

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN HẢI PHƯƠNG

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ỨC CHẾ
ENZYM ACETYLCHOLINESTERASE
VÀ TÁC DỤNG TĂNG CƯỜNG KHẢ
NĂNG HỌC TẬP VÀ GHI NHỚ CỦA
BÀI THUỐC MINH NÃO VINTONG
TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2020

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN HẢI PHƯƠNG

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ỨC CHẾ
ENZYM ACETYLCHOLINESTERASE
VÀ TÁC DỤNG TĂNG CƯỜNG KHẢ
NĂNG HỌC TẬP VÀ GHI NHỚ CỦA
BÀI THUỐC MINH NÃO VINTONG
TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

Chuyên ngành:

Y học cổ truyền

Mã số:

8720115

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS ĐẬU XUÂN CẢNH

HÀ NỘI, NĂM 2020

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình thực hiện luận văn này, tôi đã nhận được rất nhiều sự quan tâm, giúp đỡ và động viên quý báu từ các thầy cô, các đồng nghiệp, gia đình và bạn bè. Bằng tất cả sự kính trọng và tình cảm chân thành nhất, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới PGS.TS Đậu Xuân Cảnh, giám đốc Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam, là người thầy đã hết lòng quan tâm giúp đỡ, tận tình chỉ bảo, trực tiếp hướng dẫn tôi từ những ngày đầu làm luận văn.

Xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân cùng toàn thể các thầy cô, đồng nghiệp và các anh chị kỹ thuật viên Bộ môn Dược lý thuộc Học viện Quân Y đã luôn gần gũi, động viên, giúp đỡ và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu tại bộ môn.

Tôi cũng xin trân trọng cảm ơn Ban Giám hiệu, Phòng Quản lý Đào tạo Sau đại học - Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận văn.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành nhất tới bố mẹ tôi, gia đình, bạn bè và người thân của tôi, những người đã luôn bên cạnh động viên, ủng hộ, giúp đỡ cho tôi, sát cánh bên tôi vượt qua khó khăn trong suốt thời gian học tập, nghiên cứu cũng như trong cuộc sống.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

Hà Nội, ngày 30 tháng 09 năm 2020

Học viên

Nguyễn Hải Phượng

LỜI CAM ĐOAN

Tôi Nguyễn Hải Phượng, là học viên cao học khóa 11 Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học Cổ truyền, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS Đậu Xuân Cảnh
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan.

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

Hà Nội, ngày 30 tháng 09 năm 2020

Tác giả

Nguyễn Hải Phượng

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Hội chứng sa sút trí tuệ theo y học hiện đại	3
1.1.1. Khái niệm sa sút trí tuệ	3
1.1.2. Biểu hiện lâm sàng của sa sút trí tuệ	4
1.1.3. Nguyên nhân gây sa sút trí tuệ	5
1.1.4. Sơ lược về bệnh Alzheimer	7
1.1.5. Điều trị theo y học hiện đại	13
1.2. Sa sút trí tuệ theo y học cổ truyền	15
1.2.1. Bệnh nguyên, bệnh cơ	15
1.2.2. Phân thể lâm sàng và điều trị	16
1.3. Tình hình nghiên cứu tác dụng ức chế enzyme Acetylcholinesterase ...	20
1.3.1. Một số nghiên cứu trên thế giới	20
1.3.2. Một số nghiên cứu ở Việt Nam	21
1.3.3. Một số phương pháp thường dùng trong nghiên cứu tác dụng ức chế enzyme Acetylcholinesterase in vitro	21
1.3.4. Một số mô hình đánh giá tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ trên động vật thực nghiệm	24
1.4. Tổng quan về bài thuốc Minh não Vintong	29
1.4.1. Thành phần bài thuốc	29
1.4.2. Phân tích tác dụng của bài thuốc	29
CHƯƠNG 2:	32
CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	32
2.1. Chất liệu nghiên cứu	32

2.1.1. Bài thuốc nghiên cứu.....	32
2.1.2. Hóa chất dùng trong nghiên cứu.....	33
2.1.3. Dụng cụ và trang thiết bị nghiên cứu	33
2.2. Đối tượng nghiên cứu	33
2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu:	34
2.4. Phương pháp nghiên cứu:.....	34
2.4.1. Nghiên cứu tác dụng ức chế enzym Acetylcholinesterase in vitro của bài thuốc Minh Não Vintong	34
2.4.2. Đánh giá tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên bài tập mê cung nước	38
2.4.3. Đánh giá tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên mô hình mê lộ nhiều chữ T	39
2.5. Phương pháp xử lý số liệu	40
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ.....	41
3.1. Đánh giá tác dụng ức chế emzym Acetylcholinesterase của bài thuốc Minh não Vintong	41
3.2. Tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên bài tập mê cung nước.....	41
3.3. Tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên mô hình mê lộ nhiều chữ T.....	44
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	49
4.1. Bàn luận về tác dụng ức chế enzym Acetylcholinesterase của bài thuốc Minh Não Vintong	49
4.1.1. Bàn luận về phương pháp <i>in vitro</i>	49
4.1.2. Bàn luận về kết quả đánh giá tác dụng ức chế AchE của bài thuốc Minh não Vintong.....	50

4.2. Bàn luận về tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong	50
4.2.1. Bàn luận về bài tập mê cung nước	50
4.2.2. Bàn luận về mô hình mê lộ nhiều chữ T	53
4.2.3. Bàn luận về bài thuốc Minh não Vintong	54
KẾT LUẬN	58
KIẾN NGHỊ	59
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
AD	Bệnh Alzheimer	Alzheimer's disease
ACh		Acetylcholine
AChE		Acetylcholinesterase
ATCI		Acetylthiocholin iodid
A β	Mảng beta amyloid	
ChEIs	Thuốc ức chế Acetylcholinesterase	Cholinesterase inhibitors
DTNB		5,5" - dithiobis - nitrobenzoic acid
IC50	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử	Half maximal inhibitory concentration
MWM	Mê cung nước Morris	Morris water maze
MTM	Mô hình mê lộ nhiều chữ T	Multiple T maze
NMDA		N-Methyl-D-Aspartate
RNSG	Flavonol Glycoside được phân lập từ rễ của Tam thất	Radix Notoginseng flavonol glycoside
SSTT	Sa sút trí tuệ	Dementia
WHO	Tổ chức Y tế Thế giới	World Health Organization

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	Biểu hiện lâm sàng điển hình của bệnh Alzheimer phân loại theo mức độ nặng vừa và nhẹ	9
Bảng 1.2.	Nhóm thuốc ức chế Acetylcholinesterase	13
Bảng 2.1.	Thành phần của bài thuốc Minh não Vintong	32
Bảng 3.1.	Giá trị IC50 của bài thuốc Minh não Vingtong và Berberin clorid	41
Bảng 3.2.	Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến thời gian chuột tìm thấy bết đở	42
Bảng 3.3.	Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến quãng đường chuột tìm thấy bết đở	43
Bảng 3.4.	Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến tỉ lệ phần trăm thời gian chuột bơi trong 1/4 bể trước đó đặt bết đở (ngày 6)	44
Bảng 3.5.	Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến thời gian chuột tìm thấy khoang đích	45
Bảng 3.6.	Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến quãng đường tìm thấy khoang đích	46
Bảng 3.7.	Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến thời gian tìm thấy khoang đích trong ngày 8	47
Bảng 3.8.	Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến quãng đường tìm thấy khoang đích trong ngày 8	48

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1.	Hình ảnh não người bình thường và não người bị bệnh Alzheimer	7
Hình 1.2.	Đám rối Protein TAU (tangle of TAU protein)	10
Hình 1.3.	Mảng protein dạng bột Amyloid bám quanh các tế bào thần kinh	11
Hình 1.4.	Cấu tạo và tác dụng của enzym Acetylcholinesterase	11
Hình 1.5.	Cấu tạo mô hình mê cung nước (Morris water maze)	27
Hình 1.6.	Cấu tạo mô hình mê lộ nhiều chữ T (Multiple T maze)	28
Hình 2.1.	Chuột nhắt trắng dòng Swiss trưởng thành dùng trong nghiên cứu	33
Hình 2.2.	Sơ đồ tóm tắt các nội dung nghiên cứu	34
Hình 2.3.	Quá trình phản ứng diễn ra trong phương pháp đo quang sử dụng thuốc thử Ellman	35
Hình 2.4.	Sơ đồ quy trình thử nghiệm tác dụng ức chế AchE in vitro	37

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nằm trong nhóm bệnh lý thoái hóa thần kinh, sa sút trí tuệ (SSTT) nói chung và bệnh Alzheimer nói riêng hiện nay là mối quan tâm hàng đầu của những nhà lão khoa trên toàn thế giới. Ở người cao tuổi, SSTT gây suy giảm trí nhớ và nhiều lĩnh vực nhận thức khác, kèm theo những rối loạn về hành vi, không những ảnh hưởng nghiêm trọng đến sinh hoạt hàng ngày và chất lượng sống của bệnh nhân mà còn ảnh hưởng đến gia đình và toàn xã hội.[1]

Suy giảm trí nhớ gây ảnh hưởng lớn đến hiệu quả và chất lượng công việc do giảm khả năng tư duy, tập trung và xử lý công việc kém. Chứng hay quên thường dẫn đến nhiều sai sót không đáng có, thậm chí có thể gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến tính mạng và tài sản. Bệnh diễn tiến xấu dần và người bệnh sẽ mất các khả năng tư duy cũng như tự chăm sóc cá nhân và cuối cùng dẫn đến tử vong.

SSTT có thể gặp trong nhiều bệnh cảnh khác nhau, trong đó nguyên nhân phổ biến nhất là bệnh Alzheimer, chiếm 60% - 80% tổng số bệnh nhân SSTT.[2] Ca bệnh Alzheimer đầu tiên được mô tả vào năm 1906.[3] Từ đó đến nay, số lượng ca bệnh Alzheimer được báo cáo ngày càng gia tăng. Trung bình cứ sau khoảng 5 năm tỷ lệ SSTT lại tăng gấp đôi trong quần thể người từ 60 tuổi trở lên.[4] Trên thế giới có khoảng 47,5 triệu người mắc SSTT và có 7,7 triệu ca mắc mới mỗi năm. Dự báo đến năm 2030 số bệnh nhân SSTT lên tới 75,6 triệu và con số này sẽ tăng lên gấp 3 vào năm 2050 tức khoảng 135,5 triệu người.[5]

Hầu hết nghiên cứu về tỷ lệ hiện mắc SSTT lấy mốc tuổi từ 50 trở lên, tuy nhiên một nghiên cứu lớn tại cộng đồng về SSTT ở người trẻ (Harvey và cs. 2003) gợi ý rằng tỷ lệ hiện mắc SSTT tăng theo số mũ và đang ngày càng trẻ hóa, bắt đầu từ độ tuổi 30.[1],[6]

Cho đến nay, sự phát triển của Y học hiện đại vẫn chưa thể tìm ra nguyên nhân chính xác cũng như phương pháp điều trị hoàn toàn cho căn bệnh này, các loại thuốc chỉ có tác dụng làm chậm quá trình tiến triển của bệnh và hiệu quả càng cao khi bệnh được điều trị càng sớm, giúp cho chất lượng cuộc sống của bệnh nhân được cải thiện hơn.[1]

Theo giả thuyết Cholinergic, việc phát sinh bệnh Alzheimer có liên quan đến sự thiếu hụt chất dẫn truyền thần kinh Acetylcholin(ACh) trong não tới gần 90%. Acetylcholinesterase(AChE) là một enzym có chức năng làm ngưng lại hoạt động của chất dẫn truyền thần kinh ACh tại các synap thần kinh cholinergic. Ở các bệnh nhân Alzheimer có sự suy giảm nồng độ ACh đáng kể. Do đó, các thuốc ức chế AChE nhằm duy trì nồng độ ACh đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn chặn sự tiến triển bệnh Alzheimer nói riêng và hội chứng SSTT nói chung.[7] Hiện nay, đây vẫn là nhóm thuốc đầu tay trong điều trị cho các bệnh nhân SSTT ở mức độ vừa và nhẹ. Rất nhiều các chất thuộc nhóm này có nguồn gốc từ các loại thực vật (Galantamine,...)[1],[8], điều này chứng minh thảo dược là nguồn chất liệu nghiên cứu hữu ích để tìm ra các chất ức chế AChE. Trong những năm gần đây, nghiên cứu sàng lọc cây thuốc, bài thuốc y học cổ truyền, hay một số hợp chất thiên nhiên theo hướng ức chế AChE cũng đã và đang được nhiều nhà khoa học tiếp cận.

Minh Não Vintong được xây dựng dựa trên bài thuốc kinh nghiệm của PGS.TS Đậu Xuân Cảnh, trong quá trình điều trị bệnh nhân với vai trò hỗ trợ điều trị chứng mất ngủ và thiếu năng tuần hoàn não bài thuốc đã cho thấy những tác dụng nhất định. Bài thuốc gồm có các vị thuốc quý như: Đông trùng hạ thảo, Viễn chí, Ý dĩ, Xa tiền, Đinh lăng, Nhân sâm, Hà thủ ô, Xuyên khung, Tam thất. Một số vị thuốc trong bài thuốc này đã được nghiên cứu đơn lẻ hoặc phối ngũ thành những bài thuốc có tác dụng điều trị đối với các chứng SSTT, trong đó có rất nhiều nghiên cứu đã đi theo hướng ức chế AChE cho thấy kết quả khả quan.[2],[9],[10],[11]... Với thực tế nêu trên, để làm rõ hơn tác dụng thực sự của bài thuốc chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài “**Nghiên cứu tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase và tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên thực nghiệm**” với 2 mục tiêu:

1. *Đánh giá được tác dụng ức chế enzym Acetylcholinesterase in vitro của bài thuốc Minh Não Vintong*
2. *Đánh giá được tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc trên mô hình mê cung nước (Morris water maze) và trên mô hình mê lộ nhiều chữ T (Multiple T maze) của bài thuốc Minh Não Vintong*

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Hội chứng sa sút trí tuệ theo y học hiện đại

1.1.1. Khái niệm sa sút trí tuệ

Sa sút trí tuệ (Dementia) là một hội chứng do nhiều nguyên nhân gây nên, gây suy giảm nhiều khả năng nhận thức, trí nhớ, gây cản trở hoạt động hàng ngày, công việc và quan hệ xã hội. Chẩn đoán SSTT dựa vào hỏi bệnh (thường được cung cấp bởi người chăm sóc hơn là bệnh nhân), khám thực thể và đánh giá tình trạng tâm thần.[1]

Sa sút trí tuệ là bệnh rất thường gặp ở người cao tuổi. Khoảng 6-10% người trên 60 tuổi mắc SSTT. Tỷ lệ mắc mới của SSTT cũng tăng nhanh, từ 0,2-0,5% ở tuổi 60, tăng lên 4-11% ở tuổi 85.[12]

Theo số liệu thống kê của The World Alzheimer Report 2015, năm 2015 có khoảng 46,8 triệu người bị SSTT, trong đó khoảng 60% là bệnh Alzheimer và cứ sau mỗi 20 năm, số người mắc SSTT lại tăng lên gấp đôi. Số ca bệnh mắc mới trung bình là 3 ca/ 1 giây.[13]

Ở người cao tuổi, quá trình lão hóa xuất hiện, sự lão hoá của hệ thần kinh sẽ dẫn tới biến đổi các chức năng thần kinh, tâm lý tâm thần – nhất là sự suy giảm nhận thức.

Suy giảm nhận thức nhẹ là nhóm bệnh có thể phát triển thành SSTT do một số nguyên nhân như bệnh Alzheimer, bệnh mạch máu, hoặc cũng có thể chỉ là quá trình lão hoá não. Từ suy giảm nhận thức phát triển thành sa sút trí tuệ nhanh hay chậm là tùy thuộc vào tác nhân gây bệnh.

Từ giữa những năm 1930 đến những năm 1950, một số bác sĩ tâm thần người Mỹ do David Rothschild đứng đầu đã đối phó với thách thức của bệnh SSTT tại các bệnh viện nhà nước bằng cách coi SSTT là một vấn đề tâm lý xã hội hơn là một bệnh não.[14],[15] Rothschild và những người theo ông lập luận rằng việc quan sát các mối tương quan không nhất quán giữa các biểu hiện lâm sàng của chứng SSTT và các phát hiện bệnh lý tốt nhất có thể được giải thích bằng khả năng bù đắp tổn thương não khác nhau của mọi người. Nhìn theo cách này, chứng SSTT do tuổi tác không chỉ là kết quả đơn giản và không thể tránh khỏi của một bộ não đang suy thoái do lão hóa và/hoặc bệnh tật. Đó là sự tương tác giữa não bộ và bối cảnh tâm lý

xã hội mà người già đang ở. Đối với các bác sĩ tâm thần người Mỹ theo định hướng tâm động học, cách tiếp cận này là một lý thuyết thỏa mãn hơn về chứng SSTT vì nó giải thích sự biến thiên thường thấy giữa mức độ bệnh lý não được tìm thấy khi khám nghiệm tử thi và mức độ SSTT đã được quan sát trên lâm sàng, và nó cung cấp cơ sở logic để thử can thiệp trị liệu và chiến lược phòng ngừa.[15]

1.1.2. Biểu hiện lâm sàng của sa sút trí tuệ

- Bao giờ cũng có rối loạn nhận thức và giảm hoạt động chức năng
- Thường có giảm thị giác không gian và rối loạn hành vi
- Các triệu chứng đặc hiệu thay đổi theo thể bệnh SSTT
- **Giảm trí nhớ:**
 - Giảm khả năng học và lưu giữ thông tin mới
 - Giảm khả năng lấy lại thông tin (không thể nhớ tên, nhớ danh sách từ)
 - Giảm nhớ sự kiện cá nhân
 - Trí nhớ khai báo (ngữ nghĩa) bị nặng hơn trí nhớ thủ tục
- **Giảm ngôn ngữ:**
 - Không nhớ được danh sách từ (đặc biệt trong bệnh Alzheimer)
 - Khó khăn khi tìm từ (định danh)
 - Giảm nói lưu loát từ
 - Không nói được những câu phức tạp
 - Khả năng hiểu khi nghe người khác nói còn tương đối tốt (có thể hiểu được những hướng dẫn)
- **Giảm thị giác không gian:**
 - Giảm nhận biết hình ảnh (không nhận ra khuôn mặt người quen)
 - Giảm khả năng định hướng không gian (lạc ở những nơi quen thuộc, không vẽ được các hình theo không gian 3 chiều)
- **Giảm chức năng điều hành:**
 - Giảm khả năng lên kế hoạch, dự đoán, liên hệ, trừu tượng hóa
 - Giảm tiếp nhận và xử lý nhiều thông tin để đưa ra quyết định

- Giảm chức năng điều hành thường là biểu hiện đầu tiên được ghi nhận ở những người thông minh, có học vấn cao
- Giảm rõ chức năng điều hành thường thấy trong SSTT thùy trán – thái dương trước khi xuất hiện suy giảm trí nhớ
- **Giảm hoạt động chức năng:**
 - Thường bắt đầu bằng các hoạt động hàng ngày có sử dụng công cụ, dụng cụ (quản lý chi tiêu, lái xe, mua bán, làm việc, sử dụng thuốc...)
 - Giai đoạn muộn có giảm các hoạt động cơ bản hàng ngày (ăn, mặc quần áo, đi vệ sinh...)
 - Tần suất và kiểu biểu hiện giảm hoạt động chức năng thay đổi tùy từng cá nhân và thể bệnh
 - Lưu ý: trong giai đoạn đầu của SSTT có thể không có sự tương quan rõ giữa giảm hoạt động hàng ngày và suy giảm nhận thức trên các trắc nghiệm
- **Các rối loạn về hành vi:**
 - Hầu như bao giờ cũng gặp và thường là mục tiêu chính của điều trị
 - Thay đổi nhân cách xuất hiện sớm:
 - + Thụ động (thờ ơ, cách ly xã hội)
 - + Mất kiểm chế (nói năng lung tung...)
 - + Tự cho mình là trung tâm (tính trẻ con, thiếu sự đại lượng)
 - + Kích động, rất thường gặp và thường nặng lên khi bệnh tiến triển: kích động về lời nói, hành động, đi lang thang...
 - Trầm cảm: đặc biệt trong bệnh Alzheimer và SSTT do mạch máu
 - Biểu hiện tâm thần:
 - + Hoang tưởng (mất trộm, không chung thủy...)
 - + Rối loạn tiếp nhận: thường là ảo giác thị giác, hay gặp ở SSTT thể Lewy
 - Rối loạn giấc ngủ: mất ngủ, rối loạn chu kỳ thức – ngủ. Mất ngủ, đi lang thang và kích động là những lý do chính làm kiệt sức người chăm sóc.[12]

1.1.3. Nguyên nhân gây sa sút trí tuệ

Có nhiều nguyên nhân dẫn đến SSTT như:

- Bệnh Alzheimer và SSTT thể Lewy: là nguyên nhân phổ biến nhất, chiếm khoảng 50-75%, bệnh gây mất trí nhớ, rối loạn định hướng không gian, thời gian, mất khả năng tư duy, lập luận, mất ngôn ngữ và giảm chú ý
- SSTT do tổn thương mạch máu não, chiếm khoảng 15-20%: sau tai biến mạch máu não, nhiều tổ chức não bị tổn thương gây rối loạn hoạt động nhận thức dẫn tới sa sút trí tuệ
- SSTT do rượu
- SSTT do teo thùy trán - thái dương: hay gặp hơn ở người dưới 65 tuổi
- SSTT do HIV: là thể SSTT thường gặp nhất ở người <55 tuổi

Các nguyên nhân ít gặp hơn:

