

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

BỘ Y TẾ



DOÃN VĂN TRUNG

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC  
DỤNG AN THẦN CỦA BÀI THUỐC  
KỶ CÚC ĐỊA HOÀNG THANG  
GIA VỊ TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
BỘ Y TẾ  
HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



**DOÃN VĂN TRUNG**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC  
DỤNG AN THẦN CỦA BÀI THUỐC  
KỶ CÚC ĐỊA HOÀNG THANG  
GIA VỊ TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**Chuyên ngành: Y học cổ truyền**

**Mã số: 8720115**

**Người hướng dẫn khoa học:**

**TS. Đỗ Linh Quyên**

**HÀ NỘI, NĂM 2022**

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên tôi xin chân thành cảm ơn Chi bộ, Ban Giám đốc, khoa YHCT-VLTL và các phòng ban của Bệnh viện ĐKKV La Gi đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành khóa học.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc, lời cảm ơn chân thành tới Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng đào tạo Sau đại học, cùng toàn thể các 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 vô cùng kính trọng và biết ơn sâu sắc TS. Đỗ Linh Quyên đã tận tình hướng dẫn tôi hoàn thành luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh và các giảng viên, KTV Bộ môn Dược lý trường Đại học Y Hà Nội đã nhiệt tình giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy, các 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 bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc 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 !

**Tác giả luận văn**

**Doãn Văn Trung**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Doãn Văn Trung, học viên Cao học khóa 13- Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS Đỗ Linh Quyên.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, 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 2022*

**Tác giả luận văn**

**Doãn Văn Trung**

## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ.....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Khái niệm giấc ngủ.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Cơ chế điều hòa giấc ngủ.....</b>	<b>3</b>
<i>1.2.1. Khái niệm chung về cơ chế điều hòa thức - ngủ.....</i>	<i>3</i>
<i>1.2.2. Sinh hóa thần kinh của điều hòa thức ngủ.....</i>	<i>3</i>
<i>1.2.3. Vai trò của giấc ngủ.....</i>	<i>4</i>
<b>1.3. Khái niệm, nguyên nhân, chẩn đoán và điều trị mất ngủ không thực tồn theo y học hiện đại.....</b>	<b>5</b>
<i>1.3.1. Khái niệm về mất ngủ không thực tồn (F51.0).....</i>	<i>5</i>
<i>1.3.2. Nguyên nhân của mất ngủ không thực tồn.....</i>	<i>6</i>
<i>1.3.3. Chẩn đoán mất ngủ không thực tồn.....</i>	<i>6</i>
<i>1.3.4. Dịch tễ học mất ngủ.....</i>	<i>7</i>
<i>1.3.5. Điều trị mất ngủ không thực tồn theo y học hiện đại.....</i>	<i>8</i>
<b>1.4. Quan niệm, nguyên nhân cơ chế bệnh sinh, chẩn đoán và điều trị mất ngủ theo y học cổ truyền.....</b>	<b>13</b>
<i>1.4.1. Quan niệm của Y học cổ truyền về chứng mất ngủ.....</i>	<i>13</i>
<i>1.4.2. Nguyên nhân cơ chế bệnh sinh của chứng mất ngủ.....</i>	<i>13</i>
<i>1.4.3. Phân loại và biện chứng luận trị chứng thất miên.....</i>	<i>16</i>
<i>1.4.4. Phòng chống bệnh mất ngủ theo Y học cổ truyền.....</i>	<i>20</i>
<b>1.5. Một số nghiên cứu về điều trị mất ngủ bằng thuốc y học cổ truyền.....</b>	<b>20</b>
<i>1.5.1. Một số nghiên cứu điều trị mất ngủ bằng thuốc học cổ truyền trong nước.....</i>	<i>20</i>

1.5.2. Một số nghiên cứu điều trị mất ngủ bằng thuốc y học cổ truyền nước ngoài.....	22
1.6. Một số nghiên cứu về độc tính và tác dụng an thần của thuốc trên thực nghiệm.....	24
1.6.1. Một số mô hình nghiên cứu độc tính cấp trên thực nghiệm.....	24
1.6.2. Một số mô hình nghiên cứu tác dụng an thần trên thực nghiệm.....	24
1.7. Tổng quan bài thuốc nghiên cứu “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”.....	25
1.7.1. Xuất xứ bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”.....	25
1.7.2. Mô tả tác dụng của các vị trong thành phần bài thuốc.....	27
<b>CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b>	<b>35</b>
2.1. Bài thuốc nghiên cứu.....	35
2.2. Đối tượng nghiên cứu .....	36
2.3. Phương tiện nghiên cứu .....	36
2.4. Địa điểm, thời gian nghiên cứu.....	37
2.5. Phương pháp nghiên cứu.....	37
2.5.1 Thiết kế nghiên cứu.....	37
2.5.2 Nghiên cứu độc tính cấp.....	37
2.5.3. Nghiên cứu tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm .....	38
2.6. Xử lý và phân tích số liệu.....	44
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>46</b>
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp trên thực nghiệm.....	46
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm.....	47

3.2.1. Phương pháp đầu cộng nâng cao.....	47
3.2.2. Phương pháp trục quay Rotarod.....	50
3.2.3. Phương pháp mô hình đo hoạt động ký.....	51
3.2.4. Phương pháp đo sức bám.....	54
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....</b>	<b>56</b>
4.1. Sự lựa chọn bài thuốc và chất đối chứng.....	56
4.2. Bàn luận về kết quả nghiên cứu độc tính cấp trên thực nghiệm	57
4.3. Bàn luận về kết quả nghiên cứu tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm.....	58
4.3.1. Bàn luận về kết quả phương pháp đầu cộng nâng cao	58
4.3.2. Bàn luận về kết quả kết quả nghiên cứu trên phương pháp trục quay Rotarod.	60
4.3.3. Bàn luận về kết quả nghiên cứu trên phương pháp đo hoạt động ký.....	62
4.3.4. Bàn luận về kết quả nghiên cứu trên phương pháp đo sức bám	63
4.4. Lí giải tác dụng an thần của bài thuốc “ Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”.....	64
4.5. So sánh tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm với một số bài thuốc khác.....	67
<b>KẾT LUẬN.....</b>	<b>70</b>
<b>KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>71</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC VIẾT TẮT

APA	American Psychiatric Association (Hiệp hội tâm thần Hoa Kỳ)
BZDs	Các dẫn xuất nhóm Benzodiazepin
DTAT	Dưỡng tâm an thần
ĐVTN	Động vật thí nghiệm
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development (Tổ chức Hợp tác và Phát triển kinh tế)
NREM	No Rapid Eye Movement (Không vận động nhãn cầu nhanh)
REM	Rapid Eye Movement (Có vận động nhãn cầu nhanh)
YHCT	Y học cổ truyền



## DANH MỤC BẢNG

	<b>Trang</b>
<b>Bảng 3.1:</b> <i>Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị</i>	<b>46</b>
<b>Bảng 3.2.</b> <i>Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng</i>	<b>47</b>
<b>Bảng 3.3.</b> <i>Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến số lần và thời gian chuột vào nhánh mở</i>	<b>48</b>
<b>Bảng 3.4.</b> <i>Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến thời gian bám của chuột</i>	<b>50</b>
<b>Bảng 3.5.</b> <i>Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến hoạt động di chuyển theo chiều ngang của chuột</i>	<b>51</b>
<b>Bảng 3.6.</b> <i>Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến hoạt động di chuyển theo chiều dọc của chuột</i>	<b>53</b>
<b>Bảng 3.7.</b> <i>Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến sức kéo của chuột</i>	<b>54</b>
<b>Bảng 4.1:</b> <i>So sánh tác dụng an thần trên thực nghiệm của một số bài thuốc</i>	<b>68</b>

## DANH MỤC HÌNH, BIỂU ĐỒ

	Trang
Hình 2.1: Mô hình dẫu cộng nâng cao.	38
Hình 2.2: Trục quay Rotarod	40
Hình 2.3: Mô hình máy đo hoạt động ký	41
Hình 2.4: Máy đo sức kéo	43
Sơ đồ 1: Sơ đồ nghiên cứu thực nghiệm	45
Biểu đồ 3.1: Ảnh hưởng của Kỹ cức địa hoàng thang gia vị đến tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột	49

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Giấc ngủ là một phần tất yếu quan trọng của cuộc sống. Giấc ngủ là hoạt động sinh lý bình thường nhằm đảm bảo sức khỏe con người. Chúng ta không thể sống mà không ngủ [1]. Hiện nay do nhiều yếu tố như stress, môi trường, khí hậu, điều kiện sống, điều kiện làm việc, tuổi tác, sức khỏe, rối loạn giấc ngủ có thể gặp ở mọi lứa tuổi, giới tính. Rối loạn giấc ngủ là trạng thái không thoải mái về số lượng và chất lượng của giấc ngủ do nhiều nguyên nhân khác nhau gây nên [1].

Những nghiên cứu dịch tễ học gần đây cho thấy tỷ lệ mất ngủ trong cộng đồng dao động từ 20-30% và tỷ lệ này tăng hơn ở người cao tuổi, mất ngủ tăng lên theo thời gian vì những căng thẳng trong cuộc sống ngày càng gia tăng. Tại Việt Nam, rối loạn giấc ngủ chiếm tỷ lệ cao (50-80%), bệnh nhân mất ngủ không thực tồn trên 40 tuổi chiếm 90% [2]. Ở Mỹ số người mất ngủ chiếm khoảng 27% dân số, Pháp có 31%, Italia có 35%, Anh 34%, Đan mạch 31%, Bỉ 27%, Đức 23% [1],[3]. Mất ngủ không thực tồn gây ảnh hưởng nhiều tới chất lượng cuộc sống, lao động và sinh hoạt của người bệnh, là nguyên nhân gây ra các rối loạn trầm cảm, rối loạn lo âu và bệnh lý tâm sinh. Bệnh có liên quan tới tuổi, nghề nghiệp, tình trạng hôn nhân và tiền sử sang chấn tâm lý [2].

Tình trạng thiếu ngủ, mất ngủ thường xuyên có nguy cơ dẫn đến các chứng bệnh như: Suy nhược cơ thể, thừa cân, suy giảm hệ miễn dịch, cao huyết áp, mất tập trung và thậm chí là mất trí nhớ, đột quỵ và các bệnh về tim mạch nguy hiểm cùng rất nhiều căn bệnh khác ảnh hưởng đến sức khỏe con người, thậm chí có thể dẫn đến tai nạn nghiêm trọng, và có thể dẫn tới tử vong. Do vậy điều trị hiệu quả bệnh lý này luôn là vấn đề cấp thiết nhằm nâng cao chất lượng cuộc sống của người bệnh [1].

Hiện nay, phương pháp điều trị mất ngủ thường là phối hợp tâm lý trị liệu và sử dụng thuốc an thần có nguồn gốc hóa dược, chủ yếu là nhóm bình thần (thuốc an thần thứ yếu) benzodiazepin và nhóm thuốc an thần mới, những thuốc này có

hiệu quả tốt nhưng lại có những tác dụng không mong muốn và có thể gây quen thuốc, nghiện nếu lạm dụng [4].

Y học cổ truyền có những vị thuốc và bài thuốc điều trị mất ngủ không thực tồn có hiệu quả, đưa bệnh nhân đến giấc ngủ tự nhiên, ít tác dụng không mong muốn và giảm tình trạng quen thuốc. Những ưu điểm này có thể giúp khắc phục những bất cập mà y học hiện đại đang gặp phải trong điều trị mất ngủ bằng các loại thuốc hóa dược hiện nay [5],[6]. Do vậy hướng tìm kiếm và nghiên cứu điều trị mất ngủ bằng các bài thuốc y học cổ truyền hiện đang được các nhà khoa học quan tâm. Trong đó bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” gồm các vị Thực địa, Hoài sơn, Sơn thù, Trạch tả, Đan bì, Phục linh, Kỳ tử, Cúc hoa, có tác dụng tư thận dưỡng âm minh mục. Để việc cải thiện giấc ngủ được tốt, góp phần cải thiện sức khỏe bệnh nhân. Nhóm nghiên cứu chúng tôi đã gia thêm các vị Táo nhân sao đen, Viễn chí, Liên nhục, Phục thần, tạo thành bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”. Hiện tại việc sử dụng bài thuốc chủ yếu dựa trên kinh nghiệm điều trị, chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng dược lý cũng như độ an toàn trên động vật thực nghiệm. Để xác định tác dụng an thần bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”, nhóm nghiên cứu chúng tôi tiến hành đề tài “**Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng an thần của bài thuốc Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị trên thực nghiệm**” với hai mục tiêu sau:

- 1. Đánh giá độc tính cấp của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm.*
- 2. Đánh giá tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm.*

## CHƯƠNG 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. Khái niệm giấc ngủ

Giấc ngủ là trạng thái sinh lý bình thường của con người. Giấc ngủ đó là trạng thái ức chế, kéo dài của cơ thể, được gây ra do sự tổ chức lại hoạt động của phức hợp các yếu tố nội sinh và ngoại sinh đặc trưng cho những dao động ngày đêm và đảm bảo sự phục hồi chức năng hoạt động của não bộ trong trạng thái thức tỉnh. Giấc ngủ được điều hoà tương đối định hình và lặp đi lặp lại [4],[2],[7].

Giấc ngủ được chia làm hai giai đoạn:

- Ngủ không vận động nhãn cầu nhanh (No Rapid Eye Movement: **NREM**), còn gọi là pha ngủ chậm, hay giấc ngủ NREM.
- Ngủ có vận động nhãn cầu nhanh (Rapid Eye Movement: **REM**), còn gọi là pha ngủ nhanh, hay gọi là giấc ngủ mơ (REM – Sleep) [4],[7],[8].

#### 1.2. Cơ chế điều hòa giấc ngủ

##### 1.2.1. Khái niệm chung về cơ chế điều hòa thức - ngủ

Cho đến nay vẫn chưa có sự thống nhất trong việc giải thích cơ chế thức ngủ. Hầu hết các nhà nghiên cứu cho rằng giấc ngủ được kiểm soát bởi nhiều trung tâm trong não, các trung tâm này kiểm soát hoạt động lẫn nhau [2],[9],[10].

Ở thân não các vùng có liên quan trực tiếp với chức năng thức – ngủ là:

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

##### 1.2.2. Sinh hóa thần kinh của điều hòa thức ngủ

Nghiên cứu thực nghiệm cho thấy nhân rãnh xoắn của thân não sản xuất ra serotonin là một chất dẫn truyền thần kinh đầu tiên tạo ra giấc ngủ. Hoạt động của serotonin (5HT) ở mức tối thiểu trong giấc ngủ sâu và đạt tối đa lúc thức. Cần 25 - 30 phút để đến giấc ngủ sâu (giấc ngủ pha chậm) và 60 phút tới giấc ngủ pha nhanh. Giải phóng nhiều serotonin trong lúc thức làm thuận lợi cho việc tổng hợp

các chất gây ngủ nội sinh [11]. Như vậy rối loạn quá trình tổng hợp serotonin trong não sẽ dẫn đến mất ngủ [9].

Catecholamin được xem là những chất có tác dụng gây thức. Chất dẫn truyền thần kinh hệ cholinergic được biết như là một chất tạo ra giấc ngủ trong pha nhanh [10]. Rối loạn hoạt động ở trung tâm hệ cholinergic làm thay đổi giấc ngủ, thường gặp trong trầm cảm. Acetylcholin cũng liên quan đến giấc ngủ, đặc biệt là trong pha nhanh của giấc ngủ [1].

### **1.2.3. Vai trò của giấc ngủ**

Giấc ngủ có vai trò rất quan trọng là giúp cơ thể nghỉ ngơi và phục hồi năng lượng. Giấc ngủ có chất lượng khi đáp ứng một số yêu cầu cơ bản sau: đủ giờ, đủ sâu, cảm thấy khoẻ khoắn khi thức dậy... [1]. Các khảo sát cho thấy thời gian ngủ giảm dần theo tuổi. Người trưởng thành ở lứa tuổi hoạt động mạnh nhất (18 - 45 tuổi), nhu cầu ngủ mỗi ngày từ 7 - 8 giờ, riêng người cao tuổi thường ngủ dưới 6 giờ mỗi đêm. Tuy nhiên cũng có người có nhu cầu nhiều hơn và cũng có người cần ít hơn. Giấc ngủ điều hòa tương đối định hình và lặp đi lặp lại [1],[10].

Giấc ngủ có tác động phục hồi các quá trình sinh lý và tâm thần, có vai trò trong việc sửa chữa các mô, điều nhiệt, chức năng miễn dịch, điều hòa tính nhạy cảm của thụ thể noradrenergic. Khi giấc ngủ bị xáo trộn, như trong chứng mất ngủ, nó có thể gây ra nhiều triệu chứng biến thiên trên cơ thể và tâm thần, tùy thuộc vào mức độ trầm trọng và thời gian kéo dài của rối loạn giấc ngủ [7],[12].

Mất ngủ mạn tính làm giảm chất lượng cuộc sống, người bệnh mệt mỏi, giảm tập trung chú ý, giảm trí nhớ, giảm khả năng học tập, ảnh hưởng nặng nề đến công việc hàng ngày. Mất ngủ nặng có thể gây rối loạn nhận thức, rối loạn nhịp thở, rối loạn nhịp tim và tăng huyết áp. Khi mất ngủ kéo dài có thể dẫn tới suy nhược nặng. Mất ngủ kéo dài nếu không được điều trị sẽ là nhân tố làm khởi phát rối loạn lo âu, trầm cảm, bệnh tật khác và nguy cơ tử vong có thể xảy ra do sự suy giảm trầm trọng khả năng điều hoà nhiệt độ của cơ thể.... [1],[10].

### **1.3. Khái niệm, nguyên nhân, chẩn đoán và điều trị mất ngủ không thực tồn theo y học hiện đại**

Trong Tài liệu chẩn đoán và thống kê các rối loạn tâm thần, của Hiệp hội tâm thần Hoa Kỳ (American Psychiatric Association – APA), mất ngủ được chia thành 3 loại :

- Mất ngủ nguyên phát (primary insomnia);
- Mất ngủ liên quan đến các bệnh lý (kể cả mất ngủ trong các bệnh thực tồn thần kinh, nội khoa...) hoặc rối loạn về tâm thần
- Mất ngủ liên quan đến lạm dụng chất.

Mất ngủ nguyên phát trong một thời gian dài được gọi là mất ngủ mạn tính hay mất ngủ không thực tồn, theo ICD – 10 được xếp vào mã bệnh F51.0 [4],[13].

#### **1.3.1. Khái niệm về mất ngủ không thực tồn (F51.0)**

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

- Khó đi vào giấc ngủ: Là những than phiền thường gặp nhất và có ở hầu hết các bệnh nhân.
- Khó duy trì giấc ngủ và thức dậy sớm [9],[13].
- Số lượng và/hoặc chất lượng giấc ngủ không thỏa mãn [1],[4].
- Hầu hết các trường hợp mất ngủ không thực tồn xuất hiện đột ngột sau khi có yếu tố tâm lý, xã hội hoặc stress [1],[13].
- Mất ngủ không thực tồn có thể kéo dài vài tháng nhưng cũng có khi kéo dài hàng năm, mặc dù các nguyên nhân gây mất ngủ đã được giải quyết [1].
- Mất ngủ nhiều lần dẫn đến môi lo sợ mất ngủ tăng lên và bận tâm lo lắng quá mức về hậu quả ban đêm và ban ngày của nó, tạo thành một vòng luẩn quẩn có khuynh hướng kéo dài [1].

### 1.3.2. Nguyên nhân của mất ngủ không thực tồn

Do tâm lý, rối loạn cảm xúc, tâm căn: Mất ngủ thường xuyên xảy ra sau một sang chấn tâm lý hoặc xảy ra sau một loạt những sự kiện bất lợi trong cuộc sống. Sang chấn tâm lý cũng đóng vai trò trong việc duy trì mất ngủ mạn tính. Thường thì trạng thái mất ngủ tăng lên vào thời điểm có sang chấn tâm lý. Tuy nhiên, nhiều trường hợp sang chấn mất đi nhưng mất ngủ vẫn tiếp tục kéo dài, gây nên sự lo sợ không ngủ được hay bị thức giấc vào ban đêm [1],[8].

