

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



**TẠ THỊ NGÀ**

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG  
TĂNG LƯU LƯỢNG MÁU NÃO CỦA  
BÀI THUỐC BỔ DƯƠNG HOÀN NGŨ  
THANG TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**HÀ NỘI, NĂM 2023**

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



TẠ THỊ NGÀ

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG  
TĂNG LƯU LƯỢNG MÁU NÃO CỦA  
BÀI THUỐC BỔ DƯƠNG HOÀN NGŨ  
THANG TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**Chuyên ngành: Y học cổ truyền**

**Mã số: 8720115**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Đoàn Quang Huy**

**HÀ NỘI, NĂM 2023**

## LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được gửi lời cảm ơn tới Đảng ủy, Ban Giám đốc Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam, phòng Đào tạo Sau đại học, các Bộ môn, Khoa, Phòng của Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam, cùng toàn thể thầy cô giảng viên Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

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

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân cùng toàn thể thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên, các em sinh viên đang nghiên cứu khoa học tại bộ môn Dược lý, Học viện Quân Y đã luôn bên tôi, giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn quý thầy cô trong Hội đồng chấm đề cương, Hội đồng chấm luận văn và các nhà khoa học, đồng nghiệp đã đóng góp những ý kiến, kinh nghiệm quý báu để luận văn này hoàn thiện hơn.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới gia đình và những người thân yêu đã dành cho tôi những điều kiện tốt nhất, giúp tôi yên tâm học tập và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Tạ Thị Nga, học viên cao học khóa 13 tại Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Đoàn Quang Huy.

Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

Các số liệu, thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

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

*Hà Nội, ngày.... tháng..... năm 2023*

**Tác giả**

**Tạ Thị Nga**

## MỤC LỤC

<b>MỤC LỤC</b> .....	<b>iii</b>
<b>DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT</b> .....	<b>vi</b>
<b>DANH MỤC BẢNG</b> .....	<b>vii</b>
<b>DANH MỤC HÌNH ẢNH</b> .....	<b>viii</b>
<b>ĐẶT VẤN ĐỀ</b> .....	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	<b>3</b>
1.1. Tổng quan lưu lượng máu não theo y học hiện đại .....	3
1.1.1. Lưu lượng máu não và các yếu tố ảnh hưởng đến lưu lượng máu não .....	3
1.1.2. Các phương pháp đo lưu lượng máu não .....	5
1.1.3. Thiếu máu não mạn tính.....	6
1.1.4. Lưu lượng máu não và bệnh sinh hội chứng sa sút trí tuệ .....	8
1.2. Suy giảm lưu lượng máu não theo y học cổ truyền .....	9
1.2.1. Bệnh danh .....	9
1.2.2. Bệnh nguyên, bệnh cơ.....	10
1.2.3. Thể bệnh lâm sàng, điều trị.....	11
1.3. Tình hình nghiên cứu thuốc y học cổ truyền có tác dụng tăng lưu lượng máu não. ....	14
1.3.1. Một số nghiên cứu trên thế giới:.....	14
1.3.2. Các nghiên cứu ở Việt Nam.....	15
1.4. Tình hình nghiên cứu thuốc y học cổ truyền có tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ.....	16
1.4.1. Một số nghiên cứu trên thế giới.....	16
1.4.2. Các nghiên cứu ở Việt Nam.....	17
1.5. Tổng quan về cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị.....	18
1.5.1. Thành phần cao lỏng.....	18
1.5.2. Phân tích phối ngũ các vị thuốc trong cao lỏng .....	20

1.5.3. Các nghiên cứu về bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang và các nghiên cứu về các vị thuốc trong cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị.....	21
1.6. Mô hình gây giảm lưu lượng máu não.....	24
1.7. Một số mô hình đánh giá tác dụng trên khả năng học tập , ghi nhớ trên động vật thực nghiệm.....	25
<b>CHƯƠNG 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP</b>	
<b>NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>29</b>
2.1. Chất liệu nghiên cứu .....	29
2.1.1. Cao lỏng nghiên cứu .....	29
2.1.2. Hóa chất dùng trong nghiên cứu.....	30
2.1.3. Dụng cụ và trang thiết bị nghiên cứu.....	30
2.2. Đối tượng nghiên cứu .....	32
2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu:.....	33
2.4. Phương pháp nghiên cứu: .....	33
2.4.1. Phẫu thuật gây giảm lưu lượng máu não trên chuột nhắt trắng.....	33
2.4.2. Phân lô chuột nghiên cứu.....	34
2.4.3. Đánh giá tác dụng tăng lưu lượng máu não.....	35
2.4.4. Đánh giá tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị trên mô hình mê lộ nhiều chữ T.....	36
2.4.5. Đánh giá tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị trên mô hình mê cung nước Morris .....	36
2.5. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu.....	38
2.6. Sai số và cách khống chế sai số. ....	38
2.7. Đạo đức trong nghiên cứu.....	39
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>40</b>
3.1. Kết quả đánh giá tác dụng tăng lưu lượng máu não của cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị.....	40

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị trên mô hình mê lộ nhiều chữ T.....	43
3.2.1. Kết quả đánh giá khả năng học tập trong giai đoạn huấn luyện.....	43
3.2.2. Kết quả đánh giá trí nhớ ngắn hạn.....	46
3.2.3. Kết quả đánh giá trí nhớ dài hạn.....	47
3.3. Kết quả đánh giá tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị trên mô hình mê cung nước Morris (MWM) .....	47
3.3.1. Kết quả đánh giá khả năng học tập trong giai đoạn huấn luyện.....	48
3.3.2. Kết quả bài tập đánh giá khả năng ghi nhớ .....	50
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN .....</b>	<b>51</b>
4.1. Bàn luận về tác dụng tăng lưu lượng máu não của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị.....	51
4.1.1. Bàn luận về mô hình gây giảm lưu lượng máu não trên chuột .....	51
4.1.2. Bàn luận về tác dụng tăng lưu lượng máu não của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị .....	54
4.2. Bàn luận về tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị.....	61
4.2.1. Bàn luận về mô hình mê lộ nhiều chữ T.....	61
4.2.2. Bàn luận về mô hình mê cung nước Morris .....	66
4.2.3. Bàn luận về tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị.....	70
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>75</b>
<b>KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>76</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC 1</b>	
<b>PHỤ LỤC 2</b>	
<b>PHỤ LỤC 3</b>	

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

<b>Viết tắt</b>	<b>Tiếng Việt</b>	<b>Tiếng Anh</b>
AD	Bệnh Alzheimer	Alzheimer's disease
A $\beta$	Mảng beta amyloid	Amyloid Beta
ACCAS	Phẫu thuật động mạch cảnh chung không đối xứng	Asymmetric Common Carotid Artery Surgery
BCCAo	Tắc động mạch cảnh chung hai bên	Bilateral Common Carotid Artery occlusion
BCCAS	Hẹp động mạch cảnh chung hai bên	Bilateral Common Carotid Atery Stenosis
BDHNT	Bổ dưỡng hoàn ngũ thang	
BDHNTGV	Bổ dưỡng hoàn ngũ thang gia vị	
CCA	Động mạch cảnh chung	Common Carotid Artery
EGB 761		Ginko Biloba
LLMN	Lưu lượng máu não	Cerebral Blood Flow
MTM	Mô hình mê lộ nhiều chữ T	Multiple T Maze
MWM	Mê cung nước Morris	Morris Water Maze
N1	Ngày 1	
N4	Ngày 4	
N5	Ngày 5	
PT	Phẫu thuật	
SSTT	Sa sút trí tuệ	Dementia
TMNMT	Thiếu máu não mạn tính	
3-VO	Tắc ba mạch máu	Three-Vessel Occlusion



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Lưu lượng máu não của chuột tại các thời điểm trước uống thuốc....	40
Bảng 3.2. Lưu lượng máu não của chuột tại thời điểm sau uống thuốc 7 ngày (ngày 14 sau phẫu thuật). .....	41
Bảng 3.3. Lưu lượng máu não của chuột tại thời điểm sau uống thuốc 21 ngày (ngày 28 sau phẫu thuật). .....	42
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s) của mê lộ nhiều chữ T. (Mean $\pm$ SD, n = 10 ở mỗi lô).....	43
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích của mê lộ nhiều chữ T. (Mean $\pm$ SD, n = 10 ở mỗi lô)	44
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến số lần quyết định sai.....	45
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến các chỉ số đánh giá trí nhớ ngắn hạn (N5) trên mô hình Multiple T maze (Mean $\pm$ SD, n = 10 ở mỗi lô).....	46
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến các chỉ số đánh giá trí nhớ dài hạn (N8) trên mô hình Multiple T maze (Mean $\pm$ SD, n = 10 ở mỗi lô) .....	47
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến thời gian chuột tìm thấy chân đế (s)(Mean $\pm$ SD, n = 10 ở mỗi lô) .....	48
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bẻ đổ. ....	49
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế (%). .....	50

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Hình ảnh các vị thuốc trong cao lỏng BDHNTGV.....	19
Hình 1.2. Cấu tạo mê cung nước Morris.....	26
Hình 1.3. Cấu tạo mô hình mê lộ nhiều chữ T.....	27
Hình 2.1. Hình ảnh cho chuột nhắt trắng uống thuốc (a) bằng kim cong đầu tù chuyên dụng (b).....	36
Hình 2.2. Hình ảnh hệ thống Powerlab (a) cùng thiết bị đo blood flow metry với đầu đo Laser Doppler needle probes MNP100XP-3/10 (b) và phần mềm thu thập và xử lý số liệu (c).....	36
Hình 2.3. Hình ảnh cân phân tích Sartorius 10 <sup>-4</sup> g (a) và thiết bị gây mê dùng cho động vật nhỏ - Compact Gas Anesthesia System (b).....	37
Hình 2.4. Chuột nhắt trắng chủng Swiss trưởng thành dùng trong nghiên cứu.....	32
Hình 2.5. Microcoils (A) (B và C) và quá trình gây hẹp động mạch cảnh chung (B, C). Microcoil được làm từ dây đàn piano (d; đường kính dây 0,08 mm) với đường kính trong (ID) 0,18 mm, bước đệm 0,50 mm và tổng chiều dài 2,5 mm được xoắn lại bằng cách xoay nó xung quanh CCA ngay dưới chỗ phân đôi của động mạch cảnh. ....	34
Hình 2.6. Sơ đồ tóm tắt các nội dung nghiên cứu.....	38

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Lưu lượng máu não (LLMN) là yếu tố cơ bản nhất ảnh hưởng đến chức năng não bộ và là một yếu tố quan trọng của sức khỏe mạch máu não [1],[2]. Bất kì nguyên nhân nào gây suy giảm lưu lượng máu não cũng dẫn tới những tình trạng bệnh lý khác nhau cho não bộ. Các triệu chứng của thiếu máu não mạn tính gây ra có nhiều biểu hiện lâm sàng khác nhau như: đau đầu, suy giảm trí nhớ, rối loạn về giấc ngủ, chóng mặt,...[1]. Bệnh phổ biến ở người cao tuổi, nếu không điều trị kịp thời dễ gây ra những hậu quả như: tai biến mạch máu não, suy giảm trí nhớ,... ảnh hưởng lớn đến chất lượng cuộc sống của người bệnh [1], [3].

Hậu quả của suy giảm lưu lượng máu não phải kể đến thiếu máu não mạn tính và hội chứng sa sút trí tuệ. Thiếu máu não mạn tính có thể gây tai biến mạch máu não, sa sút trí tuệ - một trong những trạng thái bệnh lý đáng sợ nhất của tuổi già, bệnh gây suy giảm trí nhớ và nhiều lĩnh vực nhận thức khác, là nguyên nhân chủ yếu gây ra tàn tật và tử vong ở người cao tuổi [3], ngày càng có nhiều nghiên cứu cho thấy mối liên quan giữa suy giảm lưu lượng máu não và cơ chế bệnh sinh của sa sút trí tuệ, người ta thấy rằng lưu lượng máu não giảm ở những bệnh nhân mắc sa sút trí tuệ giai đoạn đầu và ngược lại ở những người có lưu lượng máu não cao hơn thì ít có khả năng mắc chứng mất trí nhớ hơn [4], các thay đổi về mạch máu nhỏ tại não có thể xuất hiện nhiều năm trước khi các biểu hiện lâm sàng của suy giảm nhận thức trở nên rõ rệt [5].

Thuốc y học hiện đại có tác dụng tăng lưu lượng máu não và điều trị sa sút trí tuệ hiện nay có nhiều loại tác động theo các cơ chế khác nhau, song dùng thuốc kéo dài có thể gây tác dụng không mong muốn trên hệ tiêu hóa [6]. Bên cạnh đó việc sử dụng dược liệu có nguồn gốc từ y học cổ truyền có tác dụng tăng lưu lượng máu não và khả năng học tập, ghi nhớ đã được áp dụng

từ ngàn đời nay. Xuyên khung cải thiện đột quy do thiếu máu cục bộ bằng cách tăng cường lưu thông máu não [7], theo nghiên cứu của Lin Z và công sự năm 2012, các vị thuốc như bạch phục linh, viễn chí, cam thảo bắc, đương quy, sinh địa hoàng là những dược liệu được sử dụng nhiều nhất trong 236 bài thuốc thu thập từ 29 dược điển cổ đại nổi tiếng trong 10 thế kỉ qua trong việc can thiệp cải thiện trí nhớ [8]. Điều đó cho thấy dược liệu có nguồn gốc từ y học cổ truyền là nguồn dược liệu quý, nguồn tài nguyên vô cùng phong phú để ứng dụng làm thuốc tăng lưu lượng máu não và cải thiện suy giảm trí nhớ. Bài thuốc bổ dương hoàn ngũ thang là bài thuốc y học cổ truyền có tác dụng bổ khí, hoạt huyết, thông lạc, đã được ứng dụng trong điều trị bệnh lí mạch máu não như tai biến mạch máu não sau giai đoạn cấp [9], bài thuốc đã được chứng minh có tác dụng làm tăng tuần hoàn máu não, bảo vệ tế bào noron qua nhiều cơ chế, thúc đẩy quá trình phục hồi chức năng thần kinh [10]. Bài thuốc được gia thêm các vị kê huyết đằng, nữ trinh tử, hạn liên thảo, đan sâm mục đích gia tăng tác dụng bổ huyết, hoạt huyết. Trong nghiên cứu này bài thuốc nghiên cứu được sử dụng dưới dạng cao lỏng. Hiện chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng tăng lưu lượng máu não và tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị nêu trên. Từ thực tế đó, để làm rõ hơn tác dụng của bài thuốc chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài “**Nghiên cứu tác dụng tăng lưu lượng máu não của bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang trên thực nghiệm**” với 2 mục tiêu:

- 1. Đánh giá tác dụng tăng lưu lượng máu não của cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị trên động vật thực nghiệm.*
- 2. Đánh giá tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ trên mô hình mê cung nước (Morris water maze) và trên mô hình mê lộ nhiều chữ T (Multiple T maze) của cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị trên động vật thực nghiệm.*

## CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 1.1. Tổng quan lưu lượng máu não theo y học hiện đại

#### 1.1.1. Lưu lượng máu não và các yếu tố ảnh hưởng đến lưu lượng máu não

##### ➤ Đặc điểm hệ động mạch nuôi não

Não được nuôi dưỡng bởi 4 mạch máu chính: hai động mạch cảnh trong và hai động mạch đốt sống, các động mạch não có sự nối tiếp phong phú, đảm bảo cho sự lưu thông máu, tưới máu an toàn. Cả 4 động mạch đều phân phối máu cho não vì không có nhánh bên nào lớn cả.

Ở tuần hoàn não có nhiều mạch nối giữa các động mạch, trong đó quan trọng là:

- Hệ thống nối giữa động mạch cảnh trong và động mạch đốt sống với động mạch cảnh ngoài, đó là:
  - + Mạch nối trước nội động mạch mắt là nhánh của động mạch cảnh trong với các nhánh xương sàng của động mạch hàm trong là nhánh của động mạch cảnh ngoài. Khi có huyết khối của động mạch cảnh trong, mạch nối này sẽ là đường bảo vệ cho não chống lại sự thiếu máu.
  - + Mạch nối sau nối các nhánh cơ của động mạch đốt sống với các nhánh của động mạch chẩm (nhánh của động mạch cảnh ngoài). Mạch nối này ít quan trọng so với mạch nối trước.
- Đa giác Willis là hệ thống nối độc đáo, duy nhất trong cơ thể, nối các động mạch lớn với nhau ở não.
- Hệ thống nối ở vỏ não: khi đến não và vỏ não, các động mạch nối chằng chịt với nhau.

Các hệ thống mạch nối ở não là một cơ chế tự bảo vệ cho não tránh các tai biến gây thiếu máu ở những vùng có mạch nối [11].

Vai trò của hệ thần kinh tự chủ trong điều hòa lưu lượng máu não ít quan trọng vì gây hiệu quả không đáng kể. Kích thích dây thần kinh giao cảm gây co các mạch lớn ở não, nhưng không gây co các mạch nhỏ. Kích thích dây thần kinh phó giao cảm gây giãn nhẹ các mạch máu não [2].

➤ **Tầm quan trọng sinh lý và giá trị bình thường lưu lượng máu não người trưởng thành**

Bộ não con người là một cơ quan có nhu cầu sử dụng năng lượng cao, chỉ chiếm 2% khối lượng toàn bộ cơ thể (~ 1,4 kg ) nhưng chiếm khoảng 20% tổng năng lượng tiêu thụ của một người trưởng thành bình thường khi nghỉ ngơi. Tuần hoàn não là tuần hoàn dinh dưỡng não, nên rất quan trọng. Máu nuôi não giúp cung cấp oxy, glucose cần thiết cho quá trình chuyển hóa của tế bào thần kinh, lưu lượng máu não cực kỳ quan trọng đối với chức năng và khả năng sống của tế bào não [12].

Lưu lượng máu não là lượng máu qua não trong một đơn vị thời gian(phút). Lưu lượng máu não rất ổn định, ít thay đổi trên cùng một người. Bình thường có khoảng 700-750ml máu qua não trong 1 phút (tương đương 14-15% lượng máu qua tim). Lưu lượng máu não là 50-55ml/100g não/ phút [2], [13]. Não bộ cần oxy và glucose trong máu cần thiết cho quá trình chuyển hóa và hoạt động tế bào, trung bình não tiêu thụ 3,3-3,8ml oxy/100g não/ phút, trên thực tế, chỉ ngừng tuần hoàn não từ 8-10 giây, bệnh nhân đã mất hẳn ý thức và tri giác, nếu tình trạng này kéo dài từ 4-6 phút các tế bào não sẽ tổn thương không hồi phục [14].

Lưu lượng máu não đạt giá trị tối đa khi 4–6 tuổi, sau đó giảm xuống khoảng 60–70% giá trị tối đa khi 50–60 tuổi. Một số thay đổi cấu trúc xảy ra ở các mạch máu não khi bị lão hóa, bao gồm tăng lắng đọng collagen và vôi hóa ở các tiểu động mạch, dẫn đến tăng độ dày thành mạch, giảm tính đàn hồi của mạch và tăng sức cản nói chung. Những thay đổi cấu trúc trong mạch máu này được phát hiện là nghiêm trọng hơn ở những bệnh nhân mắc bệnh

thoái hóa thần kinh, bao gồm AD, sa sút trí tuệ mạch máu và có khả năng góp phần làm tăng sức cản mạch máu, giảm tưới máu và thay đổi điều hòa mạch máu não được thấy ở AD, sa sút trí tuệ mạch máu [15].

### ➤ **Các yếu tố ảnh hưởng đến lưu lượng máu não**

+ Yếu tố thành mạch: hậu quả của các bệnh lý mạch máu làm tăng sức cản thành mạch, thay đổi huyết động, trì trệ tuần hoàn giảm LLMN.

+ Thay đổi về độ nhớt của máu, áp lực tưới máu, thay đổi bán kính mạch máu (nghĩa là giãn mạch và co mạch) đều ảnh hưởng đến LLMN [16].

+ Điều hòa chuyển hóa: O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> trong máu tham gia vào cơ chế điều hòa chuyển hóa: phân áp CO<sub>2</sub> tăng thì giãn mạch não tăng LLMN, phân áp O<sub>2</sub> tăng gây co mạch giảm LLMN.

+ Điều hòa thần kinh: mạch máu não có chịu sự chi phối của sợi thần kinh giao cảm và phó giao cảm, Lassen chứng minh có một trung tâm thần kinh điều hòa LLMN.

+ Tuổi: tuổi càng cao LLMN càng giảm, người 60 tuổi LLMN giảm còn 36ml/100g não/phút [1], [2].

+ Thuốc: thuốc vận mạch như Nicotinic, Aminitrit gây tăng LLMN.

### **1.1.2. Các phương pháp đo lưu lượng máu não**

+ Điện não đồ (EEG): là một phương pháp đo chức năng não liên tục, không xâm lấn, các điện cực đặt trên da đầu ghi lại điện thế do dòng điện chạy vào và xung quanh các tế bào thần kinh. Điện não đồ đánh giá hiệu quả của việc tưới máu tại não, giúp chẩn đoán và tiên lượng bệnh [17]. Dấu hiệu thiếu oxy não trong thiếu năng tuần hoàn não được thể hiện trên điện não đồ dưới dạng các nhịp chậm trên nền mất tổ chức các nhịp [18].

+ Lưu huyết não đồ: Lưu huyết não đồ là đường ghi lại sự biến thiên điện trở của não khi có một dòng điện xoay chiều cường độ yếu, tần số cao (40-150KHZ) chạy qua, lưu huyết não đồ cho phép đánh giá một cách khách quan tình trạng thành động mạch, trương lực mạch não, thể tích tưới máu. Ưu điểm

của lưu huyết não đồ là an toàn, có thể ghi lại nhiều lần, trong thời gian dài để theo dõi tác dụng điều trị hoặc phục vụ trong nghiên cứu, nhược điểm của phương pháp là không phải lúc nào các thông số lưu lượng máu não đo được cũng như biên độ của đường cong phản ánh đầy đủ tình trạng tuần hoàn não [1]. Vì nó còn phụ thuộc vào một số yếu tố như nhịp tim, độ nhớt của máu, huyết áp, áp lực nội sọ, sử dụng thuốc vận mạch,...

+ Xquang đánh giá tình trạng thoái hóa cột sống: thoái hóa cột sống cổ là một trong những nguyên nhân gây ra suy giảm lưu lượng máu não. Phương pháp Xquang cho phép phát hiện các tổn thương ở mỏm nha, khớp đội trục, diện khớp, thoát vị đĩa đệm, sự thay đổi lỗ ghép.

+ Ngoài ra còn có các phương pháp: đo tốc độ dòng máu bằng phương pháp siêu âm Doppler, chụp mạch não, chụp hệ mạch kỹ thuật số sống nèn, xét nghiệm sinh hóa thành phần lipid máu,...

### ***1.1.3. Thiếu máu não mạn tính***

➤ **Định nghĩa:** Thiếu máu não mạn tính (TMNMT) là danh từ thường dùng trong y học chỉ một trạng thái bệnh lý có rất nhiều triệu chứng lâm sàng khác nhau nhưng có cùng chung một cơ chế bệnh sinh đó là thiếu máu nuôi não. Nguyên nhân chính là do xơ vữa động mạch [19].

TMNMT đầu tiên được đề xuất bởi các học giả Nhật Bản vào những năm 1990, đề cập đến tình trạng giảm lưu lượng máu não dưới mức thể tích sinh lý cần thiết, dẫn đến rối loạn chức năng não và tình trạng này thường kéo dài ít nhất 2 tháng. TMNMT có thể là nguyên nhân thứ phát của nhiều nguyên nhân khác nhau, trong đó xơ vữa động mạch là nguyên nhân hàng đầu [20].

➤ **Triệu chứng lâm sàng:**

- Thường gặp ở người trung niên, cao tuổi, chóng mặt, huyết áp thấp (đa phần) hoặc có xu hướng, người béo nhiều hơn người gầy.
- Dấu hiệu đau (ví dụ đau cổ gáy), tiền sử bệnh đã hoặc đang dùng thuốc điều trị TMNMT (stugeron, cavinton, giloba, duxin,...)



*Cụ thể:*

- Chóng mặt: đi loạng choạng không vững. Có cảm giác bồng bênh như say sóng, hoa mắt, đôi khi có cảm giác buồn nôn, những triệu chứng này tăng lên khi có biến đổi tư thế đột ngột.
  - Nhức đầu: là một triệu chứng xuất hiện sớm với đặc tính lan tỏa đi khắp đầu, tập trung ở vùng trán, gáy hoặc có cảm giác căng nặng ở đầu.
  - Rối loạn trí nhớ: biểu hiện sớm và rất phổ biến biểu hiện thoáng quên, bệnh nhân nhớ sự việc trong quá khứ nhưng sắp xếp sự việc không chính xác, tư duy lộn xộn không mạch lạc.
  - Tư duy và trí tuệ: ngại thay đổi thói quen, nếp nghĩ, không muốn tiếp xúc với cái mới, giảm khả năng sáng tạo
  - Dị cảm: là cảm giác không bình thường, cảm giác không có thật do người bệnh tự cảm thấy, ví dụ như cảm giác tê bì đau ngón tay, kiến bò hoặc cảm giác đau lan dọc nhiều vùng cơ thể.
  - Mất ngủ: thông thường, người già mất ngủ cuối giấc, người trẻ mất ngủ đầu giấc. Ở bệnh nhân TMNMT có đặc điểm mất ngủ dai dẳng làm người bệnh khó chịu và khó chữa. Ban ngày hay ngủ gà, ngủ thường không sâu và hay mê.
  - Rối loạn sự chú ý: khi chuyển sự chú ý từ vật này sang vật khác hoặc từ vấn đề này sang vấn đề khác thì người bệnh rất hay đãng trí và khả năng tập trung tư tưởng rất kém, còn gọi là bệnh ‘Điếc tinh thần’(Alzheimer) .
- **Điều trị:** điều trị chủ yếu là nội khoa, kết hợp dùng thuốc và các phương pháp không dùng thuốc

Thuốc điều trị phân thành 4 nhóm sau:

- + Nhóm 1: nhóm các chất tổng hợp hữu cơ: stugeron 25mg, vỉ 10 viên (liều 1-2 viên/ ngày, nặng có thể tăng liều gấp đôi).

+ Nhóm 2: nhóm chất có nguồn gốc thực vật: cavinton 10mg, hộp 50 viên(liều 3 viên/ ngày, cấp tính có dạng tiêm tĩnh mạch chậm, ống 10mg, pha với NaCl 0,9%)

+ Nhóm 3: nhóm chất hỗn hợp: tanakan 40mg(liều 3 viên/ngày), Giloba 40mg(1 viên/ngày)

+ Nhóm 4: nhóm các chất giống sinh học: duxil 40mg(liều 2 viên/ ngày, cách xa mỗi lần dùng) [21].

#### ***1.1.4. Lưu lượng máu não và bệnh sinh hội chứng sa sút trí tuệ***

##### **➤ Hội chứng sa sút trí tuệ**

Sa sút trí tuệ là một hội chứng do nhiều nguyên nhân gây nên gây suy giảm nhiều khả năng nhận thức, trí nhớ, đủ để gây cản trở hoạt động hàng ngày, công việc và quan hệ xã hội [22]. Suy giảm trí nhớ là tiêu chí hàng đầu trong các tiêu chuẩn chẩn đoán SSTT. Bệnh Alzheimer(AD) là nguyên nhân phổ biến nhất của chứng mất trí nhớ, tiếp theo là sa sút trí tuệ mạch máu và sa sút trí tuệ với thể Lewy [23]. Hiện nay chưa có thuốc thay đổi được tiến trình của bệnh, các thuốc chủ yếu cải thiện các triệu chứng, hơn nữa, các thuốc điều trị sa sút trí tuệ có thể gây ra các tác dụng không mong muốn như: nôn, buồn nôn, tăng tiết acid dạ dày, chuột rút, mệt, mất ngủ [6]. Bên cạnh đó yếu tố nguy cơ có thể thay đổi của bệnh là yếu tố nguy cơ về bệnh mạch máu.

##### **Suy giảm lưu lượng máu não và bệnh sinh hội chứng sa sút trí tuệ**

Nhiều yếu tố làm tăng nguy cơ mắc bệnh tim mạch cũng liên quan đến nguy cơ phát triển AD và sa sút trí tuệ mạch máu. Những yếu tố này bao gồm hút thuốc, béo phì (đặc biệt là ở tuổi trung niên), đái tháo đường, cholesterol cao ở tuổi trung niên và tăng huyết áp ở tuổi trung niên [24], thay đổi LLMN được chứng minh là bất thường trong chứng mất trí nhớ và liên quan đến những thay đổi trong quá trình chuyển hóa glucose ở não và suy khớp thần kinh [25].

