

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN ĐỨC NHÂN

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG AN THẦN CỦA VIÊN NÉN
“ ÍCH KHÍ AN THẦN – HVY” TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

HÀ NỘI – 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN ĐỨC NHÂN

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG AN THẦN CỦA VIÊN NÉN
“ ÍCH KHÍ AN THẦN – HVY” TRÊN THỰC NGHIỆM**

Chuyên ngành Y học cổ truyền

Mã số: 872 0115

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

PGS. TS. Phạm Quốc Bình

HÀ NỘI – 2022

LỜI CẢM ƠN

Với tình cảm chân thành và lòng biết ơn sâu sắc, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới:

Đảng ủy, Ban Giám Đốc, Phòng Đào tạo Sau đại học, các phòng ban và Bộ môn Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam đã giúp đỡ, tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành luận văn.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới PGS.TS Phạm Quốc Bình – Chủ tịch Hội đồng trường – Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam đã tận tình giúp đỡ, hướng dẫn và động viên tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Giám Đốc, Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội 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 xin gửi lời cảm ơn tới gia đình, đồng nghiệp đã động viên giúp đỡ về tinh thần và vật chất để tôi yên tâm nghiên cứu và hoàn thành đề tài này.

Xin chân thành cảm ơn!

Tác giả
Nguyễn Đức Nhân

LỜI CAM ĐOAN

Luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi, được sự hướng dẫn khoa học của Thầy PGS.TS. Phạm Quốc Bình. Các số liệu, những kết luận nghiên cứu được trình bày trong luận văn này hoàn toàn trung thực.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm về lời cam đoan này.

Hà Nội, ngày.....tháng.....năm.....

Người viết cam đoan

Nguyễn Đức Nhân

CÁC CHỮ VIẾT TẮT

MNMT	Mất ngủ mãn tính
REM	Rapid Eye Movement
RLGN	Rối loạn giấc ngủ
SCTL	Sang chấn tâm lý
YHCT	Y học cổ truyền
YHHĐ	Y học hiện đại

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan về giấc ngủ	3
1.1.1. Khái niệm.....	3
1.1.2. Cơ chế điều hòa thức ngủ	3
1.2. Rối loạn giấc ngủ.....	7
1.3. Mất ngủ không thực tồn	9
1.3.1. Khái niệm.....	9
1.3.2. Chẩn đoán mất ngủ không thực tồn.....	10
1.3.3. Điều trị mất ngủ	12
1.4. Một số nghiên cứu về điều trị mất ngủ không thực tồn trên thực nghiệm tại Việt Nam và trên thế giới	15
1.4.1. Trên thế giới.....	15
1.4.2. Tại Việt Nam	17
1.5. Tổng quan về Ích khí an thần – HVY	18
1.5.1. Nguồn gốc xuất sứ:.....	18
1.5.2. Các vị thuốc trong bài.....	19
1.6. Các nghiên cứu về Ích khí an thần – HVY	24
Chương 2 CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	26
2.1. Chất liệu nghiên cứu.....	26

2.1.1. Thuộc nghiên cứu	26
2.1.2. Thuộc đối chứng (chứng dương)	27
2.2. Đối tượng nghiên cứu	27
2.3. Máy móc và hóa chất sử dụng trong nghiên cứu	27
2.4. Phương pháp nghiên cứu	27
2.4.1. Thiết kế nghiên cứu	27
2.4.2. Phương pháp nghiên cứu	28
2.5. Địa điểm, thời gian nghiên cứu	32
2.6. Phương pháp xử lý số liệu	32
Chương 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	33
3.1. Tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY trên mô hình đau cộng nâng cao	33
3.2. Tác dụng kéo dài thời gian ngủ của viên nén “Ích khí an thần – HVY” đối với Theopental trên thực nghiệm	38
3.2.1. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY lên sức bám của chuột....	38
3.2.2. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY trên mô hình hoạt động ký	39
3.2.3. Tác dụng chống co giật của Ích khí an thần – HVY	41
Chương 4 BÀN LUẬN	43
4.1. Bàn luận về tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY trên mô hình đau cộng nâng cao	44
4.2. Bàn luận về tác dụng kéo dài thời gian ngủ của viên nén “Ích khí an thần – HVY” đối với Theopental trên thực nghiệm	46

4.2.1. Tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY đến thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod	46
4.2.2. Tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY đến hoạt động di chuyển theo chiều ngang, theo chiều dọc của chuột trên mô hình hoạt động ký.	48
4.2.3. Tác dụng chống co giật của Ích khí an thần – HVY	49
4.3. Phân tích tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY theo Y học hiện đại và Y học cổ truyền.....	51
4.3.1. Theo Y học hiện đại.....	51
4.3.2. Theo Y học cổ truyền	52
KẾT LUẬN.....	54
KIẾN NGHỊ.....	55
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
Phụ lục	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Thành phần bài thuốc.....	18
Bảng 2.1. Thành phần viên nén Ích khí an thần – HVY	26
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến số lần chuột vào nhánh đóng.....	33
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian chuột vào nhánh đóng.....	34
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến số lần chuột vào nhánh mở.....	35
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian chuột vào nhánh mở.....	36
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột	37
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Ích khí an thần - HVY đến thời gian bám của chuột	38
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến hoạt động di chuyển theo chiều dọc của chuột.....	39
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến hoạt động di chuyển theo chiều ngang của chuột.....	40
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian khởi phát cơn co giật sau khi tiêm nikethamid	41
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid.....	42

DANH MỤC ẢNH

Ảnh 1.1. Đinh lăng.....	19
Ảnh 1.2. Lạc tiên.....	20
Ảnh 1.3. Bình vôi.....	21
Ảnh 1.4. Ba kích.....	22
Ảnh 1.5. Vòng nem.....	23
Ảnh 2.1. Viên nén Ích khí an thần – HVY.....	26

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Nghiên cứu tác dụng an thần trên mô hình dầu cộng nâng cao.....	29
Sơ đồ 2.2. Nghiên cứu thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod.....	30
Sơ đồ 2.3. Nghiên cứu tác dụng an thần trên mô hình hoạt động ký.....	31
Sơ đồ 2.4. Nghiên cứu tác dụng an thần trên mô hình gây co giật bằng Nikethamid.....	32

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngủ là một phần tất yếu vô cùng quan trọng của cuộc sống. Giấc ngủ là một hoạt động có hiệu quả để đảm bảo sự sống của cơ thể và phục hồi sức khỏe sau một ngày thức để làm việc [1]. Giấc ngủ còn góp phần giúp cơ thể bài tiết ra hormone tăng trưởng giúp cho trẻ em phát triển và lớn lên. Với người trưởng thành ngủ là hình thức tái tạo lại sức lao động [1],[2].

Mất ngủ không thực tồn (mất ngủ mạn tính) là tình trạng không thỏa mãn về số lượng và hoặc chất lượng giấc ngủ. Các rối loạn thường gặp ở người bệnh mất ngủ là khó vào giấc ngủ, khi tỉnh giấc khó ngủ lại, giấc ngủ không sâu, tỉnh giấc nhiều lần trong khi ngủ [2],[3]. Mất ngủ làm ảnh hưởng đến hoạt động của con người: trí nhớ giảm sút, giảm sự tập trung, giảm sự tỉnh táo, hiệu quả làm việc thấp, giảm khả năng học tập gây ra sự mệt mỏi chán ăn, giảm thân nhiệt có thể dẫn đến rối loạn hành vi, ảo giác và hoang tưởng, nặng có thể dẫn đến tai nạn hoặc tử vong [4],[5].

Theo một số tác giả rối loạn giấc ngủ là một sản phẩm không thể tránh khỏi của nền văn minh và là một căn bệnh mang tính toàn cầu [6]. Những nghiên cứu dịch tễ học gần đây cho thấy tỷ lệ mất ngủ trong cộng đồng dao động từ 20-30% và tỷ lệ này tăng hơn ở người cao tuổi, mất ngủ tăng lên theo thời gian vì những căng thẳng trong cuộc sống ngày càng gia tăng: Ở Mỹ số người mất ngủ chiếm khoảng 27% dân số, Pháp có 31%, Italia có 35%, Anh 34%, Đan mạch 31%, Bỉ 27%, Đức 23%...[7],[8]

Hiện nay thuốc để chữa mất ngủ chủ yếu là nhóm diazepam, phần đa là điều trị triệu chứng. Tuy nhiên nhiều khi chưa mang lại được hiệu quả toàn diện. Bên cạnh đó các thuốc này thường gây quen thuốc và dẫn tới tình trạng phụ thuộc thuốc khi dùng lâu dài [9].

Y học cổ truyền có những vị thuốc và bài thuốc quý điều trị mất ngủ có hiệu quả, đưa bệnh nhân đến giấc ngủ tự nhiên, ít tác dụng không mong muốn

và không gây tình trạng quen thuốc. Những ưu điểm này có thể giúp khắc phục những bất cập mà YHHĐ đang gặp phải trong điều trị mất ngủ bằng các loại thuốc hóa dược hiện nay. Do vậy hướng tìm kiếm và nghiên cứu điều trị mất ngủ bằng thuốc y học cổ truyền hiện đang được các nhà khoa học quan tâm.

Bài thuốc “Ích khí an thần – HVY” được xây dựng dựa vào lý luận y học cổ truyền Việt Nam và kinh nghiệm lâm sàng để điều trị mất ngủ đem lại hiệu quả cao, nhưng thuốc muốn được ứng dụng rộng rãi lâm sàng bắt buộc phải có những kết quả chính xác trên động vật thực nghiệm [10]. Xuất phát từ thực tiễn đó, chúng tôi tiến hành đề tài “**Nghiên cứu tác dụng an thần của viên nén Ích khí an thần – HVY trên thực nghiệm**” với 2 mục tiêu:

1. *Đánh giá tác dụng an thần của viên nén “Ích khí an thần – HVY” trên mô hình dẫu cộng nâng cao.*
2. *Đánh giá tác dụng kéo dài thời gian ngủ của viên nén “Ích khí an thần – HVY” đối với Theopental trên thực nghiệm.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về giấc ngủ

1.1.1. Khái niệm

Giấc ngủ là trạng thái sinh lý bình thường của con người. Giấc ngủ - đó là trạng thái chung, kéo dài của cơ thể, được gây ra do sự tổ chức lại hoạt động của phức hợp các yếu tố nội sinh và ngoại sinh đặc trưng cho những dao động ngày - đêm và đảm bảo sự phục hồi chức năng hoạt động của não bộ trong trạng thái thức tỉnh. Giấc ngủ là điều hoà, lặp đi lặp lại, trung bình mỗi người cần đến 220.000 giờ (khoảng 25 năm) để ngủ trong suốt cuộc đời [1],[2].

Giấc ngủ bị ảnh hưởng bởi nhịp sinh học. Trong 24 giờ, người lớn ngủ 1 lần, đôi khi 2 lần. Trẻ sơ sinh chưa có nhịp thức - ngủ, nhịp này sẽ xuất hiện và phát triển trong 2 năm đầu của đời sống. Ở phụ nữ, nhịp ngủ thay đổi trong chu kỳ kinh nguyệt [11],[12].

1.1.2. Cơ chế điều hòa thức ngủ

1.1.2.1. Khái niệm chung về cơ chế điều hòa thức ngủ

Cho đến nay vẫn chưa có sự thống nhất trong việc giải thích cơ chế thức ngủ. Cơ chế giấc mộng cũng như cơ chế về sự luân phiên có tính chu kỳ của giấc ngủ. Trước đây người ta tin rằng có một trung khu thần kinh để chỉ huy giấc ngủ. Nhưng thực ra có kích thích vào bất cứ vùng nào của não cũng gây trạng thái thức đặc biệt là vùng có liên quan đến tổ chức. Ở thân não các vùng có liên quan trực tiếp với chức năng thức – ngủ là:

- Vỏ não cảm giác vận động ở trước và sau rãnh Rolando.
- Vỏ não thùy trán.
- Cingulo.
- Vùng hải mã và cấu trúc gian não.

Ở trạng thái thức, các hoạt động thần kinh tăng, trương lực cơ tăng, ngược lại ở trạng thái ngủ các hoạt động thần kinh rất hạn chế và trương lực cơ giảm.

Người ta nhận thấy có một số cơ chế FeedBack (Retroalimentionation), từ ngoại vi vào trung tâm. Khi các tế bào thần kinh phát xung động làm cho các bộ phận trong cơ thể hoạt động thì chính sự hoạt động đó lại phát tín hiệu ngược lại duy trì trạng thái thức khi một trong những mắt xích của chu kỳ hoạt động – cơ thể ấy bị mệt mỏi cần nghỉ ngơi thì chu kỳ sẽ chuyển qua pha ngủ – trạng thái ngủ. Khi một bộ phận nào đó của cơ thể hoặc hệ thần kinh bị tổn thương tăng tính kích thích, tăng trương lực cơ sẽ phá vỡ chu kỳ thức ngủ và gây RLGN [1],[2], [13].

Thuyết Pavlop cho rằng giấc ngủ là trạng thái ức chế lan tỏa khắp hai bán cầu và lan xuống cả vùng dưới vỏ

Trung tâm ngủ tích cực ở gian não

Trung tâm gây ngủ ở trong đồi thị.

Giấc ngủ là trạng thái bình thường của hoạt động vỏ não. Còn trạng thái thức được duy trì bởi sự hoạt động tích cực của cấu tạo lưới ở thân não. Cấu tạo lưới vừa có ảnh hưởng ức chế đối với vỏ não, nghĩa là nó đóng vai trò hoạt động dẫn truyền thần kinh, cũng như duy trì thức tỉnh. Hoạt hóa từ cấu tạo lưới lên vỏ não là kiểu hoạt hóa không đặc hiệu trong đó có sự tham gia của vùng dưới đồi, đồi thị [1],[2],[13].

Người ta còn thấy tham gia vào chu kỳ thức ngủ có các biến đổi hoá học đặc biệt là chuyển hoá của Serotonine.

Hoạt động của Serotonine (5HT) ở mức tối thiểu trong giấc ngủ sâu nhưng đạt tối đa lúc thức . Gần 25 -30 phút để đến giấc ngủ sâu (giấc ngủ chậm SLP) và 60 phút tới giấc ngủ nhanh (SP). Đó là hoạt động của các chất dẫn truyền thần kinh. Các chất chủ vận (Antagorite) của Serotonine gây nên mất

ngủ Serotonine và các chất liên kết 5HT hoạt động ở nhiều điểm. Hiện nay người ta phân biệt các Receptor 5HT (Cơ quan tiếp nhận) thành 5HT1,5HT2,5HT3,5HT4 và các Serotonine 5HT1 lại chia thành 5HT1A, 5HT1B-C-D, có thể có tới 5HT1E,F.

Mỗi một Receptor đã được phân định chức năng của nó.

Các chất chủ vận của %5HT1A được phân định là đặc trưng cho lo âu và trầm cảm. Còn 5HT2 thì có nhiều liên quan tới giấc ngủ sâu.

Người ta còn biết chất Melatonine tiết ra từ tuyến yên là một Indolamine được tổng hợp từ Serotonine có liên quan mật thiết với giấc ngủ.

Khi cơ thể giảm khả năng tiết Melatonine sẽ gây mất ngủ [1],[2],[13].

1.1.2.2. Giải phẫu thần kinh của điều hòa giấc ngủ

Những nghiên cứu trên động vật cho thấy cấu trúc lưới của thân não, vùng dưới đồi, và nền não trước đóng một vai trò trong tạo ra giấc ngủ. Trong khi đó cấu trúc lưới của thân não, não giữa, vùng dưới đồi, tuyến yên, và nền não trước đóng vai trò trong tạo ra sự thức hay vùng thức trong điện não đồ.

Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng phía trước vùng dưới đồi có một trung tâm ngủ, trong khi đó phía sau vùng dưới đồi có chứa trung tâm thức. Những giả thuyết mới cho thấy khu vực chứa trung tâm thức - ngủ nằm dọc theo lối trục từ thân não đến nền não trước. Giải phẫu thần kinh có vị trí riêng biệt liên quan đến chu kỳ vận nhanh lẫn cầu. Những vị trí đặc biệt trên cầu não có sự liên quan về sinh lý thần kinh với trạng thái vận nhanh lẫn cầu và trạng thái không vận nhanh lẫn cầu [1],[2],[13].

1.1.2.3. Sinh hóa thần kinh của điều hòa giấc ngủ

Những nghiên cứu thực nghiệm từ trước cho thấy nhân rãnh xoắn của thân não sản xuất ra serotonin như là một chất dẫn truyền thần kinh đầu tiên tạo ra giấc ngủ. Catecholamine được xem như chất có tác dụng gây thức. Chất dẫn truyền thần kinh Cholinergic được biết như là một chất tạo ra giấc ngủ trong

pha nhanh. Ảnh hưởng gây thức của caffein bao gồm adenosine, hiệu quả của chất gây ngủ của benzodiazepine và barbiturate được xem như một chất có tác dụng với tuyến nội tiết của phức hợp receptor GABA-A. Có nhiều chất hóa học tham gia hoạt hóa trong giấc ngủ đã được xác định. Những chất này bao gồm Prostaglandin D2, chất gây ngủ delta sản sinh ra peptide, mu ramyl dipeptide, interleukin 1, acid amin béo cơ bản, melatonin, và tác dụng của thuốc an thần thường làm hạn chế giấc ngủ pha chậm. Có nhiều giả thuyết " những yếu tố gây ngủ " bao gồm interleukin-1 và prostaglandin - D2, là những chất miễn dịch hữu hiệu , điều này gợi ý một mối liên hệ giữa chức năng miễn dịch và những tình trạng thức - ngủ. Người ta nhận thấy có một cơ chế feed - back, từ ngoại vi vào trung tâm. Khi các tế bào thần kinh phát xung động làm cho các bộ phận trong cơ thể hoạt động, thì chính sự hoạt động đó lại phát tín hiệu ngược lại duy trì trạng thái thức khi một trong những mắt xích của chu kỳ hoạt động thần kinh - cơ chế ấy bị mệt mỏi cần nghỉ ngơi thì chu kỳ sẽ chuyển qua pha nghỉ - trạng thái ngủ. Khi một bộ phận nào đó của cơ thể hoặc hệ thần kinh bị tổn thương tăng tính kích thích , tăng trương lực cơ sẽ phá vỡ chu kỳ thức ngủ có các biến đổi hóa học đặc biệt là chuyển hóa của serotonin [1],[2],[13].

Hoạt động của serotonin (5HT) ở mức tối thiểu trong giấc ngủ sâu như đạt tối đa lúc thức. Cần 25 - 30 phút để đến giấc ngủ sâu (giấc ngủ pha chậm) và 60 phút tới giấc ngủ pha nhanh. Hoạt động của hệ thống serotoninergique giảm ở những người mất ngủ. Sự giải phóng nhiều serotonin trong lúc thức làm thuận cho việc tổng hợp các chất gây ngủ nội sinh [1],[2] [13].

Acetylcholin cũng liên quan đến giấc ngủ, đặc biệt là trong pha nhanh của giấc ngủ.

1.2. Rối loạn giấc ngủ

1.2.1.1. Khái niệm

Rối loạn giấc ngủ (RLGN) là để chỉ những rối loạn về số lượng, chất lượng, về tính chu kỳ của giấc ngủ và các rối loạn nhịp thức ngủ. Nghĩa là những rối loạn liên quan đến diễn biến của giấc ngủ: trước khi ngủ, trong khi ngủ và khi tỉnh dậy. Hậu quả của những rối loạn này làm cho chủ thể có cảm giác không thỏa mãn về giấc ngủ (mệt mỏi, lo lắng, đau khổ, ...) và có ảnh hưởng đến hoạt động lúc thức [2],[14],[15].

1.2.1.2. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh của rối loạn giấc ngủ

* Nguyên nhân:

- Mất ngủ là một triệu chứng phổ biến của các rối loạn tâm thần khác: như các rối loạn cảm xúc, tâm căn, thực tồn và ăn uống, nghiện độc chất và tâm thần phân liệt hoặc của rối loạn giấc ngủ khác như ác mộng [8],[14].

