

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



LÊ VĂN NAM

SINH GIỚI TỬ C DÔNG CỬI THIÊN TRÝ NHÍ

VỤ NẶNG CHỖ SÈ HUYỐT ỨP CỬA VIỆN

NANG CỜNG

“ÝCH KHÝ DỊNG N·O” TRÊN THỨC NGHIÖM

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

HÀ NỘI – 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



LÊ VĂN NAM

§ NH GI , T , C DÔNG CŨI THIÖN TRÝ NHÍ

Vµ NỆNG CHØ SÈ HUYÖT , P CŔA VIÊN

NANG CØNG

“ÝCH KHÝ DỊNG N · O” TRÊN THÙC NGHIÖM

Chuyên ngành Y học cổ truyền

Mã số: 872 0115

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

PGS. TS. Vũ Nam

TS. Trần Minh Hiếu

HÀ NỘI – 2021

LỜI CẢM ƠN

Hoàn thành luận văn này, với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được gửi lời cảm ơn đến Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng đào tạo Sau Đại học, các Bộ môn, Khoa phòng Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, là nơi trực tiếp đào tạo và tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu để hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Vũ Nam, TS Trần Minh Hiếu - người thầy hướng dẫn trực tiếp luôn theo sát, thường xuyên giúp đỡ, cho tôi nhiều ý kiến quý báu, sát thực trong quá trình học tập, nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Giám đốc, Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y đã quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong việc nghiên cứu, thu thập, hoàn thiện số liệu để hoàn thành đề tài.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn đến các thầy, các cô trong Hội đồng thông qua đề cương luận văn đã cho tôi nhiều ý kiến quý báu trong quá trình hoàn thiện luận văn này.

Tôi vô cùng biết ơn PGS.TS. Nguyễn Thanh Phong, Cục trưởng Cục An toàn thực phẩm, các Đc:Lãnh đạo cục An toàn thực phẩm Lãnh đạo phòng GSNDTP & TTTT, Lãnh đạo Trung tâm UD & ĐT An toàn thực phẩm và gia đình, bạn bè, anh chị em đồng nghiệp đã động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Mặc dù đã cố gắng rất nhiều, nhưng luận văn không tránh khỏi những thiếu sót; tác giả rất mong nhận được sự thông cảm, chỉ dẫn, giúp đỡ và đóng góp ý kiến của các nhà khoa học, của quý thầy cô, các cán bộ quản lý và các bạn đồng nghiệp.

Xin chân thành cảm ơn!

*Học viên
Lê Văn Nam*

LỜI CAM ĐOAN

Luận văn này do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của Thầy PGS.TS.Vũ Nam, TS.Trần Minh Hiếu. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

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

Hà Nội, ngày 18 tháng 12 năm 2020.

Người viết cam đoan

Lê Văn Nam

CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
HA	Huyết áp	Blood pressure
HATT	Huyết áp tâm thu	Systolic blood pressure
HATTr	Huyết áp tâm trương	Diastolic blood pressure
IKDN	Ích khí dưỡng não	
SSTT	Sa sút trí tuệ	Dementia
YHHĐ	Y học hiện đại	Modern medicine
YHCT	Y học cổ truyền	Traditional medicine

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan về huyết áp thấp	3
1.1.1. Huyết áp và các yếu tố ảnh hưởng đến huyết áp	3
1.1.2. Huyết áp thấp theo Y học hiện đại.....	5
1.1.3. Huyết áp thấp theo y học cổ truyền	8
1.2. Tổng quan về sa sút trí tuệ	9
1.2.1. Định nghĩa và yếu tố nguy cơ sa sút trí tuệ theo y học hiện đại	9
1.2.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán sa sút trí tuệ.....	11
1.2.3. Điều trị sa sút trí tuệ	12
1.2.4. Tổng quan về sa sút trí tuệ theo Y học cổ truyền	13
1.3. Tình hình nghiên cứu về huyết áp thấp và sa sút trí tuệ trên thế giới và Việt Nam	14
1.3.1. Trên thế giới.....	14
1.3.2. Tại Việt Nam.....	15
1.4. Tổng quan về thuốc nghiên cứu	17
1.4.1. Thành phần bài thuốc y học cổ truyền dùng đề bào chế viên thuốc	17
1.4.2. Tác dụng dược lý, tính vị quy kinh của từng vị thuốc	17
1.4.3. Phân tích bài thuốc theo phối ngũ Y học cổ truyền.....	22
Chương 2 CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	23

2.1. Chất liệu, đối tượng nghiên cứu	23
2.1.1. Thuốc nghiên cứu:.....	23
2.1.2. Đối tượng nghiên cứu.....	24
2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	25
2.1.4. Hóa chất, dụng cụ trang thiết bị nghiên cứu.....	25
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	25
2.2.1. Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm.....	25
2.2.2. Đánh giá tác dụng nâng chỉ số huyết áp của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm	33
2.3. Phương pháp xử lý số liệu.....	35
Chương 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	36
3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng “ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm.....	36
3.1.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ trên mô hình Morris water maze.....	36
3.1.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ trên mô hình Multiple T maze	39
3.1.3. Kết quả đánh giá trên khả năng bám giữ và phối hợp vận động trên mô hình Rotarod	44
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng nâng chỉ số huyết áp trên động vật thí nghiệm của viên nang cứng Ích khí dưỡng não	45
Chương 4 BÀN LUẬN	47
4.1. Bàn luận về đặc điểm của đối tượng nghiên cứu	47

4.2. Bàn luận về dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm.....	48
4.2.1. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên mô hình Morris water maze	48
4.2.2. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên mô hình Multiple T maze	50
4.2.3. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên mô hình trục quay Rotarod	52
4.3. Bàn luận về tác dụng nâng chỉ số huyết áp viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên thực nghiệm	54
KẾT LUẬN	58
KIẾN NGHỊ	59
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
Phụ lục	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Công thức 1 viên nang Ích khí dưỡng não 500mg	23
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian tìm thấy chân đế ($X \pm SD$, giây)	36
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến quãng đường tìm thấy chân đế - bẻ đỗ ($X \pm SD$, m)	37
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong $\frac{1}{4}$ bể trước đó đặt chân đế ($X \pm SD$, %).	38
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian tìm tới được khoang đích ($X \pm SD$, s)	39
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích ($X \pm SD$, m)	40
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến số lần quyết định sai	41
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến các chỉ số đánh giá trí nhớ ngắn hạn (N5) trên mô hình Multiple T maze	42
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến các chỉ số đánh giá trí nhớ dài hạn (N8) trên mô hình Multiple T maze	43
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian chuột ở lại trên trục quay Rotarod	44
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não lên áp lực động mạch trung bình (mmHg) (Mean arterial blood pressure – MAP) của các lô chuột nghiên cứu	45

DANH MỤC HÌNH

Hình 2.1. Cấu tạo mô hình Morris water maze	26
Hình 2.2. Cấu tạo mô hình Multiple T maze.....	30
Hình 2.3. Trục quay rotarod	32

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Quy trình bài tập trên test mê cung nước Morris.....	28
Sơ đồ 2.2. Các bước tiến hành thử nghiệm trên mô hình Multiple T maze ...	31
Sơ đồ 2.3. Nghiên cứu tác dụng nâng chỉ số huyết áp của Ích khí dưỡng não trên thực nghiệm	35

DANH MỤC ẢNH

Ảnh 2.1. Viên nang cứng Ích khí dưỡng não	24
---	----

ĐẶT VẤN ĐỀ

Huyết áp thấp là bệnh lý phổ biến chiếm tỷ lệ từ 10 – 20% dân số ở Việt Nam cũng như các nước trên thế giới. Huyết áp thấp đang gia tăng trong cộng đồng đặc biệt là những người trẻ đang độ tuổi lao động, bệnh cũng hay gặp ở người căng thẳng, thể trạng yếu, suy dinh dưỡng, phụ nữ, người bệnh tim mạch, béo phì, tiểu đường... Bệnh gây ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe, chất lượng cuộc sống của người bệnh [1],[2],[4].

Theo thống kê về tình hình sức khỏe của một số cơ quan, doanh nghiệp tại Hà Nội trong năm 2008 có tới 12% số cán bộ công nhân viên có huyết áp tâm thu thấp hơn 90mmHg và huyết áp tâm trương thấp hơn 60mmHg. Đây thực sự là một vấn đề đáng quan tâm của ngành y tế [1],[2],[6]

Huyết áp càng thấp, người bệnh bị suy giảm trí nhớ (sa sút trí tuệ) càng cao, gắn liền với bệnh mất trí nhớ do Alzheimer gây ra. Nếu huyết áp tâm trương dưới 70mmHg thì rất có khả năng bị mất trí nhớ, gây khó khăn cho các hoạt động thường ngày và các quan hệ xã hội của người bệnh. Huyết áp quá thấp cũng có thể làm nhịp tim nhanh, gây choáng, ngất. Trước đây, người ta vẫn nghĩ huyết áp cao mới gây tai biến mạch máu não nhưng huyết áp thấp cũng gây tai biến chiếm tỷ lệ 10 – 15%. 30% số người nhồi máu não và 25% số người nhồi máu cơ tim là do huyết áp thấp [3],[5],[7].

Y học hiện đại điều trị huyết áp thấp đã có những kết quả nhất định, tuy nhiên việc sử dụng các thuốc như ephedrine, dihydroergotamin, heptamil... chỉ có tác dụng điều trị triệu chứng, không bền vững và nhiều tác dụng không mong muốn. Chính vì vậy, việc nghiên cứu thuốc có nguồn gốc thảo dược tiện ích là cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn điều trị hiệu quả các triệu chứng; giảm trí nhớ, chóng mặt, đau đầu, mất ngủ do huyết áp thấp đặc biệt là cơn thiếu máu não cấp, co thắt mạch não, nhồi máu não liên quan đến huyết áp

thấp. Mặt khác, thuốc y học cổ truyền thường không độc, không gây tác dụng không mong muốn đến chức năng các cơ quan trong cơ thể.

Bài thuốc Ích khí dưỡng não dựa trên lý luận y học cổ truyền và tác dụng dược lý của các vị thuốc trong bài có tác dụng thông kinh hoạt lạc, tăng cường sức co bóp cơ tim, làm giãn và thông mạch máu, cải thiện vi tuần hoàn, ức chế ngưng tập tiểu cầu, chống đông máu, chống hạ huyết áp, giúp lưu thông máu dễ dàng. Để sáng tỏ hơn tác dụng của bài thuốc đồng thời có thể đưa thuốc và sử dụng thuận tiện hơn trên lâm sàng, chúng tôi tiến hành đề tài **“Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ và nâng chỉ số huyết áp của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm”** với 2 mục tiêu sau:

1. *Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm.*

2. *Đánh giá tác dụng nâng chỉ số huyết áp của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về huyết áp thấp

1.1.1. Huyết áp và các yếu tố ảnh hưởng đến huyết áp

1.1.1.1. *Khái niệm huyết áp*

Huyết áp là áp suất nhất định để máu chảy được trong lòng mạch, được biểu thị bằng hai trị số [5],[6].

- Huyết áp tối đa (huyết áp tâm thu): là áp suất máu đo được trong thời kỳ tâm thu. Trị số bình thường ở người trưởng thành là 90 – 140 mmHg.
- Huyết áp tối thiểu (huyết áp tâm trương): là áp suất máu đo được trong thời kỳ tâm trương. Trị số bình thường ở người trưởng thành là 60 – 90 mmHg.
- Huyết áp trung bình được coi là huyết áp đưa máu lên não, được tính theo công thức:

$$\text{HATB} = \frac{\text{HATT} - \text{HATTr}}{3} + \text{HATTr}$$

1.1.1.2. *Các yếu tố ảnh hưởng đến huyết áp*

- Huyết áp phải giữ được mức cho phép thì mao mạch của hệ thống tuần hoàn mới được tưới máu đầy đủ. Huyết áp động mạch phụ thuộc vào thể tích máu do thất trái đẩy vào hệ thống mạch máu theo đơn vị thời gian (còn gọi là cung lượng tim) và trở kháng đối với luồng máu mao mạch ngoại vi (còn gọi là sức cản ngoại vi).
- Huyết áp, lưu lượng máu và sức cản ngoại vi có mối liên quan chặt chẽ với nhau theo công thức: $P = (L \times R)/K$
Trong đó: P là huyết áp, L là lưu lượng tuần hoàn, R là sức cản ngoại vi, K là hằng số.
- Khi lưu lượng tuần hoàn giảm, sức cản ngoại vi giảm thì huyết áp sẽ giảm và ngược lại [5],[6].

Cung lượng tim (hay lưu lượng tim): phụ thuộc vào thể tích tâm thu và nhịp tim, mà thể tích tâm thu lại phụ thuộc vào lực co bóp cơ tim và nhịp tim [5],[6]. - Thể tích tâm thu do tâm thất trái (hay tâm thất phải) tổng được vào động mạch chủ (hay động mạch phổi) trong mỗi nhát bóp của tim ở thì tâm thu. Hệ thống tĩnh mạch đóng vai trò rất quan trọng vì nó có thể chứa 65 – 67% toàn bộ thể tích máu cho nên ứ máu tĩnh mạch cũng sẽ làm giảm lưu lượng tim [5],[6].

- Lực co bóp của tim: để máu trở về tim được nhiều, tim phải có khả năng đẩy được nhiều máu đi. Cơ tim co bóp càng yếu thì thể tích tâm thu càng giảm, lưu lượng tim giảm làm cho huyết áp giảm [5],[6].

- Nhịp tim: khi tim đập chậm mà thể tích tâm thu không tăng thì lưu lượng tim giảm và huyết áp giảm. Khi tim đập nhanh, tuy thể tích tâm thu không tăng nhưng vẫn làm cho lưu lượng tăng vì vậy huyết áp tăng. Nhưng khi tim đập quá nhanh do thời gian tâm trương ngắn, lượng máu về tim giảm vì vậy thể tích tâm thu giảm nhiều làm cho lưu lượng tim giảm và huyết áp giảm [5],[6].

- Sức cản ngoại vi: là trở lực mà tâm thất trái phải thắng để có thể đẩy được máu từ tâm thất trái tới các mạch máu ngoại vi, trở lực này phụ thuộc vào:

+ Độ nhớt của máu: khi độ nhớt máu tăng, đòi hỏi một sức co bóp lớn hơn mới đẩy máu lưu thông được trong lòng mạch, cho nên khi độ nhớt máu giảm cũng góp phần làm huyết áp giảm [5],[6].

+ Sức đàn hồi của thành mạch: trở kháng của một mạch máu tỉ lệ nghịch với bán kính lũy thừa bậc 4 của mạch máu đó. Như vậy, huyết áp phụ thuộc nhiều vào mức độ co giãn cơ trơn của thành mạch. Sức đàn hồi của thành mạch là yếu tố chính ảnh hưởng tới sức cản ngoại vi. Khi giãn mạch, sức cản ngoại vi giảm dẫn tới huyết áp giảm.

- Các yếu tố ảnh hưởng tới huyết áp đã nêu trên hoạt động phối hợp chặt chẽ để duy trì huyết áp ở mức ổn định. Nếu một trong các yếu tố trên thay đổi,

những yếu tố còn lại sẽ hoạt động bù ngay dưới sự kiểm soát điều hòa của hai cơ chế thần kinh và thể dịch [5],[6].

1.1.2. Huyết áp thấp theo Y học hiện đại

1.1.2.1. Định nghĩa huyết áp thấp

Huyết áp thấp (Hypotension arterielle) là huyết áp luôn luôn ở con số thấp hơn đa số người bình thường [1],[5],[3],[5].

Một người huyết áp thấp nghĩa là huyết áp của người đó luôn thấp hơn so với mức bình thường của người cùng lứa tuổi [3],[4],[5]. Không kể những trường hợp hạ huyết áp trong sóc cấp cứu như: mất máu, mất nước... mà chỉ nói tới những người có huyết áp thấp liên tục, từ trước tới nay vẫn thấp hoặc thấp trong thời gian dài không có tính chất đột ngột, người trưởng thành có huyết áp tối đa trong giới hạn 90 – 140 mmHg, huyết áp tối thiểu 60 – 90 mmHg, dưới mức chỉ số sau đây là huyết áp thấp [5],[6],[7]:

Huyết áp tối đa (huyết áp tâm thu): < 90 mmHg

Huyết áp tối thiểu (huyết áp tâm trương): < 60 mmHg

1.1.2.2. Phân loại huyết áp thấp

Huyết áp thấp là biểu hiện sự rối loạn chức năng vỏ não của trung khu thần kinh vận mạch [4]. Huyết áp thấp được chia ra làm hai loại: huyết áp thấp tiên phát và huyết áp thấp thứ phát [7],[13].

- Huyết áp thấp tiên phát: có những người thường xuyên có huyết áp thấp. Huyết áp tâm thu từ 85 – 90 mmHg nhưng sức khỏe hoàn toàn bình thường, chỉ khi đo huyết áp mới phát hiện ra huyết áp bị thấp. Đây là những người có thể tạng đặc biệt, từ nhỏ tới lớn huyết áp vẫn như thế nhưng không hề có biểu hiện tổn thương ở bộ phận nào trong cơ thể. Những người này vẫn sinh hoạt bình thường. Tuy nhiên, khi gắng sức thì vẫn có thể chóng mặt [7],[13],[14]. Do đó đa phần không được coi là bệnh lý và không cần điều trị gì.

- Huyết áp thứ phát: là những trường hợp trước đó vẫn có huyết áp bình thường, nhưng sau huyết áp bị giảm dần sau một đến ba tháng. Huyết áp thấp thứ phát này thường gặp ở những người suy nhược kéo dài, mắc các bệnh như nhiễm khuẩn, lao, thiếu năng tuần hoàn não, nhiễm độc kéo dài.

Huyết áp thấp thường có ảnh hưởng rõ rệt tới khả năng làm việc và sức khỏe của người bệnh [7],[13],[15]. Đây là loại bệnh cần được điều trị kịp thời tránh gây hậu quả cho bệnh nhân, đồng thời có thể đề phòng các biến chứng nguy hiểm xảy ra cho người bệnh.

1.1.2.3. Triệu chứng lâm sàng và chẩn đoán huyết áp thấp

- Triệu chứng cơ năng: mệt mỏi, hoa mắt, chóng mặt, hay quên, giảm tập trung trí lực, nhất là khi thay đổi tư thế có thể choáng hoặc ngất. Nếu để bệnh nhân ở tư thế nằm thì sau 1 – 2 phút các triệu chứng có thể giảm dần rồi hết hẳn [4], [6],[7],[13].

- Triệu chứng thực thể: nhịp tim nhanh, có khi có ngoại tâm thu, có khi có nhịp chậm, cung lượng tim giảm rõ rệt.

- Chẩn đoán: chẩn đoán huyết áp thấp dựa vào đo huyết áp nhiều lần (nên theo dõi huyết áp liên tục 24 giờ bằng Holter) ở nhiều tư thế khác nhau. Huyết áp tâm thu < 90 mmHg và huyết áp tâm trương < 60 mmHg thì là tình trạng huyết áp thấp.

- Chẩn đoán phân biệt: kết hợp lâm sàng với cận lâm sàng để phân biệt huyết áp thấp tiên phát hay thứ phát sau cơn động kinh, hạ canxi huyết, hạ đường huyết [6],[7],[9].

1.1.2.4. Điều trị huyết áp thấp

* Nguyên tắc điều trị: bao gồm 2 nguyên tắc chính

- Đánh giá các thực thể bệnh chính có khả năng hồi phục.
- Phương thức đặc hiệu cho huyết áp thấp không hồi phục.

* Điều trị:

Ngoài việc điều trị nguyên nhân, việc điều trị huyết áp thấp cần chú ý tới nghỉ ngơi, tăng cường ăn uống, rèn luyện thân thể tác động đến trạng thái thần kinh, chức năng co bóp của tim và điều tiết các mạch máu có tác dụng nâng huyết áp.

Thuốc thường dùng: trong điều trị người bệnh có huyết áp thấp thứ phát, các thuốc sau thường được xem xét và sử dụng cho phù hợp với từng người bệnh và mức độ bệnh:

- Ephedrin: có tác dụng co mạch, tăng huyết áp. Tuy là loại thuốc chủ yếu để chữa và phòng cơn hen suyễn song cũng có tác dụng nâng huyết áp với liều dùng ngày 1 – 3 lần, mỗi lần 1 viên 10mg [8],[9],[10]

- Cafein: có tác dụng trợ tim, kích thích hệ thần kinh, tiêm dưới da với liều 0,25 – 1,5g/24h hoặc uống từ 0,5 – 1,5g/24h [8],[9],[10]

- Dyhydroergotamin: thuốc có tác dụng chống suy tuần hoàn tĩnh mạch ngoại vi làm tăng huyết áp, điều chỉnh các rối loạn về thần kinh thực vật. Viên nén 1mg uống mỗi lần 1 viên, ngày 1 – 3 lần [8],[9],[10]

- Heptamyl: có tác dụng trợ tim mạch, tăng sức co bóp cơ tim (tăng lưu lượng tim và lưu lượng vành). Viên nén 1878mg, ngày uống 3 lần, mỗi lần 1-2 viên.

- Pantocxin: là dạng cao lỏng còn nước chế từ nhung của ba loại hươu của Nga có tác dụng bồi bổ cơ thể, kích thích tim mạch. Uống hoặc tiêm, ống tiêm 01ml tiêm dưới da hoặc tiêm bắp 1 – 2 ống/ngày [6], [21].

