

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

BỘ Y TẾ

NGUYỄN THANH TUẤN

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU HÒA
LIPID MÁU CỦA VIÊN NANG CỨNG
NGƯỜI TẮT - ĐAN SÂM - TAM THẤT
TRÊN THỰC NGHIỆM

Ngành: YHCT

Mã số: 62720201

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. HỒ CHÍ MINH, Năm 2024

Công trình được hoàn thành tại:

Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Thị Sơn

PGS.TS. Trần Kim Trang

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường họp tại Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp
- Thư viện Đại học

GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Rối loạn lipid máu là một trong những yếu tố nguy cơ chính của bệnh tim mạch do xơ vữa. Bệnh tim mạch do xơ vữa hiện đang là nhóm bệnh chiếm tỷ lệ cao nhất và là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong trên thế giới. Điều trị rối loạn lipid máu có giá trị quan trọng, góp phần làm giảm các biến cố tim mạch. Xu hướng sử dụng thuốc điều trị rối loạn lipid máu hiện nay là hướng về thuốc có nguồn gốc tự nhiên vì: Phù hợp với quy luật sinh lý của cơ thể, hiệu quả và ít tác dụng phụ so với thuốc hóa học tổng hợp. Rối loạn lipid máu thuộc phạm vi chứng chứng đàm thấp theo lý luận Y học cổ truyền và thuốc hóa đàm trừ thấp, hoạt huyết hoá ứ không những cải thiện được triệu chứng lâm sàng mà còn hiệu quả trong điều hòa rối loạn lipid máu. Ngưu tất, Đan sâm, Tam thất là những dược liệu có tác dụng hoạt huyết hóa ứ, thông kinh mạch, bổ can thận trong Y học cổ truyền. Theo kết quả nghiên cứu dược lý, cả 3 dược liệu đều có tác dụng hạ lipid máu, cải thiện được diễn tiến sinh xơ vữa động mạch. Ngoài ra, còn có tác dụng bảo vệ gan, tăng cường miễn dịch cơ thể và ít tác dụng phụ. Với mong muốn tạo ra một chế phẩm có được tác dụng hạ lipid máu hiệu quả, an toàn và tiện dụng, đồng thời thỏa được yêu cầu từ cơ chế tác dụng theo Y học hiện đại đến lý pháp biện chứng theo Y học cổ truyền. Nghiên cứu kết hợp 3 dược liệu kể trên thành công thức thuốc, bào chế dưới dạng viên nang cứng và được đặt tên là “Viên nang cứng Ngưu tất - Đan sâm - Tam thất”, gọi tắt là viên MIX (viên kết hợp). Từ lý do và tính cần thiết trên, đề tài: *“Nghiên cứu tác dụng điều hòa lipid máu của viên nang cứng Ngưu tất - Đan sâm - Tam thất trên thực nghiệm”* được thực hiện với các mục tiêu sau cụ thể sau:

- Bào chế và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở viên MIX.
- Đánh giá tính an toàn của viên MIX trên chuột nhắt trắng.
- Khảo sát tác dụng điều hòa lipid máu của viên MIX trên chuột nhắt trắng.
- Khảo sát tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase của viên MIX *in vitro* và *in vivo*.

Những đóng góp mới của nghiên cứu về mặt lý thuyết và thực tiễn

- Bào chế và tiêu chuẩn hóa viên nang cứng kết hợp Ngưu tất - Đan sâm
- Tam thất trong đó có định lượng các hoạt chất acid oleanolic, acid salvianolic B và ginsenosid Rg1 bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Kết quả góp phần tạo chế phẩm tiện dụng và hiện đại hóa thuốc Y học cổ truyền, từng bước nâng cao vị thế của thuốc Y học cổ truyền trong phòng và điều trị rối loạn lipid máu.
- Chứng minh trên thực nghiệm tính an toàn và hiệu quả của viên MIX trong điều hòa lipid máu. Đây là cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo trên lâm sàng.
- Bước đầu xác định cơ chế điều hòa lipid máu của viên MIX thông qua tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase trên thực nghiệm.

Bố cục luận án

Luận án gồm 130 trang: Đặt vấn đề 2 trang, tổng quan tài liệu 34 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 21 trang, kết quả 33 trang, bàn luận 38 trang, kết luận 1 trang, kiến nghị 1 trang, danh mục các công trình nghiên cứu 1 trang, tài liệu tham khảo 18 trang. Luận án có 53 bảng, 22 hình, 12 biểu đồ, 167 tài liệu tham khảo.

1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Rối loạn lipid máu trong Y học hiện đại

- Chẩn đoán rối loạn lipid máu

RLLM thường không có triệu chứng lâm sàng, nhưng có thể được phát hiện bằng xét nghiệm đo nồng độ các thành phần lipid máu. Chẩn đoán xác định khi có một trong các tiêu chuẩn cận lâm sàng sau: TC trên 200 mg/dL; HDL-C dưới 40 mg/dL đối với nam và dưới 50 mg/dL đối với nữ; LDL-C trên 100 mg/dL; TG trên 150 mg/dL.

- Điều trị rối loạn lipid máu bằng thuốc hóa học tổng hợp

Theo hướng dẫn của ESC/EAS (2019), ACC/AHA (2020), các nhóm thuốc điều trị RLLM: Nhóm statin tác dụng giảm LDL-C 20 - 60%, TG 10 - 33%, tăng HDL-C 5 - 10%. Nhóm fibrat: Fenofibrat giảm TG 41 - 53%, LDL-C 6 - 20%, tăng HDL-C 5 - 20%; Gemfibrozil giảm TG 35 - 50%, LDL-C 10 - 15%, tăng HDL-C 5 - 20%. Nhóm các chất resin kết hợp acid mật giảm LDL-C 15 - 30%, tăng TG, HDL-C. Nhóm acid nicotinic giảm LDL-C 10 - 25%, TG 25 -30%, tăng HDL-C 15-35%. Nhóm ức chế hấp thu cholesterol giảm LDL-C 15 - 22%. Nhóm PCSK9 giảm LDL-C 50 - 70%.

1.2. Rối loạn lipid máu theo lý luận YHCT

RLLM là danh từ bệnh học Y học hiện đại (YHHĐ), nhưng từ nguyên nhân gây bệnh, triệu chứng lâm sàng và phương pháp điều trị, nhận thấy có nhiều điểm tương đồng với chứng đàm thấp theo lý luận Y học cổ truyền (YHCT).

- Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh chứng đàm thấp

Do tiên thiên bất túc, ẩm thực thất điều, bệnh lâu ngày hoặc yếu tố tinh thần làm cho công năng các tạng phủ rối loạn hư suy mà sinh ra đàm thấp. Đàm thấp sau khi hình thành theo khí phân bố khắp nơi trong

cơ thể làm cho kinh lạc bế tắc, huyết mạch không thông, mạch lạc ứ trệ làm ảnh hưởng đến sự vận hành khí huyết mà sinh ra bệnh.

- Điều trị chứng đàm thấp bằng thuốc YHCT

Thể tỳ hư đàm thấp: Bài thuốc Bán hạ bạch truật thiên ma thang.
 Thể tỳ thận dương hư: Bài thuốc Hữu quy hoàn. Thể can thận âm hư: Bài thuốc Kỷ cúc địa hoàng thang. Thể can uất tỳ hư: Bài thuốc Tiêu dao tán.
 Thể thấp nhiệt nội kết: Bài thuốc Tứ linh tán kết hợp Lục nhát tán. Khí trệ huyết ứ: Bài thuốc Huyết phủ trục ứ thang.

1.3. Phương pháp nghiên cứu tác động của thuốc trên chuyển hóa lipid

Các phương pháp đánh giá tác động của thuốc trên chuyển hóa lipid như sử dụng chế độ ăn giàu lipid hay tiêm chất diện hoạt (tyloxapol, poloxamer- 407 hoặc tween -80) hiện vẫn đang được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu. Bên cạnh đó, các phương pháp đánh giá tác động của thuốc ở mức độ phân tử tế bào như: HMG-CoA reductase, LPL, LDL-R, PCSK9, LXRs..., ngày càng được quan tâm.

1.4. Giới thiệu về viên MIX

- Thành phần dược liệu trong viên MIX

Ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume) 50%, Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 30%, Tam thất [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H.Chen] 20%.

- Cơ sở kết hợp dược liệu trong viên MIX

Dựa trên đặc tính về tác dụng dược lý hạ lipid máu của từng dược liệu và lý luận phối ngũ theo YHCT, với mục đích làm tăng tác dụng điều trị thông qua cơ chế tác dụng hiệp đồng để giảm liều từng dược liệu và hạn chế những tác dụng phụ không mong muốn. Theo kết quả nghiên cứu dược lý, cả 3 dược liệu đều có tác dụng hạ lipid máu, cải thiện được diễn tiến sinh xơ vữa động mạch. Bên cạnh đó, còn có tác dụng bảo vệ

tế bào gan, tế bào cơ tim, tế bào thần kinh, tăng miễn dịch cơ thể và ít tác dụng phụ. Các hợp chất saponin, polysaccharid (Ngưu tất); Diterpen, acid phenolic (Đan sâm); Saponin, polysaccharid (Tam thất) có tác động đến các yếu tố điều hòa chuyển hóa lipid như: ACAT, HMG-CoA reductase, LDL-R, CEPT, LPL, CYP7A1, PPPA- α , LXR- α và một số yếu tố khác. Hoạt chất acid oleanolic Ngưu tất có tác dụng ức chế hoạt động ACAT làm giảm hấp thu cholesterol từ ruột, giảm tổng hợp acetoacetyl- coA làm giảm tổng hợp cholesterol nội sinh, do đó làm giảm cholesterol máu. Acid oleanolic ức chế LXR- α làm giảm hấp thu cholesterol ở ruột, tăng cường vận chuyển cholesterol dư thừa từ ngoại biên về lại gan, tăng chuyển hóa cholesterol thành acid mật và tăng bài tiết mật, làm giảm cholesterol máu. Hoạt chất dihydrotanshinon I Đan sâm có tác dụng ức chế CETP làm giảm TC, LDL-C, TG, tăng HDL-C. Hoạt chất ginsenosid Rg1 từ Tam thất có tác dụng làm tăng hoạt tính PPAR- α . Saponin chiết xuất từ Tam thất có tác dụng làm giảm hoạt tính HMG-CoA reductase ở gan làm giảm tổng hợp cholesterol và tăng LDL-R ở màng tế bào gan, làm tăng hấp thu LDL-C vào gan, do đó làm giảm nồng độ cholesterol máu. Như vậy, khi kết hợp Ngưu tất - Đan sâm - Tam thất sẽ tạo thành một thuốc mới thể hiện tính năng đa thành phần, đa mục tiêu trên chuyển hóa lipid.

YHCT ít khi sử dụng độc vị, mà thường kết hợp nhiều vị thuốc thành bài thuốc/công thức thuốc. Lý luận phối ngũ trong bài thuốc theo Quân, Thần, Tá, Sứ với mục đích tăng cường tác dụng có lợi và khắc chế những tác dụng không mong muốn của từng vị thuốc. Ngoài ra, còn tạo cho bài thuốc một đặc tính như hài hòa về hàn, nhiệt, ôn, lương phù hợp với bệnh cảnh lâm sàng và từng cơ địa người bệnh. Có thể biện giải vai trò của từng vị thuốc trong viên MIX như sau (Bảng 1.1).

Bảng 1.1. Sự phối ngũ các vị thuốc trong viên MIX

Vị thuốc	Tính vị	Tác dụng dược lý YHCT	Vai trò
Ngưu tất	Bình	Hoạt huyết thông kinh, bổ can thận.	Quân
Đan sâm	Hàn	Hoạt huyết thông kinh, thanh tâm lương huyết.	Thần
Tam thất	Ôn	Tán huyết, chỉ huyết, tiêu sưng giảm đau.	Tá

Dựa vào tác dụng theo YHCT của Ngưu tất, Đan sâm, Tam thất, khi kết hợp có thể suy luận tác dụng chung của viên MIX: Hoạt huyết hóa ứ, thông kinh mạch, bổ can thận và tính bình. RLLM thuộc phạm vi chứng đàm thấp theo YHCT. Thuốc hoạt huyết hóa ứ làm cho khí huyết lưu thông, kinh mạch thông thoáng, sẽ cải thiện được triệu chứng lâm sàng và góp phần giải quyết nguyên nhân sinh đàm.

Như vậy, trên phương diện lý thuyết cơ chế tác dụng điều hòa lipid máu của viên MIX: (1) theo YHHĐ: Giảm tổng hợp cholesterol, giảm hấp thu cholesterol và tăng chuyển hóa và bài tiết cholesterol;

(2) theo YHCT: Hoạt huyết hóa ứ, thông kinh mạch và bổ can thận.

