

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM**



**ĐINH VĂN THAO**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ  
TÁC DỤNG CẢI THIỆN TRÍ NHỚ CỦA  
VIÊN NANG HHDN001 TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN BÁC SĨ CHUYÊN KHOA CẤP II**

**HÀ NỘI, NĂM 2025**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM**



**ĐINH VĂN THAO**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ  
TÁC DỤNG CẢI THIỆN TRÍ NHỚ CỦA  
VIÊN NANG HHDN001 TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN BÁC SĨ CHUYÊN KHOA CẤP II**

**Chuyên ngành: Y học cổ truyền**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS: Trần Thái Hà**

**HÀ NỘI, NĂM 2025**

## LỜI CẢM ƠN

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

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới toàn thể thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên, các em sinh viên đang nghiên cứu khoa học tại bộ môn Dược lý, Đại Học Y Hà Nội đã luôn bên tôi, giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện và nghiên cứu

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

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và lòng biết ơn sâu sắc tới PGS. TS Phạm Thị Vân Anh, Trưởng bộ môn Dược lý, Đại Học Y Hà Nội, người trực tiếp theo dõi, giúp đỡ và cho tôi nhiều ý kiến quý báu trong quá trình nghiên cứu.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới gia đình, bạn bè đã luôn đồng hành, động viên, chia sẻ với tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Luận văn hoàn thành có nhiều tâm huyết của người viết, song vẫn không thể tránh khỏi sai sót. Xin cảm ơn sự đóng góp chân thành của quý thầy cô, anh chị em bạn bè đồng nghiệp.

Xin trân trọng cảm ơn!

*Tác giả*

***Đinh Văn Thao***

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Đinh Văn Thao, học viên lớp Bác sĩ Chuyên khoa cấp II khóa 9 Học viện Y-Dược Học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Trần Thái Hà.
  2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam
  3. Các số liệu, 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 06 tháng 11 năm 2025*

Tác giả

Đinh Văn Thao

## MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Tổng quan hội chứng sa sút trí tuệ theo Y học hiện đại.....	3
1.1.1. Khái niệm.....	3
1.1.2. Biểu hiện lâm sàng của sa sút trí tuệ.....	4
1.1.3. Nguyên nhân gây sa sút trí tuệ.....	5
1.1.4. Sơ lược về bệnh Alzheimer.....	6
1.1.5. Điều trị theo y học hiện đại.....	12
1.2. Tổng quan sa sút trí tuệ theo Y học cổ truyền.....	14
1.2.1. Bệnh nguyên, bệnh cơ.....	14
1.2.2. Các thể lâm sàng.....	16
1.3. Tổng quan nghiên cứu trên thế giới và trong nước.....	19
1.3.1. Trên thế giới.....	19
1.3.2. Tại Việt Nam.....	20
1.4. Tổng quan về sản phẩm nghiên cứu.....	21
1.4.1. Nguồn gốc.....	21
1.4.2. Phân tích tác dụng các vị thuốc theo Y học cổ truyền.....	22
1.4.3. Phân tích tác dụng các vị thuốc theo Y học hiện đại.....	22
1.5. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính và ý nghĩa về việc nghiên cứu tính an toàn của thuốc y học cổ truyền.....	23
1.5.1. Thuốc y học cổ truyền và nguyên nhân tiến hành thử độc tính.....	23
1.5.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp.....	24
1.6. Tổng quan về các mô hình nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên thực nghiệm.....	25
1.6.1. Mô hình gây suy giảm trí nhớ.....	25
CHƯƠNG 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	28
2.1. Chất liệu nghiên cứu.....	28
2.2. Đối tượng nghiên cứu.....	29
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	30

2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang HHDN001.....	30
2.3.2. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm .....	30
2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	37
2.5. Sơ đồ nghiên cứu.....	38
2.6. Phương pháp xử lý số liệu.....	38
2.7. Sai số và biện pháp khống chế sai số .....	39
2.8. Đạo đức trong nghiên cứu .....	39
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ.....</b>	<b>40</b>
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang HHDN001.....	40
3.2. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm.....	40
3.2.1. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ không gian, trí nhớ phân tích, trí nhớ về sự khéo léo. ....	40
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....</b>	<b>54</b>
4.1. Bàn luận về độc tính cấp của viên nang HHDN001. ....	54
4.2. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm.....	54
4.2.1. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên mô hình Morris water maze.....	54
4.2.2. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên mô hình Multiple T maze .....	58
4.2.3. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên mô hình né tránh thụ động.....	59
4.2.4. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên mô hình trục quay Rotarod.....	60
4.2.5. Bàn luận về ảnh hưởng của viên nang HHDN001 trên các chỉ số oxy hoá....	61
4.3. Bàn luận về cơ chế tác dụng của viên nang HHDN001.....	63
4.3.1. Cơ chế tác dụng của HHDN001 theo Y học cổ truyền.....	63
4.3.2. Bàn luận về cơ chế tác dụng của viên nang HHDN001 theo Y học hiện đại.....	64

CHƯƠNG 5: KẾT LUẬN .....	67
5.1. Kết luận về độc tính cấp của viên nang HHDN001.....	67
5.2. Kết luận về tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm.....	67
KIẾN NGHỊ .....	69
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

## DANH MỤC BẢNG BIỂU, SƠ ĐỒ

Bảng 1.1. Biểu hiện lâm sàng điển hình theo giai đoạn của bệnh Alzheimer .....	8
Bảng 1.2: Nhóm thuốc ức chế Acetylcholinesterase .....	13
Bảng 1.3. Thành phần viên nang HHDN001 .....	22
Bảng 2.1 Thành phần 1 viên nang HHDN001 .....	28
Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình MWM.....	32
Sơ đồ 2.2. nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình MTM .....	33
Sơ đồ 2.3. Sơ đồ nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình Rotarod.....	35
Sơ đồ 2.4. Sơ đồ nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình PAT .....	37
Sơ đồ 2.5. Sơ đồ nghiên cứu. ....	38
Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của HHDN001. ....	40
Bảng 3.2.Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến thời gian tìm thấy bết đố. ....	40
Bảng 3.3.Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến quãng đường chuột tìm thấy bết đố - bết đố.....	42
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt bết đố .....	43
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của HHDN001 đến quãng đường chuột bơi.....	44
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của HHDN001 đến số lần chuột bơi vào khu vực ¼ bể trước đó có chứa bết đố.....	44
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của HHDN001 đến các chỉ số oxy hóa và viêm trong dịch đồng thể não .....	45
45	
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến thời gian tìm tới được khoang đích.....	46
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích.....	47
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến số lần quyết định sai.....	48
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của HHDN001 đến số lần lựa chọn đúng.....	49

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của HHDN001 đến thời gian và quãng đường tìm thấy khoảng đích trong ngày đánh giá chính thức .....	50
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của HHDN001 đến các chỉ số oxy hóa trong dịch đồng thể não .....	51
Bảng 3.14. Ảnh hưởng của HHDN001 đến thời gian trễ của chuột .....	52
Bảng 3.15. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến thời gian chuột ở lại trên trục quay Rotarod. ....	53

## **DANH MỤC HÌNH ẢNH**

Hình 1.1. Hình ảnh não người bình thường và não người bị bệnh Alzheimer .....	7
Hình 1.2. Đám rối Protein TAU.....	10
Hình 1.3. Mảng protein dạng bột Amyloid bám quanh các tế bào thần kinh .....	10
Hình 1.4. Cấu tạo và tác dụng của enzym Acetylcholinesterase .....	11
Hình 1.5. Cấu tạo mô hình mê cung nước Morris .....	26
Hình 1.6. Cấu tạo mô hình mê lộ nhiều chữ T .....	26
Hình 2.1. Mô hình thanh quay Rotarod .....	34
Hình 2.2. Mô hình né tránh thụ động .....	36

## CÁC CHỮ VIẾT TẮT

<b>Chữ viết tắt</b>	<b>Tên Tiếng Anh</b>	<b>Tên Tiếng Việt</b>
AD	Alzheimer's disease	Bệnh Alzheimer
ĐVTN		Động vật thực nghiệm
Invitro		Thí nghiệm trong ống nghiệm
Invivo		Thí nghiệm trong cơ thể sống
SSTT		Sa sút trí tuệ
YHCT		Y học cổ truyền

## ĐẶT VẤN ĐỀ

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

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

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

Cho đến nay, sự phát triển của Y học hiện đại vẫn chưa thể tìm ra nguyên nhân chính xác cũng như phương pháp điều trị hoàn toàn cho căn bệnh này, các loại thuốc chỉ có tác dụng làm chậm quá trình tiến triển của bệnh và hiệu quả càng cao khi bệnh được điều trị càng sớm, giúp cho chất lượng cuộc sống của bệnh nhân được cải thiện hơn [1]. Bên cạnh đó, Y học cổ truyền với các vị thuốc, bài thuốc có công năng hoạt huyết, tăng tuần hoàn não, bổ não đã được nghiên cứu và đưa vào sử dụng dưới dạng chế phẩm nhằm nâng cao tính đa dụng đối với bệnh nhân.

Viên nang HHDN001 được sản xuất và phân phối bởi Công ty cổ phần dược mỹ phẩm Kosna Việt Nam, với thành phần bao gồm dầu gấc, cao đương quy, cao bạch quả, với tác dụng tăng cường tuần hoàn não, hỗ trợ điều trị các triệu chứng do thiếu năng tuần hoàn não như đau đầu, hoa mắt, chóng mặt, suy giảm trí nhớ, kém tập trung, hay quên...

Tuy nhiên, hiện tại chưa có nghiên cứu về độc tính và tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001. Vì vậy, để có cơ sở khoa học chính xác trước khi đưa vào thử nghiệm lâm sàng, đồng thời tiến hành những thử nghiệm trên động vật thực nghiệm nhằm minh chứng cho tác dụng của sản phẩm, chúng tôi tiến hành đề tài **“Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm”** với 2 mục tiêu như sau:

- 1. Đánh giá độc tính cấp của viên nang HHDN001.*
- 2. Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm.*

## CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 1.1. Tổng quan hội chứng sa sút trí tuệ theo Y học hiện đại

#### 1.1.1. Khái niệm

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

Sa sút trí tuệ là bệnh rất thường gặp ở người cao tuổi. Khoảng 6-10% người trên 60 tuổi mắc SSTT. Tỷ lệ mắc mới của SSTT cũng tăng nhanh, từ 0,2-0,5% ở tuổi 60, tăng lên 4-11% ở tuổi 85 [6], [7].

Ở người cao tuổi, quá trình lão hóa xuất hiện, sự lão hoá của hệ thần kinh sẽ dẫn tới biến đổi các chức năng thần kinh, tâm lý tâm thần – nhất là sự suy giảm nhận thức. Suy giảm nhận thức nhẹ là nhóm bệnh có thể phát triển thành SSTT do một số nguyên nhân như bệnh Alzheimer, bệnh mạch máu, hoặc cũng có thể chỉ là quá trình lão hoá não. Từ suy giảm nhận thức phát triển thành sa sút trí tuệ nhanh hay chậm là tùy thuộc vào tác nhân gây bệnh [1].

Từ giữa những năm 1930 đến những năm 1950, nhóm bác sĩ tâm thần người Mỹ do David Rothschild đứng đầu đã xem SSTT là một vấn đề tâm lý xã hội hơn là một bệnh não.[8] Rothschild và những người theo ông lập luận rằng việc quan sát các mối tương quan không nhất quán giữa các biểu hiện lâm sàng của chứng SSTT và các phát hiện bệnh lý tốt nhất có thể được giải thích bằng khả năng bù đắp tổn thương não khác nhau của mọi người. Nhìn theo cách này, SSTT do tuổi tác không chỉ là kết quả đơn giản và không thể tránh khỏi của một bộ não đang suy thoái do lão hóa và/hoặc bệnh tật. Đó là sự tương tác giữa não bộ và bối cảnh tâm lý xã hội mà người già đang ở. Đối với các bác sĩ tâm thần người Mỹ theo định hướng tâm động học, cách tiếp cận này là một lý thuyết thỏa mãn hơn về chứng SSTT vì nó giải thích sự biến thiên thường thấy giữa mức độ bệnh lý não được tìm thấy khi

khám nghiệm tử thi và mức độ SSTT đã được quan sát trên lâm sàng, và nó cung cấp cơ sở logic để thử can thiệp trị liệu và chiến lược phòng ngừa.[8]

### 1.1.2. Biểu hiện lâm sàng của sa sút trí tuệ

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

- Thường bắt đầu bằng các hoạt động hàng ngày có sử dụng công cụ, dụng cụ (quản lý chi tiêu, lái xe, mua bán, làm việc, sử dụng thuốc...)
- Giai đoạn muộn có giảm các hoạt động cơ bản hàng ngày (ăn, mặc quần áo, đi vệ sinh...)
- Tần suất và kiểu biểu hiện giảm hoạt động chức năng thay đổi tùy từng cá nhân và thể bệnh
- Lưu ý: trong giai đoạn đầu của SSTT có thể không có sự tương quan rõ giữa giảm hoạt động hàng ngày và suy giảm nhận thức trên các trắc nghiệm
  - Các rối loạn về hành vi:
    - Hầu như bao giờ cũng gặp và thường là mục tiêu chính của điều trị
    - Thay đổi nhân cách xuất hiện sớm:
      - + Thụ động (thờ ơ, cách ly xã hội)
      - + Mất kiểm chế (nói năng lung tung...)
      - + Tự cho mình là trung tâm (tính trẻ con, thiếu sự đại lượng)
      - + Kích động, rất thường gặp và thường nặng lên khi bệnh tiến triển: kích động về lời nói, hành động, đi lang thang...
  - Trầm cảm: đặc biệt trong bệnh Alzheimer và SSTT do mạch máu
  - Biểu hiện tâm thần:
    - + Hoang tưởng (mất trộm, không chung thủy...)
    - + Rối loạn tiếp nhận: thường là ảo giác thị giác, hay gặp ở SSTT thể Lewy
  - Rối loạn giấc ngủ: mất ngủ, rối loạn chu kỳ thức – ngủ. Mất ngủ, đi lang thang và kích động là những lý do chính làm kiệt sức người chăm sóc.[9]

### **1.1.3. Nguyên nhân gây sa sút trí tuệ**

Có nhiều nguyên nhân dẫn đến SSTT như:

- Bệnh Alzheimer và SSTT thể Lewy: là nguyên nhân phổ biến nhất, chiếm khoảng 50-75%, bệnh gây mất trí nhớ, rối loạn định hướng không gian, thời gian, mất khả năng tư duy, lập luận, mất ngôn ngữ và giảm chú ý [10]
- SSTT do tổn thương mạch máu não, chiếm khoảng 15-20%: sau tai biến mạch máu, nhiều tổ chức não bị tổn thương gây rối loạn hoạt động nhận thức dẫn tới sa sút trí tuệ [11]

- SSTT do rượu [12]
- SSTT do teo thùy trán - thái dương: hay gặp hơn ở người dưới 65 tuổi [11]

- SSTT do HIV: là thể SSTT thường gặp nhất ở người <55 tuổi [11]

Các nguyên nhân ít gặp hơn:

- SSTT do thoái hóa tiên phát: SSTT thể Lewy lan tỏa, SSTT thùy trán – thái dương (bệnh Pick, bệnh Huntington...) [13]
- Các bệnh thần kinh phối hợp với SSTT: trong bệnh Parkinson, u não, chấn thương sọ não, tụ máu dưới màng cứng, bệnh mất myelin [14]
- Các nguyên nhân nhiễm trùng: giang mai thần kinh, bệnh Lyme, SSTT sau viêm não, nhiễm trùng cơ hội hoặc áp-xe não [15]
- Các nguyên nhân nội khoa: bệnh tuyến giáp và thượng thận, thiếu vitamin (thiamin, niacin, b12), bệnh chuyển hóa hoặc do dùng thuốc (an thần, thuốc ngủ, kháng cholinergic...)...[7]

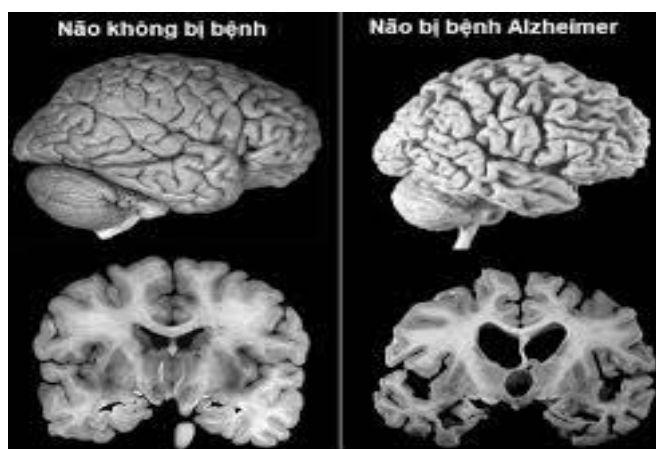
Mặc dù còn có sự khác nhau về các thủ thuật chính xác để xác định căn nguyên của suy giảm nhận thức hoặc SSTT, việc đánh giá suy giảm nhận thức đòi hỏi phải khai thác bệnh sử một cách tỉ mỉ, khám thực thể và thần kinh, đánh giá trạng thái tâm thần, và một số các xét nghiệm máu, chụp hình não. Những bệnh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

#### **1.1.4. Sơ lược về bệnh Alzheimer**

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

Alois Alzheimer đã mô tả một “quá trình bệnh nghiêm trọng đặc biệt của vỏ não” ở một bệnh nhân nữ 51 tuổi, Auguste Deter. Sau khi bệnh nhân tử vong, Alois Alzheimer đã lấy mẫu sinh thiết não bộ và tìm ra những dấu hiệu bất thường là những mảng  $\beta$ -amyloid ở ngoài tế bào thần kinh và những đám rối protein ở trong tế bào thần kinh không tan được, lắng đọng ở các tế bào thần kinh và ảnh hưởng đến sự hoạt động của chúng. Mảng và đám rối hiện nay vẫn là thước đo vàng để chẩn đoán bệnh Alzheimer. Năm 1910, Kraepelin đã lấy tên ông đặt cho tên bệnh – bệnh Alzheimer trong tái bản lần thứ 8 bài viết tâm thần học (Psychiatrie) của mình. [16]

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



**Hình 1.1. Hình ảnh não người bình thường và não người bị bệnh Alzheimer**

Bệnh Alzheimer được chẩn đoán trên lâm sàng, đơn độc hay phối hợp với các thể khác, chiếm tới gần 90% các trường hợp SSTT được báo cáo. Hai phần ba các trường hợp này có các bệnh lý phối hợp, đặc biệt là tổn thương mạch não và thể Lewy, góp phần vào các triệu chứng của SSTT (Lim và cs. 1999). [10]

- Triệu chứng lâm sàng bệnh Alzheimer:

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

[1]

Các biểu hiện tâm thần của bệnh trầm cảm có thể báo trước một chẩn đoán AD, vì những hành vi như vậy xảy ra trung bình hơn 2 năm trước khi được chẩn đoán, trong nhóm thuần tập này. Các triệu chứng loạn thần biểu hiện xung quanh thời điểm chẩn đoán, thậm chí có thể thúc đẩy chẩn đoán, trong khi các triệu chứng trầm trọng xảy ra trong năm đầu tiên sau khi chẩn đoán. Sự phát triển của các triệu chứng tâm thần trong nhóm thuần tập này khác nhau tùy theo độ tuổi khởi phát bệnh, số năm học chính thức và giới tính. [17]

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

**Bảng 1.1. Biểu hiện lâm sàng điển hình theo giai đoạn của bệnh Alzheimer**

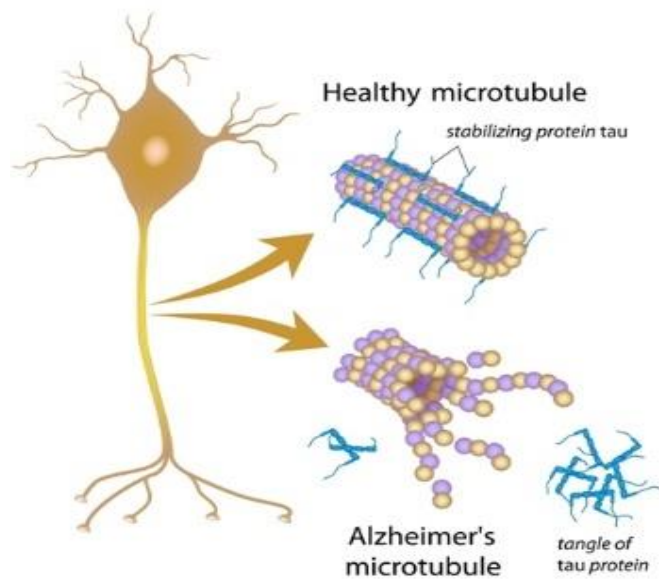
- Giai đoạn	- Biểu hiện lâm sàng [18]
- Nhẹ	- Trí nhớ giảm, có thể không rõ với những người thường xuyên tiếp xúc với bệnh nhân - Không thực hiện được các hoạt động phức tạp hơn (ví dụ chuẩn bị bữa ăn, chi tiêu,...) - Tự chăm sóc được bản thân - Tính tình trở nên thụ động - Ít hoặc không có các biểu hiện về hành vi

