN:nước (10/90, v/v).



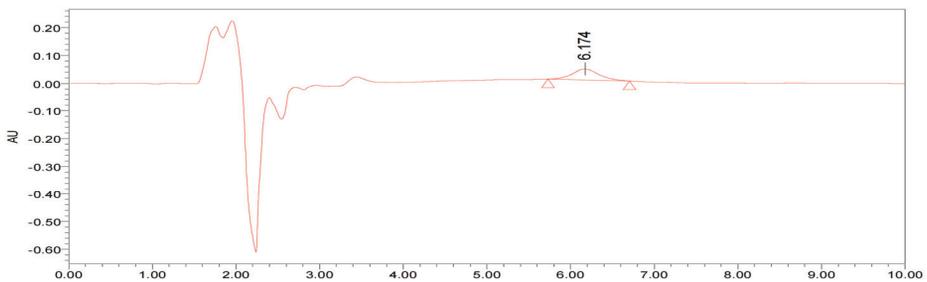
Hình 2. Sắc ký đồ mẫu chuẩn AG với hệ pha động ACN:nước (25/75, v/v).



Hình 3. Sắc ký đồ mẫu chuẩn AG với hệ pha động ACN:nước (30/70, v/v).



Hình 4. Sắc ký đồ mẫu chuẩn AG với hệ pha động ACN:acid phosphoric 0,1% (40/60, v/v).



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu chuẩn AG với hệ pha động ACN:acid acetic 0,4% (30/70, v/v)

Căn cứ vào kết quả sắc ký đồ thu được nhận thấy các hệ dung môi pha động của ACN và nước dù ở bất cứ tỷ lệ nào đều không cho ra được các pic cân đối của hoạt chất Andrographolid. Hiện tượng tương tự cũng xuất hiện khi sử dụng hệ dung môi pha động của ACN và acid phosphoric 0,1%. Hệ dung môi ACN và acid acetic 0,4% (30/70, v/v) cho khả năng phân tách tốt, pic gọn, cân xứng, khoảng cách giữa 2 chân pic ngắn, thời gian lưu phù hợp cho quá trình phân tách (6,174 phút), đường nền ổn định. Kết quả khảo sát trên cho thấy hệ dung môi pha động ACN:acid acetic 0,4% (30/70, v/v) là phù hợp cho quá trình phân tích định lượng Andrographolid.

## 2. Kết quả thẩm định phương pháp định lượng Andrographolid trong hệ nano polyme bằng phương pháp HPLC

\* *Tính tương thích hệ thống:*

Tiêm 6 lần mẫu chuẩn Andrographolid có nồng độ 20 µg/mL vào hệ thống HPLC, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã chọn. Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống được trình bày ở bảng 1.

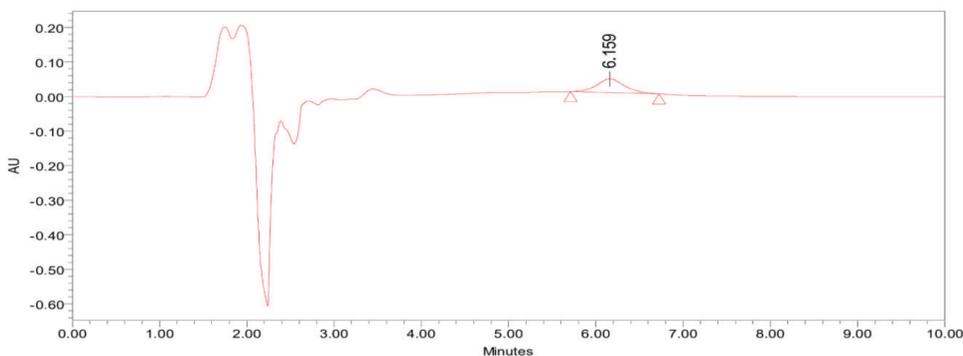
**Bảng 1.** Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống.

STT	Thời gian lưu T <sub>R</sub> (phút)	Diện tích pic (µV.s)	Hệ số bất đối xứng (AF)	Số đĩa lý thuyết (n)
1	6,154	864481	1,132	10376
2	6,159	889901	1,131	10385
3	6,157	882788	1,132	10356
4	6,174	886265	1,131	10348
5	6,154	886232	1,132	10371
6	6,174	888984	1,133	10344
$\bar{X} \pm SD$	6,162 ± 0,0094	883109 ± 9460,08	1,132 ± 0,001	10363,33 ± 16,44
RSD %	0,154	1,071	0,067	0,159

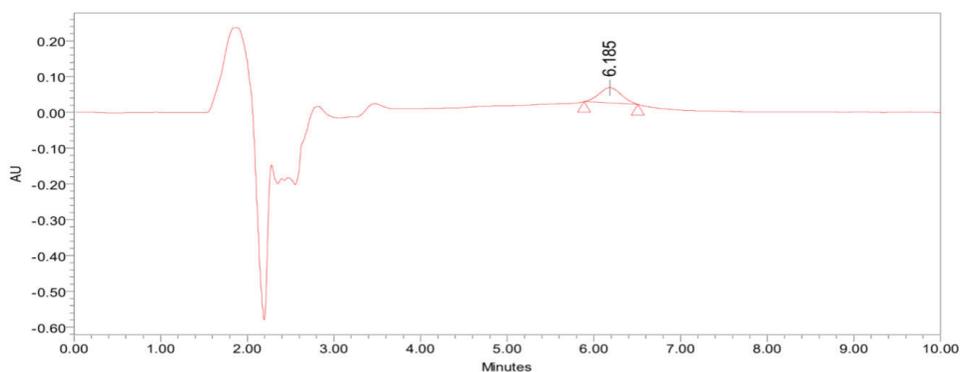
Kết quả trên cho thấy độ lệch chuẩn tương đối của các giá trị thời gian lưu nhỏ hơn 1% và diện tích pic nhỏ hơn 2%. Như vậy, chương trình sắc ký đã chọn phù hợp để định lượng AG.

\* *Độ đặc hiệu:*

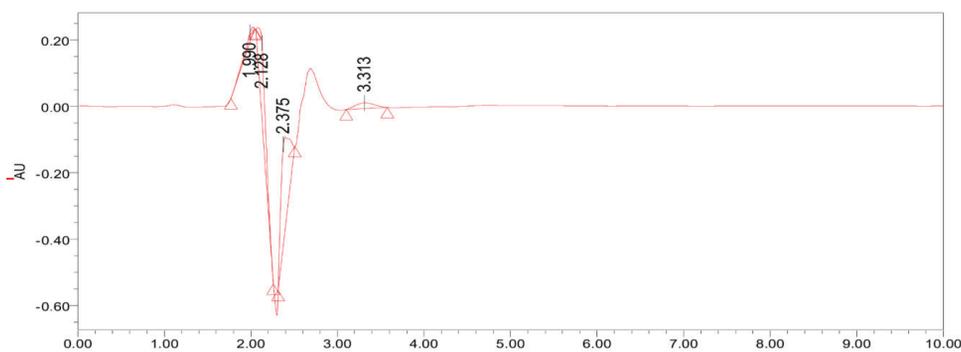
Chuẩn bị 3 mẫu: Mẫu trắng (hỗn hợp tá dược), mẫu chuẩn và mẫu thử. Tiến hành chuẩn bị mẫu và tiến hành sắc ký với các điều kiện đã lựa chọn. Kết quả sắc ký đồ của mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử được thể hiện lần lượt ở hình 6, 7 và 8.



**Hình 6.** Sắc ký đồ mẫu chuẩn Andrographolid.



**Hình 7.** Sắc ký đồ mẫu thử (hệ lỏng nano polyme Andrographolid).



**Hình 8.** Sắc ký đồ mẫu trắng.

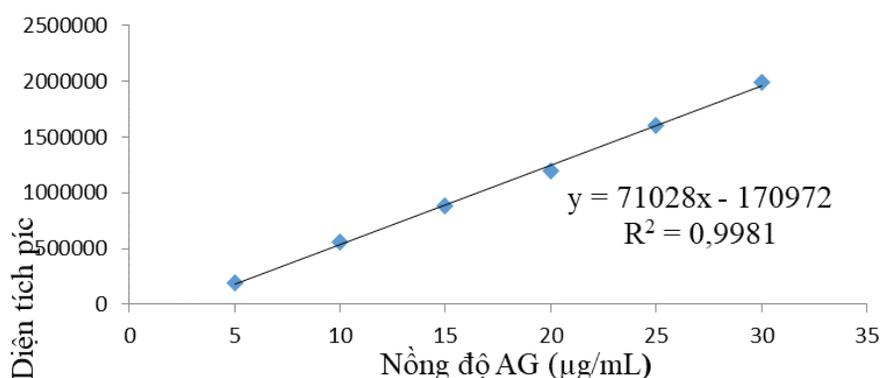
Từ hình ảnh sắc ký đồ của mẫu chuẩn và mẫu thử cho thấy thời gian lưu píc của mẫu chuẩn và mẫu thử là tương đương nhau (ở khoảng phút thứ 6,1). Trên sắc ký đồ của mẫu trắng, tại phút thứ 6,1 không thấy xuất hiện píc lạ. Kết quả cho thấy quy trình định lượng AG bằng phương pháp HPLC có độ đặc hiệu cao.

\* *Khoảng tuyến tính:*

Chuẩn bị các mẫu chuẩn Andrographolid, nồng độ từ 5,0 - 30,0 µg/mL, mỗi nồng độ phân tích 3 lần. Từ kết quả diện tích píc thu được, tiến hành thiết lập phương trình hồi quy tuyến tính biểu thị sự tương quan giữa diện tích píc và nồng độ các dung dịch chuẩn Andrographolid. Kết quả được thể hiện ở bảng 2 và hình 9.

**Bảng 2.** Tương quan giữa nồng độ Andrographolid và diện tích píc.

Nồng độ mẫu chuẩn (µg/mL)	Diện tích píc (µV.s)				
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	$\bar{X} \pm SD$	RSD%
5	190661	191615	190791	191022,3 ± 517,36	0,2708
10	562318	564572	562019	562969,7 ± 1395,69	0,2479
15	884481	889901	882788	885723,3 ± 3715,67	0,4195
20	1193351	1199672	1196190	1196404 ± 3165,94	0,2646
25	1608205	1610084	1606820	1608370 ± 1638,21	0,1018
30	1961305	1962114	2039467	1987629 ± 44895,13	2,2587



**Hình 9.** Đồ thị tương quan tuyến tính giữa nồng độ dung dịch chuẩn Andrographolid và diện tích píc.

Kết quả trên cho thấy trong khoảng nồng độ khảo sát từ 5 - 30  $\mu\text{g/mL}$  có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa diện tích pic và nồng độ AG. Ta thu được phương trình hồi quy:  $y = 71028x - 170972$  với hệ số tương quan  $R^2 > 0,99$ . Như vậy, khoảng tuyến tính phù hợp để định lượng AG trong các mẫu nghiên cứu.

\* *Độ lặp lại:*

Chuẩn bị mẫu hỗn dịch nano polyme AG theo quy trình được trình bày ở mục 2 (Phương pháp nghiên cứu). Chuẩn bị 6 mẫu thử riêng biệt, trong đó mỗi mẫu hút chính xác 2 mL hỗn dịch nano polyme AG đã bào chế và pha loãng bằng dung môi methanol đến nồng độ thích hợp. Lọc qua màng lọc 0,45 $\mu\text{m}$  trước khi tiêm vào hệ thống sắc ký. Tiến hành chạy sắc ký và ghi lại diện tích pic của 6 mẫu thử. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát độ lặp lại của phương pháp.

Mẫu	Thể tích mẫu (mL)	Diện tích pic ( $\mu\text{V.s}$ )	Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	2,0	762093	13,1365
2	2,0	761861	13,1333
3	2,0	764530	13,1708
4	2,0	762493	13,1422
5	2,0	764476	13,1701
6	2,0	764948	13,1767
$\bar{x} \pm \text{SD}$			13,1549 $\pm$ 0,0196
RSD %			0,1492

Kết quả thử độ lặp lại của phương pháp cho thấy với các điều kiện sắc ký đã chọn, độ lệch chuẩn tương đối của các kết quả là 0,1493% (< 2%), đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn quy định. Như vậy, phương pháp định lượng đã chọn đảm bảo độ lặp lại của các kết quả trong các thử nghiệm được thực hiện song song.

\* *Độ đúng:*

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn và hỗn dịch nano polyme AG ở ba mức nồng độ 5 µg/mL (mẫu LQC), 10 µg/mL (mẫu MQC) và 15 µg/mL (mẫu HQC). Lấy 2mL mẫu thử, thêm một lượng dung dịch chuẩn tương ứng khoảng 10%, 20% và 30% thể tích mẫu thử ở các nồng độ tương ứng như trên. Xác định tỷ lệ thu hồi (%) bằng cách tính toán lượng chất chuẩn thêm vào mẫu thử. Sau khi thêm chuẩn xong, tiến hành sắc ký và ghi lại diện tích pic của các mẫu, từ đó tính ra được lượng chất chuẩn thêm vào. Kết quả được trình bày ở bảng 4, 5 và 6.

**Bảng 4.** Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp với mẫu thử LQC.

Mẫu	Thể tích mẫu (mL)	Diện tích pic	Nồng độ (µg/mL)	Khối lượng AG (µg)	Khối lượng chuẩn thêm vào lý thuyết (µg)	Khối lượng chuẩn thêm vào thực tế (µg)	% Tìm lại
LQC	2	201744	5,2474	10,4949			
LQC + 10%	2,2	201296	5,2411	11,5305	1	1,0356	103,5614
LQC + 20%	2,4	200227	5,2261	12,5426	2	2,0477	102,3861
LQC + 30%	2,6	199633	5,2177	13,5661	3	3,0711	102,3732
% Tìm lại trung bình							102,7736
RSD%							0,6639

**Bảng 5.** Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp với mẫu thử MQC.

Mẫu	Thể tích mẫu (mL)	Diện tích pic	Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Khối lượng AG ( $\mu\text{g}$ )	Khối lượng chuẩn thêm vào lý thuyết ( $\mu\text{g}$ )	Khối lượng chuẩn thêm vào thực tế ( $\mu\text{g}$ )	% Tìm lại
MQC	2	572335	10,4649	20,9299			
MQC + 10%	2,2	569130	10,4198	22,9236	2	1,9937	99,6863
MQC + 20%	2,4	566655	10,3850	24,9240	4	3,9940	99,8517
MQC + 30%	2,6	565041	10,3622	26,9419	6	6,0119	100,1998
% Tìm lại trung bình							99,9126
RSD%							0,2623

**Bảng 6.** Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp với mẫu thử HQC.

Mẫu	Thể tích mẫu (mL)	Diện tích pic	Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Khối lượng AG ( $\mu\text{g}$ )	Khối lượng chuẩn thêm vào lý thuyết ( $\mu\text{g}$ )	Khối lượng chuẩn thêm vào thực tế ( $\mu\text{g}$ )	% Tìm lại
HQC	2	757162	13,0671	26,1343			
HQC + 10%	2,2	769778	13,2447	29,1385	3	3,0041	100,1398
HQC + 20%	2,4	780036	13,3891	32,1340	6	5,9997	99,9960
HQC + 30%	2,6	790503	13,5365	35,1950	9	9,0607	100,6750
% Tìm lại trung bình							100,2703
RSD%							0,3568

Kết quả trên cho thấy phương pháp có tỷ lệ % tìm lại nằm trong khoảng từ 99,91 - 102,77%. Điều đó chứng tỏ phương pháp HPLC đã xây dựng đủ độ tin cậy để định lượng AG trong mẫu nghiên cứu.

\* *Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng:*

Bằng phương pháp dựa vào tỷ số giữa tín hiệu (S) và nhiễu (N) đã xác định được:

- Nồng độ mẫu thử khoảng 0,4 µg/mL là giới hạn phát hiện. Tại nồng độ này, đáp ứng pic mẫu thử có diện tích lớn gấp hơn 3 lần diện tích đáp ứng của mẫu trắng.

- Nồng độ mẫu thử khoảng 1,2 µg/mL là giới hạn định lượng dưới. Tại nồng độ này, đáp ứng pic mẫu thử có diện tích lớn gấp 10 lần diện tích đáp ứng của mẫu trắng.

### KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp định lượng Andrographolid trong mẫu hệ nano polyme bằng phương pháp HPLC với các điều kiện sắc ký như: Hệ thống HPLC Alliance Waters 2965D, cột Inert Sustain AQ (C18, 5µm, 4,6 x 150mm), detector PDA 223nm, pha động: ACN:acid acetic 0,4% (30/70, v/v), thể tích tiêm 10µL, tốc độ dòng 1 mL/phút, nhiệt độ cột là nhiệt độ phòng. Phương pháp xây dựng đã được thẩm định trên một số chỉ tiêu và đáp ứng yêu cầu của một phương pháp phân tích theo quy định của ICH. Phương pháp này có thể áp dụng để

định lượng Andrographolid trong mẫu hệ nano polyme, làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yen CC, Liang YK, Cheng CP, et al. Oral bioavailability enhancement and anti-fatigue assessment of the andrographolide loaded solid dispersion. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;1-18.
2. Vijaykumar K, Murthy PBS, Kannababu S, et al. Estimation of andrographolide in andrographis paniculata herb, extracts and dosage forms. *International Journal of Applied Science and Engineering*. 2007; 5(1): 27-39.
3. Xu T, Pan J, Zhao L. Simultaneous determination of four andrographolides in andrographis paniculata nees by silver ion reversed phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatographic Science*. 2008; 46:747-750.
4. Sajeeb BK, Kumar U, Halder S, et al. Identification and quantification of andrographolide from andrographis paniculata (Burm. f.) Wall. ex Nees by RP-HPLC method and standardization of its market preparations. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015; 14(1):71-78.

5. Kumar S, Dhanani T, Shah S. Extraction of three bioactive diterpenoids from andrographis paniculata: Effect of the extraction techniques on extract composition and quantification of three andrographolides using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatographic Science*. 2014; 52:1043-1050.
6. Syukri Y, Afetma DW, Sirin M, et al. Validation of A Simple HPLC-UV method for the quantification of andrographolide in self nano emulsifying drug delivery system (snedds) for dissolution study. *International Journal of Drug Delivery Technology*. 2017; 7(4):239-243.
7. Li W, Fitzloff JF. Determination of Andrographolide in commercial andrographis (*Andrographis paniculata*) products using HPLC with evaporative light scattering detection. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2014; 25(9):1335-1343.
8. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Guidelines for validation of analytical procedures: Q2 (R1), Text and Methodology. 2005.

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG MÔ HÌNH XƠ GAN  
VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA VIÊN NANG NHẮT GAN LINH  
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

*Đình Quốc Hưng<sup>1</sup>, Bùi Thị Thu Hà<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thanh Hằng<sup>2</sup>  
Bùi Thị Thu Hiền<sup>2</sup>, Trần Thị Thu Huyền<sup>2</sup>, Trần Bá Hiếu<sup>2</sup>  
Đoàn Việt Cường<sup>2</sup>, Phạm Xuân Phong<sup>1</sup>, Trần Thị Tuyết Nhung<sup>1</sup>, Chử Văn Mến<sup>2\*</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Xây dựng mô hình xơ gan trên chuột BALB/c bằng CCl<sub>4</sub> với thời gian, liều lượng tối ưu của CCl<sub>4</sub>, và đánh giá tác dụng điều trị xơ gan của viên nang Nhắt gan linh (NGL). **Phương pháp nghiên cứu:** Gây xơ gan trên chuột nhắt trắng BALB/c được tiêm dưới da CCl<sub>4</sub> với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần trong thời gian 4, 8 và 12 tuần. Chuột sau khi được gây xơ gan, cho uống NGL với các mức liều từ 150 - 450 mg/kg/ngày. Đánh giá hiệu quả điều trị xơ gan dựa trên các chỉ tiêu thay đổi trọng lượng, số lượng sống/chết, chỉ số xét nghiệm huyết học, sinh hóa máu, phân tích mô bệnh học. **Kết quả:** Mô hình xơ gan trên chuột nhắt bằng CCl<sub>4</sub> đã cho thấy mức độ xơ hóa gan ở giai đoạn 1/4; 2/4; 2/4 và 3/4 tương ứng với thời gian sử dụng CCl<sub>4</sub> từ 4, 8, và 12 tuần. Chuột được điều trị bằng NGL liều tương đương lâm sàng, gấp đôi và gấp ba liều lâm sàng đều có khả năng cải thiện tổn thương gan ở mức sinh hóa, tế bào. **Kết luận:** NGL chứng minh được tác dụng điều trị xơ gan trên mô hình xơ gan ở chuột BALB/c được tiêm dưới da CCl<sub>4</sub> liều với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần x 8 tuần.

**Từ khóa:** Mô hình xơ gan; Chuột BALB/c; Nhắt gan linh.

DEVELOPMENT OF LIVER CIRRHOSIS AND EVALUATION  
OF NHAT GAN LINH CAPSULES' EFFECTS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

**Abstract**

**Objectives:** To establish a liver fibrosis model in BALB/c mice using CCl<sub>4</sub> with optimal duration and dosage, and evaluate the therapeutic effects of NGL

<sup>1</sup>Viện Y học Cổ truyền Quân đội

<sup>2</sup>Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Chử Văn Mến (chuvanmen@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 11/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.499>

capsules on liver fibrosis. **Methods:** Liver fibrosis was induced in BALB/c mice by subcutaneous injection of CCl<sub>4</sub> at a dose of 160mg/kg diluted in olive oil at a ratio of 1:18, corresponding to a dose of 2 mL/kg x 2 times per week for 4, 8, and 12 weeks. After liver fibrosis induction, the mice were orally administered NGL capsules at doses ranging from 150 - 450 mg/kg/day. The effectiveness of liver fibrosis treatment was assessed based on changes in body weight, survival rate, hematological and biochemical parameters, as well as histopathological analysis. **Results:** The CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis model in BALB/c mice demonstrated fibrotic stages of 1/4, 2/4, 2/4, and 3/4, corresponding to the duration of CCl<sub>4</sub> administration for 4, 8, and 12 weeks. Mice treated with NGL capsules at clinical equivalent dose, double and triple the clinical dose, all showed the ability to improve liver injury at the biochemical and cellular levels. **Conclusion:** NGL has demonstrated its therapeutic effects on liver fibrosis in the established model of liver fibrosis in BALB/c mice induced by subcutaneous injection of CCl<sub>4</sub> at a dose of 2 mL/kg x 2 times per week for 8 weeks.

**Keywords:** Liver fibrosis model; BALB/c; Nhat gan linh.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Xơ gan là nguyên nhân tử vong đứng thứ 11 trên thế giới, và thứ 10 tại Việt Nam với hơn 1 triệu ca tử vong theo thống kê năm 2015 [1]. Bệnh lý này được đặc trưng trên mô bệnh bởi sự xơ hóa lan tỏa, đảo lộn cấu trúc tế bào gan, hình thành các nốt có cấu trúc bất thường phát triển lan tỏa khắp các tiểu thùy gan sẽ dẫn đến suy giảm chức năng gan, tăng áp lực tĩnh mạch cửa và từ đó có thể gây ra biến chứng trên nhiều cơ quan như bệnh não gan, hội chứng gan thận, hội chứng gan phổi, xuất huyết tiêu hóa do giãn vỡ tĩnh mạch thực quản, ung thư hóa... có thể dẫn tới tử vong [2].

Hiện nay, chưa có phương pháp điều trị hiệu quả xơ hóa gan. Các phương pháp điều trị chỉ dừng lại ở điều trị triệu chứng hoặc ghép gan. Vì vậy việc xây dựng mô hình bệnh lý xơ gan trên động vật vẫn hết sức cần thiết để nghiên cứu sâu hơn về cơ chế bệnh sinh và áp dụng các phương pháp điều trị hiệu quả. Mô hình gây xơ gan bằng hóa chất được sử dụng rộng rãi và phổ biến bởi độ lặp lại cao, dễ thực hiện, chi phí không quá cao và đặc biệt, mô hình gây xơ gan bằng cacbon tetrachloride là lựa chọn mang những ưu điểm trên, đồng thời mô hình này còn mang nhiều đặc điểm tương đồng về

quá trình hình thành và phát triển xơ gan trên người [3]. Tại Việt Nam, đã có một số tác giả nghiên cứu xây dựng mô hình này trên chuột cống và chuột nhắt với mức liều khác nhau của cacbon tetrachloride trong các khoảng thời gian khác nhau. Tuy nhiên, các nghiên cứu chưa đi sâu vào tối ưu thời gian gây xơ gan và tối ưu mức độ tổn thương giải phẫu bệnh trên động vật thực nghiệm tương ứng với các tổn thương xơ gan trên người [4, 5, 6].

Nhiều vị thuốc, bài thuốc y học cổ truyền đã được chứng minh là không độc với gan và có tác dụng bảo vệ tế bào gan, hạ men gan, chống xơ hóa tế bào gan ở các bệnh nhân viêm gan mạn và xơ gan, đồng thời dựa trên cơ sở biện chứng luận trị, Viện Y học cổ truyền (YHCT) Quân đội đã và đang ứng dụng điều trị có hiệu quả. Ứng dụng phép biện chứng này để điều trị các bệnh nhân xơ gan các giai đoạn (đặc biệt là giai đoạn cuối) sau thời gian điều trị 1 tháng các chứng trạng như mệt mỏi, đầy bụng, chán ăn, phù, cổ trướng, vàng da... giảm có ý nghĩa thống kê. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Nghiên cứu xây dựng mô hình xơ gan và đánh giá tác dụng của viên nang Nhất gan linh trên động vật thực nghiệm.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng dòng BALB/c thuần chủng 8 - 10 tuần tuổi, được cung cấp bởi Học viện Quân y. Viên nang NGL do Viện YHCT Quân đội cung cấp.

*\* Hoá chất, thiết bị nghiên cứu:*

- Dụng cụ: Kim tiêm 1mL, Eppendorf 1,5mL, Ống falcon 15mL, 50mL, Pipetman 1000mL, Bộ dụng cụ mổ: Kéo, kẹp, ghim,...

- Thiết bị: Cân điện tử phân tích Presica 205A SCS, cân điện tử TE3102S Sartorius (Đức), tủ lạnh - 20°C, 4°C, -80°C...

- Hóa chất: Carbon tetrachloride - CCl<sub>4</sub> dạng lỏng (cung cấp bởi công ty Sigma, Hoa Kỳ), dầu olive...

### 2. Phương pháp nghiên cứu

*\* Phương pháp gây dựng mô hình xơ gan:*

Chuột nhắt trắng BALB/c được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm, không khí tự nhiên được chia thành 4 lô mỗi lô 15 con.

- Nhóm 1T: Tiêm dưới da CCl<sub>4</sub> với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần x 4 tuần.

- Nhóm 2T: Tiêm dưới da CCl<sub>4</sub> với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần x 8 tuần.

- Nhóm 3T: Tiêm dưới da CCl<sub>4</sub> với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2mL/kg x 2 lần/tuần x 12 tuần.

- Nhóm ĐC: Chuột được cho ăn uống bình thường.

Chỉnh liều CCl<sub>4</sub> trong quá trình tiêm để giảm tỷ lệ chết:

- Trọng lượng chuột thay đổi 0 - 2 gam: Giữ nguyên liều.

- Trọng lượng chuột tăng 2 - 4 gam: Tăng liều đầu 0,01mL.

- Trọng lượng chuột tăng > 5 gam: Tăng liều đầu 0,02mL.

- Trọng lượng chuột giảm 2 - 4 gam: Giảm liều đầu 0,01mL.

- Trọng lượng chuột giảm > 5 gam: Giảm bằng nửa liều đầu.

Máu chuột và mẫu gan sẽ được thu thập ở các thời điểm 1, 2 và 3 tháng để đánh giá các chỉ số huyết học, sinh hóa và giải phẫu bệnh.

\* *Phương pháp đánh giá hiệu quả điều trị xơ gan của viên nang NGL:*

Chuột nhất trắng xơ gan bằng CCl<sub>4</sub> được phân ngẫu nhiên thành 7 nhóm:

+ Nhóm I (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, uống viên nang NGL với liều tương đương liều lâm sàng là 150 mg/kg/ngày.

+ Nhóm II (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, uống viên nang NGL với liều gấp đôi liều lâm sàng là 300 mg/kg/ngày.

+ Nhóm III (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, uống viên nang NGL với liều gấp ba liều lâm sàng là 450 mg/kg/ngày.

+ Nhóm IV (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, cho uống dịch chiết Sài hồ với liều tương đương liều lâm sàng, quy đổi ra gram dược liệu/kg/ngày.

+ Nhóm V (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, cho uống dịch chiết Hoàng bá với liều tương đương liều lâm sàng, quy đổi ra gram dược liệu/kg/ngày.

+ Nhóm VI (n = 15 con): Chuột nhất xơ gan, uống cho uống Sylimarin với liều tương đương liều lâm sàng.

+ Nhóm VII (n = 15 con): Cho uống nước cất theo nhu cầu.

\* *Các chỉ tiêu đánh giá:*

- Đánh giá thay đổi trọng lượng chuột, tình trạng toàn thân.

- Đánh giá số lượng sống/chết.

- Đánh giá sự thay đổi chỉ số huyết học.

- Đánh giá sự thay đổi albumin, lipid máu, bilirubin, hoạt độ enzym ALT, AST.

- Phân tích hình ảnh mô bệnh học tổn thương gan sau khi uống viên nang NGL với thời gian là 30 ngày.

*\* Xử lý số liệu:*

Tất cả các kết quả được trình bày dưới dạng  $\bar{X} \pm SD$ . Ý nghĩa thống kê được xác định với kiểm định T-test và  $p < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê.

#### **4. Đạo đức nghiên cứu**

Quá trình thực hiện thí nghiệm tuân thủ các quy định của Viện Nghiên cứu Y-Dược học Quân sự, Học viện Quân y về chăm sóc động vật thí nghiệm và bảo đảm an toàn phòng thí nghiệm.

### **KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN**

#### **1. Kết quả gây mô hình xơ gan**

*\* Thời gian gây xơ gan trên chuột nhắt trắng bằng CCl<sub>4</sub>:*

Thông qua giai đoạn khảo sát xây dựng mô hình xơ gan, cho thấy sau thời gian tiêm dưới da CCl<sub>4</sub> sau 1 - 3 tháng với liều với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần, mô hình xơ gan trên chuột nhắt đã cho

thấy mức độ xơ hóa gan theo thời gian sử dụng hóa chất. Sau 1 tháng tiêm dưới da CCl<sub>4</sub>: Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 1/4. Sau 2 tháng tiêm dưới da CCl<sub>4</sub>: Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 2/4 trên toàn bộ số chuột gây mô hình. Sau 3 tháng tiêm dưới da CCl<sub>4</sub>: Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 2/4 và 3/4, có một số chuột chết sau 3 tháng gây xơ gan. Nên có thể lựa chọn mức liều trên kéo dài 2 tháng để gây mô hình xơ gan ổn định trên chuột.

*\* Các tổn thương cơ bản trên mô hình xơ gan chuột bằng CCl<sub>4</sub>:*

- Tình trạng toàn thân: Sau khi sử dụng CCl<sub>4</sub>, trọng lượng chuột các nhóm sử dụng CCl<sub>4</sub> chỉ có sự thay đổi nhẹ theo thời gian và giảm mạnh so với nhóm đối chứng ( $p < 0,05$ ). Ngoài ra, chuột có hiện tượng lông xù, hoạt động chậm chạp, ở khoảng thời gian cuối 3 tháng, chuột ủ rũ, giảm vận động rõ rệt.

- Xét nghiệm huyết học và sinh hóa: Số lượng bạch cầu giảm ở nhóm CCl<sub>4</sub> so với nhóm đối chứng ( $p < 0,05$ ). Hoạt độ các enzyme gan ALT, AST; nồng độ bilirubin trong huyết tương chuột tiêm dưới da CCl<sub>4</sub> đều tăng so với nhóm đối chứng. Triglyceride có biểu hiện giảm ở các nhóm tiêm CCl<sub>4</sub>.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của CCl<sub>4</sub> tới các chỉ số huyết học của chuột.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 15			
	ĐC	1T	2T	3T
Bạch cầu (G/L)	7,09 ± 0,81	4,69 ± 0,54*	4,11 ± 0,47*	3,41 ± 0,39*
Hồng cầu (T/L)	8,40 ± 0,96	8,04 ± 0,92	8,80 ± 1,01	8,61 ± 0,99
Tiểu cầu (G/L)	835,53 ± 95,69	803,81 ± 92,06	829,58 ± 72,11	796,28 ± 91,20
Hemoglobin (g/L)	121,80 ± 13,95	124,53 ± 14,26	126,50 ± 14,49	124,52 ± 14,26
Hematocrit (%)	40,34 ± 4,62	40,53 ± 4,64	41,72 ± 4,78	41,39 ± 4,74

(\*: p < 0,05 so với nhóm đối chứng).

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của CCl<sub>4</sub> tới các chỉ số sinh hóa của chuột.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 15			
	ĐC	1T	2T	3T
ALT(U/L)	34,39 ± 8,52	103,80 ± 16,47*	102,71 ± 16,34*	124,02 ± 18,79*
AST(U/L)	57,30 ± 18,02	102,72 ± 23,22*	98,22 ± 22,70*	228,00 ± 37,57*
Albumin (g/l)	23,03 ± 2,64	23,20 ± 2,66	21,23 ± 2,43	21,82 ± 2,38
Bilirubin (μmol/L)	6,31 ± 0,72	13,82 ± 1,58*	16,00 ± 1,83*	13,53 ± 1,55*
Cholesterol (mmol/L)	2,74 ± 0,31	2,50 ± 0,24	2,55 ± 0,29	2,58 ± 0,24
Triglyceride (mmol/L)	1,71 ± 0,20	1,32 ± 0,15**	1,30 ± 0,15*	1,12 ± 0,13**

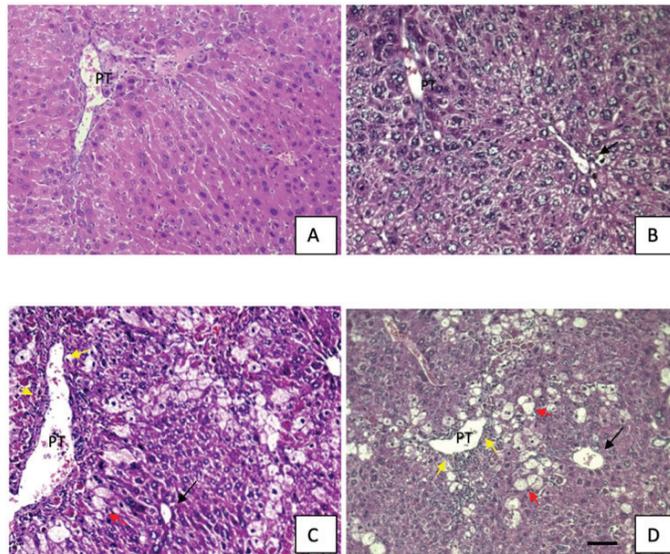
(\*: p < 0,05; \*\*: p < 0,01 so với nhóm đối chứng).

- Giải phẫu bệnh: Gan chuột nhóm điều trị nhạt màu, mất sự nhẵn bóng, bề mặt sần sùi và ngoài ra còn có hiện tượng hình thành các nốt đốm đỏ trên bề mặt gan sau 3 tháng sử dụng CCl<sub>4</sub>. Khi đi sâu vào cấu trúc bên trong gan, các nhóm chuột sử dụng CCl<sub>4</sub> có các tế bào gan bị thoái hóa mỡ, hoại tử và xơ hóa rải rác tập trung ở khoảng cửa trong nhu mô gan và hình thành các dải xơ nối, mức độ tổn thương tăng theo thời gian sử dụng hóa chất. Sau 1 tháng sử dụng CCl<sub>4</sub>, xơ tập trung ở khoảng cửa (giai đoạn 1/4), sau 2 và 3 tháng,

sự hoại tử tập trung ở khoảng cửa và xơ xung quanh khoảng cửa và xuất hiện xơ khoảng cửa và xơ nối khoảng cửa với khoảng cửa (giai đoạn 2/4), một số chuột sau 3 tháng tiến triển xơ giai đoạn 3/4; hình ảnh hoại tử nằm dọc theo các tế bào gan bị thoái hóa mỡ. Ngoài ra, còn có hiện tượng ứ mật trong các tế bào gan từ sau 2 tháng sử dụng  $\text{CCl}_4$ . Kết quả hình ảnh về sự hoại tử gan và ứ mật phù hợp với kết quả về hoạt độ ALT và AST, tăng Bilirubin, giảm Triglyceride. Tuy nhiên, hình ảnh nhu mô gan cho thấy các tế bào gan bị thoái hóa mỡ và hoại

tử nặng ở nhóm 3 tháng, nhưng khả năng còn bù nên một số chỉ số chưa thay albumin, cholesterol.

- Siêu cấu trúc: Kết quả nhuộm H&E cho thấy, các tế bào gan ở nhóm đối chứng bình thường, sau 1 tháng sử dụng  $\text{CCl}_4$ , một số tế bào gan bị thoái hóa mỡ, nằm rải rác trên nhu mô gan. Sự thoái hóa mỡ tăng sau 2 và 3 tháng sử dụng  $\text{CCl}_4$ , các tế bào gan bị thoái hóa mỡ xung quanh tiểu thùy gan. Ngoài ra, sau 2 tháng sử dụng  $\text{CCl}_4$ , nhìn rõ xuất hiện hoại tử xung quanh khoảng cửa, sau 3 tháng, hoại tử còn nằm dọc theo các tế bào gan bị thoái hóa mỡ.



**Hình 1.** Cấu trúc vi thể gan chuột các nhóm nhuộm H&E.

A: Đối chứng                      B: Tiêm  $\text{CCl}_4$  sau 1 tháng

C: Tiêm  $\text{CCl}_4$  sau 2 tháng      D: Tiêm  $\text{CCl}_4$  sau 3 tháng

PT: khoảng cửa, mũi tên đen: tĩnh mạch trung tâm,

mũi tên đỏ: tế bào gan bị thoái hóa mỡ, mũi tên vàng: hoại tử, — 50 mcm.

## 2. Đánh giá hiệu quả điều trị của viên nang NGL

- Kết quả đánh giá trọng lượng chuột sau khi được phân nhóm điều trị so với nhóm chứng được thể hiện ở bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả xác định trọng lượng của các nhóm chuột.

Thời gian (Tuần)		NGL1	NGL2	NGL3	Silymarin	Hoàng Bá	Sài Hồ	Chứng
W0	Mean	28,53	28,82	28,83	28,98	28,72	28,61	28,69
	SD	3,08	2,84	3,26	3,19	2,71	2,74	3,06
W1	Mean	29,05	30,31	29,82	28,98	28,72	28,61	28,60
	SD	3,33	3,47	3,41	3,19	2,71	2,74	3,28
W2	Mean	31,48	32,12	31,60	30,28	29,86	29,62	28,01
	SD	3,60	3,68	3,62	3,05	2,82	2,58	3,21
W3	Mean	31,89	33,35	32,81	30,92	30,65	30,67	29,89
	SD	3,65	3,82	3,76	2,36	2,46	2,50	3,42
W4	Mean	32,71	34,22	33,67	31,52	31,16	31,04	30,52
	SD	3,75	3,92	3,86	1,96	2,09	2,07	3,49
W5	Mean	33,23	33,65	33,11	31,94	31,49	31,39	30,20
	SD	3,95	4,00	3,94	1,79	2,14	1,39	1,51

Kết quả cho thấy trọng lượng của 3 nhóm điều trị bằng NGL cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng không điều trị sau 5 tuần ( $p < 0,05$ ).

- Chỉ số máu khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm. Điều này có thể do chức năng thận, tủy xương còn tốt.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của CCl<sub>4</sub> tới các chỉ số huyết học của chuột.

Chỉ tiêu nghiên cứu		Bạch cầu (G/L)	Hồng cầu (T/L)	Tiểu cầu (G/L)	Hemoglobin (g/L)	Hematocrit (%)
Chứng W0	TB	8,11	8,1	739,58	121,5	36,72
	SD	0,47	1,01	72,11	14,49	4,78
Chứng W5	TB	6,06	7,55	722,51	114,9	34,46
	SD	0,66	0,82	78,6	12,5	3,75
NGL1 W0	TB	8,13	8,12	736,62	120,9	36,7
	SD	0,53	0,99	76,28	15,32	5,1
NGL1 W5	TB	8,1	8,11	830,2	126,82	36,88
	SD	0,96	0,96	98,71	15,08	4,39
NGL2 W0	TB	8,12	8,09	737,75	121,4	36,79
	SD	0,45	0,91	64,71	12,63	4,58
NGL2 W5	TB	8,56	8,09	760,23	126,46	36,33
	SD	1,02	0,96	90,39	15,04	4,32
NGL3 W0	TB	8,09	8,08	738,73	121,32	36,77
	SD	0,47	0,97	70,73	14,21	4,92
NGL3 W5	TB	7,33	6,81	737,53	118,92	36,11
	SD	0,87	0,81	87,69	14,14	4,29
Silymarine W0	TB	8,12	8,11	740,22	121,64	36,89
	SD	0,47	0,96	68,45	13,77	4,78
Silymarine W5	TB	7,18	6,67	722,84	116,55	35,39
	SD	0,91	0,84	91,29	14,72	4,47
Hoàng bá W0	TB	8,15	8,05	737,35	120,95	36,72
	SD	0,47	0,85	65,42	12,06	4,55
Hoàng bá W5	TB	8,07	8,08	727,28	126,38	36,75
	SD	1,05	1,05	107,17	16,37	4,76
Sài hồ W0	TB	8,11	8,05	736,37	120,99	36,83
	SD	0,52	0,97	74,15	14,48	5,45
Sài hồ W5	TB	8,88	8,39	788,60	131,18	37,68
	SD	0,92	0,87	81,72	13,59	3,90

Hoạt độ các enzyme gan ALT, AST; nồng độ bilirubin trong huyết tương chuột không được điều trị tăng rõ rệt so với các nhóm được điều trị bằng NGL. Các chỉ số sinh hóa khác chưa khác biệt đáng kể.

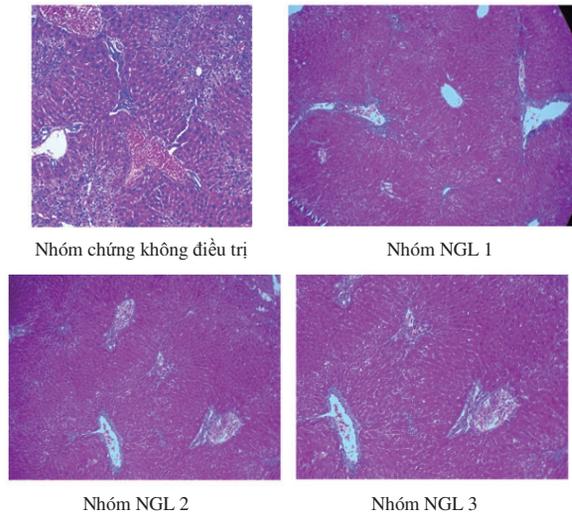
**Bảng 5.** Các chỉ số sinh hóa của các nhóm chuột.

Chỉ tiêu		ALT (U/L)	AST (U/L)	Albumin (g/L)	Bilirubin ( $\mu$ mol/L)	Cholesterol (mmol/L)	Triglyceride (mmol/L)
Chứng	TB	122,71	198,22	19,23	13	2,35	1,2
W0	SD	16,35	22,7	2,43	1,83	0,29	0,15
Chứng	TB	219,38	379,91	18,55	13,26	2,31	1,14
W5	SD	23,86	41,33	2,02	1,44	0,25	0,13
NGL1	TB	122,35	197,91	19,28	12,98	2,36	1,21
W0	SD	16,67	22,91	2,6	1,93	0,32	0,17
NGL1	TB	120,33*	192,76*	18,12	5,57*	2,47	1,22
W5	SD	14,31	22,92	2,15	0,66	0,29	0,14
NGL2	TB	123,05	198,65	19,3	13,08	2,38	1,2
W0	SD	15,88	22,52	2,45	1,94	0,31	0,14
NGL2	TB	121,89*	203,53*	19,27	6,78*	2,84	1,29
W5	SD	14,49	24,2	2,29	0,81	0,34	0,16
NGL3	TB	123,35	198,86	19,36	13,09	2,38	1,21
W0	SD	16,76	23,06	2,43	1,92	0,29	0,15
NGL3	TB	124,98*	211,70*	20,41	6,46*	2,28	1,1
W5	SD	14,86	25,17	2,43	0,77	0,27	0,13
Sài hồ	TB	123,34	198,94	19,42	13,10	2,40	1,22
W0	SD	18,71	24,50	2,92	2,04	0,24	0,15
Sài hồ	TB	156,44	241,12	19,99	7,04	2,94	1,34
W5	SD	13,10	21,88	2,07	0,73	0,30	0,14
Hoàng bá	TB	123,12	199,69	19,38	13,11	2,40	1,24
W0	SD	15,52	22,51	2,45	1,85	0,29	0,11
Hoàng bá	TB	139,90	212,08	18,06	5,55	2,46	1,21
W5	SD	15,53	24,88	2,34	0,72	0,32	0,16
Silymarin	TB	124,20	200,52	19,43	13,14	2,39	1,21
W0	SD	16,18	22,30	2,35	1,85	0,31	0,17
Silymarin	TB	122,49	207,48	20,00	6,33	2,23	1,08
W5	SD	15,47	26,20	2,53	0,80	0,28	0,14

Đặc điểm hình thái mô học gan, nhận thấy được sự khác biệt rõ ràng về màu sắc, và hình thái của gan sau điều trị so với nhóm chứng. Gan chuột nhóm điều trị có màu tươi, ít hạt trên bề mặt, ngược với nhóm chứng không điều trị.

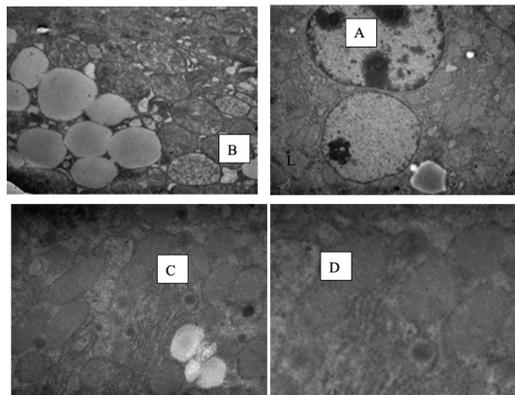
Phù hợp với hình ảnh đại thể, hình ảnh vi thể trên nhóm điều trị bằng NGL cho thấy tổn thương xơ gan giai đoạn 2 có xu hướng ổn định hoặc giảm dần vì ít hình ảnh tổn thương tế bào. Điều này có thể lý giải cho hình ảnh đại thể ít hạt trên bề mặt.

Kết quả hình ảnh về tổn thương gan phù hợp với kết quả về hoạt độ ALT và AST của các nhóm.



**Hình 2.** Cấu trúc vi thể gan chuột ở các nhóm.

- Các nhóm chuột được điều trị bằng NGL cũng cho thấy rất ít các hạt mỡ bên trong tế bào, khác biệt rõ ràng với nhóm không điều trị.



**Hình 3.** Cấu trúc vi thể gan các nhóm dưới kính hiển vi điện tử truyền qua.

A: Chứng không điều trị; B: NGL 1; C: NGL 2; D: NGL 3.

## KẾT LUẬN

Tiêm dưới da  $\text{CCl}_4$  sau 1 - 3 tháng với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần, mô hình xơ gan trên chuột nhất đã cho thấy mức độ xơ hóa gan theo thời gian sử dụng hóa chất. Sau 1 tháng tiêm dưới da  $\text{CCl}_4$ : Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 1/4. Sau 2 tháng tiêm dưới da  $\text{CCl}_4$ : Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 2/4 trên toàn bộ số chuột gây mô hình. Sau 3 tháng tiêm dưới da  $\text{CCl}_4$ : Chuột hình thành xơ hóa gan ở giai đoạn 2/4 và 3/4, có một số chuột chết sau 3 tháng gây xơ gan. Vì vậy, có thể lựa chọn mức liều trên kéo dài 2 tháng để gây mô hình xơ gan ổn định trên chuột.

Tiêm dưới da  $\text{CCl}_4$  sau 2 tháng với liều 160 mg/kg pha trong dầu olive với tỷ lệ 1:18 tương ứng với liều 2 mL/kg x 2 lần/tuần x 8 tuần, chuột được điều trị bằng NGL liều tương đương lâm sàng, gấp đôi và gấp ba liều lâm sàng đều có khả năng cải thiện tổn thương gan ở mức sinh hóa, tế bào. Trong nghiên cứu này, hoạt độ các enzyme gan ALT, AST; nồng độ bilirubin trong huyết tương chuột không được điều trị tăng rõ rệt so với các nhóm được điều trị bằng NGL. Các chỉ số sinh hóa khác chưa khác biệt đáng kể.

Khi xét về đặc điểm hình thái mô học gan, nhận thấy được sự khác biệt rõ ràng về màu sắc, và hình thái của gan sau điều trị so với nhóm chứng. Gan chuột nhóm điều trị có màu tươi, ít hạt trên bề mặt, ngược với nhóm chứng không điều trị. Các nhóm chuột được điều trị bằng NGL cũng cho thấy rất ít các hạt mỡ bên trong tế bào, khác biệt rõ ràng với nhóm không điều trị.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS Asrani SK. Burden of liver diseases in the world. *Journal of Hepatology*. 2019; 70(1):151-171.
2. Matthias Pinter, Michael Trauner, Markus Peck-Radosavljevic, and Wolfgang Sieghart. Cancer and liver cirrhosis: Implications on prognosis and management. *ESMO Open*. 2016; 1(2):e000042.
3. Bruno Cogliati, et al. Sara Crespo Yanguas. Experimental models of liver fibrosis. *Arch Toxicol*. 2016; 90(5): 1025-1048.
4. Trần Hồng Diễm. Xây dựng mô hình và thử nghiệm điều trị bệnh xơ hóa gan bằng liệu pháp tế bào gốc trên chuột nhắt trắng (*Mus musculus* var. Albino). Luận văn Thạc sỹ Sinh học. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh 2010:18-19.

5. Nguyễn Thị Thanh Lan, Nguyễn Trọng Tuấn và Đái Thị Xuân Trang Phan Kim Định. Khảo sát khả năng bảo vệ gan của cao methanol lá mơ leo (*Paederia scandens* L.) trên chuột tổn thương gan bằng carbon tetrachloride. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2018; 54(7A):94-100.
6. Nguyễn Thị Uyên và CS. Tác dụng bảo vệ tế bào gan của cao định chuẩn quả me rừng trên mô hình gây tổn thương gan bằng carbon tetrachlorid. *Tạp chí Dược liệu*. 2019; 24(2).
7. Chiung M Chen, MA Young-Hee Yoon. Liver cirrhosis mortality in the United States: National, State, and regional trends, 2000-2015. *National Institutes of Health, Surveillance*. 2018; report #111.
8. Garcia-Tsao G, Pagliaro L D'Amico G. Natural history and prognostic indicators of survival on cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *Journal of Hepatology*. 2006; 44(1):217-231.
9. Robert LT, et al Joseph TD. Portal hypertension and cirrhosis. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 10e, Ed.: McGraw - Hill Education, Chapter 37.
10. World Health Organization. World Hepatitis day: Increased knowledge key to prevention and treatment of Hepatitis in Viet Nam. 2016.
11. Wen-Ce Zhou, Quan-Bao Zhang, and Liang Qiao. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*. 2014; 20(23): 7312-7324.

**PHÂN TÍCH MỘT SỐ CHỈ SỐ TRONG KÊ ĐƠN THUỐC  
ĐIỀU TRỊ NGOẠI TRÚ TẠI BỆNH VIỆN QUÂN Y 105 NĂM 2021**

*Hồ Cảnh Hậu<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Lan Hương<sup>1</sup>  
Nguyễn Cẩm Vân<sup>2\*</sup>, Nguyễn Thị Tâm<sup>1</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Phân tích một số chỉ số trong kê đơn thuốc điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Quân y 105 (BVQY105) năm 2021. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu mô tả cắt ngang, phân tích một số chỉ số trong kê đơn thuốc điều trị ngoại trú từ ngày 01/01/2021 - 31/12/2021. **Kết quả:** Trong 400 đơn, 76,0% là bệnh mạn tính, 54,0% mắc 01 bệnh, độ tuổi trung bình  $63,41 \pm 14,92$  tuổi, số thuốc trung bình trong đơn  $3,08 \pm 1,39$  thuốc. Có tất cả 16 nhóm tác dụng, nhóm thuốc tim mạch, nhóm hormone và tác động hệ thống nội tiết chiếm tỷ lệ cao nhất (37,39% và 20,52%), số lượng thuốc sản xuất trong nước chiếm 56,29%, chủ yếu là thuốc đường uống (94,57%). Trong đơn, phát hiện có 6 mã liên quan đến các vấn đề về thuốc (DRPs - Drug Related Problems). Mã DRPs T2.6 gặp nhiều nhất (90,92%), mã T1.5 gặp ít nhất (0,41%). Xuất hiện 4 cặp tương tác bất lợi, cặp thuốc Ciprofloxacin 500mg - Tizanidin hydroclorid 4mg là cặp tương tác chống chỉ định ở mức độ nghiêm trọng xuất hiện 01 lần trong đơn. **Kết luận:** Phân tích thành công một số chỉ số trong kê đơn thuốc điều trị ngoại trú tại BVQY105 năm 2021; trong đó, phân tích được số thuốc trung bình trong đơn; các nhóm tác dụng, nguồn gốc, đường dùng của thuốc và phát hiện 6 DRPs trong đơn.

**Từ khóa:** Kê đơn thuốc; Điều trị ngoại trú; Bệnh viện Quân y 105.

**ANALYSIS OF SOME INDICATORS IN THE OUTPATIENT  
PRESCRIPTION AT MILITARY HOSPITAL 105 IN 2021**

**Abstract**

**Objectives:** To analyze some indicators in the outpatient prescription at Military Hospital 105 in 2021. **Methods:** A cross-sectional descriptive study was

---

<sup>1</sup>Bệnh viện Quân y 105

<sup>2</sup>Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Cẩm Vân (Nguyencamvan.hvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 18/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 02/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.465>

conducted to analyze some indicators in the outpatient prescription from January 1, 2021 to December 31, 2021. **Results:** Among 400 prescriptions, 76.0% were for chronic diseases, 54.0% had 1 disease, the average age was  $63.41 \pm 14.92$  years old, and the average number of drugs in the prescription was  $3.08 \pm 1.39$  drugs. There were 16 groups of effects. Cardiovascular drugs, hormone, and endocrine system effects drugs accounted for the highest proportions (37.39% and 20.52%, respectively); the number of domestically produced drugs was 56.29%, mainly oral drugs (94.57%). In the prescription, there were 6 codes related to drug-related problems (DRPs). DRPs code T2.6 was the most common one (90.92%) while code T1.5 was the least common one (0.41%). There were 4 pairs of adverse interactions, the drug pair Ciprofloxacin 500mg - Tizanidin hydrochloride 4mg was a serious contraindicated interaction pair that appeared once in the prescription. **Conclusion:** Some indicators in the outpatient prescription at Military Hospital 105 in 2021 had been analyzed, including the average number of drugs in the prescription, the drug's effect groups, origin, and route of administration detected 6 DRPs in the prescription.

**Keywords:** Prescription; Outpatient treatment; Military Hospital 105.

### **ĐẶT VẤN ĐỀ**

Sử dụng thuốc hợp lý, an toàn và hiệu quả luôn đóng vai trò quan trọng trong công tác chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân, đặc biệt trong điều trị ngoại trú cho người bệnh (NB). Thực tế cho thấy, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị như việc lựa chọn thuốc, phối hợp thuốc trong đơn; sự tuân thủ điều trị về liều dùng, đường dùng, thời điểm dùng của NB; chỉ định của người kê đơn về phác đồ điều trị, độ dài đợt điều trị; các tương tác

trong phối hợp thuốc... Từ đó, làm thuyên giảm đáng kể tình trạng bệnh nhưng cũng có thể làm tăng nguy cơ nhập viện.

BVQY105 là Bệnh viện Đa khoa hạng I trong quân đội, có nhiệm vụ chăm sóc sức khỏe (CSSK) cho bộ đội và nhân dân trên địa bàn đóng quân; trong đó, có lượng lớn NB đến khám và điều trị ngoại trú. Trong năm 2021, Bệnh viện đã tiếp nhận khoảng 168.000 lượt NB đến khám và được kê đơn thuốc BHYT. Để nâng cao chất

lượng công tác CSSK cho NB ngoại trú, vấn đề kê đơn thuốc luôn được Bệnh viện quan tâm và chú trọng, đây cũng là một trong những cơ sở quan trọng để Bệnh viện và Hội đồng Thuốc và Điều trị Bệnh viện xác định được nhu cầu và xây dựng danh mục thuốc bệnh viện phù hợp với nhu cầu điều trị. Trong giới hạn của nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành: *Phân tích một số chỉ tiêu trong kê đơn thuốc điều trị ngoại trú tại Bệnh viện năm 2021 để giúp người làm công tác khám bệnh và kê đơn, người làm công tác dược lâm sàng tại cơ sở có góc nhìn cụ thể về một số vấn đề liên quan đến thuốc đã được kê trong đơn, từ đó có sự tác động, can thiệp kịp thời giúp cho việc sử dụng thuốc hợp lý, an toàn, hiệu quả hơn.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

400 đơn thuốc điều trị ngoại trú được kê tại BVQY105 từ ngày 01/01/2021 - 31/12/2021. Trong đơn, các DRPs được xác định bằng cách so sánh đơn thuốc được kê với các nguồn tài liệu tham khảo: Tờ hướng dẫn sử

dụng thuốc; dược thư Quốc gia Việt Nam 2018; hướng dẫn chẩn đoán và điều trị của Bộ Y tế và được phân loại theo hệ thống chăm sóc dược Châu Âu (PCNE - Pharmaceutical Care Network Europe) phiên bản 9.1 [1, 2].

### 2. Phương pháp nghiên cứu

*\* Thiết kế nghiên cứu:*

Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên cơ sở hồi cứu số liệu các đơn thuốc điều trị ngoại trú lưu tại Ban Kế hoạch Tổng hợp, BVQY105 từ ngày 01/01/2021 - 31/12/2021.

*\* Cỡ mẫu và chọn mẫu nghiên cứu:*

Sử dụng công thức tính cỡ mẫu cho việc ước tính một tỷ lệ trong quần thể để tính số đơn thuốc cần nghiên cứu:  $n = Z^2_{(1-\alpha/2)} P(1-P) / d^2$ ; trong đó: n là số đơn thuốc tối thiểu cần có để nghiên cứu;  $Z_{(1-\alpha/2)}$  là hệ số tin cậy; P là tỷ lệ đơn đúng quy định ước tính (gán  $P = 0,5$ ); d là khoảng sai lệch cho phép giữa tỷ lệ thu được từ mẫu và tỷ lệ của quần thể. Thay vào công thức được  $n = 385$ . Nghiên cứu lựa chọn lấy 400 đơn thuốc ngoại trú. Sử dụng kỹ thuật chọn mẫu hệ thống để chọn được 400 đơn thuốc và tiến hành phân tích [3].

\* *Biến số nghiên cứu:*

**Bảng 1.** Các biến số nghiên cứu.

TT	Biến số	Chỉ số nghiên cứu	Phân loại biến
1	Đặc điểm về bệnh trong đơn thuốc		
	Tính chất bệnh	Mạn tính; mạn-cấp tính; cấp tính	
	Số bệnh mắc phải	1 bệnh; 2 bệnh; $\geq 3$ bệnh	Biến dạng số
	Tuổi mắc bệnh	Tuổi trung bình mắc bệnh	
	Thời gian dùng thuốc	Thời gian dùng thuốc trung bình theo đợt kê đơn	
2	Số thuốc được kê trong đơn		
	- Số thuốc trung bình/ đơn		Biến dạng số
	- Đơn có 1 - 3 thuốc; 4 - 5 thuốc; 6 - 8 thuốc		
3	Số thuốc được kê đơn theo nhóm tác dụng		
	- Nhóm thuốc kháng sinh; nhóm NSAIDs; nhóm thuốc khác...		Biến dạng số
4	Số thuốc được kê đơn theo nguồn gốc, đường dùng		Biến dạng số
5	Một số vấn đề liên quan đến thuốc trong đơn		
	Lựa chọn thuốc (T1)	Tương tác thuốc (T1.2); Đường dùng/Dạng bào chế chưa phù hợp (T1.4); Có chống chỉ định (T1.5); Không có chỉ định (T1.6)	Biến phân loại
	Liều dùng (T2)	Thời điểm dùng chưa phù hợp (T2.5); Hướng dẫn liều chưa phù hợp, chưa rõ ràng (T2.6)	
	Tương tác thuốc	Các cặp tương tác bất lợi	

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được Khoa Dược, Ban Kế hoạch tổng hợp, BVQY105 đồng ý và cung cấp số liệu. Các thông tin trong nghiên cứu được đảm bảo bí mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**1. Đặc điểm về bệnh trong đơn thuốc**

**Bảng 2.** Đặc điểm bệnh trong đơn thuốc ngoại trú.

	<b>Nội dung</b>	<b>Số lượt (n = 400)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
Tính chất bệnh	Mạn tính	304	76,00
	Mạn - cấp tính	10	2,50
	Cấp tính	86	21,50
Số bệnh mắc phải	1 bệnh	216	54,00
	2 bệnh	119	29,75
	≥ 3 bệnh	65	16,25
Tuổi mắc bệnh	Trung bình (min - max)	63,41 ± 14,92 (12 - 91)	
Thời gian dùng thuốc	Trung bình (min - max)	27,87 ± 17,37 (3 - 90)	

Theo bảng 2, bệnh mạn tính chiếm tỷ lệ cao nhất với 76,0%. 54,0% số NB mắc 01 bệnh, với độ tuổi trung bình mắc là 63,41 ± 14,92 tuổi. Thời gian dùng thuốc trung bình theo đợt kê đơn là 27,87 ± 17,37 ngày; trong đó, ngắn nhất là 03 ngày, dài nhất là 90 ngày (là trường hợp NB sử dụng thuốc Levothyrocin 100mcg điều trị u ác tính của tuyến giáp).

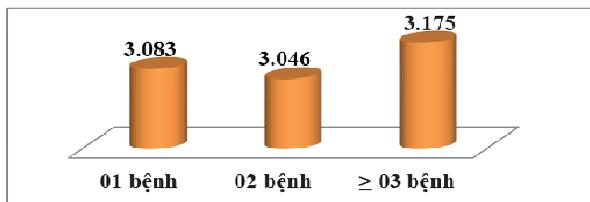
**2. Số thuốc được kê trong đơn**

**Bảng 3.** Số thuốc trong đơn.

	<b>Nội dung</b>	<b>Số lượt (n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
Số thuốc trung bình/đơn		3,08 ± 1,39	
Đơn có 1- 3 thuốc		263	65,75
Đơn có 4 - 5 thuốc		117	29,25
Đơn có 6 - 8 thuốc		20	5,0
Tổng		400	100,00

Bảng 3 cho thấy, số thuốc được kê trung bình trong đơn là 3,08 ± 1,39 thuốc; trong đó, đơn kê 1 - 3 thuốc có số lượt kê cao nhất, chiếm 2/3 số đơn thuốc được kê (65,75%). Đơn kê 6 - 8 thuốc có số lượt kê thấp nhất, chiếm 5%.

Mối tương quan giữa số thuốc trung bình/đơn với số bệnh mắc phải được thể hiện trong hình 1.



**Hình 1.** Biểu đồ tương quan giữa số thuốc trung bình/đơn với số bệnh mắc phải.

Hình 1 cho thấy, NB mắc từ 03 bệnh trở lên có số thuốc trung bình/đơn là 3,175 thuốc cao hơn NB mắc 01 bệnh và 02 bệnh. Tuy nhiên, sự chênh lệch này là không đáng kể và đều dao động ở mức trung bình là 3 thuốc/đơn.

### 3. Số thuốc được kê đơn theo nhóm tác dụng

**Bảng 4.** Số thuốc được kê đơn theo nhóm tác dụng.

TT	Nhóm tác dụng	Số lượt (n)	Tỷ lệ (%)
1	Tim mạch	461	37,39
2	Hocmon và tác động hệ thống nội tiết	253	20,52
3	Giảm đau, hạ sốt, chống viêm không steroid	114	9,25
4	Điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn	75	6,08
5	Đường tiêu hoá	43	3,49
6	Chống dị ứng và quá mẫn	24	1,95
7	Giải độc, trong trường hợp ngộ độc	31	2,51
8	Khoáng chất và vitamin	18	1,46
9	Điều trị đường tiết niệu	17	1,38
10	Chống co giật, chống động kinh	14	1,14
11	Giãn cơ và ức chế cholinestase	13	1,05
12	Điều trị mắt, tai mũi họng	11	0,89
13	Tác dụng trên đường hô hấp	8	0,65
14	Chống parkinson	6	0,49
15	Lợi tiểu	1	0,08
16	Thuốc khác	138	11,19
	<b>Tổng</b>	<b>1.233</b>	<b>100,00</b>

Theo danh mục thuốc (DMT) thiết yếu và DMT bảo hiểm y tế chi trả của Bộ Y tế ban hành hàng năm, các thuốc được kê đơn ngoại trú đã khảo sát gồm 16 nhóm tác dụng với tổng số 1.233 lượt thuốc được kê đơn, trong đó nhóm tim mạch chiếm tỷ lệ cao nhất với 37,39% (461 khoản), thứ hai là thuốc hormone và tác động hệ thống nội tiết với 20,52% (253 khoản).

#### **4. Số thuốc được kê đơn theo nguồn gốc, đường dùng**

**Bảng 5.** Số thuốc được kê đơn theo nguồn gốc, đường dùng.

	<b>Chỉ tiêu</b>	<b>Số lượt (n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
Theo nguồn gốc	Thuốc sản xuất trong nước	694	56,29
	Thuốc nhập khẩu	539	43,71
Theo đường dùng	Thuốc đường uống	1.166	94,57
	Thuốc đường tiêm	37	3,00
	Các đường dùng khác	30	2,43
	Tổng	1.233	100

Kết quả bảng 5 cho thấy:

- Về nguồn gốc: Không có sự chênh lệch nhiều giữa thuốc sản xuất trong nước và thuốc nhập khẩu, tương ứng 694/539 lượt kê, chiếm tỷ lệ lần lượt là 56,29% và 43,71%.

- Về đường dùng: Thuốc đường uống chiếm chủ yếu với 94,57%. Đường tiêm và các đường dùng khác chỉ chiếm tỷ lệ rất nhỏ, tương ứng 3,0% và 2,43%.

#### **5. Một số vấn đề liên quan đến thuốc trong đơn**

**Bảng 6.** Một số vấn đề liên quan đến thuốc.

<b>Nhóm</b>	<b>Phân loại DRPs</b>	<b>Các đơn có xuất hiện DRPs</b>	
		<b>Số lượt thuốc (n)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
Lựa chọn thuốc (T1)	Tương tác thuốc (T1.2)	35	2,84
	Đường dùng/dạng bào chế chưa phù hợp (T1.4)	345	27,98
	Có chống chỉ định (T1.5)	05	0,41
	Không có chỉ định (T1.6)	11	0,89
Liều dùng (T2)	Thời điểm dùng chưa phù hợp (T2.5)	287	23,28
	Hướng dẫn liều chưa phù hợp, chưa rõ ràng (T2.6)	1.121	90,92
Tổng lượt thuốc được kê đơn		1.233	100,00

Bảng 6 cho thấy, trong quá trình kê đơn thuốc, có 6 nội dung xuất hiện DRPs liên quan đến lựa chọn thuốc (mã DRPs T1) và liều dùng (mã DRPs T2):

- Về lựa chọn thuốc: Có 4 mã DRPs liên quan đến lựa chọn thuốc xuất hiện trong đơn; trong đó, đường dùng/dạng bào chế chưa phù hợp (T1.4) là DRPs xuất hiện nhiều nhất với 345/1.233 lượt (chiếm 27,98%); có chống chỉ định (T1.5) là mã DRPs xuất hiện ít nhất (5/1.233 lượt, chiếm 0,41%).

- Về liều dùng: Có 2 mã DRPs xuất hiện trong đó mã DRPs T2.6 liên quan đến hướng dẫn liều chưa phù hợp, chưa rõ ràng gặp nhiều nhất, 1.121/1.233 lượt, chiếm tới 90,92%.

Đối với mã DRPs T1.2 liên quan đến tương tác thuốc, nghiên cứu đã phát hiện các cặp tương tác bất lợi trong phối hợp sử dụng thuốc. Thống kê các cặp tương tác bất lợi thu được kết quả thể hiện trong bảng 7.

**Bảng 7.** Các cặp tương tác bất lợi trong phối hợp sử dụng thuốc.

<b>TT</b>	<b>Các cặp tương tác</b>	<b>Số lượt xuất hiện (n)</b>	<b>Mức độ tương tác</b>	<b>Tính chất tương tác</b>
1	Acarbose (SaVi Acarbose BS20) 100mg - Gliclazid (Golddicron TSYT21) 30mg	31	Trung bình	Xem xét điều chỉnh liều pháp
2	Allopurinol (Sadapron TBV20) 100mg - Perindopril + amlodipin (Beatil TBS19) 4mg + 10mg	2	Nhẹ	Theo dõi điều trị
3	Acetylsalicylic acid (Dekasiam TBV20) 100mg - Spironolacton (Verospiron TSYT21) 25mg	1	Nhẹ	Theo dõi điều trị
4	Ciprofloxacin (Opecipro TSYT19) 500mg - Tizanidin hydroclorid (Colthimus TBV19) 4mg	1	Nghiêm trọng	Tránh kết hợp

Bảng 7 cho thấy, có 4 cặp tương tác bất lợi xuất hiện trong đơn khi phối hợp sử dụng thuốc. Tùy theo tính chất tương tác mà sự phối hợp các thuốc này cần được theo dõi ở các mức độ khác nhau; trong đó, cặp Ciprofloxacin 500mg - Tizanidin hydroclorid 4mg là cặp tương tác chống chỉ định (mức độ nghiêm trọng), 3 cặp còn lại được đánh giá ở mức độ trung bình và nhẹ.

## BÀN LUẬN

Với 400 đơn thuốc được chọn, đa phần NB mắc bệnh mạn tính với thời gian điều trị dài (thời gian dùng thuốc trung bình  $27,87 \pm 17,37$  ngày). Điều này hoàn toàn phù hợp với đối tượng NB đến khám với độ tuổi trung bình  $63,41 \pm 14,92$ ; trong đó, người nhiều tuổi nhất là 91. Đây là cơ sở quan trọng giúp bệnh viện xác định nhu cầu sử dụng thuốc phù hợp với đối tượng điều trị ngoại trú và thời gian điều trị dài ngày.

Tại BVQY105, trung bình có  $3,08 \pm 1,39$  thuốc trong một đơn; trong đó, đơn có từ 1 - 3 thuốc là nhiều nhất, tương ứng với 65,75%. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Phạm Đình Thọ và CS tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 năm 2021 với trung bình 3,89 thuốc/đơn, thấp hơn kết quả nghiên cứu tại Bệnh viện Quân dân y Miền Đông với 4,31 thuốc/đơn [4, 5].

Khi phân tích mối tương quan giữa số thuốc trung bình/đơn với số bệnh mắc phải nhận thấy, mặc dù không có sự chênh lệch nhiều về số thuốc trung bình/đơn ở cả 3 trường hợp NB mắc 1 bệnh, 2 bệnh và trên 3 bệnh, nhưng qua kết quả bảng 2 cho thấy có 65/400 đơn có trên 3 bệnh, tương ứng với bảng 3 có 20/400 đơn kê từ 6 - 8 thuốc và 117/400 đơn có từ 4 - 5 thuốc. Điều

này phần nào giải thích được sự phù hợp trong phối hợp thuốc và số lượng thuốc trong đơn là tương đối phù hợp, khi số bệnh mắc càng nhiều, số thuốc cần dùng để điều trị tương ứng cũng cần nhiều hơn.

Trong 400 đơn thuốc ngoại trú năm 2021, các thuốc đã kê thuộc 16 nhóm tác dụng trong đó riêng 2 nhóm đứng đầu là thuốc tim mạch, thuốc hormone và tác động hệ thống nội tiết đã chiếm hơn 50% tổng số lượt thuốc được kê. Kết quả này phù hợp với tỷ lệ NB mắc bệnh mạn tính là chủ yếu với các bệnh như tim mạch, huyết áp, đái tháo đường, mỡ máu,... Đồng thời cũng phù hợp với đường dùng của thuốc khi các thuốc kê đơn chủ yếu là đường uống (94,57%). Trong đơn, có 37 lượt thuốc được kê dạng tiêm, đều là các trường hợp kê bút tiêm insulin (bút được thiết kế tự tiêm và được hướng dẫn đầy đủ để NB có thể tự thực hiện) và 30 lượt thuốc có đường dùng khác (thuốc bôi, nhỏ, xịt, đặt...); do đó, đều không cần sự hỗ trợ của nhân viên y tế khi sử dụng và phù hợp với kê đơn thuốc ngoại trú cho NB. Số lượng thuốc sản xuất trong nước được kê trong đơn cao hơn thuốc nhập khẩu (56,29% so với 43,71%) mặc dù không có sự chênh lệch lớn những cũng đã cho thấy việc chấp hành thực hiện cuộc vận động Người Việt Nam ưu tiên dùng thuốc Việt Nam của Bệnh viện [6].

Sử dụng thuốc hợp lý, an toàn và hiệu quả luôn là mục tiêu quan trọng của bác sỹ, dược sỹ trong điều trị cho NB. Tuy nhiên, việc xuất hiện DRPs vẫn có thể xảy ra tại bất kỳ thời điểm nào trong quá trình sử dụng thuốc, từ kê đơn thuốc của bác sỹ, cấp phát thuốc của dược sỹ đến thực hiện thuốc của điều dưỡng và sử dụng thuốc, tuân thủ điều trị của NB và cần phải được giám sát, cập nhật kịp thời.

Trong số các đơn thuốc ngoại trú thu thập được, mã DRPs xuất hiện trong đơn có liên quan đến lựa chọn thuốc (mã DRPs T1) và liều dùng (mã DRPs T2) theo cách phân loại của Bộ Y tế [7]. Với mã DRPs T1, trong 1.233 lượt thuốc được kê, phát hiện được 4 mã DRPs tương ứng T1.2, T1.4, T1.5 và T1.6; trong đó, phát hiện nhiều nhất là mã T1.4: Đường dùng/Dạng bào chế chưa phù hợp (27,98%), cụ thể: Thiếu hướng dẫn uống nguyên viên, không nhai, nghiền ở một số thuốc như Acetylsalicylic acid (Aspirin) 100 mg; Alfuzosin (Alsiful S.R. Tablets) 10mg; Gliclazid (Golddicron) 30mg,...

Với mã DRPs T2, trong 1.233 lượt thuốc được kê, phát hiện được 2 mã DRPs tương ứng T2.5 và T2.6; trong đó, phát hiện nhiều nhất là lỗi T2.6: Hướng dẫn liều chưa phù hợp, chưa rõ ràng (chiếm tới 90,92% lượt thuốc kê

đơn), cụ thể: Thiếu hướng dẫn uống trong bữa ăn hoặc uống sau miếng ăn đầu tiên đối với Acarbose (Bluecose) 100mg; thiếu hướng dẫn uống sau ăn đối với Alfuzosin (Alsiful S.R. Tablets/Xatral) 10mg, Allopurinol (Sadapron) 100mg...

Với mã DRPs T1.5: Có chống chỉ định (kê đơn chưa chú ý đến chống chỉ định của thuốc): Mặc dù số lượt xuất hiện rất ít (5/1.233 lượt, chiếm 0,41%) nhưng lỗi này có thể ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả điều trị của NB ngoại trú. Tương tự với mã DRPs T1.6: Không có chỉ định (chỉ định thuốc chưa phù hợp với chẩn đoán) mặc dù cũng chỉ xuất hiện 11/1.233 lượt thuốc, chiếm 0,89%, cụ thể: trong đơn có Alfuzosin (Alsiful S.R. Tablets/Xatral) 10mg nhưng không có chẩn đoán phì đại tiền liệt tuyến; không có chẩn đoán tăng acid uric máu hoặc gout nhưng có Allopurinol (Sadapron) 100mg trong đơn; không có chẩn đoán suy tĩnh mạch/trĩ nhưng có Diosmin (Isaias TBV20) 600mg trong đơn; không có chẩn đoán đau thắt ngực, suy tim... Nhưng có Ivabradin (NISTEN-F BS21) 7,5mg trong đơn,... Tất cả các trường hợp trên đều thiếu chẩn đoán so với các thuốc được kê trong đơn. Mặc dù về phía NB không ảnh hưởng đến quá trình điều trị, nhưng các vấn đề

này thuộc về công tác kê đơn của bác sỹ, ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng hoạt động giám sát sử dụng thuốc hợp lý, an toàn, hiệu quả trong bệnh viện. Do đó, việc phát hiện các DRPs có ý nghĩa quan trọng, cần được làm thường xuyên và liên tục.

Đối với mã DRPs T1.2, phát hiện được 35 lượt thuốc được kê đơn có liên quan đến tương tác thuốc, theo đó, nghiên cứu đã phát hiện và thống kê được 4 cặp tương tác bất lợi trong phối hợp thuốc [8, 9, 10]. Với cặp tương tác Acarbose 100mg - Gliclazid 30mg bất gặp nhiều nhất với 31/35 lượt tương tác bất lợi trong 400 đơn thuốc. Mặc dù tính chất tương tác chỉ dừng lại ở xem xét điều chỉnh liều pháp với mức độ trung bình; tuy nhiên, Acarbose là thuốc ức chế alpha-glucosidase có thể tăng cường tác dụng hạ đường huyết của Gliclazid. Do đó, nếu phối hợp 2 thuốc này, cần xem xét việc giảm liều Gliclazid 30mg khi bắt đầu điều trị bằng Acarbose 100mg và theo dõi tình trạng hạ đường huyết của NB. Với cặp tương tác Allopurinol 100mg - Perindopril 4mg, Amlodipin 10mg: Mặc dù tính chất tương tác chỉ dừng lại ở việc theo dõi điều trị ở mức độ nhẹ, nhưng trong một số trường hợp Perindopril 4mg có thể làm tăng khả năng xảy ra phản ứng dị ứng hoặc quá mẫn với Allopurinol ngay lập tức ở mức độ nghiêm trọng; do đó, nếu phải

sử dụng, cần thiết phải theo dõi phản ứng quá mẫn sau khi bắt đầu điều trị bằng Allopurinol trong ít nhất 5 tuần. Những điều này là thuận lợi nếu điều trị nội trú tại bệnh viện, nhưng sẽ là khó khăn trong quá trình điều trị tại nhà. Bác sỹ cần cần nhắc và hỏi tiền sử bệnh một cách cẩn thận trước khi đưa ra chỉ định điều trị.

Đối với cặp tương tác Ciprofloxacin 500mg - Tizanidin hydroclorid 4mg: Đây là cặp tương tác chống chỉ định ở mức độ nghiêm trọng, mặc dù chỉ phát hiện có 1 lượt kê đơn nhưng việc dùng Ciprofloxacin có thể làm tăng nồng độ Tizanidin trong huyết thanh, sự kết hợp này được liệt kê là chống chỉ định trong cả thông tin kê đơn của Tizanidin và Ciprofloxacin, vì một lý do nào đó, bác sỹ đã vô tình phối hợp 2 thuốc này với nhau. Những trường hợp như vậy cần được phát hiện kịp thời và khắc phục triệt để để không có những tương tác bất lợi như vậy xảy ra trong phối hợp thuốc, đặc biệt trong điều trị cho NB ngoại trú [9, 10].

Như vậy, có thể thấy DRPs luôn xuất hiện trong sử dụng thuốc, thậm chí đối với cán bộ y tế có kiến thức chuyên môn vững; từ đó, đòi hỏi công tác dược lâm sàng cần được phát huy tối đa nhằm phát hiện kịp thời, từ đó góp phần nâng cao hiệu quả trong sử dụng thuốc hợp lý, an toàn.

## KẾT LUẬN

Trong 400 đơn ngoại trú, 76,0% là bệnh mạn tính, 54,0% mắc 1 bệnh. Độ tuổi trung bình là  $63,41 \pm 14,92$ , số thuốc trung bình trong đơn là  $3,08 \pm 1,39$  thuốc, đơn kê 1 - 3 thuốc chiếm tỷ lệ nhiều nhất (65,75%). Có 16 nhóm thuốc theo nhóm tác dụng, nhóm thuốc tim mạch, nhóm thuốc hormone và tác động hệ thống nội tiết chiếm tỷ lệ cao nhất (lần lượt 37,39% và 20,52%), số lượng thuốc sản xuất trong nước chiếm 56,29%, các thuốc được kê đơn đường uống là chủ yếu (94,57%). Trong đơn, đã phát hiện có 6 mã DRPs liên quan đến lựa chọn thuốc (T1) và liều dùng (T2); trong đó, mã DRPs T2.6 gặp nhiều nhất (1.121/1.233 lượt thuốc, chiếm 90,92%), mã T1.5 gặp ít nhất (5/1.233 lượt thuốc, chiếm 0,41%). Với mã T1.2, có 35/1.233 lượt thuốc xuất hiện trong đơn với 4 cặp tương tác bất lợi trong đó cặp thuốc Ciprofloxacin 500mg - Tizanidin hydroclorid 4mg là cặp tương tác chống chỉ định ở mức độ nghiêm trọng, 3 cặp còn lại ở mức độ trung bình và nhẹ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Pharmaceutical Care Network Europe Foundation. *PCNE classification for drug related problems V 9.1*. 2019.
2. Bộ Y tế. Dược thư quốc gia Việt Nam 2018. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2018.

3. Bộ Y tế. *Dịch tễ dược học*. Nhà xuất bản Y học. 2014.

4. Phạm Anh Tuấn. Phân tích thực trạng kê đơn thuốc ngoại trú tại Bệnh viện Quân dân y Miền Đông năm 2019. *Luận văn tốt nghiệp Dược sĩ CKI*. Trường đại học Dược Hà Nội. 2019.

5. Phạm Đình Thọ, Vũ Hồng Vân, Nguyễn Hải Hà, Nguyễn Nhật Đức. Thực trạng việc kê đơn thuốc điều trị ngoại trú cho bệnh nhân tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. *Tạp chí Y Dược lâm sàng 108*. 2021; 16(7).

6. Bộ Y tế. Quyết định về việc phê duyệt Đề án Người Việt Nam ưu tiên dùng thuốc Việt Nam. Quyết định số 4824/QĐ-BYT ngày 03 tháng 12 năm 2012.

7. Bộ Y tế. Quyết định về việc ban hành mẫu phiếu phân tích sử dụng thuốc. Quyết định số 3547/QĐ-BYT ngày 22 tháng 7 năm 2021.

8. Bộ Y tế. Tương tác thuốc và chú ý khi chỉ định. Nhà xuất bản Y học. 2006.

9. [https://www.uptodate.com/drug-interactions/?source=responsive\\_home#di-druglist](https://www.uptodate.com/drug-interactions/?source=responsive_home#di-druglist).

10. <https://www.micromedexsolutions.com/micromedex2/librarian/PFDefaultActionId/evid-encexpert.ShowDrugInteractionsResults>.

## NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ VÀ ĐÁNH GIÁ SINH KHẢ DỤNG CỦA VIÊN NÉN PYRIDOSTIGMIN BROMID GIẢI PHÓNG KÉO DÀI

*Tô Minh Hùng<sup>1\*</sup>, Nguyễn Duy Chí<sup>1</sup>, Nguyễn Việt Quân<sup>1</sup>  
Nguyễn Thanh Tuyền<sup>1</sup>, Cao Thanh Hà<sup>1</sup>, Đào Hồng Loan<sup>1</sup>*

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Xây dựng công thức bào chế viên nén pyridostigmin bromid (PB) giải phóng kéo dài và bước đầu đánh giá sinh khả dụng trên thử nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Xây dựng công thức viên giải phóng kéo dài (GPKD) dạng cốt, bào chế viên bằng phương pháp xát hạt ướt, thiết kế thí nghiệm và tối ưu hóa bằng phần mềm MODDE 8.0. Đánh giá sinh khả dụng trên thử, so sánh với viên nén PB 30mg quy ước (đạt tiêu chuẩn Dược điển Mỹ (USP) 38). **Kết quả:** Tá dược kiểm soát giải phóng gồm hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC), sáp carnauba và tricalci phosphat là các biến độc lập; tỷ lệ phần trăm thuốc giải phóng sau 1 giờ (Y1), 4 giờ (Y4), 8 giờ (Y8) là biến phụ thuộc. Thu được công thức tối ưu có khả năng giải phóng hoạt chất in vitro trong giờ đầu là  $36,43 \pm 1,15\%$ , sau 4 giờ là  $73,14 \pm 2,27\%$  và sau 8 giờ là  $91,44 \pm 1,48\%$ . Sinh khả dụng trên thử của viên PB 90mg GPKD cao gấp 3,35 lần so với viên PB 30mg đối chiếu. **Kết luận:** Tối ưu hoá được công thức bào chế viên nén PB GPKD; sinh khả dụng trên thử của viên PB 90mg GPKD cao gấp hơn 3 lần so với viên PB 30mg quy ước.

**Từ khóa:** Pyridostigmin bromid; Tác dụng kéo dài; Sinh khả dụng.

## EVALUATION OF THE PREPARATION AND BIOAVAILABILITY OF PYRIDOSTIGMINE BROMIDE EXTENDED-RELEASE TABLETS

### Abstract

**Objectives:** To develop an extended-release pyridostigmine bromide (PB) tablet formula and evaluate its bioavailability in experimental rabbits.

<sup>1</sup>Viện Kiểm nghiệm, Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội

\*Tác giả liên hệ: Tô Minh Hùng (dshung72@gmail.com)

Ngày nhận bài: 19/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 12/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.524>

**Methods:** A matrix extended-release formula was developed using the granulation technique using MODDE 8.0 in experiment design and formula optimization. The bioavailability in rabbits was studied, compared to the conventional pharmaceutical PB 30mg tablet (qualified for US Pharmacopoeia (USP) 38)). **Results:** A combination of control release ingredients of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), carnauba wax, and tricalcium phosphate was used, considered as independent variables. Tablets were prepared using the wet granulation technique, and the percentage of drug released at 1 hour (Y1), 4 hours (Y2), and 8 hours (Y3) were considered as dependent variables. The optimal formula tablet was capable of releasing in vitro active ingredient in the first hour at  $36.43 \pm 1.15\%$ , after 4 hours at  $73.14 \pm 2.27\%$ , and after 8 hours at  $> 85\%$  of the active ingredient content. The bioavailability was 3.35 times higher than the reference tablet. **Conclusion:** The formula of the extended-release PB tablets was designed and optimized; a study of bioavailability in rabbits showed the bioavailability of the extended-release tablet was three times higher compared to the regular pharmaceutical tablet.

**Keywords:** Pyridostigmine bromide; Extended-release; Bioavailability.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

PB là một amoni bậc 4 có tác dụng làm tăng trương lực cơ, thường được sử dụng điều trị bệnh nhược cơ. Trong quân sự, thuốc được sử dụng ở hàm lượng thấp để dự phòng nhiễm chất độc thần kinh do thuốc gây ức chế cholinesterase có hồi phục để bảo vệ enzyme này đối với sự tấn công của chất độc thần kinh. Viên nén PB 30mg đã được nghiên cứu phát triển và được FDA chấp thuận. Từ năm 1986, Mỹ bắt đầu trang bị viên PB 30mg cho các đơn vị quân đội. Đây là thuốc rất cần thiết trong quân đội để dự phòng nhiễm chất độc thần kinh vì tính hiệu quả, an toàn đã được chứng minh và được áp dụng thực tế trong một số cuộc chiến tranh,

khủng bố trên thế giới. Tuy nhiên, thuốc có thời gian bán thải ngắn, nên với dạng bào chế quy ước thường phải uống 3 lần/ngày, vì vậy, khi bào chế dưới dạng GPKD sẽ nâng cao được sinh khả dụng, giảm số lần dùng, khắc phục hiện tượng đỉnh - đáy nên hạn chế tác dụng không mong muốn. Hiện nay, trên thế giới đã có một số nghiên cứu về viên PB GPKD nhưng chưa có nghiên cứu nào về viên PB 90mg. Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào về viên PB GPKD để dự phòng nhiễm độc chất độc thần kinh. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Xây dựng công thức bào chế viên nén PB 90mg GPKD và bước đầu đánh giá sinh khả dụng của chế phẩm trên thử nghiệm.*

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên liệu, hóa chất, thiết bị, động vật

Chất chuẩn PB của Bide Pharma, hàm lượng 99,99%.