- Do tâm lý: Mất ngủ thường xuyên xảy ra sau một sang chấn tâm lý hoặc xảy ra sau một loạt những sự kiện bất lợi trong cuộc sống. Sang chấn tâm lý như yếu tố gây khởi phát trạng thái mất ngủ. Triệu chứng mất ngủ xảy ra đột ngột ngay sau khi có sang chấn. Sang chấn tâm lý (SCTL) cũng đóng vai trò trong việc duy trì mất ngủ mạn tính (MNMT). Thường thì trạng thái mất ngủ tăng lên vào thời điểm có SCTL. Tuy nhiên nhiều trường hợp sang chấn mất đi nhưng mất ngủ vẫn tiếp tục thức giấc vào ban đêm. Vai trò của các sự kiện bất lợi trong cuộc sống như: thay đổi chỗ ngủ, thay đổi môi trường sống, thay đổi múi giờ (đối với những người đi máy bay) cũng gây ra hoặc làm tăng mất ngủ [8],[14],[15].

Có một số trường hợp bị MNMT ngay từ khi còn nhỏ.

- Yếu tố gia đình, vai trò của nhân cách: chưa có tài liệu nào khẳng định cụ thể.

- Các nguyên nhân thông thường:

- + Đi máy bay
 - + Thay đổi công việc.
 - + Rối loạn nhịp thức ngủ.
 - + Buồn rầu.
 - + Suy nhược thần kinh hoặc suy nhược cơ thể sau khi bị ốm.
 - + Lo lắng.
 - + Lo âu hay căng thẳng (stress).
 - + Quá vui mừng hay kích động.
 - + Phòng ngủ, ánh sáng, hay giường ngủ không đáp ứng được giấc ngủ.
 - + Nicotine, alcohol, caffeine, thức ăn hay chất kích thích sử dụng vào giờ đi ngủ.
 - + Cường tuyến giáp.
 - + Sử dụng thuốc mới
 - + Tuổi tác, phụ nữ tiền mãn kinh.
 - + Cai rượu, cai thuốc lá hoặc thuốc phiện
 - + Dừng đột ngột các thuốc an thần.
 - + Đang sử dụng các thuốc như là: hormon điều trị tuyến giáp amphetamine, cocaine, caffeine, ephedrine, phenylpropanolamine. Dẫn xuất của theophyllin...
 - + Rối loạn giấc ngủ bởi những bệnh lý khác bao gồm: phì đại tuyến tiền liệt, viêm bàng quang, đau khớp, béo phì, cổ trướng to: khí quản bị tắc khi nằm ngủ.
 - + Hội chứng rung giật chân [4],[8],[16]
- * Cơ chế bệnh sinh
- Giả thuyết thứ nhất:

Mức độ hoạt động của hệ thống thần kinh trung ương tăng lên một cách bất thường dẫn đến sự tăng lên toàn bộ, dai dẳng của mức độ thức trong cân bằng thức - ngủ. Hậu quả là:

- + Ban ngày tăng thức tỉnh thường xuyên, sự cảnh tỉnh xấu.

- + Ban đêm: Giai đoạn 1 của giấc ngủ bị rút ngắn, giảm giai đoạn 2, đôi khi cả hai giai đoạn 4 làm thức giấc tăng lên, chia cắt giấc ngủ ra [12],[13],[14].

- Giả thuyết thứ hai:

Rối loạn các chức năng của nhân vùng dưới đồi nơi mà nó kiểm tra giấc ngủ, làm giảm nhu cầu với giấc ngủ và cũng dẫn đến hậu quả: thức giấc tăng lên, chia cắt giấc ngủ ra [12],[13],[14]

1.3. Mất ngủ không thực tồn

1.3.1. Khái niệm

Mất ngủ không thực tồn hay còn gọi là mất ngủ mạn tính, nguyên phát: là trạng thái không thỏa mãn về số lượng và chất lượng giấc ngủ, tồn tại trong một thời gian dài, được đặc trưng bằng các đặc điểm sau:

- Khó đi vào giấc ngủ, là những than phiền thường gặp nhất, có ở hầu hết các bệnh nhân.

- Khó duy trì giấc ngủ và thức dậy sớm; Giấc ngủ của bệnh nhân bị chia cắt ra, trong đêm thức giấc nhiều lần và rất khó ngủ lại, hoặc không phục hồi sức khỏe sau ngủ dậy, chất lượng giấc ngủ kém [1],[12].

- Mất ngủ thường gặp trong các rối loạn cảm xúc (trầm cảm, hưng cảm), rối loạn lo âu, phân liệt cảm xúc, các liên quan đến stress đời sống, gặp nhiều hơn ở phụ nữ, ở người lớn tuổi, tâm lý bị rối loạn và những người bị bất lợi về mặt kinh tế xã hội. Khi đi ngủ bệnh nhân có cảm giác căng thẳng, lo âu, buồn phiền hoặc trầm cảm.

- Mất ngủ nhiều lần, dẫn đến môi lo sợ mất ngủ tăng lên và bận tâm lo lắng quá mức về hậu quả ban đêm và ban ngày của nó, tạo thành một vòng luẩn quẩn có khuynh hướng kéo dài.

- Số lượng và/hoặc chất lượng giấc ngủ không thỏa mãn gây ra đau khổ lớn hoặc gây trở ngại hoạt động xã hội và nghề nghiệp. Hậu quả ban ngày: cảm giác mệt mỏi, thiếu hụt giấc ngủ [1],[12].

1.3.2. Chẩn đoán mất ngủ không thực tổn

1.3.2.1. Chẩn đoán mất ngủ không thực tổn theo tiêu chuẩn của ICD10

- Phàn nàn cả về khó đi vào giấc ngủ hay khó duy trì giấc ngủ, hay chất lượng giấc ngủ kém.

- Rối loạn giấc ngủ đã xảy ra ít nhất là ba lần trong một tuần trong ít nhất là một tháng.

- Rối loạn giấc ngủ gây nên sự mệt mỏi rõ rệt trên cơ thể hoặc gây khó khăn trong hoạt động chức năng lúc ban ngày.

- Không có nguyên nhân tổn thương thực thể, như là tổn thương hệ thần kinh hoặc những bệnh lý khác, rối loạn hành vi, hoặc do dùng thuốc [17].

* Lâm sàng

a) Các triệu chứng về giấc ngủ

- Thời lượng giấc ngủ giảm:

Tất cả các bệnh nhân đều giảm số lượng thời gian giấc ngủ, chỉ ngủ được 3 – 4 giờ/24 giờ, thậm chí có bệnh nhân thức trắng đêm.

Theo Schneider – Helmert (1987): trung bình giảm 74 phút so với người bình thường. Lilfenberg và Cs (1988) thấy giảm hơn 1 giờ so với người bình thường.

- Khó đi vào giấc ngủ:

- Đây là than phiền hay gặp đầu tiên. Bệnh nhân không thấy cảm giác buồn ngủ, trằn trọc, căng thẳng, lo âu. Thường mất từ hơn 30 phút đến 1 giờ 30 phút mới đi vào giấc ngủ.

- Hay tỉnh giấc vào ban đêm: Giấc ngủ của bệnh nhân bị chia cắt ra, giấc ngủ chập chờn, không ngon giấc, thường tỉnh giấc và khi đã tỉnh giấc thì rất khó ngủ lại. Theo Schneider và Helmert thấy bệnh nhân mất ngủ thường thức giấc nhiều hơn hai lần một đêm so với người ngủ tốt.

- Hiệu quả của giấc ngủ: được tính theo công thức như sau:

$\text{Số giờ ngủ} / \text{Số giờ nằm trên giường} \times 100\%$

Ở người bình thường hiệu quả giấc ngủ từ 85% trở lên, còn người mất ngủ hiệu quả giấc ngủ giảm đi nhiều tùy theo mức độ mất ngủ, nếu nặng có thể giảm xuống dưới 65%.

- Thức giấc sớm:

Đa số bệnh nhân phàn nàn là ngủ ít quá, tỉnh dậy sớm. Các bệnh nhân thường có thói quen nằm lại trên giường để xem có thể ngủ lại được không, vì vậy nhiều khi họ rời khỏi giường rất muộn so với lúc họ chưa bị mất ngủ.

- Chất lượng giấc ngủ: có sự khác biệt lớn giữa người ngủ tốt và người mất ngủ:

Người ngủ tốt sau một đêm thấy cơ thể thoải mái, mọi mệt nhọc biến mất vẻ mặt tươi tỉnh.

Người mất ngủ sau một đêm không đem lại sức lực và sự tươi tỉnh, một giấc ngủ chập chờn đôi khi khó xác định được là có ngủ hay không ngủ. Diện mạo vẻ mặt mệt mỏi, hai mắt thâm quầng, dáng vẻ chậm chạp, hay ngáp vặt [16],[15],[17].

* Các triệu chứng liên quan đến chức năng ban ngày

Trạng thái kém thoải mái, mệt mỏi vào ban ngày: là hậu quả của trạng thái thiếu hụt giấc ngủ. Bệnh nhân mô tả thấy suy yếu, thụ động, ít quan tâm

đến công việc luôn luôn suy nghĩ tập trung vào sức khỏe và giấc ngủ của họ. Khó hoàn tất các công việc trong ngày, kém thoải mái về cơ thể và giảm hứng thú trong công việc tiếp xúc với gia đình và bạn bè.

Sự cảnh tỉnh chủ quan vào ban ngày đặc biệt giảm hơn vào lúc trưa, chiều 12 giờ – 16 giờ. Ngủ gà nhiều vào buổi trưa và hoạt động kém vào lúc 20 giờ và lúc đi ngủ. Như vậy cả ngày sự cảnh tỉnh của họ xấu hơn so với người bình thường.

* Các rối loạn tâm thần kèm theo:

+ Khó tập trung chú ý, hay quên.

+ Trạng thái trầm cảm tâm căn nhẹ.

+ Lo âu kéo dài

+ Dễ ức chế cảm xúc và không có khả năng chế ngự được sự cáu gắt, bực tức của mình. Sự lo âu có thể xảy ra vào ban ngày nhưng thường tập trung vào buổi tối nhất là lúc chuẩn bị đi ngủ (lo rằng mình lại không đi ngủ được [15],[17]).

1.3.3. Điều trị mất ngủ

1.3.3.1. Liệu pháp tinh thần

Tự biết mình đang được khuyến cáo, liệu pháp này nhằm vào việc phân tích rõ những sự mâu thuẫn vụ thức, có thể đem lại một sự thay đổi tinh lý học làm tăng thêm sự hiểu biết về mình và tạo ra một sự dung nạp có xu hướng bên trong hay một phản ứng âm tính trước stress nặng.

Liệu pháp tinh thần hỗ trợ, là tác động của con người, trong đó có vai trò người thân và đặc biệt là thầy thuốc am hiểu – thiện cảm có thể làm giảm các triệu chứng qua trấn an. Các phương pháp thư giãn, là giúp cho bệnh nhân tự ý làm chủ các hoạt động tự động vì thế làm giảm sự tăng hoạt động (ở trạng thái kích thích), trầm tư cũng là dạng thư giãn đặc biệt giúp cho bệnh nhân giảm lo

âu, suy nghĩ tập trung hơn. Một vài bệnh nhân có thể dụng phương pháp thôi miên [5],[18].

1.3.3.2. Liệu pháp dùng thuốc

* Sử dụng các loại thuốc có thời gian bán hủy ngắn, tác dụng nhanh và ít có tác dụng phụ

Stilnox (Zopiclone), Halcion (Menazepam), Mogadon (Nitrazepam), Havlane (Lopxazolam), Imovane (Zopiclone).

Cho những người mất ngủ tạm thời, những người khó đi vào giấc ngủ và đặc biệt cho những người có tuổi để tránh hiện tượng loạng choạng vào sớm hôm sau. Những loại này tạo ra giấc ngủ nhanh sâu, tạo cảm giác thoải mái, dễ chịu khi ngủ dậy. Nhưng nhược điểm lớn nhất là chúng gây hiện tượng tăng triệu chứng mất ngủ và đòi hỏi tăng liều ở những ngày kế tiếp

* Sử dụng các loại thuốc có thời gian bán hủy vừa và chậm.

Seduxen (Diazepam), Temesta (Loaepam), Seresta (Oxazepam), Lexomil (Bromazepam).

Hiện nay thuốc để chữa mất ngủ là diazepam. Liều lượng những bệnh nhân này nên bắt đầu bằng 5 mg uống ngày 2 lần, không nên điều chỉnh liều lượng cho đến khi người bệnh có trạng thái vững vàng, trước khi thời gian điều trị dài trên 4 tháng.

Các thuốc này có ưu điểm tác dụng ổn định và ít làm tăng sự mất ngủ. Nhưng nhược điểm là những loại thuốc này rất dễ bị lạm dụng và đã làm nhiều bệnh nhân nghiện, ở người có tuổi phải lưu ý sự say thuốc, loạng choạng khi thức dậy và tác dụng phụ kéo dài khô miệng sau giấc ngủ [5],[18].

* Sử dụng phối hợp một loại Benzodiazepam với một loại thuốc chống trầm cảm êm dịu.

Amitriptilin + Lexomil.

Ludiomil + Temerta

Mục đích điều trị bệnh nhân trầm cảm, giảm các đợt thức giữa chừng, làm tăng giấc ngủ sâu. Nhược điểm: tác dụng gây ngủ không mạnh, ức chế không đầy đủ thường tạo cho bệnh nhân cảm giác bứt rứt bồn chồn đặc biệt là những ngày đầu vì vậy phải kết hợp với một loại thuốc trấn tĩnh khác [5],[19].

* Sử dụng các loại thuốc chống trầm cảm

Thuốc ức chế tái hấp thu có lựa chọn serotonin: fluoxetine, sertraline, paroxetine, và fluvoxamine: để điều trị bệnh trầm cảm (50% bệnh nhân mất ngủ gặp trong bệnh trầm cảm) [17],[19]

* Các thuốc an thần kinh:

Aminazin, theralene, tiserin, olanzapin... để điều trị rối loạn giấc ngủ một cách tốt nhất, thầy thuốc phải chọn được 1 thuốc ngủ thích hợp với tình trạng của từng người bệnh

* Thuốc ngủ lý tưởng cải thiện giấc ngủ phải đạt được các tiêu chuẩn sau:

- Khởi đầu tốt và duy trì tốt giấc ngủ.
- Hiệu lực dài hạn mà không bị nhờn thuốc.
- Phạm vi điều trị rộng và không gây ngộ độc quá liều
- Cải thiện chất lượng giấc ngủ, ngày hôm sau phải khoẻ khoắn và không mất tập trung.
- Thiết lập và duy trì giấc ngủ như bình thường
- Không gây khó chịu và tác dụng phụ khác
- Không gây tương tác với các thuốc và chất khác
- Không gây tình trạng lệ thuộc thuốc (nghiện), có thể bỏ và cắt giảm được [18],[19].

1.4. Một số nghiên cứu về điều trị mất ngủ không thực tổn trên thực nghiệm tại Việt Nam và trên thế giới

1.4.1. Trên thế giới

Lan Ngọc Diễm, Vương Địch (2007) nghiên cứu về tác dụng chống lão hóa của Thiên vương bồ tâm đan cho kết quả: Thiên vương bồ tâm đan ở 3 liều khác nhau đều có tác dụng chống lão hóa, cải thiện trí nhớ trên chuột tương đối tốt, tăng hoạt tính SOD và hàm lượng MDA ở huyết thanh và mô gan [20].

Koetter U và cộng sự (2007) đã nghiên cứu hỗn hợp chiết xuất từ cây Nữ lang và cây Hoa bia trên bệnh nhân mất ngủ không thực tổn. Thực hiện theo phương pháp nghiên cứu tiền cứu, có đối chứng (giả dược và một dịch chiết cây Nữ lang), mù đôi. Thời gian điều trị 4 tuần. Thông số đánh giá chính là thời gian đi vào giấc ngủ. Kết luận cho thấy dịch chiết hỗn hợp của cây Nữ lang với cây Hoa bia có tác dụng làm giảm thời gian đi vào giấc ngủ, so với trước điều trị và so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), trong khi dịch chiết xuất cây Nữ lang đơn độc không có hiệu quả hơn so với giả dược. Kết quả này khẳng định hiệu quả của việc đưa thêm thành phần cây hoa bia vào chiết xuất cây nữ lang [21]

Đặng Mẫn Trinh, Lê Đồng Minh (2012) ở Đại học Trung Y dược Quảng Châu tiến hành nghiên cứu tác dụng an thần và ảnh hưởng tới tình trạng sút giảm trí nhớ của Quy tỳ thang trên chuột thí nghiệm mất ngủ, kết luận Quy tỳ thang có tác dụng an thần và cải thiện trí nhớ [22].

Hamedi S. và cộng sự (2019), Đánh giá tác dụng an thần của *Portulaca oleracea* đối với giấc ngủ do Pentobarbital gây ra ở chuột cho kết quả: *Portulaca oleracea* làm tăng hành vi ngủ [23].

Cao Q, Jiang Y và cộng sự (2016), Đánh giá tác dụng cải thiện giấc ngủ ở chuột của Tenuifolin- một saponin có nguồn gốc từ Viễn trí cho kết quả: Tenuifolin với liều 40 và 80mg/kg (po) kéo dài đáng kể tổng thời gian ngủ [24].

Zick SM và cộng sự (2011), đã nghiên cứu về hiệu quả, tính an toàn khi dùng đơn độc loại dịch chiết Cúc la mã trên bệnh nhân mất ngủ không thực tổn lại cho kết quả thấp. Nhóm dùng 270mg Cúc la mã 2 lần /ngày, kết quả cho thấy hiệu quả khiêm tốn trong cải thiện các triệu chứng về ban ngày [25].

Fussel A và cộng sự (2000) đã nghiên cứu đánh giá tác dụng của hỗn hợp Ze 91019 của 2 loại chiết xuất là cây Cúc la mã và cây hoa bia, trên 30 bệnh nhân mất ngủ không thực tổn, mức độ từ nhẹ đến vừa. Đánh giá tác dụng của thuốc dựa trên tiêu chuẩn thử nghiệm đa ký giấc ngủ. Bệnh nhân được sử dụng 2 viên hỗn hợp chiết xuất mỗi tối. Mỗi viên chứa 250mg chiết xuất cúc la mã và 60mg chiết xuất hoa bia. Thử nghiệm đa ký giấc ngủ được tiến hành lại vào thời điểm sau 2 tuần dùng thuốc. Kết luận thuốc có tác dụng cải thiện làm giảm thời gian đi vào giấc ngủ, tăng hiệu quả giấc ngủ. Thời gian giấc ngủ giai đoạn 1 giảm xuống và sóng ngủ chậm tăng lên. Bệnh nhân cảm thấy thoải mái vào buổi sáng. Không quan sát thấy bất cứ tác dụng phụ nào [26].

Wheatly D và cộng sự (2001) đã nghiên cứu tác dụng an thần của Kava và Cúc la mã trên bệnh nhân mất ngủ không thực tổn điều trị cho 24 bệnh nhân mất ngủ không thực tổn, thời gian điều trị 6 tuần bằng Kava 120mg/ngày. Sau đó bệnh nhân được dùng điều trị 2 tuần, có 5 bệnh nhân bỏ nghiên cứu, 19 bệnh nhân tiếp tục điều trị bằng Cúc la mã 600mg/ngày trong vòng 6 tuần tiếp theo. Kết quả nghiên cứu đánh giá mất ngủ dựa trên 3 tiêu chí: thời gian đi vào giấc ngủ, số giờ ngủ, trạng thái khi thức dậy, cả 3 tiêu chí đều có sự cải thiện tốt lên so với trước điều trị có ý nghĩa thống kê ($p < 0.01$) và không có khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm. Tỷ lệ bệnh nhân không có tác dụng phụ là 58% ở mỗi nhóm và tác dụng phụ thường gặp nhất là mộng mị khi sử dụng Cúc la mã (16%), tiếp theo là chóng mặt khi sử dụng Kava (12%) [27].