- Bioton: chống suy nhược cơ thể, tăng trí lực, thể lực. Ống 10ml chứa 3,42 cao còn Kola; 0,75 acidphosphoric; 0,29 inositocalcium; 0,58g Mn glycerophosphat. Liều thường dùng để uống 10ml/ống x 2 ống/ ngày.

- Prednisolon: có thể dùng trong trường hợp nặng, liều thường dùng để uống 5 – 20 mg/ngày, một đợt từ 5 – 15 ngày [8],[9],[10]

1.1.3. Huyết áp thấp theo y học cổ truyền

Huyết áp thấp thuộc phạm vi chứng huyễn vựng của YHCT, biểu hiện hoa mắt, có cảm giác tối sầm, váng đầu, thấy đầu xoay chuyển, có cảm giác chòng chành như ngồi trên thuyền, hai triệu chứng này thường xuất hiện cùng nhau nên gọi là chứng huyễn vựng [11],[12].

1.1.3.1. Các thể lâm sàng

a. Thể tâm dương bất túc

- Chứng trạng: tinh thần mệt mỏi, hoa mắt, chóng mặt, váng đầu, buồn ngủ, chân tay lạnh, chất lưỡi bệu, rêu lưỡi trắng nhuận, mạch trầm vô lực hoặc mạch trầm tế.

- Pháp điều trị: Ôn bổ tâm dương

- Phương thuốc: Quế chi cam thảo thang gia vị [11],[12],[19],[20].

b. Thể tỳ vị hư nhược

- Chứng trạng: mệt mỏi, hơi thở ngắn, váng đầu, hồi hộp, cơ nhục nhẽo, sợ lạnh, dễ ra mồ hôi, ăn kém, đầy bụng, chất lưỡi nhợt, rêu lưỡi trắng, mạch trầm vô lực.

- Pháp điều trị: Bổ trung, ích khí, kiện tỳ.

- Phương thuốc: Bổ trung ích khí thang đề [11],[12],[19],[20].

c. Thể khí huyết lưỡng hư

- Chứng trạng: đau đầu, hoa mắt chóng mặt, mất ngủ, chất lưỡi nhợt, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch hư vô lực.

- Pháp điều trị: Bổ dưỡng khí huyết

- Phương thuốc: Quy tỳ thang gia giảm [11],[12],[19],[20].

1.2. Tổng quan về sa sút trí tuệ

1.2.1. Định nghĩa và yếu tố nguy cơ sa sút trí tuệ theo y học hiện đại

1.2.1.1. Định nghĩa

Sa sút trí tuệ là cụm từ để mô tả một số bệnh rối loạn thực thể của não do nguyên nhân khác nhau gây ra. Những bệnh này có đặc điểm chung là suy giảm chức năng tâm thần, đặc biệt là trí nhớ [1],[7],[16].

Suy giảm trí nhớ có thể xảy ra do rất nhiều nguyên nhân khác nhau chẳng hạn như tai nạn gây chấn thương sọ não, tuổi cao, viêm não... hậu quả là huyết áp của bệnh nhân thấp hơn so với bình thường gây nên một số biểu hiện của thiếu máu não. Lúc này, các tế bào thần kinh sẽ không được nuôi dưỡng đầy đủ, quá trình thoái hóa diễn ra nhanh hơn bình thường dẫn tới nhiều hệ quả đối với sức khỏe như khó tập trung, hay quên, suy giảm trí nhớ [1],[7],[16],[24].

1.2.1.2. Các yếu tố nguy cơ

a. Các yếu tố cá nhân, gia đình, tâm lý xã hội và nếp sống

Các yếu tố thuộc cá nhân và gia đình như: tuổi, giới tính, tiền sử gia đình có người mắc sa sút trí tuệ đã được rất nhiều nghiên cứu tìm ra mối liên quan với sa sút trí tuệ. Các nghiên cứu dịch tễ đã gợi ý rằng một số yếu tố tâm lý - xã hội như học vấn, hoạt động xã hội, giải trí, hoạt động thể lực có vai trò nhất định trong phát triển sa sút trí tuệ [16],[24],[23].

b. Các yếu tố nguy cơ bệnh lý về tim mạch và chuyển hóa

- *Huyết áp*: Nhiều nghiên cứu cho thấy huyết áp tăng cao ở tuổi trung niên là tăng nguy cơ sa sút trí tuệ, thậm chí bệnh Alzheimer. Tăng huyết áp có liên quan đến các dấu ấn (marker) thoái hoá thần kinh trong não, gợi ý rằng tăng huyết áp (THA) mạn tính có thể có vai trò trong bệnh sinh của bệnh Alzheimer, liên quan đến quá trình thoái hoá thần kinh hoặc gây teo não. Ở nhóm tuổi rất già, tác dụng có hại của tăng huyết áp là không rõ, trong khi huyết áp hạ thấp dường như lại báo trước khả năng bị sa sút trí tuệ và bệnh

Alzheimer. Tuy nhiên, một số nghiên cứu dọc, theo dõi hơn sáu năm lại khẳng định sự phối hợp như vậy, gợi ý rằng sự tham gia của huyết áp thấp ở tuổi già và giảm tưới máu não trong sự phát triển của sa sút trí tuệ và bệnh Alzheimer. Những dữ kiện này gợi ý rằng mối liên quan giữa huyết áp và sa sút trí tuệ có thể phụ thuộc vào tuổi [16],[24],[23],[42]

- *Bệnh mạch máu não*: Nhồi máu não nhiều ổ, cơn đột quỵ não tái phát và đột quỵ não ở vị trí chiến lược là những yếu tố nguy cơ chính gây sa sút trí tuệ sau đột quỵ não. Cơn đột quỵ não thâm lạng và các tổn thương chất trắng thấy trên phim chụp cắt lớp vi tính não phối hợp với tăng nguy cơ sa sút trí tuệ và suy giảm nhận thức [24],[17],[23].

- *Bệnh tim*: Bệnh tim - mạch phối hợp với nhau tăng sự liên quan sa sút trí tuệ và bệnh Alzheimer, đặc biệt ở những người có bệnh mạch ngoại vi, gợi ý rằng vữa xơ động mạch ngoại vi lan toả là một yếu tố nguy cơ của sa sút trí tuệ. Ngoài ra, suy tim và rung nhĩ có thể có mối liên quan độc lập với tăng liên quan sa sút trí tuệ [23],[38]

- *Tăng lipid máu*: Một số nghiên cứu gợi ý về sự phối hợp giữa tăng cholesterol máu ở tuổi trung niên với bệnh Alzheimer khi về già [23]. Một nghiên cứu của Pháp cho thấy có sự phối hợp giữa tăng lipid máu với tăng liên quan sa sút trí tuệ, đặc biệt là loại không Alzheimer, trong khi một số nghiên cứu thuần tập không thấy sự phối hợp này, thậm chí thấy có mối liên quan ngược giữa cholesterol toàn phần với liên quan sa sút trí tuệ. Nghiên cứu mới đây cho thấy có sự giảm về cholesterol toàn phần ít nhất mười lăm năm trước khi khởi phát sa sút trí tuệ. Ngoài ra, một số nghiên cứu quan sát 30 gợi ý vai trò của statin trong việc làm giảm liên quan sa sút trí tuệ và bệnh Alzheimer, nhưng điều này chưa được khẳng định qua các thử nghiệm lâm sàng [24],[17],[23]

1.2.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán sa sút trí tuệ

a. Tiêu chuẩn chẩn đoán sa sút trí tuệ theo bảng phân loại quốc tế các bệnh tật lần thứ 10 (ICD-X)

Có bằng chứng suy giảm cả trí nhớ và tư duy đủ để gây cản trở cuộc sống hàng ngày của cá nhân. Sự suy giảm trí nhớ điển hình trong ghi nhận, bảo tồn và tái hiện thông tin mới, nhưng những tư liệu quen thuộc thu nhận trước kia cũng có thể mất đi, đặc biệt ở giai đoạn sau. Mất trí nhớ nhiều hơn loạn nhớ.

Có sự suy yếu về tư duy và năng lực suy luận, giảm sút dòng tư duy. Quá trình tiếp thu thông tin bị suy yếu, khó khăn hơn khi phải tiếp thu nhiều kích thích cùng một lúc, khi phải trò chuyện với nhiều người và khi chuyển sự tập trung chú ý từ chủ đề này sang chủ đề khác.

Ý thức bệnh nhân tỉnh táo. Bệnh nhân không bị mê sảng.

Các triệu chứng trên phải rõ ràng trong vòng ít nhất 6 tháng để có một chẩn đoán lâm sàng tin cậy

b. Tiêu chuẩn chẩn đoán sa sút trí tuệ theo DSM-IV-TR

A. Sự hình thành những rối loạn trong các lĩnh vực khác nhau của nhận thức được thể hiện bằng các triệu chứng sau [23],[30]:

1. Giảm trí nhớ (giảm khả năng học thông tin mới và nhớ lại những thông tin cũ), kèm theo.
2. Có một (hoặc nhiều) rối loạn nhận thức sau đây:
 - a. Mất ngôn ngữ: (aphasia)
 - b. Mất khả năng sử dụng động tác (apraxia): không có khả năng thực hiện các động tác mặc dù chức năng vận động bình thường:
 - c. Mất nhận biết đồ vật (agnosia): không có khả năng nhận ra và xác định những đồ vật mặc dù các giác quan bình thường.
 - d. Rối loạn khả năng thực hiện nhiệm vụ (executive dysfunction): (ví dụ: lên kế hoạch, tổ chức, phối hợp, trừu tượng hoá)

B. Sự suy giảm nhận thức trong tiêu chuẩn A1 và A2 làm giảm đáng kể chức năng nghề nghiệp và xã hội và giảm rõ rệt so với trước.

C. Các rối loạn trên không chỉ xảy ra trong cơn sáng.

D. Những rối loạn này không phù hợp với chẩn đoán khác (trầm cảm nặng, tâm thần phân liệt).

1.2.3. Điều trị sa sút trí tuệ

a. Thuốc tăng cường hoạt tính hệ cholinergic

Bao gồm các tiền chất của acetylcholon (ACh), các chất giống choline, và các chất ức chế enzyme acetylcholinesterase (AChE).

Nhóm thuốc này được sử dụng dựa trên sự nhận xét rằng các neuron cholinergic giảm chọn lọc trong AD và tác dụng gây hại trên trí nhớ của thuốc kháng cholinergic. Trong đó các chất ức chế AChE có tác dụng cải thiện tốt nhất khả năng nhận thức trong AD. Các thuốc trong nhóm này gồm : tacrin (Cognex), donepezil (Aricept), rivastigmin (Exelon), galantamin (Exelon). Các thuốc này đều được cơ quan quản lý dược phẩm và thực phẩm Hoa Kỳ (FDA) cấp phép cho chỉ định điều trị AD. Trong đó donepezil được FDA cấp phép điều trị trong tất cả các giai đoạn của AD. Đây là chất ức chế có hồi phục AChE, từ đó giúp ngăn ngừa sự giảm hàm lượng acetylcholine, một chất dẫn truyền thần kinh quan trọng cho quá trình ghi nhớ và học hỏi. Bằng cách giữ cho hàm lượng ACh ở mức cao, những loại thuốc này sẽ hỗ trợ quá trình truyền tín hiệu giữa các tế bào thần kinh [23],[30]

b. Thuốc kháng thụ thể N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)

Nhóm này có memantin là thuốc đối kháng thụ thể NMDA của hệ thống glutamate, giúp điều hòa hoạt động của glutamat, một loại chất chuyển dẫn truyền thần kinh khác liên quan đến quá trình ghi nhớ và học hỏi. Loại thuốc này được FDA cấp phép dùng điều trị AD trong giai đoạn vừa và nặng.

c. Thuốc tăng cường hoạt tính của serotonin

Nhóm thuốc này giúp tăng cường tái hấp thu serotonin chọn lọc, gồm có fluoxetine, setralin, citalopram, escitalopram, paroxetine [23],[30].

1.2.4. Tổng quan về sa sút trí tuệ theo Y học cổ truyền

Những rối loạn tâm thần như hay quên, hoạt động trí óc giảm sút, y học cổ truyền xếp vào chứng kiện vong [12],[37],[30].

1.2.4.1. Bệnh nguyên

Do thất tình (nội nhân) như giận, lo sợ gây tổn thương 3 tạng Tỳ, Can, Thận. Do mắc bệnh lâu ngày (nội thương), làm cơ thể suy yếu, Thận âm, Thận dương suy. Thận âm suy hư hỏa bốc lên. Thận dương suy chân dương bị hư tổn suy giảm. Do cơ địa yếu (Tiên thiên bất túc - không đầy đủ) [12],[37],[30].

1.2.4.2. Các thể lâm sàng sa sút trí tuệ theo Y học cổ truyền

a. Thể thận tinh khuỵu tổn:

- Triệu chứng: Tinh thần ủy mị, nét mặt ngẩn ngơ, rối loạn ngôn ngữ, động tác hoặc hành động khó khăn, thần thái biểu hiện ra hai mắt giảm hoặc thất thần, hai gò má đỏ, liệt dương, đại tiểu tiện không tự chủ, chất lưỡi đậm, rêu lưỡi mỏng, mạch trầm vi.

- Pháp điều trị: Bổ ích thận tinh.

- Phương thuốc: Hữu quy hoàn [27],[30],[37]

b. Thể khí huyết lưỡng hư

- Triệu chứng: mệt mỏi ngại nói, đoản hơi, tinh thần không phấn chấn, chậm chạp, trí tuệ giảm sút, hoảng sợ bất an, ngày ngủ nhiều, đêm ngủ ít, run chân tay, ăn kém, sắc mặt vàng nhợt, chất lưỡi vàng nhợt, mạch tế nhược.

- Pháp điều trị: ích khí bổ huyết, dưỡng tâm an thần

- Phương điều trị: Bát trân thang [27],[30],[37]

c. Thể đàm trọc trở khiểu

- Triệu chứng: trí tuệ giảm sút nhiều, thể trạng béo, thờ ơ, động tác chậm chạp, đờm nhiều ngủ ngáy, thể hiện ngôn ngữ khó khăn, lưỡi cứng nói khó, chất lưỡi đậm, rêu lưỡi trắng nhớt, mạch trầm hoạt.

- Pháp điều trị: Táo thấp hóa trọc, trừ đàm khai khiếu.

- Phương điều trị: Bán hạn bạch truật thiên ma thang [27],[30],[37].

d. Thể khí trệ huyết ngưng

- Triệu chứng: trí tuệ giảm sút, nét mặt ngẩn ngơ, mắt thiếu linh hoạt, tứ chi lạnh, ngủ không ngon giấc, ảo giác nói nhảm, môi nhợt, móng chân móng tay nhợt, lưỡi tía hoặc có điểm ứ huyết, mạch tế sáp.

- Pháp điều trị: hoạt huyết hóa ứ, thông lạc khai khiếu.

- Phương điều trị: Huyết phủ trục ứ thang [27],[30],[37].

1.3. Tình hình nghiên cứu về huyết áp thấp và sa sút trí tuệ trên thế giới và Việt Nam

1.3.1. Trên thế giới

Nghiên cứu của Warkentin.S và cộng sự (1997) cho biết huyết áp thấp thường xuyên có tỷ lệ sa sút trí tuệ cao hơn người có chỉ số huyết áp bình thường [9].

Nghiên cứu của Pirodda.A và cộng sự (1997) về bệnh lý huyết áp thấp có liên quan đến tổn thương ốc tai, tiền đình, mất sức nghe [10].

Buzzy và cộng sự nghiên cứu trong 3 năm trên các bệnh nhân huyết áp thấp cho kết quả tỷ lệ tử vong ở những bệnh nhân này tăng nhanh song hành cùng các bệnh lý kèm theo hoặc rủi ro như tai nạn [18].

Guo.Z và cộng sự đã chứng minh huyết áp thấp đã gây chứng xơ não và đóng vai trò quan trọng trong quá trình tiến triển bệnh sa sút trí tuệ ở người cao tuổi [36].

L. L. Cheng, X. N. Chen, Y. Wang et al (2011), phân lập Z-ligustilide từ Đương Quy đánh giá tác dụng cải thiện tình trạng suy giảm trí nhớ do scopolamine ở chuột. Kết quả cho thấy Z-ligustilide cải thiện đáng kể bộ nhớ

dài hạn không gian và suy giảm trí nhớ ngắn hạn, ức chế hoạt động acetylcholinesterase (AChE) và tăng hoạt động choline acetyltransferase (ChAT) [42].

B. Lee, I. Shim, H. Lee et al (2011), Địa hoàng cải thiện việc học tập và suy giảm trí nhớ gây ra do scopolamine trên thỏ [43].

1.3.2. Tại Việt Nam

Nguyễn Thị Minh Tâm, Nguyễn Nhược Kim, Nguyễn Trọng Minh nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của trà tan Sinh mạch bảo nguyên. Sau 30 ngày điều trị, các triệu chứng lâm sàng (mệt mỏi, đau đầu, hoa mắt chóng mặt, mất ngủ, choáng váng khi đứng dậy) đều cải thiện, tăng huyết áp cho 93,33% số bệnh nhân. HATT tăng từ $84,70 \pm 3,93$ mmHg lên $111,03 \pm 7,97$ mmHg. HATTr tăng từ $58,17 \pm 3,59$ lên $75,03 \pm 3,9$ mmHg [44].

Ngô Trọng Kim, Lê Văn Thanh nghiên cứu tác dụng bài thuốc sinh mạch tán gia giảm trong điều trị huyết áp thấp. Kết quả nghiên cứu cho thấy sau 30 ngày điều trị HATT tăng trung bình 19 mmHg, HATTr tăng trung bình 10 mmHg, số bệnh nhân có huyết áp biến đổi có hiệu quả chiếm 83,3[45].

Ngô Quyết Chiến, Lê Hữu Thuyên nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của viên Thăng áp TA. Sau một tháng điều trị cho 162 bệnh nhân, các triệu chứng của huyết áp thấp giảm từ 81,4 đến 96,2%; tỷ lệ bệnh nhân có huyết áp tăng từ 6 – 20 mmHg chiếm 92,6% [46].

Hà Văn Diễm (2010): nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của viên Hồng mạch khang trên 60 bệnh nhân cho kết quả khá tốt 96,7% [47].

Trần Thị Dung (2011): nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của bài thuốc Hoàng kỳ bổ huyết thang cho kết quả tỷ lệ đạt hiệu quả là 90% [48].

Trần Thị Quyên (2014): nghiên cứu độc tính và hiệu quả điều trị huyết áp thấp thứ phát của viên hoàn Thăng áp dưỡng não. Kết quả nghiên cứu cho thấy có tăng cả 3 chỉ số huyết áp (HATT, HATTr, HATB) trên 98,3% tổng số bệnh nhân [15].

Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An và Trần Lê Tuyết Châu (2012). Khảo sát mô hình gây suy giảm trí nhớ do trimethyltin trên chuột nhắt trắng cho kết quả tiềm thời gây suy giảm trí nhớ của TMT là 7 ngày, với liều duy nhất 2,4 mg/kg chuột thực nghiệm, áp dụng cho cả mô hình thử trí nhớ ngắn hạn (Thử nghiệm mê cung chữ Y, thử nghiệm tìm vật lạ, thử nghiệm tìm nước) và mô hình thử trí nhớ dài hạn (Thử nghiệm mê cung nước) [35].

Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An, Nguyễn Ngọc Khôi và cộng sự (2012) nghiên cứu Tác dụng kháng cholinesterase của Actiso, Trà xanh và Hương nhu tía liên quan đến khả năng chống suy giảm trí nhớ trên chuột nhắt trắng cho kết quả về hoạt tính kháng cholinesterase đã góp phần làm sáng tỏ vai trò bảo vệ não, chống lại sự suy giảm trí nhớ do TMT gây ra trong điều kiện thực nghiệm. Độc tính của TMT đối với các neuron cholinergic là một mô hình rất có giá trị cho các thử nghiệm tìm kiếm các hợp chất kháng cholinesterase, hướng đến chống suy giảm trí nhớ, điều trị cho các bệnh liên quan đến suy giảm trí nhớ như bệnh alzheimer, parkinson, hungtinton... [50].

Đặng Hoàng Quyên, Trần Phi Hoàng Yến, Võ Thị Xuyến et al (2014), Khảo sát khả năng cải thiện trí nhớ của cao chiết sinh tử khối Cordyceps spp. trên chuột nhắt cho kết quả một số cao chiết của Cordyceps spp. có tác dụng cải thiện tình trạng suy giảm trí nhớ ngắn hạn ở chuột [51].

1.4. Tổng quan về thuốc nghiên cứu

1.4.1. Thành phần bài thuốc y học cổ truyền dùng để bào chế viên thuốc

Tên thuốc	Tên la tinh	Hàm lượng (gam)
Đẳng sâm	<i>Radix Codonopsis</i>	12g
Hoàng kỳ	<i>Radix Atragali</i>	20g
Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici Wallichii</i>	12g
Đương quy	<i>Radix Angelicae Sinensis</i>	12g
Bạch truật	<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>	12g
Thăng ma	<i>Rhizoma Cimicifugae</i>	12g
Sài hồ	<i>Radix Bupleuri</i>	12g
Hồng hoa	<i>Flos Carthami</i>	08g
Cam thảo	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	04g
Địa long	<i>Pheretima Asiatica Michaelsen</i>	05g
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	06g

- Tác dụng: Bổ khí dưỡng huyết, hoạt huyết thăng dương

- Chủ trị: dùng cho bệnh nhân suy giảm trí nhớ, huyết áp thấp thứ phát, bệnh nhân thiếu năng tuần hoàn não...