Các nguyên liệu, hóa chất, tá dược khác: PB, HPMC K4M, HPMC K15M, HPMC K100M, sáp carnauba, tricalci phosphat... đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất.

Các thiết bị: Máy bào chế đa năng ERWEKA (Đức), máy dập viên 1 chày TDP-5 (Trung Quốc), máy đo độ hòa tan ERWEKA DT 700 (Đức), máy sắc ký lỏng khối phổ Acquity UPLC I-Class/Xevo TQD-Waters (Mỹ)... đạt tiêu chuẩn trong bào chế, sản xuất, kiểm nghiệm và nghiên cứu thuốc, được kiểm soát theo yêu cầu của GLP.

Thỏ trắng New Zealand, cân nặng  $2,5 \pm 0,5$ kg, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, do Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương cung cấp. Thỏ được nuôi thích nghi với điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất một tuần với chế độ ăn uống đầy đủ và được kiểm soát. Trước khi làm thí nghiệm cho nhịn đói 12 giờ và chỉ uống nước.

\* Thời gian nghiên cứu: Từ năm 2021 - 2023.

\* Địa điểm nghiên cứu: Viện Kiểm nghiệm, Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* Phương pháp xây dựng công thức bào chế:

Thiết kế viên tác dụng kéo dài hệ cốt thân nước và sơ nước ăn mòn. Trong đó, tá dược kiểm soát giải phóng gồm một polyme thân nước (HPMC) kết hợp với một sáp sơ nước (sáp carnauba), tá dược độn là tricalci phosphat và avicel. Thành phần công thức (CT) khảo sát như sau: PB 90mg (20%), HPMC K4M 5 - 25%, sáp carnauba 15 - 25%, tricalci phosphate 10 - 20%, magnesi stearate 1%, aerosil 0,5%, PVP K30 27mg, ethanol 96% (pha PVP 10%), avicel PH102 vừa đủ 450mg.

Tối ưu hóa CT: Thiết kế thí nghiệm theo mô hình mặt hợp tử tại tâm sử dụng phần mềm Modde 8.0. Dựa trên mạng thần kinh nhân tạo, ảnh hưởng của thông số đầu vào (biến độc lập) đến thông số đầu ra (biến phụ thuộc) để phân tích và thiết lập CT bào chế tối ưu.

Phương pháp bào chế: Bào chế theo phương pháp tạo hạt ướt. Pha PVP trong ethanol để được dung dịch PVP 10% dùng làm tá dược dính. Sáp carnauba được đun chảy cách thủy. Các tá dược còn lại qua rây 0,25mm. Trộn bột kép dược chất và các tá dược (trừ magnesi stearat và aerosil) theo nguyên tắc đồng lượng. Nhào trộn nhanh hỗn hợp bột kép với sáp

caruba nóng chảy, để nguội khối bột rồi trộn đều với PVP 10%, xát hạt qua rây 0,71mm, sấy se hạt ở 60°C trong 45 phút, sửa lại hạt qua rây và sấy tiếp đến khi độ ẩm đạt từ 2 - 3%. Hạt khô được trộn với magnesi stearat và aerosil, dập viên bằng máy dập viên một chày, đường kính chày cối 10mm, khối lượng viên 450mg, độ cứng 5 - 8kP.

Đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất: Tham khảo theo USP 38 (chuyên luận viên nén PB, có thẩm định lại) [9] và quy định Dược điển Việt Nam V, phụ lục 11.4 (viên nén GPKD), thử độ hòa tan với các điều kiện cụ thể như sau:

Dung môi: 900mL nước; thiết bị: Cánh khuấy, tốc độ 50 vòng/phút; nhiệt độ môi trường hòa tan:  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Sau các khoảng thời gian quy định, hút mỗi lần 20mL, bổ sung lại 20mL nước cất vào môi trường thử. Mẫu thử được pha loãng (nếu cần), lọc qua giấy lọc. Đo độ hấp thụ quang của dung dịch thử ở bước sóng 270nm, mẫu trắng là nước cất. Đồng thời, tiến hành cùng với mẫu chuẩn được pha với nồng độ phù hợp.

Định lượng PB bằng quang phổ UV-Vis. Nhóm nghiên cứu đã thẩm định phương pháp định lượng cho thấy phương pháp có độ chọn lọc cao, không bị ảnh hưởng bởi tá dược và xây dựng được đường chuẩn trong khoảng 6,11 - 48,87  $\mu\text{g/mL}$  có dạng đường

thẳng tuyến tính với phương trình hồi quy  $y = 0,1047x + 0,0274$ , hệ số tương quan  $R^2 = 0,9994$ .

Nồng độ hoạt chất hòa tan tại mỗi thời điểm được tính theo CT:

$$C_{ot} = \frac{A_t \cdot m_c \cdot HL_c \cdot d_t}{A_c \cdot d_c}$$

Hàm lượng % PB trong viên hòa tan so với hàm lượng ghi trên nhãn tính theo công thức:

$$HL (\%) = \frac{C_{ot} \cdot 100}{m_{nhãn}}$$

Trong đó:  $C_{ot}$  là nồng độ hoạt chất hòa tan đo được tại thời điểm  $t$  (mg/mL);  $A_t$ ,  $A_c$ : Lần lượt là độ hấp thụ của dung dịch thử và chuẩn;  $m_c$ ,  $HL_c$ : Lần lượt là khối lượng chuẩn (mg) và hàm lượng của chuẩn (%);  $d_t$ ,  $d_c$ : Lần lượt là độ pha loãng của dung dịch thử và chuẩn (mL);  $m_{nhãn}$ : Hàm lượng PB ghi trên nhãn (mg).

Nồng độ hoạt chất hòa tan tại thời điểm đầu tiên chính là nồng độ đo được. Tại các thời điểm sau, nồng độ hoạt chất hòa tan được tính cộng thêm lượng hoạt chất đã hút ra tại các thời điểm trước theo công thức sau:

$$C_t = C_{ot} + C_{t-1} \cdot \left(\frac{20}{900}\right)$$

Trong đó:  $C_t$  là nồng độ hoạt chất thực tế tại thời điểm  $t$  (mg/ml);  $C_{ot}$  là nồng độ hoạt chất đo được tại thời điểm  $t$ ;  $C_{t-1}$  là nồng độ hoạt chất thực tế tại thời điểm  $(t-1)$ .

\* *Phương pháp đánh giá sinh khả dụng:*

12 con thỏ được chia làm hai nhóm, mỗi nhóm 6 con. Mỗi con thỏ uống 01 viên chế phẩm: Nhóm 1 uống viên nén PB 30mg (đạt tiêu chuẩn USP 38), nhóm 2 uống viên nén PB 90mg GPKD [1, 5].

Phương pháp lấy mẫu: Cạo lông tai của thỏ, dùng kim truyền tĩnh mạch 24G đặt vào động mạch tai thỏ, lần lượt lấy 2mL mẫu máu vào thời gian trước khi dùng thuốc (mẫu trắng không có dược chất), sau đó, lấy máu lần lượt ở các thời điểm: 15 phút; 30 phút; 45 phút và 1 giờ, 1,5 giờ, 2 giờ, 2,5 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ đối với viên 30mg. Các thời điểm 30 phút và 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 16 giờ, 20 giờ, 24 giờ đối với viên 90mg.

Hút máu vào ống nghiệm có chứa sẵn chất chống đông máu (EDTA hoặc heparin). Ngay sau khi lấy, mỗi mẫu máu được lắc nhẹ để đảm bảo trộn hoàn toàn với các thuốc chống đông máu và ly tâm ở 5000 vòng/phút trong 15 phút để tách huyết tương. Huyết tương được chuyển sang ống nghiệm sạch, bảo quản ở  $-30^{\circ}\text{C}$  cho đến khi phân tích.

Phương pháp định lượng PB trong huyết tương thỏ bằng UPLC-MS đã

được xây dựng và thẩm định [10], với điều kiện khối phổ được xác định bằng phần mềm Xevo TQD IntelliStart của hệ thống với mảnh ion mẹ và mảnh ion con định lượng của PB là 180,99 và 72,00; theo nội chuẩn neostigmin là 222,99 và 72,00. Điều kiện sắc ký: Pha động: Acetonitril chứa 0,1% acid formic - dung dịch đệm (90:10); cột Phenomenex Kinetex C18 (100mm x 2,1mm;  $1,7\mu\text{m}$ ); tốc độ dòng: 0,3mL/phút; Detector MS ở chế độ ESI+; thể tích tiêm: 5 $\mu\text{L}$ ; Thời gian chạy: 3 phút.

Tính các thông số dược động học  $C_{\text{max}}$ ,  $T_{\text{max}}$ , AUC,  $T_{1/2}$  bằng Add in Pksolver trong Microsof Excel.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

### 1. Kết quả xây dựng công thức bào chế

Xây dựng CT bào chế với các biến độc lập và biến phụ thuộc được trình bày trong bảng 1 và 2. Do không có viên PB 90mg GPKD đối chiếu nên căn cứ vào tài liệu tham khảo [8], nghiên cứu đề ra yêu cầu về độ hòa tan với viên 90mg PB GPKD trong 1 giờ đầu giải phóng 33,33% (tương ứng với tỷ lệ giải phóng của viên 30mg quy ước), các giờ sau mong muốn viên sẽ giải phóng hoạt chất đều đặn theo động học bậc 0 và đạt 93,10% sau 12 giờ [8].

**Bảng 1.** Các biến độc lập và khoảng biến thiên.

Các biến độc lập	Ký hiệu	Mức biến thiên			Khoảng biến thiên
		Mức trên (+1)	Mức cơ sở (0)	Mức dưới (-1)	
HPMC K4M (mg)	X1	112,5 (25%)	90 (20%)	67,5 (15%)	22,5 (10%)
Sáp carnauba (mg)	X2	112,5 (25%)	90 (20%)	67,5 (15%)	22,5 (10%)
Tricalci phosphat (mg)	X3	90 (20%)	67,5 (15%)	45 (10%)	22,5 (10%)

**Bảng 2.** Các biến phụ thuộc và mục tiêu tối ưu.

Biến phụ thuộc	Ký hiệu	Cận dưới (%)	Mục tiêu kỳ vọng (%)	Cận trên (%)
Tỷ lệ PB giải phóng sau 1 giờ	Y <sub>1</sub>	20	33,33	40
Tỷ lệ PB giải phóng sau 4 giờ	Y <sub>4</sub>	40	49,65	60
Tỷ lệ PB giải phóng sau 8 giờ	Y <sub>8</sub>	60	71,41	90

Nhập dữ liệu vào phần mềm Modde 8.0, thiết kế thí nghiệm theo mô hình mặt hợp tử tại tâm được các giá trị biến độc lập tương ứng với 17 CT thực nghiệm. Bào chế và đánh giá giải phóng hoạt chất tại các thời điểm 1 giờ, 4 giờ và 8 giờ thu được kết quả như sau:

**Bảng 3.** Kết quả giải phóng dược chất của 17 CT khảo sát (n = 6).

TT	CT	HPMC K4M (mg)	SC (mg)	CP (mg)	Y1 (%)	Y4 (%)	Y8 (%)
1	PB1	67,5	67,5	45	47,43 ± 0,34	87,56 ± 0,79	104,51 ± 0,35
2	PB2	112,5	67,5	45	40,17 ± 0,47	79,41 ± 0,59	97,04 ± 0,56
3	PB3	67,5	112,5	45	35,98 ± 0,73	69,31 ± 0,41	87,92 ± 0,96
4	PB4	112,5	112,5	45	34,97 ± 0,55	69,07 ± 0,28	85,41 ± 0,36
5	PB5	67,5	67,5	90	43,64 ± 0,99	80,33 ± 0,79	95,71 ± 0,38
6	PB6	112,5	67,5	90	40,26 ± 1,12	76,38 ± 1,20	93,19 ± 1,20
7	PB7	67,5	112,5	90	34,82 ± 0,65	68,35 ± 0,47	87,10 ± 0,42
8	PB8	112,5	112,5	90	33,14 ± 0,67	65,96 ± 1,39	84,53 ± 0,85
9	PB9	67,5	90	67,5	39,00 ± 0,14	77,55 ± 0,38	95,15 ± 0,35
10	PB10	112,5	90	67,5	36,75 ± 1,67	73,90 ± 1,00	92,21 ± 1,39
11	PB11	90	67,5	67,5	41,92 ± 1,35	82,71 ± 1,21	95,12 ± 0,98
12	PB12	90	112,5	67,5	34,59 ± 0,23	69,66 ± 0,38	88,65 ± 0,31
13	PB13	90	90	45	39,51 ± 2,4	76,34 ± 0,47	93,54 ± 0,63
14	PB14	90	90	90	36,59 ± 1,07	70,78 ± 0,90	88,70 ± 1,47
15	PB15	90	90	67,5	35,98 ± 0,68	71,26 ± 0,39	90,96 ± 0,90
16	PB16	90	90	67,5	35,63 ± 1,04	70,97 ± 1,22	90,48 ± 0,95
17	PB17	90	90	67,5	35,37 ± 0,54	71,16 ± 1,03	91,53 ± 0,21

HPMC K4M; SC (sáp carnauba); CP (tricalci phosphat).

Kết quả phương trình hồi quy thực nghiệm dạng đa thức bậc 2 được tính từ phần mềm Modde 8.0 như sau:

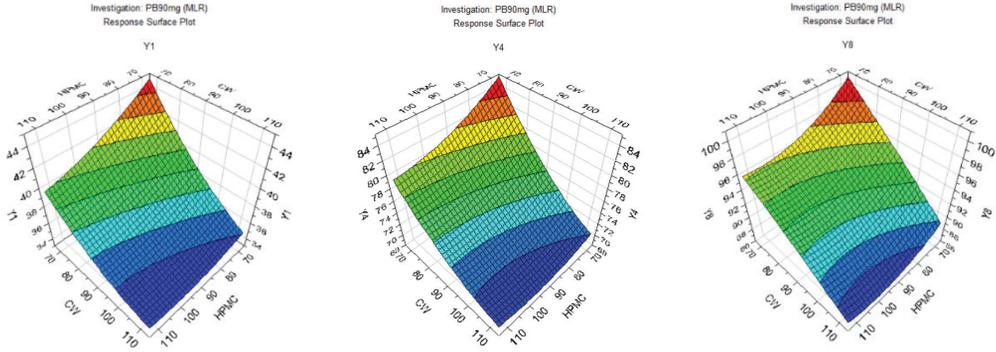
$$Y_1 = 36,57 - 1,56.X_1 - 3,99.X_2 - 0,96.X_3 + 0,99.X_1.X_2 \text{ với } R^2 = 0,957;$$

$$Y_4 = 73,08 - 1,84.X_1 - 6,40.X_2 - 1,99.X_3 \text{ với } R^2 = 0,942;$$

$$Y_8 = 91,62 - 1,80.X_1 - 5,20.X_2 - 1,92.X_3 + 1,37.X_2.X_3 \text{ với } R^2 = 0,956.$$

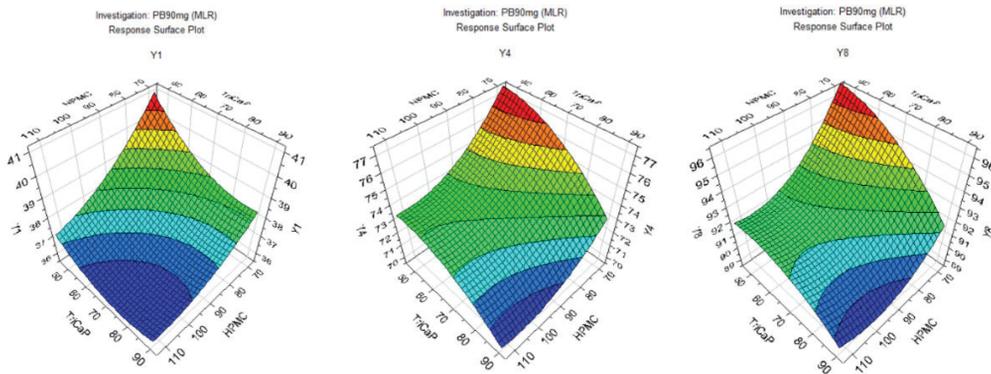
Các giá trị  $R^2$  đều cao và gần bằng 1, vì vậy phương trình hồi quy phù hợp với thực nghiệm.

Phân tích mặt đáp đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình kiểm soát giải phóng bằng phần mềm Modde 8.0 thu được các kết quả sau:



**Hình 1.** Phân tích mặt đáp Y1, Y4 và Y8 theo HPMC và sáp carnauba (tricalci photphat tại tâm = 67,5mg).

Kết quả cho thấy, tỷ lệ HPMC và sáp carnauba trong viên càng cao, độ hòa tan của dược chất trong viên càng giảm. Tuy nhiên, ảnh hưởng của sáp carnauba đến tốc độ giải phóng lớn hơn đáng kể so với ảnh hưởng của HPMC, với độ dốc mặt đáp phía sáp carnauba lớn hơn nhiều so với phía HPMC. Điều này có thể lý giải là do các tá dược tạo cốt sẽ làm giảm diện tích tiếp xúc của PB với môi trường hòa tan, qua đó, giảm sự xâm nhập của nước vào trong viên nén, cũng như hạn chế quá trình trương nở của cốt thân nước, giúp quá trình kéo dài giải phóng tốt hơn.



**Hình 2.** Phân tích mặt đáp Y1, Y4 và Y8 theo tricalci photphat và HPMC K4M (sáp carnauba tại tâm = 90mg).

Kết quả cho thấy, khi tỷ lệ tricalci phosphat trong CT tăng thì tỷ lệ avicel giảm, sẽ làm chậm lại tốc độ giải phóng dược chất, như vậy, cả hai tá dược độn này đều ảnh hưởng đến tốc độ giải phóng dược chất. Điều này cũng có thể lý giải tương tự như đối với sáp carnauba, do cả hai tá dược độn đều không tan trong nước nên hạn chế sự thâm nhập của nước vào trong viên thuốc. Tuy nhiên, mức độ ảnh hưởng của tricalci phosphat lớn hơn, rõ rệt nhất là ở các thời điểm 1 giờ và 4 giờ.

Dự đoán CT tối ưu: Áp dụng phương trình hồi quy thực nghiệm, sử dụng phần mềm Modde 8.0 tính toán tối ưu CT theo các điều kiện và mục tiêu ở bảng 2. Kết quả tối ưu thu được các giá trị biên độc lập như sau: X1 = 93,82mg, X2 = 112,5mg, X3 = 90,0mg.

Đánh giá CT tối ưu:

Bào chế và đánh giá độ hoà tan theo CT tối ưu. So sánh mô hình thực nghiệm với kết quả thực tế qua chỉ số  $f_2$ . Kết quả cho thấy  $f_2 = 61,62 (> 50)$ , chứng tỏ tốc độ giải phóng hoạt chất của CT tối ưu tương đồng với CT thực nghiệm.

**Bảng 4.** So sánh độ hoà tan của CT dự đoán với CT thực nghiệm (n = 12).

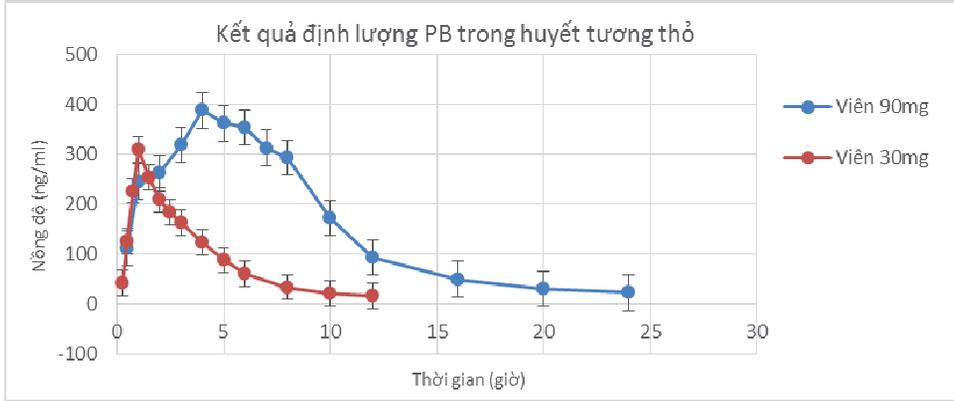
Công thức	Tỷ lệ % giải phóng PB theo thời gian		
	1 giờ	4 giờ	8 giờ
Thực nghiệm	36,43 ± 1,15	73,14 ± 2,27	91,44 ± 1,48
Dự đoán	33,48	66,08	84,65
$f_2$		61,62	

Có nhiều phương pháp, kỹ thuật bào chế thuốc tác dụng kéo dài tùy theo các cơ chế giải phóng hoạt chất khác nhau, tuy nhiên, mục tiêu chung là duy trì nồng độ thuốc trong khoảng điều trị. Quá trình động học hòa tan bậc 0 là cách tạo cân bằng quanh vùng này lý tưởng nhất, nhưng thực tế khó đạt được, vì vậy, nhiều nghiên cứu mong muốn tiệm cận bậc 0. Trong nghiên

cứu của Yuh - Tyng Huang và CS [8] sử dụng phương pháp đùn tạo cầu để bào chế pellet, sau đó dập viên và bao bằng màng bao kiểm soát giải phóng. Kết quả đã đạt được giải phóng *in vitro* bậc 0 và có tương quan *in vitro* - *in vivo*. Nghiên cứu của chúng tôi đã tối ưu hoá được CT bào chế bằng phương pháp tạo hạt ướt có khả năng kéo dài giải phóng hoạt chất *in vitro*.

## 2. Kết quả đánh giá sinh khả dụng trên thử thí nghiệm

Kết quả định lượng PB trong huyết tương thử sau khi uống viên PB 30mg và 90mg được trình bày trong hình 3.



**Hình 3.** Nồng độ PB trong huyết tương thử khi uống viên nghiên cứu và viên đối chiếu.

Từ các kết quả định lượng thuốc trong huyết tương thử, xác định các thông số  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$  và AUC bằng Add in Pksolver trên Excel, các thông số này được trình bày trong bảng 5 và 6.

**Bảng 5.** Các thông số  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$ .

Mã động vật	$C_{max}$ (ng/mL)		$T_{max}$ (giờ)		$T_{1/2}$ (giờ)	
	T	R	T	R	T	R
1	385,33	358,68	3	1,5	4,79	2,19
2	600,54	417,98	4	0,75	5,17	3,17
3	454,19	284,85	5	1	4,61	3,09
4	430,94	461,30	1	1	4,00	2,61
5	390,25	314,27	1	1	4,93	2,98
6	425,58	309,36	5	3	2,98	2,00
TB	447,81	357,74	3,17	1,38	4,41	2,67
SD	72,30	63,11	1,67	0,76	0,74	0,45

$T_{max}$  của viên PB 90mg GPKD là  $3,17 \pm 1,17$  giờ, dài hơn so với uống 1 viên 30mg ( $1,38 \pm 0,76$  giờ). Nguyên nhân do thuốc GPKD có thời gian giải phóng và hấp thu chậm hơn so với dạng bào chế quy ước, kể cả khi có sự khác nhau về hàm lượng hoạt chất trong viên.

$C_{max}$  sau khi uống viên PB 90mg GPKD là  $447,81 \pm 72,3$  ng/mL, cao hơn so với uống viên 30mg ( $357,74 \pm 63,11$  ng/mL), nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Các kết quả này sơ bộ cho thấy viên 90mg GPKD không gây bùng liều khi dùng

với hàm lượng hoạt chất gấp 3 lần viên quy ước.

$T_{1/2}$  của viên PB 90mg GPKD ( $4,41 \pm 0,74$  giờ) dài hơn so với viên 30mg ( $2,67 \pm 0,45$  giờ). Nghĩa là, nồng độ thuốc trong máu khi uống viên PB 90mg kéo dài hơn so với uống viên PB 30mg. Sau khi uống một viên 90mg, nồng độ thuốc trong máu đạt  $111,13$  ng/mL sau 30 phút và vẫn còn  $21,38$  ng/mL sau 24 giờ. Đối với viên 30mg, nồng độ trong máu sau 30 phút đạt  $125$  ng/mL và ở thời điểm 10 giờ chỉ còn  $18,38$  ng/mL.

**Bảng 6.** Các thông số AUC.

Mã động vật	AUC <sub>0-t</sub> (ng.giờ/mL)		AUC <sub>0-∞</sub> (ng.giờ/mL)	
	T	R	T	R
1	2778,96	888,30	2928,84	915,19
2	3376,15	1058,90	3520,02	1150,40
3	3805,02	856,18	3989,92	924,58
4	3998,41	983,11	4142,63	1017,60
5	3972,11	1201,50	4156,54	1294,90
6	3934,86	1414,80	3971,50	1472,00
TB	3644,25	1067,10	3784,91	1129,10
SD	440,42	192,59	437,02	202,29

T: Viên PB 90 mg giải phóng kéo dài; R: Viên PB 30mg.

Xác định tỷ lệ sinh khả dụng của viên nghiên cứu và viên đối chiếu như sau:

$$\text{Sinh khả dụng (T/R)} = \text{AUC}_{0-\infty} (\text{T}) / \text{AUC}_{0-\infty} (\text{R}) = 3,35$$

Sinh khả dụng của viên PB 90mg GPKD cao gấp 3,35 lần so với viên 30mg quy ước. Nguyên nhân do viên GPKD có hàm lượng gấp 3 lần viên thông thường, giảm được số lần dùng thuốc trong ngày mà vẫn duy trì tác dụng.

### KẾT LUẬN

Sử dụng phần mềm tối ưu hóa để thiết lập công thức bào chế viên nén PB 90mg GPKD 24 giờ quy mô phòng thí nghiệm. Thành phần công thức cho 1 viên tối ưu gồm: PB 90mg, HPMC K4M 93,82mg, sáp carnauba 112,5mg, tricalci phosphat 90,0mg, avicel 29,93mg, magnesi stearat 4,5mg, aerosil 2,25mg, polyvinyl pyrrolidon 27mg, ethanol 96° 0,27mL; bào chế viên theo phương pháp tạo hạt ướt. Viên có khả năng giải phóng hoạt chất *in vitro* trong giờ đầu là  $36,43 \pm 1,15\%$ , sau 4 giờ là  $73,14 \pm 2,27\%$  và sau 8 giờ là  $91,44 \pm 1,48\%$ . Đã đánh giá sinh khả dụng trên thỏ, qua các thông số  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$  và AUC cho thấy viên PB 90mg giải phóng kéo dài có sinh khả dụng cao gấp 3,35 lần so với viên PB 30mg quy ước.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aquilonius SM et al., Pharmacokinetics and oral bioavailability of pyridostigmine in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1980; 18:423-428.
2. Bộ môn Độc học và phóng xạ quân sự - Học viện Quân y. *Độc học và phóng xạ quân sự*. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, Hà Nội. 2002: 57-98.
3. Bộ môn Bào chế - Đại học Dược Hà Nội. *Một số chuyên đề bào chế hiện đại*. Nhà xuất bản Y học. 2005:132-157.
4. Carolyn E Fulco, Catharyn T. Liverman, Harold C Sox, Gulf War and Health: Volume 1. *Depleted Uranium, Pyridostigmine Bromide, Sarin and Vaccine*, National Academy Press, Washington, D.C. 2000.
5. Hong Wang et al. Bioequivalence of pyridostigmine bromide dispersible tablets in rabbits, *Journal of Southern Medical University*. 2011; 31(10), 1778-1780.
6. Maegen Sloan. Development of a LC-MS/MS method to detect and quantify pyridostigmine in plasma. Submitted to the Faculty of the Graduate College of the Oklahoma State University in partial fulfillment of the requirements for the Degree of MASTER OF SCIENCE. *Bachelor of Science in Chemistry Harding University Searcy*. 2017.
7. Noushin Bolourchian, Maryam Rangchian and Seyed Mohsen Foroutan. Prolonged release matrix tablet of pyridostigmine bromide: Formulation and optimization using statistical methods. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;25(3): 607-616.

8. Yuh-Tyng Huang, Tong-Rong Tsai, Chun-Jen Cheng, and Thau-Ming Cham. Formulation Design of an HPMC - Based Sustained Release Tablet for Pyridostigmine Bromide as a Highly Hygroscopic Model Drug and its In Vivo/In Vitro Dissolution Properties, *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2007; 33:1183-1191.
9. United States Pharmacopeia 38.
10. Nguyễn Thanh Tuyền và CS. Xây dựng phương pháp định lượng pyridostigmin bromid trong huyết tương thỏ bằng sắc ký lỏng khối phổ. *Tạp chí Y học Quân sự*. 2023; 364.

## ẢNH HƯỞNG CỦA TÁ DƯỢC ĐẾN BÀO CHẾ BỘT CAO KHÔ DIỆP HẠ CHÂU ĐẰNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHUN SÁY

Phạm Văn Vượng<sup>2</sup>, Nguyễn Hoàng Hiệp<sup>1</sup>, Trần Vũ Hồng Phúc<sup>1</sup>  
Phạm Ngọc Bình<sup>3</sup>, Nguyễn Trọng Điệp<sup>1\*</sup>

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Đánh giá ảnh hưởng của các tá dược đến bào chế bột cao khô Diệp hạ châu đặng (DHCĐ) bằng phương pháp phun sấy. **Phương pháp nghiên cứu:** Phun sấy cao DHCĐ 5:1 trên thiết bị LPG-5. Khảo sát ảnh hưởng của tá dược và tỷ lệ tá dược/chất rắn đến hiệu suất và chất lượng bột cao khô thu được. Chỉ tiêu đánh giá gồm độ ẩm, tính hút ẩm, khối lượng riêng, chỉ số nén Carr, hiệu suất phun sấy, hàm lượng và hiệu suất thu hồi phyllanthin của bột cao khô. **Kết quả:** Tá dược thêm vào đã cải thiện hiệu suất và chất lượng của bột cao khô DHCĐ bào chế bằng phương pháp phun sấy. Việc phối hợp các tá dược đã cải thiện được khối lượng riêng của bột cao khô. Khi tăng tỷ lệ tá dược làm tăng hiệu suất phun sấy nhưng làm giảm hàm lượng hoạt chất. Hỗn hợp tá dược thích hợp nhất để bào chế bột cao khô DHCĐ là Aerosil/polyvinyl pyrrolidon K30 (1:1, kl/kl) với tỷ lệ 20% so với chất rắn trong cao. Bột cao khô thu được có độ ẩm < 5%, hàm lượng phyllanthin  $9,05 \pm 0,07$  mg/g, khối lượng riêng  $0,73 \pm 0,01$  g/mL, hiệu suất phun sấy đạt 64,47%. **Kết luận:** Hỗn hợp tá dược thích hợp để bào chế bột cao khô DHCĐ bằng phương pháp phun sấy là Aerosil/polyvinyl pyrrolidon K30 (1:1) với tỷ lệ tá dược/chất rắn trong cao là 20%.

**Từ khóa:** Diệp hạ châu đặng; Phyllanthin; Phun sấy; Cao khô.

## EFFECTS OF EXCIPIENTS ON THE PREPARATION OF PHYLLANTHUS AMARUS SCHUM. ET THONN. DRY EXTRACT POWDER BY SPRAY-DRYING

### Abstract

**Objectives:** To investigate the effects of excipients on the preparation of Phyllanthus amarus Schum. et Thonn. dry extract powder by spray-drying.

<sup>1</sup>Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y

<sup>2</sup>Bệnh viện Quân y 17, Cục Hậu cần, Quân khu 5

<sup>3</sup>Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Trọng Điệp (diepvmu@gmail.com)

Ngày nhận bài: 14/9/2023

Ngày chấp nhận đăng: 03/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.514>

**Methods:** *Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn. extract (5:1) was spray-dried by LPG-5 with different excipients and excipient/residue ratios. Evaluating the humidity, hygroscopicity, tap density, Carr's compressibility index, spray drying yield, phyllanthine (PHY) content and recovery of products. **Results:** Excipients improved the performance and quality of *Phyllanthus amarus* dry extract powder prepared by spray drying. The combination of excipients has improved the tap density. Increasing the excipient ratio increases spray drying efficiency but reduces the active ingredient content. The most suitable excipient to prepare *Phyllanthus amarus* dry extract powder was Aerosil/polyvinyl pyrrolidone K30 (1:1, kl/kl) with an excipients/ residue ratio of 20%. The dry extract powder has moisture < 5%, phyllanthin content of  $9.05 \pm 0.07$  mg/g, density of  $0.73 \pm 0.01$  g/mL, and spray drying efficiency of 64.47%. **Conclusion:** The suitable excipient to prepare *Phyllanthus amarus* dry extract powder by spray drying method is Aerosil/polyvinyl pyrrolidone K30 (1:1) with an excipients/ residue ratio of 20%.

**Keywords:** *Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn.; Phyllanthine; Spray drying; Dry extract.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Diệp hạ châu đắng (*Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn.), họ Thầu dầu (Euphorbiaceae), là loại cây phổ biến ở Việt Nam cũng như các nước khí hậu nhiệt đới như Malaysia, Indonesia. DHCD được sử dụng như một vị thuốc dân gian để chữa đing râu, mụn nhọt, lở ngứa, bệnh gan, sốt, đau mắt, rắn cắn [1]. Thành phần hóa học chính trong DHCD gồm lignan (phyllanthin, hypophyllanthin, niranthin, phylterlin), flavonoid (rutin, quercetin-3-O-glucosid, kaempferol, quercetin, quercitrin), alkaloid, triterpen, sterol, tannin và dầu dễ bay hơi [2]. Nhiều nghiên cứu cho thấy, phyllanthin là một trong những nhóm hoạt chất chính trong DHCD, do có một số tác dụng

sinh học nổi trội như chống oxy hóa, bảo vệ gan, chống ung thư, chống viêm, kháng khuẩn, tác dụng điều hòa miễn dịch và chống tiểu đường [3, 4, 5]. DHCD được sử dụng như một vị thuốc y học cổ truyền và là dược liệu cho nhiều chế phẩm thuốc. Tuy nhiên, để nâng cao chất lượng và giá trị của các chế phẩm từ DHCD, cần nghiên cứu bào chế dạng bột cao khô. Trong đó, phun sấy là giải pháp làm khô mang lại hiệu quả cao, thời gian làm khô ngắn, sản phẩm thu được chủ yếu dạng hình cầu với kích thước nhỏ, đồng thời cải thiện tính chất cơ - lý của sản phẩm nên phù hợp với các dạng bào chế hiện đại như viên nén, viên nang... [0]. Việc xây dựng quy trình bào chế bột cao khô bào chế bằng phương pháp phun sấy cần xem xét nhiều yếu tố.

Trong đó, tá dược giữ vai trò quan trọng do có ảnh hưởng đến cả hiệu suất quy trình và chất lượng sản phẩm. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Đánh giá ảnh hưởng của tá dược đến bào chế bột cao khô DHCD bằng phương pháp phun sấy, từ đó lựa chọn ra tá dược thích hợp để xây dựng quy trình bào chế bột cao khô DHCD.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Nguyên liệu:*

Dược liệu: DHCD thu hái tại thành phố Đà Nẵng. Thu lấy phần trên mặt đất, rửa sạch rồi sấy ở 60°C đến khi độ ẩm < 10%. Nghiền nhỏ dược liệu, rây qua rây 1mm. Bột dược liệu khô được bảo quản trong túi nilon kín, để ở phòng thí nghiệm đến khi sử dụng.

Hóa chất: Phyllanthin chuẩn hàm lượng 99,5% (hãng Sigma Aldrick), acetonitril đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích; tá dược: Aerosil (AE), manitol, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) E6, polyvinyl pyrrolidon (PVP) K30 đạt tiêu chuẩn dược dụng.

\* *Thiết bị, dụng cụ:* Hệ thống HPLC Waters-2469 tiêm tay, cột Waters C18 (5µm, 150 x 3.9 mm I.D.), đầu dò UV-Vis; thiết bị chiết nóng 50 lít (Việt Nam), thiết bị phun sấy LPG-5 (Trung Quốc), cân phân tích Mettler Toledo (Thụy Sĩ) có độ chính xác đến 0,1mg,

máy đo độ ẩm tự động ADAM (Anh) và một số thiết bị dụng cụ khác.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

- Bào chế cao lỏng DHCD:

Chiết xuất theo phương pháp chiết nóng với ethanol 50%, nhiệt độ 60°C, tỷ lệ dung môi/dược liệu 20/1 (tt/kl), thời gian chiết 1 giờ. Chiết 3 mẻ, mỗi mẻ 5kg dược liệu. Gộp các dịch chiết, lọc qua màng lọc 0,2mm thu lấy phần dịch trong. Cô dịch chiết ở nhiệt độ 75 - 80°C đến khi thu được cao 4:1. Thêm ethanol 96% với tỷ lệ 3/1 (tt/tt), khuấy đều. Để cao lắng qua đêm, gạn lấy phần dịch trong rồi tiếp tục cô đặc về tỷ lệ cao 5:1. Cao DHCD 5:1 có tỷ lệ chất rắn 25,30%, hàm lượng phyllanthin 11,94 mg/g (1,194%) tính theo mức độ khô kiệt.

- Bào chế bột cao khô DHCD bằng phương pháp phun sấy:

Cao DHCD 5:1 được trộn đều với tá dược, thêm nước để điều chỉnh tỷ lệ chất rắn trong dịch phun (CR/DP) về 15%. Tiến hành phun sấy trên thiết bị LPG-5. Cài đặt các thông số phun sấy: Nhiệt độ phun sấy 140 ± 2°C, tốc độ cấp dịch 30 mL/phút. Các thông số khảo sát gồm ảnh hưởng của loại tá dược, hỗn hợp tá dược, tỷ lệ tá dược/chất rắn trong cao (TD/CR). Các chỉ tiêu đánh giá gồm độ ẩm, tính hút ẩm, khối lượng riêng, chỉ số nén CI, hiệu suất phun sấy, hàm lượng và hiệu suất thu hồi phyllanthin (PHY).

Mỗi công thức phun sấy với 100g cao DHCĐ 5:1.

- Đánh giá chỉ tiêu chất lượng của bột cao khô:

Độ ẩm: Thử theo Dược điển Việt Nam V, Phụ lục 9.6. Cân khoảng 2g chế phẩm sấy ở 105°C ở áp suất thường đến khối lượng không đổi. Mỗi mẫu tiến hành 3 lần.

Khối lượng riêng (g/mL) và chỉ số nén [7]: Cân khoảng 4 - 5g bột cao khô, cho vào ống đong 25mL khô sạch, đọc thể tích  $V_1$  (mL), gõ đến thể tích không đổi và đọc thể tích  $V_2$  (mL). Khối lượng riêng thô ( $d_b$ ) và khối lượng riêng sau gõ ( $d_t$ ) được xác định là tỷ số giữa khối lượng (g) và thể tích bột tương ứng (mL). Mỗi mẫu tiến hành 3 lần. Chỉ số nén CI được tính theo biểu thức:

$$CI (\%) = \frac{(d_t - d_b)}{d_t} \times 100$$

Khả năng trơn chảy được đánh giá theo chỉ số CI, chuyên luận "Power flow" của Dược điển Mỹ (USP 40).

Tính hút ẩm: Cho khoảng 2g mẫu bột phun sấy vào đĩa petri, bảo quản trong bình hút ẩm ở 25°C và độ ẩm tương đối  $75 \pm 2\%$  (tạo ra bằng dung dịch NaCl bão hòa). Sau 7 ngày, xác định lại khối lượng các mẫu bột. Tính hút ẩm của bột được biểu thị bằng số gam nước hấp thu trên 100g chất rắn khô [6]. Mỗi mẫu tiến hành 3 lần.

Hàm lượng phyllanthin: Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

Điều kiện phân tích: Cột Waters C18 (5 $\mu$ m, 150 x 3,9mm); detector UV, bước sóng 230nm; tốc độ dòng 1 mL/phút; thể tích tiêm 15 $\mu$ L; dung môi pha động acetonitril/nước (45:55).

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn: Từ 10mg phyllanthin chuẩn, hòa tan với methanol trong bình định mức 200mL, thêm methanol vừa đủ đến vạch, lắc đều (dung dịch chuẩn gốc). Từ dung dịch chuẩn gốc, tiến hành pha loãng sử dụng dung môi methanol và bình định mức để được dãy dung dịch chuẩn có nồng độ: 5  $\mu$ g/mL, 10  $\mu$ g/mL, 20  $\mu$ g/mL, 30  $\mu$ g/mL, 40  $\mu$ g/mL, 50  $\mu$ g/mL.

Chuẩn bị dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 50mg bột cao khô trong bình nón, thêm 30mL methanol, siêu âm 30 phút ở nhiệt độ 45°C. Chuyển vào bình định mức 50mL, dùng 5mL methanol để tráng bình nón và định mức vừa đủ bằng methanol, lắc đều. Dịch lọc được lọc qua màng lọc 0,45 $\mu$ m trước khi tiêm vào hệ thống sắc ký.

Tiến hành sắc ký với điều kiện như trên, ghi lại diện tích pic của mẫu chuẩn và thử. Từ phương trình đường chuẩn tính ra nồng độ hàm lượng phyllanthin trong bột cao khô

Hiệu suất (HS) phun sấy và HS thu hồi hoạt chất là tỷ lệ (%) giữa thực tế thu được so với lý thuyết.

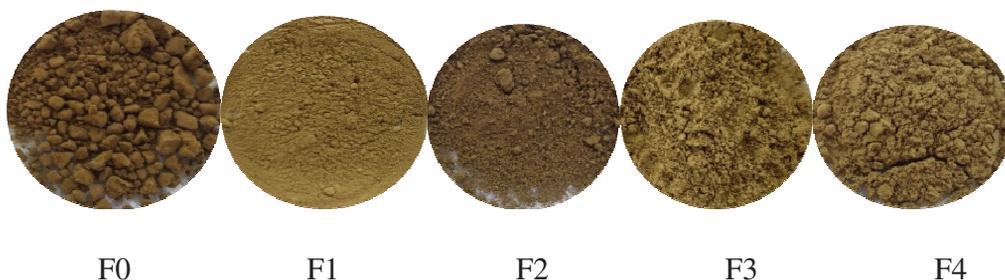
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Ảnh hưởng của loại tá dược

Tiến hành phun sấy cao DHCD trong cùng điều kiện về tỷ lệ % CR/DP và các thông số phun sấy như đã trình bày ở mục 2, tỷ lệ TD/CR 20% nhưng với các tá dược khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của loại tá dược đến phun sấy cao DHCD ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

Công thức	Tá dược	Độ ẩm (%)	PHY (mg/g)	HS thu hồi PHY (%)	HS phun sấy (%)	Tính hút ẩm (g/100g)	d <sub>t</sub> (g/mL)	CI (%)
F0	-	2,82 ± 0,10	10,07 ± 0,15	84,29 ± 0,98	43,14	2,72 ± 0,06	0,68 ± 0,02	30,00 ± 0,60
F1	AE	1,83 ± 0,08	8,90 ± 0,16	89,43 ± 1,37	60,02	1,92 ± 0,04	0,50 ± 0,01	22,65 ± 0,49
F2	Manitol	2,56 ± 0,05	8,54 ± 0,13	85,81 ± 1,23	42,76	0,68 ± 0,05	0,58 ± 0,02	24,66 ± 0,52
F3	PVP K30	2,27 ± 0,11	9,54 ± 0,17	95,85 ± 1,48	67,10	0,76 ± 0,05	0,11 ± 0,01	23,33 ± 0,50
F4	HPMC E6	2,51 ± 0,09	9,19 ± 0,18	92,38 ± 1,42	50,03	1,43 ± 0,06	0,33 ± 0,02	26,67 ± 0,55



**Hình 1.** Hình ảnh bột cao khô có các công thức từ F0 - F4.

Các công thức khảo sát đều tạo thành dạng bột cao khô, tuy nhiên, công thức F0 (không sử dụng tá dược) bị vón cục nhiều. Kết quả ở bảng 1 cho thấy: Tất cả công thức đều có hàm ẩm rất thấp, cao nhất là 2,82% ở công thức F0. Tính hút ẩm của các công thức có sự khác biệt rõ rệt; trong đó, cao nhất ở công thức F0 khi không sử dụng tá dược. Tính hút ẩm tăng dần theo thứ tự:  $F2 < F3 < F4 < F1 < F0$ . Sau 7 ngày bảo quản ở môi trường có độ ẩm  $75 \pm 2\%$  thì công thức F0 bị kết lại thành khối, công thức F3, F4 hút ẩm ít hơn và có hiện tượng kết dính, các bột công thức F1, F2 hầu như không thay đổi về mặt cảm quan. Công thức F0 khi không sử dụng tá dược cho bột có hàm lượng hoạt chất cao hơn so với các công thức sử dụng tá dược (10,07 mg/g) nhưng lại có hiệu suất thu hồi thấp nhất (84,29%). Điều này chứng tỏ tá dược thêm vào có vai trò bảo vệ hoạt chất khỏi các tác động bất lợi trong quá trình phun sấy (chủ yếu là nhiệt và/hoặc oxy

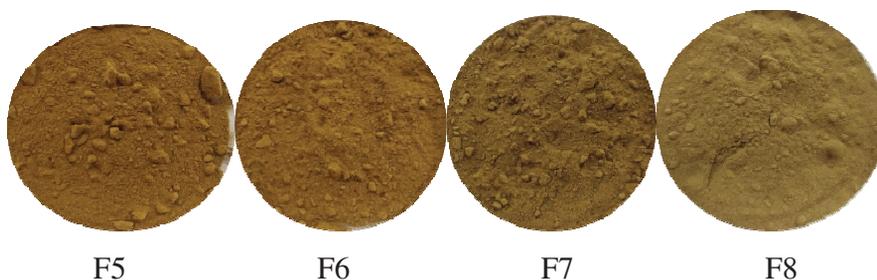
không khí), thể hiện ở hiệu suất thu hồi hoạt chất có xu hướng cao hơn F0. Tuy nhiên, tác dụng bảo vệ hoạt chất của các tá dược là khác nhau. Trong đó, hàm lượng và hiệu suất thu hồi hoạt chất giảm dần theo thứ tự  $F3 > F4 > F1 > F2$ . Công thức F0 và F2 cho hiệu suất phun sấy thấp nhất, cao nhất là F3. Khi đánh giá khả năng trơn chảy theo chỉ số CI thì công thức F1, F2, F3 ở mức trơn chảy khá, còn F0 và F4 trơn chảy kém. Công thức phun sấy không có tá dược (F0) có khối lượng riêng cao hơn, nhưng hàm ẩm và tính hút ẩm lớn hơn, hiệu suất thu hồi và hiệu suất phun sấy thấp hơn, khả năng trơn chảy của bột kém nhất so với các công thức khác. Công thức F2 có hàm lượng PHY và hiệu suất phun sấy thấp nhất. Như vậy, công thức F1, F3, F4 có hiệu suất phun sấy và mức chất lượng tốt hơn so với công thức không dùng tá dược. Do đó, các tá dược AE, PVP K30, HPMC E6 được lựa chọn để tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của hỗn hợp các tá dược này.

## 2. Ảnh hưởng của hỗn hợp tá dược

Tiến hành phun sấy cao DHCD giống như khảo sát ở trên nhưng với các hỗn hợp tá dược khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của hỗn hợp tá dược đến phun sấy cao DHCD ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

Công thức	Tá dược	Độ ẩm (%)	PHY (mg/g)	HS thu hồi PHY (%)	HS phun sấy (%)	Tính hút ẩm (g/100g)	d <sub>t</sub> (g/mL)	CI (%)
F5	AE:HPMC E6 (1:1)	2,04 ± 0,08	9,14 ± 0,08	91,87 ± 0,92	52,08	5,56 ± 0,08	0,63 ± 0,02	22,75 ± 0,57
F6	AE:PVP K30 (1:1)	2,10 ± 0,05	9,05 ± 0,07	90,92 ± 1,36	64,47	1,99 ± 0,05	0,73 ± 0,01	22,25 ± 0,34
F7	AE:Manitol (1:1)	2,75 ± 0,09	8,55 ± 0,04	85,89 ± 1,63	59,13	2,02 ± 0,07	0,70 ± 0,01	31,00 ± 0,23
F8	PVP K30:HPMC E6 (1:1)	2,12 ± 0,07	9,85 ± 0,06	98,94 ± 1,48	63,94	1,74 ± 0,06	0,31 ± 0,02	26,00 ± 0,53



**Hình 2.** Hình ảnh bột cao khô có các công thức từ F5 - F8.

Các công thức khảo sát đều tạo thành dạng bột khô toì, đồng nhất. Kết quả cho thấy: Sự phối hợp tá dược để phun sấy có ảnh hưởng đến hiệu suất phun sấy và các chỉ tiêu chất lượng của bột cao khô tạo thành. Tất cả công thức đều có hàm ẩm thấp và đều < 5%. Về tính hút ẩm, công thức F5 hút ẩm mạnh nhất (5,56%), các công thức còn lại là

tương đương nhau. Công thức F8 có hàm lượng và hiệu suất thu hồi PHY cao nhất, thấp nhất là ở công thức F7. Hiệu suất phun sấy ở công thức F6, F8 là cao nhất (lần lượt là 64,47%, 63,94%) và thấp nhất ở công thức F5 (52,08%). Khối lượng riêng của các công thức dao động khá lớn, từ 0,31 - 0,73 g/mL, trong đó công thức F6

(AE:PVP K30, 1:1) có khối lượng riêng cao nhất, lớn hơn nhiều so với việc dùng đơn lẻ các tá dược (F1, F3). Ở các công thức sử dụng AE (F5, F6) thì bột có khả năng trơn chảy khá, các công thức còn lại ở mức kém trơn chảy.

Như vậy, các công thức sử dụng tá dược cả ở dạng đơn lẻ (F1 - F4) hay dạng phối hợp (F5 - F8) thì về cơ bản đã cải thiện được các tính chất lý - hóa và hiệu suất phun sấy của sản phẩm. Chỉ riêng hàm lượng PHY là thấp hơn công thức không sử dụng tá dược (F0),

nhưng vẫn đạt yêu cầu theo chuyên luận cao DHCD đăng trong Dược điển Việt Nam V (không nhỏ hơn 5 mg/g). Về tổng quát thì công thức F6 cho bột có chất lượng và hiệu suất phun sấy tốt hơn. Mặc dù các công thức F3, F4, F8 có hàm lượng PHY có xu hướng cao hơn, nhưng khối lượng riêng lại rất thấp nên không thích hợp để bào chế các dạng thuốc rắn. Do đó, nghiên cứu lựa chọn công thức F6 sử dụng hỗn hợp tá dược AE:PVP K30 (1:1) cho các khảo sát tiếp theo.

### 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ tá dược/chất rắn

Tiến hành phun sấy với các điều kiện như ở công thức F6, nhưng với các tỷ lệ TD/CR khác nhau. Kết quả đánh giá một số thông số của bột cao khô được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của tỷ lệ TD/CR đến phun sấy cao DHCD ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

Công thức	Tỷ lệ TD/CR (%)	Độ ẩm (%)	PHY (mg/g)	HS thu hồi PHY (%)	HS		d <sub>t</sub> (g/mL)	CI (%)
					phun sấy (%)	Tính hút ẩm (g/100g)		
F9	5	2,12 ± 0,06	10,20 ± 0,12	89,71 ± 1,90	52,94	2,52 ± 0,06	0,65 ± 0,01	31,67 ± 0,45
F10	10	2,88 ± 0,10	9,53 ± 0,09	87,76 ± 1,22	59,60	2,42 ± 0,05	0,88 ± 0,02	35,00 ± 0,62
F6	20	2,10 ± 0,05	9,05 ± 0,07	90,92 ± 1,36	64,47	1,99 ± 0,05	0,73 ± 0,01	22,25 ± 0,34
F11	30	2,47 ± 0,04	8,10 ± 0,05	88,21 ± 1,53	65,24	1,92 ± 0,04	0,68 ± 0,01	30,00 ± 0,56
F12	40	2,32 ± 0,11	7,75 ± 0,05	90,82 ± 1,67	70,71	1,80 ± 0,05	0,70 ± 0,02	22,50 ± 0,76
F13	50	3,41 ± 0,08	6,87 ± 0,08	86,33 ± 1,82	80,21	1,69 ± 0,07	0,72 ± 0,02	27,50 ± 0,43



**Hình 3.** Hình ảnh bột cao khô có các công thức từ F9 - F13.

Các công thức có tỷ lệ tá dược thấp (F9, F10) có xu hướng vón cục nhiều hơn và màu sắc đậm hơn. Kết quả cho thấy: Khi tăng tỷ lệ tá dược thì các công thức đều có hàm ẩm < 5%, có xu hướng làm tăng hiệu suất phun sấy, giảm tính hút ẩm, giảm hàm lượng PHY. Tuy nhiên, ở công thức có tỷ lệ TD/CR từ 20 - 50% thì ít có sự khác biệt về về tính hút ẩm và khối lượng riêng. Thông thường, bột cao khô bào chế bằng phương pháp phun sấy có tính hút ẩm mạnh do đặc tính xốp và kích thước tiểu phân nhỏ, nhưng trong các công thức khảo sát đều có tính hút ẩm thấp, điều này có thể do trong quá trình bào chế cao DHCD đã có bước loại bớt các tạp tan trong nước bằng kết tủa với ethanol; vì vậy, làm giảm tính hút ẩm của bột. Khối lượng riêng của các công thức khảo sát khá cao ( $\geq 0,65$  g/mL). Tính hút ẩm thấp và khối lượng riêng cao của bột cao khô sẽ tạo điều kiện thuận lợi khi bào chế các chế phẩm rắn như viên nang cứng, viên nén... Khả năng trơn chảy của bột cao khô cũng có sự khác biệt giữa các công thức khảo sát, trong đó công thức F6

và F12 ở mức trơn chảy khá, F10 và F13 trơn chảy kém, F9 và F11 trơn chảy rất kém. Khi tăng tỷ lệ TD/CR làm giảm hàm lượng PHY (do hiện tượng pha loãng nồng độ), nhưng hiệu suất thu hồi hoạt chất khá tương đương nhau (ảnh hưởng của điều kiện phun sấy đến suy giảm hàm lượng PHY là tương đương nhau). Hiệu suất phun sấy tăng tỷ lệ thuận với sự tăng tỷ lệ TD/CR, ở công thức F13 khi tỷ lệ TD/CR 50% thì hiệu suất phun sấy cao nhất (80,21%). Như vậy, khi tăng tỷ lệ tá dược đã cải thiện được một số tính chất lý - hóa của sản phẩm (tính hút ẩm, khối lượng riêng), làm tăng hiệu suất phun sấy nhưng lại làm giảm hàm lượng hoạt chất. Do đó, để lựa chọn ra công thức vừa có hàm lượng hoạt chất cao, vừa có các tính chất lý - hóa thích hợp để tiếp tục bào chế các chế phẩm thuốc rắn thì tá dược thích hợp nhất để bào chế bột cao khô DHCD bằng phương pháp phun sấy là hỗn hợp tá dược AE/PVP K30 (1:1) với tỷ lệ TD/CR là 20% (công thức F6). Kết quả bào chế ở công thức F6 cho thấy bột cao khô thu được có hiệu suất phun

sấy cao hơn, ít hút ẩm hơn, trơn chảy tốt hơn và khối lượng riêng cao hơn so với công thức F0 (không dùng tá dược).

### KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá được ảnh hưởng của loại tá dược, hỗn hợp tá dược và tỷ lệ TD/CR đến hiệu suất phun sấy và chất lượng của bột cao khô; từ đó, lựa chọn được tá dược thích hợp để bào chế bột cao khô DHCD bằng phương pháp phun sấy là AE/PVP K30 (1:1) với tỷ lệ TD/CR là 20%. Phun sấy cao DHCD 5:1 với công thức tá dược lựa chọn ở nhiệt độ 140°C, tốc độ cấp dịch 30 mL/phút, áp suất khí nén đầu phun 0,2 Bar thu được bột cao khô có độ ẩm < 5%, hàm lượng PHY  $9,05 \pm 0,07$  mg/g, khối lượng riêng  $0,73 \pm 0,01$  g/mL, hiệu suất phun sấy đạt 64,47%.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được tài trợ bởi Ủy ban nhân dân Thành phố Đà Nẵng.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học. 2004; 97-98.

2. Patel J R, Tripathi P, Sharma V, et al. Phyllanthus amarus: Ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011; 138:286-313.

3. Kodakandla V S, Singh B, Thakur R S, et al. Antihepatotoxic

principles of phyllanthus niruri herbs. *Journal of Ethnopharmacology*. 1985; 14:41-44.

4. Wu W, Li Y, Jiao Z, et al. Phyllanthin and hypophyllanthin from Phyllanthus amarus ameliorates immune-inflammatory response in ovalbumin-induced asthma: Role of IgE, Nrf2, iNOs, TNF- $\alpha$ , and IL's, *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2019; 41:55-67.

5. Mohammed Azam, Makula Ajitha. Phyllanthin: A potential lead molecule for the future needs. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2017; 9(8):1081-1089

6. Gallo L, Llabot J M, Allemandi D., Bucalá V, Pina J. Influence of spray-drying operating conditions on *Rhamnus purshiana* (Cáscara sagrada) extract powder physical properties. *Powder Technology*. 2011; 208:05-214.

7. Oliveira FQ, Andrade-Neto V, Krettli U, Brandão MGL. New evidences of antimalarial activity of Bidens pilosa roots extract correlated with polyacetylene and flavonoids. *Journal of Ethnopharmacol*. 2004; 93:39-42.

8. United states pharmacopoeia 40. 2017:1174.

9. Woo M W, Mujumdar A S, Daud W R W. *Spray Drying Technology*, Volume 1, Chapter 5: Spray drying of food and herbal products, ISBN - 978-981-08-6270-1, Published in Singapore. 2010;113-156.

**ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG ĐIỀU CHỈNH RỐI LOẠN LIPID MÁU NGOẠI SINH CỦA VIÊN NANG BÀO CHẾ TỪ TỎI ĐEN, BỤP GIẤM, TRẠCH TẢ VÀ GIÁO CỔ LAM TRÊN CHUỘT CÔNG TRẮNG**

*Nguyễn Hoàng Ngân<sup>1\*</sup>, Phùng Văn Bằng<sup>2</sup>, Lê Hồng Phú<sup>2</sup>  
Trịnh Thị Hạnh<sup>2</sup>, Đặng Văn Điệp<sup>1</sup>, Bùi Thị Bích Vân<sup>1</sup>, Đỗ Thị Hương Lan<sup>1</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Đánh giá tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu ngoại sinh của viên nang bào chế từ tỏi đen, búp giấm, trạch tả và giáo cổ lam trên chuột công trắng. **Phương pháp nghiên cứu:** Theo mô hình của Nguyễn Trọng Thông và CS (2014), gây rối loạn lipid chuột công trắng Wistar bằng dầu cholesterol 10 mL/kg/24h. 50 con chuột được chia làm 5 lô; Lô 1 uống nước cất 10 mL/kg; Lô 2 uống dầu cholesterol + nước cất 10 mL/kg sau 2 giờ; Lô 3 uống dầu cholesterol + thuốc thử 336 mg/kg sau 2 giờ; Lô 4 uống dầu cholesterol + thuốc thử 672 mg/kg sau 2 giờ; Lô 5 uống dầu cholesterol + atorvastatin 10 mg/kg sau 2 giờ. Chỉ tiêu đánh giá: Triglyceride (TG), cholesterol toàn phần (TC), HDL-C, LDL-C, VLDL-C, chỉ số xơ mạch (AI) tại thời điểm 0, 14 và 28 ngày. Kết quả xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0. **Kết quả:** Chuột uống hỗn hợp dầu cholesterol (lô 2) có các chỉ số lipid máu và xơ mạch (TG, TC, LDL-C, VLDL-C, AI) cao hơn so với ở lô chứng (lô 1). Ở các lô dùng thuốc nghiên cứu và thuốc tham chiếu (lô 3, 4, 5) các chỉ số TG, TC, LDL-C, VLDL-C, AI giảm so với lô không uống thuốc (lô 2); làm tăng HDL-C so với lô 2 tại 14 và 28 ngày (với  $p < 0,05$ ). **Kết luận:** Ở cả 2 mức liều thuốc thử có tác dụng tốt trong điều trị rối loạn lipid máu, tương đương với lô tham chiếu dùng Atorvastatin.

**Từ khóa:** Rối loạn lipid máu ngoại sinh; Tỏi đen; Búp giấm; Trạch tả; Giáo cổ lam.

<sup>1</sup>Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y

<sup>2</sup>Viện Y học Cổ truyền Quân đội

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Hoàng Ngân (nganvnu@gmail.com)

Ngày nhận bài: 11/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 23/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.503>

**EVALUATION OF ADJUSTING EFFECTS OF EXTERNAL  
DYSLIPIDEMIA OF CAPSULES PREPARED FROM BLACK GARLIC,  
*HIBISCUS SABDARIFFLA L.*, *ALISMA PLANTAGO-AQUATICA L.*  
AND *GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM* IN WHITE RATS**

**Abstract**

**Objectives:** To evaluate the adjusting effects of external dyslipidemia of capsules prepared from Black Garlic, *Hibiscus sabdariffa L.*, *Alisma plantago-aquatica L.*, and *Gynostemma pentaphyllum* in white rats. **Methods:** According to the model of Nassiri et al. (2009), Wistar white rats were induced lipid disorders with cholesterol oil (10 mL/kg/24h dose). A total of 50 rats were assigned to 5 groups: Group 1 drank distilled water 10 mL/kg; Group 2 drank cholesterol oil + distilled water 10 mL/kg after 02 hours; Group 3 drank cholesterol oil + reagent dose 336 mg/kg after 2 hours; Group 4 drank cholesterol oil + reagent dose 672 mg/kg after 2 hours; Group 5 drank cholesterol oil + atorvastatin dose 10 mg/kg after 2 hours. Evaluation index: Triglycerides (TG), total cholesterol (TC), HDL-C, LDL-C, VLDL-C, atherosclerotic index (AI) at times 0, 14 and 28 days. Data were processed by SPSS 16.0 software. **Results:** Groups that used cholesterol oil increased TG, TC, LDL-C, VLDL-C, and AI. Groups 3, 4, and 5 reduced TG, TC, LDL-C, VLDL-C, AI and increased HDL-C compared to group 2 on the 14<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> days ( $p < 0,05$ ). **Conclusion:** Both reagent doses have good effect in treating dyslipidemia, equivalent to the reference group used Atorvastatin.

**Keywords:** Dyslipidemia; Black Garlic; *Hibiscus sabdariffa L.*; *Alisma plantago-aquatica L.*; *Gynostemma pentaphyllum*.

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

Ở Việt Nam, ngày càng nhiều người (đặc biệt là người cao tuổi) mắc các bệnh rối loạn chuyển hóa như tăng lipid máu, tăng huyết áp, đái tháo đường... Đây là những yếu tố nguy cơ của xơ vữa động mạch. Rối loạn lipid máu (Dyslipidemia) có mối liên quan

liên chặt chẽ giữa nồng độ cholesterol toàn phần (TC), cholesterol trọng lượng phân tử thấp (LDL-C) với các biến cố tim mạch do xơ vữa [1]. Kiểm soát được rối loạn lipid máu, dự phòng xơ vữa động mạch là việc làm có ý nghĩa nhằm hạn chế những biến chứng nguy hiểm của xơ vữa động mạch, nâng cao chất lượng cuộc sống.

Tỏi đen, búp giấm, Trạch tả và giảo cổ lam là những dược liệu được sử dụng nhiều trong dân gian phòng và điều trị các rối loạn chuyển hóa lipid và glucid, phòng chống các bệnh tim mạch. Trên thực tế, nhiều công trình nghiên cứu thực nghiệm cũng đã chứng minh tác dụng trên tim mạch của các dược liệu trên [2, 3]. Trên cơ sở nghiên cứu bào chế và đánh giá xây dựng công thức bào chế, Học viện Quân y đã nghiên cứu bào chế ra viên nang từ giảo cổ lam, tỏi đen, búp giấm và Trạch tả, với định hướng là sản phẩm có tác dụng tốt, an toàn đối với bệnh lý xơ vữa mạch.

Trong điều trị, các thuốc có tác dụng hạ cholesterol máu do chế độ ăn (cơ chế ngoại sinh) tác động do một hoặc nhiều cơ chế liên quan trực tiếp đến sự ức chế hấp thu cholesterol ở ruột, tăng sự thoái biến cholesterol... Các mô hình gây tăng lipid máu theo cơ chế ngoại sinh được tiến hành bằng cách cho động vật ăn chế độ ăn giàu chất béo và cholesterol dẫn đến làm tăng mức độ hấp thu cholesterol ở lòng ruột và làm tăng cholesterol trong máu, và thường phải tiến hành trong thời gian dài (8 tuần) [2, 3]. Nassiri và CS (2009) đã thử nghiệm cho chuột uống hỗn hợp dầu cholesterol (gồm 10g cholesterol, 10g acid cholic và 3g propylthiouracil pha trong dầu lạc vừa đủ 100mL) trong 4 tuần liên tục, làm tăng cholesterol lên tới 260,8% so với

nhóm đối chứng [4]. Trên cơ sở mô hình của Nassiri và CS, tác giả Nguyễn Trọng Thông và CS (2014) [5] đã điều chỉnh hàm lượng acid cholic giảm đi 10 lần và PTU giảm đi 6 lần so với mô hình của Nassiri trước đó. Kết quả sau khi điều chỉnh cho thấy mô hình tăng cholesterol máu ngoại sinh tạo ra vẫn bảo đảm được tính ổn định, độ đồng nhất trên chủng chuột cống trong điều kiện phòng thí nghiệm ở Việt Nam, vẫn bảo đảm mức độ tăng cholesterol, phù hợp cho việc đánh giá tác dụng hạ lipid máu của các chế phẩm. Áp dụng mô hình trên, nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu: *Đánh giá tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu ngoại sinh của viên nang bào chế từ tỏi đen, búp giấm, Trạch tả và giảo cổ lam trên chuột cống trắng.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng, vật liệu và địa điểm nghiên cứu

\* *Chế phẩm nghiên cứu:* Viên nang từ tỏi đen, búp giấm, Trạch tả và giảo cổ lam, do Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y bào chế, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Liều dự kiến sử dụng trên người là 06 viên/ngày, mỗi viên 400mg.

\* *Động vật nghiên cứu:* Chuột cống trắng Wistar giống đực, 50 con, khỏe mạnh, trọng lượng  $200 \pm 20g$ , đủ các tiêu chuẩn thí nghiệm. Động vật được

cung cấp bởi Ban chăn nuôi, Học viện Quân y. Chuột được nuôi trong điều kiện phòng ít nhất 07 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Chuột ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội.

\* *Thiết bị phục vụ nghiên cứu:*

- Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia.

- Cân phân tích  $10^{-4}$ , model CP224S (Sartorius, Đức).

- Kim công đầu tày chuyên dụng cho chuột uống thuốc (Nhật Bản).

- Bộ dụng cụ phẫu thuật động vật cỡ nhỏ,...

\* *Hóa chất:*

- Cholesterol tinh khiết (Merck - Đức);

- Dầu lạc (Công ty Trường An - Việt Nam);

- Propylthiouracil 50mg (Biệt dược Rieserstat® - Đức);

- Acid cholic (Sigma - Singapore);

- Hóa chất xét nghiệm sinh hóa của hãng MEDIA, Italia.

\* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu:* Labo dược lý thực nghiệm thuộc Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y. Thời gian từ tháng 5 - 10/2022.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá trên mô hình của Nassiri và CS (2009), có cải tiến [4, 5]. Chuột

được gây rối loạn lipid bằng cách uống hỗn hợp gồm: Cholesterol 0,1 g/mL; acid cholic 0,01 g/mL; PTU 0,005 g/mL; dầu lạc vừa đủ 1mL, mức liều 10 mL/kg/24h.

Chuột được phân ngẫu nhiên vào 05 lô, mỗi lô 10 con (n = 10):

+ Lô 1: Uống nước cất 10 mL/kg, sau 2 giờ uống nước cất 10 mL/kg.

+ Lô 2: Uống hỗn hợp dầu cholesterol 10 mL/kg, sau 2 giờ uống nước cất 10 mL/kg.

+ Lô 3: Uống hỗn hợp dầu cholesterol 10 mL/kg, sau 2 giờ uống thuốc thử liều 336 mg/kg.

+ Lô 4: Uống hỗn hợp dầu cholesterol 10 mL/kg, sau 2 giờ uống thuốc thử liều 672 mg/kg.

+ Lô 5: Uống hỗn hợp dầu cholesterol 10 mL/kg, sau 2 giờ uống thuốc tham chiếu atorvastatin liều 10 mg/kg.

Cho chuột uống thuốc trong thời gian 28 ngày. Lấy máu tại các thời điểm ngày 0, ngày 14 và ngày 28 để xét nghiệm triglyceride (TG), cholesterol toàn phần (TC), high-density lipoproteins (HDL-C), low density lipoprotein (LDL-C), very low density lipoprotein (VLDL-C). Các xét nghiệm được tiến hành tại labo thực nghiệm của Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y, sử dụng máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia và các

kít hoá chất xét nghiệm sinh hóa của hãng MEDIA, Italia. Chỉ số xơ vữa mạch (Atherogenic index- A.I) được tính toán theo công thức:  $A.I = (TC - HDL-C) / HDL-C$ .

\* *Xử lý số liệu:* Xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, sử

dụng phần mềm SPSS 16.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành dưới sự chấp thuận của Hội đồng khoa học Học viện Quân y và tuân thủ các tiêu chuẩn về đạo đức trong nghiên cứu Y học.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Sự thay đổi nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột

**Bảng 1.** Nồng độ cholesterol toàn phần (mmol/L) trong máu chuột (n = 10,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Thời điểm xét nghiệm Lô nghiên cứu	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	P <sub>b-a</sub>	P <sub>c-a</sub>
Lô 1 (1)	1,80 ± 0,13	1,71 ± 0,38	1,88 ± 0,28	> 0,05	> 0,05
Lô 2 (2)	1,83 ± 0,28	2,94 ± 0,41	3,16 ± 0,47	< 0,01	< 0,01
Lô 3 (3)	1,85 ± 0,31	2,54 ± 0,20	2,60 ± 0,14	< 0,01	< 0,01
Lô 4 (4)	1,83 ± 0,32	2,28 ± 0,36	2,27 ± 0,29	< 0,01	< 0,01
Lô 5 (5)	1,84 ± 0,24	2,34 ± 0,36	2,29 ± 0,41	< 0,01	< 0,01
P <sub>2,3,4,5-1</sub>	> 0,05	< 0,01	< 0,01	-	-
P <sub>3,4,5-2</sub>	> 0,05	p <sub>3-2</sub> < 0,05 p <sub>4,5-2</sub> < 0,01	< 0,01	-	-

Hỗn hợp dầu cholesterol đã làm tăng rõ rệt nồng độ cholesterol trong máu: So với lô 1, tại thời điểm sau 14 và 28 ngày, nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột ở các lô từ lô 2 đến lô 5 đều tăng có ý nghĩa thống kê, với  $p < 0,01$ . Lô chuột từ lô 2 đến lô 5 có nồng độ cholesterol toàn phần trong máu tại 14 và 28 ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với trước thí nghiệm, với  $p < 0,01$ .

Thuốc thử và Atorvastatin có tác dụng hạ cholesterol toàn phần trong máu: Các lô 3, 4, 5 có nồng độ cholesterol toàn phần trong máu giảm so với lô 2 tại thời điểm 14 và 28 ngày, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**2. Sự thay đổi nồng độ TG trong máu chuột**

**Bảng 2.** Nồng độ TG (mmol/L) trong máu chuột (n = 10,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Thời điểm xét nghiệm  Lô nghiên cứu	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	P <sub>b-a</sub>	P <sub>c-a</sub>
	Lô 1 (1)	0,89 ± 0,25	0,87 ± 0,22	0,93 ± 0,15	> 0,05
Lô 2 (2)	0,90 ± 0,20	1,20 ± 0,41	1,44 ± 0,43	< 0,05	< 0,01
Lô 3 (3)	0,92 ± 0,13	1,08 ± 0,33	1,06 ± 0,20	> 0,05	< 0,01
Lô 4 (4)	0,90 ± 0,17	1,03 ± 0,13	1,04 ± 0,12	> 0,05	< 0,05
Lô 5 (5)	0,91 ± 0,19	1,04 ± 0,10	1,08 ± 0,14	> 0,05	< 0,05
P <sub>2,3,4,5-1</sub>	> 0,05	p <sub>2-1</sub> < 0,05	< 0,01	-	-
P <sub>3,4,5-2</sub>	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-

Hỗn hợp dầu cholesterol làm tăng rõ rệt nồng độ TG trong máu: So với lô 1, tại thời điểm sau 14 và sau 28 ngày, TG trong máu chuột ở các lô 2 đến lô 5 đều tăng. Ở lô 2 sự tăng có ý nghĩa thống kê tại cả thời điểm sau 14 ngày và sau 28 ngày với  $p < 0,05$ . Ở các lô 3, 4, 5 nồng độ TG tăng có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$  sau 28 ngày. TG ở lô 2 lớn hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) sau 14 và 28 ngày; TG ở lô dùng thuốc lớn hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) sau 28 ngày so với xuất phát điểm.

Thuốc thử và Atorvastatin đều thể hiện tác dụng hạ TG trong máu: Nồng độ TG ở các lô dùng thuốc đều giảm so với lô 2 tại thời điểm 14 ngày, tuy nhiên sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Nồng độ TG ở các lô dùng thuốc đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô 2 tại thời điểm 28 ngày, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

### 3. Sự thay đổi nồng độ HDL - cholesterol trong máu chuột

**Bảng 3.** Nồng độ HDL-cholesterol (mmol/L) trong máu chuột (n = 10,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Thời điểm xét nghiệm Lô nghiên cứu	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)
Lô 1 (1)	0,81 ± 0,15	0,82 ± 0,17	0,79 ± 0,27
Lô 2 (2)	0,81 ± 0,16	0,73 ± 0,09	0,64 ± 0,11
Lô 3 (3)	0,79 ± 0,14	0,90 ± 0,08	0,93 ± 0,10
Lô 4 (4)	0,84 ± 0,23	0,87 ± 0,12	0,92 ± 0,20
Lô 5 (5)	0,83 ± 0,23	0,90 ± 0,22	0,95 ± 0,28
P <sub>3,4,5-2</sub>	> 0,05	< 0,05	< 0,05

Nồng độ HDL-cholesterol ở các lô 3, 4, 5 đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô 2 (với p < 0,05) tại cùng một thời điểm 14 và 28 ngày. Kết quả cho thấy, thuốc thử ở 2 mức liều nghiên cứu và thuốc tham chiếu Atorvastatin đều làm tăng HDL-cholesterol trong máu trên chuột được gây rối loạn lipid máu.

### 4. Sự thay đổi nồng độ LDL-cholesterol trong máu chuột

**Bảng 4.** Nồng độ LDL-cholesterol (mmol/L) trong máu chuột (n = 10,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Thời điểm xét nghiệm Lô nghiên cứu	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	P <sub>b,c-a</sub>
Lô 1 (1)	0,53 ± 0,23	0,64 ± 0,25	0,58 ± 0,20	> 0,05
Lô 2 (2)	0,61 ± 0,31	1,67 ± 0,59	1,86 ± 0,49	< 0,01
Lô 3 (3)	0,57 ± 0,22	1,18 ± 0,21	1,19 ± 0,18	< 0,01
Lô 4 (4)	0,60 ± 0,22	0,94 ± 0,34	0,87 ± 0,22	< 0,01
Lô 5 (5)	0,62 ± 0,25	0,97 ± 0,31	0,85 ± 0,27	< 0,01
P <sub>2,3,4,5-1</sub>	> 0,05	< 0,01	< 0,01	-
P <sub>3,4,5-2</sub>	> 0,05	< 0,05	p <sub>3-2</sub> < 0,05 p <sub>4,5-2</sub> < 0,01	-

Hỗn hợp dầu cholesterol làm tăng rõ rệt LDL-cholesterol trong máu: So với lô chứng sinh lý, nồng độ LDL-cholesterol ở các lô từ lô 2 đến lô 5 đều tăng có ý nghĩa thống kê tại các thời điểm 14 và 28 ngày, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Các lô 2 đến lô 5 có nồng độ LDL-cholesterol trong máu tại các thời điểm sau 14 và 28 ngày tăng có ý nghĩa thống kê so với trước thí nghiệm ( $p < 0,01$ ).

Thuốc thử và Atorvastatin thể hiện rõ tác dụng hạ LDL-cholesterol trong máu: Lô 4 và 5 có nồng độ LDL-cholesterol giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình tại thời điểm 14 ngày ( $p < 0,05$ ). Các lô 3, 4, 5 có nồng độ LDL-cholesterol giảm có ý nghĩa thống kê so với lô 2 tại thời điểm 28 ngày ( $p < 0,05$ ).

### 5. Sự thay đổi nồng độ VLDL-cholesterol trong máu chuột

**Bảng 5.** Nồng độ VLDL-Cholesterol máu (mmol/l) chuột ( $n = 10, \bar{X} \pm SD$ ).

Lô nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	$P_{b-a}$	$P_{c-a}$
	Lô 1 (1)		0,41 ± 0,08	0,39 ± 0,10	0,42 ± 0,07	> 0,05
Lô 2 (2)		0,41 ± 0,09	0,54 ± 0,19	0,66 ± 0,20	< 0,05	< 0,01
Lô 3 (3)		0,41 ± 0,11	0,47 ± 0,15	0,48 ± 0,09	> 0,05	< 0,01
Lô 4 (4)		0,41 ± 0,09	0,47 ± 0,06	0,47 ± 0,05	> 0,05	< 0,05
Lô 5 (5)		0,42 ± 0,06	0,47 ± 0,05	0,49 ± 0,06	> 0,05	< 0,05
	$P_{2-1}$	> 0,05	< 0,01	< 0,05	-	-
	$P_{3,4,5-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,05	-	-

Hỗn hợp dầu cholesterol làm tăng VLDL-cholesterol trong máu chuột: So với lô 1, nồng độ VLDL-cholesterol ở các lô từ lô 2 đến lô 5 đều tăng tại thời điểm 14 và 28 ngày. Lô 2 sự tăng có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) tại cả thời điểm sau 14 ngày và 28 ngày. Nồng độ VLDL-cholesterol ở các lô 3, 4, 5 tăng có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) tại thời điểm 28 ngày. Tại thời điểm 14 ngày, nồng độ VLDL-cholesterol ở lô 2 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước thí nghiệm ( $p < 0,05$ ); tại thời điểm 28 ngày, nồng độ VLDL-Cholesterol ở các lô uống hỗn hợp dầu cholesterol cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước thí nghiệm ( $p < 0,05$ ).

Thuốc thử và Atorvastatin thể hiện tác dụng hạ VLDL-cholesterol trong máu: Nồng độ VLDL-cholesterol ở các lô dùng thuốc đều giảm so với lô 2 tại thời điểm 14 ngày, tuy nhiên sự thay đổi này chưa đạt ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Nồng độ VLDL-cholesterol ở các lô dùng thuốc đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô 2 ( $p < 0,05$ ) tại thời điểm 28 ngày.

### 6. Sự thay đổi chỉ số vữa xơ mạch (Atherogenic index) của chuột nghiên cứu

**Bảng 6.** Chỉ số vữa xơ mạch (Atherogenic index) ( $n = 10, \bar{X} \pm SD$ ).

Thời điểm xét nghiệm	Trước thí nghiệm (a)	Sau 14 ngày (b)	Sau 28 ngày (c)	p
Lô nghiên cứu				
Lô 1 (1)	1,25 ± 0,32	1,29 ± 0,52	1,35 ± 0,41	$p > 0,05$
Lô 2 (2)	1,34 ± 0,34	3,15 ± 0,99 <sup>▲##</sup>	4,04 ± 1,10 <sup>▲##</sup>	# p-a < 0,05
Lô 3 (3)	1,32 ± 0,47	1,86 ± 0,38 <sup>*#</sup>	1,83 ± 0,28 <sup>▲**#</sup>	
Lô 4 (4)	1,33 ± 0,59	1,67 ± 0,51 <sup>**</sup>	1,50 ± 31 <sup>▲**#</sup>	## p-a < 0,01
Lô 5 (5)	1,29 ± 0,50	1,69 ± 0,56 <sup>**</sup>	1,50 ± 0,45 <sup>Δ**#</sup>	
p	> 0,05	Δ p-1 < 0,05; ▲ p-1 < 0,01; * p-2 < 0,05; ** p-2 < 0,01		-

Hỗn hợp dầu cholesterol đã làm tăng chỉ số Atherogenic: Tại các thời điểm 14 và 28 ngày, các lô chuột từ lô 2 đến lô 5 có chỉ số Atherogenic đều cao hơn so với lô 1. Lô 2 tại thời điểm 14 và 28 ngày và lô 3, 4, 5 tại thời điểm 28 ngày chỉ số Atherogenic tăng có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Chỉ số Atherogenic từ lô 2 đến lô 5 tại thời điểm 14 và 28 ngày đều tăng so với trước thí nghiệm. Chỉ số này ở lô 2 và lô 3 tại thời điểm 14 và 28 ngày tăng có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ; lô 4 và 5 tại thời điểm 28 ngày tăng có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Thuốc thử và Atorvastatin thể hiện tác dụng hạ chỉ số Atherogenic: Ở cả 2 thời điểm nghiên cứu, các lô dùng thuốc thử và thuốc tham chiếu đều có chỉ số Atherogenic giảm rõ, sự thay đổi này có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ( $p < 0,05$ ).

### **BÀN LUẬN**

Mô hình gây rối loạn lipid máu chuột uống hỗn hợp dầu cholesterol, nhưng không gây tình trạng tăng cân hay béo phì ở chuột. Điều này có thể lý giải được do các thử nghiệm được tiến hành trong thời gian ngắn (28 ngày), chuột ăn thức ăn thông thường hạn chế hơn nên chỉ làm rối loạn lipid máu mà không gây tình trạng tăng cân nhiều hay béo phì. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hỗn hợp dầu cholesterol đã gây được tình trạng rối loạn lipid máu rõ rệt trên chuột cống trắng, các chỉ số cholesterol toàn phần, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, TG, chỉ số xơ vữa mạch đều tăng. Thuốc thử ở 2 mức liều nghiên cứu (336 mg/kg/ngày và liều 672 mg/kg/ngày) có tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu thông qua việc làm giảm các chỉ số trên và làm tăng hàm lượng HDL-cholesterol trong máu, tương đương với lô thuốc tham chiếu dùng Atorvastatin liều 10 mg/kg/ngày. Tỏi đen, búp giấm, trạch tả và giảo cổ lam đều là những dược liệu có tác dụng hạ cholesterol máu [2, 3]. Các hoạt chất trong các dược liệu này thể hiện tác dụng hạ lipid máu theo những con đường khác nhau. Sự phối hợp các dược liệu nhằm phát huy hiệu quả tác dụng của các hoạt chất này trên nhiều

đích tác dụng, tạo nên tác dụng hiệp đồng [6]. Kết quả rõ rệt trong điều chỉnh rối loạn cholesterol máu của viên nang, dường như thể hiện rõ nét hơn so với các nghiên cứu về tác dụng của từng thành phần [2, 3]. Đây là cơ sở khoa học để phối hợp các dược liệu một cách hợp lý trong bào chế các chế phẩm từ thảo dược chăm sóc sức khỏe. Tuy nhiên, các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế tác dụng cần được tiếp tục tiến hành.

### **KẾT LUẬN**

Viên nang bào chế từ tỏi đen, búp giấm, trạch tả và giảo cổ lam ở 2 mức liều là 336 mg/kg/ngày và 672 mg/kg/ngày, có tác dụng tốt trong điều trị rối loạn lipid máu trên mô hình gây rối loạn lipid máu theo cơ chế ngoại sinh ở chuột cống trắng, tác dụng này tương đương với thuốc tham chiếu Atorvastatin liều 10mg/kg/ngày: Làm giảm các chỉ số triglyceride, cholesterol toàn phần, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, chỉ số xơ vữa mạch trong máu; Làm tăng chỉ số HDL-cholesterol trong máu.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Nguyễn Lâm Việt. Thực hành bệnh tim mạch. Nhà xuất bản Y học. 2015:368-378.

2. Zoriah Azizn et al. Effects of *Hibiscus sabdariffa* L. on serum lipids: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013; 442-450.
3. Karin Ried et al. Effect of garlic on serum lipids: An updated meta-analysis. *Nutrition Reviews*. 2013; 71(5): 282-299.
4. Nassiri-Asl M, et al. Effects of *Urtica dioica* extract on lipid profile in hypercholesterolemic rats. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2009; 7(5): 428-433.
5. Nguyễn Trọng Thông và CS. 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*. 2014; 5:179-182.
6. Yuan H, Ma Q, Cui H, Liu G, Zhao X, Li W, & Piao G. How can synergism of traditional medicines benefit from network pharmacology?. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2017; 22(7):1135.

## NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG CÔNG THỨC HỆ NANO TỰ NHũ HÓA CHỨA CURCUMIN

Nguyễn Trọng Điệp<sup>1</sup>, Lục Thị Nguyệt<sup>1</sup>, Phan Thị Thu Hằng<sup>1\*</sup>

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Xây dựng công thức hệ nano tự nhũ hóa chứa curcumin. **Phương pháp nghiên cứu:** Xác định độ tan của curcumin (CUR) trong các tá dược. Lựa chọn pha dầu, chất diện hoạt, đồng diện hoạt trên cơ sở xây dựng giản đồ pha, khảo sát tỷ lệ CUR nạp vào hệ. Hệ nano tự nhũ hóa được đánh giá về: Độ ổn định, mức độ và thời gian phân tán, độ truyền qua, kích thước tiểu phân (KTTP), chỉ số đa phân tán (PDI), thế zeta, hàm lượng CUR, khả năng giải phóng *in vitro*. **Kết quả:** Đã khảo sát được độ tan của CUR trong các loại tá dược; ảnh hưởng của chất diện hoạt, đồng diện hoạt, tỷ lệ của CUR trong hệ. Xây dựng được công thức bào chế hệ nano tự nhũ hóa gồm: CUR 3,5%, dầu thầu dầu 19,3%, cremophore RH40 38,6% và PEG 400 38,6%. Hệ nano tự nhũ hóa sau khi phân tán vào nước có KTTP  $36,27 \pm 0,92\text{nm}$ , chỉ số PDI là  $0,169 \pm 0,04$  và thế zeta  $-39,2 \pm 3,01\text{mV}$ ; khả năng giải phóng *in vitro* của CUR sau 90 phút trong hai môi trường: Dung dịch acid HCl 0,1N và đệm phosphat pH 6,8 tương ứng là 92,42 và 97,75%. **Kết luận:** Đã xây dựng thành công công thức hệ nano tự nhũ hóa chứa CUR.

**Từ khóa:** Curcumin; Hệ nano tự nhũ hóa; Giản đồ pha.

## PREPARATION OF SELF-NANOEMULSIFYING DRUG DELIVERY SYSTEM OF CURCUMIN

### Abstract

**Objectives:** To prepare a liquid self-nanoemulsifying drug delivery system containing curcumin. **Methods:** Determining of solubility of curcumin (CUR) in excipients. Selecting the oil phase, surfactant, and co-surfactant based on building a phase diagram and surveying the CUR ratio loaded into the system. The self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDs) were evaluated on stability,

---

<sup>1</sup>Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Phan Thị Thu Hằng (thuhangphanhvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 14/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 03/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.515>

degree and dispersion time, transmittance, droplet size, polydispersity index (PDI), zeta potential, CUR content, *in vitro* dissolution studies. **Results:** The solubility of curcumin in excipients was investigated. The influence of successfully surfactants and co-surfactants was investigated on the formation and stability of the self-nanoemulsifying system. Investigate the ratio and effect of curcumin when combined with the liquid system on the droplet size. A formula for preparing a liquid self-nanoemulsifying drug delivery system containing curcumin has been developed, including curcumin 3.5%; castor oil 19.3%; cremophore RH40 38.6% and PEG 400 38.6%. The system has a particle size of  $36.27 \pm 0.92\text{nm}$ , the polydispersity index is  $0.169 \pm 0.04$  and the zeta potential is  $-39.2 \pm 3.01\text{mV}$ , the *in vitro* dissolution of SNEDDs-CUR at 90 minutes in media HCl 0.1N and pH 6.8 phosphate buffer are 92.42 and 97.75% respectively. **Conclusion:** The study prepared and evaluated some properties of curcumin self-nanoemulsifying drug delivery system.