Vai trò của các sự kiện bất lợi trong cuộc sống như: Thay đổi chỗ ngủ, thay đổi môi trường sống, lo lắng, lo âu hay căng thẳng (stress) cũng gây ra hoặc làm tăng mất ngủ [1],[7].

Đến nay, người ta đã chứng minh được vai trò của serotonin đối với giấc ngủ nói chung và mất ngủ không thực tồn nói riêng. Trong mất ngủ không thực tồn, nồng độ serotonin ở khe sy-náp và trong dịch não tủy giảm rõ rệt 20- 30% so với người bình thường [9].

### 1.3.3. Chẩn đoán mất ngủ không thực tồn

*Chẩn đoán mất ngủ không thực tồn theo tiêu chuẩn của ICD10 (F51.0)[14]*

Lâm sàng

- Các triệu chứng về giấc ngủ

+ Thời lượng giấc ngủ giảm: Tất cả các bệnh nhân đều giảm số lượng thời gian giấc ngủ, chỉ ngủ được 3 – 4 giờ/24 giờ, thậm chí bệnh nhân thức trắng đêm [12].

+ Theo Schneider – Helmert trung bình thời lượng giấc ngủ giảm 74 phút so với người bình thường. Lilfenberg và cộng sự thấy giảm hơn 1 giờ so với người bình thường [3].

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



+ Hay tỉnh giấc vào ban đêm: Giấc ngủ của bệnh nhân bị chia cắt ra, giấc ngủ chập chờn, không ngon giấc, thường tỉnh giấc và khi đã tỉnh giấc thì rất khó ngủ lại, mất ngủ giữa giấc hay gặp ở người trung niên [1].

+ Hiệu quả của giấc ngủ:

Hiệu quả giấc ngủ được tính theo công thức như sau: Số giờ ngủ/ Số giờ nằm trên giường x 100% [7],[8].

Ở người bình thường hiệu quả giấc ngủ từ 85% trở lên, còn người mất ngủ hiệu quả giấc ngủ giảm đi nhiều tùy theo mức độ mất ngủ, nếu nặng có thể giảm xuống dưới 65% [7],[8].

+ Thức giấc sớm:

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

+ Chất lượng giấc ngủ: Có sự khác biệt lớn về chất lượng giấc ngủ giữa người ngủ tốt và người mất ngủ. Người ngủ tốt sau một đêm thấy cơ thể thoải mái, mọi mệt mỏi biến mất về mặt tươi tỉnh. Người mất ngủ sau một đêm có diện mạo về mặt mệt mỏi, hai mắt có thể thâm quầng, dáng vẻ chậm chạp, hay ngáp vặt, một giấc ngủ chập chờn đôi khi khó xác định được là có ngủ hay không ngủ [2].

*Các triệu chứng liên quan đến chức năng ban ngày*

- ✓ Trạng thái kém thoải mái, mệt mỏi vào ban ngày, thụ động, giảm hứng thú hay khó hoàn tất các công việc, luôn luôn suy nghĩ tập trung vào sức khỏe và giấc ngủ. Sự cảnh tỉnh chủ quan vào ban ngày đặc biệt giảm hơn vào lúc trưa [1].
- ✓ Các rối loạn tâm thần kèm theo: Khó tập trung chú ý, hay quên. Trạng thái trầm cảm nhẹ hay lo âu kéo dài. Khó kiểm soát điều chỉnh cảm xúc [1].

#### **1.3.4. Dịch tễ học mất ngủ**

Mất ngủ thường chiếm tỷ lệ cao ở giới nữ giới, người cao tuổi, thành thị

nhiều hơn nông thôn [15].

Theo số liệu công bố của viện Gallup (Mỹ) năm 1990 nghiên cứu ở tám nước cho thấy tỷ lệ mất ngủ chung trong cộng đồng dao động từ 20 - 30% [3].

Tên nước	% người mất ngủ	% người mất ngủ không thực tồn
Pháp	31%	19%
Italia	35%	5%
Anh	34%	11%
Đan mạch	31%	9%
Bỉ	27%	9%
Tây ban nha	23%	9%
Đức	23%	7%
Mỹ	27%	9%

Dù Việt Nam chưa có số liệu chính xác, tuy nhiên các bác sỹ khẳng định rối loạn này hiện rất phổ biến. Thống kê những năm gần đây cho thấy số bệnh nhân đến khám được phát hiện rối loạn giấc ngủ liên quan đến căng thẳng trong cuộc sống chiếm tới 80% [4].

### 1.3.5. Điều trị mất ngủ không thực tồn theo y học hiện đại

Trong điều trị mất ngủ không thực tồn có hai nhóm lớn là tâm lý trị liệu và dược lý. Hai nhóm này có thể kết hợp với nhau [2],[9],[16].

Đối với người bị mất ngủ ngắn hạn (cấp tính), có thể việc điều trị sẽ đơn giản hơn bằng cách kết hợp các phương pháp chữa bệnh mất ngủ không thực tồn như sau:

- Giải quyết các căng thẳng gây ra mất ngủ, loại bỏ stress, các yếu tố gây căng thẳng. Thực hành các bài tập thư giãn.
- Sử dụng thuốc điều trị mất ngủ nếu cần thiết.
- Liệu pháp ánh sáng cho kết quả tốt ở một số trường hợp.

Trong một số trường hợp, thuốc điều trị mất ngủ có thể kết hợp cùng

phương pháp trị liệu tâm lý để cho kết quả tốt nhất [1],[13].

### ***1.3.5.1. Liệu pháp tâm lý***

Mất ngủ không thực tồn liên quan chủ yếu đến các nhân tố tâm sinh, đặc biệt rối loạn cảm xúc là nhân tố được coi là nguyên phát. Do vậy, trong điều trị liệu pháp tâm lý hỗ trợ là rất cần thiết [1],[4].

Các yếu tố chính của liệu pháp tâm lý trong điều trị mất ngủ là: Giáo dục tâm lý, kiểm soát kích thích, có thể sử dụng liệu pháp thư giãn và nhận thức hiểu biết để phòng tránh các yếu tố nguy cơ gây mất ngủ.

Hướng dẫn về vệ sinh giấc ngủ đầy đủ rất quan trọng vì cần tuân thủ chặt chẽ các quy tắc về vệ sinh giấc ngủ để có thể có những tác động tích cực. Các quy tắc về vệ sinh giấc ngủ phổ biến được đưa ra cụ thể là [4],[16]:

1. Giữ phòng ngủ thoải mái và không bị ảnh hưởng bởi ánh sáng, tiếng ồn.
2. Phòng ngủ nên có duy trì nhiệt độ phòng phù hợp vào ban đêm.
3. Tránh uống rượu vào buổi tối, vì nó gây ra triệu chứng cai nhẹ vào ban đêm (phá vỡ nhịp thức ngủ).
4. Tránh uống các sản phẩm caffein, chất kích thích sau bữa ăn trưa.
5. Tránh dùng nicotin vì gây rối loạn giấc ngủ.
6. Hạn chế sử dụng đồ uống 2-3 giờ trước khi đi ngủ, để tránh đi tiểu tiện vào ban đêm.
7. Để đồng hồ ở ngoài tầm nhìn để tránh (kích hoạt) sự thất vọng vào ban đêm khi bạn nhìn vào nó.
8. Đừng đi ngủ trong tình trạng đói, ăn những bữa ăn phù hợp, không quá no hay béo vào buổi tối.
9. Đừng cố gắng để ngủ.
10. Không đọc sách, uống nước chè, hút thuốc, hoặc xem tivi trên giường.
11. Đi ngủ khi thấy mệt mỏi, chỉ đi ngủ khi buồn ngủ.
12. Nếu bạn không ngủ sau 10-15 phút, đứng dậy và ra khỏi phòng ngủ.

Hãy trở lại chỉ khi bạn cảm thấy mệt mỏi.

13. Nếu bạn không ngủ được trong 10 phút nữa, hãy lặp lại như trên
14. Hãy thức dậy cùng một thời điểm mỗi ngày để đặt "đồng hồ sinh học" của bạn, bất kể những ngày nghỉ cuối tuần.
15. Tránh ngủ trưa ban ngày.
16. Chỉ ngủ đủ nhu cầu để cảm thấy tươi mới vào ngày hôm sau.
17. Tập các bài tập thư giãn trong ngày đều đặn.
18. Không suy nghĩ các vấn đề cá nhân hoặc công việc khi đi ngủ.

Liệu pháp tâm lý để điều trị rối loạn giấc ngủ là lựa chọn đầu tiên cho chứng mất ngủ vì những hiệu quả lâu dài đã được thể hiện rõ ràng, hơn nữa việc dùng thuốc là không thể kéo dài để điều trị duy trì giấc ngủ. Do đó việc vệ sinh giấc ngủ và tâm lý liệu pháp là rất cần thiết để đảm bảo có giấc ngủ tốt [4],[16].

#### ***1.3.5.2. Các thuốc điều trị bệnh mất ngủ không thực tổn***

##### **Dẫn xuất Benzodiazepin (BZDs):**

###### *Tác dụng dược lí*

- An thần, giải lo, giảm hung hãn
- Làm cho dễ ngủ: giảm thời gian tiềm tàng và tăng thời gian giấc ngủ nghịch thường
- Chống co giật: Clonazepam, nitrazepam, lorazepam, diazepam: do tính cảm thụ khác nhau của các vùng, các cấu trúc thần kinh và sự cảm thụ khác nhau của các loài với các dẫn xuất mà tác dụng có khác nhau.
- Làm giãn cơ
- Ngoài ra còn:
  - + Làm quên kí ức gần hơn kí ức xa
  - + Gây mê: một số BDZ có tác dụng gây mê như diazepam, midazolam
  - + Liều cao ức chế trung tâm hô hấp và vận mạch
  - + Giãn mạch vành khi tiêm tĩnh mạch
  - + Với liều cao, phong tỏa thần kinh- cơ [17],[18].

Các benzodiazepin là thuốc bình thần chỉ định cho an thần mất ngủ gồm: Diazepam, Oxazepam, Nitrazepam, Flunitrazepam, Triazolam [17],[18][19].

*Nguyên tác chung khi dùng thuốc:*

- + Liều tùy thuộc từng người
- + Chia liều trong ngày cho phù hợp
- + Dùng giới hạn từng thời gian ngắn để tránh phụ thuộc vào thuốc.
- + Tránh dùng cùng các thuốc ức chế thần kinh trung ương, rượu, thuốc ngủ, kháng histamine [17],[18].

Liều dùng (*trong 24 giờ*)[17],[18].

Diazepam	5-10 mg	Flunitrazepam	1-2mg
Oxazepam	25-150mg	Triazolam	125-250mg
Nitrazepam	5-10mg	Alprazolam	0.75-2mg

*Tác dụng không mong muốn:*

- Khi nồng độ trong máu cao hơn liều an thần, đạt tới liều gây ngủ có thể gặp: uể oải, động tác không chính xác, lú lẫn, miệng khô đắng, giảm trí nhớ.
- Độc tính trên thần kinh tăng theo tuổi.
- Về tinh thần, đôi khi gây tác dụng ngược: ác mộng, bồn chồn, lo lắng, nhịp tim nhanh, vã mồ hôi, sáng khoái, hoang tưởng, muốn tự tử. Quen thuốc có thể do cơ thể tăng chuyển hóa hoặc điều hòa giảm số lượng các receptor của BDZ trong não.
- Ít gây phụ thuộc và lạm dụng thuốc, nhưng sau một đợt dùng BDZ kéo dài, có thể gây mất ngủ trở lại, lo lắng, bồn chồn hoặc co giật. Thuốc có T/2 càng ngắn càng dễ gây nghiện [17],[18].

## **Buspiron**

*Tác dụng dược lí*

- Làm giảm lo âu

- Tác dụng tốt với rối loạn tâm lí như lo âu, kém tập trung tư tưởng, ít tác dụng trên trạng thái hoảng sợ [17],[18].

Liều dùng: 15-30mg

*Tác dụng không mong muốn:* có thể gây mệt mỏi, chóng mặt, mất ngủ, buồn nôn, đau đầu, đau ngực, ù tai...[17],[18].

### **Zolpidem**

Là dẫn xuất imidazopyridin

*Tác dụng dược lí*

- Làm dễ ngủ, giảm số lần thức giấc trong đêm, kéo dài thời gian ngủ và cải thiện giấc ngủ
- Có tác dụng giãn cơ và chống co giật yếu

*Liều dùng:* Điều trị mất ngủ liều từ 5 - 10mg. Liều tối đa 20mg/ngày.

*Tác dụng không mong muốn:*

Có thể gây lú lẫn, rối loạn trí nhớ, song thị, ngủ gà. Hiếm gặp các triệu chứng: mệt mỏi, rối loạn tiêu hóa, phát ban, ngứa,.. [17],[18].

### **Barbiturat.**

Nhóm thuốc có tác dụng gây ngủ cổ điển được dùng từ lâu, bao gồm barbiturat, các thuốc giống barbiturat và chloral hydrat.

Hiện nay các thầy thuốc ít dùng barbiturat để điều trị mất ngủ không thực tồn, vì tác dụng không mong muốn của thuốc trên máu, thần kinh, ngộ độc cấp, ngộ độc mạn tính và dị ứng trên da [17],[18].

Nhược điểm lớn nhất của các thuốc kể trên là đều có thể gây nghiện, đòi hỏi tăng liều, do đó không nên sử dụng kéo dài vì sẽ gây lệ thuộc thuốc. Thuốc có thể gây loạng choạng khi thức dậy. Cố gắng dùng liều thấp nhất có hiệu quả. Khi đã đạt hiệu quả điều trị cần có kế hoạch giảm liều thuốc dần (để tránh lúc cai) trước khi ngừng thuốc hoàn toàn [4],[19].

### **1.3.5.3. Chăm sóc và phòng bệnh**

Ăn uống: Nên ăn bữa tối trước 3 tiếng trước khi đi ngủ, nên sử dụng các thức ăn dễ tiêu, uống đủ lượng nước mà cơ thể cần thiết trong ngày.

Sinh hoạt: tránh các giấc ngủ gà vào ban ngày, chỉ lên giường khi thực sự buồn ngủ, làm việc điều độ, tránh thức khuya, luyện tập thể dục thường xuyên, hạn chế tối đa các tác động tâm lý có thể ảnh hưởng đến giấc ngủ [20].

## **1.4. Quan niệm, nguyên nhân cơ chế bệnh sinh, chẩn đoán và điều trị mất ngủ theo y học cổ truyền**

### **1.4.1. Quan niệm của Y học cổ truyền về chứng mất ngủ**

Mất ngủ được miêu tả trong phạm vi chứng “Thất miên” của y học cổ truyền, theo nghĩa thất là mất, miên là ngủ, thất miên nghĩa là mất ngủ. Biểu hiện chính là khó nhập giấc hoặc khó duy trì giấc ngủ. Mức độ mất ngủ biểu hiện cũng khác nhau, nhẹ thì biểu hiện là khó nhập giấc, ngủ không sâu, lúc ngủ dễ tỉnh, dễ kinh sợ thức giấc, dậy sớm, sau khi tỉnh khó ngủ lại. Nặng thì trằn trọc, suốt đêm không nhắm được mắt [21],[22],[23] .

### **1.4.2. Nguyên nhân cơ chế bệnh sinh của chứng mất ngủ**

Có rất nhiều nguyên nhân gây mất ngủ, tùy theo từng thể bệnh mà có những nguyên nhân khác nhau.

Theo “Hoàng đế Nội kinh Tố Vấn”: âm dương không cân bằng, ngũ tạng thất hòa, tinh khí hư tổn là nguyên nhân của loại bệnh này. Người già mất ngủ là do tuổi già sức suy, khí huyết hư tổn, cơ nhục khô héo, dưỡng khí không thông, khí của ngũ tạng đảo lộn, âm huyết suy yếu, dương khí quá thịnh nội phá nên ban ngày không có tinh thần, ban đêm không ngủ được; hoặc tâm âm không đủ, hư hỏa bốc lên làm cho mạch dương kiểu thịnh gây ra mất ngủ vì mạch dương kiểu chủ về ngủ [20].

Tuệ Tĩnh trong “Nam dược thân hiệu” cho rằng: “Mất ngủ có 3 nguyên nhân là người già yếu dương khí suy hay ốm khỏi còn yếu mà không ngủ được; Đàm

tụ ở đờm kinh, thần không yên mà không ngủ; lại có chứng tâm kinh nóng phiền, đờm hàn lạnh mà không ngủ được” [24].

Hải Thượng Lãn Ông trong “Y trung quan kiện” cho rằng “Tâm là nơi chứa thần, thống nhiếp huyết mạch; can là nơi chứa hồn, chứa huyết; tỳ là nơi chứa ý và sinh ra huyết. Phàm chứng mất ngủ là do âm hư huyết kém; thần hồn và ý đều bị tổn thương. Cho nên phép chữa và xử phương cũng không ngoài ba kinh tâm, can và tỳ” [25].

Nhìn chung các tác giả đều thống nhất cơ chế giấc ngủ bình thường là dựa vào sự điều hòa của các tạng phủ, âm bình dương bí, dương nhập vào trong với âm. Nếu tình chí thất thường, mệt mỏi, suy nghĩ quá độ, hoặc do ăn uống thất thường, hoặc sau mắc bệnh lâu ngày, hoặc do tuổi tác làm cho cơ thể hư suy... dẫn đến âm dương thất điều, dương không nhập vào âm, tâm thần bất ninh, thần không có chỗ trú thì sẽ dẫn đến mất ngủ [21],[22],[26].

Theo y học cổ truyền, nguyên nhân sinh ra mất ngủ hàng đầu cần kể đến là các rối loạn tình chí, do căng thẳng tâm lý lâu ngày gây ra sang chấn về tinh thần dẫn tới rối loạn công năng của các tạng phủ, đặc biệt là Tâm, Can, Tỳ và Thận. Ngoài ra còn có yếu tố tình trạng địa tạng thần kinh yếu, do tiên thiên bất túc, hoặc do huyết thiếu, hoặc do Thận âm suy kém, hoặc do hoả của Can Đờm bốc hoặc do Vị khí không điều hoà, hoặc do sau khi ốm bị suy nhược không ngủ được, “thần không yên thì không ngủ được”. Thần sở dĩ không yên thì một là do tà khí nhiễu động, hai là do tinh khí không đủ, chữ “tà” nói ở đây chủ yếu là chỉ vào đàm, hoả, ăn uống, chữ “thất tình” là chỉ vào sự thái quá bất cập của tình chí mừng, giận, lo, nghĩ, buồn, sợ, kinh gây nên mất ngủ [21],[22].

#### ***1.4.2.1. Tình chí bị tổn thương***

Từ cổ xưa Y học phương Đông đã biết được tác động xấu của những cảm xúc thái quá đối với sức khoẻ con người. Chẳng hạn như: “Nộ thương can”, nghĩa là: Cáu giận quá thì hại can; “Bi thương tỳ”, nghĩa là: Suy nghĩ lo lắng đau thương, đau buồn thì hại tỳ; “Hy thương tâm”, nghĩa là: Mừng vui quá ảnh hưởng



đến tâm; “Khủng thương thận”, nghĩa là: Sợ hãi kinh khủng quá ảnh hưởng đến thận; “Ưu thương phế”, nghĩa là: Ưu sầu, buồn bã ảnh hưởng đến phế; tâm hưng khởi, vui quá, buồn quá cũng dẫn đến tâm thần bị nhiễu hoặc tâm thần thất dưỡng mà mất ngủ. Trong “Thiên cử thống luận” Sách Tố Vấn nói: “Kinh tức là tâm không chủ động, tinh thần không quy lại, lo lắng nhiều nên thần khí tán loạn”, lại nói “Sợ thì khí đi xuống, lo sợ thì tinh thần mòn mỏi, sợ hãi hại thận, tinh khí bị mòn mỏi”. Từ đó thấy rằng thần khí không yên, tinh thần giao động gây bệnh Thất miên [22],[23].

