

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ HIỆU LỰC DIỆT HP CỦA BÀI THUỐC D-08 TRONG ĐIỀU TRỊ VIÊM LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG

**LÊ QUANG DŨNG, Viện Y học cổ truyền quân đội
TRỊNH TRỌNG ĐẠT, Khoa khám bệnh – Viện 103;
PHẠM NGỌC HÙNG, Học viện Quân y.**

TÓM TẮT:

Bài thuốc D-08 bao gồm: Nha đam tử, Cam thảo, Bạch thực, Ô tặc cốt, Mâm xôi, Seo gà, Đinh lăng dây và Sa nhân, là những vị thuốc kinh điển trong y học cổ truyền có tác dụng điều trị các chứng bệnh cho hệ tiêu hoá nói chung và viêm loét dạ dày tá tràng nói riêng. Để tăng hiệu quả diệt Hp, chúng tôi đã gia giảm các vị thuốc và tạo thành bài thuốc D-08. Tiến hành thử nghiệm độc tính cấp để đánh giá tính

an toàn, kết quả cho thấy: Xác định độc tính cấp (LD_{50}) trên 60 chuột nhắt trắng dòng Swiss của bài thuốc D-08 Kết quả cho thấy: với liều cao nhất là 100g/kg trọng lượng, không xác định được liều LD_{50} . Liều 100g/kg trọng lượng có dấu hiệu tổn thương trên cơ quan nội tạng động vật. Ở nồng độ 02g/ml (nồng độ pha loãng gấp đôi dạng sắc y học cổ truyền) kết quả diệt Hp 100% ở mẫu 10^8 vi khuẩn/ml.

Từ khoá: Độc tính cấp, Bài thuốc D-08.

EVALUATION OF THE ACUTE TOXICITY AND KILL HP EFFECT OF D-08 DRUG IN THE TREATMENT OF GASTRIC AND DUODENAL ULCER.

SUMMARY

D-08" included Fructus ruceae, Semen Bruceae, Radix Glycyrrhiza, Radix Paconiale Albae, Sepia esculenta Hoyle, Rubus alceaefolius Poir, Pteris multifida Poir, Radix Polyscias fruticosa and Amomum xanthioides. Which is drug used treatment for gastrointestinal disease general and gastric and duodenal ulcer in particular. For increase effectiveness kill Hp, we have to modifying component and creat a D-08 drug. The acute toxicity test was carried out on mice, with the maximum dose of 100 g/kg body weight. The results showed that: there was not acute toxicity and the LD50 was not determined. At a concentration of 02g/ml (double dilute concentration as excellent traditional medicine), 100% Hp was killed in 10⁸ bacteria/ml sample.

Keywords: The acute toxicity, D-08 drug.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Việt Nam có 5-7% dân số mắc bệnh viêm loét dạ dày tá tràng (VLDDTT) chiếm 2% trong các bệnh nội khoa, đứng hàng đầu về các bệnh tiêu hóa [1]. Năm 1983, Barry Marshall và Robin Warren phát hiện vai trò của vi khuẩn Helicobacter pylori (Hp) trong bệnh lý dạ dày tá tràng [2], [3], [4]. Việc sử dụng các kháng sinh diệt Hp là tiền bộ quan trọng trong điều trị bệnh. Vi khuẩn Hp có khả năng kháng thuốc kháng sinh rất nhanh, tỷ lệ từ 5,0% đến 41,6% tùy từng thuốc. Y học cổ truyền (YHCT) mô tả VLDDTT trong phạm trù "vị thống; vị quản thống; bí mãn...". Thất tình làm thương can, hoành nghịch phạm vị, làm vị mất hòa giáng gây ra. Trên cơ sở cơ chế bệnh sinh của VLDDTT theo Y học hiện đại kết hợp với những thành tựu nghiên cứu cập nhật về thuốc thảo mộc theo y lý Y học cổ truyền, đồng thời tận dụng nguồn dược liệu sẵn có tại địa phương, chúng tôi xây dựng bài thuốc D-08, hy vọng góp phần làm phong phú thêm các thuốc điều trị VLDDTT, khắc phục tình trạng quen thuốc, kháng thuốc của vi khuẩn Hp.