**Keywords:** Curcumin; Self-nanoemulsifying drug delivery system; Phase diagram; Cremophore RH40.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Curcumin là một polyphenol, có nguồn gốc từ củ nghệ *Curcuma longa* L., được sử dụng phổ biến trong điều trị với các tác dụng như chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn và ức chế tế bào ung thư... [1]. Theo bảng phân loại sinh dược học (BCS-biopharmaceutical classification system), CUR thuộc nhóm IV, có độ tan và tính thấm kém. Chính độ hòa tan kém trong nước, hấp thu kém ở đường tiêu hóa, kém ổn định trong môi trường kiềm và chuyển hóa nhanh là những cản trở lớn làm hạn chế sinh khả dụng (SKD) của CUR theo đường uống [2]. Một số nghiên cứu gần đây đã được tiến hành nhằm cải thiện SKD cho CUR, trong đó tập trung chủ yếu vào biện pháp

làm tăng độ tan cho CUR như kết hợp với piperin, tạo hệ phân tán rắn, hệ tiểu phân nano, hệ tự vi nhũ hóa,... [3]. Trong các kỹ thuật đó, hệ nano tự nhũ hóa (NTNH) được xem là hướng nghiên cứu hiện đại, có tính khả thi để cải thiện SKD cho thuốc theo đường uống. Do hệ NTNH là hỗn hợp đồng nhất của dầu, chất diện hoạt, chất đồng diện hoạt và hoạt chất nên có tính ổn định tốt, làm tăng độ tan cho hoạt chất, bảo vệ hoạt chất tránh được các tác động của các enzyme trong đường tiêu hóa. Khi tiếp xúc với môi trường hòa tan cùng với sự tác động của khuấy trộn hoặc nhu động đường tiêu hóa, hệ NTNH có khả năng tự nhũ hóa để tạo thành nhũ tương dầu trong nước có kích thước nano, làm tăng diện tích tiếp xúc

với niêm mạc đường tiêu hóa, do đó làm tăng SKD [4]. Mặt khác, các giọt dầu kích thước nano còn được hấp thu qua đường bạch huyết nên tránh được chuyển hóa lần đầu qua gan. Tuy nhiên, các nghiên cứu về hệ NTNH chứa CUR còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: Xây dựng công thức hệ nano tự nhũ hóa chứa CUR.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* Nguyên liệu:

Curcumin (hàm lượng 95,7%) được cung cấp bởi công ty Ambe Phytoextracts Pvt. Ltd, Ấn Độ. Chuẩn curcumin (số kiểm soát WS.0118341.01, hàm lượng 99,56%) được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Các nguyên liệu, hoá chất như dầu thầu dầu, Cremophor RH40, Tween 80, PEG 400, transcitol P, ethanol 96%... đạt tiêu chuẩn dược dụng.

\* Thiết bị, dụng cụ thiết bị:

Máy khuấy từ IK RW16 (Hàn Quốc), cân phân tích Satirius CP224S (Mỹ), cân kỹ thuật (Satirius-Mỹ), máy đo quang phổ UV-Vis UVD-2960 (Mỹ), máy đo KTTP, thế zeta, chỉ số PDI Nanosizer SZ 100 (Nhật Bản), máy lắc IKA Vortex GENIUS 3 (Đức), máy thử độ hòa tan NE6-COPD Copley (Anh), kính hiển vi điện tử quét HITACHI S-4800 (Nhật Bản) và các dụng cụ thông dụng khác.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Xác định độ tan của curcumin trong các loại tá dược:*

Cho một lượng dư CUR vào 5,0g tá dược trong cốc có mỏ dung tích 50mL, khuấy từ liên tục 650 vòng/phút trong 8 giờ, để ổn định ở 25°C trong 72 giờ, sau đó ly tâm 10.000 vòng/15 phút. Hút lớp dịch trong phía trên rồi hòa tan trong ethanol 96% đến nồng độ thích hợp. Định lượng CUR bằng phương pháp UV-Vis tại bước sóng 427nm, mẫu trắng là tá dược khảo sát pha loãng cùng điều kiện. Thử nghiệm được tiến hành 3 lần, lấy kết quả trung bình [5].

\* *Khảo sát lựa chọn chất diện hoạt:*

Tiến hành trộn pha dầu và chất diện hoạt theo tỷ lệ 1:1 (kl/kl) trên máy Vortex trong 5 phút rồi pha loãng 50mg hỗn hợp này với 50mL nước cất, khuấy từ trong 2 phút với tốc độ 50 vòng/phút để tạo thành nhũ tương, để ổn định ở nhiệt độ 25 ± 2°C trong 12 giờ. Sau đó đo độ truyền qua trên máy quang phổ UV-Vis, đo KTTP và PDI trên máy Zetasizer Nano [6]. Căn cứ vào kết quả đo độ truyền qua, KTTP và PDI để lựa chọn chất diện hoạt phù hợp.

\* *Khảo sát lựa chọn chất đồng diện hoạt:*

Chuẩn bị pha dầu, chất diện hoạt và chất đồng diện hoạt theo tỷ lệ 1:2:1 (kl/kl). Hỗn hợp này được trộn trên máy Vortex trong 5 phút. Cân 50mg hỗn hợp trên, pha loãng với 50mL nước cất để tạo thành nhũ tương, để ổn

định ở nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  trong 12 giờ. Sau đó đo độ truyền qua trên máy quang phổ UV-Vis, đo KTTP và PDI trên máy Zetasizer Nano [6]. Căn cứ vào kết quả đo độ truyền qua, KTTP và PDI để lựa chọn được các chất đồng diện hoạt phù hợp.

*\* Xây dựng giản đồ pha:*

Từ các loại dầu, các chất diện hoạt và đồng diện hoạt khác nhau lựa chọn ở trên, tiến hành phối hợp theo thứ tự sau: Hỗn hợp chất diện hoạt/chất đồng diện hoạt (Smix) được phối hợp theo các tỷ lệ (kl/kl) sau: 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 và 1:3. Với mỗi tỷ lệ Smix, tiến hành trộn với pha dầu (O) theo các tỷ lệ là 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 và 9:1 trên máy Vortex tốc độ 500 vòng/phút. Với mỗi hỗn hợp trên, cân 50mg phối hợp với 50mL nước cất, khuấy từ liên tục 50 vòng/phút trong 10 phút để tạo thành nhũ tương, để ổn định trong 48 giờ. Lựa chọn các công thức nhũ tương không bị kết tụ và tách pha để đo KTTP. Sử dụng phần mềm Chemix School 7.0 lập giản đồ pha, trong đó mỗi trục tượng trưng cho dầu, chất diện hoạt và đồng diện hoạt. Vùng hình thành nano nhũ tương là vùng có các công thức cho KTTP nhỏ hơn 200nm. Căn cứ vào giản đồ pha để lựa chọn thành phần của hệ nano tự nhũ hóa [6, 7].

*\* Khảo sát tỷ lệ curcumin nạp vào hệ nano tự nhũ hóa:*

Phối hợp CUR vào các công thức lựa chọn được từ giản đồ pha theo các

tỷ lệ 3%, 3,5%, 4% (kl/kl), khuấy từ 2 giờ, tốc độ 3000 vòng/phút. Mỗi tỷ lệ khảo sát được chia làm 2 mẫu để thực hiện các thử nghiệm sau:

Mẫu 1: Bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Mẫu 2: Bảo quản ở nhiệt độ phòng ( $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ).

Sau 24 giờ, các mẫu không xuất hiện kết tinh hoặc kết tủa được chất được chọn để đánh giá KTTP, PDI nhằm lựa chọn tỷ lệ CUR phù hợp nhất [6].

*\* Đánh giá độ ổn định nhiệt động học:*

Các công thức hệ NTNH được ly tâm ở 3500 vòng/phút trong 30 phút, sau đó quan sát sự tách pha, tách lớp. Những công thức ổn định được lựa chọn để đánh giá độ ổn định theo chu kỳ đông rã ở  $-5^\circ\text{C}$  và  $40^\circ\text{C}$ , mỗi nhiệt độ trong 48 giờ [8].

*\* Đánh giá độ ổn định của hệ nano tự nhũ hóa trong các môi trường:*

Phân tán hệ NTNH trong nước, dung dịch HCl 0,1 N và đệm phosphat pH 6,8 với tỷ lệ pha loãng 50, 100, 1000 lần, khuấy trộn với tốc độ 100 vòng/phút. Để ổn định trong 12 giờ ở  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  và quan sát độ ổn định của nhũ tương [8].

*\* Đánh giá mức độ và thời gian phân tán:*

Cho 1mL hệ tự nhũ hóa vào 500mL nước cất ở nhiệt độ phòng, khuấy từ với tốc độ 50 vòng/phút. Độ phân tán

của các công thức được đánh giá cảm quan theo hệ thống phân loại sau:

Mức A: Hình thành nhũ tương nhanh (< 1 phút), trong suốt hoặc có màu hơi xanh xuất hiện.

Mức B: Thời gian hình thành nhũ tương ngắn, màu hơi đục, trắng xanh.

Mức C: Tạo nhũ tương trắng sữa trong khoảng 2 phút.

Mức D: Thời gian hình thành nhũ tương dài hơn 2 phút, mờ đục, trắng xám, có xuất hiện một lượng dầu nhỏ.

Mức E: Khả năng tạo nhũ tương kém, tách pha và có lớp dầu nổi trên bề mặt.

Các công thức đáp ứng yêu cầu của mức A và B được đo KTTTP và PDI [8].

*\* Độ truyền qua:*

Độ truyền qua là thông số dùng để đánh giá tính đẳng hướng của nano nhũ tương, đồng thời có thể dự đoán KTTTP của hệ NTNH, độ truyền qua càng cao chứng tỏ KTTTP càng nhỏ. Cân 50mg hệ tự nhũ hóa, pha loãng với 50mL nước cất 2 lần. Độ truyền qua T được xác định bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 650nm [8].

*\* Kích thước tiểu phân, chỉ số đa phân tán, thế zeta:*

Sử dụng phương pháp tán xạ ánh sáng động trên thiết bị đo KTTTP Zetasizer Nano. Hệ được pha loãng với nước cất 2 lần theo tỷ lệ 1:200 (tt/tt), khuấy từ với tốc độ 50 vòng/phút trong 2 phút để tạo thành nhũ tương. Sử dụng cuvet nhựa, chỉ số khúc xạ RI là 1,4155 -

1,4175 [7]. Hệ đạt yêu cầu khi KTTTP < 200nm, PDI ≤ 0,3, thế zeta > ± 30mV.

*\* Hàm lượng curcumin trong hệ nano tự nhũ hóa:*

Cân một lượng hệ NTNH tương đương với 10mg CUR trong bình định mức 100mL, thêm khoảng 70mL ethanol 96%, lắc siêu âm đến khi CUR tan hoàn toàn, bổ sung ethanol 96% vừa đủ đến vạch. Pha loãng dung dịch trên đến nồng độ thích hợp trước khi đo quang ở bước sóng cực đại hấp thụ. Mẫu trắng là hệ tá dược trong môi trường cần đo. Dựa vào phương trình đường chuẩn, tính được hàm lượng CUR thực tế có trong hệ NTNH.

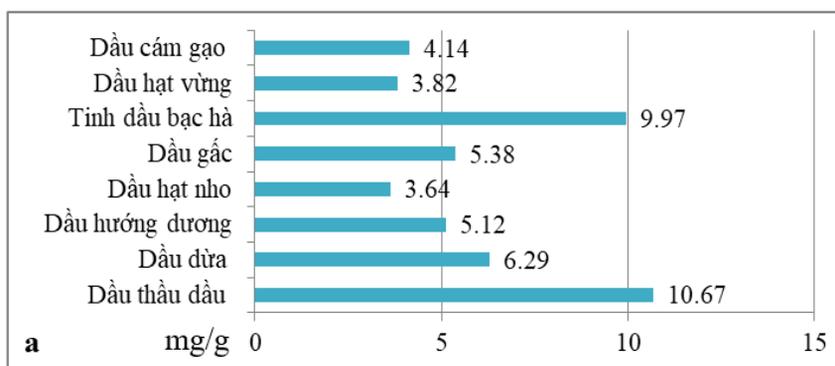
*\* Đánh giá khả năng giải phóng in vitro của curcumin trong hệ nano tự nhũ hóa:*

Thiết bị: Máy đo độ hòa tan kiểu giỏ quay. Môi trường hòa tan: 900mL dung dịch acid HCl 0,1N hoặc đệm phosphat pH 6,8. Nhiệt độ môi trường hòa tan: 37 ± 0,5°C. Tốc độ khuấy: 50 vòng/phút. Cách tiến hành: cân chính xác khoảng 5,25mg CUR nguyên liệu hoặc hệ NTNH tương đương với 5,25mg CUR rồi đóng vào nang số "0" ngay trước khi thử. Tiến hành thử độ hòa tan với các điều kiện như trên. Tại các thời điểm đo, lấy khoảng 5mL môi trường thử, đồng thời bổ sung 5mL môi trường mới. Dịch thử độ hòa tan được lọc qua màng 0,45µm và tiến hành định lượng bằng phương pháp UV-Vis. Mẫu trắng là dung dịch acid HCl 0,1N hoặc đệm phosphat pH 6,8 [9].

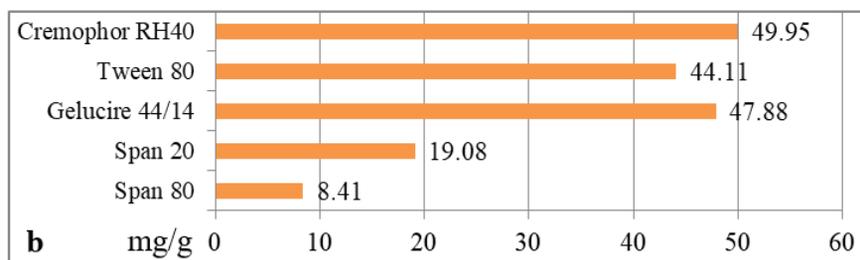
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

\* *Độ tan của curcumin trong các tá dược:*

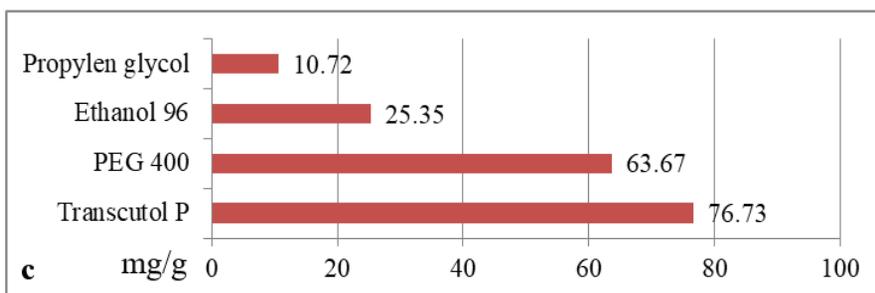
Hỗn hợp các thành phần dược chất, dầu, chất diện hoạt, chất đồng diện hoạt trong hệ tự nhũ hóa cần phải đồng nhất, trong suốt và ổn định ở nhiệt độ thường, do đó các thành phần trong hệ cần hòa tan tối đa dược chất [10]. Kết quả khảo sát độ tan của CUR trong các tá dược được thể hiện trong hình 1.



a: Tá dược pha dầu.



b: Chất diện hoạt.



c: Chất đồng diện hoạt.

**Hình 1.** Độ tan của curcumin (mg/g) trong các loại tá dược.

Hình 1 cho thấy: Trong các loại dầu, CUR tan tốt nhất trong dầu thầu dầu ( $10,67 \pm 0,03$  mg/g). Trong các chất diện hoạt, CUR tan tốt nhất trong Cremophor RH40 ( $49,95 \pm 0,12$  mg/g); Tween 80 ( $44,11 \pm 0,08$  mg/g) và Gelucire 44/14 ( $47,88 \pm 0,11$  mg/g). Trong các chất đồng diện hoạt, CUR tan tốt nhất trong PEG 400 ( $63,67 \pm 0,06$  mg/g) và Transcutol P ( $76,73 \pm 0,21$  mg/g). Do đó, các tá dược trên được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo. Đây là các tá dược đã được sử dụng trong một số nghiên cứu về hệ tự nhũ hóa như hệ tự nhũ hóa chứa L-tetrahydropalmitin, aceclofenac, lercanidipin [5, 6, 7].

*\* Kết quả khảo sát lựa chọn chất diện hoạt:*

Phối hợp dầu thầu dầu với ba loại chất diện hoạt là Cremophor RH40, Tween 80, Gelucire 44/14 theo tỷ lệ 1:1. Kết quả cho thấy các công thức đều tạo thành nhũ tương với KTTP từ 96,5 - 233,9nm, PDI xấp xỉ 0,3. Trong

đó, công thức chứa Cremophor RH40 và Tween 80 tạo thành nhũ tương có độ truyền qua cao nhất, lần lượt là 65,09 và 85,11% và có KTTP lần lượt là 96,5nm và 181,2nm ( $< 200$ nm) nên được lựa chọn làm chất diện hoạt cho các khảo sát tiếp theo.

*\* Kết quả khảo sát lựa chọn chất đồng diện hoạt:*

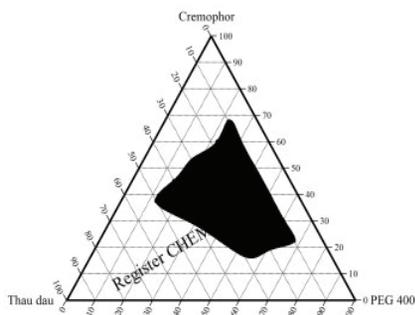
Tiến hành phối hợp dầu thầu dầu với Cremophor RH40 hoặc Tween 80, thêm chất đồng diện hoạt là Transcutol P hoặc PEG 400 theo tỷ lệ 1:2:1 (kl/kl). Kết quả cho thấy các hệ NTNH phân tán vào nước tạo nhũ tương trong hơn (độ truyền qua lớn, từ 50 - 98%) và KTTP nhỏ hơn (39,3 - 205,3nm). Như vậy, chứng tỏ sự có mặt của chất đồng diện hoạt sẽ làm tăng khả năng nhũ hóa của chất diện hoạt, làm giảm năng lượng bề mặt của pha dầu từ đó làm giảm sự phân bố kích thước, nhờ vậy hệ tạo thành ổn định hơn. Do đó, nghiên cứu lựa chọn cả hai chất đồng diện hoạt để xây dựng giản đồ pha.

*\* Kết quả xây dựng giản đồ pha:*

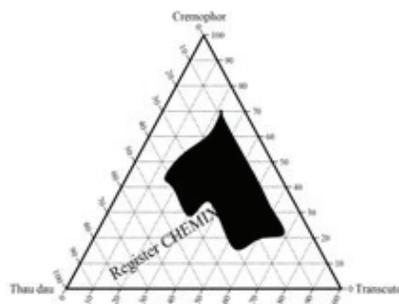
Các hệ NTNH phối hợp từ pha dầu, diện hoạt và đồng diện hoạt được mã hóa từ S1 đến S4 (Bảng 1), kết quả được thể hiện trong hình 2.

**Bảng 1.** Thành phần của các hệ nano tự nhũ hóa.

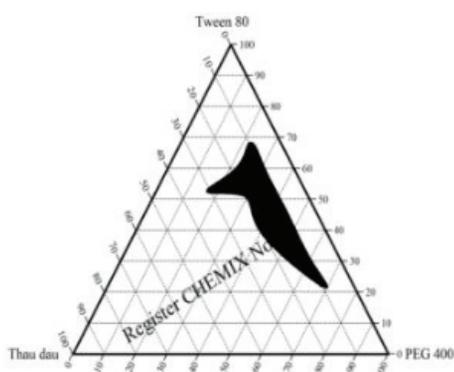
Mã hóa	Dầu	Chất diện hoạt	Chất đồng diện hoạt
S1	Thầu dầu	Cremophor RH40	PEG 400
S2	Thầu dầu	Cremophor RH40	Transcutol P
S3	Thầu dầu	Tween 80	PEG 400
S4	Thầu dầu	Tween 80	Transcutol P



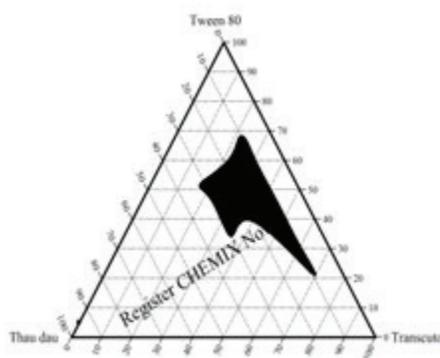
S1



S2



S3



S4

**Hình 2.** Giản đồ pha của hệ nano tự nhũ hóa.

Hình 2 cho thấy hệ S1 (hỗn hợp của dầu thầu dầu, Cremophor, PEG 400) có vùng hình thành nhũ tương lớn nhất với K<sub>TTP</sub> < 200nm, độ truyền qua cao và PDI hầu hết nhỏ hơn 0,3. Vì vậy, lựa chọn hệ S1 để khảo sát xây dựng công thức NTNH chứa CUR.

*\* Kết quả khảo sát tỷ lệ curcumin nạp hệ nano tự nhũ hóa:*

Phối hợp CUR theo các tỷ lệ là 3; 3,5; 4% (kl/kl) vào 19 công thức có thành phần như trong bảng 2. Kết quả cho thấy tỷ lệ CUR 3,5% là tỷ lệ tối đa có thể hòa tan được CUR trong các công thức hệ NTNH do sau 24 giờ các công thức này vẫn ổn định ở  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  và  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Khi tăng CUR lên tỷ lệ 4% thì xảy ra hiện tượng kết tủa ở các công thức có tỷ lệ dầu và chất đồng diện hoạt cao. Điều này có thể do độ tan CUR trong dầu thấp dẫn tới khả năng hòa tan CUR của hệ giảm đi. Với mục tiêu phối hợp tối đa được chất vào hệ NTNH đề tài lựa chọn 19 công thức với tỷ lệ CUR 3,5% (Bảng 2) cho các đánh giá tiếp theo.

**Bảng 2:** Mã hóa 19 công thức trong hệ S1.

Tỷ lệ O/Smix	Tỷ lệ chất diện hoạt/ đồng diện hoạt (Smix)				
	3:1	2:1	1:1	1:2	1:3
1:9	A1	A6	A10	A14	A17
2:8	A2	A7	A11	A15	A18
3:7	A3	A8	A12	A16	A19
4:6	A4	A9	A13		
5:5	A5				

*\* Độ ổn định nhiệt động học:*

Kết quả đánh giá độ ổn định sau 3 chu trình đông-rã cho thấy cả 19 công thức khảo sát không bị tách lớp, tách pha, không có CUR bị kết tinh, kết tủa. Do vậy, các công thức khảo sát đều ổn định về nhiệt động học.

*\* Độ ổn định trong các môi trường:*

Kết quả đánh giá độ ổn định trong môi trường pH 1,2; 4,5 và 6,8 cho thấy sau 12 giờ thì cả 19 công thức khảo sát đều không có dấu hiệu tách pha hay kết tủa dược chất. Điều này chứng tỏ môi trường khảo sát không ảnh hưởng đến độ ổn định sau khi hệ tự nhũ hóa.

*\* Mức độ và thời gian phân tán:*

Kết quả thực nghiệm cho thấy thời gian phân tán của các công thức dao động từ 2 - 43 giây. Trong đó, 6 công thức có tỷ lệ pha dầu cao (gồm A5, A9, A12, A13, A16 và A19) độ phân tán ở mức C (nhũ tương đục và thời gian phân tán dài) nên bị loại bỏ, còn 13 công thức còn lại có độ phân tán đạt mức A, B nên được lựa chọn cho các đánh giá tiếp theo.

*\* Độ truyền qua:*

Độ truyền qua (T) của 13 công thức khảo sát đều đạt trên 75,5%. Trong đó, có 10 công thức có T > 90% được lựa chọn (loại bỏ các công thức A4, A15, A18) để tiến hành khảo sát tiếp theo.

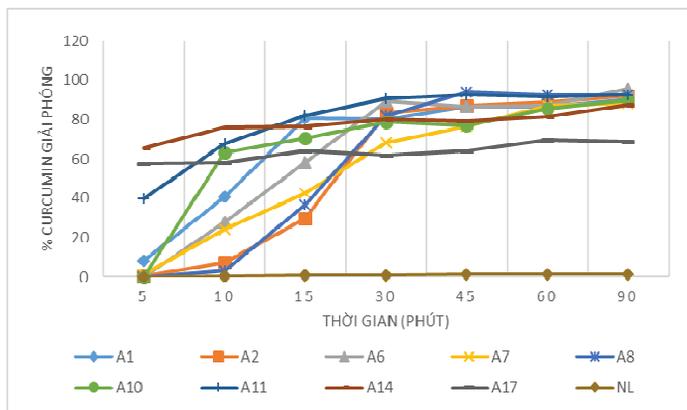
\* Kích thước tiểu phân, chỉ số đa phân tán, thế zeta và hàm lượng CUR trong hệ:

**Bảng 3.** Kích thước tiểu phân, PDI và thế zeta ( $\bar{X} \pm SD$ , n = 3).

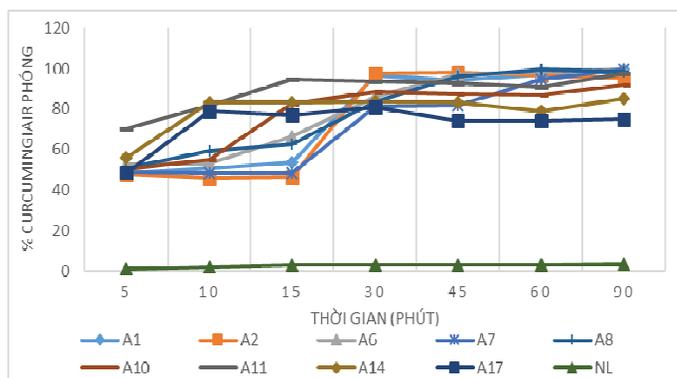
Công thức	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)	Hàm lượng CUR (%)	Tỷ lệ CUR so với lý thuyết (%)
A1	21,97 ± 0,83	0,144 ± 0,02	-38,1 ± 1,10	3,31 ± 0,08	96,04
A2	28,80 ± 0,69	0,143 ± 0,04	-39,4 ± 1,25	3,37 ± 0,05	95,44
A3	55,90 ± 0,34	0,241 ± 0,01	-27,3 ± 2,12	3,46 ± 0,11	98,38
A6	21,97 ± 0,05	0,113 ± 0,04	-40,0 ± 0,47	3,48 ± 0,12	100,62
A7	31,33 ± 0,72	0,126 ± 0,01	-35,6 ± 2,36	3,40 ± 0,08	97,51
A8	60,40 ± 1,60	0,216 ± 0,05	-33,9 ± 1,58	3,33 ± 0,06	95,71
A10	21,30 ± 1,57	0,077 ± 0,03	-35,1 ± 4,22	3,35 ± 0,04	95,83
A11	36,27 ± 0,92	0,169 ± 0,04	-39,2 ± 3,01	3,33 ± 0,04	95,14
A14	30,50 ± 0,45	0,282 ± 0,06	-30,0 ± 1,68	3,47 ± 0,11	97,16
A17	39,87 ± 2,91	0,180 ± 0,02	-37,2 ± 0,83	3,34 ± 0,03	95,98

Bảng 3 cho thấy trừ công thức A3, các công thức khảo sát có KTTP từ 21,30 - 60,40nm, PDI ≤ 0,3, giá trị tuyệt đối thế zeta trong khoảng 30 - 40mV, hàm lượng CUR trong khoảng 3,31 - 3,48%, tương ứng từ 95,14 - 100,62% so với hàm lượng CUR đưa vào hệ. KTTP của các công thức khảo sát đều < 100nm là phù hợp với các nghiên cứu về hệ NTNH chứa CUR của Cui J và CS [9], Yoo J và CS [10]. Như vậy, lựa chọn 9 công thức để thực hiện các đánh giá tiếp theo.

\* Đánh giá khả năng giải phóng *in vitro* của hệ nano tự nhũ hóa chứa curcumin:



a. Môi trường acid HCl 0,1N.



b. Môi trường đệm photphat pH 6,8.

**Hình 3.** Độ hòa tan *in vitro* của hệ NTNH chứa curcumin.

Hình 3 cho thấy: Sau 90 phút độ hòa tan của CUR trong các công thức hệ NTNH đều tăng lên rõ rệt so với CUR nguyên liệu. Trong đó, ở môi trường pH 1,2, các công thức A11, A14, A17 giải phóng nhanh trong 10 phút đầu nhưng sau đó chỉ có công thức A11 tiếp tục duy trì được mức độ giải phóng cao, còn công thức A14 và A17

giải phóng thấp hơn các công thức khác. Trong môi trường đệm pH 6,8 cũng cho kết quả tương tự: Công thức A11, A14, A17 đều đạt độ giải phóng cao ở thời điểm 15 phút đầu nhưng sau đó chỉ có công thức A11 vẫn duy trì được mức độ giải phóng cao. Đối với CUR nguyên liệu, tỷ lệ giải phóng rất thấp trong cả hai môi trường. Kết quả

này phù hợp với nghiên cứu của Cui J và CS, hệ NTNH cho thấy sự cải thiện độ hòa tan rõ ràng (xấp xỉ 100%) so với CUR nguyên liệu (< 5%) [9]. Như vậy, công thức A11 là phù hợp nhất để bào chế hệ NTNH chứa CUR do có khả năng giải phóng dược chất cao trong cả hai môi trường, có KTTT cỡ nano ( $36,27 \pm 0,92\text{nm}$ ), chỉ số PDI ( $0,169 \pm 0,04$ ) và thế zeta ( $-39,2 \pm 3,01\text{mV}$ ). Thành phần công thức A11 gồm: 3,5% CUR, 19,3% dầu thầu dầu, 38,6% Cremophor RH40, 38,6% PEG 400.

### KẾT LUẬN

Dựa trên kết quả đánh giá độ tan, giải đồ pha và sự ảnh hưởng của chất diện hoạt và đồng diện hoạt đến sự hình thành và ổn định của hệ NTNH đã lựa chọn được các tá dược cremophore RH40, Tween 80, PEG 400, transcitol P và dầu thầu dầu để xây dựng công thức hệ NTNH. Tỷ lệ CUR tối đa có thể nạp vào hệ NTNH là 3,5%. Từ việc đánh giá các chỉ tiêu chất lượng đã lựa chọn được công thức thích hợp để bào chế hệ NTNH chứa CUR là A11: 3,5% CUR; 19,3% dầu thầu dầu; 38,6% Cremophor RH40; 38,6% PEG 400. Hệ NTNH đã cải thiện rõ rệt độ hòa tan của CUR trong môi trường pH 1,2 và 6,8, sau khi phân tán vào nước có kích thước nano  $36,27 \pm 0,92\text{nm}$ ,  $\text{PDI} \leq 0,3$ .

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Beevers CS, Shile H. Pharmacological and clinical properties of curcumin. *Botanics: Targets and Therapy*. 2011:5-18.
2. Ricky AS, William PS, and Andreas JG. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin: 453-469.
3. Vũ Thị Thu Giang, Trịnh Thị Huế. Bào chế hệ tự vi nhũ hóa curcumin. *Tạp chí Nghiên cứu Dược & Thông tin thuốc*. 2017; 8(3):8-14.
4. Beatriz Z, Marco VC, Maria HAS. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) in Pharmaceutical Development. *Journal of Advanced Chemical Engineering*. 2015; 5.
5. Tung NT, Son CT, Hue PTM., et al. Development of solidified self-microemulsifying drug delivery systems containing L-tetrahydropalmatine: Design of experiment approach and bioavailability comparison. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018; 537:9-21.
6. Anuradha SP, Pratikkumar AP, Drashana H. Peppermint oil base drugs delivery system of Aceclofenac with improved anti-inflammatory activity and reduce ulcerogenecity. *International Journal of Pharma Biocience and Technology*. 2013; 1(2):89-101.

7. Parmar N, Singla N, Amin S, Kohli K. Study of cosurfactant effect on nanoemulsifying area and development of lercanidipine loaded (SNEDDS) self nanoemulsifying drug delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2011; 86:327-338.

8. Kshitija K, Swati M. Self emulsifying drug delivery system: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2013; 4(12):4494-4507.

9. Cui J, et al. Enhancement of oral absorption of curcumin by self-microemulsifying drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009; 371:148-155.

10. Yan DY, et al. Enhanced oral bioavailability of curcumin via a solid lipid-based self emulsifying drug delivery dystem using a spray-drying technique. *Pharmaceutical Society of Japan*. 2011; 34(8):1179-1186.

**PHÂN TÍCH DANH MỤC THUỐC ĐÃ SỬ DỤNG  
TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG QUÂN ĐỘI 108  
THEO GIAI ĐOẠN THỰC HIỆN THẦU NĂM 2020**

*Phạm Tuấn Linh<sup>1</sup>, Hoàng Anh Tuấn<sup>1</sup>, Lê Thu Thủy<sup>2</sup>, Nguyễn Đức Trung<sup>1\*</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Phân tích danh mục thuốc đã sử dụng tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 (BV TWQĐ 108) theo giai đoạn thực hiện thầu năm 2020 và phân tích danh mục thuốc sử dụng tại bệnh viện theo phân loại ABC/VEN. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang dựa trên cơ sở hồi cứu dữ liệu thực hiện tại BV TWQĐ 108 từ ngày 01/5/2020 - 30/4/2021. **Kết quả:** Nhóm thuốc có giá trị sử dụng (GTSD) cao nhất là nhóm thuốc điều trị ung thư và điều hoà miễn dịch; nhóm thuốc có số khoản mục (SKM) nhiều nhất là thuốc tim mạch. Thuốc nhập khẩu chiếm hơn 60% về cả SKM và GTSD; thuốc đơn thành phần chiếm hơn 80% cả về SKM và GTSD. Thuốc đường uống chiếm SKM cao nhất (56,72%); thuốc tiêm, truyền có GTSD cao nhất (50,38%). Thuốc generic có GTSD và SKM gấp hơn 3 lần thuốc biệt dược gốc. Thuốc theo phân nhóm A, B, C chiếm tỷ lệ tương ứng về GTSD là 76,86%, 14,24% và 8,91%. Phân tích VEN chỉ ra nhóm V có 221 khoản (15,89%), nhóm E có 888 khoản (63,84%) và nhóm N có 282 khoản (20,27%); chiếm GTSD lần lượt là 21,48%, 68,72% và 9,8%. Thuốc nhóm AN chiếm 4,92% về GTSD. **Kết luận:** Nghiên cứu đã phân tích được cơ cấu danh mục thuốc sử dụng tại BV TWQĐ 108 theo giai đoạn thực hiện thầu năm 2020 trong giai đoạn dịch COVID-19 bùng phát. Trong đó, nghiên cứu đã thể hiện rõ tỷ lệ về số lượng, GTSD của các thuốc, các nhóm thuốc phù hợp với mô hình bệnh tật của bệnh viện tuyến cuối, cho thấy vai trò của Hội đồng Thuốc và Điều trị trong việc quản lý, sử dụng thuốc hợp lý, an toàn, đáp ứng hiệu quả điều trị cho người bệnh (NB). Việc sử dụng thuốc tại bệnh viện trong giai đoạn dịch COVID-19 bùng phát không có sự thay đổi so với giai đoạn đầu của dịch.

**Từ khoá:** Danh mục thuốc; Bệnh viện Trung ương Quân đội 108; ABC/VEN.

<sup>1</sup>Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

<sup>2</sup>Trường Đại học Dược Hà Nội

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Đức Trung (ductrung108@gmail.com)

Ngày nhận bài: 02/10/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 03/11/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.540>

**ANALYSIS OF THE LIST OF DRUGS IN USE  
AT 108 MILITARY CENTRAL HOSPITAL ACCORDING TO  
THE BIDDING IMPLEMENTATION PERIOD IN 2020**

**Abstract**

**Objectives:** To analyze the list of drugs in use at 108 Military Central Hospital according to the bidding implementation period in 2020 and analyze the list of drugs in use at the hospital according to ABC/VEN classification. **Methods:** A cross-sectional descriptive study based on retrospective data was conducted at 108 Military Central Hospital from May 1, 2020 to April 30, 2021. **Results:** The drug group with the highest value in use was the group of cancer treatment and immune regulation drugs; the group with the highest number of items was cardiovascular drugs. Imported drugs accounted for more than 60% of both value in use and the number of items; single-ingredient drugs accounted for more than 80% of both value in use and number of items. Oral drugs accounted for the highest gross profit (56.72%); injectable and infusion drugs had the highest value (50.38%). The value in use and the number of items of generic drugs was 3 times higher than those of the original brand name drugs. Drugs in subgroups A, B, C accounted for 76.86%, 14.24%, and 8.91% of value in use, respectively. VEN analysis showed that group V had 221 items (15.89%), group E had 888 items (63.84%), and group N had 282 items (20.27%) accounting for 48%, 68.72%, and 9.8% of value in use, respectively. Drugs of group AN accounted for 4.92% of value in use. **Conclusion:** The study analyzed the structure of the drug in use at 108 Military Central Hospital according to the bidding implementation period in 2020, during the COVID-19 outbreak. In particular, the study clearly demonstrated the ratio of quantity and value in use of drugs and drug groups in accordance with the disease model of the tertiary hospital, showing the role of the Drug and Treatment Council in the management and use of drugs appropriately and safely, meeting the treatment effectiveness for patients. The use of drugs in the hospital during the COVID-19 outbreak has not changed compared to the early stages of the epidemic.

**Keywords:** Drugs formulary; 108 Military Central Hospital; ABC/VEN.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 là bệnh viện đa khoa hạng đặc biệt, là bệnh viện tuyến cuối của quân đội ở khu vực phía Bắc. Hoạt động cung ứng và sử dụng thuốc tại bệnh viện rất được quan tâm và chú trọng để đảm bảo sử dụng thuốc an toàn, hiệu quả, đáp ứng nhu cầu khám và điều trị của NB. Bệnh viện cũng thường xuyên thực hiện phân tích sử dụng thuốc hàng năm để nâng cao chất lượng quản lý bệnh viện nói chung và Khoa Dược nói riêng. Đây cũng là một trong các thông tin quan trọng xếp hạng chất lượng bệnh viện và để có thông tin giúp cho hoạt động mua sắm thuốc trong năm tiếp theo tốt hơn.

Năm 2020, bệnh viện đã tiến hành phân tích danh mục thuốc sử dụng theo phân loại ABC/VEN để làm rõ thêm thực trạng sử dụng thuốc, góp phần xây dựng danh mục mời thầu các năm tiếp theo phù hợp, sát với mô hình bệnh tật và nhu cầu sử dụng của bệnh viện. Bên cạnh đó, việc tiếp tục phân tích danh mục thuốc sử dụng trong giai đoạn tiếp theo của dịch COVID-19 góp phần làm rõ thêm thực trạng sử dụng thuốc tại bệnh viện; từ đó, làm rõ thêm vai trò của Hội đồng Thuốc và Điều trị trong việc lựa chọn, đảm bảo thuốc cho công tác khám, điều trị NB. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu

với mục tiêu: *Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại BV TWQĐ 108 theo giai đoạn thực hiện thầu năm 2020.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

Lựa chọn tất cả thuốc được sử dụng tại BV TWQĐ 108 từ ngày 01/5/2020 - 30/4/2021.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả cắt ngang dựa trên cơ sở việc hồi cứu dữ liệu. Sử dụng phương pháp hồi cứu từ tài liệu sẵn có: Danh mục thuốc sử dụng của bệnh viện và số liệu từ phần mềm quản lý bệnh viện để:

Phân tích cơ cấu danh mục thuốc sử dụng tại BV theo nhóm thuốc, nguồn gốc xuất xứ, thành phần hoạt chất và đường dùng.

Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại bệnh viện theo phân loại ABC/VEN. Các kết quả nghiên cứu được phân chia tùy theo tác dụng thành các hạng mục sống còn, thiết yếu và không thiết yếu giúp cho hoạt động đấu thầu, mua sắm, quản lý tồn trữ trong bệnh viện trong giai đoạn dịch cũng như nguồn kinh phí không đủ để mua toàn bộ các thuốc như mong muốn.

\* *Xử lý và phân tích số liệu:* Sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2020.

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**1. Kết quả phân tích cơ cấu danh mục thuốc sử dụng tại BV TWQĐ 108**

\* Cơ cấu thuốc đã sử dụng theo nhóm tác dụng dược lý:

**Bảng 1.** Cơ cấu DMT sử dụng theo nhóm tác dụng dược lý.

TT	Nhóm thuốc	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	GTSD (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
	Thuốc hoá dược				
1	Thuốc điều trị ung thư và điều hòa miễn dịch	155	11,14	212.890.300.217	34,75
2	Thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn	196	14,09	98.635.039.952	16,10
3	Thuốc tim mạch	213	15,31	86.273.610.263	14,08
4	Hormone và thuốc tác động vào hệ nội tiết	89	6,40	37.051.462.795	6,05
5	Thuốc đường tiêu hoá	126	9,06	35.737.863.953	5,83
6	Thuốc NSAIDs, điều trị gút và bệnh xương khớp	93	6,69	32.032.658.816	5,23
7	Dung dịch điều chỉnh nước điện giải và cân bằng acid-base và dung dịch tiêm truyền khác	59	4,24	18.005.929.182	2,94
8	Thuốc tác dụng với máu	43	3,09	13.141.131.728	2,14
9	Thuốc rối loạn tâm thần và tác động lên thần kinh	60	4,31	11.791.871.446	1,92
10	Khoáng chất và vitamin	24	1,73	7.031.822.217	1,15
11	Thuốc điều trị bệnh mắt, tai mũi họng	36	2,59	6.394.969.739	1,04
12	Thuốc tác dụng trên đường hô hấp	47	3,38	5.331.445.531	0,87

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

TT	Nhóm thuốc	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	GTSD (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
13	Thuốc giải độc và dùng trong trường hợp ngộ độc	18	1,29	5.004.763.023	0,82
14	Dung dịch lọc màng bụng, lọc máu	1	0,07	4.330.900.025	0,71
15	Thuốc chống co giật, chống động kinh	26	1,87	4.004.921.282	0,65
16	Thuốc điều trị bệnh da	25	1,80	3.389.793.981	0,55
17	Thuốc chống dị ứng và dùng trong quá mẫn	21	1,51	3.203.083.133	0,52
	Các nhóm còn lại				
18	Thuốc điều trị bệnh đường tiết niệu	10	0,72	2.540.343.519	0,41
19	Thuốc gây tê, gây mê, thuốc giãn cơ, giảm giãn cơ	33	2,37	1.879.872.953	0,31
20	Huyết thanh và globulin miễn dịch	7	0,50	1.714.528.367	0,28
21	Thuốc làm mềm cơ và ức chế Cholinesterase	4	0,29	747.625.107	0,12
22	Thuốc lợi tiểu	5	0,36	382.760.575	0,06
23	Thuốc chống parkinson	5	0,36	283.393.542	0,05
24	Thuốc dùng chẩn đoán	5	0,36	171.600.691	0,03
25	Thuốc tác dụng thúc đẻ, cầm máu sau đẻ và chống đẻ non	4	0,29	90.970.437	0,01
26	Thuốc tẩy trùng và sát khuẩn	9	0,65	44.087.983	0,01
27	Thuốc điều trị đau nửa đầu	1	0,07	6.174.000	0,00
28	Thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền	76	5,46	20.595.815.163	3,36
	<b>Tổng</b>	<b>1391</b>	<b>100,00</b>	<b>612.708.739.619</b>	<b>100,00</b>

## TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023

Danh mục thuốc hóa dược, các thuốc được phân chia đủ 28 nhóm tác dụng dược lý và 01 nhóm thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền. Nhóm thuốc tim mạch có SKM lớn nhất chiếm 15,31% và GTSD đứng thứ 3 với 14,08%. Đứng thứ 2 về cả SKM và GTSD là nhóm thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn. Nhóm thuốc điều trị ung thư và điều hòa miễn dịch chiếm tỷ lệ cao nhất về GTSD với 212.890.300.217 VNĐ (34,75%) và đứng thứ 3 về SKM với 11,14%.

\* Cơ cấu thuốc sử dụng theo nguồn gốc, xuất xứ:

**Bảng 2.** Cơ cấu thuốc sử dụng theo nguồn gốc, xuất xứ.

TT	Nguồn gốc	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	Giá trị (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc sản xuất trong nước	531	38,17	136.388.822.093	22,26
2	Thuốc nhập khẩu	860	61,83	476.319.917.526	77,74
	Tổng	1391	100,00	612.708.739.619	100,00

Với 1391 khoản mục thuốc sử dụng tại bệnh viện, thuốc nhập khẩu có 860 khoản, chiếm 61,83% với GTSD hơn bốn trăm tỷ đồng, chiếm 77,74%, gấp gần 3,5 lần giá trị thuốc sản xuất trong nước.

\* Cơ cấu thuốc đã sử dụng theo thành phần hoạt chất và đường dùng:

**Bảng 3.** Cơ cấu thuốc đã sử dụng theo thành phần.

TT	Thành phần	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	GTSD (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc đơn thành phần	1103	79,30	528.169.613.007	86,20
2	Thuốc đa thành phần	288	20,70	84.539.126.612	13,80
	Tổng	1391	100,00	612.708.739.619	100,00

Thuốc đơn thành phần được sử dụng chủ yếu với 1103 khoản mục (79,30%), GTSD là 528.169.613.007 VNĐ chiếm 86,20%.

**Bảng 4.** Cơ cấu danh mục thuốc sử dụng theo đường dùng.

TT	Đường dùng	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	Giá trị (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc đường uống	789	56,72	296.670.965.328	48,42
2	Thuốc tiêm, tiêm truyền	491	35,30	308.693.563.472	50,38
3	Thuốc đường dùng khác	111	7,98	7.344.210.819	1,20
	Tổng	1391	100,00	612.708.739.619	100,00

Thuốc dùng theo đường uống được sử dụng là 789 khoản chiếm 56,72%, GTSD là 296.670.965.328 VNĐ (48,42%). Thuốc dùng tiêm, truyền có SKM thấp hơn đường uống với 491 khoản (chiếm 35,30%) nhưng chiếm tới 50,38% số tiền thuốc, cao nhất trong các nhóm về GTSD. Các dạng đường dùng khác chỉ chiếm 7,98% SKM và 1,20% GTSD.

\* Tỷ lệ sử dụng thuốc biệt dược/thuốc generic:

**Bảng 5.** Cơ cấu thuốc đã sử dụng theo biệt dược gốc và thuốc generic.

TT	Phân loại	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	Giá trị (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
1	Biệt dược gốc	283	20,35	169.676.638.002	27,69
2	Thuốc generic	1108	79,65	443.032.101.617	72,31
	Tổng	1391	100,00	612.708.739.619	100,00

Thuốc biệt dược gốc sử dụng tại bệnh viện chỉ chiếm 27,69% GTSD, ứng với 20,35% SKM. Thuốc generic có tỷ trọng về GTSD cao hơn gấp gần 3 lần với 72,31% tương ứng với 443.032.101.617 VNĐ, SKM với 1108 khoản mục cao hơn nhóm biệt dược khoảng 4 lần.

**2. Kết quả phân tích danh mục thuốc sử dụng tại BV TWQĐ 108 năm 2021 theo phân loại ABC/VEN**

Theo phân loại ABC, danh mục thuốc được trình bày cụ thể như sau:

**Bảng 6.** Cơ cấu thuốc sử dụng theo phân loại ABC.

TT	Nhóm	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	Giá trị (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
1	A	211	15,17	470.897.420.886	76,86
2	B	214	15,38	87.241.879.975	14,24
3	C	966	69,45	54.569.438.759	8,91
	Tổng	1391	100,00	612.708.739.619	100,00

Các nhóm A,B,C chiếm GTSD lần lượt là 76,86%, 14,24% và 8,91%. Theo đó, nhóm A có 211 khoản chiếm 15,17%. Nhóm B có 214 khoản chiếm 15,38%. Nhóm C có 966 khoản với 69,45%. Trong nhóm A, các thuốc được phân chia theo nhóm tác dụng dược lý như sau:

**Bảng 7.** Cơ cấu thuốc nhóm A theo nhóm tác dụng dược lý.

TT	Nhóm thuốc	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	Giá trị (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc điều trị ung thư và điều hòa miễn dịch	59	27,96	195.784.934.267	41,58
2	Thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn	36	17,06	80.631.168.891	17,12
3	Thuốc tim mạch	37	17,54	65.272.329.238	13,86
4	Hormone và các thuốc tác động vào hệ thống nội tiết	17	8,06	28.703.999.960	6,10
5	Thuốc đường tiêu hoá	13	6,16	22.641.948.533	4,81
6	Thuốc giảm đau, hạ sốt, chống viêm không steroid, thuốc điều trị gút và các bệnh xương khớp	11	5,21	20.564.603.020	4,37

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

TT	Nhóm thuốc	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	Giá trị (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
8	Dung dịch điều chỉnh nước, điện giải và các dung dịch tiêm truyền khác	6	2,84	8.739.941.460	1,86
9	Thuốc tác dụng đối với máu	5	2,37	7.804.503.582	1,66
10	Thuốc rối loạn tâm thần và thuốc tác động lên hệ thần kinh	3	1,42	6.703.838.684	1,42
11	Thuốc điều trị bệnh mắt, tai mũi họng	3	1,42	5.824.664.999	1,24
12	Dung dịch lọc màng bụng, lọc máu	1	0,47	4.330.900.025	0,92
13	Khoáng chất và vitamin	11	5,21	14.253.877.578	3,03
14	Thuốc giải độc và các thuốc dùng trong trường hợp ngộ độc	3	1,42	3.683.865.233	0,78
15	Thuốc chống co giật chống động kinh	1	0,47	1.692.713.000	0,36
16	Thuốc tác dụng trên đường hô hấp	2	0,95	1.478.831.229	0,31
17	Thuốc chống dị ứng và dùng trong trường hợp quá mẫn	1	0,47	1.027.434.587	0,22
18	Thuốc điều trị bệnh da liễu	1	0,47	882.014.916	0,19
19	Thuốc điều trị bệnh đường tiết niệu	1	0,47	875.851.684	0,19
	<b>Tổng</b>	<b>211</b>	<b>100,00</b>	<b>470.897.420.886</b>	<b>100,00</b>

Trong nhóm A, thuốc ung thư và điều hòa miễn dịch chiếm tỷ lệ lớn nhất cả về SKM (59 khoản) và có GTSD (41,58%) gấp hơn 2 lần GTSD của nhóm

thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn (17,12%) và nhóm thuốc tim mạch (13,86%).

**Bảng 8.** Cơ cấu thuốc nhóm A theo thành phần.

STT	Nhóm thuốc	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		SKM	Tỷ lệ (%)	GTSD (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc đơn thành phần	174	82,46	415.721.003.787	88,28
2	Thuốc đa thành phần	37	17,54	55.176.417.099	11,72
	Tổng	211	100,00	470.897.420.886	100,00

Các thuốc đơn thành phần có SKM là 174 cao gấp hơn 4 lần nhóm đa thành phần (37 khoản). Tỷ trọng GTSD của nhóm đơn thành phần là 88,28%, cao gấp gần 8 lần nhóm đa thành phần (11,72%). Theo phân loại VEN, danh mục thuốc được sử dụng tại bệnh viện cụ thể như sau:

**Bảng 9.** Cơ cấu danh mục thuốc theo phân loại VEN.

TT	Nhóm	Số khoản mục		Giá trị sử dụng	
		Số khoản	Tỷ lệ (%)	GTSD (VNĐ)	Tỷ lệ (%)
1	V	221	15,89	131.639.185.927	21,48
2	E	888	63,84	421.023.846.355	68,72
3	N	282	20,27	60.045.707.337	9,80
	Tổng	1391	100,00	612.708.739.619	100,00

Nhóm thuốc V chiếm 15,89% SKM và chiếm 21,48% GTSD là 131.639.185.927 VNĐ. Nhóm E có SKM (chiếm 63,84%) và GTSD lớn nhất (68,72%). Nhóm N chiếm 20,27% SKM và có GTSD thấp nhất với 9,80%.

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

Kết hợp phân tích ma trận ABC/VEN thu được kết quả như sau:

**Bảng 10.** Phân tích ma trận ABC/VEN.

Nhóm thuốc	Số khoản mục		Giá trị sử dụng		
	SKM	Tỷ lệ (%)	GTSD (VNĐ)	Tỷ lệ (%)	
A	V	37	2,66	105.339.388.843	17,19
	E	151	10,86	335.433.986.112	54,75
	N	23	1,65	30.124.045.930	4,92
B	V	43	3,09	17.591.364.663	2,87
	E	125	8,99	51.511.790.983	8,41
	N	46	3,31	18.138.724.329	2,96
C	V	141	10,14	8.708.432.421	1,42
	E	612	44,00	34.078.069.260	5,56
	N	213	15,31	11.782.937.078	1,92
Nhóm I (AV, AE, AN, BV, CV)		395	28,40	497.197.217.969	81,15
Nhóm II (BE, BN, CE)		783	56,29	103.728.584.572	16,93
Nhóm III (CN)		213	15,31	11.782.937.078	1,92
Tổng		1391	100,00	612.708.739.619	100,00

Ở cả 3 hạng A, B, C nhóm N đều chiếm tỷ lệ nhỏ, nhóm E đều có SKM và GTSD là cao nhất. Nhóm AN chiếm 1,65% số khoản và 4,92% tổng GTSD.

Tiến hành phân tích nhóm thuốc AN được thể hiện ở bảng 11.

**Bảng 11.** Năm thuốc nhóm AN có GTSD lớn nhất.

<b>TT</b>	<b>Tên thuốc</b>	<b>Hoạt chất</b>	<b>Giá trị (VNĐ)</b>	<b>Tỷ lệ (%)</b>
1	Haisamin 200mg	Hải sâm	2.809.072.980	9,3
2	A.T Hoạt huyết dưỡng não	Đinh lăng, Bạch quả	2.319.804.357	7,7
3	PM Remem 120mg	Ginkgo biloba	1.758.432.659	5,8
4	Fynkhepar 200mg	Silymarin	1.472.907.763	4,9
5	Totcal S.C	Calci carbonat + Vitamin D3	1.034,149.574	3,4
	<b>Tổng</b>		<b>8.360.217.759</b>	<b>31,1</b>

Nhóm AN có 23 thuốc, chủ yếu thuốc bổ trợ, giảm đau, có 1 thuốc điều trị tiểu đường. Phân tích 5 thuốc nhóm AN có GTSD lớn nhất, so sánh tỷ lệ về GTSD với tổng GTSD của nhóm AN, kết quả cho thấy, 5 thuốc này đều là thuốc bổ trợ, chiếm 31% tổng GTSD nhóm AN. Trong đó, thuốc Haisamin có GTSD là lớn nhất với 9,3%.

### **BÀN LUẬN**

Kết quả phân tích danh mục thuốc sử dụng tại BV TWQĐ 108 giai đoạn thực hiện thầu năm 2020 cho thấy nhóm thuốc điều trị ung thư và điều hòa miễn dịch có GTSD cao nhất, tiếp đến là nhóm thuốc tim mạch, thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn. Kết quả này tương đồng với kết quả phân tích tại BV TWQĐ 108 năm 2020 [7]. Điều này phù hợp với mô hình bệnh tật của bệnh viện với tỷ lệ cao các bệnh u tân sinh (20,78% với tổng số 78.212 lượt NB). Đây là các bệnh

bắt buộc phải điều trị theo đúng chu kỳ; vì vậy, dù bị hạn chế đi lại do dịch bệnh nhưng số lượng NB đến khám và điều trị các bệnh lý về ung thư và điều hòa miễn dịch vẫn chiếm tỷ lệ cao. Mặt khác, danh mục thuốc sử dụng tại bệnh viện đầy đủ 28 nhóm tạo sự đa dạng và dễ dàng kê đơn thuốc cho NB; tuy nhiên, SKM nhiều và rộng cũng là tăng nguy cơ nhầm lẫn của bác sỹ và phải rà soát thường xuyên để sử dụng trước các thuốc cận hạn, hạn sử dụng ngắn. Nhóm thuốc điều trị ung thư và điều hòa miễn dịch chiếm tỷ trọng lớn nhất

về giá trị cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu tại Bệnh viện Bạch Mai năm 2016 [4]. Nhóm thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn đứng thứ 2 cả về SKM và GTSD. Với mô hình bệnh tật của Việt Nam và tình trạng kháng kháng sinh hiện nay thì nhóm kháng sinh thường là nhóm có SKM cao nhất trong danh mục thuốc sử dụng của nhiều bệnh viện như Bệnh viện Quân y 17 [6], Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh [5], hay Bệnh viện Đa khoa tỉnh Thái Bình năm 2018 - 2019 [3].

Nhóm thuốc tác dụng trên đường hô hấp được sử dụng tại bệnh viện chiếm tỷ lệ không cao với 3,38% SKM và 0,87% GTSD. Cuối năm 2020, đầu năm 2021 là thời điểm dịch COVID-19 bùng phát; tuy nhiên, trong giai đoạn thực hiện thầu năm 2020, tình hình dịch bệnh ở Việt Nam được kiểm soát khá tốt bằng các biện pháp cách ly, giãn cách xã hội. Việc người dân nhập viện và điều trị các bệnh lý đường hô hấp là chưa cao. Do đó, có thể hiểu tỷ lệ nhóm thuốc này trong giai đoạn nghiên cứu chiếm tỷ trọng không cao cả về SKM và GTSD. Tỷ lệ này tương đồng với nghiên cứu tại bệnh viện năm 2020, tại thời điểm dịch COVID-19 mới bùng phát.

Cùng một dược chất, dạng bào chế, thuốc có nguồn gốc nhập khẩu thường

có giá thành cao hơn do các chi phí nhiều hơn. Việc sử dụng thuốc nguồn gốc trong nước tối ưu hơn về mặt kinh tế. Kết quả nghiên cứu cho thấy thuốc nhập khẩu có SKM và GTSD cao hơn thuốc sản xuất trong nước tương đồng với một số bệnh viện như Bệnh viện Bạch Mai năm 2016 [4], BV TWQĐ 108 năm 2020 [7]. Bên cạnh đó, việc người dân mua bảo hiểm nhân thọ cũng ngày càng tăng, đặc biệt trong năm 2020 khi bùng phát dịch, các chi phí khi nằm viện đều do gói bảo hiểm chi trả nên tâm lý NB muốn dùng thuốc đắt tiền hơn. Mặc dù vậy, bệnh viện cũng cần nghiên cứu, đánh giá định kỳ để dần dần làm giảm tỷ lệ sử dụng các thuốc nhập khẩu, góp phần làm giảm chi phí điều trị cho NB và góp phần phát triển ngành sản xuất dược phẩm trong nước.

Một tiêu chí được đưa ra là ưu tiên lựa chọn thuốc ở dạng đơn chất khi xây dựng danh mục thuốc bệnh viện. Các thuốc đa thành phần được dùng phối hợp làm tăng hiệu quả điều trị và giảm số lượng thuốc phải dùng cho NB; tuy nhiên, giá thành thường cao hơn và gây khó khăn trong việc hiệu chỉnh liều. Có thể thấy, BV TWQĐ 108 đã thực hiện khá tốt tiêu chí này trong giai đoạn thực hiện thầu năm 2020 với thuốc đơn thành phần chiếm tới khoảng 80% SKM và 86,20% GTSD. Kết quả nghiên cứu tại BV TWQĐ 108 cũng tương đồng với một

số nghiên cứu khác với tỷ lệ sử dụng thuốc đơn thành phần ở mức khoảng 80% như tại chính bệnh viện năm 2020, Bệnh viện Bạch Mai năm 2016 [4], Bệnh viện Quân y 17 năm 2018 [6]. Kết quả phân tích cho thấy thuốc generic của BV TWQĐ 108 có SKM chiếm tỷ lệ cao (79,65%) và chiếm 72,31% GTSD. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu tại BV TWQĐ 108 năm 2020 [7], Bệnh viện Quân y 17 năm 2018 [6]. Thuốc generic có giá thành thấp hơn thuốc biệt dược gốc, việc ưu tiên sử dụng các thuốc generic được xem là một trong những biện pháp làm giảm chi phí điều trị và đây cũng là một trong những tiêu chí Bộ Y tế đưa ra trong việc lựa chọn thuốc sử dụng tại bệnh viện. Tuy nhiên, khi thuốc biệt dược gốc hết hạn bản quyền, một loạt thuốc generic ra đời, việc sử dụng biệt dược gốc hay thay thế bằng một thuốc generic nào đó là điều quan trọng. Hội đồng Thuốc và Điều trị của bệnh viện cần phải xem xét cẩn thận để có thể lựa chọn được thuốc generic phù hợp giúp giảm chi phí nhưng vẫn đảm bảo hiệu quả điều trị.

Theo phân loại ABC cho thấy nhóm A có GTSD là hơn 470 tỷ đồng, chiếm 76,86% với 211 khoản mục chiếm 15,17%. Nhóm B có GTSD chiếm 14,24% với 214 khoản chiếm 15,38%. Nhóm C có 966 khoản chiếm 69,45% nhưng GTSD chỉ chiếm 8,91%. Kết quả này cũng tương đồng nghiên cứu

tại Bệnh viện Bạch Mai năm 2016 [4] và phù hợp với khuyến cáo của Bộ Y tế [2].

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ nhóm thuốc V chiếm 15,89% số khoản, ứng với 21,48% GTSD. GTSD của các thuốc nhóm N giảm gần 2 lần hơn so với năm 2020 (9,8% so với 16,7%).

Theo kết quả phân tích ma trận ABC/VEN, nhóm thuốc AN có tới 23 thuốc chiếm 1,65% ứng với hơn 30 tỷ đồng (4,92%). Tỷ lệ này là cao hơn so với nghiên cứu tại Bệnh viện Bạch Mai năm 2016. Đứng đầu trong nhóm AN là thuốc Haisamin 200mg với GTSD gần 3 tỷ đồng (chiếm 9,3% tổng giá trị nhóm AN). Kết quả nghiên cứu tại BV TWQĐ 108 năm 2020 cũng chỉ ra các thuốc Haisamin, A.T hoạt huyết, Totcal S.C cũng thuộc nhóm AN [7]. Bệnh viện cần quản lý chặt, cân nhắc điều chỉnh danh mục thuốc với các thuốc AN để tránh tình trạng lạm dụng thuốc, tiết kiệm chi phí cho NB.

Các thuốc nhóm I chiếm chủ yếu về giá trị với 81,15% nhưng chỉ chiếm 28,4% SKM. Cần đặc biệt quan tâm tới nhóm này, ưu tiên kiểm soát chặt chẽ, đảm bảo cung ứng kịp thời, đầy đủ thuốc AV, AE nhưng không dự trữ quá nhiều tránh tồn kho, hạn chế tiến tới loại bỏ dần nhóm AN. Các thuốc nhóm II chiếm 16,93% giá trị và 56,29% số khoản. Tỷ lệ này là hợp lý vì nhóm CE

là nhóm có số lượng thuốc lớn trong danh mục (612 thuốc). Tuy nhóm II có mức độ giám sát thấp hơn nhóm I nhưng cũng cần quan tâm quản lý tốt. Nhóm III (CN) có SKM là 15,31% dù chỉ chiếm 1,92% GTSD. Tỷ lệ này cao hơn nghiên cứu tại Bệnh viện Quảng Ninh năm 2021 [5]. Đây là nhóm bệnh viện cần quan tâm giảm bớt SKM không cần thiết với yêu cầu điều trị của bệnh viện.

### KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã phân tích được cơ cấu danh mục thuốc sử dụng tại bệnh viện theo giai đoạn đầu 2020, trong giai đoạn dịch COVID-19 bùng phát. Trong đó, nghiên cứu đã thể hiện rõ tỷ lệ về số lượng, GTSD của các thuốc, các nhóm thuốc phù hợp với mô hình bệnh tật của bệnh viện tuyến cuối, tương đồng với nghiên cứu trước đó cho thấy vai trò của Hội đồng Thuốc và Điều trị trong việc quản lý, sử dụng thuốc hợp lý, an toàn, đáp ứng hiệu quả điều trị cho NB. Đây cũng là một trong các thông tin quan trọng xếp hạng chất lượng bệnh viện và để có thông tin giúp cho hoạt động mua sắm thuốc trong năm tiếp theo tốt hơn.

Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy việc sử dụng thuốc tại bệnh viện trong giai đoạn dịch COVID-19 bùng phát không có sự thay đổi so với giai đoạn đầu của dịch.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. Thông tư hướng dẫn sử dụng thuốc trong các cơ sở y tế có giường bệnh. Thông tư số 23/2011/TT-BYT. 2011.
2. Bộ Y tế. Quy định về tổ chức và hoạt động của Hội đồng thuốc và điều trị trong bệnh viện. Thông tư số 21/2013/TT-BYT. 2012.
3. Lã Thị Quỳnh Liên, Nguyễn Mai Anh. Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Thái Bình giai đoạn 2018-2019. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2022; 514:293-297.
4. Lê Thị Tuyết Mai. Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại Bệnh viện Bạch Mai năm 2016. *Luận văn Thạc sĩ Dược học*. Đại học Dược Hà Nội. 2018.
5. Nguyễn Tuấn Quang. Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh năm 2021. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 2022; 9:13-25.
6. Nguyễn Thị Xuân Thủy. Cơ cấu danh mục thuốc sử dụng năm 2018 của Bệnh viện Quân y 17. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 2020; 9:5-10.
7. Nguyễn Cẩm Vân, Cao Bích Thảo và Nguyễn Trung Hà. Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 năm 2020. *Tạp chí Y Dược Lâm sàng 108*. 2020:81-89.

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC  
CỦA LÁ CÂY KHẾ (*Averrhoa carambola* L.)

Bùi Thị Thu Trang<sup>1</sup>, Nguyễn Khắc Tiệp<sup>2</sup>, Nguyễn Việt Thắng<sup>2</sup>  
Trương Thị Hương<sup>2</sup>, Bùi Thị Thúy Luyện<sup>2\*</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Nghiên cứu chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học một số hợp chất từ lá cây khế (*Averrhoa carambola* L.) ở Việt Nam. **Phương pháp nghiên cứu:** Phương pháp chiết xuất là ngâm lạnh trong ethanol 96%. Phân lập và tinh chế chất sạch bằng phương pháp sắc ký cột với các dung môi hữu cơ thích hợp. Cấu trúc hóa học được xác định bằng phương pháp đo phổ 1D và 2D-NMR. **Kết quả:** Ba hợp chất sạch đã được xác định từ lá khế bao gồm: 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-rac-glycerol (1), 6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)- $\beta$ -D-glucosyl- $\beta$ -sitosterol (2), Carambolaside Q (3). Trong đó, hợp chất 1, 2 lần đầu tiên được phân lập từ cây khế và hợp chất 3 lần đầu tiên được phân lập từ lá khế. **Kết luận:** Kết quả nghiên cứu đã góp phần xây dựng dữ liệu về thành phần hóa học của lá khế; từ đó, giúp định hướng cho các nghiên cứu về tác dụng dược lý của lá loài cây này.

**Từ khóa:** *Averrhoa carambola* L.; Lá cây khế; Carambolaside Q;  $\beta$ -galactosyl diglycerid; Acylglucosyl sterol.

STUDY ON CHEMICAL COMPOSITIONS OF STAR FRUIT LEAVES  
(*Averrhoa carambola* L.)

**Abstract**

**Objectives:** To extract, isolate, and determine the chemical structure of some components from star fruit leaves (*Averrhoa carambola* L.) in Vietnam. **Methods:** Star fruit leaves were extracted using the cold percolation method in ethanol 96%. Pure compounds were isolated using the column chromatography

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

<sup>2</sup>Bộ môn Kỹ thuật Hóa dược và Chiết xuất, Khoa Công nghệ Hóa dược, Trường Đại học Dược Hà Nội

Tác giả liên hệ: Bùi Thị Thúy Luyện (luyenbtt@hup.edu.vn)

Ngày nhận bài: 07/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 16/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.496>

method with suitable organic solvents. The chemical structure was determined by 1D and 2D-NMR spectra. **Results:** Three known compounds were identified from star fruit leaves including 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O-β-D-galactopyranosyl-rac-glycerol (1), 6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)-β-D-glucosyl-β-sitosterol (2), Carambolaside Q (3). In which, compounds 1 and 2 were isolated for the first time from the star fruit species and compound 3 was isolated for the first time from star fruit leaves. **Conclusion:** The results of this study have contributed to data on the chemical compositions of star fruit leaves; thereby, guiding studies on the pharmacological effects of leaves of this species.

**Keywords:** *Averrhoa carambola* L.; Star fruit leaves; Carambolasid Q; β-galactosyl diglycerid; Acylglucosyl sterol.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây khế (*Averrhoa carambola* L.) thuộc họ Chua me đất (Oxalidaceae) là loại cây thích nghi với vùng khí hậu nóng và ẩm của vùng nhiệt đới hoặc cận nhiệt đới, được trồng chủ yếu ở Ấn Độ và Đông Nam Á. Ở Việt Nam, có 2 loài thuộc họ này là *Averrhoa carambola* L. và *Averrhoa bilimbi* L. phân bố ở mọi vùng miền đặc biệt ở vùng nông thôn. Cây khế không chỉ là một loại cây ăn quả mà còn được biết là cây có giá trị dược liệu cao. Trong dân gian, lá của loại cây này thường được sử dụng trong các bài thuốc dân gian chữa bệnh như: Mề đay, mẩn ngứa, mụn nhọt, cảm nắng... [1]. Các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy lá khế có chứa các nhóm chất như: flavonoid [3], phenolic, sterol [2]... Tác dụng sinh học của cao chiết và các hợp chất tinh khiết từ lá cây khế bao gồm: Hạ đường huyết [3], chống viêm

[2], hạ huyết áp, chống tăng lipid máu [4], chống oxy hóa [6], chống nấm *Candida albicans* [7]... Tuy nhiên, các nghiên cứu trong nước về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài này còn hạn chế. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của một số thành phần hóa học từ lá cây khế*. Kết quả nghiên cứu góp phần xây dựng dữ liệu về thành phần hóa học; từ đó, giúp định hướng cho các nghiên cứu về tác dụng sinh học của lá của loài này ở Việt Nam.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Đối tượng nghiên cứu:*

Mẫu nghiên cứu là lá cây khế (*Averrhoa carambola* L.) được thu hái vào tháng 7 năm 2021 tại xã Hoàng Đồng, huyện Hoàng Hóa, tỉnh Thanh Hóa.

Dược liệu sau khi thu hái rửa sạch phơi khô và bảo quản trong túi nilon để nơi khô ráo. Mẫu nghiên cứu (AC-01) được lưu tại Bộ môn Kỹ thuật Hóa dược và Chiết xuất, Khoa Công nghệ Hóa dược, Trường Đại học Dược Hà Nội.

*\* Dung môi và thiết bị thí nghiệm:*

Các dung môi dùng trong chiết xuất và phân lập bao gồm: n-hexan, diclometan, ethyl acetat, methanol, acetone, ethanol, đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất (ghi chính xác, đạt tiêu chuẩn AR hay dung môi công nghiệp, nước sản xuất). Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng Silica gel 60 F254 (Merck). Các chất hấp phụ sử dụng trong sắc ký cột: Silica gel (0,063 - 0,200mm (Merck) (kiểm tra lại cỡ hạt sử dụng, cỡ trình bày là loại to), Whitehouse Station (NJ), sephadex LH - 20 (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden). Thiết bị chiết ngấm kiệt dược liệu. Máy cất quay chân không BUCHI Toledo AB204S (Thụy Sĩ). Phổ khối lượng phun mù điện tử (ESI-MS) đo trên máy MicroQ-TOF III mass spectrometer (Bruker Daltonics, 255748 Germany). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân đo trên máy Bruker Avance NEO 600 MHz (Bruker, Germany).

*\* Địa điểm và thời gian nghiên cứu:*

Nghiên cứu tiến hành tại Bộ môn Kỹ thuật Hóa dược và Chiết xuất; từ tháng 01 - 5/2022.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

*\* Phương pháp chiết xuất:*

Sử dụng phương pháp ngâm lạnh 3 lần với dung môi EtOH 96% cất thu hồi dung môi thu lấy cặn chiết. Sau đó, phân tán cặn chiết vào nước rồi chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần: n-hexan, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc các phân đoạn dịch chiết thu được đem cô lấy cặn

*\* Phân lập cấu trúc phân tử của hợp chất hóa học:*

Sử dụng phương pháp sắc ký cột với pha tĩnh là silica gel và sephadex LH-20 để phân lập các hợp chất sạch. Trước khi tiến hành phân lập, khảo sát phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng với các hệ dung môi khác nhau để lựa chọn pha động.

*\* Xác định cấu trúc phân tử của hợp chất được phân lập:*

Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được dựa trên kết quả phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (NMR), phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều (HMBC, HSQC) và so sánh với các dữ liệu phổ đã được công bố trước đó.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Chiết xuất và phân lập

Lá cây khế sau khi thu hoạch được rửa sạch, sấy khô, nghiền nhỏ. Lấy 1kg bột dược liệu chiết với ethanol 96%

bằng phương pháp ngâm lạnh với tỷ lệ DL/DM = 1/6. Cách 24 giờ thu dịch chiết 1 lần, chiết 3 lần, sau đó lọc dịch bằng bông, thu dịch chiết. Tiến hành cô dịch chiết dưới áp suất giảm cho đến khi thu được cặn (130g). Phân tán cặn chiết ethanol trong nước theo tỷ lệ cặn:nước là 1:10 (g/mL), sau đó chiết lỏng - lỏng với các dung môi hữu cơ có độ phân cực tăng dần là n-hexan, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc với tỷ lệ dung môi hữu cơ/nước là 1:1. Mỗi dung môi chiết nhiều lần cho đến khi lớp dung môi không màu, gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được 50g cặn chiết n-hexan, 35g cặn chiết CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 15g cặn chiết EtOAc và pha nước.

Từ cặn chiết n-hexan (50g), thực hiện sắc ký cột với chất hấp phụ silica gel, dung môi rửa giải là n-hexan:ethyl acetat (100% n-hexan, 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 3:1, 100% ethyl acetat) thu được 7 phân đoạn nhỏ (H1 - H7). Từ phân đoạn H6, tiếp tục phân lập qua cột sắc ký silica gel, dung môi rửa giải là n-hexan:aceton (2:1) thu được 6 phân đoạn (H6.1 - H6.6). Kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng, phân đoạn H6.2 và H6.3 được gộp chung (0,63g) và tiến hành tinh chế qua cột sắc ký silica gel, rửa giải với hệ dung môi n-hexan:ethyl acetat:methanol (1:1:0,1) thu được hợp chất 1 (20mg). Phân đoạn H6.4 (0,8g) tinh chế qua cột sắc ký silica gel, rửa

giải với hệ dung môi n-hexan:ethyl acetat:methanol (2:1:0,1) thu được hợp chất 2 (40mg).

Từ cặn chiết EtOAc (15g) được phân lập bằng phương pháp sắc ký cột với chất hấp phụ là Sephadex LH-20, rửa giải với hệ dung môi EtOH-H<sub>2</sub>O (1:1) thu được 4 phân đoạn AC1 - AC4 (Nên dùng ký hiệu E để tương ứng với H ở trên). Phân đoạn AC1 (900mg) được tiếp tục phân lập bằng sắc ký cột silica gel pha thường với dung môi rửa giải là CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O (5:1:0,1) thu được 6 phân đoạn nhỏ từ AC1.1 - AC1.6. Phân đoạn AC3 (1,5g) được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, dung môi rửa giải là CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O (3:1:0,1) thu được 5 phân đoạn nhỏ AC3.1 - AC3.5. Từ phân đoạn AC3.3 (400mg) tinh chế tiếp bằng chất hấp phụ silica gel, dung môi rửa giải EtOAc:aceton (1:1,5) thu được hợp chất 3 (40mg).

## 2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

Từ cao chiết ethanol của lá khế, sử dụng phương pháp sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng, 2 hợp chất đã được phân lập từ phân đoạn n-hexan và 1 hợp chất đã được phân lập từ phân đoạn etyl acetat. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được đã được xác định dựa trên các phân tích dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1 chiều và 2 chiều và được thể hiện trên hình 1.

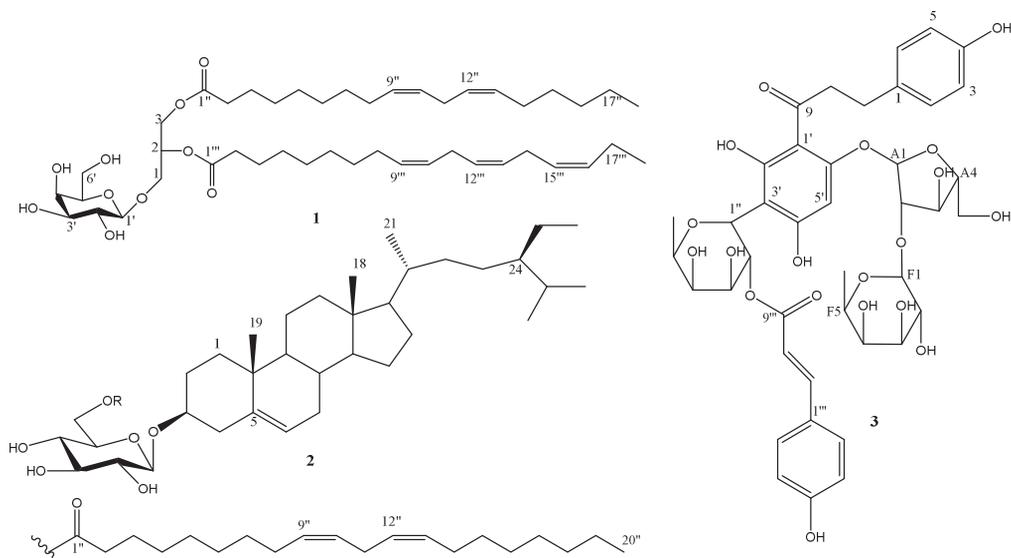
1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O-β-D-galactopyranosyl-rac-glycerol (1): dạng dầu màu vàng nhạt; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600MHz) δ<sub>H</sub>: Glycerol: [4,10 (H-1a), 4,38 (H-1b), 5,30 (H-2), 3,68 (H-3a), 3,97 (H-3b)], Galc: [4,22 (d, *J* = 7,8 Hz, H-1'), 3,62 (H-2'), 3,61 (H-3'), 3,98 (H-4'), 3,51 (H-5'), 3,99 (H-6')], acid mạch dài: 2,31 (H-2'', H-2'''), 1,61 (H-3'', H-3'''), 1,29 (H-4'', H-4''' - H-7'', H-7''', H-15'', H-16'' - H-17''), 2,04 (H-8'', H-8''', H-14'', H-14''', H-17'''), 2,80 (H-11'', H-11''', H-14'''), 5,31-5,40 (H-9'', H-9''', H-10'', H-10''', H-12'', H-12''', H-13'', H-13''', H-15''', H-16'''), 0,88 (3H, t, *J* = 7,8 Hz, H-18''), 0,98 (3H, t, *J* = 7,8 Hz, H-18'''); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150MHz) δ<sub>C</sub>: 62,26 (C-1), 70,06 (C-2), 67,91 (C-3), 103,61(C-1'), 71,66 (C-2'), 73,12 (C-3'), 68,37 (C-4'), 76,81 (C-5'), 62,20 (C-6'), 173,51(C-1'', C-1'''), 34,30 (C-2'', C-2'''), 25,54 (C-3'', C-3'''), 22,70 - 31,94 (C-4'', C-4''' - C-7'', C-7''', C-15'', C-16'' - C-17'''), 27,22 (C-8'', C-8''', C-14'', C-14''', C-17'''), 25,54, 25,63 (C-11'', C-11''', C-14'''), 127,13, 127,78, 128,25, 128,32, 130,23, 131,98 (C-9'', C-9''', C-10'', C-10''', C-12'', C-12''', C-13'', C-13''', C-15''', C-16'''), 14, 12, 14, 28 (C-18'', C-18''').

Hợp chất 1 thu được dạng dầu màu vàng nhạt, tan trong cloroform. Trên sắc ký lớp mỏng, sau khi nhúng dung

dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và hơi nóng thấy hợp chất này có màu đỏ nâu. Trên phổ ESI-MS cho pick ion phân tử [M+H]<sup>+</sup> tại *m/z* = 777,4337 (theo tính toán cho công thức C<sub>45</sub>H<sub>77</sub>O<sub>10</sub> là 777,5517) xác định công thức phân tử của 1 là C<sub>45</sub>H<sub>76</sub>O<sub>10</sub>. Phổ <sup>1</sup>H-NMR cho thấy 2 tín hiệu nhóm methyl ở δ<sub>H</sub>: 0,88 (3H, t, *J* = 7,8 Hz), 0,98 (3H, t, *J* = 7,8 Hz), 1 nhóm oxymethin của glycerol ở δ<sub>H</sub> 3,97, 6 tín hiệu proton của 3 cặp olefin ở δ<sub>H</sub> từ 5,31 đến 5,40, tín hiệu cộng hưởng của các nhóm methylen trong vùng trường cao ở δ<sub>H</sub> từ 1,29 đến 2,80, tín hiệu proton gắn với carbon allylic ở δ<sub>H</sub> 2,04. Ngoài ra, trên phổ <sup>1</sup>H-NMR còn có tín hiệu proton anomeric của 1 gốc đường ở δ<sub>H</sub> 4,22 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-1'), với giá trị hằng số tương tác *J* = 7,8 Hz xác định cấu hình β của đường ở C-1'.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR cho thấy tín hiệu của 27 nguyên tử C trong đó: 3 nối đôi ở δ<sub>C</sub> 127,13; 127,78; 128,25; 128,32; 130,23; 131,98; nhóm carbonyl este ở δ<sub>C</sub> 173,51; 2 nhóm methyl ở δ<sub>C</sub> 14,12, 14,28, 1 nhóm α-methylen ở δ<sub>C</sub> 34,30, 1 nhóm β-methylen ở δ<sub>C</sub> 25,54. 6 tín hiệu carbon đơn vị đường xuất hiện ở δ<sub>C</sub> 103,61 (C-1'), 71,66 (C-2'), 73,12 (C-3'), 68,38 (C-4'), 76,81 (C-5'), 62,20 (C-6'). Độ chuyển dịch hóa học tương đối thấp của các tín hiệu này gợi ý sự có mặt của đơn vị đường galactose. Độ dịch chuyển hóa học tương đối thấp của tín hiệu carbon C-1

(62,26) cho phép dự đoán đơn vị cùng với sự phù hợp về số liệu phổ tại đường gắn vào ở vị trí C-1. Ngoài ra, các vị trí tương ứng so với tài liệu phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR còn cho thấy cho thấy tham khảo [8] có thể kết luận hợp chất có mặt 2 liên kết este với acid tại  $\delta_{\text{C}}$  1 là 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-rac-glycerol. 70,06, 67,91. Từ việc phân tích trên



**Hình 1.** Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ lá khế.

6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)- $\beta$ -D-glucosyl- $\beta$ -sitosterol (2): dạng dầu màu vàng nhạt;  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 1,06 (H-1a), 1,86 (H-1b), 1,43 (H-2a), 1,21 (H-2b), 3,53 (1H, d, H-3), 1,18 (H-4a), 2,00 (H-4b), 5,35 (1H, d, H-6), 1,96 (H-7), 1,99 (H-8), 0,92 (H-9), 1,46 (H-11a), 1,48 (H-11b), 1,17 (H-12a), 2,00 (H-12b), 0,98 (H-14), 1,06 (H-15a), 1,57 (H-15b), 1,27 (H-16a), 1,85 (H-16b), 1,07 (H-17), 0,68 (3H, d, H-18), 0,93 (3H, d, H-19), 0,93 (3H, d,  $J = 6.0$  Hz, H-21),

0,99 (H-22a), 1,30 (H-22b), 1,16 (H-23), 0,92 (H-24), 1,66 (H-25), 0,99 (3H, H-26), 0,84 (3H, H-27), 1,21 (H-28), 0,85 (3H, H-29), 4,37 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-1'), 3,47 (1H, d,  $J = 3,6$  Hz, H-2'), 3,54 (1H, H-3'), 3,37 (1H, H-4'), 3,36 (1H, H-5'), 4,33 (2H, H-6'), 2,33 (H-2''), 1,60 (H-3''), 1,26 (H-4'' -H-7'', H-15'' -H-18''), 1,85 (4H, H-8'', H-14''), 5,36 (4H, H-9'', 10'', 12'', 13''), 2,04 (H-11''), 1,26 (H-19''), 0,92 (H-20'');  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 37,31 (C-1), 31,89 (C-2), 79,73 (C-3), 39,80 (C-

4), 140,36 (C-5), 122,10 (C-6), 31,95 (C-7), 31,95 (C-8), 50,19 (C-9), 36,19 (C-10), 21,10 (C-11), 38,93 (C-12), 42,35 (C-13), 56,79 (C-14), 24,32 (C-15), 28,26 (C-16), 56,18 (C-17), 11,87 (C-18), 19,04 (C-19), 36,72 (C-20), 18,80 (C-21), 33,97 (C-22), 26,19 (C-23), 45,84 (C-24), 29,17 (C-25), 19,38 (C-26), 19,82 (C-27), 23,08 (C-28), 11,98 (C-29), 101,26 (C-1'), 73,79 (C-2'), 76,19 (C-3'), 70,37 (C-4'), 73,46 (C-5'), 63,53 (C-6'), 174,39 (C-1''), 34,30 (C-2''), 25,00 (C-3''), 29,40-34,00 (C-4'' -C-7'', C-15'' -C-18''), 28,26, 28,26 (C-8'', C-14''), 128,25, 128,32, 130,24, 131,29 (C-9'', 10'', 12'', 13''), 27,25 (C-11''), 22,71 (C-19''), 14,13 (C-20'').

Hợp chất 2 thu được dạng vô định hình màu vàng nhạt, tan trong cloroform. Trên sắc ký lớp mỏng, sau khi nhúng dung dịch  $H_2SO_4$  và hơi nóng thấy hợp chất này có màu hồng tím. Trên phổ  $^1H$ -NMR thu nhận tín hiệu proton của 7 nhóm methyl tại  $\delta_H$  0,68 (3H, H-18), 0,93 (3H, H-19), 0,93 (3H, d,  $J = 6,0$ Hz, H-21), 0,99 (3H, H-26), 0,84 (3H, H-27), 0,85 (3H, H-29), 0,92 (3H, H-20''); 3 nhóm olefin tại  $\delta_H$  5,35 (1H, H-6), 5,36 (4H, H-9'', 10'', 12'', 13''). Tín hiệu nhóm oxymethin tại  $\delta_H$  3,53 (1H, H-3); 6 tín hiệu đơn vị đường glucose xuất hiện tại  $\delta_H$  4,37 (1H, d,  $J = 7,8$ Hz, H-1'), 3,47 (1H, d,  $J = 3,6$ Hz, H-2'), 3,54 (1H, H-3'), 3,37

(1H, H-4'), 3,36 (1H, H-5'), 4,33 (2H, H-6') trong đó có tín hiệu proton của anomer ở  $\delta_H$  4,37 (1H, d,  $J = 7,8$ Hz, H-1'), với giá trị  $J = 7,8$ Hz xác định cấu hình  $\beta$  của đường.