Giảm lưu lượng máu não cơ bản ~ 10–20% là một triệu chứng phổ biến của bệnh sa sút trí tuệ mạch máu xuất hiện sớm trong quá trình tiến triển của bệnh và tương quan với mức độ nghiêm trọng của suy giảm nhận thức, chức năng não đặc biệt nhạy cảm với việc giảm LLMN. LLMN giảm cũng có liên quan đến việc tăng mức độ lắng đọng amyloid và bệnh lý não nghiêm trọng hơn ở bệnh nhân sa sút trí tuệ.

Việc giảm LLMN ở bệnh nhân AD thường tương quan với sự phát triển của bệnh lý mạch máu. Bệnh mạch máu dạng tinh bột não được định nghĩa là sự lắng đọng amyloid  $\beta$  xung quanh thành mạch của các động mạch vỏ não. Người ta cho rằng bệnh mạch máu dạng tinh bột góp phần làm suy giảm khả năng điều hòa mạch máu thần kinh và dòng chảy quanh mạch bằng cách giảm tính đàn hồi của mạch, và bằng cách phá vỡ chức năng tế bào cơ trơn [15].

Vì vậy, việc sử dụng thuốc tăng cường lưu lượng máu não là một trong những biện pháp điều trị và phòng bệnh có lợi cho đối tượng bệnh nhân mắc chứng sa sút trí tuệ nói chung, sa sút trí tuệ mạch máu nói riêng.

## **1.2. Suy giảm lưu lượng máu não theo y học cổ truyền**

### **1.2.1. Bệnh danh**

Hậu quả của suy giảm lưu lượng máu não gây ra bệnh lý cho não bộ biểu hiện bằng các triệu chứng khác nhau, các triệu chứng điển hình của bệnh như: đau đầu thường mô tả trong chứng đầu thông, huyễn vựng(chóng mặt), thất miên(mất ngủ), suy giảm trí nhớ, hay quên(kiên vong).. việc sử dụng thuốc y học cổ truyền vẫn là biện chứng luận trị, tùy pháp mà lập phương, phù hợp với thể bệnh và người bệnh trên lâm sàng.

+ **Huyễn vựng:** huyễn là hoa mắt, vựng là cảm giác chòng chành ngòai thuyền (Nam dược thần hiệu – chóng mặt), (huyễn là hoa mắt, vựng là có cảm giác chòng chành như ngòai thuyền, quay chuyển không yên, gọi chung là chóng mặt) [26], nhẹ thì hết ngay khi nhắm mắt, nặng thì kèm theo buồn nôn, nôn ra mồ hôi, có thể ngã, hai triệu chứng này kết hợp với nhau gọi là huyễn

vượng. Sách Tố Vấn – Chí chân yếu Đại luận nói rằng ‘mọi chứng phong chóng mặt đều thuộc về Can’(Chư phong tác huyễn, giai thuộc vu can), chữa can là chính.

Hải thượng y tông tâm lĩnh (Y trung quan kiện) cho rằng: ‘Bệnh chóng mặt trong phong thư đều chia ra phong, hàn, thử, thấp, khí, huyết, đờm để chữa, đại ý không ngoài chữ hỏa. Âm huyết của hậu thiên hư thì hỏa động lên chân thủy của tiên thiên suy thì hỏa bốc lên, bệnh nhẹ thì chữa hậu thiên, bệnh nặng thì chữa tiên thiên gây chứng huyễn vượng’ [27].

+ Thất miên là chứng bệnh khó ngủ, không ngủ được, có thể là khi đi ngủ không ngủ được ngay, hoặc trong đêm thức giấc không ngủ lại được, lúc ngủ lúc tỉnh, thường đi kèm với chứng đau đầu, suy giảm trí nhớ, hồi hộp. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của mất ngủ thường là suy nghĩ quá độ làm tâm tỳ hư yếu, hoặc can thận âm hư làm tướng hỏa vượng, hoặc lo lắng mệt mỏi nhọc quá độ làm tâm đờm hư, hoặc đờm thấp úng trệ làm vị bất hòa. Trong chữa mất ngủ thì hư thì phải bổ, nhiệt phải thanh, đờm thì phải tiêu đạo (Nam dược thần hiệu – mất ngủ), ngoài thuốc men ra thì phải hướng dẫn bệnh nhân giữ gìn góp phần chữa bệnh [26].

+ Kiện vong: chóng quên là bỗng chốc liền quên, việc làm vừa xong là quên, lời mới nói ra đã quên (Nam dược thần hiệu – chóng quên) [26]. Như vậy, chóng quên cũng là trí nhớ kém, dễ quên việc và khó nhớ ra, vì vậy làm việc thường không đến đâu đến cuối. Về nguyên nhân gây bệnh và phép điều trị, Nam dược thần hiệu (chóng quên) ghi: ‘lo nghĩ thái quá tổn thương đến tâm, tâm đã tổn thương thì huyết hao kiệt, tâm thần không vững, lại hại đến tỳ, làm vị khí suy yếu, cho nên chữa bệnh này phát ra đều bởi hai tạng tâm và tỳ, phép chữa nên an thần dưỡng huyết, bớt tư lự trừ hư phiền, có vậy mới khỏi bệnh’. Như vậy ngoài tâm tỳ hư, thận tinh suy tổn không nuôi dưỡng được não tốt làm cho chóng quên [6].

### **1.2.2. Bệnh nguyên, bệnh cơ**

- Hải Thượng Lãn Ông trong bệnh án thứ hai của cuốn "Dương án, âm án" đã ghi chép lại tỉ mỉ quá trình chẩn đoán và điều trị cho một bệnh nhân nữ 26 tuổi, bị chứng đau đầu do âm hư, thủy suy. Theo ông, ngoài loại đau đầu thuộc chứng thực, phần lớn đau đầu thuộc chứng hư (dương hư, huyết hư và nặng hơn nữa là do thủy suy, hỏa suy).

Cách chữa theo Hải Thượng Lãn Ông, nhẹ thì bổ khí, bổ huyết; nặng hơn cần bổ thủy, bổ hỏa, gia thêm ngưư tât, ngũ vị tử. Phép điều trị của Hải Thượng Lãn Ông tuy cách đây nhiều thế kỷ nhưng phù hợp với những kết quả của nhiều công trình nghiên cứu gần đây về cơ cấu bệnh lý theo phân loại của y học cổ truyền. Ở các nhóm nghiên cứu, đa số bệnh nhân thiếu năng tuần hoàn não có trạng thái lý hư nhiệt do can huyết hư, thận âm hư [27].

- Sách Linh Khu viết ‘để nuôi dưỡng cơ thể không gì quan trọng bằng huyết’. Nếu vì một nguyên nhân nào đó làm cho huyết vận hành không thông, ứ đọng lại thì sinh ra mọi thứ bệnh.

Theo Y học cổ truyền thì tâm chủ huyết, tàng thần, thận là bể của tủy, tàng tinh sinh huyết, can tàng hồn, tỳ tàng ý, vận hóa tinh hoa thủy cốc để sinh ra huyết, các tạng này tham gia vào điều hòa huyết, dưỡng huyết, tàng huyết trong cơ thể, sự thay đổi về huyết dịch phải tìm đến căn nguyên ở tâm, can, thận, tỳ. Não tủy điều hòa, đầy đủ thì tinh thần minh mẫn sáng suốt, khí huyết vận hành thông lợi thì chân tay hoạt động linh hoạt mà không tê bì, đau nhức, đầu không đau, không choáng váng, mắt sáng tinh anh [28].

Các nguyên nhân bệnh khác nhau nhưng hậu quả cuối cùng là hao tổn huyết dịch trong cơ thể, não tủy không được nuôi dưỡng đầy đủ, khí huyết ngưng trệ, làm cho tinh thần mệt mỏi, đầu đau, hoa mắt chóng mặt, suy giảm trí nhớ, tê bì chân tay. Và điều này quan hệ mật thiết với hoạt động của các tạng tâm, can, tỳ, thận.

### **1.2.3. Thể bệnh lâm sàng, điều trị**

#### **➤ Thể can dương thượng cương**

Chứng trạng: chóng mặt, ù tai, đầu có lúc căng, khi tức giận thì đau tăng, ngủ ít, hay mơ, miệng đắng, chất lưỡi đỏ, mạch huyền

Pháp: bình can, tiềm dương, thanh hỏa, tức phong.

Phương: thiên ma câu đằng ẩm ( thiên ma 08g, đỗ trọng 12g, hoàng cầm 12g, thạch quyết minh sống 20g, ngư tử 12g, ích mẫu thảo 12g, chi tử 12g, câu đằng 16g, tang ký sinh 12g, dạ giao đằng 20g, phục thần 16g, sắc uống ngày 1 thang).

Phân tích: thiên ma, câu đằng, thạch quyết minh bình can, tiềm dương, hoàng cầm, chi tử thanh can tả hỏa, tang ký sinh bổ can thận, dạ giao đằng, phục thần dưỡng tâm, an thần, bạch thược, trần châu mẫu hỗ trợ tác dụng bình can, tiềm dương.

Nếu người bệnh đã trở lại bình thường, nên thường xuyên uống bài Kỳ cúc địa hoàng hoàn để bổ thận, duy trì kết quả lâu dài [29], [30], [31].

#### ➤ **Đàm trọc trung trở**

Chứng trạng: chóng mặt và nặng đầu, bụng ngực đầy, buồn nôn, ăn ít, ngủ li bì, người mệt mỏi nặng nề, chất lưỡi bệu, rêu lưỡi trắng bản, mạch trầm hoạt hoặc nhu hoạt

Pháp: táo thấp trừ đàm, kiện tỳ hòa vị.

Phương : Ôn đờm thang gia vị, Bán hạ bạch truật thiên ma thang (Y học tâm ngộ: bao gồm các vị thuốc: bán hạ 08 g, phục linh 12g, bạch truật 12g, thiên ma 08g, cam thảo 04g, trần bì 08g, đại táo 3 quả [30], [31].

Phân tích: bán hạ, trần bì, hóa thấp, hóa đờm giáng nghịch, chỉ nôn, bạch truật kiện tỳ táo thấp hợp với thiên ma để khứ thấp hóa đàm hết chóng mặt, bạch linh kiện tỳ thẩm thấp hợp bạch truật có thể trị cái gốc của đàm, sinh khương, đại táo, điều hòa tỳ vị, cam thảo hòa trung điều hòa các vị thuốc [30].

#### ➤ **Thận tinh bất túc**

Chứng trạng: vầng đầu, mệt mỏi, hay quên, lưng đau, gôi mỏi, tai ù, mất ngủ, di tinh, chân tay lạnh, lưỡi nhạt, mạch trầm tế

Nếu thiên về âm hư thì long bàn tay, bàn chân nóng, lưỡi đỏ, mạch tế, sác.

Nếu thiên về dương hư thì chân tay lạnh, lưỡi bệu mạch trầm tế.

Pháp: thiên về dương hư thì bổ thận trợ dương

Thiên về âm hư thì bổ thận tư âm.

Thể thận dương hư: Hữu quy hoàn ( thực địa 160g, sơn thù 40g, đỗ trọng 80g, sơn dược 80g, câu kỷ tử 80g, đương quy 80g, thỏ ty tử 80g, nhục quế 20g, phụ tử 20g, lộc giác giao 80g, tán bột làm hoàn, uống 16-20g/ngày)

Phân tích: quế nhục, phụ tử chế, lộc giác giao ôn bổ thận dương, ích tinh tủy, thực địa, sơn dược, sơn thù, câu kỷ tử, thỏ ty tử tư âm dưỡng can, bổ tỳ, đương quy bổ huyết [30].

#### ➤ **Thể khí huyết lưỡng hư**

Chứng trạng: chóng mặt, hoa mắt, váng đầu, sắc mặt nhợt, môi nhạt, móng tay móng chân nhạt, hồi hộp, mất ngủ, mệt mỏi, ngại nói, biếng ăn, lưỡi nhợt, mạch tế nhược

Pháp: Bổ khí huyết, kiện tỳ vị

Phương: Quy tỳ thang gia vị (Nhân sâm 10g, bạch truật 10g, hoàng kỳ 10g, toan táo nhân 04 g, bạch linh 08g, đương quy 04g, mộc hương 02g, viễn chí 04g, long nhãn 10g, cam thảo 02g, sắc uống ngày 1 thang)

Phân tích: trong bài có tứ quân thang bổ khí, kiện tỳ, bài đương quy bổ huyết thang để bổ khí huyết, long nhãn, táo nhân dưỡng tâm, an thần, viễn chí giao thông tâm thận và định chí ninh tâm. Mộc hương lý khí, tỉnh tỳ, sinh khương, đại táo điều hòa tỳ vị [29],[30].

Nếu thiên về hư hàn, chân tay lạnh, ỉa chảy: thêm nhục quế, can khương để ôn trung trợ dương. Nếu mất máu nhiều, khí theo huyết thoát, chân tay lạnh đỏ mề hôi, mạch vi, nhược nhanh, phải hồi dương cứu thoát, dùng bài sâm phụ long lệ thang gia vị.

Châm cứu: huyết chính: ế phong, nội quan, phong trì, thái xung, thính cung. Kích thích mạnh vừa về kim liên tục 10-30 phút, mỗi ngày châm 1 lần, 5-7 ngày là một liệu trình [32].

### **1.3. Tình hình nghiên cứu thuốc y học cổ truyền có tác dụng tăng lưu lượng máu não.**

#### **1.3.1. Một số nghiên cứu trên thế giới:**

- Nobuhiro Watanabe et al (2021): Influence of Intragastric Administration of Traditional Japanese Medicine, Ninjin'Yoeito, on Cerebral Blood Flow via Muscarinic Acetylcholine Receptors(ảnh hưởng của việc dùng thuốc y học cổ truyền nhật bản, Ninjin'Yoeito, đối với lưu lượng máu não thông qua các thụ thể Muscarine Acetylcholine). Kết quả: Ninjin'Yoeito kích hoạt hệ thống cholinergic trong não và tăng LLMN [33].

- Ji Hyun Kim et al (2011). The Traditional Herbal Medicine, Dangkwisoo-San, Prevents Cerebral Ischemic Injury through Nitric Oxide-Dependent Mechanisms(Thuốc thảo dược truyền thống, Dangkwisoo-San, ngăn ngừa tổn thương do thiếu máu cục bộ não thông qua các cơ chế phụ thuộc vào Nitric Oxide). Kết quả: LLMN khi nghỉ ngơi được tăng lên trong vỏ não ở những con chuột được điều trị bằng 100–300  $\mu$ g/kg DS [34].

- Ping Huang (2012). Cerebralcare Granule attenuates blood–brain barrier disruption after middle cerebral artery occlusion in rats(Cerebralcare Granule làm giảm sự phá vỡ hàng rào máu não sau khi tắc động mạch não giữa ở chuột). Kết quả: Điều trị bằng Cerebralcare Granule là một loại thảo dược Trung Quốc cải thiện lưu lượng máu não, điều trị bằng Cerebralcare Granule giúp giảm nhồi máu não và suy giảm thần kinh [35].

- Yangmei Huang (2018). Chinese Herbal Medicine Xueshuantong Enhances Cerebral Blood Flow and Improves Neural Functions in Alzheimer's Disease Mice (Thuốc thảo dược Trung Quốc Xueshuantong tăng cường lưu lượng máu não và cải thiện chức năng thần kinh ở chuột mắc bệnh



Alzheimer). Kết quả: tiêm Xueshuantong đã làm tăng lưu lượng máu não ở chuột biến đổi gen . Xueshuantong giúp cải thiện khả năng học tập không gian, trí nhớ và hiệu suất vận động ở chuột, cho thấy chức năng và độ dẻo của thần kinh được cải thiện [36].

### 1.3.2. Các nghiên cứu ở Việt Nam

- Vũ Văn Đại, Trần Văn Chiến. Bước đầu đánh giá tác dụng điều trị thiếu máu não mạn tính của viên nang cerecaps. Kết quả: Thuốc có tác dụng cải thiện các triệu chứng lâm sàng chính: Đau đầu giảm 73,52%, chóng mặt giảm 70,58%, rối loạn giấc ngủ giảm 62,06% với ( $p < 0,05$ ). Số điểm lâm sàng của thiếu máu não mạn tính theo bảng điểm Khajiev trước điều trị giảm từ  $28,24 \pm 2,47$  xuống còn  $12,48 \pm 1,25$ . Mức độ hồi phục lâm sàng được cải thiện với tỷ lệ 79,41%. Trên lưu huyết não, tăng lưu lượng máu lên não[37].

- Trần Danh Tiến Thịnh (2021). Đánh giá hiệu quả điều trị của kiện não an thần đan trên bệnh nhân thiếu máu não mạn tính. Kết quả: Trước điều trị có 53(91.4%) bệnh nhân chóng mặt, 100% đau đầu, 55(94.8%) mất ngủ, rối loạn cảm xúc 13(22.4%) và rối loạn trí nhớ 20 (34.5%) bệnh nhân. Sau điều trị 15 và 30 ngày điều trị, triệu chứng chóng mặt cải thiện tốt, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Sau 15 ngày sử dụng chế phẩm, điểm Khadjev giảm trung bình 12,8 điểm so với trước điều trị. Sau 30 ngày điều trị điểm Khadjev giảm trung bình 17.2 điểm so với trước điều trị. Kiện não an thần đan có tác dụng dưỡng tâm an thần, hành khí hoạt huyết và được chỉ định trên các bệnh nhân thể khí trệ huyết ứ do vậy kết quả điểm Khadjev của bệnh nhân được cải thiện rõ ràng sau 15 và 30 ngày sử dụng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ , các vị thuốc trong bài thuốc kiện não an thần đan có tác dụng cải thiện tuần hoàn não bộ, ngăn chặn quá trình ngưng tập tiểu cầu, cải thiện vi tuần hoàn từ đó làm tăng lưu lượng tuần hoàn não [38].

- Nguyễn Văn Toại (2010). ‘Đánh giá tác dụng của cao thông u trên lâm sàng và xét nghiệm trong điều trị thiếu năng tuần hoàn sùng nên do thoái hóa

cột sống cổ'. Kết quả: sau 30 ngày điều trị các triệu chứng lâm sàng (nhức đầu, chóng mặt, mệt mỏi, giảm trí nhớ, rối loạn giấc ngủ, đau cổ vai) được cải thiện rõ rệt có ý nghĩa với  $p < 0,05$ . Cao thông u có tác dụng cải thiện các triệu chứng lâm sàng như nhức đầu, chóng mặt, mệt mỏi, giảm trí nhớ, mất ngủ, đau cổ vai gáy một cách có ý nghĩa với  $p < 0,05$ . Sở dĩ có được tác dụng này là nhờ công dụng của bài thuốc có tác dụng bổ khí huyết, thông mạch, hoạt huyết, dưỡng não, tiêu viêm, chỉ thống, bổ can thận do vậy có tác dụng điều phối hoạt động của tuần hoàn huyết mạch, tăng lưu lượng máu lên não cho nên có tác dụng cải thiện nhiều các triệu chứng nêu trên. Cao thông u có tác dụng cải thiện trí nhớ, độ tập trung, tăng khả năng tư duy sau điều trị một cách có ý nghĩa là nhờ tác dụng tăng cường hoạt huyết dưỡng não của bài thuốc, tăng chất lượng huyết dịch nhờ công dụng bổ khí dưỡng huyết [39].

#### **1.4. Tình hình nghiên cứu thuốc y học cổ truyền có tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ**

##### **1.4.1. Một số nghiên cứu trên thế giới**

- Yueh -Ting Tsai, Shung -Te Kao, Chin – Yi Cheng (2022). Medicinal Herbs and Their Derived Ingredients Protect against Cognitive Decline in In Vivo Models of Alzheimer's Disease (Dược liệu và các thành phần có nguồn gốc của chúng bảo vệ chống lại sự suy giảm nhận thức trong các mô hình in vivo của bệnh Alzheimer). Kết quả: Dược liệu và các thành phần dẫn xuất của chúng bảo vệ chống lại sự suy giảm nhận thức do A $\beta$  gây ra bằng cách ức chế tích tụ A $\beta$ , stress oxy hóa, tăng phosphoryl hóa protein TAU [40].

- Seong Gak Jeon et al (2019). Traditional Oriental Medicines and Alzheimer's Disease (thuốc y học cổ truyền và bệnh Alzheimer). Kết quả: Yi gan San đơn thuốc y học cổ truyền có tác dụng tăng cường khả năng học tập, ghi nhớ chuột trên mô hình mê cung nước, giảm lo lắng, tăng vận động ở chuột, Yi gan San ngăn chặn sự tổng hợp A $\beta$  trong ống nghiệm [41].

- Ai Nogami – Hara et al (2018). The Japanese Angelica acutiloba root and yokukansan increase hippocampal acetylcholine level, prevent apoptosis and improve memory in a rat model of repeated cerebral ischemia( đương quy Nhật Bản và yokukansan làm tăng mức độ acetylcholine vùng đồi thị, ngăn ngừa quá trình chết theo chương trình và cải thiện trí nhớ trong mô hình chuột bị thiếu máu não mạn tính): đương quy bảo vệ thần kinh góp phần vào tác dụng cải thiện trí nhớ và bảo vệ thần kinh của YKS [42].

- Qianlin Zhang và cộng sự (2013). Tác dụng của chiết xuất Gougi đối với việc học mê cung Morris trong mô hình chuột biến đổi gen kép APP/PS1 của bệnh Alzheimer. Kết quả đã chứng minh rằng điều trị dược lý bằng chiết xuất câu kỷ giúp cải thiện hành vi học tập và ổn định trí nhớ ở những con chuột già Alzheimer. Cơ chế này có thể liên quan đến việc điều chỉnh giảm tích lũy beta amyloid trong não [43].

- Swati Halder và cộng sự (2021). Thuốc thảo dược và các sản phẩm có hoạt tính sinh học tự nhiên như phương pháp trị liệu tiềm năng: Đánh giá về quan điểm thúc đẩy nhận thức và tăng cường trí não Thạch xương bồ tăng cường hệ thần kinh và tăng trí nhớ người [44].

#### **1.4.2. Các 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. Kết quả 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 [45].

- 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. 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 [46].

- Trần Hoàng Phi Yên, Dương Phước An, Nguyễn Ngọc Khôi và cộng sự (2012). Tác dụng kháng cholinesterase của Actiso, Trà xanh và Hương nhu tía liên quan đến khả năng chống suy giảm trí nhớ trên chuột nhắt trắng. Kết quả: Cao chiết Actiso có tác dụng kháng AchE và có cải thiện trí nhớ trên chuột tiêm trimethyltin trên mô hình MWM [47].

- Nguyễn Thị Thu Hương (2006). Tác dụng của cao mềm chiết cồn từ Rau đắng biển trên khả năng học tập, ghi nhớ, nhận thức. Kỷ yếu công trình khoa học và công nghệ 2001- 2005, kết quả: Cao chiết cồn từ Rau đắng biển có tác dụng cải thiện trí nhớ trên chuột nhắt tiêm scopolamin trên mô hình PAT và MWM [48].

## 1.5. Tổng quan về bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị

### 1.5.1. Thành phần bài thuốc

Bài thuốc bao gồm các vị thuốc sau [49], [50], [51]:

Vị thuốc	Tên khoa học	Tính vị quy kinh	Tác dụng	Liều lượng
Sinh Hoàng kỳ	<i>Radix Astragali</i>	Vị ngọt, tính ấm, vào phế tỳ	Bổ khí, cố biểu	120g
Đương quy vĩ	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	Vị ngọt hơi đắng, tính ấm, vào tâm can tỳ	Bổ huyết hoạt huyết	6 g
Xích thược	<i>Radix Paeoniae</i>	Vị đắng, tính hơi hàn, vào can tỳ	Hoạt huyết khứ ứ, dưỡng âm	4,5 g
Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>	Vị cay tính ấm, vào can, tâm bào	Hoạt huyết, hành khí	3 g

Đào nhân	<i>Semen Pruni</i>	Vị đắng ngọt, tính bình, vào can thận	Hoạt huyết, khứ ứ	3 g
Hồng hoa	<i>Flos Carthami</i>	Vị cay tính ấm, vào tâm, can	Hoạt huyết khứ ứ	3 g
Địa long	<i>Pheretima Asiatica</i>	Vị mặn tính hàn, vào tỳ vị can thận	Thông lạc bình can, trấn kinh lợi niệu tiêu viêm	3 g
Kê huyết đằng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	Vị khô, cam, tính ôn, vào các kinh can, thận	Hoạt huyết thông lạc, bổ huyết	20 g
Nữ trinh tử	<i>Ligustrum lucidum Ait.</i>	Vị khô, tính bình vào các kinh can, thận	Bổ can thận, minh mục, mạnh gân xương	15 g
Hạ liên thảo	<i>Herba Ecliptae</i>	Vị cam, toan, tính lương, quy kinh can, thận	Bổ thận âm	15 g
Đan sâm	<i>Radix et Rhizoma Salviae multiorrhizae</i>	Vị khô, tính hàn, vào các kinh tâm, can	Hoạt huyết, thông kinh, giảm đau, thanh tâm lương huyết	15 g



**Hình 1.1. Hình ảnh các vị thuốc trong bài thuốc BDHNTGV**

### 1.5.2. Phân tích bài thuốc

Bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang của danh y Vương Thanh Nhậm (1768-1831), nằm trong sách Y lâm cải thác (1830) của ông [52]. Bài thuốc có công năng: bổ khí, hoạt huyết, thông lạc.

Bài thuốc bao gồm các vị thuốc:

- Sinh hoàng kỳ, đương quy vĩ, xích thược, xuyên khung, đào nhân, hồng hoa, địa long [51].

Tác dụng dược lý toàn bài: theo tài liệu Phương tễ học của Học viện Trung y Bắc Kinh, bài thuốc có tác dụng giãn mạch, chống co thắt cơ trơn, hạ huyết áp, chống ngưng tập tiểu cầu, tăng lưu lượng động mạch vành, tăng khả năng co bóp cơ tim, hạ lipid máu, giảm đề kháng insuline, kháng viêm, tăng cường miễn dịch, phục hồi tổn thương thần kinh [53].

Chủ trị chứng: bán thân bất toại, méo mồm, lệch mắt, nói khó, chảy dãi, đái nhiều hoặc đái dầm, rêu lưỡi trắng, mạch hoãn [30].

Ứng dụng lâm sàng ngày nay dùng điều trị các bệnh mạch máu não, liệt thần kinh mặt, di chứng bệnh bại liệt, di chứng sau chấn thương não, đau dây thần kinh tọa, viêm dây thần kinh, khí phế thũng... [30].

Trên cơ sở bài thuốc BDHNT gia thêm các vị thuốc: Kê huyết đằng, đan sâm, nữ trinh tử, hạn liên thảo. Trong đó:

- Kê huyết đằng: vị khô, cam, tính ôn, quy kinh can, thận. Tác dụng: hoạt huyết thông lạc, bổ huyết.
- Đan sâm: vị khô, tính hàn, quy kinh can, tâm. Tác dụng: Hoạt huyết, thông kinh, giảm đau, thanh tâm lương huyết.
- Nữ trinh tử: vị khô, tính bình, vào các kinh can, thận. Tác dụng: Bổ can thận, minh mục, mạnh gân xương.

- Hạn liên thảo: vị cam, toan, tính lương, quy kinh can, thận. Tác dụng: Bổ thận âm.

Phân tích bài thuốc: Hoàng kỳ dùng làm quân với liều cao để bổ khí của tỳ vị, làm cho khí vượng, thúc đẩy huyết hành, khứ huyết ứ mà không làm hại đến chính khí thích hợp với những bệnh nhân thể bệnh khí hư, huyết ứ. Quy vĩ làm thần vừa hoạt huyết, khứ ứ song không làm hại huyết, trợ lực cho tác dụng hoạt huyết khứ huyết ứ của hoàng kì. Xích thực vị đắng, tính mát, lương huyết, thúc đẩy tuần hoàn máu và trừ huyết ứ trợ lực cho tác dụng của hoàng kì, quy vĩ. Đào nhân, hồng hoa hoạt huyết hóa ứ, đan sâm hoạt huyết, chỉ thống, hoạt huyết tạng phủ, kê huyết đằng hoạt huyết, khứ ứ thông lạc, nữ trinh tử, hạn liên thảo vị ngọt, lương, mát huyết, nhuận huyết, bổ thận âm, địa long thông kinh hoạt lạc, lợi niệu, tiêu viêm. Các vị thuốc trên cùng làm tá, sứ hỗ trợ tác dụng bổ khí, hoạt huyết, thông lạc cho hoàng kì, đương quy vĩ [30], [51]. Hai vị thuốc nữ trinh tử, hạn liên thảo phối hợp với nhau có tác dụng tốt trong việc dưỡng huyết, hoạt huyết, khi gia thêm hai vị thuốc trên, bài thuốc sẽ gia tăng tác dụng hoạt huyết thúc đẩy tuần hoàn máu não, thích hợp dùng điều trị cho đối tượng bệnh nhân có suy giảm lưu lượng máu não mạn tính.

Toàn bài sau khi gia vị có tác dụng: bổ khí huyết, hoạt huyết thông lạc, bổ thận âm.