Để có thể nghiên cứu, sử dụng chế phẩm "D-08" trên lâm sàng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tính an toàn của bài thuốc trên động vật thực nghiệm, trên Invitro với mục tiêu: **Xác định độc tính cấp và hiệu lực diệt trực khuẩn Hp của thuốc D-08 trên Invitro.**

ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

1.1. Thuốc nghiên cứu: Thuốc sắc D-08 được bào chế từ 8 vị thuốc chế theo công thức

STT	Tên vị thuốc	Hàm lượng
1	Nha đảm tử <i>Fructus ruceae</i> , <i>Semen Bruceae</i>	1 gam
2	Cam Thảo <i>Radix Glycyrrhiza</i>	10 gam
3	Bạch Thược <i>Radix Paconiale Albae</i>	20 gam
4	Ô tặc cốt <i>Sepia esculenta</i> Hoyle	12 gam
5	Mâm xôi <i>Rubus alceaefolius</i> Poir	20 gam
6	Seo gà - <i>Pteris multifida</i> Poir	20 gam
7	Đinh lăng <i>Radix Polyscias fruticosa</i>	20 gam
8	Sa nhân <i>Amomum xanthioides</i> Wall	10 gam

1.2. Động vật nghiên cứu: Chuột nhắt trắng *Mus musculus* trọng lượng 19 ± 1 gam, khoẻ mạnh, không phân biệt giống, bảo đảm các chỉ tiêu sinh lý bình thường do viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp.

1.3. Trực khuẩn Helicobacter Pylori (HP): vi khuẩn HP chủng CCUG17874 do bộ môn Vi sinh vật HVQY cung cấp.

2. Phương pháp nghiên cứu.

2.1 Thử độc tính cấp (LD50) dạng thuốc sắc.

Thực hiện tại khoa Nghiên cứu thực nghiệm viện Y học cổ truyền Quân đội. Dược liệu dạng sắc cổ truyền D-08: Thuốc được cô đặc tới liều đặc nhất với tỷ lệ 4:1 (4g/ml). Pha loãng thành các nồng độ 100%, 80%, 60%, 40%, 20%. Chuột nhắt trắng dòng Swiss, chia thành 6 lô, mỗi lô 10 con, 5 lô thí nghiệm, 1 lô chứng.

Phương pháp tiến hành: cho chuột ở các lô thí nghiệm uống thuốc bằng kim cong đầu tù, đưa thẳng thuốc vào dạ dày, lượng thuốc 0,5ml/liều duy nhất. Thăm dò các liều gây độc trên động vật thí nghiệm. Nhóm đối chứng cho uống nước cất.

Theo dõi liên tục diễn biến của chuột trong 24h đầu, tiếp tục theo dõi các biểu hiện sinh lý trong 48h tiếp theo. Mổ chuột chết ở các lô để tìm hiểu nguyên nhân gây chết và nhận xét đại thể. Sau 72h mổ chuột còn sống ở các lô, nhận xét đại thể.

2.2. Phương pháp thử nghiệm hiệu lực của thuốc dạng sắc cổ truyền với vi khuẩn Helicobacter Pylori trên invitro.

Thực hiện tại khoa Vi sinh vật - Học viện Quân y.

Dược liệu: dạng sắc cổ truyền từ thuốc D-08. Phương pháp tiến hành nghiên cứu gồm các bước sau:

Bước 1, Thuốc dạng nước sắc cao lỏng tỷ lệ 1:1. Hỗn dịch ban đầu này được pha tiếp thành các độ loãng: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512.

Bước 2, Vi khuẩn *Helicobacter pylori* chủng CCUG 17874 được pha trong nước muối sinh lý thành hỗn dịch 10⁸ vi khuẩn/ml, sau đó lại pha loãng tiếp thành các nồng độ 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴, 10³, 10² vi khuẩn/ml.