1.4.2. Tại Việt Nam

Nguyễn Thị Minh Ngọc và cộng sự (2012) Nghiên cứu tác dụng an thần thực nghiệm của chế phẩm Sleep Care cho kết quả Sleepy care có tác dụng giãn cơ (mô hình leo dây), giải lo (mô hình chữ thập nâng cao), an thần (kéo dài thời gian ngủ do thiopental) và ức chế thần kinh trung ương (đôi kháng với co giật gây ra bởi strychnin). Tác dụng an thần của sleepy care phụ thuộc vào liều sử dụng. Sleepy care với mức liều bằng 2 lần liều điều trị trên người (SC2) thể hiện tác dụng an thần trên tất cả các mô hình trên [28].

Dương Thị Hương Ly, Nguyễn Thị Bách Thủy (2016), Đánh giá tác dụng an thần giải lo âu của bài thuốc “Chè an thần” trên động vật thực nghiệm cho kết quả: với liều 2 g/kg, Chè an thần có tác dụng an thần, giảm lo lắng và giãn cơ tốt thông qua việc: làm tăng số lần và thời gian chuột đi vào tay hở trong mô hình chữ thập nâng cao (EPM), làm giảm số điểm bám trên dây trong mô hình leo dây Grip, làm giảm thời gian bám trên máy quay Rota-Rod và làm giảm thời gian bơi trong mô hình chuột bơi [29].

Nguyễn Phương Dung, Lê Thị Thu Hương (2018), Khảo sát tác dụng an thần của bài thuốc Bá tử dưỡng tâm hoàn không có thạch xương bồ trên thực nghiệm cho kết quả: Theo kết quả thử nghiệm độc tính cấp của cao chiết nước bài thuốc Bá tử dưỡng tâm hoàn không có Thạch xương bồ có thể khẳng định rằng cao chiết nước bài thuốc này có độ an toàn khá cao. Cao thuốc liều 2,29 g/kg chuột và liều 4,57 g/kg chuột, tại thời điểm 60 phút, thời gian ra ngăn sáng tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (lô uống nước cất) chứng tỏ cao thuốc có tác dụng an thần giải lo âu [30].

Nguyễn Văn Tâm, Nguyễn Trần Giáng Hương, Phạm Thị Vân Anh, Đỗ Thị Phương, Trần Thị Thanh Loan (2017), Nghiên cứu tác dụng an thần, giải lo âu của cao lỏng Dưỡng tâm an thần trên thực nghiệm cho kết quả: cao lỏng

Dưỡng tâm an thần liều 13,3ml/kg/ngày và liều 39,9ml/kg/ngày có tác dụng an thần giải lo âu trên thực nghiệm [31].

Nguyễn Văn Tâm và cộng sự (2016), Nghiên cứu độc tính cấp và ảnh hưởng của cao lỏng Dưỡng tâm an thần lên các chỉ số huyết học trên thực nghiệm cho kết quả cao lỏng Dưỡng tâm an thần không có độc tính cấp và chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng theo đường uống. Sau 8 tuần chuột công được uống cao lỏng Dưỡng tâm an thần với liều 9,24g/kg/ngày và liều 27,72g/kg/ngày không thấy ảnh hưởng đến thể trạng, chức năng tạo máu của chuột công [31].

Nguyễn Văn Tâm, Nguyễn Trần Giáng Hương, Phạm Thị Vân Anh, Đỗ Thị Phương (2016), Nghiên cứu ảnh hưởng của cao lỏng Dưỡng tâm an thần lên chức năng gan thận trên động vật thực nghiệm cho kết quả Cao lỏng Dưỡng tâm an thần liều 9,24g/kg và liều 27,72g/kg uống liên tục trong 8 tuần không ảnh hưởng đến chức năng gan thận của chuột thí nghiệm [31].

Nguyễn Văn Hùng, Hoàng Tích Huyền (1999) Đánh giá tác dụng an thần của cao lá sen, tâm sen, lá vông và củ bình vôi trên súc vật thực nghiệm cho kết quả: hỗn hợp tâm sen-lá vông-củ bình vôi và hỗn hợp lá sen-lá vông-củ bình vôi có tác dụng an thần tốt hơn so với khi dùng đơn độc. Không thấy có sự khác biệt đáng kể giữa hai dạng kết hợp này [32].

1.5. Tổng quan về Ích khí an thần – HVY

1.5.1. Nguồn gốc xuất xứ:

Viên nén Ích khí an thần - HVY có nguồn gốc từ bài thuốc nam kinh nghiệm của lương y Nguyễn Kiều

Bảng 1.1. Thành phần bài thuốc

Tên vị thuốc	Tên khoa học
Đinh lăng	Radix polysciacis
Lạc tiên	Herba passiflorae foetidae

Bình vôi	Tuber stephaniae
Ba kích nam	Radix morindae officinalis
Vông nem	Folium erythrinae

- Công dụng: Trợ dương, ích khí, hoạt huyết, an thần. Điều trị chứng mất ngủ không thực tổn

- Chủ trị: mất ngủ không thực tổn, khó vào giấc ngủ, ngủ không yên giấc, mất ngủ ở người cao tuổi. Hỗ trợ điều trị suy nhược cơ thể, mệt mỏi, giảm trí nhớ, suy nhược thần kinh do lo âu, căng thẳng, stress, làm việc quá sức.

1.5.2. Các vị thuốc trong bài

1.5.2.1. Đinh lăng



Ảnh 1.1. Đinh lăng

- Tên khoa học: Radix Polysciacis

- Bộ phận dùng: Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms.), họ Nhân sâm (Araliaceae).

- Thành phần hóa học: Trong rễ có glucosid, alcaloid, saponin, triterpen, tanin, 13 loại acid amin, vitamin B1. Trong thân và lá cũng có nhưng ít hơn.

- Tác dụng dược lý: phần thân, rễ đinh lăng có khả năng tăng cường tuần hoàn máu, giúp lưu thông khí huyết. Phần lá có khả năng giải độc, chống dị ứng, ho ra máu, kết lỵ.

- Tính vị, quy kinh: Ngọt, bình. Quy vào kinh phế, tỳ, thận.

- Công năng: Bổ khí.

- Chủ trị: Suy nhược cơ thể và thần kinh, lợi sữa, giải độc, kém phát dục.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng 1- 6 g, dạng thuốc sắc hoặc 2 g trở lên với thuốc tán bột [33],[34],[35].

1.5.2.2. Lạc tiên



Ảnh 1.2. Lạc tiên

- Tên khoa học: *Herba Passiflorae foetidae*, họ Lạc tiên (Passifloraceae).
- Bộ phận dùng: Phần trên mặt đất phơi hay sấy khô của cây Lạc tiên (*Herba Passiflorae*).
- Thành phần hoá học: Alcaloid, flavonoid, saponin. Quả, hạt và lá chứa một chất không bền vững cho acid cyanhydric và aceton. Quả chín có muối Ca, P, Fe.
- Tính vị, quy kinh: Cam, vi khô, lương. Vào các kinh tâm, can.

- Công năng: an thần, thanh tâm, dưỡng can, thanh nhiệt, giải độc, lợi tiểu, chỉ thống.
- Chủ trị: Suy nhược thần kinh, tim hồi hộp, mất ngủ, hay nằm mơ, phụ nữ hành kinh sớm, đau bụng do nhiệt táo, ho do phế nhiệt, phù thũng, bạch trọc.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng 20 - 40 g, dạng thuốc sắc. Ngoài ra có thể uống cao lỏng, siro, rượu thuốc với lượng tương ứng. Nên uống trước khi đi ngủ [33],[34],[35].

1.5.2.3. Bình vôi



Ảnh 1.3. Bình vôi

- Tên khoa học: Tuber *Stephaniae*, Họ: Tiết dê (Menispermaceae).
- Bộ phận dùng: Phần gốc thân hình thành củ của cây Bình vôi (*Stephania glabra* (Roxb.)
- Thành phần hóa học: Củ chứa alkaloid với hàm lượng rất khác nhau từ vết đến 2,5% trong từng loài. Các alkaloid là L-tetrahydropalmatin (rotundin), stepharin, roemerin, cycleanin. Còn có tinh bột, đường khử oxygen, acid malic, men oxydase.
- Tác dụng dược lý: nhiều hoạt chất chiết được từ các loài bình vôi đã được nghiên cứu. Trong đó, 1. tetrahydropalmatin có tác dụng an thần rõ rệt, gây ngủ dễ dàng với liều thích hợp. Cepharanthin có tác dụng giảm nhẹ hiện tượng giảm

bạch cầu do sử dụng các thuốc chống ung thư gây nên, có khả năng kích thích miễn dịch.

- Tính vị, quy kinh: Khô, cam, lương. Vào hai kinh can, tỳ.

- Công năng: an thần, tuyên phế

- Chủ trị: an thần, tuyên phế. Chủ trị: Mất ngủ, sốt nóng, nhức đầu, đau dạ dày, ho nhiều đờm, hen suyễn khó thở.

- Cách dùng, liều lượng: Ngày 6 - 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc bột hoặc rượu thuốc. Y học hiện đại: Dùng toàn cây, cao hoặc alcaloid bào chế thành dạng thuốc thích hợp để làm thuốc an thần [33],[34],[35].

1.5.2.4. Ba kích



Ảnh 1.4. Ba kích

- Tên khoa học: *Radix Morindae officinalis*.

- Bộ phận dùng: Rễ phơi hay sấy khô của cây Ba kích (*Morinda officinalis* How.), họ Cà phê (*Rubiaceae*).

- Thành phần hoá học: Rễ tươi chứa chất đường, nhựa, acid hữu cơ, vitamin C, tinh dầu, anthraglycosid, phytosterol. Nhưng trong ba kích khô không thấy có vitamin C.

- Tác dụng dược lý:

- + Làm tăng sức đề kháng: Qua thử nghiệm nhiễm độc Ammoni Clorua trên chuột bạch cho thấy ba kích có khả năng tăng cường hệ miễn dịch của cơ thể và đẩy lùi yếu tố gây ngộ độc.
- + Tác dụng đối với nội tiết tố: Ba kích thiên không có tác dụng kiểu như Androgen trên cơ thể chuột bạch nên nó làm thúc đẩy khả năng ham muốn và tăng cường chất lượng giao hợp.
- + Ngoài ra, ba kích ngâm rượu còn có tác dụng điều hòa huyết áp, tăng cường hoạt động não, giúp ngủ ngon, tác dụng nhanh với tuyến cơ năng ...
- Tính vị, quy kinh: Cam, tân, vi ôn. Vào kinh thận.
- Công năng: Ôn thận, tráng dương, cường tráng cân cốt, bổ trí não và tinh khí.
- Chủ trị: Chữa liệt dương, di tinh, phụ nữ khó có thai, kinh nguyệt chậm, bế kinh, đau lưng mỏi gối, Ba kích được dùng bồi bổ sức khỏe, gân cốt yếu mềm, lưng gối mỏi đau.
- Cách dùng, liều lượng: ngày dùng 3 - 9 g. Dạng thuốc sắc [33],[34],[35].

1.5.2.5. Vông nem



Ảnh 1.5. Vông nem

- Tên khoa học: Folium Erythrinae

- Bộ phận dùng: Lá đã phơi khô của cây Vông nem (*Erythrina variegata* L. *Erythrina indica* Lamk.), họ Đậu (Fabaceae).
- Thành phần hóa học: alkaloid là erythrin, saponin.
- Tác dụng dược lý:
 - + Lá vông có tác dụng ức chế hệ thần kinh trung ương, trấn tĩnh, gây ngủ, hạ thân nhiệt và hạ huyết áp.
 - + Tác dụng tăng co bóp của cơ. Trên súc vật thí nghiệm, nước sắc lá vông 10% có tác dụng làm co cứng cơ chân ếch và cơ thắt trực tràng
 - + Tác dụng sát trùng, chữa bệnh ngoài da
 - + Lá vông ít độc. Thí nghiệm trên chuột trắng, chuột lang, chuột bạch, thỏ, mèo, chó, khi đều không có hiện tượng ngộ độc nào.
- Tính vị, quy kinh: Khô, bình. Quy vào kinh tâm, tỳ.
- Công năng: an thần, sát trùng.
- Chủ trị: Mất ngủ (uống), mụn nhọt, loét, trĩ, lậu (đắp ngoài).
- Cách dùng, liều lượng: Ngày 4- 6 g, phối hợp trong các bài thuốc [33],[34],[35].

1.6. Các nghiên cứu về Ích khí an thần – HVY

1.6.1.1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Ích khí an thần - HVY trên động vật thực nghiệm

Chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nén Ích khí an thần - HVY theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong vòng 24 giờ là 37,5viên/kg thể trọng (phụ lục 1)

1.6.1.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nén Ích khí an thần - HVY trên động vật thực nghiệm

Trên các lô chuột uống Ích khí an thần – HVY liều 0,506 g/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người) và 1,518 g/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người) trong 4 tuần liên tục không

phát hiện các bất thường trên chuột thực nghiệm (chuột khỏe mạnh, tăng trọng đều, không làm thay đổi các chỉ số huyết học, sinh hóa, không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận (phụ lục 2).

Chương 2

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu

Chất liệu nghiên cứu là viên nén Ích khí an thần – HVY với thành phần gồm các vị thuốc (bảng 2.1), mỗi viên có 703mg hoạt chất như sau:

Bảng 2.1. Thành phần viên nén Ích khí an thần – HVY

Thành phần	Tên khoa học	Hàm lượng (mg)
Đinh lăng	Radix Polysciacis	163 mg
Lạc tiên	Herba Passiflorae foetidae	147 mg
Bình vôi	Tuber Stephaniae	81 mg
Ba kích	Radix Morindae officinalis	167 mg
Vông nem	Folium Erythrinae	145 mg



Ảnh 2.1. Viên nén Ích khí an thần – HVY

Các vị thuốc sử dụng trong nghiên cứu được bào chế theo đúng tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V [33] và tiêu chuẩn cơ sở (phụ lục 1). Thuốc

được bào chế dưới dạng viên nén với liều dùng trên người là 6 viên/người/24h (với người trưởng thành 50kg)

Quy đổi ra liều tương đương trên chuột nhất với hệ số quy đổi là 12 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhất là 1,44 viên/kg/24h.

2.1.2. Thuốc đối chứng (chứng dương)

Thuốc chứng dương dùng trong nghiên cứu: Diazepam 5mg dạng viên nén, biệt dược Seduxen[®] của Công ty Gedeon Richter.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống khỏe mạnh, trọng lượng 22±2g do Viện vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp.

Động vật thí nghiệm được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

2.3. Máy móc và hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

- Nikethamid dạng ống pha tiêm 25%;
- Trục quay Rotarod của Hãng Ugo-Basile (Italy);
- Máy đo hoạt động ký Activity cage của Hãng Ugo-Basile (Italy);
- Mô hình Dấu cộng nâng cao;
- Bông, cồn 70% để vệ sinh máy móc sau mỗi lần đo;
- Đồng hồ bấm giây.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thiết kế nghiên cứu

2.4.1.1. Đánh giá tác dụng an thần của viên nén “Ích khí an thần – HVY” trên mô hình dấu cộng nâng cao.

Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp của G. Olayiwola và cộng sự [36].

2.4.1.2. Đánh giá tác dụng kéo dài thời gian ngủ của viên nén “Ích khí an thần – HVY” đối với Theopental trên thực nghiệm.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY lên sức bám của chuột được tiến hành trên trục quay Rotarod, dựa theo mô hình của tác giả Shiotsuki H và cộng sự [37].

- Nghiên cứu ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY trên mô hình đo hoạt động ký được thực hiện theo phương pháp của Mill J và cộng sự [38].

- Nghiên cứu tác dụng của Ích khí an thần - HVY trên mô hình gây co giật bằng nikethamid được tiến hành theo phương pháp của Wu XY1, Zhao JL, Zhang M và cộng sự [39].

2.4.2. Phương pháp nghiên cứu

2.4.2.1. Đánh giá tác dụng an thần của viên nén “Ích khí an thần – HVY” trên mô hình dấu cộng nâng cao [36]

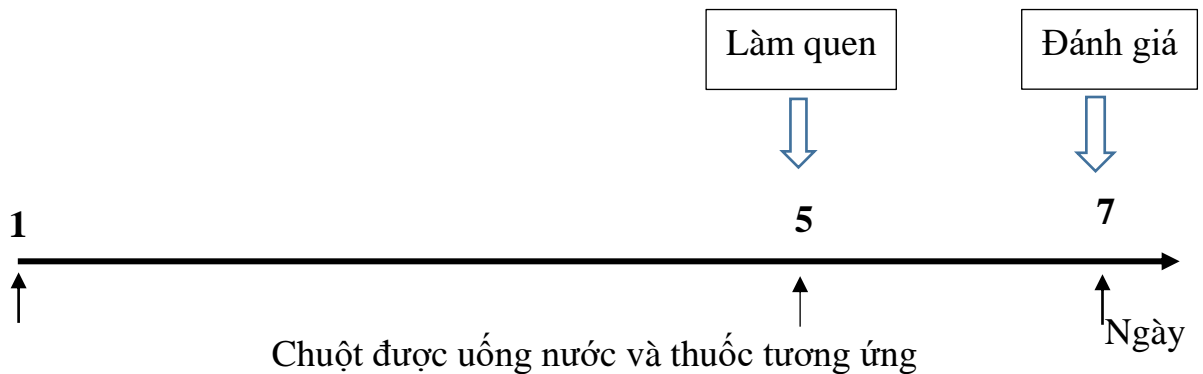
Chuột nhất trắng được chia lô như sau:

- Lô 1 (n=10) (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày
- Lô 3 (n=10): uống Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12)
- Lô 4 (n=10): uống Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng)

Chuột được uống nước cất/chứng dương/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Theo dõi các chỉ tiêu ở 2 thời điểm: trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7. Tại mỗi thời điểm: chuột được đặt nhẹ nhàng vào vùng trung tâm của mô hình hương đầu vào nhánh mở, theo dõi trong 5 phút. Chuột được tính vào các nhánh khi cả 4 chân chuột đặt vào nhánh đó. Sau mỗi thử nghiệm, mô hình được lau bằng cồn 70. Chuột được luyện tập 2 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

Chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

- Số lần chuột vào nhánh mở, thời gian chuột ở nhánh mở;
- Số lần chuột vào nhánh đóng, thời gian chuột ở nhánh đóng;
- Tỷ lệ né tránh nhánh mở = $(\% \text{ số lần chuột vào nhánh đóng} + \% \text{ thời gian chuột ở nhánh đóng})/2 \times 100\%$.



Sơ đồ 2.1. Nghiên cứu tác dụng an thần trên mô hình dầu cộng nâng cao
2.4.2.2. Đánh giá tác dụng kéo dài thời gian ngủ của viên nén “Ích khí an thần – HVY” đối với Theopental trên thực nghiệm

a) Nghiên cứu ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY lên sức bám của chuột được tiến hành trên trục quay Rotarod, dựa theo mô hình của tác giả Shiotsuki H và cộng sự [37]

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

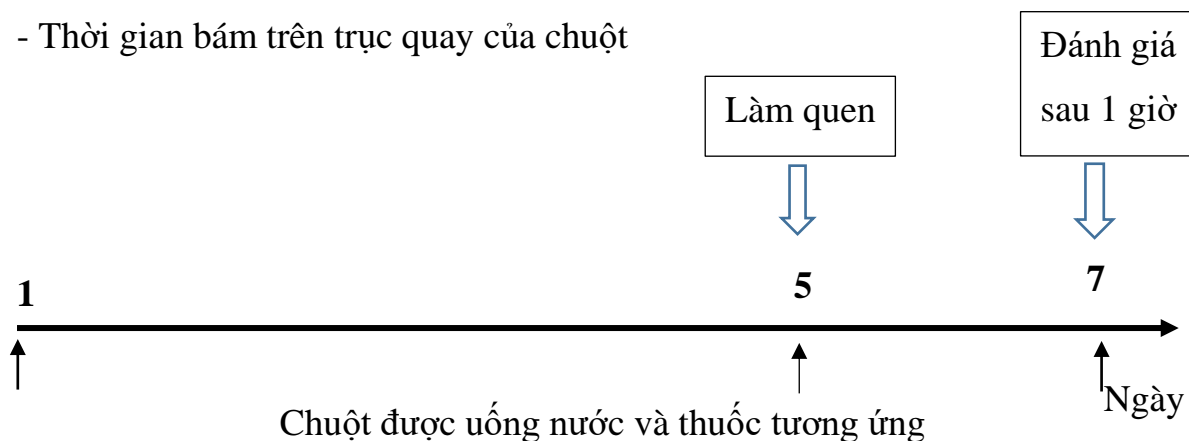
- Lô 1 (n=10) (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày
- Lô 3 (n=10): uống Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12)
- Lô 4 (n=10): uống Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng).