Hải Thượng Lãn Ông cho rằng sự rối loạn các cảm xúc (thất tình) gồm “mừng, giận, lo, nghĩ, buồn, sợ, kinh” kéo dài đều có thể ảnh hưởng đến can khí, khiến can khí uất, đây là đầu mối của nhiều chứng bệnh nội thương. Hải Thượng Lãn Ông có viết "Mọi chứng bệnh đều kèm chứng uất, vậy chữa bệnh phải kèm chữa uất. Trong hội chứng suy nhược mất ngủ, can khí uất kết lâu ngày làm tổn thương âm huyết, thường dẫn đến các chứng trạng âm hư dương xung như hoa mắt, chóng mặt, nhức đầu mất ngủ... [22],[25]. Ngoài ra "can mộc khắc tỳ thổ" đã làm tỳ mất vận hoá làm tinh hoa ngũ cốc ngưng tụ thành đàm, khí bị uất hoá thành hoả, đàm hoả xông lên khiến khí trệ huyết ứ và tâm khí bị tổn thương dễ gây ra những triệu chứng biểu hiện của tâm tỳ hư và chứng thất miên [22],[23],[27].

Tóm lại, nguyên nhân gây nên bệnh thất miên chủ yếu là do thất tình (mừng, giận, lo, nghĩ, buồn, sợ, kinh). Bảy thứ tình chí này khi cơ thể không tiết chế được sẽ ảnh hưởng đến ngũ tạng và có thể sinh bệnh. Nhưng quy kết lại gốc bệnh lại ở tâm, vì (tâm tàng thần) tâm là chủ thể của ngũ tạng lục phủ. Thiên Khẩu vấn sách Linh khu nói: "Buồn, thương, lo, sầu thì động đến tâm, tâm động thì lục phủ ngũ tạng đều giao động". Nói rõ hơn, tâm là chủ thể của thân thể con người, có quan hệ lẫn nhau với nội tạng [21],[22].

Nếu nói đến tâm là phải nói đến thần, cho nên khi chữa không ngoài bỏ tâm an thần, bỏ được tâm thì huyết vượng mà có thể sinh ra tinh, sinh ra khí, sinh ra thần. Nội kinh viết: Tâm là cương vị Quân chủ. Thần minh phát ra nơi đó. tâm là

cội gốc của thần, là biến hoá của thần [22].

#### **1.4.2.2. Âm thực bất tiết**

Tỳ là nơi hấp thu vận chuyển các chất dinh dưỡng, là gốc của kho tàng, vinh khí ở nơi đó. Vị là cái kho cấp dưỡng cho ngũ tạng lục phủ, tân dịch trong Vị do Tỳ hấp thụ. Các bộ phận trong cơ thể nhờ vào sự luân chuyển Tân dịch của Tỳ mới được nuôi dưỡng nên Tỳ là “nguồn gốc của hậu thiên”. Ăn nhiều các đồ ăn béo ngọt, sống lạnh, no đói quá mức cũng có thể tổn thương tỳ vị, tỳ mất kiện vận, thanh khí bất thăng, thanh khiếu thất dưỡng thì tâm thần bất ninh, vị mất hòa giáng, thức ăn đình trệ, tích thấp sinh đàm hóa nhiệt, đàm nhiệt thượng nhiễu tâm thần thì cũng sinh ra chứng mất ngủ [21],[25].

#### **1.4.2.3. Mệt mỏi quá độ**

Mệt mỏi quá độ, tổn hao tâm huyết, tâm không được nuôi dưỡng, thần không có chỗ trú, xuất hiện mất ngủ. Mệt mỏi lâu ngày cũng có thể tổn thương tới tinh của can thận, thủy không chế hỏa, hư hỏa thượng nhiễu tâm thần, tâm thần bất ninh, cũng sẽ dẫn đến mất ngủ. Mệt mỏi có thể thương tỳ, tỳ mất kiện vận, đàm trọc nội sinh nhiễu tâm mà mất ngủ [21],[22].

#### **1.4.2.4. Bệnh lâu ngày, người già cơ thể hư yếu**

Bẩm tố cơ thể hư suy, người già cơ thể suy nhược hoặc sau khi mắc bệnh, chính khí hư suy, thận tinh khuy hư, làm cho tinh của ngũ tạng suy thiếu, tủy hải bất túc thì thần minh thất dưỡng, đêm ngủ bất an. Thận tinh khuy hư, không thể thượng tư tâm hỏa, dẫn đến tâm thận bất giao, dương không nhập âm, cũng dẫn đến mất ngủ [21],[22],[25].

#### **1.4.3. Phân loại và biện chứng luận trị chứng thất miên**

Sau đây xin giới thiệu cách phân loại của Giáo trình nội khoa y học cổ truyền - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và Bài giảng y học cổ truyền Trường Đại học y Hà Nội [22],[26].

### **1.4.3.1. *Thể Tâm Tỳ hư***

- \* Triệu chứng: Do lao động hoặc suy nghĩ quá mức, không ngủ, sắc mặt không tươi, người mệt, tinh thần uể oải, ăn uống không ngon, hay quên.
- \* Chất lưỡi nhạt, rêu lưỡi trắng mỏng hoặc nhớt trơn, mạch tế nhược hoặc nhu hoạt.
- \* Pháp điều trị: Bổ dưỡng tâm tỳ, ích khí dưỡng huyết, an thần
- \* Bài thuốc thường dùng:

Bài Quy tỳ thang: Bạch truật 12g, Hoàng kỳ 12g, Đảng sâm 6g, Phục thần 12g, Mộc hương 6g, Chích cam thảo 4g, Đương quy 4g, Viễn chí 4g, Toan táo nhân 12g, Long nhãn 12g [21],[22],[26].

### **1.4.3.2. *Thể Âm hư hỏa vượng (Tâm thận bất giao)***

- \* Triệu chứng: Mất ngủ, buồn bực, ù tai, đau lưng, đàn ông có di tinh, phụ nữ có bạch đới. Miệng khô tân dịch ít.
- \* Chất lưỡi đỏ, rêu vàng nhờn, mạch hoạt sắc.
- \* Pháp điều trị: Bổ tâm thận âm, thanh hư hỏa, an thần
- \* Bài thuốc thường dùng:

Bài thuốc Hoàng liên a giao thang: Hoàng liên 4g, Hoàng cầm 12g, A giao 12g, Bạch thược 12g, gia Táo nhân 12g.

Hay bài Thiên vương bổ tâm đan: Đảng sâm (hoặc nhân sâm) 16g, Đương quy 30g, Huyền sâm 16g, Thiên môn 30g, Đan sâm 16g, Mạch môn 30g, Phục linh 16g, Bá tử nhân 30g, Ngũ vị tử 30g, Toan táo nhân 30g, Viễn chí 16g, Sinh địa hoàng 30g, Cát cánh 16g.

Bài Toan táo nhân thang: Toan táo nhân 12g, Tri mẫu 8g, Phục linh 12g, Xuyên khung 8g, Cam thảo 4g.

Bài Chu sa an thần hoàn: Chu sa 4g, Hoàng liên 6g, Cam thảo 2g, Đương quy 2g, Sinh địa 2g [21],[22],[28].

### 1.4.3.3. *Thể Tâm âm bất túc (Tâm âm hư, tâm huyết hư)*

- \* Triệu chứng: Chia ra làm hai loại: **Tâm âm hư** và **tâm huyết hư**, đều hồi hộp khó chịu vùng tâm, sợ hãi mất ngủ hay quên.
- \* Tâm âm bất túc tức là tâm âm thiên cang, tâm âm tâm dương không điều hòa làm cho hồi hộp, tay chân buồn bã.
- \* Tâm âm hư thường do làm việc tinh thần nhiều, hao tổn tâm âm, nếu thấy có kèm sốt nhẹ, mồ hôi trộm, đầu lưỡi hồng, mạch tế sác là chứng của âm hư nội nhiệt.
- \* Tâm huyết hư phần nhiều do sự cung dưỡng máu không đủ, nếu choáng váng, mạch tế nhược là chứng của huyết hư [21],[28].
- **Tâm âm hư**: Có mồ hôi trộm, miệng khô, đầu lưỡi hồng, rêu lưỡi trắng mỏng, hoặc không rêu, mạch tế sác.
- **Tâm huyết hư**: Choáng váng, sắc mặt nhợt nhạt, miệng nhạt, lưỡi nhạt, mạch tế nhược.
- \* Phép chữa tâm âm hư nên dưỡng tâm âm, an tâm thần. Tâm huyết hư nên bổ dưỡng tâm huyết [21],[22].
- \* Chứng bệnh thần kinh thấy tâm hồi hộp, mất ngủ thuộc về tâm âm hư, có thể dùng dưỡng tâm âm, an tâm thần mà chữa. Do thiếu máu thấy thồn thức, choáng váng là chứng tâm huyết hư. Dùng phép chữa bổ huyết dưỡng tâm.
- \* Bài thuốc thường dùng:

Bài Thiên vương bổ tâm đan: Đảng sâm (hoặc nhân sâm) 16g, Đương quy 30g, Huyền sâm 16g, Thiên môn 30g, Đan sâm 16g, Mạch môn 30g, Phục linh 16g, Bá tử nhân 30g, Ngũ vị tử 30g, Toan táo nhân 30g, Viễn chí 16g, Sinh địa hoàng 30g, Cát cánh 16g.

Bài Bá tử dưỡng tâm hoàn: Bá tử nhân 160g, Mạch môn 40g, Huyền sâm 80g, Cam thảo 20g, kỉ tử 120g, Quy đầu 40g, Phục thần 40g, Thục địa 80g [21].

#### **1.4.3.4. *Thể Tâm Đờm khí hư***

\* Triệu chứng: Một là vì thể chất yếu đuối, tâm và đờm vốn hư cho nên gặp việc dễ kinh sợ, tâm quý, đoán khí mệt mỏi uể oải, tiểu tiện trong dài. Đêm ngủ không yên cũng như sách Thẩm thị Tôn Sinh nói: “Tâm và đờm đều yếu cho nên dễ kinh sợ, chiêm bao vợ vắn, dễ thức giấc, tâm phiền không ngủ”. Hai là vì đột ngột bị sợ hãi, dần dần làm cho đờm khiếp tâm hư, mà không ngủ hai điểm đó thường làm nhân quả cho nhau [21],[22],[26].

\* Lưỡi mạch: Chất lưỡi nhạt, rêu trắng mỏng, mạch huyền tế.

\* Pháp điều trị: Ích khí trấn kinh, an thần định chí

\* Bài thuốc thường dùng:

An thần định chí hoàn: Long xỉ 8g, Nhân sâm 8g, Phục linh 8g, Phục thần 8g, Thạch xương bồ 8g, Thần sa 8g, Viễn chí 8g.

Hoặc bài Chu sa an thần hoàn: Chu sa 4g, Hoàng liên 6g, Cam thảo 2g, Đương quy 2g, Sinh địa 2g [21],[27].

#### **1.4.3.5. *Thể Can uất hóa hỏa***

\* Triệu chứng: Ngủ khó nhập giấc, mơ nhiều ác mộng, thậm chí khó ngủ suốt đêm. Tính tình nóng nảy dễ cáu gắt tức giận, không muốn ăn uống, miệng khát thích uống, miệng sinh loét, mắt đỏ miệng đắng, tiểu tiện vàng đỏ, đại tiện bí kết, đầy tức ngực sườn, ợ hơi.

\* Chất lưỡi đỏ, rêu lưỡi vàng, mạch huyền sắc.

\* Pháp điều trị: Bình can, tả hỏa, bổ tâm, dưỡng khí, an thần

\* Bài thuốc thường dùng:

Bài Long đờm tả can thang: Long đờm thảo 10g, Hoàng cầm 8g, Chi tử 8g, Trạch tả 8g, Mộc thông 8g, Xa tiền tử 4g, Đương quy 4g, Sài hồ 8g, Cam thảo 2g, Sinh địa 8g [21],[22],[26].

#### **1.4.4. Phòng chống bệnh mất ngủ theo Y học cổ truyền**

- Xoa bóp – bấm huyệt
- Khí công – Dưỡng sinh
- Thầy thuốc cần khuyến khích bệnh nhân tham gia vào các hoạt động xã hội hoặc công việc gia đình hằng ngày, tránh tình trạng bệnh nhân rảnh rỗi quá.
- Sử dụng một số món ăn, bài thuốc có tác dụng an thần giúp phòng bệnh mất ngủ:
  - + Thảo quyết minh sao đen: sắc uống hoặc hãm chè uống hằng ngày
  - + Tâm sen sao vàng, mỗi ngày 15g sắc nước uống thay trà.
  - + Trà hoa nhài: hãm nước uống hằng ngày
  - + Hoa hiên, đường phèn: sắc uống trước khi đi ngủ.
  - + Chè long nhãn [20].

#### **1.5. Một số nghiên cứu về điều trị mất ngủ bằng thuốc y học cổ truyền**

##### **1.5.1. Một số nghiên cứu điều trị mất ngủ bằng thuốc y học cổ truyền trong nước**

Ở Việt Nam, năm 2010 Nguyễn Tuyết Trang đã đánh giá tác dụng bài thuốc Quy tỳ thang trong điều trị chứng hư lao thể tâm tỳ hư và rút ra kết luận: Bài thuốc Quy tỳ thang có tác dụng cải thiện rõ rệt rối loạn giấc ngủ với tỷ lệ 63,33% [29].

Năm 2013 Phạm Ngọc Thùy nghiên cứu “Tác dụng của bài thuốc TTL trên bệnh nhân ở 2 thể tâm tỳ hư và tâm thận bất giao theo Y học cổ truyền”. Tác giả rút ra kết luận: thuốc có tác dụng tốt với thể tâm tỳ hư và tâm thận bất giao của bệnh theo YHCT. Thời lượng giấc ngủ sau dùng thuốc TTL (D30) tăng lên so với trước điều trị (D0), thời lượng giấc ngủ trung bình sau điều trị:  $7,43 \pm 0,62$  giờ; với  $p < 0,01$ . Tỷ lệ bệnh nhân có thời gian đi vào giấc ngủ dưới 15 phút sau điều trị là 53,3 với  $p > 0,05$ . Hiệu quả giấc ngủ tăng lên rõ rệt sau điều trị với  $p > 0,05$ . Tỷ lệ bệnh nhân không còn triệu chứng thức giấc sớm: 70% [30].

Năm 2016 Vũ Thị Châu Loan đã đánh giá tác dụng hỗ trợ của bài thuốc

Thiên vương bổ tâm đan trong điều trị Mất ngủ không thực tổn kết hợp phép thu giãn YHCT theo Nguyễn Văn Hương. Tác giả rút ra kết luận: Phương pháp can thiệp có kết quả điều trị tốt cho người bệnh mất ngủ không thực tổn, tăng thời lượng giấc ngủ trung bình sau điều trị là  $4,5 \pm 1,02$  giờ/đêm với  $p < 0,05$ , tăng hiệu quả giấc ngủ sau điều trị là  $43,04 \pm 5,35$  (%) với  $p < 0,05$  [31].

Năm 2016 Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Thị Bích Thủy nghiên cứu “Đánh giá tác dụng an thần, giải lo của bài thuốc “Chè an thần” trên động vật thực nghiệm” rút ra một số kết luận: Với liều 2 g/kg, Chè an thần có tác dụng an thần, giảm lo lắng và giãn cơ tốt thông qua việc làm tăng số lần và thời gian chuột đi vào tay hở trong mô hình chữ thập nâng cao (EPM), làm giảm số điểm bám trên dây trong mô hình leo dây Grip, làm giảm thời gian bám trên máy quay Rota-Rod và làm giảm thời gian bơi trong mô hình chuột bơi. Các tác dụng trên của Chè an thần 2 g/kg tương đương với tác dụng của diazepam liều 2 mg/kg. Ngoài suy trên người, liều này tương đương với liều 8 g/người nặng 50 kg/ngày (tương đương 2-3 gói Chè an thần/ngày) [32].

Năm 2019, Nguyễn Văn Tâm đã nghiên cứu độc tính, tác dụng an thần trên thực nghiệm và điều trị mất ngủ không thực tổn trên lâm sàng của cao lỏng Dưỡng tâm an thần. Kết luận cho thấy độc tính cấp ở lô chuột nhất trắng uống DTAT liều 17g cao cô đặc/kg (= 38,42g dược liệu khô/kg/ngày). Chuột không chết trong vòng 24 giờ, ít hoạt động, ngủ nhiều, tiêu chảy; chưa xác định được LD<sub>50</sub> của DTAT trên chuột nhất trắng theo đường uống. Độc tính bán trường diễn của DTAT trên chuột cống trắng theo đường uống: Cao lỏng DTAT liều 9,24 g cao cô đặc/kg/ngày (= 20,88g dược liệu khô/kg/ngày) và liều 27,72 g cao cô đặc/kg/ngày (= 62,64g dược liệu khô/kg/ngày) uống trong 8 tuần liên tục không làm ảnh hưởng đến tình trạng chung, cân nặng, các chỉ số đánh giá chức năng tạo máu, chức năng gan, mức độ hủy hoại tế bào gan và chức năng lọc của thận, không ảnh hưởng đến giải phẫu bệnh gan thận. Tác dụng trên thực nghiệm của cao lỏng DTAT cả 2 mức liều lâm sàng (41,76g dược liệu khô/kg/ngày) và gấp 3 liều LS (125,28g dược liệu

khô/kg/ngày) thể hiện tác dụng giải lo âu an thần tại các thời điểm sau uống thuốc 1 giờ và 3 giờ. Kết quả nghiên cứu 110 bệnh nhân mất ngủ không thực tồn dùng cao lỏng “Dưỡng tâm an thần” trong thời gian 30 ngày, so sánh đối chứng với 55 bệnh nhân dùng thuốc sắc đóng túi bài “Thiên vương bổ tâm đan” cho kết quả. Rút ngắn thời gian đi vào giấc ngủ: Tỷ lệ bệnh nhân đi vào giấc ngủ từ <15 phút và 15-<30 phút, lần lượt tăng từ 0% và 4,55% lên 67,27% và 30,00% ( $p < 0,05$ ). Tăng thời gian ngủ được mỗi đêm: Từ  $3,46 \pm 0,95$  giờ/đêm lên  $6,46 \pm 0,97$  giờ/đêm ( $p < 0,05$ ). Hiệu suất giấc ngủ loại  $\geq 85\%$  và  $75\% - < 85\%$  tăng từ 0% và 1,82% trước điều trị lên 65,46% và 28,18%. Cải thiện tốt triệu chứng thức giấc sớm, các rối loạn trong ngày. Cải thiện rõ rệt điểm PSQI trung bình: Giảm từ 14,16 điểm xuống còn 3,84 điểm ( $p < 0,05$ ). Chỉ số và biên độ của sóng alpha và sóng beta sau điều trị có sự cải thiện tốt hơn so với trước điều trị, và so với nhóm chứng, với  $p < 0,05$ . Hiệu quả điều trị của cao lỏng Dưỡng tâm an thần trên thể bệnh Tâm huyết hư của YHCT có xu hướng tốt hơn thể Tâm âm hư nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Chưa thấy tác dụng không mong muốn trên lâm sàng, cận lâm sàng trong thời gian dùng thuốc [33].