- Vừa	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Trí nhớ giảm rõ</li> <li>- - Không thực hiện được các hoạt động thông thường (ví dụ sử dụng bếp, gọi điện thoại,...)</li> <li>- - Không tự chăm sóc được bản thân (ví dụ tắm rửa, trang điểm,...)</li> <li>- Có rối loạn hành vi (ví dụ hội chứng hoang hôn, paranoia...)</li> <li>- Kỹ năng giao tiếp xã hội thay đổi</li> <li>- Cần người giám sát</li> </ul>
- Nặng	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Trí nhớ giảm nhiều, chỉ còn những mảnh vụn</li> <li>- Không nhận biết được người thân</li> <li>- Không thực hiện được mọi hoạt động phức tạp</li> <li>- Giảm vận động</li> <li>- Cần người giúp chăm sóc</li> </ul>

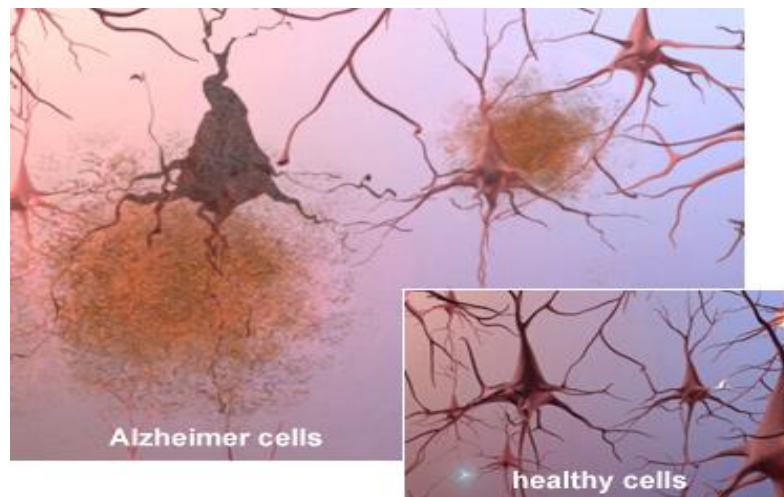
- Cơ chế của bệnh Alzheimer:

Hiện nay chưa rõ cơ chế chính xác gây rối loạn và chết tế bào thần kinh trong AD. Người ta cho rằng AD có thể do nhiều cơ chế bệnh sinh khác nhau gây nên như: sự tồn tại mảng  $\beta$ -Amyloid ( $A\beta$ ), sự phosphoryl hóa quá mức protein TAU, stress oxy hóa, sự phá hủy myelin trong não do lão hóa, hoặc suy giảm năng lượng sinh học là yếu tố khởi phát  $A\beta$ ...Tuy nhiên hầu hết các mô hình cơ chế bệnh sinh đều coi sự tích tụ mảng  $A\beta$  là nguyên nhân chính gây bệnh. [19]

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



**Hình 1.2. Đám rối Protein TAU**

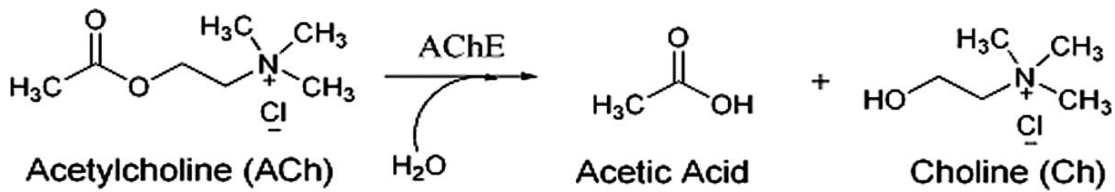


**Hình 1.3. Màng protein dạng bột Amyloid bám quanh các tế bào thần kinh**

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

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

CoA để tạo thành ACh thông qua các hoạt động của enzyme Choline Acetyltransferase.[21]



**Hình 1.4. Cấu tạo và tác dụng của enzym Acetylcholinesterase**

Theo giả thuyết cholinergic, các chất đối kháng cholinergic gây ra suy giảm trí nhớ và khả năng nhận thức của con người còn các chất đối kháng muscarinic thì có tác dụng ngược lại. Do vậy, việc ức chế AChE sẽ duy trì nồng độ và thời gian hoạt động của ACh tại các khe synap, từ đó có tác dụng duy trì khả năng ghi nhớ và khả năng học tập của con người. Sự giảm sút nồng độ ACh thường gặp ở các bệnh nhân Alzheimer, theo nghiên cứu của tác giả Di Giovanni S. và cộng sự, trong não của bệnh nhân Alzheimer có sự thiếu hụt đến gần 90% lượng chất dẫn truyền thần kinh này. Trong khi nguyên nhân gây bệnh còn chưa được các nhà khoa học làm rõ thì các chất ức chế AChE là lựa chọn hàng đầu, thông qua việc duy trì nồng độ ACh trong não, các chất này có tác dụng làm giảm các triệu chứng và ngăn chặn sự tiến triển của bệnh.[22]

**Monoamin:** Thiếu hụt norepinephrin và serotonin cũng góp phần gây ra các triệu chứng nhận thức cũng như không nhận thức, đặc biệt là các triệu chứng về khí sắc và lo âu. Norepinephrin rất quan trọng với thức tỉnh, học tập và trí nhớ. Vị trí chính sản xuất ra norepinephrin là liềm xanh trong cuống não, nơi bị mất tế bào rất nhiều trong AD.[23]

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

somatostatin cũng bị suy giảm. Tuy nhiên, vai trò của những thay đổi này trên các triệu chứng lâm sàng chưa rõ.[24]

Một số yếu tố khác được xác định có liên quan Alzheimer là yếu tố gene, homocystein, sự thiếu hụt vitamin nhóm B, trầm cảm, chấn thương đầu, và một số yếu tố hoàn cảnh, môi trường khác...[25]

### **1.1.5. Điều trị theo y học hiện đại**

Cho đến gần đây vẫn chưa có phương pháp nào thực sự điều trị khỏi SSTT nói chung hay bệnh Alzheimer nói riêng. Thuốc và chăm sóc bệnh nhân là những biện pháp chủ yếu với mục đích làm chậm quá trình phát triển của bệnh và cải thiện chất lượng cuộc sống cho người bệnh.[26]

- Các nhóm thuốc làm chậm tiến triển của bệnh:
- Nhóm thuốc ức chế Acetylcholinesterase (Cholinesterase Inhibitors - ChEIs):

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

Các thuốc trong nhóm này gồm: Tacrin (Cognex) năm 1993, Donepezil (Aricept) năm 1997, Rivastigmine (Exelon) năm 2000 và Galantamine (Reminyl) năm 2001. Các thuốc trên đều ức chế có hồi phục AChE. Ngoài ra, Rivastigmine còn ức chế có hồi phục butyrylcholinesterase; Galantamine còn có tác dụng trong việc điều biến các thụ thể nicotinic. Tác dụng điều trị cũng như tác dụng phụ của tất cả các thuốc này khá giống nhau, ngoại trừ tacrin gây độc với gan.[26]. Tacrin là một dẫn chất của Aminoacridine, là thuốc đầu tiên ở Mỹ được chấp nhận để điều trị bệnh AD dựa trên các bằng chứng nghiên cứu. Do những hạn chế của thuốc về độ dung nạp, số lần dùng và cần theo dõi chặt chẽ nên ngày nay tacrine đã không còn được sử dụng nữa.[1] Tác dụng phụ kháng cholinergic của các thuốc ức chế AChE: nôn, buồn nôn, tăng tiết acid dạ dày, chuột rút, mệt, mất ngủ...[26]

**Bảng 1.2: Nhóm thuốc ức chế Acetylcholinesterase**

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

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

Memantin (Namenda) là thuốc ức chế tác dụng của glutamat ở vị trí này, thuốc cải thiện dẫn truyền synap và/hoặc ngăn cản giải phóng Canxi – chất có thể có tác dụng bảo vệ thần kinh. Memantin được hấp thu tốt, có thời gian bán hủy  $\geq 70$  giờ nhưng vẫn được sử dụng 2 lần mỗi ngày dựa trên các kết quả nghiên cứu trong các năm cuối 1990.[27]

- Các thuốc bảo vệ thần kinh

- Estrogen: nhiều nghiên cứu cho thấy điều trị thay thế hormone có tác dụng không rõ ràng trong việc làm chậm sự khởi phát bệnh AD ở một số phụ nữ [28]

- Statins: lovastatin, pravastatin, simvastatin... có thể có tác dụng ngăn ngừa sự lắng đọng amyloid trong não thông qua việc hình thành cholesterol.[29]

- Dinh dưỡng thần kinh: vitamin E, ginkgo (chống gốc tự do), giảm sản xuất homocysteine (B6, B12), beta-carotene, cerebrolysin... [30]

- Điều trị các rối loạn về hành vi [31]

- Thay đổi môi trường sống

- Điều trị trầm cảm

- Điều trị tình trạng kích động, bạo lực

- Điều trị loạn thần, các triệu chứng hoang tưởng

- Điều trị mất ngủ

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

Tham gia các hoạt động xã hội và tăng cường thể dục thể thao, hoạt động thể lực phù hợp cũng góp phần nào cải thiện chất lượng cuộc sống của bệnh nhân mắc SSTT. [32]

## **1.2. Tổng quan sa sút trí tuệ theo Y học cổ truyền**

### **1.2.1. Bệnh nguyên, bệnh cơ**

Theo y học cổ truyền (YHCT), sách “Y học chính truyền” mô tả bệnh sa sút trí tuệ trong phạm vi chứng “ngu si”, “Tu sinh kinh” mô tả trong “si chứng”, “Cảnh Nhạc toàn thư” gọi đây là chứng “si ngai”, “Lâm chứng chỉ nam y án” gọi là chứng “thần ngai” [33]

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

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

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

Về cơ chế gây bệnh: não tủy bất túc, âm dương khí huyết của ngũ tạng suy tổn là bản; khí trệ, huyết ngưng, đàm trọc là tiêu. Đầu là nơi hội tụ của dương khí. Khi thanh dương của lục phủ không thể hội tụ ở đầu, tủy hải bất túc, thần minh không được dinh dưỡng, công năng thất thường, không thể bảo vệ được bên ngoài cơ thể và ngũ quan, chín khiếu, dần dần sẽ gây sa sút trí tuệ. [33]

□ Các nguyên nhân chính:

• Thận khuy tuổi già

YHCT cho rằng: thận chủ cốt, tàng chí, sinh tủy, não là bể của tủy. Khi thận tinh sung túc thì chức năng sinh tủy được thịnh vượng, não tủy dồi dào, tinh lực tràn trề, trí lực tốt, tai thính, mắt tinh, động tác linh lợi. Khi cơ thể trở nên lão hoá, thận tinh suy nhược, không sinh tủy để bổ sung cho não được gây giảm trí nhớ, giảm quyết định hành động mà thành SSTT.[33]

• Ăn uống không điều độ

Tỳ chủ vận hóa, tỳ tàng ý. Do ăn quá nhiều đồ ngọt béo, hoặc uống nhiều rượu thành nghiện, làm tổn thương tỳ vị, chức năng vận hoá bị suy giảm, thấp trọc đình trệ lại ở bên trong cơ thể lâu ngày hoá đàm. Đàm trọc nội thịnh, đưa lên trên che lấp thanh khiếu, nhiễu loạn thần minh, làm ý không có chỗ tàng. Hoặc do trong cơ thể sẵn có đàm thấp nội thịnh, lại thêm ngoại cảm nhiệt tà, thấp nhiệt kết lại trong cơ thể, che lấp thanh khiếu, nhiễu loạn thần minh mà gây chứng SSTT.[33]

• Thất tình nội thương

Do tình chí bất toại kéo dài, lo âu quá độ, tâm tỳ hao tổn, khí huyết hư suy, làm cho thần chí thất dưỡng. Tỳ hư nên không thể hoá sinh khí huyết, thanh dương không thăng nên không thể bổ sung tinh hoa khí huyết cho não được. Hoặc do tình chí bất toại, can khí uất kết, khiến cho khí huyết nghịch loạn, nhiễu loạn thần minh. Hoặc do can uất bất đạt, khí cơ trở trệ lâu ngày khiến cho tân dịch đình trệ, đàm kết, ảnh hưởng đến lạc mạch của não, thần chí thất dưỡng, lâu ngày dẫn tới SSTT.[33]

• Mất cân bằng giữa làm việc và nghỉ ngơi

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

Quá an nhàn, không làm việc, khí huyết vận hành không thông suốt, tỳ vị không chủ được vận hoá sinh ra đàm thấp cũng là những nguyên nhân gây bệnh.[33]

Như vậy, nguyên nhân gây SSTT chủ yếu là hư, tuy nhiên bệnh có cả hư lẫn thực. Tạng phủ khí huyết bất túc, âm dương thất điều, làm cho tủy hải không được sung túc, não suy, thần nhược là hư. Khí trệ, huyết ngưng, đàm trọc bít tắc các khiếu, làm mất sự linh hoạt của não là thực. Trên lâm sàng có thể đơn độc tồn tại chứng thực hoặc chứng hư; cũng có thể biểu hiện hư thực thác tạp.[33]

### 1.2.2. Các thể lâm sàng

Do người bệnh suy giảm trí nhớ, không thể trả lời chính xác các câu hỏi của thầy thuốc làm ảnh hưởng rất nhiều tới chẩn đoán xác định, đặc biệt là chẩn đoán thể bệnh theo YHCT. Vì vậy, việc chẩn đoán chủ yếu dựa vào quan sát chất lưỡi, rêu lưỡi và mạch chẩn.

- Thể thận tinh khuỵu tổn [33]

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

Pháp điều trị: bổ thận ích tinh

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

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

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

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

Thục địa	320g	Sơn thù	160g
Hoài sơn	160g	Trạch tả	120g
Bạch linh	120g	Đan bì	120g

Kỷ tử	120g	Hoàng tinh	120g
Quế chi	80g	Phụ tử chế	40g
Tử hà xa	1 cái		

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

Châm cứu: Châm bổ tứ thần thông, thần đình, chi câu, thái khê, tam âm giao, nội quan, thần môn. Thời gian: 20-30 phút/lần x 1-2 lần/ngày.[33]

- Thể khí huyết lưỡng hư [33]

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

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

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

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

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

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

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

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

Châm cứu: Châm bổ tứ thần thông, thần đình, chi câu, túc tam lý, thái khê, tâm du, nội quan, thần môn, huyết hải, tam âm giao. Thời gian: 20-30 phút/lần x 1-2 lần/ngày.[33]

- Thê đàm trọc trở khiếu [33]

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

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

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

Địch đàm thang gia giảm

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

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

Bán hạ bạch truật thiên ma thang

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

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

Châm cứu: Châm bổ tứ thần thông, thần đình, chi câu, túc tam lý; châm tả: phong long. Thời gian: 15-30 phút/lần x 1-2 lần/ngày.[33]

- Thê khí trệ huyết ngưng [33]

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

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

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

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

Sắc uống ngày 1 thang, chia 2 lần.

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

Thời gian: 20-30 phút/lần x 1-2 lần/ngày.[33]

### 1.3. Tổng quan nghiên cứu trên thế giới và trong nước

#### 1.3.1. Trên thế giới

Năm 2021, Teymuori và cộng sự nghiên cứu Tác dụng chiết xuất từ quả Hồ tiêu và vỏ cây Quế quan, riêng lẻ và kết hợp, chống lại chứng suy giảm trí nhớ do Scopolamine gây ra ở chuột. Kết quả cho thấy Việc sử dụng Scopolamine làm suy giảm đáng kể hiệu suất trí nhớ trong cả hai mô hình trí nhớ. Trong mô hình thử nghiệm né tránh thụ động (PAT), chiết xuất từ quả Hồ tiêu (PN) ở liều lên đến 100 mg/kg và chiết xuất từ vỏ cây Quế quan (CZ) ở liều lên đến 400 mg/kg không làm thay đổi đáng kể tình trạng suy giảm trí nhớ do scopolamine gây ra. Sự kết hợp của hai chiết xuất thực vật này không làm thay đổi các thông số PAT. Tuy nhiên, trong mô hình thử nghiệm nhận dạng đối tượng (ORT), việc sử dụng riêng CZ 100 mg/kg và kết hợp PN (50 mg/kg) với CZ (400 mg/kg) đã làm tăng đáng kể chỉ số nhận dạng ( $p < 0,05$ ). [34]

Năm 2022, Mir-Jamal Hosseini và cộng sự nghiên cứu Tác dụng bảo vệ của chiết xuất Vinca herbaceous chống lại các rối loạn hành vi do Scopolamine gây ra và stress oxy hóa não ở chuột. Kết quả cho thấy điều trị bằng chiết xuất V. herbacea (200 & 400 mg/kg) và donepezil đã cải thiện hiệu suất trí nhớ đáng kể khi so sánh với chuột mắc Alzheimer. Ngoài ra, chiết xuất V. herbacea ở chuột mắc Alzheimer có biểu hiện sự giảm nồng độ malondialdehyde (MDA) và protein carbonyl (PCO)

và sự gia tăng tổng lượng khả năng chống oxy hóa (FRAP) và glutathione (GSH) trong não và gan. [35]

Năm 2022, Seong Min Hong và cộng sự nghiên cứu tác dụng của hỗn hợp lá bạch quả và chiết xuất quả *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. trong việc làm giảm chứng suy giảm trí nhớ do Scopolamine gây ra ở chuột. Kuả của cho thấy hỗn hợp chiết xuất từ lá *G. biloba* L. (GL) và quả *H. erinaceus* (Bull.) Pers. (HE) bảo vệ tế bào thần kinh chống lại rối loạn chức năng thần kinh do Scopolamine gây ra. Ngoài ra, hỗn hợp này còn ức chế hoạt động của AChE trong não chuột. [36]

Năm 2024, Xiang Zhao và cộng sự nghiên cứu Tác dụng cải thiện tình trạng suy giảm nhận thức do Scopolamine gây ra bằng bài thuốc Fufangmuniziqi (FFMN). FFMN cải thiện tình trạng suy giảm nhận thức và trí nhớ ở mô hình chuột mắc Alzheimer do SCO gây ra. ALK chủ yếu tăng cường chức năng của hệ thống cholinergic. Các phân đoạn flavonoid và saponin chủ yếu làm giảm tình trạng viêm thần kinh và stress oxy hóa bằng cách điều chỉnh con đường NF- $\kappa$ B. [37]

### 1.3.2. Tại Việt Nam

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

Nguyễn Bích Hạnh (2017): Đánh giá tác dụng ức chế enzym Acetylcholinesterase in vitro của các phân đoạn dịch chiết hoàng liên (*coptis chinensis franch*), cho thấy tất cả các phân đoạn dịch chiết này đều thể hiện tác dụng ức chế enzym AChE. [35]

Năm 2021, Phạm Thị Nguyệt Hằng và cộng sự nghiên cứu tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ và bảo vệ tế bào thần kinh của cao chiết giàu flavonoid từ hoa *Talipariti elatum* (Sw.) Fryxell. Kết quả thu được trong nghiên cứu này đã chứng

minh cao chiết giàu Flavonoid từ hoa *T. elatum* có tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ/nhận thức trên mô hình chuột nhắt bị tổn thương thần kinh gây bởi TMT, được đánh giá thông qua thử nghiệm nhận diện đồ vật chuyển vị trí và thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến. Cơ chế cải thiện suy giảm trí nhớ trên chuột TMT cao *T. Elatum* liên quan đến khả năng tăng cường bảo vệ thần kinh, hồi phục tổn thương tế bào thần kinh vùng CA1 và CA3 hồi hải mã gây bởi TMT, được đánh giá bằng phương pháp nhuộm hóa mô Nissl. [36]

Năm 2024, Nguyễn Lê Việt Hùng và cộng sự nghiên cứu khảo sát khả năng cải thiện trí nhớ của viên nén Đan sâm - Tam thất trên in vivo và in vitro. Kết quả cho thấy Viên nén Đan sâm – Tam thất có khả năng ức chế Acetylcholinesterase với LD50: 28,16 mg/ml và với 3 mức liều khảo sát (1 viên/kg; 1,5 viên/kg; 2 viên/kg) có khả năng khôi phục trí nhớ trên chuột nhắt suy giảm trí nhớ bởi Scopolamin sau uống 21 ngày trong mô hình ma trận bơi. [37]

Năm 2024, Lê Thị Hồng Hạnh và cộng sự nghiên cứu tác dụng tăng cường trí nhớ của viên nang mềm Hup A bằng mô hình scopolamine trên chuột nhắt trắng. Kết quả: Tần suất và phần trăm thay đổi luân phiên lô trị hai có giá trị cao so với lô Scop ( $p < 0,05$ ). Lô Galantamine (Galan) và lô có giá trị cao hơn lô Chứng nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ). Thời gian chuột bơi khi tìm thấy bèo dẽ tại thời điểm 7 ngày ở lô trị một và trị hai, lô Galan giảm khác biệt so với lô Scop ( $p < 0,05$ ). Chuột được uống Hup A 21 ngày liên tục với liều 2 làm tăng thời gian bơi tại bèo dẽ so với lô Scop ( $p < 0,05$ ) và tương đương với lô Chứng ( $p > 0,05$ ). [38]

#### **1.4. Tổng quan về sản phẩm nghiên cứu.**

##### **1.4.1. Nguồn gốc**

Viên nang HHDN001 được sản xuất và phân phối bởi Công ty cổ phần dược mỹ phẩm Kosna Việt Nam.