Chuột nhắt trắng được uống nước cất/chứng dương/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Theo dõi các chỉ tiêu nghiên cứu ở 2 thời điểm: trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7.

Tại mỗi thời điểm xác định thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod. Thời gian bám của chuột được tính từ khi đặt chuột lên trục quay cho tới khi chuột rơi khỏi trục quay. Chuột được luyện tập 2 ngày trước khi tiến hành xác định thời gian bám của chuột tại 2 thời điểm nghiên cứu.

Chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

- Thời gian bám trên trục quay của chuột



Sơ đồ 2.2. Nghiên cứu thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod

b) Nghiên cứu ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY trên mô hình đo hoạt động ký được thực hiện theo phương pháp của Mill J và cộng sự [38]

Mô hình đo hoạt động ký gồm một lồng kính hình hộp kích thước 40cm x 40cm x 30cm, bộ cảm biến di chuyển và thiết bị ghi lại số lần các hoạt động của chuột. Chuột nhắt trắng được chia lô như sau:

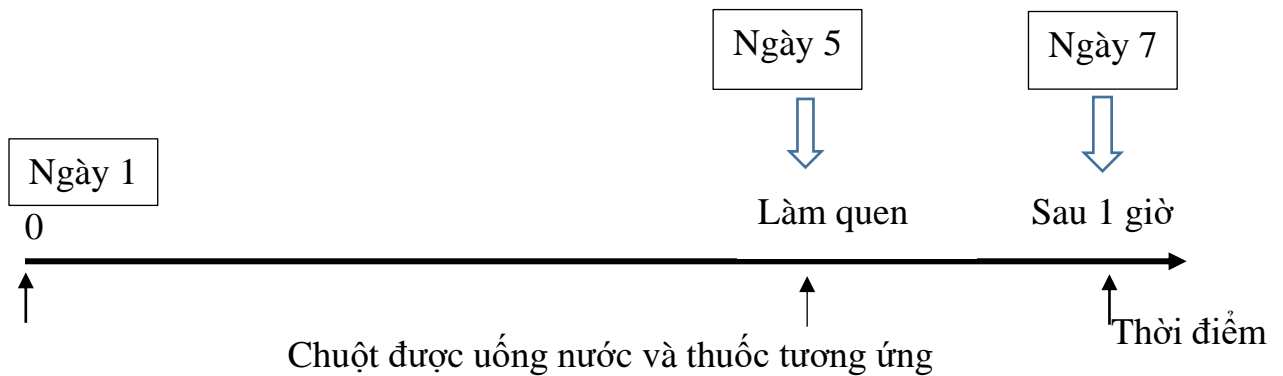
- Lô 1 (n=10) (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày
- Lô 3 (n=10): uống Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12)
- Lô 4 (n=10): uống Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng)

Cho chuột uống nước cất/chứng dương/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Theo dõi các chỉ tiêu nghiên cứu ở 2 thời điểm: trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7. Tại mỗi thời điểm:

chuột được đặt nhẹ nhàng vào trong lồng hoạt động ký theo dõi trong 2 phút. Khi chuột di chuyển thì sẽ được thiết bị điện tử ghi lại và sau khi hết 2 phút số liệu được ghi lại. Sau mỗi thử nghiệm, lồng hoạt động ký được lau sạch với cồn 70%. Chuột được luyện tập 2 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

Chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

- Số lần chuột di chuyển theo chiều ngang;
- Số lần chuột di chuyển theo chiều dọc.



Sơ đồ 2.3. Nghiên cứu tác dụng an thần trên mô hình hoạt động ký

c) Nghiên cứu tác dụng của Ích khí an thần - HVY trên mô hình gây co giật bằng nikethamid được tiến hành theo phương pháp của Wu XY1, Zhao JL, Zhang M và cộng sự [39]

Chuột nhắt trắng được chia lô như sau:

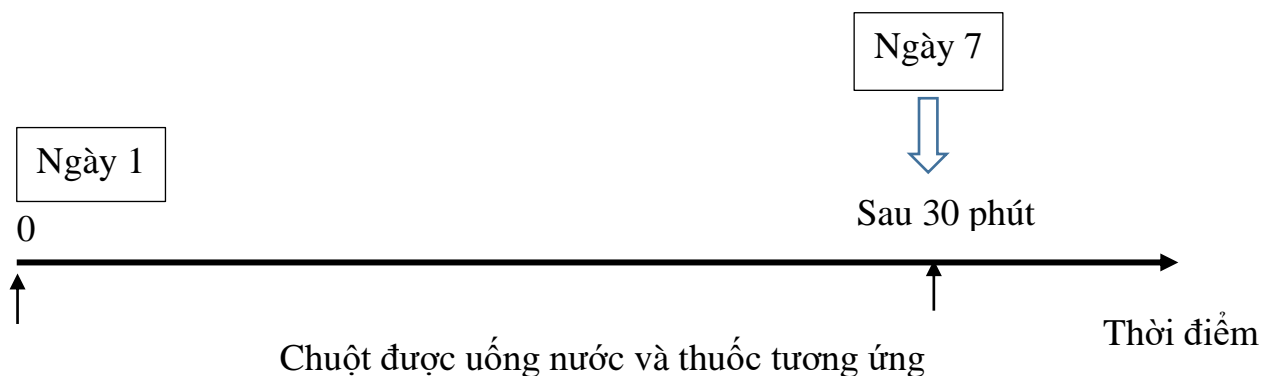
- Lô 1 (n=10) (mô hình): uống nước cất 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày
- Lô 3 (n=10): uống Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12)
- Lô 4 (n=10): uống Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng)

Cho chuột nhắt trắng được uống nước cất/chứng dương/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Tại thời điểm ngày thứ 7 sau khi uống thuốc thử 1

giờ, chuột được tiêm nikethamid liều 400 mg/kg. Chuột được theo dõi 30 phút sau khi tiêm [40].

Chỉ tiêu theo dõi trong nghiên cứu:

- Thời gian khởi phát cơn co giật;
- Thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid



Sơ đồ 2.4. Nghiên cứu tác dụng an thần trên mô hình gây co giật bằng Nikethamid

2.5. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội
- Thời gian: từ tháng 3/2020 đến tháng 02/2022

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo T test-Student và test trước-sau (Avant-après). Kết quả được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

Chương 3
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY trên mô hình đau cộng nâng cao

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến số lần chuột vào nhánh đóng

Lô chuột	n	Số lần chuột vào nhánh đóng	
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc
Lô 1: Chứng sinh học	10	11,10 ± 2,56	10,50 ± 2,80
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	11,50 ± 2,32	6,40 ± 2,07
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	10,30 ± 3,71	6,90 ± 2,23
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	10,60 ± 3,10	6,60 ± 2,17
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05

Nhận xét: kết quả bảng 3.1 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Ích khí an thần - HVY liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày, số lần chuột vào nhánh đóng

giảm hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của Ích khí an thần - HVY cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian chuột vào nhánh đóng

Lô chuột	n	Thời gian chuột vào nhánh đóng (giây)	
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc
Lô 1: Chứng sinh học	10	176,70 ± 33,77	182,10 ± 36,27
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	173,70 ± 36,50	121,20 ± 27,18
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	181,80 ± 37,53	131,10 ± 34,42
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	179,70 ± 37,51	123,30 ± 41,10
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05

Nhận xét:

Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Ích khí an thần - HVY liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng làm giảm thời gian chuột vào nhánh đóng sau 7 ngày uống thuốc. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với thời điểm trước điều trị và với lô sinh học ($p < 0,05$). Tác dụng của

Ích khí an thần - HVY cả 2 mức liều và diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày là tương đương nhau ($p > 0,05$).

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến số lần chuột vào nhánh mở

Lô chuột	n	Số lần chuột vào nhánh mở	
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc
Lô 1: Chứng sinh học	10	3,90 ± 1,20	3,70 ± 1,06
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	4,30 ± 1,42	6,90 ± 2,33
p so với lô 1		> 0,05	< 0,001
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	4,50 ± 1,35	6,20 ± 2,04
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	4,10 ± 1,29	6,60 ± 1,78
p so với lô 1		> 0,05	< 0,001
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05

Nhận xét: Kết quả bảng 3.3 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Ích khí an thần – HVY liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày, số lần chuột vào nhánh mở tăng hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của Ích khí an thần – HVY cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian chuột vào nhánh mở

Lô chuột	n	Thời gian chuột vào nhánh mở (giây)	
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc
Lô 1: Chứng sinh học	10	84,50 ± 24,66	80,40 ± 26,73
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	90,40 ± 29,51	150,10 ± 26,36
p so với lô 1		> 0,05	< 0,001
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	92,50 ± 31,18	139,90 ± 33,81
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	93,20 ± 27,76	145,10 ± 34,92
p so với lô 1		> 0,05	< 0,001
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05

Nhận xét: Kết quả bảng 3.4 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Ích khí an thần – HVY liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày, thời gian chuột vào nhánh mở tăng hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của Ích khí an thần – HVY cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột

Lô chuột	n	Tỷ lệ né tránh nhánh mở		p _{trước-sau}
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
Lô 1: Chứng sinh học	10	70,47 ± 7,55	71,37 ± 7,75	> 0,05
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	69,21 ± 8,88	46,37 ± 9,21	< 0,0001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,0001	
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	67,33 ± 9,71	50,34 ± 8,77	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,0001	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	68,57 ± 7,64	47,57 ± 8,39	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,0001	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: kết quả bảng 3.5 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Ích khí an thần – HVY liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày, tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột giảm hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$). Tác dụng của Ích khí an thần – HVY cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

3.2. Tác dụng kéo dài thời gian ngủ của viên nén “Ích khí an thần – HVY” đối với Theopental trên thực nghiệm

3.2.1. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY lên sức bám của chuột

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Ích khí an thần - HVY đến thời gian bám của chuột

Lô chuột	n	Thời gian bám (giây)		p _{trước-sau}
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
Lô 1: Chứng sinh học	10	108,60 ± 29,50	121,10 ± 39,32	> 0,05
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	117,10 ± 37,45	78,50 ± 25,26	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	112,60 ± 30,09	85,40 ± 28,04	< 0,05
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	104,90 ± 31,87	78,90 ± 25,86	< 0,05
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả bảng 3.6 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Ích khí an thần - HVY liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày, thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod rút ngắn so hơn với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của Ích

khí an thần cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

3.2.2. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY trên mô hình hoạt động ký

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến hoạt động di chuyển theo chiều dọc của chuột

Lô chuột	n	Số lần di chuyển theo chiều dọc		p _{trước-sau}
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
Lô 1: Chứng sinh học	10	20,20 ± 6,37	19,20 ± 5,96	> 0,05
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	19,60 ± 6,48	8,90 ± 2,81	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,001	
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	20,70 ± 5,96	8,50 ± 2,55	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,001	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	22,30 ± 6,65	9,30 ± 3,06	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,001	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: kết quả bảng 3.7 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Ích khí an thần - HVY liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày, số lần di chuyển theo chiều dọc của chuột giảm hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của Ích khí an thần – HVY cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến hoạt động di chuyển theo chiều ngang của chuột

Lô chuột	n	Số lần di chuyển theo chiều ngang		p _{trước-sau}
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
Lô 1: Chứng sinh học	10	236,80 ± 59,50	243,10 ± 54,32	> 0,05
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	245,80 ± 59,88	174,40 ± 43,19	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	259,40 ± 58,47	160,20 ± 51,66	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	268,90 ± 47,43	169,60 ± 46,21	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: kết quả bảng 3.8 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Ích khí an thần - HVY liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày, số lần di chuyển theo chiều ngang của chuột giảm hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của Ích khí an thần - HVY cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

3.2.3. Tác dụng chống co giật của Ích khí an thần – HVY

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian khởi phát cơn co giật sau khi tiêm nikethamid

Lô chuột	n	Thời gian khởi phát cơn co giật (phút)
Lô 1: Mô hình	10	1,37 ± 0,36
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	2,08 ± 0,55
p so với lô 1		< 0,01
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	1,48 ± 0,47
p so với lô 1		> 0,05
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	1,84 ± 0,41
p so với lô 1		< 0,05

Nhận xét: kết quả bảng 3.9 cho thấy:

Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày có tác dụng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật sau khi tiêm nikethamid có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,01$).

Ích khí an thần – HVY liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Ích khí an thần – HVY liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật sau khi tiêm nikethamid có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid

Lô chuột	n	Thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid (phút)
Lô 1: Mô hình	10	8,31 ± 2,41
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	14,91 ± 3,67
p so với lô 1		< 0,001
Lô 3: Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày	10	9,01 ± 2,92
p so với lô 1		> 0,05
Lô 4: Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày	10	11,41 ± 3,58
p so với lô 1		< 0,05

Nhận xét: kết quả bảng 3.10 cho thấy:

Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày có tác dụng kéo dài thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,01$).

Ích khí an thần – HVY liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Ích khí an thần – HVY liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng kéo dài thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).

Chương 4

BÀN LUẬN

Trước đây, mất ngủ được xem là tình trạng xáo trộn giấc ngủ do các bệnh lý, bệnh tâm thần, rối loạn giấc ngủ hoặc do dùng thuốc và sẽ cải thiện khi điều trị các bệnh nguyên nhân. Tuy nhiên, bằng chứng trong vòng 20 năm gần đây đã chỉ ra rằng quan điểm này không còn chính xác.

Ngày nay, chứng mất ngủ được xem là một rối loạn độc lập. Theo đó, mất ngủ có thể xảy ra ngay cả khi không có bệnh lý nào khác cùng tồn tại, và nếu có, dù đã điều trị thành công nhưng mất ngủ vẫn có thể còn tồn tại.

Khi có bệnh khác kèm theo, việc điều trị tập trung vào các bệnh lý đó cũng như chứng mất ngủ đều cần thiết như nhau, vì mất ngủ có thể làm trầm trọng thêm bệnh nền hoặc kéo dài thời gian điều trị, đồng thời, nếu chứng mất ngủ được cải thiện thì còn có khả năng thuyên giảm các bệnh đi kèm.

Bệnh nhân bị mất ngủ thường suy giảm hoạt động vào ban ngày do gặp khó khăn khi bắt đầu giấc ngủ, khó duy trì giấc ngủ hoặc thức giấc mà không thể ngủ tiếp được. Tình trạng này xảy ra trong khi có đủ thời gian và cơ hội để ngủ.

Tất cả các bệnh nhân đến khám vì lý do mất ngủ được chú ý đến các bệnh lý sẵn có, bệnh tâm thần, lạm dụng thuốc hoặc tình trạng rối loạn giấc ngủ trầm trọng thêm chứng mất ngủ.

Thực tế cho thấy, một thử nghiệm lâm sàng chuẩn thường được tiến hành theo 4 giai đoạn, trong đó, bắt buộc phải có những kết quả chính xác trên động vật thực nghiệm để khẳng định tính an toàn trong sử dụng với thời gian theo dõi chuẩn xác (đúng thời gian, đủ hàm lượng thuốc, thời gian đánh giá, tích lũy thuốc...) trước khi được bắt đầu thử nghiệm phase I trên nhóm đối tượng người

tình nguyện khỏe mạnh. Chính bởi lẽ đó, điều kiện tiên quyết đặt ra là các thuốc này phải được thử nghiệm tiền lâm sàng trước khi thực hiện trên người.

4.1. Bàn luận về tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY trên mô hình dẫu cộng nâng cao

Mô hình dẫu cộng nâng cao là phương pháp thực hiện tốn nhiều thời gian, tuy nhiên là mô hình đáng tin cậy và được dùng rộng rãi khi đánh giá tác dụng an thần, giải lo âu. Hiện nay, có nhiều cải tiến của phương pháp này như mô hình chữ T nâng cao. Tuy nhiên, những cải tiến này thường bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như độ tuổi, giới của động vật thực nghiệm, thời gian thử nghiệm và ánh sáng.

Kết quả bảng 3.1 đến bảng 3.4 cho thấy, trên mô hình dẫu cộng nâng cao, chuột ở lô uống diazepam và các lô uống Ích khí an thần - HVY cả 2 mức liều 1,44 viên/kg/ngày và 4,32 viên/kg/ngày đều thể hiện tác dụng giải lo âu so với lô chứng sinh học một cách rõ rệt.

Ở mức liều tương đương mức liều lâm sàng 1,44 viên/kg/ngày, Ích khí an thần – HVY cho kết quả: Giảm số lần vào nhánh đóng từ $10,30 \pm 3,71$ trước khi uống thuốc xuống còn $6,90 \pm 2,23$ sau 7 ngày uống thuốc, rút ngắn thời gian lưu lại nhánh đóng từ $181,80 \pm 37,53$ xuống còn $131,10 \pm 34,42$ sau 7 ngày uống thuốc; Tăng thời gian lưu lại nhánh mở từ $92,50 \pm 31,18$ trước uống thuốc lên $139,90 \pm 33,81$ sau uống thuốc 7 ngày, tăng số lần vào nhánh mở từ $4,50 \pm 1,35$ lên $6,20 \pm 2,04$; Tỷ lệ né tránh nhánh mở trước uống thuốc giảm từ $67,33 \pm 9,71$ xuống còn $50,34 \pm 8,77$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với lô chứng sinh học ($p < 0,01$).

Ở mức liều gấp 3 liều lâm sàng, Ích khí an thần – HVY có tác dụng giảm số lần chuột vào nhánh đóng từ $10,60 \pm 3,10$ ở thời điểm trước uống thuốc xuống còn $6,60 \pm 2,17$ sau 7 ngày uống thuốc; Giảm thời gian chuột vào nhánh đóng từ $179,70 \pm 37,51$ trước uống thuốc xuống còn $123,30 \pm 41,10$ sau 7 ngày uống

thuốc; Số lần chuột vào nhánh mở trước điều trị là $4,10 \pm 1,29$ tăng lên $6,60 \pm 1,78$; Tăng thời gian lưu lại nhánh mở từ $93,20 \pm 27,76$ lên $145,10 \pm 34,92$ sau 7 ngày uống thuốc; Giảm tỷ lệ né tránh nhánh mở từ $68,57 \pm 7,64$ trước uống thuốc xuống còn $47,57 \pm 8,39$ sau 7 ngày uống thuốc. Sự khác biệt so với lô chứng sinh học có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

Tác dụng của Ích khí an thần – HVY ở cả hai mức liều tương tự tác dụng của Diazepam ($p > 0,05$).

Thử nghiệm dẫu cộng nâng cao là phương pháp thực hiện tốn nhiều thời gian, tuy nhiên là thử nghiệm đáng tin cậy và được dùng rộng rãi khi đánh giá tác dụng giải lo âu. Hiện nay, có nhiều cải tiến của phương pháp này như mô hình chữ T nâng cao. Tuy nhiên, thử nghiệm này bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như độ tuổi, giới của động vật thực nghiệm, thời gian thử nghiệm và ánh sáng

Như vậy có thể nói, khi chuột uống viên nén Ích khí an thần - HVY việc tăng lưu lại ở nhánh mở về thời gian và số lần nói lên tác dụng giải lo âu, giảm sợ sệt của viên nén Ích khí an thần - HVY đối với chuột.

Theo Silvaf và Frussa-Filho [41], mô hình dẫu cộng nâng cao có thể đánh giá được cả tác dụng trên trí nhớ và tác dụng giải lo âu. Thử nghiệm đánh giá trí nhớ qua thời gian trong nhánh đóng và đánh giá tác dụng an thần qua phần trăm thời gian chuột ở nhánh mở.

Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả của một số tác giả nước ngoài nghiên cứu về tác dụng của Thiên vương bồ tâm đan trên thực nghiệm. Trong nghiên cứu thực nghiệm về tác dụng chống lão hóa của Thiên vương bồ tâm đan của Lan Ngọc Diễm, Vương Địch, các tác giả đã tiến hành trên thực nghiệm xác lập mô hình gây lão hóa ở chuột bằng D-galactose [20]. Quan sát khả năng ghi nhớ ở chuột, kích ứng oxy hóa huyết thanh Superoxide dismutase (SOD), Malondialdehyde (MDA), ảnh hưởng của SOD, MDA ở mô

gan. Kết quả cho thấy, Thiên vương bồ tâm đan có tác dụng chống lão hóa, cải thiện trí nhớ trên chuột, tăng hoạt tính của SOD, giảm hàm lượng MDA ở huyết thanh và mô gan.

Năm 2009, tác giả Diệp Lâm, Lý Đông Bằng cùng cộng sự, thông qua quan sát nghiên cứu thực nghiệm về tác dụng của Thiên vương bồ tâm đan trong cải thiện trí nhớ ở chuột. Thực nghiệm dùng phương thuốc này trên chuột đã bị rối loạn trí nhớ và mục đích củng cố trí nhớ. Kết quả thuốc có tác dụng cải thiện trí nhớ rõ rệt [22].

Năm 2019, tác giả Nguyễn Văn Tâm nghiên cứu tác dụng giải lo âu, an thần của cao lỏng Dưỡng tâm an thần trên thực nghiệm cho thấy cao lỏng Dưỡng tâm an thần có tác dụng tăng số lần, thời gian lưu lại nhánh mở, giảm tỷ lệ né tránh nhánh mở và rút ngắn thời gian lưu lại nhánh đóng [31].

4.2. Bàn luận về tác dụng dụng kéo dài thời gian ngủ của viên nén “Ích khí an thần – HVY” đối với Theopental trên thực nghiệm

4.2.1. Tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY đến thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod

Mô hình được tiến hành trên chuột nhắt trắng với thuốc đối chiếu là diazepam. Thuốc thử viên nén Ích khí an thần – HVY được đánh giá bằng tác dụng làm giảm khả năng bám trên trục quay Rotarod của chuột thông qua việc quan sát tính thời gian bám [37].

Kết quả bảng 3.6 cho thấy: Không có sự khác biệt giữa các lô về thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod ở thời điểm bắt đầu nghiên cứu.

Tại thời điểm 7 ngày dùng thuốc diazepam và các lô uống viên nén Ích khí an thần - HVY thể hiện tác dụng an thần qua việc giảm thời gian bám trên trục quay Rotarod của chuột nghiên cứu so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Cụ thể: ở liều 1,44 viên/ngày/24h, thời gian bám của chuột giảm từ $112,60 \pm 30,09$ trước uống thuốc xuống còn $85,40 \pm 28,04$ sau 7 ngày uống thuốc ($p < 0,05$); Ở

mức liều gấp 3 liều lâm sàng, điều trị thời gian bám trên trục quay của chuột là $104,90 \pm 31,87$ xuống còn $78,90 \pm 25,86$ sau uống thuốc 7 ngày ($p < 0,05$). Viên nén Ích khí an thần – HVY ở cả 2 mức liều có tác dụng tương đương với Diazepam 5mg. Đây là thử nghiệm đánh giá tác dụng giãn cơ kiểu benzodiazepin [46].

Mô hình khung quay Rotarod cũng là một trong những thử nghiệm được áp dụng nhiều trong nghiên cứu tác dụng an thần của thuốc. Nghiên cứu của Duaham và Myia năm 1956 cho rằng tác dụng giãn cơ của thuốc có thể được đánh giá thông qua khả năng bám trên trục quay. Lực quay của thanh khác nhau được xác định bởi từng nghiên cứu [42]. Nhiều thuốc chống trầm cảm cũng có tác dụng trên thử nghiệm này, thử nghiệm này không có sự khác biệt rõ rệt giữa tác dụng bình thần và an thần kinh chủ yếu nhưng có hiệu quả tốt để NC tác dụng giãn cơ của các thuốc tương tự như benzodiazepin. Hơn nữa, mô hình còn được dùng để nghiên cứu độc tính trên thần kinh-cơ [37].

Cơ sở của thử nghiệm này là dựa trên khả năng phối hợp thần kinh-cơ, khả năng định hướng không gian, sức căng cơ, khả năng giữ thăng bằng của động vật. Thanh quay có thể coi như tác nhân kích thích làm tăng phản xạ bám giữ của chuột. Thuốc an thần ức chế thần kinh-cơ, giảm khả năng giữ thăng bằng và định hướng không gian nên giảm khả năng bám của chuột trên thanh quay [37],[42]. Sự giảm thời gian bám của chuột trên thanh quay so với nhóm chứng là bằng chứng cho tác dụng an thần của thuốc nghiên cứu.

Điều đó nói lên tác dụng của diazepam và các lô uống viên nén Ích khí an thần - HVY thể hiện tác dụng an thần làm cho chuột giảm thời gian bám trên trục quay, có thể do làm giảm sự tập trung chú ý vào bám, thời gian bám giảm, mà đó là do thuốc làm thư giãn an thần gây nên, thể hiện sự giảm phối hợp giữa thần kinh và cơ [37].

Kết quả này của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Văn Tâm khi nghiên cứu tác dụng của cao lỏng Dưỡng tâm an thần cũng làm giảm thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarot [31].

4.2.2. Tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY đến hoạt động di chuyển theo chiều ngang, theo chiều dọc của chuột trên mô hình hoạt động ký.

Hoạt động tự nhiên của chuột được tự động ghi lại bằng thiết bị đặc biệt nhờ các bộ phận cảm ứng nhạy cảm với bất kỳ thay đổi hoạt động nào của động vật thí nghiệm. Cơ sở của mô hình dựa vào tác dụng ức chế thần kinh trung ương của thuốc làm giảm hoạt động tự nhiên như di chuyển, đứng lên, thăm dò... của động vật thí nghiệm [38]. Tiến hành đánh giá tác dụng giải lo âu, an thần của động vật thực nghiệm thông qua sự giảm số lần chuột di chuyển theo chiều ngang và chột di chuyển theo chiều dọc.

Kết quả bảng 3.7, bảng 3.8 cho thấy: trên mô hình Hoạt động ký, chuột ở lô uống diazepam và các lô uống viên nén Ích khí an thần - HVY đều thể thể hiện tác dụng giải lo âu thông qua giảm số lần chuột di chuyển theo chiều dọc và giảm số lần chuột di chuyển theo chiều ngang.

Ích khí an thần – HVY liều 1,44 viên/kg/ngày làm giảm số lần chuột di chuyển theo chiều dọc từ $20,70 \pm 5,96$ tại thời điểm trước uống thuốc xuống còn $8,50 \pm 2,55$ sau uống thuốc 7 ngày ($p < 0,001$). Số lần chuột di chuyển theo chiều ngang tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu là $259,40 \pm 58,47$ giảm xuống còn $160,20 \pm 51,66$ sau 7 ngày uống thuốc ($p < 0,001$). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,01$).

Ở mức liều 4,32 viên/kg/ngày, Ích khí an thần – HVY cũng làm giảm số lần di chuyển theo chiều dọc và chiều ngang của chuột so từ $22,30 \pm 6,65$ xuống còn $9,30 \pm 3,06$ và $268,90 \pm 47,43$ xuống còn $169,60 \pm 46,21$ khi so sánh trước

khi dùng thuốc với sau uống thuốc 7 ngày ($p < 0,001$). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p < 0,01$).

Trên mô hình hoạt động ký, tác dụng của Ích khí an thần – HVY và Diazepam 5mg tương đương nhau.

Sự khác biệt so với lô chứng sinh học sau uống thuốc 7 ngày có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.8 cũng cho thấy chuột ở lô uống diazepam và các lô uống viên nén Ích khí an thần - HVY thể hiện tác dụng giải lo âu ở hai nhóm này thông qua giảm số lần chuột di chuyển theo chiều ngang có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học sau uống thuốc 7 ngày (với $p < 0,01$).

Tác dụng an thần của viên nén Ích khí an thần – HVY ở cả 2 mức liều và tác dụng của Diazepam là tương đương nhau.

Giảm số lần di chuyển theo chiều dọc và giảm số lần di chuyển theo chiều ngang thể hiện tác dụng thư giãn an thần của các lô uống Ích khí an thần – HVY và Diazepam.

Như vậy, khi ở trong môi trường tối và ít tiếng ồn chuột có xu hướng khám phá lồng được biểu hiện bằng các hoạt động di chuyển theo chiều ngang và hoạt động di chuyển lên cao theo chiều dọc. Nhưng khi dùng viên nén Ích khí an thần - HVY và diazepam có tác dụng ức chế thần kinh trung ương, sẽ làm giảm hoạt động bình thường của chuột. Giảm số lần di chuyển theo chiều ngang và giảm số lần di chuyển theo chiều dọc thể hiện tác dụng an thần của diazepam và viên nén Ích khí an thần.

4.2.3. Tác dụng chống co giật của Ích khí an thần – HVY

Co giật xuất hiện một phần do mất cân bằng giữa quá trình kích thích và ức chế ở các vùng nhất định của não. Glutamat là một chất dẫn truyền thần kinh kích thích chính ở não. Chất này được enzym glutamic acid decarboxylase (GAD) khử nhóm carboxyl để tạo thành acid gamma-aminobutyric (GABA),

đây là một chất dẫn truyền thần kinh ức chế chính của não. ở các mô hình động vật thực nghiệm gây co giật, người ta thấy tất cả các chất chủ vận thụ thể glutamat và các chất đối kháng GABA đều gây ra các đáp ứng kích thích tế bào thần kinh cục bộ trên não [27],[43].

Nikethamid là thuốc kích thích thần kinh trung ương ưu tiên trên hành tủy, đặc biệt trên trung tâm hô hấp và tuần hoàn, làm tăng nhịp thở, tăng độ nhạy cảm CO₂ của trung tâm hô hấp, tăng sức co bóp cơ tim, tăng nhịp tim, tăng nhẹ huyết áp. Khi dùng Nikethamid liều cao sẽ gây kích thích toàn bộ thần kinh trung ương gây các cơn co giật rung. Trên cơ sở đó, mô hình gây co giật bằng nikethamid nhằm đánh giá tác dụng an thần của thuốc thông qua xu hướng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid [39].

Sở dĩ, mô hình nghiên cứu lựa chọn Nikethamid là thuốc gây mô hình do thuốc dễ kiểm, dễ sử dụng, đồng thời thuốc sau khi uống được hấp thu nhanh chóng hơn các thuốc khác. Hơn nữa, Nikethamid được chứng minh trên thực nghiệm là có độc tính khá thấp mà vẫn gây được mô hình co giật

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.9 cho thấy chuột sau khi uống Ích khí an thần – HVY liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật sau khi tiêm nikethamid so với lô mô hình ($1,48 \pm 0,47$ và $1,37 \pm 0,36$) với $p > 0,05$. Ích khí an thần – HVY ở mức liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật so sau khi tiêm Nikethamid so với lô mô hình. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.10 cho thấy, Ích khí an thần – HVY liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian chuột chết so với lô mô hình. Tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở liều 4,32 viên/kg/ngày, viên nén có tác dụng kéo dài thời gian chuột chết rõ rệt sau khi tiêm nikethamid có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).

Như vậy, Ích khí an thần – HVY liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chuột chết sau khi tiêm Nikethamid ($p < 0,05$).

Có thể giải thích cơ sở tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY là do viên nén có tác dụng ức chế khả năng liên kết của Nikethamid đến một vị trí liên kết riêng biệt liên quan đến Cl⁻ ionopore tại thụ thể GABA A, làm giảm thời gian mở Cl⁻ ionopore. Do đó, có tác dụng giảm ức chế sau synap của GABA ở đồi thị là do kéo dài. Từ đó, giảm co giật giật và kéo dài thời gian xuất hiện cơn co giật mới.

4.3. Phân tích tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY theo Y học hiện đại và Y học cổ truyền

4.3.1. Theo Y học hiện đại

Viên nén Ích khí an thần – HVY với thành phần gồm Đinh lăng, Lạc tiên, Bình vôi, Vòng nem, Ba kích có tác dụng an thần, tạo giấc ngủ sâu. Đinh lăng trong thành phần của Ích khí an thần – HVY có chứa 8 loại saponin (một vài loại tương tự như thành phần trong sâm), glucosid, tanin, khoảng 13 loại axit amin (cystein, methoonin, lyzin, ...), alcaloid, vitamin B1, B2, B6. Các nghiên cứu đã chứng minh rằng những thành phần đó có tác dụng ngăn ngừa cholesterol trong máu, ung thư, tăng cường sức khỏe của xương, có khả năng kích thích hoạt động của não bộ, chống mệt mỏi, oxy hóa và giảm lo âu, mệt mỏi và tăng cường miễn dịch. Ba kích có tác dụng giảm mệt mỏi, ăn ngon, ngủ ngon, tăng cơ lực và cải thiện cân nặng. Do đó, trong các mô hình nghiên cứu, thuốc có kích thích lên hoạt động não bộ chuột nên chuột có giảm số lần, thời gian chuột vào nhánh đóng, tăng số lần và thời gian chuột vào nhánh mở, giảm số lần né tránh nhánh mở. Các nhà nghiên cứu đã phát hiện ra thành phần alcaloid có nhân harman trong chiết xuất của lạc tiên có tác dụng an thần, kéo dài giấc ngủ nhờ ngăn cản được hoạt động của cafein trên cơ thể thỏ. Lá vòng

có tác dụng ức chế hệ thần kinh trung ương, trấn tĩnh, gây ngủ, hạ thân nhiệt và hạ huyết áp. Kết quả nghiên cứu được công bố trên tạp chí Y học Anh vào năm 2006 cho thấy, cây bình vôi có tác dụng an thần, gây ngủ. Các nghiên cứu cũng chỉ ra trong củ bình vôi có chứa lượng lớn L – tetrahydropalmitin, một loại hoạt chất kích thích an thần rất cần thiết trong y học. Ngoài ra, L – tetrahydropalmitin còn có tác dụng duy trì giấc ngủ, hạ huyết áp, giảm nhiệt độ cơ thể, chữa suy nhược cơ thể, rối loạn tâm thần,... Các vị thuốc phối hợp với nhau làm tăng tác dụng an thần, giảm lo âu, ức chế thần kinh-cơ, giảm khả năng giữ thăng bằng và định hướng không gian nên giảm khả năng bám của chuột trên thanh quay, giảm khả năng di chuyển theo chiều dọc và theo chiều ngang, đồng thời làm kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chết của chuột [33],[34],[35].

4.3.2. Theo Y học cổ truyền

Theo Y học cổ truyền, mất ngủ thường do các nguyên nhân suy giảm chức năng của các tạng tâm, tỳ, can, thận... mà thận tàng tinh, sinh huyết, tâm tàng thần, tỳ sinh huyết đi nuôi dưỡng thần và ngũ tạng lục phủ, khi chức năng của các tạng đó suy giảm làm cho tinh khí hư tổn, huyết thiếu, thần không được yên; hoặc do ăn uống không điều độ, ăn thức ăn khó tiêu trước khi ngủ làm tỳ không kiện vận nên huyết thiếu, tâm huyết không đầy đủ thần chí không được nuôi dưỡng nên ngủ khó vào giấc, hay mơ. Ngoài ra, còn có những nguyên nhân khác như hay suy nghĩ căng thẳng, tâm bất an và nếu tình trạng này kéo dài cũng dẫn đến mất ngủ, ngủ hay giật mình. Do vậy, khi điều trị cần dùng các vị thuốc có tác dụng ích khí, dưỡng huyết an thần. Viên nén Ích khí an thần – HVY được xây dựng dựa trên lý luận y học cổ truyền với thành phần Đinh lăng có vị ngọt, hơi đắng, tính mát, quy kinh phế, tỳ, thận với tác dụng thông huyết mạch, bồi bổ khí huyết; Lạc tiên có vị ngọt và đắng, tính mát quy kinh tâm, can, tác dụng an thần, giảm đau; Bình vôi vị khổ cam, tính lương, quy kinh can

tỳ có tác dụng an thần, tuyên phế; Ba kích vị cay, ngọt, hơi ôn, qui kinh Thận, tác dụng an ngũ tạng, bổ trung, tăng chí, ích khí; Vông nem vị đắng tính bình, quy kinh can thận, tác dụng an thần, gây ngủ. Các vị thuốc phối ngũ với nhau giúp cho bổ tâm tỳ, dưỡng can huyết, ích thận khí từ đó định chí, an thần [33],[34].

KẾT LUẬN

Qua kết quả thu được chứng tỏ Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng an thần trên chuột nhắt trắng:

1. Kết luận về tác dụng của viên nén Ích khí an thần – HVY trên mô hình đau cộng nâng cao

Ích khí an thần ở cả 2 mức liều (1,44 viên/kg/ngày và 4,32 viên/kg/ngày) đều làm giảm rõ rệt số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng, tăng số lần và thời gian chuột vào nhánh mở và làm giảm tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh ($p < 0,05$).

Tác dụng của Ích khí an thần - HVY tương đương tác dụng của thuốc Diazepam 5mg.

2. Kết luận về tác dụng kéo dài thời gian ngủ của viên nén “Ích khí an thần – HVY” đối với Theopental trên thực nghiệm

Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày và liều 4,32 viên/kg/ngày làm rút ngắn thời gian bám của chuột nhắt trắng trên trục quay Rotarod và giảm hoạt động di chuyển của chuột trên mô hình đo hoạt động ký so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của Ích khí an thần – HVY và Diazepam 5mg là tương đương nhau.

Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày không có tác dụng chống co giật trên mô hình gây co giật bằng nikethamid ($p > 0,05$). Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng chống co giật trên mô hình gây co giật bằng nikethamid ($p < 0,05$)

KIẾN NGHỊ

Qua nghiên cứu cho thấy viên nén Ích khí an thần – HVY cho tác dụng an thần tốt, do đó chúng tôi đề xuất viên nén Ích khí an thần - HVY tiếp tục được nghiên cứu trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đinh Hữu** (2012), Rối loạn giấc ngủ ở người, Bài giảng sinh lý học-Trường đại học khoa học tự nhiên thuộc Đại học Quốc gia Hà Nội, tr. 48-56.
2. **Bùi Quang Huy** (2019), Rối loạn giấc ngủ, Nhà xuất bản Y học, tr 14-52.
3. **Trần Hữu Bình** (2005), Rối loạn giấc ngủ không thực tồn, Tài liệu giảng dạy sinh viên Y5, Bộ môn Tâm thần Trường Đại học Y Hà Nội, tr, 245-251.
4. **Nguyễn Xuân Bích Huyền** (2013), Bệnh rối loạn giấc ngủ ngày càng phổ biến ở Việt Nam, Tạp chí Y học thực hành-Trung tâm sức khỏe cộng đồng số 6/2013; tr.37-45.
5. **Nguyễn Thanh Bình** (2012), Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, đa ký giấc ngủ và hiệu quả của thở áp lực dương liên tục trong điều trị hội chứng ngừng thở do tắc nghẽn khi ngủ”. Luận án Tiến sỹ y học, Trường Đại học Y Hà nội, tr 3, tóm tắt tr 23.
6. **Julia A. Shekleton** (2014), “Neurobehavioral Performance Impairment in Insomnia: Relationships with Self-Reported Sleep and Daytime Functioning”, Sleep Research Society, 37(1), 107–116.
7. **H. G. Vogel** (2008), Strychnine-induced convulsions. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays. Springer, Berlin Heidelberg, 614– 615.
8. **Simiand J, Keane PA, Bizier K, Soubrie P** (1989), Comparative study in mice of Tetrazepam and other centrally active skeletal muscle relaxants. Arch Int Pharmacodyn, **297**, 272 – 285.