- SSTT do thoái hóa tiên phát: SSTT thể Lewy lan tỏa, SSTT thùy trán – thái dương (bệnh Pick, bệnh Huntington...)
- Các bệnh thần kinh phối hợp với SSTT: trong bệnh Parkinson, u não, chấn thương sọ não, tụ máu dưới màng cứng, bệnh mất myelin
- Các nguyên nhân nhiễm trùng: giang mai thần kinh, bệnh Lyme, SSTT sau viêm não, nhiễm trùng cơ hội hoặc áp-xe não
- Các nguyên nhân nội khoa: bệnh tuyến giáp và thượng thận, thiếu vitamin (thiamin, niacin, b12), bệnh chuyển hóa hoặc do dùng thuốc (an thần, thuốc ngủ, kháng cholinergic...)...[12]

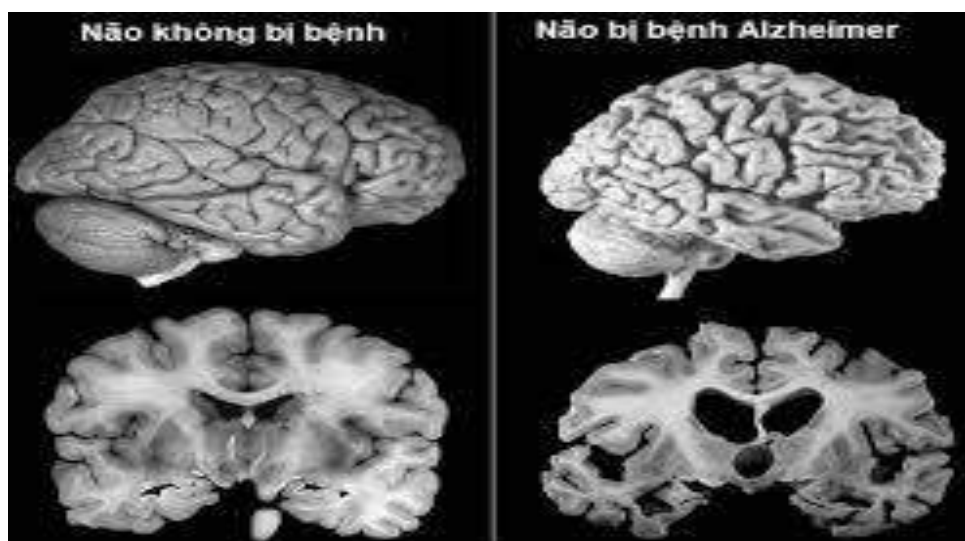
Mặc dù còn có sự khác nhau về các thủ thuật chính xác để xác định căn nguyên của suy giảm nhận thức hoặc SSTT, việc đánh giá suy giảm nhận thức đòi hỏi phải khai thác bệnh sử một cách tỉ mỉ, khám thực thể và thần kinh, đánh giá trạng thái tâm thần, và một số các xét nghiệm máu, chụp hình não. Những bệnh nhân có triệu chứng tiến triển nhanh hoặc bất thường, cần được thăm dò kỹ ở tuyến cao hơn, nơi có các chuyên gia nhiều kinh nghiệm về tất cả các thể SSTT. Các kỹ thuật về chẩn đoán và điều trị ngày càng có nhiều tiến bộ thì các phương pháp như chụp hình não chức năng có thể sẽ được sử dụng rộng rãi hơn như một phương tiện để chẩn đoán sớm và theo dõi tiến triển của bệnh.[1]

1.1.4. Sơ lược về bệnh Alzheimer

Bệnh Alzheimer (Alzheimer's disease - AD) do Alois Alzheimer (1864-1915) – một bác sĩ tâm thần lâm sàng và nhà điều trị thần kinh đã mô tả lần đầu tiên vào năm 1906 tại Cuộc họp lần thứ 37 của các bác sĩ tâm thần Tây Nam Đức tại Tübingen, AD là bệnh thoái hoá - teo não, thường gặp ở người tuổi từ 60 trở lên.[16],[3] Bệnh Alzheimer là nguyên nhân hàng đầu gây nên SSTT.[1]

Alois Alzheimer đã mô tả một “quá trình bệnh nghiêm trọng đặc biệt của vỏ não” ở một bệnh nhân nữ 51 tuổi, Auguste Deter. Sau khi bệnh nhân tử vong, Alois Alzheimer đã lấy mẫu sinh thiết não bộ và tìm ra những dấu hiệu bất thường là những mảng β -amyloid ở ngoài tế bào thần kinh và những đám rối protein ở trong tế bào thần kinh không tan được, lắng đọng ở các tế bào thần kinh và ảnh hưởng đến sự hoạt động của chúng. Mảng và đám rối hiện nay vẫn là thước đo vàng để chẩn đoán bệnh Alzheimer. Năm 1910, Kraepelin đã lấy tên ông đặt cho tên bệnh – bệnh Alzheimer trong tái bản lần thứ 8 bài viết tâm thần học (Psychiatrie) của mình.[7],[3]

AD là một bệnh lý tổn thương thoái hóa tế bào thần kinh. Bệnh đặc trưng bởi việc mất dần neuron và synap thần kinh trong vỏ não và một số vùng dưới vỏ. Đây là yếu tố chính gây sự tàn tật về mặt nhận thức. Sự mất mát này dẫn đến chứng teo, thoái hóa các vùng não bị ảnh hưởng, bao gồm thùy thái dương, thùy đỉnh và một phần của thùy trán, hồi hải mã.[2]



Hình 1.1: Hình ảnh não người bình thường và não người bị bệnh Alzheimer

Bệnh Alzheimer được chẩn đoán trên lâm sàng, đơn độc hay phối hợp với các thể khác, chiếm tới gần 90% các trường hợp SSTT được báo cáo. Hai phần ba các trường hợp này có các bệnh lý phối hợp, đặc biệt là tổn thương mạch não và thể Lewy, góp phần vào các triệu chứng của SSTT (Lim và cs. 1999).[17]

❖ **Triệu chứng lâm sàng bệnh Alzheimer:**

Đặc điểm triệu chứng cũng như phân bố tổn thương bệnh học của bệnh Alzheimer đòi hỏi phải tập trung vào đánh giá nhận thức. Một đánh giá tình trạng tâm thần tốt phải cung cấp đủ thông tin đáp ứng tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh chuẩn.[1]

Các biểu hiện tâm thần của bệnh trầm cảm có thể báo trước một chẩn đoán AD, vì những hành vi như vậy xảy ra trung bình hơn 2 năm trước khi được chẩn đoán, trong nhóm thuần tập này. Các triệu chứng loạn thần biểu hiện xung quanh thời điểm chẩn đoán, thậm chí có thể thúc đẩy chẩn đoán, trong khi các triệu chứng trầm trọng xảy ra trong năm đầu tiên sau khi chẩn đoán. Sự phát triển của các triệu chứng tâm thần trong nhóm thuần tập này khác nhau tùy theo độ tuổi khởi phát bệnh, số năm học chính thức và giới tính.[18]

Diễn hình, bệnh Alzheimer tiến triển một cách liên tục nặng dần, mặc dù có thể có những giai đoạn triệu chứng tương đối ổn định. Các triệu chứng có xu hướng tiến triển chậm hơn ở giai đoạn sớm và giai đoạn muộn. Giai đoạn trung gian tiến triển nhanh nhất, đặc biệt là mất nhanh khả năng thực hiện các hoạt động hàng ngày. Bệnh Alzheimer thường được chia theo các "giai đoạn" để tiện cho các nhà cung cấp dịch vụ, các công cụ chia giai đoạn hiếm khi được sử dụng trên lâm sàng. Do biểu hiện bệnh lý của bệnh tiến triển theo kiểu tuyến tính, những giai đoạn như vậy không có tương quan rõ về mặt sinh học. Bảng 1.1 trình bày các biểu hiện lâm sàng diễn hình theo giai đoạn nhẹ, vừa, và nặng của bệnh Alzheimer.[1]

Giai đoạn	Biểu hiện lâm sàng
Nhẹ	<ul style="list-style-type: none"> - Trí nhớ giảm, có thể không rõ với những người thường xuyên tiếp xúc với bệnh nhân - Không thực hiện được các hoạt động phức tạp hơn (ví dụ chuẩn bị bữa ăn, chi tiêu,...) - Tự chăm sóc được bản thân - Tính tình trở nên thụ động - Ít hoặc không có các biểu hiện về hành vi
Vừa	<ul style="list-style-type: none"> - Trí nhớ giảm rõ - Không thực hiện được các hoạt động thông thường (ví dụ sử dụng bếp, gọi điện thoại,...) - Không tự chăm sóc được bản thân (ví dụ tắm rửa, trang điểm,...) - Có rối loạn hành vi (ví dụ hội chứng hoang hôn, paranoia...) - Kỹ năng giao tiếp xã hội thay đổi - Cần người giám sát
Nặng	<ul style="list-style-type: none"> - Trí nhớ giảm nhiều, chỉ còn những mảnh vụn - Không nhận biết được người thân - Không thực hiện được mọi hoạt động phức tạp - Giảm vận động - Cần người giúp chăm sóc

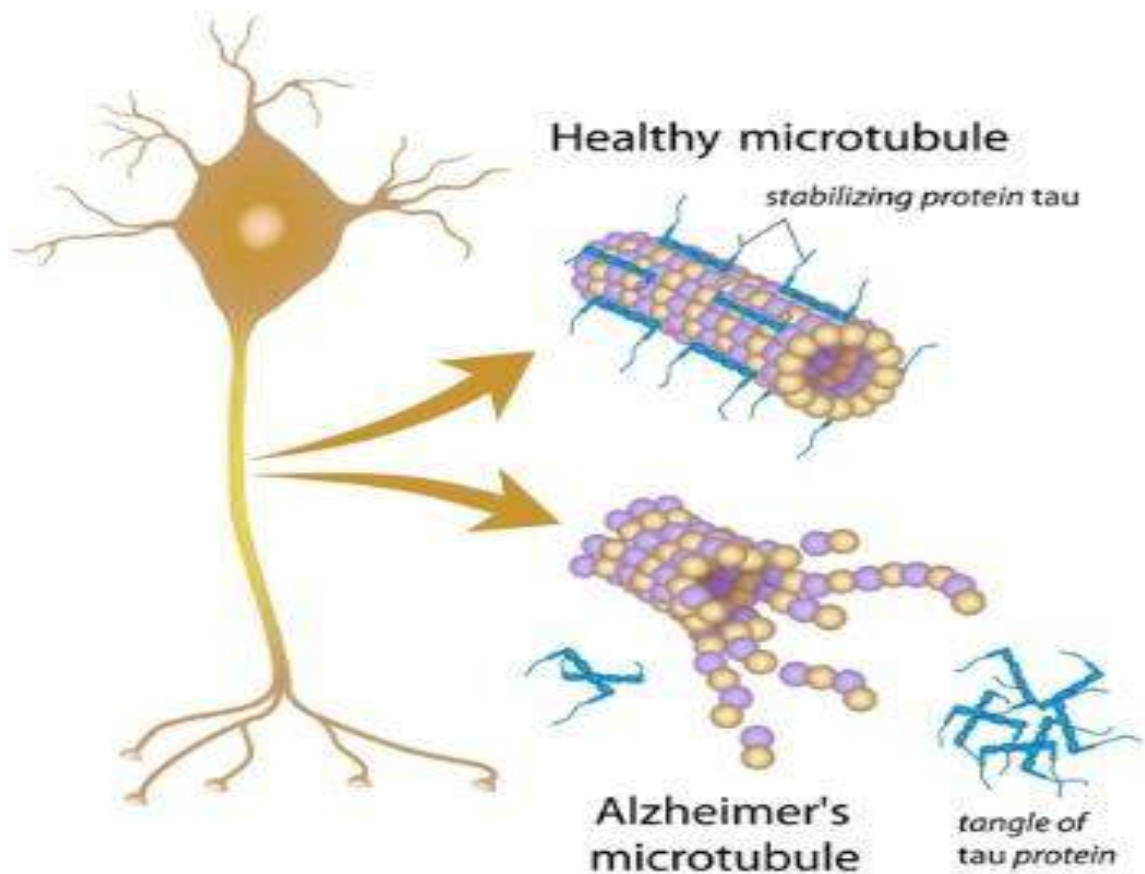
Bảng 1.1. Biểu hiện lâm sàng điển hình của bệnh Alzheimer
theo mức độ nặng vừa và nhẹ

❖ **Cơ chế của bệnh Alzheimer:**

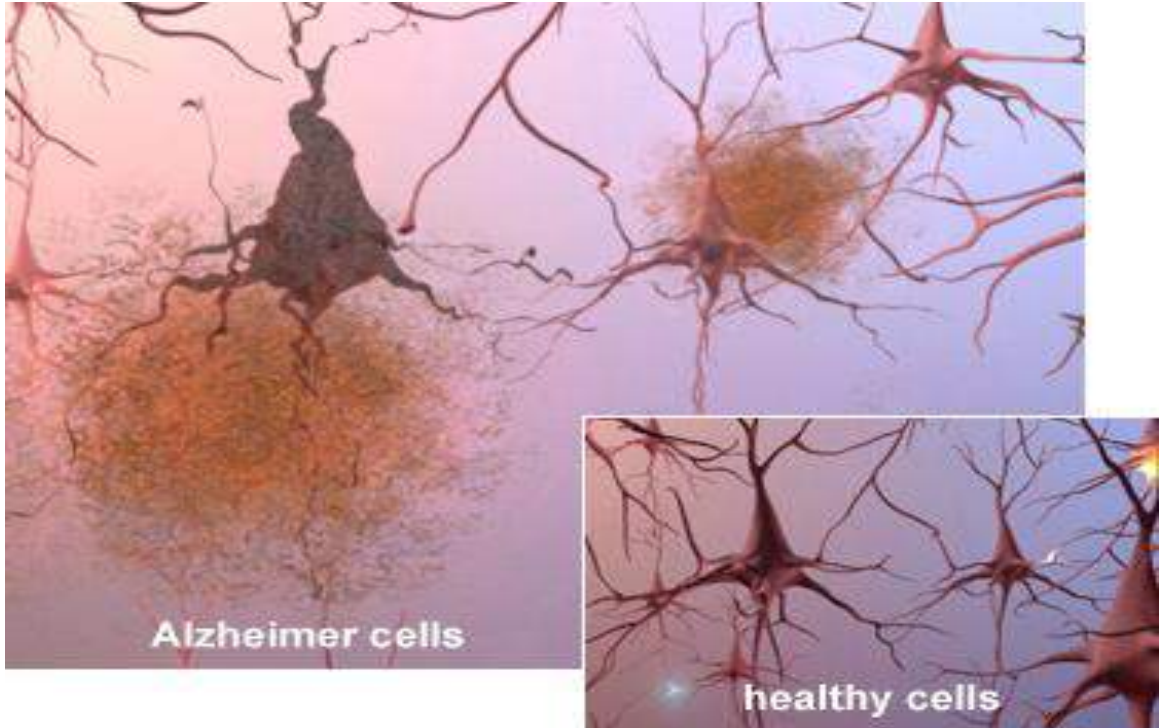
Hiện nay chưa rõ cơ chế chính xác gây rối loạn và chết tế bào thần kinh trong AD. Người ta cho rằng AD có thể do nhiều cơ chế bệnh sinh khác nhau gây nên như: sự tồn tại mảng β -Amyloid ($A\beta$), sự phosphoryl hóa quá mức protein TAU, stress oxy hóa, sự phá hủy myelin trong não do lão hóa, hoặc suy giảm năng lượng

sinh học là yếu tố khởi phát $A\beta$...Tuy nhiên hầu hết các mô hình cơ chế bệnh sinh đều coi sự tích tụ mảng $A\beta$ là nguyên nhân chính gây bệnh.[2],[1]

Do sự hiện diện của các mảng protein dạng bột β -Amyloid bám ở não và các đám rối của protein TAU làm cho não bị tổn thương và chết các tế bào thần kinh. Ở bệnh nhân Alzheimer, những mảng $A\beta$ này nằm xung quanh các tế bào thần kinh chết, một loại protein có tên Amyloid Precursor cũng tồn tại ở đây giúp cho hoạt động hủy hoại tế bào thần kinh của $A\beta$. Sự có mặt quá nhiều $A\beta$ sẽ làm giảm chất trung gian dẫn truyền thần kinh Acetylcholine cần thiết cho trí nhớ. $A\beta$ cũng ngăn chặn sự vận chuyển ion K^+ , Na^+ , Ca^{2+} qua màng tế bào.[19],[20]



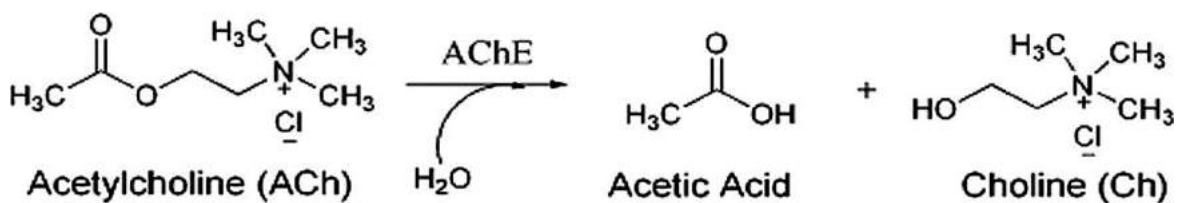
Hình 1.2. Đám rối Protein TAU (tangle of TAU protein)



Hình 1.3. Màng protein dạng bột Amyloid bám quanh các tế bào thần kinh

Đồng thời, ở bệnh nhân Alzheimer có sự thiếu hụt về các chất dẫn truyền thần kinh,[21] như:

Acetylcholine: ACh là một chất dẫn truyền thần kinh đóng vai trò quan trọng trong quá trình học tập và trí nhớ, được giải phóng từ tế bào thần kinh ở thùy trước synap vào khe synap và sau đó liên kết với các thụ thể ACh trên màng sau synap, từ đó giúp chuyển tín hiệu trên sợi thần kinh. AChE, cũng nằm trên màng sau synap, chấm dứt sự truyền tín hiệu bằng cách thủy phân ACh. Các choline giải phóng được đưa trở về một lần nữa bởi các tế bào thần kinh trước synap và kết hợp với acetyl-CoA để tạo thành ACh thông qua các hoạt động của enzyme Choline Acetyltransferase.[2],[22]



Hình 1.4: Cấu tạo và tác dụng của enzym Acetylcholinesterase

Theo giả thuyết cholinergic, các chất đối kháng cholinergic gây ra suy giảm trí nhớ và khả năng nhận thức của con người còn các chất đối kháng muscarinic thì có tác dụng ngược lại. Do vậy, việc ức chế AChE sẽ duy trì nồng độ và thời gian hoạt động của ACh tại các khe synap, từ đó có tác dụng duy trì khả năng ghi nhớ và khả năng học tập của con người. Sự giảm sút nồng độ ACh thường gặp ở các bệnh nhân Alzheimer, theo nghiên cứu của tác giả Di Giovanni S. và cộng sự, trong não của bệnh nhân Alzheimer có sự thiếu hụt đến gần 90% lượng chất dẫn truyền thần kinh này. Trong khi nguyên nhân gây bệnh còn chưa được các nhà khoa học làm rõ thì các chất ức chế AChE là lựa chọn hàng đầu, thông qua việc duy trì nồng độ ACh trong não, các chất này có tác dụng làm giảm các triệu chứng và ngăn chặn sự tiến triển của bệnh.[23]

Monoamin: Thiếu hụt norepinephrin và serotonin cũng góp phần gây ra các triệu chứng nhận thức cũng như không nhận thức, đặc biệt là các triệu chứng về khí sắc và lo âu. Norepinephrin rất quan trọng với thức tỉnh, học tập và trí nhớ. Vị trí chính sản xuất ra norepinephrin là liềm xanh trong cuống não, nơi bị mất tế bào rất nhiều trong AD.[1],[2]

Glutamat: Còn nhiều tranh cãi về các bằng chứng liên quan đến sự biến đổi glutamat ở não bệnh nhân mắc AD. Tuy nhiên có một số tác giả cho thấy có sự giảm thanh thải glutamat tại synap trong giai đoạn nặng của bệnh. Họ cho rằng glutamat còn lại tại synap gây kích thích quá mức và rối loạn chức năng của các tế bào thần kinh hậu synap. Còn rất ít các dữ kiện về giả thuyết này trên người.[2] Ngoài ra, còn các chất dẫn truyền thần kinh khác như axit γ -aminobutyric, somatostatin cũng bị suy giảm. Tuy nhiên, vai trò của những thay đổi này trên các triệu chứng lâm sàng chưa rõ.[1],[2]

Một số yếu tố khác được xác định có liên quan Alzheimer là yếu tố gene, homocystein, sự thiếu hụt vitamin nhóm B, trầm cảm, chấn thương đầu, và một số yếu tố hoàn cảnh, môi trường khác...[21]

1.1.5. Điều trị theo y học hiện đại

Cho đến gần đây vẫn chưa có phương pháp nào thực sự điều trị khỏi SSTT nói chung hay bệnh Alzheimer nói riêng. Thuốc và chăm sóc bệnh nhân là những biện pháp chủ yếu với mục đích làm chậm quá trình phát triển của bệnh và cải thiện chất lượng cuộc sống cho người bệnh.[2],[24]

- **Các nhóm thuốc làm chậm tiến triển của bệnh:**

- **Nhóm thuốc ức chế Acetylcholinesterase (Cholinesterase Inhibitors - ChEIs):**

Có tác dụng cải thiện tốt nhất khả năng nhận thức trong bệnh Alzheimer.