### **1.5.2. Một số nghiên cứu điều trị mất ngủ bằng thuốc y học cổ truyền ở nước ngoài**

Năm 2000, Fussel A và cộng sự đã nghiên cứu đánh giá tác dụng của hỗn hợp Ze 91019 của 2 loại chiết xuất là cây cúc la mã và cây hoa bia, trên 30 bệnh nhân mất ngủ không thực tồn, mức độ từ nhẹ đến vừa. Đánh giá tác dụng của thuốc dựa trên tiêu chuẩn thử nghiệm đa ký giấc ngủ. Bệnh nhân được sử dụng 2 viên hỗn hợp chiết xuất mỗi tối. Mỗi viên chứa 250mg chiết xuất cúc la mã và 60mg chiết xuất hoa bia. Thử nghiệm đa ký giấc ngủ được tiến hành lại vào thời điểm sau 2 tuần dùng thuốc. Kết luận thuốc có tác dụng cải thiện, làm giảm thời gian đi vào giấc ngủ, tăng hiệu quả giấc ngủ. Thời gian giấc ngủ giai đoạn 1 giảm xuống và sóng ngủ chậm tăng lên. Bệnh nhân cảm thấy thoải mái vào buổi sáng. Không quan sát thấy bất cứ tác dụng phụ nào [34].



Năm 2001, Wheatly D và cộng sự đã nghiên cứu tác dụng an thần của Kava và cúc la mã trên bệnh nhân mất ngủ không thực tổn điều trị cho 24 bệnh nhân mất ngủ không thực tổn, thời gian điều trị 6 tuần bằng Kava 120mg/ngày. Sau đó bệnh nhân được dừng điều trị 2 tuần, có 5 bệnh nhân bỏ nghiên cứu, 19 bệnh nhân tiếp tục điều trị bằng cúc la mã 600mg/ngày trong vòng 6 tuần tiếp theo. Kết quả nghiên cứu đánh giá mất ngủ dựa trên 3 tiêu chí: Thời gian đi vào giấc ngủ, số giờ ngủ, trạng thái khi thức dậy, cả 3 tiêu chí đều có sự cải thiện tốt lên so với trước điều trị, kết quả có ý nghĩa thống kê ( $p < 0.01$ ) và không có khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm. Tỷ lệ bệnh nhân không có tác dụng phụ là 58% ở mỗi nhóm và tác dụng phụ thường gặp nhất là mông mị khi sử dụng cúc la mã (16%), tiếp theo là chóng mặt khi sử dụng Kava (12%) [35].

Năm 2007, Koetter U và cộng sự đã nghiên cứu hỗn hợp chiết xuất từ cây nữ lang và cây hoa bia trên bệnh nhân mất ngủ không thực tổn. Thực hiện theo phương pháp nghiên cứu tiến cứu, có đối chứng (giả dược và một dịch chiết cây nữ lang), mù đôi. Thời gian điều trị 4 tuần. Thông số đánh giá chính là thời gian đi vào giấc ngủ. Kết luận cho thấy, dịch chiết hỗn hợp của cây nữ lang với cây hoa bia có tác dụng làm giảm thời gian đi vào giấc ngủ, so với trước điều trị và so với nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), trong khi dịch chiết xuất cây nữ lang đơn độc không có hiệu quả hơn so với giả dược. Kết quả này khẳng định hiệu quả của việc đưa thêm thành phần cây hoa bia vào chiết xuất cây nữ lang [36].

Năm 2011, Zick SM và cộng sự đã nghiên cứu về hiệu quả, tính an toàn khi dùng đơn độc loại dịch chiết cúc la mã trên bệnh nhân mất ngủ không thực tổn lại cho kết quả thấp. Nhóm dùng 270mg cúc la mã 2 lần /ngày, kết quả cho thấy hiệu quả khiêm tốn trong cải thiện các triệu chứng về ban ngày [37].

## **1.6. Một số nghiên cứu về độc tính và tác dụng an thần của thuốc trên thực nghiệm**

### **1.6.1. Một số phương pháp nghiên cứu độc tính cấp trên thực nghiệm**

#### ***1.6.1.1. Phương pháp Behrens***

Nguyên tắc: Mô hình được Behrens đề xuất từ năm 1929 với lập luận “Những con vật đã sống ở một mức liều thử nào đó thì sẽ sống với tất cả những mức liều thấp hơn và những con vật đã chết ở một mức liều sẽ chết ở tất cả các mức liều cao hơn” [38].

#### ***1.6.1.2. Phương pháp theo Litchfield - Wilcoxon***

Nguyên tắc: Mô hình được Litchfield- Wilcoxon đề xuất năm 1949 sau khi xem xét, cải tiến và cố gắng khắc phục những hạn chế của một số phương pháp trước đó. Kết quả được ghi đồ thị trên giấy log- probit và được tính theo phương pháp toán đồ có hiệu chỉnh, do vậy cho kết quả chính xác hơn. Trước đây, phương pháp thường được áp dụng trong tính giá trị LD50 cho chất có độc tính cao [38].

### **1.6.2. Một số phương pháp nghiên cứu tác dụng an thần trên thực nghiệm**

#### ***1.6.2.1. Phương pháp đấu cộng nâng cao***

- Phương pháp đấu cộng nâng cao được thực hiện theo phương pháp của G. Olayiwola và cộng sự [39].

- Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích đánh giá tác dụng giải lo âu của thuốc trên chuột nhắt dựa trên tâm lý căng thẳng sợ hãi của chuột khi ở khu vực hở, trên cao. Mô hình gồm có các nhánh mở và nhánh đóng được đặt trên cao. Hành vi lo sợ được đặc trưng bởi thời gian ở nhánh đóng và số lần chuột vào nhánh đóng. Tăng thời gian và số lần ở nhánh mở hay giảm thời gian và số lần ở nhánh đóng thể hiện tác dụng an thần của thuốc.

#### ***1.6.2.2. Phương pháp trục quay Rotarod***

Phương pháp trục quay Rotarod được thực hiện theo phương pháp của Robert M.J. Deacon [40].

- Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích đánh giá tác dụng an thần dựa trên thời gian bám của chuột trên trục quay.

### ***1.6.2.3. Phương pháp đo hoạt động ký***

- Phương pháp hoạt động ký được thực hiện theo phương pháp của Mill J và cộng sự (2002) [41].

- Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích đánh giá tác dụng giải lo âu của thuốc trên chuột nhắt dựa trên hoạt động bình thường của chuột khi ở trong điều kiện tối và ít tiếng ồn.

- Mô hình gồm có một lồng kính hình hộp chữ nhật với kích thước 40 x 40 x 30 cm, bộ cảm biến di chuyển của chuột và thiết bị điện tử có màn hình hiển thị giúp tự động ghi lại số lần các hoạt động của chuột. Khi ở trong môi trường tối và ít tiếng ồn chuột có xu hướng khám phá lồng được biểu hiện bằng các hoạt động di chuyển theo chiều ngang và hoạt động di chuyển lên cao theo chiều dọc. Giảm số lần di chuyển theo chiều ngang và giảm số lần di chuyển theo chiều dọc thể hiện tác dụng an thần của thuốc.

### ***1.6.2.4. Phương pháp đo sức bám***

- Phương pháp đo sức kéo của chuột được thực hiện theo phương pháp của Robert M.J. Deacon.

- Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích đánh giá tác dụng an thần dựa trên sức kéo của chuột [42].

## **1.7. Tổng quan bài thuốc nghiên cứu “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”**

### **1.7.1. Xuất xứ bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”**

Bài thuốc nghiên cứu xuất phát từ “Kỷ cúc địa hoàng hoàn” – một bài thuốc cổ phương, được viết trong chương 8 cuốn sách “Y cấp” hay còn gọi là “Y cấp bảo giám” của tác giả Đông Tây Viên [43]. “Kỷ cúc địa hoàng hoàn” gồm các vị: Thục địa, Hoài sơn, Sơn thù, Trạch tả, Phục linh, Đan bì, có công năng tư thận dưỡng can, ích tinh minh mục. Chủ trị Can thận âm hư, hoa mắt chóng mặt, nhìn

mờ, mắt đau khô sấp, sợ ánh sáng, chảy nước mắt, lưỡi đỏ ít rêu, mạch tế sắc [44]. Để làm tăng tác dụng điều trị mắt ngủ của bài thuốc chúng tôi thêm các vị: Táo nhân, Viễn chí, Liên nhục, Phục thần.

**Thành phần bài thuốc nghiên cứu:**

Thục địa	12g	Kỷ tử	12g
Hoài sơn	12g	Cúc hoa	08g
Sơn thù	08g	Táo nhân sao đen	12g
Đan bì	08g	Viễn chí	06g
Trạch tả	12g	Liên nhục	16g
Phục linh	12g	Phục thần	12g

**Công dụng:** Tư thận, dưỡng can, ích tinh, minh mục, an thần.

**Phân tích bài thuốc:** Trong bài thuốc “Kỉ cúc địa hoàng thang gia vị” có Thục địa tư âm bổ Thận, ích tinh tủy để giáng hỏa an thần là Quân dược. Kỷ tử bổ thận làm tăng tác dụng tư âm bổ thận, giáng hỏa, an thần; Sơn thù ôn bổ Can cùng với Táo nhân tư dưỡng Can làm tăng tác dụng an thần; Sơn dược, Liên nhục kiện Tỳ ích khí, an thần; Phục thần quy vào kinh Tâm có tác dụng định Tâm, an thần. Sáu vị thuốc: Kỷ tử, Sơn thù, Táo nhân, Sơn dược, Liên nhục, Phục Thần là Thần dược giúp Thục địa tăng tác dụng tư âm, ích tinh khí, an thần. Trạch tả thanh tả Thận hỏa, giảm bớt tính nê trệ của Thục địa; Đan bì, Cúc hoa lương huyết thanh nhiệt mà tả hỏa ở Can; Phục linh lợi thủy thẩm thấp giúp Tỳ kiện vận tốt hơn. Bốn vị thuốc: Trạch tả, Đan bì, Cúc hoa, Phục Linh là Tá dược cùng với Quân dược và Thần dược giúp điều hòa công năng của các tạng phủ. Viễn chí quy vào hai kinh Tâm, Thận giúp giao thông Tâm Thận để an thần là Sứ dược.

**Ứng dụng:** Chữa chứng mất ngủ, hay quên (chứng kiện vong thất miên), tâm thần bất giao. Chữa suy nhược thần kinh, mệt mỏi do khí huyết hư, âm hư, ra mồ hôi, tán ú chỉ huyết, tim hồi hộp tức ngực hay quên (tự hãn, khí đoản, tâm hư kinh quý).

## 1.7.2. Mô tả tác dụng của các vị trong thành phần bài thuốc

### 1.7.2.1. Thục địa

- Tên khoa học: *Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*.
- Bộ phận dùng: Rễ củ đã chế biến của cây Địa hoàng [*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch.], họ Hoa mồm chó (Scrophulariaceae).
- Tính vị, quy kinh: Cam, vị ôn. Quy kinh Tâm, Can, Thận.
- Công dụng: tư âm, dưỡng huyết, bổ thận
- Chủ trị: chữa âm hư, huyết suy, chứng nóng âm ỉ, cơ thể yếu mệt, bổ huyết, bệnh tiêu khát, điều kinh, ...
- Thành phần hóa học: Iridoid glycosid, Ionor glycosid, monoterpen glycosid.
- Tác dụng dược lí: tác dụng an thần, lợi tiểu, hạ đường huyết, cầm máu, cải thiện vi tuần hoàn.
- Liều dùng: 9-15 g/24 giờ [5],[6].

### 1.7.2.2. Hoài sơn

- Tên khoa học: *Tuber Dioscoreae persimilis*.
- Bộ phận dùng: Rễ củ đã chế biến, phơi hay sấy khô của cây Củ mài, còn gọi là Hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burkill), họ Củ nâu (Dioscoreaceae).
- Tính vị, quy kinh: vị ngọt, tính bình. Quy kinh Tỳ, Vị, Phế, Thận.
- Công dụng: bổ tỳ, dưỡng vị, sinh tân, ích phế, bổ thận, chỉ khát.
- Chủ trị: chữa tỳ vị hư nhược, ăn uống kém tiêu, viêm ruột kinh niên, tiêu chảy lâu ngày không khỏi, phế hư, di tinh, di niệu, bạch đới.
- Thành phần hóa học: chất tinh bột, chất nhầy, choline, 16 acid amin, các men tiêu hóa, vitamin C, acid phytic.
- Tác dụng dược lí: làm lành bệnh viêm loét, ức chế co thắt ruột do adrenalin gây nên, phục hồi nhu động ruột, tác dụng tăng hiệu lực androgen.

- Liều dùng: 10 – 20g/24 giờ [5],[6].

### 1.7.2.3. Sơn thù

- Tên khoa học: *Fructus Corni officinalis*.
- Bộ phận dùng: quả chín đã phơi hay sấy khô, bỏ hạt của cây Sơn thù du (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.), họ Thù đầu (Cornaceae).
- Tính vị, quy kinh: vị chua, tính bình, quy kinh Can, Thận.
- Công dụng: bổ can, thận, sáp tinh. làm cho tinh khí bền, thông khiếu, cầm không ra mồ hôi.
- Chủ trị: phong hàn, tê thấp, đau đầu, đau lưng, mỏi gối, tai ù, thận suy, tiểu tiện nhiều lần, di tinh, rối loạn kinh nguyệt, mồ hôi trộm.
- Thành phần hóa học: Moromisid. 7 – O. – methylmoronisid, Swerosid, loganin. Ngoài ra, còn có acid ursolic, acid galic, acid amin, vitamin A. Saponin 13%.
- Tác dụng dược lí: tác dụng kháng khuẩn đối với các trực khuẩn thương hàn và lỵ, chống loạn nhịp tim, sáng mắt.
- Liều dùng: ngày 6-12 g/24 giờ [6],[45].

### 1.7.2.4. Đan bì

- Tên khoa học: *Cortex Radicis Paeoniae suffruticosae*.
- Bộ phận dùng: Vỏ rễ phơi khô của cây Mẫu đơn (*Paeonia suffruticosa* Andr.), họ Mẫu đơn (Paeoniaceae).
- Tính vị, quy kinh: vị cay đắng, mùi thơm, tính bình, quy kinh Tâm, Can, Thận.
- Công dụng: thanh huyết nhiệt, hạ sốt, mát máu, hoạt huyết, làm tan máu ứ, giảm đau, an thần.
- Chủ trị: làm thuốc trấn kinh, giảm đau, chữa sốt kéo dài, sốt về chiều và đêm, không có mồ hôi, đờn sung, huyết ứ phát sốt, nhức đầu, đau lưng, đau khớp, đau kinh, kinh nguyệt không đều, bệnh phụ khoa sau đẻ.

- Thành phần hóa học: Paeoniflorin, Oxypaeonilolin, Benzoylpaeonilolin, Paeonol, Paeonolide, Paeonoside, Apiopaeonoside, Benzoyloxypaeonilolin, 2, 5-Dihydroxy-4-Methoxyacetophenone,...
- Tác dụng dược lí: chống co thắt, chống viêm, an thần, giảm đau, bảo vệ gan, tác dụng điều trị trầm cảm, chống huyết khối.
- Liều dùng: 6-12g/24 giờ [6],[45].

#### **1.7.2.5. Trạch tả**

- Tên khoa học: *Rhizoma Alismatis*.
- Bộ phận dùng: thân rễ khô đã cạo sạch vỏ ngoài của cây Trạch tả [*Alisma orientalis* (Sam.) Juzep.] họ Trạch tả (Alismataceae).
- Tính vị, quy kinh: vị ngọt, tính hàn, quy kinh Thận, Bàng quang.
- Công dụng: lợi thủy, thâm thấu, thanh nhiệt
- Chủ trị: chữa bệnh thủy thũng, viêm thận bể thận, tiểu tiện khó, đái ra máu, nhức đầu, hoa mắt, chóng mặt.
- Thành phần hóa học: Alisol A, alisol B, alisol A monacetate, alisol B monacetate, epialisol A asparagine, choline, tinh dầu, alcaloit, vitamin B12, tinh bột, Kali có hàm lượng 147,5mg%.
- Tác dụng dược lí: lợi tiểu, tăng cường khả năng thải Natri, Chlor, Kali và Urê, hạ lipid máu, chống xơ vữa động mạch, chống viêm, hạ huyết áp.
- Liều dùng: 10 – 20 g/24 giờ [6],[45].

#### **1.7.2.6. Phục linh**

- Tên khoa học: *Poria*.
- Bộ phận dùng: Thở quả nấm đã phơi hay sấy khô của nấm Phục linh [*Poria cocos* (Schw) Wolf], họ Nấm lỗ (Polyporaceae), mọc kí sinh trên rễ một số loài Thông.
- Tính vị, quy kinh: vị ngọt, tính bình, quy kinh Tâm, Tỳ, Phế, Thận.
- Công dụng: lợi thủy, thâm thấu, kiên tỳ, định tâm, an thần.

- Chủ trị: làm thuốc bổ chữa suy nhược, chóng mặt, di mộng tinh, lợi tiểu chữa phù thũng, bụng đầy chướng, tiêu chảy, tỳ hư, ăn kém, an thần, chấn tĩnh, chữa mất ngủ.
- Thành phần hóa học: pachymoza, glucoza, fructoza và chất khoáng, Pachyman, axit pachimic C, axit tumolosic, ergosterol, cholin, histidin và rất ít men proteaza.
- Tác dụng dược lí: tác dụng lợi tiểu, chống nôn, kháng khuẩn, chữa đau bụng kinh, đa kinh, vô sinh, chữa phù, tiêu chảy kéo dài, làm tăng thị lực, hỗ trợ điều trị ung thư vòm họng.
- Liều dùng: 4 – 20 g/24 giờ [6],[45].

#### **1.7.2.7. Kỷ tử**

- Tên khoa học: *Fructus Lycii*.
- Bộ phận dùng: là quả chín phơi khô của cây Rau khởi, Câu kỷ (*Lycium barbarum* L.), họ Cà (Solanaceae).
- Tính vị, quy kinh: vị ngọt, tính bình, quy kinh Phế, Can, Thận.
- Công dụng: dưỡng can, minh mục, bổ thận, ích tinh, nhuận phế
- Chủ trị: là vị thuốc bổ toàn thân dùng cho cơ thể suy nhược, can thận âm quy, tinh huyết bất túc, thần kinh suy nhược, lưng gối mỏi đau, hoa mắt, thị lực giảm, di tinh, đái đường.
- Thành phần hóa học: betain, 8 - 10% acid amin trong đó chừng một nửa ở dạng tự do, acid ascorbic (vitamin C), caroten, thiamin, riboflavin, acid nicotinic, tinh dầu và các nguyên tố vi lượng như phospho, canxi, sắt, methylinoncat, dehydro –  $\alpha$  – cypenon.
- Tác dụng dược lí: tăng cường miễn dịch, hạ cholesterol máu, hạ đường huyết, bảo vệ gan, làm chậm sự suy lão, có tác dụng ức chế một số tế bào ung thư ở người.
- Liều dùng: 6-12 g/24 giờ [5],[6].



#### 1.7.2.8. Cúc hoa

- Tên khoa học: *Flos chrysanthemi indicii*.
- Bộ phận dùng: Cụm hoa (quen gọi là hoa) đã chế biến và phơi hay sấy khô của cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.), họ Cúc (Asteraceae).
- Thành phần hóa học: tinh dầu, vitamin A, cholin, stachydrin, Apigenin, Quercetin 3-O-galactoside, Isorhamnetin-3-O-galactoside, Lyteolin, Thymol, Tricosane, Acacetin-7-O-Rhamnoglucoside, Lutein-7-Rhamnoglucoside, Camphor,...
- Tác dụng dược lí: kháng khuẩn, ức chế vi nấm gây bệnh ngoài da, hạ huyết áp.
- Tính vị: vị ngọt, đắng, tính hơi hàn
- Công dụng: tán phong thấp, giáng hỏa, giải độc, làm sáng mắt, đỡ nhức đầu.
- Chủ trị: nhức đầu, hoa mắt, chảy nước mắt, sốt, đình nhọt
- Liều dùng: 9 – 15 g/24 giờ [5],[6].