Nghiên cứu tiền đề trên chuột nhắt trắng gây mô hình tăng cholesterol máu ngoại sinh, cao kết hợp Ngưu tất 50% - Đan sâm 30% - Tam thất 20% với liều uống 20 g dược liệu/kg/ngày/4 tuần, kết quả: Nhóm dùng cao kết hợp hiệu quả làm giảm cholesterol máu tương đương so với nhóm đối chứng dùng cao Ngưu tất, cao Đan sâm, cao Tam thất và lovastatin 20 mg/kg. Khi tăng liều gấp đôi (40 g/kg/ngày) thì hiệu quả giảm cholesterol máu chỉ tăng thêm khoảng 6%.

Từ kết quả nghiên cứu tiền đề cho thấy kết hợp Ngưu tất 50% - Đan sâm 30% - Tam thất 20% có thể là một công thức kết hợp hoàn chỉnh.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Nguyên liệu nghiên cứu: Dược liệu Ngưu tất, Đan sâm, Tam thất khô đạt tiêu chuẩn chất lượng được cung cấp bởi Công ty cổ phần Dược phẩm Lâm Đồng (LADOPHAR); Viên nang cứng Ngưu tất - Đan sâm - Tam (viên MIX) được bào chế tại LADOPHAR. Số lô: 021218NC. Ngày sản xuất: 02/12/2018. Thành phần một viên gồm 350 mg cao khô MIX và tá dược vừa đủ 430 mg.

- Động vật nghiên cứu: Chuột nhắt trắng đực (*Swiss albino*, 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng $22 \text{ g} \pm 2 \text{ g}$).

2.2. Trang thiết bị và hóa chất

Trang thiết bị, thuốc thử, dung môi, hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đạt tiêu chuẩn.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Bào chế và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở viên MIX

- Bào chế viên MIX theo quy trình chung về điều chế thuốc viên từ dược liệu theo ĐĐVN V.

- Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở viên MIX theo tiêu chí, tiêu chuẩn chung thuốc viên từ dược liệu theo ĐĐVN V.

Cảm quan: Viên nang số 0, màu cam, bên trong chứa cốm màu nâu, khô, đồng đều về hình dạng và màu sắc

Độ ẩm: Không quá 9,0%; Độ đồng đều khối lượng: $\pm 7,5 \%$ so với khối lượng trung bình viên; Độ rã: Không quá 30 phút.

Định tính: Bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, thể hiện phép thử định tính của acid oleanolic, acid salvianolic B và ginsenosid Rg1. Quan sát dưới ánh sáng thường trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với vết của chuẩn dung dịch đối chiếu.

Định lượng: Bằng phương pháp HPLC, hàm lượng acid oleanolic trong 1 g chế phẩm không dưới 1 mg tính theo chế phẩm khô kiệt, acid salvianolic B trong 1 g chế phẩm không dưới 1 mg tính theo chế phẩm khô kiệt và ginsenosid Rg1 trong 1 g chế phẩm không dưới 1 mg tính theo chế phẩm khô kiệt.

Độ nhiễm khuẩn: Phải đạt yêu cầu theo DĐVN V.

Đánh giá độ ổn định của viên MIX: Sau 6 tháng bảo quản ở nhiệt độ lão hóa cấp tốc và sau 24 tháng bảo quản ở nhiệt độ thường.

2.3.2. Đánh giá tính an toàn của viên MIX trên chuột nhắt trắng

Thực hiện theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới về thuốc có nguồn gốc từ thảo dược; Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu của Bộ Y tế.

- Độc tính cấp bằng đường uống: Chuột được chia nhiều lô, mỗi lô 10 con. Chuột cùng một lô sẽ nhận cùng một liều thuốc. Đánh giá dựa trên phản ứng toàn ứng hay bất ứng nhận thấy ở mỗi chuột trong nhóm sau 72 giờ, tiếp tục theo dõi sau 14 ngày để ghi nhận những bất thường (nếu có). Liều LD₅₀ được tính theo công thức Behrens - Karber.

- Độc tính bán trường diễn: Chuột chia 2 lô, lô chứng uống nước cất (CSL), lô thử uống viên MIX liều 4 viên/kg/ngày trong 2 tháng. Thời điểm xét nghiệm: Trước thử nghiệm, sau 1 tháng và sau 2 tháng; Xét nghiệm đại thể gan, tim, thận được tiến hành khi kết thúc thử nghiệm.

2.3.3. Khảo sát tác dụng điều hòa lipid máu của viên MIX trên chuột nhắt trắng

- Trên mô hình gây RLLM nội sinh cấp bằng tyloxapol kết hợp với phác đồ dự phòng: Lô thử uống viên MIX liều 1 viên (M1) và 2 viên (M2)/kg/ngày, lô đối chứng uống atorvastatin liều 60 mg (AT60)/kg/ngày trong 7 ngày. Ngày thứ 7 tiêm tĩnh mạch tyloxapol liều

duy nhất 250 mg/kg. 24 giờ sau khi tiêm tyloxapol lấy máu tĩnh mạch định lượng nồng độ các thành phần lipid.

Bảng 2.1. Bố trí thử nghiệm khảo sát tác dụng điều hòa lipid máu của viên MIX trên mô hình gây RLLM nội sinh

Nhóm	Lô (n = 10)	Mẫu thử uống
Sinh lý (tyloxapol -)	Lô 1 (chứng sinh lý)	Nước cất
	Lô 2 (thử)	M2
Bệnh lý (tyloxapol +)	Lô 3 (chứng bệnh lý)	Nước cất
	Lô 4 (thử 1)	M1
	Lô 5 (thử 2)	M2
	Lô 6 (đối chứng)	AT60

- Trên mô hình gây RLLM ngoại sinh bằng chế độ ăn giàu lipid với phát đồ dự phòng: Nhóm bệnh lý uống dung dịch giàu lipid (cholesterol 25 mg, acid cholic 1%, dầu dừa vừa đủ 10 mL), liều 10 mL/kg/ngày lúc 8 - 9 giờ sáng. Lúc 15 -16 giờ chiều uống thuốc thử viên MIX liều 1 và 2 viên/kg/ngày, thuốc đối chứng atorvastatin 10 mg (AT10)/kg/ngày trong 6 tuần.