9. **Cẩm nang bệnh học** (2013), “Rối loạn giấc ngủ-chữa khó hay dễ”, Nội san số đặc biệt chào mừng 50 năm thành lập bệnh viện Tâm thần Trung ương I, tr61-64
10. **World Health Organization (2013)**, Working group on the safety and efficacy of herbal medicine, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
11. **Trần Hữu Bình** (2006), Rối loạn giấc ngủ không thực tồn , Bài giảng Bộ môn tâm thần học, Trường Đại học Y Hà Nội, 62.
12. **Thái Thụy Đào** chủ biên (2004) Suy nhược thần kinh và mất ngủ, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật Giang tây Trung quốc - Nhà Xuất bản lao động Hà Nội. tr 23, 26, 33.
13. **Cẩm nang bệnh học** (2010), “Rối loạn giấc ngủ” trong thông tin sức khoẻ cộng đồng 7/2010, Thư viện y học trung ương, chuyên đề tâm thần học, tr. 50-60
14. **Lê Thị Tuyết Lan** (2010), “Rối loạn giấc ngủ là một trong những rối loạn tâm thần là một bệnh “Tâm thần hiện đại” chiếm tỷ lệ cao”. Báo cáo hội thảo tại Huế 2010, “Vấn đề toàn cầu hoá, thành thị hoá và sức khoẻ tâm thần”.
15. **Bayon và cộng sự** (2014), “Sleep debt and obesity”, Annals of Medicine, 46(5), 264-272.
16. **Bjorvatn et al** (2017), “High prevalence of insomnia and hypnotic use in patients visiting their general practitioner”, Family Practice, 34(1), 20–24.
17. **Tổ chức Y tế Thế giới** (2014), “F51.0 Rối loạn giấc ngủ không thực tồn” *Bảng phân loại thống kê quốc tế về bệnh tật và các vấn đề sức khoẻ có liên quan phiên bản lần thứ 10*, 134-136.

18. **Faraut và cộng sự** (2012), “Immune, inflammatory and cardiovascular consequences of sleep restriction and recovery”, *Sleep Medicine Reviews*, 16(2), 137-149.
19. **Bộ môn tâm thần học và tâm lý học** (2007), *Tâm thần học và tâm lý học*, Học viện Quân y, tr. 227-232
20. **兰玉艳, 王迪** (2017), 办丹麵衰老作用的实验研究 长春中医药大学学报, 年 6 月第²³卷第³期:1²-1³.
21. **Koetter U, Schrader E, Kaufeler R, B Brattstrom A** (2007), “ A randommized, double blind, placebo-controlled, prospective clinical study to demonstrate clinical efficacy of a fixed valerian hops extractt combination (Ze 91019) in parients sufering from nonorganic sleep disorder: 2-3.
22. **施楚明** (2015),天王补心丹配合西药舒乐安定治疗阴虚失眠 50 例的疗效观察
出处: 《中医临床研究》2015 年第 14 期 92-93
23. **Hamedi S, Forouzantar F** (2019), “Hypnotic effect of Portulacea oleracea on Pentobarbital – Induced Sleep in Mice”. *Cur Drug Discov technol.* 2019;16(2): 198-203.
24. **Cao Q, Jiang Y** (2016), “Tenuifolin, a saponin derived from Radix Polygalace, exhibits sleep – enhancing efects in mice”. *Phytomedicine* 2016 Dec 15; 23(4): 1797 – 1805
25. **Zick SM¹, Wright BD, Sen A, Arnedt JT** (2011), preliminary examination of the efficacy and safety of a standardized chamomile extract for chronic primary insomnia: a randomized placebo-controlled pilot study: 1-5.

26. **Fussel A et al (2000)**, Effect a fixed valerian-Hop extract combination (Ze 91019) on sleep polygraphy in patient with non-organic insomnia: a pilot study: 2 – 4.
27. **Wheatley D et al (2001)**, Stress – induced insomnia treated with kava and valerian: singly and in combination: 1 – 2.
28. **Nguyễn Thị Minh Ngọc và cs (2012)**, “Nghiên cứu tác dụng an thần thực nghiệm của chế phẩm Sleep Care”. Tạp chí dược học số: 429 - Tháng 1/2012 - Trang 21-25.
29. **Dương Thị Hương Ly, Nguyễn Thị Bích Thủy (2016)**, “Đánh giá tác dụng an thần của bài thuốc chè an thần trên động vật thực nghiệm”, Tạp chí Y dược, Tr. 56, S.5.
30. **Nguyễn Phương Dung, Lê Thị Thu Hương (2018)**, “Khảo sát tác dụng an thần của bài thuốc Bá tử dưỡng tâm hoàn không có thạch xương bồ trên thực nghiệm”. Tạp chí khoa học công nghệ số 3.
31. **Nguyễn Văn Tâm (2019)** "Nghiên cứu độc tính,tác dụng an thần trên thực nghiệm và điều trị mất ngủ không thực tổn trên lâm sàng của cao lỏng Dưỡng tâm an thần ", Luận án tiến sĩ y học, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.
32. **Nguyễn Thị Thu Thủy (2012)**, "Nghiên cứu tác dụng bài thuốc nam TTL trong điều trị chứng thất miên ", Luận văn Thạc sỹ, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.
33. **Hội đồng dược điển (2018)**. Dược điển Việt Nam V. Bộ Y tế.
34. **Nam Dược thần hiệu**, NXB Y học, 1993,169-170.
35. **Viện Đông Y (1968)**, Thuốc Nam và Châm cứu phần Y – NXB Y học và Thể Dục Thể Thao, 207.
36. **Olayiwola G, Ukponmwan O. và Olawode D. (2013)**. Sedative and anxiolytic effects of the extracts of the leaves of *Stachytarpheta*

cayennensis in mice. African Journal of of Traditional, Complementary and Alternative medicines, **10(6)**, 568-579.

37. **Shiotsuki H et al** (2010), A rotarod test for evaluation of motor skill learning, *J Neurosci Methods*; vol. 189: 180 – 185.
38. **Mill J., Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L. (2002)**. Home-cage activity in heterogeneous stock (HS) mice as a model of baseline activity. *Genes, Brain and Behavior*, **1(3)**, 166-173.
39. **Wu XY, Zhao JL, Zhang M et al. (2011)**. Sedative, hypnotic and anticonvulsant activities of the ethanol fraction from *Rhizoma Pinelliae Praeparatum*. *J Ethnopharmacol.*, **135(2)**, 325-329.
40. **Daniel and collaborators (1989)**, The Pittsburg Sleep Quality Index: a new instrument for Psychiatric Practice and Research, *Psychiatry Research*, 28 (2), p. 33-35.
41. **Sliva RH, Frussa-Filho R** (2000), The plus – maze discriminative avoidance task: a new model to study memory – anxiety interactions. Effects of chlodiazepoxide and caffeine. *J Neurosci Meth*, 102, 117 – 125.
42. **Duham NW, Miya TS** (1957), A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *I Am Pharmaceut Assoc*, 46, 208 – 210.
43. **Robert M.J. Deacon** (2013). Measuring Motor Coordination in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, **75**, 2609.
44. **Wu TY, Chen CP, Jinn TR (2011)**, Traditional Chinese medicines and Alzheimer’s disease. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 50(2):131-5.
45. **Buxton và Marcelli** (2010), “Short and long sleep are positively associated with obesity, diabetes, hypertension, and cardiovascular

disease among adults in the United States”, *Social Science & Medicine*, 71(5), 1027-1036.

46. **Michael Bourin, Benoit Petit – Demouliere, Brid Nic Dhonnchadha** (2007), Amino acid models of anxiety in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, **21**, 567 – 574.

Phụ lục 1

QUY TRÌNH SẢN XUẤT VIÊN NÉN ÍCH KHÍ AN THẦN - HVY

I. Quy trình nấu cao đặc viên nén an thần

1. Nguyên liệu:

STT	Tên dược liệu	Đơn vị tính	Định mức	Thực tế
1	Đinh lăng củ	Kg	7	7
2	Lạc tiên	Kg	10,5	10,5
3	Bình vôi	Kg	3,5	3,5
4	Vông nem	Kg	7	7
5	Natri benzoat	Kg	0,042	0,042
	Tổng dược liệu	Kg	28	28

2. Nấu cao đặc:

Thông số kỹ thuật:

Lượng nước: 280 lít

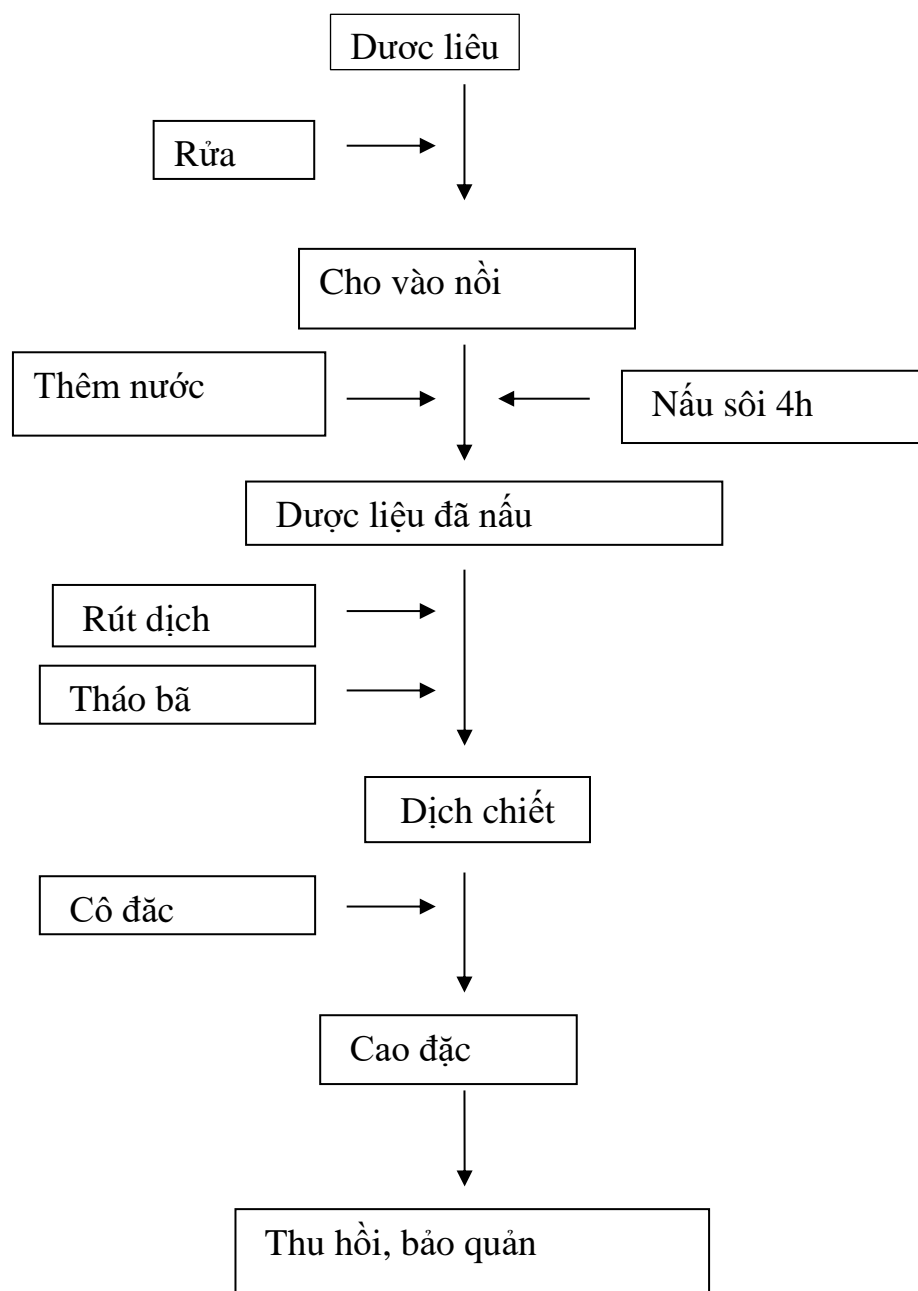
Nhiệt độ chiết: 100°C

Thời gian chiết: 4h

Số lần chiết: 1 lần

Độ ẩm cao: khoảng 30%

Sơ đồ nấu cao:



3. Kết quả:

Thu được 7,3 kg cao đặc 32% ẩm

II. Quy trình pha chế viên nén an thần:

1. Nguyên liệu:

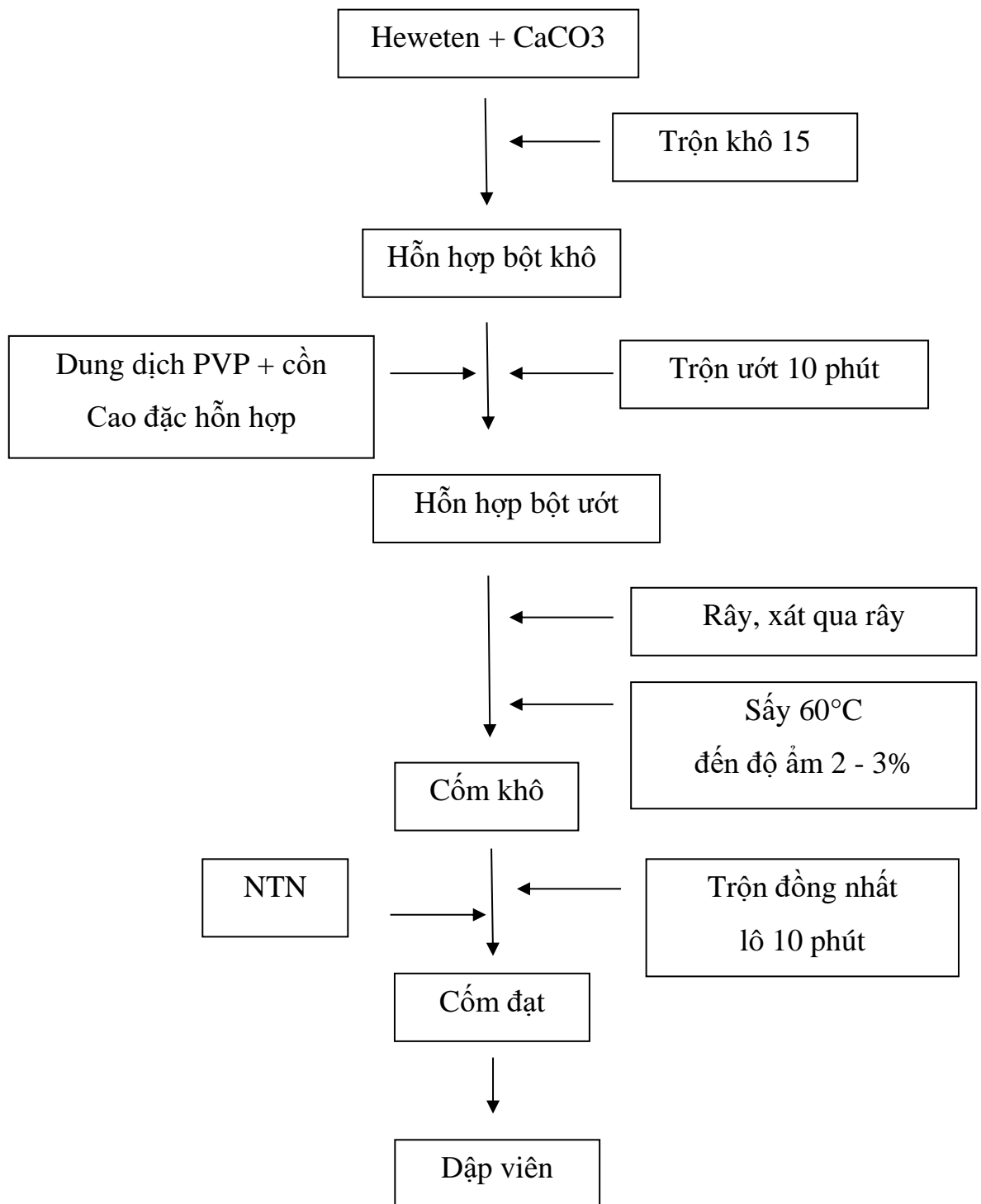
TT	Tên nguyên liệu	Công thức Pha chế 1 viên theo cao đặc (mg)	SL (lô) (kg)	Hàm lượng 1 viên thành phẩm theo cao khô (mg)
	Nguyên liệu			
1	Cao hỗn hợp (đỉnh lã, lạc tiên, bình vôi, vông nem, benzoat 0.042kg)	304	7,300	207
2	Cao ba kích	42	1,000	29
	Tá dược			
3	heweten 101	120	2,880	120
4	CaCO ₃	692	16,600	692
5	PVP K30	60	1,440	60
6	Cồn 96 độ	90	2,160	-
7	MgSt	24	0,576	24
8	Talc	12	0,288	12
9	DST	24	0,576	24
	Tá dược bao phim			
10	HPMC E6	7,20	0,173	7,20
11	HPMC E15	14,40	0,346	14,40
12	PEG 6000	2,40	0,058	2,40
13	Talc pháp	3,94	0,095	3,94
14	Titan dioxyd	2,57	0,062	2,57
15	Cồn 96 độ	300,00	7,200	-
16	Nước RO	99,40	2,386	-
17	Oxyd sắt đỏ	2,14	0,051	2,14

2. Sơ đồ pha chế

2.1. Mgst rây qua rây 355mcm

2.2. Mgst, talc, DST: trộn đồng lượng được (NTN)

2.3. PVP ngâm cồn cho tan hết



Phụ lục 2

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI
Bộ môn Dược lý

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP CỬA
VIÊN ÍCH KHÍ AN THẦN TRÊN THỰC
NGHIỆM

Nơi tiến hành nghiên cứu: Bộ môn Dược lý- Trường Đại học Y Hà Nội

Hà Nội 2019

1. Nguyên liệu và đối tượng nghiên cứu

1.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Thuốc nghiên cứu:

Viên nén bao film Ích khí an thần được sản xuất bởi Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam. Thuốc thử đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Liều dùng dự kiến trên người 6 viên/ngày.

Công thức cho 1 viên nén Ích khí an thần:

Đinh lăng	163 mg
Lạc tiên	147 mg
Bình vôi	81 mg
Ba kích nam	167 mg
Vông nem	145 mg
Tá dược vừa đủ	1200mg

- Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu:

Lấy 30 viên, nghiền trong cối sứ, thêm 25 ml nước cất thu được 60 ml vừa đủ. Đây là dung dịch đậm đặc nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống bằng kim chuyên dụng. Dung dịch đậm đặc này dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của viên Ích khí an thần.

1.1.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 18 – 22g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý 5-10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột (do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp), uống nước tự do.

1.2. Máy móc phục vụ nghiên cứu

- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.

- Kim đầu tù cho chuột uống.
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

1.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp của viên Ích khí an thần theo đường uống trên chuột nhắt trắng

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của viên Ích khí an thần trên chuột nhắt trắng theo đường uống [1], [2].

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm.

Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống viên Ích khí an thần với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống viên Ích khí an thần.

1.4. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý thống kê theo thuật toán thống kê T-test Student bằng phần mềm Microsoft Excel.

2. Kết quả nghiên cứu

Chuột nhắt trắng được uống viên Ích khí an thần từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc nhất, theo dõi thấy các liều viên Ích khí an thần không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên Ích khí an thần

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (viên/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	30	15,0	0	Không
Lô 2	10	45	22,5	0	Không
Lô 3	10	60	30,0	0	Không
Lô 4	10	75	37,5	0	Không

Kết quả bảng 1 cho thấy: các lô chuột uống viên Ích khí an thần ở liều từ 30 viên/kg đến liều tối đa 37,5viên/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của viên Ích khí an thần là: 37,5 viên/kg.

3. Kết luận:

- Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng của viên Ích khí an thần trên đường uống.
- Viên Ích khí an thần không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 37,5 viên/kg.
- Viên Ích khí an thần ở liều gấp 25,04 lần liều trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống (Tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều tối đa 06 viên/ngày/người).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Gerhard Vogel H. (2016), Drug discovery and evaluation Pharmacological assays, Springer.

World Health Organization (2013), Working group on the safety and efficacy of herbal medicine, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.

Hà Nội, ngày 2 tháng 10 năm 2019

Trưởng bộ môn

PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh

Trường Đại học Y Hà Nội xác nhận

Chữ ký trên của PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh là đúng

Trưởng phòng Tổ chức Cán bộ.