1.4.2. Tác dụng dược lý, tính vị quy kinh của từng vị thuốc

1.4.2.1. Đẳng sâm (*Radix Codonopsis*)

- Bộ phận dùng: là rễ phơi sấy khô của nhiều loài *Codonopsis* thuộc họ hoa chuông

- Thành phần hóa học: có saponin, đường

- Tính vị quy kinh: vị ngọt tính bình. Quy kinh phế, tỳ

- Tác dụng dược lý: tiêm dưới da dung dịch đẳng sâm 20% (4ml/kg thể trọng) hoặc cho uống (mỗi ngày 20g) đều thấy hồng cầu tăng lên, bạch cầu giảm xuống. Các tác giả cho rằng Đẳng sâm có 1 hoặc 2 chất ảnh hưởng tới huyết cầu [25],[26].

1.4.2.2. *Hoàng kỳ (Radix Atragali)*

- Bộ phận dùng: rễ phơi hoặc sấy khô
- Thành phần hóa học: có Sacarosa, nhiều loại Acid Amin, Protid (6,16-9,9%), Cholin, Betain, Acid Folic, Vitamin P, Amylase.
- Tính vị quy kinh: vị ngọt, tính ấm. Quy kinh phế, tỳ.
- Tác dụng dược lý: hoàng kỳ tăng cường miễn dịch không đặc hiệu, tăng chức năng của tế bào lympho – T, thúc đẩy miễn dịch dịch thể rõ rệt, giãn mạch ngoại vi, mạch não, mạch vành, cải thiện tốt vi tuần hoàn. Có thể cường tim, giảm huyết áp nhanh chóng chỉ thoáng qua. Thúc đẩy sự phát triển và trưởng thành của các tế bào máu, cải thiện chức năng thận, có tác dụng kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus và tác dụng chống lão hóa [25],[26].

1.4.2.3. *Xuyên khung (Rhizoma Ligustici Wallichii)*

- Bộ phận dùng: thân hoặc rễ phơi khô. Thuộc họ Hoa tán
- Thành phần hóa học: alkaloid, acid, saponin
- Tính vị quy kinh: vị đắng, tính ấm. Quy kinh can, đờm, tâm bào.
- Tác dụng dược lý: xuyên khung có tác dụng trấn tĩnh thần kinh trung ương, giãn mạch ngoại vi, tăng lưu lượng máu ở mạch vành, cải thiện tình trạng thiếu máu ở tim, tăng lưu lượng máu não, giảm phù não, phòng chứng đau nửa đầu do thiếu máu não, chống ngưng kết tiểu cầu và sự hình thành cục máu đông. Có tác dụng kháng khuẩn, an thần [25],[26].

1.4.2.4. *Đương quy (Radix Angelicae Sinensis)*

- Bộ phận dùng: rễ phơi hay sấy khô của cây đương quy, thuộc họ hoa tán.
- Thành phần hóa học: Butylidene phthalide, n-valerophenone-o-carboxylic acid, dihydrophthalic, sucrose, vitamine B12, carotene, beta-sitosterol.
- Tính vị quy kinh: vị ngọt cay. Quy kinh tâm, can, tỳ.
- Tác dụng dược lý: đương quy có tác dụng kéo dài thời gian gây ngủ của thuốc ngủ, giải nhiệt chống viêm, giảm khả năng đông máu, điều kinh, nhuận

tràng, kích thích miễn dịch, gây hoạt hóa lympho bào B và T làm tăng sản sinh kháng thể [25],[26].

1.4.2.5. Bạch truật (*Rhizoma Atractylodis macrocephalae*)

- Bộ phận dùng: thân rễ phơi hay sấy khô của cây bạch truật, họ Cúc.
- Thành phần hóa học: Atractylol, atractylon, vitamin A.
- Tính vị quy kinh: vị ngọt đắng, tính hơi ôn. Quy kinh tỳ, vị
- Tác dụng dược lý: Bổ ích cường tráng (trên thực nghiệm, thuốc có tác dụng làm tăng trọng chuột, tăng sức bơi lội, tăng khả năng thực bào của hệ thống tế bào lưới, tăng cường chức năng miễn dịch tế bào, làm tăng cao IgG trong huyết thanh, có tác dụng tăng bạch cầu và bảo vệ gan. Bạch truật có tác dụng tăng sự tổng hợp protein của ruột non). Nước sắc Bạch truật có tác dụng chữa táo bón và tiêu chảy, có tác dụng bảo vệ gan, phòng ngừa được sự giảm sút glycogen ở gan. Thực nghiệm chứng minh nước sắc bạch truật đều có tác dụng chống đông máu, dẫn mạch. Bạch truật có tác dụng hạ đường huyết. Bạch truật có tác dụng chống loét. Trên súc vật thực nghiệm chứng minh thuốc có tác dụng an thần với liều lượng nhỏ chất tinh dầu [25],[26].

1.4.2.6. Thăng ma (*Rhizoma Cimicifugae*)

- Bộ phận dùng: thân rễ phơi khô của các loài thăng ma, thuộc họ Hoàng liên.
- Thành phần hóa học: Có chất đắng là Cimitin, có chứa một ít ancaloit, salicylic acid, sebum acidum.
- Tính vị quy kinh: Vị cay ngọt, tính hơi hàn, hơi đắng. Quy kinh phế, đại tràng, tỳ vị.
- Tác dụng dược lý: Nước chiết xuất Thăng ma có tác dụng hạ nhiệt, giảm đau, chống viêm, chống co giật, giải độc. Ưc chế tim: làm chậm nhịp tim, hạ huyết áp, ức chế ruột và tử cung cô lập có thai nhưng hưng phấn bàng quang và tử cung không có thai. Thuốc có tác dụng đối với vi khuẩn lao và một số bệnh nấm ngoài da [25],[26].

1.4.2.7. Sài hồ (*Radix Bupleuri*)

- Bộ phận dùng: rễ của cây sài hồ sấy hoặc phơi khô, thuộc họ Hoa tán.
- Thành phần hóa học: trong Sài hồ có chừng 0,50% chất saponin, một chất rượu gọi là Bupleurumola, phytosterola và một ít tinh dầu. Trong thân và lá có chất rutin.
- Tính vị quy kinh: vị đắng tính hơi hàn. Quy kinh can, đờm.
- Tác dụng dược lý: ác dụng hạ nhiệt, an thần, giảm đau, giảm ho rõ rệt. Tác dụng kháng viêm như cocticoit. Bảo vệ gan và lợi mật. Hạ mỡ trong máu. Tác dụng tăng cường thể dịch miễn dịch và miễn dịch tế bào. Tăng khả năng tổng hợp protein của chuột. Nước sắc Sài hồ có tác dụng ức chế mạnh liên cầu khuẩn tan huyết, phẩy khuẩn thổ tả, trực khuẩn lao, leptospira, virut cúm. Thuốc còn có tác dụng kháng virut viêm gan, virut viêm tủy tít I, vi trùng sốt rét [25],[26].

1.4.2.8. Hồng hoa (*Flos Carthami*)

- Bộ phận dùng: hoa phơi sấy khô của cây hoa hồng, thuộc họ Cúc.
- Thành phần hóa học: Trong Hồng hoa có chừng 0,3 - 0,6% chất gluxit gọi là cactamin (Carthamin) C₁₂H₂₂O₁₁ (sắc tố màu hồng), một số sắc tố màu vàng có công thức C₂₄H₃₀O₁₅ tan trong nước và rượu. Dung dịch nước rất chóng bị phân giải. Carthamin là một chất tinh thể màu đỏ khi tác dụng với HCl lạnh sẽ cho Iso-Carthamin thủy phân sẽ cho glucoza và Carthamindin (Hồng hoa tố).
- Tính vị quy kinh: vị cay tính ôn. Quy kinh can, tâm.
- Tác dụng dược lý: Hồng hoa có tác dụng tăng co bóp tử cung rõ rệt, liều lượng nhỏ làm cho tử cung co bóp đều, lượng lớn làm cho tử cung co bóp tăng nhịp, thậm chí làm rung cơ tử cung, đối với tử cung của động vật có thai tác dụng làm tăng co bóp càng rõ. Đối với cơ trơn của ruột, thuốc cũng có tác dụng hưng phấn thời gian ngắn. Thuốc có tác dụng hạ áp: làm tăng lưu lượng máu dinh dưỡng cơ tim và lưu lượng máu động mạch vành của chó được gây

mê. Thuốc có tác dụng ức chế sự ngưng tập tiểu cầu. Thuốc còn có tác dụng bảo vệ chống nhồi máu cơ tim trên mô hình thắt động mạch vành của chó hoặc gây thiếu máu cơ tim trên chuột bạch lớn [25],[26].

1.4.2.9. Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)

- Bộ phận dùng: rễ phơi hay sấy khô của cây cam thảo, thuộc họ Đậu.
- Thành phần hóa học: Glycyrrhizic acid, glycyrrhetic acid, glycyrrhizin, uralenic acid, liquiritigenin, isoliquiritigenin, liquiritin, neoliquiritin, neoisoliquiritin, licurazid.
- Tính vị quy kinh: vị ngọt, tính bình. Quy kinh tâm, phế, tỳ, vị.
- Tác dụng dược lý: giải độc, kích thích xuất tiết làm loãng đờm, cam thảo giữ muối và thải kali, chống loét đường tiêu hóa, chống co thắt cơ trơn đường tiêu hóa, có tác dụng nội tiết tố trên âm đạo chuột bạch. Cam thảo còn có tác dụng hạ lipid máu, kháng khuẩn [25],[26].

1.4.2.10. Địa long (*Pheretima Asiatica Michaelsen*)

- Bộ phận dùng: dùng toàn thân đã chế biến của con giun đất, họ Cự dẫ.
- Thành phần hóa học: Lumbroferine, lumbrin, terrestro-lumbrolysin, hypoxanthine, xanthine, adenine, guanine, choline, guanidine, nhiều loại acid amin, vitamin và muối vô cơ.
- Tính vị quy kinh: vị mặn tính hàn. Quy kinh can, tỳ, bàng quang.
- Tác dụng dược lý: chống hình thành huyết khối, làm tăng hoạt tính dung giải của Fibrin, hạ huyết áp, chống co giật [25],[26].

1.4.2.11. Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*)

- Bộ phận dùng: vỏ quả quýt chín đã phơi khô hoặc sấy khô để lâu năm, thuộc họ Cam.
- Thành phần hóa học: có chứa tinh dầu 3,8% (2.000 đến 2.500 quả cho 1 lít tinh dầu), nước và thành phần bốc hơi có 61,25% Besperidin, Vitamin A, B và chùng 0,8% tro.
- Tính vị quy kinh: vị cay đắng, tính ôn. Quy kinh phế, tỳ.

- Tác dụng dược lý: tinh dầu của Trần bì có tác dụng kích thích nhẹ đối với đường tiêu hóa giúp cho ruột bài khí tích trệ ra ngoài dễ dàng, tăng tiết dịch vị có lợi cho tiêu hóa, có tác dụng làm giãn cơ trơn dạ dày và ruột. Thuốc kích thích niêm mạc đường hô hấp làm tăng dịch tiết, làm loãng đàm dễ khạc ra. Xuyên trần bì làm giãn phế quản hạ cơn hen. Dịch còn chiết xuất Quất bì với nồng độ 0,02g (thuốc sống)/ml hoàn toàn ngăn chặn được cơn co thắt phế quản chuột lang do histamin gây nên. Trần bì có tác dụng kháng viêm, chống loét. Nước sắc Trần bì tươi và dịch chiết còn với liều lượng bình thường có tác dụng hưng phấn tim, liều lượng lớn có tác dụng ức chế, nếu chích thuốc nhanh vào tĩnh mạch thỏ và chó, huyết áp tăng cao, nhưng bơm vào dạ dày thì không có tác dụng đó. Quảng trần bì trong ống nghiệm, có tác dụng ức chế sinh trưởng của tụ cầu khuẩn, trực khuẩn dung huyết, ái huyết. Trần bì còn có tác dụng chống dị ứng, lợi mật, ức chế cơ trơn của tử cung [25],[26].

1.4.3. Phân tích bài thuốc theo phối ngũ Y học cổ truyền

Bài thuốc Ích khí dưỡng não là sự kết hợp của bài thuốc Bổ trung ích khí gia thêm Hồng hoa, Xuyên khung, Địa long. Thành phần bài thuốc có 11 vị có tác dụng hoạt huyết thăng dương, bổ khí dưỡng huyết. Trong đó Đảng sâm, Hoàng Kỳ, Bạch truật có tác dụng bổ khí sinh huyết quy kinh tỳ, can, thận, cải thiện tình trạng đau đầu hoa mắt ở người huyết áp thấp do huyết hư. Xuyên khung, đương quy vừa lý khí, vừa bổ huyết, giúp Đảng sâm, Hoàng kỳ ích khí sinh huyết. Trần bì, Địa long, Hồng hoa có tác dụng hoạt huyết hành khí làm khí huyết lưu thông. Thăng ma, sài hồ có tác dụng thăng dương, giúp cho huyết đi lên trên, nuôi dưỡng não từ đó cải thiện được tình trạng suy giảm trí nhớ, và cũng làm tăng huyết áp. Cam thảo điều hòa các vị thuốc [25],[26].

Như vậy toàn bài có tác bổ khí sinh huyết, làm khí huyết lưu thông nhờ tác dụng thăng dương khí của thăng ma sài hồ đưa huyết lên não bộ, từ đó giảm được tình trạng suy giảm trí nhớ đồng thời cải thiện được huyết áp.

Chương 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu, đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu:

- Viên nang cứng Ích khí dưỡng não, hàm lượng: 500mg/viên, đóng lọ 60 viên/lọ.

Tên thuốc	Tên la tinh	Hàm lượng (mg)	Tiêu chuẩn
Đẳng sâm	<i>Radix Codonopsis</i>	42,9mg	Dược điển Việt Nam xuất bản lần thứ 5 [26] và tiêu chuẩn cơ sở (phụ lục 1)
Hoàng kỳ	<i>Radix Atragali</i>	71,4mg	
Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici Wallichii</i>	42,9mg	
Đương quy	<i>Radix Angelicae Sinensis</i>	42,9mg	
Bạch truật	<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>	42,9mg	
Thăng ma	<i>Rhizoma Cimicifugae</i>	42,9mg	
Sài hồ	<i>Radix Bupleuri</i>	42,9mg	
Hồng hoa	<i>Flos Carthami</i>	28,6mg	
Cam thảo	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	14,3mg	
Địa long	<i>Pheretima Asiatica Michaelsen</i>	17,9mg	
Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	21,4mg	

Bảng 2.1. Công thức 1 viên nang Ích khí dưỡng não 500mg



Ảnh 2.1. Viên nang cứng Ích khí dưỡng não

- Cơ sở sản xuất: Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương, đạt tiêu chuẩn cơ sở.
- Tác dụng: Bổ khí dưỡng huyết, hoạt huyết thăng dương.
- Liều dùng được tính theo gram bột cao dược liệu/kg/ngày. Mỗi viên nang cứng chứa 500mg bột cao dược liệu. Liều dự kiến sử dụng trên người là 10 viên nang/người/ngày, tương ứng 5000 mg/người/ngày.

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng, 150 con, chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng $20 \pm 2g$, được dùng cho nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ.
 - Chuột cống trắng, 40 con, chủng Wistar, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 160 – 180g, được dùng cho nghiên cứu tác dụng nâng chỉ số huyết áp.
- Động vật được cung cấp bởi Ban cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

Các chuột khỏe mạnh được đánh giá gồm: lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường, chất thải bình thường. Việc lựa chọn chuột nghiên cứu được tiến hành bởi 2 kỹ thuật

viên có nhiều kinh nghiệm. Sau khi lựa chọn xong, trực tiếp cán bộ nghiên cứu kiểm tra, đánh giá lại.

Chuột thí nghiệm được cho ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y
- Thời gian: tháng 06/2020 – tháng 09/2020

2.1.4. Hóa chất, dụng cụ trang thiết bị nghiên cứu

2.1.4.1. Thuốc - hóa chất

- Scopolamin hydrobromid lọ 1g (Sigma Aldrich, Hoa Kỳ).
- Donepezil hydrochlorid viên nén 5mg, tên biệt dược Aricept (Pfizer).
- Nước muối 0,9%.

2.1.4.2. Dụng cụ và trang thiết bị

- Mê lộ nước Morris (Morris water maze)
- Mê lộ nhiều chữ T (Multiple T maze)
- Mô hình thanh quay Rotarod của hãng Ugo Basile, model 7650.
- Máy ảnh kỹ thuật số Canon Zoom Lens 8X
- Phần mềm phân tích kết quả Anymaze, Công ty US Biotech, Hoa Kỳ
- Hệ thống Powerlab và phần mềm thu thập và xử lý số liệu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm

2.2.1.1. Động vật thí nghiệm:

- Chuột nhắt trắng 20 – 22g, nuôi trong phòng thí nghiệm, ăn uống tự do.

2.2.1.2. Phương pháp tiến hành:

a) Mô hình mê cung nước – Morris water maze

Mê cung nước Morris là mô hình đánh giá khả năng học tập không gian cho động vật gặm nhấm, định hướng từ vị trí bắt đầu, xung quanh chu vi của một khu vực bơi để xác định vị trí một bên đổ nhằm tránh khỏi ngập nước dựa trên các dấu hiệu gợi ý ngoại vi.

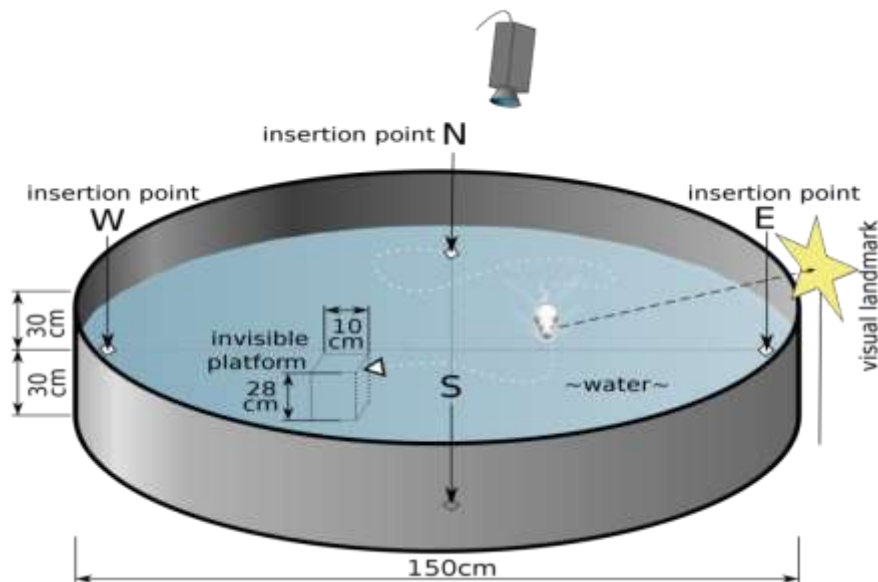
Chuột thường được gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin sau đó đánh giá tác dụng của thuốc thử [52],[53],[54],[55].

Cấu trúc mê cung nước:

+ Một bể chứa nước hình tròn, đường kính từ 1,2m cao 50 cm, mặt trong màu đen. Nước ổn định ở nhiệt độ 20 ± 2 độ C.

+ Bể được chia thành 4 phần bằng nhau. Xung quanh có đặt các hình ảnh nhận biết để định hướng không gian và xác định điểm xuất phát khi tiến hành thí nghiệm.

+ Một chân đế có mặt trên bằng phẳng để chuột có thể đứng vững đường kính 10cm, cao 25cm. Mực nước cao hơn chân đế khoảng 1 cm (mục đích để chuột không thể nhìn thấy được chân đế). Chân đế được đặt cố định ở chính giữa $\frac{1}{4}$ bể.