Bảng 2.2. Bố trí thử nghiệm khảo sát tác dụng điều hòa lipid máu trên mô hình gây RLLM ngoại sinh

Nhóm	Lô (n = 7)	Mẫu thử uống
Sinh lý (cholesterol -)	Lô 1 (chứng sinh lý)	Nước cất
	Lô 2 (chứng bệnh lý)	Nước cất
Bệnh lý (cholesterol +)	Lô 3 (thử 1)	M1
	Lô 4 (thử 2)	M2
	Lô 5 (đối chứng)	AT10

Kết thúc thời gian thử nghiệm tiến hành lấy máu tĩnh mạch đuôi chuột để định lượng nồng độ TC, HDL-C, LDL-C và TG máu.

2.3.4. Khảo sát tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase của viên MIX *in vitro* và *in vivo*

- Phương pháp tạo dịch đồng thể enzyme từ gan chuột nhắt trắng bình thường: Chuột được cho nhịn đói 24 giờ trước khi bắt đầu thử nghiệm, tiến hành mổ tách gan, làm sạch máu và dịch trong gan bằng dung dịch NaCl 0,9 %, cho vào dung dịch sucrose 0,25 M lạnh (0 - 4 °C). Đưa mô gan đã xác định khối lượng vào ống thủy tinh, bổ sung dung dịch sucrose 0,25 M lạnh (4 mL/g mô gan). Đồng thể hóa mẫu mô trong 1 phút (khoảng 20 giây/lần, sau đó ngưng 10 giây để tránh enzyme bị mất hoạt tính bởi nhiệt, lặp lại 3 lần). Ly tâm dịch đồng thể lần một ở 0 °C trong 15 phút với lực ly tâm 5000 G/phút, bỏ cặn, thu dịch. Bổ sung 0,1 mL dung dịch CaCl₂ 88 mM trên mỗi mL dịch thu được, lắc đều, để ổn định trong 5 phút ở 0 - 4 °C. Ly tâm lần thứ 2 ở 0 °C trong 35 phút với lực ly tâm 13500 G/phút, bỏ dịch thu cặn. Hòa tan cặn trong dung dịch bảo quản enzyme. Cặn được đồng thể hóa (20 giây), thu được dịch mô đồng thể, bảo quản ở 0 - 4 °C.

- Phương pháp tạo dịch đồng thể enzyme từ gan chuột nhắt trắng gây RLLM nội sinh bằng tyloxapol: Thực hiện mô hình gây RLLM nội sinh cấp bằng tyloxapol theo (mục 2.3.3). 24 giờ sau khi tiêm tyloxapol tiến hành mổ tách gan tạo dịch đồng thể enzyme theo phương pháp tạo dịch đồng thể enzyme từ gan chuột nhắt trắng bình thường.

Bảng 2.3. Bố trí thử nghiệm định lượng hoạt tính

HMG-CoA reductase *in vitro*

Thành phần	Mẫu trắng	Mẫu chứng	Atorvastatin	Viên MIX
NADPH 5 mM (μL)	30	30	30	30
HMG-CoA 1 mM (μL)	30	30	30	30

Dithioreitol 1 mM (μL)	10	10	10	10
Atorvastatin (μL)	-	-	50	-
Viên MIX (μL)	-	-	-	50
Dịch đồng thể enzyme gan chuột bình thường (mg)	-	1	1	1
Đệm định lượng (μL)	Vừa đủ 1000			

Đệm định lượng (Tris HCl 0,1M; EDTA 1 mM; NaCl 75 mM).

Bảng 2.4. Bố trí thử nghiệm định lượng hoạt tính

HMG-CoA reductase *in vivo*

Thành phần	Mẫu trắng	Mẫu thử
NADPH 5 mM (μL)	30	30
HMG-CoA 1 mM (μL)	30	30
Dithioreitol 1 mM (μL)	10	10
Dịch đồng thể enzyme gan chuột gây RLLM bằng tyloxapol (mg)	-	1
Đệm định lượng (μL)	Vừa đủ 1000	

Đệm định lượng (Tris HCl 0,1M; EDTA 1 mM; NaCl 75 mM).

Cho hỗn hợp vào trong ống nghiệm, trộn đều, ủ ở nhiệt độ 37 °C và đo độ hấp thu ở bước sóng 340 nm bằng máy đo quang UV - Vis Unicam sau 5 phút phản ứng. Hoạt tính ức chế enzyme thể hiện thông qua độ giảm lượng NADPH sau 5 phút, so sánh sự khác biệt đối với các lô thử nghiệm.

$$\Delta OD = OD_{5 \text{ phút}} - OD_{0 \text{ phút}}$$

$$\% \text{ ức chế enzyme} = [(\Delta OD \text{ chứng} - \Delta OD \text{ thử}) / \Delta OD \text{ chứng}] \times 100$$

2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Phòng thí nghiệm Y dược cổ truyền - Khoa YHCT - Đại học Y dược Tp. HCM; Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. HCM; Công ty

LADOPHAR; Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Chợ Rẫy Tp. HCM.

Thời gian nghiên cứu: 10/2017 - 10/2021.

2.5. Phương pháp thống kê, xử lý số liệu

Các số liệu được biểu thị bằng: $M \pm SEM$, xử lý thống kê phép kiểm One-Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student-Newman-Keuls test (Sigma Stat 3.5, USA). Kết quả đạt ý nghĩa thống kê khi $P < 0,05$.

3. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả bào chế và tiêu chuẩn cơ sở viên MIX

Bảng 3.1. Kết quả bào chế viên MIX

Thành phần	1 viên
Cao khô MIX	350 mg
Tá dược (colloidal silicon dioxide, lactose 200 mesh, tricalciphosphat, magnesi carbonat, ethanol 96%).	80 mg
Tổng	430 mg

Bảng 3.2. Kết quả kiểm nghiệm tiêu chuẩn cơ sở viên MIX

Chỉ tiêu	Mức chất lượng	Kết quả
Cảm quan	Viên nang số 0, màu cam, bên trong chứa cốm màu nâu, vị đắng hơi chát, mùi thơm đặc trưng của dược liệu.	Đúng
Độ ẩm	$< 9,0 \%$	6,95% (đạt)
Định tính (Phương pháp sắc ký lớp mỏng)	Thể hiện phép thử định tính acid oleanolic, acid salvianolic B và ginsenosid Rg1	Đúng
Độ rã	< 30 phút	Đạt
Độ đồng đều khối lượng	$\pm 7,5\%$ so khối lượng TB viên	Đạt