Các thuốc trong nhóm này gồm: *Tacrin* (Cognex) năm 1993, *Donepezil* (Aricept) năm 1997, *Rivastigmine* (Exelon) năm 2000 và *Galantamine* (Reminyl) năm 2001. Các thuốc trên đều ức chế có hồi phục AChE. Ngoài ra, Rivastigmine còn ức chế có hồi phục butyrylcholinesterase; Galantamine còn có tác dụng trong việc điều biến các thụ thể nicotinic. Tác dụng điều trị cũng như tác dụng phụ của tất cả các thuốc này khá giống nhau, ngoại trừ tacrin gây độc với gan.[1],[12]. Tacrin là một dẫn chất của Aminoacridine, là thuốc đầu tiên ở Mỹ được chấp nhận để điều trị bệnh AD dựa trên các bằng chứng nghiên cứu. Do những hạn chế của thuốc về độ dung nạp, số lần dùng và cần theo dõi chặt chẽ nên ngày nay tacrine đã không còn được sử dụng nữa.[1] Tác dụng phụ kháng cholinergic của các thuốc ức chế AChE: nôn, buồn nôn, tăng tiết acid dạ dày, chuột rút, mệt, mất ngủ...[12]

	Donepezil (ARICEPT)	Rivastigmine (EXELON)	Galantamine (REMINIL)
Ức chế butyrylcholinesterase	ít	có	ít
Điều biến thụ thể nicotinic	không	không	có
Thời gian bán hủy	50-70 giờ	½-2 giờ	5-7 giờ
Liều khởi đầu	5mg/ngày	1,5mg x 2 lần/ngày	4mg x 2 lần/ngày
Liều tối đa	5-10mg/ngày	3-6mg/ngày	8-12mgx2 lần/ngày

Bảng 1.2: Nhóm thuốc ức chế Acetylcholinesterase

- **Nhóm Thuốc kháng N-Methyl-D-Aspartat (NMDA):**

Memantin (Namenda) là thuốc ức chế tác dụng của glutamat ở vị trí này, thuốc cải thiện dẫn truyền synap và/hoặc ngăn cản giải phóng Calci – chất có thể có tác dụng bảo vệ thần kinh. Memantin được hấp thu tốt, có thời gian bán hủy ≥ 70 giờ nhưng vẫn được sử dụng 2 lần mỗi ngày dựa trên các kết quả nghiên cứu trong các năm cuối 1990.[12]

Trong thực hành lâm sàng, Memantin được chỉ định cho các trường hợp từ trung bình đến nặng với liều khởi đầu là 5mg/ngày, mỗi tuần điều chỉnh liều 5mg/ngày cho đến khi đạt 10mg/ngày, 2 lần mỗi ngày.

Có thể gặp hiện tượng lú lẫn thoáng qua hoặc cảm giác ngây ngất trong quá trình điều chỉnh liều nhưng nói chung Memantin có ít tác dụng phụ hơn các thuốc nhóm ChEIs.[12],[7]

- **Các thuốc bảo vệ thần kinh**

- Dinh dưỡng thần kinh: vitamin E, ginkgo (chống gốc tự do), giảm sản xuất homocysteine (B6, B12), beta-carotene, cerebrolysin...

- Estrogen: nhiều nghiên cứu cho thấy điều trị thay thế hormone có tác dụng không rõ ràng trong việc làm chậm sự khởi phát bệnh AD ở một số phụ nữ

- Statins: lovastatin, pravastatin, simvastatin... có thể có tác dụng ngăn ngừa sự lắng đọng amyloid trong não thông qua việc hình thành cholesterol.[12]

- **Điều trị các rối loạn về hành vi**

- Thay đổi môi trường sống
- Điều trị trầm cảm
- Điều trị tình trạng kích động, bạo lực
- Điều trị loạn thần, các triệu chứng hoang tưởng
- Điều trị mất ngủ[12]

- **Tăng cường hoạt động thể lực và hoạt động xã hội**

Tham gia các hoạt động xã hội và tăng cường thể dục thể thao, hoạt động thể lực phù hợp cũng góp phần nào cải thiện chất lượng cuộc sống của bệnh nhân mắc SSTT.[12]

1.2. Sa sút trí tuệ theo y học cổ truyền

1.2.1. Bệnh nguyên, bệnh cơ

Theo y học cổ truyền (YHCT), sách “Y học chính truyền” mô tả bệnh sa sút trí tuệ trong phạm vi chứng “ngu si”, “Tư sinh kinh” mô tả trong “si chứng”, “Cảnh Nhạc toàn thư” gọi đây là chứng “si ngai”, “Lâm chứng chỉ nam y án” gọi là chứng “thần ngai”[25]

Y học cổ truyền cho rằng não là nơi cao nhất của cơ thể, là nơi mà từ đó đưa tinh hoa khí huyết của tạng phủ đi khắp cơ thể để phát huy tác dụng: trong thì làm thông tạng phủ, ngoài thì bảo vệ cơ thể. Khi cơ thể về già, hoặc do bệnh lâu ngày, tạng phủ hư suy, hoặc sau khi bị trúng phong, âm dương bất điều, khí huyết tinh tủy chuyển hoá thất thường, khí cơ thăng giáng nghịch loạn, đàm trệ huyết ngưng làm ảnh hưởng đến công năng của não mà gây bệnh.

Bệnh chủ yếu là ở não, có quan hệ mật thiết với ngũ tạng trong cơ thể. Theo YHCT: tâm tàng thần, can tàng hồn, tỳ tàng ý, phế tàng phách, thận tàng chí.

- Suy giảm trí nhớ và rối loạn ngôn ngữ đều liên quan đến tâm, thận (thần chí)
- Tính khí hành vi và thay đổi nhân cách liên quan đến can (hồn)
- Suy nghĩ trừu tượng liên quan đến tỳ (ý)
- Định hướng không gian, thời gian, cảm giác có liên quan đến phế (phách)

Về cơ chế gây bệnh: não tủy bất túc, âm dương khí huyết của ngũ tạng suy tổn là bản; khí trệ, huyết ngưng, đàm trọc là tiêu. Đầu là nơi hội tụ của dương khí. Khi thanh dương của lục phủ không thể hội tụ ở đầu, tủy hải bất túc, thần minh thất dưỡng, công năng thất thường, không thể bảo vệ được bên ngoài cơ thể và ngũ quan, chín khiếu, dần dần sẽ gây sa sút trí tuệ. [25]

❖ Các nguyên nhân chính:

• *Thận khuy tuổi già*

YHCT cho rằng: thận chủ cốt, tàng chí, sinh tủy, não là bể của tủy. Khi thận tinh sung túc thì chức năng sinh tủy được thịnh vượng, não tủy dồi dào, tinh lực tràn trề, trí lực tốt, tai thính, mắt tinh, động tác linh lợi. Khi cơ thể trở nên lão hoá, thận tinh suy nhược, không sinh tủy để bổ sung cho não được gây giảm trí nhớ, giảm quyết định hành động mà thành SSTT.[25]

- ***Ăn uống không điều độ***

Tỳ chủ vận hóa, tỳ tàng ý. Do ăn quá nhiều đồ ngọt béo, hoặc uống nhiều rượu thành nghiện, làm tổn thương tỳ vị, chức năng vận hoá bị suy giảm, thấp trọc đình trệ lại ở bên trong cơ thể lâu ngày hoá đàm. Đàm trọc nội thịnh, đưa lên trên che lấp thanh khiếu, nhiễu loạn thần minh, làm ý không có chỗ tàng. Hoặc do trong cơ thể sẵn có đàm thấp nội thịnh, lại thêm ngoại cảm nhiệt tà, thấp nhiệt kết lại trong cơ thể, che lấp thanh khiếu, nhiễu loạn thần minh mà gây chứng SSTT.[25]

- ***Thất tình nội thương***

Do tình chí bất toại kéo dài, lo âu quá độ, tâm tỳ hao tổn, khí huyết hư suy, làm cho thần chí thất dưỡng. Tỳ hư nên không thể hoá sinh khí huyết, thanh dương không thăng nên không thể bổ sung tinh hoa khí huyết cho não được. Hoặc do tình chí bất toại, can khí uất kết, khiến cho khí huyết nghịch loạn, nhiễu loạn thần minh. Hoặc do can uất bất đạt, khí cơ trở trệ lâu ngày khiến cho tân dịch đình trệ, đàm kết, ảnh hưởng đến lạc mạch của não, thần chí thất dưỡng, lâu ngày dẫn tới SSTT.[25]

- ***Mất cân bằng giữa làm việc và nghỉ ngơi***

Do lao lực quá độ mà gây thương khí, lo lắng quá độ làm tổn thương tâm tỳ, dẫn tới khí huyết khuỵu tổn, não không được nuôi dưỡng. Hoặc do phòng dục quá độ làm thận tinh hư hao, tinh không thể sinh tủy, tủy hải hư suy đều là những tác nhân gây bệnh.

Quá an nhàn, không làm việc, khí huyết vận hành bất xứng, tỳ vị không chủ được vận hoá sinh ra đàm thấp cũng là những nguyên nhân gây bệnh.[25]

Như vậy, nguyên nhân gây SSTT chủ yếu là hư, tuy nhiên bệnh có cả hư lẫn thực. Tạng phủ khí huyết bất túc, âm dương thất điều, làm cho tủy hải không được sung túc, não suy, thần nhược là hư. Khí trệ, huyết ngưng, đàm trọc bí tắc các khiếu, làm mất sự linh hoạt của não là thực. Trên lâm sàng có thể đơn độc tồn tại chứng thực hoặc chứng hư; cũng có thể biểu hiện hư thực thác tạp.[25]

1.2.2. Phân thể lâm sàng và điều trị

Do người bệnh suy giảm trí nhớ, không thể trả lời chính xác các câu hỏi của thầy thuốc làm ảnh hưởng rất nhiều tới chẩn đoán xác định, đặc biệt là chẩn đoán

thể bệnh theo YHCT. Vì vậy, việc chẩn đoán chủ yếu dựa vào quan sát chất lưỡi, rêu lưỡi và mạch chân.

- **Thể thận tinh khuỵu tổn**

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

Pháp điều trị: bổ thận ích tinh

Phương dược: cổ phương dùng bài **Hữu quy hoàn hợp Quy lộc nhi tiên giao**

Thục địa	320g	Sơn thù	160g
Hoài sơn	160g	Kỷ tử	160g
Đỗ trọng	160g	Đương quy	120g
Thỏ ty tử	160g	Lộc giác giao	160g
Nhục quế	80g	Phụ tử chế	80g
Quy bản	80g	Nhân sâm	80g

Tất cả tán bột mịn, luyện mật làm hoàn, uống 16-18g/lần x 2-3 lần/ngày với nước ấm hoặc nước muối nhạt. Hoặc có thể làm thang với liều lượng thích hợp, sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

Ngoài ra có thể dùng **Lục vị địa hoàng hoàn gia vị**

Thục địa	320g	Sơn thù	160g
Hoài sơn	160g	Trạch tả	120g
Bạch linh	120g	Đan bì	120g
Kỷ tử	120g	Hoàng tinh	120g
Quế chi	80g	Phụ tử chế	40g
Tử hà xa	1 cái		

Tử hà xa sấy khô, tất cả các vị thuốc tán bột mịn, luyện mật làm hoàn, uống 12-16g/lần x 2-3 lần/ngày với nước sôi để nguội hoặc nước muối nhạt. Hoặc có thể làm thang với liều lượng thích hợp, sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

Châm cứu: Châm bổ tứ thần thông, thần đình, chi câu, thái khê, tam âm giao, nội quan, thần môn. Thời gian: 20-30 phút/lần x 1-2 lần/ngày.[25]

- **Thể khí huyết lưỡng hư**

Chứng hậu: Thờ ơ, mệt mỏi, ngại nói, đoản hơi, tinh thần không phấn chấn, thờ ơ, chậm chạp, trí tuệ giảm sút, hoảng sợ bất an, ngủ ngày, đêm ngủ ít, run chân tay, ăn kém, sắc mặt vàng nhợt, chất lưỡi hồng đậm, mạch vi vô lực hoặc tế nhược.

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

Phương dược: Cổ phương dùng bài **Bát trân thang gia vị**

Đảng sâm	15g	Phục linh	15g
Bạch truật	15g	Chích cam thảo	10g
Xuyên khung	15g	Đương quy	15g
Thục địa	15g	Bạch thược	15g
Ích trí nhân	10g	A giao nướng	15g

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần, uống trước ăn 30 phút.

Ngoài ra có thể dùng **Quy tỳ thang hợp Đương quy thược dược tán**

Đảng sâm	15g	Hoàng kỳ	15g
Bạch truật sao	15g	Phục thần	15g
Đương quy	15g	Táo nhân	15g
Viễn chí	6g	Long nhãn	15g
Mộc hương	10g	Bạch thược	15g
Xuyên khung	12g	Trạch tả	12g
Chích cam thảo	6g	Đại táo	12g
Sinh khương	3 lát		

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần, uống trước ăn 30 phút.

Châm cứu: Châm bổ tứ thần thông, thần đình, chi câu, túc tam lý, thái Khê, tâm du, nội quan, thần môn, huyết hải, tam âm giao. Thời gian: 20-30 phút/lần x 1-2 lần/ngày.[25]

- **Thể đàm trọc trở khiếu**

Chứng hậu: Thể trạng béo, thờ ơ, động tác chậm chạp, trí tuệ giảm sút nhiều, đờm nhiều, ngủ ngày, thể hiện ngôn ngữ khó khăn, lưỡi cứng, nói khó, chất lưỡi đậm bệu, rêu lưỡi trắng nhợt, mạch trầm hoạt.

Pháp điều trị: táo thấp hoá trọc, trừ đàm, khai khiếu

Phương dược: Cổ phương có thể dùng một trong các bài thuốc điều trị sau

Địch đàm thang gia giảm

Bán hạ chế	10g	Trần bì	08g
Phục linh	10g	Chích cam thảo	06g
Đờm nam tinh chế gừng	08g	Đẳng sâm	12g
Xương bồ	08g	Trúc nhự	08g
Đại táo	10g	Phục linh	10g
Lục khúc	15g	Sinh khương	3 lát

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

Bán hạ bạch truật thiên ma thang

Bán hạ chế	08g	Bạch truật	15g
Thiên ma	15g	Phục linh	10g
Trạch tả	10g	Trần bì	06g
Cam thảo	06g	Sinh khương	3 lát

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

Châm cứu: Châm bổ tứ thần thông, thần đình, chi câu, túc tam lý; châm tả: phong long. Thời gian: 15-30 phút/lần x 1-2 lần/ngày.[25]

- **Thể khí trệ huyết ngưng**

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

Pháp điều trị: hoạt huyết hoá ứ, thông lạc lợi khiếu

Phương dược: Cổ phương dùng bài **Huyết phủ trục ứ thang gia giảm**

Đương quy	15g	Xuyên khung	15g
Xích thực	15g	Hồng hoa	08g
Đào nhân	08g	Ngưu tất	15g
Chỉ xác	10g	Sài hồ	15g
Cát cánh	08g	Đại hoàng	06g
Cam thảo	06g	Địa long	06g

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

Châm cứu: Châm bổ tứ thần thông, thần đình, chi câu, túc tam lý, huyết hải.

Thời gian: 20-30 phút/lần x 1-2 lần/ngày.[25]

1.3. Tình hình nghiên cứu tác dụng ức chế emzym Acetylcholinesterase

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu sàng lọc, đánh giá về tác dụng điều trị hoặc hỗ trợ điều trị chứng SSTT nói chung cũng như bệnh AD theo nhiều hướng vẫn đã và đang được phát triển, trong đó có rất nhiều những nghiên cứu đánh giá về các vị thuốc, bài thuốc y học cổ truyền, hay một số hợp chất thiên nhiên theo hướng ức chế AChE cũng đã và đang được nhiều nhà khoa học trong nước và trên thế giới tiếp cận.

1.3.1. Một số nghiên cứu trên thế giới

- Lin Z., Yan Y., Zhu D. et al (2005). Protective effects of FBD - an experimental Chinese traditional medicinal formula on memory dysfunction in mice induced by cerebral ischemia-reperfusion (Tác dụng bảo vệ của FBD - một bài thuốc YHCT Trung Quốc thử nghiệm đối với rối loạn chức năng trí nhớ ở chuột do thiếu máu não thiếu máu cục bộ). [9]

- Lee B., Shim I., Lee H. et al (2011): *Rehmannia glutinosa* ameliorates scopolamine-induced learning and memory impairment in rats (Nghiên cứu tác dụng cải thiện việc học và suy giảm trí nhớ do scopolamine của Địa hoàng trên chuột). Kết quả: Địa hoàng có tác dụng cải thiện trí nhớ trên chuột cống tiêm scopolamin trên mô hình MWM, PAT.[26]

- Ma A. and Guo H. (1998). Effect of *Radix Achyranthis bidentatae* on memory and endurance (Tác dụng của Ngưu tất trên trí nhớ và sức chịu đựng). Kết quả: Ngưu tất có tác dụng cải thiện trí nhớ trên chuột nhắt.[27]

- Manisha et al. (2011): *Gastrodia elata* modulates amyloid precursor protein cleavage and cognitive functions in mice (nghiên cứu tác dụng điều chỉnh sự phân cắt protein tiền thân amyloid và các chức năng nhận thức của Thiên ma ở chuột). Kết quả: các thử nghiệm trí nhớ trên chuột, mô hình mê cung nước (Radial arm water maze) và mô hình khám phá vật thể lạ cho kết quả có sự tăng cường nhận thức trên chuột ở lô sử dụng Thiên ma so với lô đối chứng.[28]

1.3.2. Một số nghiên cứu ở Việt Nam

- Đinh Thị Tuyết Lan (2016): Nghiên cứu độc tính và tác dụng cải thiện trí nhớ của CERENEED-caps trên thực nghiệm. CERENEED-caps gồm hồng hoa, xích thược, đương quy, xuyên khung, sinh địa, chỉ xác, sài hồ, ngưu tất, cam thảo. CERENEED -caps liều 669,6mg CKDL/kg/ngày và 2008,8mg CKDL/kg/ ngày uống trong 6 ngày liên tục có tác dụng cải thiện khả năng học tập và trí nhớ trên chuột nhắt trắng bị gây suy giảm trí nhớ bằng Scopolamin. Tác dụng giữa 2 liều CERENEED-caps là tương đương nhau và tương đương với Donepezil liều 2,4mg/kg ($p > 0,05$).[2]

- Nguyễn Bích Hạnh (2017): Đánh giá tác dụng ức chế enzym Acetylcholinesterase in vitro của các phân đoạn dịch chiết hoàng liên (*coptis chinensis franch*), cho thấy tất cả các phân đoạn dịch chiết này đều thể hiện tác dụng ức chế enzym AChE.[29]

- Đặng Hoàng Quyên (2014): Khảo sát khả năng cải thiện suy giảm trí nhớ của cao chiết từ sinh khối *Cordyceps spp.* trên chuột nhắt. Trong hai thử nghiệm trí nhớ ngắn hạn, chuột được uống cao 3 ngày trước khi tiêm Trimethyltin liều 2,4mg/kg, cho thấy có sự cải thiện trí nhớ so với lô tiêm Trimethyltin khi chuột được uống cao Poysaccharide DL0004 với 2 liều 100mg/kg và 200mg/kg, cao n-BuOH DL0006 với liều 200mg/kg và cao n-BuOH DL0015 với liều 100mg/kg. Kết quả này cho thấy, một số cao chiết của *Cordyceps spp.* có tác dụng cải thiện tình trạng suy giảm trí nhớ ngắn hạn ở chuột.[10]

1.3.3. Một số phương pháp thường dùng trong nghiên cứu tác dụng ức chế enzym Acetylcholinesterase in vitro

Trong giai đoạn đầu của quá trình nghiên cứu phát triển thuốc mới thường tiến hành đánh giá hoạt tính của một lượng lớn các mẫu thử. Vì vậy, những phương pháp được lựa chọn để sử dụng ở giai đoạn này phải là những phương pháp có thể tiến hành đồng thời nhiều mẫu, lượng mẫu cần ít, cho kết quả nhanh và chi phí thấp. Phương pháp thử in vitro đáp ứng được tất cả những yêu cầu đó.

Đối với nghiên cứu sàng lọc tác dụng ức chế AChE in vitro, có 2 phương pháp thường được sử dụng là phương pháp sử dụng thuốc thử Ellman và phương pháp sử dụng thuốc thử muối Fast Blue B.[29],[30]

❖ ***Phương pháp sử dụng thuốc thử Ellman:***

Trong số những phương pháp được sử dụng đánh giá tác dụng ức chế AChE in vitro, phương pháp sử dụng thuốc thử Ellman được xây dựng và ứng dụng sớm nhất. Hiện nay, phương pháp này vẫn được sử dụng khá phổ biến ở nhiều nghiên cứu cùng hướng, trong đó phương pháp đo quang được sử dụng nhiều hơn phương pháp sắc ký lớp mỏng sinh học. Phương pháp này sử dụng cơ chất là Acetylthiocholin Iodid (ATCI) và thuốc thử là 5,5'' - Dithiobis - Nitrobenzoic acid (DTNB).[29]

• ***Phương pháp đo quang:***

Phương pháp của Ellman dùng để xác định hoạt tính của enzym AChE dựa vào đo quang được tác giả này mô tả lần đầu tiên vào năm 1961.[30] Nguyên tắc của phương pháp: cơ chất ATCI bị thủy phân nhờ xúc tác của Cholinesterase tạo Thiocholin. Thiocholin phản ứng với thuốc thử DTNB giải phóng ra hợp chất 5-thio-2-nitrobenzoic acid màu vàng. Hợp chất này được xác định bằng cách đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 412nm.