#### 1.7.2.9. Táo nhân sao đen

- Tên khoa học: *Semen Ziziphi jujube mauritiana*.
- Bộ phận dùng: Nhân hạt già đã phơi sấy khô của cây táo ta (*Ziziphus mauritiana* Lamk.), họ Táo ta (Rhamnaceae). [6],[21],[45].
- Tính vị: vị ngọt, tính bình.
- Quy kinh: tâm, can, đờm và tỳ.
- Công dụng: bổ can đờm, định tâm an thần.
- Chủ trị: tâm phiền không ngủ được, hồi hộp hay quên, tân dịch ít, miệng khô, người yếu, ra mồ hôi [46].
- Thành phần hoá học: có 2 loại phytosterol, acid betulonic, vitamin C. Gần đây còn phát hiện ra trong nhân hạt táo có 2,52% saponin như jujuboside A và B và các alkaloid, các flavonoid bao gồm swertisin và 30 spinosin và các loại dầu béo như acid oleic và acid linoleic. Các nghiên cứu cũng cho

thấy jujubosides có hoạt tính gây ngủ, tác dụng này có thể thông qua điều chỉnh nhịp sinh học cũng như điều chỉnh hệ serotonergic. Trong khi đó, nghiên cứu cũng cho thấy tiêm phúc mạc liều cao của jujuboside A đã gây ra một số hoạt động an thần, nhưng hoạt tính đó không xuất hiện ở liều thấp.

- Tác dụng dược lý: có tác dụng trấn tĩnh, an thần. Dịch chiết cồn của toan táo nhân có tác dụng an thần. Với liều 1g/kg, toan táo nhân có tác dụng kéo dài thời gian ngủ do hexobarbital trên chuột nhắt trắng và giảm vận động trên chuột cống [47]. Năm 1956, Hồ Mộng Gia đã báo cáo ở Đại hội đại biểu hội sinh lí học Trung Quốc về tác dụng trấn tĩnh của toan táo nhân. Ông dùng dung dịch nước nhân hạt táo thục vào dạ dày và ruột hoặc tiêm vào màng bụng chuột nhắt đã được kích thích bằng cách tiêm dung dịch cafein – benzoat natri thì thấy liều 5g/kg thể trọng có tác dụng trấn tĩnh. Tác dụng này giống như tác dụng của thuốc ngủ bacbituric [6].
- Liều dùng: 6-15g/24 giờ [6],[45],[48].

#### **1.7.2.10. Viễn chí**

- Tên khoa học: *Radix Polygala*.
- Bộ phận dùng: rễ phơi hay sấy khô của cây Viễn chí lá nhỏ (*Polygala tenuifolia* Willd.) và cây Viễn chí Xiberi tức Viễn chí lá trứng (*Polygala Sibirica* L.), họ Viễn chí (Polygalaceae).
- Tính vị: vị hắc, đắng, the, tính hơi ấm.
- Quy kinh: vào kinh tâm, thận, phế.
- Công dụng: an thần, ích trí, trừ đờm, chỉ khái, ích tinh, hoạt huyết, tán ú, tiêu thũng, giải độc.
- Chủ trị: mất ngủ, hay mê, hay quên, hồi hộp, đánh trống ngực, tinh thần hoảng hốt. Viễn chí được dùng chữa ho, nhiều đờm, viêm phế quản, hay quên, giảm trí nhớ, liệt dương, yếu sức, mộng tinh, bổ cho nam giới và

người già, thuốc làm sáng mắt, thính tai do tác dụng trên thân. Còn chữa đau tức ngực, lao, ngủ kém, suy nhược thần kinh, ác mộng.

- Thành phần hóa học: saponin, triterpene, nhựa, dầu béo, polygalitol,...
- Tác dụng dược lí:
- + Tác dụng trên thời gian ngủ: viên chí có tác dụng hiệp đồng làm kéo dài thời gian ngủ của Barbiturat ở chuột nhắt trắng.
- + Tác dụng trên thần kinh trung ương: viên chí có tác dụng ức chế mức độ hệ thần kinh trung ương, nhưng không thấy tác dụng đối kháng với liều gây có giật do cafein gây nên ở chuột nhắt trắng.
- + Tác dụng giảm ho, long đàm, giảm đau, kháng khuẩn, kích thích co bóp cơ tử cung.
- Liều dùng: 6 – 12 g/24 giờ [6],[45].

#### **1.7.2.11. Liên nhục**

- Tên khoa học: *Semen Nelumbinis nuciferae*.
- Bộ phận dùng: hạt còn màng mỏng của quả già đã phơi hay sấy khô của cây Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), họ Sen (Nelumbonaceae).
- Tính vị: vị ngọt, tính bình
- Quy kinh: tâm, tỳ và thận
- Công dụng: dưỡng tâm bổ tỳ, ích thận, sáp trường, cố tinh, dưỡng tâm, an thần
- Chủ trị: trị chứng tim đập hốt hoảng mất ngủ, tâm tỳ hư, khí hư, di mộng tinh, khí hư, hồi hộp mất ngủ, cơ thể suy nhược, ăn kém ngủ ít.
- Thành phần hóa học: hạt Sen chứa tinh bột (là thành phần chính). Protein 14,8% gồm các acid amin, threonin 2,42%; methionin 0,82%; leucin 3,23%; isoleucin 1,11%; phenylalanin 12,64%. Ngoài ra còn có 2,11% dầu béo gồm các acid béo.
- Tác dụng dược lí: an thần, hạ huyết áp, ổn định nhịp tim.

- Liều dùng: 12 - 20 g/24 giờ [6],[45].

#### **1.7.2.12. Phục thân**

- Tên khoa học: *Poria*.
- Bộ phận dùng: Là phần nấm Phục linh ôm đoạn rễ thông bên trong.
- Tính vị: vị ngọt, tính bình
- Quy kinh: vào kinh tâm, phế, thận, tỳ, vị.
- Công dụng: trấn tĩnh an thần, thuốc lợi tiểu và cường tráng, nhuận táo bổ tỳ, ích khí sinh tân chỉ khát.
- Chủ trị: an thần, chữa sợ hãi, hồi hộp, mất ngủ, sàu uất, đần độn, mất trí, tinh thần bạc nhược.
- Thành phần hóa học: Triterpen toàn phần TTP từ dịch chiết cồn Phục thân có tác dụng chống động kinh. TTP liều từ 5 đến 160 mg/kg giúp chống lại các cơn co giật do sốc điện và pentylenetetrazol. TTP (20 – 160 mg/kg) làm giảm đáng kể vận động của chuột nhắt, giảm thời gian khởi phát giấc ngủ do pentobarbital trong phục thân. Các acid có thành phần hợp chất tritecpin, Pachiman, ngoài ra còn có ergosterol, cholin.
- Tác dụng dược lí: lợi thủy thẩm thấp, an thần
- Liều dùng: 12g/24 giờ [6],[45].

## CHƯƠNG 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Chất liệu nghiên cứu

- Bài thuốc nghiên cứu: Kì cúc địa hoàng thang gia vị.
- Nguồn gốc: Sách “Y cấp”, tác giả Đông Tây Viên.
- Thành phần bài thuốc:

STT	Tên nguyên liệu	Tên khoa học	Số lượng (gram)
1	Thục địa	<i>Radix Rehmanniae glutinosae praeparata</i>	12g
2	Hoài sơn	<i>Tuber Dioscoreae persimilis</i>	12g
3	Sơn thù	<i>Fructus Corni officinalis</i>	08g
4	Đan bì	<i>Cortex Radicis Paeoniae suffruticosae</i>	08g
5	Trạch tả	<i>Rhizoma Alismatis</i>	12g
6	Phục linh	<i>Poria</i>	12g
7	Kỷ tử	<i>Fructus Lycii</i>	12g
8	Cúc hoa	<i>Flos chrysanthemi indicis</i>	08g
9	Táo nhân sao đen	<i>Semen Ziziphi jujube mauritanae</i>	12g
10	Viễn chí	<i>Radix Polygala</i>	06g
11	Liên nhục	<i>Semen Nelumbinis nuciferae</i>	16g
12	Phục thần	<i>Poria</i>	12g

- Các nguyên liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng nguyên liệu khô và đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V hoặc tiêu chuẩn cơ sở.
- Nguồn cung cấp dược liệu: Khoa Dược Bệnh viện Tuệ Tĩnh.
- Dạng bào chế: Các vị thuốc được bào chế dưới dạng thuốc sắc theo phương pháp y học cổ truyền bằng máy sắc thuốc bán tự động, 1 thang đóng thành 2 túi, mỗi túi 150ml theo đúng quy chuẩn tại khoa Dược - Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.

- Liều dùng dự kiến trên lâm sàng: 01 thang/ngày.
- *Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu:*
- Lấy 600 ml cô cách thủy thu được 50 ml vừa đủ. Như vậy 1 thang tương ứng 25 ml dung dịch đậm đặc. Đây là dung dịch đậm đặc có thể cho chuột nhắt trắng uống bằng kim chuyên dụng. Dung dịch đậm đặc này dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị.

## 2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss* cả 2 giống, khỏe mạnh, 6 tuần tuổi, cân nặng từ 18-22 gam/con do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

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

## 2.3. Máy móc và hóa chất phục vụ nghiên cứu

- Thuốc chứng dương dùng trong nghiên cứu: Diazepam 5mg dạng viên nén, biệt dược Seduxen<sup>®</sup> của Công ty Gedeon Richter.
- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Kim đầu tù cho chuột uống.
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1 ml.
- Trục quay Rotarod của Hãng Ugo-Basile (Italy);
- Máy đo sức kéo 7106 của Hãng Ugo-Basile (Italy);
- Máy đo hoạt động ký Activity cage của Hãng Ugo-Basile (Italy);
- Mô hình Dấu cộng nâng cao;
- Bông, cồn 70% để vệ sinh máy móc sau mỗi lần đo;
- Đồng hồ bấm giây.

## 2.4. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.
- Thời gian: Từ tháng 04/2022 đến tháng 10/2022.

## 2.5. Phương pháp nghiên cứu

### 2.5.1. Thiết kế nghiên cứu

*Nghiên cứu thực nghiệm, so sánh trước và sau thực nghiệm, có nhóm đối chứng*

Theo kinh nghiệm sử dụng trên một số người bệnh, liều 1 thang (130g dược liệu)/ngày cho thấy có hiệu quả điều trị tốt ở người bệnh có rối loạn giấc ngủ. Như vậy, liều dùng trung bình trên người là 2,6 g dược liệu/kg thể trọng/ngày, tính trung bình người nặng 50kg. Ngoại suy từ liều dùng trên người sang động vật thực nghiệm, liều dùng trên chuột nhất gấp 12 lần liều dùng trên người, tức là 31,2 g dược liệu/kg thể trọng chuột/ngày.

### 2.5.2. Nghiên cứu độc tính cấp

Theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon:

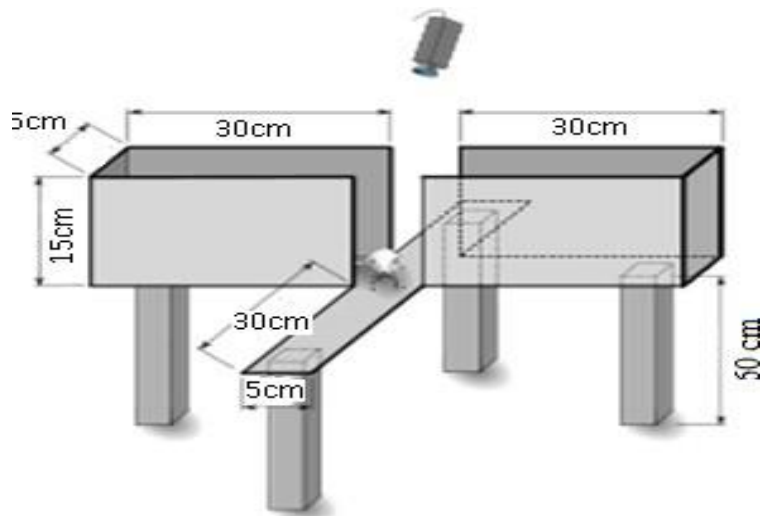
Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD50 của thuốc thử “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên chuột nhắt trắng theo đường uống [38],[49],[50].

Chuột nhắt trắng trọng lượng  $20 \pm 2$ g được chia thành từng lô, mỗi lô 10 con. Cho từng lô chuột uống thuốc thử “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” với liều từ liều cao nhất không gây chết tới liều thấp nhất gây chết 100% chuột. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD50 của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 14 sau khi uống bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”.

### 2.5.3. Nghiên cứu tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm

#### 2.5.3.1. Phương pháp dấu cộng nâng cao

- Mô hình dấu cộng nâng cao được thực hiện theo phương pháp của G. Olayiwola và cộng sự [39].
- Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích đánh giá tác dụng giải lo âu của thuốc trên chuột nhắt dựa trên tâm lý căng thẳng sợ hãi của chuột khi ở khu vực hở, trên cao. Mô hình gồm có các nhánh mở và nhánh đóng được đặt trên cao. Hành vi lo sợ được đặc trưng bởi thời gian ở nhánh đóng và số lần chuột vào nhánh đóng. Tăng thời gian và số lần ở nhánh mở hay giảm thời gian và số lần ở nhánh đóng thể hiện tác dụng an thần của thuốc.
- Cấu tạo mô hình: Mô hình chữ thập nâng cao (elevated plus maze), mô hình được nâng cao 60 cm so với mặt đất. Ngoài rìa của nhánh mở có một gờ nhô cao 0,4cm để chuột không bị rơi khỏi mô hình. Cường độ chiếu sáng trong thời gian làm thực nghiệm được duy trì bằng bóng đèn 60W.



Hình 2.1: Mô hình dấu cộng nâng cao.



**Tiến hành nghiên cứu:** Chuột nhất trắng chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con

Lô 1 (n=10) (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày

Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày

Lô 3 (n=10): uống Kỳ cục địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày (*liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12*)

Lô 4 (n=10): uống Kỳ cục địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày (*liều gấp 2 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng*)

- Chuột được uống nước cất/chứng dương/thuốc thử trong 7 ngày liên tục.
- Trước thử nghiệm chính thức chuột sẽ được khám phá và làm quen với chiều cao của mô hình vào ngày 6 trong 5 phút. Thử nghiệm chính thức được tiến hành vào ngày 7.
- Đưa chuột vào phòng nghiên cứu 60 phút trước khi tiến hành thử nghiệm
- Sau khi uống thuốc 1 giờ, chuột được đặt nhẹ nhàng vào vùng trung tâm của mô hình hướng đầu vào nhánh mở, theo dõi trong 5 phút.
- Chuột được tính vào các nhánh khi cả 4 chân chuột đặt vào nhánh đó.
- Sau mỗi thử nghiệm, mô hình được lau bằng cồn ethanol 70%.
- Các thử nghiệm đều được ghi hình bằng 1 camera.

**Chỉ số đánh giá:**

- Số lần chuột vào nhánh mở, số lần chuột vào nhánh đóng, thời gian chuột ở nhánh mở, thời gian chuột ở nhánh đóng.
- Tỷ lệ né tránh nhánh mở = (% số lần chuột ở nhánh đóng + % thời gian chuột ở nhánh đóng) x100%/2.

**2.5.3.2. Phương pháp trực quay Rotarod**

- Nghiên cứu đánh giá tác dụng an thần được tiến hành trên trực quay Rotarod, dựa trên phương pháp của Robert M.J. Deacon [40].



Hình 2.2: Trục quay Rotarod

### Tiến hành nghiên cứu:

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

Lô 1 (n=10) (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày

Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày

Lô 3 (n=10): uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày (*liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12*)

Lô 4 (n=10): uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày (*liều gấp 2 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng*)

- Chuột được uống nước cất/chứng dương/thuốc thử trong 7 ngày liên tục.
- Theo dõi các chỉ tiêu nghiên cứu ở 3 thời điểm: trước uống thuốc thử, sau 1 giờ và sau 3 giờ uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7.
- Tại mỗi thời điểm xác định thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod. Thời gian bám của chuột được tính từ khi đặt chuột lên trục quay cho tới khi chuột rơi khỏi trục quay .
- Chuột được luyện tập 2 ngày trước khi tiến hành xác định thời gian bám của chuột tại 2 thời điểm nghiên cứu.

**Chỉ số đánh giá:**

- Thời gian bám của chuột trên trục quay tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu, ngày thứ 7 sau uống thuốc 1 giờ và 3 giờ.

**2.5.3.3. Phương pháp đo hoạt động ký**

- Mô hình hoạt động ký được thực hiện theo phương pháp của Mill J và cộng sự (2002), [41].
- Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích đánh giá tác dụng giải lo âu của thuốc trên chuột nhắt dựa trên hoạt động bình thường của chuột khi ở trong điều kiện tối và ít tiếng ồn.
- Mô hình gồm có một lồng kính hình hộp chữ nhật với kích thước 40 x 40 x 30 cm, bộ cảm biến di chuyển của chuột và thiết bị điện tử có màn hình hiển thị giúp tự động ghi lại số lần các hoạt động của chuột. Khi ở trong môi trường tối và ít tiếng ồn chuột có xu hướng khám phá lồng được biểu hiện bằng các hoạt động di chuyển theo chiều ngang và hoạt động di chuyển lên cao theo chiều dọc. Giảm số lần di chuyển theo chiều ngang và giảm số lần di chuyển theo chiều dọc thể hiện tác dụng an thần của thuốc.



Hình 2.3: Mô hình máy đo hoạt động ký.

**Tiến hành nghiên cứu:**

Chuột nhất trắng chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con

- Lô 1 (n=10) (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày
- Lô 3 (n=10): uống Kỳ cục địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày (*liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12*)
- Lô 4 (n=10): uống Kỳ cục địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày (*liều gấp 2 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng*)
  - Chuột được uống nước cất/chứng dương/thuốc thử trong 7 ngày liên tục.
  - Số liệu được lấy vào các thời điểm trước khi uống thuốc, ngày thứ 7 sau khi uống thuốc 1 giờ và sau uống thuốc 3 giờ.
  - Đưa chuột vào phòng nghiên cứu 30 phút trước khi tiến hành thử nghiệm.
  - Sau khi uống thuốc 1 giờ và 3 giờ, chuột được đặt nhẹ nhàng vào trong lồng hoạt động ký theo dõi trong 2 phút.
  - Khi chuột di chuyển thì sẽ được thiết bị điện tử ghi lại và sau khi hết 2 phút ta ghi lại số liệu ra giấy.
  - Sau mỗi thử nghiệm, lồng hoạt động ký được lau chùi sạch với cồn 70%.
  - Để đảm bảo thời gian tác dụng của thuốc, chia các lô chuột thành 2 lô nhỏ, cho uống thuốc cách nhau 1 giờ.

**Chỉ số đánh giá:**

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

#### 2.5.3.4. Phương pháp đo sức bám

- Mô hình đo sức kéo của chuột được thực hiện theo phương pháp của Robert M.J. Deacon [42].



Hình 2.4: Máy đo sức kéo

**Tiến hành nghiên cứu:** Chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con

- Lô 1 (n=10) (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày
- Lô 3 (n=10): uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày (*liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12*)
- Lô 4 (n=10): uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày (*liều gấp 2 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng*)
- Chuột được uống nước cất/chứng dương/thuốc thử trong 7 ngày liên tục.
- Số liệu được lấy vào các thời điểm ngày thứ 7 sau khi uống thuốc 1 giờ và sau uống thuốc 3 giờ.
- Đưa chuột vào phòng nghiên cứu 30 phút trước khi tiến hành thử nghiệm.
- Sau khi uống thuốc 1 giờ và 3 giờ, chuột được đo sức kéo trên máy.