Từ dữ liệu  $^{13}C$ -NMR, cho thấy hợp chất trên là một glucosid steroid 29C có tín hiệu đặc trưng của liên kết olefinic có độ dịch chuyển tại  $\delta_C$  140,36 (C-5), 122,10 (C-6) với một đơn vị hexose [ $\delta_C$  101,26 (C-1'), 73,79 (C-2'), 76,19 (C-3'), 70,37 (C-4'), 73,46 (C-5'), 63,53 (C-6')] và một chuỗi béo dài không bão hòa.  $^{13}C$ -NMR còn chỉ ra sự hiện diện của một carbonyl este ở  $\delta_C$  174,39, một chuỗi béo dài với hai liên kết đôi  $C=C$  ở  $\delta_C$  128,25, 128,32, 130,24, 131,29, một nhóm oxymethin ở  $\delta_C$  79,73 (C-3); 7 nhóm methyl ở  $\delta_C$  11,87 (C-18), 19,04 (C-19), 18,80 (C-21), 19,38 (C-26), 19,82 (C-27), 11,98 (C-29), 14,13 (C-20''). Ngoài ra, sự dịch chuyển về phía trường thấp của C-6' và sự dịch chuyển về phía trường cao của C-5' của glucose dự đoán chuỗi béo được gắn với C-6'' thông qua liên kết este.

Nhận diện trên được khẳng định thông qua phân tích phổ 2 chiều HSQC và HMBC. HMBC thể hiện các tương tác của proton với carbon kế bên. Để xác định chính xác độ dịch chuyển hoá học tương ứng của carbon và proton chúng tôi đã đo phổ HSQC. Vị trí của đường ở C-3 xác định thông qua tương

tác HMBC của H-1' → C-3; liên kết este giữa C-6' và C-1'' được xác định vào tương tác HMBC của H-6' → C-1''. Ngoài ra phổ HMBC còn chỉ ra vị trí liên kết đôi ở mạch béo không bão hòa dựa vào tương tác của H-9'', H-10'' → C-7'', C-8'', C-11'', C-12'' và của H-12''; H-13'' → C-10'', C-11'', C-14'', C-15''. Từ việc phân tích phổ và dựa vào tài liệu [10] đã công bố có thể khẳng định 2 là 6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)-β-D-glucosyl-β-sitosterol.

Carambolosid Q (3): Chất rắn vô định hình màu vàng nhạt; <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600MHz) δ<sub>H</sub>: 6,92 (2H; br s; H-2; H-6), 6,65 (2H; d; J = 7,2Hz; H-3; H-5), 2,77 (H-7a), 1,34 (H-7b), 3,38 (H-8a), 3,10 (H-8b), 6,19 (s, H-5'), 5,09 (H-1'), 5,53 (H-2''), 3,85 (H-3'', H-5''), 3,80 (H-4''), 1,35 (3H; br s; H-6''), 7,40 (2H; d; J = 8,4Hz; H-2'''; H-6'''), 6,84 (2H; d; J = 8,4Hz; H-3'''; H-5'''), 7,48 (1H; d; J = 16,2Hz; H-7'''); 6,1 (1H; d; J = 16,2Hz; H-8'''), 5,76 (1H; s; H-A<sub>1</sub>), 4,19 (H-A<sub>2</sub>); 4,12 (H-A<sub>3</sub>), 3,97 (H-A<sub>4</sub>), 3,80 (H-A<sub>6a</sub>), 3,65 (H-A<sub>6b</sub>), 3,97 (H-F<sub>1</sub>), 3,4 (H-F<sub>2, 4</sub>), 3,25 (H-F<sub>3</sub>), 2,91 (H-F<sub>5</sub>), 0,85 (3H; br s; H-F<sub>6</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150MHz) δ<sub>C</sub>: 134,0 (C-1), 130,4 (C-2), 116,3 (C-3), 156,6 (C-4), 30,3 (C-7), 47,5 (C-8), 206,2 (C-9), 105,7 (C-1'), 165,0 (C-2'), 105,7 (C-3'), 165,0 (C-4'), 96,0 (C-5'), 161,5 (C-6'), 73,9 (C-1''), 73,0 (C-2''), 74,5 (C-3''), 73,3 (C-4''), 76,8 (C-5''), 17,2 (C-6''), 127,2 (C-1'''), 131,2 (C-2''', 6'''), 116,9

(C-3''', 5'''), 161,2 (C-4'''), 146,3 (C-7'''), 115,3 (C-8'''), 167,5 (C-9'''), 107,1 (C-A<sub>1</sub>), 92,8 (C-A<sub>2</sub>), 76,3, (C-A<sub>3</sub>) 84,5 (C-A<sub>4</sub>), 62,0 (C-A<sub>5</sub>), 105,5 (C-F<sub>1</sub>), 72,2 (C-F<sub>2</sub>), 74,8 (C-F<sub>3</sub>), 72,8 (C-F<sub>4</sub>), 71,8 (C-F<sub>5</sub>), 16,9 (C-F<sub>6</sub>).

Hợp chất 3 là chất rắn vô định hình màu vàng. Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR xuất hiện tín hiệu của 2 hệ tương tác spin A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> của vòng benzen tại δ<sub>H</sub> [6,92 (2H; br s; H-2; H-6), 6,65 (2H; d; J = 7,2Hz; H-3; H-5)]; [7,40 (2H; d; J = 8,4Hz; H-2'''; H-6''')' 6,84 (2H; d; J = 8,4Hz; H-3'''; H-5''')] gợi ý cho sự có mặt của 2 vòng benzen thế ở vị trí *para*; một tín hiệu singlet của proton thơm tại δ<sub>H</sub> 6,19 (1H; s; H-5'). Ngoài ra, phát hiện 2 proton olefine tại δ<sub>H</sub> 7,48 (1H; d; J = 16,2 Hz; H-7'''); 6,1 (1H; d; J = 16,2 Hz; H-8''') với giá trị J = 16,2 Hz chứng tỏ liên kết đôi có cấu hình *trans*. Sự xuất hiện của 3 proton anomer tại δ<sub>H</sub> 3,97 (H-F<sub>1</sub>); 5,09 (H-1'); 5,76 (1H; s; H-A<sub>1</sub>) và các tín hiệu của proton carbinol tại δ<sub>H</sub> nằm trong khoảng 2,91-5,53 ppm và 2 tín hiệu của 2 nhóm CH<sub>3</sub> tại δ<sub>H</sub> 1,35 (3H; br s; H-6''); 0,85 (3H; br s; H-F<sub>6</sub>) từ đó gợi ý cho sự tồn tại của 3 phân tử đường bao gồm 1 gốc α-arabinofuranosyl và 2 gốc β-fucosyl trong cấu trúc của phân tử.

Trên phổ <sup>13</sup>C-NMR phát hiện các tín hiệu C tại δ<sub>C</sub>: 206,2; 167,5; 165,0; 161,2; 156,6; 146,3; 133,97; 131,2; 130,4; 127,2; 116,9; 116,3; 115,3; 107,1; 105,7; 105,5; 96,0; 93,0; 92,8;

84,48; 76,8; 76,3; 74,8; 73,5; 72,98; 72,76; 72,2; 71,8; 62,0; 47,5; 30,3; 17,2; 16,9. Kết hợp với phân tích phổ 2 chiều HSQC, HMBC cho thấy sự có mặt của aglycon phloretin thông qua các tương tác được thể hiện trên phổ HMBC như của proton H-8 (2H,  $\delta_H$  3,38; 3,10) với carbon C-1 ( $\delta_C$  134,0); carbon C-9 ( $\delta_C$  206,2) và C-1' ( $\delta_C$  105,7); proton H-7 (2H,  $\delta_H$  2,77; 1,34) với carbon C-9 ( $\delta_C$  206,2), C-8 ( $\delta_C$  47,5), C-1 ( $\delta_C$  134,0), C-2 ( $\delta_C$  130,4), C-6 ( $\delta_C$  130,4); proton H-2 ( $\delta_H$  6,92) và proton H-6 ( $\delta_H$  6,92) với carbon C-4 ( $\delta_C$  156,6); proton H-3 ( $\delta_H$  6,65) và proton H-5 ( $\delta_H$  6,65) với carbon C-1 ( $\delta_C$  134,0).

Trên phổ tương tác hai chiều HMBC phát hiện được sự có mặt của mạch p-coumaroyl thông qua các tương tác như của proton H-7''' ( $\delta_H$  7,48) và proton H-8''' ( $\delta_H$  6,1) với carbon C-9''' ( $\delta_C$  167,5); proton H-8''' ( $\delta_H$  6,1) với carbon C-1''' ( $\delta_C$  127,2); proton H7''' ( $\delta_H$  7,48) với carbon C-2''' ( $\delta_C$  131,2) và carbon C-6''' ( $\delta_C$  131,2); tương tác đặc trưng của vòng benzen như của carbon có  $\delta_C$  6,84 (C-3''', C-5''') với carbon có  $\delta_C$  127,2 (C-1'''); tương tác của carbon có  $\delta_C$  131,2 (C-2''', C-6''') với carbon C-4''' ( $\delta_C$  161,2). Vị trí của 3 gốc đường cũng được thể hiện rõ ràng thông qua phân tích tín hiệu từ phổ 2 chiều HMBC. Một gốc đường  $\beta$ -fucosyl (A) liên kết với phần aglycon phloretin qua liên kết C-glycosid tại vị

trí C-3' thể hiện qua tương tác của H-1'' ( $\delta_H$  5,09) với carbon C-3' ( $\delta_C$  105,7), carbon C-2' ( $\delta_C$  165,0), carbon C-4' ( $\delta_C$  165,0). Đồng thời mạch p-coumaryl được phát hiện là liên kết với phân tử đường A tại vị trí C-2'' dựa vào tương tác trên phổ HMBC của H-2'' ( $\delta_H$  5,53, br s) với carbon C-9''' ( $\delta_C$  167,5). Gốc đường  $\alpha$ -arabinofuranosyl cũng liên kết với aglycon phloretin thông qua liên kết ether tại vị trí C-6' với tương tác của H-A<sub>1</sub> ( $\delta_H$  5,76 s) với C-6' ( $\delta_C$  161,7). Gốc đường  $\beta$ -fucosyl (B) còn lại được xác định liên kết với phân tử đường  $\alpha$ -arabinofuranosyl tại vị trí C-A<sub>2</sub> thông qua tương tác trên phổ HMBC của H-A<sub>2</sub> ( $\delta_H$  4,19 br s) với C-F<sub>1</sub> ( $\delta_C$  105,5) và tương tác của H-F<sub>1</sub> ( $\delta_H$  3,97 d) với C-A<sub>2</sub> ( $\delta_C$  92,8). Từ các phân tích dữ liệu phổ thu được và so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất 3 có tên là carambolasid Q [9].

## BÀN LUẬN

Hợp chất 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-glycerol (1) là một hợp chất  $\beta$ -galactosyl diglycerid và đã phân lập được từ một số loài như: *Clinacanthus nutans*, *Panax ginseng* [5] và là lần đầu tiên được phân lập từ cây khê. Hợp chất 1 đã được nghiên cứu về một số tác dụng sinh học thú vị như: Tác dụng ức chế vi rút Herpes týp HSV-1 và HSV-2 với % ức chế tương đối cao lần lượt là  $100 \pm 0$  (%) và  $90 \pm 2$  (%)

(ở nồng độ thử nghiệm bao nhiêu?) [8], tác dụng kháng viêm thông qua hoạt động ức chế sản xuất NO trong tế bào RAW264.7 được kích thích bằng LPS với  $IC_{50} = 8,0 \pm 0,9mM$ , tác dụng chống ung thư bằng cách giảm biểu hiện ARN thông tin (mARN) của interleukin -  $1\beta$  (IL -  $1\beta$ ), IL - 6 và yếu tố hoại tử khối u -  $\alpha$  trong tế bào đại thực bào do LPS gây ra với sự ức chế mạnh mẽ hoạt động của mARN [5].

6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)- $\beta$ -D-glucosyl- $\beta$ -sitosterol (2) là 1 hợp chất acylglucosyl sterol đã từng được phân lập từ một số loài khác như *Livistona chinensis* [10], *Horseradish*,... Nhưng nghiên cứu này là lần đầu tiên phân lập được hợp chất này từ lá khế nói riêng và các bộ phận khác nhau của cây khế nói chung. Tác dụng sinh học chính của hợp chất 2 đã được nghiên cứu trên thế giới là hoạt động chống tăng sinh mạnh tế bào khối u ở người (K562, HepG2, HL - 60, CNE - 1) với  $IC_{50}$  lần lượt  $12,77 \pm 0,93$ ;  $24,76 \pm 1,63$ ;  $17,14 \pm 1,13$  và  $17,65 \pm 1,05$  [10].

Carambolamid Q (3) tên theo danh pháp là phloretin 3'-C-[(2-O-trans-p-coumaroyl)- $\beta$ -D-fucopyranosyl]-6'-O- $\beta$ -D-fucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-arabinofuranoside, là một hợp chất thuộc nhóm dihydrochalcon C-glycosid. Trước đây carambolamid Q đã từng được chiết xuất từ quả khế, tuy nhiên đây là lần đầu tiên phân lập được hợp chất

này trong lá khế. Trên thế giới, các nghiên cứu về tác dụng sinh học của hợp chất 3 rất hạn chế. Cho đến nay, hợp chất này mới chỉ được nghiên cứu về tác dụng chống oxy hóa thông qua tác dụng bắt giữ gốc tự do DPPH, ABTS và tác dụng khử sắt (FRAP) với giá trị nồng độ ức chế  $IC_{50}$  tương ứng là:  $> 100\mu M$ ;  $2,7\mu M$  và  $0,2 mmol/g$ , khi so sánh với chất tham khảo là L-ascorbic acid với giá trị  $IC_{50}$  tương ứng là:  $39,5 \pm 0,5\mu M$ ;  $10,5 \pm 0,1\mu M$  và  $11,3 \pm 0,1 mmol/g$ . Kết quả này cho thấy hợp chất 3 có tác dụng bắt giữ gốc tự do ABTS và khử sắt (FRAP) rất mạnh, tương tự như các hợp chất cùng cấu trúc phloretin C-glycosid khác như carambolamid M, N, O, P [9]. Bên cạnh đó tác dụng ức chế enzym lipase của tuyến tụy của hợp chất này cũng đã được công bố. Ở hai mức liều thử nghiệm là 50 và 100  $\mu M$  cho kết quả ức chế tương ứng đạt  $27,3 \pm 0,2\mu M$  và  $51,7 \pm 0,0\mu M$  và giá trị  $IC_{50}$  là  $99,6 \pm 6,1\mu M$ , cao hơn rất nhiều do với chất tham khảo orlistat, một thuốc phòng ngừa béo phì, với giá trị  $IC_{50}$  là  $1,6 \pm 0,1\mu M$ . Nghiên cứu này cho thấy hợp chất 3 cho tác dụng ức chế enzym lipase yếu.

Nhận thấy các hợp chất được phân lập từ lá khế chưa được nghiên cứu nhiều về hoạt tính sinh học, do đó, cần có thêm các nghiên cứu theo hướng này trong tương lai. Kết quả này cũng đóng góp cho việc làm phong phú

thêm tri thức về hóa thực vật của cây *Averrhoa carambola* L. nói chung và chi *Averrhoa* nói riêng.

### KẾT LUẬN

Nghiên cứu về thành phần hóa học từ lá cây khế, 3 hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học bao gồm: 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O-β-D-galactopyranosyl-rac-glycerol (1), 6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)-β-D-glucosyl-β-sitosterol (2), Carambolosid-Q (3). Trong đó hợp chất 1 và 2 lần đầu tiên được phân lập từ cây khế. Hợp chất 3 lần đầu tiên được phân lập từ lá cây khế.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Tập 1. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội. 2006.
2. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2006.
3. Nguyễn Thị Thanh Ngân và CS. Xác định cấu trúc của Quercetin 3 - Quercetin 3 - Oβ - D - Glucopyranoside và Myricitrin tinh sạch từ phân đoạn dịch chiết lá Khế (*Averrhoa carambola* L.) có tác dụng hạ Glucose huyết trên chuột gây đái tháo đường thực nghiệm. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*. 2010; 26:242-247.
4. Aladaileh SH, et al. Antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Averrhoa Carambola* extract in high-fat diet-fed rats. *Biomedicines*. 2019; 7(3).
5. Cha BJ, et al. Glycosyl glycerides from hydroponic *Panax ginseng* inhibited NO production in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. *J Ginseng Res*. 2015; 39(2):162-168.
6. Henrique H Moresco, et al. Chemical constituents and evaluation of the toxic and antioxidant activities of *Averrhoa carambola* leaves. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2012; 22(2): 319-324.
7. Irianti MI, et al. *Averrhoa carambola* leaf from Depok, West Java, Indonesia: Phytochemistry characterization and prospective anti-candidiasis activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2022; 12(1):199-207.
8. Janwitayanuchit W, et al. Synthesis and anti-herpes simplex viral activity of monoglycosyl diglycerides. *Phytochemistry*. 2003; 64(7):1253-1264.
9. Xuchao Jia, Haihui Xie, Yueming Jiang, Xiaoyi Wei. Flavonoids isolated from the fresh sweet fruit of *Averrhoa carambola*, commonly known as star fruit. *Phytochemistry*. 2018; 153:156-162.
10. Zeng, Xiaobin, et al. Unusual lipids and acylglucosylsterols from the roots of *Livistona chinensis*. *Phytochemistry Letters*. 2013; 6:36-40.

## NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ HỆ NANO LIPID RẮN CHỨA FAMOTIDIN

*Phan Thị Thu Hằng<sup>1</sup>, Đào Hoàng Lan Anh<sup>1</sup>, Trịnh Nam Trung<sup>1</sup>  
Trần Thị Phương Thảo<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Điệp<sup>1\*</sup>*

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Bào chế và đánh giá một số đặc tính của hệ nano lipid rắn chứa famotidin (FTD). **Phương pháp nghiên cứu:** Bào chế hệ nano lipid rắn bằng phương pháp đồng nhất hóa bằng lực phân cắt kết hợp với siêu âm, các công thức của hệ nano lipid được đánh giá một số đặc tính bằng các phương pháp hóa lý. Khảo sát các yếu tố thuộc về thành phần công thức (lipid rắn, chất diện hoạt, dung môi pha ngoại) và thông số quy trình (tốc độ, thời gian đồng nhất hóa, công suất và thời gian siêu âm) đến các chỉ tiêu chất lượng của hệ nano. **Kết quả:** Công thức nano lipid rắn thích hợp nhất gồm 40mg famotidin, 3,5g glycerin monosterat (GMS), 1g Span 80, 300mL nước chứa 0,75g Tween 80; thông số quy trình bào chế: Tốc độ đồng nhất 7000 vòng/phút, thời gian đồng nhất 5 phút, công suất siêu âm 240W, thời gian siêu âm 5 phút. Hệ nano lipid rắn lựa chọn có kích thước tiểu phân (KTTP) là  $124,9 \pm 0,19\text{nm}$ , chỉ số đa phân tán (polydisperse index - PDI)  $< 0,3$ , có khả năng kéo dài giải phóng dược chất lên đến 12 giờ. **Kết luận:** Đã xây dựng được công thức, thông số quy trình bào chế và đánh giá một số đặc tính của hệ nano lipid rắn chứa famotidin.

**Từ khóa:** Famotidin; Hệ nano lipid rắn; Đồng nhất hóa; Glycerin monosterat.

## PREPARATION OF FAMOTIDINE-LOADED SOLID LIPID NANOPARTICLES

### Abstract

**Objectives:** To prepare and evaluate some properties of famotidine-loaded solid lipid nanoparticles. **Methods:** Solid lipid nanoparticles were prepared by high-shear homogenization combined with ultrasonication. The formulations of FTD-loaded lipid nanoparticles were evaluated for some properties using physico-chemical methods.

<sup>1</sup>Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Trọng Điệp (diepvmu@gmail.com)

Ngày nhận bài: 14/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 10/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.516>

**Results:** Factors belonging to the formula composition (solid lipids, surfactants, extra-phase solvents) and process parameters (speed, time, and speed of homogenization, power, and time of sonication) were evaluated to find the optimal process. The FTD-load nanoparticle formula was selected, including 40mg famotidine, 3.5g GMS, 1g Span 80, 300mL of water containing 0.75g Tween 80; process parameters were: Homogenization speed 7000 r.p.m, homogenization time 5 minutes, sonication power 240W, sonication time 5 minutes. The solid lipid nanosystem has a droplet size of  $124.9 \pm 0.19\text{nm}$ , PDI < 0.3. Profile of FTD-load solid lipid nanoparticles showed the capability of extending drug release up to 12 hours. **Conclusion:** The formulation, process parameters, and evaluation of some properties of solid lipid nanosystems containing famotidine have been developed.

**Keywords:** Famotidine; Solid lipid nanoparticles; Homogenization; Glycerol monostearate.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Famotidin là dược chất có tác dụng kháng thụ thể H<sub>2</sub>, được sử dụng rộng rãi để điều trị bệnh viêm, loét dạ dày - tá tràng, hội chứng Zollinger - Ellison và bệnh trào ngược dạ dày - thực quản [1]. Tuy nhiên, FTD thuộc nhóm IV của hệ thống phân loại sinh dược học (Biopharmaceutics Classification System - BCS), có độ thấm thấu vào niêm mạc dạ dày và ruột thấp, không bền vững ở pH acid, bị phân hủy nhiều trong dịch dạ dày [2, 3]. Vì vậy, sinh khả dụng đường uống của FTD thường thấp và không ổn định. Hiện nay, có một số giải pháp về bào chế đã được áp dụng để cải thiện sinh khả dụng cho FTD theo đường uống như bào chế dưới hệ phân tán rắn, tạo tinh thể với acid nicotinic, bào

chế dạng nano lipid rắn, tạo phức hợp  $\beta$ -cyclodextrin... Trong đó, hệ tiểu phân nano lipid rắn (Solid lipid nanoparticles - SLNs) đang được quan tâm phát triển do có nhiều ưu điểm nổi trội và phù hợp như sử dụng hệ thống chất mang là lipid có cấu trúc tương tự với lipid sinh lý, giúp tăng tính thấm và mức độ hấp thu của FTD, đồng thời, bao bọc dược chất, kiểm soát và kéo dài thời gian giải phóng nhằm hạn chế lượng FTD bị phân hủy trong dịch dạ dày. Hệ cũng có độ ổn định tốt, dễ dàng nâng cấp quy mô sản xuất [4, 5]. Những đặc điểm này giúp nâng cao sinh khả dụng, cải thiện hiệu quả liều và mở rộng thời gian tác dụng cho FTD. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Bào chế và đánh giá một số đặc tính của hệ nano lipid rắn chứa famotidin (SLN - FTD)*”.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Nguyên liệu:* Famotidin (hàm lượng 98,5%) được cung cấp bởi công ty BP EP USP factory, Trung Quốc. Chuẩn famotidin (số kiểm soát 0214102.02, hàm lượng 99,46%) được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Các nguyên liệu, hoá chất như GMS, acid stearic, alcol cetostearylic, Tween 80, Span 80, cremophor RH40, gelucire 44/14, ethanol 96%... đạt tiêu chuẩn dược dụng.

\* *Thiết bị và dụng cụ:* Máy đồng nhất hóa Homogenizing mixer Mark II, Primix (Nhật Bản), máy khuấy từ IK RW16 (Hàn Quốc), cân phân tích Satirius CP224S (Mỹ), cân kỹ thuật Satirius (Mỹ), máy đo quang phổ UV-Jasco V730 (Nhật Bản), máy đo kích thước tiểu phân Horiba Nano Partica SZ - 100V2 Series (Nhật Bản), máy siêu âm đầu dò ĐNH, máy lắc IKA Vortex GENIUS 3 (Đức), máy thử độ hòa tan NE6-COPD Copley (Anh), kính hiển vi điện tử quét HITACHI S-4800 (Nhật Bản), túi thẩm tích Spectra/Por 4 dialysis và các dụng cụ thông dụng khác.

\* *Địa điểm nghiên cứu:* Viện Đào tạo dược, Học viện Quân y.

\* *Thời gian nghiên cứu:* Từ tháng 10/2020 - 7/2021.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Xây dựng công thức và quy trình bào chế hệ tiểu phân nano lipid rắn chứa famotidin:*

- Phương pháp bào chế hệ nano lipid rắn chứa famotidin:

Cân 40mg FTD, hòa tan vào các loại lipid khảo sát, thêm 1g Span 80, đun đến nhiệt độ 65 - 70°C, khuấy đều bằng máy khuấy từ đến khi tan hoàn toàn. Thêm dần pha dầu vào nước chứa chất diện hoạt thân nước với nồng độ thích hợp được đun nóng đến nhiệt độ 70 - 75°C, sử dụng máy đồng nhất hóa với tốc độ và thời gian phù hợp để phân cắt tiểu phân. Sau đó, sử dụng lực siêu âm liên tục bằng máy siêu âm đầu dò với công suất và thời gian thích hợp. Cuối cùng, hệ được để nguội tự nhiên về nhiệt độ phòng để hình thành SLN - FTD.

- Khảo sát thành phần công thức bào chế gồm: Loại lipid rắn, lượng lipid rắn, loại chất diện hoạt thân nước, tỷ lệ chất diện hoạt và lượng dung môi pha ngoại.

- Khảo sát lựa chọn thông số quy trình bào chế gồm: Tốc độ đồng nhất hóa, thời gian đồng nhất hóa, công suất siêu âm và thời gian siêu âm.

- Chỉ tiêu đánh giá để xây dựng công thức và quy trình bào chế gồm: Tính chất, KTTP, thế Zeta, PDI.

\* *Đánh giá một số đặc tính và chỉ tiêu chất lượng của hệ tiêu phân nano lipid rắn chứa famotidin:*

- Tính chất: Xác định bằng cảm quan. Mẫu đạt yêu cầu khi tạo thành dạng hỗn dịch đồng nhất, không xuất tình trạng kết tinh, kết tủa.

- Đánh giá kích thước tiêu phân, PDI và thế Zeta: Các mẫu thử được pha loãng với nước đến nồng độ thích hợp rồi tiến hành đo trên máy Nano Partica SZ 100, sử dụng cuvet nhựa, nhiệt độ buồng đo 25°C để xác định KTTP, PDI và thế zeta. Mỗi mẫu đo lặp lại 3 lần [6]. Hệ lựa chọn cần có KTTP < 200nm, PDI ≤ 0,3, thế zeta ≥ ± 30mV.

- Hàm lượng famotidin toàn phần trong hệ tiêu phân nano: Cân chính xác lượng SLN - FTD tương đương với khoảng 0,15mg FTD cho vào ống thủy tinh có nút, thêm 8mL dung dịch HCl 0,1N, đun cách thủy ở 60°C trong 30 phút. Làm nguội nhanh về nhiệt độ phòng, chuyển toàn bộ dung dịch trong ống nghiệm sang bình định mức 10mL, dùng 1mL dung dịch HCl 0,1N để tráng ống thủy tinh và bổ sung vừa đủ 10mL, lắc đều. Ly tâm 5.000 vòng/phút trong 15 phút rồi lọc qua giấy lọc. Phần dịch lọc được đem đo quang ở bước sóng 266nm. Dựa vào đường chuẩn, xác định được hàm lượng FTD toàn phần thực tế và so sánh với lý thuyết [7].

- Hiệu suất nano hóa: Hút chính xác 4mL hỗn dịch nano cho vào ống ly tâm gắn màng 10kDa (MWCO 10kDa, Millipore, Mỹ), ly tâm ở 4500 vòng/phút trong 30 phút. Lấy phần dịch trong bên dưới màng lọc, sau đó pha loãng với acid HCl 0,1N đến nồng độ thích hợp rồi định lượng FTD tự do bằng phương pháp UV-Vis ở bước sóng 266nm tương tự như cách xác định hàm lượng FTD toàn phần. Hiệu suất nano hóa được tính theo công thức sau:

$$EE (\%) = \frac{\text{Lượng FDT toàn phần} - \text{Lượng FTD tự do}}{\text{Lượng FDT toàn phần}} \times 100$$

- Đánh giá khả năng giải phóng dược chất *in vitro*:

Môi trường hòa tan: 200mL đệm phosphat pH 7,4. Nhiệt độ môi trường: 37 ± 0,5°C. Tốc độ khuấy từ: 50 vòng/phút. Cách tiến hành: Cân chính xác khoảng 40mg FTD nguyên liệu hoặc mẫu thử tương đương với 3mg FTD cho vào túi thẩm tích Spectra/Por 4 Dialysis Membrane MWCO 12 - 14kD. Cho túi thẩm tích vào môi trường hòa tan. Tiến hành thử độ hòa tan với các điều kiện nêu trên. Tại các thời điểm đo, lấy 5mL môi trường thử, đồng thời bổ sung 5mL môi trường mới. Dịch thử độ hòa tan được lọc qua màng 0,45µm và định lượng bằng

phương pháp UV-Vis ở bước sóng 285nm. Mẫu trắng là dung dịch đệm phosphat pH 7,4 [7].

- Xác định hình thái hệ SLN - FTD bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM): Mẫu được đưa lên mặt lưới bằng đồng được bao bằng carbon, cố định bằng acid phosphotungstic 2% (kl/tt). Dựa vào hình ảnh TEM để xác định hình dạng, kích thước của hệ SLN - FTD.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

### 1. Kết quả xây dựng công thức và quy trình bào chế hệ tiểu phân nano lipid rắn chứa famotidin

- Kết quả xây dựng công thức bào chế:

Ảnh hưởng của lipid rắn: Bào chế hệ SLN - FTD với các lipid rắn khác nhau, có mặt chất diện hoạt thân nước là 2,25g Tween 80, thông số quy trình bào chế: Tốc độ đồng nhất hóa 5000 vòng/phút trong 5 phút, công suất siêu âm là 480W trong 5 phút.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của lipid rắn đến tính chất, KTTTP, PDI và thế Zeta của hệ SLN - FTD (n = 3,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Công thức	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Loại lipid	GMS	Alcol cetostearylic	Alcol cetylic	Acid stearic	GMS	GMS	GMS
Lượng lipid (g)	4	4	4	4	3	3,5	4,5
Tính chất	Đạt	Đạt	Kết tụ	Kết tụ	Đạt	Đạt	Đạt
KTTTP (nm)	110,5 ± 3,1	231,9 ± 15,6	-	-	105,9 ± 4,71	107,0 ± 3,53	117,0 ± 5,27
PDI	0,287 ± 0,02	0,477 ± 0,07	-	-	0,355 ± 0,065	0,243 ± 0,062	0,303 ± 0,027
Zeta (mV)	-89,2 ± 3,2	-82,6 ± 4,5	-	-	-47,7 ± 2,3	-77,7 ± 0,1	-83,4 ± 0,3

Kết quả cho thấy trong 4 loại lipid rắn thì công thức F1 và F2 tạo thành hỗn hợp đồng nhất, công thức F3 xuất hiện tình trạng kết tụ. Trong đó, công thức F1

có KTTTP < 200nm, PDI < 0,3 nên lựa chọn lipid rắn là GMS. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Zai K và CS (2019) khi sử dụng GMS làm tá dược pha dầu để bào chế SLN - FTD [9]. Khi thay đổi lượng GMS lần lượt là 3g, 3,5g, 4g và 4,5g thì gần như không ảnh hưởng đến các đặc tính của hệ. Cả 4 công thức F1, F5, F6, F7 đều có KTTTP nhỏ (< 120nm), PDI ≤ 0,3 và thế Zeta ≥ ± 30mV. Tuy nhiên, công thức F5 xuất hiện tủa sau một ngày bảo quản nên công thức F6 là phù hợp nhất để bào chế hệ SLN - FTD do sử dụng lượng GMS ít nhất.

Ảnh hưởng của chất diện hoạt thân nước: Khảo sát 5 loại chất diện hoạt khác nhau với cùng khối lượng 2,25g trong công thức, kết quả được thể hiện trong bảng 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của chất diện hoạt đến tính chất, KTTTP, PDI và thế Zeta của hệ SLN - FTD (n = 3,  $\bar{X} \pm SD$ ).

<b>Công thức</b>	<b>F6</b>	<b>F8</b>	<b>F9</b>	<b>F10</b>	<b>F11</b>
Chất diện hoạt	Tween 80	Cremophore RH40	Natri laurylsulfat	Gelucire 44/14	Lutrol F127
Tính chất	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
KTTTP (nm)	110,5 ± 3,12	161,05 ± 4,71	224,85 ± 3,53	145,85 ± 5,27	127,4 ± 2,36
PDI	0,287 ± 0,022	0,477 ± 0,065	0,482 ± 0,062	0,285 ± 0,027	0,227 ± 0,021
Zeta (mV)	-89,2 ± 3,2	-66,7 ± 2,3	-0,4 ± 0,1	-1,1 ± 0,3	-0,1 ± 0,1

Kết quả cho thấy chất diện hoạt có ảnh hưởng lớn đến đặc tính của hệ. Trong đó, công thức F9 cho KTTTP > 200nm, các công thức còn lại có KTTTP đạt yêu cầu. Chỉ số PDI ở công thức F8 và F9 đều > 0,3 nên không đạt yêu cầu. Thế Zeta của công thức F6 và F8 là đạt yêu cầu do ≥ ± 30mV. Như vậy, xét cả ba chỉ tiêu đánh giá thì công thức F6 sử dụng Tween 80 cho hệ nano lipid rắn có KTTTP nhỏ nhất (110,5nm), chỉ số PDI và thế Zeta đều đạt yêu cầu nên được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

Ảnh hưởng của tỷ lệ chất diện hoạt thân nước: Từ công thức F6, khảo sát Tween 80 ở các tỷ lệ khác nhau, kết quả được thể hiện trong bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của tỷ lệ Tween 80 đến tính chất, KTTTP, PDI và thế Zeta của hệ SLN - FTD (n = 3,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Công thức	F12	F13	F14	F6	F15
Tỷ lệ Tween 80/nước (%)	0	0,25	0,5	0,75	1
Tính chất	Phân lớp	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
KTTTP (nm)	-	135,4 ± 5,6	124,2 ± 4,27	110,5 ± 3,12	236,3 ± 7,31
PDI	-	0,327 ± 0,094	0,367 ± 0,075	0,287 ± 0,022	0,385 ± 0,047
Zeta (mV)	-	-98,9 ± 6,3	-109,2 ± 8,6	-89,2 ± 3,2	-81,3 ± 5,9

Kết quả cho thấy công thức F12 không sử dụng Tween 80 bị tách lớp ngay khi vừa thực hiện giai đoạn đồng nhất hóa. Như vậy, có thể khẳng định chất diện hoạt có vai trò quan trọng đến sự hình thành, ổn định của hệ SLN - FTD. Khi tăng tỷ lệ Tween 80 từ 0,25% lên 0,75% có xu hướng làm giảm KTTTP (từ 135,4nm xuống 110,5nm), nhưng khi tiếp tục tăng tỷ lệ Tween 80 lên 1% lại làm tăng KTTTP. Sự kết hợp giữa Tween 80 và Span 80 trong công thức đã tạo nên hệ chất nhũ hóa giúp hình thành hệ tiểu phân nano lipid rắn tương đối bền vững (thế zeta

> ± 30mV, phân bố kích thước tiểu phân khá đồng đều (PDI khoảng 0,3). Với mục tiêu lựa chọn được tỷ lệ chất diện hoạt thấp nhất để an toàn cho người sử dụng (giảm độc tính) và dễ uống (do Tween 80 có vị đắng) mà vẫn có thể tạo được hệ SLN đạt yêu cầu, nên công thức F13 (tỷ lệ Tween 80 là 0,25%) là thích hợp nhất.

- Khảo sát thông số quy trình bào chế:

Ảnh hưởng của tốc độ và thời gian đồng nhất hóa: Bào chế công thức F13 với các thông số về tốc độ và thời gian đồng nhất hóa khác nhau, kết quả được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của tốc độ và thời gian đồng nhất hóa đến tính chất, KTTP, PDI và thế Zeta của hệ SLN - FTD bào chế được (n = 3,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Chỉ tiêu	Khảo sát tốc độ đồng nhất				Khảo sát thời gian đồng nhất hóa		
	3000	5000	7000	9000	7000	7000	7000
Tốc độ (vòng/phút)	3000	5000	7000	9000	7000	7000	7000
Thời gian (phút)	5	5	5	5	3	7	9
Tính chất	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
KTTP (nm)	163,2 ± 13,1	135,4 ± 5,6	114,9 ± 4,6	114,6 ± 3,2	125,2 ± 8,5	110,3 ± 7,9	115,9 ± 4,6
	0,398 ± 0,076	0,327 ± 0,094	0,289 ± 0,029	0,278 ± 0,011	0,336 ± 0,071	0,292 ± 0,065	0,279 ± 0,049
PDI	0,398 ± 0,076	0,327 ± 0,094	0,289 ± 0,029	0,278 ± 0,011	0,336 ± 0,071	0,292 ± 0,065	0,279 ± 0,049
	0,398 ± 0,076	0,327 ± 0,094	0,289 ± 0,029	0,278 ± 0,011	0,336 ± 0,071	0,292 ± 0,065	0,279 ± 0,049
Zeta (mV)	-81,9 ± 8,4	-98,9 ± 6,3	-90,2 ± 7,4	-73,4 ± 12,1	-67,9 ± 6,6	-82,1 ± 4,3	-90,7 ± 14,5
	-81,9 ± 8,4	-98,9 ± 6,3	-90,2 ± 7,4	-73,4 ± 12,1	-67,9 ± 6,6	-82,1 ± 4,3	-90,7 ± 14,5

Kết quả cho thấy tốc độ đồng nhất hóa có ảnh hưởng nhất định đến sự hình thành và các thông số của hệ nano. Khi tăng tốc độ từ 3.000 vòng/phút lên 9.000 vòng/phút, KTTP và chỉ số PDI có xu hướng giảm nhẹ (KTTP từ 163,2nm xuống 114,6nm, PDI từ 0,398 xuống 0,278). Trong đó, ở tốc độ 7.000 vòng/phút và 9.000 vòng/phút không ảnh hưởng nhiều đến đặc tính của hệ. Kết quả bảng 4 cũng cho thấy với tốc độ đồng nhất hóa là 7.000 vòng/phút thì thời gian đồng nhất hóa cần ít nhất 5 phút thì hệ mới đạt cả ba yêu cầu về KTTP, PDI và thế Zeta. Vì vậy, để hạn chế thiết bị vận hành ở tốc độ quá cao trong thời gian dài nên nghiên cứu lựa chọn tốc độ đồng nhất hóa là 7.000 vòng/phút trong 5 phút.

Ảnh hưởng của công suất và thời gian siêu âm: Bào chế công thức F13 với công suất và thời gian siêu âm khác nhau, kết quả được trình bày trong bảng 5.

**Bảng 5.** Ảnh hưởng của công suất, thời gian siêu âm đến tính chất, KTTTP, PDI và thế Zeta của hệ SLN - FTD (n = 3,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Chỉ tiêu	Khảo sát công suất siêu âm				Khảo sát thời gian siêu âm		
	120	240	360	480	240	240	240
Công suất siêu âm (W)	120	240	360	480	240	240	240
Thời gian siêu âm (phút)	5	5	5	5	3	7	10
Tính chất	Phân lớp	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
KTTTP (nm)	-	124,9 ± 1,91	121,7 ± 5,61	114,9 ± 4,62	163,6 ± 5,74	120,6 ± 6,1	124,3 ± 6,28
PDI	-	0,287 ± 0,011	0,292 ± 0,038	0,289 ± 0,029	0,374 ± 0,073	0,292 ± 0,036	0,307 ± 0,082
Zeta (mV)	-	-66,7 ± 2,5	-78,2 ± 8,6	-90,2 ± 7,4	-50,9 ± 4,9	-73,3 ± 6,7	-81,4 ± 12,1

Kết quả cho thấy với mức công suất 120W, lực siêu âm không đủ để tạo thành hệ nano đồng nhất, do lipid bị tách lớp và nổi trên bề mặt. Khi tăng công suất lên 240W, 360W và 480W thì đều thu được hệ nano đồng nhất, có các đặc tính tương đồng với KTTTP  $\leq 200\text{nm}$ , PDI  $\leq 0,3$ , thế Zeta  $\geq \pm 30\text{mV}$ . Với công suất siêu âm là 240W thì thời gian siêu âm cần ít nhất 5 phút mới cho hệ đạt được cả ba yêu cầu về KTTTP, PDI và thế Zeta. Do đó,

điều kiện siêu âm thích hợp nhất là 240W trong 5 phút.

Như vậy, qua quá trình khảo sát ở trên đã lựa chọn được công thức thích hợp để bào chế hệ SLN - FTD là công thức F13, thông số quy trình bào chế là: Tốc độ đồng nhất hóa 7.000 vòng/phút trong 5 phút, sau đó siêu âm với công suất 240W trong 5 phút. Công thức lựa chọn có KTTTP 124,9 ± 1,91nm, PDI 0,287 ± 0,011, thế Zeta - 66,7 ± 2,5mV đủ để đảm bảo độ ổn định của hệ.

**2. Kết quả đánh giá một số đặc tính của hệ nano lipid rắn chứa famotidin**

Hệ SLN - FTD bào chế theo công F13 được sử dụng để đánh giá một số đặc tính của hệ thu được các kết quả như sau:

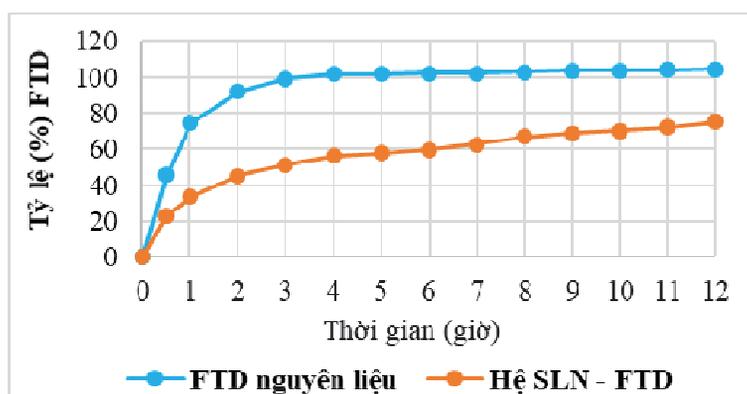
- Hàm lượng famotidin và hiệu suất nano hóa:

**Bảng 6.** Hàm lượng FTD và hiệu suất nano hóa của hệ SLN - FTD.

Mẫu	Lượng FTD lý thuyết (mg)	Lượng FTD tự do (mg)	Lượng FTD toàn phần (mg)	Hàm lượng FTD so với lý thuyết (%)	Hiệu suất nano hóa (%)
1	39,25	5,36	38,83	98,92	86,19
2	39,11	6,52	38,48	98,39	83,06
3	40,20	6,19	39,89	99,23	84,49
	$\bar{X} \pm SD$			98,85 $\pm$ 0,42	84,58 $\pm$ 1,57

Kết quả cho thấy hàm lượng FTD toàn phần trong hệ là 97,73  $\pm$  1,12% so với lượng FTD theo lý thuyết, thể hiện sự ổn định và ít bị hư hao hoạt chất trong quá trình bào chế. Hiệu suất nano hóa đạt tỷ lệ khá cao (84,58  $\pm$  1,57%), phù hợp với các nghiên cứu về hệ SLN - FTD của Saphique M (2017) là 84,0  $\pm$  2,7% [7] và Zai K. (2019) là 82,30  $\pm$  4,39% [8].

- Khả năng giải phóng dược chất *in vitro* của hệ SLN - FTD:

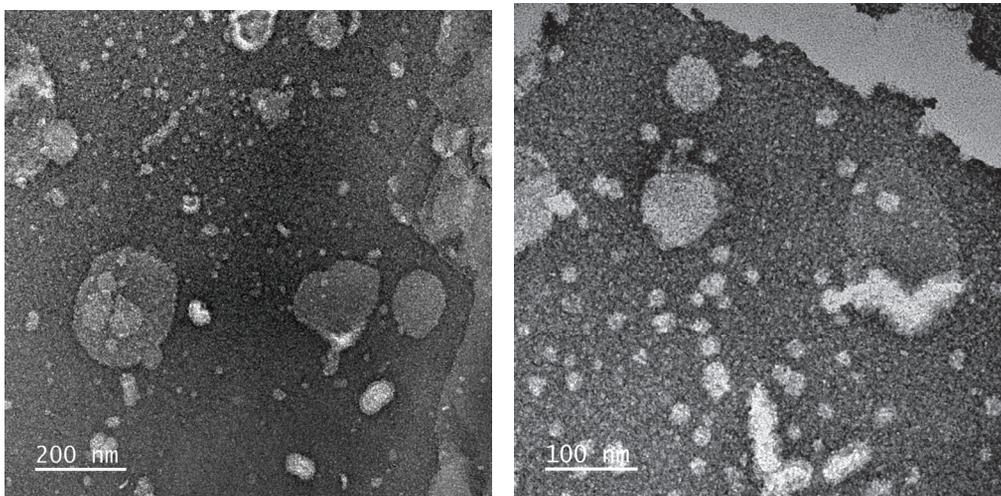


**Hình 1.** Đồ thị khả năng giải phóng dược chất của hệ SLN - FTD và nguyên liệu.

Trong môi trường đệm phosphat pH 7,4, hệ SLN - FTD có khả năng kéo dài quá trình giải phóng hoạt chất trong 12 giờ khảo sát. Tỷ lệ FTD giải phóng từ hệ SLN - FTD ở 30 phút đầu là 23,16% và đến 12 giờ là 75,31%. Trong khi nguyên liệu đã giải phóng 45,70% FTD chỉ sau 30 phút đầu và sau 3 giờ đã giải phóng hoàn toàn dược chất (gần như 100%). Điều này là do FTD nạp vào cấu trúc nano có chứa các lipid rắn nên làm chậm quá trình giải phóng hoạt chất, đây là

đặc điểm chung của các hệ nano lipid rắn. Trong nghiên cứu của Saphique M và CS (2017) cũng cho thấy khi FTD nạp trong hệ SLN đã kéo dài giải phóng hoạt chất và làm tăng sinh khả dụng theo đường uống cho FTD so với các sản phẩm thương mại trên thị trường ( $C_{max}$  tăng từ 0,498  $\mu\text{g/mL}$  lên 1,03  $\mu\text{g/mL}$ , AUC tăng từ 43,96  $\mu\text{g.h/mL}$  lên 231,22  $\mu\text{g.h/mL}$ ), nguyên nhân là do tính chất kéo dài giải phóng hoạt chất của hệ SLN [7].

- Xác định hình thái tiểu phân hệ SLN - FTD bằng kính hiển vi điện tử truyền qua:



**Hình 2.** Hình ảnh chụp TEM của các tiểu phân nano lipid rắn chứa FTD.

Hình ảnh TEM cho thấy tiểu phân nano lipid rắn chứa FTD có dạng hình cầu, kích thước tiểu phân nằm trong vùng nano, phù hợp với kết quả về KTTTP và PDI đo được bằng phương pháp tán xạ ánh sáng.

### KẾT LUẬN

Khảo sát thành công ảnh hưởng của thành phần công thức (loại lipid rắn, chất diện hoạt, dung môi pha ngoại) và thông số quy trình (tốc độ đồng nhất, thời gian đồng nhất, công suất siêu âm, thời gian siêu âm) đến các chỉ tiêu chất lượng của hệ SLN - FTD (tính chất, KTTP, PDI, thế Zeta). Từ đó, lựa chọn được công thức bào chế gồm: FTD 40mg, GMS 3,5g, Span 80 1g, 0,75g Tween 80 trong 300mL nước cất; thông số quy trình là: Tốc độ đồng nhất hóa 7.000 vòng/phút trong 5 phút, công suất siêu âm 240W trong 5 phút. Hệ nano lipid rắn có KTTP  $124,9 \pm 1,91$ nm, PDI  $0,287 \pm 0,011$ , thế Zeta  $-66,7 \pm 2,5$ mV, hiệu suất nano hóa  $84,58 \pm 1,57\%$ , hệ có khả năng kéo dài giải phóng dược chất *in vitro* đến 12 giờ.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược thư quốc gia. Famotidin, 2018:648-650.
2. Mohammad S., Islam T., Milind M. Solubility, Stability and Ionization Behaviour of Farnotidine. *J. Pharm. Pharmacol* 1993; 45(8):682-686.
3. Gladziwa U, Klotz U, Krishna R. et al. Pharmacokinetics and dynamics of famotidin in patients with renal

failure. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1988; 26(3):315-321.

4. Meghana SK, Krunal KV, et al. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers-an overview, *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*. 2012; 2(4):681-691.

5. Naseri N., Valizadeh H., & Zakeri-Milani P. (2015), Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: structure, preparation and application, *Advanced pharmaceutical bulletin* 5(3):305.

6. Danaei M, Dehghankhold M, Ataei S, Hasanzadeh Davarani F. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*. 2018; 10(2):57.

7. Saphique M, Khan MA, Khan WS, et al. Fabrication, Characterization, and *in vivo* evaluation of famotidine loaded solid lipid nanoparticles for boosting oral bioavailability. *Journal of Nanomaterials*. 2017.

8. Zai K, Mauludin R, et al. Solid lipid nanoparticle improves oral bioavailability of famotidine. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2019; 11:2437-2439.

**ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG AN THẦN, CẢI THIỆN GIÁC NGỦ  
CỦA BÀI THUỐC “AN THẦN ĐỊNH TRÍ QY”  
TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT THỰC NGHIỆM**

*Nguyễn Thanh Hà Tuấn<sup>1\*</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Đánh giá tác dụng an thần, cải thiện giấc ngủ của bài thuốc “An thần định trí QY” (ATĐTQY) trên chuột nhắt trắng chủng Swiss. **Phương pháp nghiên cứu:** Sử dụng mô hình đo hoạt động ký để đánh giá tác dụng an thần và mô hình gây mất ngủ ở chuột bằng caffeine để đánh giá tác dụng cải thiện giấc ngủ pentobarbital. Chuột được cho uống ATĐTQY liều 36 g/kg/ngày và 108 g/kg/ngày (tính theo dược liệu khô). **Kết quả:** Trên mô hình đo hoạt động ký, tại các thời điểm sau 1 giờ và 3 giờ uống ATĐTQY ở cả 2 mức liều, số lần chuột di chuyển theo chiều ngang cũng như theo chiều dọc đều giảm rõ so với nhóm chứng ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ). Trên mô hình gây mất ngủ bằng caffeine, uống ATĐTQY ở cả 2 mức liều đều có độ trễ giấc ngủ giảm, thời gian ngủ tăng so với lô chứng bệnh ( $p < 0,01$ ). Các tác dụng của ATĐTQY tương đương với Diazepam liều 2,4 mg/kg. **Kết luận:** Bài thuốc ATĐTQY liều 36 g/kg/ngày và 108 g/kg/ngày có tác dụng an thần, cải thiện giấc ngủ trên chuột thực nghiệm, tương đương với Diazepam liều 2,4 mg/kg.

**Từ khóa:** An thần định trí QY; Tác dụng an thần; Cải thiện giấc ngủ.

**EVALUATION OF THE SEDATIVE AND SLEEP IMPROVEMENT  
EFFECTS OF THE MEDICINE “AN THAN DINH TRI QY”  
IN EXPERIMENTAL MICE MODEL**

**Abstract**

**Objectives:** To evaluate the sedative and sleep improvement effects of the medicine "An than dinh tri QY" (ATDTQY) on Swiss white mice. **Methods:** Using the phylogenetic model to evaluate the sedative effect and the insomnia

<sup>1</sup>Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thanh Hà Tuấn (nguyentuan000010@gmail.com)

Ngày nhận bài: 11/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 31/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.505>

mice model induced by caffeine to evaluate the sleep improvement effect of pentobarbital. Mice were given ATDTQY at a dose of 36 g/kg/day and 108 g/kg/day (based on dry herbs). **Results:** In the phylogenetic, at 1 hour and 3 hours after using ATDTQY, the number of times the mice moved horizontally and vertically decreased significantly compared to that of the control group ( $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ ). In the caffeine-induced insomnia model, using ATDTQY at both doses reduced sleep latency and increased sleep time compared to those of the pathology group ( $p < 0.01$ ). These effects of ATDTQY are equivalent to that of Diazepam at a dose of 2.4 mg/kg. **Conclusion:** The ATDTQY at doses of 36 g/kg/day and 108 g/kg/day had a sedative effect and improved sleep quality in experimental mice, which was equivalent to the Diazepam dose of 2.4 mg/kg.

**Keywords:** An than dinh tri QY; Sedative effect; Improving the sleep.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Giấc ngủ giúp phục hồi các quá trình sinh lý và tâm thần của con người. Tình trạng mất ngủ có xu hướng gia tăng trong xã hội do những căng thẳng trong cuộc sống sinh hoạt hoặc áp lực công việc. Mất ngủ kéo dài là nhân tố làm khởi phát rối loạn lo âu, trầm cảm, bệnh tật khác, thậm chí có nguy cơ dẫn tới tử vong do nhiều nguyên nhân khác nhau; do đó, cần được quan tâm điều trị [1].

Y học cổ truyền có nhiều bài thuốc có hiệu quả và an toàn trong điều trị mất ngủ, giúp người bệnh đi vào giấc ngủ tự nhiên, ít mệt mỏi, ít bị phụ thuộc thuốc [2]. Bài thuốc ATĐTQY là bài thuốc kinh nghiệm, gồm toan táo nhân, bá tử nhân, viễn trí, lạc tiên có tác dụng dưỡng tâm an thần. Kết hợp với các vị thuốc dưỡng âm thanh nhiệt, sơ can giải uất để điều trị vào cơ chế

bệnh sinh của mất ngủ [2]. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Đánh giá tác dụng an thần, cải thiện giấc ngủ của bài thuốc trên động vật thực nghiệm; từ đó, đưa ra cơ sở khoa học về hiệu quả trong điều trị mất ngủ, nâng cao tính ứng dụng của bài thuốc.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Chất liệu, đối tượng và thiết bị nghiên cứu

\* *Thuốc nghiên cứu:*

Bài thuốc ATĐTQY gồm: Sinh địa (*Radix Rehmaniae glutinosae*) 10g, đảng sâm (*Radix Codonopsis javanica*) 15g, đan sâm (*Radix Salviae multiorrhizae*) 10g, mộc hương (*Radix Aucklandiae*) 8g, viễn chí (*Radix Polygalae*) 10g, bạch linh (*Poria cocos Wolf*) 12g, cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*) 5g, sài hồ (*Radix Bupleuri*) 8g, bá tử nhân

(*Semen Thuja orientalis*) 10g, lạc tiên (*Herba Passiflorae*) 15g, mạch môn (*Radix Ophiopogonis*) 12g, đương quy (*Radix Angelicae Sinensis*) 10g, táo nhân (*Semen Zizyphus jujuba*) 10g, mấu lệ (*Concha Ostreae*) 15g. Tổng bài thuốc 150g dược liệu khô. Các dược liệu đều đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [3]. Bài thuốc được chiết xuất với dung môi là nước tại Công ty cổ phần dược phẩm Phú Tín, thành cao lỏng ATĐTQY với tỷ lệ W:V là 5:1 (1mL cao tương ứng 5mg dược liệu khô) đạt tiêu chuẩn cơ sở. Từ cao 5:1, thuốc nghiên cứu được pha loãng với nước cất thành cao lỏng có tỷ lệ thích hợp với liều dùng và thể tích khi cho chuột uống bằng kim cong đầu tù chuyên dụng. Liều dùng được tính theo gram dược liệu khô. Liều dùng ở người là 150 g/người/ngày (tương đương 3g dược liệu/kg/ngày ở người 50kg thể trọng). Quy đổi ra liều trên chuột nhất trắng (hệ số 12) là 36 g/kg/ngày. Ở mức liều này chuột uống cao lỏng có tỷ lệ 3:1, 36g dược liệu khô/kg/ngày tương ứng 12mL cao lỏng 3:1/kg/ngày (hay 0,12 mL/10g/ngày). Ở mức liều cao chuột được cho uống cao lỏng có tỷ lệ 5:1, 108g dược liệu khô/kg/ngày tương ứng 21,6mL cao lỏng 5:1/kg/ngày (hay 0,216 mL/10g/ngày).

\* *Đối tượng nghiên cứu*: 90 chuột nhất trắng, chủng Swiss trưởng thành, khỏe mạnh, cân nặng từ 18 - 20g, do

Học viện Quân y cấp, được nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn động vật nghiên cứu.

\* *Thuốc, hóa chất dùng trong nghiên cứu*: Diazepam 5mg, viên nén (công ty Gedeon Richter) được nghiền nhỏ thành bột; Caffeine dạng bột (công ty Sigma- Aldrich); Pentobarbital 50 mg/mL (công ty Sagent). Các bột thuốc, hoá chất được hoà tan hoàn toàn trong nước cất ngay trước khi sử dụng.

\* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu*: Nghiên cứu tiến hành tại Labo Dược lý Thực nghiệm, Bộ môn Dược lý - Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y, từ tháng 02/2023 - 5/2023.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Đánh giá tác dụng an thần trên mô hình đo hoạt động ký*:

- Nguyên lý: Tiến hành nghiên cứu theo phương pháp được mô tả bởi Obese và CS (2021) [4]. Thiết bị đo hoạt động ký Activity cage (Ugo-Basile, Ý) gồm 01 lồng kính hình hộp chữ nhật với kích thước 40 x 40 x 30cm, bộ cảm biến di chuyển của chuột và thiết bị điện tử có màn hình hiển thị giúp tự động ghi lại số lần các hoạt động của chuột. Khi ở trong môi trường tối và ít tiếng ồn, chuột có xu hướng khám phá lồng được biểu hiện bằng các hoạt động di chuyển theo chiều ngang và lên cao theo chiều dọc. Giảm số lần di chuyển theo chiều ngang và chiều dọc thể hiện tác dụng an thần của thuốc.

- Cách tiến hành: Chuột nhắt trắng 40 con được chia đều ngẫu nhiên thành 4 lô: Lô 1 (chứng sinh học, n = 10): Uống nước cất 0,2 mL/10g; lô 2 (lô tham chiếu, n = 10): Uống Diazepam liều 2,4 mg/kg; lô 3 (NC1; n = 10): Uống ATĐTQY liều 36 g/kg/ngày; lô 4 (NC2, n = 10): Uống ATĐTQY liều 108 g/kg/ngày. Chuột được uống nước hoặc thuốc thử (theo phân lô) vào 8 giờ sáng (lúc đói) hàng ngày trong 7 ngày liên tiếp.

- Chi tiêu đánh giá: Số lần chuột di chuyển theo chiều ngang và chiều dọc. Đánh giá tại các thời điểm trước uống thuốc ( $D_0$ ), sau khi uống thuốc 1 giờ và 3 giờ ở ngày thứ 7. Đưa chuột vào phòng nghiên cứu 30 phút trước khi tiến hành đánh giá. Chuột được đặt nhẹ nhàng vào trong lồng hoạt động ký và được theo dõi trong 2 phút nhờ hệ thống điện tử của thiết bị. Sau mỗi thử nghiệm, lồng hoạt động ký được lau chùi sạch bằng cồn 70%.

\* *Đánh giá tác dụng cải thiện giấc ngủ trên chuột bị rối loạn giấc ngủ bằng caffeine:*

- Nguyên lý: Tiến hành nghiên cứu theo phương pháp mô tả bởi Yong-Hyun Ko và CS (2018) [5]. Chuột được gây ngủ bằng pentobarbital 40 mg/kg tiêm phúc mạc. Các chuột uống caffeine 50 mg/kg, thể trọng bị kích thích làm tăng độ trễ của giấc ngủ và

giảm thời gian ngủ. Thuốc có tác dụng ức chế kích thích, cải thiện giấc ngủ sẽ làm giảm độ trễ của giấc ngủ và tăng thời gian ngủ.

- Cách tiến hành: Chuột nhắt trắng 50 con được chia ngẫu nhiên thành 5 lô: Lô 1 (chứng sinh học, n = 10): Uống nước cất 0,2 mL/10g, không uống caffeine; lô 2 (chứng bệnh lý, n = 10): Uống nước cất + caffeine 50 mg/kg; lô 3 (lô tham chiếu, n = 10): Uống Diazepam 2,4 mg/kg + caffeine 50 mg/kg; lô 4 (NC1, n = 10): Uống ATĐTQY 36 g/kg/ngày + caffeine 50 mg/kg; lô 5 (NC2, n = 10): Uống ATĐTQY 108 g/kg/ngày + caffeine 50 mg/kg. Các chuột 7 tuần tuổi được nuôi ổn định trong 1 tuần. Ở ngày thứ 8, chuột được cho nhịn ăn 24 giờ, sau đó cho uống như phân lô. Caffeine liều 50 mg/kg được cho chuột uống sau khi uống thuốc hoặc nước cất 30 phút ở các lô từ lô 2 - 5. Sau một giờ kể từ khi uống thuốc, tiêm phúc mạc Pentobarbital liều 40 mg/kg để gây giấc ngủ trên chuột.

- Chi tiêu đánh giá:

+ Độ trễ giấc ngủ: Thời gian tính từ khi tiêm Pentobarbital cho đến khi chuột ngủ (chuột bắt đầu ngủ khi: Xác định bằng mắt phản xạ lật sấp, sau khi tiêm thuốc chuột chuyển từ đứng sang tư thế nằm sấp, cho chuột nằm ngửa và chuột không còn khả năng lật sấp lại).

+ Thời gian ngủ: Thời gian từ khi chuột bắt đầu ngủ đến khi chuột thức dậy (chuột thức khi: Chuột đang ở tư thế nằm ngửa thực hiện phản xạ lật sấp, trở về tư thế nằm sấp bằng bốn chân).

\* *Xử lý số liệu:* Xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.0, so sánh giá trị trung bình sử dụng thuật toán T-test student và ONE-WAY ANOVA, Tukey's post

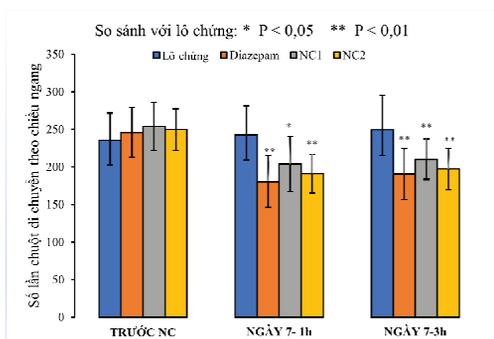
hoc tests. Số liệu được trình bày dưới dạng  $\bar{X} \pm SD$ , khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

### 3. Đạo đức nghiên cứu

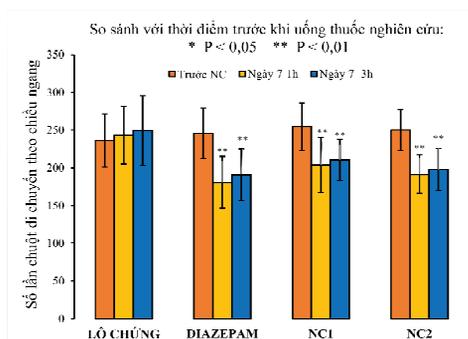
Nghiên cứu được tiến hành dưới sự chấp thuận của Hội đồng Khoa học Học viện Quân y và tuân thủ các tiêu chuẩn về đạo đức trong Nghiên cứu Y học.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Kết quả đánh giá tác dụng an thần trên mô hình đo hoạt động ký

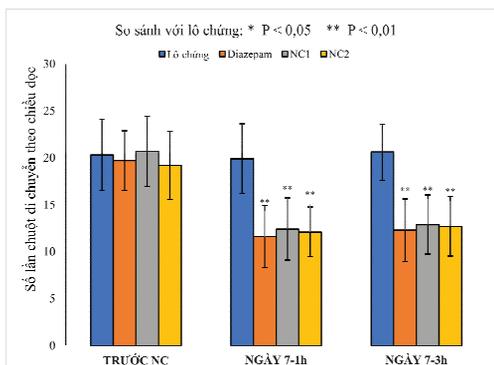


**Biểu đồ 1.** So sánh hoạt động của chuột theo chiều ngang ở các lô trong cùng một thời điểm đánh giá.

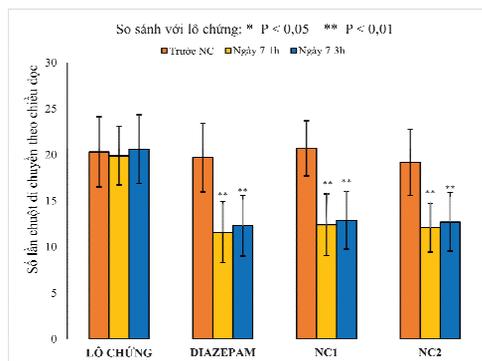


**Biểu đồ 2.** So sánh hoạt động trong cùng một lô theo chiều ngang tại các thời điểm đánh giá.

So sánh giữa các lô tại cùng một thời điểm đánh giá: Tại thời điểm trước khi uống thuốc, số lần chuột di chuyển theo chiều ngang không có sự khác biệt giữa các lô ( $p > 0,05$ ); tại các thời điểm sau uống thuốc (1 giờ và 3 giờ), số lần chuột di chuyển theo chiều ngang ở các lô dùng thuốc (Diazepam, NC1, NC2) giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ). So sánh trong cùng lô tại các thời điểm đánh giá: So với trước NC, số lần di chuyển theo chiều ngang của chuột tại các thời điểm sau uống thuốc (1 giờ và 3 giờ) ở các lô dùng thuốc (Diazepam, NC1, NC2) giảm,  $p < 0,01$ ; so sánh giữa thời điểm 1 giờ và 3 giờ sau uống thuốc, số lần chuột di chuyển theo chiều ngang không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ).



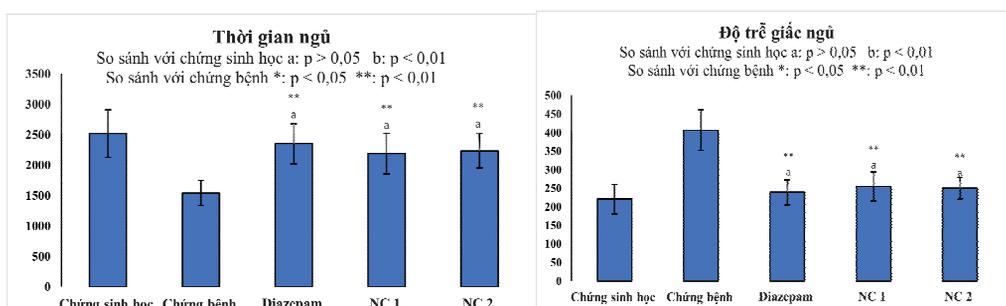
**Biểu đồ 3.** So sánh hoạt động của chuột theo chiều dọc ở các lô chuột trong cùng một thời điểm đánh giá.



**Biểu đồ 4.** So sánh hoạt động trong cùng một lô theo chiều dọc tại các thời điểm đánh giá.

So sánh giữa các lô tại cùng một thời điểm đánh giá: Tại thời điểm trước khi uống thuốc, số lần chuột di chuyển theo chiều dọc không có sự khác biệt giữa các lô ( $p > 0,05$ ); tại các thời điểm sau uống thuốc (1 giờ và 3 giờ), số lần chuột di chuyển theo chiều dọc ở các lô dùng thuốc (Diazepam, NC1, NC2) giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ( $p < 0,01$ ). So sánh trong cùng lô tại các thời điểm đánh giá: So với trước NC, số lần di chuyển theo chiều dọc của chuột tại các thời điểm sau uống thuốc (1 giờ và 3 giờ) ở các lô dùng thuốc (Diazepam, NC1, NC2) giảm,  $p < 0,01$ ; so sánh giữa thời điểm 1 giờ và 3 giờ sau uống thuốc, số lần chuột di chuyển theo chiều dọc không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ).

## 2. Kết quả đánh giá tác dụng cải thiện giấc ngủ trên mô hình chuột gây mất ngủ bằng caffeine



**Biểu đồ 5.** Kết quả đánh giá ảnh hưởng của thuốc nghiên cứu đến độ trễ giấc ngủ và thời gian ngủ của chuột nhắt trắng ( $n = 10/lô, \bar{X} \pm SD$ ).

So với lô chứng bệnh lý, chuột ở các lô dùng thuốc (Diazepam, NC1, NC2) có độ trễ giấc ngủ giảm, thời gian ngủ tăng ( $p < 0,01$ ) về mức tương đương so với lô chứng sinh lý ( $p > 0,05$ ). So sánh giữa lô dùng thuốc Diazepam và hai lô uống thuốc nghiên cứu, độ trễ giấc ngủ cũng như thời gian ngủ của chuột ở các lô này là tương đương ( $p > 0,05$ ).

### BÀN LUẬN

Trên mô hình đo hoạt động ký, tất cả các hoạt động tự nhiên của chuột được ghi lại bằng thiết bị cảm biến di chuyển điện tử. Khi ở trong môi trường tối và ít tiếng ồn chuột có xu hướng khám phá lồng được biểu hiện bằng các hoạt động theo chiều ngang và di chuyển lên cao theo chiều dọc. Mô hình này đã được nhiều tác giả trong và ngoài nước áp dụng vào nghiên cứu thực nghiệm về tác dụng an thần giải lo âu [4, 6]. Chuột ở lô uống Diazepam và các lô uống ATĐTQY thể hiện tác dụng an thần ở hai nhóm này thông qua giảm số lần chuột di chuyển theo chiều ngang và giảm số lần chuột di chuyển theo chiều dọc có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ở cả thời điểm 1 giờ và 3 giờ sau uống thuốc ( $p < 0,05$ ). Kết quả này tương đồng với kết quả trong các nghiên cứu của Obese và CS (2021) cũng như của Dương Thị Ly Hương và CS (2016) [4, 6]. Trên mô hình chuột gây mất ngủ

bằng caffeine, chuột ở lô uống Diazepam và hai lô uống ATĐTQY có độ trễ giấc ngủ giảm và thời gian ngủ tăng có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ) so với lô chứng bệnh lý, thể hiện tác dụng cải thiện giấc ngủ trên chuột được kích thích bằng caffeine. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Yong-Hyun Ko và CS (2018) cũng như của Shi R và CS (2019) [5, 7].

Bài thuốc ATĐTQY là bài thuốc kinh nghiệm gồm 14 vị thuốc, được xây dựng theo pháp tư âm thanh nhiệt, sơ can giải uất, dưỡng tâm an thần. Trong bài thuốc này, sinh địa phía trên thì dưỡng tâm huyết, phía dưới thì tư dưỡng thận thủy, đồng thời thanh tiết hư hỏa làm cho tâm thần không bị hư hỏa nhiễu loạn là quân dược. Mạch môn có tác dụng tư âm thanh nhiệt, dưỡng âm sinh tân, tráng thủy chế hỏa; táo nhân, bá tử nhân, lạc tiên có tác dụng dưỡng tâm an thần. Bốn vị trên kết hợp với nhau phát huy tác dụng thanh nhiệt trừ phiền, dưỡng tâm an thần đều là thần dược. Đương quy bổ huyết hòa huyết, dưỡng tâm trừ phiền; viễn chí giao thông tâm thận, an thần định chí; đẳng sâm, bạch linh ích tâm khí, an tâm thần làm cho khí vượng mà sinh âm huyết; sài hồ có tác dụng sơ can giải uất trừ phiền giúp cho tạng phủ hoạt động bình thường, khí cơ thông đạt; đan sâm hoạt huyết hóa ứ; mẫu lệ bình ức can hỏa, giữ cho hư hỏa

không đi lên; mộc hương có tác dụng hành khí tĩnh tỳ, giúp cho tỳ kiện vận để sinh khí hóa huyết, đồng thời làm giảm tính hàn của bài thuốc không làm tổn thương tới tỳ khí. Tám vị thuốc phối hợp với nhau vừa có tác dụng bổ khí sinh huyết, dưỡng tâm an thần, bình can tiềm dương giúp cho quân dược phát huy tác dụng đều là tá dược. Cam thảo là sứ dược, có tác dụng dẫn thuốc vào bách mạch và trung hòa các vị thuốc. Toàn bộ các vị thuốc trong bài thuốc ATĐTQY phối hợp với ý nghĩa điều trị toàn diện vào cơ chế bệnh sinh của thất miên, tiêu bản đồng trị theo biện chứng luận trị của y học cổ truyền [2, 8, 9].

Bệnh mất ngủ (thất miên) theo y học cổ truyền có nguyên nhân cơ chế bệnh sinh phức tạp, nếu chỉ dừng lại ở điều trị triệu chứng (dưỡng tâm an thần) thì hiệu quả điều trị chỉ đạt được điều trị phần ngọn (triệu chứng), như vậy bệnh sẽ sớm tái phát và chất lượng giấc ngủ được cải thiện không cao. Các thuốc tây y hiện nay phần nhiều chỉ dừng lại ở điều trị triệu chứng; vì vậy, quá trình điều trị thường kéo dài và lệ thuộc vào thuốc, làm ảnh hưởng không ít đến chất lượng cuộc sống. Với tác dụng chính là “tư âm thanh nhiệt, sơ can giải uất, dưỡng tâm an thần”, về mặt lý luận đã tập trung giải quyết nguyên nhân cơ chế bệnh sinh (gốc bệnh) [9]. Kết quả thực nghiệm cho thấy bài

thuốc ở liều 36 g/kg/ngày (tương ứng với liều qui đổi ra liều dùng trên người là 1 thang thuốc 150 g/người/ngày) đã thể hiện rõ tác dụng an thần và tác dụng cải thiện giấc ngủ. Khi tăng liều lên mức cao hơn gấp 3 lần (108 g/kg/ngày), các tác dụng này hầu như không khác biệt. Như vậy, với việc tác động vào căn nguyên bệnh, thuốc không gây ảnh hưởng quá lớn đến thần kinh trung ương khi dùng liều cao; do đó, có tính an toàn, hầu như không gây sự phụ thuộc liều nên tránh được sự phụ thuộc thuốc như một số thuốc an thần gây ngủ tây y.

### **KẾT LUẬN**

Bài thuốc ATĐTQY liều 36 g/kg/ngày và 108 g/kg/ngày (tính theo dược liệu khô), chiết xuất cao lỏng, dùng đường uống, có tác dụng an thần trên chuột nhắt trắng trong thử nghiệm đo hoạt động ký, làm giảm số lần chuột di chuyển theo chiều ngang và chiều dọc tại các thời điểm sau uống thuốc 1 giờ và 3 giờ và cải thiện giấc ngủ ở chuột nhắt trắng bị rối loạn giấc ngủ bằng caffeine, làm giảm độ trễ giấc ngủ và tăng thời gian ngủ của giấc ngủ pentobarbital.

Tác dụng an thần, cải thiện giấc ngủ của bài thuốc ATĐTQY ở 2 mức liều 36 g/kg/ngày và 108 g/kg/ngày là tương đương nhau và tương đương với Diazepam 2,4 g/kg/ngày.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Stickley A, Leinsalu M, DeVlylder JE, Inoue Y, Koyanagi A. Sleep problems and depression among 237023 community-dwelling adults in 46 low- and middle-income countries. *Scientific Reports*. 2019; 9(1):1201.
2. Trần Quốc Bảo, Trần Quốc Bình. *Thuốc Y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2011.
3. Bộ Y tế. *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2018: 223-789.
4. Obese E, Ameyaw EO, Biney RP, Adakudugu EA, Woode E. Neuropharmacological assessment of the hydroethanolic leaf extract of *Calotropis procera* (Ait). R. Br. (Apocynaceae) in mice. *Scientifica*. 2021; 5551380.
5. Yong-Hyun Ko, Kyu-Yeon Shim, Seok-Yong Lee, et al. Evodiamine reduces caffeine-induced sleep disturbances and excitation in mice. *Biomol Ther*. 2018; 26(5):432-438.
6. Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Thị Bích Thủy. Đánh giá tác dụng an thần, giải lo của bài thuốc "Chè an thần" trên động vật thực nghiệm. *Tạp chí Dược học*. 2016; 481:40-44.
7. Shi R, Han Y, et al. Loganin exerts sedative and hypnotic effects via modulation of the serotonergic system and GABAergic neurons. *Front. Pharmacol*. 2019; 10:409.
8. Phạm Xuân Sinh. *Dược học cổ truyền*. NXB Y học, Hà Nội. 2018.
9. Zhou Zhongying. Insomnia. Internal medicine of traditional Chinese medicine. *China Traditional Chinese Medicine Press*, Beijing. 2003:154-163.

**ĐẶC ĐIỂM TỔN THƯƠNG BỎNG, CĂN NGUYÊN VI SINH VẬT  
VÀ SỬ DỤNG KHÁNG SINH TẠI KHOA ĐIỀU TRỊ BỎNG TRẺ EM,  
BỆNH VIỆN BỎNG QUỐC GIA LÊ HỮU TRÁC**

*Lương Quang Anh<sup>1\*</sup>, Vũ Thị Thu Loan<sup>1</sup>  
Nguyễn Thị Thùy Dung<sup>2</sup>, Lương Tuấn Anh<sup>3</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Mô tả một số đặc điểm tổn thương bỏng, căn nguyên vi sinh vật và sử dụng kháng sinh tại Khoa Điều trị Bỏng Trẻ em, Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu mô tả bệnh án của 705 bệnh nhân (BN) điều trị từ tháng 01/2019 - 12/2019. **Kết quả:** Tuổi trung bình của BN là 2,87 tuổi, bị bỏng nhiều nhất là từ 1 - 5 tuổi (70,64%). Diện tích bỏng trung bình là 7,82%, diện tích bỏng sâu trung bình là 0,54%. Đa phần trẻ bị bỏng nông (74,18%). Vi khuẩn gặp hàng đầu ở BN bỏng là *Staphylococcus aureus* (50%), *Pseudomonas aeruginosa* (33,33%). Các vi khuẩn phân lập được chủ yếu sau 3 - 6 ngày sau bỏng (52,38%). Các nhóm kháng sinh được sử dụng nhiều nhất theo thứ tự như sau: Penicillin và ức chế  $\beta$ -lactam, Aminoglycosid, Macrolid. **Kết luận:** Đã khảo sát các đặc điểm tổn thương bỏng, căn nguyên vi sinh vật và kháng sinh được sử dụng tại Khoa Điều trị bỏng trẻ em trong năm 2019.

**Từ khóa:** Đặc điểm; Tổn thương bỏng; Vi sinh vật; Kháng sinh.

**CHARACTERISTICS OF BURNED INJURIES, ORIGINAL BACTERIA,  
AND THE USE OF ANTIBIOTICS AT THE PEDIATRIC  
DEPARTMENT, LE HUU TRAC NATIONAL BURN HOSPITAL**

**Abstract**

**Objectives:** To describe some characteristics of burned injuries, original bacteria, and the use of antibiotics at the Pediatric Department, Le Huu Trac National Burn Hospital.

---

<sup>1</sup>Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác

<sup>2</sup>Bệnh viện K Trung ương

<sup>3</sup>Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

\*Tác giả liên hệ: Lương Quang Anh (luongquanganh@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 11/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 03/11/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.501>

**Methods:** A retrospective descriptive study was conducted on 705 medical records of burned patients treated from January to December 2019. **Results:** The mean age of patients was 2.87 years old. The majority ages of patients were from 1 - 5 years old (70.64%). The average burned area was 7.82%, and the deep burned area was 0.54%. The majority of pediatric patients were caught with first- and second-degree burns (74.18%). The most common bacteria obtained in samples of pediatric burned patients were *Staphylococcus aureus* (50%) and *Pseudomonas aeruginosa* (33.33%). The bacteria were isolated mainly from day 3 to day 6 after being burned. The amount of antibiotics used was arranged as follows: Penicillin and  $\beta$ -lactamase inhibitor, Aminoglycoside, Macrolide. **Conclusion:** Characteristics of burned injuries, original bacteria, and the use of antibiotics at the Pediatric Department in 2019 were successfully evaluated.

**Keywords:** Characteristics; Burned injuries; Bacteria; Antibiotics.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Nguyên nhân tai nạn bỏng ở trẻ em là rất đa dạng như: Bỏng do nhiệt khô (lửa, hỏa hoạn, các vật liệu nóng,...); bỏng do sức nhiệt ướt (nước sôi, chất lỏng nóng,...), bỏng do điện, hóa chất và các tác nhân vật lý,... [1]. Điều trị bỏng ở trẻ em cơ bản tương tự với điều trị bỏng ở người lớn nhưng cũng có những điểm khác biệt do trẻ em có lớp da mỏng hơn, mất nhiều dịch hơn, dễ bị hạ thân nhiệt và có phản ứng viêm toàn thân lớn. Mặc dù có nhiều tiến bộ nhưng cho tới nay, việc điều trị bệnh nhi bỏng nặng vẫn còn gặp nhiều khó khăn do tính chất và diễn biến phức tạp của bệnh bỏng, đặc biệt là do nhiễm khuẩn [2].

Nhiễm khuẩn trong bỏng là sự phát triển của vi khuẩn với những điều kiện thuận lợi do tổn thương bỏng mang lại

như: Diện tích bỏng, diện tích bỏng sâu, môi trường tại vết thương bỏng (hoại tử, mủ), sức đề kháng của BN bị giảm đi trong bỏng, nhiễm khuẩn huyết. Việc sử dụng kháng sinh trong điều trị bỏng ở bệnh nhi là cần thiết nhưng vẫn thiếu các dữ liệu tổng hợp để đánh giá. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Mô tả đặc điểm tổn thương bỏng, căn nguyên vi sinh vật và kháng sinh sử dụng tại Khoa Điều trị Bỏng trẻ em, Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

705 hồ sơ bệnh án của BN được điều trị tại Khoa Điều trị Bỏng Trẻ em, Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác, nhập viện từ 01/01/2019 và ra viện trước 31/12/2019.

\* *Tiêu chuẩn lựa chọn*: BN là trẻ em < 16 tuổi có sử dụng thuốc kháng sinh trong phác đồ điều trị.

\* *Tiêu chuẩn loại trừ*: BN < 16 tuổi được chuyển từ Khoa Hồi sức cấp cứu đến Khoa Điều trị Bỏng trẻ em hoặc có tổng thời gian điều trị dưới 3 ngày.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Thiết kế nghiên cứu*: Nghiên cứu mô tả, các thông tin được hồi cứu từ trong hồ sơ bệnh án thu thập được trong thời gian nghiên cứu.

\* *Cỡ mẫu*: 705 hồ sơ bệnh án.

\* *Phương pháp chọn mẫu*: Trong thời gian nghiên cứu, chọn toàn bộ các bệnh án của bệnh nhi thỏa mãn các tiêu chuẩn lựa chọn để thu thập thông tin. Trong số 1286 bệnh án bỏng nhi, đã chọn được 705 bệnh án thỏa mãn các tiêu chuẩn.

\* *Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu*:

- Thu thập thông tin tổn thương bỏng: Các thông tin thu thập gồm độ tuổi, giới tính, thời gian nhập viện, tình trạng bỏng, độ sâu bỏng, diện tích

bỏng, tác nhân gây bỏng, kết quả điều trị. Các thông tin được khai thác từ bệnh án gốc và ghi chép vào bệnh án nghiên cứu.

- Xác định căn nguyên vi sinh vật gây bệnh: Hồi cứu kết quả định danh trong bệnh án nghiên cứu. Định danh vi khuẩn được thực hiện tại Khoa xét nghiệm. Các bước định tiến hành phân lập và định danh được tóm tắt như sau: Đối với tổn thương bỏng, vi khuẩn được phân lập bằng cách cấy bệnh phẩm trên môi trường thạch BHI (Merk, Đức) chứa 5% máu cừu, ủ ở 37°C trong tủ nuôi cấy chứa 5% CO<sub>2</sub> trong 18 - 24 giờ. Bệnh phẩm máu được cấy trong ống cấy máu của hãng bioMérieux (North Carolina 27712, USA). Những mẫu bệnh phẩm mọc vi khuẩn sẽ được định danh bằng hình thái học (nhuộm gram, thử nghiệm tan máu...) và bằng hệ thống định danh VITEK® 2 Compact (bioMérieux, North Carolina 27712, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Xác định số liệu kháng sinh sử dụng: Nhóm kháng sinh, mục đích sử dụng, liều dùng, số đơn vị liều.

Số đơn vị liều của kháng sinh được tính bằng công thức [3]:

$$\text{Số đơn vị liều} = \frac{\sum_{i=1}^n \text{tổng liều cá đợt điều trị}}{DDD}$$

Trong đó: DDD (Defined Daily Dose) là liều trung bình hàng ngày cho mỗi thuốc.

\* *Xử lý số liệu*:

Các số liệu được thu thập, phân nhóm theo mục tiêu nghiên cứu. Tính toán giá trị trung bình (TB), độ lệch chuẩn (SD), tỷ lệ (%) bằng phần mềm Microsoft Excel.

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**1. Đặc điểm tổn thương bong**

**Bảng 1.** Đặc điểm BN nghiên cứu.

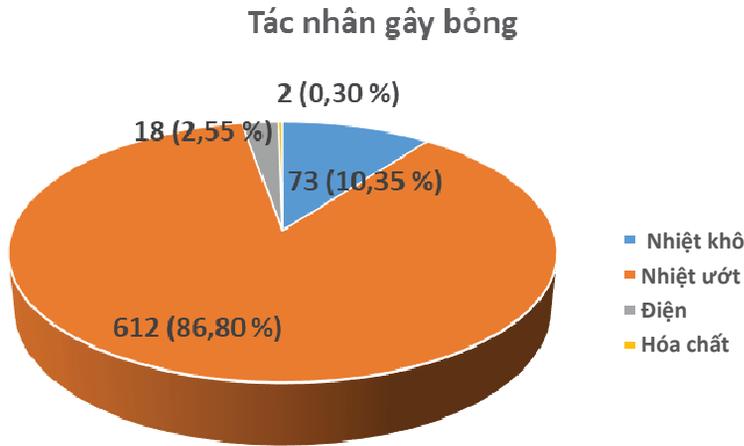
Thông số	Đặc điểm	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
Giới tính	Nam	450	63,83
	Nữ	255	36,17
Trung bình ( $\bar{X} \pm SD$ )		2,87 $\pm$ 3,54	
Độ tuổi	< 1	98	13,90
	Từ 1 - 5	498	70,64
	Từ 6 - 10	61	8,65
	Từ 11 - 16	48	6,81
	Tổng	705	100
Thời gian vào viện TB sau bong (giờ)		53,59 (0,5 - 1069)	
Diện tích bong TB (%)		7,82 (0,025 - 25)	
Diện tích bong sâu TB (%)		0,54 (0 - 17)	

Bảng 1 cho thấy: Tỷ lệ nam/nữ là 1,76/1, tỷ lệ bong ở trẻ từ 1 - 5 tuổi cao nhất (70,64%), tiếp theo là trẻ < 1 tuổi (13,90%) và cuối cùng là trẻ có tuổi từ 6 - 10 và 11 - 16 tuổi, chiếm tỷ lệ lần lượt là 8,65 % và 6,81%. Độ tuổi trung bình của BN là 2,87 tuổi.

**Bảng 2.** Phân bố BN theo độ bong và diện tích bong.

Chỉ tiêu	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)	
Độ bong	Bong nông	523	74,18
	Bong sâu	62	8,79
	Bong kết hợp	120	17,03
Diện tích bong	< 5%	238	33,75
	5 - 10%	296	41,99
	> 10%	171	24,26

Phân bố BN theo độ bỏng và diện tích bỏng trong bảng 2 nhận thấy: Đa số BN bị bỏng với diện tích bỏng < 5% (bỏng nhẹ) và 5 - 10% (bỏng vừa). Hầu hết là độ bỏng nông với 74,18% số ca bệnh. Có 4 loại tác nhân gây bỏng, thể hiện ở biểu đồ 1.



**Biểu đồ 1.** Tác nhân gây bỏng ở trẻ em.

Tác nhân gây bỏng chủ yếu là do nhiệt ướt (86,80%), tác nhân gây bỏng thứ hai là nhiệt khô (10,35%), sau đó là điện (2,55%) và hóa chất (0,30%).

Kết quả điều trị có tỷ lệ BN diễn biến tốt, khỏi hoặc chuyển đến Khoa Phục hồi chức năng là 91,77% (647/705 ca). Không có BN nào tử vong. Có 8,23% (58/705) không xác định được kết quả điều trị do BN xin về với nhiều nguyên nhân như không đủ kinh phí điều trị, xin chuyển tuyến, về gia đình...

## 2. Căn nguyên vi sinh vật

Trong số 705 BN nghiên cứu, có 86 mẫu bệnh phẩm từ mũ vết bỏng và máu được thực hiện xét nghiệm nuôi cấy tìm vi khuẩn gây bệnh (theo chỉ định của bác sĩ điều trị, tùy thuộc vào diễn biến của bệnh). Các loài vi khuẩn gây bệnh phân bố chi tiết trên các mẫu bệnh phẩm như trong bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả xét nghiệm vi khuẩn.