### **1.5.3. Các nghiên cứu về bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang và các nghiên cứu về các vị thuốc trong cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị.**

#### **➤ Các nghiên cứu về bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang**

- Xu Jin , Chen , Xinwang Li Lili (2022). Hiệu quả lâm sàng của Xingnao Kaiqiao châm cứu kết hợp với nước sắc bổ dương hoàn ngũ thang trong điều trị bệnh nhân nhồi máu não do khí hư và huyết ứ giai đoạn hồi phục. Kết quả: Kết quả: sau 4 tuần điều trị, mức độ nhót huyết tương, độ nhót máu toàn

phần và hematocrit ở nhóm điều trị thấp hơn so với nhóm chứng và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Kết luận Xingnao Kaiqiao châm cứu kết hợp với Buyang Huanwu sắc trong giai đoạn phục hồi của nhồi máu não do khí hư và huyết ứ có hiệu quả điều trị đáng kể, cải thiện các chỉ số huyết học và suy nhược thần kinh, và có độ an toàn cao[54].

- Chao Jiang et al (2020). Effects and safety of Buyang-Huanwu Decoction for the treatment of patients with acute ischemic stroke: A protocol of systematic review and meta-analysis(Tác dụng và độ an toàn của Thuốc sắc Buyang-Huanwu trong điều trị bệnh nhân đột quỵ do thiếu máu cục bộ cấp tính): thuốc sắc Buyang Huanwu an toàn và hiệu quả trong điều trị bệnh nhân đột quỵ thiếu máu cục bộ cấp tính[55].

- Xu Sheng, Hua Wenjin (2020). Tiến độ nghiên cứu Thuốc sắc Buyang Huanwu trong điều trị bệnh thần kinh ngoại biên do tiểu đường. Kết quả: thuốc sắc Bổ dương hoàn ngũ thang có thể cải thiện khả năng miễn dịch của cơ thể tại đồng thời giảm độ nhớt của máu một cách hiệu quả, cải thiện lưu lượng máu vi tuần hoàn, giảm thiếu máu cục bộ và thiếu oxy của các dây thần kinh bị tổn thương [56].

- Jian Shen et al (2020). Nước sắc Bổ dương hoàn ngũ thang thúc đẩy quá trình hình thành mạch máu sau khi thiếu máu cục bộ não bằng cách ức chế con đường Nox4/ROS. Kết quả: nước sắc bổ dương hoàn ngũ cải thiện đáng kể chức năng thần kinh, bao gồm các khiếm khuyết về thần kinh, khả năng học tập và trí nhớ trong không gian, đồng thời tăng đáng kể mật độ vi mạch và lưu lượng máu não do thiếu máu cục bộ sau tổn thương do thiếu máu cục bộ/tái tưới máu não ở chuột [57].

- Nguyễn Minh Hà (2010): Nghiên cứu tác dụng điều trị nhồi máu não sau giai đoạn cấp của bài thuốc bổ dương hoàn ngũ thang. kết quả cho thấy, trên lâm sàng, ý thức của bệnh nhân được cải thiện rõ rệt, khả năng sinh hoạt độc lập của bệnh nhân (điểm Barthel) sau điều trị tăng lên 30,81 điểm; tình trạng



lâm sàng (điểm Orgogozo) sau điều trị tăng lên 33,42 điểm. Kết quả chung: khởi 16,13%, đỡ nhiều 67,74%, đỡ ít 16,13%, tương đương nhóm dùng Cebrex [9].

➤ **Các nghiên cứu về các vị thuốc trong cao lỏng bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị:**

Hiện nay chưa có một nghiên cứu nào đánh giá tác dụng tăng lưu lượng máu não, tác dụng cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ của cao lỏng bổ dương hoàn ngũ thang gia vị nêu trên. Tuy nhiên một số vị dược liệu trong bài thuốc đã được các nhà nghiên cứu khảo sát tác dụng tăng lưu lượng máu não và cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ trên động vật thực nghiệm .

- Pinghuang et al (2022). Những tiến bộ gần đây trong y học thảo dược Trung Quốc đối với tổn thương tái tưới máu não. Kết quả: hồng hoa có chức năng loại bỏ huyết ứ và thúc đẩy lưu thông máu, được sử dụng để điều trị bệnh tim mạch vành và huyết khối não. Hoàng kỳ: có tác dụng bảo vệ thần kinh chống lại tổn thương tái tưới máu não do thiếu máu cục bộ (CI/RI) thông qua việc giảm stress oxy hóa, quá trình chết theo chương trình và viêm nhiễm [58].

- Xu Sheng, Hua Wenjin (2020). Tiến độ nghiên cứu của nước sắc Buyang Huanwu trong điều trị bệnh thần kinh ngoại biên do bệnh tiểu đường. Hoàng kỳ có tác dụng tăng cường khả năng miễn dịch, kiểm soát lượng đường trong máu và cải thiện lưu thông máu, cải thiện tình trạng kháng insulin, tăng cường độ nhạy insulin, điều chỉnh chuyển hóa lipid và rối loạn chuyển hóa glucose, đồng thời ức chế phản ứng viêm, có thể kiểm soát hiệu quả sự phát triển của bệnh tiểu đường và điều chỉnh bệnh lý thần kinh. Xích thược vị đắng, tính lương, lương huyết, thúc đẩy tuần hoàn máu, là một loại thuốc y học cổ truyền Trung Quốc có tác dụng giảm đau, có tác dụng giảm đau nhất định đối với đau nội tạng và đau hệ thần kinh trung ương. Xuyên

khung có tác dụng thúc đẩy tuần hoàn máu và loại bỏ huyết ứ, xuyên khung có tác dụng nhất định trong việc giảm tổn thương nội mô mạch máu và giảm hoạt động của thrombin, giãn mạch máu. Đương quy có tác dụng dưỡng huyết điều kinh, thúc đẩy quá trình tuần hoàn máu, giảm đau, là một vị thuốc dưỡng huyết quan trọng. Đào nhân là một loại thuốc quan trọng để thúc đẩy tuần hoàn máu và loại bỏ huyết ứ, vì đào nhân có tác dụng làm giãn mạch máu, ở một mức độ nhất định có thể làm tăng lưu lượng máu đến các mô xung quanh và cải thiện rối loạn tuần hoàn máu. [56].

- Theo Cheng L.L. và cộng sự (2011), Z-ligustilid chiết xuất từ Đương quy cải thiện trí nhớ trên chuột nhắt trắng gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin trên mô hình MWM và Y- maze đồng thời có tác dụng ức chế AchE [59].

- Theo tác giả Z. Lin và cộng sự (2005), đã nghiên cứu một bài thuốc YHCT gồm 3 vị dược liệu: Đương quy, 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 [60].

### **1.6. Mô hình gây giảm lưu lượng máu não**

Thiếu máu não mạn tính và sa sút trí tuệ mạch máu – dạng sa sút trí tuệ phổ biến thứ hai sau Alzheimer, cùng có cơ chế bệnh là giảm tưới máu não mạn tính. Tuy nhiên, ở sa sút trí tuệ mạch máu còn có các nguyên nhân khác như bệnh mạch máu não nhỏ, chứng sa sút trí tuệ do nhồi máu nhiều lần; nhồi máu chiến lược (nghĩa là nằm ở vùng não quan trọng về mặt chức năng), xuất huyết/xuất huyết vi thể; bệnh lý mạch máu (bao gồm bệnh lý mạch máu dạng bột não), bệnh lý mạch máu di truyền (ví dụ bệnh động mạch chi phối nhiễm sắc thể não với nhồi máu dưới vỏ và bệnh não chất trắng). Không có mô hình động vật đơn lẻ nào có thể sao chép tất cả các cơ chế đó.

Các mô hình giảm tưới máu não mạn tính có thể được tạo ra do tắc động mạch cảnh chung (CCA) hai bên ở chuột, hẹp CCA hai bên ở chuột, phẫu thuật CCA không đối xứng ở chuột, và động mạch cảnh trong hai bên và tắc động mạch đốt sống trái (tắc mạch ba mạch máu; 3VO) ở loài linh trưởng không phải người [61].

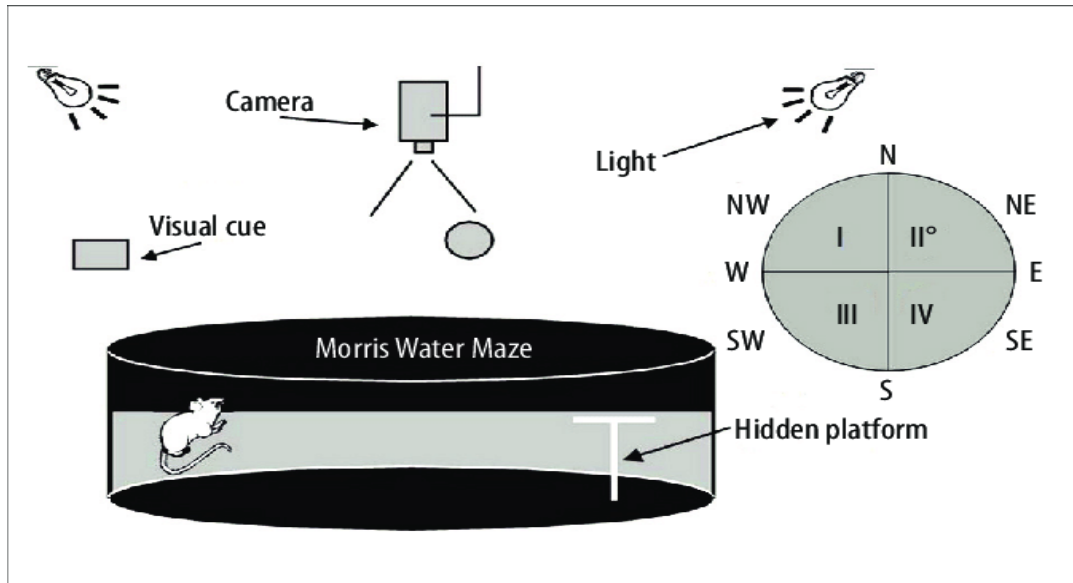
Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn mô hình gây giảm lưu lượng máu não bằng thắt động mạch cảnh chung hai bên.

### **1.7. Một số mô hình đánh giá tác dụng trên khả năng học tập ghi nhớ trên động vật thực nghiệm**

#### **❖ *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 có 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 dấu đi, hoặc thay đổi vị trí xuất phát của chuột [45],[46].

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(hình 1.1) [46], [62]

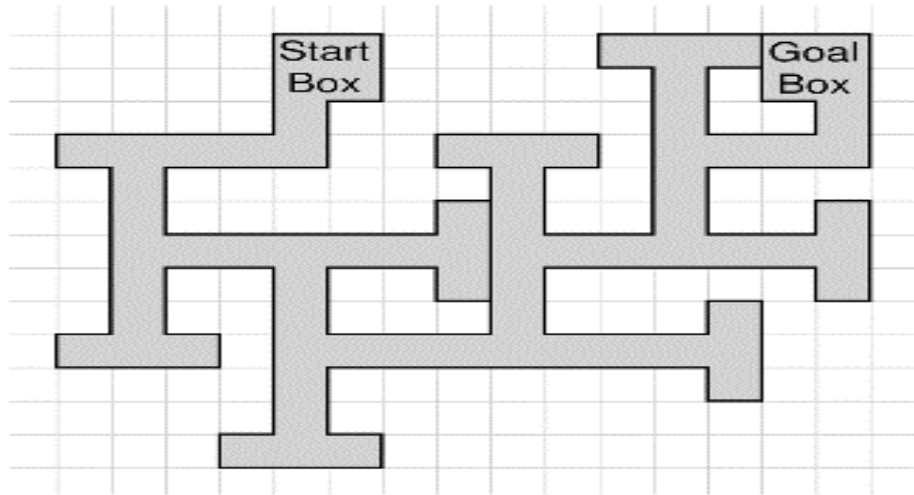


**Hình 1.2. Cấu tạo mê cung nước Morris**

❖ **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 [62].

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 8cm. (như hình 1.2) [45].



**Hình 1.3. 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) [62], [63].

❖ **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 [45], [64].

❖ **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 [62],[65].

Ngoài ra còn một số mô hình khác như: mê cung chữ Y [62], mô hình đánh giá trí nhớ mùi... cũng được sử dụng để nghiên cứu.

## CHƯƠNG 2:

### CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Chất liệu nghiên cứu

##### 2.1.1. Cao lỏng nghiên cứu

Cao lỏng bài thuốc **Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị**, gồm:

Vị thuốc	Tên khoa học	Liều lượng
Sinh Hoàng kỳ	<i>Radix Astragali</i>	120g
Đương quy vĩ	<i>Radix Angelica sinensis</i>	6 g
Xích thược	<i>Radix Paeoniae</i>	4,5 g
Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>	3 g
Đào nhân	<i>Semen Pruni</i>	3 g
Hồng hoa	<i>Flos Carthami</i>	3 g
Địa long	<i>Pheretima Asiatica</i>	3 g
Kê huyết đằng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	20 g
Nữ trinh tử	<i>Ligustrum lucidum Ait.</i>	15 g
Hạn liên thảo	<i>Herba Ecliptae</i>	15 g
Đan sâm	<i>Radix et Rhizoma Salviae multiorrhizae</i>	15 g

Tất cả các vị thuốc trong cao lỏng đều được bào chế theo tiêu chuẩn dược điển Việt Nam V, đạt tiêu chuẩn cơ sở [66].

**Liều dùng dự kiến trên người:** sắc uống 1 thang/ngày, tương đương với 207,5g dược liệu/người/ngày.

Một người trung bình nặng 50kg. Do đó liều dùng trung bình trên người là 207,5g dược liệu/50kg/ngày, tương đương 4,15g dược liệu/kg/ngày. Hệ số ngoại suy của chuột nhất là 12 lần liều trên người [45] [67]. Vậy, liều dùng trên chuột nhất thí nghiệm là 49,8g dược liệu/kg/ngày.

Trong nghiên cứu sử dụng 2 mức liều: liều 1 là liều dự kiến có tác dụng **49,8g/kg /ngày** (tương đương liều lâm sàng qui đổi sang chuột).

**Liều 2** là liều cao gấp 3 lần liều 1, mức liều là **149,4g/kg/ngày** (gấp 3 lần liều lâm sàng qui đổi sang chuột)

Bài thuốc được sắc bằng máy sắc thuốc tự động của Hàn Quốc, tại khoa Dược Bệnh viện Tuệ Tĩnh, thành cao lỏng 2:1 (1ml cao tương ứng 2g dược liệu). Cao chiết tiếp tục được cô đặc bằng cô quay chân không thành cao 4:1, cất giữ trong chai kín để trong ngăn mát tủ lạnh. Khi cho chuột uống cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị (viết tắt là BDHNTGV) được lắc cho dược chất phân tán đều, sau đó pha loãng với nước cất đến tỷ lệ phù hợp để cho chuột uống cưỡng bức bằng kim cong đầu tù chuyên dụng.

### 2.1.2. Hóa chất dùng trong nghiên cứu

- Thuốc tham chiếu: Ginko biloba, Tanakan (Ipsen, Pháp).
- Nước muối 0,9% chai 500ml (B.Braun, Việt Nam).
- Cồn 96 độ .
- Halothane 2%

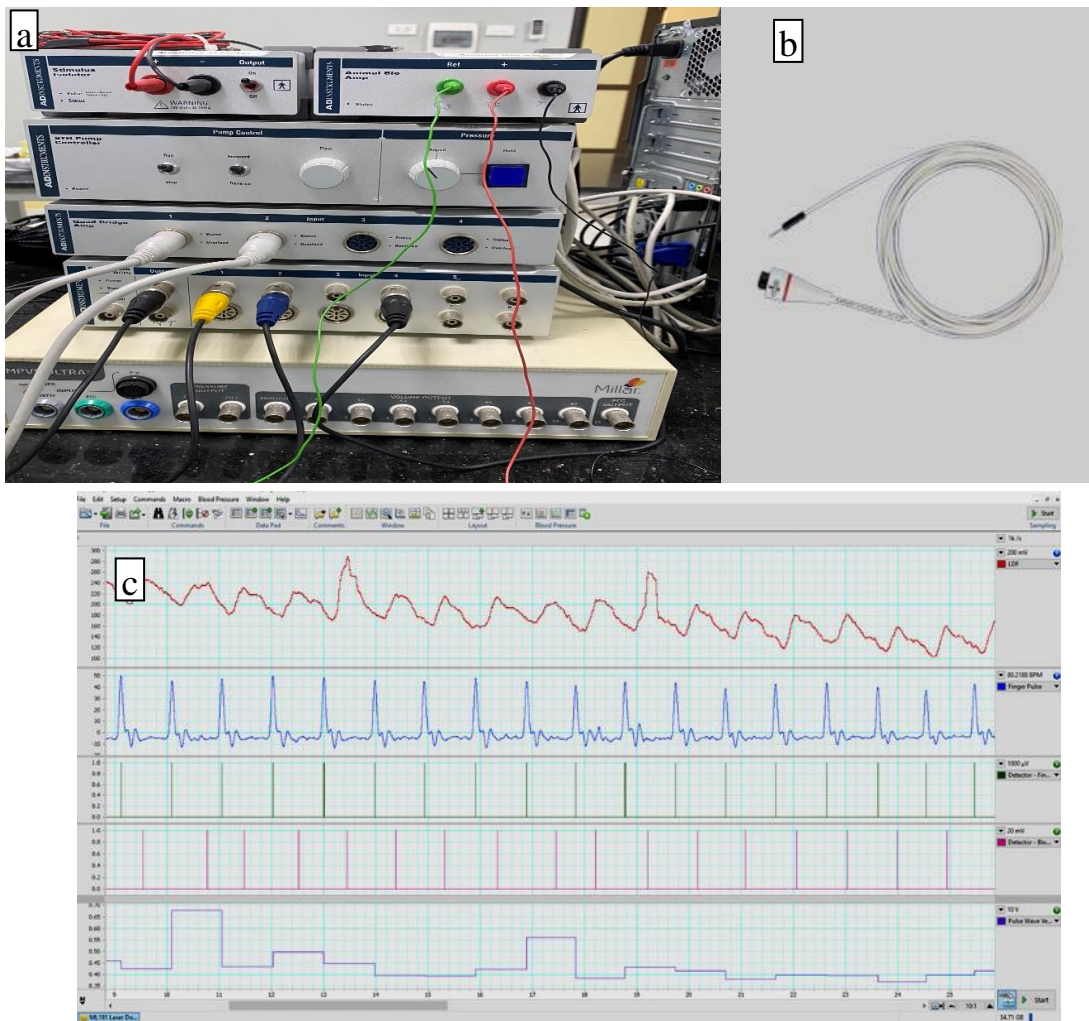
### 2.1.3. Dụng cụ và trang thiết bị nghiên cứu

- Các thiết bị nghiên cứu thần kinh: Mê cung nước Morris, mê lộ nhiều chữ T
- Cân phân tích Sartorius, độ chính xác  $10^{-4}$ g .
- Thiết bị gây mê đường hô hấp dành cho động vật nhỏ (Ugo Basile).
- Kim cong đầu tù chuyên dụng cho chuột uống thuốc (Nhật Bản).
- Microcoils đường kính trong (ID) 0,18 mm, bước đệm 0,50 mm và tổng chiều dài 2,5 mm (Wuxi Samini Co., Ltd. (Wuxi, China).
- Phần mềm phân tích kết quả Anymaze, Công ty US Biotech, Hoa Kỳ.
- Hệ thống Powerlab cùng thiết bị đo blood flow metry, với đầu đo Laser Doppler needle probes MNP100XP-3/10 và phần mềm thu thập và xử lý số liệu (Australia).
- Bơm tiêm và một số thiết bị, dụng cụ phụ trợ khác.

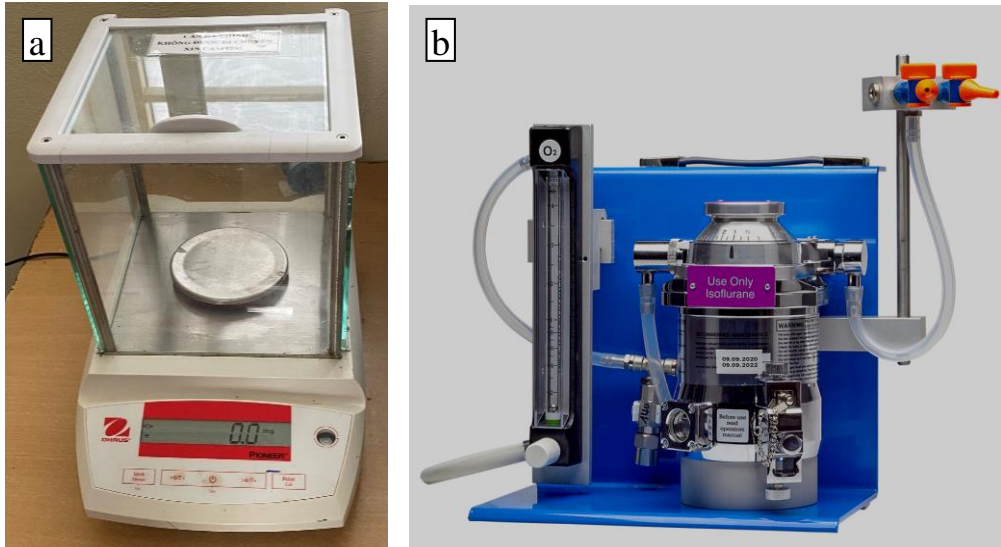




**Hình 2.1. Hình ảnh cho chuột nhắt trắng uống thuốc (a) bằng kim cong đầu tù chuyên dụng (b)**



**Hình 2.2.** Hình ảnh hệ thống Powerlab (a) cùng thiết bị đo blood flow metry với đầu đo Laser Doppler needle probes MNP100XP-3/10 (b) và phần mềm thu thập và xử lý số liệu (c).



**Hình 2.3.** Hình ảnh cân phân tích Sartorius 10<sup>-4</sup>g (a) và thiết bị gây mê dùng cho động vật nhỏ - Compact Gas Anesthesia System (b)

## 2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss trưởng thành dùng trong nghiên cứu, cả 2 giống, số lượng: 50 con, khoẻ mạnh, cân nặng  $20 \pm 2$ g.



**Hình 2.4.** Chuột nhắt trắng chủng 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, Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân Y
- Thời gian: tháng 08/2022 – 03/2023

### **2.4. Phương pháp nghiên cứu:**

#### **2.4.1. Phẫu thuật gây giảm lưu lượng máu não trên chuột nhắt trắng**

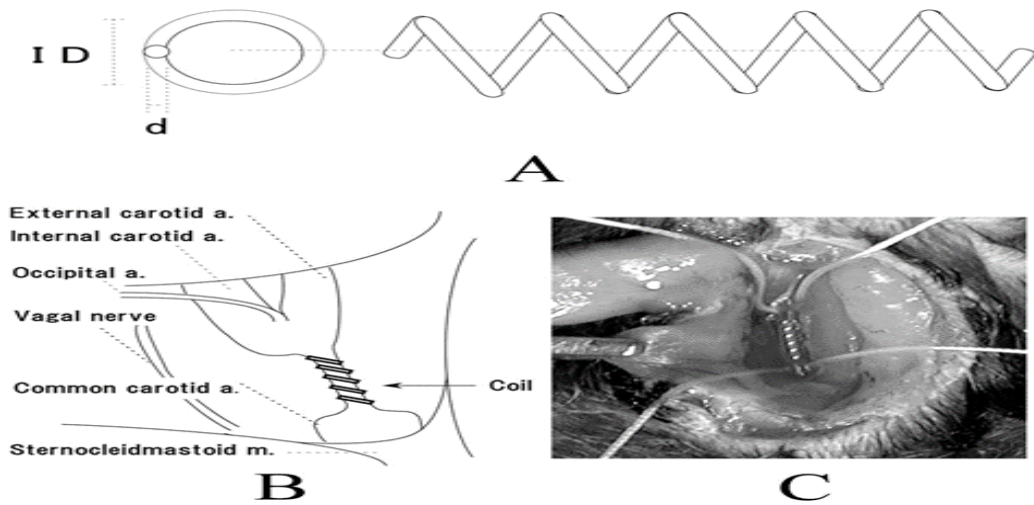
Nghiên cứu được tiến hành trên chuột nhắt trắng chủng Swiss. Tiến hành gây giảm lưu lượng máu não bằng cách gây hẹp 2 động mạch cảnh chung của chuột nhắt theo phương pháp mô tả bởi Washida và cộng sự (2019) [68], có cải tiến.

#### **❖ Phương pháp tiến hành:**

Chuột được gây mê bằng halothane 2% bằng thiết bị gây mê đường hô hấp dành cho động vật nhỏ. Rạch da vùng giữa cổ bộc lộ động mạch cảnh chung (CCA) 2 bên. Hai sợi chỉ khâu 4.0 được đặt vòng qua CCA bên phải ở đầu xa và đầu gần. Sau đó, động mạch được nhẹ nhàng nâng lên bằng những chỉ khâu này và đặt kẹp vào khe của microcoil ở ngay dưới chỗ phân đôi của động mạch cảnh. Microcoil được xoắn lại bằng cách xoay nó xung quanh CCA. Sau 30 phút, một microcoil khác có cùng kích thước được xoắn xung quanh CCA bên trái (Hình 2.3). Nhiệt độ trực tràng được duy trì trong khoảng 36,5°C đến 37,5°C. Tỷ lệ sống sót sau 1 tuần sau khi phẫu thuật là 83% [68].

Ngoài ra, với các chuột làm chứng phẫu thuật, chuột được tiến hành các bước phẫu thuật tương tự như trên, nhưng sau khi hai sợi chỉ khâu 4.0 được đặt vòng qua CCA bên phải ở đầu xa và đầu gần, tiến hành nâng nhẹ động mạch lên bằng chỉ khâu lần 1 và sau đó 30 phút lại nâng nhẹ động mạch lên lần 2 nhưng cả hai lần đều không dùng microcoil để gây hẹp động mạch cảnh mà sau lần 2 thì rút chỉ ra và khâu vết mổ lại. Với các chuột làm chứng phẫu thuật, tỷ lệ sống sót sau 1 tuần sau khi phẫu thuật là 100% [68].

7 ngày sau khi chuột hồi phục vết mổ, bắt đầu phân lô nghiên cứu, cho uống thuốc theo phân lô và tiến hành các thử nghiệm đánh giá trên chuột.



**Hình 2.5. Microcoils (A) (B và C) và quá trình gây hẹp động mạch cảnh chung (B, C). Microcoil được làm từ dây đàn piano (d; đường kính dây 0,08 mm) với đường kính trong (ID) 0,18 mm, bước đệm 0,50 mm và tổng chiều dài 2,5 mm được xoắn lại bằng cách xoay nó xung quanh CCA ngay dưới chỗ phân đôi của động mạch cảnh.**

#### 2.4.2. Phân lô chuột nghiên cứu

Chuột nhắt trắng còn sống sau phẫu thuật 7 ngày, vận động và ăn uống bình thường, được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

**Lô 1** (chứng PT): Phẫu thuật không gây hẹp động mạch + uống nước cất

**Lô 2** (chứng bệnh lý): Phẫu thuật gây hẹp động mạch + uống nước cất.

**Lô 3** (Ginko biloba): Phẫu thuật gây hẹp động mạch + uống Ginko biloba liều 100mg/kg

**Lô 4** (BDHNTGV-1): Phẫu thuật gây hẹp động mạch + uống BDHNTGV 49,8g/kg/ngày.

**Lô 5** (BDHNTGV-2): Phẫu thuật gây hẹp động mạch + uống BDHNTGV 149,4g/kg/ngày.

Các chuột ở các lô từ lô 2 đến lô 5 được phẫu thuật gây hẹp 2 động mạch cảnh chung để gây giảm lưu lượng máu não, tiến hành như mô tả ở mục 2.4.1.

Chuột ở lô 1 cũng phẫu thuật nhưng không gây hẹp động mạch. Bảy ngày sau khi chuột hồi phục vết mổ, bắt đầu cho chuột uống thuốc hoặc nước cất theo phân lô.

#### **2.4.3. Đánh giá tác dụng tăng lưu lượng máu não**

Tiến hành đo lưu lượng máu não ở vùng vỏ não trước bằng thiết bị đo blood flow metry, với đầu đo Laser Doppler needle probes MNP100XP-3/10 của hệ thống Powerlab (Úc). Lưu lượng máu não đo được trước khi phẫu thuật được lấy làm giá trị cơ sở của lưu lượng máu não. Sau phẫu thuật tiến hành đo lưu lượng máu não ở thời điểm sau 2 giờ và 1, 3, 7, 14 và 28 ngày sau phẫu thuật. Các giá trị lưu lượng máu não đo được ở các thời điểm sau phẫu thuật được biểu thị bằng phần trăm của giá trị cơ sở.