Định lượng (Phương pháp HPLC)	Acid oleanolic > 1 mg/g tính theo chế phẩm khô kiệt	4,47 mg/g (đạt)
	Acid salvianolic B > 1 mg/g tính theo chế phẩm khô kiệt.	4,01 mg/g (đạt)
	Ginsenosid Rg1 > 1 mg/g tính theo chế phẩm khô kiệt.	1,50 mg/g (đạt)
Độ nhiễm khuẩn		
Tổng số vi khuẩn hiếu khí	< 10 ⁴ CFU/g	Đạt
Tổng số bào tử nấm, mốc	< 10 ² CFU/g	Đạt
Tổng số <i>Enterobacteria</i>	< 10 ² CFU/g	Đạt
<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Không được có	Đạt

Độ ổn định của viên MIX: Sau 6 tháng bảo quản ở nhiệt độ lão hóa cấp tốc và sau 24 tháng bảo quản ở nhiệt độ thường, viên MIX vẫn giữ nguyên tình trạng ban đầu về các tiêu chí cảm quan, định tính, độ ẩm, độ rã, định lượng acid oleanolic, acid salvianolic B và ginsenosid Rg1 (thay đổi trong giới hạn cho phép). Như vậy, xác định tuổi thọ của viên MIX là 24 tháng và đề nghị hạn sử dụng là 24 tháng.

3.2. Kết quả tính an toàn của viên MIX

3.2.1. Kết quả độc tính cấp

- Với liều 32 viên/kg thể trọng là liều cao nhất có thể bơm qua kim mà không làm chết chuột, còn gọi là D_{max}. Theo dõi 14 ngày, tất cả các chuột đều ăn uống và sinh hoạt bình thường, lông mượt, niêm hồng, phân khô. Vì vậy, chưa xác định được LD₅₀ của viên MIX.

3.2.2. Kết quả độc tính bán trường diễn

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của viên MIX đến trọng lượng cơ thể chuột

Lô (n = 10)	Trọng lượng chuột (g)		
	Trước thử nghiệm	Sau 1 tháng	Sau 2 tháng
Chúng	23,1 ± 0,7	35,3 ± 1,3*	30,3 ± 1,2*
Viên MIX	23,7 ± 0,5	37,7 ± 0,7*	41,6 ± 0,8*#

#: $P < 0,05$ so với lô CSL cùng thời điểm; *: $P < 0,05$ so với trước TN

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của viên MIX đến chức năng tạo máu

Chỉ tiêu khảo sát/ Lô (n = 10)		Trước thử nghiệm	Sau 1 tháng	Sau 2 tháng
Hồng cầu ($10^6/\text{mm}^3$)	Chúng	8,5 ± 0,2	10,7 ± 0,3*	9,9 ± 0,2*
	Viên MIX	8,8 ± 0,1	10,3 ± 0,1*	10,1 ± 0,1*
Hemoglobin (g/dL)	Chúng	14,0 ± 0,3	16,6 ± 0,3*	15,0 ± 0,9*
	Viên MIX	14,7 ± 0,2	16,1 ± 0,2*	15,8 ± 0,1*
Hematocrit (%)	Chúng	47,1 ± 1,2	56,8 ± 1,5*	51,6 ± 1,4*
	Viên MIX	50,3 ± 1,0	55,1 ± 0,8*	51,7 ± 0,9*
MCV (fL)	Chúng	55,1 ± 1,0	53,7 ± 1,1	51,3 ± 0,7*
	Viên MIX	56,9 ± 0,9	50,5 ± 3,0*	51,0 ± 0,6*
MCH (pg)	Chúng	16,5 ± 0,5	15,7 ± 0,4	14,8 ± 0,8
	Viên MIX	16,7 ± 0,2	15,6 ± 0,1	15,7 ± 0,1
MCHC (g/dL)	Chúng	35,8 ± 3,9	29,3 ± 0,2	29,0 ± 1,6
	Viên MIX	29,2 ± 0,2	29,2 ± 0,2	30,8 ± 0,4
Bạch cầu ($10^3/\text{mm}^3$)	Chúng	4,3 ± 0,2	6,3 ± 0,3*	7,8 ± 0,6*
	Viên MIX	3,9 ± 0,4	7,5 ± 0,7*	9,3 ± 0,9*

Tiểu cầu ($10^3/\text{mm}^3$)	Chúng	$808,1 \pm 85,0$	$1013,2 \pm 45,5^*$	$1187,4 \pm 105,6^*$
	Viên MIX	$777,7 \pm 83,6$	$1029,4 \pm 103,7^*$	$1268,5 \pm 97,9^*$

*: $P < 0,05$ so với trước TN.

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của viên MIX đến tế bào gan

Chỉ tiêu khảo sát/ Lô (n = 10)		Trước thử nghiệm	Sau 1 tháng	Sau 2 tháng
AST (U/L)	Chúng	$44,0 \pm 1,7$	$42,6 \pm 0,8$	$41,8 \pm 1,2$
	Viên MIX	$44,4 \pm 1,2$	$40,2 \pm 1,7$	$40,7 \pm 2,7$
ALT (U/L)	Chúng	$44,8 \pm 1,0$	$44,1 \pm 2,2$	$44,2 \pm 1,4$
	Viên MIX	$45,4 \pm 1,7$	$45,2 \pm 1,5$	$43,7 \pm 1,6$

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của viên MIX đến chức năng thận

Chỉ tiêu khảo sát/ Lô (n = 10)		Trước thử nghiệm	Sau 1 tháng	Sau 2 tháng
Urea (mg/dL)	Chúng	$47,2 \pm 2,2$	$47,7 \pm 2,2$	$48,3 \pm 0,9$
	Viên MIX	$47,7 \pm 1,7$	$51,7 \pm 1,7$	$50,0 \pm 4,1$
Creatinin (mg/dL)	Chúng	$0,6 \pm 0,0$	$0,66 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,0$
	Viên MIX	$0,62 \pm 0,0$	$0,66 \pm 0,0$	$0,62 \pm 0,0$

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của viên MIX đến trọng lượng tương đối gan, tim, thận

Trọng lượng tương đối của cơ quan (g%)	Lô (n = 10)	
	Chúng	Viên MIX
Gan	$3,7 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,1$
Tim	$0,3 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,0$
Thận	$0,8 \pm 0,0$	$0,8 \pm 0,0$

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của viên MIX đến vi thể gan, tim, thận

Mô	Lô (n = 10)	
	Chứng	Viên MIX
Gan	Viêm gan mạn tính mức độ nhẹ	Viêm gan mạn tính mức độ nhẹ
Tim	Mô tim bình thường	Mô tim bình thường
Thận	Mô thận bình thường	Mô thận bình thường

Như vậy, viên MIX liều 4 viên/kg sau 2 tháng làm tăng trọng lượng cơ thể chuột. Nhưng không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu, không gây tổn thương tế bào gan, không ảnh hưởng đến chức năng thận, trọng lượng và vi thể gan, tim, thận (Bảng 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8).