Chỉ tiêu	Loài vi khuẩn	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
	Âm tính	44	51,16
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	16,28
	<i>Staphylococcus aureus</i>	21	24,42
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1,16
Dương tính	<i>Escherichia coli</i>	2	2,33
	<i>Staphylococcus hominis</i>	1	1,16
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2,33
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,16
	Tổng	86	100

Theo số liệu trong bảng 3, tổng cộng có 86 mẫu bệnh phẩm, trong đó có 82 mẫu mũ vết bỏng, 4 mẫu máu. Có 42/86 mẫu bệnh phẩm (đều là mẫu mũ) cho kết quả dương tính (48,84%). Kết quả cấy khuẩn mẫu mũ vết bỏng cho tỷ lệ dương tính cao còn mẫu máu không có trường hợp nào dương tính. Trong số các loài vi khuẩn phân lập được, *S.aureus* chiếm tỷ lệ cao nhất (50,00%), sau đó là *P.aeruginosa* (33,33%) và các loài vi khuẩn khác chiếm tỷ lệ thấp (16,67%).

**Bảng 4.** Kết quả cấy khuẩn theo thời gian sau bỏng.

Loài vi khuẩn	Số lượng			Tổng (n, %)
	< 3 ngày	3 - 6 ngày	> 6 ngày	
<i>P.aeruginosa</i>	1	10	3	14
<i>S.aureus</i>	10	8	3	21
<i>A.baumannii</i>	1	0	0	1
<i>E.coli</i>	0	2	0	2
<i>S.hominis</i>	1	0	0	1
<i>S.saprophyticus</i>	0	2	0	2
<i>E.cloacae</i>	1	0	0	1
Tổng (n, %)	14 (33,33)	22 (52,38)	6 (14,29)	42 (100)

Kết quả ở bảng 4 nhận thấy tỷ lệ các vi khuẩn được phân lập cao nhất gặp sau 3 - 6 ngày sau bỏng (52,38%), tiếp đến là < 3 ngày sau bỏng (33,33%). Ở mức > 6 ngày đầu sau bỏng, kết quả phân lập có vi khuẩn khá thấp (14,29%).

### 3. Sử dụng kháng sinh trong điều trị

Tiến hành khảo sát các nhóm kháng sinh đang được sử dụng để điều trị cho BN bỏng nhi, kết quả được thể hiện trong bảng 5 sau.

**Bảng 5.** Các nhóm kháng sinh sử dụng trong điều trị bỏng ở trẻ em.

Nhóm kháng sinh	Hoạt chất	Tên thương mại	Số đơn vị liều
Aminoglycosid	Tobramycin	Medphatobra	577,00
	Nelitimicin	Negabact	19,26
	Amikacin	Amikacin	7,00
Penicillin và ức chế $\beta$ -lactamase	Ampicillin/Sulbactam	Unasyn, Ama-Power	544,81
	Amoxicillin/Sulbactam	Vimotram	14,00
	Amoxicillin/Acid Clavulanic	Redamox	1,65
Macrolid	Azithromycin	Zithromax	471,93
Cephalosporin	Cefoperazon/Sulbactam	Razocon, Prazone-S	282,65
	Cefuroxim	Zinnat	87,23
	Cefpodoxim	Ceftopix	76,75
Kháng sinh khác	Trimethoprim/Sulfamethoxazol	Biseptol	96,80
Carboxy Uredo và ức chế $\beta$ -lactamase	Piperacilin/Tazobactam	Vitazovillin	11,25
Carbapenem	Imipenem/Cilastatin	Tienam	7,50
Fosfomycin	Fosfomycin	Fosmicin	6,67

Bảng 5 cho thấy số đơn vị liều Tobramycin (577,00) là nhiều nhất, tiếp theo là Ampicillin/Sulbactam (544,81), Azithromycin (471,93), Cefoperazon/Sulbactam (282,65), Trimethoprim/Sulfamethoxazol (96,80), sau đó là các thuốc khác. Điều

này cho thấy, tần suất gặp các thuốc này trong đơn vị liều hay phối hợp thuốc là rất lớn. Trong đó, thuốc phối hợp hay gặp nhất là Ampicillin và Sulbactam. Thời gian điều trị có sử dụng kháng sinh của các BN là  $6,26 \pm 3,22$  ngày với thời gian điều trị tại khoa là  $14,03 \pm 6,64$  ngày.

## BÀN LUẬN

### 1. Đặc điểm tổn thương bỏng

Nhóm BN nghiên cứu có độ tuổi trung bình là 2,87. Trong đó, độ tuổi trẻ em bị bỏng nhiều nhất là từ 1 - 5 tuổi (70,64%). Điều này có thể do ở lứa tuổi các trẻ thích hoạt động, tò mò, chưa hiểu biết, dễ tiếp xúc với các nguy cơ gây ra bỏng. Bên cạnh đó, một số không ít các phụ huynh hoặc người trông trẻ chưa có sự cẩn thận và được trang bị đầy đủ kiến thức để chăm sóc trẻ, hạn chế tối đa sự ảnh hưởng của các yếu tố nguy cơ gây bỏng. Ngoài ra, tỷ lệ bỏng giữa trẻ em nam và trẻ em nữ là 1,76/1. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Lê Thế Trung [4]. Sự khác biệt về tỷ lệ bỏng giữa trẻ em nam và trẻ em nữ có thể do ảnh hưởng của đặc điểm giới tính. Các trẻ em nam thường có xu hướng hiếu động và tò mò hơn trẻ em nữ, dẫn đến dễ tiếp xúc với các tác nhân gây bỏng.

Trong nghiên cứu này, BN được đưa vào viện sau bỏng trung bình là 53,59 giờ. Thời gian vào viện của BN là tương đối dài, tương đương hơn 2 ngày sau khi bị bỏng, có thể do là bệnh viện chuyên khoa tuyến cuối nên các BN thường được sơ cứu tại các trạm y

tế, các tuyến dưới trước khi chuyển tới điều trị. Ngoài ra, cũng có không ít BN được sơ cứu và điều trị tại nhà bằng các biện pháp dân gian như đắp lá thuốc hay sử dụng các thuốc đông y, thuốc y học cổ truyền theo kinh nghiệm. Việc tự ý sơ cứu và điều trị như vậy làm các vết thương bỏng nặng hơn và bị nhiễm khuẩn dẫn đến nhiều khó khăn trong quá trình điều trị. Tác nhân bỏng chủ yếu là bỏng nhiệt ướt (đa số là bỏng nước sôi) và bỏng nhiệt khô (đa số là bỏng lửa cồn). Trong đó tỷ lệ BN có diện tích bỏng từ 1 - 10% (75,74%), và đa số là bỏng nông (74,18%). Như vậy, đối tượng nghiên cứu đa phần là những bệnh nhi bị bỏng ở mức độ nhẹ.

### 2. Căn nguyên vi sinh vật

Các vi khuẩn gây nhiễm khuẩn bỏng ở trẻ em hay gặp trong nghiên cứu này tương đối giống với các vi khuẩn bỏng thường gặp ở BN người lớn, bao gồm vi khuẩn gram dương (đại diện là *S.aureus*) và vi khuẩn gram âm (*P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *E.coli*, *K.pneumoniae*) [1, 4]. Tuy nhiên, có sự khác nhau về tỷ lệ giữa các loài vi khuẩn gây nhiễm khuẩn bỏng trong nghiên cứu này. Kết quả nghiên cứu

cho thấy một số loài vi khuẩn thường gây nhiễm khuẩn trong bông ở trẻ em vẫn là *S.aureus* (24,41%), *P.aeruginosa* (16,27%). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Devrim và CS [5], Seah và CS [6]. Trên 42 BN có xét nghiệm vi sinh vật dương tính, tỷ lệ các vi khuẩn phân lập cao nhất gặp sau 3 - 6 ngày sau bông (52,38%), tiếp đến là < 3 ngày sau bông (33,33%) được ghi lại theo chỉ định của bác sĩ trong bệnh án. Điều này cho thấy việc thực hiện xét nghiệm nuôi cấy vi khuẩn cần được thực hiện sớm ngay khi BN có triệu chứng nhiễm khuẩn sẽ nâng cao khả năng phát hiện được vi khuẩn gây bệnh từ đó sẽ xác định được kháng sinh phù hợp để điều trị cho BN thông qua việc thực hiện xét nghiệm kháng sinh đồ.

Các vi khuẩn trong bông thường gặp trong nghiên cứu của chúng tôi là *S.aureus*, *P.aeruginosa*, ngoài ra còn gặp một số vi khuẩn gram âm như *A.baumannii*, kết quả này tương đồng với đánh giá của Norbury và CS [7]. Tuy phổ vi khuẩn gây bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với một số nghiên cứu khác nhưng do tính kháng kháng sinh của vi khuẩn thay đổi theo thời gian, địa điểm nghiên cứu nên cần phải liên tục tiến hành giám sát đặc điểm kháng kháng sinh của vi khuẩn để giúp các thầy thuốc lâm sàng lựa chọn kháng sinh phù hợp để điều trị cho BN.

### 3. Sử dụng kháng sinh

Các kháng sinh được sử dụng tại Khoa Bông trẻ em cho BN nhi thường là một số các loại kháng sinh nhất định, hay gặp nhất là nhóm  $\beta$ -lactam. Tuy nhiên, mỗi nhóm lại có đơn vị liều sử dụng khác nhau, thuốc nào có đơn vị liều lớn thì thuốc đó có tần suất sử dụng lớn (số ngày dùng, liều một lần, số lần trong ngày). Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm  $\beta$ -lactam được sử dụng nhiều nhất với số đơn vị liều của một số thuốc trong nhóm như: Ampicillin/Sulbactam (544,81), Cefoperazon/Sulbactam (282,65), Cefuroxim (87,23), Cefpodoxim (76,75); tiếp theo là nhóm Aminoglycosid có Tobramycin (577,00); nhóm Macrolid có Azithromycin (471,93), còn lại là các nhóm kháng sinh khác. Kết quả nghiên cứu cho thấy các kháng sinh thuộc phân nhóm Cephalosporin và Penicilin là các kháng sinh phổ biến nhất được sử dụng trong điều trị nhiễm khuẩn bông trong nghiên cứu của chúng tôi. Đây là các có hoạt phổ rộng với nhiều chủng vi khuẩn gram dương và vi khuẩn gram âm do đó thường được các bác sĩ sử dụng, tuy nhiên việc này cũng có thể gây nên sự gia tăng tính kháng thuốc của vi khuẩn với các kháng sinh này trong tương lai...

## KẾT LUẬN

Mô tả hồi cứu trên hồ sơ bệnh án của 705 BN bỏng tại Khoa Điều trị Bỏng trẻ em, Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác, chúng tôi rút ra được những kết luận như sau:

Nhóm BN nghiên cứu có độ tuổi trung bình là 2,87 tuổi, bị bỏng nhiều nhất là 1 - 5 tuổi (70,64%) với diện tích bỏng trung bình 7,82%, diện tích bỏng sâu trung bình là 0,54%. Đa số BN bị bỏng với diện tích bỏng < 5% (bỏng nhẹ) và 5 - 10% (bỏng vừa). Hầu hết là độ bỏng nông với 74,18% số ca bệnh. Thời gian trung bình tính từ khi BN bị bỏng cho đến khi nhập viện là 53,59 giờ. Thời gian điều trị tại khoa là 14,03 ngày.

Vi khuẩn hàng đầu gặp ở BN bỏng nhi là *S.aureus* (50,00%), *P.aeruginosa* (33,33%). Các vi khuẩn phân lập được chủ yếu sau 3 - 6 ngày sau bỏng (52,38%).

Các nhóm kháng sinh được sử dụng nhiều nhất trong điều trị là: Penicillin và ức chế  $\beta$ -lactam (Ampicillin/Sulbactam); Cephalosporin (Cefoperazon/ Sulbactam, Cefuroxim, Cefpodoxim); Aminoglycosid (Tobramycin), Macrolid (Azithromycin). Thời gian sử dụng kháng sinh trong điều trị là 6,26 ngày.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác. Hướng dẫn sơ cứu, cấp cứu, điều trị và dự phòng bỏng cho trẻ em. Dự án phòng chống tai nạn thương tích ở trẻ em. 2006:29-31.
2. Học viện Quân y. Bỏng. Giáo trình Đại học. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân. 2018.
3. Bộ Y tế. Thông tư số 21/2013/TT-BYT Quy định về Tổ chức và hoạt động của Hội đồng thuốc và điều trị trong bệnh viện, phụ lục 5. 2013.
4. Lê Thế Trung. Bỏng những kiến thức chuyên ngành. Nhà xuất bản Y học. 2003:74-400.
5. Devrim I et al. Burn-associated bloodstream infections in pediatric burn patients: Time distribution of etiologic agents. *Burns*. 2017; 43(1):144-148.
6. Seah R et al. Hospitalised burns in children up to 16 years old: A 10-year population-based study in Australia. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2019; 55(9):1084-1090.
7. Norbury W et al. Infection in Burns. *Surgical Infection*. 2016; 17(2): 250-255.

## NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ BỘT PHYTOSOME SILYBIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHUN SẤY

Vũ Bình Dương<sup>1</sup>, Đặng Trường Giang<sup>1</sup>, Hồ Bá Ngọc Minh<sup>1</sup>  
Nguyễn Hoàng Hiệp<sup>1</sup>, Phạm Văn Hiến<sup>1\*</sup>

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Xây dựng quy trình phun sấy tạo bột phytosome silybin từ hỗn dịch nano phytosome. **Phương pháp nghiên cứu:** Phun sấy tạo bột cao khô bằng thiết bị phun sấy ly tâm LPG-5 từ hỗn dịch nano phytosome silybin. Đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình phun sấy gồm: Loại tá dược (maltodextrin, Aerosil), tỷ lệ tá dược/chất rắn (TD/CR), nhiệt độ phun sấy và tốc độ cấp dịch. **Kết quả:** Lựa chọn được thông số quy trình phun sấy thích hợp: Tá dược hỗ trợ phun sấy: MD/AE (80/20); tỷ lệ tá dược/chất rắn: 0,5/1; nhiệt độ khí đầu vào: 140°C; tốc độ cấp dịch: 10 mL/phút. Bột phytosome silybin phun sấy (công thức M7) có độ ẩm là  $3,46 \pm 0,1\%$ , khối lượng riêng  $0,416 \pm 0,02$  g/mL, chỉ số nén  $19,33 \pm 0,83\%$  hàm lượng silybin toàn phần là  $13,97 \pm 0,46\%$ , hàm lượng silybin dạng phytosome là  $12,82 \pm 0,27\%$ . **Kết luận:** Xây dựng thành công quy trình tạo bột phytosome silybin bằng phương pháp phun sấy để ứng dụng vào các dạng thuốc rắn dùng đường uống.

**Từ khóa:** Phytosome silybin; Phun sấy; Maltodextrin; Aerosil.

## RESEARCH ON THE MANUFACTURE OF PHYTOSOME SILYBIN POWDER USING THE SPRAY DRYING METHOD

### Abstract

**Objectives:** To investigate factors affecting the process of manufacturing phytosome silybin powder from nano phytosome silybin suspension by centrifugal spray drying to improve the stability and dissolution of nano phytosome silybin. **Methods:** Spray drying to manufacture dry powder by LPG-5 equipment from nano phytosome silybin suspension. Investigate the influencing

---

<sup>1</sup>Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Phạm Văn Hiến (phamvanhien181288@gmail.com)

Ngày nhận bài: 22/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.483>

factors of the spray drying process, including the type of excipients (maltodextrin, aerosil), excipient/material ratio, inlet gas temperature, and spray speed. **Results:** The parameters of the spray drying phase include: Aid excipients: MD/AE (80/20); excipients/material ratio: 0.5/1; inlet air temperature: 140°C; fluid delivery rate: 10 mL/min. The phytosome silybin powder (M7) having moisture was  $3.46 \pm 0.1\%$ , apparent density was  $0.416 \pm 0.02$  g/mL, Carr's index was  $19.33 \pm 0.83\%$ , the total silybin content was  $13.97 \pm 0.46\%$ , phytosomal silybin content was  $12.82 \pm 0.27\%$ . **Conclusion:** A process of manufacturing phytosome silybin powder using spray drying method has been developed for the application of solid oral dosage forms.

**Keywords:** Phytosome silybin; Spray drying; Maltodextrin; Aerosil.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Phytosome được xem là bước đột phá trong việc ứng dụng các phospholipid vào điều trị lâm sàng [1]. Trong phytosome có sự hình thành liên kết giữa hoạt chất và phospholipid (là một chất lưỡng cực); từ đó, giúp cải thiện việc vận chuyển hoạt chất qua màng tế bào của đường tiêu hóa [1]. Ở nước ta, nghiên cứu bào chế công nghệ phytosome mới chỉ bắt đầu trong vài năm gần đây [2]; đặc biệt, chưa có nghiên cứu bào chế về phytosome silybin do các thành phẩm phytosome silybin đều phải nhập ngoại với giá thành cao. Hiện nay, các nhà khoa học tại Học viện Quân y đã bào chế thành công dạng hỗn dịch nano phytosome silybin; tuy nhiên, để có thể ứng dụng rộng rãi vào các dạng bào chế rắn dùng theo đường uống như cốm, bột, viên nén, viên nang,... thì việc chuyển sang

dạng bột khô là điều cần thiết. Do vậy nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Bào chế bột phytosome silybin từ hỗn dịch nano phytosome silybin bằng phương pháp phun sấy.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Nguyên liệu nghiên cứu:* Silybin 95%, phosphatidyl choline 90%, Maltodextrin (MD), Aerosil (AE) đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất (Trung Quốc).

\* *Hóa chất, dung môi nghiên cứu:* Ethanol tuyệt đối (EtOH<sub>td</sub>), Tetra hydrofuran (THF), nước cất.

\* *Thiết bị nghiên cứu:* Máy phun sấy ly tâm LPG-5, Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Waters e2695 Binary HPLC pump, Waters PDA2998 detector UV/Vis, cột Luna (250 x 4,6mm; 5 $\mu$ m)

## 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Nghiên cứu bào chế bột phytosome silybin bằng phương pháp phun sấy*: Tiến hành chuẩn bị mẫu phức hợp Si-PC theo phương pháp của Đặng Trường Giang và CS [3] với 9,0g silybin 95% và 27,0g PC90% hòa tan trong 1.800mL hỗn hợp dung môi EtOH<sub>td</sub>:THF (97:3). Kết thúc phản ứng, cô bốc hơi dung môi thu màng film mỏng và phối trộn lắc đều với 288mL nước cất. Tiến hành làm giảm và đồng nhất kích thước tiểu phân (KTTP) bằng đầu dò siêu âm với công suất 720W trong thời gian là 10 phút. Phối trộn các tá dược vào hỗn dịch, khuấy đều sau đó tiến hành phun sấy tạo bột trên máy phun sấy ly tâm LPG-5. Các yếu tố khảo sát gồm:

- Loại tá dược phun sấy: Phun sấy với các tá dược là Maltodextrin (MD), Aerosil (AE), MD/AE (80:20), MD/AE (60:40), MD/AE (40:60), so sánh với mẫu không dùng tá dược.

- Tỷ lệ tá dược phun sấy: Phun sấy với các tỷ lệ tá dược so với lượng chất rắn trong hỗn dịch (TD/CR) là 1:1; 0,5:1; 0,4:1; 0,2:1.

- Hiệu suất phun sấy (Hps):

$$H_{ps} (\%) = \frac{KL \text{ bột khô thu được}}{KL \text{ chất rắn trong dung dịch phun sấy}} \times 100$$

- Hiệu suất thu hồi hoạt chất (Hth):

$$H_{th} (\%) = \frac{HL \text{ silybin toàn phần trong bột phun sấy}}{HL \text{ silybin trong dịch phun}} \times 100$$

- Nhiệt độ phun sấy và tốc độ cấp dịch: Phun sấy ở các nhiệt độ là 120, 140 và 160°C; tốc độ cấp dịch tương ứng là 5, 10 và 15 mL/phút.

\* *Chỉ tiêu đánh giá*:

- Hàm lượng silybin dạng phytosome (HL Si<sub>phy</sub>): Cân một lượng bột phytosome (tương đương khoảng 0,1g silybin toàn phần) vào bình nón nút mài, thêm 15mL CHCl<sub>3</sub>, lắc trên máy lắc tròn với tốc độ 200 vòng/phút trong 10 phút, rồi chuyển dịch vào bình định mức 25mL, bổ sung CHCl<sub>3</sub> vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc dịch trên qua màng lọc 0,22μm. Sau đó, hút chính xác 5,0mL dịch lọc rồi pha loãng bằng MeOH tới nồng độ cần thiết (nằm trong khoảng nồng độ tuyến tính). Lọc qua màng 0,45μm và định lượng bằng HPLC [4].

- Hàm lượng silybin toàn phần (HL Si<sub>tp</sub>): Hòa tan một lượng bột phytosome (tương đương khoảng 0,1g silybin toàn phần) trong MeOH, pha loãng đến nồng độ thích hợp (nằm trong khoảng nồng độ tuyến tính). Lọc qua màng 0,45μm và định lượng bằng HPLC với các điều kiện tương tự [4].

- Độ ẩm: Dược điển Việt Nam V, PL 9.6 (1g, ở 105°C trong 4 giờ) [5].

- Khối lượng riêng biểu kiến ( $KLR_{bk}$ ) và chỉ số nén của bột (CI): Theo Dược điển Việt Nam V, PL 6.13 [5]. Cân một lượng bột ( $m$ ) cho vào ống đong hình trụ, xác định thể tích khối bột ban đầu ( $V_0$ ). Sau đó, gõ ống đong đến khi thể tích khối bột không thay đổi ( $V_f$ ).

+ Khối lượng riêng biểu kiến được tính theo công thức:  $KLR_{bk} = m/V_f$

+ Chỉ số nén của bột được tính theo công thức:

$$CI (\%) = \frac{V_0 - V_f}{V_f} \times 100$$

- Đặc tính tron chảy của khối bột được xác định như sau [6]:

Chỉ số nén  $CI \leq 10\%$ : Rất tốt; 11 - 15%: Tốt; 16 - 20%: Khá tốt; 21 - 25%: Bình thường; 26 - 31%: Kém; 32 - 37%: Rất kém; > 38%: Cực kì kém.

- Độ tan của silybin trong nước (ĐT Si/nước): Cân một lượng dư bột phytosome silybin vào bình nón nút mài, thêm 10mL nước cất và lắc ở tốc độ 200 vòng/phút ở 25°C trong 48 giờ. Sau khi ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 15 phút, tiến hành hút lớp dịch phía trên và lọc qua màng 0,2 $\mu$ m, pha loãng bằng methanol (nếu cần) để định lượng bằng HPLC [4].

- Độ hòa tan của silybin: Cân một lượng mẫu khô (tương đương 100mg silybin) cho vào trong cốc chứa môi

trường thử độ hòa tan. Nhiệt độ môi trường:  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  [7].

+ Môi trường (MT) thử gồm: MT pH 1,2: 900mL dung dịch acid HCl (thêm 0,5% Tween 80). MT pH 6,8: 900mL dung dịch đệm phosphat (thêm 0,5% Tween 80).

+ Đánh giá trên thiết bị kiểu cánh khuấy với tốc độ 100 vòng/phút. Tiến hành lấy 10mL dung dịch thử ở các thời điểm 10, 30, 60, 120, 180, 240 phút và ly tâm với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 5 phút. Thu lấy phần dịch trong lọc qua màng 0,2 $\mu$ m và định lượng hàm lượng silybin bằng HPLC [4]. Lấy 10mL môi trường thử, cho vào ống ly tâm (chứa phần cặn sau ly tâm), lắc đều, sau đó bổ sung vào cốc thử độ hòa tan.

- Hình thái cấu trúc tiểu phân: Mẫu silybin nguyên liệu, MD, AE đánh giá trên hình ảnh SEM. Mẫu bột phytosome phun sấy được đánh giá trên hình ảnh SEM và TEM. Để chụp TEM tiến hành phân tán đều bột phytosome trong nước cất (tỷ lệ nước/CR = 10:1) trong 5 phút. Tiếp tục ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút thu lấy phần cặn. Rửa cặn 3 lần bằng nước cất và phân tán đều trở lại nước cất (tỷ lệ nước/CR = 20:1) trong 5 phút. Sau đó lọc qua giấy lọc 3 $\mu$ m, thu lấy phần dịch.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Ảnh hưởng của loại tá dược hỗ trợ phun sấy

Tiến hành phun sấy với nhiệt độ phun sấy 140°C, tốc độ cấp dịch 10 mL/phút, tỷ lệ TD/CR là 0,5:1. Khảo sát phun sấy với các mẫu không sử dụng tá dược (M1) và có sử dụng tá dược (M2 - M7). Kết quả được trình bày trong bảng 1 và hình 1.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng loại tá dược đến đặc tính của bột phytosome silybin (n = 3).

Chỉ tiêu	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Tá dược	-	AE	MD	MD/AE 20/80	MD/AE 40/60	MD/AE 60/40	MD/AE 80/20
Độ ẩm (%)	-	2,83 ± 0,07	3,63 ± 0,10	3,03 ± 0,11	3,37 ± 0,09	3,42 ± 0,11	3,46 ± 0,10
KLR (g/mL)	-	0,225 ± 0,010	0,403 ± 0,018	0,352 ± 0,022	0,368 ± 0,020	0,378 ± 0,021	0,416 ± 0,020
CI (%)	-	14,27 ± 0,46	38,67 ± 1,40	16,00 ± 0,80	18,13 ± 0,61	19,07 ± 1,01	19,33 ± 0,83
H <sub>ps</sub> (%)	-	82,12 ± 2,65	73,61 ± 3,09	82,38 ± 3,21	80,05 ± 2,61	81,75 ± 2,89	82,20 ± 2,70
H <sub>th</sub> (%)	-	95,41 ± 3,10	94,09 ± 4,43	93,76 ± 3,25	92,65 ± 3,90	91,05 ± 2,35	93,80 ± 3,41
HL Si <sub>tp</sub> (%)	-	15,21 ± 0,29	14,02 ± 0,87	13,81 ± 0,60	13,74 ± 0,70	13,27 ± 0,52	13,97 ± 0,46
HL Si <sub>phy</sub> (%)	-	13,71 ± 0,37	12,70 ± 0,14	12,81 ± 0,47	12,44 ± 0,46	12,52 ± 0,50	12,82 ± 0,27
ĐT Si/nước (µg/mL)	-	268,66 ± 14,87	622,58 ± 33,56	360,34 ± 40,90	397,86 ± 37,82	440,40 ± 38,51	592,41 ± 29,49

Mẫu M1 (không sử dụng tá dược) thì mẫu bị kết dính trên thành buồng phun. Khi bổ sung các tá dược thì đều tạo thành sản phẩm khô, màu trắng ngà, độ ẩm < 5% (Hình 1). Khối lượng riêng (KLR) của các mẫu cơ bản là thấp, trong đó mẫu M2 (sử dụng AE) là thấp nhất. Độ trơn chảy của khối bột được cải thiện khi tỷ lệ AE tăng dần thông qua việc làm giảm chỉ số CI (mẫu M2 bột trơn chảy tốt, mẫu M3 là kém trơn chảy). Hiệu suất phun sấy ở mẫu M3 (dùng MD) là thấp nhất, các mẫu còn lại là khá tương đồng. Hàm lượng silybin dạng phytosome và toàn phần cao nhất ở mẫu M2 (dùng AE), các mẫu còn lại ít có sự khác biệt. Khi tăng tỷ lệ MD thì độ tan của silybin trong nước có xu hướng tăng lên. Mẫu M3 tuy có độ tan silybin trong nước cao nhưng hiệu suất phun sấy thấp trong khi mẫu M7 có độ tan của silybin trong nước và hiệu suất phun sấy cao,  $KLR_{bk} > 0,4$  g/mL. Do đó, tá dược MD/AE (80/20) được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.



Hình 1. Ảnh bột phun sấy các mẫu M2, M3, M4, M5, M6, M7.

## 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ tá dược hỗ trợ phun sấy

Tiến hành phun sấy tạo bột phytosome silybin với các điều kiện như ở công thức M7 nhưng với tỷ lệ TD/CR lần lượt là 1:1; 0,5:1; 0,4:1; 0,2:1. Kết quả được trình bày trong bảng 2 và hình 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của tỷ lệ tá dược đến đặc tính của bột phytosome silybin (n = 3).

Chỉ tiêu	M8	M7	M9	M10
Tỷ lệ TD/CR	1:1	0,5:1	0,4:1	0,2:1
Độ ẩm (%)	3,43 ± 0,16	3,46 ± 0,10	3,70 ± 0,14	4,18 ± 0,12
KLR (g/mL)	0,428 ± 0,025	0,416 ± 0,020	0,394 ± 0,018	0,291 ± 0,014
CI (%)	18,27 ± 0,61	19,33 ± 0,83	20,27 ± 1,22	30,67 ± 1,15
H <sub>ps</sub> (%)	83,17 ± 3,09	82,20 ± 2,70	81,65 ± 3,00	68,59 ± 2,12
H <sub>th</sub> (%)	93,29 ± 3,33	93,80 ± 3,41	94,05 ± 3,10	93,70 ± 2,92
HL Si <sub>tp</sub> (%)	10,01 ± 0,29	13,97 ± 0,46	14,11 ± 0,47	16,83 ± 0,44
HL Si <sub>phy</sub> (%)	9,00 ± 0,18	12,82 ± 0,27	13,21 ± 0,32	15,45 ± 0,38
ĐT Si/nước (μg/mL)	659,02 ± 39,56	592,41 ± 29,49	497,46 ± 26,20	387,39 ± 39,01



**Hình 2.** Ảnh bột phun sấy các mẫu M7, M8, M9, M10.

Khi phun sấy ở các tỷ lệ tá dược khác nhau thì đều tạo thành dạng bột có hàm lượng ẩm thấp (< 5%), nhưng nếu tỷ lệ tá dược thấp quá thì bột có màu vàng, bị vón lại và làm giảm khả năng trơn chảy (M10). Xu hướng độ ẩm giảm xuống và khối lượng riêng, hiệu suất phun sấy, độ hòa tan của silybin trong nước tăng lên khi tăng tỷ lệ TD/CR. Tuy nhiên, nếu thêm nhiều tá dược sẽ

làm giảm đáng kể hàm lượng silybin trong sản phẩm nhưng hiệu suất thu hồi silybin gần như không đổi, chứng tỏ tỷ lệ tá dược ít ảnh hưởng đến độ ổn định của hoạt chất. Do đó, để đảm bảo sản phẩm có hàm lượng hoạt chất, độ hòa tan trong nước cao, các chỉ số cơ lý thích hợp thì công thức M7 (TD/CR là 0,5/1) là phù hợp nhất nên được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

### 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ phun sấy vào và tốc độ cấp dịch

Tiến hành phun sấy tạo bột phytosome silybin với các điều kiện như ở công thức M7 nhưng với nhiệt độ phun sấy và tốc độ cấp dịch lần lượt là 120, 140, 160°C và 5, 10, 15 mL/phút. Kết quả thể hiện ở bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của nhiệt độ phun sấy và tốc độ cấp dịch đến các đặc tính của bột phytosome silybin (n = 3).

Chỉ tiêu	M11	M12	M13	M14	M7	M15	M16	M17	M18
Nhiệt độ phun sấy (°C)	120	120	120	140	140	140	160	160	160
Tốc độ cấp dịch (mL/phút)	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Độ ẩm (%)	4,27 ± 0,13	7,39 ± 0,10	-	3,37 ± 0,11	3,46 ± 0,10	7,03 ± 0,11	3,39 ± 0,17	3,36 ± 0,14	3,89 ± 0,16
KLR (g/mL)	0,419 ± 0,021	0,432 ± 0,020	-	0,395 ± 0,020	0,416 ± 0,020	0,493 ± 0,017	0,392 ± 0,019	0,394 ± 0,023	0,407 ± 0,022
CI (%)	19,20 ± 0,80	18,93 ± 0,61	-	20,53 ± 0,92	19,33 ± 0,83	19,07 ± 0,83	20,13 ± 0,61	20,40 ± 0,69	19,47 ± 0,46
H <sub>ps</sub> (%)	79,83 ± 1,68	76,04 ± 2,25	-	81,84 ± 1,96	82,20 ± 2,70	78,03 ± 2,66	80,16 ± 2,62	80,03 ± 2,97	80,02 ± 2,26
H <sub>th</sub> (%)	91,91 ± 3,97	88,19 ± 2,48	-	92,59 ± 3,68	93,80 ± 3,41	88,61 ± 2,40	91,04 ± 4,07	89,54 ± 4,17	88,29 ± 2,49
HL Si <sub>ip</sub> (%)	13,79 ± 0,41	13,31 ± 0,52	-	13,96 ± 0,43	13,97 ± 0,46	13,36 ± 0,44	13,65 ± 0,58	13,41 ± 0,69	13,20 ± 0,45
HL Si <sub>phy</sub> (%)	12,56 ± 0,30	12,20 ± 0,76	-	12,83 ± 0,33	12,82 ± 0,27	12,27 ± 0,55	12,67 ± 0,53	12,46 ± 0,52	12,34 ± 0,35
ĐT Si/nước (µg/mL)	577,67 ± 39,53	573,16 ± 29,53	-	596,77 ± 26,71	592,41 ± 29,49	575,62 ± 28,98	594,51 ± 24,61	588,14 ± 31,61	587,02 ± 31,80

Ở nhiệt độ 120°C, tốc độ 15 mL/phút có hiện tượng bột dính bột trong buồng phun, ở tốc độ 10 mL/phút bột có độ ẩm cao (≥ 5%) và hiệu suất phun sấy thấp, nếu ở tốc độ thấp (5 mL/phút) sẽ

tồn thời gian. Khi phun sấy ở 160°C thì bột thu được đều có độ ẩm thấp, tuy nhiên hàm lượng và hiệu suất thu hồi silybin có xu hướng giảm nhẹ khi tăng tốc độ cấp dịch. Khi phun sấy ở nhiệt

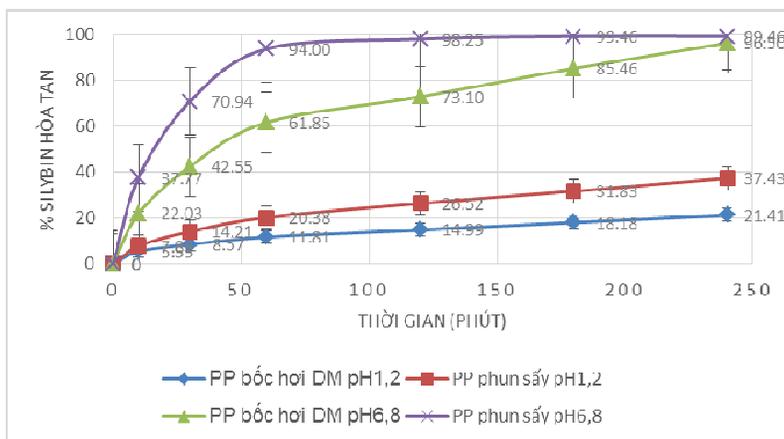
độ 140°C bột thu được cũng có chất lượng tương đồng, riêng ở tốc độ 15 mL/phút thì bột có độ ẩm cao (> 5%), hiệu suất phun sấy và hiệu suất thu hồi hoạt chất thấp hơn. Độ hòa tan của silybin ở các công thức khảo sát cũng có dao động nhưng sự khác biệt là không nhiều. Từ các kết quả trên cho thấy ở điều kiện nhiệt độ 140°C, tốc độ 10 mL/phút (M7) là phù hợp nhất.

\* Tóm tắt thông số quy trình bào chế bột phytosome silybin bằng phương pháp phun sấy:

- Tá dược hỗ trợ phun sấy: MD/AE (80/20).
- Tỷ lệ tá dược/chất rắn: 0,5:1
- Nhiệt độ phun sấy: 140°C.
- Tốc độ cấp dịch: 10 mL/phút.
- Áp suất khí đầu phun: 0,2 Mpa.

#### 4. Đánh giá độ hòa tan của bột phytosome silybin bào chế bằng phương pháp phun sấy và cô bốc hơi dung môi

Tiến hành đánh giá độ hòa tan của bột phytosome silybin bào chế theo phương pháp phun sấy (theo điều kiện ở công thức M7) và cô bốc hơi dung môi dưới áp suất giảm. Kết quả được thể hiện ở hình 3.

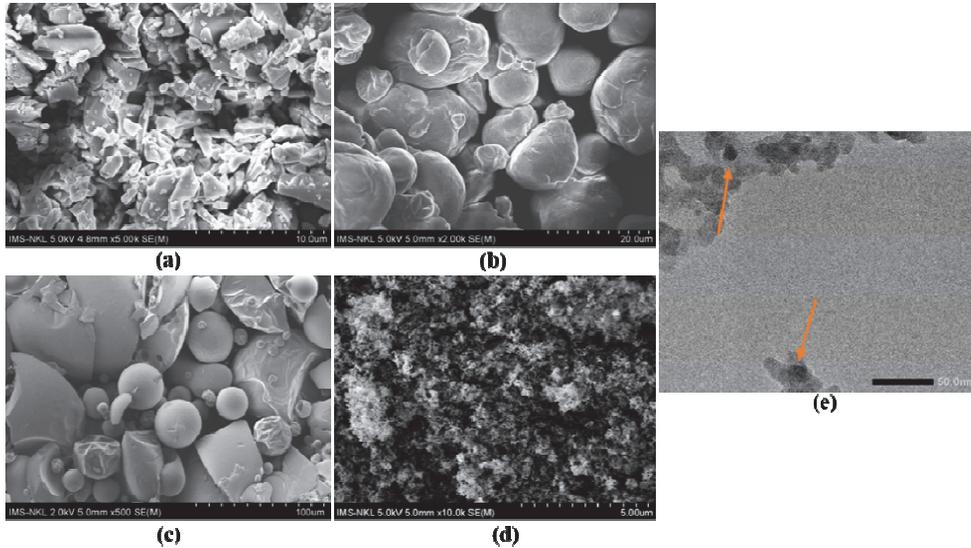


**Hình 3.** Đồ thị biểu diễn độ hòa tan của bột phytosome silybin bào chế bằng phương pháp phun sấy và cô bốc hơi dung môi trong môi trường pH 1,2 và pH 6,8.

Độ hòa tan của silybin ở mẫu bột phytosome thu được bằng phương pháp phun sấy cao hơn hẳn so với mẫu làm khô bằng bốc hơi dung môi. Trong môi trường pH 6,8, phần trăm silybin hòa tan trong mẫu bột phun sấy đã đạt 94,0% sau 60 phút gần tương đương với mẫu bột thu được bằng bốc hơi dung môi (96,50%) ở thời điểm 240 phút.

### 5. Kết quả đánh giá hình thái bột phytosome silybin

Đánh giá hình thái bột bằng chụp SEM, TEM của mẫu bột phun sấy theo điều kiện công thức M7. Kết quả được thể hiện ở hình 4.



**Hình 4.** (a) Hình ảnh SEM của silybin nguyên liệu; (b) Bột phytosome silybin; (c) Maltodextrin; (d) Aerosil; (e) Chụp TEM của bột phytosome silybin.

Kết quả chụp SEM cho thấy silybin nguyên liệu dạng mảnh tinh thể, MD có dạng hình cầu kích thước không đều, AE có kích thước nhỏ (cỡ nanomet). Sau khi phun sấy tạo thành tiểu phân phytosome silybin có dạng hình cầu, kích thước khoảng vài chục micromet, bề mặt nhẵn. Trên hình ảnh TEM cho thấy bột phytosome phun sấy sau khi phân tán vào nước cho dạng hình cầu, kích thước cỡ nanomet.

### BÀN LUẬN

Các dạng phytosome thường chứa các phospholipid không bền ở điều kiện nhiệt độ cao trong thời gian dài. Trong khi đó phun sấy là quá trình sấy khô nhanh do sự hình thành các giọt có diện tích bề mặt lớn sau giai đoạn vi tiểu phân hóa, làm mở rộng diện tích

tiếp xúc với nhiệt [8, 9]. Do vậy, phương pháp phun sấy là phương pháp tạo bột phù hợp với dạng phytosome. Bên cạnh đó, việc chuyển trực tiếp từ dạng dịch sang dạng bột cũng sẽ giúp làm giảm sự hư hao, nâng cao chất lượng của nguyên liệu khi so sánh với phương pháp cô bốc hơi kết hợp với nghiền.

Thành phần phosphatidyl cholin trong phytosome được biết đến là một phospholipid có tỷ trọng nhẹ, tính bám dính cao; vì vậy, việc sử dụng thêm tá dược hỗ trợ trong quá trình phun sấy là cần thiết. Maltodextrin được biết đến là tá dược phù hợp trong phương pháp phun sấy tạo bột nhằm giảm sự bám dính, cũng như làm tăng tỷ trọng của khối bột [9, 10]. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy MD đã giúp tăng bề mặt tiếp xúc của các tiểu bột phytosome silybin với các dung môi [11, 12]; từ đó, giúp cải thiện độ tan của silybin trong nước. Sử dụng kết hợp AE với MD sẽ hạn chế được nhược điểm dễ hút ẩm của MD, đồng thời sẽ cải thiện được độ trơn chảy của khối bột.

Thông số nhiệt độ phun sấy 120°C, tốc độ cấp dịch thấp (5 mL/phút) có sự kết dính bột trong buồng phun. Lý do việc cung cấp nhiệt không đủ để tách ẩm ra khỏi khối bột. Kết quả nghiên cứu cũng khá tương đồng với nghiên cứu của Yu và CS (2007) về điều chế vi nang phospholipid bằng phương pháp phun sấy [10]. Bên cạnh đó, việc tăng nhiệt độ phun sấy cao sẽ gây tổn hiệu năng và việc tăng tốc độ cấp dịch sẽ dịch phun sẽ tạo thành dòng trong buồng phun dẫn hiện tượng bám dính, mất bột. Trong nghiên cứu này, tốc độ cấp dịch được lựa chọn là 10 mL/phút.

## KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu khảo sát, bước đầu chúng tôi đã lựa chọn được các thông số quy trình tạo bột phytosome silybin bằng phương pháp phun sấy. Bột phytosome silybin có các đặc tính về độ ẩm là  $3,46 \pm 0,1\%$ , khối lượng riêng  $0,416 \pm 0,02$  g/mL, chỉ số nén  $19,33 \pm 0,83\%$ , hàm lượng silybin toàn phần là  $13,97 \pm 0,46\%$ , hàm lượng silybin dạng phytosome là  $12,82 \pm 0,27\%$ . Các đặc tính này của bột phytosome silybin phù hợp trong quá trình bảo quản và ứng dụng trong bào chế dưới dạng cốm, bột, viên nang cứng, viên nén.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barani M, Sangiovanni E, Angarano M, et al. Phytosomes as innovative delivery systems for phytochemicals: A comprehensive review of literature. *Int J Nanomedicine*. 2021; 16:6983-7022.
2. Nguyễn Hồng Trang. Nghiên cứu bào chế phytosome quercetin ứng dụng vào viên nang cứng. *Luận án tiến sĩ dược học*. Trường Đại học Dược Hà Nội, Hà Nội. 2021.
3. Đặng Trường Giang, Trần Thị Hiện, Phạm Văn Hiên, Chủ Văn Mên, Nguyễn Hữu Mỹ, Trần Kim Thanh, Vũ Bình Dương. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo phức giữa silybin và phosphatidylcholin. *Tạp chí Dược học*. 2019; 521:60-64.

4. Đặng Trường Giang, Trần Thị Hiện, Phạm Văn Hiện, Vũ Bình Dương. Định lượng đồng thời silybin A và B trong nguyên liệu và trong phức hợp silybin-phospholipid bằng HPLC. *Tạp chí Dược học*. 2019; 520:28-32,36.
5. Bộ Y tế. *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2017
6. USP38. Powder flow. U.S.A. 2015; 1322-1326.
7. Xu Y, Li J, He B, et al. In vitro dissolution testing and pharmacokinetic studies of silymarin solid dispersion after oral administration to healthy pigs. *Front Vet Sci*. 2022; 9:815198.
8. Chaubal MV, Popescu C. Conversion of nanosuspensions into dry powders by spray drying: A case study. *Pharm Res*. 2008; 25(10):2302-2308.
9. Anwar E, Farhana N. Formulation and evaluation of phytosome-loaded maltodextrin-gum Arabic microsphere system for delivery of Camellia sinensis extract. *Journal of young pharmacists*. 2018; 10(2s):S56.
10. Yu C, Wang W, Yao H, et al. Preparation of phospholipid microcapsule by spray drying. *J Drying Technology*. 2007; 25(4):695-702.
11. Li K, Pan B, Ma L, et al. Effect of dextrose equivalent on maltodextrin/whey protein spray-dried powder microcapsules and dynamic release of loaded flavor during storage and powder rehydration. 2020; 9(12): 1878.
12. Chuaychan S, Benjakul S. Effect of maltodextrin on characteristics and antioxidative activity of spray-dried powder of gelatin and gelatin hydrolysate from scales of spotted golden goatfish. *J Food Sci Technol*. 2016; 53(9): 3583-3592.

## NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP MOLNUPIRAVIR TỪ CYTIDIN

Nguyễn Văn Giang<sup>1</sup>, Trương Thị Kim Lương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Minh Ngân<sup>1</sup>  
Nguyễn Thị Ngọc<sup>2</sup>, Đào Nguyệt Sương Huyền<sup>1</sup>, Nguyễn Đình Luyện<sup>1</sup>  
Nguyễn Văn Hải<sup>1</sup>, Phạm Thị Hiền<sup>3\*</sup>

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Tổng hợp molnupiravir từ cytidin ở quy mô phòng thí nghiệm bằng phương pháp đơn giản, không sử dụng sắc ký cột để tinh chế. **Phương pháp nghiên cứu:** Tổng hợp molnupiravir từ nguyên liệu ban đầu cytidin thông qua 4 giai đoạn phản ứng: Acetonid hóa cytidin tạo chất C1; Acyl hóa C1 tạo C2; Hydroxylamin hóa C2 tạo C3; Cuối cùng thủy phân C3 tạo molnupiravir. Tinh chế sản phẩm được thực hiện bằng các kỹ thuật cơ bản: Chiết phân bố, kết tinh, kết tủa, lọc, rửa. Cấu trúc các chất được khẳng định bằng các phương pháp phân tích phổ IR, MS và NMR. **Kết quả:** Hiệu suất các giai đoạn tổng hợp thu được như sau: 96,0% chất C1 từ cytidin; 90,6% chất C2 từ C1; 59,0% chất C3 từ C2; 44,6% sản phẩm cuối molnupiravir từ C3. Hiệu suất toàn quy trình là 22,9%, trong đó đã sử dụng phương pháp tinh chế các chất không sử dụng sắc ký cột, đạt tinh khiết theo sắc ký lớp mỏng và nhiệt độ nóng chảy. Cấu trúc các chất được khẳng định đầy đủ bằng các dữ liệu phổ. **Kết luận:** Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tổng hợp thành công molnupiravir từ cytidin ở quy mô phòng thí nghiệm với quy trình tổng hợp đơn giản, an toàn và có tiềm năng áp dụng ở Việt Nam.

**Từ khóa:** COVID-19; Cytidin; Molnupiravir; SARS-CoV-2.

## SYNTHESIS OF MOLNUPIRAVIR FROM CYTIDIN

### Abstract

**Objectives:** To synthesize molnupiravir in laboratory conditions from cytidine with a simple method and no need for column chromatography for purification.

---

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ Hóa dược, Trường Đại học Dược Hà Nội

<sup>2</sup>Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

<sup>3</sup>Viện Công nghệ Dược phẩm Quốc gia, Trường Đại học Dược Hà Nội

\*Tác giả liên hệ: Phạm Thị Hiền (phamhien@hup.edu.vn)

Ngày nhận bài: 11/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.506>

**Methods:** Four different reactions were used to synthesize molnupiravir from cytidine as the starting material. Acetonidation of cytidine to produce C1; Acylation of C1 to produce C2; Hydroxylamination of C2 to produce C3; and hydrolysis of C3 to produce molnupiravir. The fundamental techniques for product refinement included distributing extraction, crystallization, precipitation, filtering, and washing. The structures of the compounds were confirmed by spectral analysis methods such as IR, MS, and NMR. **Results:** Yield 96.0% of C1 from cytidine, 90.6% of C2 from C1, 59.0% of C3 from C2, and 44.6% of the final molnupiravir from C3 were obtained based on the yield of the synthesis stages. The overall efficiency of the process was 22.9%, and it used non-column chromatography to isolate products that were pure according to thin-layer chromatography and melting point. Spectral data provided a complete characterization of the structure of compounds. **Conclusion:** Molnupiravir was successfully synthesized in the lab using an easy, safe, and potentially efficient method.

**Keywords:** COVID-19; Cytidine; Molnupiravir; SARS-CoV-2.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Molnupiravir là thuốc kháng vi rút (SARS-CoV-2) do Merck và Ridgeback Biotherapeutics hợp tác phát triển, được Cơ quan Quản lý thuốc và sản phẩm chăm sóc sức khỏe Anh (MHRA) phê duyệt tháng 11/2021, sau đó được Bộ Y tế Việt Nam chấp nhận vào tháng 02/2022 để điều trị bệnh nhân COVID-19 từ nhẹ đến trung bình [1]. Việc phát hiện và phát triển ban đầu của molnupiravir bắt đầu vào năm 2013, nhằm mục đích tìm ra một loại thuốc kháng vi rút đường uống để điều trị bệnh nhiễm vi rút viêm não [1]. Các nhà nghiên cứu Đại học Emory sau đó

đã tổng hợp thành công molnupiravir từ uridin nhưng hiệu suất còn thấp và giá thành cao [2]. Các hướng đi sau này bắt đầu mở rộng phát triển việc tổng hợp qua cytidin, một nguyên liệu đầu vào giá thành thấp hơn và phổ biến hơn uridin [3, 4, 5, 6]. Với mục tiêu tìm ra quy trình tổng hợp molnupiravir đơn giản, an toàn và có thể ứng dụng ở quy mô lớn hơn từ cytidin có tiềm năng áp dụng ở Việt Nam, chúng tôi thực hiện nghiên cứu với mục tiêu: *Tổng hợp molnupiravir từ cytidin ở quy mô phòng thí nghiệm bằng phương pháp đơn giản, không sử dụng sắc ký cột để tinh chế.*

**ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP  
NGHIÊN CỨU****1. Đối tượng nghiên cứu**

\* *Hóa chất*: Được mua có nguồn gốc từ Đức, Trung Quốc và Việt Nam: Cytidin, 2,2-dimethoxypropan (DMP), acetone, acetonitril, acid acetic, acid sulfuric, acid formic, dung dịch amoniac 25%, anhydrid isobutyric ((*i*-PrCO)<sub>2</sub>O), dicloromethan (DCM), diethyl ether, ethanol, ethyl acetat (EtOAc), hydroxylamin sulfat, isopropanol (IPA), methanol (MeOH), natri clorid, natri hydrocarbonat, natri sulfat, *n*-butanol, nước cất, methyl *tert*-butyl ether (MBTE), tetrahydrofuran (THF), triethylamin (TEA), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 4-dimethylaminopyridin (DMAP) đạt tiêu chuẩn tinh khiết tổng hợp (AR).

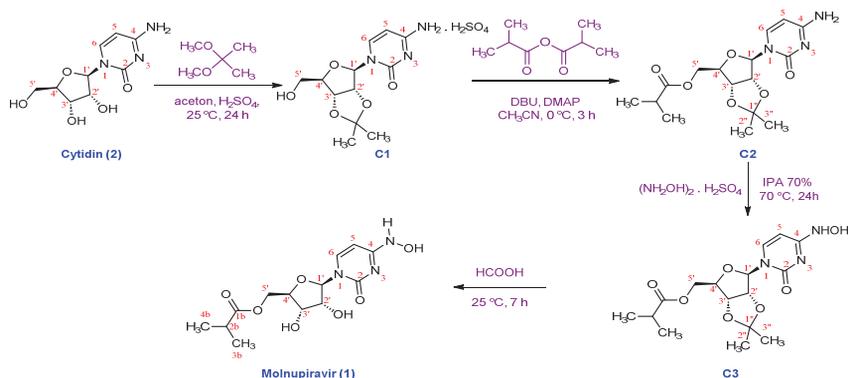
\* *Thiết bị dụng cụ sử dụng*: Bản mỏng silica gel 60 F<sub>254</sub>, bình cầu một cổ và hai loại dung tích (50mL, 100mL, 250mL), bình hút ẩm, bình nhỏ giọt dung tích 100mL, bình nón dung tích 100mL, bình sắc ký, cân kỹ thuật Sartorius BP 2001S, cốc có mở các loại dung tích (100mL, 250mL, 500mL), đèn hồng ngoại, đèn tử ngoại, máy cất quay chân không Buchi R210, máy đo nhiệt độ nóng chảy EZ-Melt, máy khuấy từ gia nhiệt IKA, nhiệt kế thủy ngân, pipet chia vạch (1mL, 2mL,

5mL, 10mL), sinh hàn hồi lưu, tủ sấy Memmert.

**2. Phương pháp nghiên cứu**

Molnupiravir được tổng hợp từ nguyên liệu cytidin thông qua 4 giai đoạn phản ứng (acetone hóa, acyl hóa, hydroxylamin hóa và thủy phân), ba sản phẩm trung gian là C1, C2, C3 (Hình 1). Phản ứng được theo dõi bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM) thực hiện trên bản mỏng silica gel F<sub>254</sub> (Merck) với các hệ dung môi khai triển: *n*-butanol:acid acetic:nước (9,0:2,0:2,5); EtOAc (100%); quan sát sắc ký đồ dưới bước sóng 254nm của đèn tử ngoại.

Độ tinh khiết được đánh giá sơ bộ bằng khoảng nhiệt độ nóng chảy ( $t_{nc}^{\circ}$ ,  $\Delta t$ ) đo trên máy EZ-Melt (Mỹ). Cấu trúc của sản phẩm được xác định bằng các phương pháp phổ: Khối lượng (MS), hồng ngoại (IR) và cộng hưởng từ hạt nhân (<sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR). Phổ ESI-MS được ghi trên máy 920-MS TQ-FT (Agilent Technologies). Phổ IR được ghi trên máy Shimadzu trong vùng 4000 - 400cm<sup>-1</sup>. Phổ NMR được ghi trên máy Bruker, dung môi DMSO-*d*<sub>6</sub>. Các phổ được ghi tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội và Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 1. Sơ đồ tổng hợp molnupiravir từ cytidin qua 4 giai đoạn.

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện với sự đồng thuận và tự nguyện của các tác giả. Việc công bố trên tạp chí được sự nhất trí từ các tác giả có tên trên bài báo.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Tổng hợp muối 4-amino-1-((3aR,4R,6R,6aR)-6-(hydroxymethyl)-2,2-dimethyltetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl)pyrimidin-2(1H)-on sulfat (C1)

Trong bình cầu một cổ 100mL, thêm 1,00g (4,12mmol) cytidin và 13mL acetone, thêm tiếp 2,6mL DMP. Hỗn hợp được trộn đều bằng máy khuấy từ, rồi nhỏ thêm từng giọt 0,55mL dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đặc vào bình cầu. Duy trì khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng thì thu được hỗn hợp màu đỏ nâu. Sau khi kết thúc, lọc thu tủa. Rửa với acetone 3 lần (mỗi lần 10mL), sau đó rửa tiếp với diethyl ether tới khi thu được chất rắn màu trắng, sấy khô dưới đèn hồng ngoại thu được C1 có khối lượng 1,50g, hiệu suất 96,0%;

$t_{nc}^{\circ}$  133,0 - 135,0°C;  $R_f = 0,56$  (*n*-butanol : acid acetic : nước = 9,0 : 2,0 : 2,5). ESI-MS ( $m/z$ ): 567,1 [2M-2H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+H]<sup>+</sup> (CTPT: C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, M = 381,0). IR (KBr),  $\bar{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>): 3485 (N-H amin bậc 1); 3352 (O-H alcol); 2933 (C-H no); 1722 (C=O); 1674 (C=N vòng); 1119 và 1250 (C-O). <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 9,49 (1H, s, NH<sub>a</sub>); 8,31 (1H, t,  $J = 3,6$  Hz, NH<sub>b</sub>); 8,13 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-6); 6,08 (1H, d,  $J = 7,8$  Hz, H-5); 5,79 (1H, d,  $J = 2,4$  Hz, H-1'); 4,91 (1H, dd,  $J_1 = 6,0$  Hz,  $J_2 = 1,8$  Hz, H-2'); 4,75 (1H, dd,  $J_1 = 6,0$  Hz,  $J_2 = 2,4$  Hz, H-3'); 4,25 (1H, q,  $J = 4,2$  Hz, H-4'); 3,63 (1H, dd,  $J_1 = 12$  Hz,  $J_2 = 4,2$  Hz, H<sub>a</sub>-5'); 3,57 (1H, dd,  $J_1 = 11,4$  Hz,  $J_2 = 4,2$  Hz, H<sub>b</sub>-5'); 1,49 (3H, s, H-2''); 1,29 (3H, s, H-3''). <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),

$\delta$  (ppm): 159,24 (C-4); 146,31 (C-2); 112,63 (C-6); 93,22 (C-1"); 87,68 (C-5); 84,40 (C-1'); 80,47 (C-4'); 61,04 (C-2'); 52,88 (C-3'); 39,57 (C-5'); 26,89 (C-2"); 25,07 (C-3").

**2. Tổng hợp dẫn chất ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(4-amino-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-2,2-dimethyltetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl)methylsobutyrate (C2) từ C1**

Hòa tan 1,30g (3,41 mmol) C1 vào 13mL acetonitril trong bình cầu một cổ 100mL. Bổ sung 0,09g DMAP và 1,1mL (7,16 mmol) DBU, khuấy trộn đều hỗn hợp trong 10 phút tới khi tan hoàn toàn. Sau khi làm lạnh bình cầu xuống 0 - 5°C, nhỏ từ từ từng giọt anhydrid isobutyric (0,80mL). Duy trì khuấy trong khoảng 10 phút ở cùng nhiệt độ. Sau khi kết thúc, cất quay

loại dung môi đến cạn. Bổ sung 10mL DCM để hòa tan cặn, chuyển vào bình chiết. Tiến hành rửa pha dung môi DCM với dung dịch acid acetic 10% (10 mL/lần x 3 lần). Thêm từ từ từng giọt 10mL NaHCO<sub>3</sub> bão hòa, khuấy đều tới khi hết sủi bọt, thu lấy lớp DCM. Làm khan lớp DCM bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, cất quay loại dung môi thu được chất rắn màu trắng xốp có khối lượng 1,09g, hiệu suất 90,5%;  $R_f = 0,72$  (*n*-butanol:acid acetic:nước = 9,0:2,0:2,5). ESI-MS (*m/z*): 707,1 [2M+H]<sup>+</sup> (CTPT: C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>, M = 353,0).

Khảo sát ảnh hưởng của xúc tác base, nhiệt độ phản ứng và tỷ lệ mol anhydrid isobutyric: C1 đến hiệu suất phản ứng. Tiến hành các thí nghiệm với 1,30g C1, thu được kết quả trong bảng 1 và bảng 2.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của xúc tác base và nhiệt độ đến việc tạo thành sản phẩm C2.

STT	Nhiệt độ (± 2°C)	Xúc tác base	Hiệu suất (%)	Đặc điểm sắc ký lớp mỏng theo dõi phản ứng
1	25	DBU	85,0	Hầu như không có tạp
2	25	TEA	-	Xuất hiện đáng kể tạp, không tách sản phẩm
3	0	DBU	90,6	Hầu như không có tạp
4	0	TEA	-	Xuất hiện đáng kể tạp, không tách sản phẩm

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của tỷ lệ mol anhydrid isobutyric:C1 đến hiệu suất phản ứng tạo C2 sử dụng xúc tác base DBU.

STT	Tỷ lệ mol ( <i>i</i> -PrCO) <sub>2</sub> O:C1	Khối lượng sản phẩm C2 (g)	Hiệu suất (%)
1	1,1:1	0,78	64,8
2	1,4:1	1,09	90,5
3	1,7:1	1,06	88,0
4	2,0:1	0,96	79,7

### 3. Tổng hợp ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(4-(hydroxyamino)-2-oxopyrimidin-1(2H-yl)-2,2-dimethyl-tetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl)methyl sobutyrat (C3) từ C2

Trong bình cầu một cổ 100mL chứa 1g (2,71mmol) C2 và 1,33g hydroxylamin sulfat, thêm tiếp 10mL IPA 70%, gia nhiệt lên 60°C và khuấy đều để chất rắn tan hoàn toàn tạo dung dịch đồng nhất. Khuấy trộn hỗn hợp ở 78°C trong 24 giờ. Sau khi kết thúc, thêm vào 10mL ethanol làm đồng dung môi, cất cô dung môi thu được sản phẩm dạng dầu sệt có màu nâu vàng lẫn chất rắn màu trắng. Thêm vào 10mL EtOAc và 10mL dung dịch NaCl bão hòa, lắc đều 5 phút, đợi đến khi hai pha tách ra rồi chiết lấy lớp ethyl acetat. Rửa lớp ethyl acetat với nước (10 mL/lần x 3 lần), làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, lọc thu dịch rồi cất quay loại dung môi thu được chất rắn màu trắng. Thêm 1mL

acetonitril vào bình sản phẩm lắc đều phân tán chất rắn tạo thành hỗn dịch màu trắng đục, sau đó cho thêm tiếp 5mL nước cất, khuấy đều thấy xuất hiện kết tinh dưới đáy bình; để kết tinh sản phẩm trong 2 giờ, sau đó tiến hành lọc rửa rửa tinh thể bằng nước cất, sấy, thu được chất rắn màu trắng ánh hồng nhạt, có khối lượng 0,59g, hiệu suất 59,0%; t<sub>nc</sub> 152,0 - 154,0; R<sub>f</sub> = 0,88 (*n*-butanol : acid acetic : nước = 9,0 : 2,0 : 2,5), 0,69 (EtOAc). ESI-MS (*m/z*): 367,9 [M-H]<sup>-</sup> (CTPT: C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, M = 369,0). IR (KBr),  $\bar{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>): 2980 (C-H no); 1703 (C=O); 1674 (C=N); 1074, 1159, 1194 và 1273 (C-O). <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 10,05 (1H, s, OH); 9,62 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, NH); 6,88 (1H, d, *J* = 8,4 Hz, H-6); 5,72 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, H-1'); 5,57 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 8,4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2,4 Hz, H-5); 4,95 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 6,0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2,4 Hz, H-2'); 4,76 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 6,6 Hz, *J*<sub>2</sub> =

4,2 Hz, H-3'); 4,24-4,14 (2H, m, H-5'); 80,56 (C-3'); 63,79 (C-5'); 39,5 (C-2"); 4,13-4,11 (H, m, H-4'); 2,56 (1H, sept, 33,04 (C-2"); 26,96 (C-3"); 25,16 (C- $J_1 = 7,2$  Hz, H-2"); 1,48 (3H, s, H-2"); 3"); 18,7 (C-4"). 1,29 (3H, s, H-3"); 1,10 (3H, s, H-3"); 1,09 (3H, s, H-4").  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 175,87 (C-1"); 149,04 (C-2); 143,26 (C-4); 131,89 (C-6); 113,37 (C-1"); 98,66 (C-5); 91,22 (C-1'); 83,08 (C-2', C-4');

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến hiệu suất phản ứng. Tiến hành các thí nghiệm với 1,00g C2, thay đổi nhiệt độ phản ứng thu được kết quả bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của nhiệt độ tới việc hình thành sản phẩm C3.

STT	Nhiệt độ ( $\pm 2^\circ\text{C}$ )	Thời gian phản ứng (phút)	Hiệu suất (%)	Đặc điểm sắc ký lớp mỏng theo dõi phản ứng
1	60	30 giờ	48,2	Xuất hiện một phần tạp
2	70	24 giờ	59,0	Hầu như không có tạp
3	80	-	-	Xuất hiện đáng kể 2 vết tạp, không tách sản phẩm

#### 4. Tổng hợp molnupiravir từ C3

Trong bình cầu hai cổ 50mL, thêm 0,5g (1,36mmol) C3 và 5mL acid formic, khuấy đều dung dịch ở  $25^\circ\text{C}$  trong 7 giờ. Sau đó, nhỏ từ từ từng giọt  $\text{NH}_3$  đặc (20mL) ở nhiệt độ  $0 - 5^\circ\text{C}$  đến pH trung tính. Đưa dung dịch sang bình gạn, bổ sung 20mL THF, lắc trong 5 phút thu lớp dung môi THF. Rửa pha THF với 20mL dung dịch NaCl bão hòa. Làm khan pha hữu cơ bằng natri sulfat khan. Lọc lấy dịch, cô

dưới áp suất giảm loại dung môi thu được sản phẩm dạng dầu màu vàng nhạt. Thêm 5,0mL MTBE, xuất hiện chất rắn màu trắng bám quanh thành bình. Để kết tinh sản phẩm. Lọc, sấy thu được sản phẩm molnupiravir có màu trắng ngà, khối lượng 0,20g, hiệu suất 44,6%;  $t_{nc}^\circ$   $154,0 - 156,0^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0,78$  (*n*-butanol : acid acetic : nước = 9,0 : 2,0 : 2,5); 0,33 (EtOAc). ESI-MS ( $m/z$ ): 327,9  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (CTPT:  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_7$ ,  $M = 329,3$ ); IR (KBr),  $\bar{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3381

(N-H và OH); 2976, 2878 (C-H no); 1750 (C=O); 1639 (C=N); 1275, 1194 và 1125 (C-O). <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 10,01 (1H, s, -NH-OH); 9,49 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz, NH); 6,82 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-6); 5,71 (1H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-1'); 5,58 (1H, dd,  $J_1 = 8,4$  Hz,  $J_2 = 1,8$  Hz, H-5); 5,34 (1H, dd,  $J = 6,0$  Hz, OH tại C-2'); 5,21 (1H, d,  $J = 5,4$  Hz, OH tại C-3'); 4,21 (1H, dd,  $J_1 = 12,0$  Hz,  $J_2 = 3,0$  Hz, H-2'); 4,13 (1H, dd,  $J_1 = 12,0$  Hz,  $J_2 = 5,4$  Hz, H-3'); 4,00 (1H, q,  $J = 5,4$  Hz, H-4'); 3,94-3,89 (2H, m, H-5'); 2,57 (1H, sept,  $J = 7,2$  Hz, H-2''); 1,10 (6H, dd,  $J_1 = 6,6$  Hz,  $J_2 = 1,2$  Hz, H- 3'',4''). <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 175,95 (C-1''); 149,39 (C-2); 143,27 (C-4); 129,86 (C-6); 98,73 (C-5); 87,72 (C-1'); 80,68 (C-4'); 71,92 (C-2'); 69,91 (C-3'); 63,84 (C-5'); 39,50 (C-2''); 33,15 (C-3''); 18,75 (C-4'').

## BÀN LUẬN

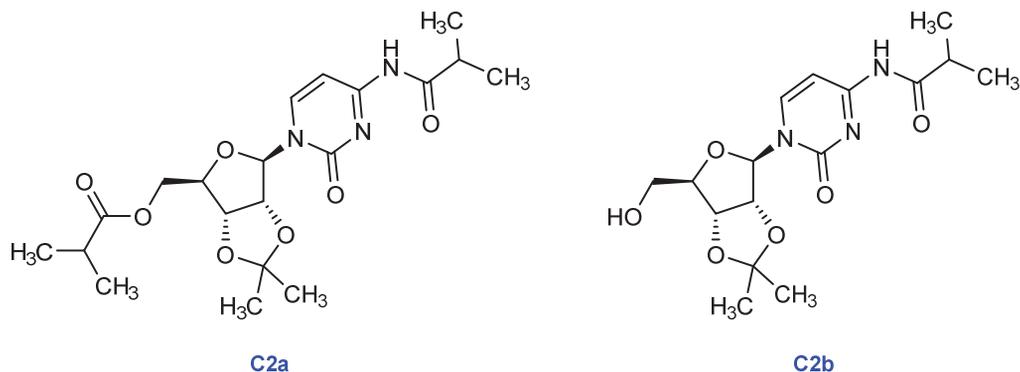
### 1. Về phản ứng acetonid hóa cytidin tạo C1

Đây là bước bảo vệ quan trọng vì quá trình cần thực hiện sau đó là phản ứng acyl hóa chọn lọc (gắn nhóm isobutyryl vào vị trí -OH tại C-5'). Tác nhân được lựa chọn để acetal hóa (acetonid hóa) ở đây là DMP trong aceton có mặt xúc tác acid đặc. Thực nghiệm chỉ ra, nếu sử dụng chỉ aceton

làm tác nhân để acetal hóa cytidin, thì không thu được sản phẩm mong muốn. Xúc tác H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đặc không chỉ có vai trò tạo môi trường acid cung cấp H<sup>+</sup>, ngưng tụ loại methanol, giúp đẩy nhanh phản ứng cetal hóa mà còn có vai trò tạo muối (với nitrogen trong cấu trúc), làm cho sản phẩm C1 kết tinh dưới dạng chất rắn, dễ dàng tách loại khi xử lý phản ứng. Lưu ý, chất C1 là muối amin dễ hút ẩm, có thể bị thủy phân thành nguyên liệu cytidin ban đầu, do đó, nếu chưa sử dụng ngay, cần bảo quản chất C1 ở điều kiện tránh ẩm và tránh ánh sáng.

### 2. Về phản ứng O-acyl hóa C1 tạo C2

Đây là phản ứng acyl hóa OH alcol, cần sự có mặt của base mạnh bậc 3 làm xúc tác như DBU và TEA. Các tác nhân acyl hóa có thể sử dụng trong phản ứng này là acid isobutyric, dẫn chất ester isobutyrat, isobutyryl halogenid hoặc anhydrid isobutyric. Trong nghiên cứu của chúng tôi, anhydrid isobutyric được lựa chọn với lý do là tác nhân này có khả năng acyl hóa mạnh, dễ thực hiện phản ứng và là một hóa chất thông dụng trong phòng thí nghiệm. Dẫn chất trung gian C1 tồn tại dưới dạng muối, dưới tác dụng của base mạnh như DBU, sẽ giải phóng gốc -NH<sub>2</sub>, có thể bị acyl hóa cùng với OH ở C-5', do đó, có thể tạo ra một số tạp acyl hóa không chọn lọc C2a, C2b (Hình 2).



**Hình 2.** Cấu trúc sản phẩm phụ có thể tạo ra trong quá trình tổng hợp chất C2.

Theo nghiên cứu của Gopalsamuthiram V và CS, sự có mặt của dẫn chất diacyl hóa C2a có thể tạo ra nhiều tạp cho phản ứng tiếp theo (tạo sản phẩm chính C3 với hiệu suất thấp), nên cần hạn chế việc tạo ra tạp C2a ở phản ứng hiện tại [5]. Do vậy, phản ứng này đã khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới tỷ lệ tạo thành sản phẩm C2 và tạp chất C2a, là xúc tác base và tỷ lệ mol anhydrid isobutyric:C1.

Xúc tác base: Dựa trên khảo sát với DBU và TEA, nhận thấy việc sử dụng DBU cho khả năng tạo ra sản phẩm chính với hiệu suất cao hơn và hình thành ít tạp chất C2a hơn so với TEA. Lý giải cho điều này có thể là: DBU có tính base lớn hơn so với TEA (pKa DBU-H lớn hơn pKa TEA-H), nên sẽ dễ dàng lấy  $H^+$  của alcol để tạo anion alkoxid  $RO^-$  với trung tâm ái nhân mạnh hơn cặp điện tử của nhóm  $-NH_2$ ,

giúp quá trình acyl hóa xảy ra chọn lọc vào OH của C-5' [7]. Khảo sát này đi kèm ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng. Kết quả thực nghiệm cho thấy phản ứng thu được ít tạp chất C2a khi thực hiện ở nhiệt độ duy trì ở  $0^\circ C$ , lý do có thể do sự giảm nhiệt độ làm giảm tốc độ phản ứng diacyl hóa, do đó, lượng tạp được tạo thành ít hơn (Bảng 1).

Tỷ lệ mol anhydrid isobutyric:C1, về lý thuyết, để tạo phẩm chính C2 chỉ cần tỷ lệ tác nhân:C1 = 1:1. Nếu tỷ lệ này càng lớn, khả năng tạo ra dẫn chất diacyl hóa càng cao, do đó, việc khống chế tỷ lệ để thu được sản phẩm chính cần được chú trọng. Chúng tôi đã chọn được tỷ lệ này là 1,4:1 giúp thu được sản phẩm hiệu suất cao nhất và có ít tạp nhất (Bảng 2).

Quá trình tinh chế cần phải loại bỏ được base DBU và một phần tác nhân anhydrid isobutyric còn dư. Do hai

chất đều là chất lỏng có độ nhớt cao, việc tồn dư trong sản phẩm sau phản ứng sẽ làm ảnh hưởng đến quá trình xử lý thu được sản phẩm chính [8]. DBU trong dung môi acetonitril có pKa lớn (24,34) trong khi nhóm chức amin trong sản phẩm C2 có pKa nhỏ (4,2) nên việc sử dụng một acid nhẹ có thể dễ dàng tạo muối với DBU, muối này bị loại đi khi chiết tách trong hệ hai pha nước - hữu cơ [5, 7]. Anhydrid isobutyric có khả năng tan trong nước, trong khi chất C2 (dạng cytidin acetonid ester) tan tốt trong DCM. Do đó, sử dụng hệ dung môi chiết  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /dung dịch acid acetic 10% đã giúp loại bỏ được base DBU và tác nhân anhydrid tồn dư [5]. DMAP được loại đi dưới dạng muối acetat tan trong nước khi rửa với dung dịch acid acetic 10%. Acid acetic cũng dễ dàng được loại bỏ nhờ được trung hòa bằng natri hydrocarbonat.

### 3. Về phản ứng tạo C3 từ C2

Phản ứng diễn ra theo cơ chế  $\text{S}_\text{N}$ , với tác nhân nucleophin là  $\text{NH}_2\text{OH}$ , tấn công vào vị trí C-4, sau đó đẩy nhóm  $\text{NH}_2$  (dưới dạng  $\text{NH}_3$ ) ra ngoài. Để phản ứng xảy ra tốt, cần duy trì nhiệt độ cao và thời gian phản ứng kéo dài (24 giờ). Tác nhân được sử dụng là dạng muối hydroxylamin sulfat thay cho

hydroxylamin, giúp kiểm soát an toàn và ít độc hại hơn (hydroxylamin base khó bảo quản, có khả năng phát nổ khi đun nóng và gây kích ứng da, mắt, gây dị ứng). Theo kết quả khảo sát, khi nâng nhiệt độ lên cao ( $> 80^\circ\text{C}$ , hồi lưu), phản ứng sẽ sinh ra nhiều tạp. Chúng tôi chọn được mức nhiệt độ phù hợp là  $70 \pm 2^\circ\text{C}$  để đạt hiệu suất cao nhất. Khi xử lý sản phẩm, sử dụng hệ dung môi ethyl acetat/dung dịch NaCl bão hòa (1:1) giúp loại bỏ hoàn toàn hydroxylamin sulfat còn dư sau phản ứng [9]. Pha hữu cơ (hòa tan tốt sản phẩm C3) được rửa với nước, sau đó được cất kiệt để thu được sản phẩm thô (dạng siro). Theo các tài liệu tham khảo ở quy mô tương tự, phương pháp tinh chế bằng sắc ký cột là cách phổ biến nhất để có thể thu được sản phẩm ở dạng tinh khiết [4]. Tuy nhiên, để làm tiền đề nghiên cứu quy mô cao hơn, phương pháp sắc ký cột không phải là lựa chọn tối ưu. Vì vậy, phương pháp kết tinh để tinh chế sản phẩm C3 đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Hệ dung môi  $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN} = 5:1$  được lựa chọn để kết tinh thành công sản phẩm. Sản phẩm C3 thu được lúc này có chứa một lượng nhỏ molnupiravir (xuất hiện dựa theo vết quan sát trên sắc ký lớp mỏng).

#### 4. Về phản ứng thủy phân tạo molnupiravir từ C3

Khi tiến hành tinh chế bằng phương pháp chiết theo tài liệu [10], nhóm nghiên cứu nhận thấy molnupiravir tan kém trong ethyl acetat, do đó, cần thực hiện chiết nhiều lần gây tốn thời gian và chi phí sản xuất. Do đó, chúng tôi đã khảo sát một số dung môi và quyết định lựa chọn THF là dung môi để tinh chế sản phẩm. Sau đó, dung dịch chứa sản phẩm và dung môi THF được cô cạn để thu được sản phẩm dạng dầu. Molnupiravir gần như không tan trong dung môi MTBE, nên chúng tôi đã sử dụng MTBE để làm kết tủa molnupiravir thu được dạng tinh khiết. Phương pháp này giúp dễ dàng thu molnupiravir dạng rắn mà không cần sử dụng đến sắc ký cột. Mặt khác, do cấu trúc molnupiravir có một số nhóm thân nước là -OH và -NH nên tan được một phần trong nước. Do đó, trên thực tế khi chiết bằng hệ dung môi THF/NaCl bão hòa đã làm mất một phần sản phẩm molnupiravir trong pha nước muối. Do vậy, hiệu suất phản ứng này chưa cao.

#### KẾT LUẬN

Tổng hợp thành công molnupiravir từ nguyên liệu cytidin ở quy mô phòng thí nghiệm đạt hiệu suất 22,9% và đã thay đổi được phương pháp tinh chế,

không sử dụng sắc ký cột, giúp đơn giản hóa thao tác thực hiện, tiết kiệm thời gian và chi phí sản xuất. Cấu trúc của sản phẩm và các chất trung gian đã được chứng minh qua các phương pháp phân tích phổ IR, MS, NMR.

**Lời cảm ơn:** Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Dược Hà Nội đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tian L, Pang Z, Li M. et al. (). Molnupiravir and its antiviral activity against COVID-19. *Frontiers in Immunology*. 2022; 13:855496.
2. Painter G, Bluemling G, Natchus M, Guthrie D. *N<sup>4</sup>-Hydroxycytidine and derivatives and anti-viral uses related thereto*, *World Intellectual Property Organization*. WO2019113462A1. 2019.
3. Ahlqvist GP, McGeough CP, Senanayake C, et al. Progress toward a large-scale synthesis of molnupiravir (MK-4482, EIDD-2801) from cytidine. *ACS Omega*. 2021; 6(15):10396-10402.
4. Gopalsamuthiram V, Williams C, Noble J, et al. A concise route to MK-4482 (EIDD-2801) from Cytidine: Part 2. *Synlett*. 2021; 32(03):326-328.

5. Gopalsamuthiram V, Kadam AL, Noble JK, et al. Toward a practical, nonenzymatic process for investigational COVID-19 antiviral molnupiravir from cytidine: Supply-centered synthesis. *Organic Process Research & Development*. 2021; 25(12):2679-2685.
6. Hu T, Xie Y, Zhu F, et al. “One-pot” synthesis of molnupiravir from cytidine. *Organic Process Research & Development*. 2022; 26(2):358-364.
7. Kütt A, Selberg S, Kaljurand I, et al. pKa values in organic chemistry - Making maximum use of the available data. *Tetrahedron letters*. 2018; 59(42):3738-3748.
8. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1\\_8Diazabicyclo\\_5.4.0\\_undec-7-ene](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_8Diazabicyclo_5.4.0_undec-7-ene), truy cập 23/06/2023.
9. Chen J, Yu C, Chen C. Preparation method of 4-oxime-5'-(2-methylpropionyl) uridine. *China patent*, CN112552288A. 2021.
10. McIntosh JA, Benkovics T, Silverman SM, et al. Engineered ribosyl-1-kinase enables concise synthesis of molnupiravir, an antiviral for COVID-19. *ACS Central Science*. 2021; 7(12):1980-1985.

## NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ NANO RUTIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP KẾT TỦA TRONG DUNG MÔI

Nguyễn Thị Huyền<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Bảo Ngọc<sup>1</sup>, Vũ Thị Thu Giang<sup>2\*</sup>

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Bào chế hệ tiểu phân nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi và đánh giá một số đặc tính lý - hóa của hệ tiểu phân thu được. **Phương pháp nghiên cứu:** Ứng dụng kỹ thuật kết tủa trong dung môi để bào chế nano rutin sau đó loại dung môi bằng kỹ thuật phun sấy. Nano rutin tạo thành được đánh giá một số đặc tính như kích thước tiểu phân, chỉ số đa phân tán và thế zeta. **Kết quả:** Xây dựng thành công công thức bào chế nano rutin gồm rutin (nồng độ 10 mg/mL trong methanol), HPMC E15 (nồng độ 0,8% trong nước); chất diện hoạt là natri lauryl sulfat (NaLS, nồng độ 0,2% trong nước); tỷ lệ methanol/nước (1/10, tt/tt). Lựa chọn được một số thông số quy trình gồm tốc độ bơm dịch (120 giọt/phút), tốc độ khuấy từ (1.500 vòng/phút), thời gian khuấy (5 phút), sau đó, tiếp tục siêu âm trong 5 phút. Hệ tiểu phân nano sau khi phun sấy có dạng bột màu vàng, kích thước mịn, độ xốp cao. Sau khi phân tán lại trong nước cho kích thước tiểu phân (KTTP) là  $246,2 \pm 20,4\text{nm}$ ; chỉ số đa phân tán (PDI) là  $0,450 \pm 0,031$ ; thế zeta là  $-37,2 \pm 2,3\text{mV}$ . **Kết luận:** Bào chế được nano rutin theo phương pháp kết tủa trong dung môi và đánh giá một số đặc tính lý - hóa của tiểu phân thu được.

**Từ khóa:** Rutin; Nano; Kết tủa trong dung môi.

## PREPARATION OF RUTIN NANOPARTICLES USING ANTI-SOLVENT PRECIPITATION METHOD

### Abstract

**Objectives:** To prepare the rutin nanoparticles using the anti-solvent precipitation method and evaluate some physicochemical properties of the obtained particles.

---

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup> Trường Đại học Dược Hà Nội

\*Tác giả liên hệ: Vũ Thị Thu Giang (giangvt@hup.edu.vn)

Ngày nhận bài: 18/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.521>

**Methods:** The anti-solvent precipitation method was applied to prepare nano rutin and the solvent was removed using spray drying method. The prepared nano rutin was evaluated for some properties such as particle size, polydispersity index, and zeta potential. **Results:** The formulation of rutin nanoparticles was built, including rutin (concentration of 10 mg/mL in methanol), HPMC E15 (concentration of 0,8% in water); surfactant is sodium lauryl sulfate (NaLS, concentration 0,2% in water); methanol/water ratio (1/10, v/v). Some in-processing parameters were selected, including the fluid injection speed (120 drops/minute), the magnetic stirring speed (1500 rpm), stirring time (5 minutes); then continued sonication in 5 minutes. After spray drying, the nanoparticle was in yellow powder form with fine size and high porosity. When redispersion in water, the particle size of rutin nano was less than 250nm with the polydispersity index less than 0.5, and the zeta potential was  $-37,2 \pm 2,3\text{mV}$ . **Conclusion:** Rutin nanoparticles were successfully prepared by the anti-solvent precipitation method and evaluated some physicochemical properties of the obtained particles.

**Keywords:** Rutin; Nanoparticle; Anti-solvent precipitation.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một trong những quốc gia có lợi thế về nguồn tài nguyên cây thuốc phong phú, nhiều loài cây có hàm lượng hoạt chất cao, có giá trị kinh tế, trong đó có thể kể đến hoa hòe. Thành phần hoạt chất chính của nụ hoa hòe là flavonoid; trong đó, rutin có hàm lượng lớn nhất, đặc biệt, hàm lượng rutin trong nụ hoa hòe trồng ở nước ta có thể lên đến 20%, cho giá trị khai thác lớn hơn so với các nước khác. Tác dụng nổi bật của rutin là chống oxy hóa, ngoài ra còn giúp chống viêm, tăng độ bền thành mạch, giảm mỡ máu, hạ huyết áp... [1]. Tuy nhiên, sinh khả dụng đường uống của

rutin tương đối thấp (khoảng 20%) do hoạt chất này có khối lượng phân tử lớn và độ tan trong nước thấp (125 mg/L) [2]. Cùng với sự phát triển của công nghệ nano, nhiều hệ mang thuốc kích thước nano đã được nghiên cứu nhằm khắc phục nhược điểm và nâng cao hiệu quả sử dụng rutin như phytosome/phức hợp phospholipid, vi/nano nhũ tương, hệ tự nhũ hoá, hệ tiểu phân nano... Trong đó, hệ tiểu phân nano với các kỹ thuật bào chế như đồng nhất áp suất cao [3, 4], nghiền bi [5, 6], kết tủa trong dung môi [7]... giúp tăng đáng kể độ tan của rutin. Một số nghiên cứu trong nước về bào chế nano rutin đã được tiến hành,

tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào sử dụng phương pháp kết tủa trong dung môi. Do đó, để cải thiện độ tan, góp phần nâng cao hiệu quả sử dụng của rutin, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: *Bào chế được nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi và đánh giá một số đặc tính của sản phẩm được bào chế.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Nguyên liệu:* Rutin (hàm lượng 98%, Trung Quốc), chuẩn rutin (hàm lượng 88,2%, Viện Kiểm nghiệm Thuốc, Thành phố Hồ Chí Minh). Các nguyên liệu, hoá chất như hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) E6, polyvinyl pyrrolidon (PVP) - K30, natri lauryl sulfat (NaLS), HPMC E15, polyvinyl alcohol (PVA), Tween 80, Poloxamer 188, ethanol đạt tiêu chuẩn dược dụng, methanol, natri hydroxid (NaOH), kali dihydrophosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.

\* *Thiết bị, dụng cụ:* Thiết bị cân Sartorius (Đức), thiết bị khuấy tốc độ cao IKA RW200 (Đức), máy khuấy từ IKA-RCT (Đức), máy siêu âm Elmasonic (Đức), máy đo thế zeta và kích thước tiểu phân Horiba SZ100 (Nhật Bản), máy đo quang UV-2600

Shimadzu (Nhật Bản), máy đo độ hòa tan 708-DS Agilent (Mỹ), máy sấy phun Eyela (Nhật Bản), máy phân tích phổ hồng ngoại Agilent (Mỹ), máy phân tích nhiệt quét vi sai DSC LINSEIS (Đức), máy đo nhiễu xạ tia X D8 Advance, Bruker (Đức)...

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Phương pháp bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi:*

Dung dịch dược chất được chuẩn bị bằng cách hòa tan rutin trong 5mL dung môi hữu cơ, sau đó lọc qua màng cellulose acetat 0,45 $\mu\text{m}$  thu được dung dịch 1. Dung dịch polyme và chất điện hoạt được hòa tan trong nước rồi lọc qua màng cellulose acetat 0,45 $\mu\text{m}$  thu được dung dịch 2. Dung dịch 1 được phối hợp vào dung dịch 2 bằng cách phun bằng kim tiêm (đường kính trong 0,838mm) với tốc độ 120 giọt/phút, dưới tác động của máy khuấy từ với tốc độ 1.500 vòng/phút hoặc máy siêu âm. Hỗn hợp tạo thành được xác định KTTP, PDI và thế zeta. Tiến hành đo ba lần và lấy kết quả trung bình. Sử dụng phương pháp phun sấy để loại dung môi với các thông số: Áp suất súng phun là 10 kPa, nhiệt độ đầu vào là 160°C, tốc độ phun dịch 1.000 mL/giờ, tốc độ thổi khí là 0,4 m<sup>3</sup>/phút. Bột nano rutin được bảo quản trong bình hút ẩm ở điều kiện nhiệt độ phòng.

\* Phương pháp đánh giá nano rutin:

Hình thức: Thử bằng cảm quan để xác định màu sắc, độ mịn...

Kích thước tiểu phân và PDI: Bột nano rutin được phân tán trong nước với nồng độ thích hợp, sử dụng thiết bị Horiba SZ100 để đo KTTP, PDI và thế zeta.

Định lượng rutin bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ ở  $\lambda_{\max} = 256,5\text{nm}$ , nhóm nghiên cứu đã thẩm định phương pháp và xây dựng được phương trình đường chuẩn:  $y = 0,0335x + 0,0332$  (y là độ hấp thụ quang, x là nồng độ rutin ( $\mu\text{g/mL}$ ), mẫu trắng sử dụng là methanol) [8].