#### **2.4.4. Đánh giá tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị trên mô hình mê lộ nhiều chữ T**

Thử nghiệm tiến hành theo phương pháp của Falsafi S. K. và cộng sự (2012) [69], và được tiến hành sau khi phẫu thuật 14 ngày, và chuột đã được uống thuốc 7 ngày. Trong quá trình thử nghiệm, chuột tiếp tục được cho uống thuốc hàng ngày theo phân lô.

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.

#### **❖ Giai đoạn huấn luyện:**

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. Khi tới được khoang đích, chuột nhận được phần thưởng là một viên cám nhỏ. Khi kết thúc mỗi thử nghiệm, toàn bộ mê lộ được lau sạch lại bằng cồn 70%.

Chuột được huấn luyện 3 lần mỗi ngày khoảng cách giữa 2 lần huấn luyện 20 phút, trong 4 ngày. Kết thúc mỗi ngày huấn luyện, 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.

❖ **Giai đoạn thăm dò trí nhớ:**

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

• ***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).

**2.4.5. Đánh giá tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị trên mô hình mê cung nước**

Thử nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Yadang và cộng sự (2020) [70], bắt đầu ở thời điểm 2 ngày sau thử nghiệm trên mô hình mê lộ nhiều chữ T (ngày 23 sau phẫu thuật). Thử nghiệm được chia thành 2 giai đoạn: giai đoạn huấn luyện đánh giá khả năng học tập và giai đoạn thăm dò trí nhớ.

**Giai đoạn huấn luyện:**

Thời gian 5 ngày, chia thành 2 bài tập:

• ***Bài tập nhìn thấy bển đổ***

Ngày đầu tiên, chuột được làm quen môi trường nước trong 1 phút. Sau đó chuột được hướng đến vị trí bển đổ (cao hơn mực nước 1cm) và đặt lên vị trí bển đổ 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 của thử nghiệm 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

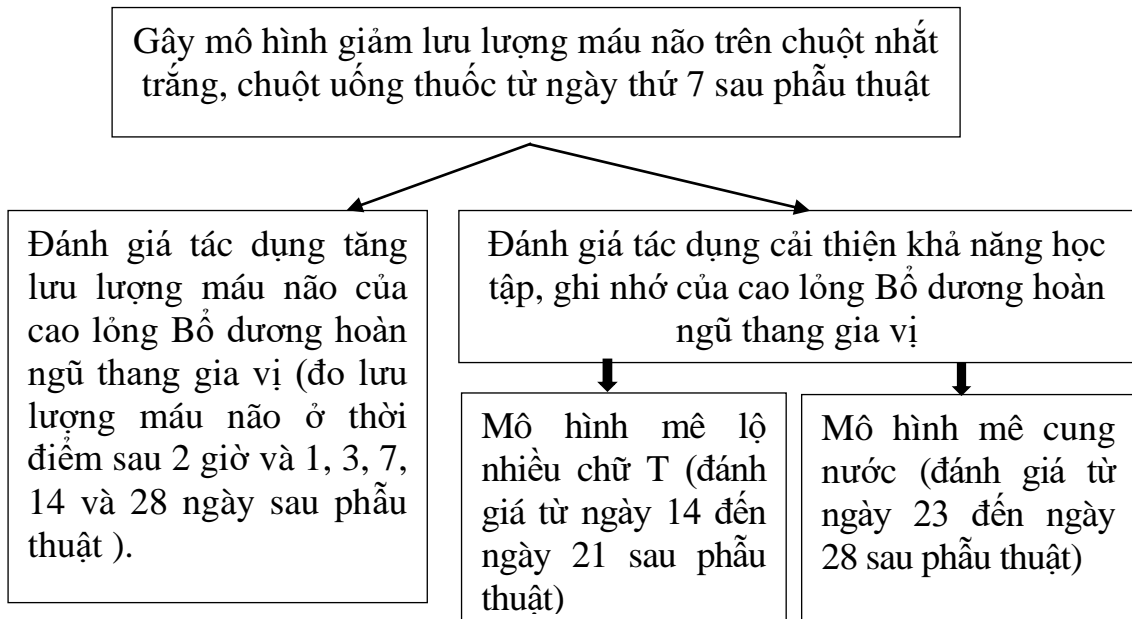
- ❖ **Giai đoạn thăm dò trí nhớ:**

Thực hiện vào ngày thứ 6 của thử nghiệm, 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 bơi một lần duy nhất trong bể trong thời gian 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.

### Các nội dung nghiên cứu được thể hiện ở sơ đồ sau



**Hình 2.6.** Sơ đồ tóm tắt các nội dung nghiên cứu

### 2.5. Phương pháp xử lý và phân tích 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  $p < 0,05$ .

### 2.6. Sai số và cách không chế sai số.

- Sai số các phương pháp thu thập số liệu.
- Các phương pháp được áp dụng để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình thu thập, phân tích và xử lý số liệu:
  - o Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh, không có dị tật hay dấu hiệu bất thường.
  - o Thời gian thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là thống nhất cùng một thời điểm.



- Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm. Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.
- Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

### **2.7. Đạo đức trong nghiên cứu**

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột nhắt trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

Những chuột chết trong quá trình làm thí nghiệm (nếu có) và số chuột sau khi thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định.

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế” của Bộ Y tế.

### CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Kết quả đánh giá tác dụng tăng lưu lượng máu não của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị.

Kết quả phẫu thuật, 48 chuột phẫu thuật gây hẹp động mạch cảnh chung, có 40 chuột sống sót sau 1 tuần sau khi phẫu thuật (chiếm tỷ lệ 83%). Các chuột này được phân ngẫu nhiên vào các lô từ lô 2 đến lô 5. Các chuột làm chứng phẫu thuật (10 chuột) có tỷ lệ sống sót sau 1 tuần sau khi phẫu thuật là 100%, được đưa vào lô 1 (lô chứng phẫu thuật). Sau khi phân vào các lô nghiên cứu, trong suốt quá trình thí nghiệm không có chuột nào bị chết.

Kết quả đo lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột ở các lô tại các thời điểm trước uống thuốc (sau 2 giờ và 1, 3, 7 ngày sau phẫu thuật) được trình bày ở bảng 3.1.

**Bảng 3.1. Lưu lượng máu não của chuột tại các thời điểm trước uống thuốc.**

Lô thí nghiệm	n	Lưu lượng máu não vùng vỏ não trước (% so với giá trị cơ sở) (Mean ± SD)			
		2h sau PT	1 ngày sau PT	3 ngày sau PT	7 ngày sau PT
Chứng PT (1)	10	96,36 ± 9,62	101,69 ± 10,56	97,36 ± 9,61	98,12 ± 9,93
Chứng bệnh lý (2)	10	70,83 ± 8,61	72,95 ± 9,12	73,92 ± 8,85	75,85 ± 9,28
Ginko biloba (3)	10	69,52 ± 8,95	72,57 ± 7,95	73,68 ± 9,46	75,49 ± 8,69
BDHNTGV-1 (4)	10	71,13 ± 9,27	74,06 ± 8,63	74,83 ± 9,28	76,14 ± 9,27
BDHNTGV-2 (5)	10	70,52 ± 7,94	73,12 ± 9,47	74,19 ± 8,93	76,02 ± 9,54
p <sub>2,3,4,5-1</sub>		< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
p <sub>3,4,5-2</sub>		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p <sub>4,5-3</sub> ; p <sub>5-4</sub>		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

**Nhận xét:**

- Ở lô chứng phẫu thuật (lô 1), quá trình phẫu thuật nhưng không gây hẹp động mạch cảnh chung, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước thay đổi không đáng kể, dao động quanh giá trị 100% so với giá trị cơ sở (là giá trị lưu lượng máu não đo được trước phẫu thuật).

- Ở các lô từ lô 2 đến lô 5 là những lô phẫu thuật gây hẹp động mạch cảnh chung, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước thay đổi đáng kể, tại thời điểm 2h sau phẫu thuật xuống quanh giá trị 70% so với giá trị cơ sở, sau đó hồi phục chậm, đến ngày 7 sau phẫu thuật lưu lượng máu não có giá trị quanh 76% so với giá trị cơ sở. Tại tất cả các thời điểm đo, lưu lượng máu não của chuột ở các lô từ lô 2 đến lô 5 đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng phẫu thuật với  $p < 0,01$ .

Kết quả đo lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột ở các lô tại các thời điểm sau uống thuốc 7 ngày (ngày 14 sau phẫu thuật) được trình bày ở bảng 3.2.

**Bảng 3.2. Lưu lượng máu não của chuột tại thời điểm sau uống thuốc 7 ngày (ngày 14 sau phẫu thuật).**

Lô thí nghiệm	n	Lưu lượng máu não (%) (Mean $\pm$ SD)	% giảm so với (1)	% tăng so với (2)
Chứng PT (1)	10	98,26 $\pm$ 9,94	-	-
Chứng bệnh lý (2)	10	77,42 $\pm$ 7,96	21,21	-
Ginko biloba (3)	10	86,31 $\pm$ 8,19	12,16	11,48
BDHNTGV-1 (4)	10	85,65 $\pm$ 8,03	12,83	10,63
BDHNTGV-2 (5)	10	87,15 $\pm$ 8,22	11,31	12,57
p <sub>2-1</sub>		< 0,01	-	-
p <sub>3,4,5-1</sub>		< 0,05	-	-
p <sub>3,4,5-2</sub>		< 0,05	-	-
p <sub>4,5-3</sub> ; p <sub>5-4</sub>		> 0,05	-	-

**Nhận xét:** Tại thời điểm ngày 14 sau phẫu thuật

- So với lô chứng PT, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước ở lô chứng bệnh lý thấp hơn có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

- Lưu lượng máu não vùng vỏ não trước ở lô Ginko biloba và 2 lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý với  $p < 0,05$ , tuy nhiên vẫn còn thấp hơn so với ở lô chứng PT ( $p < 0,05$ ).

- So sánh giữa 2 lô dùng BDHNTGV với lô Ginko biloba cũng như so sánh giữa 2 lô dùng BDHNTGV với nhau, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước ở các lô này không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ).

Kết quả đo lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột ở các lô tại các thời điểm sau uống thuốc 21 ngày (ngày 28 sau phẫu thuật) được trình bày ở bảng 3.3.

**Bảng 3.3. Lưu lượng máu não của chuột tại thời điểm sau uống thuốc 21 ngày (ngày 28 sau phẫu thuật).**

Lô thí nghiệm	n	Lưu lượng máu não (%) (Mean $\pm$ SD)	% giảm so với (1)	% tăng so với (2)
Chứng PT (1)	10	98,02 $\pm$ 9,68	-	-
Chứng bệnh lý (2)	10	80,06 $\pm$ 8,05	18,32	-
Ginko biloba (3)	10	91,18 $\pm$ 8,21	6,98	13,89
BDHNTGV-1 (4)	10	90,93 $\pm$ 8,64	7,23	13,58
BDHNTGV-2 (5)	10	91,23 $\pm$ 8,96	6,93	13,95
$p_{2-1}$		$< 0,05$	-	-
$p_{3,4,5-1}$		$> 0,05$	-	-
$p_{3,4,5-2}$		$< 0,05$	-	-
$p_{4,5-3}; p_{5-4}$		$> 0,05$	-	-

**Nhận xét:** Tại thời điểm ngày 28 sau phẫu thuật (sau 21 ngày uống thuốc).

- So với lô chứng PT, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước ở lô chứng bệnh lý thấp hơn có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

- Lưu lượng máu não vùng vỏ não trước ở lô Ginko biloba và 2 lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý với  $p < 0,05$ , về mức tương đương so với ở lô chứng PT ( $p > 0,05$ ).

- So sánh giữa 2 lô dùng BDHNTGV với lô Ginko biloba cũng như so sánh giữa 2 lô dùng BDHNTGV với nhau, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước ở các lô này không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ).

### **3.2. Tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị trên mô hình mê lộ nhiều chữ T**

Tác dụng tăng cường khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị đánh giá trên mô hình mê lộ nhiều chữ T được chia thành 2 giai đoạn: giai đoạn huấn luyện (ngày 1-4) và giai đoạn thăm dò trí nhớ (ngày 5 và ngày 8).

#### **3.2.1. Kết quả đánh giá khả năng học tập trong giai đoạn huấn luyện**

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.4; bảng 3.5; bảng 3.6.

**Bảng 3.4. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s) của mê lộ nhiều chữ T. (Mean  $\pm$  SD, n = 10 ở mỗi lô)**

Lô thí nghiệm	Thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s)			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Chứng PT (1)	116,81 $\pm$ 9,65	102,93 $\pm$ 9,17	86,05 $\pm$ 7,35	70,13 $\pm$ 6,28
Chứng bệnh lý (2)	296,83 $\pm$ 16,24	280,36 $\pm$ 13,92	271,38 $\pm$ 12,84	242,51 $\pm$ 13,76
Ginko biloba (3)	219,63 $\pm$ 18,85	148,96 $\pm$ 10,81	119,76 $\pm$ 11,14	93,18 $\pm$ 6,98
BDHNTGV-1 (4)	225,98 $\pm$ 18,52	156,02 $\pm$ 13,86	118,06 $\pm$ 10,34	96,12 $\pm$ 9,02
BDHNTGV-2 (5)	216,27 $\pm$ 15,84	145,63 $\pm$ 12,97	110,89 $\pm$ 10,42	91,98 $\pm$ 8,81
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,001$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,01$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$			

**Nhận xét:**

- So với lô chứng PT, tại tất cả các thời điểm đo, thời gian chuột tìm tới được khoang đích ở lô chứng bệnh lý dài hơn có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ ;

- So với lô chứng bệnh lý, tại tất cả các thời điểm đo, thời gian chuột tìm tới được khoang đích ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV đều ngắn có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ );

- So sánh giữa các lô dùng BDHNTGV với nhau cũng như so với lô dùng Ginko biloba, thời gian chuột tìm tới được khoang đích ở các lô này là tương đương ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.5. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích của mê lộ nhiều chữ T. (Mean  $\pm$  SD, n = 10 ở mỗi lô)**

Lô thí nghiệm	<b>Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích (m)</b>			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Chứng PT (1)	46,28 $\pm$ 1,25	25,36 $\pm$ 1,23	15,74 $\pm$ 0,89	13,58 $\pm$ 0,86
Chứng bệnh lý (2)	88,35 $\pm$ 1,47	67,95 $\pm$ 1,18	62,08 $\pm$ 1,74	59,42 $\pm$ 1,19
Ginko biloba (3)	51,65 $\pm$ 0,98	34,62 $\pm$ 0,86	30,23 $\pm$ 0,97	29,79 $\pm$ 0,95
BDHNTGV-1 (4)	58,11 $\pm$ 1,17	37,46 $\pm$ 0,95	33,59 $\pm$ 0,83	31,86 $\pm$ 0,99
BDHNTGV-2 (5)	58,61 $\pm$ 1,36	35,73 $\pm$ 1,07	35,41 $\pm$ 0,90	30,26 $\pm$ 0,74
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,001$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,01$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$			

**Nhận xét:**

- So với lô chứng PT, tại tất cả các thời điểm đo, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích ở lô chứng bệnh lý dài hơn có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ ;

- So với lô chứng bệnh lý, tại tất cả các thời điểm đo, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 đều ngắn có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ );

- So sánh giữa các lô dùng BDHNTGV với nhau cũng như so với lô dùng Ginko biloba, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích ở các lô này là tương đương ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.6. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến số lần quyết định sai****(Mean  $\pm$  SD, n = 10 ở mỗi lô)**

Lô thí nghiệm	Số lần quyết định sai			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Chứng PT (1)	6,39 $\pm$ 0,16	3,51 $\pm$ 0,09	3,24 $\pm$ 0,24	2,23 $\pm$ 0,11
Chứng bệnh lý (2)	10,71 $\pm$ 0,24	6,68 $\pm$ 0,12	6,82 $\pm$ 0,31	6,52 $\pm$ 0,15
Ginko biloba (3)	9,10 $\pm$ 0,23	5,51 $\pm$ 0,11	5,08 $\pm$ 0,29	5,06 $\pm$ 0,17
BDHNTGV-1 (4)	9,28 $\pm$ 0,21	5,62 $\pm$ 0,15	5,22 $\pm$ 0,23	4,12 $\pm$ 0,13
BDHNTGV-2 (5)	8,66 $\pm$ 0,25	4,50 $\pm$ 0,19	5,99 $\pm$ 0,30	4,99 $\pm$ 0,12
Giá trị p	<b><math>p_{2-1} &lt; 0,01</math>; <math>p_{3,4,5-2} &lt; 0,05</math>; <math>p_{\text{giữa các lô } 3,4,5} &gt; 0,05</math></b>			

**Nhận xét:**

- So với lô chứng PT, tại tất cả các thời điểm đánh giá, số lần quyết định sai ở lô chứng bệnh lý lớn hơn có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ ;

- So với lô chứng bệnh lý, tại tất cả các thời điểm đo, số lần quyết định sai ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 đều nhỏ có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ;

- So sánh giữa các lô dùng BDHNTGV với nhau cũng như so với lô dùng Ginko biloba, số lần quyết định sai ở các lô này là tương đương ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.2. Kết quả đánh giá trí nhớ ngắn hạn

Kết quả được trình bày ở bảng 3.7

**Bảng 3.7. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến các chỉ số đánh giá trí nhớ ngắn hạn (N5) trên mô hình Multiple T maze (Mean  $\pm$  SD, n = 10 ở mỗi lô)**

Lô thí nghiệm	Thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s)	Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích (m)	Số lần quyết định sai
Chúng PT (1)	58,51 $\pm$ 0,95	9,88 $\pm$ 0,46	2,66 $\pm$ 0,06
Chúng bệnh lý (2)	237,42 $\pm$ 2,73	46,11 $\pm$ 0,68	6,28 $\pm$ 0,15
Ginko biloba (3)	71,95 $\pm$ 0,94	18,82 $\pm$ 0,82	3,47 $\pm$ 0,08
BDHNTGV-1 (4)	74,24 $\pm$ 0,89	19,91 $\pm$ 0,51	3,65 $\pm$ 0,09
BDHNTGV-2 (5)	72,59 $\pm$ 0,71	18,88 $\pm$ 0,42	3,36 $\pm$ 0,11
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,001$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,01$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$		$p_{2-1} < 0,01$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,05$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$

#### Nhận xét:

Từ kết quả trên cho thấy, tại thời điểm đánh giá trí nhớ ngắn hạn (N5), thời gian chuột tìm tới được khoang đích, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích, và số lần quyết định sai ở lô chúng bệnh lý đều lớn hơn lô chúng PT ( $p < 0,001$  và  $p < 0,01$ ); ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 đều nhỏ hơn lô 2 ( $p < 0,01$  và  $p < 0,05$ ); ở lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 tương đương nhau và tương đương với lô Ginko biloba ( $p > 0,05$ ).



### 3.2.3. Kết quả đánh giá trí nhớ dài hạn

Kết quả được trình bày ở bảng 3.8

**Bảng 3.8. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến các chỉ số đánh giá trí nhớ dài hạn (N8) trên mô hình Multiple T maze (Mean  $\pm$  SD, n = 10 ở mỗi lô)**

Lô thí nghiệm	Thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s)	Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích (m)	Số lần quyết định sai
Chứng PT (1)	55,23 $\pm$ 0,36	10,26 $\pm$ 0,86	2,40 $\pm$ 0,12
Chứng bệnh lý (2)	250,68 $\pm$ 3,65	53,80 $\pm$ 0,26	6,68 $\pm$ 0,24
Ginko biloba (3)	73,36 $\pm$ 0,23	19,53 $\pm$ 0,72	4,58 $\pm$ 0,16
BDHNTGV-1 (4)	79,12 $\pm$ 0,64	20,48 $\pm$ 0,85	4,54 $\pm$ 0,11
BDHNTGV-2 (5)	74,55 $\pm$ 0,98	19,34 $\pm$ 0,76	4,49 $\pm$ 0,15
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,001$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,01$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$		$p_{2-1} < 0,01$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,05$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$

#### Nhận xét:

Từ kết quả trên cho thấy, tại thời điểm đánh giá trí nhớ dài hạn (N8), thời gian chuột tìm tới được khoang đích, chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích, và số lần quyết định sai ở lô chứng bệnh lý đều lớn hơn ở lô chứng PT ( $p < 0,001$  và  $p < 0,01$ ); ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 đều nhỏ hơn lô chứng bệnh lý ( $p < 0,01$  và  $p < 0,05$ ); ở lô BDHNTGV-1 và BDHNTGV-2 tương đương nhau và tương đương với lô Ginko biloba ( $p > 0,05$ ).

### 3.3. Tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bổ dưỡng hoàn ngũ thang gia vị trên mô hình mê cung nước Morris (MWM)

Tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bổ dưỡng hoàn ngũ thang gia vị đánh giá trên mô hình mê lộ nhiều chữ T được chia

thành 2 giai đoạn: giai đoạn huấn luyện (ngày 1-5 của thử nghiệm) và giai đoạn thăm dò trí nhớ (ngày 6 của thử nghiệm).

### 3.3.1. Kết quả đánh giá khả năng học tập trong giai đoạn huấn luyện

Kết quả được đánh giá thông qua các chỉ số thời gian và quãng đường chuột tìm thấy bẻ đỗ và được trình bày ở các bảng 3.9; bảng 3.10.

**Bảng 3.9. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến thời gian chuột tìm thấy chân đế (s)(Mean  $\pm$  SD, n = 10 ở mỗi lô)**

Lô thí nghiệm	Thời gian chuột tìm thấy chân đế (s)				
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Chứng PT (1)	39,55 $\pm$ 4,12	44,21 $\pm$ 4,25	37,21 $\pm$ 3,83	33,66 $\pm$ 3,31	21,32 $\pm$ 2,19
Chứng bệnh lý (2)	81,64 $\pm$ 5,93	85,42 $\pm$ 6,28	76,72 $\pm$ 5,64	71,61 $\pm$ 6,02	70,55 $\pm$ 5,42
Ginko biloba (3)	53,17 $\pm$ 4,93	65,73 $\pm$ 5,28	51,81 $\pm$ 4,95	49,32 $\pm$ 4,26	30,44 $\pm$ 2,86
BDHNTGV-1 (4)	59,58 $\pm$ 4,85	68,95 $\pm$ 5,69	56,15 $\pm$ 5,17	50,69 $\pm$ 4,72	38,90 $\pm$ 3,08
BDHNTGV-2 (5)	55,35 $\pm$ 4,83	64,64 $\pm$ 5,24	54,21 $\pm$ 4,85	48,98 $\pm$ 4,06	31,16 $\pm$ 2,93
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,001$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,01$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$				

#### Nhận xét:

Từ kết quả trên cho thấy, ở lô chứng bệnh lý thời gian chuột tìm thấy chân đế dài hơn so với ở lô chứng PT ở tất cả các ngày ( $p < 0,001$ ); ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, thời gian chuột tìm thấy chân đế đều ngắn hơn lô chứng bệnh lý ở các ngày nghiên cứu ( $p < 0,01$ ); ở các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, thời gian chuột tìm thấy chân đế tương đương

nhau và tương đương với lô Ginko biloba ở các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.10. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bển đổ.**

Lô thực nghiệm	Chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bển đổ (m)				
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Chứng PT (1)	11,65 ± 0,93	12,64 ± 0,98	10,34 ± 1,96	9,28 ± 0,69	7,67 ± 0,56
Chứng bệnh lý (2)	18,21 ± 1,03	23,55 ± 1,28	21,13 ± 1,35	20,56 ± 1,18	17,19 ± 1,14
Ginko biloba (3)	12,67 ± 0,96	15,82 ± 1,09	14,72 ± 1,01	11,63 ± 0,89	7,94 ± 0,63
BDHNTGV-1 (4)	13,57 ± 0,91	17,92 ± 1,15	16,18 ± 1,07	13,36 ± 0,96	8,26 ± 0,68
BDHNTGV-2 (5)	12,19 ± 0,85	15,59 ± 1,04	15,08 ± 0,92	11,29 ± 0,97	7,47 ± 0,59
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,001$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,01$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$				

**Nhận xét:**

Từ kết quả trên cho thấy, ở lô chứng bệnh lý, chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bển đổ dài hơn so với ở lô chứng PT ở tất cả các ngày đánh giá ( $p < 0,001$ ); ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bển đổ đều ngắn hơn lô chứng bệnh lý ở các ngày nghiên cứu ( $p < 0,01$ ); ở các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bển đổ tương đương nhau và tương đương với lô Ginko biloba ở các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

### 3.3.2. Kết quả bài tập đánh giá khả năng ghi nhớ

Bài tập đánh giá khả năng ghi nhớ được thực hiện ở ngày 6 của thử nghiệm, ngày sau đợt huấn luyện 5 ngày, và đánh giá dựa trên chỉ số về tỷ lệ phần trăm thời gian chuột bơi trong 1/4 bể trước đó chứa bեն đố. Kết quả được trình bày ở bảng 3.11.

**Bảng 3.11. Ảnh hưởng của BDHNTGV đến phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong 1/4 bể trước đó đặt chân đế (%).**

Lô thực nghiệm	Phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong 1/4 bể trước đó đặt chân đế (%)	Phần trăm giảm so với lô 1 (%)	Phần trăm tăng so với lô 2 (%)
Chứng PT (1)	28,62 ± 0,96	-	-
Chứng bệnh lý (2)	10,23 ± 0,68	64,26	-
Ginko biloba (3)	23,93 ± 1,32	16,39	133,92
BDHNTGV-1 (4)	24,61 ± 1,27	14,01	140,57
BDHNTGV-2 (5)	23,25 ± 1,42	18,76	127,27
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,001$ ; $p_{3,4,5-2} < 0,01$ ; $p_{\text{giữa các lô 3,4,5}} > 0,05$		

#### Nhận xét:

Từ kết quả trên cho thấy, ở lô chứng bệnh lý, phần trăm thời gian bơi của chuột trong 1/4 bể trước đó đặt chân đế ngắn hơn so với ở lô chứng PT ( $p < 0,001$ ); ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, phần trăm thời gian bơi của chuột trong 1/4 bể trước đó đặt chân đế đều dài hơn lô chứng bệnh lý ( $p < 0,01$ ); ở các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, phần trăm thời gian bơi của chuột trong 1/4 bể trước đó đặt chân đế tương đương nhau và tương đương với lô Ginko biloba ở các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

## **CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN**

### **4.1. Bàn luận về tác dụng tăng lưu lượng máu não của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị**

#### **4.1.1. Bàn luận về mô hình gây giảm lưu lượng máu não trên chuột**

So sánh giữa bốn phương pháp thường được sử dụng để gây giảm lưu lượng máu não mạn tính trên chuột là: BCCAO (tắc động mạch cảnh chung hai bên), BCCAS (hẹp động mạch cảnh chung hai bên), ACCAS (phẫu thuật động mạch cảnh chung không đối xứng), 3-VO (tắc ba mạch máu), thì phương pháp BCCAO và BCCAS đơn giản hơn để tiến hành, do quá trình phẫu thuật tương đối dễ dàng và chi phí thực hiện thấp hơn.

Hơn nữa ở phương pháp BCCAO và BCCAS, lưu lượng máu não sau phẫu thuật giảm dần và dần hồi phục sau đó, chuột có suy giảm trí nhớ làm việc không gian nhưng không có biểu hiện thiếu hụt vận động trước 3 tháng. Còn phương pháp ACCAS lưu lượng máu não chuột sau phẫu thuật giảm dần mà không hồi phục, chuột có biểu hiện suy giảm trí nhớ làm việc không gian và rối loạn dáng đi. Điều này sẽ ảnh hưởng nhiều khi đánh giá khả năng học tập và cải thiện trí nhớ của chuột trên các thử nghiệm mô hình mê cung nước Morris và mô hình mê lộ nhiều chữ T.

Trước đây mô hình giảm tưới máu não mạn tính ở chuột được sử dụng rộng rãi trong một thời gian dài là mô hình gây tắc động mạch cảnh chung hai bên của chuột (BCCAO) với biểu hiện suy giảm nhận thức và thiếu hụt cholinergic.

Mô hình chuột bị giảm tưới máu não mạn tính trên chuột cống trước đây thường sử dụng chuột Wistar đực từ 9–12 tuần tuổi (trọng lượng, 300–350 g). Dưới điều kiện gây mê bằng cách hít 1–3% halothane, cả hai CCA đều được bộc lộ qua vết rạch ở giữa cổ và được thắt vĩnh viễn. Với mô hình này, lưu

lượng máu não giảm mạnh trong giai đoạn thiếu máu cục bộ cấp tính sau phẫu thuật. Đây là một trong những hạn chế của mô hình chuột.