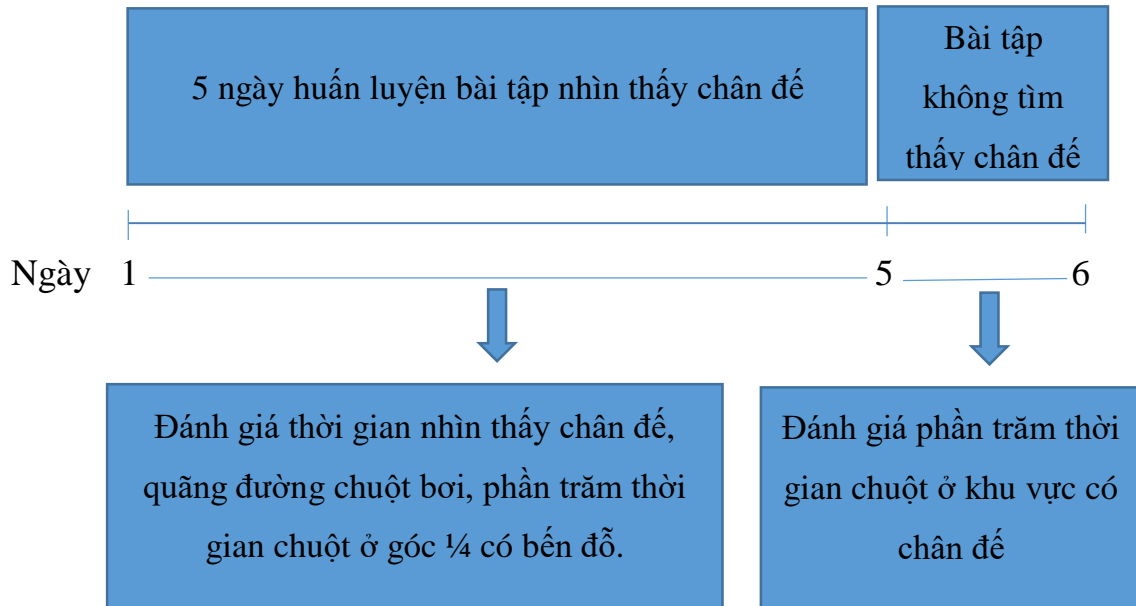
Hình 2.1. Cấu tạo mô hình Morris water maze

Qui trình tiến hành:

Chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng trắng): Tiêm màng bụng nước muối sinh lý 0,1ml/10g
- Lô 2 (mô hình): Tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g
- Lô 3 (chứng dương): Uống donepezil liều 2,4 mg/kg, 0,2 ml/10g, sau đó 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.
- Lô 4 (Ích khí dưỡng não liều thấp): Uống Ích khí dưỡng não liều 1200mg/kg/ngày (liều tương đương lâm sàng tính hệ số ngoại suy 12), sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.
- Lô 5 (Ích khí dưỡng não liều cao): Uống thuốc thử Ích khí dưỡng não liều 2400mg/kg/ngày (gấp 2 lần lô trị 1), sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.

Chuột được tiêm và cho uống thuốc trong 6 ngày liên tiếp



Sơ đồ 2.1. Quy trình bài tập trên test mê cung nước Morris

Thử nghiệm gồm 2 giai đoạn:

Giai đoạn 1: pha huấn luyện (học hỏi)

Thời gian 5 ngày

- **Bài tập nhìn thấy chân đế (bển đỗ)**

Vào ngày thứ 1 sau khi tiêm scopolamin 30 phút [53], chuột học bài đầu tiên là bài nhìn thấy chân đế, mỗi chuột trước khi tiến hành thử nghiệm được cho bơi tự do trong bể trong 1 phút để làm quen môi trường nước. Sau đó chuột được hướng đến vị trí chân đế và đặt lên vị trí chân đế trong 15 giây để nhận biết. Lần lượt đưa chuột đến các vị trí 1/4 còn lại của bể, hướng đầu chuột vào thành bể, tính thời gian chuột tìm thấy chân đế. Chuột sẽ được hướng dẫn nếu nó không tự tìm thấy bển đỗ trong 2 phút (nếu trên khoảng đó mà chuột không tìm thấy chân đế thì lấy kết quả là 2 phút). Sau khi tìm thấy bển đỗ chuột sẽ được ở đó 15 giây. Sau khi kết thúc mỗi lần thử, lấy chuột ra và dùng khăn bông lau khô chuột, ủ ấm bằng đèn hồng ngoại trong 10 -15 giây để bắt đầu lần thử tiếp (tùy thuộc môi trường, nhiệt độ). Mỗi ngày chuột được tập 3 lần, mỗi lần cách nhau 20 phút. Chỉ số đánh giá là trung bình thời gian chuột tìm thấy bển đỗ của các lần tập luyện trong ngày.

- **Bài tập không nhìn thấy chân đế**

Ngày thứ 2,3,4,5 của pha học hỏi tiến hành như ngày 1, nhưng lúc này chân đế được giấu đi bằng cách đặt dưới mực nước 1cm.

Chỉ số đánh giá:

- Thời gian chuột tìm thấy chân đế - bển đồ.
- Chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bển đồ.
- Phần trăm thời gian chuột ở góc $\frac{1}{4}$ có bển đồ

Giai đoạn 2: pha thăm dò trí nhớ

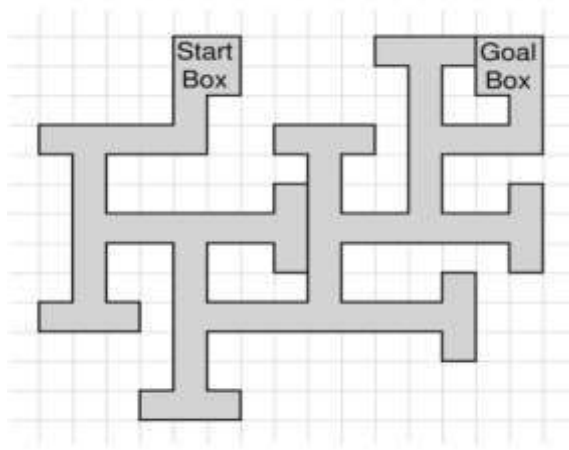
- Thực hiện vào ngày thứ 6: chân đế được bỏ ra khỏi bể, chuột được thả vào vị trí đối diện với góc $\frac{1}{4}$ bể trước đó chứa chân đế. Cho chuột được bơi một lần duy nhất trong bể 1 phút. Nếu có trí nhớ tốt, chuột sẽ dựa vào các vật định hướng không gian trong phòng và có xu hướng bơi lâu tại $\frac{1}{4}$ của mê lộ có đặt chân đế từ những ngày tập trước.
- Chỉ số đánh giá: Phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong $\frac{1}{4}$ bể trước đó đặt chân đế.

b) Mô hình Multiple T maze

Thử nghiệm kéo dài trong 8 ngày, chuột được huấn luyện trong 5 ngày đầu để đánh giá khả năng học hỏi và trí nhớ ngắn hạn, ngoài ra còn đánh giá ngày thứ 8 đánh giá trí nhớ dài hạn.

Cấu tạo của Multiple T maze:

Mê cung được làm bằng nhựa composit, có kích cỡ 150 x 130 x 15 cm, đường đi rộng 8 cm.

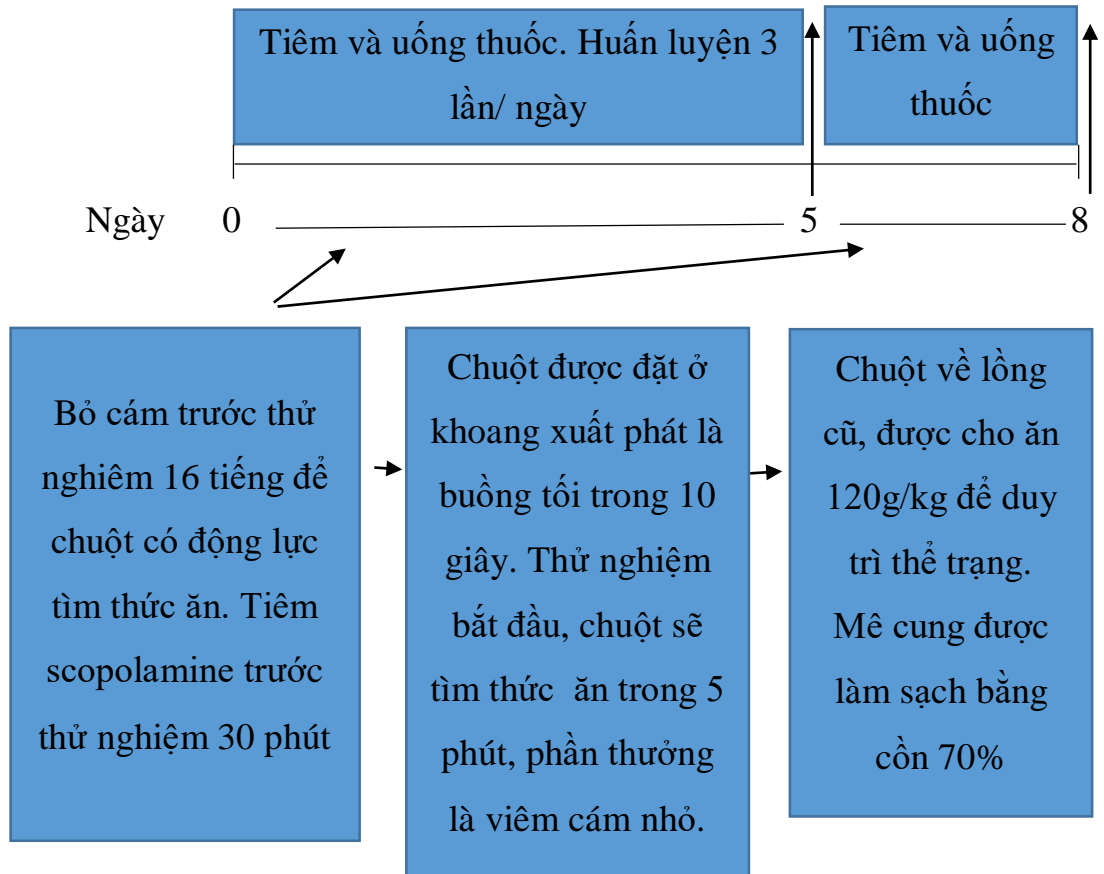


Hình 2.2. Cấu tạo mô hình Multiple T maze

Qui trình tiến hành:

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (Chứng sinh học): Tiêm màng bụng nước muối sinh lý 0,1ml/10g
- Lô 2 (mô hình): Tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g
- Lô 3 (chứng dương): Uống thuốc chứng dương donepezil liều 2,4 mg/kg, 0,2 ml/10g, sau đó 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g
- Lô 4 (Ích khí dưỡng não liều thấp): Uống thuốc thử Ích khí dưỡng não liều 1200mg/kg/ngày (liều tương đương lâm sàng, tính hệ số ngoại suy 12), sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g
- Lô 5 (Ích khí dưỡng não liều cao): Uống thuốc thử Ích khí dưỡng não liều 2400mg/kg/ngày (gấp 2 lần lô trị 1), sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.



Sơ đồ 2.2. Các bước tiến hành thử nghiệm trên mô hình Multiple T maze

Thử nghiệm chia thành 2 giai đoạn:

Giai đoạn 1- pha huấn luyện

Trước khi thực hiện thử nghiệm chính thức, chuột được huấn luyện 3 lần mỗi ngày khoảng cách giữa 2 lần huấn luyện 20 phút, trong 4 ngày.

Giai đoạn 2- pha thăm dò trí nhớ

Vào ngày thứ 5 và ngày 8 của thử nghiệm chuột được đưa vào mê cung một lần duy nhất tương tự như trên để thăm dò trí nhớ ngắn hạn và dài hạn.

Các chỉ số đánh giá:

- Thời gian chuột tìm tới được khoang đích
- Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích.

Số quyết định sai (khi chuột đặt cả 4 chân vào nhánh đó mới được tính là một lần lựa chọn).

c) Mô hình thanh quay Rotarod

Các thử nghiệm Rotarod được thiết kế để đánh giá sự phối hợp vận động và thăng bằng của chuột bằng cách cho chuột chạy trên thanh quay hình trụ tròn.



Hình 2.3. Trục quay rotarod

* Qui trình tiến hành

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (chứng trắng): Tiêm màng bụng nước muối sinh lý 0,1ml/10g
- Lô 2 (mô hình): Tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g
- Lô 3 (chứng dương): Uống thuốc chứng dương donepezil liều 2,4 mg/kg, 0,2 ml/10g, sau đó 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g
- Lô 4 (Ích khí dưỡng não liều thấp): Uống thuốc thử Ích khí dưỡng não liều 1200mg/kg/ngày, sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g
- Lô 5 (Ích khí dưỡng não liều cao): Uống thuốc thử Ích khí dưỡng não liều 2400mg/kg/ngày (gấp 2 lần lô trị 1), sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.

Chuột được tiêm và cho uống thuốc trong 7 ngày liên tiếp. Trước mỗi thử nghiệm chuột phải được đưa vào phòng thử nghiệm trước 30 phút.

Thử nghiệm được chia thành 2 giai đoạn

Giai đoạn 1- pha huấn luyện

Chuột được huấn luyện vào ngày 6 tính từ ngày đầu tiên dùng thuốc, sau khi tiêm scopolamin 30 phút tiến hành thử nghiệm 3 lần, mỗi lần cách nhau 10 phút. Cài đặt máy để tăng tốc độ từ 4 đến 40 vòng/phút trong 8 phút. Máy sẽ giữ nguyên tốc độ 4 vòng/phút không đổi cho đến khi bắt đầu chính thức ghi thời gian. Lăn lượt cho chuột lên thanh quay.

Sau mỗi lần huấn luyện lau sạch máy với cồn 70%.

Giai đoạn 2- pha thăm dò

Tiến hành vào ngày 7, tính từ ngày đầu tiên dùng thuốc, sau khi tiêm scopolamin 30 phút. Làm tương tự như pha huấn luyện. Ghi lại thời gian chuột rơi khỏi trục quay. Nếu quá 8 phút mà chuột vẫn không rơi khỏi trục quay thì dừng lại và ghi kết quả 8 phút. Mỗi chuột sẽ được thử nghiệm 3 lần, khoảng cách giữa các lần thử ít nhất 30 phút, kết quả được chọn là thời gian lâu nhất chuột ở lại trên trục quay trong 3 lần thăm dò.

Chỉ số đánh giá: Thời gian chuột ở lại trên trục quay

2.2.2. Đánh giá tác dụng nâng chỉ số huyết áp của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm

Nghiên cứu tác dụng nâng chỉ số huyết áp trên mô hình gây hạ huyết áp bằng diltiazem hydrochloride.

2.2.2.1. Động vật thí nghiệm

Chuột cống trắng trưởng thành, dòng Wistar, cả hai giống khỏe mạnh, trọng lượng từ 160 – 180g/con.

2.2.2.2. Phương pháp tiến hành

Tiến hành đánh giá theo phương pháp nghiên cứu được mô tả bởi Shinya Yokote và cộng sự (2012). Với việc tiêm từ từ thuốc hạ huyết áp chẹn kênh canxi, huyết áp chuột sẽ hạ từ từ.

- Chuột cống trắng 12 tuần tuổi, chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

+ Lô 1 (lô chứng): uống nước cất + không gây hạ huyết áp

+ Lô 2 (mô hình): Uống nước cất + gây hạ huyết áp

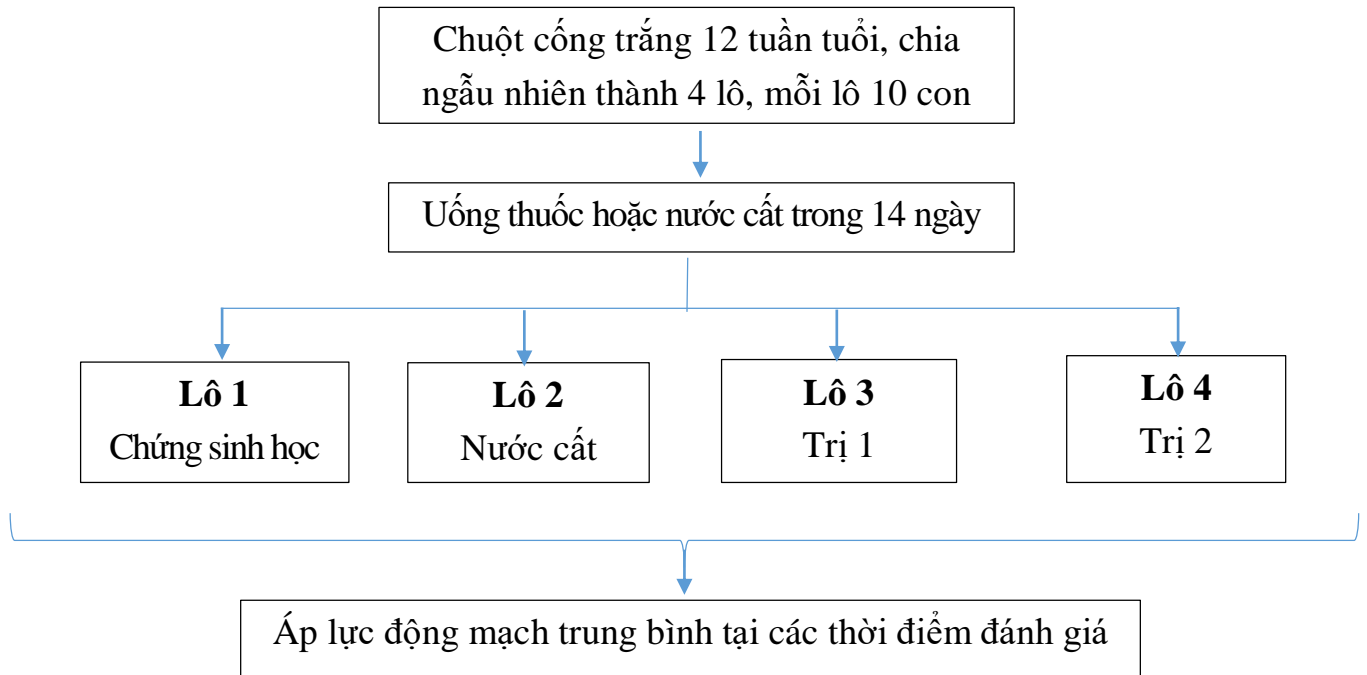
+ Lô 3 (trị 1): Uống viên nang cứng ích khí dưỡng não liều 700mg/kg + gây hạ huyết áp.

+ Lô 4 (trị 2): Uống viên nang cứng ích khí dưỡng não liều 1400mg/kg + gây hạ huyết áp.

- Tiến hành: Chuột được cho uống thuốc hoặc nước cất trong 14 ngày. Vào ngày thứ 14, sau uống thuốc 2 giờ, chuột được gây hạ huyết áp và theo dõi sự biến đổi của huyết áp động mạch theo thời gian. Các chuột được gây mê bằng isoflurane và được đặt nằm trên tấm sợi. Luồn catheter vào động mạch chủ bụng thông qua động mạch đùi bên trái, catheter được đổ đầy nước muối sinh lý chứa heparin (100 UI/ml) để đo áp lực động mạch trung bình (Mean arterial blood pressure – MAP) nhờ hệ thống chuyển đổi và đo huyết áp của hệ thống powerlab. Catheter thứ hai được đặt vào tĩnh mạch đùi trái để tiêm diltiazem (lô 2 đến lô 4), lô 1 không tiêm. Diltiazem hydrochloride (Sigma – Aldrich, St. Louis, MO) được hòa tan trong nước muối sinh lý (5mg/ml) và được bơm qua tĩnh mạch đùi trái bằng bơm điện tử, với liều 0,025 mg/kg/phút trong 2 giờ, và sau đó là liều 0,05 mg/kg/phút trong 2 giờ nữa. Huyết áp được theo dõi trong suốt thời gian từ lúc bắt đầu tiêm diltiazem cho đến hết 360 phút sau đó.

- Chỉ tiêu theo dõi: Áp lực động mạch trung bình tại các thời điểm đánh giá

2.2.2.3. Quy trình nghiên cứu



Sơ đồ 2.3. Nghiên cứu tác dụng nâng chỉ số huyết áp của Ích khí dưỡng não trên thực nghiệm

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý bằng thuật toán thống kê y sinh học với sự hỗ trợ của phần mềm Microsoft Excel 2007 và SPSS 16.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y
- Thời gian: tháng 06/2020 đến tháng 09/2020

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng “ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm

3.1.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ trên mô hình Morris water maze

3.1.1.1. Kết quả bài tập đánh giá khả năng học tập

- Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian tìm thấy chân đế ($\bar{X} \pm SD$, giây)

Lô thực nghiệm	Thời gian chuột tìm thấy chân đế (s)				
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Lô 1: chứng trắng (1)	40,68 ± 4,16	44,76 ± 3,95	36,98 ± 3,64	31,68 ± 3,59	22,28 ± 2,68
Lô 2: mô hình (2)	81,62 ± 6,03	84,63 ± 6,36	73,12 ± 7,03	69,85 ± 6,18	66,84 ± 5,90
Lô 3: donepezil (3)	53,15 ± 5,20	64,94 ± 5,92	50,68 ± 4,96	48,92 ± 3,95	33,41 ± 3,04
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	58,91 ± 4,92	68,98 ± 6,49	55,97 ± 5,62	51,03 ± 4,91	37,69 ± 3,93
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	55,74 ± 5,61	65,27 ± 5,75	53,10 ± 4,89	49,34 ± 3,94	32,98 ± 3,88
p	p ₂₋₁ < 0,001; p _{3,4,5-2} < 0,01; p _{giữa các lô 3,4,5} > 0,05				

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian tìm thấy chân đế ($\bar{X} \pm SD$, giây)

Nhận xét: Tại tất cả các ngày đánh giá, chuột ở lô bệnh lý (gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin) có thời gian tìm thấy chân đế dài hơn so với

chuột ở lô chứng không gây suy giảm trí nhớ ($p < 0,001$). Chuột ở các lô dùng Ích khí dưỡng não (lô trị 1 và lô trị 2), cũng như lô dùng donepezil có thời gian tìm thấy chân đế ngắn hơn so với chuột ở lô bệnh lý ($p < 0,01$). Tác dụng này là tương đương khi so sánh thời gian chuột tìm thấy chân đế ở 2 lô dùng Ích khí dưỡng não với nhau cũng như khi so sánh với lô dùng donepezil ($p > 0,05$).

- Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến quãng đường tìm thấy chân đế

- bền đỗ ($\bar{X} \pm SD, m$)

Lô thực nghiệm	Chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bền đỗ (m)				
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Lô 1: chứng trắng (1)	13,06±0,82	12,93±1,01	11,05±0,93	9,84±0,86	7,37 ± 0,65
Lô 2: mô hình (2)	20,15±1,69	23,46±1,64	22,16±1,79	20,88±1,32	18,95±1,67
Lô 3: donepezil (3)	14,16±1,12	17,15±1,05	16,14±1,33	12,09±0,91	7,66± 0,84
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	14,53±1,24	18,09±1,48	16,92±1,17	13,16±1,06	8,68±0,89
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	13,98±1,15	16,96±1,61	15,94±1,21	11,95±1,10	7,42±0,73
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô } 3,4,5} > 0,05$				

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến quãng đường tìm thấy chân đế - bền đỗ ($\bar{X} \pm SD, m$)

Nhận xét: Tại tất cả các ngày đánh giá, chuột ở lô bệnh lý (gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin) có quãng đường tìm thấy chân đế dài hơn so với chuột ở lô chứng không gây suy giảm trí nhớ ($p < 0,001$). Chuột ở các lô dùng Ích khí dưỡng não (lô trị 1 và trị 2), cũng như lô dùng donepezil có quãng đường tìm thấy chân đế ngắn hơn so với chuột ở lô bệnh lý ($p < 0,01$).

Tác dụng này là tương đương khi so sánh quãng đường chuột tìm thấy chân đế ở 2 lô dùng Ích khí dưỡng não với nhau cũng như khi so sánh với lô dùng donepezil ($p > 0,05$).

3.1.1.2. Kết quả bài tập đánh giá khả năng ghi nhớ

- Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế ($\bar{X} \pm SD, \%$)

Lô thực nghiệm	Phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế (%)	Phần trăm giảm so với lô 1	Phần trăm tăng so với lô 2
Lô 1: chứng trắng (1)	26,92 ± 1,04	-	188,22 %
Lô 2: mô hình (2)	9,34 ± 0,58	65,30 %	-
Lô 3: donepezil (3)	23,85 ± 0,96	11,40 %	155,35 %
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	24,21 ± 1,10	10,07 %	159,21 %
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	25,06 ± 0,88	6,91 %	168,31 %
p	$p_{2-1} < 0,01$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$		

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế ($\bar{X} \pm SD, \%$)

Nhận xét: Chuột ở lô bệnh lý (gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin) có phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế ngắn hơn so với chuột ở lô chứng không gây suy giảm trí nhớ ($p < 0,01$). Chuột ở các lô dùng Ích khí dưỡng não (lô trị 1 và trị 2), cũng như lô

dùng donepezil có phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong $\frac{1}{4}$ bể trước đó đặt chân để dài hơn so với chuột ở lô bệnh lý ($p < 0,01$). Tác dụng này là tương đương khi so sánh phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong $\frac{1}{4}$ bể trước đó đặt chân để ở 2 lô dùng Ích khí dưỡng não với nhau cũng như khi so sánh với lô dùng donepezil ($p > 0,05$).

3.1.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ trên mô hình Multiple T maze

3.1.2.1. Kết quả đánh giá khả năng học tập

- Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian tìm tới được khoang đích ($\bar{X} \pm SD, s$)

Lô thực nghiệm	Thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s)			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Lô 1: chứng trắng (1)	121,06 \pm 9,82	112,18 \pm 8,46	89,54 \pm 8,01	72,33 \pm 6,69
Lô 2: mô hình (2)	310,22 \pm 15,47	286,20 \pm 14,36	284,91 \pm 16,03	249,63 \pm 12,75
Lô 3: donepezil (3)	224,58 \pm 12,96	156,12 \pm 11,39	124,55 \pm 9,85	98,34 \pm 8,82
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	231,42 \pm 12,09	159,02 \pm 10,98	121,79 \pm 1,67	97,61 \pm 9,95
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	220,85 \pm 14,32	151,18 \pm 12,63	122,93 \pm 11,58	93,62 \pm 8,91
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$			

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian tìm tới được khoang đích ($\bar{X} \pm SD, s$)

Nhận xét: Kết quả tại bảng 3.4 cho thấy, thời gian ở lô 2 dài hơn lô 1 ở tất cả các ngày ($p < 0,001$); ở lô 3, lô 4 và lô 5 đều ngắn hơn lô 2 ở các ngày nghiên cứu ($p < 0,01$); ở lô 4 và lô 5 tương đương nhau và tương đương với lô 3 ở các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

- Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích ($\bar{X} \pm SD, m$)

Lô thực nghiệm	Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Lô 1: chứng trắng (1)	46,98 ± 1,02	28,25 ± 0,82	18,34 ± 0,69	14,99 ± 0,93
Lô 2: mô hình (2)	92,08 ± 3,24	71,62 ± 2,83	68,15 ± 2,18	62,96 ± 1,84
Lô 3: donepezil (3)	56,72 ± 1,26	37,12 ± 1,91	33,65 ± 2,16	30,08 ± 1,49
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	61,35 ± 2,17	39,88 ± 1,64	32,96 ± 2,58	31,14 ± 1,73
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	57,96 ± 3,28	36,96 ± 2,05	30,81 ± 1,65	29,68 ± 1,96
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$			

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích ($\bar{X} \pm SD, m$)

Nhận xét: Kết quả bảng 3.5 cho thấy quãng đường ở lô 2 dài hơn lô 1 ở tất cả các ngày ($p < 0,001$); ở lô 3, lô 4 và lô 5 đều ngắn hơn lô 2 ở các ngày nghiên cứu ($p < 0,01$); ở lô 4 và lô 5 tương đương nhau và tương đương với lô 3 ở các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

- Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến số lần quyết định sai

($\bar{X} \pm SD$, lần)

Lô thực nghiệm	Số lần quyết định sai (lần)			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Lô 1: chứng trắng (1)	6,42 ± 0,16	4,02 ± 0,21	3,23 ± 0,12	2,89 ± 0,18
Lô 2: mô hình (2)	11,54 ± 0,28	7,43 ± 0,35	6,98 ± 0,42	6,15 ± 0,29
Lô 3: donepezil (3)	9,17 ± 0,27	5,27 ± 0,19	5,20 ± 0,23	4,86 ± 0,16
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	9,22 ± 0,18	5,44 ± 0,22	5,25 ± 0,36	5,09 ± 0,15
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	9,12 ± 0,24	5,23 ± 0,26	5,18 ± 0,17	4,92 ± 0,20
p	p ₂₋₁ < 0,01; p _{3,4,5-2} < 0,05; p _{giữa các lô 3,4,5} > 0,05			

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến số lần quyết định sai

($\bar{X} \pm SD$, lần)

Nhận xét:

Kết quả bảng 3.6 cho thấy số lần quyết định sai ở lô 2 nhiều hơn lô 1 ở tất cả các ngày ($p < 0,01$); ở lô 3, lô 4 và lô 5 đều ít hơn lô 2 ở các ngày nghiên cứu ($p < 0,05$); ở lô 4 và lô 5 tương đương nhau và tương đương với lô 3 ở các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

3.1.2.2. Kết quả đánh giá trí nhớ ngắn hạn

- Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến các chỉ số đánh giá trí nhớ ngắn hạn (N5) trên mô hình Multiple T maze

Lô thực nghiệm	Thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s)	Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích (m)	Số lần quyết định sai
Lô 1: chứng trắng (1)	58,32 ± 2,32	10,31 ± 0,65	2,82 ± 0,08
Lô 2: mô hình (2)	236,93 ± 9,85	47,72 ± 1,46	6,25 ± 0,12
Lô 3: donepezil (3)	74,16 ± 2,16	19,98 ± 1,04	3,91 ± 0,09
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	76,95 ± 1,73	20,82 ± 2,01	4,03 ± 0,10
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	73,98 ± 2,07	19,12 ± 1,82	3,88 ± 0,06
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$	$p_{2-1} < 0,01$; $p_{3,4,5-2} < 0,05$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$	

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến các chỉ số đánh giá trí nhớ ngắn hạn (N5) trên mô hình Multiple T maze

Nhận xét: Kết quả bảng 3.7 cho thấy tại thời điểm đánh giá trí nhớ ngắn hạn (N5), thời gian chuột tìm tới được khoang đích, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích, và số lần quyết định sai ở lô 2 đều lớn hơn lô 1 ($p < 0,001$ và $p < 0,01$); ở lô 3, lô 4 và lô 5 đều ít hơn lô 2 ($p < 0,01$ và $p < 0,05$); ở lô 4 và lô 5 tương đương nhau và tương đương với lô 3 ($p > 0,05$).

3.1.2.3. Kết quả đánh giá trí nhớ dài hạn

- Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng anxo đến các chỉ số đánh giá trí nhớ dài hạn (N8) trên mô hình Multiple T maze

Lô thực nghiệm	Thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s)	Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích (m)	Số lần quyết định sai
Lô 1: chứng trắng (1)	60,04 ± 3,15	12,09 ± 1,04	2,96 ± 0,13
Lô 2: mô hình (2)	258,98 ± 8,93	56,32 ± 2,16	6,36 ± 0,15
Lô 3: donepezil (3)	77,79 ± 2,92	21,64 ± 1,74	4,81 ± 0,10
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	82,04 ± 3,03	22,11 ± 1,58	4,88 ± 0,09
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	76,63 ± 2,69	21,98 ± 2,08	4,56 ± 0,08
p	$p_{2-1} < 0,001;$ $p_{3,4,5-2} < 0,01;$ $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$	$p_{2-1} < 0,01;$ $p_{3,4,5-2} < 0,05;$ $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$	

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng anxo đến các chỉ số đánh giá trí nhớ dài hạn (N8) trên mô hình Multiple T maze

Nhận xét: Kết quả bảng 3.8 cho thấy tại thời điểm đánh giá trí nhớ dài hạn (N8), thời gian chuột tìm tới được khoang đích, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích, và số lần quyết định sai ở lô 2 đều lớn hơn lô

1 ($p < 0,001$ và $p < 0,01$); ở lô 3, lô 4 và lô 5 đều ít hơn lô 2 ($p < 0,01$ và $p < 0,05$); ở lô 4 và lô 5 tương đương nhau và tương đương với lô 3 ($p > 0,05$).

3.1.3. Kết quả đánh giá trên khả năng bám giữ và phối hợp vận động trên mô hình Rotarod

3.1.4. - Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian chuột ở lại trên trục quay Rotarod

Lô thực nghiệm	Thời gian chuột ở lại trên trục quay (s)	Phần trăm giảm so với lô 1	Phần trăm tăng so với lô 2
Lô 1: chứng trắng (1)	25,14 ± 2,20	-	56,83 %
Lô 2: mô hình (2)	16,03 ± 1,47	36,24 %	-
Lô 3: donepezil (3)	20,36 ± 1,65	19,01 %	27,01 %
Lô 4: Ích khí dưỡng não liều thấp (4)	19,45 ± 1,59	22,63 %	21,33 %
Lô 5: Ích khí dưỡng não liều cao (5)	20,81 ± 1,92	17,22 %	29,82 %
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$		

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não đến thời gian chuột ở lại trên trục quay Rotarod

Nhận xét: Kết quả tại bảng 3.9 cho thấy, thời gian chuột ở lại trên trục quay ở lô 2 nhỏ hơn lô 1 ($p < 0,001$); ở lô 3, lô 4 và lô 5 lớn hơn lô 2 ($p < 0,01$); ở lô 4 và lô 5 tương đương nhau và tương đương với lô 3 ($p > 0,05$).

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng nâng chỉ số huyết áp trên động vật thí nghiệm của viên nang cứng Ích khí dưỡng não

3.3. - Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não lên áp lực động mạch trung bình (mmHg) (Mean arterial blood pressure – MAP) của các lô chuột nghiên cứu

Lô nghiên cứu Thời điểm đánh giá	Lô 1: chứng trắng (1)	Lô 2: mô hình (2)	Lô 3: trị 1 (3)	Lô 4: trị 2 (4)	p
Xuất phát điểm (Trước tiêm Diltiazem)	96,83 ±8,24	95,98 ±9,21	98,65±9,96	97,26±9,15	p > 0,05
Thời điểm 60 phút (kể từ lúc bắt đầu tiêm Diltiazem)	92,95 ±7,69	83,45 ±9,15	89,16±9,74	90,88±9,32	p _{1,3,4-2} < 0,05 p _{3,4-1} > 0,05 p ₃₋₄ > 0,05
Thời điểm 120 phút (kể từ lúc bắt đầu tiêm Diltiazem)	94,76 ±8,12	83,91 ±8,68	89,04±9,33	90,09±8,94	p _{1,3,4-2} < 0,05 p _{3,4-1} > 0,05 p ₃₋₄ > 0,05
Thời điểm 180 phút (kể từ lúc bắt đầu tiêm Diltiazem)	92,59 ±9,02	79,62 ±7,94	86,96±8,19	88,63±8,06	p ₂₋₁ < 0,01 p _{3,4-2} < 0,05 p _{3,4-1} < 0,05 p ₃₋₄ > 0,05
Thời điểm 240 phút (kể từ lúc bắt đầu tiêm Diltiazem)	91,68 ±8,19	72,35 ±7,09	82,54±8,28	85,59±8,16	p ₂₋₁ < 0,01 p _{3,4-2} < 0,05 p _{3,4-1} < 0,05 p ₃₋₄ > 0,05
Thời điểm 300 phút (kể từ lúc bắt đầu tiêm Diltiazem)	90,98± 8,61	66,52± 6,82	75,91±7,63	81,90±8,08	p ₂₋₁ < 0,01 p _{3,4-2} < 0,05 p _{3,4-1} < 0,01 p ₃₋₄ > 0,05
Thời điểm 360 phút (kể từ lúc bắt đầu tiêm Diltiazem)	90,67± 9,73	61,94± 7,24	73,96±7,75	77,93±7,91	p ₂₋₁ < 0,01 p _{3,4-2} < 0,05 p _{3,4-1} < 0,01 p ₃₋₄ > 0,05

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Ích khí dưỡng não lên áp lực động mạch trung bình (mmHg) (Mean arterial blood pressure – MAP) của các lô chuột nghiên cứu

Nhận xét:

- Tại thời điểm xuất phát điểm, áp lực động mạch trung bình của chuột ở các lô là tương đương ($p > 0,05$).
- Tại các thời điểm đo sau khi bắt đầu tiêm Diltiazem, áp lực động mạch trung bình của chuột ở lô mô hình giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng trắng ($p < 0,05$ tại thời điểm 60 phút và 120 phút, $p < 0,01$ tại các thời điểm 180, 240, 300 và 360 phút).
- Tại các thời điểm đo sau khi bắt đầu tiêm Diltiazem, áp lực động mạch trung bình của chuột của hai lô dùng Ích khí dưỡng não luôn cao hơn so với lô mô hình với $p < 0,05$.
- Ở lô dùng Ích khí dưỡng não liều cao, áp lực động mạch trung bình của chuột luôn có xu hướng cao hơn so với ở lô dùng Ích khí dưỡng não liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu thuốc trên động vật thực nghiệm là một việc bắt buộc phải tiến hành trước khi thuốc được đưa ra để điều trị trên lâm sàng. Nghiên cứu của chúng tôi lựa chọn đối tượng nghiên cứu là chuột nhắt trắng để tiến hành thí nghiệm.

Chuột thí nghiệm đảm bảo đồng đều về các tiêu chuẩn: chuột nhắt trắng chủng Swiss thuần chủng, cả hai giới, trưởng thành, nặng 20 ± 2 gram do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp, được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý 7 ngày trước và trong suốt thời gian nghiên cứu. Những tiêu chuẩn trên nhằm đảm bảo sự đồng đều về đáp ứng sinh học của chuột thực nghiệm. Đã có nhiều nghiên cứu sử dụng những súc vật khác nhau như thỏ, lợn, bò, khỉ..., nhưng chuột nhắt trắng là động vật chọn làm thí nghiệm phổ biến hơn cả do nó có một số ưu điểm: tuổi sinh trưởng của chuột nhắt trắng ngắn hơn cả do đó các quá trình sinh học xảy ra trong cơ thể nhanh chóng hơn, tác dụng của thuốc trên cơ thể chúng xảy ra sớm hơn so các súc vật khác có thời gian sinh trưởng kéo dài hơn, chuột nhắt trắng có sự tương đối đồng nhất giữa các cá thể, có thể dùng với một số lượng lớn mà ít có sự khác biệt giữa các cá thể. Do đó, thời gian tiến hành thí nghiệm ngắn hơn, các hóa chất, dược liệu dùng trong nghiên cứu đỡ tốn kém hơn, việc cho ăn, chăm sóc dễ dàng, tiện lợi, an toàn so với súc vật khác. Hơn nữa giá thành của chuột nhắt trắng rẻ hơn so với các động vật lớn khác nên chọn động vật này sẽ tiết kiệm được chi phí [52].

4.2. Bàn luận về dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm

4.2.1. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên mô hình Morris water maze

Mê cung nước Morris là một thử nghiệm đánh giá khả năng học hỏi và trí nhớ không gian dài hạn [52],[53]. Chuột được đặt trong một bể bơi có hình tròn lớn và nhiệm vụ của nó là tìm thấy bến đỗ để thoát khỏi nước. Có nhiều yếu tố làm ảnh hưởng đến hiệu suất của chuột bao gồm môi trường, giới tính, thuốc... [54],[55]. Có 3 chiến thuật cơ bản để chuột thoát khỏi mê lộ: ghi nhớ các động tác cơ bản để đến được bến đỗ, sử dụng các dấu hiệu trực quan để tìm để tìm đến bến đỗ, sử dụng các tín hiệu xa làm điểm tham chiếu để xác định vị trí nó đang bơi và vị trí bến đỗ. Đặc biệt sự linh hoạt trong quá trình nhận thức của chuột còn có thể được đánh giá bằng cách sử dụng mô hình mê lộ nước trong đó bến đỗ bị dấu đi, hoặc chuột liên tục bị thay đổi vị trí [54],[55].

Suy giảm trí nhớ là bệnh lý thoái hóa thần kinh thường gặp ở lứa tuổi trung niên và cao tuổi với các biểu hiện: Giảm khả năng tư duy, độ tập trung kém, hay quên, đãng trí. Ở những người có biểu hiện suy giảm trí nhớ nhiều, thường có sự mất synap lan tỏa ở các vùng của vỏ não, trong đó có các nhân xám ở nền não trước là nơi sản xuất nhiều acetylcholine - một chất dẫn truyền thần kinh đóng vai trò quan trọng trong quá trình học tập và trí nhớ [55].

Như vậy, ở người có sự giảm sút lượng acetylcholin trên thần kinh trung ương, đó là một trong những nguyên nhân làm ảnh hưởng đến khả năng học hỏi và trí nhớ của bệnh nhân sa sút trí tuệ. Scopolamin là 1 chất đã được chứng minh có thể gây ra những biến đổi về hoạt động thần kinh (nhận thức, điện não đồ...) giống như ở người sa sút trí tuệ [52],[53]. Cơ chế tác dụng của scopolamin là đối kháng cạnh tranh với acetylcholin tại receptor M của hệ Muscarinic, khi vào cơ thể scopolamin nhanh chóng được phân phối nhiều

vào não, tại đây chất này làm mất tác dụng của acetylcholin trên hệ thần kinh trung ương và có thể gây suy giảm trí nhớ đặc biệt với liều cao. Chính vì vậy, nhiều nghiên cứu đã sử dụng scopolamin để gây mô hình suy giảm khả năng học hỏi và trí nhớ trên động vật thực nghiệm [55].

Hiện nay, để điều trị sa sút trí tuệ trên lâm sàng, nhóm thuốc giúp làm chậm tiến triển và giảm triệu chứng hiệu quả nhất là nhóm thuốc ức chế enzyme acetylcholinesterase – enzyme thủy phân acetylcholin. Donepezil là một trong các thuốc được FDA cấp phép để điều trị chứng sa sút trí tuệ. Dựa trên cơ chế tác dụng và thực tế trên lâm sàng đây là thuốc được dùng rất phổ biến, chúng tôi đã lựa chọn donepezil làm thuốc chứng dương [57],[58].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, khi so sánh ngày 2,3,4,5 với ngày đầu tiên ở từng lô đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về khả năng học tập và ghi nhớ của chuột, điều này chứng tỏ rằng chuột ở các nhóm đều có khả năng học tập và ghi nhớ (bảng 3.1, 3.2, 3.3).

Tại lô mô hình ở các bảng 3.1, 3.2, 3.3 cho thấy dùng scopolamin (lô 2) trên chuột nhắt trắng đã làm kéo dài thời gian và quãng đường tìm thấy chân đế, làm giảm tỷ lệ bơi trong 1/4 bể có chân đế, qua đó cho thấy scopolamin đã gây suy giảm trí nhớ trên chuột nhắt trắng. Như vậy đề tài đã thành công trong việc sử dụng mô hình gây suy giảm trí nhớ trên chuột.

Trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin, sau đó dùng donepezil làm thuốc chứng dương cho thấy donepezil liều 2,4mg/kg giảm rõ rệt thời gian và quãng đường tìm thấy chân đế, làm tăng rõ rệt phần trăm thời gian bơi của chuột trong 1/4 bể có chân đế. Điều này cho thấy thuốc Donepezil thực sự cho thấy hiệu quả trên chuột bị suy giảm trí nhớ. Lô 4 uống Ích khí dưỡng não liều thấp làm giảm thời gian và quãng đường tìm thấy chân đế (($p < 0,01$), làm tăng phần trăm thời gian bơi của chuột trong 1/4 bể có chân đế khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng bệnh lý ($p < 0,001$).