**Chỉ số đánh giá:** Sức kéo (gam) của chuột thời điểm 1 giờ và 3 giờ sau khi chuột được uống nước và thuốc tương ứng.

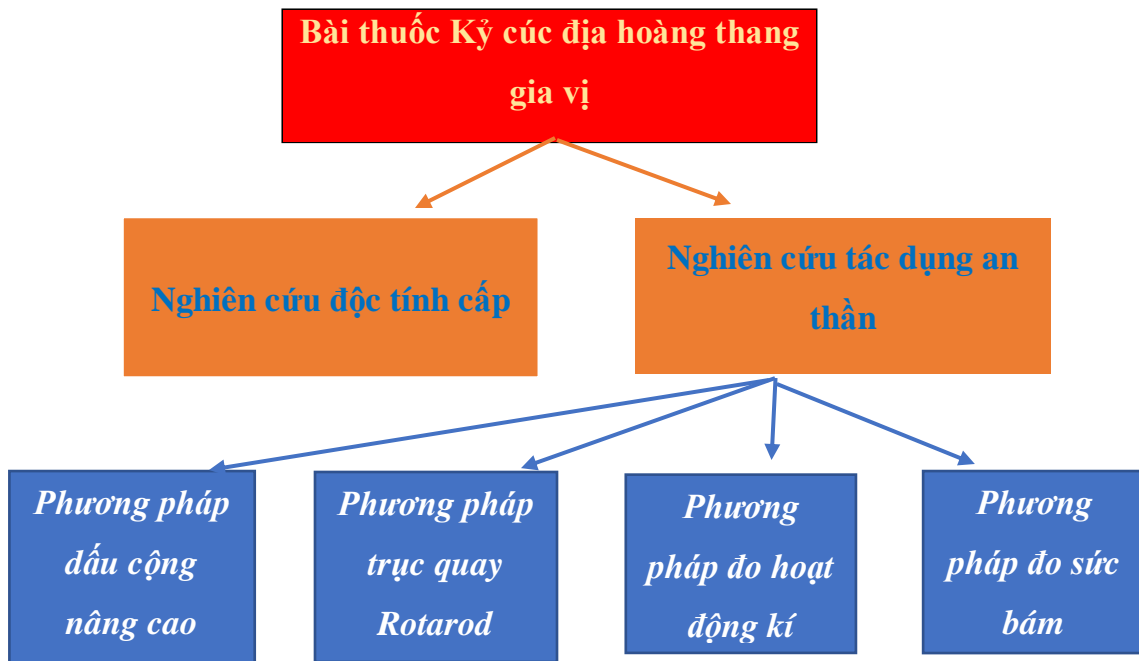
## **2.6. Xử lý số liệu**

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

Phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng SigmaPlot 12.0 (SYSTAT Software Inc, Richmond, CA, USA).

Kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  SD. Sự khác biệt giữa các nhóm được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (ONE WAY ANOVA) sau đó sử dụng test hậu kiểm Student-Newman-Keuls để so sánh từng cặp.

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

**Sơ đồ 1: SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU TRÊN THỰC NGHIỆM**

### CHƯƠNG 3

#### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị

Chuột nhắt trắng được uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc, theo dõi thấy các liều Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.1

**Bảng 3.1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị**

Lô chuột	N	Liều (ml dung dịch đậm đặc/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	25	0	Không
Lô 2	10	50	0	Không
Lô 3	10	75	0	Không

Kết quả bảng 3.1 cho thấy: các lô chuột uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều từ 25ml/kg đến liều tối đa 75ml/kg ( từ 130g/kg thể trọng chuột đến 390g/kg thể trọng chuột) không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 3.1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị là: 75ml dung dịch đậm đặc/kg, tương ứng 3 thang/kg, (hay 390g/kg thể trọng chuột)



### 3.2. Kết quả tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm

#### 3.2.1. Phương pháp dầu cộng nâng cao

**Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị đến số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng**

Lô chuột	n	Số lần chuột vào nhánh đóng	Thời gian chuột vào nhánh đóng (giây)
Lô 1: Chứng sinh học	10	5,30 ± 1,16	217,40 ± 22,13
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	3,30 ± 1,06	184,20 ± 22,23
p so với lô 1		< 0,01	< 0,05
Lô 3: Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày	10	4,30 ± 1,42	201,80 ± 23,80
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05
Lô 4: Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày	10	3,70 ± 0,95	190,40 ± 26,51
p so với lô 1		< 0,05	< 0,05
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05

Kết quả bảng 3.2 cho thấy:

- Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cức địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày, số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng giảm hơn so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).
- Kỹ cức địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng hơn so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

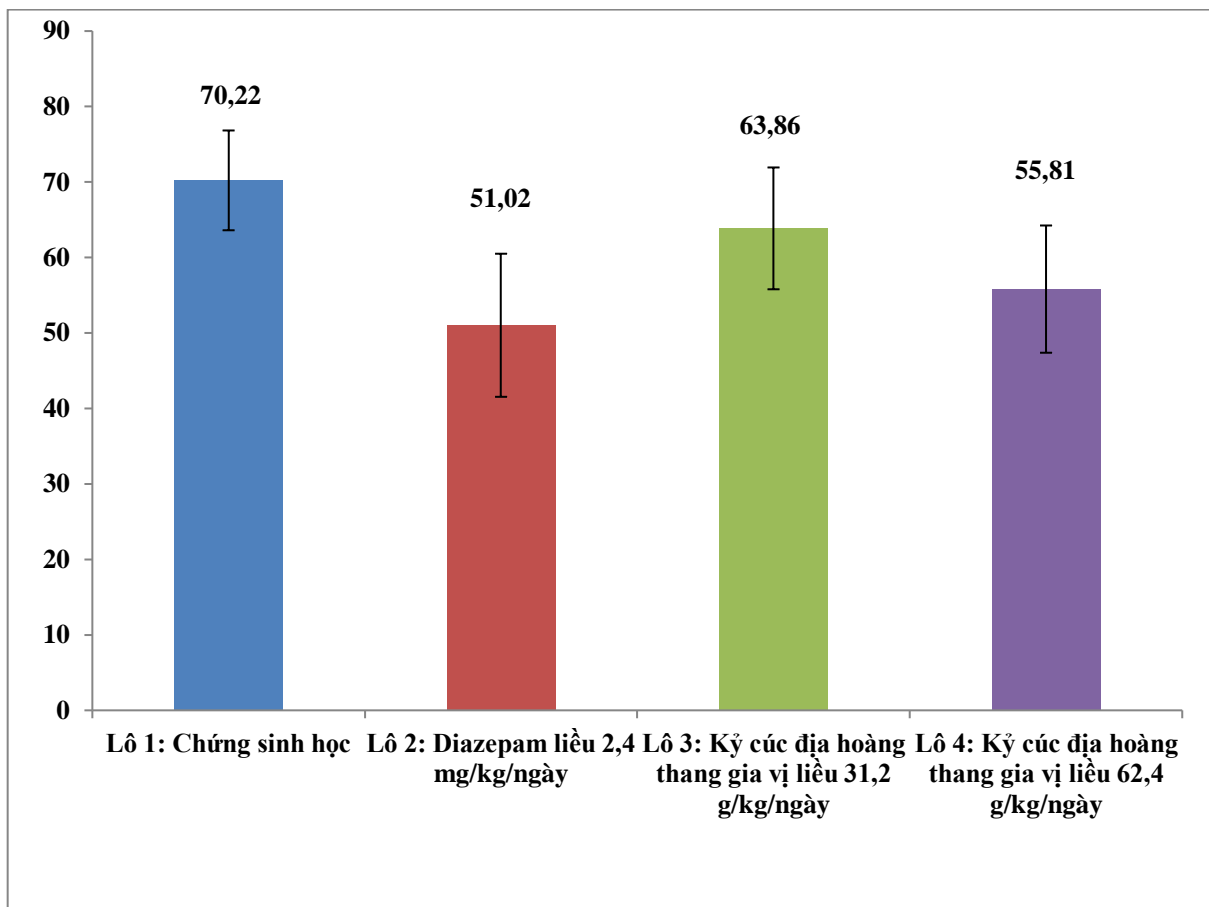
**Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Kỹ cức địa hoàng thang gia vị đến số lần và thời gian chuột vào nhánh mở**

Lô chuột	n	Số lần chuột vào nhánh mở	Thời gian chuột vào nhánh mở (giây)
Lô 1: Chứng sinh học	10	2,80 ± 0,79	72,20 ± 22,88
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	5,10 ± 1,20	109,70 ± 27,62
p so với lô 1		< 0,001	< 0,05
Lô 3: Kỹ cức địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày	10	2,90 ± 0,99	92,60 ± 24,71
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05
p so với lô 2		< 0,001	> 0,05
Lô 4: Kỹ cức địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày	10	4,20 ± 1,23	104,80 ± 25,90
p so với lô 1		< 0,05	< 0,05
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05

Kết quả bảng 3.3 cho thấy:

- Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cức địa hoàng thang gia vị và liều 62,4 g/kg/ngày, số lần và thời gian chuột vào nhánh mở tăng hơn so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

- Kỹ cức địa hoàng thang gia vị và liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm tăng số lần và thời gian chuột vào nhánh mở so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).



**Biểu đồ 3.1: Ảnh hưởng của Kỹ cức địa hoàng thang gia vị đến tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột**

Dựa vào biểu đồ 3.1: Tỷ lệ né tránh nhánh mở chuột ở cả 3 lô vào nhánh mở và thời gian chuột vào nhánh mở xu hướng giảm hơn lô chứng sinh học.

### 3.2.2. Phương pháp trực quay Rotarod

**Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến thời gian bám của chuột**

Lô chuột	n	Thời gian bám (giây)		
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
			Sau 1 giờ	Sau 3 giờ
Lô 1: Chứng sinh học	10	154,10 ± 37,32	157,80 ± 30,70	171,60 ± 34,66
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	149,50 ± 19,68	123,30 ± 20,12	118,60 ± 21,09
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	< 0,01
Lô 3: Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày	10	152,90 ± 33,55	141,90 ± 22,62	129,50 ± 32,70
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 4: Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày	10	146,10 ± 33,84	129,70 ± 26,50	120,60 ± 27,46
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả bảng 3.4 cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về thời gian bám của chuột trên trực quay Rotarod giữa các lô tại thời điểm trước khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 1 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 3 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày và liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ).

### 3.2.3. Phương pháp mô hình đo hoạt động ký

**Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến hoạt động di chuyển theo chiều ngang của chuột**

Lô chuột	n	Số lần di chuyển theo chiều ngang		
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
			Sau 1 giờ	Sau 3 giờ
<b>Lô 1: Chứng sinh học</b>	10	<b>210,00 ± 43,13</b>	<b>227,40 ± 41,13</b>	<b>233,70 ± 57,01</b>
<b>Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày</b>	10	<b>199,60 ± 39,32</b>	<b>164,80 ± 36,06</b>	<b>134,80 ± 34,91</b>
<b>p so với lô 1</b>		<b>&gt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Lô 3: Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày</b>	10	<b>222,30 ± 39,24</b>	<b>207,50 ± 39,86</b>	<b>150,30 ± 37,80</b>

<b>p so với lô 1</b>		<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>p so với lô 2</b>		<b>&gt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>
<b>Lô 4: Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày</b>	10	<b>202,20 ± 59,32</b>	<b>180,20 ± 50,77</b>	<b>119,30 ± 30,11</b>
<b>p so với lô 1</b>		<b>&gt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>p so với lô 2</b>		<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>

Kết quả bảng 3.5 cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lần di chuyển theo chiều ngang giữa các lô tại thời điểm trước khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 1 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm số lần di chuyển theo chiều ngang của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm số lần di chuyển theo chiều ngang của chuột so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 3 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày và liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm số lần di chuyển theo chiều ngang của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ).

**Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị đến hoạt động di chuyển theo chiều dọc của chuột**

Lô chuột	n	Số lần di chuyển theo chiều dọc		
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
			Sau 1 giờ	Sau 3 giờ
Lô 1: Chứng sinh học	10	26,90 ± 5,78	29,30 ± 7,23	32,50 ± 6,01
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	24,80 ± 7,22	17,00 ± 4,83	12,20 ± 2,39
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	< 0,001
Lô 3: Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày	10	26,00 ± 5,06	23,60 ± 8,71	15,90 ± 4,63
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05	< 0,001
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	< 0,05
Lô 4: Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày	10	24,50 ± 7,20	18,30 ± 4,83	14,20 ± 3,88
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	< 0,001
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả bảng 3.6 cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lần di chuyển theo chiều dọc giữa các lô tại thời điểm trước khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 1 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm số lần di chuyển theo chiều dọc của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm số lần di chuyển theo chiều dọc của chuột so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 3 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày và liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm số lần di chuyển theo chiều dọc của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ).

### 3.2.4. Phương pháp đo sức bám

**Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Kỹ cục địa hoàng thang gia vị đến sức kéo của chuột**

Lô chuột	n	Sức kéo (gam)		
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
			Sau 1 giờ	Sau 3 giờ
Lô 1: Chứng sinh học	10	784,80 ± 66,20	798,90 ± 22,23	776,50 ± 49,92
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	787,00 ± 38,21	734,30 ± 57,74	687,80 ± 56,02
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	< 0,01
Lô 3: Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày	10	771,50 ± 52,30	761,00 ± 59,36	714,90 ± 46,55
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05	< 0,05



<b>p so với lô 2</b>		<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>
<b>Lô 4: Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày</b>	10	<b>784,50 ± 45,83</b>	<b>741,00 ± 47,37</b>	<b>707,30 ± 57,56</b>
<b>p so với lô 1</b>		<b>&gt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,05</b>
<b>p so với lô 2</b>		<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>

Kết quả bảng 3.7 cho thấy:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về lực kéo của chuột giữa các lô tại thời điểm trước khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 1 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm lực kéo của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm lực kéo của chuột so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 3 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày và liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm lực kéo của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

## CHƯƠNG 4

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Sự lựa chọn bài thuốc và chất đối chứng

##### 4.1.1. Sự lựa chọn bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”

Ngày nay, khi kinh tế ngày càng phát triển, trong xã hội công nghiệp hiện đại, với nhịp sống nhanh, thường xuyên gặp các căng thẳng thần kinh, thói quen thức khuya, áp lực công việc, học hành, xung đột gia đình, nên càng ngày càng có nhiều người mất ngủ. Nếu không điều trị sớm và hợp lý sẽ ảnh hưởng lớn tới chất lượng sống kể cả thể chất và tâm thần người bệnh. Bước đầu tiên của việc điều trị mất ngủ là liệu pháp tâm lý (giải quyết các căng thẳng gây ra mất ngủ, loại bỏ stress, các yếu tố gây căng thẳng, thực hành các bài tập thư giãn). Khi liệu pháp tâm lý không giúp đạt được mục tiêu điều trị, bệnh nhân được chỉ định thuốc điều trị mất ngủ. Các thuốc y học hiện đại dùng để điều trị mất ngủ có các tác dụng phụ: gây nghiện nếu dùng thời gian dài, uể oải, động tác không chính xác, lú lẫn, miệng khô đắng, giảm trí nhớ, ác mộng, bồn chồn, lo lắng, nhịp tim nhanh, vã mồ hôi, sáng khoái, hoang tưởng.

Vì vậy, việc tìm ra chế phẩm điều trị mất ngủ hiệu quả có nguồn gốc được liệu trong thiên nhiên, tiện sử dụng là mục tiêu mà nhóm nghiên cứu hướng tới.

Bài thuốc nghiên cứu xuất phát từ “Kỷ cúc địa hoàng hoàn” – một bài thuốc cổ phương, được viết trong chương 8 cuốn sách “Y cấp” của tác giả Đông Tây Viên [43]. Bài thuốc gồm Thục địa, Sơn thù, Hoài sơn, Trạch tả, Đan bì, Phục linh, Kỉ tử, Cúc hoa, gia thêm 4 vị Táo nhân sao đen, Viễn chí, Liên nhục, Phục thần. Nhóm nghiên cứu đã xây dựng bài thuốc dựa trên các tài liệu y học cổ truyền và dựa trên kinh nghiệm điều trị mất ngủ trên lâm sàng.

Bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng hoàn” gồm các vị: Thục địa, Hoài sơn, Sơn thù, Trạch tả, Phục linh, Đan bì, có công năng tư thận dưỡng can, ích tinh minh

mục. Chủ trị Can thận âm hư, hoa mắt chóng mặt, nhìn mờ, mắt đau khô sấp, sợ ánh sáng, chảy nước mắt, lưỡi đỏ ít rêu, mạch tế sác [44]. Để làm tăng tác dụng điều trị mất ngủ của bài thuốc chúng tôi thêm các vị: Táo nhân, Viễn chí, Liên nhục, Phục thần.

#### **4.1.2. Sự lựa chọn Diazepam là thuốc đối chứng.**

Diazepam là thuốc bình thần (an thần thứ yếu) thuộc nhóm Benzodiazepin có tác dụng an thần làm giảm căng thẳng, kích động, lo âu và gây ngủ, thuốc thường được sử dụng trên lâm sàng điều trị mất ngủ. Ngoài ra thuốc còn có tác dụng làm giãn cơ, chống có giật.

Trên phương pháp dấu cộng nâng cao, phương pháp trục quay Rotarod, phương pháp đo hoạt động ký, phương pháp đo sức bám, nhóm nghiên cứu đã chọn thuốc đối chứng là viên nén diazepam 5mg. Đây là thuốc được dùng làm thuốc đối chứng trong nhiều nghiên cứu: Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Thị Bích Thủy (2016)[32], Nguyễn Văn Tâm (2019)[33],...

#### **4.2. Bàn luận về kết quả nghiên cứu độc tính cấp trên thực nghiệm**

Kết quả bảng 3.1 cho thấy: chuột nhắt trắng được uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị với liều tăng dần từ 130,0g dược liệu/kg/24 giờ đến 390,0g dược liệu/kg/24 giờ. Sau khi uống thuốc thử, tất cả chuột trong các lô không có hiện tượng gì đặc biệt: ăn uống, vận động bình thường, chuột không bị khó thở, đi ngoài phân khô, không thấy xuất hiện chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc thử.

Sau một tuần khi uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị, tất cả các chuột đều sống và không thấy dấu hiệu bất thường ở tất cả các lô nghiên cứu. Liều tối đa chuột đã được uống 0,75 ml/10 g thể trọng chuột trong 3 lần liên tiếp, mỗi lần cách nhau 3 giờ, tương đương 75 ml/kg thể trọng chuột. Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị đã được cô đặc thành tỷ lệ 26:5. Như vậy 75 ml tương ứng 390g (3 thang), chuột

đã uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị với liều 390,0 g dược liệu/kg thể trọng chuột nhưng không thấy xuất hiện dấu hiệu độc tính cấp, không thấy dấu hiệu bất thường sau 1 tuần kể từ khi uống thuốc thử lần đầu. Do không thể tăng độ đặc của thuốc cũng như không thể tăng thể tích cho chuột uống, vì không có chuột chết ở tất cả các lô nên chưa xác định được độc tính cấp và chưa tính được LD<sub>50</sub> của mẫu bài thuốc Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị trên chuột nhắt trắng theo đường uống bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon [38].

Bài thuốc Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị được sử dụng với liều điều trị 130g dược liệu/ngày. Như vậy, liều dùng trung bình trên người là 2,6g dược liệu/kg thể trọng/ngày (tính trung bình người nặng 50kg). Ngoại suy từ liều dùng trên người sang động vật thực nghiệm, liều dùng trên chuột nhắt gấp 12 lần liều dùng trên người, tức là 31,2 g dược liệu/kg thể trọng chuột/ngày. Chuột nhắt trắng đã uống đến liều 390,0 g dược liệu/kg/ngày tức là gấp 12,5 lần liều dùng trên người không thấy có chuột nào chết, chứng tỏ thuốc chưa xác định được độc tính cấp và phạm vi an toàn của Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị tương đối cao.