3.3. Kết quả tác dụng điều hòa lipid máu của viên MIX

Bảng 3.9. Kết quả nồng độ thành phần lipid máu của các lô trên mô hình gây RLLM nội sinh.

Nhóm	Lô (n=10)	TC (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	LDL-C (mg/dL)	TG (mg/dL)
Sinh lý	CSL	88,3	40,2	12,4	90,6
		± 3,8	± 1,0	± 0,5	± 3,9
	M2	87,9	39,5	11,7	94,8
		± 1,8 (↓ 0,5%)	± 1,9 (↓ 1,7%)	± 1,3 (↓ 5,6%)	± 3,3 (↑ 4,6%)
Bệnh lý	CBL	363,0	23,5	31,2	805,0
		± 19,4*	± 1,2*	± 2,0*	± 19,7*
		(↑ 311,1%)	(↓ 41,5%)	(↑ 151,6%)	(↑ 788,5%)
	M1	289,4	26,8	25,8	715,0
		± 15,5*#\$	± 1,3*	± 1,0*#\$	± 12,4*#\$
		(↓ 20,3%)	(↑ 14,0%)	(↓ 17,3%)	(↓ 11,2%)
	M2	212,0	30,4	21,6	655,3

	$\pm 12,0^{*#}$ (↓ 41,6%)	$\pm 2,3^{*#}$ (↑ 29,4%)	$\pm 1,3^{*#}$ (↓ 30,8%)	$\pm 25,9^{*#}$ (↓ 18,6%)
AT60	207,7	34,0	19,8	645,0
	$\pm 10,5^{*#}$ (↓ 42,8%)	$\pm 1,8^{*#}$ (↑ 44,7%)	$\pm 1,3^{*#}$ (↓ 36,5%)	$\pm 22,1^{*#}$ (↓ 19,9%)

*: $P < 0,05$ so với CSL; #: $P < 0,05$ so với CBL; \$: $P < 0,05$ so với ĐC

Trong nhóm bệnh lý (tiêm tyloxapol):

- Lô chứng bệnh lý (uống nước cất) tăng TC 311,1%, LDL-C 151,6%, TG 788,5% và giảm HDL-C 41,5% so với lô chứng sinh lý ($P < 0,05$). Như vậy, có thể sử dụng mô hình này để đánh giá tác dụng điều hòa lipid máu của thuốc nghiên cứu.

- Cả 2 lô thử uống viên MIX liều 1 và 2 viên/kg giảm TC lần lượt là 20,3% và 41,6% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$). Lô đối chứng uống atorvastatin liều 60 mg/kg giảm TC 42,8% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$) (Bảng 3.9).

- Lô thử uống viên MIX liều 2 viên/kg tăng HDL-C 29,4% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$). Lô đối chứng uống atorvastatin liều 60 mg/kg tăng HDL-C 44,7% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$) (Bảng 3.9).

- Cả 2 lô thử uống viên MIX liều 1 và 2 viên/kg giảm LDL-C lần lượt là 17,3% và 30,8% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$). Lô đối chứng uống atorvastatin liều 60 mg/kg giảm LDL-C 36,5% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$) (Bảng 3.9).

- Cả 2 lô thử uống viên MIX liều 1 và 2 viên/kg giảm TG lần lượt là 11,2% và 18,6% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$). Lô đối chứng uống atorvastatin liều 60 mg/kg giảm TG 19,9% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$) (Bảng 3.9).

- Lô thử uống viên MIX liều 2 viên/kg và lô đối chứng uống atorvastatin

liều 60 mg/kg nồng độ các thông số TC, HDL-C, LDL-C và TG không khác biệt nhau.

Như vậy, hiệu quả làm giảm nồng độ TC, LDL-C, TG và tăng HDL-C của viên MIX liều 2 viên/kg tương đương với atorvastatin liều 60 mg/kg.

Bảng 3.10. Kết quả trọng lượng cơ thể chuột của các lô trên mô hình gây RLLM ngoại sinh (g)

Nhóm	Lô (n=7)	T 0	T 1	T 2	T3	T 4	T 5	T 6
Sinh lý	CSL	19,5 ± 0,8	21,7 ± 1,6	24,5 ±3,1	27,2 ± 3,7	27,9 ±3,6	27,6 ± 3,0	28,7 ± 3,2
		20,7 ± 1,0	22,6 ± 3,0	25,6 ±4,6	28,0 ± 5,5	28,9 ± 5,6	27,0 ± 5,1	25,3 ± 5,3
Bệnh lý	M1	19,8 ± 1,5	21,5 ± 1,5	24,2 ±1,9	25,9 ± 1,9	26,7 ± 2,2	28,6 ± 2,3	27,3 ± 2,4
	M2	20,2 ± 1,2	22,6 ± 1,9	26,1 ±1,7	28,4 ± 2,3	29,6 ± 2,6	19,5 ± 3,8	28,0 ± 3,3
	AT10	20,0 ± 1,1	18,1 ±2,3*#	22,2 ±2,6	24,7 ± 2,4	25,2 ± 3,1	24,9 ± 3,0	23,7 ±2,5#

*T: Tuần; *: $P < 0,05$ so với CSL cùng thời điểm khảo sát; #: $P < 0,05$ so với CBL cùng thời điểm khảo sát.*

- Trọng lượng chuột của lô uống atorvastatin ở tuần thứ nhất và tuần thứ 6 khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($P < 0,05$).

- Trọng lượng chuột ở lô chứng bệnh lý không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Như vậy, mô hình gây RLLM ngoại sinh không ảnh hưởng trên trọng lượng chuột (Bảng 3.10).