Nhóm chuột uống Ích khí dưỡng não liều thấp có khả năng học tập và trí nhớ tốt hơn so với nhóm chứng bệnh lý, điều này cũng bước đầu cho thấy Ích khí dưỡng não giúp cải thiện khả năng nhớ của chuột ở bài tập không nhìn thấy bên đồ.

Ở lô uống Ích khí dưỡng não liều cao cũng cho thấy tác dụng làm giảm thời gian và quãng đường tìm thấy chân đế ($p < 0,01$), làm tăng phần trăm thời gian bơi của chuột trong $\frac{1}{4}$ bể có chân đế khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng bệnh lý ($p < 0,001$).

Như vậy, kết quả thử nghiệm với viên nang cứng Ích khí dưỡng não cho kết quả cải thiện khả năng học tập ở pha huấn luyện tốt tương đương so với thuốc tham chiếu, cho phép khẳng định tác dụng của chế phẩm Ích khí dưỡng não làm tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ khi đánh giá trên mô hình thực nghiệm. Với 2 mức liều thử nghiệm (mức liều cao và mức liều thấp), tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ ở mức liều cao có xu hướng tốt hơn, tuy nhiên chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy ở mức liều thấp (1200 mg/kg/ngày ở chuột nhắt trắng), tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ đã được thể hiện rõ. Tác dụng này tăng không đáng kể khi tăng mức liều lên. Đây là cơ sở để định mức liều cho sử dụng trên lâm sàng.

4.2.2. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên mô hình Multiple T maze

Để khẳng định được tác dụng của chế phẩm nghiên cứu, một bộ gồm nhiều các thử nghiệm được tiến hành. Các mô hình nghiên cứu vừa có vai trò bổ khuyết cho nhau, vừa có vai trò khẳng định lại tác dụng đã được thử nghiệm ở mô hình kia.

Trong mô hình mê lộ nhiều chữ T, khả năng ghi nhớ đường của chuột được áp dụng là cơ sở khoa học cho thử nghiệm. Trong nghiên cứu này, chuột học cách tìm ra khoang đích dựa trên trí nhớ của chúng về nhánh của mê cung

chúng đã đi trước đây. Đây là một mê lộ phức tạp được ghép bởi nhiều khúc hình chữ T và là mê lộ thách thức với chuột, động lực thôi thúc chúng là thức ăn - phần thưởng trong khoang đích. Các con chuột khám phá mê lộ, học cách nhớ tìm kiếm thức ăn. Cụ thể : chuột được trải qua pha huấn luyện trong 4 ngày, sau đó là pha thăm dò trí nhớ tại 2 thời điểm, N5 để thăm dò trí nhớ ngắn hạn và N8 để thăm dò trí nhớ dài hạn. Khoảng thời gian 4 ngày huấn luyện đã được các nghiên cứu trước đó chỉ ra là đủ để chuột có được các bước tiến đều đặn của giai đoạn học tập và hình thành được trí nhớ về đường đi tìm thức ăn trong mê lộ. Các chỉ tiêu đánh giá trong mô hình này bao gồm thời gian chuột tìm tới được khoang đích, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích và số lần quyết định sai (khi chuột đặt cả 4 chân vào nhánh đó mới được tính là một lần lựa chọn). Các chỉ tiêu này được dùng để đánh giá cho cả pha huấn luyện và pha thăm dò khả năng ghi nhớ.

Kết quả nghiên cứu bảng 3.4, 3.5, 3.6, 3.7 trên mô hình này cho thấy, chuột bị gây suy giảm trí nhớ bởi Scopolamine sẽ có thời gian tìm tới được khoang đích dài hơn, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích lớn hơn và số lần quyết định sai nhiều hơn so với lô chứng ($p < 0,001$) ở tất cả các ngày của pha huấn luyện cũng như pha thăm dò trí nhớ. Các lô chuột dùng Ích khí dưỡng não cũng như lô dùng thuốc tham chiếu donepezil có thời gian tìm tới được khoang đích nhanh hơn ($p < 0,01$), chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích nhỏ hơn ($p < 0,01$) và số lần quyết định sai ít hơn viên nang cứng Ích khí dưỡng não có tác dụng làm tăng cường khả năng học tập, tăng cường trí nhớ ngắn hạn và trí nhớ dài hạn khi đánh giá trên mô hình mê lộ nhiều chữ T. Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả đánh giá trên mô hình mê cung nước. Sự không khác biệt khi so sánh giữa các lô dùng thuốc chứng tỏ ích khí dưỡng não dùng liều 1200 mg/kg/ngày và 2400 mg/kg/ngày trên chuột nhắt trắng đã thể hiện tác dụng tốt, tương đương với

donepezil liều 2,4mg/kg. Sự tăng liều của ích khí dưỡng não có xu hướng làm tăng tác dụng nhưng không đáng kể.

Như vậy, Mê cung nhiều chữ T đã chứng minh rằng những con chuột có khả năng tạo ra một bản đồ nhận thức khi tiếp xúc với môi trường xung quanh và có thể xử lý thông tin này khi cần thiết để hoàn thành một nhiệm vụ và Ích khí dưỡng não ở cả 2 mức liều đều làm giảm rõ rệt thời gian và quãng đường tìm thấy khoang đích, làm giảm số lần quyết định sai của chuột so với lô mô hình, tác dụng cải thiện trí nhớ của thuốc thử giữa 2 liều là tương đương nhau và tương đương với donepezil liều 2,4mg/kg.

4.2.3. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên mô hình trục quay Rotarod

Các bệnh lý do sự ảnh hưởng đến hoạt động của thần kinh trung ương thường không chỉ gây ảnh hưởng đến khả năng học tập, ghi nhớ mà còn ảnh hưởng lên nhiều chức năng khác, đặc biệt là khả năng phối hợp vận động và giữ thăng bằng. Mô hình rotarod là mô hình tiến hành đơn giản nhưng có độ tin cậy cao để đánh giá chức năng này.

Thử nghiệm Rotarod được thiết kế dựa trên sự phối hợp vận động và thăng bằng của chuột bằng cách cho chuột chạy trên thanh quay hình trụ tròn nhằm đánh giá trí nhớ ngắn hạn của chuột. Chỉ số đánh giá là thời gian chuột ở trên trụ quay. Đây là mô hình được sử dụng để đánh giá nhiều chức năng khác nhau trên động vật gặm nhấm như: an thần, cơ lực, trí nhớ. Tùy vào mục tiêu nghiên cứu mà thiết kế nghiên cứu sẽ khác nhau. Với mục đích đánh giá trí nhớ thì thiết kế nghiên cứu sẽ được chia thành 2 giai đoạn: học hỏi và đánh giá chính thức. Chuột nào có trí nhớ tốt hơn thì thời gian chuột ở lại trên trục quay ở giai đoạn đánh giá chính thức sẽ lâu hơn [54],[55].

Kết quả nghiên cứu trên mô hình cho thấy, Thuốc scopolamin không chỉ làm ảnh hưởng đến khả năng học tập và ghi nhớ của chuột, còn có tác dụng ức chế thần kinh trung ương, làm giảm phối hợp thần kinh-cơ, giảm khả

năng giữ thăng bằng và định hướng không gian nên giảm khả năng đeo bám trên thanh quay. Thời gian chuột ở lại trên trục quay ở lô tiêm Scopolamine giảm rõ so với lô chứng ($p < 0,001$). Thuốc tham chiếu donepezil và viên nang cứng Ích khí dưỡng não làm tăng thời gian chuột ở lại trên trục quay so với lô mô hình ($p < 0,01$). So sánh giữa các lô dùng thuốc nghiên cứu với lô dùng donepezil không thấy có sự khác biệt ($p > 0,05$). Như vậy, thuốc Ích khí dưỡng não dùng liều 1200 mg/kg/ngày và 2400 mg/kg/ngày trên chuột nhắt trắng đã thể hiện tác dụng làm tăng khả năng phối hợp vận động và giữ thăng bằng trên mô hình Rotarod tốt, tương đương với donepezil liều 2,4mg/kg. Sự tăng liều của ích khí dưỡng não có xu hướng làm tăng tác dụng này của thuốc nhưng không đáng kể.

Có thể giải thích tác dụng cải thiện khả năng học tập và trí nhớ của viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên các mô hình như sau:

Viên nang cứng Ích khí dưỡng não với thành phần là 11 vị thuốc có tác dụng hoạt huyết, ích khí dưỡng huyết. Từng thành phần trong viên nang đã được chứng minh trên dược lý hiện đại cho thấy khả năng cải thiện trí nhớ và học tập như: saponin trong Đẳng sâm, Xuyên khung, Sài hồ có tác dụng nâng cao sự tập trung, chống mệt mỏi. Hoàng kỳ trong thành phần có các acid amin có vai trò quan trọng trong quá trình tổng hợp các protein và tham gia trực tiếp vào sự sống của cơ thể con người, có tác dụng tổng hợp một số các loại nội tiết tố và chất dẫn truyền trong hệ thần kinh trung ương, tăng cường miễn dịch không đặc hiệu và tác dụng chống lão hóa. Đương quy có tác dụng kéo dài thời gian gây ngủ của thuốc ngủ, kích thích miễn dịch, gây hoạt hóa lympho bào B và T làm tăng sản sinh kháng thể. Bạch truật có tác dụng làm tăng trọng chuột, tăng sức bơi lội, tăng khả năng thực bào của hệ thống tế bào lưới, tăng cường chức năng miễn dịch tế bào, an thần kết hợp với tác dụng của Đẳng sâm, xuyên khung làm cho hệ thần kinh hoạt động nhịp nhàng hơn, từ đó khả năng học tập và ghi nhớ tốt hơn. Thăng ma, Trần bì, Cam thảo, Địa

long, Hồng hoa đều được chứng minh trên thực nghiệm có tác dụng điều hòa huyết áp, làm tăng lưu lượng máu do vậy mà cải thiện được sự nuôi dưỡng tế bào não, giúp khả năng học tập tốt hơn [25],[26],[20].

Theo Y học cổ truyền, có các tạng phủ rất quan trọng đối với trí nhớ đó là tạng thận, tạng tâm và tạng tỳ và não bộ, do đó để cải thiện suy giảm trí nhớ cần điều hòa điều chỉnh chức năng của các tạng phủ này cùng với chức năng chung của cơ thể. Ích khí dưỡng não Đẳng sâm, Hoàng Kỳ, Bạch truật có tác dụng bổ khí sinh huyết quy kinh tỳ, can, thận, có tác dụng cải thiện tình trạng đau đầu hoa mắt ở người huyết áp thấp do huyết hư. Xuyên khung, Đương quy vừa lý khí, vừa bổ huyết, giúp Đẳng sâm, Hoàng kỳ ích khí sinh huyết. Trần bì, địa long, hồng hoa có tác dụng hoạt huyết hành khí làm khí huyết lưu thông. Thăng ma, sài hồ có tác dụng thăng dương khí, giúp cho huyết tụt vào khí đi lên trên, nuôi dưỡng não từ đó cải thiện được tình trạng suy giảm trí nhớ, và cũng làm tăng huyết áp. Cam thảo giúp điều hòa các vị thuốc [19],[20].

4.3. Bàn luận về tác dụng nâng chỉ số huyết áp viên nang cứng Ích khí dưỡng não trên thực nghiệm

Huyết áp là áp lực đẩy do sự tuần hoàn của máu trong các mạch máu, được xác định khi chỉ số huyết áp dưới 90/60 mmHg, trong đó, huyết áp tâm thu <90 mmHg hoặc huyết áp tâm trương <60 mmHg. Hậu quả của huyết áp thấp kéo dài là làm tăng khả năng bị mất trí nhớ cao gấp hai lần. Huyết áp quá thấp cũng có thể làm nhịp tim nhanh, gây choáng, ngất. Huyết áp thấp cũng là nguyên nhân gây tai biến mạch máu não. 30% số người nhồi máu não và 25% số người nhồi máu cơ tim là do huyết áp thấp. Do đó, để giảm thiểu tối đa những hậu quả này thì việc dự phòng huyết áp thấp là cần thiết. Nghiên cứu của chúng tôi nhằm đánh giá tác dụng nâng chỉ số huyết áp của sản phẩm nghiên cứu trên mô hình gây hạ huyết áp bằng diltiazem hydrochloride.

Diltiazem hydrochloride là một thuốc chẹn kênh canxi được sử dụng để điều trị huyết áp cao, đau thắt ngực và một số chứng rối loạn nhịp tim. Nó cũng có thể được sử dụng trong cường giáp nếu không thể sử dụng thuốc chẹn beta. Nó được uống qua miệng hoặc tiêm vào tĩnh mạch. Khi được đưa vào cơ thể bằng việc tiêm thì hiệu ứng thường bắt đầu trong vòng vài phút và kéo dài một vài giờ. Tuy nhiên, thuốc thường có tác dụng phụ là làm chậm nhịp tim và hạ huyết áp, đồng thời thuốc chẹn kênh canxi diltiazem được coi là thuốc điều trị tăng huyết áp an toàn và hiệu quả so với các nhóm khác, đó đó chúng tôi lựa chọn để gây mô hình hạ huyết áp [22]

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

Trước khi tiêm diltiazem hydrochloride, áp lực động mạch trung bình của các lô chuột không có sự khác biệt ($p > 0,05$), điều này chứng tỏ trong nghiên cứu của chúng tôi, chuột được lựa chọn là tương đối đồng nhất.

Sau khi tiêm Diltiazem, áp lực động mạch trung bình của chuột lô mô hình đã giảm so với lô chứng trắng tại tất cả các thời điểm 60 phút, 120 phút ($p < 0,05$), 180 phút, 240 phút, 300 phút, 360 phút ($p < 0,01$). Như vậy, chúng tôi đã gây dựng thành công mô hình hạ huyết áp trên chuột bằng thuốc huyết áp chẹn kênh canxi. Áp lực động mạch trung bình của chuột của hai lô dùng Ích khí dưỡng não liều cao và liều thấp cao hơn so với lô mô hình với $p < 0,05$ tại tất cả các thời điểm. Mặc dù sau quá trình gây giảm huyết áp, viên nang Ích khí dưỡng não không được tiếp tục đưa vào trong cơ thể chuột, tuy nhiên với lượng thuốc Ích khí dưỡng não đã đưa vào cơ thể chuột trước đó, thuốc “Ích khí dưỡng não” vẫn thể hiện tác dụng làm nâng cao chỉ số áp lực động mạch trung bình của chuột so với lô mô hình. Điều này chứng tỏ Ích khí dưỡng não có tác dụng nâng cao chỉ số áp lực động mạch trung bình từ đó cải thiện huyết áp. Tác dụng của Ích khí dưỡng não lên áp lực động mạch chuột sau khi tiêm thuốc là tương đương nhau. Như vậy, bước đầu chưa khẳng định

được tác dụng nâng chỉ số huyết áp của Ích khí dưỡng não phụ thuộc vào liều dùng.

Tác dụng này của Ích khí dưỡng não do trong thành phần có: Đẳng sâm đã được chứng minh trên thực nghiệm khi tiêm tĩnh mạch có tác dụng tăng cường độ co bóp của tim, tăng lưu lượng máu cho não, chân và nội tạng; Hoàng kỳ có tác dụng làm co mạch và làm nhanh nhịp tim thở; Xuyên khung làm tăng lưu lượng máu lên não; Tinh dầu Đương qui được chứng minh là làm huyết áp tăng; Hồng hoa làm tăng lưu lượng máu dinh dưỡng cơ tim và lưu lượng máu động mạch vành; Trần bì có tác dụng hưng phấn tim, làm tăng huyết áp. Như vậy, với các tác dụng như trên chứng tỏ rằng, viên nang Ích khí dưỡng não có tác dụng nâng chỉ số huyết áp phù hợp với kết quả thu được.

Mặt khác, theo YHCT huyết áp thấp thuộc phạm vi chứng Huyền vựng và chứng Kiện vong do các nguyên nhân do khí hư, huyết hư, tỳ hư, nhưng trong đó thể khí huyết lưỡng hư là thường gặp nhất. Khí có thể sinh ra vạn vật, bồi bổ và dinh dưỡng cho tất cả các tạng trong cơ thể, nhờ đó mà điều hòa được những hoạt động cơ năng của các cơ quan trong cơ thể. Sự tuần hoàn của khí huyết phải nhờ khí làm động lực, huyết không có khí thì ngừng mà không lưu thông, khí không có huyết thì không có điểm tựa để hoạt động. Do đó, khí huyết phải dựa vào nhau mới hoạt động được. Nếu khí huyết không đầy đủ thì não không được nuôi dưỡng mà gây nên Huyền vựng. Toàn phương bài thuốc cấu thành nên viên nang Ích khí dưỡng não là bài Bổ trung ích khí với Đẳng sâm, Bạch truật, Cam thảo có tác dụng kiện tỳ, tỳ mạnh thì tinh hậu thiên được bổ sung không ngừng mà sinh ra huyết dịch nuôi dưỡng não kết hợp Đào nhân, Hồng Hoa hành khí hoạt huyết, khí hành thì huyết hành. Trần bì, Xuyên khung, Đương quy có tác dụng hành huyết, lý khí, đưa khí huyết đi đúng đường. Hoàng Kỳ bổ trung ích khí kết hợp với Thăng ma, Sài hồ thúc đẩy dẫn thuốc đi lên trên từ đó kéo theo khí huyết lên nuôi dưỡng

não mà giảm được huyết vũng [19],[20]. Tác dụng này phù hợp với những tác dụng cải nâng chỉ số huyết áp theo được lý hiện đại.

KẾT LUẬN

1. Viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” có tác dụng cải thiện trí nhớ trên thực nghiệm.

Viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” liều 1200 mg/kg/ngày và 2400 mg/kg/ngày có tác dụng phục hồi trí nhớ và học tập, tăng khả năng phối hợp vận động trên chuột nhắt trắng bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin, cụ thể:

- Trên mô hình mê lộ nước Morris: Ích khí dưỡng não làm giảm thời gian và quãng đường tìm thấy chân đế, làm tăng phần trăm thời gian bơi của chuột trong 1/4 bể có chân đế ($p < 0,01$).

- Trên mê lộ nhiều chữ T: Ích khí dưỡng não làm giảm thời gian và quãng đường tìm thấy khoang đích, làm giảm số lần quyết định sai ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).

- Trên mô hình thanh quay Rotarod: Ích khí dưỡng não làm tăng thời gian chuột ở trên trụ quay ($p < 0,01$).

Tác dụng của Ích khí dưỡng não liều thấp (tương đương liều lâm sàng) và liều cao (gấp đôi liều lâm sàng) là tương đương nhau và tương đương với donepezil liều 2,4mg/kg ($p > 0,05$).

2. Viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” có tác dụng nâng chỉ số huyết áp trên thực nghiệm

Viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” liều 700mg/kg/ngày và 1400mg/kg/ngày có tác dụng nâng chỉ số huyết áp trên chuột cống trắng bị gây hạ huyết áp bằng Diltiazem hydrochloride, thông qua việc làm tăng áp lực động mạch trung bình của chuột ($p < 0,05$).

KIẾN NGHỊ

Trên cơ sở kết quả thu được từ nghiên cứu Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ và nâng chỉ số huyết áp của Viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên thực nghiệm, chúng tôi kiến nghị như sau:

- Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nang cứng Ích khí dưỡng não.