Sau đó, nhiều nghiên cứu sàng lọc về tác dụng ức chế AChE in vitro khác tiếp tục được thực hiện. Tuy nhiên, so với phương pháp gốc được công bố bởi Ellman, phương pháp được triển khai trong các nghiên cứu sau đó đều có một số thay đổi về: nguồn gốc và hoạt độ của enzym, loại đệm sử dụng, nồng độ dung dịch cơ chất và thuốc thử... cũng như tỷ lệ phối hợp của chúng vào hỗn hợp phản ứng.[29]

• ***Phương pháp sắc ký lớp mỏng sinh học***

Trên cơ sở phương pháp đo quang sử dụng thuốc thử Ellman, phương pháp sắc ký lớp mỏng sinh học đã được phát triển. Ở phương pháp này, sau khi bản mỏng được triển khai, hỗn hợp gồm dung dịch thuốc thử DTNB và cơ chất ATCI được phun lên bản mỏng, sau đó mới phun dung dịch enzym. Những chất gây ức chế AChE sẽ làm xuất hiện các vết màu trắng trên nền vàng.

Một trong những hạn chế của phương pháp sắc ký lớp mỏng sinh học là có thể gặp phải hiện tượng dương tính giả, hiện tượng vết màu trắng xuất hiện trên bản mỏng không phải do tác dụng ức chế enzym AChE. Để khắc phục hạn chế này, bên cạnh bản mỏng thử phải tiến hành làm thí nghiệm với một bản mỏng khác (bản đối chiếu). Các bước tiến hành trên bản đối chiếu tương tự như trên bản thử chỉ khác ở giai đoạn phun thuốc thử hiện màu. Đối với bản thử, hỗn hợp dung dịch thuốc thử DTNB và cơ chất ATCI được phun trước, sau đó mới phun dung dịch enzym AChE. Với bản đối chiếu, dung dịch thuốc thử DTNB được phun trước, sau đó hỗn hợp gồm dung dịch cơ chất ATCI và dung dịch enzym AChE được phun sau. Cách bố trí thử nghiệm như trên nhằm đảm bảo những vết màu trắng xuất hiện trên cả hai bản là những vết cho phản ứng dương tính giả.[29]

❖ **Phương pháp sử dụng thuốc thử muối Fast Blue B**

So với phương pháp sử dụng thuốc thử Ellman, số lượng nghiên cứu sử dụng phương pháp này để sàng lọc tác dụng ức chế AChE in vitro khá hạn chế. Phương pháp này sử dụng cơ chất là α -naphthyl acetat và thuốc thử là muối Fast Blue B (muối O-dianisidin bis(diazotized) zinc double).[29]

• **Phương pháp đo quang**

Thử nghiệm đo quang sử dụng thuốc thử muối Fast Blue B được công bố lần đầu tiên bởi tác giả Van Asperen K. vào năm 1962.[31] Cơ chất α -naphthyl acetat bị thủy phân bởi enzym esterase giải phóng chất α -naphthol. Chất này sau đó phản ứng với thuốc thử muối Fast Blue B tạo thành sản phẩm màu diazo. Hợp chất này được xác định bằng cách đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 600nm.

Tuy nhiên, sau đó không có nhiều nghiên cứu sử dụng phương pháp này để nghiên cứu sàng lọc tác dụng ức chế AChE in vitro và một trong số đó là nghiên cứu của tác giả Di Giovanni S.[23] Phương pháp được sử dụng trong nghiên cứu của tác giả này có một số thay đổi so với phương pháp của tác giả Van Asperen về nguồn gốc và hoạt độ của enzym, hóa chất để bất hoạt enzym và nồng độ dung dịch cơ chất.

• **Phương pháp sắc ký lớp mỏng sinh học**

Muối Fast Blue B cũng được sử dụng như một thuốc thử trong phương pháp sắc ký lớp mỏng sinh học để nghiên cứu sàng lọc tác dụng ức chế enzym AChE in vitro và được phát triển bởi Marston năm 2002. Ở phương pháp này, sau khi bản mỏng được triển khai, dung dịch enzym được phun lên bản mỏng. Sau đó, hỗn hợp gồm dung dịch cơ chất α -naphthyl acetat và dung dịch thuốc thử muối Fast Blue B được phun lên bản mỏng. Những chất gây ức chế AChE sẽ làm xuất hiện các vết màu trắng trên nền màu tím sẫm.

Cũng giống phương pháp sắc ký lớp mỏng sinh học sử dụng thuốc thử Ellman, phương pháp sắc ký lớp mỏng sinh học sử dụng thuốc thử muối Fast Blue B cũng có thể gặp phải hiện tượng dương tính giả. Để loại trừ các vết dương tính giả, một bản mỏng đối chiếu tương tự với bản mỏng thử được triển khai. Sau đó, các dung dịch α -naphthol và muối Fast Blue B được phun lên bản mỏng mà không có dung dịch enzym. Nếu xuất hiện vết màu trắng thì vết đó là vết dương tính giả.[29]

Bên cạnh 2 phương pháp được trình bày ở trên, phương pháp điện di mao quản cũng đã được sử dụng để nghiên cứu sàng lọc tác dụng ức chế AChE in vitro trong nghiên cứu của Tang Z. M. (2007)[32]. Tuy nhiên, mới chỉ có rất ít nghiên cứu sử dụng phương pháp này được công bố. Lý do là bởi phương pháp này đòi hỏi phải có trang thiết bị phù hợp với thao tác thử nghiệm tương đối phức tạp. Ngoài ra, hạn chế về số lượng mẫu thử được đánh giá ở mỗi lần thao tác máy cũng góp phần cản trở việc ứng dụng phương pháp điện di mao quản trong nghiên cứu sàng lọc. [29]

Với mục tiêu nghiên cứu *đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase in vitro của bài thuốc Minh Não Vintong*, phương pháp đo quang sử dụng thuốc thử Ellman được lựa chọn để áp dụng trong nghiên cứu đề tài này.

1.3.4. Một số mô hình đánh giá tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ trên động vật thực nghiệm

❖ Mô hình gây suy giảm trí nhớ

Để nghiên cứu thuốc cải thiện trí nhớ thì trước tiên phải gây được mô hình suy giảm trí nhớ. Đối tượng nghiên cứu thường được sử dụng là động vật gặm nhấm như chuột cống và chuột nhắt.[2],[33],[26]

Có nhiều tác nhân được dùng để gây suy giảm trí nhớ được nghiên cứu và áp dụng thành công trên động vật thực nghiệm:

- *Scopolamin*

Kể từ các báo cáo đầu tiên về sự suy giảm cholinergic trung ương liên quan đến AD, người ta đã tìm ra mối liên quan giữa suy giảm nhận thức và trí nhớ ở bệnh nhân AD với tác dụng của các thuốc kháng cholinergic.

Scopolamin là alkaloid có cấu trúc gần giống với atropin. Cơ chế tác dụng của scopolamin là tranh chấp đối kháng với ACh tại receptor M của hệ muscarinic. Tác dụng đối kháng này là không chọn lọc trên các receptor M của cả hệ thần kinh trung ương và ngoại vi. Thuốc làm mất tác dụng của ACh trên hệ thần kinh trung ương, từ đó gây suy giảm trí nhớ đặc biệt với liều cao.

Chuột được tiêm màng bụng scopolamin là một mô hình thực nghiệm thường được sử dụng để đánh giá khả năng học tập và trí nhớ.[2]

- *Trimethyltin*

Trimethyltin là một chất có tác dụng gây độc tế bào thần kinh do gây stress oxy hóa và hình thành các gốc tự do, vấn đề này có thể được cải thiện bởi các chất chống oxy hóa. Chất này có khả năng gây ra cái chết cấp tính có chọn lọc của các tế bào thần kinh thuộc hồi hải mã, tiếp đến là sự suy giảm nhận thức. Trimethyltin cũng làm tăng hoạt động của AChE bên trong lớp phân tử của hồi răng dẫn đến làm giảm nồng độ ACh.[2]

- *Paraquat*

Paraquat là tên thương mại của hợp chất N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridium dichlorid, là một trong những chất diệt cỏ được sử dụng rộng rãi trên thế giới. Gần đây một số đề tài nghiên cứu đã dùng Paraquat làm chất gây thoái hóa tế bào thần kinh để làm mô hình nghiên cứu về sự thoái hóa và chống thoái hóa tế bào thần kinh.[2]

- *Carbon monoxid*

Carbon monoxid cũng là một chất được dùng làm tác nhân gây mô hình thoái hóa tế bào thần kinh, được nhiều nhà khoa học ứng dụng do carbon monoxid gây

chết các tế bào thần kinh thuộc hồi hải mã và rối loạn chức năng hệ cholinergic tại các tế bào thần kinh trong vỏ não phía trước, thể vân.[2]

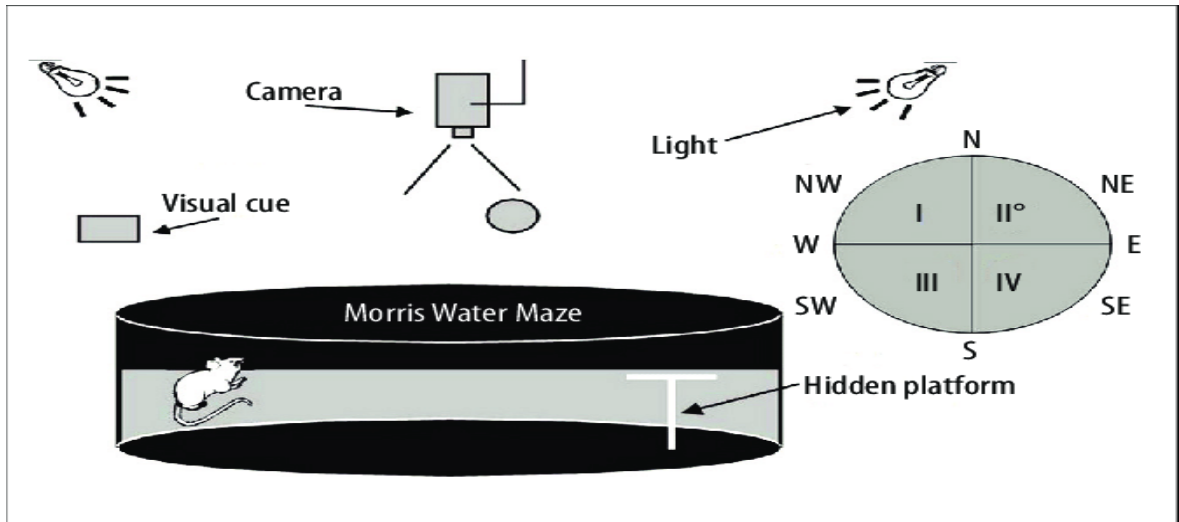
Ngoài ra, còn có các tác nhân khác như: Chuột biến đổi gen, gây thiếu máu não cục bộ[34], tiêm A β , sốc điện, acid ibotenic, colchicin, ion kim loại nặng như sắt, nhôm, chì, đồng...[35],[2].

Trong nghiên cứu này, mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng Scopolamin được lựa chọn để làm nghiên cứu.

❖ **Mô hình mê cung nước (*Morris water maze - MWM*)**

Đây là một thử nghiệm đánh giá khả năng học tập và trí nhớ không gian trong môi trường nước. Chuột được đặt trong một bể bơi hình tròn lớn và nhiệm vụ của nó là tìm thấy bến đỗ để thoát khỏi nước. Có 3 chiến thuật cơ bản để chuột thoát khỏi mê cung: ghi nhớ các động tác cơ bản để đến được bến đỗ, sử dụng các dấu hiệu trực quan để tìm đến bến đỗ, sử dụng các tín hiệu xa làm điểm tham chiếu để xác định vị trí nó đang bơi và vị trí bến đỗ. Đặc biệt sự linh hoạt trong quá trình nhận thức của chuột còn có thể được đánh giá bằng cách sử dụng mô hình mê cung nước trong đó bến đỗ được giấu đi, hoặc thay đổi vị trí xuất phát của chuột.[2],[36]

Cấu tạo mê cung nước Morris: Một bể chứa nước hình tròn, đường kính 120cm, cao 50cm, mặt trong màu đen. Bể được chia thành 4 phần bằng nhau. Xung quanh có đặt các hình ảnh nhận biết để định hướng không gian và xác định điểm xuất phát khi tiến hành thử nghiệm. Nhiệt độ nước ổn định ở $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Một bến đỗ có mặt trên bằng phẳng để chuột có thể đứng vững đường kính 10cm, cao 25cm. Bến đỗ được đặt cố định ở chính giữa 1 góc 1/4 bể.[2](hình 1.5)

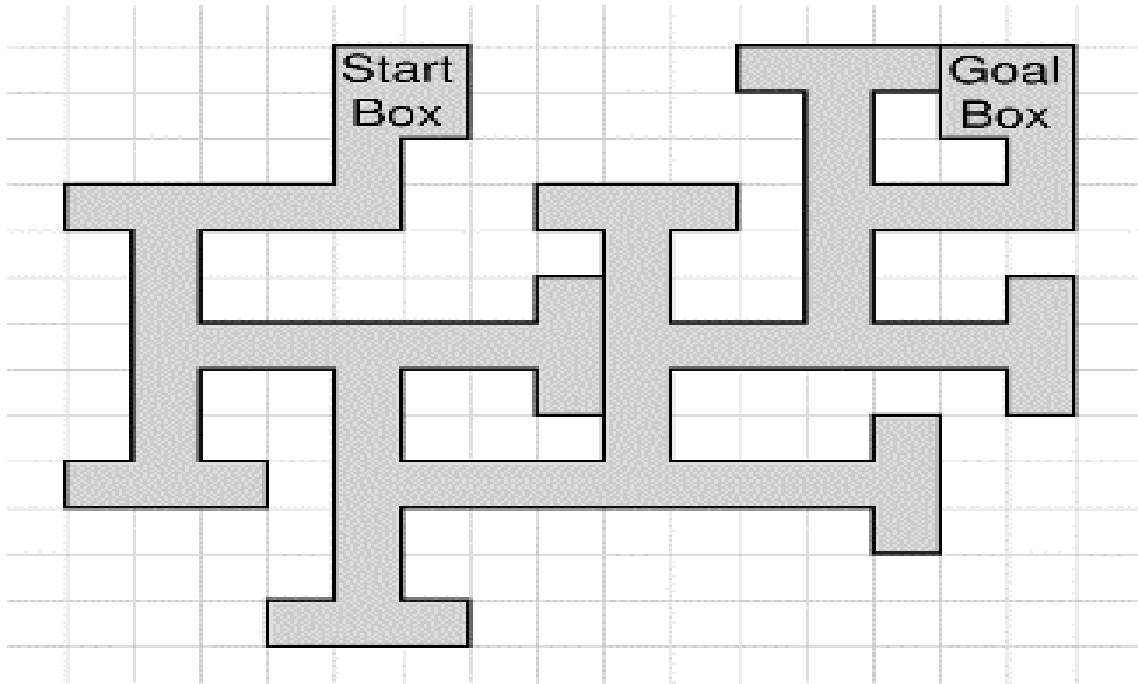


Hình 1.5. Cấu tạo mô hình mê cung nước Morris

❖ **Mô hình mê lộ nhiều chữ T (Multiple T maze - MTM)**

Đây là mô hình đánh giá khả năng học tập và trí nhớ không gian phức tạp, được ghép bởi nhiều khúc hình chữ T, khá thách thức với chuột. Động lực thôi thúc chuột học tập và ghi nhớ là thức ăn – phần thưởng trong khoang đích. Trong nghiên cứu này, chuột học cách tìm ra khoang đích dựa trên trí nhớ của chúng về các nhánh của mê cung chúng đã đi trước đây. Điều này đòi hỏi chuột phải tạo ra một bản đồ nhận thức về mê cung trong quá trình khám phá.[33]

Cấu tạo mê cung nhiều chữ T: Mê cung được làm bằng chất liệu nhựa composit, có kích cỡ chiều dài - rộng - cao tương ứng là 150 x 130 x 15cm, đường đi có độ rộng 8 cm. (hình 1.6)[2]



Hình 1.6. Cấu tạo mô hình mê lộ nhiều chữ T

❖ **Mô hình né tránh chủ động – Active avoidance test (AAT)**

Mô hình được cấu tạo dạng hình hộp chữ nhật có 2 ngăn giống nhau, ở giữa có cửa thông. Tiến hành gây kích thích sợ hãi cho chuột bằng điện giật (trước đó đã có ánh sáng và còi báo hiệu) ở ngăn mà chuột đang đứng. Nếu chuột có trí nhớ tốt sẽ có phản xạ né tránh điện giật bằng cách nhảy qua cửa ngăn cách sang ngăn đối diện khi có còi và đèn báo (phản xạ có điều kiện) hay khi đang bị sốc điện (phản xạ vô điều kiện).[2],[37]

❖ **Mô hình né tránh thụ động – Passive avoidance test (PAT)**

Chuột bẩm sinh luôn có xu hướng thích bóng tối. Ở thử nghiệm này chuột được đặt vào một hình hộp chữ nhật có 2 ngăn sáng và tối. Tiến hành đặt chuột vào ngăn sáng và khi chuột đi sang ngăn tối thì ngay lập tức bị điện giật. Chuột phải học cách tránh kích thích sợ hãi trong bóng tối bằng việc duy trì vị trí trong phòng có ánh sáng nhân tạo và không bước vào phòng tối, nơi mà nó nhận kích thích sợ hãi. Chuột nào không có khả năng ghi nhớ thì sẽ bước qua ranh giới sớm hơn.[36]

❖ **Mô hình khám phá vật thể lạ (trí nhớ hình ảnh)**

Mô hình đánh giá trí nhớ hình ảnh bằng cách cho chuột khám phá các vật thể có màu sắc và hình dạng khác nhau. Chuột có trí nhớ và khả năng nhận thức tốt sẽ

có xu hướng khám phá vật thể lạ nhiều hơn vật thể cũ. Chỉ số đánh giá bằng phần trăm thời gian khám phá vật thể lạ.[36],[10]

Ngoài ra còn một số mô hình khác như: mê cung chữ Y [10],[20], mô hình đánh giá trí nhớ mùi...cũng được sử dụng để nghiên cứu.

Trong nghiên cứu này, để đánh giá tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên động vật thực nghiệm, chúng tôi sử dụng 2 mô hình đó là *mô hình mê cung nước* và *mô hình mê lộ nhiều chữ T*. Đây đều là 2 mô hình đánh giá trí nhớ không gian có nhiều ưu thế như đơn giản, dễ thực hiện, thời gian nghiên cứu ngắn, độ tập trung của động vật nghiên cứu cao.

1.4. Tổng quan về bài thuốc Minh não Vintong

1.4.1. Thành phần bài thuốc

Bài thuốc gồm những vị thuốc sau:

Đông trùng hạ thảo (<i>Ophiocordyceps sinensis</i>)	05g
Viễn chí (<i>Radix Polygalae</i>)	10g
Ý dĩ (<i>Semen Coicis</i>)	10g
Xa tiền (<i>Semen Plantaginis</i>)	05g
Đình lăng (<i>Polyscias fruticosa</i>)	10g
Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	05g
Hà thủ ô (<i>Radix Fallopiae multiflorae</i>)	10g
Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>)	05g
Tam thất (<i>Radix Panaxis notoginseng</i>)	01g

1.4.2. Phân tích tác dụng của bài thuốc

Bài thuốc Minh não Vintong được xây dựng trên bài thuốc kinh nghiệm của PGS.TS Đậu Xuân Cảnh, với các thành phần chính như đông trùng hạ thảo, viễn chí, ý dĩ, xuyên khung, tam thất, hà thủ ô, đình lăng, nhân sâm và xa tiền, các vị thuốc này có công dụng chính là đại bổ nguyên khí, bổ khí huyết, hành khí hoạt huyết, trừ đàm, bổ can thận, ích trí, an thần, tăng cường tuần hoàn não. Hiện nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng cải thiện quá trình học tập và trí nhớ của bài thuốc này. Tuy nhiên một số vị thuốc có trong bài thuốc đã được các nhà nghiên

cứu khảo sát tác dụng cải thiện trí nhớ trên động vật thực nghiệm và trong các thử nghiệm lâm sàng.

Đông trùng hạ thảo là 1 vị thuốc quý có bản chất là chủng nấm *Ophiocordyceps sinensis* ký sinh trên ấu trùng sâu, đã có rất nhiều nghiên cứu về công dụng của chủng nấm này, Kết quả của một vài nghiên cứu cho thấy một số cao chiết của *Cordyceps spp.* có tác dụng cải thiện tình trạng suy giảm trí nhớ ngắn hạn ở chuột. [10]

Nhân sâm (*Radix ginseng*) là một trong những vị thuốc y học cổ truyền quý có từ lâu đời, được sử dụng rộng rãi trong hàng ngàn năm như một vị thuốc bổ truyền thống. Một số nghiên cứu về hệ thần kinh gần đây cũng đã chứng minh rằng ginsenosides có trong nhân sâm thể hiện nhiều tác dụng có lợi về mặt dược lý in vitro và in vivo trên các mô hình động vật liên quan đến các bệnh thoái hóa thần kinh như AD[38],[39],[40].