**Bảng 1.3. Thành phần viên nang HHDN001**

Thành phần		Hàm lượng
1	Dầu gấc <i>Oleum Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng.	300mg
2	Cao Đương quy <i>Extractum Radix Angelicae sinensis</i>	40mg
3	Cao Bạch quả <i>Extractum Ginko biloba</i> L.	40mg
Tá dược khác: Dầu cọ, Lecithin, Sáp ong, Colloidal silicon dioxide, Gelatin, Glycerin, Sorbitol, Ethyl vanillin, Titan dioxyd, Methylparaben, Propylparaben, Brown HT, Brilliant blue, Nước tinh khiết vừa đủ.		Vừa đủ 1 viên

**1.4.2. Phân tích tác dụng các vị thuốc theo Y học cổ truyền.**

Dầu gấc có vị ngọt, tính bình, có tác dụng bổ tỳ vị, làm sáng mắt. [39]

Đương quy vị Cam, tân, tính ôn. Vào các kinh can, tâm, tỳ. Công năng, chủ trị: Bỏ huyết, hoạt huyết, điều kinh, giảm đau, nhuận tràng. Chủ trị: Huyết hư, chóng mặt. Kinh nguyệt không đều, bế kinh đau bụng kinh, táo bón do huyết hư. Phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn. [40], [41]

Bạch quả có vị ngọt, đắng chát với tính bình và có độc. Quy vào kinh Phế. Công dụng: ích khí, ích phôi, tiêu đờm, sát trùng, giải rượu, cầm tiểu tiện... Chủ trị: Hen suyễn, khí hư bạch đới ở phụ nữ, viêm đường tiết niệu, xuất tinh sớm, di tinh ở nam giới, cơ thể suy nhược... [42]

**1.4.3. Phân tích tác dụng các vị thuốc theo Y học hiện đại.**

Dầu gấc chứa hàm lượng beta-caroten rất cao, là tiền chất của Vitamin A – một vitamin rất cần cho cơ thể, sự chuyển hoá lipid, nguyên tố vi lượng và phosphor, duy trì sự hoàn chỉnh của tổ chức biểu mô như da và niêm mạc, tham gia sự hình thành chất rhodopsin tồn tại trong các que võng mạc... Đã có nhiều nghiên cứu cho thấy dầu gấc có khả năng tăng làm lành vết thương, vết bỏng và các ổ loét, tăng lưu lượng máu nhanh trong một thời gian ngắn [39]

Đương quy có tác dụng Tác dụng kiểu estrogen và progesteron yếu. Gây tăng trương lực và biên độ co bóp tử cung. Ức chế sự ngưng kết tập tiểu cầu. Tăng lực. Tăng đề kháng. Chống viêm. Ức chế co thắt cơ trơn ruột. Tăng cường tuần hoàn não. [41]

Bạch quả đã được nghiên cứu nhiều về tác dụng cải thiện thiếu năng tuần hoàn não và bệnh tuần hoàn ngoại biên, thông qua tác dụng gây co của bạch quả có thể do giải phóng catecholamin từ dự trữ nội sinh ở mô. Các flavonoid và papaverin trong bạch quả gây giãn phụ thuộc nội mô động mạch chủ thỏ, tăng chuyển hoá các gốc tự do. Bảo vệ chống tổn thương mô não gây bởi mô hình giảm oxy khí thở, bảo vệ khỏi thiếu máu cục bộ não, có tác dụng tốt trên nhồi máu não cấp tính hoặc thiếu máu cục bộ não gây nên bởi nghẽn mạch. Ngoài ra bạch quả còn có tác dụng cải thiện tổn thương tiền đình – thính giác và một số tác dụng khác. [42]

## **1.5. Tổng quan về các phương pháp nghiên cứu độc tính và ý nghĩa về việc nghiên cứu tính an toàn của thuốc y học cổ truyền**

### **1.5.1. Thuốc y học cổ truyền và nguyên nhân tiến hành thử độc tính**

Thuốc y học cổ truyền Việt Nam đã có lịch sử tồn tại và phát triển từ hàng ngàn năm nay. Lịch sử phát triển của thuốc cổ truyền gắn liền với lịch sử tồn tại, phát triển của dân tộc Việt Nam. Thuốc đông y, thuốc từ dược liệu dễ dàng được đón nhận nhờ vào bề dày lịch sử cũng như người dân tin rằng thuốc YHCT bào chế từ thảo dược sẽ ít có tác dụng phụ hơn so với thuốc tây.

Đáp ứng thị hiếu người tiêu dùng, các nhà sản xuất thuốc cổ truyền của Việt Nam đã “tự do” cho ra đời hàng loạt các chế phẩm không qua thử nghiệm hoặc thử nghiệm không đầy đủ theo chuẩn từ nhiều dược liệu khác nhau, đa dạng phong phú về tên gọi, chủng loại, thành phần, tác dụng cũng như cách bào chế, giá cả tạo nên một thị trường thuốc từ dược liệu, thuốc đông y khó kiểm soát. [43].

Vì vậy, việc nghiên cứu độc tính của các thuốc y học cổ truyền nhằm:

- Đánh giá hiệu quả của qui trình bào chế cổ truyền.
- Đánh giá tính an toàn của thuốc.
- Đánh giá tác dụng điều trị.
- Đánh giá tác dụng hỗ trợ điều trị.

- Đánh giá tác dụng có lợi đối với sức khỏe con người.
- Các đánh giá khác tùy theo mục tiêu nghiên cứu.

### **1.5.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp**

#### **1.5.2.1. Mục tiêu:**

Thử độc tính cấp nhằm cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của thuốc; điều trị ngộ độc cấp; thiết lập mức liều cho những thử nghiệm độc tính tiếp theo. Do vậy, các phép thử độc tính cấp cần xác định. [43]

- Liều an toàn;
- Liều dung nạp tối đa;
- Liều gây ra độc tính có thể quan sát được;
- Liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có);
- Liều LD50 gần đúng (nếu có thể xác định được);
- Những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục (nếu có).

#### **1.5.2.2. Mô hình thử**

##### **a) Nguyên tắc lựa chọn:**

Tùy theo mục đích của mỗi nghiên cứu và loại mẫu thử và những thông tin sẵn có để lựa chọn mô hình thử thích hợp. Loài động vật gặm nhấm thường được sử dụng là chuột nhắt, chuột cống; loài không gặm nhấm có thể dùng là chó hoặc khỉ. Số nhóm và số lượng cho mỗi nhóm tùy theo mô hình áp dụng.

Thử sơ bộ: thường được thực hiện trong hầu hết các mô hình thử. Dựa vào kết quả trong thử nghiệm sơ bộ để lựa chọn, bố trí thử nghiệm chính thức. Với những trường hợp thông tin cho thấy mẫu thử hoặc các chất liên quan có thể không độc hoặc ít độc, có thể thử trên một loài động vật (gặm nhấm). Đối với các chế phẩm có độc cao hoặc có yêu cầu đặc biệt về khoa học, cần thiết thử trên hai loài ĐVTN (gặm nhấm và không gặm nhấm). Khuyến cáo: Để bảo vệ động vật, các mô hình sử dụng số ít động vật thí nghiệm được ưu tiên lựa chọn .

##### **Mô hình liều cố định:**

Nguyên tắc: Mô hình thử liều cố định được các nước thuộc OECD áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 420). Thử nghiệm được thực hiện với các

mức liều xác định 5,50,300,2000,5000mg/kg hay 1,0/kg ĐVTN. Lựa chọn liều thử đầu tiên liều thử trên một nhóm 5 ĐVTN. Thử nghiệm tiếp tục cho đến khi xác định mức độ độc dựa trên đáp ứng ĐVTN chết hoặc không và các triệu chứng ngộ độc, khả năng hồi phục quan sát được. Xác định giá trị LD50 gần đúng (nếu có). Phép thử phù hợp với tất cả trường hợp cần xác định độc tính cấp. [43]

## **1.6. Tổng quan về các mô hình nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên thực nghiệm**

### **1.6.1. Mô hình gây suy giảm trí nhớ**

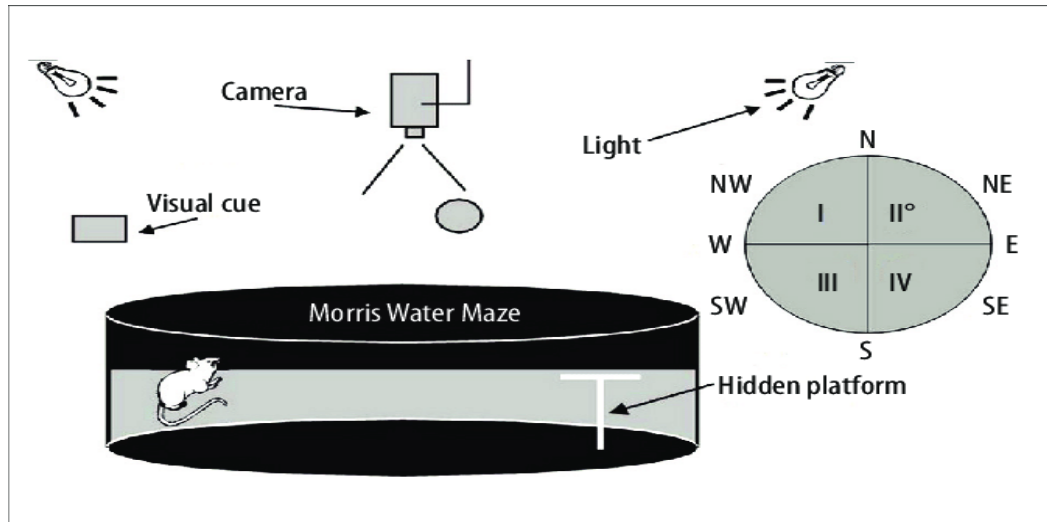
Để nghiên cứu thuốc cải thiện trí nhớ thì trước tiên phải gây được mô hình suy giảm trí nhớ. Đối tượng nghiên cứu thường được sử dụng là động vật gặm nhấm như chuột cống và chuột nhắt. [2],[44],[26]

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

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

Đây là một thử nghiệm đánh giá khả năng học tập và trí nhớ không gian trong môi trường nước. Chuột được đặt trong một bể bơi hình tròn lớn và nhiệm vụ của nó là tìm thấy bến đỗ để thoát khỏi nước. Có 3 chiến thuật cơ bản để chuột thoát khỏi mê cung: ghi nhớ các động tác cơ bản để đến được bến đỗ, sử dụng các dấu hiệu trực quan để tìm đến bến đỗ, sử dụng các tín hiệu xa làm điểm tham chiếu để xác định vị trí nó đang bơi và vị trí bến đỗ. Đặc biệt sự linh hoạt trong quá trình nhận thức của chuột còn có thể được đánh giá bằng cách sử dụng mô hình mê cung nước trong đó bến đỗ được giấu đi, hoặc thay đổi vị trí xuất phát của chuột. [2], [48]

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

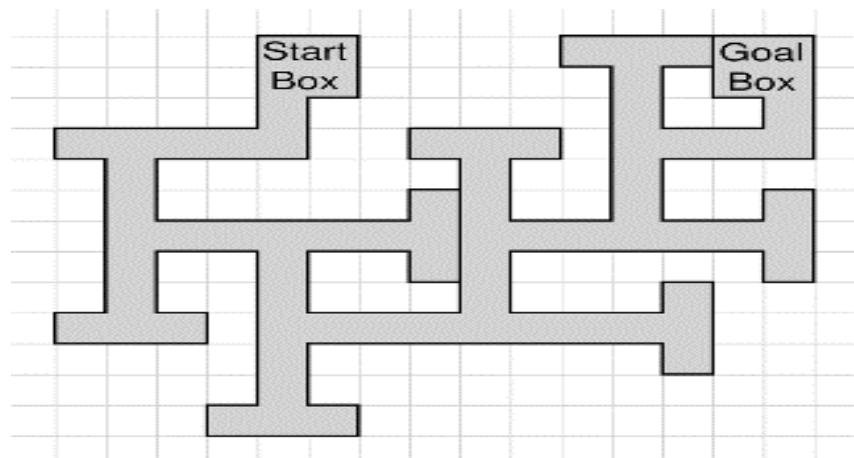


**Hình 1.4. Cấu tạo mô hình mê cung nước Morris**

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

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

Cấu tạo mê cung nhiều chữ T: Mê cung được làm bằng chất liệu nhựa composit, có kích cỡ chiều dài - rộng - cao tương ứng là 150 x 130 x 15cm, đường đi có độ rộng 8 cm. [2], [52].



**Hình 1.5. Cấu tạo mô hình mê lộ nhiều chữ T**

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

Mô hình được cấu tạo dạng hình hộp chữ nhật có 2 ngăn giống nhau, ở giữa có cửa thông. Tiến hành gây kích thích sợ hãi cho chuột bằng điện giật (trước đó đã có ánh sáng và còi báo hiệu) ở ngăn mà chuột đang đứng. Nếu chuột có trí nhớ tốt sẽ có phản xạ né tránh điện giật bằng cách nhảy qua cửa ngăn cách sang ngăn đối diện khi có còi và đèn báo (phản xạ có điều kiện) hay khi đang bị sốc điện (phản xạ vô điều kiện).[2],[53]

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

Chuột bẩm sinh luôn có xu hướng thích bóng tối. Ở thử nghiệm này chuột được đặt vào một hình hộp chữ nhật có 2 ngăn sáng và tối. Tiến hành đặt chuột vào ngăn sáng và khi chuột đi sang ngăn tối thì ngay lập tức bị điện giật. Chuột phải học cách tránh kích thích sợ hãi trong bóng tối bằng việc duy trì vị trí trong phòng có ánh sáng nhân tạo và không bước vào phòng tối, nơi mà nó nhận kích thích sợ hãi. Chuột nào không có khả năng ghi nhớ thì sẽ bước qua ranh giới sớm hơn. [54]

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

Mô hình đánh giá trí nhớ hình ảnh bằng cách cho chuột khám phá các vật thể có màu sắc và hình dạng khác nhau. Chuột có trí nhớ và khả năng nhận thức tốt sẽ có xu hướng khám phá vật thể lạ nhiều hơn vật thể cũ. Chỉ số đánh giá bằng phần trăm thời gian khám phá vật thể lạ. [55].

Ngoài ra còn một số mô hình khác như: mê cung chữ Y [55], mô hình đánh giá trí nhớ mùi...cũng được sử dụng để nghiên cứu.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng các mô hình mê cung nước Morris, mê cung nhiều chữ T, mô hình thanh quay Rotarod và mô hình né tránh chủ động, sau khi gây suy giảm trí nhớ của chuột bằng scopolamin. Đây đều là các mô hình đánh giá trí nhớ không gian có nhiều ưu thế như đơn giản, dễ thực hiện, thời gian nghiên cứu ngắn, độ tập trung của động vật nghiên cứu cao.

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

### 2.1. Chất liệu nghiên cứu

#### 2.1.1. Thuốc nghiên cứu

- Mẫu nghiên cứu: Viên nang HHDN001 được sản xuất và phân phối bởi Công ty cổ phần dược mỹ phẩm Kosna Việt Nam

- Dạng bào chế: Viên nang, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Các vị thuốc đạt tiêu chuẩn dược điển Việt Nam V.

- Ngày sản xuất:

**Bảng 2.1 Thành phần 1 viên nang HHDN001**

Thành phần		Hàm lượng	Tiêu chuẩn
1	Dầu gấc <i>Oleum Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng.	300mg	TCCS ĐDVN V
2	Cao Đương quy <i>Extractum Radix Angelicae sinensis</i>	40mg	
3	Cao Bạch quả <i>Extractum Ginko biloba</i> L.	40mg	
Tá dược khác: Dầu cọ, Lecithin, Sáp ong, Colloidal silicon dioxide, Gelatin, Glycerin, Sorbitol, Ethyl vanillin, Titan dioxyd, Methylparaben, Propylparaben, Brown HT, Brilliant blue, Nước tinh khiết vừa đủ.		Vừa đủ 1 viên	TCCS

Liều dùng dự kiến trên lâm sàng ở người: Người lớn uống mỗi lần 01 viên, ngày 3 lần. Tính trung bình một người nặng 50kg thì liều trên người lớn là 1140mg dược liệu/03 viên/50kg, tương đương 22,8mg dược liệu/0,06 viên/kg.

Quy đổi ra liều tương đương trên chuột nhắt trắng với hệ số ngoại suy 12 [56] thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột là 273,6mg dược liệu/kg và liều cao gấp 2 lần là 547,2mg dược liệu/kg.

Quy đổi ra liều tương đương trên chuột cống trắng với hệ số ngoại suy 6 [56] thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột là 136,8mg dược liệu /kg và liều cao gấp 2 lần là 1,08 viên/kg.

### **2.1.2. Dụng cụ, hoá chất và máy móc nghiên cứu**

- Scopolamin hydrobromid lọ 1 gam (Sigma Aldrich, Hoa Kỳ).
- Donepezil hydrochlorid viên nén 5mg, tên biệt dược Aricept (Pfizer).
- Nước muối sinh lý 0,9% chai 500 mL (B.Braun, Việt Nam)
- Các hóa chất nghiên cứu dùng để xác định hàm lượng MDA và GSH trong gan: Acid ascorbic, muối Mohr, acid thiobarbituric, kali clorid, acid tricloacetic, 5,5-Dithiol-bis (2-nitrobenzoic acid) (Sigma Aldrich, Đức).
- ELISA kit TNF- $\alpha$  (Cloud-Clone Corp).
- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001gam.
- Kim đầu tù cho chuột uống.
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1mL, 5mL.
- Mê cung nước Morris.
- Mê lộ nhiều chữ T.
- Mô hình thanh quay Rotarod của hãng Ugo Basile, model 7650.
- Mô hình né tránh thụ động của hãng Ugo Basile, model 7552
- Camera
- Phần mềm phân tích kết quả Anymaze, Công ty US Biotech, Hoa Kỳ.

## **2.2. Đối tượng nghiên cứu**

### **2.2.1. Nghiên cứu độc tính cấp**

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, thuần chủng, cả hai giống, nặng 18-22 gam do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp.

### **2.2.2. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ thông qua phản xạ có điều kiện trí nhớ không gian, trí nhớ phân tích, trí nhớ về sự khéo léo**

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, thuần chủng, cả hai giống, nặng 18-22 gam do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp.

Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng  $160 \pm 20g$  do Cơ sở động vật thí nghiệm Đan Phượng – Hà Nội cung cấp

Động vật được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Đại học Y Hà Nội từ 7 -10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

### **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm, có đối chiếu với nhóm chứng.

#### **2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang HHDN001**

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của viên nang HHDN001 trên chuột nhắt trắng theo phương pháp Litchfield- Wilcoxon [57], [58].

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

Chuột nhắt trắng được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống MED001 với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị để xác định LD<sub>50</sub> của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống MED001.

#### **2.3.2. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm**

*2.3.2.1. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ không gian, trí nhớ phân tích, trí nhớ về sự khéo léo*

##### **\*Mô hình mê cung nước Morris (Morris water maze – MWM)**

Thử nghiệm mê cung nước Morris được thực hiện theo phương pháp của Lee và cộng sự (2011) [2].

##### **❖ Phương pháp tiến hành**

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

- Lô 1 (chứng sinh học): Tiêm màng bụng nước muối sinh lý 0,1ml/10g.
- Lô 2 (mô hình): Tiêm màng bụng Scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.
- Lô 3 (chứng dương): Uống thuốc chứng dương Donepezil liều 2,4mg/kg, 0,2ml/10g, sau đó 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10kg.

- Lô 4 (*HHDN001 liều tương đương lâm sàng*): uống thể tích tương tự chứa 273,6mg /kg, sau 30 phút tiêm màng bụng Scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g.
- Lô 5 (*HHDN001 liều cao*): uống thể tích tương tự 547,2mg dược liệu/kg, sau 30 phút tiêm màng bụng Scopolamin liều 1mg/kg, 0,1ml/10g. Chuột được tiêm và cho uống thuốc trong 6 ngày liên tiếp.