Đánh giá ảnh hưởng của tá dược tới độ hấp thụ quang của rutin bằng cách đo độ hấp thụ quang của mẫu placebo và mẫu thử ở bước sóng  $256,5\text{nm}$ , kết quả cho thấy mẫu placebo có tỷ lệ độ hấp thụ so với mẫu thử  $< 1\%$ , chứng tỏ tá dược không ảnh hưởng tới độ hấp thụ quang của rutin ở bước sóng  $256,5\text{nm}$ .

Đánh giá độ tan bão hòa: Mẫu nghiên cứu (bột nano rutin và rutin nguyên liệu) được cho một lượng dư vào môi trường nước, khuấy từ từ đến khi tan bão hòa. Sau từng khoảng thời gian xác định, lấy một thể tích dịch đem lọc qua màng  $0,45\mu\text{m}$  rồi pha loãng đến nồng độ thích hợp và đo quang phổ hấp thụ tại bước sóng

$256,5\text{nm}$ . Kết quả được xác định khi độ tan của rutin tại hai thời điểm khác nhau không quá  $5\%$ .

Đánh giá độ hòa tan của bột nano rutin: Tiến hành đánh giá độ hoà tan của rutin nguyên liệu và nano rutin trên thiết bị 708-DS Dissolution Apparatus theo phụ lục 11.4 Dược điển Việt Nam V. Điều kiện tiến hành: Thiết bị cánh khuấy với tốc độ  $100 \pm 2$  vòng/phút; nhiệt độ môi trường:  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ; mẫu thử: 50mg nguyên liệu rutin hoặc khoảng  $555,5\text{mg}$  bột nano rutin tương ứng với 50mg rutin; môi trường hòa tan: 900mL dung dịch đệm phosphat pH 6,8; thời gian lấy mẫu: 5 phút, 10 phút, 15 phút, 30 phút, 60 phút; thể tích lấy mẫu: 10mL. Mẫu sau đó được lọc qua màng cellulose acetat  $0,45\mu\text{m}$ , pha loãng tới nồng độ thích hợp rồi định lượng bằng phương pháp UV-VIS ở bước sóng  $256,5\text{nm}$ . Nồng độ rutin đã hòa tan ở lần thứ n được tính theo công thức sau:

$$C_n = C_{n0} + \sum_{t=1}^{n-1} \frac{V_0}{V} \times C_{t0}$$

Trong đó:

$C_n$ : Nồng độ rutin đã hiệu chỉnh ở lần hút thứ n ( $\mu\text{g/mL}$ ).

$C_{n0}$ : Nồng độ rutin đo được ở lần hút thứ n ( $\mu\text{g/mL}$ ).

$V_0$ : Thể tích dịch hòa tan đã hút (mL).

$V$ : Thể tích môi trường hòa tan (mL).

Phân tích nhiệt vi sai DSC: Lấy lượng mẫu khoảng 6mg cho vào đĩa nhôm dung tích 40 $\mu$ L, gia nhiệt liên tục trong điều kiện nhiệt độ quét từ 40 - 300°C, tốc độ gia nhiệt là 10°C/phút.

\* *Phương pháp đo quang phổ hồng ngoại IR*: 5 - 10mg mẫu thử được đặt

trực tiếp lên mặt của thiết bị đo. Mẫu được quét phổ trên thiết bị hồng ngoại với dải bước sóng 4000 - 400 $\text{cm}^{-1}$

\* *Phương pháp đo nhiễu xạ tia X*: Mẫu nghiên cứu được đưa vào thiết bị đo nhiễu xạ tia X với các thông số: Quét mẫu góc 5 - 50°C với tốc độ quay góc là  $\theta = 1^\circ/\text{phút}$ , nhiệt độ 25°C.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Bào chế nano rutin

\* *Khảo sát loại dung môi*: Nano rutin được bào chế bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,1g rutin (20 mg/mL) trong 5mL dung môi, dung dịch chất ổn định gồm 0,5g HPMC E15 (1%), 0,1g NaLS (0,2%) trong 50mL nước cất. Nano rutin tạo thành được đánh giá KTTP, chỉ số đa phân tán PDI, thế zeta. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1.** Đặc tính của nano rutin bào chế với các dung môi khác nhau (n = 3).

Mẫu	Dung môi	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M1	Methanol	486,9 $\pm$ 25,9	0,433 $\pm$ 0,041	-21,8 $\pm$ 0,8
M2	Ethanol	1659,6 $\pm$ 37,2	0,565 $\pm$ 0,088	-9,2 $\pm$ 0,2
M3	Methanol:Ethanol=1:1	Có tiêu phân quan sát được bằng mắt thường		

Kết quả khảo sát cho thấy, sử dụng methanol làm dung môi thu được nano rutin với KTTP và PDI thấp nhất (486,9nm và 0,433), giá trị tuyệt đối của thế zeta (21,8mV) cũng cao hơn các trường hợp còn lại. Vì vậy, methanol được lựa chọn làm dung môi hòa tan để tiếp tục nghiên cứu.

\* *Khảo sát loại polyme*: Nano rutin được bào chế bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,1g rutin (20 mg/mL) trong 5mL dung môi methanol, dung dịch chất ổn định gồm 0,5g polyme (1%), 0,1g NaLS (0,2%) trong 50mL nước cất. Kết quả thu được như trong bảng 2.

**Bảng 2.** Đặc tính của nano rutin bào chế với các polyme khác nhau (n = 3).

Mẫu	Loại polyme	KTTP (nm)	PDI	Thế Zeta (mV)
M1	HPMC E15	486,9 ± 25,9	0,433 ± 0,041	-21,8 ± 0,8
M4	HPMC E6	708,7 ± 181,7	0,674 ± 0,052	-15, ± 0,45
M5	PVP K30	598,9 ± 130,4	1,095 ± 0,054	-13,6 ± 0,8
M6	PVA	727,8 ± 184	0,965 ± 0,091	-16,7 ± 1,1

Kết quả cho thấy KTTP và PDI nhỏ nhất khi sử dụng HPMC E15 (486,9nm và 0,433). Bên cạnh đó, mẫu M1 sử dụng HPMC E15 cũng cho trị tuyệt đối thế zeta cao nhất là 21mV. Do đó, HPMC E15 được lựa chọn làm chất ổn định cho các nghiên cứu tiếp theo.

\* *Khảo sát nồng độ polyme:* Tiến hành bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,1g rutin trong 5mL dung môi methanol, dung dịch chất ổn định gồm HPMC E15 và 0,1g NaLS trong 50mL nước cất. Kết quả khảo sát các nồng độ HPMC E15 khác nhau thu được như trong bảng 3.

**Bảng 3.** Đặc tính của nano rutin bào chế với các nồng độ HPMC E15 khác nhau (n = 3).

Mẫu	Nồng độ polyme (%)	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M7	0,6	1506,9 ± 47,1	1,244 ± 0,034	-22,1 ± 0,3
M8	0,8	433,6 ± 36,9	0,456 ± 0,052	-24,7 ± 0,8
M1	1	486,9 ± 25,9	0,433 ± 0,041	-21,8 ± 0,8
M9	1,2	1920,5 ± 34,2	1,339 ± 0,034	-22,0 ± 0,5

Với nồng độ HPMC E15 là 0,8%, có thể thấy nano rutin có KTTP nhỏ nhất (433,6nm). PDI của mẫu M8 (0,8%) và M1 (1%) khá tương đồng, trong khi mẫu M7 và M9 có khoảng phân bố kích thước lớn (PDI >1). Từ kết quả thu được, lựa chọn nồng độ HPMC E15 là 0,8% để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

\* *Khảo sát nồng độ dược chất:* Nano rutin được bào chế bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm rutin trong 5mL dung môi methanol (nồng độ 5 mg/mL; 10 mg/mL; 20 mg/mL; 30 mg/mL; 50 mg/mL),

dung dịch chất ổn định gồm 0,4g HPMC E15 và 0,1g NaLS trong 50mL nước cất. Kết quả thu được như trong bảng 4.

**Bảng 4.** Đặc tính của nano rutin bào chế với các nồng độ rutin khác nhau (n = 3).

Mẫu	Nồng độ rutin (mg/mL)	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M10	5	435,0 ± 54,3	0,559 ± 0,096	-22,8 ± 0,8
M11	10	316,1 ± 19,1	0,442 ± 0,036	-41,4 ± 7,2
M8	20	433,6 ± 36,9	0,456 ± 0,052	-24,7 ± 0,8
M12	30	701,0 ± 175,3	0,591 ± 0,091	-23,9 ± 0,7
M13	50	Quan sát thấy tiểu phân bằng mắt thường		

Ở nồng độ 10 mg/mL, có thể thấy nano rutin có KTTP và PDI nhỏ nhất (316,1nm và 0,442), sau đó khi tăng nồng độ rutin thì KTTP lại tăng lên. Trong các mẫu khảo sát, trị tuyệt đối thế zeta của mẫu M11 (10 mg/mL) lớn nhất (41,4mV). Do đó, lựa chọn nồng độ rutin là 10 mg/mL để tiếp tục nghiên cứu.

\* *Khảo sát tỷ lệ dung môi hòa tan và dung môi kết tủa:* Tiến hành bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,05g rutin trong 5mL dung môi methanol (nồng độ 10 mg/mL), dung dịch chất ổn định gồm HPMC E15 0,8% và NaLS 0,2% trong nước cất. Thể tích dung môi kết tủa được khảo sát là: 25mL, 50mL, 75mL, 100mL. Kết quả thu được như trong bảng 5.

**Bảng 5.** Đặc tính của nano rutin bào chế với tỷ lệ dung môi khác nhau (n = 3).

Mẫu	Tỷ lệ dung môi hoà tan/dung môi kết tủa	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M14	1/5	2400,9 ± 44,6	0,663 ± 0,048	-31,0 ± 4,5
M11	1/10	316,1 ± 19,1	0,442 ± 0,036	-41,4 ± 7,2
M15	1/15	827,2 ± 85,3	0,637 ± 0,030	-31,6 ± 2,4
M16	1/20	1494,3 ± 75,9	0,449 ± 0,033	-36,0 ± 0,2

Như vậy, tại tỷ lệ dung môi hoà tan/dung môi kết tủa tương ứng là 1/10 nano rutin thu được có KTTP và PDI nhỏ nhất (316,1nm và 0,442). Bên cạnh đó, trị

tuyệt đối thể zeta của mẫu M11 (tỷ lệ 1/10) cũng cao nhất. Do vậy, tỷ lệ dung môi hòa tan/dung môi kết tủa là 1/10 được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

\* *Khảo sát chất điện hoạt*: Tiến hành bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,05g rutin trong 5mL dung môi methanol, dung dịch chất ổn định gồm HPMC E15 0,8% và chất điện hoạt 0,2% trong 50mL nước cất. Kết quả khảo sát các chất điện hoạt khác nhau thu được như trong bảng 6.

**Bảng 6.** Đặc tính của nano rutin bào chế với các chất điện hoạt khác nhau (n = 3).

	<b>Chất điện hoạt</b>	<b>KTTP (nm)</b>	<b>PDI</b>	<b>Thể zeta (mV)</b>
M17	NaLS ether	1045,6 ± 9,0	0,577 ± 0,042	-23,2 ± 0,8
M11	NaLS	316,1 ± 19,1	0,442 ± 0,036	-41,4 ± 7,2
M18	Poloxamer 188	616,9 ± 39,5	0,507 ± 0,069	-15,3 ± 0,2
M19	Tween 80	489,9 ± 34,4	0,583 ± 0,138	-18,7 ± 1,2

Kết quả cho thấy, việc sử dụng các chất điện hoạt khác nhau dẫn đến thay đổi về KTTP và PDI của nano rutin. Sử dụng chất điện hoạt NaLS cho nano rutin có KTTP và PDI nhỏ nhất (316,1nm và 0,442). Do đó, lựa chọn chất điện hoạt NaLS để tiếp tục nghiên cứu.

\* *Khảo sát ảnh hưởng của thiết bị phân tán*: Tiến hành bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với các thông số kỹ thuật đã lựa chọn, sử dụng các thiết bị phân tán khác nhau. Kết quả thu được như trong bảng 7.

**Bảng 7.** Đặc tính của nano rutin bào chế với các thiết bị trộn khác nhau (n = 3).

	<b>Thiết bị</b>	<b>KTTP (nm)</b>	<b>PDI</b>	<b>Thể Zeta (mV)</b>
	Khuấy từ	316,1 ± 19,1	0,442 ± 0,036	-41,4 ± 7,2
	Khuấy trộn tốc độ cao	1225,3 ± 15,5	1,372 ± 0,007	-20,5 ± 1,2
	Siêu âm	335,9 ± 124,8	0,461 ± 0,004	-30,1 ± 0,7

Số liệu thu được cho thấy, bào chế với máy khuấy từ ở tốc độ 1.500 vòng/phút và siêu âm thu được nano rutin có KTTP và PDI tương đương nhau, thấp hơn so với sử dụng máy khuấy trộn tốc độ cao. Vì vậy, lựa chọn phương pháp bào chế là khuấy từ ở tốc độ 1.500 vòng/phút trong 5 phút kết hợp với siêu âm để tiến hành nghiên cứu.

\* *Khảo sát thời gian siêu âm*: Dựa trên các thông số kỹ thuật đã lựa chọn, bào chế nano rutin trong điều kiện khuấy từ tốc độ 1.500 vòng/phút trong 5 phút, sau đó tiếp tục siêu âm trong các thời gian khác nhau. Kết quả đánh giá đặc tính nano rutin được như sau:

**Bảng 8.** Đặc tính của nano rutin khi bào chế với thời gian siêu âm khác nhau (n = 3).

Thời gian	KTTP (nm)	PDI	Thế Zeta (mV)
3 phút	525,4 ± 25,9	0,592 ± 0,117	-33,0 ± 0,1
5 phút	229,1 ± 42,2	0,439 ± 0,028	-39,1 ± 7,8
10 phút	526,2 ± 50,8	0,537 ± 0,051	25,7 ± 0,6

Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian 5 phút siêu âm cho kết quả KTTP và PDI là nhỏ nhất (230,6nm và 0,439). Vì vậy, bào chế nano rutin sử dụng khuấy từ ở tốc độ 1500 vòng/phút trong 5 phút sau đó tiếp tục siêu âm 5 phút cho nano rutin có KTTP và PDI nhỏ nhất. Từ các kết quả nghiên cứu trên, xây dựng được công thức bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với các thông số kỹ thuật: Nồng độ dung dịch rutin trong methanol là 10 mg/mL; nồng độ dung dịch HPMC E15 trong nước là 0,8%; nồng độ dung dịch NaLS trong nước là 0,2%; tỷ lệ dung môi hòa tan/dung môi kết tủa là 1/10; tốc độ tiêm bằng kim tiêm xi lanh là 120 giọt/phút; khuấy từ tốc độ 1500 vòng/phút trong 5 phút rồi siêu âm tiếp trong 5 phút.

## 2. Đánh giá một số đặc tính của nano rutin bào chế được

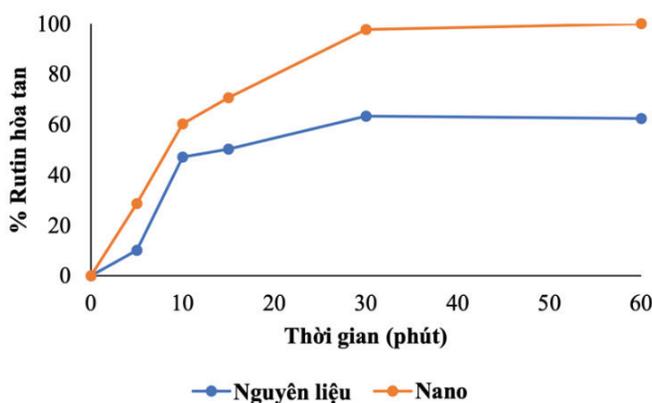
Bào chế nano rutin ở quy mô 15g rutin/mẻ (3 mẻ) bằng phương pháp kết tủa trong dung môi theo các thông số quy trình đã được lựa chọn, loại dung môi bằng phương pháp phun sấy. Nano rutin được đánh giá một số đặc tính, kết quả thể hiện như trong bảng 9, bảng 10 và hình 1.

**Bảng 9.** Đặc tính của nano rutin trước và sau khi loại dung môi (n = 3).

Chỉ tiêu	Hình thức	KTTP (nm)	PDI	Thế Zeta (mV)
Bột nano rutin phun sấy	Bột tơi mịn, màu vàng	246,2 ± 20,4	0,450 ± 0,031	- 37,2 ± 2,3
Mẫu hỗn dịch nano rutin trước khi loại dung môi		229,1 ± 42,2	0,439 ± 0,028	-39,1 ± 7,8

**Bảng 10.** Độ tan bão hoà trong nước của nano rutin so với rutin nguyên liệu (n = 3).

Mẫu thử	Độ tan bão hoà (mg/mL)
Rutin nguyên liệu	0,113 ± 0,022
Nano rutin	7,448 ± 0,265

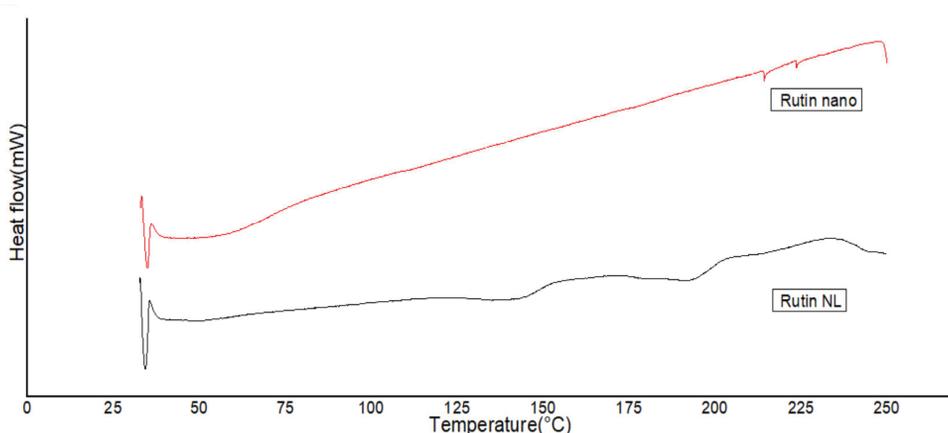


**Hình 1.** Độ hòa tan của rutin nguyên liệu và nano rutin trong môi trường pH 6,8.

Bột nano rutin thu được sau phun sấy có KTTTP, PDI và thế zeta khá tương đồng với mẫu nano trong hỗn dịch bào chế, KTTTP sau khi phun sấy lớn hơn so với trước khi phun sấy (246,2 > 229,1nm). Bào chế dạng nano làm tăng đáng kể độ tan bão hòa của rutin so với nguyên liệu (tăng gấp 65,91 lần). Độ hoà tan sau 5 phút của nano rutin gấp 2,83 lần so với dạng nguyên liệu (28,69% so với 10,12%). Ở thời điểm 60 phút, độ hoà tan của rutin nguyên liệu là 62,42%, trong khi

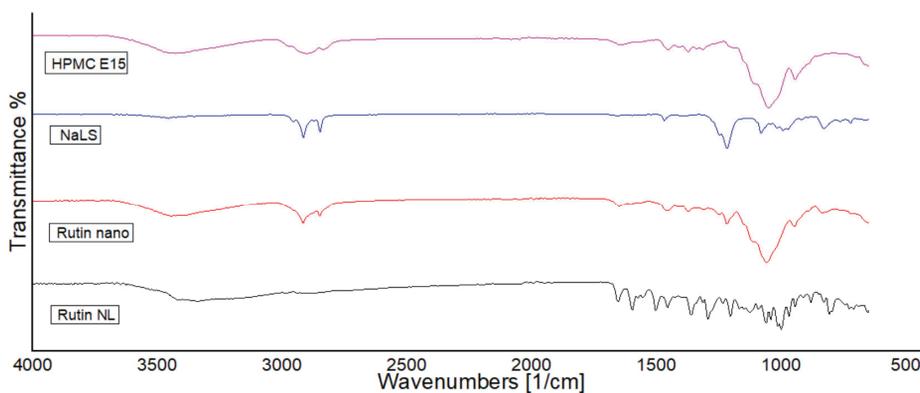
nano rutin đã giải phóng gần như hoàn toàn (100%). Điều này chứng tỏ nano rutin có khả năng giải phóng trong môi trường pH 6,8, cao hơn đáng kể so với dạng nguyên liệu.

Phân tích nhiệt vi sai (DSC): Từ hình ảnh phổ DSC nhận thấy rutin nguyên liệu có pic nhiệt ở 183 - 194°C, đây chính là điểm nóng chảy của nguyên liệu. Tuy nhiên, phổ của nano rutin bị mất các pic ở khoảng nhiệt độ này, chứng tỏ rutin gần như đã chuyển từ trạng thái tinh thể sang trạng thái vô định hình.



**Hình 2.** Phổ DSC của rutin nguyên liệu và bột nano rutin.

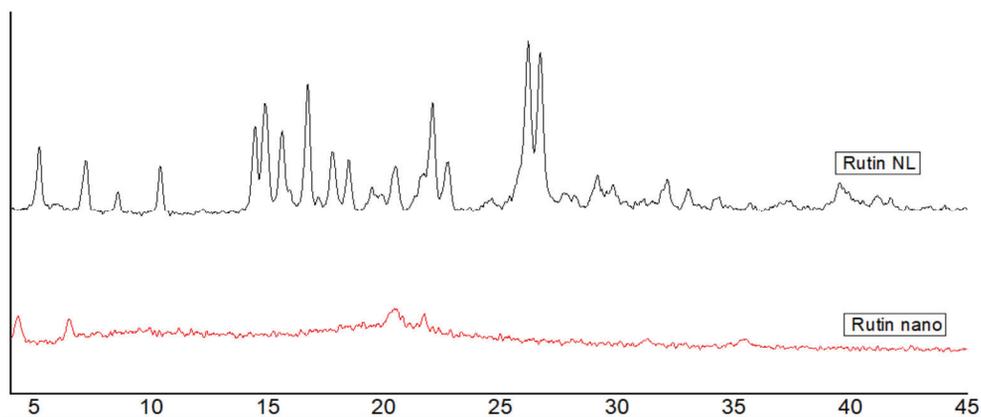
Phổ hồng ngoại (FTIR) của rutin nguyên liệu có đỉnh hấp thụ đặc trưng tại các số sóng  $3420,96\text{cm}^{-1}$  (liên kết O-H),  $1293,67\text{cm}^{-1}$  (liên kết C-O-C),  $1651\text{cm}^{-1}$  (liên kết C=O) và  $1594,91\text{cm}^{-1}$  (liên kết C=C). Kết quả phân tích cho thấy phổ hồng ngoại của nano rutin khá tương đồng với phổ của HPMC E15 và NaLS, khác biệt với phổ của rutin nguyên liệu. Điều này có thể do hàm lượng rutin trong hệ nano tương đối thấp so với HPMC E15 và NaLS, dẫn đến đỉnh hấp thụ đặc trưng của rutin bị che khuất bởi đỉnh hấp thụ của hai tá dược này. Qua phân tích phổ hồng ngoại, chưa thấy rõ được tương tác giữa dược chất và tá dược trong quá trình bào chế.



**Hình 3.** Phổ FTIR của rutin nguyên liệu, nano rutin và tá dược.

Phổ nhiễu xạ tia X: Rutin nguyên liệu có nhiều pic nhiễu xạ với các đỉnh pic đặc trưng tại các vị trí ( $14,8^\circ$ ;  $16,2^\circ$ ;  $26^\circ$ ), chứng tỏ rutin nguyên liệu tồn tại ở

trạng thái tinh thể và có độ tinh khiết cao. Ở hệ nano, các đỉnh đặc trưng của nano rutin đã bị biến mất ở khoảng vùng này. Hiện tượng này cũng tương tự như kết quả ở giản đồ DSC, các kết quả này đều chứng minh rằng trạng thái kết tinh của nguyên liệu đã chuyển sang dạng vô định hình trong quá trình kết tủa và phun sấy.



**Hình 4.** Phổ nhiễu xạ tia X của nano rutin và rutin nguyên liệu.

### BÀN LUẬN

Rutin là một hợp chất với nhiều tác dụng dược lý và tiềm năng khai thác tốt, do đó một số nghiên cứu trong nước và trên thế giới về bào chế dạng nano để cải thiện sinh khả dụng của rutin đã được tiến hành. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp kết tủa trong dung môi, là phương pháp tương đối đơn giản, không yêu cầu các thiết bị phức tạp, dễ dàng tạo ra tiểu phân có kích thước cỡ nano. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sử dụng dung môi hòa tan là methanol và tỷ lệ dung môi hòa tan/dung môi kết tủa là 1/10 cho nano rutin có KTTP và PDI nhỏ nhất, tương

đồng với nghiên cứu của Sonia Gera và CS [9]. Hỗn dịch nano là hệ phân tán không ổn định về mặt nhiệt động và có thể dẫn đến sự kết tụ của các hạt, do đó, cần có chất ổn định để duy trì độ ổn định vật lý. HPMC E15 có ái lực cao và có thể dễ dàng hấp phụ trên bề mặt dược chất, ngăn cản sự kết tụ dược chất; vì vậy, sử dụng HPMC E15 cho hỗn dịch nano rutin có KTTP nhỏ nhất trong các polyme khảo sát. Nồng độ HPMC E15 sử dụng là 0,8%, khá tương đồng với nghiên cứu của Sonia Gera và CS [9] sử dụng HPMC E15 (1%). Kết quả nghiên cứu tạo ra nano rutin có KTTP ( $246,2 \pm 20,4$ nm) và

PDI ( $0,450 \pm 0,031$ ), cao hơn so với nghiên cứu của Sonia Gera (KTTP là  $122,85 \pm 5,02\text{nm}$  và PDI là  $0,12 \pm 0,02$ ). Điều này có thể do nghiên cứu của Sonia Gera có sự kết hợp của HPMC E15 với chất diện hoạt sodium dodecyl sulphat và chất ổn định là lecithin đậu nành. Nghiên cứu sử dụng phương pháp phun sấy để loại dung môi, ngoài ra, cũng có thể sử dụng phương pháp đông khô, tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi thiết bị chuyên dụng.

### KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã bào chế thành công nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi. Công thức bào chế gồm rutin (nồng độ  $10 \text{ mg/mL}$  trong methanol), HPMC E15 (nồng độ  $0,8\%$  trong nước); chất diện hoạt là natri laurylsulfat (nồng độ  $0,2\%$  trong nước); tỷ lệ methanol/nước ( $1/10$ , tt/tt). Khảo sát và lựa chọn được một số thông số kỹ thuật gồm: Tốc độ bơm dịch  $120 \text{ giọt/phút}$ , tốc độ khuấy từ  $1500 \text{ vòng/phút}$ , thời gian khuấy  $5 \text{ phút}$ , sau đó tiếp tục siêu âm trong  $5 \text{ phút}$ . Thông số quy trình phun sấy để bào chế bột nano rutin gồm: Áp suất súng phun  $10\text{kPa}$ , nhiệt độ đầu vào  $160^\circ\text{C}$ , tốc độ phun dịch  $1.000 \text{ mL/giờ}$ , tốc độ thổi khí  $0,4 \text{ m}^3/\text{phút}$ .

Đã đánh giá được các đặc tính lý hoá của nano rutin bào chế gồm hình thức (bột toi mịn, màu vàng), KTTP ( $246,2 \pm 20,4\text{nm}$ ), PDI ( $0,450 \pm 0,031$ ), thế zeta ( $-37,2 \pm 2,3\text{mV}$ ). Bột nano rutin thu được có độ tan bão hoà trong nước gấp  $65,91$  lần so với dạng nguyên liệu. Trong môi trường pH  $6,8$ , rutin giải phóng hầu như hoàn toàn từ hệ tiểu phân nano sau  $60 \text{ phút}$ , cao hơn  $1,6$  lần so với rutin nguyên liệu. Phân tích nhiệt vi sai DSC và phổ nhiễu xạ tia X của bột nano thu được cho thấy rutin tồn tại chủ yếu ở trạng thái vô định hình.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gullón B, et al. Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in Food Science & Technology*. 2017; 67:220-235.
2. Manach C, et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr*. 2005; 81(1 Suppl):230-242.
3. Mauludin R, RH Müller, and CM Keck. Development of an oral rutin nanocrystal formulation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009; 370(1-2):202-209.

4. Phan Nguyễn Quỳnh Anh. Nghiên cứu tạo hệ nano từ rutin. *Trường Đại học Bách Khoa. Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh*. 2017.
5. Liu T, et al. Preparation nanocrystals of poorly soluble plant compounds using an ultra-small-scale approach. *Aaps Pharmscitech*. 2017; 18(7):2610-2617.
6. Mai Thị Thảo. Bào chế bột nano rutin bằng kỹ thuật nghiền bi. *Trường Đại học Y Dược. Đại học Quốc gia Hà Nội*. 2019.
7. Zhao X, et al. Development of silymarin nanocrystals lyophilized power applying nanosuspension technology. *China Journal of Chinese Materia Medica*. 2009; 34(12):1503-1508.
8. Nguyễn Thị Bảo Ngọc. Nghiên cứu bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi. *Khoá luận tốt nghiệp đại học ngành dược học. Trường Đại học Y Dược. Đại học Quốc gia Hà Nội*. 2022.
9. Gera, S., et al. Rutin nanosuspension for potential management of osteoporosis: effect of particle size reduction on oral bioavailability, *in vitro* and *in vivo* activity. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2020; 25(8):971-988.

**PHÂN TÍCH DANH MỤC THUỐC ĐƯỢC SỬ DỤNG  
TẠI BỆNH VIỆN QUÂN Y 354 NĂM 2020**

*Lê Ngọc Hiếu<sup>1\*</sup>, Nguyễn Văn Bình<sup>1</sup>, Phạm Huy Thông<sup>1</sup>, Trịnh Anh Đức<sup>1</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Mô tả cơ cấu và phân tích danh mục thuốc (DMT) được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020 để xây dựng DMT hợp lý, an toàn và hiệu quả. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu mô tả cắt ngang dựa trên DMT đã trúng thầu và đưa vào sử dụng. Số liệu phân tích gồm nhóm tác dụng dược lý (TDDL), phân tích ABC, phân tích VEN, phân tích kết hợp ABC/VEN. **Kết quả:** Cơ cấu DMT được sử dụng gồm thuốc tân dược chiếm 96,16% giá trị. Nhóm thuốc tim mạch được sử dụng nhiều nhất, chiếm 27,11% tổng giá trị. Dạng bào chế sử dụng nhiều nhất là đường uống chiếm 61,4% số khoản (SKM). Tỷ lệ thuốc nhập khẩu chiếm 51,85%, giá trị sử dụng là 68,54%. Phân tích ABC/VEN: Nhóm AE: 11,54% SKM tương ứng 47,75% giá trị, nhóm AN: 2,42% SKM tương ứng 7,6% giá trị. Một số tồn tại: Thuốc không sử dụng chiếm 11,7% SKM, thuốc được sử dụng dưới 80% chiếm 47,55% SKM, thuốc được sử dụng trên 120% chiếm 5,66% SKM. Thuốc chống rối loạn tâm thần và thuốc tác động lên hệ thần kinh trong nhóm AN chiếm giá trị lớn nhất (galantamine 5 mg/mL). **Kết luận:** Cần phải xây dựng kế hoạch dự trữ thuốc hợp lý, hiệu quả phù hợp thực tế. Thuốc cần được đánh giá tính hiệu quả và chi phí để loại bỏ hoặc hạn chế: Galantamine 5 mg/mL.

**Từ khoá:** Danh mục thuốc; Bệnh viện Quân y 354; Phân tích ABC; Phân tích VEN; Phân tích kết hợp ABC/VEN.

---

<sup>1</sup>Khoa Dược, Bệnh viện Quân y 354

\*Tác giả liên hệ: Lê Ngọc Hiếu (Inhieu354@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 18/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 19/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.522>

**ANALYSIS OF THE LIST OF DRUGS IN USE  
AT THE 354 MILITARY HOSPITAL IN 2020**

**Abstract**

**Objectives:** To describe the list of drugs in use at the 354 Military Hospital in 2020 to develop a reasonable, safe, and effective drug list. **Methods:** A retrospective, cross-sectional descriptive study on the list of bid-winning drugs and drugs in use. Data analysis consist of the pharmacological group analysis, ABC analysis, VEN analysis, and ABC/VEN combined analysis. **Results:** The list of drugs in use includes conventional drugs accounted for 96.16% of the value. Cardiovascular drugs were the most commonly used drugs, accounting for 27.11%. The most commonly used dosage was oral dosage accounting for 61.4% item numbers (INs). Imported drugs accounted for 51.85% (INs) and 68.54% of the use value. ABC/VEN analysis: The group of AE: 11.54% (INs), equivalent to 47.75% of the value; the AN group: 2.42% (INs), equivalent to 7.6% of the value. Some shortcomings: Unused drugs accounted for 11.7% INs, 47.55% (INs) were used less than 80%, 5.66% (INs) were used over 120%. Antipsychotic drugs and drugs acting on the nervous system in the AN group accounted for the greatest value (galantamine 5 mg/mL). **Conclusion:** The Drugs and Treatment Council needs to develop a more accurate contingency plan based on actual needs. The drug needed to evaluate the effectiveness and cost to eliminate the short commings: Galantamine 5 mg/mL.

**Keywords:** Drugs list; 354 Military Hospital; ABC analysis; VEN analysis; ABC/VEN analysis

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

Xây dựng DMT là vấn đề rất quan trọng với các cơ sở khám chữa bệnh, có một DMT tốt sẽ định hướng cho

việc sử dụng thuốc hợp lý an toàn, hiệu quả và kinh tế của bệnh viện. Trên thực tế, việc lựa chọn một DMT đáp ứng được yêu cầu về chuyên môn và

đạt được hiệu quả - chi phí gặp rất nhiều khó khăn. Các thống kê cho thấy tổng giá trị chi phí thuốc được sử dụng tại các bệnh viện chiếm tỷ trọng lớn trên tổng giá trị viện phí trong bệnh viện. Những loại thuốc chưa phù hợp với nhu cầu điều trị có một phần do công tác cung ứng thuốc chưa thực sự tốt. Thị trường thuốc ngày càng phong phú cả về số lượng và chủng loại cũng là cơ hội đồng thời là thách thức cho các Hội đồng Thuốc và Điều trị (HĐT&ĐT) trong việc lựa chọn xây dựng được một DMT thực sự hiệu quả. Để giải quyết các vấn đề bất cập trên, DMT của cơ sở khám chữa bệnh phải đáp ứng được yêu cầu đủ về chủng loại, số lượng và khả năng sẵn có trong bối cảnh nhiều biến động về mô hình bệnh tật, khả năng cung ứng của các đơn vị, các văn bản pháp quy và nguồn kinh phí. Thông qua phân tích các vấn đề liên quan đến DMT được sử dụng để tìm nguyên nhân và vấn đề tồn tại nhằm rút ra kinh nghiệm cho việc xây dựng DMT trong những năm tiếp theo.

Tại Bệnh viện Quân 354 việc xây dựng DMT luôn được HĐT&ĐT quan tâm và chỉ đạo kịp thời. Xuất phát từ yêu cầu thực tế đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài nhằm xác định những vấn đề hợp lý, vấn đề tồn tại, phát sinh của DMT được sử dụng, làm cơ sở cho HĐT&ĐT xây dựng, lựa chọn DMT năm tiếp theo đáp ứng cho nhu cầu sử dụng thuốc hợp lý, an toàn và hiệu quả. Để đạt được mục đích đó, đề tài đã phân tích DMT với hai mục tiêu: *Mô tả cơ cấu DMT đã sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020; phân tích một số tồn tại trong DMT được sử dụng tại bệnh viện năm 2020.*

## **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1. Đối tượng nghiên cứu**

\* *Đối tượng nghiên cứu:* DMT trúng thầu, DMT trúng thầu được sử dụng của Bệnh viện Quân y 354 năm 2020.

\* *Thời gian, địa điểm nghiên cứu:* Từ tháng 11/2019 - 12/2020 tại Bệnh viện Quân y 354.

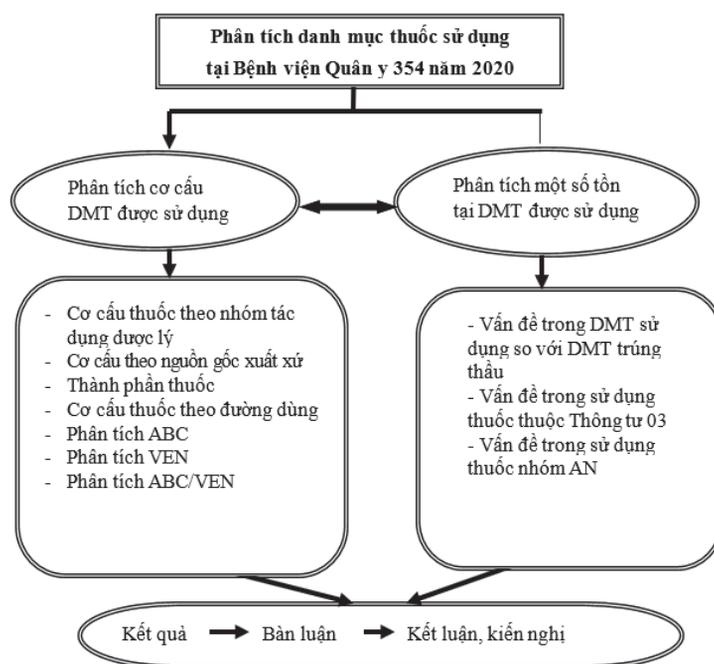
\* *Tiêu chuẩn lựa chọn*: Toàn bộ DMT được sử dụng năm 2020.

\* *Tiêu chuẩn loại trừ*: Các loại thuốc y học cổ truyền, thuốc tự pha chế tại bệnh viện, thuốc dịch vụ y tế.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Thiết kế nghiên cứu*: Nghiên cứu hồi cứu mô tả cắt ngang.

Nội dung nghiên cứu được tóm tắt trong hình 1.



**Hình 1.** Tóm tắt nội dung nghiên cứu.

\* *Xác định biến số nghiên cứu (chỉ tiêu nghiên cứu)*: Nội dung nghiên cứu theo mục tiêu 1 của đề tài, xác định các biến số nghiên cứu được trình bày trong bảng 1. Nội dung các biến số nghiên cứu theo mục tiêu 2 được trình bày trong bảng 2

\* *Phương pháp phân tích số liệu*:

- Phương pháp tính tỷ trọng: Tính tỷ lệ phần trăm của giá trị số liệu của đối tượng nghiên cứu trên tổng số.

- Phương pháp phân tích nhóm TDDL: Theo phân loại của Thông tư 30/2018/TT-BYT.

- Phương pháp phân tích ABC, VEN, kết hợp ABC/VEN: HĐT&ĐT phân loại theo Hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới.

**Bảng 1.** Các biến số nghiên cứu cho mục tiêu 1.

STT	Tên biến (chỉ tiêu)	Khái niệm/Định nghĩa	Giá trị biến (Biến phân loại)	Cách thức thu thập
1	Nhóm thuốc	Thuốc theo nhóm căn cứ thông tư 30/2018/TT-BYT ngày 17/11/2014, Thông tư 05/2015/TT-BYT ngày 17/3/2015	1 = Thuốc tân dược 2 = Thuốc đông y, thuốc từ dược liệu	Báo cáo sử dụng
2	Nhóm TDDL	Nhóm TDDL căn cứ (Thông tư 30/2018/TT-BYT)	27 nhóm TDDL	Báo cáo sử dụng
3	Nguồn gốc xuất xứ	Thuốc theo nguồn gốc xuất xứ căn cứ theo số đăng ký của thuốc để chia thuốc thành hai loại: Thuốc có nguồn gốc SXTN: Do các công ty dược phẩm/liên doanh tại Việt Nam sản xuất Thuốc NK: Do các công ty nước ngoài sản xuất	1 = Thuốc có nguồn gốc sản xuất trong nước (SXTN) 2 = Thuốc nhập khẩu (NK)	Báo cáo sử dụng
4	Thuốc được sử dụng theo gói thầu (Căn cứ Thông tư 15/2019/T T - BYT)	Thuốc biệt dược gốc là thuốc đầu tiên được cấp phép lưu hành trên cơ sở đã có đầy đủ dữ liệu về chất lượng, an toàn và hiệu quả Thuốc generic là thuốc có cùng dược chất, hàm lượng, dạng bào chế với biệt dược gốc và thường được sử dụng thay thế biệt dược gốc	1 = Thuốc biệt dược 2 = Thuốc generic	Báo cáo sử dụng
5	Đường dùng	Các nhóm thuốc theo đường dùng: Tiêm truyền, đường uống, đường dùng khác	1 = Thuốc dùng đường tiêm 2 = Thuốc dùng đường uống 3 = Thuốc có đường dùng khác	Báo cáo sử dụng
6	Thuốc theo nhóm VEN	Căn cứ DMT VEN được khoa Dược thông qua HĐT&ĐT. Thuốc nhóm V: Sống còn, thuốc nhóm E: Thiết yếu, thuốc nhóm N: Không thiết yếu	1 = Thuốc nhóm V 2 = Thuốc nhóm E 3 = Thuốc nhóm N	Báo cáo sử dụng; DMT VEN
7	Cơ cấu mua sắm	Căn cứ vào quyết định phê duyệt DMT trúng thầu năm 2020. Thuốc mua theo đấu thầu trong danh mục trúng thầu	1 = Thuốc mua theo đấu thầu 2 = Mua theo hình thức khác	Báo cáo sử dụng; DMT trúng thầu

**Bảng 2.** Các biến số nghiên cứu cho mục tiêu 2.

TT	Tên biến (chỉ tiêu)	Khái niệm/Định nghĩa	Phân loại biến	Cách thức thu thập
1	Biệt dược gốc hết hạn bảo hộ có thể thay thế được	Thuốc biệt dược gốc có thể thay thế bằng thuốc generic nhóm 1 trong DMT trúng thầu	Biến phân loại: 1 = Thuốc biệt dược gốc thay thế được; 2 = Thuốc biệt dược gốc không thay thế	Báo cáo sử dụng; DMT trúng thầu
2	Thuốc nhập khẩu có thể thay thế	Thuốc NK có thể thay thế bằng thuốc SXTN trong DMT trúng thầu có chi phí thấp hơn	Biến phân loại: 1 = Thuốc NK thay thế được 2 = Thuốc NK không thay thế	Báo cáo sử dụng; DMT trúng thầu

### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 1. Mô tả cơ cấu DMT được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020

Cơ cấu DMT theo thuốc tân dược và thuốc cổ truyền, thuốc dược liệu: Thuốc tân dược chiếm tỷ lệ cao trong DMT được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 (95,30%) khoản mục tương ứng với 96,16% tổng giá trị sử dụng. Thuốc cổ truyền, thuốc dược liệu chiếm 4,7% ứng với 3,84% giá trị.

**Bảng 3.** Cơ cấu DMT theo thuốc tân dược và thuốc cổ truyền, thuốc dược liệu.

TT	Loại thuốc	Danh mục thuốc		Giá trị sử dụng	
		Số khoản mục	Tỷ lệ (%)	Giá trị (triệu đồng)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc tân dược	669	95,3	94.251	96,16
2	Thuốc cổ truyền, thuốc dược liệu	33	4,7	3.762	3,84
	Tổng	702	100	98.014	100

Cơ cấu DMT được sử dụng theo nhóm TDDL: DMT được sử dụng tại bệnh viện năm 2020 là 702 khoản mục. Trong đó, nhóm thuốc tim mạch với 124 khoản mục (17,66%) có giá trị sử dụng lớn nhất chiếm tỷ lệ 27,11% tổng chi phí

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

tiền thuốc. Thứ hai là nhóm thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn với 108 khoản mục (15,38%) chiếm 23,38% giá trị. Tiếp theo là nhóm thuốc hormone và các thuốc tác động vào hệ thống nội tiết với 65 khoản mục (9,26%) chiếm 14,43% tổng giá trị.

**Bảng 4.** Tỷ lệ thuốc được sử dụng theo nhóm TDDL.

TT	Nhóm tác dụng dược lý	Số khoản mục	Tỷ lệ (%)	Giá trị (triệu đồng)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc tim mạch	124	17,66	26.196	26,73
2	Thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn	108	15,38	22.976	23,44
3	Hormone và các thuốc tác động vào hệ thống nội tiết	65	9,26	14.143	14,43
4	Thuốc đường tiêu hóa	67	9,54	7.972	8,13
5	Thuốc chống rối loạn tâm thần và thuốc tác động lên hệ thần kinh	46	6,55	5.547	5,66
6	Thuốc cổ truyền, thuốc dược liệu thuộc TT05	33	4,70	3.763	3,84
7	Dung dịch điều chỉnh nước, điện giải, cân bằng acid-base và các dung dịch tiêm truyền khác	38	5,41	3.653	3,73
8	Thuốc tác dụng đối với máu	22	3,13	3.303	3,37
9	Thuốc giảm đau, hạ sốt; chống viêm NSAID; thuốc điều trị gút và các bệnh xương khớp	35	4,99	2.601	2,65
10	Thuốc tác dụng trên đường hô hấp	23	3,28	1.321	1,35
11	Khoáng chất và vitamin	14	1,99	993	1,01
12	Thuốc điều trị bệnh mắt, tai mũi họng	19	2,71	991	1,01
13	Các nhóm TDDL khác	108	15,37	4.488	4,5
	<b>Tổng</b>	<b>702</b>	<b>100</b>	<b>98.014</b>	<b>100</b>

Cơ cấu DMT được sử dụng theo nguồn gốc xuất xứ: Tỷ lệ thuốc nhập khẩu, thuốc SXTN về SKM là 364/338 tương đương 51,85%/48,15%. Về giá trị sử dụng là 68,54%/31,46%. Giá trị sử dụng thuốc nhập khẩu gấp 2 lần thuốc SXTN.

**Bảng 5.** Tỷ lệ thuốc sản xuất trong nước, thuốc nhập khẩu.

TT	Loại thuốc	Số khoản mục	Tỷ lệ (%)	Giá trị (triệu đồng)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc SXTN	338	48,15	30.834	31,46
2	Thuốc NK	364	51,85	67.180	68,54
	Tổng	702	100	98.014	100

Cơ cấu DMT được sử dụng theo đường dùng: Trong tổng 702 SKM, thuốc dùng đường tiêm truyền là 203 SKM (37,45% tổng giá trị sử dụng), thuốc dùng đường uống chiếm là 431 SKM (59,80% giá trị), đường dùng khác là 68 SKM (2,75% giá trị).

**Bảng 6.** Tỷ lệ thuốc đường tiêm, uống, đường dùng khác.

TT	Đường dùng	Số khoản mục	Tỷ lệ (%)	Giá trị (triệu đồng)	Tỷ lệ (%)
1	Đường uống	431	61,40	58.609	59,80
2	Đường tiêm, tiêm truyền	203	28,92	36.705	37,45
3	Đường dùng khác	68	9,69	2.699	2,75
	Tổng	702	100	98.014	100

Cơ cấu DMT được sử dụng theo phân tích ABC: Kết quả cho thấy, các thuốc hạng A gồm 138 thuốc chiếm 19,66% SKM (78,76% tổng giá trị sử dụng) là hợp lý, còn lại là các thuốc hạng B chiếm 140 SKM và hạng C, chiếm 424 SKM (14,79% và 6,45% tổng giá trị sử dụng).

**Bảng 7.** Tỷ lệ thuốc hạng A, B, C.

	Số khoản mục	Tỷ lệ (%)	Giá trị (triệu đồng)	Tỷ lệ (%)
Nhóm A	138	19,66	77.194	78,76
Nhóm B	140	19,94	14.496	14,79
Nhóm C	424	60,40	6.324	6,45
Tổng	702	100	98.014	100

**Bảng 8.** Tỷ lệ thuốc nhóm V, E, N.

	Số khoản mục	Tỷ lệ (%)	Giá trị (triệu đồng)	Tỷ lệ (%)
Nhóm V	186	26,50	28.305	28,88
Nhóm E	420	59,83	59.239	60,44
Nhóm N	96	13,68	10.470	10,68
Tổng	702	100	98.014	100

Cơ cấu DMT được sử dụng theo nhóm V, E, N: Nhóm V có 186 thuốc chiếm 26,50% danh mục (28,88% tổng giá trị sử dụng). Nhóm N có 96 thuốc chiếm 13,68% danh mục (10,68% tổng giá trị sử dụng) và còn lại là nhóm E.

**Bảng 9.** Tỷ lệ các nhóm thuốc theo ma trận ABC/VEN.

Hạng/ Nhóm thuốc	Số khoản mục	Tỷ lệ (%)	Giá trị (triệu đồng)	Tỷ lệ (%)
A	V	40	22.948	23,41
	E	81	46.797	47,75
	N	17	7.449	7,60
B	V	38	3.669	3,74
	E	83	8.597	8,77
	N	19	2.230	2,28
C	V	108	1.688	1,72
	E	256	3.845	3,92
	N	60	791	0,81
Tổng	702	100	98.014	100

Cơ cấu DMT được sử dụng theo phân tích ABC/VEN: Nhóm AV có 40 thuốc (chiếm 5,70% danh mục) với giá trị gần 23 tỷ VNĐ (23,41% tổng giá trị sử dụng). Nhóm AN có 17 thuốc chiếm 2,42% danh mục (7,60% tổng giá trị sử dụng).

**2. Phân tích một số tồn tại trong DMT được sử dụng tại bệnh viện năm 2020**

- Vấn đề trong DMT được sử dụng so với DMT trúng thầu: Trong số 795 thuốc trúng thầu năm 2020, có 93 thuốc không được sử dụng (11,70% danh mục trúng thầu) và 702 thuốc có sử dụng (88,30% danh mục trúng thầu). Trong 702 thuốc được sử dụng có 45 thuốc sử dụng trên 120% so với danh mục trúng thầu. SKM thuốc được sử dụng 88,30% là tương đối sát, tuy nhiên, số thuốc được sử dụng trên 120% vẫn cao.

- Bất cập trong sử dụng DMT theo Thông tư 03: 114 thuốc nhập khẩu có hoạt chất trong danh mục theo thông tư 03 (20,51% tổng DMT được sử dụng tương ứng với 29,74% tổng giá trị sử dụng), 159 thuốc SXTN có hoạt chất trong danh mục theo thông tư 03 (22,65% tổng DMT được sử dụng tương ứng với 12,09% tổng giá trị sử dụng).

Kết quả phân tích có 5 thuốc NK (có hoạt chất thuộc DM TT03) có hàng SXTN (cùng hoạt chất, nồng độ, hàm lượng và đường dùng) có giá trị sử dụng cao nhất nếu thay thế bằng thuốc SXTN có thể tiết kiệm được 3,56% tổng giá trị sử dụng thuốc (*Bảng 10*).

**Bảng 10.** Danh mục 5 hoạt chất của thuốc nhập khẩu được sử dụng nhiều nhất có thể thay thế được.

TT	Tên hoạt chất	Nồng độ, hàm lượng (mg)	Đường dùng	Số lượng sử dụng	Chênh lệch giá	Chênh lệch (nghìn đồng)	Tỷ lệ (%)
1	Bisoprolol	5	Uống	268.578	3.340	897.050	0,92
2	Fenofibrat	200	Uống	109.551	6.633	726.651	0,74
3	Gliclazid	30	Uống	482.165	1.580	761.820	0,78
4	Metformin	500	Uống	387.619	1.430	554.295	0,57
5	Trimetazidin	35	Uống	253.260	2.180	552.106	0,56
6	Các thuốc còn lại					94.522.862	96,44
	Tổng					98.014.787	100

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

- Bất cập trong sử dụng nhóm thuốc AN:

**Bảng 11.** Tỷ lệ từng nhóm TDDL trong nhóm AN.

TT	Nhóm tác dụng dược lý	Số khoản mục	Tỷ lệ (%)	Giá trị (đồng)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc chống rối loạn tâm thần và thuốc tác động lên hệ thần kinh	4	23,53	2.904.232.900	38,99
2	Thuốc cổ truyền, thuốc dược liệu	6	35,29	2.121.489.201	28,48
3	Khoáng chất và vitamin	2	11,76	728.240.320	9,78
4	Thuốc giảm đau, hạ sốt; chống viêm không steroid; thuốc điều trị gút và các bệnh xương khớp	1	5,88	498.172.500	6,69
5	Thuốc điều trị bệnh mắt, tai mũi họng	1	5,88	381.934.864	5,13
6	Thuốc tác dụng đối với máu	1	5,88	370.491.000	4,97
7	Thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn	1	5,88	241.191.000	3,24
8	Thuốc đường tiêu hóa	1	5,88	203.598.360	2,73
	Tổng	17	100,00	7.449.350.145	100

Tổng giá trị sử dụng của nhóm thuốc AN là hơn 7,4 tỷ với 17 SKM, hai nhóm thuốc chống rối loạn tâm thần và thuốc cổ truyền, thuốc dược liệu có giá trị sử dụng nhiều nhất lần lượt là 2,9 tỉ đồng (38,99%) và 2,1 tỉ đồng (28,48%). Trong đó, giá trị sử dụng nhiều nhất là thuốc galantamin 5 mg/mL, chiếm 16,82% tổng giá trị sử dụng của các thuốc nhóm AN.

## BÀN LUẬN

### 1. Cơ cấu DMT được sử dụng tại bệnh viện

\* *Kinh phí sử dụng thuốc và DMT được sử dụng:*

Năm 2020, tổng chi phí sử dụng thuốc tại Bệnh viện Quân y 354 là 98.014 triệu đồng cho các đối tượng bệnh nhân: Bảo hiểm y tế, Bảo hiểm Quốc phòng (bộ đội và thân nhân). Với chức năng là bệnh viện đa khoa hạng I, có 600 giường bệnh nội trú và hàng ngày khám cho khoảng 1.000 bệnh nhân ngoại trú. Kinh phí sử dụng thuốc giảm so với năm 2017 tại bệnh viện là 106.703 triệu đồng [8], do ảnh hưởng của dịch COVID-19 nên bệnh viện giảm thu dung điều trị nội trú. So với các bệnh viện đa khoa hạng I, tại Bệnh viện Đa khoa Hà Tĩnh (2016) là 79 tỷ [7]; như vậy, kinh phí sử dụng thuốc của Bệnh viện Quân y 354 ở mức trung bình.

DMT được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020 gồm 702 khoản mục trong đó có 669 thuốc tân dược, gồm 27 nhóm TDDL theo Thông tư 30 và 33 khoản mục thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền theo Thông tư 05 [3, 4]. Cao hơn so với DMT bệnh viện năm 2017 (606 SKM) [8], cao hơn nghiên cứu của Đặng Thu Hương tại Bệnh viện Quân y 7B (2015) là 394 SKM [9], thấp hơn trong nghiên cứu

của Bùi Hoàng Dương ở Bệnh viện Đa khoa Hà Tĩnh (2016) là 888 SKM [7]. Về cơ cấu thuốc tân dược và thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền có tỷ lệ SKM là 95,3% và 4,7% tương ứng giá trị sử dụng là 96,16% và 3,84%. Điều này cũng hoàn toàn hợp lý, thể hiện sự cân nhắc kê đơn thuốc của Khoa Y học dân tộc và phòng khám ngoại trú không kê nhiều thuốc có tính hỗ trợ điều trị như các thuốc thuộc nhóm thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền. Tỷ lệ giá trị sử dụng này cũng tương ứng với Bệnh viện Đa khoa Hà Tĩnh (2016) là 2,87% [7].

\* *Thuốc được sử dụng theo nhóm TDDL:*

Với mô hình bệnh tật của Bệnh viện Quân y 354 năm 2020, bệnh nhiễm trùng, nhiễm ký sinh trùng chiếm tỷ lệ cao nhất (21,31%), sau đó đến các bệnh của hệ tuần hoàn (14,5%), tiếp đến nhiều mặt bệnh phong phú khác. Do đó, đề tài phân tích DMT có đầy đủ các nhóm TDDL theo cơ cấu của một bệnh viện đa khoa với nhiều đối tượng bệnh nhân và thực hiện nhiều nhiệm vụ khác nhau của một bệnh viện quân đội. Nhóm thuốc tim mạch có giá trị sử dụng lớn nhất (27,11%), tiếp theo là nhóm thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn (23,38%), điều này hoàn toàn phù hợp với mô hình bệnh tật của bệnh viện. Tại Bệnh viện Quân y 354, điều trị phần lớn đối tượng bệnh

nhân bảo hiểm y tế (khoảng 80%) trong đó phần lớn là thẻ hưu trí. Do người cao tuổi chiếm tỷ lệ cao, dễ bị các bệnh mạn tính như tim mạch, đái tháo đường và bệnh nhiễm khuẩn... do đó, bệnh nhân ngoại trú sử dụng một lượng thuốc lớn, trong đó có các thuốc tim mạch. Kết quả năm 2020 có sự thay đổi so với năm 2017 tại Bệnh viện Quân y 354, nhóm thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn có giá trị sử dụng lớn nhất (26,15%), tiếp theo là nhóm thuốc tim mạch (25,5%) [8], điều này do ảnh hưởng của dịch bệnh COVID-19 nên lượng bệnh nhân nhập viện khu vực nội trú giảm và bệnh nhân ngoại trú vẫn được lĩnh thuốc 2 tháng trong thời gian giãn cách. Tại Bệnh viện Quân y 7B (2015) lần lượt là thuốc điều trị ký sinh trùng (39,28%), chống nhiễm khuẩn và thuốc tim mạch (2,91%) [9].

*\* Thuốc được sử dụng theo nguồn gốc xuất xứ:*

Với đề án “Người Việt Nam ưu tiên dùng thuốc Việt Nam” do Bộ trưởng Bộ Y tế phê duyệt, mục tiêu đặt ra đến năm 2020, tỷ lệ sử dụng thuốc SXTN/tổng chi phí mua thuốc chiếm 22% ở tuyến trung ương (tăng 1 - 3%/năm), bệnh viện tuyến tỉnh/thành phố đạt 50% (tăng 2 - 4%/năm), bệnh viện tuyến huyện đạt 75% (tăng 2 - 4%/năm) [1]. Bệnh viện Quân y 354 với tỷ lệ thuốc SXTN chiếm 338 SKM

(48,15%) tương đương 31,46% giá trị sử dụng do các thuốc SXTN có chi phí rất thấp so với thuốc nhập khẩu cùng nồng độ, hàm lượng và dạng bào chế, trong năm 2020, bệnh viện đã có những giải pháp giảm số lượng nhóm kỹ thuật 2 và 5 với những hoạt chất trong nước có sản phẩm đáp ứng được để xây dựng DMT nâng cao hơn giá trị sử dụng của thuốc SXTN để đạt được mục tiêu của đề án trên, tỷ lệ thuốc SXTN đã tăng so với năm 2017 (245 SKM (40,43%) tương đương 20% giá trị sử dụng) [8].

*\* Thuốc được sử dụng theo đường dùng:*

Kết quả khảo sát cơ cấu DMT được sử dụng theo đường dùng tại Bệnh viện Quân y 354: Thuốc dùng đường tiêm truyền 28,92% SKM (37,45% tổng giá trị sử dụng), thuốc dùng đường uống chiếm lần lượt là 61,4% SKM, 59,80% giá trị. Giá trị sử dụng thuốc đường uống chiếm tỷ lệ lớn cả về SKM và tổng giá trị sử dụng, đường dùng khác (thuốc đặt, thuốc dùng ngoài da, nhỏ mắt, tra mắt, nhỏ tai...) chiếm 9,69% SKM (2,75% giá trị). Kết quả đường tiêm, tiêm truyền tại Bệnh viện đa khoa Hà Tĩnh (2016) là 48,39% SKM và 77,73% giá trị sử dụng [7]. Để tránh những tai biến trong sử dụng thuốc và lây nhiễm bệnh qua đường tiêm truyền, WHO và Bộ Y tế có nhiều khuyến cáo nhằm nâng cao hiệu quả trong điều trị

và đem lại lợi ích cho người bệnh, trong đó, việc hạn chế sử dụng thuốc tiêm truyền là ưu tiên quan trọng, chỉ sử dụng thuốc tiêm khi thực sự cần thiết. Tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020, giá trị sử dụng thuốc tiêm truyền thấp hơn các bệnh viện cùng hạng và giảm dần so với năm 2017 (tỷ lệ thuốc dùng đường tiêm, tiêm truyền là 33,34% SKM, 47% giá trị [8]), do số lượng bệnh nhân khám ngoại trú lớn, nhiều bệnh nhân cao tuổi có nhiều bệnh mắc kèm, vì vậy, bác sỹ kê đơn thuốc chủ yếu là đường uống, hàng tháng thông kê tiền thuốc được sử dụng cho bệnh nhân ngoại trú và nội trú là tương đương nhau. Mặt khác, công tác dược lâm sàng thường xuyên kiểm tra việc sử dụng thuốc của các khoa lâm sàng cũng hạn chế được việc lạm dụng thuốc tiêm truyền.

*\* Thuốc được sử dụng theo phân tích ABC:*

Kết quả phân tích ABC tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020 thu được các thuốc hạng A gồm 138 thuốc chiếm 19,66% SKM (tương ứng với 78,76% tổng giá trị sử dụng) là hợp lý, còn lại là các thuốc hạng B chiếm 19,94% SKM và hạng C chiếm 60,40% SKM (tương ứng 14,79% và 6,45% tổng DMT thuốc được sử dụng). Tỷ lệ này cũng phù hợp với lý thuyết và các nghiên cứu đã khẳng định. Không thay đổi nhiều so với năm

2017, thuốc hạng A (19,48% SKM), hạng B (18,16%), hạng C (62,36%) [8]. Tại Bệnh viện Bạch Mai (2016), thuốc hạng A (15,7% SKM), hạng B (20,9%), hạng C (63,4%) tương đương 79,9%, 15,1%, 5% giá trị sử dụng [10]. Bệnh viện Quân y 7B (2015) thuốc hạng A (11,42% SKM), hạng B (19,8%), hạng C (68,78%) tương đương 78,09%, 16,26%, 5,65% giá trị sử dụng [9]. Thuốc hạng A chiếm giá trị sử dụng lớn nên bệnh viện rất quan tâm trong việc tồn trữ, mua sắm; thông thường, bệnh viện thường làm dự trữ và mua thuốc hàng tháng và có sự kiểm kê, luân lưu cơ số nên việc đảm bảo thuốc của Bệnh viện Quân y 354 không bị gián đoạn và thiếu thuốc, đồng thời cũng không để tồn kho nhiều và hết hạn phải hủy.

*\* Thuốc được sử dụng theo nhóm V, E, N:*

Kết quả phân tích VEN DMT được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 thu được kết quả: Nhóm V có 186 thuốc chiếm 26,50% danh mục (28,88% tổng giá trị sử dụng). Nhóm N có 96 thuốc chiếm 13,68% danh mục (10,68% tổng giá trị sử dụng) và còn lại là nhóm E có 420 khoản chiếm 59,83% danh mục (60,44% tổng giá trị sử dụng). Nghiên cứu tại các bệnh viện khác trong những năm gần đây, Bệnh viện Bạch Mai (2016) thuốc nhóm V (14,8% SKM), nhóm E (72%), nhóm N (13,2%) tương

đương 29,4%, 61,5%, 9,1% giá trị sử dụng [10]. Bệnh viện Quân y 7B (2015) thuốc nhóm V (10,41% SKM), nhóm E (76,9%), nhóm N (12,69%) tương đương 17,14%, 72,44%, 10,42% giá trị sử dụng [9]. Qua các nghiên cứu nhóm thuốc N tại Bệnh viện Quân y 354 chiếm 10,68% giá trị sử dụng, cao hơn các bệnh viện khác mặc dù đã có giảm so với năm 2017 tại Bệnh viện Quân y 354 (nhóm N chiếm 16% giá trị sử dụng) [8]; vì vậy, HĐT&ĐT cần cân nhắc loại bỏ khỏi danh mục những thuốc không cần thiết trong việc xây dựng kế hoạch lựa chọn thuốc những năm tiếp theo.

Qua phân tích ma trận ABC/VEN cho thấy nhóm AE có giá trị sử dụng nhiều nhất (47,75%), điều này là hợp lý vì đây là nhóm thuốc cần thiết cho điều trị và được dùng phổ biến cho các mặt bệnh tại Bệnh viện Quân y 354. Nhóm thuốc AN chiếm 7,6% giá trị sử dụng, giảm so với năm 2017 (chiếm 11,2% giá trị sử dụng) [8], như vậy, sau khi có can thiệp, tỷ lệ giá trị sử dụng nhóm AN tại Bệnh viện Quân y 354 đã thấp hơn. Tuy nhiên, nhóm thuốc AN là những thuốc giá trị tiêu thụ lớn, hiệu quả điều trị chưa rõ ràng, mang tính hỗ trợ trong phác đồ, có dạng phối hợp không mang lại kết quả điều trị vượt trội do với các đơn chất, hàm lượng không phổ biến... Khoa Dược, HĐT&ĐT cần kiểm soát chặt

chẽ hơn nữa, loại bỏ một số thuốc để tiết kiệm chi phí, tập trung vào các thuốc bệnh chính để nâng cao chất lượng điều trị.

## 2. Một số vấn đề tồn tại trong DMT được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020

*\* Thuốc được sử dụng so với DMT trúng thầu:*

Khảo sát, so sánh DMT được sử dụng so với DMT trúng thầu tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020 thu được kết quả: Trong 795 thuốc trúng thầu chỉ có 702 thuốc được sử dụng (88,3%), 93 thuốc không sử dụng (11,7%). Tỷ lệ này tại Bệnh viện Bạch Mai (2016) là 60% và 40% [10]. Vẫn còn 378 thuốc chiếm 47,55% sử dụng dưới 80% và 45 thuốc chiếm 5,66% sử dụng trên 120%. Đây là những vấn đề cần được rút kinh nghiệm để HĐT&ĐT, Khoa Dược dự trù sát hơn trong việc xây dựng kế hoạch lựa chọn nhà thầu. Những thuốc được sử dụng vượt 120% số lượng trúng thầu do nhiều nguyên nhân trong đó năm 2020 cũng có nhiều biến đổi về mô hình bệnh tật như tăng lượng bệnh nhân chạy thận nhân tạo tại bệnh viện, dịch bệnh COVID-19... làm cho công tác đảm bảo thuốc của bệnh viện bị động. Trong các thuốc vượt 120%, nhiều nhất là nhóm dịch truyền NaCl 0,9%, heparin... Với các thuốc vượt 120%,

bệnh viện phải áp dụng các hình thức đấu thầu khác như chỉ định thầu rút gọn, mua sắm trực tiếp, chào hàng cạnh tranh rút gọn để kịp mua thuốc bổ sung cho nhu cầu điều trị, tập trung rất nhiều nhân lực và công sức của tổ chuyên gia đấu thầu, tổ thẩm định và khoa Dược bệnh viện.

Có 93 thuốc trúng thầu nhưng không được sử dụng, chiếm 11,7% DMT trúng thầu, tỷ lệ này thấp hơn tại Bệnh viện Bạch Mai (2016) là 40% SKM [10]. Mặc dù đã giảm so với năm 2017 tại bệnh viện (186 thuốc trúng thầu nhưng không sử dụng chiếm 23,49% DMT trúng thầu) [8]. Vì vậy, đây cũng là một vấn đề cần phải sâu sát hơn nữa trong lập dự trù đấu thầu thuốc để tránh thuốc trúng thầu nhưng không sử dụng gây tốn kém, lãng phí cho các công ty và bệnh viện.

*\* Sử dụng thuốc theo Thông tư 03:*

Thông tư số 03/2019/TT-BYT ban hành ngày 28/3/2019 về DMT SXTN đáp ứng yêu cầu về điều trị, giá thuốc và khả năng cung cấp, là căn cứ để tính toán hiệu quả về kinh tế khi thay thế thuốc nhập khẩu bằng thuốc SXTN. Trong thông tư 03 có 640 thuốc mà các cơ sở SXTN đáp ứng được yêu cầu về điều trị, khả năng cung ứng và giá cả hợp lý [5]. Phân tích DMT được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 thu được 303 thuốc có trong Thông tư 03

để lại, trong đó có 144 thuốc nhập khẩu, chiếm 20,51% SKM được sử dụng, tương đương 29,74% giá trị. Nếu thay thế 05 thuốc nhập khẩu có giá trị cao nhất theo thông tư này thì Bệnh viện Quân y 354 tiết kiệm được số tiền là 3.491 triệu đồng (tương ứng 3,56% tổng kinh phí). Về hiệu quả kinh tế, việc thay thế này là rất nổi bật, tuy nhiên cũng tùy từng thuốc, tùy từng bệnh mà bệnh viện cân nhắc thay thế sao cho vẫn tiết kiệm được kinh phí nhưng không ảnh hưởng đến chất lượng điều trị và số ngày bệnh nhân phải nằm viện.

*\* Sử dụng nhóm thuốc AN:*

Nhóm thuốc AN là nhóm có chi phí cao nhưng không cần thiết cho điều trị, tác dụng điều trị không rõ ràng. Tại Bệnh viện Quân y 354, để hạn chế lạm dụng kê đơn nhóm thuốc này, HDT&ĐT, khoa Dược đưa những thuốc này vào danh mục phải được phê duyệt của Ban giám đốc khi các khoa Lâm sàng kê đơn cho bệnh nhân. Phân tích cơ cấu thuốc AN trong DMT được sử dụng năm 2020 theo nhóm TDDL thu được hơn 7,4 tỷ (7,6%) với 17 khoản mục (2,42%) ở hai nhóm thuốc chống rối loạn tâm thần, thuốc tác động lên hệ thần kinh và nhóm thuốc cổ truyền, thuốc dược liệu. Khảo sát 10 thuốc AN có chi phí cao nhất và đi sâu phân tích một số thuốc để nêu lên

những tồn tại khi sử dụng các thuốc này kết quả cho thấy: Thuốc tiêm galantamine 5 mg/mL có giá trị sử dụng lớn nhất với 1.252 triệu đồng (16,82%). Qua phân tích tổng số chi phí nhóm thuốc AN sử dụng là 7.449 triệu đồng, mặc dù đã giảm so với năm 2017 là 9.856 triệu đồng [8], nhưng đây vẫn là số tiền tương đối lớn, vì vậy, bệnh viện cần giám sát quản lý chặt chẽ, hạn chế vấn đề lạm dụng thuốc, tuân thủ các chỉ định hợp lý, ưu tiên kinh phí mua thuốc nhóm V, E cho nhu cầu điều trị. HĐT&ĐT nên cân nhắc, phân tích lựa chọn, loại bỏ những thuốc không thực sự cần thiết để đảm bảo tính hợp lý, an toàn, hiệu quả và kinh tế trong vấn đề sử dụng thuốc.

## **KẾT LUẬN**

### **1. Cơ cấu DMT được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020**

702 SKM được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020, thuốc tân dược 669 SKM (95,3%), thuốc cổ truyền, thuốc được liệu 33 SKM (4,7%) tương đương 96,16% và 3,84% giá trị. Nhóm thuốc sử dụng có giá trị nhiều nhất là thuốc tim mạch (124 SKM) chiếm 27,11% tổng giá trị, tiếp đến là thuốc điều trị ký sinh trùng, chống nhiễm khuẩn (108 SKM) chiếm 23,38% tổng giá trị. Thuốc nhập khẩu 364 SKM

(51,85%) chiếm 68,54% giá trị sử dụng. Dạng bào chế sử dụng nhiều nhất là đường uống 431 thuốc (61,4% SKM), đường tiêm 203 thuốc (28,92% SKM) tương ứng 59,8% và 37,45% tổng giá trị.

Kết quả phân tích ABC: Thuốc hạng A: 138 thuốc (19,66% SKM), hạng B: 140 thuốc (19,94% SKM), hạng C: 424 thuốc (60,4% SKM) tương ứng 78,76%, 14,79%, 6,45% giá trị sử dụng.

Phân tích VEN: Nhóm thuốc V: 186 thuốc (26,5% SKM), Nhóm thuốc E: 420 thuốc (60,44% SKM), Nhóm thuốc N: 96 thuốc (13,68% SKM) tương đương 28,88%, 60,44%, 10,68% tổng giá trị.

Phân tích ABC/VEN: Nhóm thuốc được sử dụng có giá trị nhiều nhất là AE với 81 thuốc (11,54% SKM) tương ứng 47,75% giá trị, Nhóm AN: 17 thuốc (2,42% SKM) tương ứng 7,6% giá trị.

### **2. Một số tồn tại trong DMT được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2020**

795 thuốc trúng thầu tại bệnh viện năm 2020, có 93 thuốc không được sử dụng tương ứng 11,7% SKM, 702 thuốc được sử dụng, trong đó 378 thuốc (47,55% SKM) được sử dụng dưới 80%, 279 thuốc (35,09% SKM) được sử dụng từ 80 - 120%, 45 thuốc (5,66% SKM) được sử dụng trên 120%.

144 thuốc nhập khẩu có trong Thông tư 03/TT-BYT năm 2019 (chiếm 29,74% giá trị sử dụng), nếu thay 05 thuốc SXTN bằng 5 thuốc nhập khẩu có giá trị cao nhất này bệnh viện tiết kiệm được 3.491 triệu đồng (3,56% tổng giá trị sử dụng).

Thuốc chống rối loạn tâm thần và thuốc tác động lên hệ thần kinh trong nhóm AN chiếm giá trị lớn nhất (4 thuốc), tiếp đến thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền. Các thuốc cần đánh giá lại hiệu quả - chi phí là thuốc tiêm galantamine 5 mg/mL.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. Quyết định phê duyệt đề án "Người Việt Nam ưu tiên dùng thuốc Việt Nam". *Số 4824/QĐ-BYT ngày 03/12/2012*. Hà Nội. 2012.

2. Bộ Y tế. Thông tư 21/2013/TT-BYT ngày 08/08/2013 quy định về tổ chức và hoạt động thuốc của Hội đồng thuốc và điều trị trong Bệnh viện. Hà Nội. 2013.

3. Bộ Y tế. Thông tư 05/2015/TT-BYT ngày 17/3/2015. Ban hành danh mục thuốc đông y, thuốc từ dược liệu và vị thuốc y học cổ truyền thuộc phạm vi thanh toán của quỹ BHYT, Hà Nội. 2015.

4. Bộ Y tế. Thông tư 30/2018/TT-BYT ngày 30/10/2018. Ban hành danh mục và tỷ lệ, điều kiện thanh toán đối với thuốc hóa dược, sinh phẩm, thuốc

phóng xạ và chất đánh dấu thuộc phạm vi được hưởng của người tham gia Bảo hiểm y tế. Hà Nội. 2018.

5. Bộ Y tế. Thông tư 03/2019/TT-BYT ban hành ngày 28/03/2019. Ban hành danh mục thuốc sản xuất trong nước đáp ứng yêu cầu về điều trị, giá thuốc và khả năng cung cấp. Hà Nội. 2019.

6. Bảo hiểm Xã hội Việt Nam. Công văn số 3794/BHXH-DVT ngày 28/8/2017 về việc thống nhất tỷ lệ sử dụng Biệt dược gốc tại các tuyến điều trị theo chỉ đạo của chính phủ. Hà Nội. 2017.

7. Bùi Hoàng Dương. Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại Bệnh viện Đa khoa Hà Tĩnh năm 2016. *Luận văn Dược sĩ chuyên khoa cấp II*. Trường Đại học Dược Hà Nội. 2017.

8. Lê Ngọc Hiếu. Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại Bệnh viện Quân y 354 năm 2017. *Luận văn Dược sĩ chuyên khoa cấp II*. Trường Đại học Dược Hà Nội. 2019.

9. Đặng Thu Hương. Phân tích danh mục thuốc được sử dụng tại Bệnh viện Quân y 7B năm 2015. *Luận văn Dược sĩ chuyên khoa cấp I*. Trường Đại học Dược Hà Nội. 2016.

10. Lê Thị Tuyết Mai. Phân tích danh mục thuốc sử dụng tại Bệnh viện Bạch Mai năm 2016. *Luận văn Thạc sĩ Dược học*. Trường Đại học Dược Hà Nội. 2018.

**PHÂN TÍCH ĐẶC ĐIỂM PHÁC ĐỒ SỬ DỤNG THUỐC ĐIỀU TRỊ UNG THƯ TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG QUÂN ĐỘI 108 NĂM 2022**

*Nguyễn Cẩm Vân<sup>1\*</sup>, Nguyễn Trung Hà<sup>2</sup>  
Nguyễn Tuấn Quang<sup>1</sup>, Nguyễn Khánh Huyền<sup>1</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Phân tích một số đặc điểm về phác đồ sử dụng thuốc điều trị ung thư tại Bệnh viện Trung ương Quân đội (BVTWQĐ) 108 năm 2022. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang trên 65 bệnh nhân (BN) thông qua các hồ sơ bệnh án (HSBA) điều trị ung thư bằng thuốc tại BVTWQĐ 108 năm 2022 thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn và loại trừ. **Kết quả:** Độ tuổi trung bình  $52,37 \pm 13,98$  tuổi, tỷ lệ BN nam gấp gần 3 lần BN nữ. Ung thư phổi gặp nhiều nhất (18,46%). Hầu hết BN được chẩn đoán ban đầu ở giai đoạn nặng. Tăng huyết áp (THA) là bệnh mắc kèm xuất hiện nhiều nhất (23,33%). AC-T là phác đồ được sử dụng nhiều nhất (6,15%), chủ yếu là phác đồ kết hợp (75,96%) và không chuyển đổi phác đồ trong quá trình điều trị. Các biến cố bất lợi (ADE- Adverse Drug Event) phần lớn là độ 1 (71,04%), gặp nhiều nhất: Thiếu máu (50,58%). Thuốc hỗ trợ trong điều trị ung thư được sử dụng nhiều nhất: Thuốc chống dị ứng và dùng trong các trường hợp quá mẫn, hormone tuyến thượng thận, thuốc chống nôn. **Kết luận:** Phân tích được đặc điểm của 65 BN ung thư, đặc điểm về phác đồ sử dụng thuốc điều trị ung thư và các thuốc hỗ trợ trong điều trị ung thư tại bệnh viện năm 2022.

**Từ khóa:** Phác đồ sử dụng thuốc điều trị ung thư; Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

**ANALYSIS OF CHARACTERISTICS OF CANCER TREATMENT REGIMENS AT THE 108 MILITARY CENTRAL HOSPITAL IN 2022**

**Abstract**

**Objectives:** To analyze characteristics of cancer treatment regimens at the 108 Military Central Hospital in 2022. **Methods:** A retrospective, cross-sectional descriptive

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Cẩm Vân (Nguyencamvan.hvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 18/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 02/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.464>

study on 65 patients through medical records of cancer treatment with drugs at the Hospital in 2022 satisfying the inclusion and exclusion criteria. **Results:** The average age:  $52.37 \pm 13.98$  years old, the rate of male was nearly 3 times higher than that of female. Lung cancer was the most common disease (18.46%). Most patients were initially diagnosed with severe stage. Hypertension was the most common comorbidities (23.33%). AC-T was the most used regimen, mainly combination regimen (75.96%) and did not switch regimens during the treatment. ADE was mostly grade 1 (71.04%), the most common was anemia (50.58%). The most commonly used supportive drugs in cancer treatment: Antiallergic and used in cases of hypersensitivity, adrenal hormones, antiemetic drugs. **Conclusion:** We analyzed successfully characteristics of 65 cancer patients, some characteristics of cancer treatment regimens, and supportive drugs in cancer treatment.

**Keywords:** Regimen; Cancer treatment drugs; 108 Military Central Hospital.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư là một bệnh lý ác tính của tế bào, trong đó các tế bào phân chia vô hạn độ, không theo sự kiểm soát của cơ thể, không chết theo chương trình và có thể xâm lấn vào các tổ chức lành xung quanh. Theo Cơ quan nghiên cứu ung thư quốc tế (IARC), dự báo đến năm 2030, trên thế giới mỗi năm sẽ có khoảng 26,4 triệu người mắc mới bệnh ung thư và 17,0 triệu người tử vong do căn bệnh này, trong đó có tới 53% số người mắc mới và 60% số bệnh nhân tử vong là người dân của các nước đang phát triển [1]. Tại Việt Nam, tình hình mắc mới và tử vong do ung thư đều đang tăng nhanh, đồng nghĩa với gánh nặng chi phí thuốc ung thư ngày càng lớn. Trung bình năm 2019, bảo hiểm y tế đã chi trả 94,6 triệu đồng cho

một BN ung thư, trong đó thuốc chiếm 70% tổng chi phí điều trị [2].

Hiện nay, có nhiều phương pháp điều trị ung thư với hiệu quả điều trị tùy thuộc vào từng giai đoạn bệnh, sự đáp ứng của cơ thể và sự hợp tác của người bệnh. Bên cạnh các phương pháp điều trị tại chỗ như phẫu thuật, đốt sóng cao tần, nút mạch hóa chất, xạ trị, phương pháp điều trị toàn thân thông qua việc sử dụng đơn độc hoặc phối hợp các nhóm hóa chất, điều trị đích, điều trị nội tiết, điều hòa miễn dịch cũng được ưu tiên lựa chọn [3].

BVTWQĐ108 là bệnh viện tuyến cuối, hạng đặc biệt của Quân đội. Bệnh viện thường xuyên cập nhật các phương pháp điều trị ung thư mới nhất, các phác đồ điều trị, các thuốc mới được đưa vào sử dụng ngày càng nhiều. Tuy nhiên, các nghiên cứu về

phác đồ điều trị ung thư bằng thuốc tại BVTWQĐ 108 còn hạn chế. Xuất phát từ những yêu cầu thực tế đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Phân tích đặc điểm của BN ung thư, thuốc điều trị ung thư và các thuốc hỗ trợ trong phác đồ điều trị.*

## **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1. Đối tượng nghiên cứu**

\* *Đối tượng nghiên cứu:* HSBA sử dụng thuốc điều trị ung thư tại BVTWQĐ 108 năm 2022.

\* *Tiêu chuẩn lựa chọn:*

- HSBA của BN được chẩn đoán xác định bệnh chính là ung thư.

- Có đợt điều trị ung thư đầu tiên nằm trong khoảng thời gian từ ngày 01/01 đến hết ngày 31/01/2022.

- BN được điều trị ung thư  $\geq 03$  chu kỳ.

- BN được làm các xét nghiệm cận lâm sàng theo dõi ADE trước mỗi chu kỳ điều trị và kết thúc trong năm 2022.

\* *Tiêu chuẩn loại trừ:*

HSBA của BN điều trị ung thư ít hơn 03 chu kỳ; không đủ dữ liệu về ADE hoặc tử vong trong quá trình điều trị.

### **2. Phương pháp nghiên cứu**

\* *Thiết kế nghiên cứu:*

Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang thông qua các HSBA sử dụng

thuốc ung thư tại BVTWQĐ108 từ ngày 01/01 đến hết ngày 31/12/2022.

\* *Cỡ mẫu và kỹ thuật chọn mẫu:*

Cỡ mẫu: Mỗi BN ung thư có một mã số HSBA. Với tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ như trên, thu được HSBA của 65 BN với 520 đợt điều trị và xuất hiện 587 ADE.

\* *Nội dung nghiên cứu:*

- Đặc điểm của BN trong mẫu nghiên cứu: Tuổi (0 - 24; 25 - 44; 45 - 64;  $\geq 65$ ); giới tính (nam, nữ); loại bệnh ung thư; giai đoạn bệnh (I, II, III, IV); các bệnh mắc kèm.

- Một số đặc điểm về phác đồ điều trị ung thư: Phác đồ điều trị ung thư được sử dụng; tần suất sử dụng phác đồ kết hợp và phác đồ đơn độc; sự thay đổi phác đồ điều trị; các ADE gặp phải khi điều trị ung thư.

- Các thuốc hỗ trợ điều trị ung thư.

\* *Xử lý số liệu:*

Các kết quả nghiên cứu được nhập, phân tích và xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2016.

### **3. Đạo đức nghiên cứu**

Nghiên cứu được Bệnh viện và Khoa Dược BVTWQĐ108 đồng ý và cung cấp số liệu. Các thông tin trong nghiên cứu được đảm bảo bí mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu**

**Bảng 1.** Đặc điểm đối tượng nghiên cứu.

TT	Đặc điểm	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
	Tuổi (năm)		
	0 - 18	-	-
	18 - 24	3	4,62
	25 - 44	14	21,54
1	45 - 60	25	38,46
	61 - 74	21	32,31
	≥ 75	2	3,08
	$\bar{X} \pm SD$ (min - max)	52,37 ± 13,98 (18 - 77)	
	Giới tính		
2	Nam	47	72,31
	Nữ	18	27,69
	Chẩn đoán bệnh ung thư		
	Ung thư phổi	12	18,46
	Ung thư vú	7	10,77
	Ung thư thực quản	7	10,77
3	Ung thư dạ dày	6	9,23
	Ung thư đại trực tràng	5	7,69
	Ung thư vòm	5	7,69
	Ung thư lympho	5	7,69
	Khác	18	27,69
	Giai đoạn bệnh		
	I	4	6,15
4	II	4	6,15
	III	27	41,55
	IV	30	46,15
	Bệnh mắc kèm		
	Không có bệnh mắc kèm	40	61,54
5	Có bệnh mắc kèm	25	38,46
	Có 1 bệnh mắc kèm	21	32,31
	Có 2 bệnh mắc kèm	3	4,62
	Có 3 bệnh mắc kèm	1	1,54

Kết quả bảng 1 cho thấy độ tuổi trung bình của BN là  $52,37 \pm 13,98$  tuổi; trong đó. nhóm 45 - 60 tuổi chiếm tỷ lệ lớn nhất (38,46%). Tỷ lệ BN nam gấp gần 3 lần BN nữ. Ung thư phổi chiếm tỷ lệ lớn nhất với 18,46%. BN ung thư chủ yếu ở giai đoạn IV và III, tương ứng 46,15% và 41,55%. Tỷ lệ BN có bệnh mắc kèm chiếm 38,46% trong đó 1 bệnh mắc kèm chiếm nhiều nhất. Phân bố các bệnh mắc kèm cụ thể như sau:

**Bảng 2.** Phân bố BN ung thư theo các bệnh mắc kèm.

Bệnh mắc kèm	1 bệnh	2 bệnh	3 bệnh	Tổng	
Số BN (n)	21	3	1	25	
THA	4 (13,33)	2 (6,67)	1 (3,33)	7 (23,33)	
Đái tháo đường	1 (3,33)	3 (10,00)	1 (3,33)	5 (16,67)	
Bệnh dạ dày	5 (16,67)	-	-	5 (16,67)	
Loại bệnh mắc kèm	Gout	2 (6,67)	1 (3,33)	-	3 (10,00)
n (%)	Viêm gan B	2 (6,67)	-	-	2 (6,67)
	Bệnh đường hô hấp	2 (6,67)	-	-	2 (6,67)
	Suy thận mạn	-	-	1 (3,33)	1 (3,33)
	Khác	5 (16,67)	-	-	5 (16,67)
Tổng số lượt bệnh mắc kèm	21 (70,00)	6 (20,00)	3 (10,00)	30 (100,00)	

Trong số 25 lượt bệnh mắc kèm ghi nhận được, THA xuất hiện nhiều nhất với 23,33%, đái tháo đường và bệnh dạ dày đứng thứ hai với 16,67%.

**2. Một số đặc điểm về phác đồ sử dụng thuốc điều trị ung thư**

\* Các phác đồ điều trị ung thư được sử dụng:

**Bảng 3.** Các phác đồ điều trị ung thư được sử dụng.

TT	Các phác đồ được sử dụng	Số BN (n)		Số đợt điều trị	
		Số lượt	Tỷ lệ (%)	Số lượt	Tỷ lệ (%)
1	AC-T (doxorubicin - cyclophosphamid - paclitaxel)	4	6,15	32	6,15
2	PC (paclitaxel - cisplatin)	3	4,62	27	5,19
3	XELOX (oxaliplatin - capecitabin)	4	6,15	25	4,81
4	mFOLFOX6 (oxaliplatin - leucovorin - 5FU)	2	3,08	24	4,62
5	CF (cisplatin - 5FU)	5	7,69	21	4,04
6	Phác đồ khác			391	75,19
Tổng				520	100,00

Kết quả nghiên cứu ghi nhận được 520 đợt điều trị; trong đó, các phác đồ khác chiếm 75,19% số đợt điều trị. Một số phác đồ được sử dụng nhiều như: Phác đồ AC-T với 4 BN 32 lượt điều trị, XELOX 4 BN 25 lượt điều trị, CF 5 BN 21 lượt điều trị.