Kết quả của một khảo sát về tác dụng điều trị bệnh Alzheimer của các vị thuốc cổ truyền Trung Quốc cho thấy Viễn chí, xuyên khung, đương quy hay một vài vị thuốc khác cũng có tác dụng cải thiện trí nhớ và có tiềm năng cao trong điều trị AD nói riêng cũng như chứng SMTT nói chung với tác dụng phụ ít hơn các nhóm thuốc thông thường.[41]

Bên cạnh những nghiên cứu độc vị, các bài thuốc cổ truyền cũng được quan tâm nghiên cứu dựa trên công dụng chính của bài thuốc. Trong đó có nhiều nghiên cứu mà trong thành phần của bài thuốc được nghiên cứu có những dược liệu nằm trong bài thuốc Minh Não Vintonng. Có thể kể đến các nghiên cứu sau: Theo tác giả Z. Lin và cộng sự (2005), đã nghiên cứu một bài thuốc YHCT có vị dược liệu Xuyên khung và Nhân sâm. Bài thuốc đã được chứng minh có tác dụng cải thiện trí nhớ ở chuột bị thiếu máu não cục bộ trên mô hình né tránh chủ động.[9] Một nghiên cứu gần đây năm 2012, tác giả Chen M. và cộng sự cũng đã tiến hành nghiên cứu một bài thuốc cổ truyền trong thành phần cũng có Hà thủ ô, Viễn chí. Nghiên cứu tiến hành trên chuột cống trắng đã bị gây suy giảm trí nhớ bằng cách tiêm hỗn hợp axit ibotenic và A β , kết quả cho thấy bài thuốc có tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô

hình MWM đồng thời làm cho hàm lượng $A\beta$ trong não giảm xuống và hình thái của tế bào thần kinh trở về bình thường.[42]

Như vậy, có ít nhất 5 trên 9 dược liệu bao gồm đông trùng hạ thảo, viển chí, hà thủ ô, xuyên khung, nhân sâm có các kết quả nghiên cứu trên thế giới về tác dụng cải thiện trí nhớ. Trong đó, đa số là nghiên cứu các bài thuốc kết hợp nhiều vị dược liệu. Có thể thấy, bài thuốc Minh Não Vintong không chỉ dựa trên những kinh nghiệm YHCT mà một số dược liệu trong bài thuốc đã được chứng minh tác dụng cải thiện trí nhớ bằng các nghiên cứu y học hiện đại.

CHƯƠNG 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

2.1.1. Bài thuốc nghiên cứu

Bài thuốc Minh não Vintong được sắc thành dạng thuốc nước, tương đương với 61g các dược liệu khô:

Đông trùng hạ thảo (<i>Ophiocordyceps sinensis</i>)	05g
Viễn chí (<i>Radix Polygalae</i>)	10g
Ý dĩ (<i>Semen Coicis</i>)	10g
Xa tiền (<i>Semen Plantaginis</i>)	05g
Đinh lăng (<i>Polyscias fruticosa</i>)	10g
Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	05g
Hà thủ ô (<i>Radix Fallopiae multiflorae</i>)	10g
Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>)	05g
Tam thất (<i>Radix Panaxis notoginseng</i>)	01g

Bảng 2.1: Thành phần của bài thuốc Minh não Vintong

Tất cả các vị thuốc trong bài thuốc đều được bào chế theo tiêu chuẩn dược điển Việt Nam V, riêng vị thuốc Đông trùng hạ thảo được bào chế theo tiêu chuẩn dược điển Trung Quốc 2015. Thuốc được sắc và đóng túi theo quy trình tại khoa dược, bệnh viện Tuệ Tĩnh.

Liều dùng dự kiến trên người: sắc uống 1 thang/ngày, tương đương với 61g dược liệu/người/ngày.

Một người trung bình nặng 50kg. Do đó liều dùng trung bình trên người là 61g dược liệu/50kg/ngày, tương đương 1,22g dược liệu/kg/ngày. Hệ số ngoại suy của chuột nhất là 12 lần liều trên người.[43],[2] Vậy, liều dùng trên chuột nhất thí nghiệm như sau:

Liều thấp = 1,22g dược liệu/kg(thể trọng người)/ngày x 12 = **14,64g/kg**(thể trọng chuột)/ngày (tương đương liều lâm sàng)

Liều cao = 14,64g dược liệu/kg(thể trọng chuột)/ngày x 3 = **43,92g/kg**/ngày (gấp 3 lần liều lâm sàng)

2.1.2. Hóa chất dùng trong nghiên cứu

- Acetylthiocholine iodide (30 mM pha trong đệm phosphate 0.05M, pH=7.2); DTNB (10 mM pha trong đệm phosphate 0.05M, pH=7.2) và các hóa chất khác (Sigma Aldrich, Hoa Kỳ).
- Chất gây suy giảm trí nhớ: Scopolamin hydrobromid lọ 1g (Sigma Aldrich, Hoa Kỳ).
- Thuốc tham chiếu: Donepezil hydrochlorid viên nén 5mg, tên biệt dược: Aricept (Pfizer).
- Nước muối 0,9% chai 500ml (B.Braun, Việt Nam).
- Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học cần thiết khác.

2.1.3. Dụng cụ và trang thiết bị nghiên cứu

- Các thiết bị nghiên cứu thần kinh: Mê cung nước Morris, mê lộ nhiều chữ T
- Máy ly tâm lạnh Microtube (MikRo 22R, Hettich - Đức).
- Cân phân tích, độ chính xác 10^{-4} g (Sartorius).
- Máy đo pH (pH metter F-51, Horiba-Kyoto-Nhật Bản).
- Ống nghiệm, bơm tiêm và một số thiết bị, dụng cụ phụ trợ khác.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng dòng Swiss trưởng thành, khoẻ mạnh, cân nặng 20 ± 2 g. (hình 2.1)



Hình 2.1. Chuột nhắt trắng dòng Swiss trưởng thành dùng trong nghiên cứu

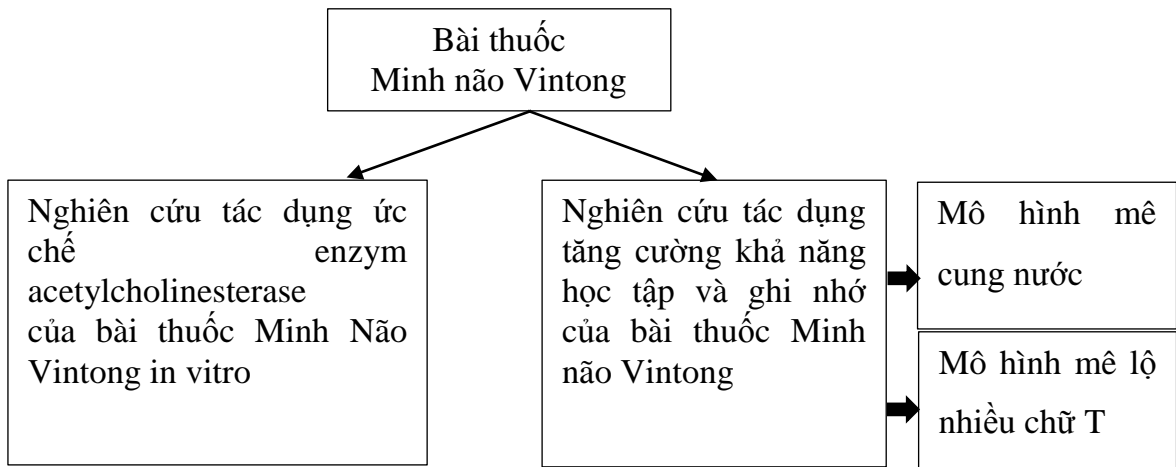
Động vật do Ban chăn nuôi - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi làm thí nghiệm, ăn thức ăn theo

tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu (do ban chăn nuôi Học viện Quân y cung cấp), nước (đun sôi để nguội) uống tự do.

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu:

- Địa điểm: Bộ môn dược lý học viện Quân Y
- Thời gian: Tháng 3/2020 – 9/2020

2.4. Phương pháp nghiên cứu:

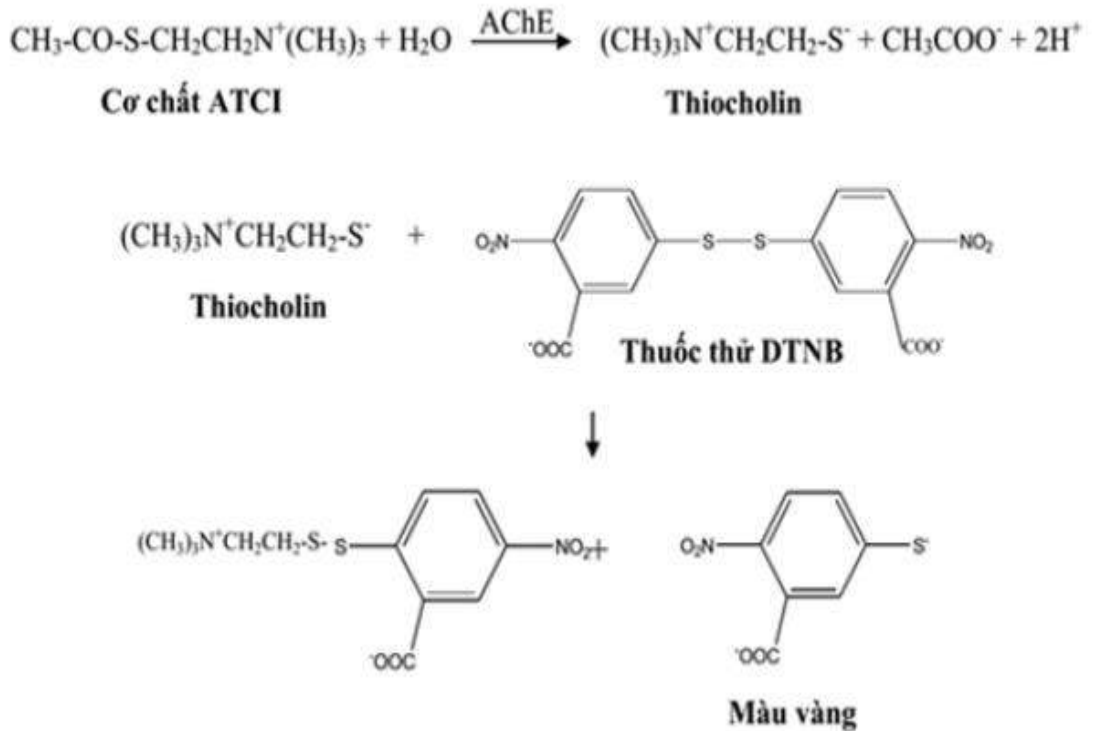


Hình 2.2. Sơ đồ tóm tắt các nội dung nghiên cứu

2.4.1. Nghiên cứu tác dụng ức chế enzyme Acetylcholinesterase in vitro của bài thuốc Minh Não Vintong

Phương pháp đo quang in vitro dùng để đánh giá tác dụng ức chế AChE được xây dựng và sử dụng trong nghiên cứu rất phổ biến hiện nay.

Nguyên tắc của phương pháp như sau: Cơ chất acetylthiocholin iodid (ACTI) bị thủy phân nhờ xúc tác của AChE tạo thiocholin. Sản phẩm thiocholin phản ứng với thuốc thử acid 5-5'- dithiobis-2-nitrobenzoic (DTNB) tạo thành hợp chất acid 5-thio-2-nitro benzoic có màu vàng. Lượng hợp chất màu được tạo thành này tỷ lệ thuận với hoạt độ của AChE. Dựa vào xác định độ hấp thụ của mẫu thử ở 412 nm để đánh giá hoạt tính của AChE. Phương trình phản ứng được trình bày ở hình 2.3.



Hình 2.3. Quá trình phản ứng diễn ra trong phương pháp đo quang sử dụng thuốc thử Ellman

Đã có rất nhiều nghiên cứu sàng lọc áp dụng hướng thực hiện này tuy nhiên mỗi nghiên cứu đều có những điều chỉnh phù hợp với điều kiện nghiên cứu về: Nồng độ dung dịch cơ chất ACTI, nồng độ thuốc thử DTNB, hoạt độ của AChE, thời gian ủ,...

❖ **Quy trình pha các dung dịch dùng trong thử nghiệm:**

• *Pha đệm natri phosphat pH=8*

- Dung dịch mononatri orthophosphat 0,2M: 27,8g NaH₂PO₄ trong 500ml nước cất (dung dịch a).
- Dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2M: 53,05g Na₂HPO₄.7H₂O trong 500ml nước cất (dung dịch b).
- Lấy 26,5ml dung dịch a, 437,5ml dung dịch b và 500ml nước cất định mức trong bình định mức 1000ml.
- Kiểm tra lại pH của đệm bằng máy đo pH và điều chỉnh pH bằng dung dịch chuẩn HCl hoặc NaOH 1M.

• *Pha enzym AChE, cơ chất, thuốc thử*

- Enzym AChE: Cân chính xác 1mg bột AChE (mã số EC 3.1.1.7) tương ứng với 265 đơn vị (265 IU) pha trong 53ml dung dịch đệm tris-HCl tạo thành dung dịch 5 IU/ml, từ dung dịch này pha loãng 20 lần thu được dung dịch enzym nồng độ 0,25 IU/ml sử dụng cho phương pháp đo quang.

- Cơ chất: cân 0,1446g ACTI pha trong 25ml nước cất tạo thành dung dịch có nồng độ 20mM, từ dung dịch đó pha loãng 8 lần thu được dung dịch cơ chất có nồng độ 2,5mM.

- Thuốc thử: Cân 0,1982g thuốc thử DTNB pha trong 25ml dung dịch đệm phosphat tạo thành dung dịch có nồng độ 20mM, pha loãng dung dịch này 8 lần thu được dung dịch thuốc thử nồng độ 2,5mM.

• *Pha các dải nồng độ dung dịch mẫu thử và mẫu đối chứng*

- Dung dịch mẫu thử: dung dịch bài thuốc Minh não Vintong.

- Dung dịch đối chứng: Cân chính xác 1mg berberin clorid hòa tan trong 2ml dung dịch MeOH thu được dung dịch có nồng độ 500µg/ml; từ dung dịch này pha loãng thành các nồng độ 10µg/ml; 2µg/ml; 0,1µg/ml và 0,05µg/ml.

❖ **Cách tiến hành thử nghiệm:**

Thêm lần lượt từng dung dịch gồm: dung dịch đệm natri phosphat pH=8, dung dịch mẫu thử hoặc mẫu chứng và dung dịch enzym vào cuvet 1cm. Hỗn hợp các dung dịch này được trộn đều và ủ ở 25°C trong 15 phút. Sau đó, dung dịch thuốc thử DTNB và dung dịch cơ chất ACTI lần lượt được thêm vào hỗn hợp và trộn đều.

Tiếp tục ủ hỗn hợp trong 10 phút ở 25°C, sau đó dung dịch được đo độ hấp thụ ở bước sóng 412nm. Mỗi thử nghiệm được lặp đi lặp lại 3 lần. Chất chứng dương sử dụng là Berberin clorid. Quy trình thử nghiệm được tóm tắt ở hình 2.4.

❖ **Chỉ số đánh giá**

Tác dụng ức chế AChE in vitro của mẫu thử được xác định bằng giá trị phần trăm ức chế hoạt độ enzym AChE (% I) được tính theo công thức:

$$\%I = (Ac - At)/(Ac - Ao) \times 100$$

Trong đó:

%I: phần trăm hoạt tính AChE bị ức chế

Ac: độ hấp thụ của mẫu chứng (không chứa 100 μ l dung dịch thử)

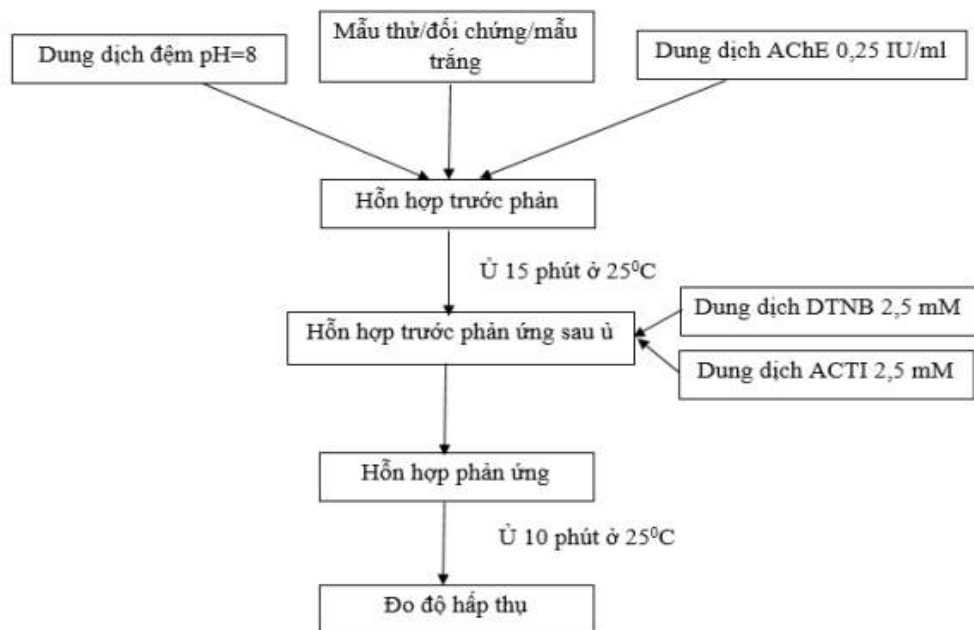
At: độ hấp thụ của mẫu thử

Ao: độ hấp thụ của mẫu trắng (1000 μ L dung dịch đệm natri phosphat)

Từ giá trị **I%** xác định được, tiến hành tính giá trị **IC50** (nồng độ của mẫu ức chế 50% hoạt tính enzym) của từng mẫu thử như sau:

- Pha 1 dãy nồng độ của mẫu thử, xác định I% của từng nồng độ mẫu thử đó.
- Với những mẫu thử có sự tương quan tuyến tính giữa giá trị I% và nồng độ, tiến hành xây dựng đường hồi quy tuyến tính $y = a.x + b$, trong đó, y là giá trị % tác dụng ức chế enzym và x là nồng độ mẫu thử.
- Với những mẫu không có sự tương quan tuyến tính giữa I% và nồng độ, tiến hành xây dựng đường hồi quy tuyến tính $y = a.\log(x) + b$.
- Thay giá trị $y = 50\%$ vào phương trình tuyến tính mới xây dựng được từ đó tính được giá trị của nồng độ x. Giá trị tìm được này chính là giá trị IC50.

Để có cơ sở đánh giá tác dụng ức chế AChE in vitro của mẫu nghiên cứu, Berberin clorid được sử dụng làm mẫu chứng dương. Hợp chất này đã được nghiên cứu và chứng minh tác dụng ức chế AChE khá mạnh được sử dụng làm mẫu chứng dương trong nhiều nghiên cứu.[44],[29]



Hình 2.4. Sơ đồ quy trình thử nghiệm tác dụng ức chế AchE in vitro

2.4.2. Đánh giá tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Nảo Vintong trên bài tập mê cung nước

Thử nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Lee và cộng sự (2011).[26]

❖ Phương pháp tiến hành:

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

Lô 1 (chứng sinh học): Tiêm màng bụng nước muối sinh lý 0,1ml/10g.

Lô 2 (mô hình): Tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.

Lô 3 (Donepezil): Uống thuốc chứng dương donepezil liều 2,4mg/kg, 0,2ml/10g, sau đó 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.

Lô 4 (Trị 1): Uống Minh thảo Vintong liều 14,64g/kg/ngày, sau 30 phút tiêm màng bụng Scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.

Lô 5 (Trị 2): Uống Minh thảo Vintong liều 43,92g/kg/ngày, sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.

Thể tích cho uống và tiêm là 0,1ml/10g. Hàng ngày cho chuột uống trước khi tiêm phúc mạc 30 phút. Chuột được tiêm và cho uống thuốc trong 6 ngày liên tiếp.

➤ Thử nghiệm gồm 2 giai đoạn:

• **Giai đoạn 1 - huấn luyện**

Thời gian 5 ngày, chia thành 2 bài tập:

- **Bài tập nhìn thấy bển đồ**

Vào ngày thứ 1 sau khi tiêm scopolamin 30 phút, chuột được làm quen môi trường nước trong 1 phút. Sau đó chuột được hướng đến vị trí bển đồ (cao hơn mực nước 1cm) và đặt lên vị trí bển đồ trong 15 giây để nhận biết. Lần lượt đưa chuột đến các vị trí 1/4 còn lại của bể, hướng đầu chuột vào thành bể. Chuột sẽ được hướng dẫn nếu nó không tự tìm thấy bển đồ trong 2 phút (nếu trong khoảng thời gian đó mà chuột không tìm thấy bển đồ thì lấy kết quả là 2 phút). Sau khi kết thúc mỗi lần thử, lấy chuột ra và dùng khăn bông lau khô chuột, ủ ấm bằng đèn hồng ngoại trong 10 - 15 giây.

Mỗi ngày chuột được tập 2 lần, vị trí xuất phát lần 1 ở góc phần tư đối diện với vị trí bển đồ, lần 2 ở góc phần tư cạnh bên phải góc phần tư chứa bển đồ, mỗi lần cách nhau 15 phút.

- Bài tập không nhìn thấy bển đồ:

Ngày thứ 2, 3, 4 và 5 tiến hành như ngày 1, nhưng lúc này bển đồ được giấu đi bằng cách đặt dưới mực nước 1cm.

Chỉ số đánh giá:

- Thời gian chuột tìm thấy bển đồ
- Chiều dài quãng đường chuột tìm thấy bển đồ

• Giai đoạn 2 - thăm dò trí nhớ

Thực hiện vào ngày thứ 6, bển đồ được bỏ ra khỏi bể, chuột được thả vào vị trí đối diện với góc 1/4 bể trước đó chứa bển đồ. Cho chuột được bơi một lần duy nhất trong bể 1 phút. Nếu có trí nhớ tốt, chuột sẽ dựa vào các vật định hướng không gian trong phòng và có xu hướng bơi lâu tại 1/4 bể có đặt bển đồ từ những ngày tập trước.