### **Thử nghiệm gồm 2 giai đoạn:**

#### **Giai đoạn học hỏi**

Thời gian 5 ngày, chia thành 2 bài tập:

- Bài tập nhìn thấy bển đồ

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

- *Bài tập không nhìn thấy bển đồ:*

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

#### ***Chỉ số đánh giá:***

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

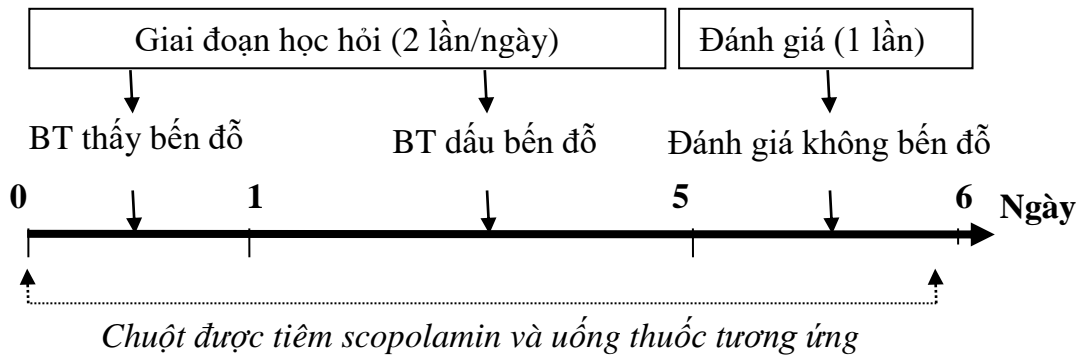
#### **Giai đoạn đánh giá chính thức**

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

trong phòng và có xu hướng bơi lâu tại 1/4 bể có đặt bển đồ từ những ngày tập trước.

*Chỉ số đánh giá:*

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



**Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình MWM**

Kết thúc thử nghiệm, tiến hành gây mê và giết chuột. Toàn bộ não được bóc lộ và lấy ra khỏi hộp sọ, và rửa bằng nước muối sinh lý lạnh. Các mẫu mô não được chuyển sang dịch đồng thể để định lượng một số nồng độ:

- Nồng độ MDA, GSH.
- Nồng độ cytokine tiền viêm TNF- $\alpha$  được xác định bằng phương pháp ELISA

**\*Mê cung nhiều chữ T (Multiple T maze – MTM)**

Thử nghiệm được tiến hành theo phương pháp của S. K. Falsafi và cộng sự (2012). [2]

*Phương pháp tiến hành*

Chuột nhắt được chia thành các lô tương tự thí nghiệm Mê cung nước Morris mỗi lô 8 con (n=8).

Chuột được tiêm và cho uống thuốc trong 8 ngày liên tiếp.

Thử nghiệm được tiến hành sau khi tiêm scopolamin 30 phút.

Trước mỗi thử nghiệm, chuột được nhịn ăn 16 giờ để tạo động lực tìm kiếm thức ăn.

Chuột được đặt ở khoang xuất phát là một buồng tối trong 10 giây.

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

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

Ngay khi kết thúc mỗi thử nghiệm, toàn bộ mê cung được lau sạch bằng dung dịch cồn 70%.

Thử nghiệm chia thành 2 giai đoạn:

#### Giai đoạn học hỏi

Trước khi thử nghiệm chuột được làm quen và khám phá mê cung vào ngày 0 (chuột chưa được tiêm và uống thuốc), những chuột nào tìm được đến khoang đích trong 8 phút mới được lựa chọn tiếp tục đưa vào thử nghiệm.

Sau đó chuột được học hỏi trong 5 ngày liên tiếp tính từ ngày đầu tiên cho chuột tiêm và uống thuốc, 1 lần/ngày.

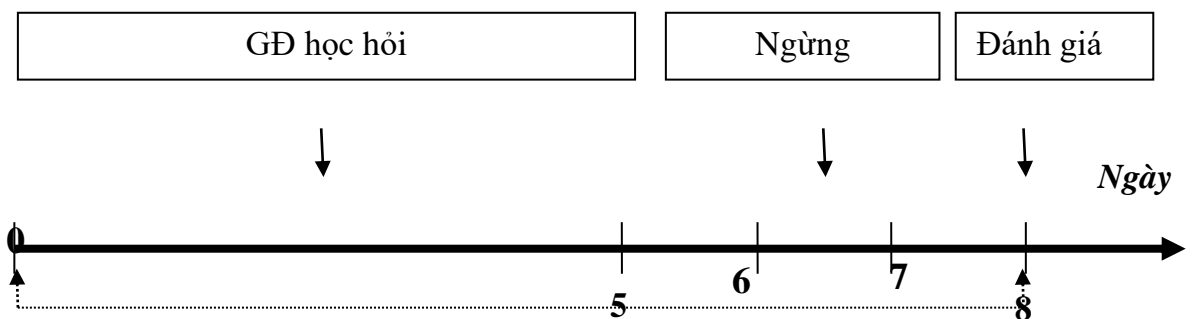
#### Giai đoạn đánh giá chính thức

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

#### **Chỉ số đánh giá:**

Thời gian chuột tìm tới được khoang đích.

Chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích.



*Chuột được tiêm scopolamin và uống thuốc tương ứng*

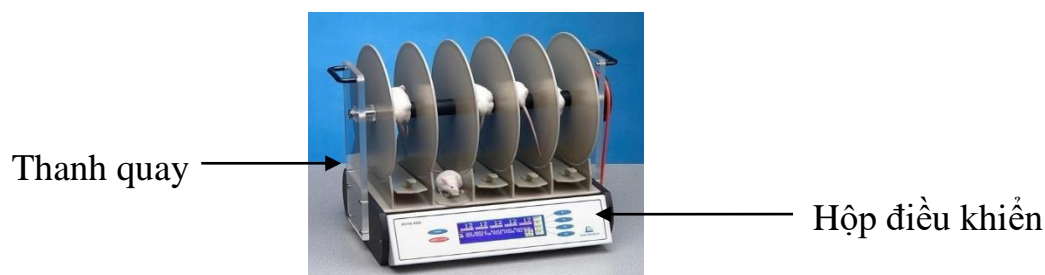
**Sơ đồ 2.2. nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình MTM**

Kết thúc các mô hình đánh giá hành vi, tiến hành gây mê và giết chuột. Toàn bộ não được bộc lộ và lấy ra khỏi hộp sọ và rửa bằng nước muối sinh lý lạnh. Các mẫu mô não được chuyển sang dịch đồng thể để định lượng một số nồng độ:

- Nồng độ MDA, GSH.
- Nồng độ cytokine tiền viêm TNF- $\alpha$  được xác định bằng phương pháp ELISA.

**\* Mô hình thanh quay Rotarod**

Thử nghiệm được tiến hành theo phương pháp của S. K. Falsafi và cộng sự (2012) [52].



**Hình 2.1. Mô hình thanh quay Rotarod**

❖ Phương pháp tiến hành

Chuột nhắt trắng được chia lô như trên và uống thuốc như mô hình mê cung nước Morris. Chuột được tiêm và cho uống thuốc trong 7 ngày liên tiếp. Trước mỗi thử nghiệm chuột phải được đưa vào phòng thử nghiệm trước 30 phút (để chuột làm quen với phòng).

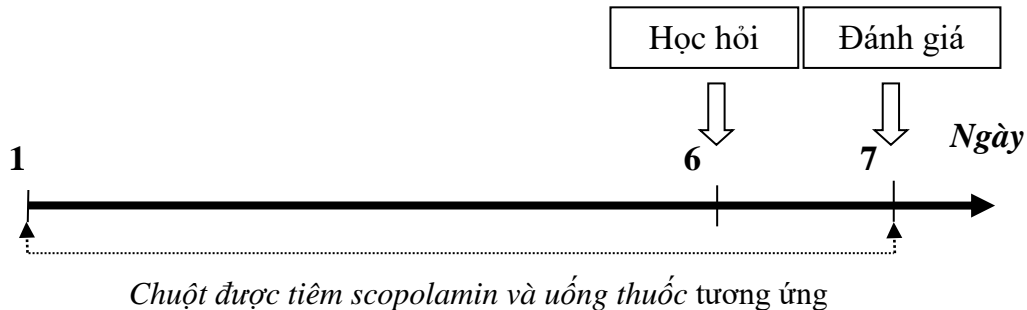
**Thử nghiệm được chia thành 2 giai đoạn**

**Giai đoạn học hỏi**

Chuột được huấn luyện vào ngày 6 tính từ ngày đầu tiên dùng thuốc. Cài đặt máy để tăng tốc độ từ 4 đến 40 vòng/phút trong 8 phút. Máy sẽ giữ nguyên tốc độ 4 vòng/phút không đổi cho đến khi bắt đầu chính thức ghi thời gian. Thử nghiệm bắt đầu được tiến hành sau khi tiêm scopolamin 30 phút. Lần lượt cho chuột lên thanh quay 3 lần, mỗi lần cách nhau 10 phút. Trong mỗi lần thử nghiệm, nếu quá 8 phút mà chuột vẫn không rơi khỏi trục quay thì dừng lại và ghi kết quả 8 phút. Sau mỗi lần huấn luyện lau sạch máy với cồn 70%.

**Giai đoạn đánh giá chính thức**

Tiến hành vào ngày 7, tính từ ngày đầu tiên dùng thuốc, tiến hành tương tự như giai đoạn học hỏi.



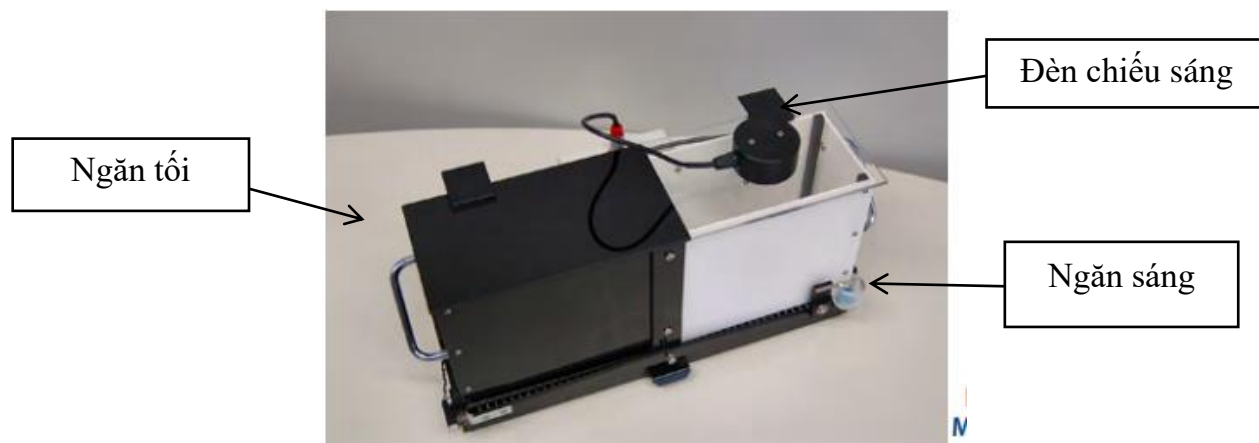
**Chỉ số đánh giá:** Thời gian chuột ở lại trên trục quay (thời gian lâu nhất chuột ở lại trên trục quay trong 3 lần thăm dò).

### **Sơ đồ 2.3. Sơ đồ nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình Rotarod**

#### **2.3.2.2. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ thông qua phản xạ có điều kiện**

Mô hình né tránh chủ động tránh thụ động (Passive avoidance test – PAT) được tiến hành theo phương pháp Sven Ove Ögren (2015) và Ga-Young Choi (2024) [53].

- ❖ Cấu tạo của Passive avoidance test:
- ❖ Mô hình dạng hình hộp chữ nhật có 2 ngăn giống nhau, kích thước các chiều dài × rộng × cao tương ứng là 52 × 30 × 35cm, ở giữa có cửa trượt tự động đóng mở, thông giữa 2 ngăn.
- ❖ Mỗi khoang sáng/tối có một sàn lưới thông qua đó dòng điện được phân phối.
- ❖ Đèn chiếu sáng được gắn phía trên hộp chữ nhật ngăn sáng. Hộp điều khiển được nối với hộp chữ nhật, có chức năng điều khiển các hoạt động và ghi lại kết quả.



**Hình 2.2. Mô hình né tránh thụ động**

❖ Phương pháp tiến hành

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 8 con:

- Lô 1 (Chứng sinh học): Tiêm màng bụng nước muối sinh lý 1mL/100g.
- Lô 2 (Mô hình): Tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg, 1mL/100g.
- Lô 3 (chứng dương): Uống thuốc chứng dương donepezil liều 1,2 mg/kg, sau đó 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg.
- Lô 4 ( HHDN001 liều thấp): Uống HHDN001 liều 136,8 mg/kg/ngày, sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg.
- Lô 5 ( HHDN001 liều cao): Uống HHDN001 liều 273,6 mg/kg/ngày, sau 30 phút tiêm màng bụng scopolamin liều 1mg/kg.

Chuột được tiêm (thể tích tiêm 1 mL/100g) và cho uống thuốc (thể tích uống 1 mL/100 g) trong 5 ngày liên tiếp.

**Thử nghiệm bao gồm hai giai đoạn:** pha tập luyện và pha đánh giá.

Giai đoạn học hỏi

Chuột được làm quen, học hỏi vào ngày thứ 5 tính từ ngày đầu tiên tiêm và uống thuốc.

Chuột được làm quen với mô hình: Chuột được đặt vào ngăn sáng để tự do khám phá, cửa giữa giữa hai hộp được mở sau 30 giây. Khi cả bốn chân của chuột bước vào khoang tối, cửa tự động đóng lại, chuột đã ở trong ngăn tối và ở lại đó trong 5 phút. Nhắc chuột ra khỏi buồng tối.

Học hỏi: 15 phút sau làm quen, chuột được đặt lại vào ngăn sáng, sau 30 giây, cửa tự động giữa hai ngăn mở ra. Khi cả bốn chân của chuột bước vào khoang tối, cửa tự động đóng lại. Ngay sau khi cánh cửa đóng lại, chuột nhận được một kích thích điện cường độ 0.5 mA trong thời gian 3 giây qua sàn lưới. Khi kích thích điện kết thúc, chuột sẽ ở lại khoang tối trong 10 giây, sau đó được đưa trở lại chuồng.

Nếu con vật không di chuyển từ ngăn sáng sang ngăn tối trong vòng 300 giây, sẽ bị loại khỏi thí nghiệm.

Cả hai ngăn đều được vệ sinh giữa mỗi lượt học hỏi để loại bỏ bất kỳ tín hiệu khứu giác gây nhiễu.

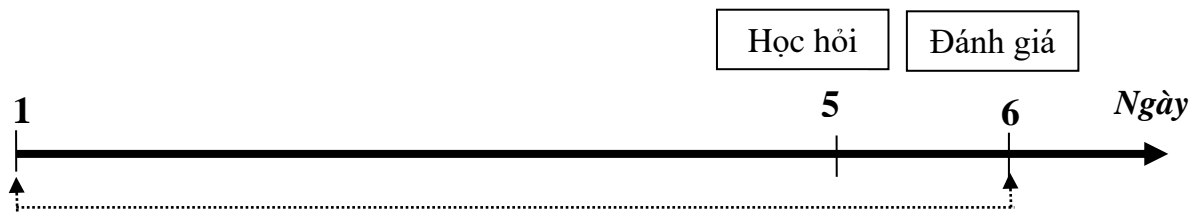
- *Chỉ số đánh giá:* Thời gian trễ (latency) chuột đi từ ngăn sáng vào ngăn tối.

Giai đoạn đánh giá: Tiến hành sau giai đoạn học hỏi 24 giờ.

Chuột được đưa vào ngăn sáng, quay mặt hướng vào khoang tối. Sau 30 giây, cửa tự động được mở ra và khi chuột đặt 4 chân vào ngăn tối ghi nhận thời gian trễ (là thời gian để chuột di chuyển từ ngăn sáng sang ngăn tối). Không có sóc điện được cài đặt trong giai đoạn này.

Nếu chuột không vào khoang tối trong vòng 300 giây, đưa trở lại lồng cũ và ghi nhận thời gian trễ là 300 giây.

*Chỉ số đánh giá:* Thời gian trễ chuột đi từ ngăn sáng vào ngăn tối



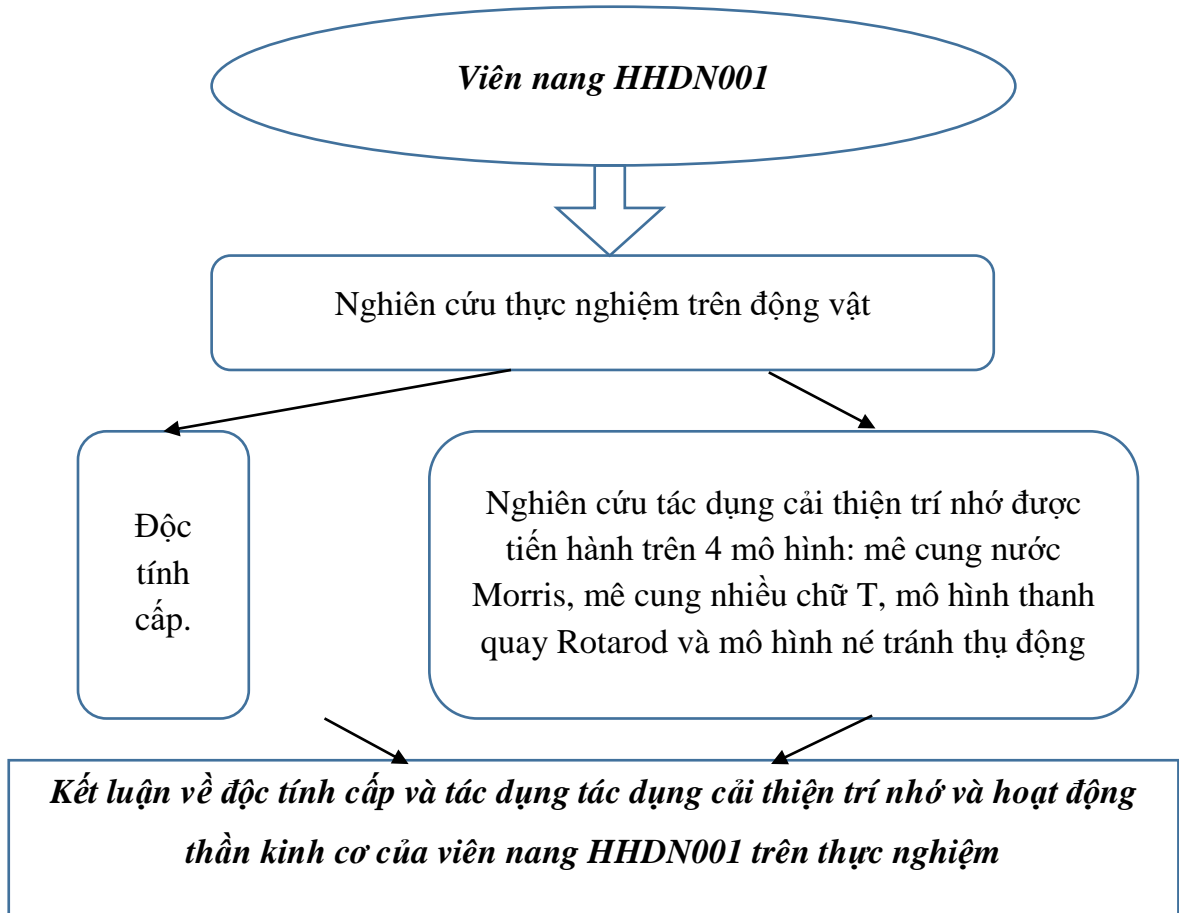
*Chuột được tiêm scopolamin và uống thuốc tương ứng*

#### **Sơ đồ 2.4. Sơ đồ nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình PAT**

##### **2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.**

- Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Dược lý, Đại học Y Hà Nội.
- Thời gian: Tháng 03 năm 2025 đến tháng 09 năm 2025

## 2.5. Sơ đồ nghiên cứu.



Sơ đồ 2.5. Sơ đồ nghiên cứu.

## 2.6. Phương pháp xử lý số liệu

### Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang HHDN001:

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

### Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang của viên nang HHDN001

Số liệu nghiên cứu được biểu diễn dưới dạng  $\bar{X} \pm SE$ . Kiểm định các giá trị trung bình bằng T-test Student, test trước sau (Avant – Après), One way Anova, sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p \leq 0,05$ .

Các chỉ số nghiên cứu ở mô hình MWM và MTM được phân tích bằng phần mềm Anymaze

## **2.7. Sai số và biện pháp khống chế sai số**

Các phương pháp được xây dựng qui trình chuẩn SOP để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình xét nghiệm.

- Động vật khỏe mạnh, cả 2 giống, được chia ngẫu nhiên vào các lô.
- Quy trình thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là thống nhất cùng theo SOP.
- Nhật ký nghiên cứu đầy đủ, lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.
- Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

## **2.8. Đạo đức trong nghiên cứu**

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

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

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

### CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ

#### 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang HHDN001.

**Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của HHDN001.**

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (viên/kg)	Liều g/kg	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	60	30,0	11,40	0	Không
Lô 2	10	75	37,5	14,25	0	Không
Lô 3	10	100	50,0	19,00	0	Không

**Nhận xét:** các lô chuột uống viên nang HHDN001 liều từ 30 viên/kg tương ứng 11,40 g/kg đến liều tối đa 50 viên/kg tương ứng 19,00 g/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng trên tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của viên nang HHDN001 là: 50 viên/kg tương ứng 19,00 g/kg.