LLMN trong vỏ não và thể chai đã được chứng minh là giảm xuống 30–50% so với mức ban đầu sau 1 đến 3 ngày sau phẫu thuật, với sự hồi phục dần dần sau 3–8 ngày sau phẫu thuật. Trong giai đoạn thiếu máu cục bộ mạn tính, giá trị LLMN dần bình thường hóa sau 1 tuần, mặc dù chúng vẫn thấp hơn đáng kể so với giá trị kiểm soát sau 4 tuần sau phẫu thuật. Sau 8 tuần đến 3 tháng sau phẫu thuật, LLMN gần như được khôi phục về mức ban đầu. Sự giảm lưu lượng máu ở vùng hải mã và đồi thị ít hơn một chút so với ở vỏ não, giảm xuống còn 50–70% và phục hồi về mức ban đầu sau 3 tháng.

Trong mô hình này, tổn thương thần kinh thị giác mạnh là một nhược điểm của mô hình gây ảnh hưởng đến việc đánh giá hành vi của chuột, đặc biệt trong các thử nghiệm đánh giá hành vi phụ thuộc vào trí nhớ làm việc không gian.

Để khắc phục những hạn chế này, một mô hình chuột bị giảm tưới máu não mạn tính do hẹp động mạch cảnh chung(CCA) hai bên (BCCAS) đã được thiết lập. Mô hình này không liên quan đến tổn thương thần kinh thị giác và do đó phù hợp với các thí nghiệm hành vi, BCCAS có thể được coi là một trong những mô hình hứa hẹn nhất về giảm tưới máu não mạn tính [68].

Mức độ nghiêm trọng của giảm tưới máu não có thể được kiểm soát dễ dàng bằng cách điều chỉnh đường kính trong của các microcoil. Mô hình này bắt chước một tình trạng lâm sàng thần kinh liên quan đến các tổn thương chất trắng gây ra bởi tình trạng giảm tưới máu não mạn tính ở người. Trên thực tế, giảm tưới máu não do hẹp động mạch cảnh, rung tâm nhĩ và suy tim, có liên quan đến suy giảm nhận thức trong dân số nói chung.

Ưu điểm rõ ràng của việc sử dụng kỹ thuật phẫu thuật này là nó cung cấp một mô hình gần chính xác với cơ chế của thiếu máu não mạn tính và sa sút trí tuệ liên quan đến bệnh mạch máu.

Mô hình chuột nhất gây hẹp CCA hai bên cũng cho thấy lưu lượng máu não giảm mạnh trong giai đoạn thiếu máu cục bộ cấp tính sau phẫu thuật. Tuy nhiên, LLMN trong mô hình này có thể được điều khiển bằng cách thay đổi đường kính bên trong của microcoil. Mô hình thường sử dụng microcoil có đường kính 0,18 mm, cho phép gây hẹp CCA hai bên và làm giảm 30% LLMN sau 2 giờ sau phẫu thuật, sau đó phục hồi dần dần, với kết quả lặp lại và độ tin cậy cao. Một nghiên cứu cho thấy lưu lượng máu trong vỏ não tạm thời giảm xuống còn 60% đến 70% giá trị kiểm soát sau 2 giờ sau phẫu thuật, với sự hồi phục dần dần đến >80% sau 1–3 tháng.

Trên cơ sở các phân tích về mô hình như trên, nhóm nghiên cứu đã lựa chọn mô hình chuột nhất bị gây giảm tưới máu não mạn tính do hẹp CCA hai bên làm mô hình nghiên cứu. Kết quả triển khai mô hình của chúng tôi cũng cho thấy, lưu lượng máu não sau 2 giờ phẫu thuật giảm xuống quanh 70%, và hồi phục dần sau 28 ngày về quanh 80%, phù hợp với kết quả báo cáo của các tác giả đã nghiên cứu trước đó.

Mô hình chuột nhất gây hẹp CCA hai bên vẫn duy trì được lưu lượng máu liên tục trong các động mạch cảnh trong và động mạch cảnh chung; do đó, lưu lượng máu trong động mạch mắt phân nhánh cũng được bảo tồn, dẫn đến bảo tồn dây thần kinh thị giác. Mô hình chuột gây hẹp CCA được chứng minh có sự phát triển của các tổn thương chất trắng và rối loạn chức năng nhận thức, xuất hiện trong vòng một tháng sau phẫu thuật.

Hơn nữa, về lâu dài, teo hồi hải mã đáng kể được quan sát thấy sau 8 tháng phẫu thuật; đây là bằng chứng về mối liên hệ giữa giảm tưới máu não mạn tính và thoái hóa thần kinh. Những kết quả này cho thấy rằng, về lâu dài, mô hình chuột bị giảm tưới máu não mạn tính do BCCAS tái tạo các giai đoạn tiến triển của chứng mất trí nhớ do thiếu máu cục bộ dưới vỏ não. Chất trắng có liên quan mật thiết đến tốc độ xử lý. Suy giảm trí nhớ làm việc theo

không gian là một tính năng đặc trưng của mô hình này, bởi vì trí nhớ làm việc phụ thuộc vào tính toàn vẹn của chất trắng.

Vì vậy, các thử nghiệm đánh giá suy giảm trí nhớ không gian như mê lộ nhiều chữ T và đặc biệt là mê cung nước là những thử nghiệm phù hợp để đánh giá tác dụng tăng cường học tập, ghi nhớ của chế phẩm nghiên cứu khi đánh giá trên chuột gây mô hình này [68], [71], [72].

#### **4.1.2. Bàn luận về tác dụng tăng lưu lượng máu não của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị**

Có rất nhiều nghiên cứu trên thế giới về tác dụng tăng lưu lượng máu não của các loại thảo dược, trong đó có Ginko biloba được chiết xuất từ lá cây bạch quả, hồng hoa[58],...

Ginko Biloba được chiết xuất từ cao chế từ lá cây bạch quả, đã được tiêu chuẩn hóa, viết tắt EGB, EGB kí hiệu EGB 761, chứa 24% flavonoid, 6% ginkolid- biloba và chứa không quá 5 phần triệu acid ginkgolic.

EGB 761 tác dụng trên thiếu máu não mạn tính và bệnh tuần hoàn ngoại biên: cao bạch quả trên thực nghiệm cho thấy có tác dụng chống lại thiếu máu cục bộ não trên chuột cống trắng, truyền tĩnh mạch cao bạch quả ngăn cản sự phát triển nhồi máu, ngoài ra còn có tác dụng tốt trên nhồi máu não cấp tính hoặc thiếu máu cục bộ não do nghẽn mạch.

Trong điều kiện giảm lượng oxy từ không khí thở vào, động vật điều trị với cao bạch quả sẽ sống sót lâu hơn so với nhóm đối chứng, có tác dụng tăng lượng tuần hoàn não, tăng nồng độ Glucose và adenosine triphosphat trong máu. Cao bạch quả tiêm truyền động mạch làm tăng đường kính tiểu động mạch mào, giảm sử dụng glucose ở não, hiệu quả trong điều trị phù não gây ra bởi chất độc hại thần kinh hoặc chấn thương.

Hiệu năng của EGB761 đã được chứng minh ở người bị thiếu máu não mạn tính, bị suy giảm chức năng tuần hoàn chung, rối loạn thính giác, và dự phòng tai biến mạch máu não [73], [74].



Chiết xuất Ginkgo biloba (Egb 761) đã được sử dụng rộng rãi như một loại thuốc thảo dược để ngăn ngừa sự suy giảm nhận thức cũng như cải thiện về tâm lý và chất lượng cuộc sống của bệnh nhân, ứng dụng chính của nó nằm trong điều trị rối loạn chức năng mạch máu não và rối loạn mạch máu ngoại biên, EGb còn được sử dụng cho những bệnh nhân mắc một loạt rối loạn não liên quan đến tình trạng thiếu máu não.

Các nghiên cứu lâm sàng đã chỉ ra rằng EGb thể hiện hoạt động điều trị một loạt các rối loạn bao gồm bệnh Alzheimer, chứng mất trí nhớ do tuổi tác, suy giảm trí nhớ. Egb 761 có tác dụng làm giảm đáng kể sự gia tăng áp lực nội sọ và hạn chế đáng kể tình trạng giảm áp lực tưới máu nội sọ, giảm lưu lượng máu não trên mô hình chuột gây xuất huyết dưới nhện, tác dụng trên nhờ vào đặc tính chống oxy hóa mạnh và khả năng tăng cường lưu thông máu ở não và ngoại vi của Egb [74],[75].

EGB 761 có tác động tích cực đến chức năng nhận thức và thần kinh dựa trên việc cải thiện lưu lượng mạch máu, tác dụng chống oxy hóa, tác dụng chống viêm, tác dụng chống apoptotic, do đó tăng cường tính dẻo dai của thần kinh, điều chỉnh sự lắng đọng amyloid và bảo vệ chống lại rối loạn chức năng ty thể, sẽ mang lại các đặc tính bảo vệ thần kinh.

Những cơ chế này được coi là góp phần cải thiện nhận thức, cản trở sự phát triển của các bệnh thoái hóa thần kinh. EGb đã được sử dụng rộng rãi trong điều trị rối loạn nhận thức và một số nghiên cứu cho thấy hiệu quả lâm sàng của nó trong điều trị chứng mất trí nhớ. EGb đã được chứng minh là tạo ra sự cải thiện nhận thức ở cả chứng mất trí AD và mạch máu [75].

Ở nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu lựa chọn sử dụng Egb 761 làm thuốc đối chứng vì tác dụng làm tăng lưu lượng máu não và tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ, nhận thức của EGb 761 đã được chứng minh ở nhiều nghiên cứu khác nhau trên thế giới, hơn nữa, EGb 761 đã được ứng dụng rộng rãi trên

lâm sàng trong nhiều năm, đã cho thấy được tính an toàn và tác dụng tốt của thuốc trên lâm sàng.

Bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang là bài thuốc y học cổ truyền Trung quốc đã được ứng dụng nhiều năm trong điều trị di chứng sau tai biến mạch máu não, liệt nửa người, miệng méo, nói năng vụng về, tiểu nhiều lần hoặc đái dầm [76], [77].

Chủ trị của bài thuốc này là khí cơ thể hư nhược, làm cho khí huyết lưu thông kém dẫn đến ứ trệ kinh mạch, cơ gân mất đi nhu nhuận, lưỡi không được nhu dưỡng dẫn đến lời nói khó khăn, tiểu nhiều lần, đái dầm không tự chủ, chất lưỡi nhợt, rêu trắng, mạch trầm đều thuộc khí hư, huyết ứ. Bài thuốc thích hợp để bổ khí, thúc đẩy tuần hoàn máu, thông kinh mạch.

Hoàng kỳ sống được sử dụng liều cao trong đơn thuốc, có tác dụng bổ khí mạnh, thúc đẩy khí huyết lưu thông, bởi lẽ ‘khí là soái của huyết’, khí vượng thì thúc đẩy huyết hành, huyết lưu thông khắp cơ thể cũng nhờ tác dụng thúc đẩy của khí, điều này giúp không làm tổn thương cơ thể mà tiêu trừ được huyết ứ. Kết hợp với quy vĩ để thúc đẩy tuần hoàn máu, loại bỏ huyết ứ mà không làm tổn thương huyết. Địa long thông kinh mạch và đưa huyết đi khắp cơ thể. Xuyên khung, xích thực, đào nhân, hồng hoa, với liều lượng thấp thúc đẩy tuần hoàn máu và loại bỏ huyết ứ, đều là thuốc bổ trợ.

Các vị thuốc tương trợ nhau, nếu khí mạnh thì huyết sẽ lưu thông, loại bỏ huyết ứ. Bài thuốc này phối hợp giữa thuốc bổ khí lượng nhiều và thuốc hoạt huyết, tán ứ lượng thấp hơn lấy khí hư mà gây huyết ứ làm biến chứng bệnh. Thích hợp với thể trạng hư nhược của người bệnh sau khi có tai biến mạch máu não.

Mặt khác, theo y học cổ truyền, thiếu máu não mạn tính còn có thể bệnh thận tinh hư tổn, khí huyết lưỡng hư. Nhóm nghiên cứu đã lựa chọn gia thêm các vị thuốc: kê huyết đằng, đan sâm, nữ trinh tử, hạn liên thảo là những vị thuốc y học cổ truyền có tác dụng bổ huyết, hoạt huyết, ngoài ra nữ trinh tử,

hạn liên thảo phối hợp với nhau có tác dụng bổ thận âm, nhuận huyết, dưỡng huyết giúp cho huyết được đầy đủ. Bởi lẽ, ‘chân thủy là mẹ của âm huyết’, thận âm đầy đủ giúp làm đầy đủ cho huyết [78]. Đan sâm vị đắng, tính hơi hàn, quy kinh can, tâm, tâm bào lạc, hoạt huyết khứ huyết ứ, đã được ứng dụng nhiều trong chữa bệnh mạch vành tim [79], kê huyết đằng hoạt huyết bổ huyết các vị thuốc trên giúp gia tăng tác dụng hoạt huyết, bổ huyết cho bài thuốc. Sau khi gia thêm các vị thuốc, toàn bài có tác dụng bổ khí huyết, hoạt huyết thông mạch, bổ thận âm.

Khí huyết được đầy đủ, huyết mạch lưu thông mà vận hành khắp cơ thể, từ đó tăng cường được tác dụng tăng lưu lượng máu nuôi dưỡng não. Trên thực tế lâm sàng, thầy thuốc cần gia giảm các vị thuốc trong bài thuốc cho phù hợp với từng thể bệnh của bệnh nhân.

Kết quả nghiên cứu trên mô hình này cho thấy rằng, khi đo lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột ở các lô tại các thời điểm trước uống thuốc (sau 2 giờ và 1, 3, 7 ngày sau phẫu thuật), so với lô 1 là lô chứng phẫu thuật nhưng không gây hẹp động mạch cảnh chung, các lô từ lô 2 đến lô 5 là các lô có phẫu thuật gây hẹp động mạch cảnh chung thì lưu lượng máu não vùng vỏ não trước thay đổi đáng kể tại các thời điểm 2 giờ, 1 ngày, 3 ngày và 7 ngày sau phẫu thuật có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột của các lô 3, lô 4, lô 5 so với lô 2 tại thời điểm trước uống thuốc (2 giờ, 1 ngày, 3 ngày, 7 ngày sau phẫu thuật) thay đổi không đáng kể với  $p > 0,05$ . Tương tự, lưu lượng máu não của các chuột tại các lô 4, lô 5 so với lô 3 và lưu lượng máu não chuột ở lô 5 so với lô 4 tại các thời điểm trước uống thuốc (2 giờ, 1 ngày, 3 ngày, 7 ngày sau phẫu thuật) sự thay đổi không đáng kể với  $p > 0,05$ .

Ở các lô chuột có gây hẹp động mạch cảnh chung hai bên, thời điểm 2 giờ sau phẫu thuật, lượng máu não vùng vỏ não trước chuột giảm dần dao động từ  $69,52 \pm 8,95$  đến  $71,13 \pm 9,27$  so với giá trị cơ sở. Sau đó, lưu lượng máu não

phục hồi chậm tại thời điểm sau phẫu thuật 1 ngày lưu lượng máu não từ  $72,57 \pm 7,95$  đến  $74,06 \pm 8,63$ , thời điểm sau 3 ngày phẫu thuật, lưu lượng máu não dao động từ  $73,68 \pm 9,46$  đến  $74,83 \pm 9,28$ , thời điểm sau 7 ngày phẫu thuật, lưu lượng máu não dao động từ  $75,49 \pm 8,69$  đến  $76,14 \pm 9,27$ , khả năng phục hồi lưu lượng máu não của chuột là tăng dần sau 7 ngày tuy nhiên tốc độ phục hồi chậm. Các kết quả này phù hợp với các báo cáo trước đây về mô hình mô phỏng giảm tưới máu não mạn tính trên chuột bằng phương pháp phẫu thuật gây hẹp động mạch cảnh chung hai bên.

Ở thời điểm sau uống thuốc 7 ngày, tức là 14 ngày sau khi phẫu thuật, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột ở lô 1 là  $98,26 \pm 9,94$ , ở lô 2 là lô chứng bệnh lý, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước là  $77,42 \pm 7,96$ , giảm 21,21% so với lô 1, sự thay đổi này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ , lưu lượng máu não các chuột ở lô uống EGB liều 100mg/kg là  $86,31 \pm 8,19$ , giảm 12,16% so với lô 1 và tăng 11,48% so với lô 2, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Các lô dùng BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của chuột lần lượt là:  $85,65 \pm 8,03$  và  $87,15 \pm 8,22$ , giảm so với lô 1 lần lượt là: 12,83% và 11,31%, tăng so với lô 2 lần lượt là 10,63% và 12,57%, sự thay đổi này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ , so sánh giữa lô 4,5 với lô 3, và giữa lô 4 với lô 5 lưu lượng máu não thay đổi không đáng kể với  $p > 0,05$ . Kết quả nghiên cứu cho thấy chuột sau khi uống thuốc BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của chuột so với lô chuột uống Ginkobiloba liều 100mg/kg là tương đương nhau, có tăng hơn so với lô không uống thuốc có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ , tuy nhiên lưu lượng máu não ở các lô này còn thấp hơn đáng kể so với lô không phẫu thuật gây hẹp động mạch cảnh chung hai bên.

Tại thời điểm sau uống thuốc 21 ngày tức 28 ngày sau phẫu thuật, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột ở lô 1 là  $98,02 \pm 9,68$ , không có sự suy giảm đáng kể so với giá trị cơ sở, ở lô 2, lưu lượng máu não vùng

vỏ của các chuột là:  $80,06 \pm 8,05$ , giảm 18,32% so với lô 1, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ , ở lô 3, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột là:  $91,18 \pm 8,21$ , giảm 6,98% so với lô 1, sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ , tăng so với lô 2 : 13,89%, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ , ở lô 4 và lô 5 lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của các chuột lần lượt là:  $90,93 \pm 8,64$  và  $91,23 \pm 8,96$ , giảm so với lô 1 lần lượt là: 7,23% và 6,93% sự thay đổi này không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ , tăng so với lô 2 lần lượt là: 13,58% và 13,95% sự thay đổi này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ , sự thay đổi này so với lô 3 không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Kết quả nghiên cứu cho thấy, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của chuột ở các lô uống BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 tương đương lưu lượng máu não vùng vỏ não trước các chuột uống Ginko Biloba liều 100mg/kg, và lớn hơn lưu lượng máu não vùng vỏ não trước chuột không uống thuốc với  $p < 0,05$ . Giá trị này tương đương với lô chứng phẫu thuật với  $p > 0,05$ .

Giữa hai lô dùng BDHNTGV-1 và BDHNTGV-2, lưu lượng máu não vùng vỏ não trước ở các lô này không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ). So với thời điểm 7 ngày sau khi uống thuốc (BDHNTGV-1, BDHNTGV-2) lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của chuột sau 21 ngày uống thuốc có tăng cao hơn và giá trị này gần tương đương với lô chứng phẫu thuật, cho thấy lưu lượng máu não vùng vỏ não trước của chuột có sự phục hồi chậm sau phẫu thuật, và hai mức liều BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 có tác dụng tăng cường lưu lượng máu não tốt tương đương với liều Ginkobiloba 100mg/kg, lưu lượng máu não chuột về giá trị gần tương đương với giá trị cơ sở.

Khi tăng liều BDHNTGV, lưu lượng máu não chuột có xu hướng tăng hơn nhưng sự thay đổi đáng kể, chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Kết quả của nghiên cứu trên đây cũng phù hợp với những kết quả trước đây về tác dụng của bài thuốc BDHNT và tác dụng của các vị thuốc trong cao

lông bài thuốc BDHNTGV. BDHNT có tác dụng tăng lưu lượng máu não khu vực [77].

Xie K. H. (2018). Tác dụng của thuốc sắc Buyanghuanwu với các liều khác nhau của *Astragalus Membranaceus* đối với hsCRP và HCY của bệnh mạch máu não nhỏ. Kết quả: BDHNT có thể ức chế phản ứng viêm mãn tính và bảo vệ lớp nội mạc mạch máu, hơn nữa, BDHNT cải thiện tính lưu biến của máu, tăng vi tuần hoàn và tưới máu não của mô não với hội chứng khí hư và huyết ứ ở bệnh nhân bệnh mạch máu não nhỏ [80].

Thuốc sắc BDHNT làm tăng lưu lượng máu não, tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh đệm. BDHNT được ứng dụng trong điều trị các bệnh như đột quỵ hay bệnh tim mạch thể bệnh khí hư và huyết ứ theo y học cổ truyền thông qua tác dụng bổ khí để thúc đẩy hoạt huyết với việc sử dụng liều cao vị thuốc hoàng kỳ có tác dụng bổ khí [55].

Hồng hoa có tác dụng hoạt huyết, thúc đẩy lưu thông máu đã được sử dụng để điều trị bệnh tim mạch vành và huyết khối não, hồng hoa cải thiện trên chuột tổn thương tái tưới máu não do thiếu máu cục bộ với tác dụng chống chết theo chương trình, chống oxy hóa và chống viêm [58].

BDHNT có tác dụng cải thiện huyết học và tuần hoàn não, giảm độc tính dẫn truyền thần kinh kích thích, giảm stress oxy hóa, tác dụng chống viêm, đồng thời thúc đẩy sự hình thành mạch, tái tạo tế bào thần kinh và hình thành khớp thần kinh [81].

Xuyên khung bảo vệ các tế bào nội mô mạch máu chống lại tổn thương do tái tưới máu, cải thiện vi tuần hoàn, thúc đẩy lưu lượng máu não, loại bỏ huyết ứ [82].

Xích thược (*Radix Paeoniae Rubra*) là rễ khô của cây mẫu đơn thân thảo, có tác dụng thanh nhiệt, mát máu, thúc đẩy quá trình tuần hoàn máu, loại bỏ huyết ứ. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng *Radix Paeoniae Rubra* có tác dụng cải thiện tình trạng thiếu máu não cục bộ ở chuột, và thúc đẩy phục hồi chức năng

thần kinh của bệnh nhân đột quy đang dưỡng bệnh cải thiện bệnh viêm mãn tính [83],[84].

Địa long đã được sử dụng kết hợp với nhiều loại đơn thuốc y học cổ truyền, địa long thúc đẩy tuần hoàn máu, loại bỏ ứ đọng máu. Ngoài ra, địa long có chức năng bảo vệ các tế bào nội mô mạch máu não chống lại sự tái tưới máu do thiếu oxy-glucose và thúc đẩy tái tạo dây thần kinh ngoại biên.[85],[86].

Các thành phần hòa tan trong lipid của đan sâm, chẳng hạn như tanshinone I, tanshinone IIA, dihydrotanshinone và cryptotanshinone, có các đặc tính dược lý như thúc đẩy lưu thông máu, kháng khuẩn và chống viêm[87].

Yu Xiang Fei và cộng sự năm 2017 nghiên cứu: một chiết xuất của đan sâm viết tắt(SCED) bao gồm: tanshinone IIA, tanshinone I và cryptotanshinone đã cải thiện điểm khiếm khuyết thần kinh, tăng lưu lượng máu não, giảm kích thước vùng nhồi máu và giảm phù não ở chuột thiếu máu não cục bộ bằng tác động mạch não giữa vĩnh viễn[88].

## **4.2. Bàn luận về tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị**

### **4.2.1. Bàn luận về mô hình mê lộ nhiều chữ T**

Mô hình mê lộ nhiều chữ T để đánh giá trí nhớ không gian và đánh giá hành vi tìm kiếm thức ăn của chuột. Nhiệm vụ dựa trên tiền đề rằng động vật đã phát triển một chiến lược tối ưu để khám phá môi trường của chúng và kiếm thức ăn với ít nỗ lực nhất. Mô hình mê lộ nhiều chữ T là mô hình được sử dụng rộng rãi nhất để điều tra các khía cạnh cụ thể của trí nhớ làm việc không gian [89]. Mô hình mê lộ nhiều chữ T còn đánh giá cách thức học tập không gian cơ bản ở động vật có xương sống và đã mang lại nhiều thông tin về cách động vật phản ứng và đặt tín hiệu để hướng tới mục tiêu.

Các nghiên cứu khác nhau trước đây sử dụng mô hình này trên động vật thí nghiệm cho thấy, độ trễ để đến được khoang đích và số lượt thực hiện

trước khi đến được khoang đích giảm đáng kể (dùng tôm càng làm thí nghiệm), cho thấy động vật có học được cách thoát khỏi mê cung nhanh và hiệu quả hơn sau các ngày thử nghiệm, ngoài việc ghi nhớ vị trí của lối ra, động vật còn nhớ cấu hình tổng thể của mê cung [89].

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 để thăm dò trí nhớ ngắn hạn và ngày 8 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.

Ở pha huấn luyện ngày 1 (N1) đến ngày 4 (N4), lấy chỉ tiêu đánh giá là thời gian chuột tìm tới được khoang đích, ở lô chứng phẫu thuật (PT), thời gian chuột tìm thấy khoang đích giảm dần và rõ rệt từ ngày 1 ( $116,81 \pm 9,65s$ ) đến ngày 4 ( $70,13 \pm 6,28s$ ), ở lô chứng bệnh lý, thời gian chuột tìm thấy khoang đích N1 và N4 lần lượt là :  $296,83 \pm 16,24$  và:  $242,51 \pm 13,76$ , thời gian dài hơn hẳn và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . Ở các lô chuột được uống thuốc Ginko Biloba và BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, thời gian chuột tìm đến được khoang đích giảm hẳn so với lô chứng bệnh lý, sự



khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ , so sánh giữa các lô sử dụng thuốc tham chiếu và nhóm đối chứng, thời gian chuột tìm thấy khoang đích là tương đương, sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Ở pha huấn luyện(N1 đến N4), lấy chỉ tiêu đánh giá là chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích của mê lộ nhiều chữ T. Ở lô chứng PT, chiều dài quãng đường chuột đi giảm dần từ N1( $46,28 \pm 1,25m$ ) đến N4( $13,58 \pm 0,86m$ ), ở chuột khỏe mạnh, chiều dài quãng đường chuột tìm đến khoang đích giảm rõ rệt từ N1 đến N4 của pha huấn luyện.

Ở lô chuột phẫu thuật gây hẹp động mạch cảnh chung hai bên(lô 2), chiều dài quãng đường đi của chuột cũng giảm dần từ N1( $88,35 \pm 1,47m$ ) đến N4( $59,42 \pm 1,19m$ ), tuy nhiên so với lô chuột khỏe mạnh, thời gian này dài hơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ , ở các lô 3, lô 4, lô 5, quãng đường chuột tìm thấy khoang đích ngắn hơn so với lô chứng bệnh lý, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ , ở 2 lô chuột được uống thuốc nghiên cứu, quãng đường chuột tìm đến được khoang đích so với lô chuột uống thuốc đối chứng là tương đương nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Giữa hai lô chuột uống BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, quãng đường chuột tìm thấy khoang đích có thấp hơn không đáng kể và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, khi tăng liều BDHNTGV gấp 3 lần liều lâm sàng có xu hướng tăng tác dụng nhưng không đáng kể.

Ở pha huấn luyện (N1 đến N4), lấy chỉ tiêu đánh giá là số lần quyết định sai của chuột( khi chuột đặt cả 4 chân vào nhánh đó mới được tính là một lần lựa chọn). Ở lô chứng PT, số lần quyết định sai giảm dần từ N1( $6,39 \pm 0,16$ ) đến N4 ( $2,23 \pm 0,11$ ), chuột đã có sự học hỏi và ghi nhớ sau các ngày huấn luyện. Ở lô bệnh lý, số lần quyết định sai của chuột nhiều hơn nhiều hơn lô 1 ở các N1( $10,71 \pm 0,24$ ) và N4 ( $6,52 \pm 0,15$ ), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Ở lô 3, lô 4, lô 5, số lần quyết định sai của chuột giảm hơn so

với lô chứng bệnh lý, N1 lô 3 ( $9,10 \pm 0,23$ ), N4 lô 3 ( $5,06 \pm 0,17$ ), N1 lô 4 ( $9,28 \pm 0,21$ ), N4 lô 4 ( $4,12 \pm 0,13$ ), N1 lô 5 ( $8,66 \pm 0,25$ ), N4 lô 5 ( $4,99 \pm 0,12$ ), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Từ kết quả trên thấy được sau các ngày chuột có học hỏi và số quyết định sai giảm rõ rệt từ N1 đến N4 ở tất cả các lô. Và ở các lô chuột được uống thuốc, số quyết định sai của chuột giảm hơn so với lô bệnh lý. So sánh các lô 4, lô 5 với lô 3, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ , điều này cho thấy BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 có tác dụng cải thiện tương đương với GinkoBiloba liều 100mg/kg. Ở hai lô dùng BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 số quyết định sai của chuột có giảm nhưng chưa đáng kể cho thấy khi tăng liều gấp 3 lần liều lâm sàng thì tác dụng có xu hướng gia tăng nhưng chưa đáng kể.

Kết quả về sự thay đổi (giảm) đáng kể thời gian và quãng đường chuột tìm thấy khoang đích, giảm số lần các quyết định sai sau các lần học hỏi của chuột có sự khác biệt từ N1 đến N4 thấy có sự phù hợp với báo cáo trước đây về mô hình nghiên cứu.