\* Tần suất sử dụng phác đồ kết hợp và phác đồ đơn độc:

Tần suất sử dụng phác đồ đơn độc (chỉ có 1 hoạt chất điều trị ung thư) và phác đồ kết hợp (phối hợp nhiều hoạt chất điều trị ung thư) được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4.** Tần suất sử dụng phác đồ kết hợp và phác đồ đơn độc.

TT	Phác đồ	Số đợt điều trị	Tỷ lệ (%)
1	Phác đồ đơn độc	125	24,04
	Hoá chất	48	9,23
	Điều trị đích	47	9,04
	Điều trị nội tiết	26	5,00
	Điều hoà miễn dịch	4	0,77
2	Phác đồ kết hợp	395	75,96
	Hoá chất với hóa chất	254	48,85
	Hoá chất với thuốc điều trị đích	141	27,11
Tổng		520	100,00

Kết quả cho thấy 75,96% số đợt điều trị sử dụng phác đồ kết hợp, trong đó phác đồ kết hợp hoá chất với thuốc điều trị đích được chỉ định trong 27,11% số đợt.

\* Sự thay đổi phác đồ điều trị:

Sự thay đổi phác đồ trong quá trình điều trị của BN trong mẫu nghiên cứu được trình bày trong bảng 5.

**Bảng 5.** Sự thay đổi phác đồ điều trị.

TT	Phác đồ	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
1	Không chuyển đổi phác đồ	43	66,16
2	Chuyển đổi phác đồ 1 lần	18	27,68
	Do kết thúc liệu trình điều trị	14	21,52
	Do không đáp ứng hoá chất	2	3,08
	Do bệnh tiến triển nặng	2	3,08
3	Chuyển đổi phác đồ 2 lần (do bệnh tiến triển nặng)	4	6,16
Tổng		65	100,00

Trong quá trình điều trị có 66,16% BN không chuyển đổi phác đồ, 27,68% BN chuyển đổi phác đồ 1 lần trong đó nguyên nhân chủ yếu là do kết thúc liệu trình điều trị với 21,52% BN. Có 4 BN phải chuyển đổi phác đồ 2 lần và đều do bệnh tiến triển nặng (6,16%).

**TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023**

*\* Các biến cố bất lợi khi điều trị ung thư:*

Thông qua theo dõi xét nghiệm cận lâm sàng của 65 BN với 520 đợt điều trị, đã ghi nhận được 587 ADE với tần suất gặp và mức độ độc tính như sau:

**Bảng 6.** Tần suất gặp và mức độ độc tính của các ADE cận lâm sàng.

Phân độ ADE	Số BN gặp ADE	Số đợt điều trị gặp ADE	Mức độ biến cố			
			Độ 1	Độ 2	Độ 3	Độ 4
<b>Hệ tạo máu</b>						
Thiếu máu	50 (70,92)	263 (50,58)	213 (36,38)	45 (7,67)	5 (0,86)	-
Giảm bạch cầu trung tính	41 (63,08)	88 (16,92)	35 (5,96)	25 (4,26)	15 (2,56)	13 (2,21)
Giảm bạch cầu	31 (47,69)	65 (12,50)	35 (5,96)	19 (3,24)	9 (1,53)	2 (0,34)
Giảm tiểu cầu	18 (27,69)	51 (9,81)	39 (6,64)	6 (1,02)	4 (0,68)	2 (0,34)
<b>Gan</b>						
Tăng ALT	28 (43,08)	58 (11,15)	48 (8,18)	9 (1,53)	1 (0,17)	-
Tăng AST	27 (41,54)	45 (8,65)	42 (7,16)	3 (0,51)	-	-
<b>Thận</b>						
Tăng creatinin	5 (7,70)	17 (3,27)	5 (0,86)	10 (1,70)	2 (0,34)	-
<b>Tổng</b>		587 (100,00)	417 (71,04)	117 (19,93)	36 (6,14)	17 (2,90)

Trong 65 BN nghiên cứu, tần suất gặp biến cố bất lợi nhiều nhất ở hệ tạo máu, trong đó cao nhất là thiếu máu với 50/65 BN (70,92%). Các ADE cận lâm sàng đa phần là độ 1 với 71,04% trong đó thiếu máu chiếm tỷ lệ cao nhất, 213/263 đợt điều trị gặp ADE độ 1. Đối với các ADE độ 3, độ 4, nghiên cứu mối liên quan với phác đồ điều trị ung thư thu được kết quả như sau:

**Bảng 7.** Các ADE độ 3, 4 theo phác đồ điều trị.

TT	Phác đồ	Số ADE		Tổng
		Độ 3	Độ 4	
1	AC-T	9	5	12
2	Decitabin	3	4	7
3	BEP	3	2	5
4	EP	1	3	4
5	mFOLFOX6	2	1	3
6	Hyper CVAD + Imatinib	3	-	3
7	Cisplatin	2	-	2
8	Phác đồ khác	13	2	15
Tổng		36	17	53

Kết quả nghiên cứu cho thấy phác đồ AC-T xuất hiện nhiều nhất với 9 ADE ở độ 3 và 5 ADE ở độ 4, các phác đồ khác xuất hiện ADE ít hơn, dao động từ 1- 4 lần.

### 3. Các thuốc hỗ trợ khi điều trị ung thư

**Bảng 8.** Các thuốc hỗ trợ khi điều trị ung thư.

TT	Nhóm thuốc	Tên hoạt chất	Số đợt (n = 520)	Tỷ lệ (%)
1	Thuốc chống dị ứng và dùng trong các trường hợp quá mẫn	Chlorpheniramin, diphenhydramin, loratadin, desloratadin	484	93,08
2	Hormon thượng thận	Dexamethason, prednisolon, hydrocortison, methylprednisolon	458	88,08
3	Thuốc chống nôn	Granisetron, ondasetron, palonosetron	451	86,73
4	Thuốc kháng acid và các thuốc chống loét khác tác dụng trên đường tiêu hoá	Esomeprazol, rabeprazol, pantoprazol, famotidin, sucralfat, attapulgit mormoiron, nhôm hydroxyd	414	79,62
5	Thuốc giải độc và các thuốc dùng trong trường hợp ngộ độc	Glutathion, reamberin	356	68,46
6	Thuốc giảm đau, hạ sốt; chống viêm không steroid	Paracetamol, ibuprofen, diclofenac natri	166	31,92
7	Thuốc chống rối loạn tâm thần và thuốc tác động lên hệ thần kinh	Diazepam, sulpirid, amitriptyline hydroclorid, olanzapin	144	27,69
8	Thuốc tác dụng đối với máu (tăng bạch cầu)	Filgrastim	125	24,04
9	Thuốc đường tiêu hoá khác	Silymarin, L-ornithine-L-aspartate	125	24,04
10	Khoáng chất và vitamin	Vitamin AD, vitamin E, vitamin B3, B6, B12	53	10,19
11	Thuốc giảm đau gây nghiện	Morphin, tramadol + paracetamol	28	5,38
12	Thuốc điều trị tiêu chảy	Sorbitol, lorepamid	21	4,04
13	Thuốc chống thiếu máu	Sắt (III) hydroxyd polymaltose	15	2,88

Nhóm thuốc được sử dụng nhiều nhất là nhóm Chống dị ứng và dùng trong các trường hợp quá mẫn với 93,08% số đợt điều trị. Các hormon thượng thận và thuốc chống nôn cũng xuất hiện ở hầu hết các đợt điều trị, lần lượt với 88,08% và 86,73%.

## BÀN LUẬN

### 1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Trong mẫu nghiên cứu, độ tuổi trung bình của BN là  $52,37 \pm 13,98$ , nhóm 45 - 60 tuổi chiếm tỷ lệ lớn với 38,46%. Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu tại Bệnh viện Bạch Mai (2018) với độ tuổi trung bình  $58,6 \pm 12,0$ ; tuy nhiên, cũng tập trung ở nhóm 45 - 60 tuổi; tương đồng với nghiên cứu của tác giả Ramisa (2022) tại một bệnh viện ở Nepal với độ tuổi trung bình 49,93 tuổi [4, 5]. Tỷ lệ nam/nữ trong nghiên cứu là 2,6/1, cao hơn số liệu dịch tễ học bệnh ung thư tại Việt Nam năm 2020 (1,2/1) và kết quả của Bệnh viện Bạch Mai (1,2/1) [2, 4]. Nhìn chung nam thường có tỷ lệ ung thư cao hơn nữ, đặc biệt ở các bệnh ung thư phổi, ung thư dạ dày... do các yếu tố liên quan đến lối sống và thói quen sinh hoạt (hút thuốc lá, uống rượu bia...).

BN trong mẫu nghiên cứu phân bố nhiều loại ung thư khác nhau, hay gặp nhất là ung thư phổi (18,46%), ung thư

vú và ung thư thực quản (10,77%). Kết quả ở Bệnh viện Bạch Mai (2018) cho thấy các bệnh ung thư chiếm tỷ lệ lớn là ung thư phổi (23,2%), ung thư dạ dày (17,5%), ung thư đại tràng (14,8%) [4]. Nghiên cứu của tác giả Ramisa cho kết quả ung thư vú (35,3%), ung thư phổi (11,6%), ung thư buồng trứng (7,5%) [5]. Có thể thấy tại Việt Nam và trên thế giới bệnh ung thư phổi đều chiếm tỷ lệ lớn.

Việc xác định giai đoạn bệnh giữ vai trò quan trọng trong việc lựa chọn phương pháp điều trị đầu tiên cho BN. Theo kết quả bảng 1, hầu hết BN đều được chẩn đoán ban đầu ở giai đoạn nặng (giai đoạn IV, III) với tỷ lệ lần lượt 46,15% và 41,55%. Nguyên nhân do BN chưa có thói quen khám sức khỏe định kỳ để sàng lọc, phát hiện ung thư sớm; đồng thời BVTWQĐ108 là bệnh viện tuyến cuối tiếp nhận nhiều ca nặng từ tuyến trước chuyển đến đều ở giai đoạn muộn.

25/65 BN trong nghiên cứu có bệnh mắc kèm trong đó mắc kèm, 1 bệnh là nhiều nhất, chỉ có 1 trường hợp mắc kèm 3 bệnh (tăng huyết áp, đái tháo đường và gout). Việc mắc đồng thời nhiều bệnh cũng là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến sức đề kháng và khả năng miễn dịch của BN bởi thuốc ung thư là những thuốc có phạm vi điều trị hẹp, độc tính cao, dễ gây ra các

tác dụng không mong muốn (TDKMM) ở ngay liều điều trị; đồng thời cũng tác động đến hiệu quả của phác đồ điều trị do có thể xảy ra tương tác thuốc - thuốc trong quá trình sử dụng. Bởi vậy, những BN có bệnh mắc kèm cần được theo dõi kỹ lưỡng và áp dụng các biện pháp điều chỉnh phù hợp để đảm bảo sức khỏe tốt nhất cho quá trình điều trị.

## **2. Một số đặc điểm về phác đồ sử dụng thuốc điều trị ung thư**

*\* Các phác đồ điều trị ung thư được sử dụng:*

Tại BVTWQĐ108, có rất nhiều phác đồ điều trị ung thư được sử dụng trong đó 5 phác đồ được lặp lại nhiều trong các đợt điều trị của BN gồm AC-T, PC, XELOX, mFOLFOX6, CF. Các phác đồ khác chỉ sử dụng trên 1 hoặc 2 BN nên không thống kê được hết, trong đó nhiều phác đồ là sự kết hợp giữa hoạt chất cũ với một hoạt chất mới, vậy nên tuy chiếm tỷ lệ cao nhưng lại dùng trên ít BN. Một số phác đồ được sử dụng nhiều như phác đồ AC-T, XELOX, CF, đều là những phác đồ được đưa vào sử dụng từ lâu và đã chứng minh được hiệu quả, đồng thời là phác đồ điều trị nhiều bệnh ung thư phổ biến, hay gặp ở BN trong mẫu nghiên cứu nên chiếm tỷ lệ cao là phù hợp. Hiện nay xu hướng trên thế giới cũng như Việt Nam là cá nhân hoá

trong điều trị bởi không có hai BN ung thư nào hoàn toàn giống nhau về bệnh lý hoặc thuốc điều trị, và có thể có những phản ứng khác nhau ở phương pháp điều trị chung. Hiệu quả của các phác đồ điều trị phụ thuộc nhiều yếu tố cá nhân như loại bệnh, giai đoạn, vị trí ung thư, tuổi, sức khỏe tổng thể của BN. Ngoài ra còn dựa trên sự biến đổi gen và môi trường miễn dịch của khối u nhằm tối ưu hóa phản ứng của khối u, do đó có tính đến độc tính do trị liệu gây ra cho từng BN cụ thể, từ đó góp phần ngăn ngừa tổn hại đến chức năng các cơ quan trong cơ thể [6, 7].

*\* Tần suất sử dụng phác đồ kết hợp và phác đồ đơn độc:*

Kết quả bảng 4 cho thấy 75,96% BN được chỉ định sử dụng phác đồ kết hợp, trong đó có tới 27,11% BN được điều trị bằng phác đồ hoá chất kết hợp với thuốc điều trị đích. Chỉ có 24,04% các thuốc được sử dụng đơn độc trong phác đồ điều trị.

Mô hình tiến hóa của bệnh ung thư, trong đó các quần thể tế bào khối u có những thay đổi về mặt di truyền, được cho là nguyên nhân gây ra tình trạng kháng thuốc ung thư. Dưới áp lực chọn lọc của hóa trị liệu, các tiểu quần thể tế bào ung thư mở rộng để trở thành quần thể sống sót chiếm ưu thế [8]. Đây là một trong những lý do phác đồ hoá

chất đơn lẻ không đủ để chữa trị hoàn toàn. Việc sử dụng đồng thời các thuốc gây độc tế bào được cho là nhằm vào các con đường ung thư khác nhau có thể hoạt động đồng thời trong một tế bào khối u, từ đó làm mất đi cơ chế sinh tồn bù trừ của các tế bào ung thư, giúp tăng hiệu quả điều trị.

Hiện nay, phác đồ phối hợp thuốc điều trị đích với hóa chất được sử dụng nhiều hơn. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh hiệu quả của nhóm thuốc này, đặc biệt trong các trường hợp ung thư di căn hoặc có tình trạng đột biến gen. Ví dụ phác đồ Bevacizumab kết hợp FOLFOX4 trong ung thư đại trực tràng di căn đem lại tỷ lệ kiểm soát bệnh cao 91,7% và 87,5% sau 3 và 6 đợt, tỷ lệ đáp ứng toàn bộ đạt 72,9% và 68,8%, có thể được chỉ định cho cả các BN có thể trạng chung không tốt. Ngoài tác dụng tiêu diệt tế bào ung thư tăng lên, việc kết hợp thuốc điều trị đích có thể đem đến một số lợi ích như cân bằng các tác dụng ức chế miễn dịch có liên quan đến điều trị hóa trị liệu [9].

*\* Sự thay đổi phác đồ điều trị:*

Phần lớn BN trong nghiên cứu không thay đổi phác đồ điều trị. Nguyên nhân chuyển đổi phác đồ chủ yếu do kết thúc liệu trình điều trị (21,52%), sau đó sẽ tiếp tục được điều trị duy trì hoặc điều trị giảm nhẹ triệu chứng. Ngoài ra, có nguyên nhân khác

do BN tiến triển bệnh nặng, không đáp ứng với hoá chất hoặc chỉ đáp ứng một phần. Những trường hợp này chủ yếu là BN ở giai đoạn III, IV. Những sự thay đổi này là phù hợp với tình trạng BN cũng như Hướng dẫn của Bộ Y tế [3].

*\* Các biến cố bất lợi khi điều trị ung thư:*

Thuốc điều trị ung thư gây tác động không phân biệt đối với tế bào ung thư và tế bào bình thường nên thường gây ra nhiều biến cố bất lợi, là một trong những nguyên nhân làm tăng tỷ lệ mắc bệnh và tử vong, kéo dài thời gian nằm viện, tăng chi phí và ảnh hưởng đến chất lượng điều trị cho BN [3]. Thống kê xét nghiệm cận lâm sàng của 65 BN trong mẫu nghiên cứu với 520 đợt điều trị, ghi nhận được 587 ADE trên các hệ cơ quan (hệ tạo máu, gan và thận), trong đó, ADE ghi nhận được với tỷ lệ cao nhất là thiếu máu, xuất hiện ở 70,92% số BN. Đây cũng là ADE hay gặp nhất qua sàng lọc kết quả xét nghiệm ở Bệnh viện Bạch Mai (2018), nhưng tỷ lệ thấp hơn (57,2%) [4]. Độc tính trên hệ tạo máu là độc tính nguy hiểm và được quan tâm nhiều trong điều trị ung thư bởi trong quá trình điều trị, các tế bào tuỷ xương bị tổn thương và chết đi, dẫn đến suy giảm khả năng tạo máu và số lượng tế bào máu thấp, dẫn đến thiếu máu, giảm bạch cầu, giảm bạch cầu trung tính và giảm tiểu cầu. Về gan, đây là nơi

chuyển hoá của hầu hết các thuốc trong cơ thể. Chính các gốc tự do - sản phẩm của quá trình chuyển hoá qua gan của các thuốc điều trị ung thư là một trong những nguyên nhân làm suy giảm chức năng gan với các biến cố được ghi nhận là tăng ALT, AST.

Trong số các ADE cận lâm sàng, phần lớn là ADE độ 1 với 71,04%, không ghi nhận ADE độ 5. Nghiên cứu tại Bệnh viện Bạch Mai (2018) cũng cho kết quả tương đồng, chủ yếu ghi nhận được các ADE ở độ 1 (77,4%) [4]. Tùy vào mức độ độc tính ghi nhận được mà các cán bộ y tế sẽ áp dụng biện pháp xử trí thích hợp. Đối với các ADE độ 3, 4 là các cấp độ nghiêm trọng, đe dọa tính mạng người bệnh, cần chỉ định nhập viện, kéo dài thời gian nằm viện hoặc can thiệp khẩn cấp, kết quả bảng 6 cho thấy phác đồ xuất hiện nhiều ADE độ 3, 4 nhất là phác đồ AC-T, chuyên được chỉ định để điều trị ung thư vú. Kết quả của tác giả Phạm Tuấn Anh tại Bệnh viện K (2020) chỉ ra độc tính của phác đồ này trên hệ tạo máu, đặc biệt là hạ bạch cầu và hạ bạch cầu trung tính độ 4, với lần lượt là 2,8% và 2% tổng số chu kỳ điều trị [10]. Bên cạnh đó, phác đồ Decitabin chỉ được sử dụng trong 2 đợt điều trị, nhưng cả 2 đợt đều gây ra nhiều ADE độ 3, 4. Đây là phác đồ được sử dụng trong điều trị bệnh bạch cầu tủy. Nghiên cứu của tác giả

Pin-Fang He và CS về đánh giá độ an toàn của decitabin đối với người cao tuổi cho thấy biến cố giảm bạch cầu độ 3, 4 xuất hiện ở 38% đợt điều trị. Tuy nhiên, nghiên cứu cũng kết luận rằng decitabin là một liệu pháp điều trị hiệu quả và dung nạp tốt với các tác dụng phụ ở mức chấp nhận được [11].

### 3. Các thuốc hỗ trợ khi điều trị ung thư

Thuốc điều trị ung thư thường gây ra một số TDKMM như: Nôn và buồn nôn, ức chế tuỷ xương, viêm loét niêm mạc, giảm bạch cầu, giảm tiểu cầu, thiếu máu, thoát mạch... Do đó, thường phải dùng thuốc hỗ trợ để hạn chế TDKMM đã được biết trước của một số thuốc điều trị ung thư hoặc để điều trị triệu chứng tùy thuộc vào tác dụng không mong muốn mà BN gặp phải [11].

Buồn nôn và nôn là TDKMM thường xuyên gặp và chiếm tỷ lệ rất cao ở BN ung thư [10]. Do đó phòng ngừa và kiểm soát các TDKMM này là một trong những công việc quan trọng khi điều trị ung thư. Trong nghiên cứu này, hầu như tất cả các đợt điều trị đều sử dụng thuốc có tác dụng kiểm soát nôn, gồm thuốc chống dị ứng và dùng trong các trường hợp quá mẫn (484/520 đợt điều trị), hormon tuyến thượng thận (458/520 đợt), thuốc chống nôn (451/520 đợt).

Việc sử dụng các thuốc kháng acid và các thuốc chống loét khác tác dụng trên đường tiêu hoá cũng khá cao (79,62%). BN ung thư thường được kê đơn nhiều loại thuốc, do đó các thuốc này thường được sử dụng làm thuốc phòng ngừa viêm dạ dày và các rối loạn tiêu hoá có thể xảy ra. Những thuốc hỗ trợ điều trị ung thư khác được sử dụng với tỷ lệ thấp hơn, tùy thuộc vào các biến cố bất lợi cụ thể mà BN gặp phải.

### KẾT LUẬN

Phân tích đặc điểm 65 BN trong mẫu nghiên cứu: BN có độ tuổi trung bình  $52,37 \pm 13,98$  tuổi, tỷ lệ BN nam gấp gần 3 lần BN nữ. Ung thư phổi gặp nhiều nhất (18,46%). Hầu hết BN được chẩn đoán ban đầu ở giai đoạn nặng. THA là bệnh mắc kèm xuất hiện nhiều nhất (23,33% lượt mắc).

Phân tích một số đặc điểm về phác đồ sử dụng thuốc điều trị ung thư: AC-T là phác đồ được sử dụng nhiều nhất (6,15% số đợt), chủ yếu là phác đồ kết hợp (75,96%) và không chuyển đổi phác đồ trong quá trình điều trị. Các ADE phần lớn là độ 1 (71,04%), gặp nhiều nhất là thiếu máu (50,58% số đợt).

Thuốc hỗ trợ trong điều trị ung thư được sử dụng nhiều nhất: Thuốc chống dị ứng và dùng trong các trường hợp quá mẫn, hormone tuyến thượng thận, thuốc chống nôn.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. International Agency for Research on Cancer (WHO). World cancer report. International Agency for Research on Cancer, Lyon. 2008.

2. Cao Thị Thuỳ Linh. Khảo sát dịch tễ học ung thư và chi phí y tế trực tiếp điều trị ung thư tại Việt Nam giai đoạn 2018 - 2019. *Khoá luận tốt nghiệp dược sĩ đại học*. Trường Đại học Dược Hà Nội. 2021.

3. Bộ Y tế. *Hướng dẫn thực hành dược lâm sàng cho Dược sĩ trong một số bệnh không lây nhiễm*. 2019.

4. Trần Nhân Thắng, Cấn Tuyết Nga và CS. Các biến cố bất lợi trên bệnh nhân ung thư điều trị ngoại trú ghi nhận thông qua hoạt động giám sát tích cực của dược sĩ lâm sàng. *Tạp chí Y học lâm sàng Bệnh viện Bạch Mai*. Số 101 tháng 4/2018.

5. Isabelle Ingrand, Gautier Defossez, Claire Lafay-Chebassier et al. Serious adverse effects occurring after chemotherapy: A general cancer registry-based incidence survey. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2020; 86(4):711-722.

6. Valentina Gambardella, Noelia Tarazona, Juan Miguel Cejalvo et al. Personalized medicine: Recent progress in cancer therapy. *Cancers*. 2020; 12(4):1009.

7. Bộ Y tế. *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh ung bướu*. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 2020.
8. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. *Nature*. 2019; 575:299-309. DOI: 10.1038/s41586-019-1730-1.
9. Đỗ Huyền Nga. Đánh giá kết quả hoá trị phác đồ bevacizumab kết hợp FOLFOX4 trong ung thư đại trực tràng di căn. *Luận án tiến sĩ*. Trường Đại học Y Hà Nội. 2018.
10. Phạm Tuấn Anh. Đánh giá hiệu quả phác đồ hoá chất 4C-4P liều dày trong điều trị hỗ trợ ung thư vú. *Luận án tiến sĩ*. Trường Đại học Y Hà Nội. 2020.
11. Pin-Fang He, Jing-Dong Zhou, Dong-Ming Yao. Efficacy and safety of decitabine in treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia: A systematic review and meta analysis. *Oncotarget*. 2017; 8(25):41498-41507.

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN  
CỦA VIÊN NANG MỀM HUP A TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Lê Thị Hồng Hạnh<sup>1\*</sup>, Đỗ Minh Trung<sup>2</sup>, Trịnh Nam Trung<sup>1</sup>  
Nguyễn Văn Huy<sup>3</sup>, Nguyễn Văn Thu<sup>1</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và độc tính bán trường diễn trên thỏ của viên nang mềm Hup A. **Phương pháp nghiên cứu:** Đánh giá độc tính cấp sử dụng phương pháp Litchfield - Wilcoxon trên chuột nhắt trắng, đánh giá độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn của OECD và Bộ Y tế Việt Nam trên thỏ. Viên nang mềm Hup A có chứa hoạt chất Huperzine A đạt tiêu chuẩn cơ sở được xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn theo đường uống trên động vật thực nghiệm. **Kết quả:** Sau khi cho chuột uống viên nang mềm Hup A (liều từ 40,00g - 160,00 g/kg) xác định được LD<sub>50</sub> = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg). Nghiên cứu độc tính bán trường diễn khi cho thỏ uống chế phẩm liên tục trong 42 ngày với hai mức liều 0,12 g/kg/24 giờ và 0,36 g/kg/24 giờ không phát hiện thấy ảnh hưởng đến một số chỉ tiêu về huyết học như số lượng hồng cầu, bạch cầu, hàm lượng hemoglobin; chỉ tiêu về chức năng gan thận gồm hoạt độ enzym AST, ALT, hàm lượng cholesterol, albumin, bilirubin toàn phần và creatinine. Kết quả mô bệnh học của tế bào gan, thận bình thường trên các lô thỏ nghiên cứu. **Kết luận:** Viên nang mềm Hup A có LD<sub>50</sub> = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg) trên chuột nhắt trắng, những lô liều cao chuột có biểu hiện run, tăng tiết mồ hôi, sau đó chết. Viên nang mềm Hup A không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu, chức năng gan, thận của thỏ thí nghiệm sau 42 ngày nghiên cứu.

**Từ khoá:** Huperzine A; Viên nang mềm HUP A; Độc tính cấp; Độc tính Bán trường diễn.

---

<sup>1</sup>Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

<sup>3</sup>Công ty TNHH Novatis Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: Lê Thị Hồng Hạnh (lionqueenhvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 07/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.497>

**STUDY ON THE ACUTE AND SEMI-CHRONIC TOXICITY OF HUP A CAPSULE IN EXPERIMENTAL ANIMALS**

**Abstract**

**Objectives:** To evaluate the acute toxicity on Hup A soft capsules in mice and sub-chronic toxicity in rabbits. **Methods:** The acute toxicity was assessed in mice using the Litchfield - Wilcoxon method; the semi-chronic toxicity was assessed in rabbits according to the guidelines of the OECD and the Ministry of Health of Vietnam. The products used in this study were Hup A soft capsules, Enterprise standard. **Results:** After giving Hup A capsules (40.00 - 160.00 g/kg) to mice, we determined LD50 = 92.88 g/kg (79.59 - 108.39 g/kg). High dose batches of mice showed tremors, increased sweating, and then they died. With two dosage of 0.12 g/kg/24h and 0.36 g/kg/24h, rabbits were administered continuously during 42 days. The results showed that no impact was detected on some hematological parameters: Red blood cell count, white blood cell count, and hemoglobin content; indicators of liver and kidney function: AST, ALT enzyme activities, Cholesterol, Albumin, Total Bilirubin and Creatinine content, histopathology of liver and kidney cells were normal in experimental rabbits. **Conclusion:** Hup A capsules had LD50 = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg) in white mice and did not affect hematopoietic, liver, or kidney function of experimental rabbits after 42 days of study.

**Keywords:** Hup A capsule; Acute toxicity; Semi-chronic toxicity; Experimental animal.

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

Theo báo cáo của Tổ chức Quốc tế Bệnh Alzheimer (ADI) năm 2015, trên thế giới có hơn 46,8 triệu người bị sa sút trí tuệ, con số này ước tính sẽ tăng lên 131,5 triệu người vào năm 2025. Tỷ lệ mắc Alzheimer tăng dần theo độ tuổi, người trên 75 tuổi có tỷ lệ mắc bệnh là 5% và tăng lên đến 40 - 50% ở người trên 85 tuổi. Việt Nam có tỷ lệ mắc các bệnh về sa sút trí tuệ là 5% ở những người trên 60 tuổi và tăng dần

theo độ tuổi [1, 2]. Huperzine A (Hup A) là hợp chất được phân lập từ cây thạch tùng răng cưa, có công thức hóa học là  $C_{15}H_{18}N_2O$ , khối lượng phân tử là 243,32 g/mol. Hup A có khả năng ức chế acetylcholinesterase mạnh, nên sự có mặt của Hup A làm giảm lượng acetylcholinesterase và làm tăng nồng độ acetylcholine trong não, từ đó giúp tăng cường khả năng học tập và trí nhớ, tăng sự tỉnh táo, chống trầm cảm,

bảo vệ chống lại sự suy giảm nhận thức liên quan đến tuổi tác [3]. Tại Học viện Quân y, nhóm nghiên cứu đã bào chế thành công chế phẩm chứa Huperzine A từ sinh khối Thạch tùng rừng cưa. Để tạo cơ sở khoa học cho các bước nghiên cứu tiếp theo, đánh giá độc tính bán trường diễn của chế phẩm trên động vật thực nghiệm là cần thiết. Vì vậy, nghiên cứu đã được tiến hành nhằm: *Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nang mềm Hup A trên động vật thực nghiệm.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Đối tượng nghiên cứu:* Viên nang mềm Hup A đạt tiêu chuẩn cơ sở, được sản xuất tại Trung tâm nghiên cứu, Ứng dụng và Sản xuất thuốc Học viện Quân y. Thành phần viên nang gồm Huperzine A chiết xuất từ Thạch Tùng rừng cưa 200 $\mu$ g.

\* *Động vật sử dụng trong nghiên cứu:* Chuột nhắt trắng dòng Swiss và thỏ được nuôi dưỡng trong điều kiện chuẩn. Chuột nhắt trắng dòng Swiss cân nặng 20 - 22g. Thỏ cân nặng  $2,20 \pm 0,20$ kg được cung cấp và nuôi dưỡng tại nhiệt độ 25 - 30°C, độ ẩm 60 - 70%, ăn thức ăn chuẩn tại Trung tâm Nghiên cứu động vật thực nghiệm, Học viện Quân y.

\* *Thiết bị và dụng cụ chính sử dụng trong nghiên cứu:* Máy xét nghiệm huyết học tự động (Swelab Alpha, Thụy Điển), máy xét nghiệm sinh hoá tự động (Biosystem BTS350, Tây Ban Nha), bộ dụng cụ phẫu thuật cho động vật cỡ nhỏ (Everbest, Pakistan)...

\* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu:* Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Bệnh viện Quân y 103 và các bộ môn, khoa của Học viện Quân y. Thời gian từ tháng 9/2020 - 01/2021.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Xác định độc tính cấp theo đường uống trên chuột:*

Chuẩn bị mẫu: Pha 30 viên đã bỏ vỏ nang trong 18mL dầu ăn được hỗn dịch với thể tích 22,5mL để sử dụng cho thử nghiệm.

Độc tính cấp được xác định theo đường uống trên chuột nhắt trắng, thực hiện theo hướng dẫn của Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế (OECD) và Bộ Y tế Việt Nam. Chuột nhắt trắng (n = 100 con) được chia ngẫu nhiên vào các lô, mỗi lô 10 con, sau đó, chuột được cho uống chế phẩm với liều tăng dần từ 40,00 - 160,00 g/kg/24 giờ, theo dõi tỷ lệ sống chết trong 72 giờ và theo dõi các chỉ tiêu toàn thân trong 01 tuần. Các chỉ tiêu theo dõi toàn thân gồm cân nặng, hoạt động, ăn uống, thần kinh, lông, tiêu hoá...

Tính toán Hup cần xác định liều cao nhất không gây chết và liều thấp nhất gây chết 100% số chuột theo phương pháp cải tiến của Lichtfiel - Wilcoxon [4, 5].

\* *Đánh giá độc tính bán trường diễn của viên nang mềm Hup A trên thỏ:*

- Chuẩn bị mẫu: Liều 1 pha 10 viên đã bỏ vỏ nang trong 23,5mL dầu ăn được hỗn dịch 25mL, liều 2 pha 30 viên với dầu ăn được hỗn dịch 25mL.

- Bố trí thí nghiệm: 30 thỏ được sử dụng cho nghiên cứu, chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con [4, 6, 7].

Lô chứng (n = 10): Uống dầu ăn liên tục 42 ngày với thể tích 0,3 mL/kg/24 giờ.

Lô trị 1 (n = 10): Uống viên nang mềm Hup A liên tục trong 42 ngày với liều 0,12 g/kg/24 giờ (V = 0,3 mL/kg/24 giờ), tương đương 24  $\mu$ g/kg/24 giờ Huperzine A (tương ứng với liều dùng trên người, hệ số 3).

Lô trị 2 (n = 10): Uống viên nang mềm Hup A liên tục trong 42 ngày với liều 0,36 g/kg/24 giờ (V = 0,3 mL/kg/24 giờ), tương đương 72  $\mu$ g/kg/24 giờ Huperzine A (gấp 3 lần liều dùng trên người, hệ số 3).

\* *Chỉ tiêu đánh giá:*

Chỉ tiêu theo dõi toàn thân: Thỏ được cân và theo dõi hoạt động, ăn uống, lông, tiêu hóa, thần kinh... tại 3 thời điểm là: Trước, sau 03 tuần và sau 06 tuần thí nghiệm.

Huyết học: Hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu.

Sinh hóa: AST, ALT, creatinine, cholesterol, albumin, bilirubin toàn phần.

Mô bệnh học: Sau 42 ngày, phẫu tích thỏ lấy gan, thận. Quan sát hình ảnh đại thể các cơ quan gan, thận và làm tiêu bản mô bệnh học 30% số thỏ.

Thỏ được lấy mẫu nghiên cứu các chỉ số sinh hóa, huyết học tại 03 thời điểm: Xuất phát điểm, sau 03 tuần và sau 06 tuần nghiên cứu .

Các xét nghiệm sinh hoá và huyết học được tiến hành tại Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, mô bệnh học được tiến hành tại Khoa Giải phẫu, Bệnh viện Quân y 103.

\* *Xử lý và phân tích số liệu:*

Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 để xử lý thống kê. Các chỉ số đưa ra trong quá trình phân tích gồm giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, p.

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Đây là nghiên cứu phục vụ cho mục đích cung cấp các chế phẩm hỗ trợ bảo vệ sức khỏe cho cộng đồng. Các động vật thí nghiệm luôn được chăm sóc trong điều kiện vệ sinh sạch sẽ, cung cấp thức ăn và nước uống theo tiêu chuẩn. Các quy trình và thao tác thực hiện theo quy định chung của động vật thí nghiệm.

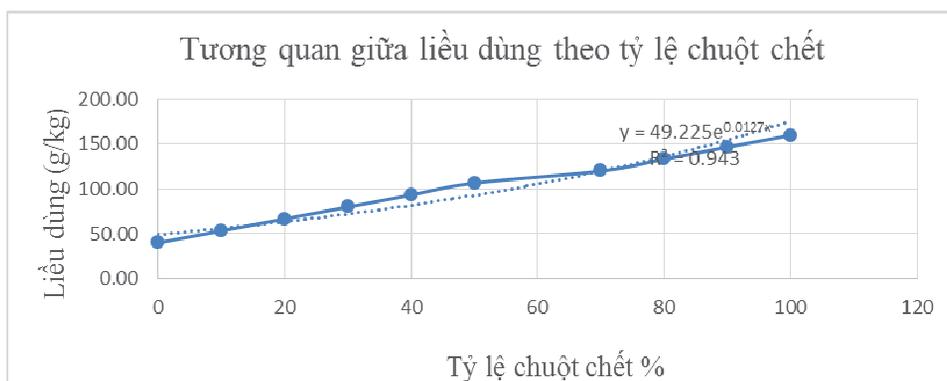
**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang mềm Hup A theo đường uống trên chuột nhắt trắng**

**Bảng 1.** Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang mềm Hup A trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

<b>Liều sử dụng (g/kg trọng lượng cơ thể/24 giờ)</b>	<b>n</b>	<b>Số lượng động vật chết (sau 72 giờ)</b>	<b>Tỷ lệ chết (%) (sau 72 giờ)</b>
40,00	10	0	0
53,33	10	01	10
66,67	10	02	20
80,00	10	03	30
93,33	10	04	40
106,67	10	05	50
120,00	10	07	70
133,33	10	08	80
146,67	10	09	90
160,00	10	10	100
Lô chứng uống dầu ăn V = 1,2 mL/10g/24 giờ	10	0	0

Sau khi dùng viên nang mềm Hup A từ mức liều 40,00 - 160,00 g/kg/24 giờ, tỷ lệ chuột chết tăng dần ở các mức liều tăng dần. Những lô liều cao, chuột có biểu hiện run, tăng tiết mồ hôi, không tiêu chảy, sau đó chết. Từ kết quả bảng trên, đánh giá mối tương quan giữa liều dùng và tỷ lệ chuột chết, kết quả được thể hiện ở hình 1.



**Hình 1.** Tương quan giữa liều dùng theo tỷ lệ chuột chết.

Từ các kết quả trên xác định được LD50 theo đường uống trên chuột nhắt trắng là: LD50 = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg).

## 2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nang mềm Hup A theo đường uống trên thỏ nghiên cứu

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của viên nang mềm Hup A đến cân nặng của thỏ nghiên cứu.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1, 2, 3</sub>
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Cân nặng (g)	Trước thí nghiệm (a)	2,23 ± 0,13	2,08 ± 0,12	2,12 ± 0,20	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	2,02 ± 0,22	1,91 ± 0,20	1,93 ± 0,21	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	2,00 ± 0,21	1,97 ± 0,22	1,89 ± 0,31	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05	
		p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	
		p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	

Cân nặng thỏ ở cả ba lô nghiên cứu sau 03 tuần và 06 tuần đều giảm ( $p_{a-b} < 0,05$ ,  $p_{a-c} < 0,05$ ,  $p_{b-c} > 0,05$ ). So sánh ba lô tại cùng một thời điểm xuất phát điểm, sau 03 tuần và 06 tuần uống viên nang mềm Hup A không có sự khác biệt giữa lô trị 1, lô trị 2 và lô chứng ( $p > 0,05$ ). Như vậy, thỏ uống 42 ngày liên tục Hup A với liều 1 và liều 2 không ảnh hưởng đến cân nặng của thỏ nghiên cứu.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của viên nang mềm Hup A đến một số chỉ tiêu về huyết học của thỏ nghiên cứu.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1, 2, 3</sub>
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Hồng cầu (T/L)	Trước thí nghiệm (a)	5,57 ± 0,67	5,57 ± 0,45	5,61 ± 0,49	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	5,58 ± 0,32	5,46 ± 0,48	5,47 ± 0,61	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	4,57 ± 0,43	4,71 ± 0,33	5,02 ± 0,68	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05 p <sub>a-c</sub> > 0,05 p <sub>b-c</sub> > 0,05	
HST (G/dL)	Trước thí nghiệm (a)	11,85 ± 0,90	11,99 ± 0,86	11,86 ± 0,89	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	11,51 ± 0,68	11,39 ± 0,65	11,47 ± 0,99	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	10,38 ± 0,85	10,46 ± 0,63	9,95 ± 1,76	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> < 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> > 0,05	
Bạch cầu (G/L)	Trước thí nghiệm (a)	12,09 ± 2,22	11,26 ± 2,80	12,00 ± 2,28	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	9,34 ± 1,79	8,48 ± 2,99	7,76 ± 1,70	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	5,93 ± 2,21	5,49 ± 1,71	6,20 ± 2,10	> 0,05

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1, 2, 3</sub>
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Pa,b,c		$p_{a-b} < 0,05$	$p_{a-b} < 0,05$	$p_{a-b} < 0,05$	
		$p_{a-c} < 0,05$	$p_{a-c} < 0,05$	$p_{a-c} < 0,05$	
		$p_{b-c} < 0,05$	$p_{b-c} < 0,05$	$p_{b-c} > 0,05$	
Tiểu cầu (G/L)	Trước thí nghiệm (a)	$340,50 \pm 34,66$	$371,30 \pm 100,57$	$413,70 \pm 69,49$	$> 0,05$
	Sau 03 tuần (b)	$240,70 \pm 50,12$	$263,8 \pm 87,23$	$254,20 \pm 95,35$	$> 0,05$
	Sau 06 tuần (c)	$286,00 \pm 52,75$	$334,50 \pm 83,21$	$341,20 \pm 102,39$	$> 0,05$
Pa,b,c		$p_{a-b} < 0,05$	$p_{a-b} < 0,05$	$p_{a-b} < 0,05$	
		$p_{a-c} < 0,05$	$p_{a-c} > 0,05$	$p_{a-c} > 0,05$	
		$p_{b-c} > 0,05$	$p_{b-c} > 0,05$	$p_{b-c} > 0,05$	

Số lượng hồng cầu và huyết sắc tố ở ba nhóm nghiên cứu sau 03 và 06 tuần đều giảm. Đối với lô chứng và lô trị 1, số lượng hồng cầu sau 03 tuần và sau 06 tuần có sự khác biệt với xuất phát điểm ( $p < 0,05$ ). Giá trị hồng cầu ở lô trị 2 tại các thời điểm là tương đương ( $p > 0,05$ ). Hàm lượng huyết sắc tố sau 06 tuần giảm khác biệt ở cả ba lô so với thời điểm xuất phát điểm ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, các giá trị số lượng hồng cầu và huyết sắc tố đều nằm trong giá trị bình thường của thỏ (hồng cầu: 4,4 - 5,6 T/L; huyết sắc tố: 8,9 - 12,8 G/dL) [5]. So sánh ba nhóm tại cùng một thời điểm, các giá trị số lượng hồng cầu và huyết sắc tố là tương đương ( $p > 0,05$ ).

Số lượng bạch cầu ở ba nhóm sau 03 và 06 tuần nghiên cứu có xu thế đều giảm so với thời điểm xuất phát điểm ( $p_{a-b} < 0,05$ ,  $p_{a-c} < 0,05$ ). Số lượng bạch cầu ở thỏ bình thường thấp hơn ở người và có sự thay đổi khác nhau tại từng đợt thí nghiệm [5]. Đặc biệt, khi so sánh ba nhóm tại cùng một thời điểm, số lượng bạch cầu không có sự khác biệt giữa lô chứng và lô trị 1 và lô trị 2 ( $p > 0,05$ ).

Số lượng tiểu cầu của các lô đều trong giá trị bình thường của thỏ. So sánh 3 nhóm tại cùng một thời điểm, số lượng tiểu cầu không khác biệt giữa lô chứng và lô trị 1 và lô trị 2 ( $p > 0,05$ ).

Như vậy, thỏ uống Hup A liên tục sau 42 ngày không có sự ảnh hưởng đến các chỉ số huyết học.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của viên nang mềm Hup A đối với chức năng gan, thận của thỏ.

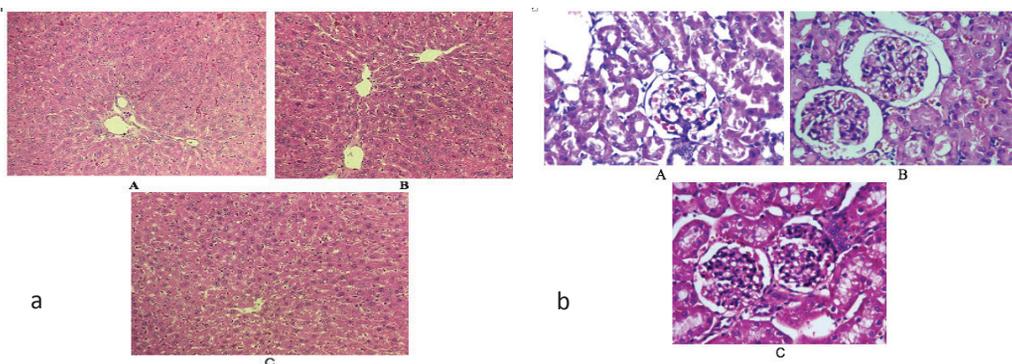
Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1,2,3</sub>
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
AST (U/L)	Trước thí nghiệm (a)	49,49 ± 39,01	50,67 ± 35,26	50,53 ± 31,82	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	53,73 ± 39,33	47,71 ± 37,93	56,0 ± 35,00	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	50,8 ± 26,73	49,53 ± 32,05	40,33 ± 19,02	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	
		p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	
ALT (U/L)	Trước thí nghiệm (a)	81,68 ± 32,57	81,40 ± 42,03	95,02 ± 31,52	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	92,21 ± 62,83	80,60 ± 37,47	74,1 ± 33,03	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	77,16 ± 30,17	78,4 ± 23,58	80,59 ± 42,24	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	
		p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	
Cholesterol (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	2,51 ± 0,81	2,67 ± 1,12	2,29 ± 0,70	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	2,11 ± 0,74	1,73 ± 0,81	1,81 ± 0,82	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	1,23 ± 0,34	1,10 ± 0,28	1,07 ± 0,33	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	
		p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	

TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - SỐ CHUYÊN ĐỀ DƯỢC HỌC NĂM 2023

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1,2,3</sub>
		Chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Albumin (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	36,04 ± 1,94	37,19 ± 1,74	36,79 ± 1,07	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	37,19 ± 3,42	35,63 ± 2,19	38,27 ± 4,23	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	37,69 ± 3,72	36,27 ± 1,39	36,52 ± 0,73	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	
		p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	
Creatinine (μmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	124,65 ± 17,87	143,12 ± 23,53	128,71 ± 24,39	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	129,94 ± 26,19	112,5 ± 19,67	115,68 ± 9,10	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	89,71 ± 27,60	68,65 ± 10,80	76,60 ± 15,12	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	
		p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	
Bilirubin TP (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	1,37 ± 0,32	1,56 ± 0,53	1,60 ± 0,54	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	1,08 ± 0,26	1,41 ± 0,67	1,25 ± 0,64	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	2,32 ± 0,21	2,16 ± 0,40	2,17 ± 0,16	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	
		p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	

Ảnh hưởng của Hup A đến chức năng gan được đánh giá thông qua các chỉ số AST, ALT, cholesterol, albumin và bilirubin toàn phần. Kết quả bảng trên cho thấy, nồng độ enzym AST và ALT của thỏ nghiên cứu khi so sánh tại cùng một thời điểm giữa ba lô nghiên cứu là tương đương, không có sự khác biệt giữa hai lô trị 1, lô trị 2 và lô chứng ( $p > 0,05$ ). Sau 06 tuần nghiên cứu, nồng độ cholesterol của ba lô nghiên cứu đều giảm, so sánh tại cùng một thời điểm, giá trị của ba lô nghiên cứu là tương đương ( $p > 0,05$ ). Các giá

trị nồng độ albumin và bilirubin toàn phần của thỏ đều trong giới hạn bình thường, không có sự khác biệt giữa các lô trị 1, lô trị 2 và lô chứng ( $p > 0,05$ ). Đánh giá chức năng thận thông qua chỉ số creatinine cho thấy, nồng độ creatinine có xu thế giảm sau 03 tuần và 06 tuần nghiên cứu, so sánh tại cùng một thời điểm, các lô không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ). Như vậy, Hup A không ảnh hưởng đến các chỉ số sinh hoá đánh giá chức năng gan, thận của thỏ sau 06 tuần uống liên tục với hai mức liều 0,12g và 0,36g.



**Hình 2.** Mô bệnh học tạng của thỏ ở các nhóm nghiên cứu.

a: Mô bệnh học gan thỏ (A: Lô chứng ; B: Lô trị 1; C: Lô trị 2);

b: Mô bệnh học thận thỏ (A: Lô chứng ; B: Lô trị 1; C: Lô trị 2).

Sau khi phẫu tích và quan sát hình ảnh đại thể các cơ quan gan và thận cho thấy, không có sự khác biệt về hình thái và màu sắc giữa lô trị 1 và lô trị 2 so với lô chứng.

Trên tiêu bản mô bệnh học gan, thận thỏ cho thấy, lô trị 1 và lô trị 2 với liều 0,12 g/kg/24 giờ và liều 0,36 g/kg/24h thỏ uống liên tục trong 42 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận của thỏ nghiên cứu.

## BÀN LUẬN

Xác định được LD50 = 92,88 g/kg (79,5 - 108,39 g/kg) tương đương với liều của Huperzine A có trong chế phẩm là 18,58 (15,92 - 21,68 mg/kg/24 giờ). Theo nghiên cứu Debasis Bagchi và CS, LD50 của Huperzine A trên chuột nhắt trắng là 4,6 mg/kg/24 giờ [7]. Huperzine A được chiết xuất từ sinh khối Thạch tùng răng cưa Việt Nam và được thử trên dòng chuột nhắt trắng Swiss đã cho kết quả độc tính cấp ở liều cao hơn một số nghiên cứu khác. Điều này do chế phẩm nghiên cứu khác nhau, nguồn gốc của Huperzine A trong các nghiên cứu là khác nhau và giống chuột nhắt trắng sử dụng cũng khác nhau. Chế phẩm ở dạng nghiên cứu là viên nang mềm, còn các nghiên cứu khác thì Huperzine A ở dạng tinh chất. Trong nghiên cứu này, Huperzine A được chiết xuất từ sinh khối Thạch tùng răng cưa tại Việt Nam.

Trong điều trị Alzheimer, liều khuyến cáo sử dụng của Huperzine A là khoảng từ 0,2 - 0,5 mg/ngày [8] (theo quyết định số 141/QĐ-K2ĐT của Bộ Y tế). Trong nghiên cứu bán trường diễn sử dụng hai mức liều là 0,12 g/kg/24 giờ tương ứng với mức liều Huperzine A 0,4 mg/24 giờ trên người, một liều gấp 3 lần là 0,36 g/kg/24 giờ tương ứng mức liều sử dụng trên người là 1,2 mg/24 giờ (hệ số là 3) [4]. Các

chỉ số về số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu, tiểu cầu trước khi tiến hành thí nghiệm và tại thời điểm cho thỏ uống viên nang mềm Huperzine A 03 tuần và 06 tuần, so sánh giữa các lô tại cùng một thời điểm tương đối đồng nhất và vẫn nằm trong khoảng giá trị bình thường của thỏ. So sánh kết quả với nghiên cứu của tác giả Xu và CS, 50 bệnh nhân được sử dụng Huperzine A với hàm lượng 0,4 mg/ngày trong vòng 8 tuần, kết quả các chỉ số huyết học cho thấy các chỉ số về hàm lượng huyết sắc tố, số lượng bạch cầu tương đối ổn định, gần như không thay đổi sau 8 tuần, Huperzine A không gây ảnh hưởng đến các chỉ số huyết học [9].

Trong nghiên cứu của Lei Sheng (2016), 35 bệnh nhân mắc Alzheimer thể nhẹ đến trung bình được sử dụng Huperzine A với liều 0,2 mg/ngày trong 4 tuần sau đó tăng lên 0,4 mg/ngày trong 4 tuần tiếp theo, liều dùng sẽ được điều chỉnh dựa theo đáp ứng và khả năng dung nạp ở tuần thứ 8, thời gian điều trị kéo dài 24 tuần. Kết quả về nồng độ creatinine ghi nhận nằm trong khoảng giá trị bình thường ở người, Huperzine A gần như không gây ảnh hưởng đến nồng độ creatinine [10]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ creatinine máu của thỏ không có sự khác biệt giữa các lô tại cùng thời điểm nghiên cứu.

## KẾT LUẬN

Kết quả độc tính cấp của viên nang mềm Hup A trên chuột nhắt trắng xác định được LD50 = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg). Những lô liều cao chuột có biểu hiện run, tăng tiết mồ hôi, sau đó tử vong.

Kết quả độc tính bán trường diễn của viên nang mềm Hup A trên thỏ sau khi được cho uống thuốc liên tục viên nang mềm Hup A trong 42 ngày với liều 1 là 0,12 g/kg/24 giờ (tương đương với dự kiến dùng trên người) và liều 2 là 0,36 g/kg/24 giờ. Viên nang mềm Hup A không ảnh hưởng đến cân nặng của thỏ, không ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu, không ảnh hưởng chức năng gan, chức năng thận của thỏ nghiên cứu.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer report 2015.
2. Bộ Y tế. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số rối loạn tâm thần thường gặp. Quyết định số 2058/QĐ-BYT, ngày 14/05/2020.
3. U Damar, R Gersner, J T Johnstone et al. Huperzine A as a neuroprotective and antiepileptic drug: A review of preclinical research. *Expert Rep Neurother*. 2016; 16(6):671-80.
4. Bộ Y tế. Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu. *Quyết định 141-QĐ-K2ĐT 27/10/2015*.
5. Đỗ Trung Đàm. *Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp của thuốc*. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 2014.
6. OECD, Test No.407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, *OECD Guidelines for the testing of Chemicals, Section 4: Health Effects*. 2008.
7. Debasis Bagchi, Manashi Bagchi, Anand Swaroop et al. Huperzine A and Shankhapushpi in Brain Health. *Phytopharmaceuticals for Brain Health*. 2017:101-118.
8. Giang T Ha, Ryan K Wong, Yan Zhang. Huperzine aHs a potential treatment of Alzheimer's disease: An assessment on chemistry, pharmacology, and clinical studies. *Chemistry & Biodiversity*. 2011; 8(7):1189-1204.
9. SS Xu, ZX Gao, Z Weng et al. Efficacy of tablet HuperzineA on memory, cognition, and behavior in Alzheimer's disease. *Zhonggou Yao Li Xue Bao*. 1995; 16(5):391-395.
10. Lei Sheng, Yi Qu, Jing Yan et al. Population pharmacokinetic modeling and stimulation of huperzine A in elderly Chinese subjects. *Acta Pharmacol Sin*. 2016; 37(7):994-1001.

**PHÂN TÍCH HIỆU QUẢ CAN THIỆP CỦA DƯỢC SĨ LÂM SÀNG  
TRÊN MỘT SỐ VẤN ĐỀ LIÊN QUAN ĐẾN THUỐC KÊ ĐƠN NGOẠI TRÚ  
TẠI KHOA KHÁM BỆNH - BỆNH VIỆN QUÂN Y 105 NĂM 2022**

*Nguyễn Xuân Trung<sup>1\*</sup>, Hồ Cảnh Hậu<sup>1</sup>, Trần Văn Hải<sup>1</sup>  
Nguyễn Tô Hiệu<sup>1</sup>, Nguyễn Cẩm Vân<sup>2</sup>, Trịnh Thị Như Ngọc<sup>3</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Phân tích hiệu quả can thiệp của dược sĩ lâm sàng trên một số vấn đề liên quan đến thuốc (drug-related problems - DRPs) trong kê đơn ngoại trú tại Khoa Khám bệnh, Bệnh viện Quân y 105 năm 2022. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang và so sánh trên 786 đơn thuốc trong giai đoạn chưa có dược sĩ lâm sàng (từ ngày 01 - 31/11/2021) và trên 256 đơn thuốc trong giai đoạn có can thiệp của dược sĩ lâm sàng (từ ngày 16 - 30/01/2022) tại 03 phòng khám chuyên khoa nội tổng hợp thuộc Khoa Khám bệnh. Hiệu quả can thiệp được đánh giá thông qua so sánh tỷ lệ DRPs của đơn thuốc ngoại trú giữa 2 giai đoạn và sự đồng thuận của bác sĩ với nội dung can thiệp. **Kết quả:** Số lượt kê thuốc không có DRPs tăng từ 9,1% khi chưa có dược sĩ lâm sàng lên 53,1% sau can thiệp. Tỷ lệ giữa số lượng DRPs trên tổng số lượt kê thuốc giảm từ 1,62 xuống 0,58, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . DRPs ngoại trú xuất hiện trên 23 thuốc, tương ứng 46 cặp thuốc - mã DRPs. Tỷ lệ đồng thuận của bác sĩ với DRPs đạt  $> 95\%$ . Mức ý nghĩa của DRPs được bác sĩ đánh giá theo thang phân loại tại mức 3 (không đáng kể) với  $> 88\%$ . **Kết luận:** Can thiệp của dược sĩ lâm sàng làm giảm số lượt kê đơn thuốc ngoại trú có xuất hiện DRPs, bác sĩ có sự đồng thuận cao với nội dung can thiệp.

**Từ khóa:** Hiệu quả can thiệp của dược sĩ lâm sàng; Kê đơn ngoại trú; Khoa Khám bệnh, Bệnh viện Quân y 105.

<sup>1</sup>Bệnh viện Quân y 105

<sup>2</sup>Học viện Quân y

<sup>3</sup>Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Xuân Trung (Dstrungbv105@gmail.com)

Ngày nhận bài: 28/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 02/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.487>

**ANALYSIS OF THE INTERVENTION EFFECTIVENESS OF CLINICAL PHARMACISTS ON SEVERAL ISSUES RELATED TO OUTPATIENT PRESCRIPTION DRUGS AT THE DEPARTMENT OF MEDICAL EXAMINATION, MILITARY HOSPITAL 105 IN 2022**

**Abstract**

**Objectives:** To analyze the intervention effectiveness of clinical pharmacists on several drug-related problems (DRPs) in outpatient prescription at the Department of Medical Examination, Military Hospital 105 in 2022. **Methods:** A retrospective, cross-sectional descriptive and comparative on 786 prescriptions during the period without clinical pharmacist intervention (from 1<sup>st</sup> to 31<sup>st</sup> November 2021) and 256 prescriptions during the period with clinical pharmacist intervention (from 16<sup>th</sup> to 30<sup>th</sup> January 2022) was conducted at 3 General Internal Medicine clinics of the Medical Examination Department. The intervention effectiveness was evaluated by comparing the DRPs rate of outpatient prescriptions between the two periods in which doctors agreed with the intervention content. **Results:** The number of prescriptions without DRPs increased from 9.1% - 53.1% before and after the intervention. The ratio of the number of DRPs to the total number of prescriptions decreased from 1.62 - 0.58, a statistically significant difference with  $p < 0.001$ . Outpatient DRPs appeared on 23 drugs, corresponding to 46 drug-DRPs code pairs. The doctor's consensus rate with DRPs was more than 95%. The significance of DRPs was assessed by doctors according to the classification scale at level 3 (not significant) with over 88%. **Conclusion:** Clinical pharmacist intervention reduced the number of outpatient prescriptions with DRPs, and doctors show a high level of agreement with the intervention content.

**Keywords:** Intervention effectiveness of clinical pharmacists; Outpatient prescription; Medical Examination Department - Military Hospital 105.

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

DRPs có thể ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị và làm tăng nguy cơ nhập viện cho bệnh nhân (BN). Việc xác định DRPs và các yếu tố nguy cơ liên quan đến DRPs có ý nghĩa quan trọng,

góp phần nâng cao hiệu quả điều trị, giảm tỷ lệ mắc bệnh hay tử vong [1]. Bằng các biện pháp can thiệp của dược sĩ lâm sàng, nhiều DRPs có thể được ngăn ngừa một cách hiệu quả [2, 3].

Bệnh viện Quân y 105 là bệnh viện đa khoa hạng I của quân đội. Mỗi năm bệnh viện tiếp nhận khoảng 168.000 lượt BN đến khám và kê đơn thuốc điều trị ngoại trú. Tuy nhiên, việc đánh giá DRPs trên đối tượng BN ngoại trú tại bệnh viện còn hạn chế. Xuất phát từ nhu cầu thực tiễn trên, nghiên cứu được tiến hành nhằm: *Khảo sát DRPs ngoại trú tại bệnh viện và đánh giá hiệu quả các biện pháp can thiệp của dược sĩ lâm sàng, góp phần nâng cao chất lượng kê đơn ngoại trú, hướng tới sử dụng thuốc hợp lý, an toàn và hiệu quả.*

## **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1. Đối tượng nghiên cứu**

*\* Đối tượng nghiên cứu:*

Trong nghiên cứu thử nghiệm triển khai tại Khoa Khám bệnh, số lượng DRPs trong đơn thuốc ngoại trú xuất hiện nhiều nhất được phát hiện tại 03 phòng khám chuyên khoa Nội tổng hợp với mã số 106, 108 và 118.

Vì vậy đối tượng được lựa chọn nghiên cứu là đơn thuốc bảo hiểm y tế (BHYT) kê cho BN ngoại trú khám tại 03 phòng khám trên trong 2 giai đoạn: Giai đoạn chưa có dược sĩ lâm sàng (từ ngày 01 - 31/11/2021) và giai đoạn có dược sĩ lâm sàng (từ ngày 16 - 30/01/2022) thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ.

*\* Tiêu chuẩn lựa chọn:*

Đơn thuốc có ít nhất 2 thuốc nằm trong danh mục thuốc nghiên cứu (là các thuốc thuộc danh mục thuốc kê đơn ngoại trú của bệnh viện do BHYT chi trả).

*\* Tiêu chuẩn loại trừ:*

Đơn thuốc có ít hơn 2 thuốc trong danh mục thuốc nghiên cứu.

Thuốc không đưa vào nghiên cứu bao gồm: Thuốc có nguồn gốc dược liệu, thuốc y học cổ truyền, thuốc dùng ngoài, vitamin và khoáng chất.

### **2. Phương pháp nghiên cứu**

*\* Thiết kế nghiên cứu:*

Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang và so sánh.

*\* Công cụ nghiên cứu:*

Bộ công cụ phát hiện DRPs được dược sĩ lâm sàng xây dựng dựa trên: (1) Tờ hướng dẫn sử dụng thuốc; (2) Hướng dẫn điều trị của Bộ Y tế; (3) Dược thư Quốc gia Việt Nam và được phân loại theo hệ thống phân loại PCNE V9.1 (Pharmaceutical Care Network Europe).

*\* Quy trình nghiên cứu:*

- Bước 1: Dược sĩ lâm sàng xây dựng nội dung can thiệp dựa trên kết quả phân loại DRPs thu được khi đánh giá đơn thuốc ngoại trú tại 03 phòng khám từ ngày 01 - 30/11/2021.

**Bảng 1.** Phân loại DRPs theo PCNE.

TT	Mã DRPs	Phiên giải DRPs
1	C1.1.1	Không phù hợp giữa chỉ định và chẩn đoán trong đơn thuốc
2	C1.1.2	Không phù hợp với chống chỉ định/khuyến cáo không dùng
3	C2.1	Hướng dẫn dùng dạng bào chế đặc biệt không phù hợp hoặc không hướng dẫn
4	C3.1	Liều thấp hơn liều tối thiểu khuyến cáo cho BN/24 giờ
5	C3.4	Chế độ liều quá cao (khoảng cách liều quá ngắn)
6	C3.5	Hướng dẫn thời điểm dùng (chế độ liều) không chính xác, không rõ ràng hoặc không hướng dẫn

- Bước 2: Trong 2 giai đoạn của nghiên cứu không có sự thay đổi bác sĩ phụ trách tại 03 phòng khám. Dược sĩ lâm sàng tiến hành can thiệp trên bác sĩ kê đơn từ ngày 01 - 15/01/2022. Phương pháp can thiệp: Cung cấp thông tin, tài liệu, trao đổi về các cặp thuốc - mã DRPs đã phát hiện. Cụ thể:

+ Gửi bác sĩ phụ trách phòng khám danh sách những vấn đề liên quan đến thuốc cần lưu ý: Mô tả chi tiết từng cặp thuốc - mã DRPs, tài liệu tham khảo, các đề xuất được đưa ra nhằm khắc phục DRPs.

+ Cung cấp và hướng dẫn bác sĩ sử dụng tài liệu tra cứu thông tin liên quan đến DRPs. Trong thời gian 2 tuần (01/01 - 15/01), các bác sĩ nghiên cứu danh sách các DRPs, dược sĩ lâm sàng có trách nhiệm cung cấp các thông tin tra cứu giải đáp các ý kiến thắc mắc đề nghị làm rõ của các bác sĩ.

- Bước 3: Dược sĩ lâm sàng lấy ý kiến đồng thuận của bác sĩ về DRPs (các cặp thuốc - mã DRPs) trong nội dung can thiệp. Nội dung được bác sĩ đồng thuận, tiến hành xin ý kiến của bác sĩ về mức ý nghĩa của DRPs theo thang phân loại 3 mức độ: Đáng kể, trung bình và không đáng kể [4, 5, 6].

- Bước 4: Đánh giá DRPs sau can thiệp từ ngày 16 đến hết ngày 30/01/2022, lựa chọn 5 ngày làm việc ngẫu nhiên, tiến hành rà soát DRPs trên đơn thuốc BHYT ngoại trú của 03 phòng khám.

*\* Xử lý số liệu:*

- Sử dụng phần mềm Excel 2013 để quản lý dữ liệu và sử dụng phần mềm R để xử lý số liệu với mức ý nghĩa thống kê  $\alpha = 0,05$ .

- Sử dụng kiểm định Fisher's exact với phương pháp điều chỉnh trị số p là

“holm” nhằm so sánh tỷ lệ lượt kê thuốc không xuất hiện DRPs trên tổng số lượt kê các thuốc trong danh sách DRPs và tỷ lệ phần trăm lượt kê mắc từng mã DRPs trong tổng số lượt kê của 5 thuốc có tổng DRPs gặp nhiều nhất trước và sau can thiệp.

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được Bệnh viện Quân y 105, Khoa Khám bệnh, Khoa Dược đồng ý và cung cấp số liệu. Các thông tin trong nghiên cứu được đảm bảo bí mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Thống kê danh sách DRPs xuất hiện trong đơn thuốc trước can thiệp

Đặc điểm DRPs trong đơn thuốc điều trị ngoại trú tại 03 phòng khám trong giai đoạn chưa có dược sĩ lâm sàng can thiệp (01/11/2023 - 30/11/2023) như sau:

**Bảng 2.** Danh sách DRPs ngoại trú.

TT	Tên thuốc	Các mã DRPs xuất hiện trong đơn						Tổng
		C1.1.1	C1.1.2	C2.1	C3.1	C3.4	C3.5	
1	Acarbose	1					1	2
2	Acetylsalicylic acid			1			1	2
3	Alfuzosin	1		1			1	3
4	Allopurinol	1	1				1	3
5	Amlodipin	1						1
6	Bezafibrat	1		1	1		1	4
7	Bisoprolol + hydrochlorothiazid	1						1
8	Cefdinir				1	1		2
9	Ciprofloxacin	1						1
10	Diosmin	1						1
11	Fenofibrat	1					1	2
12	Gliclazid	1		1			1	3
13	Ivabradin	1					1	2
14	Magnesi hydroxyd + Nhôm hydroxyd + Simethicon	1					1	2
15	Meloxicam	1				1	1	2
16	Metformin	1		1			1	3

TT	Tên thuốc	Các mã DRPs xuất hiện trong đơn						Tổng
		C1.1.1	C1.1.2	C2.1	C3.1	C3.4	C3.5	
17	Nizatidin						1	1
18	Perindopril						1	1
19	Perindopril + Amlodipin	1					1	2
20	Perindopril + Indapamid						1	1
21	Piracetam	1			1			2
22	Spirolacton						1	1
23	Trimetazidin	1		1			1	3
	Tổng	17	1	6	3	2	17	46

Giai đoạn chưa có dược sĩ lâm sàng, DRPs ngoại trú xuất hiện trên 23 thuốc với 46 DRPs (cặp thuốc - mã DRPs), trong đó Bezafibrat xuất hiện nhiều mã DRPs nhất (4 DRPs).

## 2. Tỷ lệ đồng thuận của nhóm bác sĩ và mức ý nghĩa của nhóm bác sĩ các DRPs trong danh sách

\* Tỷ lệ đồng thuận:

Dược sĩ lâm sàng xây dựng nội dung can thiệp trên 46 DRPs (cặp thuốc - mã DRPs) và tiến hành lấy ý kiến đồng thuận của bác sĩ tại 03 phòng khám. Kết quả được thể hiện qua bảng 3.

**Bảng 3.** Tỷ lệ đồng thuận DRPs được xác định bởi các bác sĩ.

Mã DRPs	Số lượng DRPs	BS phòng khám 106		BS phòng khám 108		BS phòng khám 118	
		n	%	n	%	n	%
C1.1.1	17	17	100	17	100	17	100
C1.1.2	1	1	100	1	100	1	100
C2.1	6	6	100	6	100	6	100
C3.1	3	3	100	3	100	3	100
C3.4	2	1	50	2	100	2	100
C3.5	17	16	94,1	16	94,1	17	100
Tổng số	46	44	95,6	45	97,8	46	100

Tỷ lệ đồng thuận với DRPs đưa ra trong nội dung can thiệp của bác sĩ đạt > 95%.

\* *Mức ý nghĩa trên lâm sàng:*

Mức ý nghĩa trên lâm sàng của các DRPs theo từng mức độ được các bác sĩ đánh giá độc lập, thu được kết quả như sau:

**Bảng 4.** Mức ý nghĩa của DRPs theo đánh giá của các bác sĩ.

	Phòng khám 106	Phòng khám 108	Phòng khám 118
Tổng số DRP	44	45	46
Mức 1	0	0	0
Mức 2	5 (11,4%)	6 (13,3%)	5 (10,8%)
Mức 3	39 (88,6%)	39 (88,7%)	41 (89,1%)

Có sự thống nhất cao về mức ý nghĩa trên lâm sàng của các DRPs, trong đó không có bác sĩ nào đánh giá DRPs ở mức độ 1, chủ yếu ở mức độ 3 và đều đạt ở mức cao, gần 90%.

### 3. Đánh giá đặc điểm DRPs trước và sau can thiệp

\* *Đặc điểm mẫu nghiên cứu trước và sau can thiệp:*

Đặc điểm mẫu nghiên cứu của 3 phòng khám trước và sau can thiệp được thể hiện qua bảng 5.

**Bảng 5.** Đặc điểm mẫu nghiên cứu trước và sau can thiệp.

Đặc điểm		Trước can thiệp (n = 786 đơn) n (%)	Sau can thiệp (n = 256 đơn) n (%)
Tuổi	$\bar{X} \pm SD$	68,5 ± 9,4	68,3 ± 8,0
Giới tính	Nữ	354 (45,0)	105 (41,0)
	Nam	432 (55,0)	151 (59,0)
5 bệnh lý phổ biến nhất trước can thiệp	Tăng huyết áp	516 (26,0)	165 (26,7)
	Đái tháo đường týp 2	440 (22,2)	158 (25,6)
	Cơ thiếu máu não cục bộ thoáng qua và hội chứng liên quan	216 (10,9)	56 (9,1)
	Cơ đau thắt ngực	197 (9,9)	64 (10,4)
	Rối loạn chuyển hóa lipid	125 (6,45)	

Độ tuổi trung bình của BN là 68 tuổi, BN nam chiếm tỷ lệ nhiều hơn BN nữ. Tăng huyết áp và đái tháo đường týp 2 là 2 bệnh lý phổ biến nhất với tỷ lệ chẩn đoán > 20%.

\* Đặc điểm DRPs trước và sau can thiệp:

Tiến hành rà soát DRPs thông qua lượt kê đơn 23 thuốc trong danh sách DRPs ngoại trú (Bảng 2). Đặc điểm DRPs tại 2 giai đoạn thể hiện qua bảng 6.

**Bảng 6.** Đặc điểm DRPs trước và sau can thiệp.

Chỉ số đánh giá	Trước can thiệp (n = 1618)	Sau can thiệp (n = 717)	p
Số lượng DRPs	2621	418	
Tỷ số giữa số lượng DRPs/tổng số lượt kê thuốc	1,62	0,58	< 0,001
Lượt kê thuốc không xuất hiện DRPs (n - %)	147 (9,1)	381 (53,1)	

Tỷ số của lượt kê thuốc không xuất hiện DRPs trên tổng số lượt kê tăng từ 9,1% lên 53,1% và lượt kê thuốc không có xuất hiện DRPs tăng lên gấp 5 lần khi có sự can thiệp của dược sĩ lâm sàng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

**Bảng 7.** Đặc điểm DRPs của 5 thuốc có số lượng DRPs lớn nhất tại 2 giai đoạn.

Hoạt chất	Mã DRPs	Trước can thiệp n (%)	Sau can thiệp n (%)	p
Alfuzosin	C1.1.1	4 (7,8)	1 (7,7)	> 0,05
	C2.1	51 (100)	6 (46,2)	< 0,001
	C3.5	51 (100)	0 (0)	< 0,001
Bezafibrat	C1.1.1	33 (97,1)	31 (49,2)	< 0,001
	C2.1	34 (100)	35 (55,6)	< 0,001
	C3.1	34 (100)	1 (1,6)	< 0,001
	C3.5	34 (100)	2 (3,2)	< 0,001
Gliclazid	C1.1.1	6 (2,11)	4 (3,1)	> 0,05
	C2.1	292 (100)	65 (50)	< 0,001
	C3.5	292 (100)	43 (33,1)	< 0,001
Metformin	C1.1.1	5 (1,6)	4 (4,2)	> 0,05
	C2.1	306 (100)	72 (75,0)	< 0,001
	C3.5	213 (69,6)	15 (15,6)	< 0,001
Trimetazidin	C1.1.1	93 (40,6)	32 (40,0)	> 0,05
	C2.1	229 (100)	7 (8,8)	< 0,001
	C3.5	229 (100)	15 (18,8)	< 0,001

Tỷ lệ xuất hiện DRPs của các cặp thuốc- mã DRPs: Alfuzosin - C1.1.1, Gliclazid - C1.1.1, Metformin - C1.1.1 và Trimetazidin - C1.1.1 giảm không có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ DRPs (cặp thuốc - mã DRPs) còn lại đều giảm có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ).

## BÀN LUẬN

### 1. Phương pháp nghiên cứu và phát hiện DRPs

Việc xây dựng hệ thống phân loại và bộ công cụ phát hiện DRPs không những có thể ảnh hưởng tới số lượng DRPs phát hiện được mà còn tác động tới sự đồng thuận của bác sĩ phòng khám với các nội dung mô tả DRPs phát hiện được trong quá trình đánh giá đơn thuốc ngoại trú, đặc biệt là mức ý nghĩa và sự thống nhất về quan điểm điều trị. Bộ công cụ đảm bảo được các tiêu chí: Phương pháp phát hiện phù hợp, hệ thống phân loại đầy đủ, phù hợp với đặc điểm của nơi tiến hành nghiên cứu và đảm bảo được yêu cầu của mục tiêu nghiên cứu. Phương pháp này cũng được tác giả Dương Thị Thanh, Lê Thị Phương Thảo, Nguyễn Khắc Kim Yến lựa chọn để can thiệp [7, 8, 9].

### 2. Tỷ lệ đồng thuận của nhóm bác sĩ và mức ý nghĩa của các DRP trong danh sách

Kết quả đồng thuận của bác sĩ trên 46 DRPs cao ( $> 95\%$ ). Đối với các mã

C1.1.1; C1.1.2; C2.1 và C3.1 đều có tỷ lệ đồng thuận đạt 100%. Bên cạnh đó cặp Nizatidin - C3.5 đạt tỷ lệ đồng thuận 94,1% tại phòng khám 106 và 108. Tỷ lệ đồng thuận thấp nhất là cặp Meloxicam - C3.4 tại phòng khám 106 (50%). Các bác sĩ đưa ra nguyên nhân do liều dùng Meloxicam không vượt quá liều tối đa trong 24 giờ và kê liều 2 lần/ngày hạn chế được tác dụng phụ trên đường tiêu hóa. Mã C3.5: Đề xuất của dược sĩ uống thuốc vào thời điểm trước khi đi ngủ để đạt hiệu quả cao nhất với liều dùng 1 lần/ngày. Tuy nhiên, các bác sĩ chưa dẫn chứng được tài liệu; vì vậy, nhóm nghiên cứu giữ nguyên đề xuất với bác sĩ thực hiện theo hướng dẫn của tờ thông tin sản phẩm của thuốc.

Đa phần các đánh giá DRPs ở mức 3: Chưa tối đa hiệu quả điều trị nhưng chưa gây ra các tác hại lớn cho BN trên lâm sàng. Các đánh giá DRPs mức 2 liên quan đến liều dùng thuốc và chống chỉ định, khuyến cáo không dùng của thuốc. Kết quả đánh giá DRPs mức 1 của các bác sĩ cũng hoàn toàn phù hợp vì nội dung đưa ra là các thông tin cơ bản về thuốc, chưa cung cấp được đầy đủ các thông tin về chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng của BN để giải thích cho các nội dung DRPs.

### 3. Đặc điểm của đơn thuốc trong 2 giai đoạn

Đơn thuốc có sự tương đồng cao, sự khác biệt không đáng kể. Giải thích cho điều này, đặc điểm chung của 3 phòng khám đều là phòng khám nội chung, đối tượng BN cao tuổi mắc bệnh mạn tính chiếm đa số, lĩnh thuốc định kỳ hàng tháng. Chẩn đoán tăng huyết áp và đái tháo đường là 2 bệnh lý mạn tính chiếm tỷ lệ cao nhất trong cả 2 giai đoạn phù hợp với đặc điểm bệnh lý của đối tượng BN cao tuổi.

### 4. Đặc điểm DRP trước và sau can thiệp của dược sĩ lâm sàng

Kết quả so sánh đặc điểm DRPs thu thập trên đơn thuốc của 3 phòng khám (Bảng 6) cho ta thấy xu hướng xuất hiện DRPs trong 2 giai đoạn như sau: Tỷ số của số lượng DRPs xuất hiện trên tổng số lượt kê 23 hoạt chất đã giảm đáng kể từ 1,62 xuống 0,58. Đồng thời, tỷ lệ số lượt kê không xuất hiện DRPs trên tổng số đơn kê sau can thiệp tăng gần gấp 6 lần tỷ lệ trước can thiệp. Kết quả này cho thấy DRPs trên đơn thuốc ngoại trú giảm rõ rệt khi có can thiệp của dược sĩ lâm sàng.

Tại bảng số 7, các thuốc có nhiều DRPs nhất giai đoạn chưa có dược sĩ lâm sàng được đưa vào đánh giá, kết quả cho thấy những thuốc này đều thuộc các nhóm thuốc điều trị bệnh mạn tính, tương ứng với 16 DRPs (cấp

thuốc - mã DRPs). Trong đó tỷ lệ xuất hiện của 12 DRPs có xu hướng giảm rõ rệt khác biệt trước và sau có sự can thiệp của dược sĩ lâm sàng ( $p < 0,001$ ). Tỷ lệ xuất hiện của 4 DRPs giảm không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) đều liên quan tới mã C1.1.1 trên 4 thuốc là Alfuzosin, Gliclazid, Metformin và Trimetazidin.

### KẾT LUẬN

Can thiệp của dược sĩ lâm sàng đã mang lại hiệu quả cải thiện tỷ lệ DRPs trên đơn thuốc ngoại trú của các bác sĩ tại Khoa Khám bệnh, thể hiện qua tỷ lệ đồng thuận cao của bác sĩ và số lượt kê thuốc không có DRPs tăng lên.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gayathri B, Gayathri B, et al. Drug related problems: A systemic literature review. 2018; 9(1):1409-1415.
2. Ahmad Abeer, Hugtenburg Jacqueline, et al. Effect of medication review and cognitive behaviour treatment by community pharmacists of patients discharged from the hospital on drug related problems and compliance: Design of a randomized controlled trial. 2010; 10(1):1-10.
3. Kaufmann Carole P, Stämpfli Dominik, et al. Determination of risk factors for drug-related problems: A multidisciplinary triangulation process. 2015; 5(3):e006376.

4. Shareef Javedh, Fernandes Jennifer, et al. Assessment of clinical pharmacist interventions in drug therapy in patients with diabetes mellitus in a tertiary care teaching hospital. 2016; 10(2):82-87.
5. Shareef Javedh, Sandeep B, et al. Assessment of drug related problems in patients with cardiovascular diseases in a tertiary care teaching hospital. 2014:70-76.
6. Rogers Tracy, Livingstone Carina, et al. A collaborative evaluation of pharmacy interventions in the care of inpatients in community hospitals. 2016: 23(6):348-351.
7. Dương Thị Thanh. Xác định các vấn đề liên quan đến sử dụng carbapenem và áp dụng một số biện pháp can thiệp của dược sĩ lâm sàng tại Bệnh viện Hữu nghị Đa khoa Nghệ An. *Luận văn thạc sĩ*. Trường Đại học Dược Hà Nội. Hà Nội. 2016.
8. Lê Thị Phương Thảo. Triển khai hoạt động của dược sĩ lâm sàng trong quản lý tương tác thuốc bất lợi tiềm tàng tại khoa Khám bệnh cán bộ - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. *Luận văn Thạc sĩ*. Trường Đại học Dược Hà Nội. Hà Nội. 2019.
9. Nguyễn Khắc Kim Yến. Khảo sát tình hình kê đơn thuốc ngoại trú và hiệu quả can thiệp của dược sĩ tại Bệnh viện Đa khoa trung tâm Tiền Giang. *Luận văn thạc sĩ*. Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. 2020.

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG HẠ LIPID MÁU  
NỘI SINH CỦA CAO KHÔ LÁ CÂY TRÀ HOA VÀNG  
(*CAMELLIA HAKODAE* NINH) TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Ngô Thị Mỹ Bình<sup>1,2\*</sup>, Nguyễn Hoàng Ngân<sup>1</sup>, Nguyễn Hồng Hạnh<sup>3</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Xác định độc tính cấp và đánh giá tác dụng hạ lipid máu theo cơ chế nội sinh của cao khô lá cây Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh (CKL-THV) trên chuột thực nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Xác định độc tính cấp trên chuột nhắt trắng theo phương pháp của Litchfield-Wilcoxon; đánh giá tác dụng hạ lipid máu trên chuột nhắt rối loạn lipid máu nội sinh gây ra bởi P-407 theo phương pháp của Millar và CS. **Kết quả:** Chuột nhắt trắng sử dụng CKL-THV liều tăng dần từ 1,5 g/kg thể trọng đến 12,0 g/kg thể trọng, sau 72 giờ vẫn ăn uống, hoạt động và bài tiết bình thường, không có chuột nào chết sau khi uống chế phẩm. So với lô mô hình, lô sử dụng CKL-THV liều 0,6 g/kg và 1,8 g/kg thể trọng đều làm giảm cholesterol toàn phần (TC) (lần lượt 26,5% và 28,3%), giảm triglycerid (TG) (lần lượt 21,2% và 17,3%), giảm non HDL-C (lần lượt 31,1% và 33,8%) có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). **Kết luận:** Không tìm thấy LD50 và các biểu hiện độc tính cấp của CKL-THV ở liều lượng thử nghiệm. CKL-THV liều 0,6 g/kg và 1,8 g/kg thể trọng có tác dụng điều trị rối loạn lipid máu theo cơ chế nội sinh.

**Từ khóa:** Tính an toàn; Độc tính cấp; Rối loạn lipid máu; Trà hoa vàng.

STUDY ON THE ACUTE TOXICITY AND ENDOGENOUS  
HYPOLIPIDEMIC EFFECT OF DRY EXTRACT FROM YELLOW TEA  
LEAVES (*CAMELLIA HAKODAE* NINH) IN EXPERIMENTAL ANIMALS

**Abstract**

**Objectives:** To examine the acute toxicity and evaluate the endogenous hypolipidemic effect of dry extracts from yellow tea leaves *Camellia hakodae* Ninh

---

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Thái Nguyên

<sup>3</sup>Bệnh viện E

\*Tác giả liên hệ: Ngô Thị Mỹ Bình (Ngothimybinh@tnmc.edu.vn)

Ngày nhận bài: 11/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 03/11/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.504>

(CKL-THV) in experimental mice. **Methods:** The acute toxicity in mice was examined using the Litchfield-Wilcoxon method; the endogenous hypolipidemic effect in mice with endogenous dyslipidemia induced by P-407 was evaluated using the method of Millar et al.. **Results:** Mice using CKL-THV still ate, acted, and excreted normally. No mouse died within 72 hours after taking CKL-THV. The results of lipid indices showed that the CKL-THV at doses of 0.6 g/kg and 1.8 g/kg reduced TC (26.5% and 28.3%), TG (21.2% and 17.3%), and non HDL-C (31.1% and 33.8%) compared to those of the pathological group ( $p < 0.01$ ). **Conclusion:** CKL-THV did not cause acute toxicity in mice; LD50 was not identified. CKL-THV had an effect on reducing TC, TG, and non HDL-C in the model of endogenous dyslipidemia.

**Keywords:** The safety; Acute toxicity; Endogenous dyslipidemia; Yellow tea; *Camellia hakodae*.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Trà hoa vàng đã được phát hiện ở miền Bắc Việt Nam từ những năm đầu của thế kỷ XX và được quan tâm nghiên cứu khá nhiều. *Camellia hakodae* Ninh là một loài trà hoa vàng đặc hữu ở huyện Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc. Các nghiên cứu hóa học đã chỉ ra rằng loài này chứa các nhóm chất chính tương tự như *Camellia sinensis*, bao gồm polyphenol, flavonoid, saponin, polysaccharid...[1]. Theo Y học cổ truyền, trà hoa vàng có tính bình, vị ngọt, quy vào các kinh tâm, thận, can, có tác dụng chống oxy hóa, chống ung thư, hạ huyết áp, hạ lipid máu và ngăn ngừa xơ vữa động mạch

[2]. Hiện đại hóa dạng bào chế đang là xu thế hiện nay trong nghiên cứu các sản phẩm từ dược liệu. Cao khô lá cây trà hoa vàng (CKL-THV) là sản phẩm được chiết xuất từ lá trà hoa vàng (*Camellia hakodae* Ninh) theo phương pháp chiết siêu âm, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Đa số cholesterol trong cơ thể người đều có nguồn gốc nội sinh. Vì vậy, các thuốc điều trị rối loạn lipid máu thường có cơ chế ức chế quá trình tổng hợp cholesterol nội sinh. Nghiên cứu được thực hiện nhằm: *Xác định độc tính cấp và đánh giá tác dụng hạ lipid máu theo cơ chế nội sinh của cao khô lá cây Trà hoa vàng Camellia hakodae Ninh trên chuột thực nghiệm.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Chế phẩm nghiên cứu*: Cao khô lá cây Trà hoa vàng (*Camellia hakodae* Ninh), đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Lá cây trà hoa vàng sau khi thu hái được rửa sạch, sấy khô, nghiền thành bột. Sau đó bột dược liệu được chiết siêu âm với dung môi ethanol 96%, dịch chiết được loại tạp, cô đặc sau đó phun sấy để được bột cao khô.

Quy đổi liều: Dựa vào kinh nghiệm dân gian và quy trình bào chế, liều dùng CKL-THV trên người là 0,05 g/kg/24h. Theo phương pháp ngoại suy liều [3], ta có liều dùng quy đổi sang chuột nhắt (hệ số 12) là 0,60 g/kg/24h.

Chuẩn bị các mẫu thử:

- Mẫu thử trong nghiên cứu độc tính cấp: Bột CKL-THV được cho phân tán đều với nước cất để được các hỗn dịch có nồng độ 0,1 g/mL và 0,2 g/mL. Từ 2 hỗn dịch này, pha loãng đến các nồng độ trung gian. Chuột trong các lô được cho uống mẫu thử ở dạng hỗn dịch với cùng thể tích 0,2 mL/10g, ngày 3 lần nhưng với các nồng độ khác nhau để được các liều dùng tăng dần với bước nhảy liều 1,5 g/kg.

- Mẫu thử trong nghiên cứu tác dụng hạ lipid máu: Phân tán bột CKL-THV với nước cất để được các hỗn dịch có nồng độ 0,06 g/mL và 0,18 g/mL. Cho chuột trong các lô trị uống mẫu thử dạng hỗn dịch với thể tích 0,1 mL/10g thể trọng để được các liều dùng 0,6 g/kg/24h và 1,8 g/kg/24h.

\* *Động vật nghiên cứu*: Chuột nhắt trắng chủng Swiss, nặng 18 - 20g, trưởng thành, khỏe mạnh, cả 2 giống do Ban cung cấp động vật thí nghiệm, Học viện Quân y cung cấp. Động vật được chăm sóc và nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm, được ăn thức ăn theo tiêu chuẩn và cấp nước uống tự do.

\* *Dụng cụ máy móc - hóa chất*: Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl (Italia); Poloxamer 407 (Sigma, Singapore), Atorvastatin 10mg (STADA, Việt Nam).