Bảng 3.11. Kết quả nồng độ thành phần lipid máu của các lô trên mô hình gây RLLM ngoại sinh

Nhóm	Lô (n=7)	TC (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	LDL-C (mg/dL)	TG (mg/dL)
Sinh lý	CSL	82,8 ± 3,4	51,6 ± 4,8	19,5 ± 6,4	58,7 ± 9,1
	CBL	103,9 ± 16,7* (↑ 25,5%)	47,9 ± 8,0 (↓ 7,2%)	41,1 ± 19,3* (↑ 110,8%)	74,5 ± 18,3 (↑ 26,9%)
Bệnh lý	M1	90,9 ± 14,6# (↓ 12,5%)	56,7 ± 13,1 (↑ 18,4%)	17,0 ± 8,6# (↓ 58,6%)	86,0 ± 15,5 (↑ 15,4%)
	M2	85,6 ± 9,0# (↓ 17,6%)	50,1 ± 7,7 (↑ 4,6%)	19,6 ± 8,0# (↓ 52,3%)	79,3 ± 22,3 (↑ 6,4%)
	AT10	79,1 ± 5,7### (↓ 23,8%)	47,9 ± 7,0 (0,0%)	16,5 ± 6,1# (↓ 59,9%)	73,6 ± 19,3 (↓ 1,2%)

*: $P < 0,05$ so với CSL; #: $P < 0,05$ so với CBL; ###: $P < 0,01$ so với CBL

Trong nhóm bệnh lý (uống dung dịch giàu lipid):

- Lô chứng bệnh lý (uống nước cất) tăng TC 25,5%, LDL-C 110,8% so với lô chứng sinh lý ($P < 0,05$). Như vậy, có thể sử dụng mô hình này để đánh giá tác dụng điều hòa lipid máu của thuốc nghiên cứu.
- Cả 2 lô thử uống viên MIX liều 1 và 2 viên/kg giảm TC lần lượt là 12,5% và 17,6% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$). Lô đối chứng uống atorvastatin liều 10 mg/kg giảm TC 23,8% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$) (Bảng 3.11).
- Cả 2 lô thử uống viên MIX liều 1 và 2 viên/kg giảm LDL-C lần lượt là 58,6% và 52,3% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$). Lô đối chứng uống atorvastatin liều 10 mg/kg giảm LDL-C 59,9% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,05$) (Bảng 3.11).
- HDL-C và TG ở lô chứng bệnh lý không khác biệt đạt ý nghĩa thống

kê so với lô chứng sinh lý. Do đó, không đánh giá được sự ảnh hưởng của thuốc thử viên MIX cũng như thuốc đối chứng atorvastatin trên HDL-C và TG trong thử nghiệm này (Bảng 3.11).

Như vậy, hiệu quả làm giảm nồng độ TC, LDL-C máu của viên MIX ở 2 liều thử nghiệm tương đương với atorvastatin liều 10 mg/kg và đưa nồng độ TC, LDL-C về mức bình thường khi so sánh với lô chứng sinh lý.

3.4. Kết quả tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase của viên MIX *in vitro* và *in vivo*

Bảng 3.12. Kết quả nồng độ protein trong hỗn dịch protein gan chuột

Mẫu	Nồng độ protein (g/dL)	Mẫu	Nồng độ protein (g/dL)
1	2,6	6	3
2	2,5	7	2,9
3	3,1	8	2,3
4	3,3	9	3
5	3,2	10	2,6

Nồng độ protein TB: $2,85 \pm 0,105$ g/dL

Nồng độ protein trong các mẫu dịch đồng thể gan là $2,85 \pm 0,105$ g/dL

Bảng 3.13. Kết quả tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase của atorvastatin *in vitro*

Atorvastatin (ng/mL)	ΔOD	% ức chế hoạt tính enzym
0	0,043	0,00
1	0,040	6,98
5	0,035	18,60
10	0,030	30,23
25	0,022	48,84
50	0,016	62,79

100	0,011	74,42
1000	0,003	93,02

Tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase của atorvastatin *in vitro* ở nồng độ 1 ng/mL là 6,98%. Ở nồng độ 1000 ng/mL là 93,02% so với chứng (Bảng 3.13). Từ phương trình hồi quy tuyến tính $y = 31,571x + 3,6599$, $R^2 = 0,9648$ và IC_{50} là 29,36 ng/mL.

Bảng 3.14. Kết quả tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase của viên MIX *in vitro*

Viên MIX ($\mu\text{g/mL}$)	Lần 1 ΔOD	Lần 2 ΔOD	Lần 3 ΔOD	$\Delta\text{OD TB}$	% ức chế
Chứng	0,044	0,048	0,052	0,048	-
8000	0,025	0,028	0,024	0,025	47,91
4000	0,034	0,024	0,032	0,03	37,50
2000	0,028	0,033	0,032	0,031	35,42
1000	0,038	0,027	0,043	0,036	25,00

Viên MIX ở nồng độ cao nhất 8000 $\mu\text{g/mL}$ thể hiện tác dụng ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase *in vitro* tương đương 47,91% (< 50%). Vì vậy, chưa xác định được giá trị IC_{50} của viên MIX.

Bảng 3.15. Kết quả tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase của viên MIX *in vivo*

Nhóm	Lô (n = 12)	$\Delta\text{OD TB}$
Sinh lý	CSL	$0,044 \pm 0,002$
(tyloxapol -)	M2	$0,039 \pm 0,003$ (↓ 12,83%)
Bệnh lý	CBL	$0,090 \pm 0,003$ ** (↑ 103,21%)
(tyloxapol +)	M1	$0,036 \pm 0,005$ ### (↓ 60,17%)
	M2	$0,034 \pm 0,004$ ###* (↓ 62,21%)
	AT60	$0,031 \pm 0,004$ ###* (↓ 65,09%)

*: $P < 0,05$ so với CSL; **: $P < 0,001$ so với CSL; #: $P < 0,05$ so với CBL; ##: $P < 0,001$ so với CBL

Trong nhóm bệnh lý (tiêm tyloxapol):

Lô chứng bệnh lý (uống nước cất) hoạt tính HMG-CoA reductase tăng 103,21% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($P < 0,001$).

Cả 2 lô thử uống viên MIX liều 1 và 2 viên/kg hoạt tính HMG-CoA reductase giảm lần lượt là 60,17% và 62,21% so với lô bệnh lý ($P < 0,001$). Lô uống atorvastatin liều 60 mg/kg hoạt tính HMG-CoA reductase giảm 65,09% so với lô chứng bệnh lý ($P < 0,001$).