Chỉ số đánh giá:

- Phần trăm thời gian chuột ở 1/4 bể trước đó đặt bển đồ.

2.4.3. Đánh giá tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên mô hình mê lộ nhiều chữ T

Thử nghiệm tiến hành theo phương pháp của Falsafi S. K. và cộng sự (2012).[45]

➤ Phương pháp tiến hành:

- Chuột nhất trắng được cân và chia lô giống như ở trên.
- Chuột được tiêm và cho uống thuốc trong 8 ngày liên tiếp, bắt đầu từ 01 ngày sau khi kết thúc thử nghiệm trên Bài tập mê cung nước. Chuột được huấn luyện trong 5 ngày đầu để đánh giá khả năng học hỏi và trí nhớ ngắn hạn, ngoài ra ngày thứ 8 còn đánh giá trí nhớ dài hạn.
- Thử nghiệm được tiến hành sau khi tiêm Scopolamin 30 phút.
- Trước mỗi thử nghiệm, chuột được nhịn ăn 16 giờ tạo động lực tìm kiếm thức ăn.
- Chuột được đặt ở khoang xuất phát là một buồng tối trong 10 giây.

- Khi bắt đầu thử nghiệm, buồng tối được mở ra, chuột bắt đầu hành trình đi tìm kiếm thức ăn ở khoang đích. Nếu thời gian tìm quá 8 phút mà chuột không tìm đến khoang đích gọi là tìm kiếm thất bại và lấy kết quả là 8 phút.

- Khi tới được khoang đích, chuột nhận được phần thưởng là một viên cám nhỏ, sau đó chuột được trả về lồng cũ và được cho ăn 120g/kg thể trọng để duy trì trọng lượng, sau đó tiếp tục để chuột nhịn đói nhằm chuẩn bị cho các thử nghiệm ngày hôm sau.

- Khi kết thúc mỗi thử nghiệm, toàn bộ mê cung được lau sạch lại bằng cồn 70%.

➤ **Thử nghiệm chia thành 2 giai đoạn:**

• **Giai đoạn 1 - huấn luyện**

Trước khi thử nghiệm chuột được làm quen và khám phá mê cung vào ngày 0 (chuột chưa được tiêm và uống thuốc), những chuột nào tìm được đến khoang đích trong 8 phút mới được lựa chọn tiếp tục đưa vào thử nghiệm. Sau đó chuột được học hỏi trong 5 ngày liên tiếp tính từ ngày đầu tiên cho chuột tiêm và uống thuốc, 1 lần/ngày.

• **Giai đoạn 2 - thăm dò trí nhớ**

Vào ngày 8 của thử nghiệm chuột được đưa vào mê cung một lần duy nhất tương tự như trên.

Chỉ số đánh giá:

- Thời gian chuột tìm tới được khoang đích.
- Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích.
- Số quyết định sai (khi chuột đặt cả 4 chân vào nhánh đó mới được tính là một lần lựa chọn).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các số liệu thu được đều được xử lý theo phần mềm excel 2007 và SPSS 20.0

Sử dụng thuật toán T-test student và ONE - WAY ANOVA để so sánh giá trị trung bình. Số liệu được trình bày dưới dạng MEAN \pm SD. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ

3.1. Đánh giá tác dụng ức chế emzym Acetylcholinesterase của bài thuốc Minh não Vintong

Tác dụng ức chế AChE của mẫu thử là bài thuốc Minh não Vintong và chất chuẩn dương Berberin clorid được thể hiện thông qua giá trị IC₅₀.

Bảng 3.1. Giá trị IC₅₀ của bài thuốc Minh não Vintong và Berberin clorid

Dung dịch	IC ₅₀ (µg/mL)
Minh não Vintong (mẫu thử)	0,179 ± 0,042
Berberin clorid (mẫu chứng dương)	0,166 ± 0,038

Nhận xét: Kết quả bảng 3.1 cho thấy:

Minh não Vintong có tác dụng ức chế enzym AChE với IC₅₀ là 0,179 ± 0,042 µg/mL, tương đương với Berberin clorid có tác dụng ức chế enzym AChE với IC₅₀ là 0,166 ± 0,038.

3.2. Tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên bài tập mê cung nước

Tác dụng cải thiện trí nhớ của bài thuốc Minh não Vintong được đánh giá trên mô hình mê cung nước Morris, thông qua các chỉ số:

- Giai đoạn 1 – huấn luyện (ngày 1-5): Thời gian, quãng đường chuột tìm thấy bển đồ.
- Giai đoạn 2- thăm dò trí nhớ (ngày 6): Tỷ lệ phần trăm thời gian chuột bơi trong 1/4 bể trước đó chứa bển đồ.

Giai đoạn 1 – huấn luyện:**Bảng 3.2. Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến thời gian chuột tìm thấy bện đồ**

Lô thí nghiệm	Thời gian tìm thấy bện đồ $X \pm SD$ (n=10) (giây)				
	Bài tập nhìn thấy bện đồ	Bài tập không nhìn thấy bện đồ			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Chứng sinh học (1)	41,19 ± 4,31	43,69 ± 4,52	37,06 ± 3,92	32,12 ± 3,64	22,98 ± 2,83
Mô hình (2)	82,15 ± 8,09	84,38 ± 6,95	74,01 ± 7,24	69,98 ± 6,52	66,26 ± 6,49
Donepezil (3)	54,05 ± 5,46	66,14 ± 6,03	51,24 ± 5,06	49,26 ± 4,45	34,18 ± 3,81
Trị 1 (4)	59,21 ± 5,45	69,29 ± 7,02	56,24 ± 5,69	51,86 ± 5,13	38,16 ± 4,02
Trị 2 (5)	56,12 ± 5,88	65,84 ± 6,26	53,37 ± 5,17	49,68 ± 5,03	33,31 ± 3,64
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$				

Nhận xét: Tại tất cả các ngày đánh giá, chuột ở lô mô hình (gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin) có thời gian tìm thấy chân đế dài hơn so với chuột ở lô chứng không gây suy giảm trí nhớ ($p < 0,001$). Chuột ở các lô dùng Minh não Vintong (lô trị 1 và trị 2), cũng như lô dùng donepezil có thời gian tìm thấy chân đế ngắn hơn so với chuột ở lô bệnh lý ($p < 0,01$). Tác dụng này là tương đương khi so sánh thời gian chuột tìm thấy chân đế ở 2 lô dùng Minh não Vintong với nhau cũng như khi so sánh với lô dùng donepezil ($p > 0,05$).

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến quãng đường chuột tìm thấy bén đồ

Lô thí nghiệm	Quãng đường chuột tìm thấy bén đồ (m)				
	Bài tập nhìn thấy bén đồ	Bài tập không nhìn thấy bén đồ			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Chứng sinh học (1)	13,30 ± 0,86	12,96 ± 1,14	11,13 ± 0,94	9,90 ± 0,96	7,45 ± 0,74
Mô hình (2)	20,36 ± 2,28	23,29 ± 1,93	22,16 ± 1,79	20,86 ± 1,39	18,96 ± 1,62
Donepezil (3)	14,26 ± 1,14	17,17 ± 1,05	16,14 ± 1,33	12,09 ± 0,91	7,67 ± 0,64
Trị 1 (4)	14,53 ± 1,24	18,09 ± 1,48	16,82 ± 1,15	13,15 ± 1,06	8,59 ± 0,86
Trị 2 (5)	13,94 ± 1,17	16,95 ± 1,63	15,91 ± 1,28	11,95 ± 1,12	7,46 ± 0,79
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$				

Nhận xét: Tại tất cả các ngày đánh giá, chuột ở lô mô hình (gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin) có quãng đường tìm thấy chân đế dài hơn so với chuột ở lô chứng không gây suy giảm trí nhớ ($p < 0,001$). Chuột ở các lô dùng Minh não Vintong (lô trị 1 và trị 2), cũng như lô dùng donepezil có quãng đường tìm thấy chân đế ngắn hơn so với chuột ở lô bệnh lý ($p < 0,01$). Tác dụng này là tương đương khi so sánh quãng đường chuột tìm thấy chân đế ở 2 lô dùng Minh não Vintong với nhau cũng như khi so sánh với lô dùng donepezil ($p > 0,05$).

Giai đoạn 2 – thăm dò trí nhớ:**Bảng 3.4. Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến tỉ lệ phần trăm thời gian chuột bơi trong 1/4 bể trước đó đặt bên đõ (ngày 6)**

Lô thí nghiệm	Phần trăm thời gian chuột bơi trong ¼ bể trước đó đặt bên đõ(%)	Phần trăm giảm so với lô 1(%)	Phần trăm tăng so với lô 2(%)
Chứng sinh học (1)	26,94 ± 1,12	-	186,29 %
Mô hình (2)	9,41 ± 0,63	65,07 %	-
Donepezil (3)	24,72 ± 1,26	8,24 %	162,70 %
Trị 1 (4)	24,16 ± 1,09	10,32 %	156,75 %
Trị 2 (5)	25,02 ± 1,15	7,13 %	165,89 %
p	p ₂₋₁ < 0,01; p _{3,4,5-2} < 0,01; p _{giữa các lô 3,4,5} > 0,05		

Nhận xét: Chuột ở lô mô hình (gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin) có phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân để ngắn hơn so với chuột ở lô chứng không gây suy giảm trí nhớ ($p < 0,01$). Chuột ở các lô dùng Minh não Vintong (lô trị 1 và trị 2), cũng như lô dùng donepezil có phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân để dài hơn so với chuột ở lô bệnh lý ($p < 0,01$). Tác dụng này là tương đương khi so sánh phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân để ở 2 lô dùng Minh não vintong với nhau cũng như khi so sánh với lô dùng donepezil ($p > 0,05$).

3.3. Tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên mô hình mê lộ nhiều chữ T

Tác dụng cải thiện trí nhớ của bài thuốc Minh não Vintong được đánh giá trên mô hình mê lộ nhiều chữ T chia thành 2 giai đoạn: giai đoạn 1 – huấn luyện (ngày 1-5) và giai đoạn 2 – thăm dò trí nhớ (ngày 8), thông qua các chỉ số: thời gian, quãng đường chuột tìm thấy khoang đích.

Giai đoạn 1 – huấn luyện:**Bảng 3.5. Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến thời gian chuột tìm thấy khoang đích**

Lô thí nghiệm	Thời gian tìm thấy khoang đích $X \pm SD$ (n=10) (giây)				
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Chứng sinh học (1)	120,74 $\pm 11,26$	114,23 $\pm 9,54$	90,38 $\pm 8,15$	73,22 $\pm 7,02$	121,01 $\pm 10,69$
Mô hình (2)	311,57 $\pm 19,36$	289,44 $\pm 16,68$	285,15 $\pm 17,27$	251,83 $\pm 20,18$	308,16 $\pm 19,38$
Donepezil (3)	225,13 $\pm 20,14$	157,18 $\pm 14,42$	124,96 $\pm 12,35$	98,66 $\pm 9,03$	224,94 $\pm 15,31$
Trị 1 (4)	230,84 $\pm 12,26$	159,69 $\pm 11,94$	122,36 $\pm 12,26$	99,42 $\pm 8,96$	230,63 $\pm 16,28$
Trị 2 (5)	222,19 $\pm 16,31$	153,25 $\pm 12,97$	122,19 $\pm 16,02$	95,16 $\pm 9,39$	223,96 $\pm 18,85$
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$				

Nhận xét: Từ kết quả trên cho thấy, thời gian chuột tìm thấy khoang đích ở lô mô hình dài hơn lô chứng sinh học ở tất cả các ngày ($p < 0,001$); ở lô Donepezil, lô trị 1 và lô trị 2 (dùng Minh não Vintong) đều ngắn hơn ở lô mô hình tại tất cả các ngày nghiên cứu ($p < 0,01$); ở lô trị 1 (dùng Minh não Vintong liều thấp) và lô trị 2 (dùng Minh não Vintong liều cao) tương đương nhau và tương đương với lô Donepezil ở các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến quãng đường tìm thấy khoang đích

Lô thí nghiệm	Quãng đường chuột tìm thấy khoang đích (m)				
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Chứng sinh học (1)	46,32 ± 2,15	28,69 ± 1,64	18,91 ± 1,28	15,24 ± 1,42	47,03 ± 1,75
Mô hình (2)	92,14 ± 3,66	71,95 ± 2,93	68,23 ± 2,69	63,26 ± 2,37	92,98 ± 3,85
Donepezil (3)	56,96 ± 2,86	37,64 ± 2,15	33,83 ± 2,21	30,14 ± 2,19	56,82 ± 1,98
Trị 1 (4)	61,39 ± 3,13	39,90 ± 3,26	33,07 ± 2,42	31,52 ± 2,16	60,94 ± 2,84
Trị 2 (5)	57,32 ± 3,51	37,21 ± 2,88	30,98 ± 1,96	29,93 ± 2,05	57,02 ± 3,37
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$				

Nhận xét: Kết quả bảng 3.5 cho thấy quãng đường tìm thấy khoang đích ở lô mô hình dài hơn lô chứng sinh học ở tất cả các ngày ($p < 0,001$); ở lô Donepezil, lô trị 1 và lô trị 2 (dùng Minh não Vintong) đều ngắn hơn lô mô hình ở các ngày nghiên cứu ($p < 0,01$); ở lô trị 1 (dùng Minh não Vintong liều thấp) và lô trị 2 (dùng Minh não Vintong liều cao) tương đương nhau và tương đương với lô Donepezil ở các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

Giai đoạn 2 – thăm dò trí nhớ:***Bảng 3.7. Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến thời gian tìm thấy khoang đích trong ngày 8***

Lô thí nghiệm	Thời gian tìm thấy khoang đích trong ngày 8 (Giây)
Chứng sinh học (1)	60,12 ± 5,07
Mô hình (2)	254,36 ± 18,45
Donepezil (3)	76,93 ± 6,16
Trị 1 (4)	82,69 ± 8,01
Trị 2 (5)	76,71 ± 5,94
p	p ₂₋₁ < 0,001; p _{3,4,5-2} < 0,01; p _{giữa các lô 3,4,5} > 0,05

Nhận xét: Kết quả bảng 3.7 tại thời điểm đánh giá trí nhớ dài hạn (N8), thời gian chuột tìm tới được khoang đích ở lô mô hình lớn hơn ở lô chứng sinh học ($p < 0,001$); ở lô Donepezil, lô trị 1 và lô trị 2 (dùng Minh não Vintong) đều nhỏ hơn lô mô hình ($p < 0,01$); ở lô trị 1 (dùng Minh não Vintong liều thấp) và lô trị 2 (dùng Minh não Vintong liều cao) tương đương nhau và tương đương với lô Donepezil ($p > 0,05$).

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của bài thuốc Minh não Vintong đến quãng đường tìm thấy khoang đích trong ngày 8

Lô thí nghiệm	Quãng đường tìm thấy khoang đích trong ngày 8 (m)
Chứng sinh học (1)	12,32 ± 1,41
Mô hình (2)	54,96 ± 3,94
Donepezil (3)	22,35 ± 1,89
Trị 1 (4)	23,08 ± 2,12
Trị 2 (5)	22,53 ± 2,06
p	$p_{2-1} < 0,001$; $p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$

Nhận xét: Kết quả bảng 3.8 tại thời điểm đánh giá trí nhớ dài hạn (N8), quãng đường chuột tìm tới được khoang đích ở lô mô hình đều lớn hơn lô chứng sinh học ($p < 0,001$); ở Donepezil, lô trị 1 và lô trị 2 (dùng Minh não Vintong) đều ngắn hơn lô mô hình ($p < 0,01$); ở (dùng Minh não Vintong liều thấp) và lô trị 2 (dùng Minh não Vintong liều cao) tương đương nhau và tương đương với lô Donepezil ($p > 0,05$).

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về tác dụng ức chế enzym Acetylcholinesterase của bài thuốc Minh Não Vintong

4.1.1. Bàn luận về phương pháp in vitro

Dược liệu trong tự nhiên là một nguồn đa dạng, phong phú các hợp chất sinh học và hóa học. Các cấu trúc độc đáo và phức tạp của các hợp chất tự nhiên rất khó có thể tổng hợp được bằng các phương pháp tổng hợp hóa học. Hiện nay, nhiều loại dược liệu đã được sử dụng trong các bài thuốc YHCT, mang lại hiệu quả cao trong điều trị bệnh. Việc nghiên cứu sàng lọc các dược liệu được sử dụng theo kinh nghiệm dân gian trong phục hồi trí nhớ, an thần ích trí theo hướng ức chế enzym AChE là một hướng nghiên cứu tìm kiếm thuốc mới có tác dụng cải thiện trí nhớ trong bệnh Alzheimer được nhiều nhà khoa học tiếp cận. Trong quá trình nghiên cứu sàng lọc dược liệu và tìm kiếm các hợp chất mới có tác dụng ức chế enzym AChE, ngoài phương pháp đo quang in vitro được đề cập ở trên còn có hai phương pháp khác cũng được sử dụng là phương pháp ex vivo và phương pháp in vivo.

Phương pháp in vitro được lựa chọn trong giai đoạn nghiên cứu sàng lọc ban đầu các mẫu dịch chiết từ dược liệu,... bởi ưu điểm của nó là cho kết quả nhanh, tiến hành đồng thời được nhiều mẫu và ít tốn kém. Đồng thời, qua thu thập tài liệu cho thấy, hầu hết các nghiên cứu liên quan ức chế AChE đều sử dụng phương pháp đo quang của Ellman với cách tiến hành và đòi hỏi điều kiện phòng thí nghiệm đơn giản, cho kết quả đáng tin cậy hơn các phương pháp dùng Fast Blue B. Vì vậy, nghiên cứu này chúng tôi cũng sử dụng phương pháp đo quang Ellman để đánh giá với sự thay đổi một vài yếu tố để phù hợp hơn với điều kiện nghiên cứu.

Khi tiến hành phương pháp in vitro, bên cạnh việc xác định các điều kiện thử nghiệm phù hợp, việc lựa chọn chất chứng dương có vai trò quan trọng trong nghiên cứu, giúp định lượng tương đối tác dụng của các mẫu nghiên cứu khi so sánh với cùng một chất chuẩn. Với nghiên cứu sàng lọc tác dụng ức chế AChE in vitro, các chất chứng dương thường sử dụng là galanthamin, tacrin và berberin clorid.[23],[44],[46] Mặc dù berberin clorid chưa từng được sử dụng trên lâm sàng để điều trị bệnh Alzheimer, nhưng berberin clorid vẫn được lựa chọn làm chất

chúng dương trong một số nghiên cứu in vitro do có tác dụng ức chế AChE in vitro mạnh, đồng thời sẵn có và giá thành rẻ hơn nhiều so với 2 chất còn lại. Vì vậy, việc lựa chọn berberin clorid làm chất chứng dương của nghiên cứu này là phù hợp với những nghiên cứu trước đây về sàng lọc tác dụng ức chế AChE in vitro cũng như phù hợp với điều kiện thực tiễn ở Việt Nam hiện nay.

4.1.2. Bàn luận về kết quả đánh giá tác dụng ức chế AchE của bài thuốc Minh não Vintong

Ở nhiều nước, các loại thuốc thảo dược truyền thống được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị các rối loạn thoái hóa thần kinh trong các chứng bệnh SSTT, và một số đã được phát triển thành thực phẩm chức năng và thuốc dùng trên lâm sàng. Các triệu chứng xuất hiện do lắng đọng các mảng β -amyloid và các đám rối thần kinh. Bệnh lý học của bệnh Alzheimer và một số chứng bệnh SSTT đều liên quan đến sự thiếu hụt ACh trong não. ACh là một trong những chất dẫn truyền thần kinh quan trọng nhất trong hệ thống thần kinh trung ương và 42 ngoại biên, do vậy khả năng ức chế enzym AChE đóng vai trò như một marker sinh học chỉ điểm liên quan đến các rối loạn thần kinh. Để điều trị, người ta nâng cao chức năng cholinergic bằng việc sử dụng các hoạt chất hay bài thuốc có tác dụng ức chế AChE nhằm cải thiện một phần bệnh tật.

Qua kết quả đánh giá tác dụng ức chế AchE của bài thuốc Minh não Vintong bằng phương pháp in vitro, cho thấy bài thuốc có tác dụng ức chế enzym AChE.

So với chất chứng dương là berberin clorid, tác dụng ức chế AChE của bài thuốc Minh não Vintong gần tương đương nhau. Minh não Vintong với IC_{50} là $0,179 \pm 0,042 \mu\text{g/mL}$, còn với Berberin clorid có IC_{50} là $0,166 \pm 0,038$.

Kết quả này sẽ là cơ sở dữ liệu quan trọng để tiếp tục tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về công dụng của bài thuốc Minh não Vintong đối với chứng SSTT.