Ở pha đánh giá trí nhớ ngắn hạn ngày 5 (N5), các chỉ số đánh giá tương tự các chỉ số ở pha huấn luyện. Lấy chỉ tiêu đánh giá là thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s), ở lô chứng bệnh lý, thời gian chuột tìm tới được khoang đích ( $237,42 \pm 2,73$ ) dài hơn lô chứng PT ( $58,51 \pm 0,95$ ), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ , ở lô chuột uống Ginkobiloba, thời gian chuột tìm đến khoang đích ( $71,95 \pm 0,94$ ), lô chuột uống BDHNTGV-1, thời gian chuột tìm đến khoang đích ( $74,24 \pm 0,89$ ), lô chuột uống BDHNTGV-2, thời gian chuột tìm đến khoang đích ( $72,59 \pm 0,71$ ), các kết quả này so với lô chứng bệnh lý giảm rõ rệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Giữa các lô 3,4,5 sự khác biệt về mặt thống kê không có ý nghĩa với  $p > 0,05$ .

Kết quả cũng tương tự ở các chỉ số đánh giá về quãng đường chuột tìm đến khoang đích và số lần quyết định sai của chuột. Cho thấy trên pha đánh giá trí

nhớ ngắn hạn của chuột, tác dụng cải thiện trí nhớ của chuột uống Ginkobiloba liều 100mg/kg tương đương với BDHNTGV-1, BDHNTGV-2.

Ở pha đánh giá trí nhớ dài hạn (ngày 8), các chỉ số đánh giá tương tự các chỉ số ở pha huấn luyện. Lấy chỉ tiêu đánh giá là thời gian chuột tìm tới được khoang đích (s), ở lô chứng bệnh lý, thời gian chuột tìm tới được khoang đích ( $250,68 \pm 3,65$ ) dài hơn hẳn so với lô chứng PT ( $55,23 \pm 0,36$ ), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ , ở lô chuột uống Ginkobiloba, thời gian chuột tìm đến khoang đích ( $73,36 \pm 0,23$ ), lô chuột uống BDHNTGV-1, thời gian chuột tìm đến khoang đích ( $79,12 \pm 0,64$ ), lô chuột uống BDHNTGV-2, thời gian chuột tìm đến khoang đích ( $74,55 \pm 0,98$ ), các kết quả này so với lô chứng bệnh lý giảm rõ rệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Giữa các lô 3,4,5 sự khác biệt về mặt thống kê không có ý nghĩa với  $p > 0,05$ .

Kết quả cũng tương tự ở các chỉ số đánh giá về quãng đường chuột tìm đến khoang đích và số lần quyết định sai của chuột. Cho thấy trên pha đánh giá trí nhớ dài hạn của chuột, tác dụng cải thiện trí nhớ của chuột uống Ginkobiloba liều 100mg/kg tương đương với BDHNTGV-1, BDHNTGV-2.

Kết quả nghiên cứu trên mô hình này cho thấy, chuột bị gây suy giảm trí nhớ 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 BDHNTGV cũng như lô dùng thuốc tham chiếu Ginko biloba 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 thuốc BDHNTGV 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. Sự không khác biệt khi so sánh giữa các lô dùng

thuốc chứng tỏ BDHNTGV dùng liều 49,8g dược liệu/kg/ngày đã thể hiện tác dụng tốt, tương đương với Ginko biloba liều 100mg/kg. Sự tăng liều của BDHNTGV có xu hướng làm tăng tác dụng nhưng không đáng kể.

#### **4.2.2. Bàn luận về mô hình mê cung nước Morris**

Mê cung nước Morris (MWM) lần đầu tiên được thành lập bởi nhà thần kinh học Richard G. Morris vào năm 1981[90] để kiểm tra quá trình học tập trong không gian dành cho loài gặm nhấm dựa vào các tín hiệu ở xa để di chuyển từ các vị trí xuất phát xung quanh chu vi của một bể bơi để xác định vị trí thoát hiểm dưới nước. Học tập không gian được đánh giá qua các thử nghiệm được lặp đi lặp lại và bộ nhớ được xác định qua các thử nghiệm đặt bển đồ trong bể nước và bển đồ được giấu đi.

Sự thay đổi vị trí của chuột và thay đổi vị trí bển đồ giúp tăng cường khả năng phát hiện các khiếm khuyết về không gian. Việc thoát khỏi nước của động vật thí nghiệm không phụ thuộc nhiều vào sự khác biệt khối lượng cơ thể, khiến cho mô hình này lý tưởng cho nhiều mô hình thử nghiệm.

MWM đã được chứng minh là một thử nghiệm mạnh mẽ và đáng tin cậy, có mối tương quan chặt chẽ với độ dẻo của khớp thần kinh hồi hải mã [91]. Từ đó, nhóm nghiên cứu lựa chọn mô hình này và mô hình mê lộ nhiều chữ T là hai mô hình kinh điển đã được chứng minh và sử dụng nhiều trên thế giới để đánh giá khả năng cải thiện học tập, ghi nhớ trong không gian.

MWM là mô hình để đánh giá về khả năng học tập, 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 đồ.

Đánh giá kết trong pha huấn luyện cho phép đánh giá khả năng học tập của chuột.

Ở giai đoạn huấn luyện, đánh giá khả năng học tập của chuột. Lấy chỉ tiêu đánh giá là thời gian chuột tìm thấy chân đế (s), ở lô chứng PT, thời gian

chuột tìm thấy chân đế từ N1(39, 55± 4,12) đến N5(21,32± 2,19) giảm đáng kể, so với lô chứng bệnh lý, thời gian chuột tìm thấy chân đế từ N1 (81,64 ± 5,93) đến N5 (70,55± 5,42), ở lô 2 thời gian chuột tìm đến chân đế lâu hơn lô 1, sự thay đổi này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . Ở lô 3 thời gian chuột tìm đến chân đế N1 (53,17± 4,93), N5 (30, 44± 2,86), ở lô 4 thời gian chuột tìm đến chân đế N1 (59, 58± 4,85), N5 (38,90± 3,08), ở lô 5 thời gian chuột tìm đến chân đế N1 (55, 35± 4,83), N5 (31,16± 2,93), so sánh các lô này với lô 2, thấy thời gian để chuột tìm đến chân đế thấp hơn hẳn, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . So sánh lô 3 với lô 4, lô 5, thời gian chuột tìm đến chân đế tương đương nhau, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

So sánh hai lô dùng BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 với nhau thấy thời gian chuột tìm đến chân đế có giảm hơn nhưng sự khác biệt không đáng kể với  $p > 0,05$ .

Ở giai đoạn huấn luyện, đánh giá khả năng học tập của chuột. Lấy chỉ tiêu đánh giá là quãng đường chuột tìm thấy chân đế(m), ở lô chứng bệnh lý, quãng đường chuột tìm thấy chân đế từ N1 (11,65± 0,93) đến N5 (7,67± 0,56) so với lô chứng PT, quãng đường chuột tìm thấy chân đế từ N1(11,65± 0,93) đến N5 (7,67± 0,56) giảm đáng kể, sự thay đổi này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . Ở lô 3 quãng đường chuột tìm đến chân đế N1(12,67± 0,96), N5 (7,94± 0,63), ở lô 4 quãng đường chuột tìm đến chân đế N1(13,57 ± 0,91), N5 (8,26 ± 0,68), ở lô 5 quãng đường chuột tìm đến chân đế N1(12,19± 0,85), N5 (7,47± 0,59), so sánh các lô này với lô 2, thấy quãng đường để chuột tìm đến chân đế thấp hơn hẳn, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . So sánh lô 3 với lô 4, lô 5, quãng đường chuột tìm đến chân đế tương đương nhau, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Kết quả nghiên cứu trên đây cho thấy, trong giai đoạn huấn luyện ở lô chứng bệnh lý, chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bên đỡ dài

hơn so với ở lô chứng PT ở tất cả các ngày đánh giá ( $p < 0,001$ ); ở lô Ginko biloba và các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bển đồ đều ngắn hơn lô chứng bệnh lý ở các ngày nghiên cứu ( $p < 0,01$ ); ở các lô BDHNTGV-1, BDHNTGV-2, chiều dài quãng đường chuột tìm thấy chân đế - bển đồ tương đương nhau và tương đương với lô Ginko biloba ở các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

Chuột ở lô gây suy giảm trí nhớ bằng gây hẹp động mạch cảnh 2 bên có thời gian tìm thấy chân đế - bển đồ và chiều dài quãng đường tìm thấy chân đế - bển đồ dài hơn so với lô không gây hẹp động mạch cảnh ( $p < 0,001$ ). Sự suy giảm trí nhớ gây ra do giảm lưu lượng máu não làm tổn thương vùng dưới vỏ, chất trắng có liên quan nhiều đến trí nhớ không gian, đã tác động mạnh mẽ đến khả năng học tập ghi nhớ không gian của chuột, làm khả năng học của chuột sa sút rõ rệt.

Ở lô chuột uống thuốc tham chiếu Ginko biloba, cũng như các lô chuột uống Bỏ dương hoàn ngũ thang gia vị, thời gian tìm thấy chân đế - bển đồ và chiều dài quãng đường tìm thấy chân đế - bển đồ giảm đi rõ rệt so với ở lô mô hình ( $p < 0,01$ ). Thuốc tham chiếu Ginko biloba là thuốc đã biết rõ có tác dụng tăng cường trí nhớ.

Kết quả thử nghiệm với chế phẩm BDHNTGV 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 BDHNTGV làm tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ khi đánh giá trên mô hình thực nghiệm.

Với 2 mức liều thử nghiệm, 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 49,8g dược liệu/kg/ngày ở chuột nhất 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 đồ đã được lấy đi, chuột dựa trên khả năng ghi nhớ sẽ cố gắng tìm chân đế - bển đồ ở góc ¼ bể trước đó đặt chân đế, do đó thời gian chuột bơi trong góc phần tư này sẽ nhiều hơn.

Ở pha thăm dò trí nhớ, đánh giá dựa vào phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế (%), ở lô chứng PT là  $28,62 \pm 0,96\%$ , ở lô chứng bệnh lý, phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt chân đế là  $10,23 \pm 0,68\%$ , giảm 64,26% so với lô 1, có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ , tương tự kết quả này ở lô 3 ( $23,93 \pm 1,32\%$ ) giảm hơn so với lô 1: 16,39%, tăng so với lô 2: 133,92%, sự khác biệt giữa lô 3 và lô 2 có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ , lô 4 ( $24,61 \pm 1,27\%$ ), giảm hơn so với lô 1: 14,01%, tăng so với lô 2: 140,57%, sự khác biệt giữa lô 4 và lô 2 có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ , lô 5 ( $23,25 \pm 1,42\%$ ) giảm so với lô 1 (18,76%), tăng so với lô 2 (127,27%), sự khác biệt giữa lô 5 và lô 2 có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . So sánh các lô 3, lô 4, lô 5 với nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Kết quả trên đây chứng tỏ, chuột ở lô gây suy giảm trí nhớ, 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 BDHNTGV cũng như lô dùng thuốc tham chiếu Ginko biloba, 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), chứng tỏ tác dụng tăng cường khả năng ghi nhớ của thuốc nghiên cứu.

Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả đánh giá trên mô hình mê lộ chữ T. Sự không khác biệt khi so sánh giữa các lô dùng thuốc chứng tỏ BDHNTGV dùng liều 49,8g dược liệu/kg/ngày đã thể hiện tác dụng tốt, tương đương với Ginko biloba liều 100mg/kg. Sự tăng liều của BDHNTGV có xu hướng làm tăng tác dụng nhưng không đáng kể.

### **4.2.3. Bàn luận về tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị.**

Trong nghiên cứu của chúng tôi. Chuột nhắt tham gia nghiên cứu được thắt hẹp động mạch cảnh chung hai bên gây ra tình trạng thiếu máu não mạn tính và được đánh giá khả năng học tập, trí nhớ không gian của chuột bằng mô hình mê cung nước Morris và mô hình mê lộ nhiều chữ T. Phẫu thuật thắt hẹp hai động mạch cảnh chung đã mô tả một cách tương đối chính xác cơ chế bệnh sinh của thiếu máu não mạn tính và sa sút trí tuệ mạch máu (không một mô hình nào mô phỏng một cách đầy đủ các cơ chế bệnh của sa sút trí tuệ mạch máu).

Từ các phân tích trên đây khẳng định được tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của chuột khi nghiên cứu trên các mô hình đánh giá khả năng học tập và ghi nhớ không gian bằng mô hình mê cung nước Morris và mô hình mê lộ nhiều chữ T của bài thuốc BDHNTGV, ở hai mức liều BDHNTGV-1 và BDHNTGV-2, tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của chuột tương đương khi uống Ginkobiloba liều 100mg/kg, khi tăng liều gấp 3 lần liều lâm sàng, BDHNTGV-2 thể hiện tác dụng tốt hơn BDHNTGV-1, song sự thay đổi này chưa lớn, không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Bài thuốc BDHNTGV có tác dụng bổ khí huyết, hoạt huyết thông lạc, bổ thận âm. Theo y học cổ truyền, tinh được tàng trữ tại thận, thận tàng chí, tinh sinh tủy, tủy phân thành cốt tủy ở cột sống lên não, nên thận thông với não, não là bể của tủy, khi thận hư sinh các chứng bệnh như: trí tuệ chậm phát triển, tinh thần đần độn, suy giảm trí nhớ.

Khi thận tinh được sung túc, biển tủy được nuôi dưỡng, não phát triển khỏe mạnh thì tư duy nhanh nhẹn, tinh lực tràn đầy, tai thính mắt tinh, động tác linh lợi, thận tinh suy nhược không sinh tủy bổ sung cho não gây suy giảm trí nhớ [6], [92]. Mặt khác, huyết do tinh sinh ra, tinh tàng ở thận [92]. Bổ



thận giúp dưỡng huyết, giúp não tủy sung túc, dồi dào. Khí huyết đầy đủ thì thân thể khỏe mạnh.

Hai vị thuốc nữ trinh tử, hạn liên thảo kết hợp với nhau giúp bổ thận âm mà dưỡng huyết, hai vị thuốc phối hợp với nhau có tác dụng dưỡng huyết, hoạt huyết tốt, khí huyết đầy đủ, huyết mạch lưu thông mà tăng cường chức năng nuôi dưỡng não tủy giúp cải thiện chức năng não bộ, hơn nữa hai vị thuốc trên phối hợp nhau còn có tác dụng bổ thận âm, thận có chức năng tàng tinh sinh tủy, khi phối hợp hai vị thuốc trên cùng với các vị thuốc bổ khí hoạt huyết trong bài thuốc BDHNTGV (đã được chứng minh tác dụng tăng lưu lượng máu não), làm tăng cường chức năng não tủy, từ đó giúp cải thiện khả năng ghi nhớ, học tập.

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu trước đây về bài thuốc BDHNT và các vị thuốc trong cao lỏng bài thuốc BDHNTGV, so sánh với nghiên cứu trên thế giới.

Nghiên cứu của Tang Jiong và cộng sự năm 2013: BDHNT là một loại thuốc truyền thống của Trung Quốc, đã được phát triển để điều trị chứng mất trí nhớ mạch máu trong hàng trăm năm, tác dụng bảo vệ của BDHNT đối với tế bào thần kinh hồi hải mã đã được kiểm tra ở chuột tái tưới máu do thiếu máu cục bộ. Ở chuột thuộc nhóm uống BDHNT, tổn thương tế bào thần kinh ở hồi hải mã ít hơn đáng kể so với nhóm chứng.

Kết quả cho thấy rằng BDHNT có tác dụng bảo vệ thần kinh chống lại tổn thương do thiếu máu cục bộ ở vùng hồi hải mã và tham gia vào việc xây dựng lại khớp thần kinh thúc đẩy phục hồi khả năng học tập và trí nhớ chuột [93].

Nghiên cứu của Lin Luo và cộng sự năm 2017: Nước sắc BDHNT có tác dụng phục hồi chức năng thần kinh vùng hồi hải mã- một vùng cấu trúc quan trọng của não bộ có chức năng cải thiện khả năng ghi nhớ, BDHNT có thể bảo vệ các tế bào thần kinh khỏi quá trình chết theo chương trình và thúc đẩy quá trình hình thành tế bào thần kinh ở vùng hải mã [94].

Nghiên cứu của Si-Cheng Liu và cộng sự năm 2019: Paeoniflorin thành phần chính chiết xuất từ xích thược có tác dụng cải thiện hiệu suất của chuột căng thẳng nhẹ mạn tính trong mô hình mê cung nước morris, tình trạng suy giảm điện thế dài hạn hồi hải mã do căng thẳng nhẹ mạn tính gây ra cũng được đảo ngược. Cho thấy tác dụng cải thiện khả năng học tập của xích thược trên mô hình mê cung nước morris [95].

Nghiên cứu của Xiude Jin và cộng sự năm 2020: Hoàng kỳ có nhiều tác dụng dược lý, sử dụng hoàng kỳ có tác dụng cải thiện khả năng nhận thức từ đó cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ của chuột trong không gian, quá trình chết theo chương trình của tế bào não và hàm lượng  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) trên chuột giảm đáng kể sau khi sử dụng hoàng kỳ [96]. Kết quả tương tự về chiết xuất Astragaloside IV (AS-IV) thành phần chính trong nước sắc hoàng kỳ.

Kết quả của các thí nghiệm hành vi bao gồm thử nghiệm nhận dạng đối tượng mới (NOR) và thử nghiệm mê cung nước Morris (MWM) cho thấy rằng việc sử dụng có thể cải thiện đáng kể tình trạng suy giảm nhận thức trên chuột AD phụ thuộc vào liều lượng, cho thấy mức độ tăng của các loại oxy phản ứng (ROS), yếu tố hoại tử khối u  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) và IL-6 trong các mô hồi hải mã do tiêm oA $\beta$  ( $A\beta$  oligomeric gây AD ở chuột trên mô hình) bị ức chế đáng kể sau khi điều trị AS-IV.

Kích hoạt vi mô do oA $\beta$  gây ra và tổn thương tế bào thần kinh đã bị ức chế đáng kể ở não chuột được điều trị bằng AS-IV, được quan sát thấy trong kết quả hóa mô miễn dịch. Hơn nữa, sự biểu hiện protein được điều hòa tăng oA $\beta$  của các tiểu đơn vị NADPH oxidase gp91phox, p47phox, p22phox và p67phox đã giảm đáng kể bởi AS-IV. Những kết quả này cho thấy AS-IV có thể cải thiện tình trạng suy giảm nhận thức do oA $\beta$  gây ra, viêm thần kinh và tổn thương tế bào thần kinh, có thể qua trung gian là ức chế kích hoạt vi mô và điều chỉnh giảm biểu hiện protein NADPH oxyase, từ đó có tác dụng tăng cường khả năng học tập, ghi nhớ chuột trên mô hình MWM [97].

Nghiên cứu của Swati Halder và cộng sự năm 2021: cỏ mực (hạn liên thảo) có tác dụng tăng cường trí nhớ, chống động kinh, ngoài ra cỏ mực còn có các tác dụng điều trị viêm, bạc và rụng tóc. Liều 100 và 200 mg/kg dịch chiết nước cỏ mực được dùng cho chuột. Sau đó, độ trễ chuyển giao, đại diện cho thước đo quá trình học thu nhận và truy xuất lại, được đánh giá trong một bài kiểm tra mê cung nâng cao. Việc học theo thói quen không gian cho thấy một tiến bộ có liên quan trong bộ nhớ truy xuất của loài gặm nhấm được thử nghiệm [44].

Nghiên cứu của Wen Li Zhu năm 2020: Thành phần dược lý chính trong đương quy, ligustilide, đã được báo cáo là có tác dụng bảo vệ AD. Kết quả chỉ ra rằng ligustilide phát huy tác dụng chống oxy hóa bằng cách giảm mức độ của các dấu hiệu stress oxy hóa. Ngoài ra, ligustilide cải thiện chức năng thần kinh và làm giảm quá trình chết theo chương trình và viêm thần kinh. Những phát hiện này đã chỉ ra rằng điều trị bằng ligustilide giúp cải thiện chức năng ty thể ở chuột lão hóa và cải thiện tình trạng mất trí nhớ [98].

Lý Vân Trạch và cộng sự năm 2022 nghiên cứu: Danshen có thể làm giảm tình trạng thiếu hụt thần kinh ở bệnh nhân SSTT mạch máu và có thể cải thiện tình trạng viêm nhiễm thông qua làm giảm CRP, interleukin (IL)-6[99].

Luo và cộng sự năm 2020 nghiên cứu: Chiết xuất của *Ligustrum lucidum* Ait (nữ trinh tử) 3- O-cis - hoặc 3- O-trans-p-coumaroyl maslinic acid (OCMA), với các tỷ lệ khác nhau, trans -OCMA làm giảm mức amyloid-beta. Điều trị bệnh Alzheimer ở chuột mô hình biến đổi gen bằng trans -OCMA hoặc dẫn xuất carbamate tương tự của sản phẩm tự nhiên triterpene pentacyclic có liên quan, axit oleanolic, đã cải thiện sự suy giảm tính dẻo của khớp thần kinh. Công trình này chỉ ra rằng hợp chất tự nhiên trans-OCMA và các chất tương tự của nó có thể trở thành một thành phần đầy hứa hẹn để điều trị bệnh Alzheimer[100].

Park và cộng sự năm 2018 nghiên cứu: Sự chết theo chương trình của tế bào trong các tế bào thần kinh đóng một vai trò quan trọng trong việc kiểm soát một số rối loạn thần kinh, bệnh Parkinson, bệnh Alzheimer, bệnh Huntington và đột quy do thiếu máu cục bộ. Các nghiên cứu cho thấy rằng kê huyết đằng có tiềm năng điều trị cho sự chết tế bào liên quan đến rối loạn thần kinh hoặc đột quy do thiếu máu cục bộ [101].

Sự thiếu máu não mạn tính đã được chứng minh có mối liên quan với suy giảm chức năng thần kinh bao gồm suy giảm trí nhớ. Điều này đã được nêu rõ ở mối liên quan giữa suy giảm lưu lượng máu não và cơ chế sinh bệnh của sa sút trí tuệ đặc biệt là sa sút trí tuệ mạch máu, hơn nữa, ở bệnh nhân thiếu máu não mạn tính cũng có triệu chứng suy giảm trí nhớ. Vì vậy, sử dụng thuốc có tác dụng tăng lưu lượng máu não và cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ là một phương pháp điều trị có lợi cho hai loại bệnh này.

Kết quả nghiên cứu trên đây đã khẳng định được tác dụng tăng cường lưu lượng máu não và tác dụng cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ của cao lỏng BDHNTGV trên mô hình chuột gây giảm tưới máu não mạn tính. Ở hai mức liều, BDHNTGV-1, BDHNTGV-2 đều thể hiện tác dụng tăng lưu lượng máu não và cải thiện khả năng học tập, ghi nhớ trên chuột nhắt, khi tăng liều gấp 3 lần liều lâm sàng, BDHNTGV thể hiện tác dụng tốt hơn, song sự thay đổi này chưa lớn, chưa có giá trị thống kê với  $p > 0,05$ .

Hy vọng kết quả nghiên cứu trên đây sẽ góp một phần làm tiền đề cho việc ứng dụng cao lỏng BDHNTGV trên nhóm đối tượng bệnh nhân thiếu máu não mạn tính và nhóm đối tượng bệnh nhân sa sút trí tuệ mạch máu.

## KẾT LUẬN

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

### 1. Tác dụng tăng cường lưu lượng máu não

Cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị liều 49,8g dược liệu/kg/ngày và 149,4g dược liệu/kg/ngày có tác dụng làm tăng lưu lượng máu não trên chuột nhắt trắng bị gây giảm tưới máu não mạn tính do hẹp động mạch cảnh chung hai bên, tương đương với Ginko biloba liều 100mg/kg. So với liều 49,8g dược liệu/kg/ngày, liều 149,4g dược liệu/kg/ngày có xu hướng tác dụng tốt hơn nhưng không có ý nghĩa thống kê.

### 2. Tác dụng cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ

Cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị liều 49,8g dược liệu/kg/ngày và 149,4g dược liệu/kg/ngày, có tác dụng cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ trên chuột nhắt trắng bị gây giảm tưới máu não mạn tính do hẹp động mạch cảnh chung hai bên. Cụ thể:

+ **Trên mô hình mê lộ nhiều chữ T:** làm giảm thời gian và quãng đường tìm thấy khoang đích, làm giảm số lần quyết định sai ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ) trong cả thử nghiệm ở giai đoạn huấn luyện, học tập (4 ngày đầu), và cả trong thử nghiệm trí nhớ ngắn hạn (ngày thứ 5) và thử nghiệm trí nhớ dài hạn (ngày thứ 8).

+ **Trên mê cung nước Morris:** làm giảm thời gian và quãng đường tìm thấy chân đế, làm tăng phần trăm thời gian bơi của chuột trong 1/4 bể có chân đế ( $p < 0,01$ ).

Các tác dụng này của Cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị tương đương với Ginko biloba liều 100mg/kg.

## **KIẾN NGHỊ**

Từ kết quả của nghiên cứu tác dụng tăng lưu lượng máu não của **bài thuốc BỔ dương hoàn ngũ thang trên thực nghiệm**, chúng tôi xin đề xuất kiến nghị sau:

- Đánh giá độc tính bán trường diễn của cao lỏng BỔ dương hoàn ngũ thang gia vị trên thực nghiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Phạm Khuê**(1988). Rối loạn tuần hoàn não ở người có tuổi. Bệnh học người già. Nhà xuất bản Y học. 1-24, 238-270.
2. **BỘ Y TẾ**(2011). Sinh lý học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr.194 -197.
3. **Vijayan, M., & Reddy, P. H.** (2016). Stroke, Vascular Dementia, and Alzheimer's Disease: Molecular Links. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 54(2), 427–443.
4. **Khan, A., Kalaria, R. N., Corbett, A., & Ballard, C.** (2016). Update on Vascular Dementia. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, 29(5), 281–301.
5. **Abdulrahman H** (2022). Cerebral perfusion and the risk of cognitive decline and dementia in community dwelling older people, *Cerebral circulation – cognition and behavior*, pp.100-125.
6. **BỘ y tế** (2016). Lão khoa y học cổ truyền, nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, tái bản lần thứ hai, tr.219,223
7. **Xue Bai, meng zhang** (2021). Traditional Chinese Medicine Intervenes in Vascular Dementia: Traditional Medicine Brings New Expectations. *Neuropharmacology*, volume 12.
8. **Lin Z et al** (2012). Traditional chinese medicine for senile dementia. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 619-621.
9. **Nguyễn Minh Hà** (2010). Nghiên cứu tác dụng điều trị nhồi máu não sau giai đoạn cấp của bài thuốc bổ dương hoàn ngũ thang. *Tạp chí Y học thực hành*,tr.111- 113.
10. **沈建** (2014) .补阳还五汤抗脑缺血作用及促血管新生的机制研, 年博士论文, 浙江大学.**Thẩm Kiến** (2014). Tác dụng chống

thiếu máu cục bộ của Nước sắc Buyang Huanwu và cơ chế thúc đẩy quá trình tạo mạch, Luận án tiến sĩ y học. Đại học Chiết Giang.

11. **Charlick, M., & M Das, J.** (2022). Anatomy, Head and Neck: Internal Carotid Arteries. *In StatPearls. StatPearls Publishing.*
12. **Sergio Fantini** (2016). Cerebral blood flow and autoregulation: current measurement techniques and prospects for noninvasive optical methods. *Neurophotonics.*
13. **Claassen, J. A. H. R., Thijssen, D. H. J., Panerai, R. B., & Faraci, F. M.** (2021). Regulation of cerebral blood flow in humans: physiology and clinical implications of autoregulation. *Physiological reviews, 101*(4), 1487–1559.
14. **Watts, M. E., Pocock, R., & Claudianos, C.** (2018). Brain Energy and Oxygen Metabolism: Emerging Role in Normal Function and Disease. *Frontiers in molecular neuroscience, 11*, 216.
15. **Oliver Bracko** (2021). Causes and consequences of baseline cerebral blood flow reductions in Alzheimer's disease. *Journal of cerebral blood flow and metabolism. 41*(7): 1501–1516.
16. **Yalcin, O., Ortiz, D., Williams, A. T., Johnson, P. C., & Cabrales, P.** (2015). Perfusion pressure and blood flow determine microvascular apparent viscosity. *Experimental physiology, 100*(8), 977–987.
17. **Brandon Foreman, Jan Claassen** (2012). Quantitative EEG for the Detection of Brain Ischemia. *Critical care, 16*(2):216.
18. **Andrea Biasucci, Benedetta Franceschiello, Micah M Murray**(2019). *Electroencephalography, current biology, 29*(3):80-85.
19. **Wang, Y., Meng, R., Liu, G., Cao, C., Chen, F., Jin, K., Ji, X., & Cao, G.** (2019). Intracranial atherosclerotic disease. *Neurobiology of disease, 124*, 118–132.