#### 3.2. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm.

##### 3.2.1. Nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ không gian, trí nhớ phân tích, trí nhớ về sự khéo léo.

###### 3.2.1.1. Mô hình Morris water maze

**Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến thời gian tìm thấy bến đỗ.**

Lô thí nghiệm (n=10)	Thời gian tìm thấy bến đỗ ( $\bar{X} \pm SE$ ) (giây)				
	Bài tập nhìn thấy bến đỗ	Bài tập không nhìn thấy bến đỗ			
		Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Chúng sinh học	16,73 $\pm$ 0,78	15,41 $\pm$ 1,58	13,41 $\pm$ 1,46 <sup>Δ</sup>	11,04 $\pm$ 0,81 <sup>ΔΔ</sup>	10,26 $\pm$ 1,05 <sup>ΔΔ</sup>

Mô hình	17,47 ± 1,70	18,38 ± 1,64	17,10 ± 0,72 <sup>a</sup>	15,31 ± 1,12 <sup>b</sup>	16,34 ± 2,38 <sup>a</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	14,69 ± 1,31	12,75 ± 0,99**	11,37 ± 1,17***	9,57 ± 0,63*** <sup>Δ</sup>	8,62 ± 0,83** <sup>ΔΔ</sup>
HHDN001 273,6 mg/kg	15,55 ± 1,24	12,22 ± 1,04**	12,90 ± 1,01**	10,02 ± 0,90**	9,46 ± 0,71*
HHDN001 547,2 mg/kg	16,18 ± 1,58	12,93 ± 0,88**	10,92 ± 0,75***	9,66 ± 1,01**	8,70 ± 0,93** <sup>Δ</sup>

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với lô mô hình

<sup>Δ</sup> $p < 0,05$ ; <sup>ΔΔ</sup> $p < 0,01$ ; <sup>ΔΔΔ</sup> $p < 0,001$  so với Ngày 2

**\*Nhận xét:**

- Lô chứng sinh học: thời gian tìm thấy bấn đổ giảm dần sau mỗi ngày luyện tập, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các Ngày 3, 4 và 5 so với Ngày 2 (ngày đầu tiên của bài tập không thấy bấn đổ) ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ).
- Lô mô hình dùng scopolamin: thời gian tìm thấy bấn đổ không có sự khác biệt so với Ngày 2 ở các Ngày 3, 4, 5 ( $p > 0,05$ ). So sánh với lô chứng sinh học cho thấy lô dùng scopolamin làm kéo dài thời gian tìm thấy bấn đổ từ Ngày 3 đến Ngày 5, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ).
- Lô chứng dương uống donepezil và 2 lô uống HHDN001 liều 273,6 mg/kg và 547,2 mg/kg: thời gian tìm thấy bấn đổ giảm sau từng ngày luyện tập so với Ngày 2, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê từ Ngày 4 đối với lô uống donepezil và từ Ngày 5 với lô uống HHDN001 liều cao 547,2 mg/kg ( $p < 0,01$  và  $p < 0,05$ ). So sánh với lô mô hình, thời gian tìm thấy bấn đổ ở các lô được điều trị đều giảm có ý nghĩa thống kê trong cả 4 ngày học hỏi với bài tập không nhìn thấy bấn đổ.
- Không có sự khác biệt về thời gian tìm thấy bấn đổ khi so sánh giữa 2 lô dùng HHDN001 ở các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến quãng đường chuột tìm thấy bեն đố - bեն đố.**

Lô thí nghiệm (n=10)	Quãng đường tìm thấy bեն đố ( $\bar{X} \pm SE$ ) (m)				
	Bài tập nhìn thấy bեն đố	Bài tập không nhìn thấy bեն đố			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
Chứng sinh học	4,22 ± 0,40	4,90 ± 0,60	3,96 ± 0,34	3,18 ± 0,32 <sup>Δ</sup>	3,24 ± 1,05 <sup>Δ</sup>
Mô hình	5,12 ± 0,63	6,79 ± 0,41 <sup>a</sup>	7,33 ± 0,76 <sup>c</sup>	6,57 ± 0,67 <sup>c</sup>	6,31 ± 0,66 <sup>c</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	5,26 ± 0,98	7,80 ± 0,73	5,71 ± 0,66 <sup>Δ</sup>	4,39 ± 0,46 <sup>*ΔΔ</sup>	3,27 ± 0,48 <sup>**ΔΔΔ</sup>
HHDN001 273,6 mg/kg	5,72 ± 0,86	5,89 ± 0,55	4,46 ± 0,51 <sup>**</sup>	4,35 ± 0,64 <sup>*Δ</sup>	4,13 ± 0,6 <sup>*Δ</sup>
HHDN001 547,2 mg/kg	6,29 ± 0,57	6,47 ± 0,63	7,07 ± 0,73	3,81 ± 0,43 <sup>**Δ</sup>	3,38 ± 0,43 <sup>**ΔΔ</sup>

<sup>a</sup>p<0,05; <sup>b</sup>p<0,01; <sup>c</sup>p<0,001 so với lô chứng sinh học

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 so với lô mô hình

<sup>Δ</sup>p<0,05; <sup>ΔΔ</sup>p<0,01; <sup>ΔΔΔ</sup>p<0,001 so với Ngày 2

**\*Nhận xét:**

- Lô chứng sinh học: quãng đường chuột tìm thấy bեն đố giảm sau mỗi ngày luyện tập, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các Ngày 4 và 5 so với Ngày 2 (ngày đầu tiên của bài tập không nhìn thấy bեն đố) (p<0,05).
- Lô mô hình dùng scopolamin: quãng đường tìm thấy bեն đố ở các Ngày 3, 4, 5 giảm không có sự khác biệt so với Ngày 2 (p>0,05). So sánh với lô chứng sinh học cho thấy lô dùng scopolamin làm kéo dài quãng đường tìm thấy bեն đố trong suốt khoảng thời gian huấn luyện với bài tập không nhìn thấy bեն đố, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05 và p <0,001).
- Lô chứng dương uống donepezil và 2 lô uống HHDN001 liều 273,6 mg/kg và 547,2 mg/kg: quãng đường tìm thấy bեն đố giảm sau từng ngày luyện tập so với

Ngày 2, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê từ Ngày 3 đối với lô uống donepezil và từ Ngày 4 với hai mức liều của HHDN001 ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ ).

- Lô chứng dương uống donepezil và 2 lô uống HHDN001 cho thấy quãng đường tìm thấy bեն đố rút ngắn rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ).
- Không có sự khác biệt về quãng đường tìm thấy bեն đố ở khi so sánh hai lô dùng HHDN001 ở các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến phần trăm thời gian trong 1 phút chuột trải qua trong ¼ bể trước đó đặt bեն đố**

Lô thí nghiệm (n = 10)	Thời gian chuột bơi ở ¼ bể trước đó có bեն đố ( $\bar{X} \pm SE$ )	
	Thời gian (giây)	% thời gian
Chứng sinh học	19,45 ± 1,73	32,42 ± 2,89
Mô hình	14,82 ± 1,21 <sup>a</sup>	24,70 ± 2,01 <sup>a</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	19,56 ± 1,46*	32,60 ± 2,43*
HHDN001 273,6 mg/kg	19,77 ± 1,24*	32,95 ± 2,07*
HHDN001 547,2 mg/kg	19,46 ± 1,49*	32,43 ± 2,49*

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với lô mô hình

**\*Nhận xét:**

- Lô mô hình dùng scopolamin: thời gian và % thời gian chuột bơi ở ¼ bể trước đó có bեն đố đều giảm so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .
- Lô donepezil và 2 lô uống HHDN001: thời gian và % thời gian chuột bơi ở góc phần tư bể trước đó có chứa bեն đố kéo dài hơn so với lô mô hình, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.5. Ảnh hưởng của HHDN001 đến quãng đường chuột bơi ở 1/4 bể trước đó có chứa bեն đố**

Lô thí nghiệm (n=10)	Quãng đường chuột bơi ở 1/4 bể trước đó có bեն đố ( $\bar{X} \pm SE$ )	
	Quãng đường (m)	% quãng đường
Chứng sinh học	5,62 ± 0,63	37,00 ± 3,65
Mô hình	4,22 ± 0,42	20,10 ± 2,13 <sup>c</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	5,81 ± 0,52*	31,32 ± 2,79**
HHDN001 273,6 mg/kg	5,94 ± 0,42**	32,13 ± 2,42**
HHDN001 547,2 mg/kg	5,63 ± 0,51*	30,50 ± 2,39**

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với lô mô hình

**\*Nhận xét:**

- Lô mô hình dùng scopolamin: So sánh với lô chứng sinh học cho thấy, lô dùng scopolamin làm rút ngắn quãng đường và % quãng đường chuột bơi ở ¼ bể trước đó có bեն đố, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).
- Lô uống donepezil và 2 lô uống HHDN001: quãng đường chuột bơi ở ¼ bể trước đó có chứa bեն đố và % quãng đường chuột bơi ở ¼ bể trước đó chứa bեն đố tăng hơn so với lô mô hình, sự thay đổi là có ý nghĩa thống kê.

**Bảng 3.6. Ảnh hưởng của HHDN001 đến số lần chuột bơi vào khu vực ¼ bể trước đó có chứa bեն đố**

Lô thí nghiệm (n=10)	Số lần bơi vào ( $\bar{X} \pm SE$ )
Chứng sinh học	4,40 ± 0,50
Mô hình	2,90 ± 0,43 <sup>a</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	5,20 ± 0,71*
HHDN001 273,6 mg/kg	4,50 ± 0,72
HHDN001 547,2 mg/kg	5,10 ± 0,57**

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với chứng sinh học; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với mô hình

**\*Nhận xét:**

- Lô mô hình dùng scopolamin: So sánh với lô chứng sinh học cho thấy lô dùng scopolamin có số lần chuột bơi vào ¼ bể trước đó có bên đỡ ít hơn rõ rệt, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).
- Lô uống donepezil và lô uống HHDN001 liều cao 547,2 mg/kg, số lần chuột bơi vào ¼ bể trước đó có chứa bên đỡ tăng hơn so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ).
- HHDN001 liều thấp 273,6 mg/kg có xu hướng làm tăng số lần chuột bơi vào ¼ bể trước đó có chứa bên đỡ so với lô mô hình, sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.7. Ảnh hưởng của HHDN001 đến các chỉ số oxy hóa và viêm trong dịch đồng thể não**

Lô thí nghiệm (n=8)	Nồng độ ( $\bar{X} \pm SE$ )		
	MDA (nmol/100 mg)	GSH ( $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ )	TNF- $\alpha$ (pg/mg)
Chứng sinh học	34,80 $\pm$ 2,47	426,74 $\pm$ 29,27	4,60 $\pm$ 0,35
Mô hình	47,60 $\pm$ 4,53 <sup>a</sup>	326,03 $\pm$ 19,99 <sup>a</sup>	6,08 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	33,62 $\pm$ 2,95*	408,16 $\pm$ 18,72*	4,10 $\pm$ 0,27**
HHDN001 273,6 mg/kg	36,67 $\pm$ 2,90	430,96 $\pm$ 13,50**	5,36 $\pm$ 0,65
HHDN001 547,2 mg/kg	34,81 $\pm$ 1,85*	408,85 $\pm$ 25,71*	5,12 $\pm$ 0,69

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với lô mô hình

**\*Nhận xét:**

- Nồng độ MDA: lô mô hình dùng scopolamin có nồng độ MDA tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ). Các lô uống donepezil và lô uống HHDN001 liều cao 547,2 mg/kg, nồng độ MDA giảm so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). HHDN001 liều thấp 273,6 mg/kg có xu hướng làm giảm nồng độ MDA so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Nồng độ GSH ở lô mô hình giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ), các lô dùng HHDN001 ở cả 2 mức liều làm tăng nồng độ GSH có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ).
- Nồng độ TNF- $\alpha$  ở lô mô hình có tăng đáng kể so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ). Donepezil làm giảm nồng độ TNF- $\alpha$  có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ). HHDN001 ở cả 2 mức liều có xu hướng làm giảm nồng độ TNF- $\alpha$  so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.1.2. Mô hình Multiple T maze

**Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến thời gian tìm tới được khoang đích.**

Lô thí nghiệm (n=8)	Thời gian tìm thấy khoang đích (giây) ( $\bar{X} \pm SE$ )			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Chứng sinh học	217,69 $\pm$ 7,66	225,25 $\pm$ 10,54	176,68 $\pm$ 14,62 <sup><math>\Delta</math></sup>	162,34 $\pm$ 15,57 <sup><math>\Delta</math></sup>
Mô hình	232,83 $\pm$ 18,94	264,21 $\pm$ 7,86 <sup><i>a</i></sup>	255,88 $\pm$ 11,94 <sup><i>c</i></sup>	245,58 $\pm$ 10,53 <sup><i>c</i></sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	219,98 $\pm$ 18,35	235,26 $\pm$ 15,01	198,75 $\pm$ 18,76 <sup><i>*</i></sup>	203,95 $\pm$ 15,18 <sup><i>*</i></sup>
HHDN001 273,6 mg/kg	216,03 $\pm$ 11,40	229,69 $\pm$ 17,35	208,69 $\pm$ 15,96 <sup><i>*</i></sup>	201,64 $\pm$ 12,91 <sup><i>*</i></sup>
HHDN001 547,2 mg/kg	210,80 $\pm$ 11,33	219,91 $\pm$ 19,76	192,31 $\pm$ 14,76 <sup><i>**</i></sup>	194,46 $\pm$ 17,61 <sup><i>*</i></sup>

<sup>*a*</sup> $p < 0,05$ ; <sup>*b*</sup> $p < 0,01$ ; <sup>*c*</sup> $p < 0,001$  so với chứng sinh học; <sup>*\**</sup> $p < 0,05$ ; <sup>*\*\**</sup> $p < 0,01$ ; <sup>*\*\*\**</sup> $p < 0,001$  so với mô hình

<sup>$\Delta$</sup>  $p < 0,05$ ;  <sup>$\Delta\Delta$</sup>  $p < 0,01$ ;  <sup>$\Delta\Delta\Delta$</sup>  $p < 0,001$  so với Ngày 1

**\*Nhận xét:**

- Lô chứng sinh học: chuột có sự tiến bộ sau các ngày tập luyện, thời gian tìm thấy khoang đích giảm dần so với Ngày 1, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê quan sát ở Ngày 3 và Ngày 4 ( $p < 0,05$ ).

- Lô mô hình dùng scopolamin: thời gian tìm thấy khoang đích không có sự khác biệt so với ngày đầu ở các ngày học hỏi sau đó ( $p > 0,05$ ). So với lô chứng sinh học, lô dùng scopolamin làm kéo dài thời gian tìm thấy khoang đích kể từ ngày học hỏi thứ 2, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,001$ )
- Lô chứng dương dùng donepezil và các lô dùng HHDN001 liều 273,6 mg/kg và liều 547,2 mg/kg: thời gian tìm thấy khoang đích có xu hướng giảm dần ở các ngày nghiên cứu so với Ngày 1 và rút ngắn đáng kể thời gian so với lô mô hình từ Ngày 3 ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ).
- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mức độ tác dụng của HHDN001 liều cao 547,2 mg/kg và HHDN001 liều thấp 273,6 mg/kg.

**Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến chiều dài quãng đường chuột đi để tới được khoang đích.**

Lô thí nghiệm (n=8)	Quãng đường tìm thấy khoang đích (m) ( $\bar{X} \pm SE$ )			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Chứng sinh học	17,10 $\pm$ 2,09	21,94 $\pm$ 2,70	12,98 $\pm$ 1,55 <sup>Δ</sup>	12,13 $\pm$ 0,97 <sup>Δ</sup>
Mô hình	17,38 $\pm$ 1,21	24,01 $\pm$ 3,35	24,15 $\pm$ 2,55 <sup>b,Δ</sup>	22,29 $\pm$ 1,79 <sup>c,ΔΔ</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	16,26 $\pm$ 1,42	17,76 $\pm$ 2,36	12,65 $\pm$ 1,51 <sup>**Δ</sup>	11,17 $\pm$ 1,33 <sup>***Δ</sup>
HHDN001 273,6 mg/kg	16,10 $\pm$ 0,93	15,64 $\pm$ 1,90	14,38 $\pm$ 1,66 <sup>**</sup>	13,50 $\pm$ 1,48 <sup>**</sup>
HHDN001 547,2 mg/kg	15,84 $\pm$ 1,47	16,31 $\pm$ 1,96	14,02 $\pm$ 1,57 <sup>**</sup>	13,19 $\pm$ 1,71 <sup>**</sup>

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với chứng sinh học; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với mô hình

<sup>Δ</sup> $p < 0,05$ ; <sup>ΔΔ</sup> $p < 0,01$ ; <sup>ΔΔΔ</sup> $p < 0,001$  so với Ngày 1

**\*Nhận xét:**

- Lô chứng sinh học: chuột có sự tiến bộ sau các ngày tập luyện, so với Ngày 1 quãng đường tìm thấy khoang đích giảm với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê từ Ngày 3 của giai đoạn học hỏi ( $p < 0,05$ ).
- Lô mô hình dùng scopolamin: quãng đường tìm thấy khoang đích dài hơn so với ngày học hỏi đầu tiên, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê vào Ngày 3 và 4. So với lô chứng sinh học, quãng đường tìm thấy khoang đích ở chuột lô mô hình cũng dài hơn với sự khác biệt rõ rệt vào ngày học hỏi thứ 3 và 4.
- Lô chứng dương dùng donepezil và các lô dùng HHDN001 liều 273,6 mg/kg và liều 547,2 mg/kg: quãng đường tìm thấy khoang đích giảm dần ở các ngày học hỏi tiếp theo so với Ngày 1 và so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình được ghi nhận kể từ ngày học hỏi thứ 3.
- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh tác dụng giữa hai mức liều HHDN001.

**Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến số lần lựa chọn sai.**

Lô thí nghiệm (n=8)	Số lần lựa chọn sai ( $\bar{X} \pm SE$ )			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Chứng sinh học	8,25 $\pm$ 0,98	9,75 $\pm$ 1,46	6,63 $\pm$ 0,80	4,88 $\pm$ 0,55 <sup>Δ</sup>
Mô hình	9,63 $\pm$ 0,89	15,25 $\pm$ 1,76 <sub>a,ΔΔ</sub>	15,00 $\pm$ 1,30 <sup>c,Δ</sup>	13,75 $\pm$ 1,01 <sup>c,Δ</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	7,38 $\pm$ 1,00	9,75 $\pm$ 1,60*	8,63 $\pm$ 1,18**	7,13 $\pm$ 0,90***
HHDN001 273,6 mg/kg	9,25 $\pm$ 1,05	8,63 $\pm$ 1,15**	9,25 $\pm$ 0,92**	9,63 $\pm$ 0,91**
HHDN001 547,2 mg/kg	8,75 $\pm$ 0,80	10,13 $\pm$ 1,42*	9,00 $\pm$ 1,20 **	9,25 $\pm$ 0,94**

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với lô mô hình

<sup>Δ</sup> $p < 0,05$ ; <sup>ΔΔ</sup> $p < 0,01$ ; <sup>ΔΔΔ</sup> $p < 0,001$  so với Ngày 1

**\*Nhận xét:**

- Lô chứng sinh học: chuột có sự tiến bộ sau các ngày tập luyện, so với Ngày 1 số lần đưa ra lựa chọn sai giảm vào các ngày luyện tập sau đó, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê vào Ngày 4 ( $p < 0,05$ ).
- Lô mô hình dùng scopolamin: số lần lựa chọn sai tăng so với Ngày 1, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được ghi nhận ở cả 3 ngày học hỏi còn lại ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ). So với lô chứng sinh học, lô dùng scopolamin làm tăng số lần lựa chọn sai kể từ ngày học hỏi thứ 2 ( $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ ).
- Lô chứng dương dùng donepezil: số lần lựa chọn sai giảm sau 4 ngày huấn luyện và giảm đáng kể so với lô mô hình từ ngày học hỏi thứ 2.
- Các lô dùng HHDN001 liều 273,6 mg/kg và liều 547,2 mg/kg: so với Ngày 1, số lần đưa ra lựa chọn sai trong các ngày học hỏi tiếp theo không có sự khác biệt, tuy nhiên khi so sánh với lô mô hình cho thấy cả 2 lô uống HHDN001 đã làm giảm số lần lựa chọn sai qua các ngày học hỏi, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê kể từ ngày học hỏi thứ 3 và 4 ( $p < 0,01$ ). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tác dụng của 2 mức liều của HHDN001.