- Nghiên cứu, đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ và nâng chỉ số huyết áp của viên nang cứng “Ích khí dưỡng não” trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ môn Sinh lý – Trường Đại học Y Hà Nội** (2004), “*Sinh lý tuần hoàn động mạch*”, Sinh lý học tập I, NXB y học, tr.192-202
2. **Phạm Thị Minh Đức** (2007), “*Sinh lý tuần hoàn*”, Sinh lý học, NXB y học, tr.138-141
3. **Phạm Gia Khải (dịch)** (1999), “*Các thay đổi huyết áp và hội chứng sốc*”, Harrison, NXB y học tập I, tr.271-277
4. **Nguyễn Phú Kháng** (2001), “*Bệnh huyết áp thấp*”, Lâm sàng tim mạch, NXB y học, tr.143-145
5. **Bộ môn miễn dịch – sinh lý bệnh Trường Đại học y Hà Nội** (2008), “*Sinh lý bệnh tuần hoàn*”, Sinh lý bệnh, NXB y học, tr.367-369.
6. **Kapoor M.D Wishwa N** (1992), “*Hypotension and syncope*”, Heart disease 14th, W.B Saunders Company, tr. 35-39
7. **Đào Phong Tần** (1994), “*Lưu huyết não trong bệnh huyết áp thấp*”, Y học thực hành, số 307, tr. 8-11
8. **Hội tim mạch học Việt Nam** (2008), “*Khuyến cáo 2008 về các bệnh lý tim mạch và chuyển hóa*”, Thành phố Hồ Chí Minh, tr. 238-240.
9. **Pasant-U, Warkentin-S và Gustafson-L** (1997), “*Orthotatic hypotension and low bleed pressure in organic dementia: a study of prevalence and realated clinical characterics*”, Int-j-geratr-Psychiatry, 12(3), tr.395-403.
10. **Piordda-A, Saggese-D, Giausa-G và các cộng sự** (1997), “*the role hypotension in the pathogenesis of sudden hearing loss*”, Audiology, 36(2), tr 98-108.
11. **Trần Thúy** (2006), “*Chuyên đề nội khoa y học cổ truyền*”, NXB y học, tr.151-155, tr.471-474.
12. **Khoa y học cổ truyền - Trường Đại học Y Hà Nội** (2012), “*Bệnh*

- học nội khoa y học cổ truyền*”, NXB y học, tr. 35-39.
13. **Nguyễn Thị Ngọc Thúy** (2010), “*Khảo sát phân loại huyết áp thấp theo các thể của Y học cổ truyền trên lâm sàng*”, Khóa luận tốt nghiệp Bác sĩ chuyên khoa y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội.
 14. **Phan Thanh Hải** (2015), “*Đánh giá tác dụng của bài thuốc Hậu Thiên bát vị phương trong điều trị bệnh nhân huyết áp thấp thứ phát*”, Luận văn Thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội
 15. **Trần Thị Quyên** (2014), “*Nghiên cứu độc tính và hiệu quả điều trị huyết áp thứ phát của viên hoàn Thăng áp dưỡng não*”, Luận văn Bác sĩ chuyên khoa II, Trường Đại học Y Hà Nội.
 16. **Lê Văn Tuấn** (2014), “*Đặc điểm dịch tễ học sa sút trí tuệ ở người cao tuổi tại hai quận huyện Hà Nội*”, Luận án Tiến sĩ, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.
 - 17.. **Trần Thế Linh** (2016), “*Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang Hoạt huyết an não trên thực nghiệm và lâm sàng*”, Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
 18. **Busby.WJ, Campbell.AJ và Robertson.MC** (1996), “*low blood pressure is not an independent determinant of survival in an elderly population*”, *Age- Ageing*, 25(6), tr. 49-52.
 19. 南京中医学院, 中医方剂学讲义1964.
(Học viện Trung y Nam Kinh. Trung y phương tễ học giảng nghĩa 1964)
 20. 北京中医学院, 中医炮制讲义1975.
(Học viện Trung y Bắc Kinh, Trung y bào chế giảng nghĩa 1975)
 21. **Phí Thị Ngọc** (2009), “*Nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của bài thuốc Nhân sâm dưỡng vinh thang*”, Luận văn Bác sĩ chuyên khoa II, Trường Đại học Y Thái Bình.
 22. **Hà Văn Diễn** (2010), “*Đánh giá tác dụng tăng huyết áp trong bệnh*

huyết áp thấp của viên Hồng mạch khang trên lâm sàng”, Luận văn bác sĩ chuyên khoa II, Trường Đại học Y Hà Nội.

23. **Phạm Thắng** (2010). *Bệnh Alzheimer và các thể sa sút trí tuệ khác*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội
24. **Qiu-C, Fratiglioni-L, Winblad-B và các cộng sự** (2003), “ *The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia*”, The Lancet Neurology, Volum 4, Isure 8, tr.487-499.
25. **Đỗ Tất Lợi** (2004), “ *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*”, NXB y học, tr. 391-392, 715, 783 -786, 811- 813, 863-867, 872-875, 877-881, 887-889.
26. **Bộ Y tế** (2018), “*Dược điển Việt Nam V*”, NXB y học, tr. 1036, 1066, 267, 2068.
27. **Hải Thượng Y Tông Tâm Lĩnh** (2012), “*Hiệu phòng tân phương*”, NXB y học, tr. 393 – 394.
28. **Hải Thượng Lãn Ông** (1995), “*Y trung quan niệm và huyền tân phát vĩ*”, NXB y học, tr.41.
29. 陈贵廷, 杨思澍 (1996), 中医中西医结合杂志, 升压胶 治疗低血压, 第十卷.
(Trần Quý Đình, Dương Tư Chú (1996), Tạp chí Trung Tây y kết hợp, viên nang tăng áp điều trị huyết áp thấp, quyển thứ 10).
30. **Bộ Y tế** (2009), “*Lão khoa Y học cổ truyền*”, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, tr.212 – 240.
31. **Bộ Y tế** (2010), “*Phương pháp chế biến đảm bảo chất lượng đối với 85 vị thuốc đông y*”, NXB y học, Hà Nội
32. **Phạm Xuân Sinh** (2006), “*Phương pháp chế biến thuốc y học cổ truyền*”, NXB y học, Hà Nội.
33. **Tổ chức Y tế thế giới** (2000), *General Guidelines of Methodocogies on Research and Evaluation of Tranditional Medicine*. Geneva, 28-31.

34. **Litchfield JT Jr, Wilcoxon F** (1949). *A simplified method of evaluating close-effect experiment*. *J.pharmacol Exp, Ther*, 96(2), 99-113.
35. **Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An và Trần Lê Tuyết Châu** (2012), “*Khảo sát mô hình gây suy giảm trí nhớ do trimethyltin trên chuột nhắt trắng*”, *Tạp chí Dược học*, 431, 41-45.
36. **Guo – Z, Viitamen – M, Winblad – B** (1997), Clinical correlates of low blood pressure in old people, *I Am Geriatr Soc*, 45(6), 701 – 705
37. **Bộ môn Y học dân tộc Trường Đại học Y Hà nội, Viện Y học cổ truyền Việt Nam** (1996), *Chẩn đoán theo phương pháp y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 50 – 53.
38. **Prencipe M, Ferretti C, Casini AR, Lattanzio MT, Fiorelli M, Culasso F** (1996), "Prevalence of dementia in an elderly rural population: effects of age, sex, and education", *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 60 (6), pp: 628-33. 183.
39. **Launer LJ, Ott A, Jama JW, et al** (1997), "Histamine H2 blocking drugs and the risk of Alzheimer's disease: the Rotterdam Study", *Neurobiol Aging*, 18, pp. 257–159.
40. **Ferri CP, Brayne C, Prince M, et al** (2005), "Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study", *Lancet*, 366, pp. 2112-2117.
41. **Zhang MY, Katzman R, Salmon D, Jin H, Cai GJ, Wang ZY, Qu GY, Grant I, Yu E, Levy P, et al** (1990), "The prevalence of dementia and Alzheimer's disease in Shanghai, China: impact of age, gender, and education", *Ann Neurol*, 27 (4), pp: 428-37.
42. **L. L. Cheng, X. N. Chen, Y. Wang et al** (2011). Z-ligustilide isolated from *Radix Angelicae sinensis* ameliorates the memory impairment induced by scopolamine in mice. *Fitoterapia*, 82(7), 1128-1132.
43. **B. Lee, I. Shim, H. Lee et al** (2011). *Rehmannia glutinosa*

ameliorates scopolamine-induced learning and memory impairment in rats. *J Microbiol Biotechnol*, 21(8), 874-883 .

44. **Nguyễn Thị Minh Tâm, Nguyễn Nhược Kim, Nguyễn Trọng Minh** (2004), “Nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của trà tan Sinh mạch Bảo Nguyên”, *Thông tin y dược*, số 3/2004, tr.27-29.
45. **Ngô Trọng Kim, Lê Văn Thanh** (2003), “Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Sinh mạch tán gia giảm trong điều trị huyết áp thấp”, *Tạp chí y học quân sự*, số 6/2004, tr.45-47.
46. **Ngô Quyết Chiến, Lê Hữu Thuyên** (2009), “Nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của viên Thăng áp TA”, *Tạp chí sinh lý học Việt Nam*, tập 13, số 1, tr.3-8.
47. **Hà Văn Diễn** (2010), “Đánh giá tác dụng tăng huyết áp trong bệnh huyết áp thấp của viên Hồng mạch kang trên lâm sàng”, *Luận văn bác sĩ chuyên khoa II*, Trường Đại học Y Hà Nội.
48. **Trần Thị Dung** (2011), “Đánh giá tác dụng điều trị huyết áp thấp của bài thuốc Hoàng kỳ bổ huyết thang”.
49. **Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An và Trần Lê Tuyết Châu** (2012). Khảo sát mô hình gây suy giảm trí nhớ do trimethyltin trên chuột nhắt trắng. *Tạp chí Dược học*, 431, 41-45.
50. **Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An, Nguyễn Ngọc Khôi và cộng sự** (2012). Tác dụng kháng cholinesterase của Actiso, Trà xanh và Hương nhu tía liên quan đến khả năng chống suy giảm trí nhớ trên chuột nhắt trắng. *Tạp chí dược học*, 437, 10-13.
51. **Đặng Hoàng Quyên, Trần Phi Hoàng Yến, Võ Thị Xuyên et al** (2014). Khảo sát khả năng cải thiện trí nhớ của cao chiết sinh tử khối *Cordyceps* spp. trên chuột nhắt, *Tạp chí sinh học*, 36(1), 203-208
52. **Morgan, D; Buccafusco, JJ** (2009), *Water Maze Tasks in Mice: Special Reference to Alzheimer's Transgenic Mice*.
53. **Maei HR, Zaslavsky K, Teixeira CM, Frankland PW** (2009), What

is the Most Sensitive Measure of Water Maze Probe Test Performance?. *Front Integr Neurosci* 3: 4.

54. **Crusio, Wim** (1999), Methodological considerations for testing learning in mice. In Crusio, W.E.; Gerlai, R.T. *Handbook of molecular-genetic techniques for brain and behavior research* (1st ed.). Amsterdam: Elsevier. 638–651.
55. **Soheil Keihan Falsafi et al.** (2012), Scopolamine administration modulates muscarinic, nicotinic and NMDA receptor system, *PLoS One*, 7(2): 1-12.
56. **A. Ma and H.Guo** (1998). Effect of *Radix Achyranthis bidentatae* on memory and endurance. *Zhong Yao Cai*, 21(12), 6240626.
57. **Y. Wang, Y. Xu, Y. Pan et al** (2013), *Radix Achyranthis Bidentatae* improves learning and memory capabilities in ovariectomized rats. *Neural Regen Res*, 8(18), 1644-1654.
58. **Y. J. Yun. B. Lee, D.H. Hahm et al** (2007). Neuroprotective effect of Palmul-Chongmyeong-tang on ischemia-induced learning and memory deficits in the rat. *Biol Pharm Bull*, 30(2), 337-342.
59. **Z. Lin, Y. Yan, D. Zhu et al** (2005). Protective effects of FBD—an experimental Chinese traditional medicinal formula on memory dysfunction in mice induced by cerebral ischemia-reperfusion. *J. Ethnopharmacol*, 97(3), 477-483.
60. **Yu He, H. W.,, Yueguang Du, Xiaodong Bie, Tao Zhao, Wei Fu, Panke Xing** Protective effect of Danhong injection on cerebral ischemia–reperfusion injury in rats. *Journal of Ethnopharmacology* Volume 144(Issue 2): Pages 387–394.

Phụ lục

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CỦA VIÊN NANG CỨNG ÍCH KHÍ DƯỠNG NÃO

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

BỘ Y TẾ	Viên nang	Số TC:
BỆNH VIỆN Y HỌC CỔ TRUYỀN TRUNG ƯƠNG	ÍCH KHÍ DƯỠNG NÃO 0,5 g	Có hiệu lực từ ngày ký

1. YÊU CẦU KỸ THUẬT

1.1. Công thức điều chế cho 1 viên nang 500mg:

Đảng sâm	42.9 mg
Hoàng kỳ	71.4 mg
Xuyên khung	42.9 mg
Đương quy	42.9 mg
Bạch truật	42.9 mg
Cam thảo	14.3 mg
Trần bì	21.4 mg
Hồng hoa	28.6 mg
Địa long	17.9 mg
Thăng ma	42.9 mg
Sài hồ	42.9 mg
Tá dược	Vừa đủ

1.2. Nguyên liệu

Đảng sâm	<i>Radix Codonopsis</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1154
Hoàng kỳ	<i>Radix Atragali</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1188
Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici Wallichii</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1378
Đương quy	<i>Radix Angelicae Sinensis</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1173
Bạch truật	<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1077
Cam thảo	<i>Rhizoma Cimicifugae</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1095
Trần bì	<i>Radix Bupleuri</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1358

Hồng hoa	<i>Flos Carthami</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1197
Đạ long	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1166
Thăng ma	<i>Pheretima Asiatica Michaelsen</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1336
Sài hồ	<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>	Đạt ĐĐVN V, tr.1307

1.3. Chất lượng thành phẩm

1.3.1. **Hình thức:** Viên nang cứng màu xanh tím, chế phẩm bên trong màu nâu.

1.3.2. **Độ ẩm:** Không quá 10,0%.

1.3.3. **Độ rã:** Không quá 30 phút.

1.3.4. **Đồng đều khối lượng viên:** Khối lượng trung bình thuốc trong nang $\pm 7,5\%$.

1.3.5. **Định tính:** Phải thể hiện phép thử định tính của Hoàng kỳ, Bạch truật, Hồng hoa, Dương quy, Xuyên khung, Đạ long, Acid ferulic.

1.3.6. Định lượng:

- Hàm lượng acid ferulic trong mỗi viên phải không được ít hơn 0.05 mg/viên.

1.3.7. Giới hạn nhiễm khuẩn (Theo phụ lục 13.6, ĐĐVN V)

STT	Tên chỉ tiêu	Mức tối đa	Đơn vị tính
1	TSVSVHK	10000	CFU/g
2	Tổng số nấm men, nấm mốc	100	CFU/g
3	E.coli	Không phát hiện	CFU/g
4	S.aureus	3	MPN/g
5	Salmonella	Không phát hiện	CFU/25g

2. PHƯƠNG PHÁP THỬ

2.1. **Hình thức:** Bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

2.2. Độ ẩm:

Lấy 20 viên, đồng nhất chế phẩm trong viên. Cân chính xác khoảng 1,0g bột viên, tiến hành xác định độ ẩm theo ĐĐVN V, PL 9.6 (sấy ở 105°C trong 4 giờ)

2.3. Độ rã:

Lấy 6 viên, tiến hành thử độ rã theo ĐĐVN V, phụ lục 11.6

2.4. Độ đồng đều khối lượng viên:

Cân khối lượng 1 viên nang, tháo rời 2 nửa vỏ nang, dùng bông lau sạch vỏ và cân khối lượng của vỏ. Khối lượng chế phẩm trong nang là hiệu số giữa khối lượng nang thuốc và khối lượng vỏ nang. Tiến hành tương tự với 9 viên khác lấy ngẫu nhiên. Tiến hành tính khối lượng trung bình của chế phẩm trong nang.

2.5. Định tính:

2.5.1. Định tính Hoàng kỳ, đương quy (Phương pháp SKLM)

2.5.1.1. Dụng cụ, thuốc thử:

- Bàn mỏng Silica gel G trắng sẵn của Merck, hoạt hóa ở 105°C trong 30 phút.
- Ethyl acetat, methanol, ethanol 96%, acetone, acid formic, acid sulfuric (TT).
- Dung môi triển khai:
 - + Hoàng kỳ: Ethyl acetat – methanol – nước (100:17:13)
 - + Đương quy: Ethyl acetat – acetone – acid formic – nước (5:5:1:1)
- Hiện màu:
 - + Hoàng kỳ: Phun dung dịch acid sulfuric 10% trong cồn 96%, sấy, soi 366nm.
 - + Đương quy: Soi UV 366nm.

2.5.1.2. Cách thử :

- *Dung dịch đối chiếu:*
 - + *Hoàng kỳ:* Cân 2g Hoàng kỳ (mẫu đối chiếu), thêm 50ml nước, đun sôi khoảng 30 phút, để nguội, lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn, thêm 30 ml n-butanol, lắc kỹ, gạn lấy lớp dung môi, loại tạp bằng cách lắc với 30ml dung dịch amoniac 10%, gạn lấy lớp dung môi, cô cạn trên cách thủy. Hòa cồn với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký (Chấm 20 µl)
 - + *Dung dịch chuẩn Astragalosid IV* trong ethanol có nồng độ 1mg/ml (định tính Hoàng kỳ)
 - + *Đương quy:* Cân 2g Đương quy (mẫu đối chiếu), thêm 50ml nước, đun sôi khoảng 30 phút, để nguội, lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn, thêm 30 ml n-butanol, lắc kỹ, gạn lấy lớp dung môi, loại tạp bằng cách lắc với 30ml dung dịch amoniac 10%, gạn lấy lớp dung môi, cô cạn trên cách thủy. Hòa cồn với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký (Chấm 20 µl)
- *Dung dịch thử:* Lấy bột chế phẩm trong 20 viên, thêm 50ml nước, đun sôi khoảng 30

phút, để nguội, lọc, chuyển dịch lọc vào bình gan, thêm 30 ml n-butanol, lắc kỹ, gạn lấy lớp dung môi, loại tạp bằng cách lắc với 30ml dung dịch amoniac 10%, gạn lấy lớp dung môi, cô cạn trên cách thủy. Hòa cần với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký (Chấm 20 μ l)

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký trên các hệ dung môi tương ứng đến khi dung môi đi được 10-12cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi soi UV366nm (định tính Đương quy), hoặc phun thuốc thử hiện màu, sấy ở 100 C trong 5 phút, quan sát các vết dưới đèn tử ngoại ở bước sóng UV 366nm (định tính Hoàng kỳ).

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu.

2.5.2. Định tính Bạch truật (Phương pháp SKLM)

2.5.2.1. Dụng cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng Silica gel G trắng sẵn của Merck, hoạt hóa ở 105 C trong 30 phút.
- Dung dịch ethanol 96%, 1-propanol, n-Butanol, acid acetic, ninhydrin (TT)
- Dung môi triển khai: 1-Propanol – n-butanol – acid acetic – nước (3:1:1:1)
- Hiện màu: Phun dung dịch Ninhydrin 0,3% trong ethanol 96%, sấy, quan sát ở ánh sáng thường.

2.5.2.2. Cách thử :

- *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 2g Bạch truật (mẫu đối chiếu), thêm 30ml ethanol 96%, đun hồi lưu cách thủy khoảng 30 phút, nguội, lọc. Đem cô dung dịch trên lấy cần, hòa cần với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký.
- *Dung dịch thử:* Lấy bột chế phẩm trong 20 viên, thêm 50ml ethanol 96%, đun hồi lưu cách thủy khoảng 30 phút, nguội, lọc. Đem cô dung dịch trên lấy cần, hòa cần với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký.
- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 15 μ l -20 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10-12cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi phun thuốc thử hiện màu, sấy ở 100 C trong 5 phút, quan sát vết ở ánh sáng thường.

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị Rf với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.3. Định tính Hồng hoa (Phương pháp SKLM)

2.5.3.1. Dụng cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng Silica gel G trắng sẵn của Merck, hoạt hóa ở 105°C trong 30 phút.
- Ethyl acetat, toluen, aceton, acid formic, ethanol 96%, acid sulfuric, vanilin (TT).
- Dung môi triển khai: Toluene – ethyl acetat – aceton – acid formic (5:2:2:1)
- Hiện màu: Phun dung dịch vanilin 1% trong acid sulfuric 5% trong ethanol 96%, sấy, quan sát các vết ở ánh sáng thường.

2.5.3.2. Cách thử :

- *Dung dịch đối chiếu:* Cân 2g Hồng hoa (mẫu đối chiếu), thêm 50ml nước, đun sôi khoảng 30 phút, để nguội, lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn, thêm 30ml ethyl acetat, lắc kỹ, gạn lấy lớp dung môi, cô cạn trên cách thủy. Hòa cần với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký.
- *Dung dịch thử:* Lấy bột chế phẩm trong 15 viên, thêm 70ml nước, đun sôi khoảng 30 phút, để nguội, lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn, thêm 30ml ethyl acetat, lắc kỹ, gạn lấy lớp dung môi, cô cạn trên cách thủy. Hòa cần với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký.
- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10-12cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi phun thuốc thử hiện màu, sấy ở 100°C trong 5 phút, quan sát các vết ở ánh sáng thường.

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị Rf với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.4. Định tính Xuyên khung (Phương pháp SKLM)

2.5.4.1. Dụng cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng Silica gel G trắng sẵn của Merck, hoạt hóa ở 105°C trong 30 phút.
- Toluene, ethyl acetat, acid formic, cloroform, amoniac, ethanol 96% (TT).
- Dung môi triển khai: Toluene – ethyl acetat – acid formic (9:4:1)
- Hiện màu: Dung dịch acid sulfuric 10% trong cồn 96%, soi ở 366nm.

2.5.4.2. Cách thử :

- *Dung dịch đối chiếu:* Cân 2g Xuyên khung (mẫu đối chiếu), thêm 50ml nước, đun sôi khoảng 30 phút, để nguội, lọc, kiểm hóa dịch lọc bằng dung dịch amoniac 10% đến pH = 9-10, chuyển vào bình gạn, thêm 30 ml cloroform, lắc kỹ, gạn lấy lớp dung môi, cô cạn trên cách thủy. Hòa lẫn với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch thử:* Lấy bột chế phẩm trong 15 viên, thêm 50ml nước, đun sôi khoảng 30 phút, để nguội, lọc, kiểm hóa dịch lọc bằng dung dịch amoniac 10% đến pH = 9-10, chuyển vào bình gạn, thêm 30 ml cloroform, lắc kỹ, gạn lấy lớp dung môi, cô cạn trên cách thủy. Hòa lẫn với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10-12cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi phun thuốc thử hiện màu, sấy ở 100C trong 5 phút, quan sát các vết dưới đèn tử ngoại ở bước sóng UV 366nm.

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị Rf với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.5. Định tính Địa long (Phương pháp SKLM)

2.5.5.1. Dung cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng Silica gel G trắng sẵn của Merck, hoạt hóa ở 105°C trong 30 phút.