Như vậy, viên MIX cả 2 liều đều làm giảm hoạt tính HMG- CoA reductase tương đương với atorvastatin liều 60 mg/kg (Bảng 3.13).

BÀN LUẬN

Xu hướng sử dụng thuốc điều trị RLLM hiện nay là hướng về thuốc có nguồn gốc tự nhiên vì phù hợp với quy luật sinh lý của cơ thể, hiệu quả và ít tác dụng phụ hơn so với thuốc hóa học tổng hợp. Vì vậy, đã thu hút sự quan tâm của các nhà khoa học trong việc tìm hiểu, nghiên cứu và phát triển thuốc mới. Ngưu tất, Đan sâm, Tam thất là những dược liệu cổ truyền được đã sử dụng lâu đời, an toàn và có tác dụng điều hòa lipid máu khi sử dụng riêng lẻ. Tuy nhiên, khi kết hợp theo công thức và bào chế dưới dạng viên, liệu tính an toàn và tác dụng điều hòa lipid máu có thay đổi hay không? Để làm sáng tỏ vấn đề này, việc bào chế và xây dựng tiêu chuẩn chất lượng, đánh giá tính an toàn, khảo sát tác dụng và cơ chế điều hòa lipid máu của viên MIX là cần thiết. Nhằm góp phần công bố giá trị khoa học của chế phẩm này.

Hiệu quả điều hòa lipid máu của viên MIX trên thực nghiệm đã góp phần chứng minh tính ưu việt của sự kết hợp dược liệu để giảm liều dùng, giảm tác dụng phụ mà vẫn duy trì được hiệu quả điều trị. Có thể

hiệu lực giảm lipid máu của viên MIX không bằng thuốc hóa học tổng hợp, nhưng với độ an toàn cao. Hy vọng trong tương lai, viên MIX sẽ là sự lựa chọn thích hợp trên bệnh nhân có nồng độ lipid máu không quá cao, bệnh nhân RLLM có bệnh lý gan, thận đi kèm hoặc có thể kết hợp với thuốc hạ lipid máu hóa học tổng hợp để tăng đạt mục tiêu điều trị và khắc phục tác dụng bất lợi của thuốc kết hợp.

Hiện nay, việc chứng minh cơ chế tác dụng theo YHHĐ là vấn đề khó khăn nhất của một nghiên cứu thuốc YHCT. Tuy nhiên, nghiên cứu đã chứng minh được một phần cơ chế tác dụng điều hòa lipid máu của viên MIX thông qua tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase giống nhóm thuốc statin, góp phần nâng cao vị thế của thuốc YHCT trong phòng và điều trị RLLM.

RLLM thuộc phạm vi chứng đàm thấp trong YHCT. Theo YHCT, viên MIX có tác dụng hoạt huyết hóa ứ, thông kinh mạch, bổ can thận phù hợp với phép trị RLLM theo lý luận YHCT. Kết quả thực nghiệm đã góp phần chứng minh về mối liên quan giữa lý luận YHCT và việc sử dụng thuốc hóa đàm trừ thấp, hoạt huyết hóa ứ trong điều trị RLLM là có cơ sở.

KẾT LUẬN

Qua thời gian nghiên cứu, luận án đã hoàn thành các mục tiêu:

1. Bào chế và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở viên MIX
 - Viên nang cứng Ngưu tất - Đan sâm - Tam (viên MIX) hàm lượng 430 mg (350 mg cao khô dược liệu và tá dược vừa đủ 430 mg).
 - Viên MIX đạt tiêu chuẩn cơ sở, thời gian sử dụng 24 tháng.
2. Đánh giá tính an toàn của viên MIX trên chuột nhắt trắng
 - Viên MIX liều 32 viên/kg không thể hiện độc tính cấp
 - Viên MIX liều 4 viên/kg/ngày trong 2 tháng không thể hiện độc tính bán trường diễn.

3. Khảo sát tác dụng điều hòa lipid máu của viên MIX trên chuột nhắt trắng

- Trên mô hình gây RLLM máu nội sinh bằng tyloxapol: Viên MIX liều 1 viên/kg/ngày trong 7 ngày thể hiện tác dụng giảm TC, LDL-C, TG; Viên MIX liều 2 viên/kg/ngày thể hiện tác dụng giảm TC, LDL-C, TG, tăng HDL-C tương đương với atorvastatin liều 60 mg/kg/ngày.

- Trên mô hình gây RLLM ngoại sinh bằng chế độ ăn giàu lipid: Viên MIX liều 1 và 2 viên/kg/ngày trong 6 tuần đều thể hiện tác dụng giảm TC, LDL-C tương đương với atorvastatin liều 10 mg/kg/ngày.

4. Khảo sát tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase của viên MIX *in vitro* và *in vivo*.

- Viên MIX ở nồng độ 8000 µg/mL chưa thể hiện tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase *in vitro*.

- Viên MIX liều 1 viên và 2 viên/kg/ngày trong 7 ngày đều thể hiện tác động ức chế hoạt tính HMG-CoA reductase tương đương với atorvastatin liều 60 mg/kg/ngày *in vivo*.

KIẾN NGHỊ

Các kết quả đạt được của đề tài là cơ sở khoa học để thực hiện các hướng nghiên cứu tiếp theo, một số kiến nghị như sau:

1. Khảo sát tác dụng điều hòa lipid máu khi kết hợp viên MIX với atorvastatin trên thực nghiệm.
2. Khảo sát tác dụng điều hòa lipid máu khi kết hợp viên MIX với ezetimibe trên thực nghiệm.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyễn Thanh Tuấn, Nguyễn Thị Sơn, Trần Kim Trang. Khảo sát tính an toàn của viên nang cứng Nguu tất - Đan sâm - Tam thất trên thực nghiệm. *Tạp chí Y học Tp. HCM*. 2019; 23(4):250-255.
2. Nguyễn Thanh Tuấn, Nguyễn Thị Sơn, Trần Kim Trang. Tác dụng điều hòa lipid máu của viên nang cứng Nguu tất - Đan sâm - Tam thất trên mô hình gây tăng lipid máu bằng tyloxapol (Triton WR-1339). *Tạp chí Y học Tp. HCM*. 2019; 23(4):256-26