**Bảng 3.11. Ảnh hưởng của HHDN001 đến số lần lựa chọn đúng**

Lô thí nghiệm (n=8)	Số lần lựa chọn đúng ( $\bar{X} \pm SE$ )			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
Chứng sinh học	9,88 $\pm$ 1,89	10,63 $\pm$ 1,40	13,25 $\pm$ 1,18	17,13 $\pm$ 1,83 <sup>Δ</sup>
Mô hình	9,75 $\pm$ 0,88	9,88 $\pm$ 1,19	9,38 $\pm$ 1,89	7,25 $\pm$ 1,00 <sup>c,Δ</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	10,13 $\pm$ 1,08	12,88 $\pm$ 1,25 <sup>Δ</sup>	13,38 $\pm$ 1,58 <sup>Δ</sup>	15,63 $\pm$ 1,67 <sup>***Δ</sup>
HHDN001 273,6 mg/kg	9,88 $\pm$ 1,20	9,50 $\pm$ 1,80	12,00 $\pm$ 0,76	13,13 $\pm$ 1,41 <sup>**</sup>
HHDN001 547,2 mg/kg	10,75 $\pm$ 1,26	11,00 $\pm$ 1,95	10,25 $\pm$ 1,72	13,25 $\pm$ 1,03 <sup>**</sup>

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với chứng sinh học;

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với mô hình.

<sup>Δ</sup> $p < 0,05$ ; <sup>ΔΔ</sup> $p < 0,01$ ; <sup>ΔΔΔ</sup> $p < 0,001$  so với Ngày 1

**\*Nhận xét:**

- Lô chứng sinh học: chuột có sự tiến bộ sau các ngày tập luyện, so với Ngày 1 số lần đưa ra lựa chọn đúng tăng có ý nghĩa thống kê sau 4 ngày luyện tập ( $p < 0,05$ ).
- Lô mô hình dùng scopolamin: số lần lựa chọn đúng giảm so với Ngày 1 và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê sau 4 ngày học hỏi ( $p < 0,05$ ).
- Lô chứng dương dùng donepezil và các lô dùng HHDN001 liều 273,6 mg/kg và liều 547,2 mg/kg: số lần lựa chọn đúng tăng sau mỗi ngày học hỏi. So sánh với lô mô hình, chuột uống donepezil và 2 mức liều HHDN001 có số lần lựa chọn đúng sau 4 ngày huấn luyện tăng có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$  và  $p < 0,01$ ).
- Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tác dụng của 2 mức liều của HHDN001.

**Giai đoạn đánh giá chính thức**

**Bảng 3.12. Ảnh hưởng của HHDN001 đến thời gian và quãng đường tìm thấy khoang đích trong ngày đánh giá chính thức**

Lô thí nghiệm (n=8)	Chỉ số đánh giá ( $\bar{X} \pm SE$ )			
	Thời gian (giây)	Quãng đường (m)	Số lần lựa chọn sai	Số lần lựa chọn đúng
Chứng sinh học	121,26 ± 14,07	11,43 ± 1,03	5,13 ± 0,55	16,50 ± 1,78
Mô hình	246,19 ± 17,43 <sup>c</sup>	18,45 ± 1,61 <sup>b</sup>	11,13 ± 0,58 <sup>c</sup>	7,88 ± 0,77 <sup>c</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	188,21 ± 12,96*	10,42 ± 1,30**	6,75 ± 1,00**	13,38 ± 1,96*
HHDN001 273,6 mg/kg	198,51 ± 12,53*	11,90 ± 1,28**	9,50 ± 0,82	12,00 ± 1,02**
HHDN001 547,2 mg/kg	195,39 ± 14,08*	10,37 ± 1,16**	8,38 ± 0,80*	13,38 ± 1,28**

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với lô mô hình

**\*Nhận xét:**

- Scopolamin kéo dài thời gian & quãng đường chuột tìm thấy khoang đích, làm tăng số lần lựa chọn sai và giảm số lần lựa chọn đúng có ý nghĩa thống kê với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$  và  $p < 0,01$ ).
- Donepezil và HHDN001 rút ngắn thời gian & quãng đường chuột tìm thấy khoang đích, làm giảm số lần lựa chọn sai đồng thời với tăng số lần lựa chọn đúng có ý nghĩa thống kê với lô mô hình. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tác dụng của 2 mức liều của HHDN001.

**Bảng 3.13. Ảnh hưởng của HHDN001 đến các chỉ số oxy hóa trong dịch đồng thể não**

Lô thí nghiệm (n=8)	Chỉ số đánh giá ( $\bar{X} \pm SE$ )	
	MDA (nmol/100 mg)	GSH ( $\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ )
Chứng sinh học	28,51 $\pm$ 2,35	413,18 $\pm$ 20,36
Mô hình	52,78 $\pm$ 3,26 <sup>c</sup>	333,40 $\pm$ 27,37 <sup>a</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	35,96 $\pm$ 2,39 <sup>**</sup>	379,23 $\pm$ 24,52
HHDN001 273,6 mg/kg	42,23 $\pm$ 3,35 <sup>*</sup>	409,46 $\pm$ 13,54 <sup>*</sup>
HHDN001 547,2 mg/kg	35,29 $\pm$ 1,26 <sup>***</sup>	453,83 $\pm$ 26,02 <sup>**</sup>

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

<sup>\*</sup> $p < 0,05$ ; <sup>\*\*</sup> $p < 0,01$ ; <sup>\*\*\*</sup> $p < 0,001$  so với lô mô hình

**Nhận xét:**

- Lô mô hình dùng scopolamin: nồng độ MDA tăng và nồng độ GSH giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$  và  $p < 0,05$ ).
- Các lô uống donepezil và lô uống HHDN001 ở cả 2 mức liều làm giảm nồng độ MDA có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,01$  và  $p < 0,05$ ). HHDN001 ở 2 mức liều làm tăng nồng độ GSH so với lô mô hình, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tác dụng của 2 mức liều của HHDN001.

**Mô hình né tránh thụ động****Bảng 3.14. Ảnh hưởng của HHDN001 đến thời gian trễ của chuột**

Lô thí nghiệm (n=8)	Thời gian trễ (giây) ( $\bar{X} \pm SE$ )	
	Giai đoạn học hỏi	Giai đoạn đánh giá
Chứng sinh học	29,66 $\pm$ 3,46	68,06 $\pm$ 5,24 <sup>△△△</sup>
Mô hình	28,26 $\pm$ 2,84	35,30 $\pm$ 5,18 <sup>c</sup>
Donepezil 1,2 mg/kg	34,86 $\pm$ 3,69	58,01 $\pm$ 6,10 <sup>*△</sup>
HHDN001 136,8 mg/kg	29,90 $\pm$ 2,90	48,81 $\pm$ 4,20 <sup>△</sup>
HHDN001 273,6 mg/kg	27,08 $\pm$ 4,75	53,26 $\pm$ 4,86 <sup>*△△△</sup>

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với lô mô hình

<sup>△</sup> $p < 0,05$ ; <sup>△△</sup> $p < 0,01$ ; <sup>△△△</sup> $p < 0,001$  so với ngày học hỏi

**\*Nhận xét:**

- Giai đoạn học hỏi: thời gian trễ để chuột bước từ ngăn sáng sang ngăn tối ở tất cả các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).
- Giai đoạn đánh giá chính thức:
  - + Lô mô hình dùng scopolamin: thời gian trễ không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với giai đoạn học hỏi ( $p > 0,05$ ). So với lô chứng sinh học, thời gian trễ giảm có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ).
  - + Lô uống donepezil và HDNN001 liều cao 273,6 mg/kg: thời gian trễ tăng so với lô mô hình và so với giai đoạn học hỏi, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,001$ ).
  - + Lô uống HDNN001 liều thấp 136,8 mg/kg có xu hướng làm tăng thời gian trễ so với lô mô hình và so với giai đoạn học hỏi, tuy nhiên, sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

## 3.2.1.2. Mô hình Trục quay Rotarod

**Bảng 3.15. Ảnh hưởng của Viên nang HHDN001 đến thời gian chuột ở lại trên trục quay Rotarod.**

Lô thí nghiệm (n=10)	Thời gian trên trục quay (giây) ( $\bar{X} \pm SE$ )	
	Giai đoạn học hỏi	Giai đoạn chính thức
Chứng sinh học	183,30 $\pm$ 14,29	247,90 $\pm$ 11,73 <sup>Δ</sup>
Mô hình	179,90 $\pm$ 13,86	191,40 $\pm$ 14,07 <sup>b</sup>
Donepezil 2,4 mg/kg	187,30 $\pm$ 17,70	242,90 $\pm$ 17,77* <sup>Δ</sup>
HHDN001 273,6 mg/kg	180,70 $\pm$ 15,13	208,40 $\pm$ 18,56
HHDN001 547,2 mg/kg	186,30 $\pm$ 15,30	214,40 $\pm$ 15,28

<sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$  so với lô chứng sinh học

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  so với lô mô hình

<sup>Δ</sup> $p < 0,05$ ; <sup>ΔΔ</sup> $p < 0,01$ ; <sup>ΔΔΔ</sup> $p < 0,001$  so với ngày học hỏi

**\*Nhận xét:**

- Giai đoạn học hỏi: thời gian chuột ở trên trục quay ở tất cả các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).
- Giai đoạn đánh giá chính thức:
  - + Lô mô hình: thời gian chuột ở lại trên trục quay không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với giai đoạn học hỏi ( $p > 0,05$ ). So với lô chứng sinh học, thời gian chuột ở lại trên trục quay giảm đáng kể với  $p < 0,01$ .
  - + Lô uống donepezil: thời gian chuột ở lại trên trục quay tăng so với lô mô hình và so với giai đoạn học hỏi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).
  - + Lô uống HDNN001 cả hai mức liều: thời gian chuột ở lại trên trục quay đều có xu hướng tăng so với lô mô hình và so với giai đoạn học hỏi, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

## **CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN**

### **4.1. Bàn luận về độc tính cấp của viên nang HHDN001.**

Độc tính cấp là độc tính xảy ra sau khi dùng thuốc một lần hoặc vài ba lần trong ngày [57]. Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang HHDN001 được tiến hành bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon.

Kết quả nghiên cứu cho thấy: Chuột nhắt trắng được uống viên nang HHDN001 từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Các lô chuột uống viên nang HHDN001 liều từ 30 viên/kg tương ứng 11,40 g/kg đến liều tối đa 50 viên/kg tương ứng 19,00 g/kg không có biểu hiện độc tính cấp, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống

Với dược liệu có liều chết LD50 gấp trên 10 lần điều trị được xem là có khoảng an toàn điều trị tốt [58]. Tuy nhiên trong nghiên cứu này chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng của viên nang HHDN001 theo đường uống do không có chuột chết trong quá trình nghiên cứu.

Như vậy, viên nang HHDN001 có tính an toàn cao, khoảng an toàn điều trị rộng với liều dung trên lâm sàng theo hướng dẫn của WHO [58].

### **4.2. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm.**

#### **4.2.1. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên mô hình Morris water maze**

Mô hình mê cung nước được phát triển bởi nhà khoa học Richard Morris vào năm 1984 nhằm đánh giá khả năng học tập và trí nhớ không gian. Mô hình này khá hữu ích để đánh giá những tác động của quá trình lão hóa, những tổn thương trên thực nghiệm hay tác dụng của các thuốc trên quá trình học tập và trí nhớ đặc biệt ở loài động vật gặm nhấm [2], [48]. MWM là mô hình đánh giá trí nhớ không gian được sử dụng rộng rãi nhất và được chấp nhận bởi rất nhiều các nhà nghiên cứu về sinh lý học hành vi và dược lý học, dựa trên khả năng định vị, nhớ vị trí bến đỗ ẩn dựa trên các dấu hiệu bên ngoài.

Trong mô hình này, động lực để chuột học tập và ghi nhớ không gian là nhằm thoát khỏi tình trạng bị ngập nước. Có 3 chiến thuật cơ bản để chuột thoát khỏi mê cung: ghi nhớ các động tác cơ bản để đến được bến đỗ, sử dụng các dấu hiệu trực quan để tìm đến bến đỗ (bài tập nhìn thấy bến đỗ), sử dụng các tín hiệu xa làm điểm tham chiếu để xác định vị trí nó đang bơi và vị trí bến đỗ. Đặc biệt sự linh hoạt trong quá trình nhận thức của chuột còn được đánh giá bằng cách thay đổi vị trí xuất phát của chuột trong các lần luyện tập. Như vậy đây là một mê cung đầy thách thức, đòi hỏi chuột cần phải sử dụng một loạt các quá trình ghi nhớ tinh vi.

Các quá trình này bao gồm việc ghi nhớ lại và định hướng không gian nhờ các tín hiệu thị giác (các hình ảnh được đặt xung quanh), sau đó được xử lý, tổng hợp, lưu giữ lại và đưa ra áp dụng để hướng đến vị trí bến đỗ. Hệ thống rèm, vách ngăn và việc lắp đặt hệ thống camera theo dõi trên cao giúp giảm sự mất tập trung của chuột. Ngoài ra MWM còn có những ưu điểm như: Thời gian nghiên cứu ngắn (thường chỉ mất vài ngày nghiên cứu), dụng cụ nghiên cứu đơn giản, thích hợp với cả các phòng thí nghiệm nhỏ, đỡ tốn kém, phương pháp tiến hành dễ dàng, loại trừ được một cách tương đối các yếu tố gây nhiễu so với các mô hình khác như: trọng lượng cơ thể, mùi (động lực để chuột học tập và ghi nhớ trong các mê cung trên cạn thường là thức ăn) [2], [48].

Suy giảm trí nhớ là bệnh lý thoái hóa thần kinh thường gặp ở lứa tuổi trung niên và cao tuổi với các biểu hiện: Giảm khả năng tư duy, độ tập trung kém, hay quên, đãng trí. Vì vậy, chúng tôi nhận thấy đây là một mô hình hữu ích trong nghiên cứu phát triển thuốc tác dụng trên khả năng nhận thức và ghi nhớ.

Ở những người có biểu hiện suy giảm trí nhớ nhiều, thường có sự mất synap lan tỏa ở các vùng của vỏ não, trong đó có các nhân xám ở nền não trước là nơi sản xuất nhiều acetylcholine - một chất dẫn truyền thần kinh đóng vai trò quan trọng trong quá trình học tập và trí nhớ [2].

Như vậy, ở người có sự giảm sút lượng acetylcholin trên thần kinh trung ương, đó là một trong những nguyên nhân làm ảnh hưởng đến khả năng học hỏi và trí nhớ của bệnh nhân sa sút trí tuệ. Scopolamin là 1 chất đã được chứng minh có thể gây ra

những biến đổi về hoạt động thần kinh (nhận thức, điện não đồ...) giống như ở người sa sút trí tuệ [59]. Cơ chế tác dụng của scopolamin là đối kháng cạnh tranh với acetylcholin tại receptor M của hệ Muscarinic, khi vào cơ thể scopolamin nhanh chóng được phân phối nhiều vào não, tại đây chất này làm mất tác dụng của acetylcholin trên hệ thần kinh trung ương và có thể gây suy giảm trí nhớ đặc biệt với liều cao. Chính vì vậy, nhiều nghiên cứu đã sử dụng scopolamin để gây mô hình suy giảm khả năng học hỏi và trí nhớ trên động vật thực nghiệm [59].

Hiện nay, để điều trị sa sút trí tuệ trên lâm sàng, nhóm thuốc giúp làm chậm tiến triển và giảm triệu chứng hiệu quả nhất là nhóm thuốc ức chế enzym acetylcholinesterase – enzyme thủy phân acetylcholin. Donepezil là một trong các thuốc được FDA cấp phép để điều trị chứng sa sút trí tuệ. Dựa trên cơ chế tác dụng và thực tế trên lâm sàng đây là thuốc được dùng rất phổ biến, chúng tôi đã lựa chọn donepezil làm thuốc chứng dương [60].

Trong giai đoạn học hỏi, kết quả đánh giá cho phép đánh giá khả năng học tập của chuột. Chuột ở lô mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin có thời gian tìm thấy bển đồ không có sự khác biệt so với Ngày 2 ở các Ngày 3, 4, 5 ( $p > 0,05$ ), chứng tỏ sự suy giảm trí nhớ gây ra do tiêm scopolamine đã tác động mạnh mẽ đến khả năng học tập của chuột, làm khả năng học của chuột sa sút rõ rệt.

Lô chứng dương uống donepezil và 2 lô uống HHDN001 liều 273,6 mg/kg và 547,2 mg/kg: thời gian tìm thấy bển đồ giảm sau từng ngày luyện tập so với Ngày 2, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê từ Ngày 4 đối với lô uống donepezil và từ Ngày 5 với lô uống HHDN001 liều cao 547,2 mg/kg ( $p < 0,01$  và  $p < 0,05$ ). So sánh với lô mô hình, thời gian tìm thấy bển đồ ở các lô được điều trị đều giảm có ý nghĩa thống kê trong cả 4 ngày học hỏi với bài tập không nhìn thấy bển đồ.

Không có sự khác biệt về thời gian tìm thấy bển đồ khi so sánh giữa 2 lô dùng HHDN001 ở các thời điểm nghiên cứu ( $p > 0,05$ ). Điều này cho thấy ở mức liều tương đương lâm sàng trên người (273,6 mg/kg ở chuột nhất trắng), tác dụng tăng cường khả năng học tập và ghi nhớ đã được thể hiện rõ. Tác dụng này không có khác biệt đáng kể khi tăng mức liều lên.

Đối với chỉ số quãng đường tìm thấy bết đổ. Lô chứng dương uống donepezil và 2 lô uống HHDN001 cho thấy quãng đường tìm thấy bết đổ rút ngắn rõ rệt so với lô mô hình và so với ngày thứ 2, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ). Lô HHDN001 liều 547,2 mg/kg (gấp đôi) có xu hướng tốt hơn so với lô HHDN001 liều 273,6 mg/kg, và có tác dụng tương tự Donepezil 2,4 mg/kg.

Tác dụng tăng cường khả năng ghi nhớ được đánh giá cụ thể bởi pha thăm dò trí nhớ. Ở pha thử nghiệm này, chân đế - bết đổ đã được lấy đi, chuột dựa trên khả năng ghi nhớ sẽ cố gắng tìm chân đế - bết đổ ở góc  $\frac{1}{4}$  bề trước đó đặt chân đế, do đó thời gian chuột bơi trong góc phần tư này sẽ nhiều hơn.

Nếu chuột đã học và nhớ vị trí bết đổ, nó sẽ quay lại khu vực đó và dành nhiều thời gian hơn để tìm kiếm bết đổ đã bị gỡ bỏ. % thời gian bơi cao hơn 25% (tỷ lệ bơi ngẫu nhiên, vì có 4 khu vực) chứng tỏ trí nhớ tốt. Nếu chuột bị suy giảm trí nhớ (do scopolamine), nó sẽ quên vị trí bết đổ cũ. Nó bơi gần như ngẫu nhiên và dành khoảng 25% thời gian ở mỗi khu vực, bao gồm cả khu vực mục tiêu. % thời gian bơi thấp (gần 25% hoặc thấp hơn lô chứng sinh học) chứng tỏ trí nhớ bị suy giảm/quên.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, chuột ở lô gây suy giảm trí nhớ bằng Scopolamine, phần trăm thời gian chuột trải qua trong  $\frac{1}{4}$  bề trước đó đặt chân đế giảm rõ rệt so với lô chứng ( $p < 0,001$ ). Scopolamine khiến chuột không biết khu vực nào là quan trọng (có bết đổ trước đây) nên chúng sẽ không dành nhiều thời gian ưu tiên ở khu vực đó.

Các lô dùng HHDN001 cũng như lô dùng thuốc tham chiếu Donepezil, phần trăm thời gian chuột trải qua trong  $\frac{1}{4}$  bề trước đó đặt chân đế tăng lên rõ ( $p < 0,01$  so với lô mô hình), chứng tỏ tác dụng tăng cường khả năng ghi nhớ của HHDN001. Lô dùng liều 273,6 mg/kg có tác dụng tương đương với lô dùng Donepezil 2,4 mg/kg. Tác dụng không tăng lên khi tăng gấp đôi liều (547,2 mg/kg).

Ở lô uống donepezil và 2 lô uống HHDN001, quãng đường chuột bơi ở  $\frac{1}{4}$  bề trước đó có chứa bết đổ và % quãng đường chuột bơi ở  $\frac{1}{4}$  bề trước đó chứa bết đổ tăng hơn so với lô mô hình, sự thay đổi là có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ . Lô dùng liều 273,6 mg/kg có tác dụng tương đương với lô dùng Donepezil 2,4 mg/kg. Tác dụng không tăng lên khi tăng gấp đôi liều (547,2 mg/kg).

Tương tự, ở lô uống donepezil và lô uống HHDN001 liều cao 547,2 mg/kg, số lần chuột bơi vào  $\frac{1}{4}$  bể trước đó có chứa bèo dề tăng hơn so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ). Còn lô liều thấp 273,6 mg/kg chỉ có xu hướng làm tăng số lần chuột bơi vào  $\frac{1}{4}$  bể trước đó có chứa bèo dề so với lô mô hình.