20. **Da Zhou et al** (2018). Advances in chronic cerebral circulation insufficiency. *CNS neuroscience and therapeutics*, 24(1): 5-17.
21. **Zhou, D., Meng, R., Li, S. J., Ya, J. Y., Ding, J. Y., Shang, S. L., Ding, Y. C., & Ji, X. M.** (2018). Advances in chronic cerebral circulation insufficiency. *CNS neuroscience & therapeutics*, 24(1), 5–17.
22. **Phạm Thắng** (2010). Bệnh Alzheimer và các thể sa sút trí tuệ khác, Nhà xuất bản y học, Hà Nội, tr.5,37.
23. **Arvanitakis, Z., Shah, R. C., & Bennett, D. A.** (2019). Diagnosis and Management of Dementia: *Review. JAMA*, 322(16), 1589–1599.
24. **William Thies, Laura Bleiler** (2013), 2013 Alzheimer's disease facts and figures, *The journal of the alzheimer's association*.
25. **David S Knopman et al** (2021). Alzheimer disease. *Nature reviews. Disease primers*.7(1):33.
26. **Nguyễn Bá Tĩnh(2010)**. Tuệ Tĩnh toàn tập, Nhà xuất bản Y học, tái bản lần thứ 5 có sửa chữa bổ sung, tr.150-157.
27. **Hải Thượng Lãn Ông** (2001), Hải thượng Y tông tâm lĩnh tập 1-2, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr.417,418.
28. **Vụ khoa học và đào tạo, Bộ Y Tế** (2005). Lý luận cơ bản Y học cổ truyền. Nhà xuất bản Y học, tr.35-39.
29. **Phòng đào tạo sau đại học – Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam**. Bệnh học (tài liệu dùng cho đối tượng dự thi sau đại học). Tài liệu lưu hành nội bộ.
30. **Bộ môn Phương tễ, Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam** (2015). Giáo trình phương tễ, tài liệu lưu hành nội bộ.
31. **Trần Văn Bản** (2013). Trung ương hội đông y học Việt Nam, Phương tễ học, Nhà xuất bản Y học, tái bản lần thứ hai, tr.162

32. **Bộ môn Y lý Y học cổ truyền, Học viện quân y** (2007). Y học cổ truyền biên chứng luận trị thuốc nam châm cứu chữa bệnh (giáo trình giảng dạy đại học), Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, Hà Nội, tr. 201, 268 - 277, 310, 323.
33. **Nobuhiro Watanabe et al** (2021): Influence of Intragastric Administration of Traditional Japanese Medicine, Ninjin'Yoeito, on Cerebral Blood Flow via Muscarinic Acetylcholine Receptors, *Evidence – Based complementary and Alternative Medicine*.
34. **Ji Hyun Kim** (2011). The Traditional Herbal Medicine, Dangkwisoo-San, Prevents Cerebral Ischemic Injury through Nitric Oxide-Dependent Mechanism. *Evid Bases Complement Alternat Med*.
35. **Ping Huang** (2012). Cerebralcare Granule attenuates blood–brain barrier disruption after middle cerebral artery occlusion in rats. *Experimental neurology*. 237(2):453-63.
36. **Yangmei Huang** (2018). Chinese Herbal Medicine Xueshuantong Enhances Cerebral Blood Flow and Improves Neural Functions in Alzheimer's Disease Mice. *Journal of Alzheimer's disease*.63(3): 1089-1107.
37. **Vũ Văn Đại, Trần Văn Chiến** (2009). Bước đầu đánh giá tác dụng điều trị thiếu máu não mạn tính của viên nang cerecaps. *Tạp chí Y dược lâm sàng* 108.
38. **Trần Danh Tiến Thịnh** (2021). Đánh giá hiệu quả điều trị của kiện não an thần đan trên bệnh nhân thiếu máu não mạn tính. *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 503- tháng 6- số đặc biệt- 2021.
39. **Nguyễn Văn Toại** (2010). ‘Đánh giá tác dụng của cao thông u trên lâm sàng và xét nghiệm trong điều trị thiếu năng tuần hoàn sống nên do thoái hóa cột sống cổ’. *Tạp chí Y học thực hành*.
40. **蔡悦婷 et al** (2022). 草药及其衍生成分可防止阿尔茨海默病体内模型的认知衰退, 国际分子科学杂志, 23(19):11311. **Yueh-Ting Tsai và**

- cộng sự** (2022). Thảo dược và các thành phần có nguồn gốc của chúng bảo vệ chống lại sự suy giảm nhận thức trong các mô hình bệnh Alzheimer, *Tạp chí quốc tế về khoa học phân tử*, 23(19):11311.
41. **Seong Gak Jeon et al** (2019). Traditional Oriental Medicines and Alzheimer's Disease. *Aging and disease* ,10(2): 307–328.
42. **Ai Nogami – Hara et al** (2018). The Japanese Angelica acutiloba root and yokukansan increase hippocampal acetylcholine level, prevent apoptosis and improve memory in a rat model of repeated cerebral ischemia. *Journal Ethnopharmacol*, 214:190-196.
43. **张千林 et al** (2013). 枸杞提取物对阿尔茨海默病 APP/PS1 双转基因小鼠莫里斯迷宫学习的影响, 实验和治疗医学, 1528-1530. **Qianlin Zhang và cộng sự** (2013). Tác dụng của chiết xuất Gouqi đối với việc học mê cung Morris trong mô hình chuột biến đổi gen kép APP/PS1 của bệnh Alzheimer, *Y học và trị liệu thực nghiệm*, tr. 1528-1530.
44. **Swati Halder et al** (2021). 作为潜在疗法的草药和天然生物活性产品: 关于促进认知和大脑助推器观点的综述, *沙特药理学杂志*, 879-907. **Swati Halder và cộng sự** (2021). Thuốc thảo dược và các sản phẩm có hoạt tính sinh học tự nhiên như phương pháp trị liệu tiềm năng: Đánh giá về quan điểm thúc đẩy nhận thức và tăng cường trí não, *Tạp chí dược phẩm Ấn Độ*, tr.879-907.
45. **Đinh Thị Tuyết Lan** (2016). Nghiên cứu độc tính và tác dụng cải thiện trí nhớ của CERENEED-caps trên thực nghiệm.
46. **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.
47. **Trần Hoàng Phi Yến, Dương Phước An, Nguyễn Ngọc Khôi và cộng sự** (2012). Tác dụng kháng cholinesterase của Actiso, Trà xanh và Hương

- nhu tía liên quan đến khả năng chống suy giảm trí nhớ trên chuột nhắt trắng. *Tạp chí Dược học*, 437, 10-13.
48. **Nguyễn Thị Thu Hương** (2006). Tác dụng của cao mềm chiết cồn từ Rau đắng biển trên khả năng học tập, ghi nhớ, nhận thức. Kỷ yếu công trình khoa học và công nghệ 2001- 2005, Viện dược liệu, Nhà xuất bản Khoa Học Kỹ Thuật, 81-82.
  49. **Viện nghiên cứu Trung Y, Bộ Y Tế nước Cộng hòa nhân dân Trung Hoa** (1995), Đông dược học thiết yếu, Nhà xuất bản mũi Cà Mau. Trung ương hội YHCT Việt Nam, tr.503-504.
  50. **Trần Văn Kỳ** (2017). Dược học cổ truyền toàn tập, Nhà xuất bản Đà Nẵng, tái bản lần thứ hai, tr.691-701
  51. **Bộ môn Đông dược**, Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam (2014). Giáo trình đông dược, tài liệu lưu hành nội bộ, tr.122-133.
  52. **Trình Nhu Hải, Lý Gia Canh** (2002). Trung Quốc danh phương toàn tập, Võ Văn Bình dịch, Nxb Y học, Hà Nội.
  53. **北京中医学院** (2002)。方剂学。第二版，人民卫生出版社,1293-1303. **Học viện Trung y Bắc kinh** (2002). Phương tễ học, Quyển 2, Nxb Vệ sinh Nhân dân, 1293-1303.
  54. **Xu Jin , Chen , Xinwang Li Lili**(2022). 醒脑开窍针刺疗法联合补阳还五汤加味治疗气虚血瘀型脑梗死恢复期患者的临床效果, *慢性病学杂志* 第3期 420-422. **Xu Jin , Chen , Xinwang Li Lili** (2022). Hiệu quả lâm sàng của châm cứu tỉnh não khai khiếu kết hợp với nước sắc bổ dương hoàn ngũ trong điều trị bệnh nhân nhồi máu não do khí hư và huyết ứ giai đoạn hồi phục. *Tạp chí bệnh mãn tính*, số 3, tr.420-422.

55. **Jiang, C., Xu, Y. C., Zhang, W., Pan, W., & Chao, X.** (2020). Effects and safety of Buyang-Huanwu Decoction for the treatment of patients with acute ischemic stroke: A protocol of systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 99(23), e20534.
56. **徐晟, 华文进 (2020).**补阳还五汤治疗糖尿病周围神经病变研究进展. *中医学*, 9(2): 92-97. **Xu Sheng, Hua Wenjin** (2020). Tiến độ nghiên cứu thuốc sắc Buyang Huanwu trong điều trị bệnh thần kinh ngoại biên do tiểu đường. *Y học cổ truyền Trung Quốc*, 9(2): 92-97.
57. **Jian Shen et al** (2020). Buyang Huanwu Decoction Promotes Angiogenesis after Cerebral Ischemia by Inhibiting the Nox4/ROS Pathway, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
58. **Pinghuang et al** (2022). Recent Advances in Chinese Herbal Medicine for Cerebral Ischemic Reperfusion Injury. *Front Pharmacol.* 12:688596.
59. **Cheng L. L., Chen X. N., Wang Y. et al** (2011). Z-ligustilide isolated from Radix Angelicae sinensis ameliorates the memory impairment induced by scopolamine in mice. *Fitoterapia*, 82 (7), 1128-1132.
60. **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. *J Ethnopharmacol*, 97 (3), 477-483.
61. **Debatisse, J et al** (2021). A non-human primate model of stroke reproducing endovascular thrombectomy and allowing long-term imaging and neurological read-outs. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 41(4), 745–760.
62. **Nguyễn Hải Phượng** (2020). Nghiên cứu tác dụng ức chế enzym Acetylcholineesterase và tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi

nhớ của bài thuốc minh não Vintong trên thực nghiệm, Luận văn thạc sĩ Y học.

63. **Diehl, M. M., Bravo-Rivera, C., & Quirk, G. J. (2019).** The study of active avoidance: A platform for discussion. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 107, 229–237.
64. **Eagle, A. L., Wang, H., & Robison, A. J. (2016).** Sensitive Assessment of Hippocampal Learning Using Temporally Dissociated Passive Avoidance Task. *Bio-protocol*, 6(11), e1821.
65. **Vandamme T. F. (2014).** Use of rodents as models of human diseases. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 6(1), 2–9.
66. **Bộ Y tế (2017).** Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học.
67. **R. L. Hamlin, R. A. Altschuld (2011).** Extrapolation from mouse to man. *Circulation Cardiovascular imaging*, 4(1), 2-4.
68. **Yorito Hattori and Masafumi Ihara Kazuo Washida (2019).** Animal Models of Chronic Cerebral Hypoperfusion: From Mouse to Primate. *Int J Mol Sci*, 20, 6176.
69. **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.
70. **Yadang, F. S. A. et al (2020).** Scopolamine-Induced Memory Impairment in Mice: Neuroprotective Effects of *Carissa edulis* (Forssk.) Valh (Apocynaceae) Aqueous Extract. *International journal of Alzheimer's disease*, 2020, 6372059.
71. **Guadalupe Soria (2013).** The Ins and Outs of the BCCAO Model for Chronic Hypoperfusion: A Multimodal and Longitudinal MRI Approach, *Plos one*, 8(9): e74631.

72. **Yorito Hattori** (2015). A Novel Mouse Model of Subcortical Infarcts with Dementia, *The journal of neuroscience*, 35(9): 3915–3928.
73. **Ameneh Mashayekh** (2011). Effects of *Ginkgo biloba* on cerebral blood flow assessed by quantitative MR perfusion imaging: a pilot study, *Neuroradiology*, 53(3):185-191.
74. **Marie NoelleRocher et al** (2011). Long-term treatment with standardized *Ginkgo biloba Extract* (EGb 761) attenuates cognitive deficits and hippocampal neuron loss in a gerbil model of vascular dementia. *Fitoterapia*. Volume 82, Issue 7, Pages 1075-1080.
75. **Kandiah, N. et al** (2019). Treatment of dementia and mild cognitive impairment with or without cerebrovascular disease: Expert consensus on the use of Ginkgo biloba extract, EGb 761®. *CNS neuroscience & therapeutics*, 25(2), 288–298.
76. **Zhang, J., Li, Z., & Zhang, L.** (2021). The efficacy of Chinese herbal medicine Buyang Huanwu Decoction combined with acupuncture to treat sequela of apoplexy: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 100(44), e27679.
77. **李藝瑟 et al** (2020). 了解補陽還五湯的多藥成分：為更好地臨床使用而進行的綜述. 民族藥理學雜誌, 第 255 卷, 112765. Ye Lee và cộng sự (2020). Tìm hiểu thành phần đa thảo dược của Buyang Huanwu Decoction: Đánh giá để sử dụng lâm sàng tốt hơn, *Tạp chí Dân tộc học*, tập 255, 112765.
78. **Hải Thượng Lãn Ông** (1974). Đạo lưu dư vận, bản thêm về y lý. Nhà xuất bản Y học.
79. **Liu, B., Du, Y., Cong, L., Jia, X., & Yang, G.** (2016). Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) Compounds Improve the Biochemical Indices of the Patients

with Coronary Heart Disease. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2016, 9781715.

80. **Xie K. H.** (2018). Effect of Buyanghuanwu Decoction with Different Doses of Astragalus Membranaceus on hsCRP and HCY of Small Cerebral Vascular Disease. Guangzhou: Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine.
81. **Ji Huang Li et al** (2014). 补阳还五汤养生：异病同治同靶血管的循证理论解读, 44. Ji Huang Li và cộng sự(2014). Thuốc sắc Buyang Huanwu cho chăm sóc sức khỏe: Giải thích lý thuyết dựa trên bằng chứng về điều trị các bệnh khác nhau bằng cùng một phương pháp và mục tiêu bệnh mạch máu. Thuốc thay thế bổ sung dựa trên bằng chứng.
82. **Sun, L., Ye, X., Wang, L., Yu, J., Wu, Y., Wang, M., & Dai, L.** (2022). A Review of Traditional Chinese Medicine, Buyang Huanwu Decoction for the Treatment of Cerebral Small Vessel Disease. *Frontiers in neuroscience*, 16, 942188.
83. **Gu J. et al.** (2016). Sự kết hợp của Ligusticum chuanxiong và Radix Paeoniae cải thiện tình trạng thiếu máu não cục bộ ở chuột MCAO thông qua con đường truyền tín hiệu apoptotic phụ thuộc vào mạng lưới nội chất. *Tạp chí Dược phẩm dân tộc*. 187 313–324.
84. **Liu YF, Zhang L., Wu Q., Feng LY** (2021). Paeoniflorin cải thiện tổn thương do thiếu máu cục bộ ở não chuột thông qua ức chế con đường cytochrom c/caspase3/HDAC4. *Dược phẩm Acta*. 43 273–284.
85. **Sun Z. Y., Wang F. J., Guo H., Chen L., Chai L. J., Li R. L., et al.** (2019). Shuxuetong injection protects cerebral microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation reperfusion. *Neural Regen. Res.* 14 783–793.



86. **Cao Y. J., Zhang X., Wang W. H., Zhai W. Q., Qian J. F., Wang J. S.** (2013). Oral fibrinogen-depleting agent lumbrokinase for secondary ischemic stroke prevention: results from a multicenter, randomized, parallel-group and controlled clinical trial. *Chin. Med. J.* 126 4060–4065.
87. **Lu, J., Chen, A., Ma, X., Shang, X., Zhang, Y., Guo, Y., et al.** (2020). Generation and Characterization of Cytochrome P450 2J3/10 CRISPR/Cas9 Knockout Rat Model. *Drug Metab. Dispos.* 48 (11), 1129–1136.
88. **Fei, Y. X., Wang, S. Q., Yang, L. J., Qiu, Y. Y., Li, Y. Z., Liu, W. Y., Xi, T., Fang, W. R., & Li, Y. M.** (2017). Salvia miltiorrhiza Bunge (Danshen) extract attenuates permanent cerebral ischemia through inhibiting platelet activation in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 207, 57–66
89. **d'Isa, R., Comi, G., & Leocani, L.** (2021). Apparatus design and behavioural testing protocol for the evaluation of spatial working memory in mice through the spontaneous alternation T-maze. *Scientific reports*, 11(1), 21177.
90. **G L Wenk** (2001). Assessment of spatial memory using the T maze. *Current protocols in neurosciences*. Chapter 8: Unit 8.5B.
91. **Curdt, N.et al.** (2022). Search strategy analysis of Tg4-42 Alzheimer Mice in the Morris Water Maze reveals early spatial navigation deficits. *Scientific reports*, 12(1), 5451.
92. **Khoa Y học cổ truyền, trường đại học Y Hà Nội** (2012). Bài giảng y học cổ truyền, Nhà xuất bản Y học, tái bản lần thứ 5 có sửa chữa, bổ sung, tr.53
93. **Jinglong, T., Weijuan, G., Jun, L., Tao, Q., Hongbo, Z., & Shasha, L.** (2013). The molecular and electrophysiological mechanism of

buyanghuanwu decoction in learning and memory ability of vascular dementia rats. *Brain research bulletin*, 99, 13–18.

94. **Lin luo et al** (2017). Buyang Huanwu Decoction Ameliorates Poststroke Depression via Promoting Neurotrophic Pathway Mediated Neuroprotection and Neurogenesis. *Evid Based Complement Alternat Med*.
95. **Si Cheng Liu et al** (2019). Paeoniflorin attenuates impairment of spatial learning and hippocampal long-term potentiation in mice subjected to chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacology*. 236(9):2823-2834.
96. **Xiude Jin et al** (2020). Astragalus polysaccharide alleviates cognitive impairment and  $\beta$ -amyloid accumulation in APP/PS1 mice via Nrf2 pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 531(3): 431-437.
97. **Fei Chen et al** (2018). Astragaloside IV Ameliorates Cognitive Impairment and Neuroinflammation in an Oligomeric A $\beta$  Induced Alzheimer's Disease Mouse Model via Inhibition of Microglial Activation and NADPH Oxidase Expression. *Biological pharmaceutical bulletin*. 44(11):1688-1696.
98. **Wen – Li Zhu et al** (2020). Ligustilide improves aging-induced memory deficit by regulating mitochondrial related inflammation in SAMP8 mice. *Aging*. 12(4):3175-3189.
99. **Li, Y., Yao, Y., Cao, X., Yi, N., Chen, A., Li, J., & Wu, M.** (2023). Clinical efficacy of Danshen preparation in the treatment of vascular cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in aging neuroscience*, 14, 1090665
100. **Luo, W., Ip, F. C. F., Fu, G., Cheung, K., Tian, Y., Hu, Y., Sinha, A., Cheng, E. Y. L., Wu, X., Bustos, V., Greengard, P., Li, Y. M., Sinha, S. C., & Ip, N. Y.** (2020). A Pentacyclic Triterpene from *Ligustrum*

*lucidum* Targets  $\gamma$ -Secretase. *ACS chemical neuroscience*, 11(18), 2827–2835.

101. **Park H.R., Lee H., Lee J.J., Yim N.H., Gu M.J., Ma J.Y.** Protective Effects of *Spatholobi caulis* Extract on Neuronal Damage and Focal Ischemic Stroke/Reperfusion Injury. *Mol. Neurobiol.* 2018;55:4650–4666
102. **Bộ Y tế** (2015), Hướng dẫn lập Thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu. Thông tư số 141/QĐ-K2ĐT, ngày 27/10/2015
103. **World Health Organization - WHO** (2000), General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine, Geneva, Switzerland, 2000, 28.

## PHỤ LỤC 1

### BÁO CÁO KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP CỦA CAO LỎNG BỔ DƯƠNG HOÀN NGŨ THANG GIA VỊ TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

#### 1. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

##### 1.1. Bài thuốc nghiên cứu

Cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị, thành phần bao gồm các vị thuốc sau:

Vị thuốc	Tên khoa học	Liều lượng
Sinh Hoàng kỳ	<i>Radix Astragali</i>	120g
Đương quy vĩ	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	6 g
Xích thược	<i>Radix Paeoniae</i>	4,5 g
Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>	3 g
Đào nhân	<i>Semen Pruni</i>	3 g
Hồng hoa	<i>Flos Carthami</i>	3 g
Địa long	<i>Pheretima Asiatica</i>	3 g
Kê huyết đằng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	20 g
Nữ trinh tử	<i>Ligustrum lucidum Ait.</i>	15 g
Hạn liên thảo	<i>Herba Ecliptae</i>	15 g
Đan sâm	<i>Radix et Rhizoma Salviae multiorrhizae</i>	15 g

Tất cả các vị thuốc trong cao lỏng đều được bào chế theo tiêu chuẩn dược điển Việt Nam V đạt tiêu chuẩn cơ sở

**Liều dùng dự kiến trên người:** sắc uống 1 thang/ngày, tương đương với 207,5g dược liệu/người/ngày.

Một người trung bình nặng 50kg. Do đó liều dùng trung bình trên người là 207,5g dược liệu/50kg/ngày, tương đương 4,15g dược liệu/kg/ngày. Hệ số ngoại suy của chuột nhắt là 12 lần liều trên người [45],[67], tương đương với 49,8g dược liệu/kg/ngày.

Bài thuốc được sắc bằng máy sắc thuốc tự động của Hàn Quốc, tại khoa Dược bệnh viện Tuệ Tĩnh, thành cao lỏng 2:1 (1ml cao tương ứng 2g dược liệu), đạt tiêu chuẩn cơ sở. Cao chiết tiếp tục được cô đặc bằng cô quay chân không thành cao 5:1, là cao đặc nhất qua kim để cho chuột uống. Khi cho chuột uống cao chiết bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị (viết tắt là BDHNTGV) được lắc cho dược chất phân tán đều, sau đó pha loãng với nước cất đến tỷ lệ phù hợp để cho chuột uống cưỡng bức bằng kim cong đầu tù chuyên dụng.

## **1.2. Động vật dùng trong nghiên cứu**

Chuột nhắt trắng dòng Swiss trưởng thành, cả 2 giống, cân nặng  $20 \pm 2g$ , số lượng 50 con. Động vật do Ban động vật - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược Lý – Học viện Quân y 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.

## **1.3. Dụng cụ máy móc - hóa chất**

- Kim cong đầu tù chuyên dụng để cho chuột uống thuốc (Nhật Bản)
- Cân phân tích 10-4, model CP224S (Sartorius - Đức).
- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác.

## **1.4. Phương pháp nghiên cứu**

Xác định độc tính cấp và LD50 của BDHNTGV trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon theo hướng dẫn của Bộ y tế và hướng dẫn của WHO [102],[103].

Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Từng lô chuột nhất trắng, mỗi lô 10 con, được uống mẫu thuốc nghiên cứu theo liều tăng dần. Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con.

Sau 12 giờ nhịn ăn, chuột được uống thuốc cưỡng bức, thuốc thử được đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù.

Cho chuột uống thuốc với thể tích 0,3 ml/10g thể trọng/lần nhưng với các liều tăng dần, tối đa 3 lần/24 giờ, mỗi lần uống cách nhau 3 giờ. Theo dõi số chuột chết trong 72 giờ đầu và tình trạng chung của chuột trong 7 ngày sau khi uống thuốc về sự ăn uống, hoạt động thần kinh, đi lại, leo trèo, bài tiết,...Nếu chuột chết, mổ chuột để đánh giá đại thể các tổn thương của các cơ quan, nếu cần thiết có thể làm xét nghiệm vi thể một số phủ tạng. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột (0 %), liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100 %) và các liều trung gian. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD50 của BDHNTGV.

## 2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Độ tính cấp đường uống của mẫu nghiên cứu trên chuột nhất trắng.

Lô chuột	Số chuột	Nồng độ cao	Thể tích uống	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Số chuột sống/chết sau 72 giờ cũng như sau 7 ngày	Biểu hiện bất thường
Lô 1	10	1:1	0,3ml/10g/lần x 3 lần	90,0	10/0	không
Lô 2	10	2:1	0,3ml/10g/lần x 3 lần	180,0	10/0	không
Lô 3	10	3:1	0,3ml/10g/lần x 3 lần	270,0	10/0	không
Lô 4	10	4:1	0,3ml/10g/lần x 3 lần	3600,0	10/0	không
Lô 5	10	5:1	0,3ml/10g/lần x 3 lần	450,0	10/0	không

Chuột nhắt trắng được uống mẫu thử với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 90,0 g/kg thể trọng đến liều cao nhất là 450,0 g/kg thể trọng. Theo dõi sát chuột ở các lô trong 72 giờ sau uống thuốc cũng như trong suốt bảy ngày sau uống thuốc cho thấy:

- Về chất thải và ăn uống: Trong ngày đầu chuột đi phân mềm, ăn uống giảm. Từ ngày thứ hai trở đi chất thải và ăn uống của chuột ở tất cả các lô trở lại bình thường.

- Về hoạt động, vận động: Các chuột hoạt động, vận động bình thường.

- Các biểu hiện khác của chuột: lông, da, niêm mạc, đồng tử... của chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bất thường.

- Không có chuột nào chết trong 72 giờ sau uống thuốc cũng như trong suốt bảy ngày sau uống thuốc dù đã cho chuột uống đến liều 450,0 g/kg thể trọng là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của mẫu thử.

- Theo quy đổi liều từ liều dùng trên người ra liều trên chuột nhắt với hệ số 12, liều tương đương lâm sàng trên chuột nhắt trắng là 49,8g dược liệu/kg/ngày. Liều tối đa cho chuột uống (450g) gấp 9,036 lần liều tương đương lâm sàng, mà không có chuột nào chết cũng như không có bất thường nào, chứng tỏ cao lỏng an toàn trong thử nghiệm đánh giá độc tính cấp đường uống.

## **KẾT LUẬN**

**Từ kết quả nghiên cứu về độc tính cấp của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị trên động vật thực nghiệm, chúng tôi kết luận.**

Chưa tìm thấy LD<sub>50</sub> của cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều 450g/kg thể trọng (gấp 9,036 lần liều tương đương liều điều trị đã quy đổi từ liều trên người sang liều trên chuột nhắt trắng), không gây chết chuột nào, không có biểu hiện nào của độc tính cấp.

## PHỤ LỤC 2

**Các vị thuốc có trong cao lỏng Bổ dương hoàn ngũ thang gia vị.**

### **1. Sinh hoàng kỳ (*Radix Astragali*):**

Bộ phận dùng: Rễ phơi hay sấy khô của cây Hoàng Kỳ (*Astragalus membranaceus*(Fish)Bunge) hay cây Hoàng kỳ Mông cổ (*Astragalus mongolicus* Bunge) thuộc họ Cánh bướm (Fabaceae). Vị thuốc được ghi đầu tiên trong sách ‘Bản kinh’ với tên Hoàng kỳ, còn có tên khác: Miên Hoàng kỳ, Tiễn kỳ, Khẩu kỳ, Bắc kỳ.

Tính vị, quy kinh: Cam, ôn. Vào các kinh phế, tỳ.

Công dụng: Bổ khí cổ biểu, lợi tiểu, trừ mù, sinh cơ.

Chủ trị: Khí hư mệt mỏi, kém ăn; trung khí hạ hãm, tiêu chảy lâu ngày, sa tạng phủ, tiện huyết, rong huyết; ra mồ hôi; nhọt độc khó vỡ; nội nhiệt tiêu khát; viêm thận mạn.

Thành phần chủ yếu: theo sách Trung dược học, trong Hoàng kỳ có Sacaroza, nhiều loại acid amin, protid Cholin, betain, acid folic, vitamin P, amylase. Trong Hoàng kỳ Mông cổ có Polysaccharide, alcaloit. Theo sách Chinese Herbal medicine thành phần chủ yếu có choline, betain, kumatakenin, sucrose, glucoseromic.





Tác dụng dược lý:

- Theo y học cổ truyền: Hoàng kỳ có tác dụng bổ khí thăng dương, ích vệ khí cố biểu, thác sang sinh cơ, lợi thủy tiêu thũng, dung chủ trị các chứng Tỳ khí hư nhược, các chứng khí bất nhiếp huyết, trung khí hạ hãm, tỳ phế khí hư, khí huyết lưỡng suy, khí hư phát nhiệt, cơ thể hư nhiều mồ hôi, ung thư loét lở khó lành miệng, khí hư thủy thũng, huyết tỳ tê dại tay chân, di chứng trúng phong, chứng tiêu khát

- Theo y học hiện đại: Hoàng kỳ có tác dụng tăng cường chức năng miễn dịch của cơ thể, nếu dùng cùng linh chi, đảng sâm tác dụng càng rõ. Người sau khi uống nước sắc Hoàng kỳ, IgE, cAMP trong máu tăng lên rõ. Hoàng kỳ và Polysaccharide của nó có khả năng làm cho tế bào tương của lách súc vật tăng sinh, thúc đẩy hình thành kháng thể, nâng cao miễn dịch. Hoàng kỳ thúc đẩy quá trình chuyển hóa trong cơ thể. Hoàng kỳ còn có tác dụng lợi tiểu, tăng lực co bóp cơ tim bình thường, kháng khuẩn,...