Phụ lục 3

Trường Đại học Y Hà Nội
Bộ môn Dược lý

Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN NÉN ÍCH KHÍ AN THÀNH TRÊN THỰC NGHIỆM

Nơi tiến hành nghiên cứu: Bộ môn Dược lý

Trường Đại học Y Hà Nội

Thời gian nghiên cứu: 9/2019 – 10/2019

1. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Chất liệu nghiên cứu

1.1.1. Thuốc nghiên cứu

Ích khí an thần: dạng viên nén bao film do Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam sản xuất. Mỗi viên nén gồm có 163 mg Đinh lăng, 147 mg Lạc tiên, 81 mg Bình vôi, 167 mg Ba kích nam và 145 mg Vòng nem.

Liều dùng trên người: 6 viên/người/ngày.

1.1.2. Dụng cụ, hóa chất nghiên cứu

Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu : ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần, creatinin của hãng Hospitex Diagnostics (Italy) và hãng DIALAB GmbH (Áo), định lượng trên máy Screen master của hãng Hospitex Diagnostics (Italy).

Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX - Diagnostics, định lượng trên máy Vet abcTM Animal Blood Counter.

Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

1.2. Đối tượng nghiên cứu

- Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, khỏe mạnh, thuần chủng, trọng lượng 180 ± 20 g do Trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng - Hà Nội cung cấp.

- Động vật thí nghiệm được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường đại học Y Hà Nội từ 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

1.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nén Ích khí an thần Chuột cống trắng, cả 2 giống, được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con.

Lô chứng: uống nước cất 0,1 mL/100 g/ngày.

Lô trị 1: Uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người, hệ số ngoại suy trên chuột cống là 6), uống 1 mL/100 g/ngày.

Lô trị 2: Uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người), uống 1 mL/100 g/ngày.

Chuột được uống nước và thuốc thử liên tục trong 4 tuần, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

Tình trạng chung, thể trọng của chuột.

Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.

Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.

Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: ALT, AST.

Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc.

Mô bệnh học:

Sau 4 tuần uống thuốc, chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột ở mỗi lô.

1.4. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo T test-Student và test trước-sau (Avant-après). Kết quả được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

2.1. Tình trạng chung

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở cả 3 lô hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô.

2.2. Sự thay đổi trọng lượng chuột

Bảng 2.1. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến trọng lượng chuột

Thời gian	Trọng lượng (g) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chúng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	154,0 ± 11,7	158,0 ± 16,2	148,0 ± 17,5	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	152,2 ± 23,9	166,0 ± 31,0	162,2 ± 18,1	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	165,0 ± 28,8	164,5 ± 39,8	162,2 ± 24,4	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.1 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, trọng lượng chuột ở cả 3 lô đều có xu hướng tăng so với trước nghiên cứu, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trước nghiên cứu, sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc, trọng lượng chuột ở lô trị 1 và lô trị 2 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

2.3. Đánh giá chức phận tạo máu

Bảng 2.2. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến số lượng hồng cầu

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chúng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	8,74 ± 0,82	8,15 ± 0,94	8,72 ± 0,52	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	8,56 ± 1,29	8,76 ± 0,74	9,11 ± 1,89	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	8,96 ± 0,55	8,88 ± 0,61	8,58 ± 0,67	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.2 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, xét nghiệm đánh giá số lượng hồng cầu ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.3. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến số lượng huyết sắc tố

Thời gian	Số lượng huyết sắc tố (g/dL) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	12,32 ± 0,93	11,74 ± 1,49	12,37 ± 0,94	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	11,82 ± 1,89	12,32 ± 1,18	12,52 ± 2,25	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	11,73 ± 0,77	12,20 ± 0,72	11,57 ± 0,83	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.3 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, xét nghiệm đánh giá hàm lượng huyết sắc tố ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.4. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến hematocrit

Thời gian	Hematocrit (%)			p (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	45,42 ± 4,51	42,32 ± 5,55	44,92 ± 2,93	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	42,96 ± 7,01	44,31 ± 4,30	45,30 ± 8,46	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 10,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	43,95 ± 2,71	44,90 ± 2,78	42,83 ± 3,19	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.4 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, xét nghiệm đánh giá hematocrit ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.5. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến thể tích trung bình hồng cầu

Thời gian	Thể tích trung bình hồng cầu (fL) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	47,39 ± 14,35	52,00 ± 2,45	51,50 ± 2,64	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	49,90 ± 1,73	50,70 ± 2,95	50,10 ± 1,79	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	49,10 ± 1,29	50,10 ± 2,69	49,80 ± 1,81	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.5 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, xét nghiệm đánh giá thể tích trung bình hồng cầu ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.6. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến số lượng bạch cầu

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/L)			P (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	13,11 ± 2,16	13,25 ± 3,07	13,11 ± 3,50	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	14,29 ± 2,79	11,92 ± 2,33	11,62 ± 3,37	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	13,03 ± 2,00	12,65 ± 1,37	11,14 ± 2,14	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.6 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, xét nghiệm đánh giá số lượng bạch cầu ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.7. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến công thức bạch cầu

Thời gian	Công thức bạch cầu ($\bar{X} \pm SD$)									p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)			Lô trị 1 (n = 10)			Lô trị 2 (n = 10)			
	Lympho (%)	Trung tính (%)	Mono (%)	Lympho (%)	Trung tính (%)	Mono (%)	Lympho (%)	Trung tính (%)	Mono (%)	
Trước bôi thuốc	82,4 ± 3,8	6,5 ± 1,0	11,1 ± 3,5	80,01 ± 8,38	6,08 ± 3,91	13,91 ± 4,68	79,80 ± 4,89	6,11 ± 1,96	14,09 ± 3,41	> 0,05
Sau 2 tuần bôi thuốc	76,3 ± 8,5	9,0 ± 3,6	14,8 ± 6,0	80,98 ± 6,01	6,02 ± 3,25	13,00 ± 3,09	80,15 ± 6,99	6,12 ± 2,89	14,07 ± 4,29	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần bôi thuốc	79,1 ± 3,3	7,0 ± 1,8	13,1 ± 2,7	75,22 ± 4,78	8,96 ± 2,32	15,82 ± 3,37	79,78 ± 5,83	6,28 ± 2,70	13,94 ± 3,39	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.7 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, xét nghiệm đánh giá công thức bạch cầu ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.8. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến số lượng tiểu cầu

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	548,90 ± 86,21	567,10 ± 68,43	552,00 ± 96,40	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	481,70 ± 97,12	563,80 ± 81,79	600,70 ± 151,94	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	564,50 ± 25,01	632,67 ± 132,79	583,78 ± 118,78	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.8 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, xét nghiệm đánh giá số lượng tiểu cầu ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

2.4. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan

Bảng 2.9. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến hoạt độ AST

Thời gian	Hoạt độ AST (UI/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chúng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	79,50 ± 8,07	71,70 ± 9,87	95,00 ± 24,14	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	79,00 ± 18,87	70,60 ± 15,90	86,60 ± 20,96	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	83,70 ± 15,90	76,50 ± 10,64	87,40 ± 27,77	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở các bảng 2.9 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, hoạt độ AST trong máu chuột cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.10. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến hoạt độ ALT

Thời gian	Hoạt độ ALT (UI/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	37,80 ± 4,39	33,60 ± 5,54	33,20 ± 5,87	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	42,70 ± 6,82	37,9 ± 5,04	46,90 ± 9,86	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	38,00 ± 7,15	46,40 ± 7,37	39,00 ± 9,83	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.10 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, hoạt độ ALT trong máu chuột cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

2.5. Đánh giá chức năng gan

Bảng 2.11. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến nồng độ bilirubin toàn phần

Thời gian	Nồng độ bilirubin toàn phần (mmol/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với với chúng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	13,30 ± 0,63	13,54 ± 0,43	13,37 ± 0,44	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	13,51 ± 0,35	13,53 ± 0,39	13,47 ± 0,38	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	13,42 ± 0,33	13,43 ± 0,35	13,55 ± 0,28	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở các bảng 2.11 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.12. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến nồng độ albumin

Thời gian	Nồng độ albumin (g/dL)			p (so với chứng)
	$(\bar{X} \pm SD)$			
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	3,16 ± 0,19	3,17 ± 0,34	3,29 ± 0,34	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	3,07 ± 0,28	3,32 ± 0,25	3,39 ± 0,40	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	3,01 ± 0,16	3,12 ± 0,19	3,22 ± 0,31	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở các bảng 2.12 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, nồng độ albumin trong máu chuột cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 2.13. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến nồng độ cholesterol toàn phần

Thời gian	Nồng độ cholesterol toàn phần (mmol/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	1,85 ± 0,40	1,86 ± 0,34	1,90 ± 0,32	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	1,45 ± 0,34	1,58 ± 0,28	1,67 ± 0,39	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	1,84 ± 0,73	1,91 ± 0,14	1,83 ± 0,15	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.13 cho thấy:

Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuôt ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

2.6. Đánh giá chức năng thận

Bảng 2.14. Ảnh hưởng của Ích khí an thần đến nồng độ creatinin

Thời gian	Nồng độ creatinin (mg/dL) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	0,75 ± 0,13	0,77 ± 0,18	0,76 ± 0,14	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	0,86 ± 0,13	0,82 ± 0,15	0,75 ± 0,15	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	0,82 ± 0,13	0,83 ± 0,14	0,81 ± 0,17	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2.14 cho thấy:

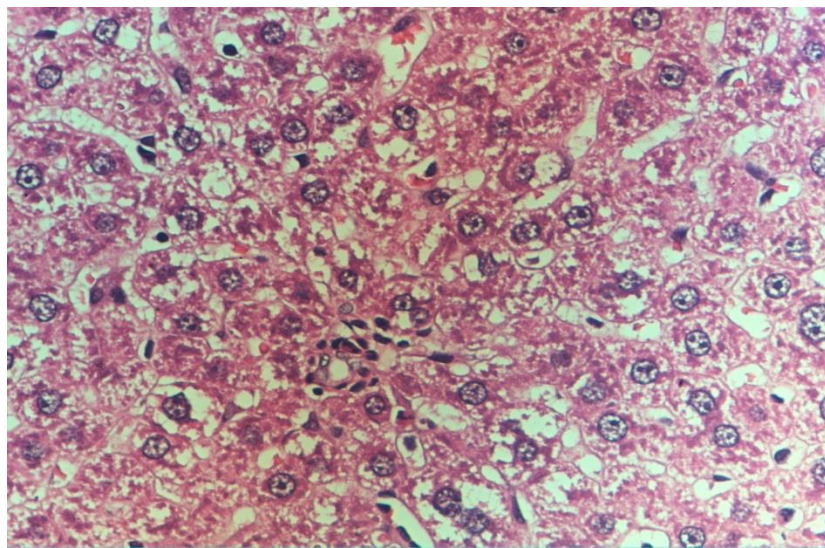
Sau 2 tuần và 4 tuần uống Ích khí an thần, ở cả lô trị 1 (uống Ích khí an thần liều 0,506 g/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Ích khí an thần liều 1,518 g/kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

2.7. Đánh giá hình thái và cấu trúc vi thể gan, thận của chuột

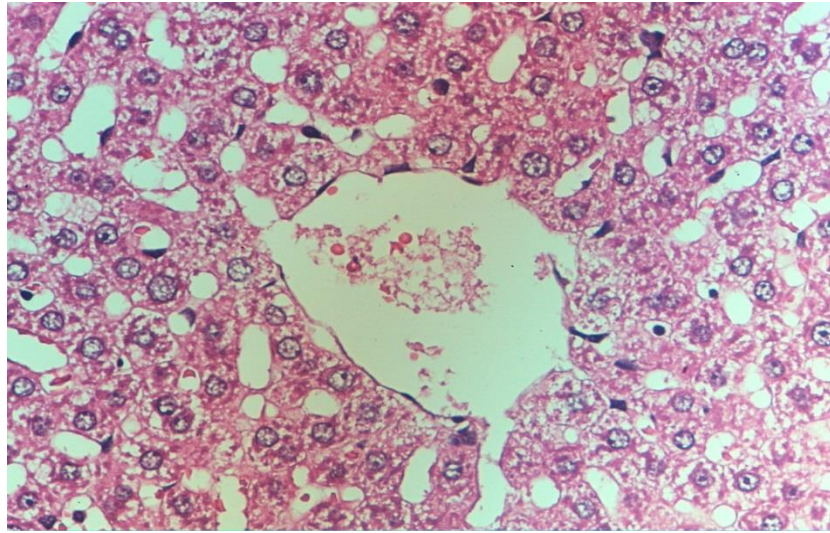
* **Hình thái đại thể của gan và thận:** Trên tất cả các chuột thực nghiệm (cả lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của gan và thận.

* **Hình thái vi thể của gan và thận:**

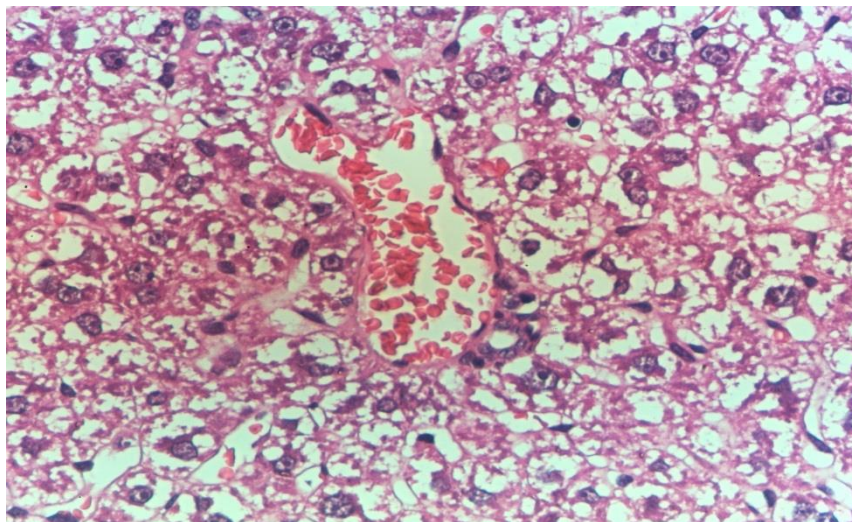
- **Giải phẫu vi thể gan:**



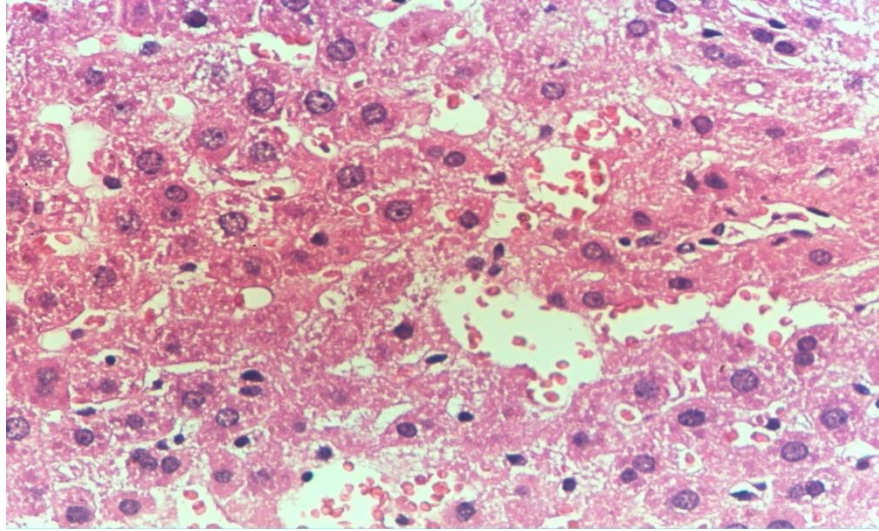
Ảnh 2.1. Hình thái vi thể gan ở chuột lô chứng (chuột số 4)
(HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)



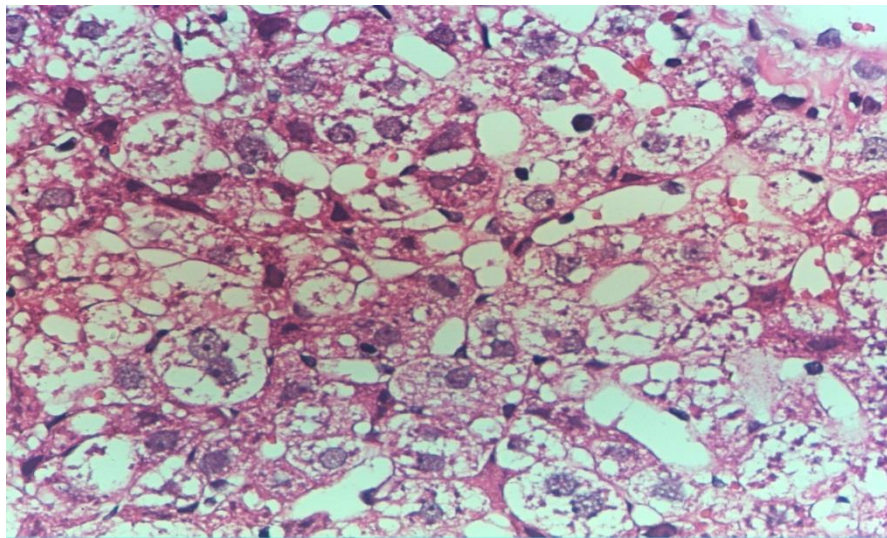
Ảnh 2.2. Hình thái vi thể gan ở chuột lô chứng
(chuột số 7) (HE x 40)



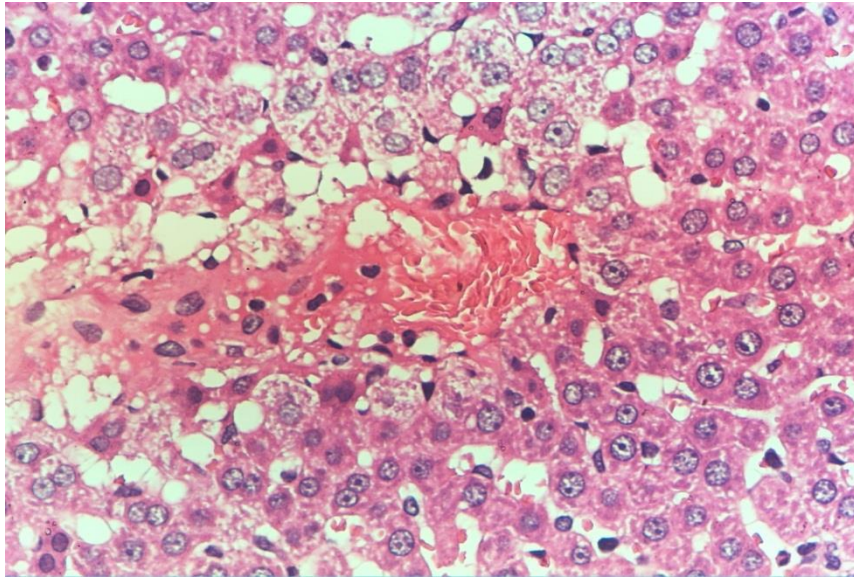
Ảnh 2.3. Hình thái vi thể gan ở chuột lô chứng
(chuột số 10) (HE x 400)



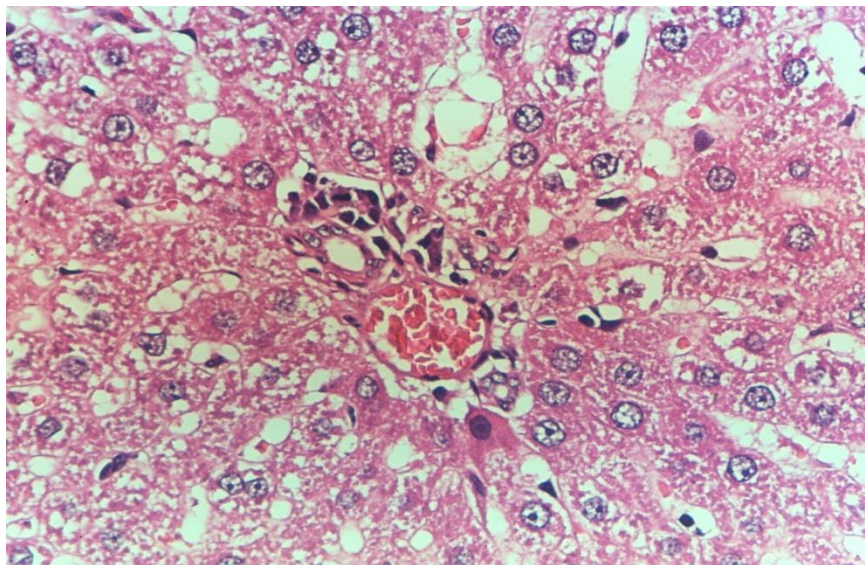
Ảnh 2.4. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 sau 4 tuần uống thuốc thử
(chuột số 11)(HE x 400)