#### **4.2.2. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên mô hình Multiple T maze**

Trong mô hình mê lộ nhiều chữ T, khả năng ghi nhớ đường của chuột được áp dụng là cơ sở khoa học cho thử nghiệm. Trong nghiên cứu này, chuột học cách tìm ra khoang đích dựa trên trí nhớ của chúng về nhánh của mê cung chúng đã đi trước đây. Đây là một mê lộ phức tạp được ghép bởi nhiều khúc hình chữ T và là mê lộ thách thức với chuột, động lực thúc đẩy chúng là thức ăn - phần thưởng trong khoang đích. Các con chuột khám phá mê lộ, học cách nhớ tìm kiếm thức ăn. Cụ thể : chuột được trải qua pha huấn luyện trong 4 ngày, sau đó là pha thăm dò trí nhớ tại 2 thời điểm, ngày 4 để thăm dò trí nhớ ngắn hạn và ngày 8 để thăm dò trí nhớ dài hạn. Khoảng thời gian 4 ngày huấn luyện đã được các nghiên cứu trước đó chỉ ra là đủ để chuột có được các bước tiến đều đặn của giai đoạn học tập và hình thành được trí nhớ về đường đi tìm thức ăn trong mê lộ [53], [61].

Trong nghiên cứu này, tác dụng cải thiện trí nhớ của HHDN001 được đánh giá trên mô hình mê cung nhiều chữ T chia thành 2 giai đoạn: học hỏi (ngày 1-4) và đánh giá chính thức (ngày 8), thông qua các chỉ số: thời gian, quãng đường chuột tìm thấy khoang đích. Đây là các chỉ số dùng để đánh giá Trí nhớ Làm việc (Working Memory), Trí nhớ Tham chiếu (Reference Memory) và Học tập của chuột, dựa trên Khả năng nhớ một chuỗi các quyết định rẽ (trái/phải) để đạt được mục tiêu hoặc tránh lặp lại lỗi.

Kết quả nghiên cứu cho thấy Scopolamine đã có tác dụng làm suy giảm trí nhớ của chuột, thông qua kết quả làm tăng thời gian tìm thấy khoang đích, quãng đường tìm thấy khoang đích, số lần lựa chọn sai, giảm số lần lựa chọn đúng so với lô chứng sinh học trong cả giai đoạn học hỏi và giai đoạn đánh giá chính thức, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Trong khi Lô chứng dương dùng donepezil và các lô dùng HHDN001 liều 273,6 mg/kg và liều 547,2 mg/kg: các chỉ số đều có tác dụng ở các ngày nghiên cứu so với Ngày 1 và tăng lên đáng kể so với lô mô hình từ Ngày 3 ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ). Chứng tỏ donepezil và HHDN001 đều có tác dụng cải thiện khả năng nhớ và học tập của chuột

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mức độ tác dụng của HHDN001 liều cao 547,2 mg/kg và HHDN001 liều thấp 273,6 mg/kg

Như vậy, Mê cung nhiều chữ T đã chứng minh rằng những con chuột có khả năng tạo ra một bản đồ nhận thức khi tiếp xúc với môi trường xung quanh và có thể xử lý thông tin này khi cần thiết để hoàn thành một nhiệm vụ và HHDN001 ở cả 2 mức liều đều làm giảm rõ rệt thời gian và quãng đường tìm thấy khoang đích, làm giảm số lần quyết định sai của chuột so với lô mô hình, tác dụng cải thiện trí nhớ của thuốc thử giữa 2 liều là tương đương nhau và tương đương với donepezil liều 2,4mg/kg.

#### **4.2.3. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên mô hình né tránh thụ động**

Nguyên lý hoạt động của mô hình né tránh thụ động (Passive Avoidance Test) trên chuột là một phương pháp kiểm tra hành vi quan trọng, được sử dụng để đánh giá trí nhớ học tập cảm xúc dựa trên cơ chế củng cố tiêu cực.

Mô hình này hoạt động dựa trên sự xung đột giữa bản năng tự nhiên của chuột là ưu tiên môi trường tối và kinh nghiệm học được về môi nguy hiểm. Cụ thể, thiết bị thử nghiệm bao gồm hai ngăn: một ngăn sáng (kích thích không được ưa chuộng) và một ngăn tối (kích thích được ưa chuộng). Trong giai đoạn huấn luyện, chuột được đặt vào ngăn sáng và theo bản năng sẽ nhanh chóng di chuyển vào ngăn tối. Ngay khi chuột bước vào ngăn tối, nó sẽ phải nhận một cú sốc điện nhẹ ở chân, tạo ra một trải nghiệm tiêu cực. Điều này giúp chuột học cách liên kết môi trường tối với sự đau đớn. Trong giai đoạn thử nghiệm sau đó (thường 24 giờ), chuột lại được đặt vào ngăn sáng. Để né tránh thụ động (tức là không thực hiện hành vi), chuột phải ức chế bản năng đi vào chỗ tối để tránh cú sốc đã học được. Hiệu suất trí nhớ sẽ được đo bằng thời gian trễ (latency) mà chuột cần để bước vào ngăn tối. Thời

gian trễ càng dài chứng tỏ khả năng nhớ và né tránh càng tốt, cho thấy trí nhớ được bảo tồn; ngược lại, thời gian trễ ngắn cho thấy trí nhớ bị suy giảm [52], [62], [63]. Đây là mô hình dùng để đánh giá trí nhớ ghi nhận và trí nhớ ngắn/dài hạn, dựa trên khả năng nhớ và ngăn chặn một hành vi (đi vào buồng tối) đã từng gắn liền với trải nghiệm tiêu cực (sốc điện).

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Giai đoạn học hỏi: thời gian trễ để chuột bước từ ngăn sáng sang ngăn tối ở tất cả các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

- Giai đoạn đánh giá chính thức:

+ Lô mô hình dùng scopolamin: thời gian trễ không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với giai đoạn học hỏi ( $p > 0,05$ ). So với lô chứng sinh học, thời gian trễ giảm có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ).

+ Lô uống donepezil và HDNN001 liều cao 273,6 mg/kg: thời gian trễ tăng so với lô mô hình và so với giai đoạn học hỏi, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,001$ ). Tuy nhiên, chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 lô này.

+ Lô uống HDNN001 liều thấp 136,8 mg/kg có xu hướng làm tăng thời gian trễ so với lô mô hình và so với giai đoạn học hỏi, tuy nhiên, sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Như vậy, HHDN001 liều 135,8mg/kg (tương đương liều lâm sàng) có xu hướng kích thích trí nhớ và tăng cường khả năng học hỏi từ kinh nghiệm trên chuột cống trắng. HHDN001 liều 273,6 mg/kg (gấp đôi) có tác dụng tốt hơn (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô mô hình và giai đoạn học hỏi), gần tương đương với donepezil.

#### **4.2.4. Bàn luận về tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên mô hình trục quay Rotarod**

Các bệnh lý do sự ảnh hưởng đến hoạt động của thần kinh trung ương thường không chỉ gây ảnh hưởng đến khả năng học tập, ghi nhớ mà còn ảnh hưởng lên nhiều chức năng khác, đặc biệt là khả năng phối hợp vận động và giữ thăng

bằng. Mô hình rotarod là mô hình tiến hành đơn giản nhưng có độ tin cậy cao để đánh giá chức năng này.

Thử nghiệm Rotarod được thiết kế dựa trên sự phối hợp vận động và thăng bằng của chuột bằng cách cho chuột chạy trên thanh quay hình trụ tròn nhằm đánh giá trí nhớ ngắn hạn của chuột. Chỉ số đánh giá là thời gian chuột ở trên trụ quay. Đây là mô hình được sử dụng để đánh giá nhiều chức năng khác nhau trên động vật gặm nhấm như: an thần, cơ lực, trí nhớ. Chuột nào có trí nhớ tốt hơn thì thời gian chuột ở lại trên trục quay ở giai đoạn đánh giá chính thức sẽ lâu hơn [52].

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

+ Lô mô hình: thời gian chuột ở lại trên trục quay không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với giai đoạn học hỏi ( $p > 0,05$ ). So với lô chứng sinh học, thời gian chuột ở lại trên trục quay giảm đáng kể với  $p < 0,01$ . Điều này có thể lý giải do Scopolamine hoạt động như một chất đối kháng không chọn lọc tại thụ thể muscarinic, ngăn chặn hoạt động của chất dẫn truyền thần kinh acetylcholine. Sự gián đoạn hệ thống cholinergic này ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng kiểm soát vận động, phối hợp và thăng bằng [64].

+ Lô uống donepezil: thời gian chuột ở lại trên trục quay tăng so với lô mô hình và so với giai đoạn học hỏi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

+ Lô uống HDNN001 cả hai mức liều: thời gian chuột ở lại trên trục quay đều có xu hướng tăng so với lô mô hình và so với giai đoạn học hỏi, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

#### **4.2.5. Bàn luận về ảnh hưởng của viên nang HHDN001 trên các chỉ số oxy hoá**

Nguyên lý gây tăng nồng độ Malondialdehyde (MDA) và giảm nồng độ Glutathione (GSH) của scopolamine trong mô hình thực nghiệm trên động vật là cơ chế phổ biến liên quan đến việc khởi phát stress oxy hóa trong não.

Scopolamine, với vai trò là chất đối kháng thụ thể acetylcholine muscarinic (M-AChR), làm suy giảm nghiêm trọng dẫn truyền cholinergic, mô phỏng tình trạng suy giảm nhận thức tương tự bệnh Alzheimer. Sự rối loạn chức năng thần kinh này dẫn đến sự tăng sinh quá mức các gốc oxy phản ứng (ROS), gây ra sự mất cân bằng giữa chất chống oxy hóa và các gốc tự do. Cụ thể, việc tăng các gốc tự do tấn

công mạnh mẽ vào màng lipid của tế bào thần kinh, khởi động quá trình peroxy hóa lipid, mà sản phẩm cuối cùng của nó chính là MDA. Do đó, sự tăng nồng độ MDA trong mô là chỉ dấu sinh học trực tiếp chứng minh mức độ tổn thương oxy hóa màng tế bào [65].

Để đối phó với lượng ROS tăng đột biến, hệ thống chống oxy hóa nội sinh phải tăng cường tiêu thụ GSH để trung hòa gốc tự do thông qua các enzyme như glutathione peroxidase (GPx). Quá trình này nhanh chóng làm cạn kiệt lượng GSH dự trữ (chuyển GSH dạng khử thành GSSG dạng oxy hóa), dẫn đến giảm nồng độ GSH trong mô [65].

Bên cạnh việc gây ra stress oxy hóa, mô hình suy giảm nhận thức do tiêm scopolamine trên chuột còn cho thấy sự kích hoạt phản ứng viêm thần kinh, được chứng minh qua sự tăng đáng kể nồng độ cytokine tiền viêm, điển hình là TNF- $\alpha$ . Về nguyên lý, sự đối kháng M-AChR và stress oxy hóa cấp tính do scopolamine gây ra kích hoạt các con đường truyền tín hiệu viêm. Đáng chú ý là sự hoạt hóa yếu tố phiên mã NF- $\kappa$ B. NF- $\kappa$ B di chuyển vào nhân tế bào và thúc đẩy sự phiên mã của các gen mã hóa các cytokine tiền viêm, bao gồm cả TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  là một cytokine quan trọng, khi tăng cao sẽ tạo ra một vòng luẩn quẩn gây độc thần kinh, thúc đẩy quá trình chết theo chương trình và làm tổn thương thêm các tế bào thần kinh ở các vùng quan trọng như hippocampus và vỏ não. Sự tăng TNF- $\alpha$  này không chỉ củng cố bằng chứng về tình trạng viêm thần kinh mà còn chỉ ra rằng cơ chế gây suy giảm trí nhớ và tổn thương tế bào của scopolamine là đa yếu tố, bao gồm cả stress oxy hóa và viêm thần kinh [66]

Kết quả nghiên cứu trong mô hình MWM:

- Nồng độ MDA: Các lô uống donepezil và lô uống HHDN001 liều cao 547,2 mg/kg, nồng độ MDA giảm so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). HHDN001 liều thấp 273,6 mg/kg có xu hướng làm giảm nồng độ MDA so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Nồng độ GSH: các lô dùng donepezil và HHDN001 ở cả 2 mức liều làm tăng nồng độ GSH có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ).

- Nồng độ TNF- $\alpha$ : lô dùng Donepezil làm giảm nồng độ TNF- $\alpha$  có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ). HHDN001 ở cả 2 mức liều có xu hướng làm giảm nồng độ TNF- $\alpha$  so với lô mô hình, tuy nhiên, sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Kết quả nghiên cứu trong mô hình MTM:

- Các lô uống donepezil và lô uống HHDN001 ở cả 2 mức liều làm giảm nồng độ MDA có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,01$  và  $p < 0,05$ ). HHDN001 ở 2 mức liều làm tăng nồng độ GSH so với lô mô hình, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tác dụng của 2 mức liều của HHDN001

Như vậy, viên nang HHDN001 có tác dụng làm cải thiện tình trạng stress oxy hóa và phản ứng viêm thần kinh trong não, thông qua việc làm giảm nồng độ MDA, tăng nồng độ GSH và giảm nồng độ TNF- $\alpha$  trong dịch đồng thể não của chuột nghiên cứu.

### **4.3. Bàn luận về cơ chế tác dụng của viên nang HHDN001**

#### **4.3.1. Cơ chế tác dụng của HHDN001 theo Y học cổ truyền**

Theo YHCT, cơ chế gây bệnh sa sút trí tuệ là: não tủy bất túc, âm dương khí huyết của ngũ tạng suy tổn là bản; khí trệ, huyết ngưng, đàm trọc là tiêu. Đầu là nơi hội tụ của dương khí. Khi thanh dương của lục phủ không thể hội tụ ở đầu, tủy hải bất túc, thần minh không được dinh dưỡng, công năng thất thường, không thể bảo vệ được bên ngoài cơ thể và ngũ quan, chín khiếu, dần dần sẽ gây sa sút trí tuệ [33].

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

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

[33].

Viên nang HHDN001 có các vị thuốc: Dầu gấc, Đương quy và Bạch quả, đều có khả năng điều trị cả Tiêu và Bản của bệnh.

#### 4.3.1.1. Cơ chế của HHDN001 trong điều trị Bản

- Đương quy: quy vào các kinh Can, Tâm, Tỳ và có công năng Bổ huyết, dưỡng Tâm thần và dinh dưỡng não tủy, ngăn chặn tình trạng não tủy bất túc và thần minh không được nuôi dưỡng.

Dầu gấc: Có tác dụng Bổ Tỳ vị. Tỳ tàng Ý, liên quan đến suy nghĩ trừu tượng. Tỳ vị là nguồn sinh hóa khí huyết, Tỳ khỏe sẽ chuyển hoá tinh hoa khí huyết tốt hơn, tăng cường nguồn vật chất để dinh dưỡng não tủy, hỗ trợ công năng của Tâm và Thận.

#### 4.3.1.2. Cơ chế của HHDN001 trong điều trị Tiêu

Bạch quả: quy vào kinh Phế và có công dụng tiêu đàm, giúp tiêu đàm trọc, loại bỏ cản trở vật lý làm nghịch loạn khí cơ, ích khí giúp thanh dương hội tụ lên đầu dễ dàng hơn và giảm thiểu tình trạng đàm trệ làm ảnh hưởng đến não.

Bên cạnh tác dụng bổ huyết, Đương quy còn có công năng hoạt huyết, cải thiện lưu thông máu đến não, đảm bảo sự cung cấp khí huyết đầy đủ để nuôi dưỡng thần minh.

Các vị thuốc trên hợp lại, có tác dụng tổng hợp là tăng cường tuần hoàn não, hỗ trợ điều trị các triệu chứng do thiếu năng tuần hoàn não như đau đầu, hoa mắt, chóng mặt, suy giảm trí nhớ, kém tập trung, hay quên...

### 4.3.2. Bàn luận về cơ chế tác dụng của viên nang HHDN001 theo Y học hiện đại

#### 4.3.2.1. Dầu gấc

Dầu gấc có chứa các carotenoid mạnh như Lycopene và Beta-carotene, cùng với Vitamin E và một phần nhỏ DHA, đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hoá, chống viêm, điều chỉnh tín hiệu tế bào. Stress oxy hóa và viêm thần kinh là nguyên nhân gốc rễ gây thoái hóa tế bào thần kinh. Bằng cách giảm thiểu tổn thương này, Dầu Gấc giúp bảo vệ các tế bào thần kinh còn lại, bao gồm cả các tế bào cholinergic, gián tiếp duy trì chức năng nhận thức. Các carotenoid và axit béo có thể ảnh hưởng đến các con đường tín hiệu liên quan đến sự sống sót và tính dẻo dai của synap, là yếu tố then chốt trong học tập và trí nhớ.

Năm 2024, Kanathip và cộng sự nghiên cứu Tác dụng bảo vệ của quả Gấc đối với sự suy giảm trí nhớ do scopolamine gây ra và hoạt động acetylcholinesterase

trong não của cá ngựa trưởng thành [67]. Kết quả cho thấy chiết xuất Gấc (ở liều 200, 400 và 800 mg/kg) làm cải thiện đáng kể bài kiểm tra hành vi, so với nhóm chứng dương. Điều này cho thấy chiết xuất Gấc có hoạt động chống suy giảm trí nhớ. Hơn nữa, chiết xuất Gấc ở liều 200 mg/kg có xu hướng làm giảm hoạt động enzyme acetylcholinesterase (AChE) trong não. Điều này gợi ý rằng Gấc có thể có một cơ chế thứ cấp tương tự như Donepezil.

#### 4.2.6.2. Đương quy

Đương quy là một dược liệu phức tạp, chứa nhiều nhóm hợp chất hóa học khác nhau. Các nhóm hợp chất chính đã được phân lập của Đương quy bao gồm:

- Nhóm Dầu dễ bay hơi: tiêu biểu là Z-ligustilide [68]
- Nhóm acid hữu cơ: tiêu biểu là acid Ferulic [69]
- Các Polysaccharides [70]
- Các coumarin [71]
- Các hợp chất khác như Flavonoid, Amino acid, Phytosterol [72].

Năm 2011, Li-Ling Cheng và cộng sự đã nghiên cứu Z-ligustilide (LIG) phân lập được từ đương quy để điều trị tình trạng suy giảm trí nhớ do scopolamine gây ra ở chuột. Kết quả cho thấy LIG đã cải thiện đáng kể trí nhớ ngắn hạn và dài hạn về không gian, với cơ chế tăng nồng độ acetylcholin thông qua việc ức chế enzyme acetylcholinesterase, và tăng hoạt động của choline acetyltransferase ở vùng hải mã, tương tự như Donepezil [73].

Năm 2019, Qian Du và cộng sự nghiên cứu tác dụng của polysaccharide chiết xuất từ Đương quy (ASP) trên mô hình chuột được gây bệnh Alzheimer (bằng cách tiêm trực tiếp A $\beta$ 25–35 vào đồi hải mã tại não của chúng, vì đây là một trong những vùng bị tổn thương sớm và nặng nề nhất trong bệnh Alzheimer). Kết quả cho thấy ASP có thể cải thiện sự thiếu hụt về học tập và trí nhớ không gian ở chuột mắc Alzheimer. ASP cũng làm giảm các yếu tố gây viêm, giảm stress oxy hóa và ức chế quá trình chết của tế bào thần kinh. Cơ chế hoạt động được cho là thông qua việc kích hoạt con đường tín hiệu BDNF/TrkB/CREB, một con đường quan trọng cho sự sống và chức năng của tế bào thần kinh [74].

#### 4.2.6.3. Bạch quả

Bạch quả là một trong những dược liệu được nghiên cứu rộng rãi nhất trên thế giới về tác dụng cải thiện nhận thức và hỗ trợ điều trị sa sút trí tuệ. Các nhóm hợp chất chính đã được phân lập của Bạch quả bao gồm:

- Nhóm Flavonoid: chủ yếu là Quercetin, Kaempferol, Isorhamnetin. Chiếm khoảng 22% đến 27% trong chiết xuất chuẩn hóa. Đây là các chất chống oxy hóa, chống lão hóa và cho thấy hiệu quả điều trị tốt đối với nhiều bệnh thần kinh [75].

- Nhóm Terpenoid: Ginkgolides (A, B, C, J, M), Bilobalide. Chiếm khoảng 5% đến 7% trong chiết xuất chuẩn hóa. Ginkgolide B được biết đến là chất đối kháng yếu tố hoạt hóa tiểu cầu (PAF). Bilobalide có tác dụng bảo vệ thần kinh [75].

Trên lâm sàng, bạch quả có tác dụng điều trị não suy, gồm suy giảm sự tập trung và trí nhớ, lú lẫn, mất nghị lực, mệt mỏi, giảm vận động thể lực, tâm trạng trầm cảm, lo âu, chóng mặt, ù tai và nhức đầu. Bạch quả có nhiều cơ chế tác dụng như tác dụng điều hòa trên mạch máu, làm tăng lưu lượng máu, tác dụng về lưu biến máu, làm giảm độ nhớt của máu, tăng dung nạp đối với sự thiếu oxy ở mô, cải thiện rối loạn dẫn truyền thần kinh và dự phòng sự thương tổn màng do gốc tự do. Có tác dụng ức chế acetylcholinesterase, enzyme làm hủy hoại chất dẫn truyền thần kinh acetylcholine [76], [77].