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Nghiên cứu độc tính cấp*: Đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon và hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [4]. Chia ngẫu nhiên 80 con chuột nhắt trắng chủng Swiss thành 8 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được nhịn ăn 12 giờ,

nước uống đầy đủ trước khi thử nghiệm. Cho chuột trong các lô uống mẫu thử CKL-THV với liều tăng dần từ 1,5 - 12,0 g/kg thể trọng, thể tích mỗi lần uống là 0,2mL, uống ngày 3 lần. Sau khi uống CKL-THV, theo dõi tình trạng chung của chuột (như vận động, ăn uống, bài tiết...), các biểu hiện ngộ độc (nếu có) và số lượng chuột chết ở các lô trong vòng 72 giờ và 7 ngày sau đó. Tiến hành mổ chuột nếu có chuột chết, quan sát các tạng để tìm nguyên nhân gây độc. Xác định LD<sub>50</sub> của chế phẩm thử.

\* *Nghiên cứu tác dụng hạ lipid máu nội sinh*: Đánh giá tác dụng hạ lipid máu nội sinh trên chuột nhắt chủng Swiss theo phương pháp của Millar và CS [5], sử dụng P-407 để gây mô hình tăng lipid máu.

Chia ngẫu nhiên 50 con chuột nhắt trắng chủng Swiss thành 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô chứng (1): Uống nước cất hàng ngày, ngày thứ 7 tiêm màng bụng nước muối sinh lý liều 10 mL/kg.

- Lô mô hình (2): Uống nước cất hàng ngày, ngày thứ 7 tiêm màng bụng P- 407 liều 200 mg/kg.

- Lô tham chiếu (3): Uống atorvastatin liều 100 mg/kg hàng ngày,

ngày thứ 7 tiêm màng bụng P- 407 liều 200 mg/kg.

- Lô trị 1 (4): Uống CKL-THV liều 0,6 g/kg/24h hàng ngày, ngày thứ 7 tiêm màng bụng P- 407 liều 200 mg/kg.

- Lô trị 2 (5): Uống CKL-THV liều 1,8 g/kg/24h hàng ngày, ngày thứ 7 tiêm màng bụng P- 407 liều 200 mg/kg.

Cho chuột nhịn đói hoàn toàn nhưng vẫn được uống nước tự do. Sau 24 giờ, lấy máu chuột, xét nghiệm các chỉ số lipid máu: TG, TC, high-density lipoproteins (HDL-C). Chỉ số non HDL-C được xác định bằng công thức Friedewald: Non HDL-C = TC - HDL-C.

\* *Xử lý số liệu*: Số liệu nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học, sử dụng phần mềm SPSS 22.0. Số liệu được biểu diễn dưới dạng  $\bar{X} \pm SD$ . So sánh giá trị trung bình của các lô nghiên cứu bằng kiểm định One way ANOVA. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành với sự chấp thuận của Hội đồng khoa học Học viện Quân y và tuân thủ các nguyên tắc về đạo đức trong nghiên cứu Y học.

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp**

**Bảng 1.** Độc tính cấp đường uống của CKL-THV trên chuột nhắt trắng.

Lô chuột	Số chuột	Liều dùng (g/kg TLCT)	Số chuột sống/ chết trong 72h	Số chuột sống/ chết sau 7 ngày	Biểu hiện bất thường
Lô 1	10	1,5	10/0	10/0	Không
Lô 2	10	3,0	10/0	10/0	Không
Lô 3	10	4,5	10/0	10/0	Không
Lô 4	10	6,0	10/0	10/0	Không
Lô 5	10	7,5	10/0	10/0	Không
Lô 6	10	9,0	10/0	10/0	Không
Lô 7	10	10,5	10/0	10/0	Không
Lô 8	10	12,0	10/0	10/0	Không

Chuột trong các lô được uống CKL-THV với liều từ 1,5 g/kg đến 12 g/kg thể trọng. Theo dõi chuột trong vòng 72 giờ không thấy có dấu hiệu bất thường, ở tất cả các lô, chuột vẫn ăn uống, vận động và bài tiết bình thường. Trong thời gian 72 giờ sau khi uống CKL-THV và 7 ngày sau đó, không có chuột nào chết.

**2. Tác dụng hạ lipid máu nội sinh**

\* *Kết quả gây mô hình rối loạn lipid máu bằng P407:*

**Bảng 2.** Chỉ số lipid máu trong mô hình gây rối loạn lipid máu nội sinh bằng P407 (n = 10,  $\bar{X} \pm SD$ ).

Chỉ số lipid	Lô chứng (1) (mmol/L)	Lô mô hình (2) (mmol/L)	Tỷ lệ Lô 2/lô 1	P <sub>2-1</sub>
TC	2,20 ± 0,35	2,76 ± 0,42	1,26	< 0,01
TG	0,85 ± 0,13	1,04 ± 0,14	1,22	< 0,01
HDL-C	0,60 ± 0,05	0,57 ± 0,09	0,96	> 0,05
Non HDL-C	1,60 ± 0,34	2,19 ± 0,37	1,38	< 0,01

Ở lô mô hình, các chỉ số lipid máu chuột như TC, TG và non HDL-C đều tăng so với lô chứng sinh học. Cụ thể, chỉ số TC tăng gấp 1,26 lần, TG tăng gấp 1,22 lần, non HDL-C tăng gấp 1,38 lần, khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01). Chỉ số HDL-C có giảm so với lô chứng, tuy nhiên không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

\* Tác dụng hạ lipid máu của CKL-THV theo cơ chế nội sinh:

**Bảng 3.** Chỉ số lipid máu chuột ở các lô nghiên cứu (n = 10,  $\bar{X} \pm SD$ ).

	Chỉ số	Lô mô hình (2)	Lô tham chiếu (3)	Lô trị 1 (4)	Lô trị 2 (5)
TC	Chỉ số (mmol/L)	2,76 ± 0,42	2,12 ± 0,31	2,03 ± 0,37	1,98 ± 0,55
	% thay đổi so với lô 2	-	↓ 23,2%	↓ 26,5%	↓ 28,3%
	p		p <sub>3-2</sub> < 0,01; p <sub>4-2</sub> < 0,01; p <sub>5-2</sub> < 0,01; p <sub>4-3</sub> > 0,05; p <sub>5-3</sub> > 0,05; p <sub>5-4</sub> > 0,05		
TG	Chỉ số (mmol/L)	1,04 ± 0,14	0,84 ± 0,10	0,82 ± 0,09	0,86 ± 0,09
	% thay đổi so với lô 2	-	↓ 19,2%	↓ 21,2%	↓ 17,3%
	p		p <sub>3-2</sub> < 0,01; p <sub>4-2</sub> < 0,01; p <sub>5-2</sub> < 0,01; p <sub>4-3</sub> > 0,05; p <sub>5-3</sub> > 0,05; p <sub>5-4</sub> > 0,05		
HDL-C	Chỉ số (mmol/L)	0,57 ± 0,09	0,56 ± 0,08	0,53 ± 0,11	0,53 ± 0,11
	% thay đổi so với lô 2	-	↓ 1,8%	↓ 7,0%	↓ 7,0%
	p		p <sub>3-2</sub> > 0,05; p <sub>4-2</sub> > 0,05; p <sub>5-2</sub> > 0,05; p <sub>4-3</sub> > 0,05; p <sub>5-3</sub> > 0,05; p <sub>5-4</sub> > 0,05		
Non HDL-C	Chỉ số (mmol/L)	2,19 ± 0,37	1,56 ± 0,29	1,51 ± 0,31	1,45 ± 0,47
	% thay đổi so với lô 2	-	↓ 28,8%	↓ 31,1%	↓ 33,8%
	p		p <sub>3-2</sub> < 0,01; p <sub>4-2</sub> < 0,01; p <sub>5-2</sub> < 0,01; p <sub>4-3</sub> > 0,05; p <sub>5-3</sub> > 0,05; p <sub>5-4</sub> > 0,05		

(\* Ghi chú: Giá trị p so sánh giá trị trung bình chỉ số lipid máu giữa các lô tương ứng.)

- Ở lô tham chiếu, chuột được sử dụng atorvastatin liều 100 mg/kg/24h, chỉ số lipid máu chuột giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,01$ ). Cụ thể: Chỉ số TC giảm 23,2%, TG giảm 19,2%, non HDL-C giảm 28,8%.

- Ở các lô trị sử dụng CKL-THV, các chỉ số TC, TG, non HDL-C máu chuột đều giảm so với lô mô hình, có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Cụ thể, ở lô sử dụng CKL-THV liều 0,6 g/kg thể trọng, chuột có chỉ số TC giảm 26,5%, TG giảm 21,2%, non HDL-C giảm 31,1% so với lô mô hình. Ở lô sử dụng CKL-THV liều 1,8g/kg thể trọng, chuột có chỉ số TC giảm 28,3%, TG giảm 17,3%, non HDL-C giảm 33,8% so với lô mô hình. Chỉ số HDL-C ở các lô trị có giảm so với lô mô hình nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Không có sự khác biệt về các chỉ số lipid máu giữa các lô chuột uống atorvastatin, CKL-THV liều 0,6 g/kg/24h và CKL-THV liều 1,8 g/kg/24h ( $p > 0,05$ ).

## BÀN LUẬN

### 1. Về độc tính cấp

Chuột ở các lô nghiên cứu được uống CKL-THV với các mức liều khác nhau, từ liều thấp nhất 1,5 g/kg thể trọng đến liều cao nhất 12 g/kg thể trọng, sau đó theo dõi trong 72 giờ. Kết quả nghiên cứu cho thấy chuột ở tất cả các lô đều ăn uống, vận động, bài tiết

bình thường, không có biểu hiện khó thở hay tím tái. Không có chuột nào chết trong 72 giờ và sau 7 ngày uống CKL-THV. Như vậy, không xác định được LD50 của CKL-THV.

Chuột đã uống đến liều 12,0 g/kg trọng lượng (gấp 20 lần liều dự kiến có tác dụng) mà không có con nào chết, cũng như không thấy có biểu hiện bất thường nào. Đây đã là mức liều rất cao, cho phép khẳng định mẫu nghiên cứu có tính an toàn. Đối chiếu theo phân loại độc tính cấp đường uống của GHS [6], CKL-THV được phân vào nhóm 5 ( $LD_{50} > 5000$  mg/kg), là loại gần như không độc.

### 2. Về tác dụng hạ lipid máu nội sinh

Mô hình gây tăng lipid máu bằng P-407 là phương pháp phổ biến và nhanh chóng giúp đánh giá hiệu quả của một thuốc mới hoặc sản phẩm mới có tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu [5]. P407 là một chất diện hoạt gây tăng lipid máu và xơ vữa động mạch trên các loài gặm nhấm. P407 ức chế lipoprotein lipase và cholesterol 7 $\alpha$  hydroxylase, dẫn đến làm tăng số lượng và hoạt động của 3-hydroxy-3methyl glutaryl coenzym A (HMG-CoA) reductase, gây giảm số lượng receptor LDL tại gan. Kết quả làm tăng cả cholesterol và triglycerid trong huyết tương [7]. Liều lượng P-407 sử dụng để gây tăng lipid máu trên chuột

nhất sử dụng trong nghiên cứu này của chúng tôi là 200 mg/kg thể trọng. Liều lượng này cũng tương tự như liều P-407 mà các tác giả khác đề cập tới để gây tăng lipid máu [8].

Kết quả nghiên cứu cho thấy chuột ở tất cả các lô tiêm P-407 đều ăn uống, vận động, bài tiết bình thường. Trong suốt thời gian nghiên cứu, không có chuột nào chết. Ở lô mô hình có sự khác biệt rõ rệt về chỉ số lipid máu chuột so với lô chứng. Cả ba chỉ số cholesterol toàn phần, triglycerid và non HDL-C trong máu chuột ở lô mô hình đều tăng có ý nghĩa so với lô chứng ( $p < 0,01$ ). Cụ thể, nồng độ non HDL-C tăng cao gấp 1,38 lần, nồng độ cholesterol toàn phần tăng cao gấp 1,26 lần và nồng độ triglycerid tăng gấp 1,22 lần so với lô chứng. Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi đã gây thành công mô hình rối loạn lipid máu nội sinh trên chuột nhắt trắng bằng P-407.

Atorvastatin, một dẫn chất statin, có tác dụng điều trị rối loạn lipid máu bằng cách ức chế cạnh tranh với HMG-CoA reductase, từ đó ngăn chặn con đường tổng hợp cholesterol trong tế bào. Ngoài ra, atorvastatin còn làm tăng tổng hợp LDL receptor ở màng tế bào, thúc đẩy quá trình nhập LDL vào trong tế bào và thải trừ lipid qua enzym ở lysosom. Do vậy, trong các nghiên cứu, atorvastatin thường được lựa chọn làm thuốc chứng dương.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3 cho thấy, sử dụng atorvastatin liều 100 mg/kg/ngày trên chuột nhắt làm giảm rõ rệt nồng độ TC, TG và non HDL-C. Cụ thể, nồng độ TC giảm 23,2%, nồng độ TG giảm 19,2%, nồng độ non HDL-C giảm 28,8% so với lô mô hình ( $p < 0,01$ ).

Các lô trị sử dụng CKL-THV liều 0,6 g/kg và 1,8 g/kg thể trọng cũng cho kết quả làm giảm chỉ số lipid máu tương tự như lô sử dụng atorvastatin. So với lô mô hình, các lô chuột sử dụng CKL-THV làm giảm chỉ số non HDL-C nhiều nhất (lần lượt là 31,1% với lô trị 1 và 33,8% với lô trị 2), có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Các chỉ số TC và TG cũng giảm có ý nghĩa thống kê. Cụ thể TC giảm 26,5% với lô trị 1 và 28,3% với lô trị 2; TG giảm 21,2% với lô trị 1 và 17,3% với lô trị 2.

Theo Trần Ninh và CS, sử dụng Trà hoa vàng giúp giảm đến 35% hàm lượng cholesterol trong máu [9]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học cũng chỉ ra trà hoa vàng chứa polyphenol, flavonoid, saponin, polysaccharid... [1]. Đây là những hợp chất đã được chứng minh có tác dụng hạ huyết áp, giảm lipid máu và ngăn ngừa sự phát triển của xơ vữa động mạch. Ngoài ra, theo nghiên cứu của Nguyễn Hồng Hạnh, khi cho chuột nhắt trắng béo phì sử dụng hỗn hợp dịch chiết lá trà hoa vàng và giảo cổ

lam sau 2 tuần cũng cho hiệu quả giảm các chỉ số cholesterol toàn phần và triglycerid [10]. Như vậy, CKL-THV dù là dùng đơn độc hay trong các hỗn hợp cũng đều có tác dụng làm hạ lipid máu.

Theo kết quả nghiên cứu ở bảng 3, khi so sánh các chỉ số lipid máu giữa các lô sử dụng CKL-THV liều 0,6 g/kg và 1,8 g/kg với lô sử dụng atorvastatin, chúng tôi cũng nhận thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Như vậy, tác dụng hạ lipid máu theo cơ chế nội sinh của CKL-THV tương đương với atorvastatin liều 100 mg/kg, và không phụ thuộc vào liều lượng 0,6 g/kg/24h hay liều 1,8 g/kg/24h.

Chỉ số HDL-C trung bình của chuột trong các lô nghiên cứu có sự thay đổi, tuy nhiên không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) do thời gian nghiên cứu của mô hình nội sinh ngắn. Tuy nhiên, kết quả này là căn cứ tiền đề để tiến hành những nghiên cứu sâu hơn về tác dụng, cơ chế tác dụng điều trị rối loạn lipid máu của CKL-THV.

### KẾT LUẬN

Không tìm thấy LD50 và các biểu hiện độc tính cấp của CKL-THV ở liều lượng thử nghiệm.

CKL-THV liều 0,6 g/kg và 1,8 g/kg thể trọng có tác dụng hạ lipid máu theo cơ chế nội sinh, thể hiện ở tác dụng làm giảm TC, TG và non HDL-C.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jin-Bin Wei, Xiong Li, Hui Song, et al. Characterization and determination of antioxidant components in the leaves of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama based on composition-activity relationship approach. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2015; 23(1):40-48.
2. Tran Duc Manh, Nguyen Toan Thang, Hoang Thanh Son, et al. Golden Camellias: A review. *Archives of Current Research International*. 2019; 16 (2):1-8.
3. Cục Khoa học công nghệ và Đào tạo Bộ Y tế. Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT "Quyết định về việc ban hành tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu". 2015.
4. World Health Organization. Working group on the safety and efficacy of herbal medicine. 2000: 745-767.
5. Millar JS, Cromley DA, McCoy MG, et al. Determining hepatic triglyceride production in mice: Comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339. *Journal of Lipid Research*. 2005; 46(9):2023-2028
6. United Nations. Acute toxicity. Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS) - Fourth revised edition. New York and Geneva. 2011:109-120.

7. Thomas P. Johnston. The P-407-induced murine model of dose-controlled hyperlipidemia and atherosclerosis: A review of findings to date. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2004; 43(4):595-606.
8. Tạ Thu Thủy, Mai Phương Thanh, Phạm Thị Vân Anh và CS. Nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu và chống xơ vữa động mạch của cao lỏng Đại An trên thực nghiệm. *Tạp chí Nghiên cứu Y Dược học Cổ truyền Việt Nam*. 2015; 46:37-44.
9. Hakoda naotoshi Trần Ninh. Các loài trà của vườn quốc gia Tam Đảo. *GTZ*. 2009:27-105.
10. Nguyễn Hồng Hạnh, Nguyễn Thanh Hà Tuấn, Tú Nguyễn Thị Thanh. Hiệu quả giảm cân và hạ lipid máu của hỗn hợp dịch chiết lá Trà hoa vàng và Giảo cổ lam trên chuột nhắt trắng gây béo phì. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2022; 156(8):164-172

**PHÂN TÍCH MỨC ĐỘ TIÊU THỤ KHÁNG SINH QUINOLON  
TIÊM TRUYỀN TĨNH MẠCH  
TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG QUÂN ĐỘI 108  
TỪ NĂM 2020 ĐẾN 2022**

*Phạm Văn Huy<sup>1</sup>, Nguyễn Đức Trung<sup>1</sup>, Kiều Việt Anh<sup>1</sup>, Nguyễn Duy Tám<sup>1\*</sup>*

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Phân tích số lượng và xu hướng tiêu thụ kháng sinh Quinolone tiêm truyền tĩnh mạch (IV) tại Bệnh viện Trung ương Quân đội (TWQĐ) 108 theo năm, tháng và tại các khoa lâm sàng từ năm 2020 - 2022. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang thông qua số liệu sử dụng kháng sinh Quinolone tại các khoa lâm sàng thuộc Bệnh viện TWQĐ 108 từ năm 2020 - 2022, dữ liệu thống kê về số ngày điều trị của bệnh nhân (BN) nội trú. **Kết quả:** Tình hình tiêu thụ kháng sinh Quinolone IV giai đoạn 2020 - 2022 có xu hướng giảm theo thời gian. Khoa Hồi sức thần kinh, Tiết niệu dưới và Hồi sức ngoại và ghép tạng là ba đơn vị có lượng tiêu thụ Quinolone lớn nhất. Về xu hướng sử dụng các hoạt chất trong nhóm Quinolone cho thấy, mức độ tiêu thụ levofloxacin, moxifloxacin và ciprofloxacin giảm với các chỉ số là  $S = -218$ ,  $p = 0,003$ ;  $S = -276$ ,  $p < 0,0001$  và  $S = -246$ ,  $p = 0,001$ . Ngược lại, mức độ tiêu thụ ofloxacin không xác định được xu hướng có ý nghĩa thống kê với  $S = 58$ ,  $p = 0,438$ . **Kết luận:** Nghiên cứu cho thấy tình hình tiêu thụ kháng sinh Quinolone tại Bệnh viện TWQĐ 108 trong giai đoạn 2020 - 2022. Nghiên cứu là cơ sở để triển khai các nghiên cứu đánh giá sử dụng thuốc cũng như chương trình quản lý kháng sinh trong bệnh viện.

**Từ khóa:** Quinolone; DDD/100 ngày điều trị; Mức độ tiêu thụ.

**STUDY ON THE CONSUMPTION OF INTRAVENOUS QUINOLON  
AT 108 MILITARY CENTRAL HOSPITAL FROM 2020 TO 2022**

**Abstract**

**Objectives:** To analyze the quantity and trend of consumption of intravenous (IV) Quinolone antibiotics at 108 Military Central Hospital annually and monthly

---

<sup>1</sup>Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Duy Tám (Nguyenduytamv108@gmail.com)

Ngày nhận bài: 02/10/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 31/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.541>

in clinical departments from 2020 to 2022. **Methods:** A retrospective, cross-sectional descriptive study on the number of Quinolone antibiotics used in clinical departments, 108 Military Central Hospital from 2020 to 2022, and statistics for the number of inpatients' days of treatment. **Results:** The consumption of Quinolone antibiotic from 2020 to 2022 decreased. The trend of using Quinolone was conducted through the Mann-Kendall test. The Department of Neuro-Intensive Care, Lower Urology and Surgical Intensive Care, and Organ Transplantation were the three units with the largest consumption of Quinolones. The result showed that the consumption of levofloxacin, moxifloxacin, and ciprofloxacin decreased with corresponding indexes of  $S = -218$ ,  $p = 0.003$ ;  $S = -276$ ,  $p < 0.0001$  and  $S = -246$ ,  $p = 0.001$ , respectively. In contrast, the level of ofloxacin consumption during this period did not identify a statistically significant trend with  $S = 58$ ,  $p = 0.438$ . **Conclusion:** The study showed the consumption of Quinolone antibiotics at 108 Military Central Hospital from 2020 - 2022. The study was the basis for implementing research to evaluate drugs in use and antibiotic management programs in the hospital.

**Keywords:** Quinolone; DDD/100 patient-days; Consumption.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Quinolon là nhóm kháng sinh có phổ kháng khuẩn rất rộng trên cả các vi khuẩn gram dương, gram âm, một số hoạt chất còn có phổ trên các vi khuẩn kỵ khí... Đây là nhóm kháng sinh hấp thu rất tốt qua đường uống, sinh khả dụng các thuốc rất cao. Do đó, có thể chuyển đổi đường dùng trong điều trị từ đường tiêm truyền sang đường uống để giảm chi phí điều trị [1]. Tuy nhiên, trong thực tế lâm sàng đối với các BN nội trú, các bác sĩ thường dè dặt trong việc chỉ định kháng sinh Quinolon đường uống cho BN do e ngại về hiệu quả của Quinolon đường uống so với đường tiêm truyền mặc dù nhiều nghiên cứu

đã chỉ ra không có sự khác nhau về điều này [2]. Trong phạm vi của nghiên cứu chúng tôi chỉ đánh giá tiêu thụ các thuốc Quinolon IV. Do các kháng sinh Quinolon đường uống được sử dụng ở cả BN nội trú và ngoại trú. Trong đó, BN ngoại trú không xác định số ngày nằm viện từ đó không tính được chỉ số DDD/100 ngày điều trị. Đối với các kháng sinh Quinolon IV, tại Việt Nam và tại Bệnh viện TWQĐ 108 đang phổ biến 4 hoạt chất bao gồm: Ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin và moxifloxacin.

Mặc dù là nhóm kháng sinh ra đời vào khoảng những năm 1960, sau nhiều các nhóm kháng sinh khác như penicillin, aminoglycosid, cephalosporin,

nhưng hiện nay Quinolon được sử dụng rất phổ biến tại các đơn vị khám chữa bệnh cũng như ở cộng đồng; do đó, tỷ lệ đề kháng của các vi khuẩn đối với nhóm kháng sinh này ngày càng tăng cao. Báo cáo về tình hình sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh tại 15 bệnh viện trong cả nước từ giai đoạn 2008 - 2009 đã chỉ ra tỷ lệ đề kháng của các vi khuẩn gram âm đối với nhóm fluoroquinolon vào khoảng 50 - 60% [3]. Trong khi con số này tại Bệnh viện TWQĐ 108 là khoảng 80 - 90% theo báo cáo của Hội đồng Thuốc và Điều trị năm 2022 [4].

Tại Việt Nam, Bộ Y tế đã xếp Quinolon là nhóm kháng sinh cần theo dõi, giám sát sử dụng [5]. Tại Bệnh viện TWQĐ 108, kháng sinh nhóm Quinolon IV đã được sử dụng rộng rãi từ lâu. Tuy nhiên, chưa có báo cáo đánh giá phân tích về mức độ tiêu thụ của các kháng sinh này. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Phân tích số lượng và xu hướng tiêu thụ kháng sinh Quinolon IV tại Bệnh*

*viện TWQĐ 108 theo năm, tháng và tại các khoa lâm sàng từ năm 2020 - 2022.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

Các thuốc kháng sinh Quinolon IV được sử dụng cho BN nội trú tại Bệnh viện TWQĐ 108 trong giai đoạn từ 01/01/2020 - 31/12/2022.

Dữ liệu thống kê về số ngày điều trị của BN nội trú (lưu tại Phòng Kế hoạch Tổng hợp).

\* *Tiêu chuẩn loại trừ:* Số liệu sử dụng Quinolon tại Khoa Nhi trong khoảng thời gian nghiên cứu, số lượng Quinolon đường uống sử dụng tại các khoa lâm sàng.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả cắt ngang thông qua hồi cứu số liệu được trích xuất từ phần VIMES (phần mềm quản lý bệnh viện tại Bệnh viện TWQĐ 108).

\* *Biến số nghiên cứu:* DDD/100 ngày điều trị theo từng tháng (DDD - Defined Daily Dose: Liều xác định hàng ngày). Biến số này được sử dụng để đánh giá các mức độ và xu hướng sử dụng kháng sinh nhóm Quinolon IV theo quy mô toàn bệnh viện và theo từng khoa, phòng. Chỉ số DDD/100 ngày giường được tính theo công thức sau:

$$\text{DDD/100 ngày điều trị} = \frac{\text{Tổng số gram sử dụng} * 100}{\text{DDD} * \text{số ngày điều trị}}$$

Trong đó, giá trị DDD của các thuốc kháng sinh thuộc nhóm Quinolon được tra cứu từ cơ sở dữ liệu của Trung tâm Hợp tác về phương pháp thống kê dược,

Tổ chức Y tế Thế giới (WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology - WHOCC). Giá trị DDD sử dụng trong nghiên cứu với các thuốc ciprofloxacin: 0,8g; ofloxacin: 0,4g; levofloxacin: 0,5g; moxifloxacin: 0,4g [6].

\* *Chỉ tiêu nghiên cứu:*

Phân tích số lượng và xu hướng sử dụng kháng sinh Quinolon tiêm truyền trong toàn bệnh viện theo năm, tháng.

Phân tích số lượng và xu hướng tiêu thụ kháng sinh Quinolon tiêm truyền của các khoa lâm sàng.

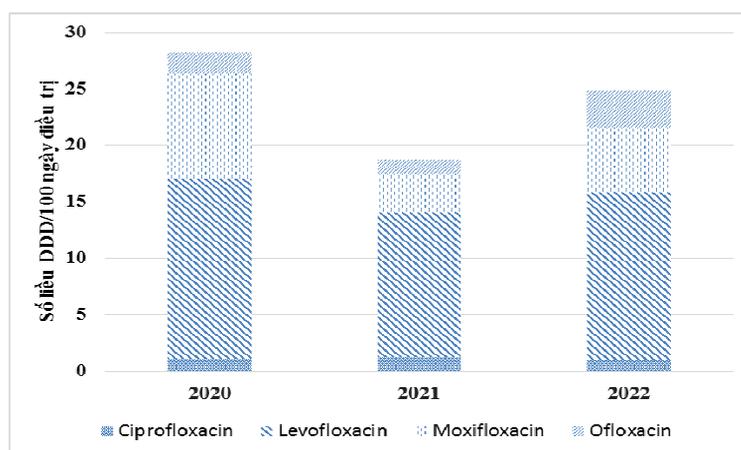
\* *Xử lý kết quả:*

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê y học bằng phần mềm Microsoft Excel 365. Sử dụng kiểm định Mann-Kendall để phân tích xu hướng tiêu thụ kháng sinh Quinolon của toàn Bệnh viện cũng như từng khoa lâm sàng. Xu hướng sử dụng các thuốc trong nhóm Quinolon được kết luận tăng nếu các chỉ số phân tích  $S > 0$  và  $p < 0,05$ ; xu hướng được kết luận giảm nếu  $S < 0$  và  $p < 0,05$ ; các trường hợp cho kết quả phân tích có  $p > 0,05$  được kết luận không xác định được xu hướng có ý nghĩa thống kê.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Phân tích số lượng và xu hướng sử dụng kháng sinh Quinolon tiêm truyền trong toàn bệnh viện theo năm, tháng

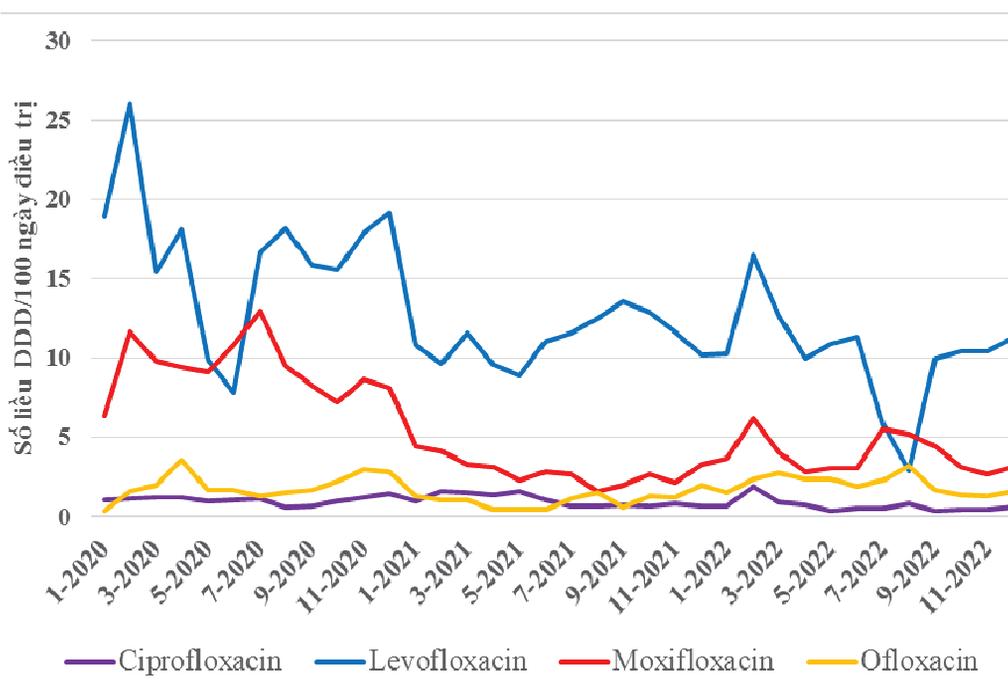
\* *Phân tích số lượng sử dụng kháng sinh Quinolon tiêm truyền trong toàn bệnh viện theo năm:*



**Hình 1.** Tình hình tiêu thụ kháng sinh Quinolon tiêm truyền toàn viện giai đoạn 2020 - 2022.

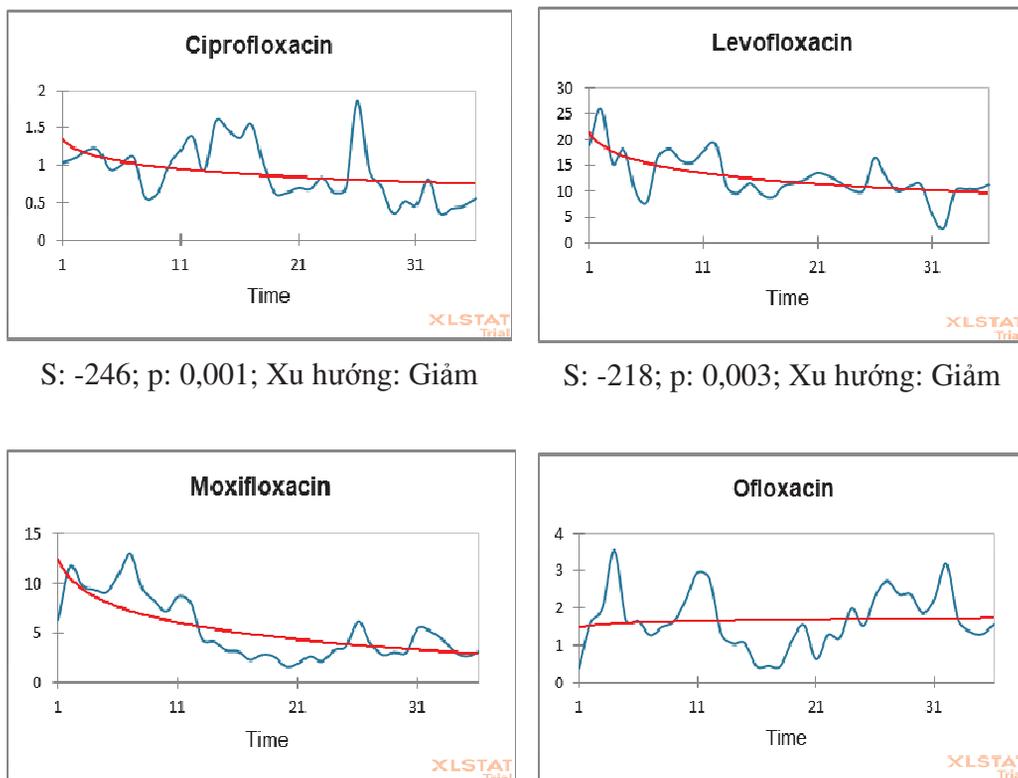
Số liệu DDD/100 ngày điều trị của kháng sinh Quinolon IV có xu hướng giảm trong 3 năm từ 2020 - 2022. Trong đó, levofloxacin là kháng sinh được sử dụng nhiều nhất sau đó là moxifloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin.

\* Phân tích số lượng và xu hướng sử dụng kháng sinh Quinolon tiêm truyền trong toàn bệnh viện theo tháng:



**Hình 2.** Mức độ tiêu thụ các kháng sinh trong nhóm Quinolon tiêm truyền theo từng tháng giai đoạn 2020 - 2022.

Trong 3 năm 2020 - 2022 số liệu DDD/100 ngày điều trị của levofloxacin, moxifloxacin và ciprofloxacin có xu hướng giảm, trong khi đó mức độ tiêu thụ ofloxacin không thể hiện xu hướng này. Kết quả kiểm định Mann-Kendall phân tích xu hướng sử dụng các hoạt chất Quinolon trong giai đoạn 2020 - 2022 được thể hiện ở hình 3.



S: -246; p: 0,001; Xu hướng: Giảm

S: -218; p: 0,003; Xu hướng: Giảm

S: -276; p: < 0,0001; Xu hướng: Giảm

S: 58; p: 0,438; Xu hướng: (\*)

(\*: không xác định được xu hướng có ý nghĩa thống kê).

**Hình 3.** Xu hướng tiêu thụ các kháng sinh trong nhóm Quinolon tiêm truyền trong bệnh viện giai đoạn 2020 - 2022.

Trong giai đoạn 2020 - 2022, tiêu thụ levofloxacin, moxifloxacin và ciprofloxacin của toàn viện có xu hướng giảm. Trong khi đó, ofloxacin không thể hiện xu hướng thay đổi trong giai đoạn này. Xu hướng tiêu thụ các hoạt chất trong nhóm Quinolon được minh họa cụ thể qua kết quả kiểm định Mann-Kendall. Theo đó, mức độ tiêu thụ ciprofloxacin, levofloxacin và moxifloxacin giảm với các chỉ số tương ứng là  $S = -246$ ,  $p = 0,001$ ;  $S = -218$ ,  $p = 0,003$  và  $S = -276$ ,  $p < 0,0001$ . Ngược lại, mức độ tiêu thụ ofloxacin trong giai đoạn này không xác định xu hướng có ý nghĩa thống kê, với các chỉ số của kiểm định Mann-Kendall là  $S = 58$ ,  $p = 0,438 > 0,05$ .

**2. Phân tích số lượng và xu hướng tiêu thụ kháng sinh Quinolon tiêm truyền của các khoa lâm sàng.**

*\* Số lượng tiêu thụ kháng sinh Quinolon tiêm truyền tĩnh mạch tại các khoa lâm sàng:*

**Bảng 1.** Số liều DDD/100 ngày điều trị kháng sinh Quinolon tiêm truyền của các khoa lâm sàng trong 3 năm 2020 - 2022.

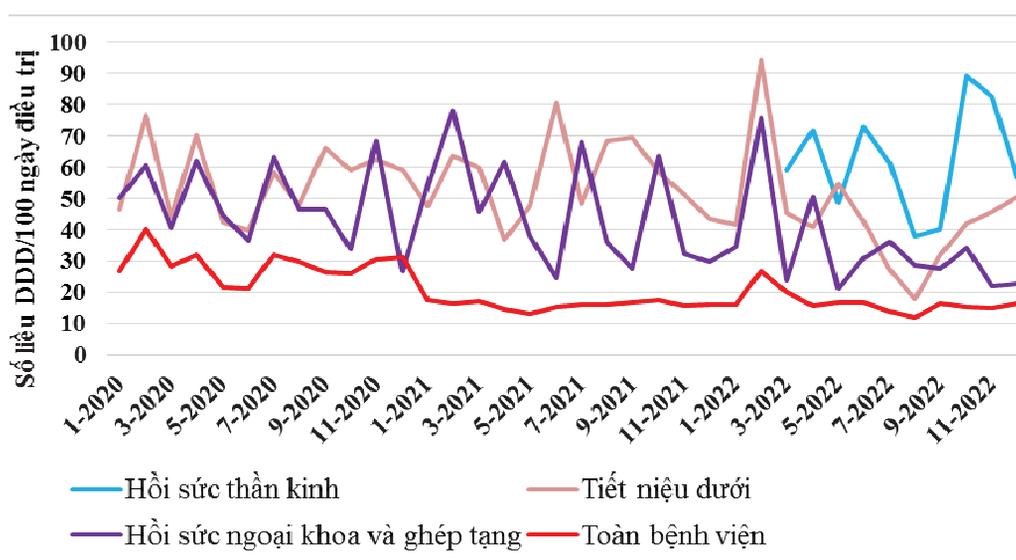
STT	Khoa phòng	DDD/100 ngày điều trị	STT	Khoa phòng	DDD/100 ngày điều trị
1	Hồi sức thần kinh	60,9	24	Nội tiết	13,0
2	Tiết niệu dưới	50,3	25	Chấn thương chỉnh hình tổng hợp	9,5
3	Hồi sức nội ngoại khoa và ghép tạng	42,0	26	Điều trị gan, mật, tụy	9,2
4	Ngoại thần kinh	40,5	27	Nội thần kinh	8,4
5	Đột quy não	38,6	28	Nội tổng hợp	8,2
6	Bệnh lây đường tiêu hóa	36,4	29	Phẫu thuật tiêu hóa	7,8
7	Hồi sức nội và chống độc	35,6	30	Cấp cứu tiêu hóa	7,8
8	Nội hô hấp	31,4	31	Phẫu thuật tim mạch	7,6
9	Bệnh lây đường hô hấp và hồi sức	29,0	32	Nội cơ xương khớp	6,2
10	Hồi sức tim mạch	24,1	33	Da liễu	6,0
11	Chấn thương chỉnh hình cột sống	23,2	34	Dị ứng	5,7
12	Tai mũi họng	22,9	35	Ung thư tổng hợp	5,3

STT	Khoa phòng	DDD/100 ngày điều trị	STT	Khoa phòng	DDD/100 ngày điều trị
13	Huyết học lâm sàng	21,8	36	Ngoại lồng ngực	4,9
14	Tiết niệu trên	20,8	37	Quốc tế	4,6
15	Lây truyền qua đường máu	20,5	38	Phẫu thuật khớp	4,3
16	Phẫu thuật gan mật	20,0	39	Phụ sản	4,3
17	Phẫu thuật và điều trị theo yêu cầu	17,9	40	Phẫu thuật sọ mắt	4,0
18	Hóa trị liệu và bệnh máu	17,1	41	Điều trị bệnh ống tiêu hóa	3,6
19	Phẫu thuật hậu môn, trực tràng và sàn chậu	16,7	42	Mắt	3,3
20	Bệnh cấp tính và cấp cứu	15,6	43	Chẩn đoán và can thiệp mạch	2,6
21	Chống đau và giảm nhẹ	15,0	44	Chấn thương chi trên và vi phẫu thuật	1,5
22	Lọc máu	14,7	45	Y học cổ truyền	1,0
23	Nội tim mạch	13,9	46	Khoa phẫu thuật tạo hình và vi phẫu	0,7

Từ bảng 1 cho thấy nhóm kháng sinh Quinolon IV được sử dụng rộng rãi ở hầu hết các khoa lâm sàng trong bệnh viện. 05 đơn vị sử dụng Quinolon nhiều

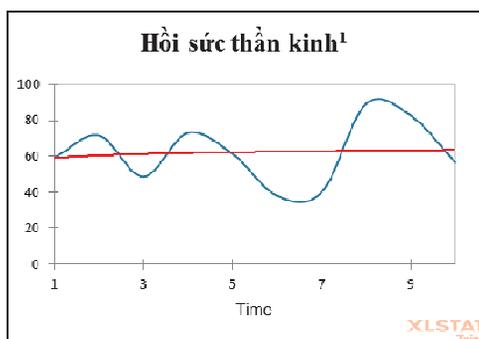
nhất bao gồm Hồi sức thần kinh, Tiết niệu dưới, Hồi sức ngoại khoa và ghép tạng, Ngoại thần kinh và Đột quy não với số liệu DDD/100 ngày điều trị lần lượt là: 60,9; 50,3; 42,0; 40,5 và 38,6. Số liệu phân tích đã chỉ ra đối với Khoa Tiết niệu dưới, levofloxacin là kháng sinh được sử dụng nhiều nhất với 43,2 DDD/100 ngày điều trị và 6,1 DDD/100 ngày điều trị đối với moxifloxacin. Trong đó có tới 24 đơn vị có lượng tiêu thụ vượt trên 10 DDD/100 ngày điều trị.

\* Xu hướng tiêu thụ kháng sinh Quinolon tại các khoa sử dụng nhiều nhất so với toàn viện:

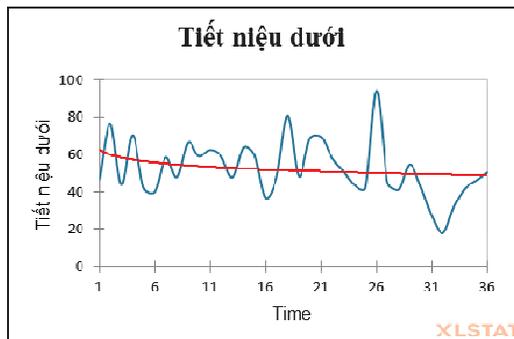


**Hình 4.** Mức độ tiêu thụ các kháng sinh nhóm Quinolon tiêm truyền theo tháng của 3 khoa sử dụng nhiều nhất so với toàn viện giai đoạn 2020 - 2022.

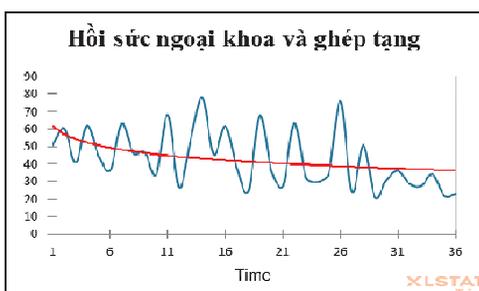
Kết quả khảo sát xu hướng sử dụng kháng sinh Quinolon IV ở ba khoa sử dụng nhiều nhất so với toàn viện cho thấy mức độ sử dụng kháng sinh này của hai Khoa Hồi sức tích cực và Khoa Tiết niệu dưới cao hơn rất nhiều so với toàn viện. Mặc dù là khoa mới thành lập từ tháng 03/2022 tuy nhiên Khoa Hồi sức thần kinh có số liệu DDD/100 ngày điều trị cao nhất trong các khoa khi có những thời điểm sử dụng tới 90 liều DDD/100 ngày điều trị. Trong khi các Khoa Tiết niệu dưới và Hồi sức ngoại và ghép tạng có số lượng sử dụng có xu hướng giảm.



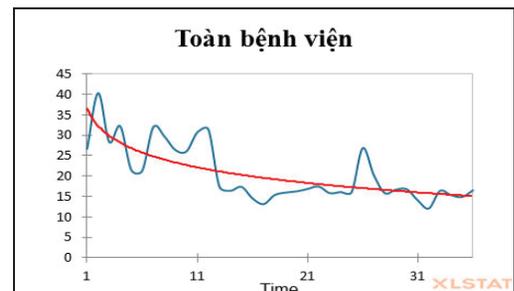
S: 3; p: 0,858; Xu hướng: (\*)



S: -154; p: 0,037; Xu hướng: Giảm



S: -230; p: 0,002; Xu hướng: Giảm



S: -308; p: < 0,0001; Xu hướng: Giảm

(\*: không xác định được xu hướng có ý nghĩa thống kê;

<sup>1</sup>: Kiểm định từ tháng 3/2022 đến 12/2022)

**Hình 5.** Xu hướng sử dụng Quinolon tiêm truyền của 3 khoa sử dụng nhiều nhất và toàn Bệnh viện trong giai đoạn 2020 - 2022.

Trong giai đoạn 2020 - 2022, lượng tiêu thụ Quinolon IV trong toàn bệnh viện nói chung và Tiết niệu dưới, Hồi sức nội và ghép tạng có xu hướng giảm với các chỉ số phân tích lần lượt là  $S = -308$ ,  $p < 0,0001$ ;  $S = -154$ ,  $p = 0,037$ ;  $S = -230$ ,  $p = 0,002$ . Xu hướng tiêu thụ của khoa Hồi sức thần kinh không xác định được xu hướng có ý nghĩa thống kê với  $S = 3$ ,  $p = 0,858$ .

## BÀN LUẬN

Quinolon là nhóm kháng sinh có phổ kháng khuẩn rộng được đưa vào sử dụng trên lâm sàng từ những năm 1960. Đây là nhóm kháng sinh có nhiều

ưu điểm trên lâm sàng như sinh khả dụng đường uống cao, tác dụng diệt khuẩn tốt, phổ tác dụng của thuốc rộng. Tuy nhiên, ngày càng nhiều tác dụng không mong muốn nghiêm trọng

trên BN được cảnh báo do trên nhóm thuốc này như: Các tổn thương ở khớp vai, bệnh lý thần kinh ngoại vi, rối loạn thần kinh trung ương, kéo dài khoảng QT, nguy cơ phình và bóc tách động mạch chủ... Các tác dụng phụ này có thể phục hồi hoặc gây tàn tật vĩnh viễn [7, 8]. Mặt khác, tỷ lệ đề kháng các kháng sinh nhóm Quinolon ngày càng gia tăng do tình trạng lạm dụng sử dụng nhóm kháng sinh này. Do đó, việc triển khai các chương trình quản lý kháng sinh nói chung và kháng sinh Quinolon nói riêng là việc rất quan trọng nhằm đảm bảo việc sử dụng hiệu quả, an toàn và phù hợp trên BN. Đồng thời xây dựng các chiến lược nhằm giảm thiểu đề kháng kháng sinh đặc biệt là trên nhóm kháng sinh Quinolon. Mặc dù đây là kháng sinh có sinh khả dụng cao; tuy nhiên, trên lâm sàng bác sĩ vẫn ưu tiên sử dụng kháng sinh Quinolon đường tiêm truyền (Quinolon IV) hơn so với đường uống cho dù BN không có chống chỉ định trên đường uống. Điều này có thể làm gia tăng chi phí điều trị mặc dù trong nghiên cứu này không xác định giá trị sử dụng nhóm thuốc này. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này để làm rõ việc sử dụng, tiêu thụ kháng sinh Quinolon tiêm truyền sử dụng tại Bệnh viện TWQĐ 108 trong giai đoạn 2020 - 2022.

### **1. Phân tích số lượng và xu hướng sử dụng kháng sinh Quinolon tiêm truyền theo năm, tháng**

Từ hình 1 cho thấy mức độ tiêu thụ kháng sinh Quinolon có xu hướng giảm trong giai đoạn 2020 - 2022. Điều này có thể do sự đề kháng của vi khuẩn đối với nhóm thuốc này ngày càng gia tăng, nên trong thực hành lâm sàng tác dụng diệt khuẩn ngày càng giảm [1, 3]; do đó, các bác sĩ ngày càng hạn chế chỉ định kháng sinh này trên BN. Tuy nhiên, đây vẫn là nhóm kháng sinh sử dụng nhiều với tổng số DDD/100 ngày điều trị đều lớn với số lượng khoảng 18 DDD trong năm 2021 và 27 DDD trong năm 2020. So với các nhóm kháng sinh khác sử dụng trong bệnh viện đây là nhóm kháng sinh sử dụng nhiều nhất trong bệnh viện trong năm 2020 [9]. Tuy nhiên, trong các năm 2021, 2022 nhóm kháng sinh này không phải là nhóm kháng sinh sử dụng nhiều nhất tại Bệnh viện, thay vào đó là cephalosporin [10, 11]. Điều này cho thấy xu hướng dịch chuyển sử dụng để phù hợp hơn trên thực hành lâm sàng. Trong 04 kháng sinh nhóm Quinolon đang sử dụng tại bệnh viện levofloxacin là kháng sinh sử dụng nhiều nhất với khoảng 15 DDD, ciprofloxacin là kháng sinh sử dụng ít nhất với khoảng 1 DDD. Từ hình 2 cho thấy các Quinolon thế hệ

thứ 3 bao gồm levofloxacin và moxifloxacin có tỷ lệ sử dụng nhiều hơn hẳn so với các Quinolon thế hệ 2 là ciprofloxacin và ofloxacin. Điều này có thể do đặc điểm về phổ tác dụng của thuốc khi levofloxacin là kháng sinh có phổ tác dụng trên cả vi khuẩn gram (-) và gram (+), moxifloxacin có phổ tác dụng tốt trên gram (+) và vi khuẩn kỵ khí, trong khi ofloxacin và ciprofloxacin có ưu thế trên vi khuẩn gram (-). Đồng thời xu hướng sử dụng các kháng sinh Quinolon nói chung đang thể hiện xu hướng giảm theo thời gian. Xu hướng này tỷ lệ nghịch với sự đề kháng của vi khuẩn khi các báo cáo vi sinh tại bệnh viện và trên cả nước, cho thấy tỷ lệ đề kháng của vi khuẩn đối với nhóm kháng sinh Quinolon ngày càng gia tăng. Kết quả kiểm định Mann-Kendall tại hình 3 cho thấy trong 04 kháng sinh khảo sát có tới 3 kháng sinh có xu hướng tiêu thụ giảm rõ rệt là ciprofloxacin, levofloxacin và moxifloxacin với các chỉ số tương ứng là  $S = -246$ ,  $p = 0,001$ ;  $S = -218$ ,  $p = 0,003$  và  $S = -276$ ,  $p < 0,0001$ . Trong khi ofloxacin không thể hiện xu hướng này. Kết quả này là có phần trái ngược so với nghiên cứu tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Điện Biên giai đoạn 2015 - 2018 của tác giả Nguyễn Việt Hùng, khi xu hướng sử dụng Quinolon tại bệnh viện này tăng mặc dù khác nhau về khoảng thời gian nghiên cứu [12].

## 2. Phân tích số lượng và xu hướng tiêu thụ kháng sinh Quinolon tiêu truyền của các khoa lâm sàng

Nhìn chung Quinolon là kháng sinh được sử dụng rất phổ biến tại Bệnh viện TWQĐ 108. Từ bảng 1 cho thấy có tới 46 khoa phòng tại bệnh viện đã sử dụng kháng sinh Quinolon đường tiêu truyền. Trong đó có tới 24 đơn vị sử dụng  $> 10$  DDD/100 ngày điều trị, những khoa sử dụng nhiều Quinolon hầu hết là các khoa thuộc Viện Thần kinh bao gồm Hồi sức thần kinh, Ngoại thần kinh, Đột quy não. Ngoài ra, Khoa Tiết niệu dưới và Hồi sức ngoại khoa và ghép tạng cũng là 02 đơn vị tiêu thụ nhiều Quinolon. Điều này có thể là do phổ tác dụng và đặc điểm dược động học của các fluoroquinolon, khi thuốc hấp thu tốt vào dịch não tủy [13]. Tuy nhiên, cũng cần cân nhắc vì hiện nay tình trạng đề kháng fluoroquinolon đang ở mức báo động tại Việt Nam nói chung và tại Bệnh viện TWQĐ 108 nói riêng khi mức đề kháng nói chung đối với nhóm kháng sinh này đang từ 80 - 90% [4]. Đặc biệt là đối với các nhiễm khuẩn bệnh viện như viêm phổi, nhiễm khuẩn thần kinh thì khả năng thành công khi điều trị các bệnh lý này với kháng sinh Quinolon càng thấp. Chính vì điều này mà xu hướng sử dụng nhóm kháng sinh này của toàn bệnh viện có xu

hướng giảm qua kiểm định Mann-Kendall trong giai đoạn từ 2020 - 2022 với  $S = -308$ ,  $p < 0,001$  (Hình 5). Trong các đơn vị tiêu thụ nhiều kháng sinh Quinolon phần lớn đều có xu hướng sử dụng giảm trong giai đoạn 2020 - 2022 như Khoa Tiết niệu dưới, Hồi sức ngoại và ghép tạng với các chỉ số phân tích lần lượt là  $S = -154$ ,  $p = 0,037$ ;  $S = -230$ ,  $p = 0,002$ . Trong khi đó Khoa Hồi sức thần kinh không xác định được xu hướng sử dụng khi  $S = 3$  và  $p = 0,858$  ( $> 0,05$ ), điều này có thể do đây là khoa mới thành lập từ tháng 3/2022 nên thời gian phân tích ngắn không xác định được xu hướng sử dụng mặc dù đây là khoa có lượng tiêu thụ Quinolon lớn nhất với 60,9 liều DDD/100 ngày điều trị trong 03 năm từ 2020 - 2022. Đối với Khoa Tiết niệu dưới có 6,1 số liều DDD/100 ngày sử dụng được sử dụng, điều này cho thấy khả năng tiềm tàng việc chỉ định không phù hợp đối với kháng sinh này do moxifloxacin là kháng sinh ưu tiên trên đường hô hấp và không có phổ tác dụng trên hầu hết các nhiễm khuẩn tiết niệu. Hình 4 cho thấy mức độ tiêu thụ các kháng sinh Quinolon IV của 03 khoa bao gồm Hồi sức thần kinh, Tiết niệu dưới, Hồi sức ngoại và ghép tạng so với mặt bằng sử dụng chung tại bệnh viện cho thấy mức tiêu thụ của những đơn vị này cao hơn 2 - 3 lần.

Tuy nhiên, đối với 02 khoa hồi sức thì việc chỉ định Quinolon IV có thể sẽ tiềm tàng nguy cơ không phù hợp do tỷ lệ nhiễm các vi khuẩn bệnh viện tại các khoa này lớn, đồng thời tỷ lệ đề kháng cao.

Mặt khác, kháng sinh nhóm Quinolon là kháng sinh nhóm 2 - cần theo dõi, giám sát sử dụng [5]. Trước tình trạng đề kháng kháng sinh như hiện nay, đặc biệt đề kháng với nhóm Quinolon lên đến 80 - 90% tại Bệnh viện TWQĐ 108 rất báo động, việc triển khai xây dựng các hướng dẫn điều trị các bệnh lý nhiễm khuẩn, đồng thời hướng dẫn theo dõi và sử dụng kháng sinh nói chung và Quinolon nói riêng là hết sức cần thiết nhằm giảm thiểu việc sử dụng kháng sinh không hợp lý, đồng thời giảm thiểu tình trạng đề kháng thuốc của vi khuẩn. Do đó, việc triển khai chương trình quản lý sử dụng kháng sinh chặt chẽ trong bệnh viện là cần thiết để đảm bảo giảm sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn cũng như bảo tồn được các loại kháng sinh trong nhóm Quinolon, góp phần tích cực vào cuộc chiến giữa kháng sinh và vi khuẩn.

### KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cho thấy hình ảnh tổng thể về tình hình tiêu thụ kháng sinh Quinolon tại Bệnh viện TWQĐ 108 trong giai đoạn 2020 - 2022, với mức tiêu thụ kháng sinh nhóm

Quinolon có xu hướng giảm trong giai đoạn này. Khoa Hồi sức thần kinh, Tiết niệu dưới và Hồi sức ngoại và ghép tạng là ba đơn vị có lượng tiêu thụ Quinolon lớn nhất trong toàn Bệnh viện. Về cơ cấu, levofloxacin là kháng sinh sử dụng nhiều nhất, sau đó đến moxifloxacin, ofloxacin và ciprofloxacin. Trong đó levofloxacin, moxifloxacin, ciprofloxacin là 3 thuốc có xu hướng sử dụng giảm, đối với ofloxacin không xác định được xu hướng trong thời gian khảo sát. Nghiên cứu là cơ sở để triển khai các nghiên cứu đánh giá sử dụng thuốc cũng như trong chương trình quản lý kháng sinh trong bệnh viện nhằm nâng cao hiệu quả sử dụng thuốc kháng sinh.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Oliphant CM and Green GM. Quinolones: A comprehensive review. *Am Fam Physician*. 2002; 65(3):455-464.
2. Belforti RK, et al. Association between initial route of fluoroquinolone administration and outcomes in patients hospitalized for community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2016; 63(1):1-9.
3. GARP Việt Nam. Báo cáo sử dụng kháng sinh và kháng kháng sinh tại 15 bệnh viện Việt Nam năm 2008-2009. Dự án hợp tác toàn cầu về kháng kháng sinh GARP Việt Nam và Đơn vị

Nghiên cứu Lâm sàng Đại học Oxford. 2009.

4. Hội đồng Thuốc và Điều trị - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Báo cáo sự phân lập và đề kháng kháng sinh của một số vi khuẩn thường gặp tại Bệnh viện Quý IV năm 2022. 2022.

5. Bộ Y tế. Hướng dẫn Quản lý sử dụng kháng sinh trong Bệnh viện. Số 5631/QĐ-BYT ngày 31 tháng 12 năm 2020. 2020.

6. WHO. Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, accessed, from [https://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/?code=J01MA14](https://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=J01MA14). 2023.

7. Health Canada. FLUROQUINOLONONES - Risk of Disabling and Persistent Serious Adverse Reactions, accessed, from <https://recalls-rappels.canada.ca/en/alert-recall/fluoroquinolones-risk-disabling-and-persistent-serious-adverse-reactions>. 2017.

8. Trung tâm DI&ADR quốc gia. HSA: Cảnh báo nguy cơ phình và bóc tách động mạch chủ khi sử dụng kháng sinh nhóm Flouroquinolon, accessed, from <http://canhgiacduoc.org.vn/CanhGiacDuoc/DiemTin/1297/HSA-C%E1%BA%A3nh-b%C3%A1o-nguy-c%C6%A1-ph%C3%ACnh-v%C3%A0-b%C3%B3c-t%C3%A1ch>

% C 4 % 9 1 % E 1 % B B % 9 9 n g -  
m%E1%BA%A1ch-ch%E1%BB%A7-  
khi-s%E1%BB%AD-d%E1%BB%A5ng-  
kh%C3%A1ng-sinh-nh%C3%B3m-  
Flouroquinolon-.htm. 2019.

9. Ban quản lý sử dụng kháng sinh. Báo cáo tình hình sử dụng kháng sinh tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. 2020.

10. Ban quản lý sử dụng kháng sinh. Báo cáo tình hình sử dụng kháng sinh tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. 2021.

11. Ban quản lý sử dụng kháng sinh. Báo cáo tình hình sử dụng kháng sinh tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. 2022.

12. Nguyễn Việt Hùng. Luận văn thạc sĩ dược học. Phân tích thực trạng tiêu thụ kháng sinh và việc sử dụng kháng sinh trong điều trị viêm phổi tại Bệnh viện Đa khoa Điện Biên. 2019.

13. Cottagnoud P and Täuber MG. Fluoroquinolones in the treatment of meningitis. *Curr Infect Dis Rep*. 2003; 5(4):329-336.

NETWORK PHARMACOLOGY COMBINED WITH  
CHROMATOGRAM SIMILARITY ANALYSIS FOR BIOMARKERS  
EXPLORATION OF DULIANG HERBAL FORMULATION

*Chu Duc Thanh<sup>1\*</sup>, Vu Tuan Anh<sup>1</sup>, Nguyen Van Thinh<sup>1</sup>  
Bui Thi Thu Ha<sup>1</sup>, Chu Van Men<sup>1</sup>, Tran Ba Hieu<sup>1</sup>*

**Abstract**

**Objectives:** To explore potential biomarkers of the Duliang herbal formula (DHF). **Methods:** The DHF consisting of a radix of *A.dahurica* and a rhizome of *L. chuanxiong* was investigated the pharmacological mechanism for migraine treatment via a network pharmacology approach using published databases and software. Besides, an experimentally chromatographic analysis of DHF was performed to identify potential active components. A combination of two approach results could contribute to propose biomarkers for quality control of DHF. **Results:** To extend our previous *in silico* study on anti-migraine compounds in DHF via network pharmacology approach, chromatogram similarity analysis of DHF with different origin herbs had carried out and showed that these active compounds, namely ferulic acid, senkyunolide A, senkyunolide I, ligustilide, byakangelicol, oxypeucedanin, imperatorin, isoimperatorin, and oxypeucedanin hydrate, could be considered as quality markers of formula. **Conclusion:** Potential biomarkers of DHF for anti-migraine can be explored via an integrated approach using network pharmacology and chromatographic analysis.

**Keywords:** Network pharmacology; Chromatography; Biomarker; Duliang; Migraine.

**INTRODUCTION**

A migraine is defined as a disabling neurological disease. An estimated 15% of the overall population was

affected with migraine [1, 2]. The most common symptoms of migraine include photophobia, phono-phobia, nausea, vomiting, tinnitus, dizziness,

---

<sup>1</sup>Vietnam Military Medical University

\*Corresponding author: Chu Duc Thanh (chuducthanh.vmmu@gmail.com)

Date received: 05/9/2023

Date accepted: 04/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.492>

and cognitive impairment [3]. Modern medicines for migraine treatment mainly belong to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), triptans (5-HT receptor agonists), calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptor antagonists, dopamine receptor antagonists, as well as beta-blockers, anti-depressants, anti-convulsants, monoclonal antibodies against CGRP molecules, and receptors. However, several of these medicines have unsatisfactory treatment efficacy and unpleasant adverse effects, as well. Hence, a demand for the development of alternative migraine therapies to improve the treatment outcome of these anti-migraine medicines is urgent.

The Duliang herbal formula, a traditional medicine for the anti-migraine effect, was fully recorded and described in folk Chinese medicine literature as well as in Chinese Pharmacopoeia. The DHF includes two components, *Angelica dahurica* radix (ADR) and *Ligusticum chuanxiong* rhizome (CXR), with a ratio of 4:1 w/w [4].

The traditional Chinese medicine (TCM) formula containing a number of active substances was generally prepared with one or several herbal components.

Based on the fundamental theory that multiple ingredient medicinal formula aims at multiple rather than single targets, the network pharmacology approach was developed using the updated bioinformatic models, tools, and data [5]. The network pharmacology approach constructed and topologically analyzed a net with nodes as herbs, compounds, targets, and diseases and edges as the relationship between nodes. The topologically analyzing results contribute to clearer insights into the multiple therapeutic effects of multiple ingredients and multidrug targets and their functions [6]. Additionally, chromatographic analysis of herbal formulas significantly supported in determining the chemical composition of herbs, which was considered as the basis for quality control of herbs [7].

In order to extend our findings published about the network pharmacology approach for an explanation of the anti-migraine mechanism of DHF, this study aims to: *Develop an approach of chromatogram similarity analysis to explore the potential biomarkers of DHF for migraine treatment* [8].

## MATERIALS AND METHODS

### 1. Materials

Samples of ADR and CXR were collected from different companies in different areas of Korea in August 2021.

### 2. Methods

#### \* *Sample preparation:*

For DHF preparation, first, dried ADR (1g) was cut into small pieces using hand scissors and combined with 10mL of fermented ethanol (85%, v/v) and ultrasonicated (45kHz, 30min) to extract compounds interested. The extraction process of ADR was repeated 3 times. The resultant extract was collected. The similar extraction of CXR was implemented using fermented ethanol (90%, v/v). The DHF extract is a mixture of two herbal extracts with a ratio of 4:1 (v/v) of ADR and CXR extracts, respectively.

#### \* *Chromatographic conditions:*

HPLC analyses were performed on a Shimadzu 20AD HPLC system (Shimadzu, Japan) consisting of a quaternary solvent delivery system, an on-line degasser, an autosampler, a column temperature controller, and a diode array detector interfaced with a Shimadzu 8040 triple quadrupole mass

spectrometer (Shimadzu, Japan). The analytical column was a HECTOR-C1 column (4.6 x 250mm, 5 $\mu$ m), and the column temperature was maintained at 35<sup>0</sup>C. The mobile phase A: 0.1% formic acid (v/v) in water and B: acetonitrile were used. A gradient program was used as follows: 0 - 10min, 10% B; 10 - 120min, 10 - 95% B; 120 - 125min, 95% B, with a hold time of 10min, which was together with the flow rate: 0.5 mL.min<sup>-1</sup>, injection volume: 10 $\mu$ L.

#### \* *Diode array detection (DAD):*

The signal of absorbance wavelength was detected at 270nm. Setting the acquisition range from 190 - 400nm, the diode array detection allowed the acquisition of absorbance spectrum for each compound, which induces the identification of compounds via comparison with relevant standards or the tentative prediction of substances via literature information of maximum absorption spectrum.

#### \* *Electrospray ionization - tandem mass spectroscopy detection (ESI-MS/MS):*

The HPLC conditions described above were used for HPLC/QqQ MS analysis. LC-ESI-MS system with scan mode in both positive and negative

modes was utilized for peak identification. To verify the production of each peak in the samples, a survey on product ions was performed. The other parameters were set: An interface voltage of + 4.5kV for the positive mode and -3.5kV for the negative mode; a desolvation line temperature: 250°C; flow rate of drying gas: 15 L/min; nebulizing gas: 3 L/min; desolvation line temperature: 250°C; heat block temperature: 400°C.

*\* Similarity evaluation of chromatographic data of DHF batches:*

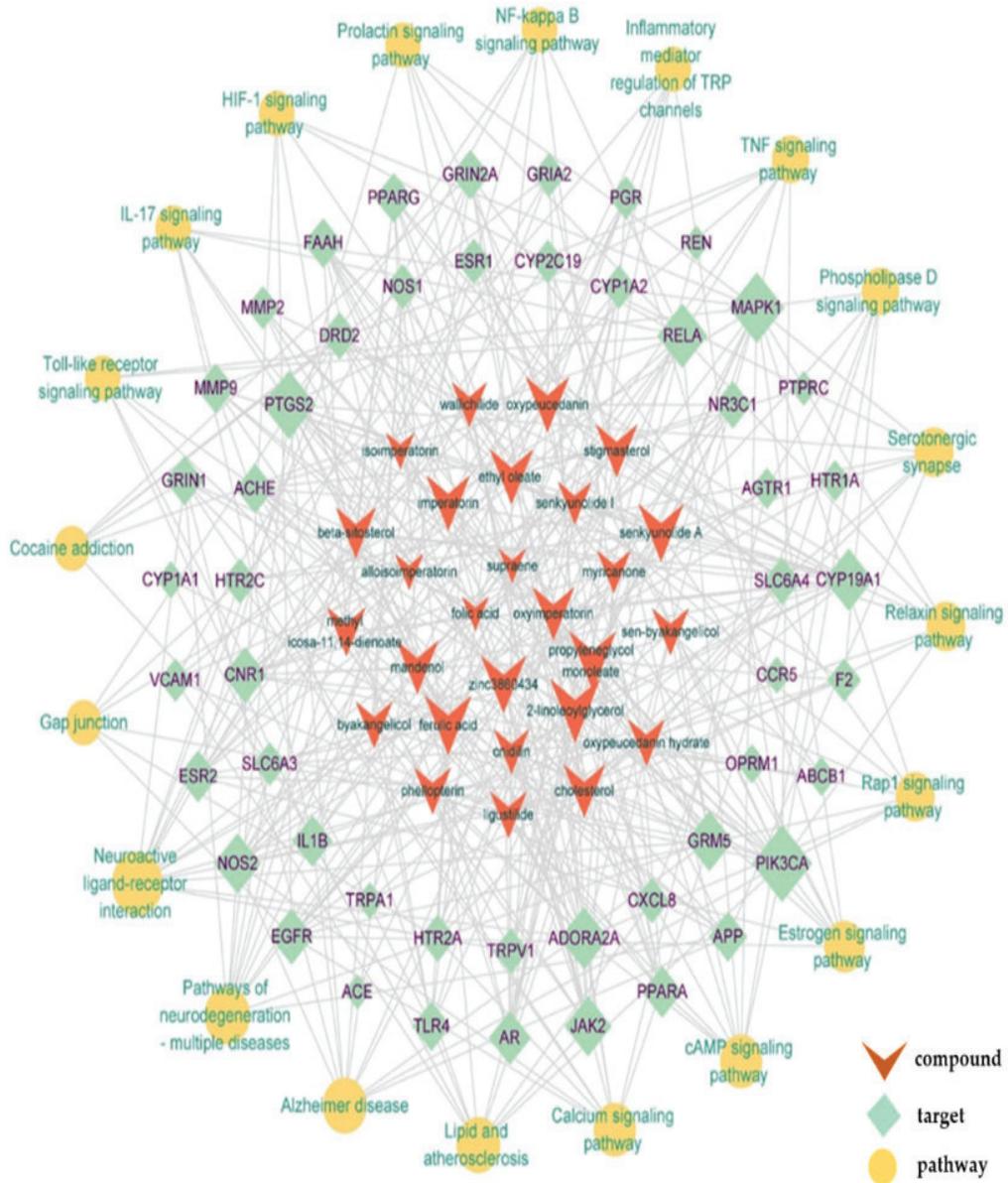
In order to establish a representative chromatogram, all batches were analyzed by the present methods, and the obtained data were exported in AIA format (in file \*.cdf) via chromatogram processing software LabSolutions (Shimadzu). Subsequently, the tool Computer-Aided Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprints of Chinese Medicines was used to process these output chromatogram data.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **1. Exploration of potential anti-migraine compounds in DHF via network pharmacology approach [8]**

Figure 1 shows the analysis result of the active compound-target-pathway

network with the enriched KEGG pathways, targets, and compounds that regulated these pathways. The degree of a node in this network was reflected via the size of the node. The larger size of the node in the network, the more significant it was, which exhibits the significance of a compound, target, or pathway in the therapeutic or pathogenetic mechanism of DHF against migraine. The top 20 KEGG pathways (significance degree  $p < 0.01$ ) and their corresponding targets and compounds were constructed in network visualization, which was displayed in figure 1. Based on topology analysis of the network, MAPK1 showed the largest size; therefore, MAPK1 was considered as a core target. In addition, other targets showed their size relatively large, such as PIK3CA, EGFR, RELA, NOS2, and DRD2. These gene targets were used to retrieve the association with active compounds. Additionally, the consideration of a compound as a potential quality marker in DHF against migraine was based on the degree of compound in the network, shown in table 1.



**Figure 1.** The active component-target-pathway network.

These active ingredients showed a high correlation with the 10 core targets. RELA, MAPK1, and AKT1 were involved in most of the pathways, suggesting that DHF may exert its effects through these targets.

**Table 1.** Degree of compound nodes in the Compound-Target-Pathway network of the DHF for anti-migraine effect.

<b>Herb</b>	<b>Compound</b>	<b>Degree</b>
ADR	2-linoleoylglycerol	15
ADR	propyleneglycol monooleate	13
CXR	ferulic acid	13
ADR	zinc3860434	12
CXR	senkyunolide A	12
ADR	ethyl oleate	11
ADR	imperatorin	11
CXR	oxypeucedanin	11
ADR	cholesterol	10
ADR	oxyimperatorin	10
ADR	stigmasterol	10
ADR/ CXR	mandenol	10
ADR	beta-sitosterol	9
ADR	methyl icoso-11,14-dienoate	8
ADR	byakangelicol	7
ADR	phellopterin	7
ADR	oxypeucedanin hydrate	7
ADR	sen-byakangelicol	7
CXR	ligustilide	7
ADR	cnidilin	6
CXR	wallichilide	6
CXR	myricanone	5
CXR	senkyunolide I	5
ADR	alloisoimperatorin	2
ADR	isoimperatorin	2
ADR	supraene	1
CXR	folic acid	1

**2. Chemical profiling of DHF using DAD and MS/MS spectrometry**

According to the experimental assay mentioned in part 2. Method via HPLC-DAD-MS/MS method, the main components in DHF, including the extract mixture of ADR and CXR with a ratio of 4:1 (w/w), were structured on the basis of the order of compound retention time, accurate mass, fragment information, mass spectrometry fragmentation laws, and other information [9, 10]. A total of 21 compounds were identified or tentatively characterized (*Table 2*).

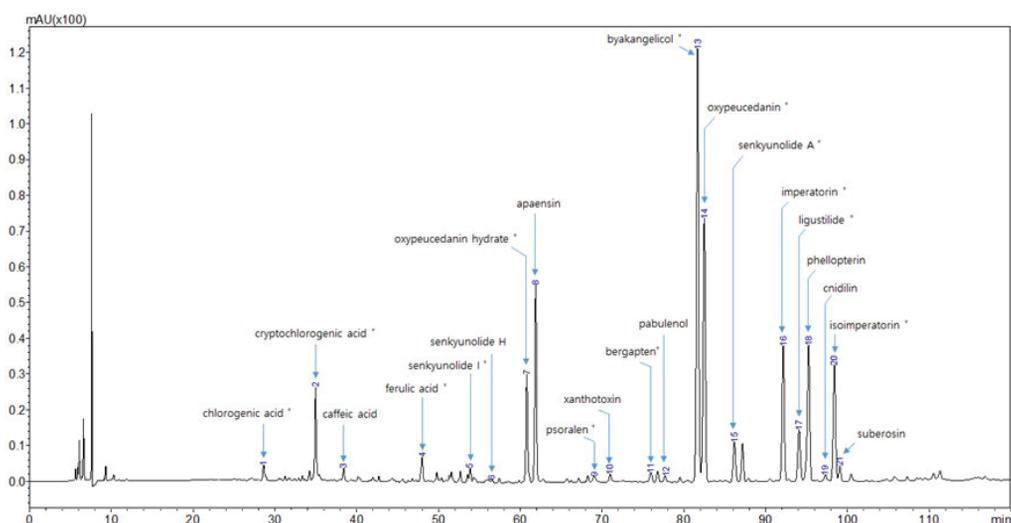
**Table 2.** Chemical identification of components in DHF via HPLC-DAD-MS/MS.

Peak no.	t <sub>R</sub> (min)	λ <sub>max</sub> (nm)	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Identification
1	28.628	218; 271	355.00 [M+H] <sup>+</sup>	163.05; 117.15; 135.00; 89.05; 145.05	Chlorogenic acid *
2	34.970	218; 237; 326	353.20 [M-H] <sup>-</sup>	172.90; 178.90; 134.85; 190.90; 93.00	Cryptochlorogenic acid *
3	38.401	217; 239; 323	181.00 [M+H] <sup>+</sup>	89.05; 117.10; 141.30; 77.10	Caffeic acid *
4	48.009	218; 233; 323	194.90 [M+H] <sup>+</sup>	176.95; 89.10; 145.00; 116.95; 194.90	Ferulic acid *
5	53.882	276	224.95 [M+H] <sup>+</sup>	207.15; 91.05; 164.95	Senkyunolide I *
6	56.563	218; 276; 314	247.05 [M+Na] <sup>+</sup>	175.00; 147.00; 119.05; 131.00; 159.05	Senkyunolide H
7	60.799	222; 249; 265; 310	304.90 [M+H] <sup>+</sup>	202.90; 147.00; 91.05; 131.00; 59.10	Oxypeucedanin hydrate *
8	61.882	223; 268; 313	317.00 [M+H] <sup>+</sup>	217.95; 175.00; 187.95; 202.95; 230.95	Apaensin
9	69.047	245; 292; 324	186.95 [M+H] <sup>+</sup>	131.05; 115.10; 77.15; 142.95; 51.20	Psoralen *

Peak no.	t <sub>R</sub> (min)	λ <sub>max</sub> (nm)	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Identification
10	71.001	218; 246; 302	217.05 [M+H] <sup>+</sup>	174.00; 201.95; 118.00; 145.05; 160.95	Xanthotoxin
11	75.985	223; 248; 267; 311	216.90 [M+H] <sup>+</sup>	201.90; 174.00; 89.05; 118.05; 90.00	Bergapten *
12	77.694	218; 247; 299	287.00 [M+H] <sup>+</sup>	203.05; 172.90; 156.95; 147.00; 129.00	Pabulenol
13	81.689	223; 268; 311	334.05 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	230.90; 299.05; 316.95; 233.00; 174.95	Byakangelicol *
14	82.505	220; 249; 307	287.00 [M+H] <sup>+</sup>	203.00; 59.05; 85.00; 146.95; 57.10	Oxypeucedanin *
15	86.189	278	192.95 [M+H] <sup>+</sup>	91.05; 137.05; 147.10; 77.10; 93.05	Senkyunolide A *
16	92.152	218; 248; 300	288.00 [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	202.95; 271.05; 146.95; 69.15; 91.10	Imperatorin *
17	94.099	205; 281; 325	190.95 [M+H] <sup>+</sup>	172.95; 91.00; 77.05; 115.00; 117.10	Ligustilide *
18	95.254	224; 268; 312	301.00 [M+H] <sup>+</sup>	217.90; 189.80; 230.10; 162.00; 173.00	Phellopterin
19	97.318	224; 245; 267; 309	301.05 [M+H] <sup>+</sup>	172.95; 218.00; 233.00; 162.95; 189.85	Cnidilin
20	98.418	222; 250; 308	270.90 [M+H] <sup>+</sup>	202.90; 146.95; 91.10; 131.05; 41.15	Isoimperatorin *
21	99.079	223; 268; 311	245.05 [M+H] <sup>+</sup>	186.95; 131.00; 115.15; 245.15; 214.95	Suberosin

\* Confirmed with identification of reference substances:

Figure 2 shows the representative chromatogram of DHF. Comparing the mass spectra and retention times of the components of DHF with those of the corresponding standards, peaks 1, 2, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 14, 15, 16, 17, and 20 could be unambiguously identified as chlorogenic acid (1), cryptochlorogenic acid (2), ferulic acid (4), senkyunolide I (5), oxypeucedanin hydrate (7), psoralen (9), bergapten (11), byakangelicol (13), oxypeucedanin (14), senkyunolide A (15), imperatorin (16), ligustilide (17) and isoimperatorin (20), respectively.



**Figure 2.** The representative chromatogram of chemical profile in DHF at 270nm (\*compounds confirmed with corresponding standards).

### 3. Similarity analysis of chromatographic data of DHF batches and exploration of potential biomarkers

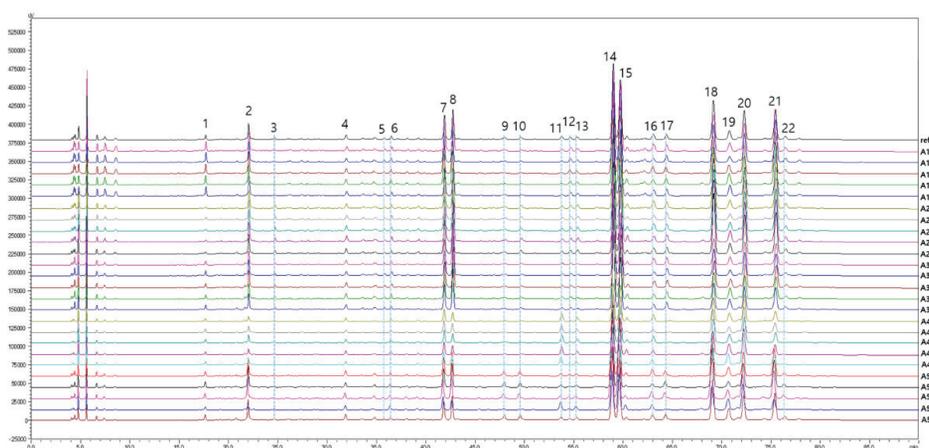
The similarity analysis of chromatographic data of the DHF (HPLC-UV detection at 270nm) was carried out via the tool “Similarity Evaluation System of chromatographic fingerprint of TCM” (released version 2004A). This software was issued by the Chinese pharmacopeia committee.

The HPLC fingerprints of the 26 samples are shown in figure 3. There were 22 common peaks, and the sum of peak areas of all shared peaks was > 90%. To compare with the standards, nine peaks were identified, namely ferulic acid, senkyunolide I, oxypeucedanin hydrate, byakangelicol, oxypeucedanin, senkyunolide A, imperatorin, ligustilide, isoimperatorin.

The chromatographic peaks were automatically matched, and the reference fingerprint chromatography of 25 batches was produced by the median method. The similarities between the chromatograms of these samples (A1L1 - A5L5) were 0.923; 0.990; 0.961; 0.959; 0.966; 0.948; 0.992; 0.951; 0.971; 0.924; 0.938; 0.954; 0.974; 0.935; 0.934; 0.958; 0.968; 0.921; 0.992; 0.944; 0.977;

0.936; 0.972; 0.965; 0.981; and 0.958, respectively (*Figure 3*).

Based on the network pharmacology, similarity analysis results, and literature search, we finally suggested nine active compounds, namely ferulic acid, senkyunolide I, oxypeucedanin hydrate, byakangelicol, oxypeucedanin, senkyunolide A, imperatorin, ligustilide, isoimperatorin as potential biomarkers for quality control of DHF.



**Figure 3.** The chromatograms of 25 batches of Duliang formula were monitored at 270nm.

**CONCLUSION**

Based on the network pharmacology, this study revealed that the DHF for anti-migraine activity functions via regulating multiple targets and pathways in the pathological genesis and progression of migraine. In the pathophysiological pathways of migraine, the most active components

of DHF, such as imperatorin, senkyunolide I, senkyunolide A, phellopterin, byakangelicol, cnidilin, ferulic acid, senkyunone, and wallichilide, byakangelicol, ligustilide, isoimperatorin, oxypeucedanin, and oxypeucedanin hydrate, was expressed in various associations. Additionally, in combination with experiments of

chemical analysis using a LC-DAD-MS/MS approach, the chemical profile of DHF was identified, which proposes nine quality markers of DHF. In summary, this study will bring a clearer basis for more in-depth research, for an increase in the quality, and a more widespread clinical application of DHF for migraine.

### REFERENCES

1. M Ashina, JM Hansen, TP Do, A Melo-Carrillo, R Burstein, MA Moskowitz. Migraine and the trigeminovascular system - 40 years and counting. *The Lancet Neurology*. 2019; 18:795-804.
2. M Arnold. Headache classification committee of the international headache society (IHS) the international classification of headache disorders. *Cephalalgia*. 2018; 38:1-211.
3. U. Reuter. GBD 2016: Still no improvement in the burden of migraine. *The Lancet Neurology*. 2018; 17:929-930.
4. S Yu, Y Hu, Q Wan, J Zhou, X Liu, X Qiao, X Yang, J Feng, K Chen, X Pan. A multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial to evaluate the efficacy and safety of duliang soft capsule in patients with chronic daily headache. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*. 2015.
5. AL Hopkins. Network pharmacology. *Nature biotechnology*. 2007; 25:1110-1111.
6. G Zhang, Q Li, Q Chen, S Su. Network Pharmacology: A New Approach for Chinese Herbal Medicine Research. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013:621423.
7. A Balekundri, V Mannur. Quality control of the traditional herbs and herbal products: A review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020; 6:1-9.
8. CD Thanh, CV Men, HM Kim, JS Kang. Network Pharmacology-Based Investigation on Therapeutic Mechanisms of the Angelica dahurica Radix and Ligusticum chuanxiong Rhizoma Herb Pair for Anti-Migraine Effect. *Plants*. 2022; 11:2196.
9. FY Gao, HY Chen, YS Luo, JK Chen, L Yan, JB Zhu, GR Fan, TT Zhou. "Q-markers targeted screening" strategy for comprehensive qualitative and quantitative analysis in fingerprints of Angelica dahurica with chemometric methods. *Food Chemistry*. 12 (2021) 100162.
10. H Yan, Y Zhou, F Tang, C Wang, J Wu, C Hu, X Xie, C Peng, Y Tan. A comprehensive investigation on the chemical diversity and efficacy of different parts of Ligusticum chuanxiong. *Food Function*. 2022; 13:1092-1107.

## THỂ LỆ GỬI BÀI ĐĂNG TRONG TẠP CHÍ Y - DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

Tạp chí Y - Dược học quân sự xuất bản 9 số/năm, đăng tải các công trình nghiên cứu, các bài tổng quan về y dược học quân sự, y sinh học và y xã hội học, những thông tin Y - Dược học trong nước và quốc tế, thông tin về nghiên cứu và đào tạo.

### I. Một số yêu cầu về bài đăng công trình nghiên cứu khoa học.

1. Bài gửi đăng công trình nghiên cứu khoa học chưa đăng ở bất kỳ tạp chí quốc gia nào.
2. Các thuật ngữ thống nhất theo từ điển Bách khoa Việt Nam.
3. Bài gửi đăng đánh máy bằng tiếng Việt, rõ ràng, cách dòng, một bài không dài quá 7 trang khổ A4, kể cả bảng biểu và tài liệu tham khảo. Các danh từ tiếng Việt nếu dịch từ tiếng nước ngoài viết kèm theo tiếng nước ngoài. Các chữ viết tắt phải có chú thích các từ gốc của các chữ viết tắt.

#### 4. Trình tự các mục trong bài:

- a) Đầu đề.
- b) Họ và tên tác giả: Không ghi học hàm, học vị, chức danh. Có ghi chú đơn vị công tác của từng tác giả ở cuối trang thứ nhất bài báo.

#### c) Nội dung:

Tóm tắt tiếng Việt và tiếng Anh, bao gồm mục tiêu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu, kết quả và kết luận (khoảng 250 từ). Ghi từ khóa tiếng Việt và tiếng Anh.

Đặt vấn đề: bao gồm cả phần mục tiêu nghiên cứu.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu và bàn luận.

Kết luận.

Tài liệu tham khảo.

Chỉ sử dụng những bảng, biểu, hình ảnh cần thiết và phải có chú thích rõ. Mỗi bài viết không quá 5 hình. Cuối bài phải nêu rõ xuất xứ của công trình, làm tại đâu, thời gian.

Tài liệu tham khảo (không quá 10 tài liệu và phải mang tính cập nhật) sắp xếp theo thứ tự xuất hiện trong bài báo. Tài liệu tham khảo ghi theo thứ tự sau: Họ tên tác giả, tên cuốn sách (bài báo), tên tạp chí, năm xuất bản, tập, số và trang tài liệu tham khảo  
Dùng font Unicode.

#### 5. Mỗi tác giả đứng tên đầu của bài báo chỉ được đăng tối đa một bài trong một số.

#### 6. Bài gửi đăng không trả lại bản thảo.

7. Cuối mỗi bài báo, tác giả ghi số điện thoại cá nhân và địa chỉ email của người chịu trách nhiệm chính.

### II. Đối với các bài tổng quan, thông tin, bài dịch.

- Đối với các bài tổng quan cần có đầy đủ các tài liệu tham khảo và nguồn số liệu đã được trích dẫn trong bài. Tác giả bài tổng quan ghi rõ chức danh, học hàm, học vị, chuyên ngành, cơ quan và hội chuyên khoa ở phần ghi chú cuối trang đầu tiên của bài tổng quan. Bài tổng quan cũng được đánh máy trên khổ A4 và không dài quá 7 trang kể cả biểu bảng và tài liệu tham khảo.

- Các thông tin, bài dịch cần ghi rõ xuất xứ của nguồn dữ liệu. Đối với bài dịch cần chụp toàn văn bài báo tiếng nước ngoài gửi kèm theo bản dịch.

### \* BÀI VIẾT XIN GỬI VỀ TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - HỌC VIỆN QUÂN Y

SỐ 160 ĐƯỜNG PHÙNG HƯNG, HÀ ĐÔNG - HÀ NỘI

ĐIỆN THOẠI: 069. 566. 250 HẠC GỬI THEO ĐỊA CHỈ EMAIL: [tcydhqs@vmmu.edu.vn](mailto:tcydhqs@vmmu.edu.vn)