Bước 3, Trộn hỗn dịch vi khuẩn 10⁸ml với các nồng độ thuốc đã pha loãng ở bước 1 theo tỷ lệ 1:1, ủ ở 37° C trong 2 giờ, sau đó dùng loop định lượng cấy trên thạch Pylori agar.

Các dung dịch có nồng độ vi khuẩn 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴, 10³, 10² vi khuẩn/ml ở bước 2 cũng được cấy trên thạch Pylori agar để tạo thành các đĩa thạch có thuốc tác dụng với vi khuẩn. Tất cả các đĩa thạch trên được đặt trong bình Jar có túi tạo vi hiếu khí *Helicobacter* Agar do hãng Anaerocult C Merck (Germany) cung cấp (85%N₂, 10% CO₂, 5%O₂) ở nhiệt độ 37°C, 48 giờ đọc kết quả.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả nghiên cứu tính an toàn của bài thuốc D-08

Bảng 1: Độ tính cấp của chế phẩm D-08 trên chuột nhắt trắng.

Nhóm	Số chuột thí nghiệm (con)	Liều dùng (g/kg chuột)	Số chuột chết		
			24h	48h	72h
Đối chứng	10	-----	0	0	0
1	10	100	2	1	0
2	10	80	0	0	0
3	10	60	0	0	0
4	10	40	0	0	0
5	10	20	0	0	0

- *Nhận xét:* Với liều 100 g/kg thể trọng (số lượng tối đa chuột có thể uống được) chuột ở các lô đều hoạt động, ăn uống bình thường, không có chuột nào chết trong thời gian 72 giờ theo dõi. Vì chuột không chết cho nên không xác định được LD₅₀.

2. Kết quả nghiên cứu hiệu lực trên Invitro của thuốc D-08 với vi khuẩn *Helicobacter Pylori*.

Bảng 2: Hiệu lực của thuốc với vi khuẩn HP.

Nồng độ thuốc	Nồng độ vi khuẩn mọc tương ứng nồng độ chuẩn							
	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	
Mẫu nguyên (4g/1ml)	-	-	-	-	-	-	-	-
Pha loãng 1/2	-	-	-	-	-	-	-	-
Pha loãng 1/4	-	-	-	+	+	+	+	+
Pha loãng 1/8	-	-	+	+	+	+	+	+
Pha loãng 1/16	+	+	+	+	+	+	+	+

Ghi chú: Nồng độ thuốc ban đầu cho các mẫu thuốc là 10⁸ vi khuẩn/ml.

Nhận xét:

+ Mẫu thuốc ban đầu (4g/1ml) và mẫu pha loãng 1/2 không mọc vi khuẩn (thuốc có hiệu lực ức chế vi khuẩn hoàn toàn).

+ Mẫu thuốc pha loãng 1/4: có vi khuẩn mọc với nồng độ 10⁵ vi khuẩn/ml so với nồng độ chuẩn (giảm 1000 lần so với nồng độ vi khuẩn ban đầu).

+ Mẫu pha loãng 1/8: có vi khuẩn mọc tương ứng với nồng độ vi khuẩn 10⁶ vi khuẩn/ml so với nồng độ chuẩn (giảm 100 lần so với nồng độ vi khuẩn ban đầu).

+ Mẫu pha loãng 1/16 đến 1/256: nồng độ vi khuẩn mọc tương ứng với 10⁸ vi khuẩn/ml (không có khả năng ức chế vi khuẩn)

BÀN LUẬN.