- Dung dịch ethanol 96%, toluen, methanol, acid sulfuric (TT)

- Dung môi triển khai: Toluene - methanol (95:5)

- Hiện màu: Phun dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol 96%, sấy, soi UV366 nm

2.5.5.2. Cách thử :

- *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 2g Địa long (mẫu đối chiếu), thêm 30ml cloroform, ngâm khoảng 2 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc. Đem cô dung dịch trên lấy cặn, hòa lẫn với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký.

- *Dung dịch thử:* Lấy bột chế phẩm trong 20 viên, thêm 30ml cloroform, ngâm khoảng 2 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc. Đem cô dung dịch trên lấy cặn, hòa lẫn với 2ml ethanol 96% được dung dịch chấm sắc ký.

- *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 15µl -20µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10-12cm, lấy bản mỏng

ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi phun thuốc thử hiện màu, sấy ở 100°C trong 5 phút, quan sát vết dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366nm.

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.6. Định tính acid ferulic: Phương pháp HPLC

Sắc ký đồ dung dịch thử ở mục định lượng phải có pic có cùng thời gian lưu với pic acid ferulic trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

2.6. Định lượng:

2.6.1. Dụng cụ và thiết bị

Hệ thống máy sắc ký lỏng hiệu năng cao, Detector UV-VIS

Cột phân tích

Cột sắc ký pha đảo C18, đường kính trong 4.6mm, kích thước hạt 5.0µm, chiều dài 250mm.

Máy siêu âm

Bộ sinh hàn

Nồi cách thủy

Cân phân tích độ chính xác đến 0,1mg

Cốc có mỏ dung tích 100ml

Bình định mức dung tích 50ml, 100ml, 20ml,...

Bình nón nút mài dung tích 100ml

Pipet chính xác dung tích 1,0ml; 2,0ml; 5,0ml...

Lọ đựng mẫu thể tích 2ml

Màng lọc mẫu kích thước lỗ lọc 0,45µm.

2.6.2. Hóa chất và thuốc thử

Acetonitril (CH₃CN) loại dùng cho sắc ký

Nước tinh khiết (H₂O) loại dùng cho sắc ký

Acid phosphoric (H₃PO₄) PA ≥84% (kl/kl)

Methanol PA

Dung dịch Methanol 70%

Trộn đều 700ml Methanol (6.4) với 300ml nước tinh khiết.

Pha động:

+ Pha động A: dung dịch acid phosphoric 0,085%

Pha loãng 1ml Acid phosphoric với nước vừa đủ 1000ml. Tiến hành đuổi khí trong 15 phút.

+ Pha động B:

Acetonitril được tiến hành đuổi khí trong 15 phút.

Chuẩn Acid ferulic: Hàm lượng $\geq 98,5\%$

Dung dịch chuẩn gốc Acid ferulic nồng độ 500 $\mu\text{g/ml}$

Cân chính xác khoảng 25 mg chuẩn Acid ferulic vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30ml dung dịch Methanol 70%, siêu âm hòa tan hoàn toàn, bổ sung vừa đủ thể tích bằng dung dịch Methanol 70%, lắc đều được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 500 $\mu\text{g/ml}$.

2.6.3. Chuẩn bị mẫu

2.6.3.1. Chuẩn bị dung dịch chuẩn

Hút chính xác 1,0ml dung dịch chuẩn gốc Acid ferulic nồng độ 500 $\mu\text{g/ml}$ vào bình định mức 25ml, bổ sung vừa đủ thể tích bằng dung dịch Methanol 70%, lắc đều được dung dịch chuẩn có nồng độ 20 $\mu\text{g/ml}$. Lọc qua màng lọc 0,45 μm .

2.6.3.2. Chuẩn bị mẫu thử:

Lấy 10 viên, xác định khối lượng trung bình bột cốt trong viên, trộn đều đồng nhất mẫu. Cân chính xác lượng chế phẩm tương ứng với 1mg acid ferulic vào bình định mức 50ml, thêm khoảng 30ml dung dịch Methanol 70%, siêu âm 30 phút, để nguội, bổ sung vừa đủ thể tích bằng dung dịch Methanol 70%, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 μm .

2.6.4. Tiến hành thử nghiệm

2.6.4.1. Điều kiện sắc ký

Cột sắc ký pha đảo C18 (250 x 4.6 mm; 5.0 μm).

Pha động: Pha động A : Pha động B (83 : 17) (Có thể thay đổi tỉ lệ nếu cần thiết)

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min

Thể tích tiêm: 10 μl

Bước sóng phát hiện: 321 nm.

2.6.4.2. Trình tự tiêm mẫu

Tiêm các dung dịch chuẩn

Tiêm dung dịch dung mỗi pha mẫu

Tiêm các dung dịch mẫu thử.

2.6.5. Tính toán và biểu thị kết quả

Hàm lượng Acid ferulic (mg/v) trong chế phẩm được tính theo công thức :

$$HL = \frac{S_t \times m_c \times D_t \times HL_c}{S_c \times m_t \times D_c} \times M$$

Trong đó:

S_t, S_c : Diện tích pic Acid ferulic trong sắc ký đồ của dung dịch thử và chuẩn (mAu.s)

m_c : Khối lượng cân mẫu chuẩn (mg).

m_t : Khối lượng cân mẫu thử (g).

D_t, D_c : Độ pha loãng của mẫu thử và mẫu chuẩn

HL_c : Hàm lượng chuẩn % (tính theo nguyên trạng)

M : Khối lượng trung bình viên (g).

2.7. Giới hạn nhiễm khuẩn:

2.7.1. Chuẩn bị mẫu:

- Dung dịch pha loãng tạo huyền phù ban đầu :

+ Nước muối pepton (PBS):

Casein thủy phân bằng Enzyme	1,0g
Natri clorua	8,5 g
Nước	1000ml

điều chỉnh pH sao cho pH sau khử trùng là $7,0 \pm 0,2$.

+ Dung dịch đệm pepton (PBW, dùng tăng sinh sơ bộ cho chỉ tiêu *Salmonella*):

Mô đv thủy phân bằng Enzyme	10,0g
Natri clorua	5,0 g
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	9,0 g
KH_2PO_4	1,5 g
Nước	1000ml

điều chỉnh pH sao cho pH sau khử trùng là $7,0 \pm 0,2$

- Chế phẩm dễ hòa tan trong nước (chế phẩm dạng viên nén): Cân chính xác khoảng 10 g (m, g) chế phẩm hòa tan trực tiếp vào m*9, ml dung dịch nước muối pepton PBS tạo huyền phù ban đầu để được dung dịch chế phẩm có dịch pha loãng 10^{-1} .

+ Pha loãng thập phân tiếp theo (dịch pha loãng 10^{-2}): Hút 1,0 ml dịch pha loãng 10^{-1} vào ống nghiệm chứa 9,0 ml đệm PBS. Thực hiện tương tự với các dung dịch pha loãng thập phân tiếp theo (nếu cần), sao cho với lượng mẫu thử 1ml thu được số khuẩn lạc trên đĩa trong khoảng từ 10-300.

- Riêng đối với chỉ tiêu định tính *Salmonella spp.*: Cân chính xác khoảng 25 g chế phẩm hòa tan trực tiếp vào 225 ml dung dịch nước muối pepton PBW tạo huyền phù ban đầu để được dung dịch chế phẩm có dịch pha loãng 10^{-1} . Thực hiện tiếp theo TCVN 10780-1:2017.

2.7.2. **Tổng số vi sinh vật hiếu khí:** Thử theo TCVN 4884-1:2015

2.7.3. **Tổng số nấm men, nấm mốc:** Thử theo TCVN 8275-2:2010

2.7.4. ***E. coli*:** Thử theo TCVN 6846:2007

2.7.5. ***S. aureus*:** Thử theo TCVN 4830-1:2005

2.7.6. ***Salmonella spp.*:** Thử theo TCVN 4829:2005 (TCVN 10780-1:2017)

3. ĐÓNG GÓI - GHI NHÃN - BẢO QUẢN

- **Đóng gói:** Chế phẩm đóng trong lọ, mỗi lọ 60 viên.

- **Ghi nhãn:** Nhãn rõ ràng, đúng quy chế.

- **Bảo quản:** Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát.

- **Hạn dùng:** 24 tháng kể từ ngày sản xuất.

Hà Nội, ngày 4 tháng 6 năm 2020.

Giám đốc



GIÁM ĐỐC
Tú Nam

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]	Bộ môn Sinh lý – Trường Đại học Y Hà Nội (2004), “ <i>Sinh lý tuần hoàn động mạch</i> ”, Sinh lý học tập I, NXB y học, tr.192-202
[2]	Phạm Thị Minh Đức (2007), “ <i>Sinh lý tuần hoàn</i> ”, Sinh lý học, NXB y học, tr.138-141
[3]	Phạm Gia Khải (dịch) (1999), “ <i>Các thay đổi huyết áp và hội chứng sốc</i> ”, Harrison, NXB y học tập I, tr.271-277
[4]	Nguyễn Phú Kháng (2001), “ <i>Bệnh huyết áp thấp</i> ”, Lâm sàng tim mạch, NXB y học, tr.143-145
[5]	Bộ môn miễn dịch – sinh lý bệnh Trường Đại học y Hà Nội (2008), “ <i>Sinh lý bệnh tuần hoàn</i> ”, Sinh lý bệnh, NXB y học, tr.367-369.
[6]	Kapoor M.D Wishwa N (1992), “ <i>Hypotension and syncope</i> ”, Heart disease 14th, W.B Saunders Company, tr. 35-39
[7]	Đào Phong Tần (1994), “ <i>Lưu huyết não trong bệnh huyết áp thấp</i> ”, Y học thực hành, số 307, tr. 8-11
[8]	Hội tim mạch học Việt Nam (2008), “ <i>Khuyến cáo 2008 về các bệnh lý tim mạch và chuyển hóa</i> ”, Thành phố Hồ Chí Minh, tr. 238-240.
[9]	Pasant-U, Warkentin-S và Gustafson-L (1997), “ <i>Orthotatic hypotension and low bleed pressure in organic dementia: a study of prevalence and realated clinical characterics</i> ”, Int-j-geratr-Psychiatry, 12(3), tr.395-403.
[10]	Piordda-A, Saggese-D, Giausa-G và các cộng sự (1997), “ <i>the role hypotension in the pathogenesis of sudden hearing loss</i> ”, Audiology, 36(2), tr 98-108.
[11]	Trần Thúy (2006), “ <i>Chuyên đề nội khoa y học cổ truyền</i> ”, NXB y học, tr.151-155, tr.471-474.

[12]	Khoa y học cổ truyền - Trường Đại học Y Hà Nội (2012), “ <i>Bệnh học nội khoa y học cổ truyền</i> ”, NXB y học, tr. 35-39.
[13]	Nguyễn Thị Ngọc Thúy (2010), “ <i>Khảo sát phân loại huyết áp thấp theo các thể của Y học cổ truyền trên lâm sàng</i> ”, Khóa luận tốt nghiệp Bác sĩ chuyên khoa y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội.
[14]	Phan Thanh Hải (2015), “ <i>Đánh giá tác dụng của bài thuốc Hậu Thiên bát vị phương trong điều trị bệnh nhân huyết áp thấp thứ phát</i> ”, Luận văn Thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội
[15]	Trần Thị Quyên (2014), “ <i>Nghiên cứu độc tính và hiệu quả điều trị huyết áp thứ phát của viên hoàn Thăng áp dưỡng não</i> ”, Luận văn Bác sĩ chuyên khoa II, Trường Đại học Y Hà Nội.
[16]	Lê Văn Tuấn (2014), “ <i>Đặc điểm dịch tễ học sa sút trí tuệ ở người cao tuổi tại hai quận huyện Hà Nội</i> ”, Luận án Tiến sĩ, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.
[17]	Trần Thế Linh (2016), “ <i>Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang Hoạt huyết an não trên thực nghiệm và lâm sàng</i> ”, Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
[18]	Busby.WJ, Campbell.AJ và Robertson.MC (1996), “ <i>low blood pressure is not an independent determinant of survival in an elderly population</i> ”, Ae-Ageing, 25(6), tr. 49-52.
[19]	南京中医学院, 中医方剂学讲义1964. (Học viện Trung y Nam Kinh. Trung y phương tễ học giảng nghĩa 1964)
[20]	北京中医学院, 中医炮制讲义1975. (Học viện Trung y Bắc Kinh, Trung y bào chế giảng nghĩa 1975)
[21]	Phí Thị Ngọc (2009), “ <i>Nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của bài thuốc Nhân sâm dưỡng vinh thang</i> ”, Luận văn Bác sĩ chuyên

	khoa II, Trường Đại học Y Thái Bình.
[22]	Hà Văn Diễn (2010), “ <i>Đánh giá tác dụng tăng huyết áp trong bệnh huyết áp thấp của viên Hồng mạch kang trên lâm sàng</i> ”, Luận văn bác sĩ chuyên khoa II, Trường Đại học Y Hà Nội.
[23]	Phạm Thắng (2010). <i>Bệnh Alzheimer và các thể sa sút trí tuệ khác</i> , Nhà xuất bản Y học, Hà Nội
[24]	Qiu-C, Fratiglioni-L, Winblad-B và các cộng sự (2003), “ <i>The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia</i> ”, The Lancet Neurology, Volum 4, Isure 8, tr.487-499.
[25]	Đỗ Tất Lợi (2004), “ <i>Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam</i> ”, NXB y học, tr. 391-392, 715, 783 -786, 811- 813, 863-867, 872-875, 877-881, 887-889.
[26]	Bộ Y tế (2018), “ <i>Dược điển Việt Nam V</i> ”, NXB y học, tr. 1036, 1066, 267, 2068.
[27]	Hải Thượng Y Tông Tâm Lĩnh (2012), “ <i>Hiệu phỏng tân phương</i> ”, NXB y học, tr. 393 – 394.
[28]	Hải Thượng Lãn Ông (1995), “ <i>Y trung quan niệm và huyền tân phát vĩ</i> ”, NXB y học, tr.41.
[29]	陈贵廷, 杨思澍 (1996), 中医中西医结合杂志, 升压胶 治疗低血压, 第十卷. (Trần Quý Đình, Dương Tư Chú (1996), Tạp chí Trung Tây y kết hợp, viên nang tăng áp điều trị huyết áp thấp, quyển thứ 10).
[30]	Bộ Y tế (2009), “ <i>Lão khoa Y học cổ truyền</i> ”, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, tr.212 – 240.
[31]	Bộ Y tế (2010), “ <i>Phương pháp chế biến đảm bảo chất lượng đối với 85 vị thuốc đông y</i> ”, NXB y học, Hà Nội
[32]	Phạm Xuân Sinh (2006), “ <i>Phương pháp chế biến thuốc y học cổ truyền</i> ”, NXB y học, Hà Nội.

[33]	Tổ chức Y tế thế giới (2000), <i>General Guidelines of Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine</i> . Geneva, 28-31.
[34]	Litchfield JT Jr, Wilcoxon F (1949). <i>A simplified method of evaluating dose-effect experiment</i> . <i>J.pharmacol Exp, Ther</i> , 96(2), 99-113.
[35]	Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An và Trần Lê Tuyết Châu (2012), “ <i>Khảo sát mô hình gây suy giảm trí nhớ do trimethyltin trên chuột nhắt trắng</i> ”, <i>Tạp chí Dược học</i> , 431, 41-45.
[36]	Guo – Z, Viitamen – M, Winblad – B (1997), Clinical correlates of low blood pressure in old people, <i>J Am Geriatr Soc</i> , 45(6), 701 – 705
[37]	Bộ môn Y học dân tộc Trường Đại học Y Hà nội, Viện Y học cổ truyền Việt Nam (1996), <i>Chẩn đoán theo phương pháp y học cổ truyền</i> , Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 50 – 53.
[38]	Prencipe M, Ferretti C, Casini AR, Lattanzio MT, Fiorelli M, Culasso F (1996), "Prevalence of dementia in an elderly rural population: effects of age, sex, and education", <i>J Neurol Neurosurg Psychiatry</i> , 60 (6), pp: 628-33. 183.
[39]	Launer LJ, Ott A, Jama JW, et al (1997), "Histamine H2 blocking drugs and the risk of Alzheimer's disease: the Rotterdam Study", <i>Neurobiol Aging</i> , 18, pp. 257–159.
[40]	Ferri CP, Brayne C, Prince M, et al (2005), "Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study", <i>Lancet</i> , 366, pp. 2112-2117.
[41]	Zhang MY, Katzman R, Salmon D, Jin H, Cai GJ, Wang ZY, Qu GY, Grant I, Yu E, Levy P, et al (1990), "The prevalence of dementia and Alzheimer's disease in Shanghai, China: impact of age, gender, and education", <i>Ann Neurol</i> , 27 (4), pp: 428-37.
[42]	L. L. Cheng, X. N. Chen, Y. Wang et al (2011). Z-ligustilide

	isolated from <i>Radix Angelicae sinensis</i> ameliorates the memory impairment induced by scopolamine in mice. <i>Fitoterapia</i> , 82(7), 1128-1132.
[43]	B. Lee, I. Shim, H. Lee et al (2011). <i>Rehmannia glutinosa</i> ameliorates scopolamine-induced learning and memory impairment in rat. <i>J Microbiol Biotechnol</i> , 21(8), 874-883 .
[44]	Nguyễn Thị Minh Tâm, Nguyễn Nhược Kim, Nguyễn Trọng Minh (2004), “Nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của trà tan Sinh mạch Bảo Nguyên”, <i>Thông tin y dược</i> , số 3/2004, tr.27-29.
[45]	Ngô Trọng Kim, Lê Văn Thanh (2003), “Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Sinh mạch tán gia giảm trong điều trị huyết áp thấp”, <i>Tạp chí y học quân sự</i> , số 6/2004, tr.45-47.
[46]	Ngô Quyết Chiến, Lê Hữu Thuyên (2009), “Nghiên cứu tác dụng điều trị huyết áp thấp của viên Thăng áp TA”, <i>Tạp chí sinh lý học Việt Nam</i> , tập 13, số 1, tr.3-8.
[47]	Hà Văn Diễn (2010), “Đánh giá tác dụng tăng huyết áp trong bệnh huyết áp thấp của viên Hồng mạch kháng trên lâm sàng”, <i>Luận văn bác sĩ chuyên khoa II</i> , Trường Đại học Y Hà Nội.
[48]	Trần Thị Dung (2011), “Đánh giá tác dụng điều trị huyết áp thấp của bài thuốc Hoàng kỳ bổ huyết thang”.
[49]	Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An và Trần Lê Tuyết Châu (2012). Khảo sát mô hình gây suy giảm trí nhớ do trimethyltin trên chuột nhắt trắng. <i>Tạp chí Dược học</i> , 431, 41-45.
[50]	Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An, Nguyễn Ngọc Khôi và cộng sự (2012). Tác dụng kháng cholinesterase của Actiso, Trà xanh và Hương nhu tía liên quan đến khả năng chống suy giảm trí nhớ trên chuột nhắt trắng. <i>Tạp chí dược học</i> , 437, 10-13.
[51]	Đặng Hoàng Quyên, Trần Phi Hoàng Yến, Võ Thị Xuyên et al

	(2014). Khảo sát khả năng cải thiện trí nhớ của cao chiết sinh tử khối <i>Cordyceps</i> spp. trên chuột nhắt, <i>Tạp chí sinh học</i> , 36(1), 203-208
[52]	Morgan, D; Buccafusco, JJ (2009), <i>Water Maze Tasks in Mice: Special Reference to Alzheimer's Transgenic Mice.</i>
[53]	Maei HR, Zaslavsky K, Teixeira CM, Frankland PW (2009), What is the Most Sensitive Measure of Water Maze Probe Test Performance?. <i>Front Integr Neurosci</i> 3: 4.
[54]	Crusio, Wim (1999), Methodological considerations for testing learning in mice. In Crusio, W.E.; Gerlai, R.T. <i>Handbook of molecular-genetic techniques for brain and behavior research</i> (1st ed.). Amsterdam: Elsevier. 638–651.
[55]	Soheil Keihan Falsafi et al. (2012), Scopolamine administration modulates muscarinic, nicotinic and NMDA receptor system, <i>PLoS One</i> , 7(2): 1-12.
[56]	A. Ma and H.Guo (1998). Effect of <i>Radix Achyranthis bidentatae</i> on memory and endurance. <i>Zhong Yao Cai</i> , 21(12), 6240626.
[57]	Y. Wang, Y. Xu, Y. Pan et al (2013), <i>Radix Achyranthis Bidentatae</i> improves learning and memory capabilities in ovariectomized rats. <i>Neural Regen Res</i> , 8(18), 1644-1654.
[58]	Y. J. Yun. B. Lee, D.H. Hahm et al (2007). Neuroprotective effect of Palmul-Chongmyeong-tang on ischemia-induced learning and memory deficits in the rat. <i>Biol Pharm Bull</i> , 30(2), 337-342.
[59]	Z. Lin, Y. Yan, D. Zhu et al (2005). Protective effects of FBD—an experimental Chinese traditional medicinal formula on memory dysfunction in mice induced by cerebral ischemia-reperfusion. <i>J. Ethnopharmacol</i> , 97(3), 477-483.
[60]	Yu He, H. W.,, Yueguang Du, Xiaodong Bie, Tao Zhao, Wei Fu, Panke Xing Protective effect of Danhong injection on cerebral

	<p>ischemia–reperfusion injury in rats. <i>Journal of Ethnopharmacology</i> Volume 144(Issue 2): Pages 387–394.</p>
--	---