4.2. Bàn luận về tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong

4.2.1. Bàn luận về bài tập mê cung nước

Đây là mê cung nước được phát triển bởi nhà khoa học Richard Morris vào năm 1984 nhằm đánh giá khả năng học tập và trí nhớ không gian. Mô hình này khá

hữu ích để đánh giá những tác động của quá trình lão hóa, những tổn thương trên thực nghiệm hay tác dụng của các thuốc trên quá trình học tập và trí nhớ đặc biệt ở loài động vật gặm nhấm. MWM là mô hình đánh giá trí nhớ không gian được sử dụng rộng rãi nhất và được chấp nhận bởi rất nhiều các nhà nghiên cứu về sinh lý học hành vi và dược lý học. Một số bằng chứng xác nhận ưu thế của mô hình nghiên cứu này trên các bệnh lý có thoái hóa thần kinh, suy giảm nhận thức (ví dụ như bệnh Alzheimer, Parkinson, tâm thần phân liệt).[47]

Trong mô hình này, động lực để chuột học tập và ghi nhớ không gian là nhằm thoát khỏi tình trạng bị ngập nước. Có 3 chiến thuật cơ bản để chuột thoát khỏi mê cung: ghi nhớ các động tác cơ bản để đến được bến đỗ, sử dụng các dấu hiệu trực quan để tìm đến bến đỗ (bài tập nhìn thấy bến đỗ), sử dụng các tín hiệu xa làm điểm tham chiếu để xác định vị trí nó đang bơi và vị trí bến đỗ. Đặc biệt sự linh hoạt trong quá trình nhận thức của chuột còn được đánh giá bằng cách thay đổi vị trí xuất phát của chuột trong các lần luyện tập. Như vậy đây là một mê cung đầy thách thức, đòi hỏi chuột cần phải sử dụng một loạt các quá trình ghi nhớ tinh vi. Các quá trình này bao gồm việc ghi nhớ lại và định hướng không gian nhờ các tín hiệu thị giác (các hình ảnh được đặt xung quanh), sau đó được xử lý, tổng hợp, lưu giữ lại và đưa ra áp dụng để hướng đến vị trí bến đỗ. Hệ thống rèm, vách ngăn và việc lắp đặt hệ thống camera theo dõi trên cao giúp giảm sự mất tập trung của chuột. Ngoài ra MWM còn có những ưu điểm như: Thời gian nghiên cứu ngắn (thường chỉ mất vài ngày nghiên cứu), dụng cụ nghiên cứu đơn giản, thích hợp với cả các phòng thí nghiệm nhỏ, đỡ tốn kém, phương pháp tiến hành dễ dàng, loại trừ được một cách tương đối các yếu tố gây nhiễu so với các mô hình khác như: trọng lượng cơ thể, mùi (động lực để chuột học tập và ghi nhớ trong các mê cung trên cạn thường là thức ăn).[47],[48] Vì những ưu điểm trên, chúng tôi nhận thấy đây là một mô hình hữu ích trong nghiên cứu phát triển thuốc tác dụng trên khả năng nhận thức và ghi nhớ.

Mô hình mê cung nước là mô hình để đánh giá về khả năng học tập và ghi nhớ trên thực nghiệm. Chuột có khả năng ghi nhớ không gian tốt, dựa vào các

đặc điểm không gian của phòng nghiên cứu (được giữ cố định trong suốt thời gian nghiên cứu) để định hướng bơi tìm đến chân đế - bển đổ.

Kết quả đánh giá trong pha huấn luyện cho phép đánh giá khả năng học tập của chuột. Chuột ở lô gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamine có thời gian tìm thấy chân đế - bển đổ và chiều dài quãng đường tìm thấy chân đế - bển đổ dài hơn so với lô không tiêm scopolamine ($p < 0,001$). Sự suy giảm trí nhớ gây ra do tiêm scopolamine đã tác động mạnh mẽ đến khả năng học tập của chuột, làm khả năng học của chuột sa sút rõ rệt. Ở lô chuột uống thuốc tham chiếu donepezil, cũng như các lô chuột uống Minh não Vintong, thời gian tìm thấy chân đế - bển đổ và chiều dài quãng đường tìm thấy chân đế - bển đổ giảm đi rõ rệt so với ở lô mô hình ($p < 0,01$). Thuốc tham chiếu donepezil là thuốc đã biết rõ có tác dụng tăng cường trí nhớ do ức chế AChE nên làm tăng cường chất dẫn truyền thần kinh ACh ở não. Kết quả thử nghiệm với chế phẩm Minh não vintong cho kết quả cải thiện khả năng học tập ở pha huấn luyện tốt tương đương so với thuốc tham chiếu, cho phép khẳng định tác dụng của chế phẩm Minh não vintong làm tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ khi đánh giá trên mô hình thực nghiệm. Với 2 mức liều thử nghiệm (mức liều cao và mức liều thấp), tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ ở mức liều cao có xu hướng tốt hơn, tuy nhiên chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy ở mức liều thấp (14,64g/kg/ngày ở chuột nhắt trắng), tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ đã được thể hiện rõ. Tác dụng này tăng không đáng kể khi tăng mức liều lên. Đây là cơ sở để định mức liều cho sử dụng trên lâm sàng.

Tác dụng tăng cường khả năng ghi nhớ được đánh giá cụ thể bởi pha thăm dò trí nhớ. Ở pha thử nghiệm này, chân đế - bển đổ đã được lấy đi, chuột dựa trên khả năng ghi nhớ sẽ cố gắng tìm chân đế - bển đổ ở góc ¼ bể trước đó đặt chân đế, do đó thời gian chuột bơi trong góc phần tư này sẽ nhiều hơn. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chuột ở lô gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamine, phần trăm thời gian chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế giảm rõ rệt so với lô chứng ($p < 0,001$). Các lô dùng Minh não vintong cũng như lô dùng thuốc tham chiếu donepezil, phần trăm thời gian chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế tăng lên rõ ($p < 0,01$

so với lô mô hình), chúng tỏ tác dụng tăng cường khả năng ghi nhớ của thuốc nghiên cứu.

4.2.2. Bàn luận về mô hình mê lộ nhiều chữ T

Đây cũng là mô hình đánh giá khả năng học tập và trí nhớ không gian ở động vật gặm nhấm. Tuy nhiên, khác với MWM mô hình này đánh giá trí nhớ không gian ở môi trường trên cạn và động lực để chuột học tập và ghi nhớ mê cung là thức ăn - phần thưởng trong khoang đích. Mê cung này cũng có những ưu điểm tương tự như MWM như: thời gian nghiên cứu ngắn, dụng cụ đơn giản, dễ thực hiện, ít tốn kém, độ tập trung của động vật nghiên cứu cao. Quan trọng hơn, chúng tôi lựa chọn mê cung này vì so với các mê cung đánh giá trí nhớ không gian trên cạn khác (ví dụ như: mê cung chữ T, mê cung chữ Y, mô hình đối xứng tòa tròn...) thì đây là mê cung đáng tin cậy nhất thể hiện ở sự phức tạp, mức độ thách thức cao (8 lần lựa chọn nhánh mê cung đúng/sai), đòi hỏi chuột phải hình thành một bản đồ nhận thức mê cung trong suốt quá trình khám phá,[45] từ đó giảm thiểu những yếu tố gây nhiễu như: may mắn hoặc thói quen.

Việc khám phá mê cung này để tìm kiếm thức ăn là một nhiệm vụ khó khăn đòi hỏi chuột phải có khả năng định hướng không gian, có trí nhớ tốt, khả năng xử lý, tổng hợp, lưu giữ thông tin về những nhánh mê cung chúng đã đi qua, để có những quyết định chính xác rút ngắn được quãng đường và thời gian khám phá.

Để khẳng định được tác dụng của chế phẩm nghiên cứu, một bộ gồm nhiều các thử nghiệm được tiến hành. Các mô hình nghiên cứu vừa có vai trò bổ khuyết cho nhau, vừa có vai trò khẳng định lại tác dụng đã được thử nghiệm ở mô hình kia. Trong mô hình mê lộ nhiều chữ T, khả năng ghi nhớ đường của chuột được áp dụng là cơ sở khoa học cho thử nghiệm. Ở mô hình này, chuột cũng được trải qua pha huấn luyện trong 4 ngày, sau đó là pha thăm dò trí nhớ tại 2 thời điểm, Ngày 5(N5) để thăm dò trí nhớ ngắn hạn và Ngày 8(N8) để thăm dò trí nhớ dài hạn. Khoảng thời gian 4 ngày huấn luyện đã được các nghiên cứu trước đó chỉ ra là đủ để chuột có được các bước tiến đều đặn của giai đoạn học tập và hình thành được trí nhớ về đường đi tìm thức ăn trong mê lộ. Các chỉ tiêu đánh giá trong mô hình này bao gồm thời gian chuột tìm tới được khoang đích, chiều dài quãng đường chuột đi để tới

được khoang đích và số lần quyết định sai (khi chuột đặt cả 4 chân vào nhánh đó mới được tính là một lần lựa chọn). Các chỉ tiêu này được dùng để đánh giá cho cả pha huấn luyện và pha thăm dò khả năng ghi nhớ.

Kết quả nghiên cứu trên mô hình này cho thấy, chuột bị gây suy giảm trí nhớ bởi Scopolamine sẽ có thời gian tìm tới được khoang đích dài hơn, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích lớn hơn và số lần quyết định sai nhiều hơn so với lô chứng ($p < 0,001$) ở tất cả các ngày của pha huấn luyện cũng như pha thăm dò trí nhớ. Các lô chuột dùng Minh não vintong cũng như lô dùng thuốc tham chiếu donepezil có thời gian tìm tới được khoang đích nhanh hơn ($p < 0,01$), chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích nhỏ hơn ($p < 0,01$) và số lần quyết định sai ít hơn ($p < 0,05$) so với lô mô hình ở tất cả các ngày nghiên cứu. Kết quả này cho thấy bài thuốc Minh não Vintong có tác dụng làm tăng cường khả năng học tập, tăng cường trí nhớ ngắn hạn và trí nhớ dài hạn khi đánh giá trên mô hình mê lộ nhiều chữ T. Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả đánh giá trên mô hình mê cung nước. Sự không khác biệt khi so sánh giữa các lô dùng thuốc chứng tỏ Minh não vintong dùng liều 14,64g/kg/ngày và 43,92g/kg/ngày trên chuột nhắt trắng đã thể hiện tác dụng tốt, tương đương với donepezil liều 2,4mg/kg. Sự tăng liều của Minh não Vintong có xu hướng làm tăng tác dụng nhưng không đáng kể.

4.2.3. Bàn luận về bài thuốc Minh não Vintong

Qua quá trình nghiên cứu in vitro và với 2 mô hình thực nghiệm: mê cung nước Morris, mê lộ nhiều chữ T kết quả nghiên cứu cho thấy bài thuốc Minh não Vintong ở cả 2 mức liều tương đương lâm sàng và liều gấp 3 lần lâm sàng đều có tác dụng cải thiện khả năng học tập và trí nhớ trên chuột nhắt trắng bị gây suy giảm trí nhớ bằng Scopolamin.

Hiện nay, trên thế giới có khá nhiều các nghiên cứu và báo cáo về tác dụng cải thiện trí nhớ của một số vị dược liệu có trong bài thuốc Minh não Vintong khi dùng đơn độc như: Đông trùng hạ thảo, viễn chí, tam thất...

Đông trùng hạ thảo (*Ophiocordyceps sinensis*) từ lâu đã là một vị thuốc cổ truyền quý hiếm với nhiều tác dụng dược lý. Trên thế giới đã có rất nhiều nghiên cứu nhằm làm rõ công dụng thần kỳ của vị thuốc này, và đã chứng minh được một

số tác dụng đáng chú ý như chống viêm, ngăn chặn các khối u, điều hòa hệ miễn dịch và chống oxy hóa.[49],[50],[51] Ngoài các tác dụng trên, khả năng cải thiện trí nhớ cũng như chứng hay quên trên bệnh nhân SSTT cũng được nghiên cứu và chú ý rất nhiều.[52],[10],[11],[53],...

Chiba T và cộng sự (2010) cũng đã tiến hành nghiên cứu tác dụng điều hòa thụ thể M1 muscarinic acetylcholine (M1 mAChR) – một trong những hướng đi chính phát triển thuốc điều trị AD của chiết xuất từ Đông trùng hạ thảo. Các tác giả đã xác định được chất chiết xuất từ Đông trùng hạ thảo có tác dụng thúc đẩy chức năng của M1 mAChR. Nghiên cứu cũng đã kiểm tra thêm ảnh hưởng của việc uống chiết xuất từ Đông trùng hạ thảo trên chuột bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamine, kết quả cho thấy chiết xuất Đông trùng hạ thảo có khả năng cải thiện chứng hay quên do scopolamine gây ra trên cơ thể sống.[11]

Theo nghiên cứu của tác giả Đặng Hoàng Quyên và cộng sự (2014) với chất liệu nghiên cứu là 3 cao chiết *Cordyceps* gồm Polysaccharide DL0004, n-BuOH DL0006 và nBuOH DL0015, được chiết từ *Cordyceps spp.* cho kết quả: trong hai thử nghiệm trí nhớ ngắn hạn, chuột được uống cao chiết *Cordyceps spp.* 3 ngày trước khi tiêm Trimethyltin liều 2,4mg/kg, cho thấy có sự cải thiện trí nhớ so với lô Trimethyltin khi chuột được uống cao Poysaccharide DL0004 với 2 liều 100mg/kg và 200mg/kg, cao n-BuOH DL0006 với liều 200mg/kg và cao n-BuOH DL0015 với liều 100mg/kg. Kết quả này cũng cho thấy, một số cao chiết của *Cordyceps spp.* có tác dụng cải thiện tình trạng suy giảm trí nhớ ngắn hạn ở chuột.

Nhân sâm (*Radix ginseng*) đã được sử dụng rộng rãi ở các nước viễn đông như Trung Quốc, Nhật Bản và Hàn Quốc trong hàng ngàn năm như một vị thuốc bổ truyền thống để kéo dài tuổi thọ. Hiện nay, nhân sâm được sử dụng như một loại thực phẩm chức năng và/hoặc một loại thuốc bổ trên toàn thế giới.[24] Ginsenosides (còn được gọi là saponin ginseng) là những hoạt chất đầu tiên được phân lập từ nhân sâm. Có khoảng 30 ginsenosides đã được xác định từ nhân sâm, bằng cách sử dụng các phương pháp chế biến nhân sâm hiện nay. Nhân sâm và ginsenosides thể hiện nhiều tác dụng dược lý có lợi bên ngoài hệ thần kinh, chẳng hạn như tác dụng chống ung thư, chống viêm, chống oxy hóa và giãn mạch

[54],[55],[56],[57]. Trong các nghiên cứu về hệ thần kinh gần đây cũng đã chứng minh rằng ginsenosides thể hiện nhiều tác dụng có lợi về mặt dược lý in vitro và in vivo trên các mô hình động vật liên quan đến các bệnh thoái hóa thần kinh như AD[38],[39],[40].

Năm 2010, Choi và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu một Flavonol Glycoside được phân lập từ rễ của Tam thất (RNFG), quercetin 3-O- β -D-xylopyranosyl- β -D-galactopyranoside, về khả năng làm giảm độc tính thần kinh do A β gây ra ở các tế bào thần kinh được nuôi cấy, nhằm hướng đến phát triển thuốc điều trị AD. Trong số các đặc tính sinh học khác nhau đã được thử nghiệm, RNFG cho thấy khả năng mạnh mẽ trong việc ngăn chặn quá trình chết tế bào do A β gây ra. Trong một thử nghiệm in vitro, RNFG ức chế sự kết hợp của A β theo cách phụ thuộc vào liều lượng. Hơn nữa, ứng dụng RNFG trong tế bào thần kinh vỏ não được nuôi cấy, hoặc tế bào PC12, đã làm giảm quá trình chết tế bào do A β gây ra theo cách xử lý phụ thuộc vào thời gian và liều lượng, với việc ngăn chặn sự phân mảnh DNA do A β gây ra và hoạt hóa caspase-3. Trong các tế bào thần kinh được nuôi cấy, việc điều trị trước RNFG đã loại bỏ sự gia tăng huy động Ca²⁺ do A β kích hoạt. Trong các thí nghiệm về suy giảm trí nhớ sử dụng nhiệm vụ tránh thụ động, việc sử dụng RNFG làm giảm tổn thương não ở chuột gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamine. Do đó, những kết quả này cho thấy Tam thất rất có khả năng trong việc phát triển các chất bổ sung thực phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị AD.[58]

Năm 2018, Huang J. L. cùng các cộng sự cũng đã tiến hành nghiên cứu về khả năng điều chỉnh các ARN vòng (acid Ribonucleic) – một đại phân tử sinh học đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của AD của Tam thất trên chuột. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng tác dụng điều trị của Tam thất đối với AD có thể thông qua việc điều chỉnh sự biểu hiện của các ARN vòng liên quan đến AD và gợi ý rằng Tam thất là một vị thuốc tiềm năng chống lại AD cũng như các triệu chứng SSTT.[59]

Viễn chí là một vị thuốc y học cổ truyền đã được sử dụng như một loại thuốc an thần và cải thiện trí nhớ trong nhiều năm. Năm 2015, Huan Zhao và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu khả năng giảm A β của viễn chí. Kết quả cho thấy sự tiết A β đã

giảm rõ rệt sau khi điều trị bằng Viễn chí, và sự giảm này xảy ra tùy thuộc vào liều lượng dùng.[60] Ngoài ra, BT-11, một chiết xuất của Viễn chí, được báo cáo là có khả năng phục hồi trí nhớ ở chuột mất trí nhớ do stress hoặc do scopolamine (Park et al., 2002; Shin et al., 2009),[61],[62] và tăng cường trí nhớ ở người khỏe mạnh (Lee et al., 2009).[63]

Một cuộc khảo sát về tác dụng điều trị bệnh Alzheimer của các vị thuốc cổ truyền Trung Quốc cũng cho thấy một số vị thuốc như Viễn chí, Xuyên khung, Đương quy hay một vài vị thuốc khác cũng có tác dụng cải thiện trí nhớ và có tiềm năng cao trong điều trị AD nói riêng cũng như chứng SMTT nói chung với tác dụng phụ ít hơn các nhóm thuốc thông thường.[41]

Tổng kết lại, có rất nhiều bằng chứng cho thấy tác dụng cải thiện trí nhớ, khả năng học tập theo nhiều cơ chế tác dụng của các vị thuốc có trong thành phần bài thuốc Minh Não Vintong.

Qua kết quả nghiên cứu này của chúng tôi cho thấy, bài thuốc Minh Não Vintong có tác dụng cải thiện khả năng học tập và trí nhớ trên các mô hình dược lý thực nghiệm ở cả 2 mức liều tương đương lâm sàng và liều gấp 3 lần liều tương đương lâm sàng. Kết quả này cho thấy tiềm năng sử dụng chế phẩm trên lâm sàng để hỗ trợ điều trị các chứng suy giảm trí nhớ và sa sút trí tuệ.

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi xin đưa ra kết luận:

1. Tác dụng ức chế enzyme Acetylcholinesterase:

Minh Não Vintong có tác dụng ức chế enzyme AChE với IC₅₀ là $0,176 \pm 0,034$ µg/mL. Trong cùng điều kiện nghiên cứu, thuốc tham chiếu Becberin clorid có tác dụng ức chế enzyme AChE với IC₅₀ là $0,165 \pm 0,036$.

2. Tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ:

2.1. Trên mô hình mê cung nước

Bài thuốc Minh Não Vintong liều 14,64g/kg thể trọng chuột/ngày và liều 43,92g/kg thể trọng chuột/ngày uống trong 6 ngày liên tục có tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ trên chuột nhắt trắng bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin.

2.2. Trên mô hình mê lộ nhiều chữ T

Bài thuốc Minh Não Vintong liều 14,64g/kg thể trọng chuột/ngày và liều 43,92g/kg thể trọng chuột/ngày uống trong 8 ngày liên tục có tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ trên chuột nhắt trắng bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin.

KIẾN NGHỊ

Từ kết quả **nghiên cứu tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase và tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên thực nghiệm**, chúng tôi xin đề xuất 2 kiến nghị sau:

- Tiếp tục thực hiện các nghiên cứu đi sâu để tìm hiểu cơ chế tác dụng của bài thuốc Minh Não Vintong.

- Triển khai nghiên cứu trên lâm sàng trên nhóm đối tượng bệnh nhân Alzheimer.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Thắng (2010). *Bệnh Alzheimer và các thể sa sút trí tuệ khác*. Nhà xuất bản y học, Hà Nội.
2. Đinh Thị Tuyết Lan (2016). *Nghiên cứu độc tính và tác dụng cải thiện trí nhớ của CERENEED-caps trên thực nghiệm*.
3. Neundörfer G. Hippus H (2003). The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues in clinical neuroscience*, 5(1), 101-8.
4. Nguyễn Thị Hùng và Daniel D. Trương Lê Đức Hình (2004). *Thần kinh học lâm sàng*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
5. World Health Organization (2015). *First WHO Ministerial Conference on Global Action Against Dementia* Geneva, Switzerland.
6. Skelton-Robinson M Harvey RJ, Rossor MN: The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003. p. 1206-9.
7. Phan Kế Sơn (2017). *Đánh giá tác dụng ức chế enzyme acetylcholinesterase in vitro của các phân đoạn dịch chiết hoàng liên ô rô (mahonia nepalensis dc., họ berberidaceae)* Hà Nội.
8. Yuyun Zhang Yi Liu, Xian Zheng et. al. (2018). Galantamine improves cognition, hippocampal inflammation, and synaptic plasticity impairments induced by lipopolysaccharide in mice. *Journal of Neuroinflammation*, 15.
9. Gu J. Lin Z., Xiu J. et al (2012). Traditional chinese medicine for senile dementia. *Evid Based Complement Alternat Med*, 619-21.
10. Đặng Hoàng Quyên (2014). Khảo sát khả năng cải thiện suy giảm trí nhớ của cao chiết từ sinh khối cordyceps spp. trên chuột nhắt. *Tạp chí sinh học*, 36, 203-8.
11. Yamada M Chiba T, Torii K, Suzuki M, Sasabe J, Ito M, Terashita K, Aiso S (2010). Effects of extracts from Cordyceps sinensis on M1 muscarinic acetylcholine receptor in vitro and in vivo. *Journal of Receptor, Ligand and Channel Research*, 2010(3), 97-104.