1. Bàn luận về độc tính cấp

Một chất được coi là không độc nếu như LD₅₀ của nó lớn hơn 15g/kg thể trọng. ở đây, với liều 100 g/kg chuột vẫn chưa chết, vì thế chế phẩm D-08 có thể coi như không độc cấp đối với chuột nhắt trắng qua đường tiêu hóa. So sánh với một số thử nghiệm độc cấp tính của các chế phẩm DQNM-08, DQCM-08 trong điều trị đột quy não trước đây thấy các thuốc YHCT nếu sử dụng các liều thông thường đều đảm bảo tính an toàn trong điều trị. Khi thử nghiệm sử dụng liều cao 100g/ kg trọng lượng, có dấu hiệu tổn thương đại thể các tạng: tim, Gan, thận. Tuy nhiên

trên thực tế lâm sàng không dụng liều này (05kg thuốc / BN 50 kg). Dự sao khi sử dụng một số vi thuốc nam cần chú ý theo dõi tình trạng chức năng gan thận trong quá trình điều trị.

2. Bàn luận về hiệu lực diệt Hp của thuốc D-08 trên thực nghiệm

Qua kết quả bảng thống kê 1.2 thấy rõ nồng độ thuốc ban đầu 4g hòa tan trong 1ml nước cất có tác dụng ức chế hoàn toàn vi khuẩn Hp với nồng độ 10⁸ vi khuẩn/ml. Kết quả NC cũng khẳng định hiệu lực diệt Hp ở nồng độ loãng 1/2 của bài thuốc là rất tốt. Các vị Nha đam tử, mâm xôi, seo gà được YHCT Trung Hoa, y học truyền thống Việt Nam sử dụng trên thực nghiệm cũng như lâm sàng đều có tác dụng kháng trực khuẩn ly, ký sinh trùng amib, trùng roi âm đạo rất tốt. Cam thảo, Bạch thực, Đinh lăng, các vị thuốc này trên thực nghiệm cũng như trên lâm sàng đều đã được khẳng định vai trò làm tăng khả năng khả năng kích thích các cơ quan miễn dịch: lách, tủy xương, hạch, tăng khả năng thực bào của đại thực bào; tăng interleukin 2; tăng các tế bào giết tự nhiên (Native killer cells). Ô tặc cốt, mâm xôi, sa nhân, cam thảo tác động sâu sắc đến độ pH dịch vị dạ dày, tăng chức năng bảo vệ niêm mạc dạ dày.

Trên lâm sàng chúng tôi sử dụng thuốc sắc, ban đầu cho 600ml nước sôi, tương ứng 3 bát; sắc còn 200ml, liều này pha loãng gấp đôi vẫn có tác dụng diệt Hp tương đương như kết quả của bảng 1.2 đã chứng minh.

KẾT LUẬN

Bài thuốc D-08 tổ chức dựa theo nghiệm phương, được bào chế dạng sắc theo phương pháp kinh điển của Y học Cổ truyền. Thực hiện nghiên cứu thực nghiệm trên động vật, qua thử nghiệm LD₅₀, chưa phát hiện thấy liều độc cấp của thuốc. Ở nồng độ 02g/ ml (nồng độ pha loãng gấp đôi dạng sắc y học cổ truyền) kết quả diệt Hp 100% ở mẫu 10⁸ vi khuẩn/ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Hòa Bình (2001), *Nghiên cứu chẩn đoán bệnh nhân viêm dạ dày mạn bằng nội soi, mô bệnh học và tỷ lệ nhiễm Hp. Luận văn tiến sỹ y học.* Đại học Y Hà Nội
- Axon ATR (2007), *Relationship between Helicobacter pylori gastritis, gastric cancer and gastric acid secretion.* Advances in medical Sciences 2007. Vol 52. 55-59
- H L Scott, Tymothy L Cover(2006), *Helicobacter pylori Persistence: an Overview of interactions between H. pylori and host immune defences.* Clinical microbiology reviews 2006. American Society for Microbiology 597-613 Vol.19, No. 4.
- Johannes G. Kusters, Arnoud H. M. van Vliet, and Ernst J. Kuipers (2006), *Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection.* Clinical microbiology reviews 2006. American Society for Microbiology 449-490 Vol. 19, No. 3.