Thành phần Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị gồm Thục địa, Hoài sơn, sơn thù, Đan bì, Trạch tả, Phục linh, Kỷ tử, Cúc hoa, Táo nhân sao đen, Viễn chí, Liên nhục, Phục thần. Các vị dược liệu này đều không thể hiện độc tính cấp và chưa xác định được giá trị LD<sub>50</sub> trên các nghiên cứu thực nghiệm. Như vậy, Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị là một bài thuốc có thể sử dụng tương đối an toàn [50].

### **4.3. Bàn luận về kết quả nghiên cứu tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm**

#### **4.3.1. Bàn luận về kết quả phương pháp dầu cộng nâng cao.**

Về ảnh hưởng của bài thuốc Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị đến thời gian, số lần lưu lại nhánh mở, thời gian lưu lại nhánh đóng, và tỷ lệ né tránh nhánh mở, trên mô hình dầu cộng nâng cao

Kết quả bảng 3.2 và bảng 3.3 cho thấy, trên mô hình dẫu cộng nâng cao, chuột ở lô uống diazepam và các lô uống Kỹ cục địa hoàng thang gia vị cả 2 liều đều thể hiện tác dụng giải lo âu so với lô chứng sinh học một cách rõ rệt. Kết quả được thể hiện: giảm số lần vào nhánh đóng và thời gian lưu lại nhánh đóng. Tăng thời gian lưu lại nhánh mở, tăng số lần vào nhánh mở, giảm tỷ lệ né tránh nhánh mở. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với các giá trị ( $p < 0,01$ ), ( $p > 0,05$ ), ( $p < 0,05$ ).

Mức độ tác dụng giải lo âu của các lô dùng Kỹ cục đại hoàng thang gia vị là tương đương nhau và tương đương với lô uống diazepam ( $p > 0,05$ )

Thử nghiệm phương pháp dẫu cộng nâng cao là phương pháp thực hiện tốn nhiều thời gian, tuy nhiên là thử nghiệm đáng tin cậy và được dùng rộng rãi nhất hiện nay khi đánh giá tác dụng an thần, giải lo âu của thuốc. Thí nghiệm này dựa trên bản năng của chuột là thích khám phá và tự vệ. Hành vi của chuột tự vệ biểu hiện bằng việc tìm nơi trú ẩn trong nhánh đóng, còn bản năng khám phá biểu hiện bằng việc đi vào nhánh mở. Bình thường, khi để dụng cụ hình dẫu cộng nâng cao (nhánh đóng và nhánh mở cách mặt đất 50cm), do cảm giác lo lắng sợ độ cao nên chuột ít đi vào nhánh mở và thường tìm đến nơi trú ẩn an toàn là đóng. Tuy nhiên khi chuột được dùng thuốc dùng thuốc có tác dụng an thần, giảm lo lắng, chuột sẽ không còn cảm giác sợ độ cao nữa và sẽ thích đi vào nhánh mở hơn, do bản năng thích khám phá.

Hiện nay, có nhiều cải tiến của phương pháp này như mô hình chữ T nâng cao. Tuy nhiên, thử nghiệm này bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như độ tuổi, giới của động vật thực nghiệm, thời gian thử nghiệm và ánh sáng [51]. Như vậy có thể nói, khi chuột uống Kỹ cục địa hoàng thang gia vị, việc tăng lưu lại ở nhánh mở về thời gian và số lần nói lên tác dụng giải lo âu, giảm sợ sệt của Kỹ cục địa hoàng thang gia vị đối với chuột. Theo Silvaf và Frussa-Filho [52], mô hình dẫu cộng nâng cao có thể đánh giá được cả tác dụng trên trí nhớ và tác dụng giải lo âu. Thử

nghiệm đánh giá trí nhớ qua thời gian trong nhánh đóng và đánh giá tác dụng an thần qua phần trăm thời gian chuột ở nhánh mở [40].

Theo Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Thị Bích Thủy (2016), mô hình dấu cộng nâng cao để đánh giá tác dụng an thần, giải lo âu của Chè an thần, kết quả cho thấy cả thời gian và số lần chuột đi vào tay hở của lô chuột uống diazepam và Chè an thần đều tăng một cách có ý nghĩa thống kê so với lô chứng [32].

Trong nghiên cứu “Nghiên cứu độc tính, tác dụng an thần trên thực nghiệm và điều trị mất ngủ không thực tổn trên lâm sàng của cao lỏng Dưỡng tâm an thần” của Nguyễn Văn Tâm và cộng sự (2019), các tác giả đã tiến hành trên thực nghiệm tác dụng an thần trên thực nghiệm trên phương pháp mô hình dấu cộng cho kết quả mức độ tác dụng giải lo âu của các lô dùng cao lỏng Dưỡng tâm an thần là tương đương nhau và tương đương với lô uống diazepam ( $p > 0,05$ ) [33].

#### **4.3.2. Bàn luận về kết quả kết quả nghiên cứu trên phương pháp trục quay Rotarod.**

Mô hình được tiến hành trên chuột nhắt trắng với thuốc đối chiếu là diazepam. Thuốc thử Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị được đánh giá bằng tác dụng làm giảm khả năng bám trên trục quay Rotarod của chuột thông qua việc quan sát tính thời gian bám.

Kết quả bảng 3.5 cho thấy: Không có sự khác biệt giữa các lô về thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod ở thời điểm bắt đầu nghiên cứu.

Ngày thứ 7 sau 1 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Tại thời điểm 3 giờ, sau 3 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày và liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ).

Tác dụng của 2 liều Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị không có sự khác biệt với diazepam ( $p > 0,05$ ). Đây là thử nghiệm dùng đánh giá hoạt động các loại thuốc can thiệp vào sự phối hợp vận động, để đánh giá tác dụng giãn cơ kiểu benzodiazepin [53].

Mô hình khung quay Rotarod cũng là một trong những thử nghiệm được áp dụng nhiều trong nghiên cứu tác dụng an thần của thuốc. Cơ sở của thử nghiệm này là dựa trên khả năng phối hợp thần kinh – cơ, khả năng định hướng không gian, sức căng cơ, khả năng giữ thăng bằng của động vật thí nghiệm. Thanh quay có thể coi như tác nhân kích thích làm tăng phản xạ bám giữ của chuột. Thuốc an thần ức chế thần kinh trung ương, làm giảm phối hợp thần kinh - cơ, giảm khả năng giữ thăng bằng và định hướng không gian nên giảm khả năng bám của chuột trên thanh quay [54].

Nghiên cứu của Duaham và Myia năm 1956 cho rằng tác dụng giãn cơ của thuốc có thể được đánh giá thông qua khả năng bám trên trục quay. Lực quay của thanh khác nhau được xác định bởi từng nghiên cứu [55].

Nhiều thuốc chống trầm cảm cũng có tác dụng trên thử nghiệm này, thử nghiệm này không có sự khác biệt rõ rệt giữa tác dụng bình thần và an thần kinh chủ yếu nhưng có hiệu quả tốt để nghiên cứu tác dụng giãn cơ của các thuốc tương tự như benzodiazepin. Hơn nữa, mô hình còn được dùng để nghiên cứu độc tính trên thần kinh-cơ [56].

Sự phối hợp vận động đánh giá ở chuột nhắt trên mô hình khung quay Rotarod. Một con vật không thể đứng yên trên thanh quay khi các cơ của nó được

thả lỏng. Sự giảm thời gian bám của chuột trên thanh quay so với nhóm chứng là bằng chứng cho tác dụng an thần của thuốc nghiên cứu. Điều đó nói lên tác dụng của diazepam và các lô uống Kỹ cục địa hoàng thang gia vị thể hiện tác dụng an thần làm cho chuột giảm thời gian bám trên trục quay, có thể do làm giảm sự tập trung chú ý vào bám, thời gian bám giảm, mà đó là do thuốc làm thư giãn an thần gây nên, thể hiện sự giảm phối hợp giữa thần kinh và cơ.

#### **4.3.3. Bàn luận về kết quả nghiên cứu trên phương pháp đo hoạt động ký.**

Hoạt động tự nhiên của chuột được tự động ghi lại bằng thiết bị đặc biệt nhờ các bộ phận cảm ứng nhạy cảm với bất kỳ thay đổi hoạt động nào của động vật thí nghiệm. Trong môi trường tối và ít tiếng ồn chuột có xu hướng khám phá lồng được biểu hiện bằng các hoạt động di chuyển theo chiều ngang và hoạt động động di chuyển theo chiều dọc. Cơ sở của mô hình dựa vào tác dụng ức chế thần kinh trung ương của thuốc làm giảm hoạt động tự nhiên như di chuyển, đứng lên, thăm dò... của động vật thí nghiệm. Giảm số lần di chuyển theo chiều ngang và giảm số lần di chuyển theo chiều dọc thể hiện tác dụng an thần của thuốc.

Kết quả bảng 3.6 và 3.7 cho thấy: Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lần di chuyển theo chiều ngang giữa các lô tại thời điểm trước khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

Tại ngày thứ 7, sau 1 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm số lần di chuyển theo chiều ngang của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), giảm số lần di chuyển theo chiều dọc của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Kỹ cục địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm số lần di chuyển theo chiều ngang, giảm số lần di chuyển chiều dọc của chuột so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).



Tại thời điểm ngày 7 sau 3 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày và liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm số lần di chuyển theo chiều ngang, giảm số lần di chuyển chiều dọc của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ). Mức độ tác dụng giải lo âu của 2 liều Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị tương đương nhau và tác dụng này tương đương với lô chuột uống diazepam ( $p > 0,05$ ).

Giảm số lần di chuyển của chuột theo chiều ngang và giảm số lần di chuyển theo chiều dọc thể hiện tác dụng làm thư giãn an thần của thuốc diazepam và các lô uống Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị.

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

#### **4.3.4. Bàn luận về kết quả nghiên cứu trên phương pháp đo sức bám.**

Kết quả bảng 3.8 cho thấy:

- Tại ngày thứ 7, sau 1 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm lực kéo của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm lực kéo của chuột so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Tại ngày thứ 7, sau 3 giờ uống thuốc thử lần cuối cùng, diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày và liều 62,4 g/kg/ngày làm giảm lực kéo của chuột so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

Đây là mô hình đo sức kéo của chuột được thực hiện theo phương pháp của Robert M.J. Deacon [42]. Phương pháp đo sức bám đánh giá sức mạnh cơ bắp, khả năng phối hợp thần kinh – cơ và bản năng sống sót của động vật. Thuốc an thần làm giảm sự chi phối thần kinh – cơ của động vật thí nghiệm, do đó khi uống thuốc an thần khả năng kéo của chuột sẽ giảm. Ngoài ra, phương pháp này còn được dùng nghiên cứu độc tính trên thần kinh – cơ. Ngoài mô hình trên, có thể sử dụng thực nghiệm bằng mô hình mặt phẳng nghiêng (Inclined plane) và mô hình ống khói (Chimney test).

Sau khi uống thuốc 1 giờ và 3 giờ, chuột được đo sức kéo trên máy. Tác dụng thư giãn an thần của thuốc làm cho sức kéo của chuột bị giảm, được thể hiện trên máy đo.

Tóm lại, các phương pháp nghiên cứu tác dụng an thần trên thực nghiệm trên nhằm đánh giá tác dụng của Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị đối với tác động gây ngủ trên nghiên cứu thực nghiệm nhằm giúp khẳng định tác dụng an thần, đồng thời bước đầu tìm ra những cơ chế tác dụng của thuốc để sử dụng thuốc hiệu quả hơn trong từng trường hợp cụ thể, hạn chế những tác dụng không mong muốn có thể xảy ra trong quá trình điều trị [18].

#### **4.4. Lý giải tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị”**

Bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” xuất phát từ bài thuốc cổ phương “Kỷ cúc địa hoàng hoàn” gồm tám vị: Thục địa, Hoài sơn, Sơn thù, Trạch tả, Phục linh, Đan bì, Kỷ tử, Cúc hoa; gia thêm bốn vị Táo nhân sao đen, Viễn chí, Liên nhục, Phục thần.

Theo YHCT, Thục địa vị ngọt hơi ấm, quy kinh Tâm, Can, Thận, tư âm bổ Thận, điền tinh bổ tủy, giáng hỏa, an thần. Kỷ tử vị ngọt, tính bình, quy kinh Can, Thận, nhuận mà tư bổ, lại có thể thoái nhiệt, bổ Thận nhuận Phế, sinh tân ích khí, làm tăng tác dụng tư âm bổ Thận, giáng hỏa, an thần. Toan táo nhân ngọt, chua, tính bình, quy Tâm, Can kinh, dưỡng Tâm bổ Can, ninh Tâm an thần. Sơn thù du vị chua chất, tính ấm, quy kinh Can, Thận, bổ dưỡng Can Thận, lại có thể sáp tinh, cùng Toan táo nhân dưỡng Tâm huyết, bổ Can âm mà an thần. Viễn chí vị đắng, tính ấm, quy Tâm, Thận kinh, an thần ích trí, giao thông Tâm Thận. Toan táo nhân – Viễn chí là cặp dược đôi an thần kinh điển. Trong “Mục kinh đại thành” có viết: “Táo nhân, Viễn chí ninh Tâm mà giao Thận, Tâm Thận giao, Thiếu âm trị khỏi”. Hay trong “Phùng thị cẩm nang bí lục” trong phương giải Quy tỳ thang có viết: “Phạm trị huyết chứng, trước và sau khi điều lý, cần chú trọng vào ba kinh, Tâm chủ huyết, Tỳ thông huyết, Can tàng huyết mà Quy tỳ thang lấy ba kinh này làm chủ. Viễn chí, Táo nhân bổ Can âm mà sinh Tâm hỏa...”. “Phương tễ tâm đắc thập giảng” viết: “Phôi Táo nhân, Viễn chí là lấy điều Can mà trợ Tâm (Can là mẹ của Tâm)” [57]. Phục Thần ngọt, bình, quy kinh Tâm, Tỳ, Phế, Thận, có tác dụng an thần ninh Tâm, thường dùng điều trị các chứng thất miên, kiện vọng, kinh quý. Trong “Danh y biệt lục” viết: “Phục thần...chỉ kinh quý, khai Tâm ích trí, dưỡng tinh thần...”. Trương Lộ Biên – một danh y thời nhà Thanh trong cuốn “Bản kinh phùng nguyên” có ghi rằng: “Hậu nhân trị Tâm bệnh tất phải dùng Phục thần”. Trên lâm sàng, Phục Thần thường được dùng làm chủ dược trong các phương thuốc điều trị Tâm bệnh như: An thần định chí hoàn, Phục thần thang, Dưỡng tâm thang, Quy tỳ thang, Gia vị tứ thất thang, Phục thần tán... [58]. Hoài sơn, Liên nhục ngọt, bình, ích khí kiện Tỳ, dưỡng Tâm an thần. Phục linh vị cam đậm, tính bình, quy Tâm, Tỳ kinh, có thể ích Tâm Tỳ mà trợ nguồn sinh hóa, khai tâm khiếu mà ninh tâm an thần, định trí. Đồng thời, Phục linh đậm thâm thủy thấp, tính bình

hòa hoãn, bổ mà không tuấn, lợi mà không mãnh, càng làm tăng tác dụng kiện Tỳ ích khí của Hoài sơn. Trạch tả lợi thấp tiết trọc, phòng tính nê trệ của Thục địa. Đan bì, Cúc hoa thanh tiết tương hỏa, lương huyết thanh nhiệt. Các vị phối dùng, trong bổ có tiết, ôn thanh tương hỗ, Tâm Thận được giao, Trung tiêu vượng mà khôi phục nguồn sinh hóa, khí huyết vận hành thông đạt, công năng tạng phủ điều hòa.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh các vị thuốc trong bài “Kỷ cúc địa hoàng thang gia giảm” có tác dụng an thần trên lâm sàng cũng như trên thực nghiệm.

Nghiên cứu của Du Thu Vân và cộng sự (2013) trên chuột thực nghiệm, phát hiện: nước sắc Phục thần có thể làm tăng đáng kể tốc độ ngủ của động vật với liều dưới ngưỡng của Natri pentobarbital và nó có tác dụng hiệp đồng đối trong việc ức chế hệ thần kinh trung ương của Natri pentobarbital. Do đó càng khẳng định tác dụng ninh tâm an thần của Phục thần trên lâm sàng [59]. Phục Thần có tác dụng giải lo âu và cơ chế chính của nó có thể là bảo vệ tế bào hình sao hồi Hải mã bằng cách điều chỉnh sự tăng biểu hiện của Protein sợi thần kinh đệm có tính axit (Glial fibrillary acidic protein - GFAP), protein chuỗi nhẹ sợi thần kinh (NF - L), Synaptophysin (SYP) [60], [61].

Nước sắc Phục thần chứa triterpenoid có khả năng ức chế và làm giảm hàm lượng aspartat và glutamat ở hồi Hải mã, từ đó có tác dụng làm dịu các tế bào thần kinh bị kích thích, giảm lo âu [62], [63].

Trong một nghiên cứu về tác dụng của Toan táo nhân trên chuột thực nghiệm thông qua tác động trên trục dưới đồi – tuyến yên – thượng thận (HPA) cho thấy: Toan táo nhân có thể cải thiện hành vi bất thường của chuột do mất ngủ gây ra, làm giảm các biến đổi bệnh lý của trục dưới đồi – tuyến yên – thượng thận ở chuột như ức chế sự gia tăng của CRH, ACTH, corticosteron trong huyết thanh [64].

Lý Á Quỳnh và cộng sự (2022) nghiên cứu ảnh hưởng của Đan bì tới hành vi giống như lo lắng và chức năng thần kinh nội tiết ở mô hình chuột mắc Rối loạn tâm thần tiền kinh nguyệt (Premenstrual Dysphoric Disorder - PMDD). Kết quả cho thấy: Đan bì có tác dụng cải thiện tình trạng lo lắng ở chuột mắc rối loạn tâm thần tiền kinh nguyệt, cải thiện giấc ngủ, cơ chế liên quan đến điều hòa nồng độ progesterone, tetrahydroprogesterone, GABAAR $\alpha$ 4 (Các thụ thể GABAA tiền synap điều chỉnh các đầu vào đồi thị ở lớp 4) [65].

Tôn Thắng Kiệt và cộng sự (2019) nghiên cứu cơ chế tác dụng an thần của cặp thuốc Toan táo nhân – Viễn chí cho thấy: Tác dụng an thần của cặp dược đối Toan táo nhân - Viễn chí có liên quan đến cơ chế làm thay đổi tỷ lệ của các chất dẫn truyền thần kinh serotonin (5-Hydroxytryptamine-5-HT), axit gamma-aminobutyric (GABA), dopamin (DA), norepinephrine trong tổng số protein mô não; đồng thời cơ chế hoạt động liên quan chặt chẽ tới sự điều chỉnh quá trình sinh tổng hợp valine, leucine và isoleucine và quá trình trao đổi của phenylalanine [66].

#### **4.5. So sánh tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm với một số bài thuốc khác**

Các bài thuốc điều trị mất ngủ đều có tác dụng an thần ở mức độ khác nhau. Phần lớn tác dụng các bài thuốc làm an thần, giảm lo lắng, giảm sự phối hợp thần kinh cơ, thư giãn cơ.

Bài thuốc Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị của nhóm nghiên cứu chúng tôi có tác dụng an thần ở cả 2 liều, và tương đương với diazepam ( $p > 0.05$ ).

Tuy nhiên để có kết luận thuyết phục về vấn đề này, cần một nghiên cứu sâu hơn nữa để chứng minh cơ chế tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” cũng như đề xuất được tính ưu việt của bài thuốc nghiên cứu.

Bài thuốc “Chè an thần” Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Bích Thủy (2016) gồm các vị thuốc: lá vông 0,40 g; lạc tiên 0,33 g; thảo quyết minh 0,40 g; bình vôi

0,60 g; long nhãn 0,20 g; lá sen 0,40 g; cúc hoa 0,20 g; cam thảo 0,13 g; liên nhục 0,33 g. Công dụng: Tĩnh tâm, an thần, chữa chứng hồi hộp, lo âu, mất ngủ ) [32].