Liều dùng: 9 đến 30g/ ngày, dạng thuốc sắc hoặc tán.

Ứng dụng lâm sàng: trị các chứng suy nhược mạn tính do tỳ khí hư nhược, mệt mỏi kém ăn, trị các chứng sa tạng phủ, làm thuốc phòng cảm lạnh, trị viêm loét dạ dày tá tràng, viêm gan mạn tính, tiểu đường[50], [51].

## **2. Đương quy vĩ (*Radix Angelicae sinensis*)**

Bộ phận dùng: Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Đương quy di thực từ Nhật Bản, họ hoa tán, (Apiaceae).

Tính vị, quy kinh: Cam, tân, ôn. Vào các kinh can, tâm, tỳ.

Thành phần chủ yếu:

Công năng: Bổ huyết, hành huyết, hoạt huyết, điều kinh, nhuận tràng, thông đại tiện.

Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, đau bụng khi thấy kinh, thất lưng đau, băng lậu, đại tiện khô táo, đi lỵ đau bụng.

Thành phần chủ yếu: butylidene phthalide, n-valerophenone-o-carboxylic acid, dihydrophthalic, sucrose, vitamin B12, carotene, beta- sitosterol



Tác dụng dược lý:

- Theo y học cổ truyền: đương quy có tác dụng bổ huyết, hoạt huyết, chỉ huyết, chủ trị chứng tâm can huyết hư, kinh nguyệt không đều, đau kinh, tắt kinh, các bệnh thai sản tiền hậu, tổn thương do té ngã, đau tê chân tay (tý thông ma mộc), nhọt lở loét (ung thư sang thương), chứng huyết hư trường tảo kiêm trị khái suyễn.

- Theo y học hiện đại: đương quy có tác dụng hai chiều đối với tử cung: chất tan vào nước hoặc cồn không phải tinh dầu có tác dụng hưng phấn tử cung cô lập, còn chất bốc hơi sôi ở nhiệt độ cao và dầu đương quy có tác dụng ức chế và lúc áp lực trong tử cung cao thì thuốc làm tăng co bóp tử cung. Đương quy còn có tác dụng gia tăng tổng hợp protid khiến tử cung dày lên. Đương quy còn có khả năng chống sự thiếu hụt vitamin E phòng sảy thai nhưng không thể hiện rõ tác dụng như oestrogen. Đương quy có tác dụng làm giãn động mạch vành, tăng lưu lượng máu động mạch vành, giảm tiêu hao oxy cơ tim, giảm ngưng tập tiểu cầu, chống sự hình thành huyết khối, giảm rối loạn nhịp tim, hạ lipid

máu, làm dịu cơ thắt cơ trơn của huyết quản ngoại vi. Đương quy còn có tác dụng chống viêm, giảm đau, an thần, giãn cơ trơn phế quản, bảo vệ gan,...

Liều dùng: 6 đến 12g/ ngày, dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu

Ứng dụng lâm sàng: trị bế kinh, thống kinh, rối loạn kinh nguyệt, bại liệt tứ chi đau nhức, đau cột sống, trị bệnh động mạch vành, đau do huyết ú[32],[50].

### 3. Đào nhân (*Semen Pruni*)

Bộ phận dùng: dùng nhân của quả chín cây đào *Prunus persica*(Linn) Batsch, hoặc cây sơn đào *Prunus davidiana*(Carr) Franch, dùng làm thuốc được ghi đầu tiên trong sách Bản kinh. Cây đào thuộc họ Hoa hồng(Rosaceae), cây đào có nhiều ở Việt Nam, nhiều nhất ở các tỉnh miền Bắc như Sapa, Cao Bằng, Lạng Sơn, Hà Giang, được thu hái vào tháng 7 hàng năm, lấy hạt về đập lấy nhân phơi khô làm thuốc gọi là Đào nhân.

Tính vị, quy kinh: vị khổ, cam, bình, quy vào kinh tâm, can.

Công năng: Hoạt huyết, khứ ú, nhuận tràng.

Chủ trị: Vô kinh, mất kinh, trung hà, sưng đau do sang chấn, táo bón

Thành phần chủ yếu: amygdalin, emulsin, oleic acid, glyceric acid, linoleic acid.



Tác dụng dược lý:

- Theo y học cổ truyền: hoạt huyết khứ ứ, nhuận tràng thông tiện, chủ trị chứng đau kinh, kinh bế, đau bụng sau sinh, trung hà tích tụ, chấn thương ngã đau, phế ung, trường ung, đại tiện táo bón.

- Theo y học hiện đại: đào nhân có tác dụng giãn mạch, tăng lưu lượng máu, tăng mức cAMP trong tiểu cầu, ức chế máu ngưng tụ, có tác dụng co tử cung, cầm máu đối với sản phụ sinh con so, do thành phần dầu lipid của đào nhân chiếm 45% nên thuốc có tác dụng nhuận tràng, đào nhân có tác dụng kháng viêm giai đoạn đầu trên súc vật thực nghiệm, giảm ho,...

Liều dùng: 4,5 đến 9 g/ ngày dạng thuốc sắc

Ứng dụng lâm sàng: chữa rối loạn kinh nguyệt, bế kinh, thông kinh do huyết ứ, trị táo bón, viêm tắc động mạch,..[32],[50].

#### **4. Hồng hoa (*Flos Carthami*)**

Bộ phận dùng: hoa Hoa đã phơi khô của cây Hồng hoa (có hoa màu đỏ *Carthamus tinctorius* L., dùng làm thuốc được ghi đầu tiên trong sách Tân tu bản thảo, thuộc họ Cúc(Asteraceae(compositae)). Cây mọc nhiều ở Trung Quốc tại các tỉnh Hà Nam, Triết Giang, Tứ Xuyên, ở Việt Nam mọc nhiều ở Hà Giang. Khi hái phải đúng lúc hoa có màu hồng là lúc hoa đủ tuổi, nhiều hoạt chất, phơi trong mát.

Tính vị, quy kinh: vị cay, tính ôn, quy kinh tâm, can.

Công năng: Hoạt huyết thông kinh, tán ứ huyết, giảm đau.

Chủ trị: Phụ nữ vô kinh, bế kinh, đau bụng khi hành kinh, hành kinh ra huyết cục, chấn thương gây tụ huyết, sưng đau, mụn nhọt.

Thành phần chủ yếu: safflor yellow, carthamin, palmitic acid, stearic acid, arachic acid, oleic acid, linoleic acid



Tác dụng dược lý:

- Theo y học cổ truyền: hoạt huyết khứ ứ thông kinh, chủ trị các chứng đau kinh, kinh bế, sau sinh bụng đau do ứ huyết, các chứng trung hà tích tụ, đau khớp ban chân.
- Theo y học hiện đại: hồng hoa có tác dụng tăng co bóp tử cung rõ rệt, liều lượng nhỏ làm tử cung co bóp đều, lượng lớn làm cho tử cung co bóp tăng nhịp, thậm chí làm rung cơ tử cung, đối với tử cung của động vật có thai tác dụng làm tăng co bóp càng rõ. Đối với cơ trơn của ruột, thuốc cũng có tác dụng hưng phấn thời gian ngắn, hồng hoa có tác dụng hạ áp, tăng lưu lượng máu dinh dưỡng cơ tim và lưu lượng máu động mạch vành chó được gây mê, hồng hoa ức chế ngưng tập tiểu cầu.

Liều dùng: 4 đến 12g dạng thuốc sắc thường kết hợp với các vị thuốc khác

Ứng dụng lâm sàng: điều trị thống kinh, bế kinh, sung tấy do chấn thương ngoại khoa, loét dạ dày tá tràng, ban sởi,...[32],[50].

## 5. Địa long (*Pheretima Asiatica*)

Bộ phận dùng: toàn thân đã phơi hay sấy khô của con Giun [*Pheretima aspergillum* (E. Perri cr), *Pheretima vulgaris*., *Pheretima gitillelmi* (Michaelson), hay *Pheretima pectinifera* họ Cự dẫ (Megascolecidae). Loại đầu tiên là Quảng địa long. 3 loại còn lại là Hồ địa long.

Tính vị, quy kinh: Hàm, hàn. Quy vào các kinh can, tỳ, phế, bàng quang.

Công năng: Thanh nhiệt, trấn kinh, thông kinh lạc, bình suyễn, lợi niệu.

Chủ trị: Sốt cao bất tỉnh, kinh gân co quắp, đau khớp, chân tay tê bại, bán thân bất toại, trúng phong ho suyễn do phế nhiệt, phú thũng, tiểu ít, cao huyết áp.

Điều trị chứng bệnh ôn bệnh nhiệt cực sinh phong, hôn mê, loạn ngôn ngữ, chân tay co quắp thường dùng với câu đằng, ngưi hoàng, bạch cương tàm. Địa long điều trị chứng khí hư huyết trệ, phế nhiệt khái suyễn, nhiệt kết bang quang,...[32],[50].



Tác dụng dược lý: duy trì hạ huyết áp tương đối lâu, hưng phấn tử cung, hạ sốt, trấn tĩnh, kháng histamin, chống co giật, tăng hoạt tính dung giải của Fibrin chống hình thành huyết khối

Liều dùng: 4,5g đến 9g/ngày dạng bột, thường phối hợp trong các bài thuốc.

Ứng dụng lâm sàng: trị sốt cao phát cuồng, động kinh co giật, di chứng liệt nửa người, đau nhức do phong thấp, tiểu không thông.

## 6. Xích thược (*Radix Paeoniae*)

Bộ phận dùng: Rễ đã phơi khô của cây xích thược (*Paeonia lactiflora* Pall.), thuộc họ mao lương Ranunculaceae. Không nên nhầm với cây hoa thược dược vẫn được trồng làm cảnh thuộc họ cúc Compositae.



Tính vị, quy kinh: Toan, khô, vi hàn. Vào kinh can, tỳ.

Công năng: Lương huyết, tán ú, giảm đau.

Chủ trị: Ôn độc phát ban, ỉa máu, chảy máu cam, mắt đỏ sưng đau, can uất, sườn đau, kinh bế, hành kinh đau bụng, hòn cục trong bụng, sưng đau do sang chấn, nhọt độc sưng đau.

Chứng nhiệt nhập doanh huyết, ban chẩn, chảy máu cam thường dùng cùng với sinh địa, đan bì, chứng huyết nhiệt ú trệ, bế kinh, thông kinh thường dùng cùng ích mẫu, đan sâm, trạch lan, chứng đau mắt đỏ có màng che, thường dùng cùng cúc hoa, mộc tặc, hạ khô thảo.

Tác dụng dược lý: trên thực nghiệm súc vật xích thược có tác dụng chống co thắt ruột, dạ dày, tử cung, tác dụng giảm đau do co thắt cơ trơn, kháng khuẩn với trực khuẩn lỵ, thương hàn, trực khuẩn mủ xanh, phế cầu, virus cúm,...

Liều dùng: 6-15g/ngày dưới dạng thuốc sắc.

Ứng dụng lâm sàng: trị rối loạn kinh nguyệt, bế kinh, thống kinh, trị mụn nhọt, trị khớp xương đau nhức, đau thắt ngực do bệnh mạch vành,...[50],[51].

### **7. Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*)**

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.

Tác dụng dược lý: xuyên khung có tác dụng trấn tĩnh hệ thần kinh trung ương, ức chế hoạt động đại não liều thấp, tinh dầu xuyên khung giúp giãn mạch máu ngoại vi, tăng lưu thông máu mạch vành, cải thiện tình trạng thiếu oxy ở tim, xuyên khung làm tăng lưu lượng máu não, giảm phù não, phòng chống thiếu máu và chứng đau nửa đầu, ức chế ngưng tập tiểu cầu và sự hình thành cục máu đông, kích thích sự co bóp tử cung thỏ có thai gây hiện tượng co quắp, xuyên khung còn có tác dụng kháng khuẩn: ức chế vi khuẩn *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*,...





Liều dùng: từ 6g đến 12g/ ngày, dạng thuốc sắc, thuốc bột hay rượu thuốc  
Ứng dụng lâm sàng: trị đau đầu do phong hàn, đau nhức khớp xương, rối loạn kinh nguyệt, bế kinh, thông kinh[32],[50],[51].

#### **8. Đan sâm (*Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae*)**

Bộ phận dùng: là rễ phơi khô của cây đan sâm *Salvia miltiorrhiza* Bge, thuộc họ hoa môi Labiatae.

Tính vị, quy kinh: vị đắng hơi hàn, quy kinh tâm, can

Công năng: hoạt huyết, điều kinh, lương huyết tiêu ung, an thần

Chủ trị: điều trị phụ nữ kinh nguyệt không đều, đau bụng kinh, mụn nhọt sưng đau, chứng tâm quý, điều trị cơn đau tức ngực, trị hờn khối trong ổ bụng.



Tác dụng dược lý: giãn động mạch vành, tăng lưu lượng tuần hoàn vành, cải thiện thiếu máu cơ tim, điều chỉnh nhịp tim, giãn mạch ngoại vi, chống ngưng tập tiểu cầu, giảm mỡ máu, giảm biến tính tế bào gan xúc tiến tái sinh tế bào gan chống lại fibrin hóa, nâng cao khả năng chịu thiếu oxy của cơ thể, tăng cường miễn dịch, giảm đường máu, chống ung thư, ức chế trực khuẩn,...

Liều dùng: 5-15g/ngày

Ứng dụng lâm sàng: điều trị phụ nữ kinh nguyệt không đều, đau bụng kinh, điều trị đau tức ngực bụng, hòn khối trong ổ bụng, mụn nhọt sưng đau, tâm quí mất ngủ, thiếu máu, xơ vữa động mạch, viêm cơ tim, viêm gan mãn, xơ gan,.. [51].

### **9. Kê huyết đằng (*Caulis Spatholobi suberecti*)**

Bộ phận dùng: thân cây phơi khô của cây kê huyết đằng *Spatholobus suberectus* Dunn, thuộc họ huyết đằng *Sargentodoxaceae*, Việt nam dùng cây kê huyết đằng (hồng đằng, dây máu người) *Sargentodoxacuneata* (Oliv) Rehd. Et Wills, thuộc họ huyết đằng *Sargentodoxaceae*.

Tính vị, quy kinh: vị ngọt đắng, tính ấm

Quy kinh: can

Công năng: hành huyết bổ huyết, điều kinh, thư cân hoạt lạc

Chủ trị: chứng huyết hư kinh bế, đau bụng kinh, rối loạn kinh nguyệt, phong thấp tý chứng chân tay tê mỏi, co duỗi khó khăn, điều trị trúng phong giai đoạn di chứng.



Tác dụng dược lý: kháng viêm, tăng cường khả năng co bóp tử cung, ức chế tụ cầu.

Liều dùng: 10-15g/ngày, liều cao: 30g/ngày.

Ứng dụng lâm sàng: điều trị chứng huyết hư kinh bế, đau bụng kinh, kinh nguyệt không đều thường dùng cùng xuyên khung, hồng hoa, hương phụ, huyết hư gia thêm thực địa, đương quy. Điều trị phong thấp tý chứng tay chân tê mỏi, co duỗi khó khăn thường dùng cùng thuốc phong thấp, điều trị trúng phong giai đoạn di chứng thường dùng cùng thuốc ích khí dưỡng huyết, hoạt huyết thông lạc, gàn đây dùng kê huyết đằng điều trị chứng giảm bạch cầu hạt đạt hiệu quả tương đối tốt[50].

#### **10. Hạn liên thảo (*Herba Ecliptae*)**

Bộ phận dùng: toàn cây tươi hoặc khô cây cỡ nhỏ nổi

Tính vị, quy kinh: Vị cam, toan, tính lương, quy kinh can, thận

Công năng: chỉ huyết, giải độc, bổ thận.

Chủ trị: chữa chảy máu cam đại tiện ra máu, viêm họng, mụn nhọt, mạnh gân cốt, đen râu tóc



Liều dùng: 6-12g/ngày sắc, giã sống vắt nước uống, bã đắp vào thái dương, gan bàn chân hoặc buộc vào cổ tay.

Ứng dụng lâm sàng: chữa chảy máu cam, đại tiện ra máu, trĩ, rong kinh rong huyết, sốt xuất huyết, chữa ho viêm họng mụn nhọt, mạnh gân cốt, đen râu tóc, răng lung lay[50].

### **11.Nữ trinh tử (*Ligustrum lucidum* Ait.)**

Bộ phận dùng: Nữ trinh tử hạt phơi khô của Cây nữ trinh

Tính vị, quy kinh: Vị khổ, tính bình, vào các kinh can, thận

Công năng: Bổ can thận, minh mục, mạnh gân xương

Chủ trị: Chứng đau mỏi lưng gối, mắt mờ, tóc bạc, ù tai, điếc tai, hoa mắt chóng mặt, răng lung lay, làm đen râu tóc, sáng tai, sáng mắt.



Tác dụng dược lý:

-Theo y học cổ truyền: Bổ can thận, thanh nhiệt, minh mục, mạnh lưng gối.

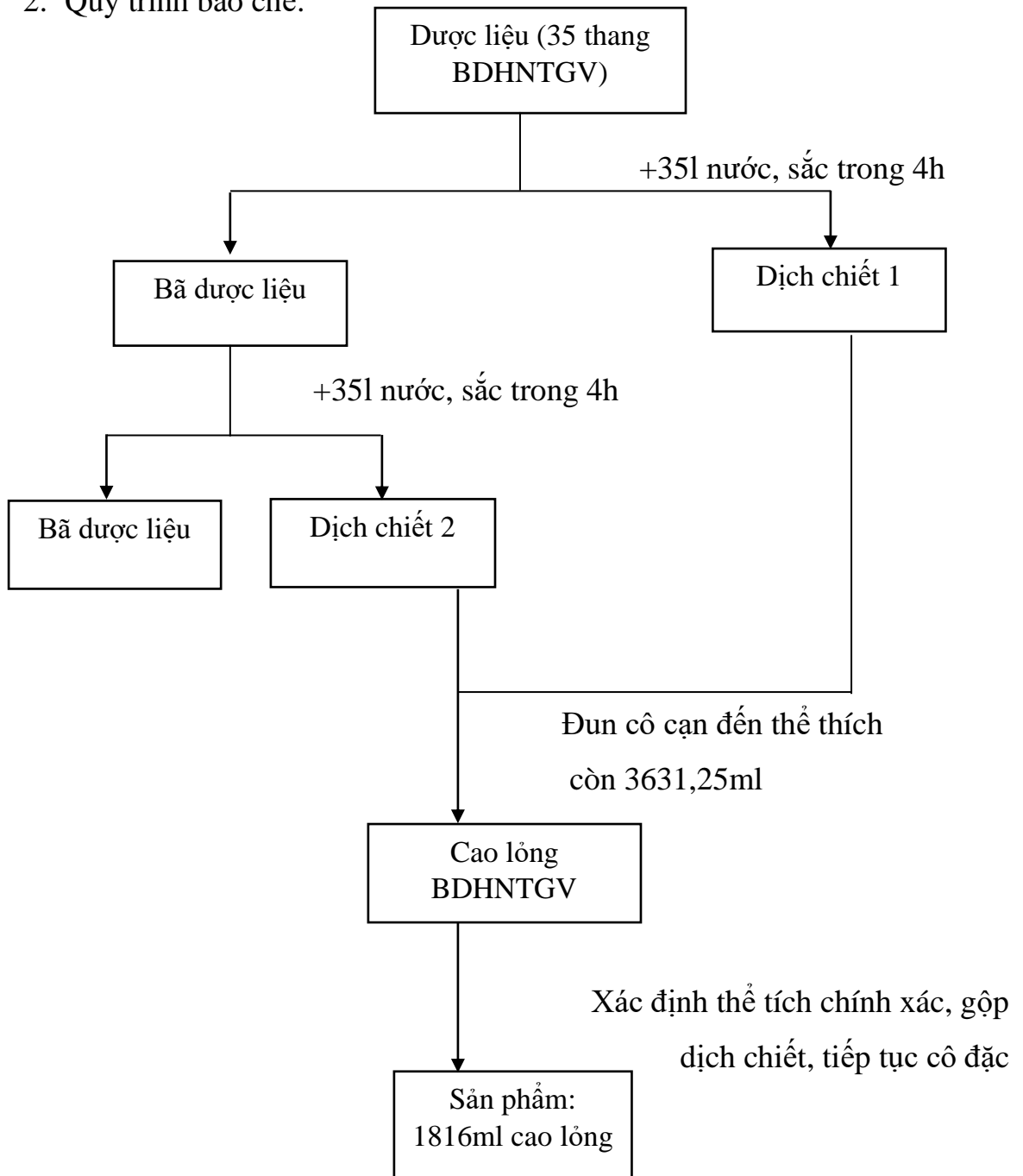
– Theo nghiên cứu dược lý hiện đại: Axit oleanolic từ dược liệu có tác dụng giải phóng insulin, hạ đường huyết, điều hòa chuyển hóa lipid và điều chỉnh nồng độ glucose ở chuột mắc bệnh tiểu đường, quả của cây trinh nữ tử có tác dụng ức chế tế bào ung thư gan, dược liệu có tác dụng giảm cholesterol trong máu, chống lão hóa và điều hòa miễn dịch

Liều dùng: 6 – 15g/ ngày, dạng thuốc sắc.

Ứng dụng lâm sàng: Bài thuốc ứng dụng để trị chứng giảm thị lực và hoa mắt do can thận âm hư, giúp đen tóc, trị hoa mắt, chóng mặt, đau lưng mỏi gối do thận âm hư[49].



2. Quy trình bào chế:



3. Ngày bào chế: 08/2022

4. Sản phẩm:

Từ 35 thang dược liệu qua quá trình bào chế tại BV Tuệ Tĩnh tạo ra 1816ml cao lỏng tỉ lệ 4:1 (4gam dược liệu trong 1ml cao lỏng).

### TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

HỌC VIỆN YDHCT VIỆT NAM Viện NC Y-Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh	CAO LÔNG BỔ DƯỠNG HOÀN NGŨ THANG GIA VỊ	Số Tiêu chuẩn:
		Có hiệu lực từ:

### 1. YÊU CẦU KỸ THUẬT

#### 1.1. Công thức điều chế cho 1 thang Bổ dưỡng hoàn ngũ thang gia vị

Thành phần	Tỷ lệ (%)	Khối lượng (g)
Sinh Hoàng Kỳ	59,11	120
Đương Quy	2,96	6
Đào Nhân	1,48	3
Hồng Hoa	1,48	3
Địa Long	1,48	3
Xích Thược	2,17	4,5
Xuyên Khung	1,48	3
Kê Huyết Đẳng	9,64	20
Nữ Trinh Tử	7,23	15
Đan sâm	7,23	15
Hạn liên thảo	7,23	15

#### 1.2. Nguyên liệu

Vị thuốc	Tên khoa học	Đạt tiêu chuẩn
Sinh Hoàng Kỳ	<i>Radix Astragali</i>	ĐĐVN V
Đương Quy	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	ĐĐVN V
Đào Nhân	<i>Semen Pruni</i>	ĐĐVN V
Hồng Hoa	<i>Flos Carthami</i>	ĐĐVN V
Địa Long	<i>Pheretima Asiatica</i>	ĐĐVN V
Xích Thược	<i>Radix Paeoniae</i>	ĐĐVN V
Xuyên Khung	<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>	ĐĐVN V





Kê Huyết Đằng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	ĐĐVN V
Nữ Trinh Tử	<i>Ligustrum lucidum Ait.</i>	TCCS
Đan sâm	<i>Radix et Rhizoma Salviae multiorrhizae</i>	ĐĐVN V
Cỏ mực (Hạ liên thảo)	<i>Herba Ecliptae</i>	ĐĐVN V

### 1.3. Chất lượng thành phẩm

#### 1.2.1. Tính chất

Dung dịch màu nâu đậm, mùi thơm đặc trưng của dược liệu

#### 1.2.2. Độ đồng nhất

Dung dịch trong suốt, không có váng mốc, không có vật liệu lạ, không có cặn đọng ở đáy. Tan hoàn toàn trong nước.

#### 1.2.3. Độ đồng đều thể tích

Thể tích đóng  $100 \pm 10$  ml.

#### 1.2.4. Định tính

A. Phản ứng hóa học: Cao lỏng cho phản ứng với alcaloid, flavonoid.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng

Phát hiện sự có mặt của đương quy, xuyên khung và địa long.

#### 1.2.5. Độ nhiễm khuẩn:

Đáp ứng yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6  
Thử giới hạn nhiễm khuẩn. ĐĐVN V.

## 2. PHƯƠNG PHÁP THỬ

### 2.1. Hình thức

Bằng cảm quan chế phẩm phải đạt các yêu cầu nêu trên

### 2.2. Độ đồng nhất:

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 1, Cao thuốc

### 2.3. Độ đồng đều thể tích

Đổ gói cao lỏng vào ống đong chia vạch 150ml, đo thể tích. Thực hiện 5 lần với 5 gói cao lỏng. Thể tích của từng túi phải nằm trong khoảng 95-110 ml

### 2.4. Định tính :

A. Phản ứng hóa học

*Alcaloid:*

Lấy 0,5 ml cao lỏng, thêm 30 ml ethanol 96 % (TT), lắc trong 15 phút và lọc. Lắc 3 ml dịch lọc với 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid (TT), xuất hiện màu tía xanh da trời tới màu lục lam sau đó chuyển thành màu tía xanh da trời rồi đến màu lục tối.

#### *Flavonoid*

Lấy 1 ml cao lỏng, thêm 10 ml diclormethan (TT), lắc siêu âm 30 phút, lọc. Lấy 0,5 ml dịch lọc, cho vào ống nghiệm, thêm cẩn thận dọc theo thành ống nghiệm khoảng 0,5 ml acid sulfuric (TT). Để yên khoảng 20 phút. Ở giữa hai lớp chất lỏng sẽ xuất hiện một vòng màu nâu đỏ hoặc nâu vàng.

#### B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng

##### *Đương quy, xuyên khung.*

- Bản mỏng: Silica gel 60 F254- Dung môi khai triển: Cyclohexane - ethyl acetat (8 : 2).
- Dung dịch thử: Lấy 4 g bột dược liệu, thêm 20 ml ethanol 95 % (TT) ngâm trong 1 h, thỉnh thoảng lắc. Lọc. Bốc hơi dịch lọc đến còn khoảng 10 ml, được dung dịch thử.
- Dung dịch đối chiếu: Lấy 4 g bột Đương quy, 4 g bột xuyên khung (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10  $\mu$ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 2 vết phát quang xanh sáng to rõ và một số vết phụ khác có cùng màu sắc và giá trị Rf với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

##### *Địa long:*

- Bản mỏng: Silica gel GF254- Dung môi khai triển: Toluene - methanol (95 : 5)
- Dung dịch thử. Lấy 1 ml cao lỏng, thêm 20 ml cloroform (TT), siêu âm trong 20 phút, lọc, để bay hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Hòa tan cặn trong 1 ml cloroform (TT) được dung dịch chấm sắc ký.
- Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Địa long (mẫu chuẩn) nghiền mịn, chiết siêu âm bằng 20ml cloroform (TT) như mô tả ở phần dung dịch thử.
- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3  $\mu$ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng màu sắc và cùng giá trị Rf với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu.


**2.5. Độ nhiễm khuẩn**

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 13.6.

**3. ĐÓNG GÓI, GHI NHÃN VÀ BẢO QUẢN**

Đóng gói cao lỏng vào túi PE thể tích 100 ml. Trên nhãn ghi: “Cao lỏng Bồ dương hoàn ngũ thang gia vị”. Bảo quản ở tủ lạnh (3-5°C).

Soạn thảo Tiêu chuẩn

  
Nguyễn Sỹ Việt

Ngày 30 tháng 01 năm 2023

Phê duyệt



  
PHÓ VIỆN TRƯỞNG  
THƯỜNG TRỰC  
TS. Trần Văn Thanh



## GIẤY XÁC NHẬN

Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y xác nhận:

Nội dung nghiên cứu của Đề tài luận văn thạc sĩ "Nghiên cứu tác dụng tăng lưu lượng máu não của bài thuốc Bổ dương hoàn ngũ thang trên thực nghiệm" của Học viên Tạ Thị Nga được thực hiện tại Bộ môn Dược lý - Học viện Quân y.

Chủ nhiệm Bộ môn



PGS. TS. Nguyễn Hoàng Ngân

Học viện Quân y xác nhận chữ ký trên của PGS. TS. Nguyễn Hoàng Ngân là đúng.



Đại tá Chu Đức Thành