12. Ngô Quý Châu và các tác giả (2012). *Bệnh học nội khoa 1*. Nhà xuất bản y học, Hà Nội.
13. Anders Wimo Martin Prince, Maëlenn Guerchet, Gemma-Claire Ali, Yu-Tzu Wu, Matthew Prina, Alzheimer's Disease International. The World Alzheimer Report 2015. London: Alzheimer's Disease International; 2015.
14. Jesse F Ballenger (2006). Progress in the history of Alzheimer's disease: the importance of context. *Journal of Alzheimer's disease*, 9(s3), 5-13.
15. J. C. Ballenger (2000). *Concepts of Alzheimer disease: biological, clinical, and cultural perspectives*. JHU Press. 83-103 p.
16. K. Beyreuther M. Jucker, C. Haass, R. Nitsch, Y. Christen (Eds.) (2006). *Alzheimer: 100 years and beyond*. 3-4 p.
17. Tsuang D Lim A, Kukull w , et al (1999). Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. *Journal of the American Geriatrics Society*, 47, 564-9.
18. Geogre T. Grossberg MD Barbara C. Jost MS (1996). The Evolution of Psychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease: A Natural History Study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 44(9), 1078-81.
19. Arrighi HM Brookmeyer R; Johnson E; Ziegler-Graham K (2007). Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, 3(3), 186-91.
20. Nguyễn Thị Cẩm Vi. Thiết kế, tổng hợp và đánh giá tác động kháng acetylcholinesterase của một số dẫn chất chalcone nhằm sàng lọc thuốc mới hướng điều trị bệnh alzheimer. Thành phố Hồ Chí Minh: học viện khoa học và công nghệ; 2018. p. 3-13.
21. Palmer AM Francis PT, Snape M, Wilcock GK (1999). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*, 66 (2), 137-47.
22. Hasselmo M. E. (2006). The Role of Acetylcholine in Learning and Memory. *Curr Opin Neurobiol*, 16(6), 710-5.

23. Borloz A. và Urbain A. et al Di Giovanni S. (2008). In vitro screening assays to identify natural or synthetic Acetylcholinesterase inhibitors: thin layer chromatography versus microplate methods. *European journal of pharmaceutical sciences*, 33, 109-19.
24. Jung SW Kim HJ, Kim SY, et al. (2018). Panax ginseng as an adjuvant treatment for Alzheimer's disease. *J Ginseng Res* 2018, 42(4), 401-11.
25. Phạm Vũ Khánh (2016). *Lão khoa y học cổ truyền*. Nhà Xuất bản giáo dục Việt Nam, Hà Nội.
26. Shim I. Lee B., Lee H. et al (2011). Rehmannia glutinosa ameliorates scopolamine-induced learning and memory impairment in rats. *J Microbiol Biotechnol*, 21, 874-83.
27. Ma A. and Guo H. (1998). Effect of Radix Achyranthis bidentatae on memory and endurance *Zhong Yao Cai*, 21, 624-6.
28. Junjie H. Manisha M., Yin Y. L., Doreen S. K. C., Xiaoyan L., Jiang M. H., Klaus H., (2011). Gastrodia elata modulates amyloid precursor protein cleavage and cognitive functions in mice. *BioScience Trends*, 5(3), 129-38.
29. Nguyễn Bích Hạnh (2017). *Đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase in vitro của các phân đoạn dịch chiết hoàng liên (coptis chinensis franch)*, Khóa luận tốt nghiệp đại học, Đại học quốc gia Hà Nội.
30. Courtney K. D. Ellman G. L., Andres V. et al (1961). A new and rapid colorimetric determination of Acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7, 88-95.
31. Van Asperen K. (1962). A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *J Ins Physiol*, 8, 401-16.
32. Wang Z. Y Tang Z. M., Kang J. W. (2007). Screening of Acetylcholinesterase inhibitors in natural extracts by CE with electrophoretically mediated microanalysis technique. *Electrophoresis*, 28, 360-5.
33. Li K. Patil S. S., Heo S. et al (2012). Proteins linked to spatial memory formation of CD1 mice in the multiple T-maze. *Hippocampus*, 22, 1075-86.

34. Zhang J. Xin J., Yang Y. et al (2013). Radix Angelica Sinensis that contains the component Z-ligustilide promotes adult neurogenesis to mediate recovery from cognitive impairment. *Curr Neurovasc Res*, 10, 304-15.
35. Nguyễn Thượng Dong (2006). Nghiên cứu tác dụng chống bệnh Alzheimer. *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, 296-9.
36. Quillfeldt J. A. (2006). *Behavioral Methods to Study Learning and Memory in Rats*, .
37. Neerati V. and Merugu S. Bunadri P. (2013). Neuroprotective effect of resveratrol against scopolamine-induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Arch Biol Sci*, 65, 1381-6.
38. Cho I.H. (2012). Effects of panax ginseng in neurodegenerative diseases. *J Ginseng Res*, 36, 342–53.
39. Kim P. Kim H.J., Shin C.Y (2012). A comprehensive review of the therapeutic and pharmacological effects of ginseng and ginsenosides in central nervous system. *J Ginseng Res*, 37, 8–29.
40. Peng W. Sheng C., Xia Z.A., Wang Y., Chen Z., Su N., Wang Z. (2015). The impact of ginsenosides on cognitive deficits in experimental animal studies of Alzheimer's disease: a systematic review. *BMC Complement Altern Med*, 15, 386.
41. Mingwang Kong Ping Liu, Shihe Yuan, Junfeng Liu and Ping Wang (2014). History and Experience: A Survey of Traditional Chinese Medicine Treatment for Alzheimer's Disease. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
42. Wang J. and Ming C. Chen M. (2012). Buyuan Congnao decoction decreases hippocampal beta-amyloid expression in a rat model of Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*, 7(9), 664-8.
43. R. L. Hamlin, R. A. Altschuld (2011). Extrapolation from mouse to man. *Circulation Cardiovascular imaging*, 4(1), 2-4.
44. Bussarawit S. Langjae R., Yuenyongsawad S. (2007). Acetylcholinesterase-inhibiting steroidal alkaloid from the sponge Corticiu sp. *Steroids*, 72, 682-5.

45. Deli A, Falsafi S. K., Hoger H. et al (2012). Scopolamine administration modulates muscarinic, nicotinic and NMDA receptor systems. *PLoS One*, 7(2), 75-82.
46. To D. C. Min B. S., Lee. J.-S. et al (2010). Cholinesterase inhibitors from *Cleistocalyx operculatus* Buds. *Arch Pharm Res*, 33 (10), 1665-70.
47. Jerry J. B (2009). *The Behavioral Assessment of Sensorimotor Processes in the Mouse: Acoustic Startle, Sensory Gating, Locomotor Activity, Rotarod, and Beam Walking*. .
48. Vorhees C. V. and Williams M. T. (2006). Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc*, 1(2), 848-58.
49. Koyyalamudi SR Jeong SC, Hughes J, Khoo C, Bailey T, Marrisudi K, Park JP, Kim JH, Song CH (2013). Antioxidant and immunomodulating activities of exo- and endopolysaccharides fractions from submerged mycelia cultures of culinary-medicinal mushrooms. *Int J Med Mushrooms*, 15(3), 251–66.
50. Pan GF Qian GM, Guo JY (2012). Anti-inflammatory and antinociceptive effects of cordymin, a peptide purified from the medicinal mushroom *Cordyceps sinensis*. *Nat Prod Res*, 26(24), 2358–62.
51. E. Jutkowitz, Kane, R. L., Gaugler, J. E., MacLehose, R. F., Dowd, B., & Kuntz, K. M. (2017). Societal and Family Lifetime Cost of Dementia: Implications for Policy. *Journal of the American Geriatrics Society*, 65(10), 2169–75.
52. Nor Athirah Kamaliah Ahmad Tarmizi Naufal Kushairi, Chia Wei Phan, Ian Macreadie et. al. (2020). Modulation of neuroinflammatory pathways by medicinal mushrooms, with particular relevance to Alzheimer's disease. *Trends in Food Science & Technology*, 104, 153-62.
53. Fu L Chen Y, Han M, et al. (2018). The Prophylactic and Therapeutic Effects of Fermented *Cordyceps sinensis* Powder, Cs-C-Q80, on Subcortical Ischemic Vascular Dementia in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 4362715.

54. Zhang C.F. Dai D., Williams S., Yuan C.S., Wang C.Z. (2017). Ginseng on cancer: potential role in modulating inflammation-mediated angiogenesis. *Am J Chin Med*, 45(1), 13-22.
55. Liu Y. Jiao R., Gao H., Xiao J., So K.F. (2016). The anti-oxidant and antitumor properties of plant polysaccharides. *Am J Chin Med*, 44(3), 463–88.
56. Kim J.H Lee C.H. (2014). A review on the medicinal potentials of ginseng and ginsenosides on cardiovascular diseases. *J Ginseng Res*, 38(3), 161–6.
57. Qin J.J. Nag S.A., Wang W., Wang M.H., Wang H., Zhang R. (2012). Ginsenosides as anticancer agents: in vitro and in vivo activities, structure-activity relationships, and molecular mechanisms of action. *Front Pharmacol*, 3, 25.
58. Zhu Judy T.T. Choi Roy C.Y., Leung K. Winga, Chu Glanice K.Y., Xie Heidi Q., Chen Vicky P., Zheng Ken Y.Z., Lau David T.W., et al (2010). A Flavonol Glycoside, Isolated From Roots of *Panax notoginseng*, Reduces Amyloid- β -Induced Neurotoxicity in Cultured Neurons: Signaling Transduction and Drug Development for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 19(3), 795-811.
59. J. L. Huang, Xu, Z. H., Yang, S. M., Yu, C., Zhang, F., Qin, M. C., Zhou, Y., Zhong, Z. G., & Wu, D. P. (2018). Identification of Differentially Expressed Profiles of Alzheimer's Disease Associated Circular RNAs in a *Panax Notoginseng* Saponins-Treated Alzheimer's Disease Mouse Model. *Computational and structural biotechnology journal*, 16, 523-31.
60. Huan Zhao Zhi-Cheng Wang Kui-Feng Wang (2015). A β peptide secretion is reduced by *Radix Polygalae*-induced autophagy via activation of the AMPK/mTOR pathway. *Molecular Medicine report*, 12(2), 2771-6.
61. C. H. Park, Choi, S. H., Koo, J. W., Seo, J. H., Kim, H. S., Jeong, S. J., et al. (2002). Novel cognitive improving and neuroprotective activities of *Polygala tenuifolia* Willdenow extract, BT-11. *J Neurosci Res*, 70, 484–92.
62. K. Y. Shin, Won, B. Y., Heo, C., Kim, H. J., Jang, D. P., Park, C. H., et al. (2009). BT-11 improves stress-induced memory impairments through increment of glucose utilization and total neural cell adhesion molecule levels in rat brains. *J Neurosci Res*, 87, 260-8.

63. J. Y. Lee, Kim, K. Y., Shin, K. Y., Won, B. Y., Jung, H. Y., and Suh, Y. H. (2009). Effects of BT-11 on memory in healthy humans. *Neurosci Lett*, 454, 111–4.
64. Đỗ Tất Lợi (2015). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà Xuất Bản Y học.
65. Bộ y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

PHỤ LỤC 1

Các vị thuốc có trong bài thuốc Minh não Vintong

- **Đông trùng hạ thảo:**

Bộ phận dùng: Cả nấm và sâu non, nấm *Ophiocordyceps Sinensis* thuộc nhóm nấm *Ascomycetes* trên cơ thể ấu trùng của một vài loài bướm trong chi *Thitarodes Viette*, 1968 (trước đây phân loại trong chi *Hepialus Fabricius*, 1775).

Tính vị, quy kinh: Vị ngọt, tính ôn. Vào hai kinh phế và thận.

Công dụng: Bồi bổ cơ thể người ốm, ích phế, bổ thận, bổ tinh tủy, cầm máu, hóa đờm

Chủ trị: Dùng chữa hư hao sinh ho, ho máu, liệt dương, lưng đau mỏi gối, di tinh, đau tim.[64]

- **Viễn chí:**

Bộ phận dùng: Rễ phơi hay sấy khô của cây Viễn chí lá nhỏ và cây Viễn chí Xiberi tức Viễn chí lá trứng, họ Viễn chí (*Polygalaceae*).

Tính vị, quy kinh: Khô, tân, ôn. Vào kinh tâm, thận, phế.

Công năng: An thần ích trí, trừ đờm chỉ khái.

Chủ trị: Mất ngủ, hay mê, hay quên, hồi hộp, đánh trống ngực, tinh thần hoảng hốt, ho đờm nhiều, mụn nhọt, vú sưng đau.[65]

- **Ý dĩ:**

Bộ phận dùng: Hạt của quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Ý dĩ, họ Lúa (*Poaceae*).

Tính vị, quy kinh: Cam, hàn. Quy vào kinh tỳ, phế.

Công năng: Kiện tỳ, bổ phế, thanh nhiệt, chỉ tả, bài nùng, lợi thấp.

Chủ trị: Phù thũng, tê thấp chân tay co rút, ỉa chảy do tỳ hư, phế ung, trường ung, cước khí, bí tiểu.[65]

- **Xa tiền:**

Xa tiền tử:

Bộ phận dùng: Hạt đã phơi hay sấy khô của cây Mã đề, họ Mã đề (*Plantaginaceae*).

Xa tiền thảo:

Bộ phận dùng: Lá đã phơi hay sấy khô của cây Mã đề, họ Mã đề (*Plantaginaceae*).

Tính vị, quy kinh: Cam, hàn. Vào các kinh can, phế, thận, tiểu trường, bàng quang.

Công năng: Thanh nhiệt trừ đàm, lợi tiểu thông lâm, chỉ huyết.

Chủ trị: Ho, viêm amidan, viêm phế quản, viêm thận, viêm bàng quang, bí tiểu tiện, chảy máu cam, nôn ra máu.[65]

- **Đinh lăng:**

Bộ phận dùng: Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đinh Lăng, họ Nhân sâm (*Araliaceae*).

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

Công năng: Bổ khí, lợi sữa, giải độc.

Chủ trị: Suy nhược cơ thể, suy nhược thần kinh, tiêu hóa kém, ngủ kém, phụ nữ sau đẻ ít sữa.[65]

- **Nhân sâm**

Bộ phận dùng: Thân rễ và rễ đã phơi hay sấy khô của cây Nhân sâm, họ Nhân sâm (*Araliaceae*). Sâm trồng gọi là viên sâm, sâm mọc hoang gọi là sơn sâm.

Tính vị, quy kinh: Cam, khô, bình. Vào kinh tỳ, phế, tâm.

Công năng: Đại bổ nguyên khí, ích huyết, kiện tỳ ích phế, sinh tân, an thần ích trí.

Chủ trị: Khí hư muốn thoát, chân tay lạnh, mạch vi, tỳ hư, kém ăn, phế hư ho suyễn, tân dịch thương tổn, miệng khát nước, nội nhiệt tiêu khát, đái tháo, bệnh lâu ngày gây yếu, tâm hồi hộp, suy tim kiệt sức, hay choáng ngất.[65]

- **Hà thủ ô**

Hà thủ ô đỏ:

Bộ phận dùng: Rễ củ phơi hay sấy khô của cây Hà thủ ô đỏ, họ Rau răm (*Polygonaceae*).

Tính vị, quy kinh: Khô, cam, sáp, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng: Dưỡng huyết, bổ can thận, nhuận tràng thông tiện, làm xanh tóc.

Chủ trị: Huyết hư thiếu máu, da xanh, gầy, đau lưng, di tinh, tóc bạc sớm, táo bón.[65]

- **Xuyên khung**

Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Xuyên khung, họ hoa tán (*Apiaceae*).

Tính vị, quy kinh: Tân, ôn. Vào các kinh can, đờm, tâm bào.

Công năng: Hành khí hoạt huyết, trừ phong, giảm đau.

Chủ trị: Điều kinh, trị nhức đầu, hoa mắt, cảm mạo phong hàn, phong thấp nhức mỏi, ngực bụng đau tức, nhọt độc sưng đau.[65]

- **Tam thất**

Bộ phận dùng: Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Tam thất, họ Nhân sâm (*Araliaceae*).

Tính vị, quy kinh: Cam, khô, ôn. Vào kinh can, vị.

Công năng: Tán ứ chỉ huyết, tiêu sưng giảm đau.

Chủ trị: Các loại chảy máu, nhất là chảy máu có ứ huyết như: thổ huyết, khối huyết, nục huyết, tiểu tiện ra huyết, sưng đau do chấn thương, ngực bụng đau nhói.[65]

PHỤ LỤC 2

BỘ Y TÊ
HỌC VIỆN YDHCT VIỆT NAM

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự Do – Hạnh phúc

QUY TRÌNH BÀO CHẾ CAO MINH NÃO VINTONG

Phục vụ đề tài khoa học cấp cơ sở

Tên đề tài: Nghiên cứu tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase và tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ của bài thuốc Minh Não Vintong trên thực nghiệm

Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS. Đâu Xuân Cảnh

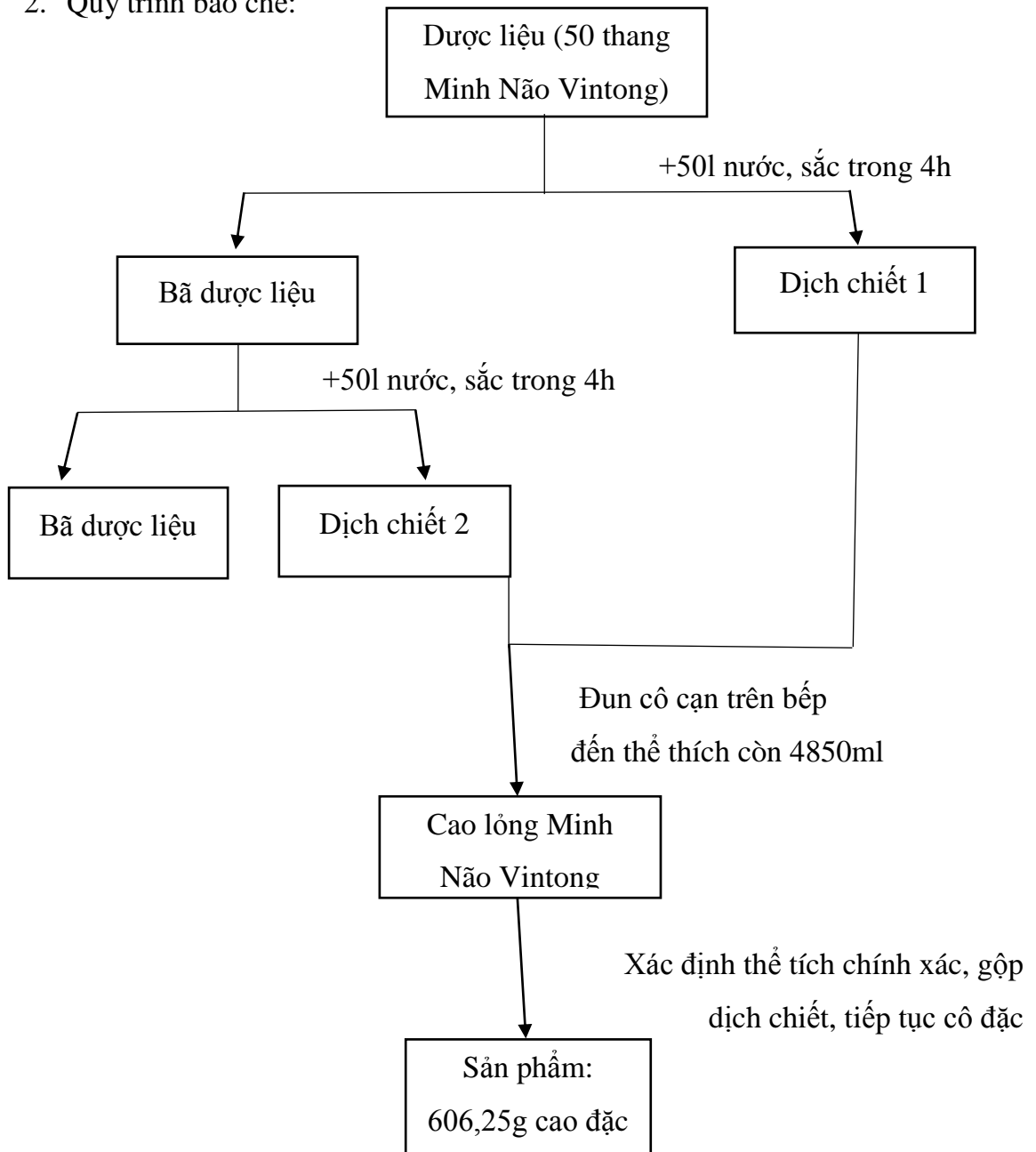
1. Nguyên liệu:

Thành phần của bài thuốc Minh Não Vintong

Đông trùng hạ thảo.....	05g	Nhân sâm.....	05g
Viễn chí.....	10g	Hà Thủ ô.....	10g
Ý dĩ.....	10g	Xuyên khung.....	05g
Xa tiền.....	05g	Tam thất.....	01g
Đinh lăng	10g		

Các dược liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam V, riêng vị thuốc Đông trùng hạ thảo được bào chế theo tiêu chuẩn dược điển Trung Quốc.

2. Quy trình bào chế:



3. Ngày bào chế: 01/5/2020

4. Sản phẩm:

Từ 50 thang dược liệu qua quá trình bào chế tại BV Tuệ Tĩnh tạo ra 4850ml cao lỏng tỉ lệ 1:1 (1gam dược liệu trong 1ml cao lỏng), tiếp tục cô đặc tại Học viện Quân Y tạo ra 606,25g cao đặc Minh Nao Vintong.