Bài thuốc “Dưỡng tâm an thần” Nguyễn Văn Tâm (2019) [33] gồm các vị: Đảng sâm 16g; Viễn chí 8g; Tam thất 4 g; Cát cánh 10g; Đan sâm 16g; Dương quy 10g; Ngũ vị tử 8g; Mạch môn 10g; Bá tử nhân 12g; Sinh hoàng kỳ 30g; Toan táo nhân 16 g; Sa nhân 6g; Phục thần 16g; Thảo quyết minh 12 g .Công dụng: Dưỡng tâm, an thần, tư âm, bổ khí huyết, hoạt huyết ) [33].

**Bảng 4.1. So sánh tác dụng an thần trên thực nghiệm của một số bài thuốc**

<b>Bài thuốc</b>	<b>Phương pháp Dấu cộng nâng cao</b>	<b>Phương pháp trực quay Rotarod</b>	<b>Phương pháp hoạt động kí</b>	<b>Phương pháp đo sức bám</b>
Chè an thần Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Bích Thủy (2016)[32]	Tăng thời gian và số lần chuột đi vào nhánh hở (p<0.001)	Giảm thời gian bám trên trục quay (p<0.0001)		
Cao lỏng Dưỡng tâm an thần Nguyễn Văn Tâm (2019) [33]	Tăng thời gian và số lần chuột đi vào nhánh hở (p<0.01)	Giảm thời gian bám trên trục quay (p<0.05)	Giảm di chuyển theo chiều ngang, chiều dọc (p<0.05)	Giảm lực bám của chuột (P<0.001)
Bài thuốc Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị	Tăng thời gian và số lần chuột đi vào nhánh hở (p<0.05)	Giảm thời gian bám trên trục quay (p<0.05)	Giảm di chuyển theo chiều ngang, chiều dọc (p<0.001)	Giảm lực bám của chuột (P<0.05)

Như vậy bài thuốc Kỳ cúc địa hoàng thang gia vị có tác dụng an thần tương đương chè an thần tương đương chè an thần của Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Bích Thủy (2016) [32] và Cao lỏng Dưỡng tâm an thần Nguyễn Văn Tâm (2019) [33].

## KẾT LUẬN

### **1. Kết luận độc tính cấp của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm**

Qua quá trình nghiên cứu độc tính cấp của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm nhóm nghiên cứu rút ra kết luận:

- Chưa xác định được LD<sub>50</sub> trên chuột nhắt trắng của Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị trên đường uống.
- Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 75ml dung dịch đậm đặc/kg, tương ứng 3 thang/kg thể trong chuột.
- Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị ở liều gấp 12,5 lần liều dùng dự kiến trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống (Tính người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều tối đa 1 thang/ngày/người).

### **2. Kết luận tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” trên thực nghiệm**

Qua quá trình nghiên cứu tác dụng an thần của bài thuốc “Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị” nhóm nghiên cứu rút ra kết luận: Kỷ cúc địa hoàng thang gia vị liều 31,2 g/kg/ngày và liều 62,4 g/kg/ngày có tác dụng an thần, giảm lo lắng, giãn cơ tốt trên chuột nhắt trắng thông qua việc làm giảm tỉ lệ né tránh nhánh mở và tăng thời gian vào nhánh mở của chuột trên mô hình dẫu cộng nâng cao, giảm thời gian bám trên trục quay Rotarod, giảm số lần di chuyển động di chuyển theo chiều ngang và chiều dọc của chuột trên máy đo hoạt động ký và giảm lực kéo của chuột so với lô chứng sinh học.



**KIẾN NGHỊ**

- Dựa trên kết quả thu thập được trên đề tài của chúng tôi, chúng tôi kiến nghị sử dụng bài thuốc trên lâm sàng sau khi thông qua Hội đồng y đức để đánh giá tác dụng an thần của bài thuốc trên bệnh nhân.
- Nghiên cứu dạng bào chế phù hợp để đưa vào sử dụng, thuận tiện trên lâm sàng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ môn tâm thần** (2016), Rối loạn giấc ngủ, *Giáo trình bệnh học tâm thần*, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, Học viện quân Y, tr. 459, 465, 467.
2. **Nguyễn Đức Vinh, Nguyễn Vinh Quốc** (2021), Đánh giá tình trạng mất ngủ không thực tồn thể Tâm tỳ hư và một số yếu tố liên quan. *Tạp chí y học Việt Nam*, số 1&2 (2021), 37-41.
3. **Breslau N, Roth T, Rosenthal L** (1996), Sleep disturbance and psychiatric disorders: a longitudinal epidemiological study of young adults. *Riol Psychiatry*; 39(6): 411-418.
4. **Trần Hữu Bình** (2016), Rối loạn giấc ngủ không thực hiện, *Giáo trình bệnh học tâm thần*, Nhà xuất bản Y học, Bộ môn Tâm thần Trường Đại học Y Hà Nội, tr. 96-102.
5. **Đỗ Huy Bích và cộng sự** (2006), Kì tử, Hoài sơn, Cúc hoa, Thục địa, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam tập I*, Tái bản lần thứ nhất, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội, tr. 362, 557, 574, 774.
6. **Đỗ Tất Lợi** (2015), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, tr. 217, 222, 604, 620, 730, 783, 788, 837, 848, 850, 911
7. **Benjamin james Sadock, MD. Virginia Alcott Sadock, MD** (2008), 20.1 Normal Sleep: 20.2 Sleep Disorders. *Concise textbook of Clinical psychiatry*, pp 346-358,
8. **Benjamin james Sadock, MD. Haroldl. kaplan, MD** (1995), 23.1 Normol Sleep; 23.2 Sleep Disorders. *Kaplan and sadocks synopsis of psychiatry*, pp. 699-704
9. **Bùi Quang Huy** (2016), Rối loạn giấc ngủ, rối loạn thời gian ngủ, *Rối loạn giấc ngủ*, Nhà xuất bản Y học tr. 7-21.

10. **Benjamin James Sadock, MD. Harold I. Kaplan, MD** (1995), 26.4 Sleep Disorders. *Comprehensive Textbook of Psychiatry/iv*, pp 1247-1251.
11. **Michael G Gelder** (2012), "Sleep - wake disorders" New Oxford Textbook of Psychiatry. Page 924-950.
12. **Trần Đình Xiêm** (1995), Các rối loạn giấc ngủ, *Tập bài giảng tâm thần học*, Nhà xuất bản Y học, Bộ môn Tâm thần trường Đại học Y-Dược Thành phố Hồ Chí Minh, tr. 380-385.
13. **American Academy of Sleep Medicine** (2005), ICSD-2 - International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual, ICSD-2. 2nd ed. Newton, MA: *American Academy of Sleep Medicine*: 35, 42.
14. **Tổ chức Y tế thế giới-Genvea** (1993), "F51 Rối loạn giấc ngủ không thực tồn". Tiêu chuẩn chẩn đoán dành cho nghiên cứu – (ICD=10 Phân loại các rối loạn Tâm thần và hành vi), tr.134 – 136.
15. **Baxter AJ1, Scott KM, Vos T, Whiteford HA** (2013), Global prevalence of anxiety disorders: a systematic review and meta - regression. *Psychol Med*, 43 (5), pp. 897-910.
16. **Morin CM, Vallieres A, Guay B, et al** (2015), Cognitive behavioral therapy, singly and combined with medication, for persistent insomnia: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2009;301 (19): 2005-2015.
17. **Mai Tân Tố, Vũ Thị Trâm** (2007), *Dược lý học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội tr. 99, 100, 101, 102, 103, 142, 143, 144.
18. **Bộ môn dược lí** (2020), *Dược lí học lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr.136-144, 202-210.
19. **Hội đồng Dược thư quốc gia Việt Nam** (2018), *Dược thư quốc gia Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, tr.75-77.
20. **Bộ môn Y học cổ truyền** (2016), *Giáo trình bệnh học lão khoa y học cổ truyền*, Trường Đại học Y Dược Huế. Tr 97-113.

21. **Bộ môn y học cổ truyền dân tộc** (1994), *Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Trường Đại học Y Hà Nội, tr. 79-85, 181, 182, 185, 307.
22. **Đậu Xuân Cảnh** (2017), *Mắt ngủ (Bất mi)*, *Giáo trình nội khoa Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, tr. 168-177.
23. **Hoàng Bảo Châu** (1997), *Nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản y học Hà Nội, tr. 121-145, 177-189, 475-183, 586-600.
24. **Tuệ Tĩnh toàn tập** (2002), *Nam dược thần hiệu quyển 5*, Nhà xuất bản Y học, tr. 157.
25. **Hải Thượng Lãn Ông Lê Hữu Trác** (2005), *Hải thượng y tông tâm lĩnh*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 21, 32.
26. **Đỗ Thị Phương** (2016), *Bài Giảng y học cổ truyền tập 2*, Nhà xuất bản Y học, Trường Đại học Y Hà Nội - Khoa y học cổ truyền, tr. 293-298.
27. **Khoa Y học cổ truyền** (2016), *Suy nhược thần kinh*, *Chuyên cho nội khoa học y học cổ truyền dân tộc*, Nhà xuất bản y học Hà Nội, Trường đại học Y khoa Hà Nội, tr. 293.
28. **Đỗ Thị Phương, Lê Thị Minh Phương** (2016), *Bài giảng y học cổ truyền tập 1*, Nhà xuất bản Y học, Trường đại học y Hà nội - Khoa y học cổ truyền, tr. 493-496, 652-655.
29. **Nguyễn Tuyết Trang** (2010), *Đánh giá tác dụng của bài thuốc Quy tỳ thang trong điều trị hư lao thể tâm tỳ hư*, Luận văn tốt nghiệp bác sĩ. Trường Đại học Hà Nội.
30. **Phạm Ngọc Thùy** (2013), *Tác dụng của bài thuốc TTL trên bệnh nhân ở 2 thể tâm tỳ hư và tâm thận bất giao theo Y học cổ truyền*. *Tạp chí y học thực hành*, số 10 (2013), 42-45.
31. **Vũ Thị Châu Loan** (2016), *Đánh giá kết quả mắt ngủ không thực tổn bằng phép giãn Y học cổ truyền*, Luận văn tốt nghiệp Bác sĩ chuyên khoa cấp II, Trường Đại học Y Hà Nội, tr 41,45,51,74.

32. **Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Thị Bích Thủy** (2016), Đánh giá tác dụng an thần, giải lo âu của bài thuốc "Chè an thần" trên động vật thực nghiệm. *Tạp chí Dược học*, số 5 (2016), 40-44.
33. **Nguyễn Văn Tâm** (2019). *Nghiên cứu độc tính, tác dụng an thần trên thực nghiệm và điều trị mất ngủ không thực tổn trên lâm sàng của cao lỏng Dưỡng tâm an thần*, Luận án Tiến sỹ y học, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, tr. 146-148.
34. **Fussel A et al** (2000), Effect of a fixed valerian -Hop extract combination (Ze 91019) on sleep polygraphy in patients with non-organic insomnia: a pilot study: 2-4.
35. **Wheatley D et al** (2001), Stress-induced insomnia treated with kava and valerian: singly and in combination: 1-2.
36. **Koetter U<sup>1</sup>, Schrader E, Käufeler R. Brattström A** (2007), *A randomized, double blind, placebo - controlled, prospective clinical study to demonstrate clinical effectiveness of a fixed valerian hops extract combination (Ze 91019) in patients suffering from non-organic sleep disorder: 2-3.*
37. **Zick SM, Wright BD, Sen A, Arnedt JT** (2011). Preliminary examination of the efficacy and safety of a standardized chamomile extract for chronic primary insomnia: a randomized placebo controlled pilot study: 1-5.
38. **Nguyễn Trung Đàm** (2014), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, Nhà xuất bản Y học, tr.101-112.
39. **Olayiwola G, Ukponmwan O. và Olawode D.** (2013). Sedative and anxiolytic effects of the extracts of the leaves of *Stachytarpheta cayennensis* in mice. *African Journal of of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, 10(6), 568-579.

40. **Robert M.J. Deacon** (2013). Measuring Motor Coordination in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, **75**, 2609.
41. **Mill J., Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L.** (2002). Home-cage activity in heterogeneous stock (HS) mice as a model of baseline activity. *Genes, Brain and Behavior*, 1(3), 166-173.
42. **Robert M.J, Deacon** (2013), Measuring the Strength of Mice. *Journal of Visualized Experiments*, 76, 1-4.
43. 西园 (2015), 医级, 中国中医药出版社.  
Đông Tây Viên (2015), Y Cấp, Nhà xuất bản Trung Y Trung Quốc.
44. 裘沛然 (1994). 补阴方. 中医疗代名方集成. 上海辞书出版社, 84 - 85.
- Cầu Bái Nhiên (1994). Phương thuốc bổ âm. Tổng hợp các bài thuốc nổi tiếng của y học cổ truyền Trung Quốc. Nhà xuất bản từ điển Thượng Hải, 84 - 85.
45. **Đỗ Huy Bích và cộng sự** (2006), Đan bì, Phục linh, Phục thần, Sơn thù, Liên nhục, Táo ta, Trạch tả, Viễn chí, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam tập II (2004)*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà nội, tr . 251,526, 755, 722, 775, 984, 1059. (II)
46. **Trần Quốc Bảo, Trần Quốc Bình** (2011), *Thuốc Y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr. 45, 103, 141, 159, 173, 188, 189, 212, 226, 232, 240.
47. **Peng WH, Hsieh MT, Lee YS, et al** (2000), Anxiolytic effect of seed of *Ziziphus jujuba* in mouse models of anxiety. *J Ethnopharmacol*, **72(3)**, 435-41.
48. **Trương Thụ Sinh, Vương Chí Lan** (1992), Toan táo nhân cùng Bá tử nhân, *Trung dược lâm sàng*, Dương Hữu Nam, Dương Trọng Hiếu dịch, Nhà xuất bản Y học, tr 402-403.

49. **Gerhard Vogel H.** (2012), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
50. **World Health Organization** (2013), *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
51. **Michel Bourin, Benoit Petit – Demoulière, Brid Nic Dhonnchadha** (2007). Animal models of anxiety in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 21, p; 567-574.
52. **Silva RH, Frussa-Filho R** (2000), The plus-maze discriminative avoidance task: a new model to study memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *J Neurosci Meth*, 102, pp.117-125.
53. **Simiand J, Keane PA, Biziere K, Soubrie P** (1989), Comparative study in mice of Tetrazepam and other centrally active skeletal muscle relaxants. *Arch int Pharmacodyn*, 297, 272-285.
54. **Daniel and collaborators** (1989), *The Pittsburg Sleep Quality Index: a new instrument for Psychiatric Practice and Research*, *Psychiatry Research*, 28(2), p.35-35
55. **Duhan NW, Miya TS** (1956), *A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice*. *J Am Pharmaceut Assoc*, 46, pp.208-210.
56. **H. G. Vogel** (2008). *Rotarod Method. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 580-591.
57. 任海琴, 孔祥鹏, 和王颖莉 (2022). 基于古今方剂数据挖掘的酸枣仁-远志药对配伍特点及外延分析. *中草药*, 53(13), 4065 - 4074.

Nhậm Hải Cẩm, Khổng Tường Bằng và Vương Đình Lợi (2022). Phân tích đặc điểm tương thích và mở rộng của cặp thuốc Toan táo nhân - Viễn chí dựa trên khai thác dữ liệu của các đơn thuốc cổ phương và hiện đại. *Trung thảo dược*, **53(13)**, 4065–4074.

58. 张琳, 战丽彬, 和美源宽 (2015). 以茯神为主药的系列经方在心悸辩证中的应用. 中华中医药学会中医基础理论分会第九次学术年会论文集. 中华中医药学会, 郑州.

Trương Lâm, Chiến Li Bân và Mỹ Nguyên Khoan (2015). Ứng dụng các bài thuốc cổ phương lấy Phục thần làm chủ dược trong điều trị Tâm quý. Kỷ yếu Hội nghị thường niên học thuật lần thứ 9 của phân hội lý luận cơ bản của Hiệp hội Trung y dược Trung hoa. Trung hoa Trung y dược học hội, Trịnh Châu.

59. 游秋云 和 王平 (2013). 茯苓、茯神水煎液对小鼠镇静催眠作用的比较研究. *湖北中医药大学学报*, **15(02)**, 15 - 17.

Du Thu Vân và Vương Bình (2013). Nghiên cứu so sánh tác dụng trấn tĩnh thôi miên của nước sắc Phục linh, Phục thần đối với chuột thực nghiệm. *Học báo Đại học Trung y dược Hồ Bắc*, **15(02)**, 15–17.

60. 戴建国, 王中立, 陈琳, 等 (2014). 6种宁神类药物抗抑郁作用动物实验研究. *南京中医药大学学报*, **30(02)**, 192 - 194.

Đới Kiến Quốc, Vương Trung Lập, Trần Lâm và cộng sự (2014). Nghiên cứu tác dụng chống trầm cảm của 6 loại thuốc trên động vật thực nghiệm. *Học báo Đại học Trung y dược Nam Kinh*, **30(02)**, 192–194.

61. 戴建国, 陈琳, 王中立, 等 (2012). 助阳宁神方拮抗皮质酮诱导海马功能重塑性损伤的作用. *江苏医药*, **38(03)**, 252–255+244.

Đới Kiến Quốc, Trần Lâm, Vương Trung Lập và cộng sự (2012). Tác dụng trợ dương ninh thần đối kháng tổn thương trên hồi Hải mã do Corticosterone gây ra. *Y dược Giang Tô*, **38(03)**, 252-255+244.



62. 林虢 和 何艳梅 (2014). 茯苓三萜化合物的药理作用研究进展. 黑龙江科技信息, (31), 77.
- Lâm Hao và Hà Diễm Mai (2014). Sự phát triển trong nghiên cứu tác dụng dược lý của triterpenoids trong Phục linh. Tin tức khoa học kỹ thuật Hắc Long Giang, (31), 77.
63. 刘惠知, 吴胜莲, 张德元, 等 (2015). 茯苓药物成分提取分离及其药用价值研究进展. 中国食用菌, 34(06), 1 - 6.
- Luu Huệ Tri, Ngô Sinh Thắng Liên, Trương Đức Nguyên và cộng sự (2015). Sự phát triển trong nghiên cứu chiết tách dược chất và giá trị dược liệu từ Phục linh. Thực dụng khuẩn Trung Quốc, 34(06), 1-6.
64. 花玥, 郭盛, 朱悦, 等 (2022). 酸枣仁对失眠大鼠HPA轴功能的干预作用研究. 中国现代中药, 1 - 8.
- Hoa Nguyệt, Quách Thành, Chu Duyệt và cộng sự (2022). Nghiên cứu về tác dụng can thiệp của Toan táo nhân đối với chức năng trục HPA trên chuột mất ngủ. Trung Quốc hiện đại Trung dược, 1 - 8.
65. 邢影, 李亚琼, 刘坤, 等 (2020). 丹皮酚对PMDD肝气逆证模型大鼠焦虑样行为及其神经内分泌功能的影响. 世界科学技术-中医药现代化, 1 - 10.
- Hình Ảnh, Lí Á Quỳnh, Lưu Khôn và cộng sự (2020). Ảnh hưởng của Đan bì đối với hành vi giống như lo lắng và chức năng thần kinh nội tiết trên mô hình chuột mắc PMDD thể Can khí nghịch. Kỹ thuật khoa học Thế giới - Hiện đại hóa Trung y dược, 1 - 10.
66. 孙胜杰 (2019), 酸枣仁-远志活性部位镇静安神作用与机理研究, 硕士, 山西中医药大学.

Tôn Thắng Kiệt (2019), Nghiên cứu tác dụng và cơ chế trấn tĩnh an thần của các bộ phận có tác dụng của Toan táo nhân - Viễn chí, Luận văn Thạc sĩ, Đại học Trung y dược Sơn Tây.