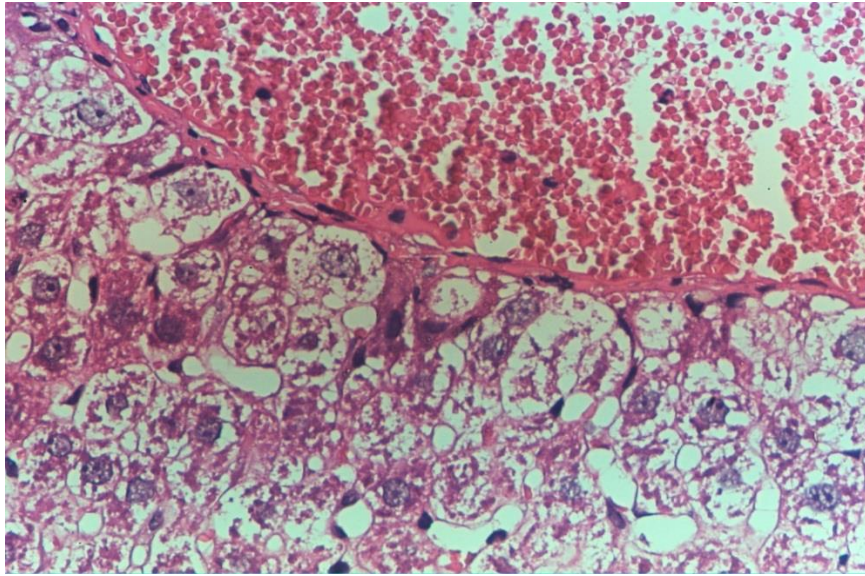
Ảnh 2.5. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 sau 4 tuần uống thuốc thử
(chuột số 15)(HE x 400)



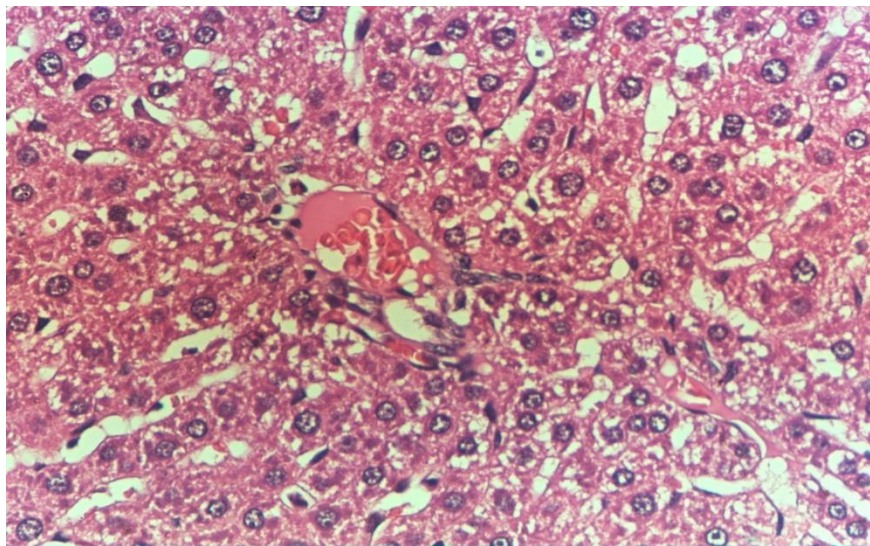
Ảnh 2.6. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 sau 4 tuần uống thuốc thử
(chuột số 16)(HE x 400)



Ảnh 2.7. Hình thái vi thể gan ở chuột lô trị 2
(chuột số 21) (HE x 400)



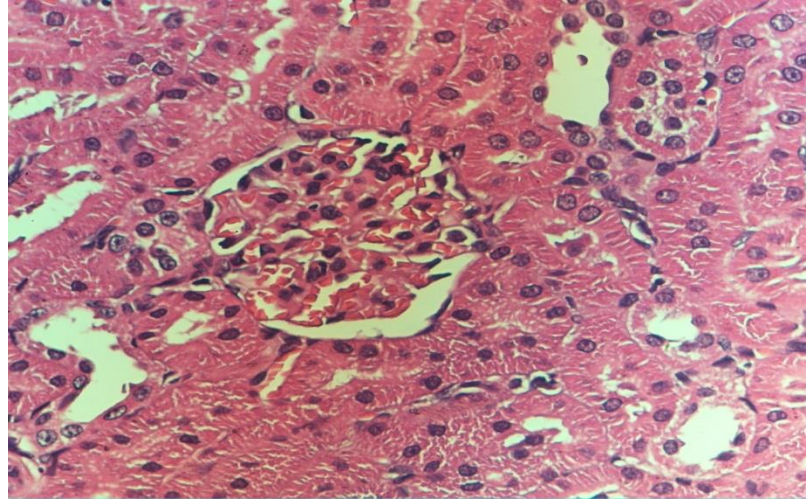
Ảnh 2.8. Hình thái vi thể gan ở chuột lô trị 2
(chuột số 23)(HE x 400)



Ảnh 2.9. Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2
(chuột số 25)(HE x 400)

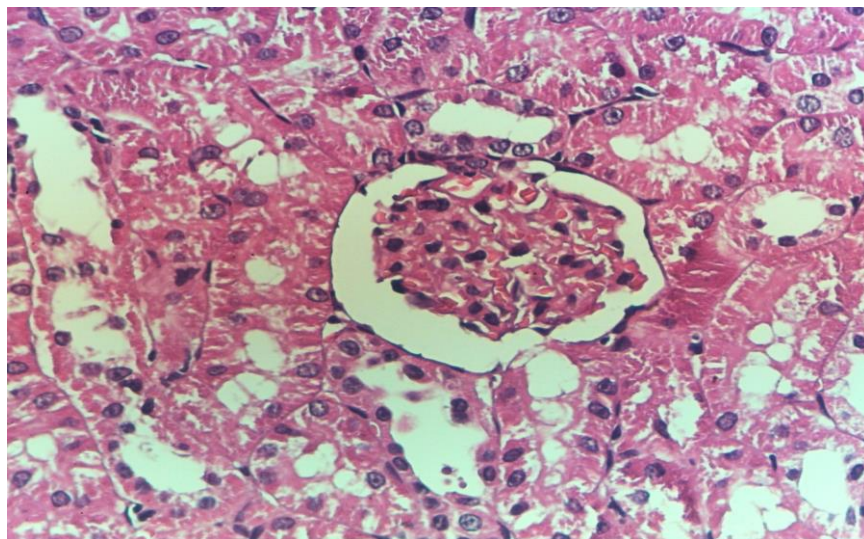
- Giải phẫu vi thể thận:

Ở cả 3 lô nghiên cứu, cấu trúc vi thể thận bình thường.



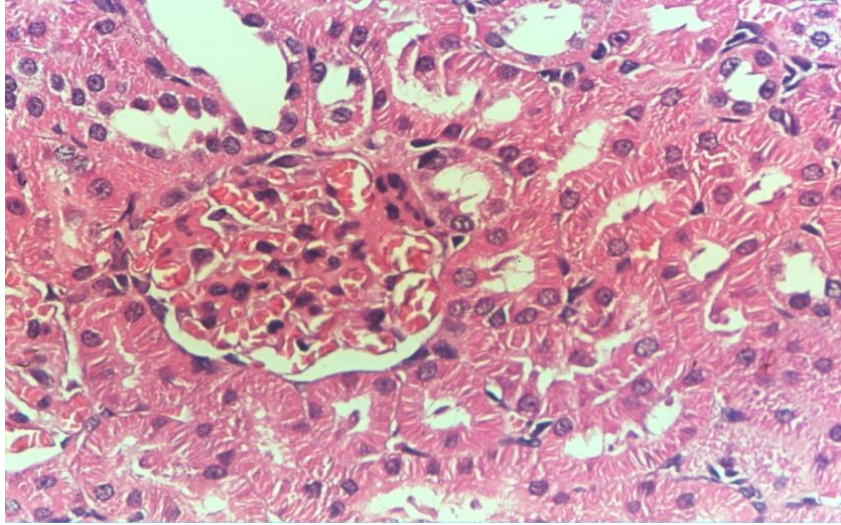
Ảnh 2.10: Hình thái vi thể thận chuột lô chúng
(chuột số 4)(HE x 400)

Thận bình thường



Ảnh 2.11: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1
(chuột số 11)(HE x 400)

Thận bình thường



Ảnh 2.12: Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 sau 4 tuần uống thuốc thử
(chuột số 21)(HE x 400)

Thận bình thường

Nhận xét về kết quả giải phẫu bệnh: cấu trúc vi thể gan của cả 3 lô có hình ảnh thoái hóa tế bào gan, không có sự khác biệt rõ rệt giữa lô trị 1, 2 so với lô chứng sinh học. Cấu trúc vi thể thận của cả 3 lô đều bình thường, không có hình ảnh thoái hóa.

III. NHẬN XÉT

Viên nén Ích khí an thần khi dùng đường uống trong 4 tuần liên tục với 2 mức liều 0,506 g/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người) và 1,518 g/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người) không ảnh hưởng đến tình trạng chung, thể trọng, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu, mức độ hủy hoại tế bào gan (thông qua hoạt độ AST và ALT), chức năng gan (thông qua nồng độ bilirubin toàn phần, nồng độ albumin, nồng độ cholesterol toàn phần) và chức năng thận chuột cống (thông qua nồng độ creatinin).

Cấu trúc vi thể gan và thận của lô trị 1 và lô trị 2 không có sự khác biệt so với lô chứng sinh học.

KẾT LUẬN

Viên nén Ích khí an thần khi dùng đường uống trong 4 tuần liên tục với 2 mức liều 0,506 g/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người) và 1,518 g/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người) không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Gerhard Vogel H. (2016), Drug discovery and evaluation Pharmacological assays, Springer.

World Health Organization (2013), Working group on the safety and efficacy of herbal medicine, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.

Hà Nội, ngày tháng năm
2019

Đại diện nhóm nghiên cứu

PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh

Trường Đại học Y Hà Nội xác nhận

Chữ ký trên của PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh là đúng.

Trưởng phòng Tổ chức Cán bộ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]	Đinh Hữu (2012), Rối loạn giấc ngủ ở người, Bài giảng sinh lý học-Trường đại học khoa học tự nhiên thuộc Đại học Quốc gia Hà Nội, tr. 48-56.
[2]	Bùi Quang Huy (2019), Rối loạn giấc ngủ, Nhà xuất bản Y học, tr 14-52.
[3]	Trần Hữu Bình (2005), Rối loạn giấc ngủ không thực tồn, Tài liệu giảng dạy sinh viên Y5, Bộ môn Tâm thần Trường Đại học Y Hà Nội, tr, 245-251.
[4]	Nguyễn Xuân Bích Huyền (2013), Bệnh rối loạn giấc ngủ ngày càng phổ biến ở Việt Nam, Tạp chí Y học thực hành-Trung tâm sức khỏe cộng đồng số 6/2013; tr.37-45.
[5]	Nguyễn Thanh Bình (2012), Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, đa ký giấc ngủ và hiệu quả của thở áp lực dương liên tục trong điều trị hội chứng ngừng thở do tắc nghẽn khi ngủ”. Luận án Tiến sỹ y học, Trường Đại học Y Hà nội, tr 3, tóm tắt tr 23.
[6]	Julia A. Shekleton (2014), “Neurobehavioral Performance Impairment in Insomnia: Relationships with Self-Reported Sleep and Daytime Functioning”, Sleep Research Society, 37(1), 107–116.
[7]	H. G. Vogel (2008), Strychnine-induced convulsions. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays. Springer, Berlin Heidelberg, 614– 615.
[8]	Simiand J, Keane PA, Bizier K, Soubrie P (1989), Comparative study in mice of Tetrazepam and other centrally active skeletal muscle relaxants. Arch Int Pharmacodyn, 297 , 272 – 285.

[9]	Cẩm nang bệnh học (2013), “Rối loạn giấc ngủ-chữa khó hay dễ”, Nội san số đặc biệt chào mừng 50 năm thành lập bệnh viện Tâm thần Trung ương I, tr61-64
[10]	World Health Organization (2013) , Working group on the safety and efficacy of herbal medicine, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
[11]	Trần Hữu Bình (2006), Rối loạn giấc ngủ không thực tồn , Bài giảng Bộ môn tâm thần học, Trường Đại học Y Hà Nội, 62.
[12]	Thái Thụ Đào chủ biên (2004) Suy nhược thần kinh và mất ngủ, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật Giang tây Trung quốc - Nhà Xuất bản lao động Hà Nội. tr 23, 26, 33.
[13]	Cẩm nang bệnh học (2010), “Rối loạn giấc ngủ” trong thông tin sức khoẻ cộng đồng 7/2010, Thư viện y học trung ương, chuyên đề tâm thần học, tr. 50-60
[14]	Lê Thị Tuyết Lan (2010), “Rối loạn giấc ngủ là một trong những rối loạn tâm thần là một bệnh “Tâm thần hiện đại” chiếm tỷ lệ cao”. Báo cáo hội thảo tại Huế 2010, “Vấn đề toàn cầu hoá, thành thị hoá và sức khoẻ tâm thần”.
[15]	Bayon và cộng sự (2014), “Sleep debt and obesity”, Annals of Medicine, 46(5), 264-272.
[16]	Bjorvatn et al (2017), “High prevalence of insomnia and hypnotic use in patients visiting their general practitioner”, Family Practice, 34(1), 20–24.
[17]	Tổ chức Y tế Thế giới (2014), “F51.0 Rối loạn giấc ngủ không thực tồn” <i>Bảng phân loại thống kê quốc tế về bệnh tật và các vấn đề sức khoẻ có liên quan phiên bản lần thứ 10</i> , 134-136.

[18]	Faraut và cộng sự (2012), “Immune, inflammatory and cardiovascular consequences of sleep restriction and recovery”, <i>Sleep Medicine Reviews</i> , 16(2), 137-149.
[19]	Bộ môn tâm thần học và tâm lý học (2007), <i>Tâm thần học và tâm lý học</i> , Học viện Quân y, tr. 227-232
[20]	兰玉艳, 王迪 (2017), 办丹麵衰老作用的实验研究 长春中医药大学学报, 年 6 月第 ²³ 卷第 ³ 期:1 ² -1 ³ .
[21]	Koetter U, Schrader E, Kaufeler R, B Brattstrom A (2007), “ A randommized, double blind, placebo-controlled, prospective clinical study to demonstrate clinical efficacy of a fixed valerian hops extractt combination (Ze 91019) in parients sufering from nonorganic sleep disorder: 2-3.
[22]	施楚明 (2015),天王补心丹配合西药舒乐安定治疗阴虚失眠 50 例的疗效观察 出处: 《中医临床研究》2015 年第 14 期 92-93
[23]	Hamedi S, Forouzantar F (2019), “Hypnotic effect of Portulacea oleracea on Pentobarbital – Induced Sleep in Mice”. <i>Cur Drug Discov technol.</i> 2019;16(2): 198-203.
[24]	Cao Q, Jiang Y (2016), “Tenuifolin, a saponin derived from Radix Polygalace, exhibits sleep – enhancing efects in mice”. <i>Phytomedicine</i> 2016 Dec 15; 23(4): 1797 – 1805
[25]	Zick SM¹, Wright BD, Sen A, Arnedt JT (2011), preliminary examination of the efficacy and safety of a standardized chamomile extract for chronic primary insomnia: a randomized placebo-controlled pilot study: 1-5.

[26]	Fussel A et al (2000) , Effect a fixed valerian-Hop extract combination (Ze 91019) on sleep polygraphy in patient with non-organic insomnia: a pilot study: 2 – 4.
[27]	Wheatley D et al (2001) , Stress – induced insomnia treated with kava and valerian: singly and in combination: 1 – 2.
[28]	Nguyễn Thị Minh Ngọc và cs (2012) , “Nghiên cứu tác dụng an thần thực nghiệm của chế phẩm Sleep Care”. Tạp chí dược học số: 429 - Tháng 1/2012 - Trang 21-25.
[29]	Dương Thị Hương Ly, Nguyễn Thị Bích Thủy (2016) , “Đánh giá tác dụng an thần của bài thuốc chè an thần trên động vật thực nghiệm”, Tạp chí Y dược, Tr. 56, S.5.
[30]	Nguyễn Phương Dung, Lê Thị Thu Hương (2018) , “Khảo sát tác dụng an thần của bài thuốc Bá tử dưỡng tâm hoàn không có thạch xương bồ trên thực nghiệm”. Tạp chí khoa học công nghệ số 3.
[31]	Nguyễn Văn Tâm (2019) "Nghiên cứu độc tính,tác dụng an thần trên thực nghiệm và điều trị mất ngủ không thực tổn trên lâm sàng của cao lỏng Dưỡng tâm an thần ", Luận án tiến sĩ y học, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.
[32]	Nguyễn Thị Thu Thủy (2012) , "Nghiên cứu tác dụng bài thuốc nam TTL trong điều trị chứng thất miên ", Luận văn Thạc sỹ, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.
[33]	Hội đồng dược điển (2018) . Dược điển Việt Nam V. Bộ Y tế.
[34]	Nam Dược thần hiệu , NXB Y học, 1993,169-170.
[35]	Viện Đông Y (1968) , Thuốc Nam và Châm cứu phần Y – NXB Y học và Thể Dục Thể Thao, 207.

[36]	Olayiwola G, Ukponmwan O. và Olawode D. (2013). Sedative and anxiolytic effects of the extracts of the leaves of <i>Stachytarpheta cayennensis</i> in mice. <i>African Journal of of Traditional, Complementary and Alternative medicines</i> , 10(6) , 568-579.
[37]	Shiotsuki H et al (2010), A rotarod test for evaluation of motor skill learning, <i>J Neurosci Methods</i> ; vol. 189: 180 – 185.
[38]	Mill J., Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L. (2002). Home-cage activity in heterogeneous stock (HS) mice as a model of baseline activity. <i>Genes, Brain and Behavior</i> , 1(3) , 166-173.
[39]	Wu XY, Zhao JL, Zhang M et al. (2011). Sedative, hypnotic and anticonvulsant activities of the ethanol fraction from <i>Rhizoma Pinelliae Praeparatum</i> . <i>J Ethnopharmacol.</i> , 135(2) , 325-329.
[40]	Daniel and collaborators (1989), The Pittsburg Sleep Quality Index: a new instrument for Psychiatric Practice and Research, <i>Psychiatry Research</i> , 28 (2), p. 33-35.
[41]	Sliva RH, Frussa-Filho R (2000), The plus – maze discriminative avoidance task: a new model to study memory – anxiety interactions. Effects of chlodiazepoxide and caffeine. <i>J Neurosci Meth</i> , 102, 117 – 125.
[42]	Duham NW, Miya TS (1957), A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. <i>I Am Pharmaceut Assoc</i> , 46, 208 – 210.
[43]	Robert M.J. Deacon (2013). Measuring Motor Coordination in Mice. <i>Journal of Visualized Experiments</i> , 75 , 2609.
[44]	Wu TY, Chen CP, Jinn TR (2011), Traditional Chinese medicines and Alzheimer’s disease. <i>Taiwan J Obstet Gynecol.</i> 50(2):131-5.

[45]	Buxton và Marcelli (2010), “Short and long sleep are positively associated with obesity, diabetes, hypertension, and cardiovascular disease among adults in the United States”, <i>Social Science & Medicine</i> , 71(5), 1027-1036.
[46]	Michael Bourin, Benoit Petit – Demouliere, Brid Nic Dhonnchadha (2007), Amino acid models of anxiety in mice. <i>Fundamental and Clinical Pharmacology</i> , 21 , 567 – 574.