## CHƯƠNG 5

### KẾT LUẬN

#### 5.1. Kết luận về độc tính cấp của viên nang HHDN001.

Chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng của viên nang viên nang HHDN001 theo đường uống.

Viên nang HHDN001 ở liều 19,00 g/kg (50 viên/kg), tương đương 69,44 lần liều dùng dự kiến trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống (Tính người lớn trưởng thành nặng 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt gấp 12 lần, liều dùng dự kiến tối đa 03 viên/ngày/người).

#### 5.2. Kết luận về tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm

##### 5.2.1. Mô hình mê cung nước Morris

HHDN001 ở cả hai mức liều uống trong 6 ngày liên tục có hiệu quả cải thiện khả năng học hỏi và trí nhớ trên chuột nhắt trắng bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin, thông qua các tác dụng:

- Giai đoạn học hỏi: làm giảm thời gian và quãng đường tìm thấy bển đồ.
- Giai đoạn chính thức:
  - + Làm tăng thời gian và % thời gian; quãng đường và % quãng đường chuột bơi trong 1/4 bể trước đó đặt bển đồ.
  - + Làm tăng số lần chuột bơi vào góc ¼ bể trước đó đặt bển đồ.
  - + Làm giảm nồng độ MDA và tăng nồng độ GSH trong dịch đồng thể não
  - + Có xu hướng làm giảm nồng độ TNF $\alpha$  trong dịch đồng thể não

##### 5.2.2 Mô hình mê lộ nhiều chữ T

HHDN001 ở cả hai mức liều uống trong 8 ngày liên tục đều cải thiện khả năng học hỏi và trí nhớ trên chuột nhắt trắng bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin, thông qua tác dụng:

- Rút ngắn thời gian và quãng đường tìm thấy khoang đích so với lô mô hình ở giai đoạn học hỏi và đánh giá chính thức với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê
- Giảm số lần lựa chọn sai và tăng số lần lựa chọn đúng khi so với lô mô hình.

- Cả 2 mức liều làm giảm nồng độ MDA và có xu hướng làm tăng nồng độ GSH trong dịch đồng thể não so với lô mô hình.

### **5.2.3. Mô hình né tránh thụ động**

HHDN001 ở cả hai mức liều uống trong 5 ngày liên tục có tác dụng cải thiện trí nhớ trên chuột cống trắng gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin thông qua tác dụng rút ngắn thời gian trễ so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được ghi nhận với mức liều cao của HHDN001.

### **5.2.4. Mô hình Rotarod**

HHDN001 ở cả hai mức liều uống trong 7 ngày liên tục có xu hướng kéo dài thời gian chuột ở lại trên trục quay so với giai đoạn học hỏi và so với lô mô hình, tuy nhiên mức thay đổi là chưa đáng kể.

## **KIẾN NGHỊ**

Viên nang HHDN001 được sản xuất và phân phối bởi Công ty cổ phần dược mỹ phẩm Kosna Việt Nam, với thành phần bao gồm dầu gấc, cao đương quy, cao bạch quả, với tác dụng tăng cường tuần hoàn não, hỗ trợ điều trị các triệu chứng do thiếu năng tuần hoàn não như đau đầu, hoa mắt, chóng mặt, suy giảm trí nhớ, kém tập trung, hay quên... Cần tiến hành thử nghiệm về tính an toàn và tác dụng dược lý của chế phẩm. Từ các kết quả nghiên cứu, chúng tôi xin đề xuất các kiến nghị như sau:

+ Tiếp tục thực hiện các nghiên cứu về độc tính bán trường diễn và điều trị sa sút trí tuệ của viên nang HHDN001.

+ Tiếp tục thực hiện các nghiên cứu về tính an toàn và tác dụng điều trị sa sút trí tuệ trên lâm sàng của viên nang HHDN001.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Phạm Thắng (2010).** *Bệnh Alzheimer và các thể sa sút trí tuệ khác*. Nhà xuất bản y học, Hà Nội.
2. **Đinh Thị Tuyết Lan (2016).** Đánh giá độc tính của Cereneed-caps trên động vật thực nghiệm. *Tạp chí Dược học*, Tập 56 số 10 (2016)
3. **Scheltens, P., De Strooper, B., Kivipelto, M., Holstege, H., Chételat, G., Teunissen, C. E., ... & van der Flier, W. M. (2021).** Alzheimer's disease. *The Lancet*, 397(10284), 1577-1590.
4. **Nguyễn Văn Chương (2018).** *Thực hành lâm sàng thần kinh học Tập 5 - Điều trị học*. Nhà xuất bản y học
5. **World Health Organization (2015).** *First WHO Ministerial Conference on Global Action Against Dementia Geneva*, Switzerland
6. **Tahami Monfared, A. A., Byrnes, M. J., White, L. A., & Zhang, Q. (2022).** Alzheimer's disease: epidemiology and clinical progression. *Neurology and therapy*, 11(2), 553-569.
7. **Zhang, X. X., Tian, Y., Wang, Z. T., Ma, Y. H., Tan, L., & Yu, J. T. (2021).** The epidemiology of Alzheimer's disease modifiable risk factors and prevention. *The journal of prevention of Alzheimer's disease*, 8, 313-321.
8. **Chansky, D. (2023).** Dementia, Alzheimer's, Age: Intersectionalities and an American Context. *Losing It: Staging the Cultural Conundrum of Dementia and Decline in American Theatre* (pp. 19-36). Cham: Springer International Publishing.
9. **Lyketsos, C. G., Carrillo, M. C., Ryan, J. M., Khachaturian, A. S., Trzepacz, P., Amatniek, J., ... & Miller, D. S. (2011).** Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7(5), 532-539.
10. **Walker, Z., Possin, K. L., Boeve, B. F., & Aarsland, D. (2015).** Lewy body dementias. *The Lancet*, 386(10004), 1683-1697.
11. **Dintica, C. S., & Yaffe, K. (2022).** Epidemiology and risk factors for dementia. *Psychiatric Clinics*, 45(4), 677-689.

12. **Wiegmann, C., Mick, I., Brandl, E. J., Heinz, A., & Gutwinski, S. (2020).** Alcohol and dementia—what is the link? A systematic review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 87-99.
13. **Prajwal, P., Shashank, S., Al-Ezzi, S. M. S., Sharma, B., Aubourg, O., Kaushish, A., ... & Asharaf, S. (2023).** Frontotemporal dementia: addressing the scattered harbingers of genetics and its relationship with glucose metabolism, bipolar disorder, and amyotrophic lateral sclerosis. *Disease-a-Month*, 69(5), 101545.
14. **Gallagher, J., Gochanour, C., Caspell-Garcia, C., Dobkin, R. D., Aarsland, D., Alcalay, R. N., ... & Parkinson's Progression Markers Initiative. (2024).** Long-Term Dementia Risk in Parkinson Disease. *Neurology*, 103(5), e209699.
15. **Muzambi, R., Bhaskaran, K., Brayne, C., Davidson, J. A., Smeeth, L., & Warren-Gash, C. (2020).** Common bacterial infections and risk of dementia or cognitive decline: a systematic review. *Journal of Alzheimer's Disease*, 76(4), 1609-1626.
16. **Nitrini, R. (2023).** The past, present and future of Alzheimer's disease—part 1: the past. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 81(12), 1070-1076.
17. **Dafsari, F. S., & Jessen, F. (2020).** Depression—an underrecognized target for prevention of dementia in Alzheimer's disease. *Translational psychiatry*, 10(1), 160.
18. **Jack Jr, C. R., Albert, M., Knopman, D. S., McKhann, G. M., Sperling, R. A., Carillo, M., ... & Phelps, C. H. (2011).** Introduction to revised criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: National Institute on Aging and the Alzheimer Association Workgroups. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, 7(3), 257.
19. **Li, Y., Schindler, S. E., Bollinger, J. G., Ovod, V., Mawuenyega, K. G., Weiner, M. W., ... & Bateman, R. J. (2022).** Validation of plasma amyloid- $\beta$  42/40 for detecting Alzheimer disease amyloid plaques. *Neurology*, 98(7), e688-e699.

20. **Hampel, H., Hardy, J., Blennow, K., Chen, C., Perry, G., Kim, S. H., ... & Vergallo, A. (2021).** The amyloid- $\beta$  pathway in Alzheimer's disease. *Molecular psychiatry*, 26(10), 5481-5503.
21. **Kihara, T., & Shimohama, S. (2004).** Alzheimer's disease and acetylcholine receptors. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 64(1), 99-105.
22. **Marucci, G., Buccioni, M., Dal Ben, D., Lambertucci, C., Volpini, R., & Amenta, F. (2021).** Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 190, 108352.
23. **Behl, T., Kaur, D., Sehgal, A., Singh, S., Sharma, N., Zengin, G., ... & Bumbu, A. G. (2021).** Role of monoamine oxidase activity in Alzheimer's disease: an insight into the therapeutic potential of inhibitors. *Molecules*, 26(12), 3724.
24. **Bukke, V. N., Archana, M., Villani, R., Romano, A. D., Wawrzyniak, A., Balawender, K., ... & Cassano, T. (2020).** The dual role of glutamatergic neurotransmission in Alzheimer's disease: from pathophysiology to pharmacotherapy. *International journal of molecular sciences*, 21(20), 7452.
25. **Bellenguez, C., Grenier-Boley, B., & Lambert, J. C. (2020).** Genetics of Alzheimer's disease: where we are, and where we are going. *Current opinion in neurobiology*, 61, 40-48.
26. **Passeri, E., Elkhoury, K., Morsink, M., Broersen, K., Linder, M., Tamayol, A., ... & Arab-Tehrany, E. (2022).** Alzheimer's disease: treatment strategies and their limitations. *International journal of molecular sciences*, 23(22), 13954.
27. **Babaei, P. (2021).** NMDA and AMPA receptors dysregulation in Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology*, 908, 174310.
28. **Tecalco-Cruz, A. C., Zepeda-Cervantes, J., & Ortega-Domínguez, B. (2021).** Estrogenic hormones receptors in Alzheimer's disease. *Molecular Biology Reports*, 48(11), 7517-7526.
29. **Alsubaie, N., Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Alharbi, B., De Waard, M., Sabatier, J. M., ... & Batiha, G. E. S. (2022).** Statins use in

Alzheimer disease: bane or boon from frantic search and narrative review. *Brain sciences*, 12(10), 1290.

30. **Gavrilova, S. I., & Alvarez, A. (2021).** Cerebrolysin in the therapy of mild cognitive impairment and dementia due to Alzheimer's disease: 30 years of clinical use. *Medicinal Research Reviews*, 41(5), 2775-2803.
31. **Cummings, J. (2021).** New approaches to symptomatic treatments for Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 16, 1-13.
32. **De la Rosa, A., Olaso-Gonzalez, G., Arc-Chagnaud, C., Millan, F., Salvador-Pascual, A., García-Lucerga, C., ... & Gomez-Cabrera, M. C. (2020).** Physical exercise in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Journal of sport and health science*, 9(5), 394-404.
33. **Phạm Vũ Khánh (2009).** *Lão khoa y học cổ truyền*. Nhà Xuất bản Y học
34. **Teymuori, M., Yegdaneh, A., & Rabbani, M. (2021).** Effects of Piper nigrum fruit and Cinnamum zeylanicum bark alcoholic extracts, alone and in combination, on scopolamine-induced memory impairment in mice. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 16(5), 474-481
35. **Nguyễn Bích Hạnh (2017).** Đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase in vitro của các phân đoạn dịch chiết hoàng liên (coptis chinensis franch), *Khóa luận tốt nghiệp đại học*, Đại học quốc gia Hà Nội
36. **Phạm, T. N. H., Nunez, F. Y., Montara, P. Y., & Trần, N. H. (2021).** Nghiên cứu tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ và bảo vệ tế bào thần kinh của cao chiết giàu flavonoid từ hoa Talipariti datum (SW.) FryxeH. *Tạp chí Dược liệu* 2021 - no.4 - tr.250-257
37. **Nguyễn, L. V. H., Đỗ, T. S., Nguyễn, P. D., & Trần, T. T. L. (2024).** Khảo sát tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nén đan sâm tam thất trên mô hình IN VIVO và IN VITRO. *Tạp Chí Y học Việt Nam*, 537(1). <https://doi.org/10.51298/vmj.v537i1.9059>
38. **Hạnh, L. T. H. ., Trung, Đỗ M. ., Trung, T. N. ., Mão, C. V. ., & Thư, N. V. . (2024).** 38. Nghiên cứu tác dụng tăng cường trí nhớ của viên nang mềm

- HUP A bằng mô hình Scopolamine trên chuột nhắt trắng. *Tạp Chí Y học Cộng đồng*, 65(CD2). <https://doi.org/10.52163/yhc.v65iCD2.1043>
39. **Đỗ Huy Bích và cs (2006)**. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập I. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, trang 861-865
  40. **Bộ Y tế (2017)**, *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 1174-1175.
  41. **Đỗ Huy Bích và cs (2006)**. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập I. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, trang 833-840
  42. **Đỗ Huy Bích và cs (2006)**. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập I. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, trang 154-158
  43. **Bộ y tế (2015)**. *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu* (ban hành kèm theo Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015)
  44. **Courtney K. D. Ellman G. L., Andres V. et al (1961)**. A new and rapid colorimetric determination of Acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7, 88-95
  45. **Borloz A. và Urbain A. et al Di Giovanni S. (2008)**. In vitro screening assays to identify natural or synthetic Acetylcholinesterase inhibitors: thin layer chromatography versus microplate methods. *European journal of pharmaceutical sciences*, 33, 109-19
  46. **Geloso, M. C., Corvino, V., & Michetti, F. (2011)**. Trimethyltin-induced hippocampal degeneration as a tool to investigate neurodegenerative processes. *Neurochemistry international*, 58(7), 729-738.
  47. **Colle, D., & Farina, M. (2021)**. Oxidative stress in paraquat-induced damage to nervous tissues. In *Toxicology* (pp. 69-78). Academic Press.
  48. **Shim I. Lee B., Lee H. et al (2011)**. *Rehmannia glutinosa* ameliorates scopolamine-induced learning and memory impairment in rats. *J Microbiol Biotechnol*, 21, 874-83.
  49. **Ma A. and Guo H. (1998)**. *Effect of Radix Achyranthis bidentatae on memory and endurance* *Zhong Yao Cai*, 21, 624-6

50. **Junjie H. Manisha M., Yin Y. L., Doreen S. K. C., Xiaoyan L., Jiang M. H., Klaus H., (2011).** Gastrodia elata modulates amyloid precursor protein cleavage and cognitive functions in mice. *BioScience Trends*, 5(3), 129-38
51. **Palmer AM Francis PT, Snape M, Wilcock GK (1999).** The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*, 66 (2), 137-47
52. **Falsafi S. K., Deli A., Hoger H. et al (2012).** Scopolamine administration modulates muscarinic, nicotinic and NMDA receptor systems. *PLoS One*. 2012;7(2):e32082. doi: 10.1371/journal.pone.0032082.
53. **PLoS One, 7 (2), 75-82. 20. Bunadri P., Neerati V. and Merugu S. (2013).** Neuroprotective effect of resveratrol against scopolamine-induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Arch. Biol. Sci.*, 65 (4), 1381-1386
54. **Li K. Patil S. S., Heo S. et al (2012).** Proteins linked to spatial memory formation of CD1 mice in the multiple T-maze. *Hippocampus*, 22, 1075-86
55. **Gu J. Lin Z., Xiu J. et al (2012).** Traditional chinese medicine for senile dementia. *Evid Based Complement Alternat Med*, 619-21
56. **Đỗ Trung Đàm (2006),** Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm, *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, tr. 377 – 392
57. **Gerhard Vogel H. (2016),** *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer
58. **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*
59. San Tang, K. (2019). The cellular and molecular processes associated with scopolamine-induced memory deficit: A model of Alzheimer's biomarkers. *Life sciences*, 233, 116695.
60. Zhang, X., Lian, S., Zhang, Y., & Zhao, Q. (2022). Efficacy and safety of donepezil for mild cognitive impairment: A systematic review and meta-

- analysis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 213, 107134.  
<https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2022.107134>
61. Lan H, Dong ZW, Zhang MY, et al. Sinaptic acid modulates oxidative stress and metabolic disturbances to attenuate ovarian fibrosis in letrozole-induced polycystic ovary syndrome SD rats. *Food Sci Nutr*. 2024;12(4):2917-2931. doi:10.1002/fsn3.3973
62. Ögren SO, Stiedl O. Passive Avoidance. In: *Encyclopedia of Psychopharmacology*. Springer, Berlin, Heidelberg; 2015:1220-1228. doi:10.1007/978-3-642-36172-2\_160
63. Gacar N, Mutlu O, Utkan T, Komsuoglu Celikyurt I, Gocmez SS, Ulak G. Beneficial effects of resveratrol on scopolamine but not mecamlamine induced memory impairment in the passive avoidance and Morris water maze tests in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2011;99(3):316-323. doi:10.1016/j.pbb.2011.05.017
64. Bestaven, E., Kambrun, C., Guehl, D., Cazalets, J. R., & Guillaud, E. (2016). The influence of scopolamine on motor control and attentional processes. *PeerJ*, 4, e2008.
65. Park, H. J., Nam, M. H., Park, J. H., Lee, J. M., Hong, H. S., Kim, T. W., Lee, I. H., Shin, C. H., Lee, S. H., & Seo, Y. K. (2024). Comparison of Malondialdehyde, Acetylcholinesterase, and Apoptosis-Related Markers in the Cortex and Hippocampus of Cognitively Dysfunctional Mice Induced by Scopolamine. *Biomedicines*, 12(11), 2475. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12112475>
66. Tang, K. S. (2019). The cellular and molecular processes associated with scopolamine-induced memory deficit: A model of Alzheimer's biomarkers. *Life Sciences*, 233, 116695. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116695>
67. Singasai, K., Saksit, N., & Chaikhumwang, P. (2024). Brain acetylcholinesterase activity and the protective effect of Gac fruit on scopolamine-induced memory impairment in adult zebrafish. *IBRO*

Neuroscience Reports, 16, 368–372.  
<https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2024.02.004>

68. Wei, W., Zeng, R., Gu, C., Qu, Y., & Huang, L. (2016). *Angelica sinensis* in China-A review of botanical profile, ethnopharmacology, phytochemistry and chemical analysis. *Journal of Ethnopharmacology*, 190, 116–141. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.023>
69. Chao, W., & Lin, B. (2011). Bioactivities of major constituents isolated from *Angelica sinensis* (Danggui). *Chinese Medicine*, 6(1), 29. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-6-29>
70. Ren, C., Luo, Y., Li, X., Ma, L., Wang, C., Zhi, X., Zhao, X., & Li, Y. (2025). Pharmacological action of *Angelica sinensis* polysaccharides: a review. *Frontiers in Pharmacology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1510976>
71. Han, X., Li, M., Yuan, Q., Lee, S., Li, C., Ren, Y., Garth, M., & Wang, L. (2023). Advances in molecular biological research of *Angelica sinensis* Medicinal Plant Biology, 2(1), 0. <https://doi.org/10.48130/mpb-2023-0016>
72. Chen, L., Fan, B., Wang, F., Song, Y., Wang, X., Meng, Y., Chen, Y., Xia, Q., & Sun, J. (2024). Research Progress in Pharmacological Effects and Mechanisms of *Angelica sinensis* against Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases. *Molecules*, 29(9), 2100. <https://doi.org/10.3390/molecules29092100>
73. Cheng, L., Chen, X., Wang, Y., Yu, L., Kuang, X., Wang, L., Yang, W., & Du, J. (2011). Z-ligustilide isolated from *Radix Angelicae sinensis* ameliorates the memory impairment induced by scopolamine in mice. *Fitoterapia*, 82(7), 1128–1132. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.07.011>
74. Du, Q., Zhu, X., & Si, J. (2019). *Angelica* polysaccharide ameliorates memory impairment in Alzheimer's disease rat through activating BDNF/TrkB/CREB pathway. *Experimental Biology and Medicine*, 245(1), 1–10. <https://doi.org/10.1177/1535370219894558>

75. Nishida, S., & Satoh, H. (2003). Comparative vasodilating actions among terpenoids and flavonoids contained in *Ginkgo biloba* extract. *Clinica Chimica Acta*, 339(1–2), 129–133. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.10.004>
76. Huê Hoàng Thi, Đức Trần Quỳnh (2022). Cây bạch quả - giải pháp nguyên liệu cho ngành dược Việt Nam. *Tạp chí khoa học và công nghệ Trường Đại học Thành Đông*, Tập 4 số 4 (2022).
77. Pagotto, G. L. D. O., Santos, L. M. O. D., Osman, N., Lamas, C. B., Laurindo, L. F., Pomini, K. T., ... & Barbalho, S. M. (2024). *Ginkgo biloba*: a leaf of hope in the fight against Alzheimer's dementia: clinical trial systematic review. *Antioxidants*, 13(6), 651.

**PHỤ LỤC 1**  
**HÌNH ẢNH NGHIÊN CỨU**

**Vệ sinh mô hình trước khi thí nghiệm**



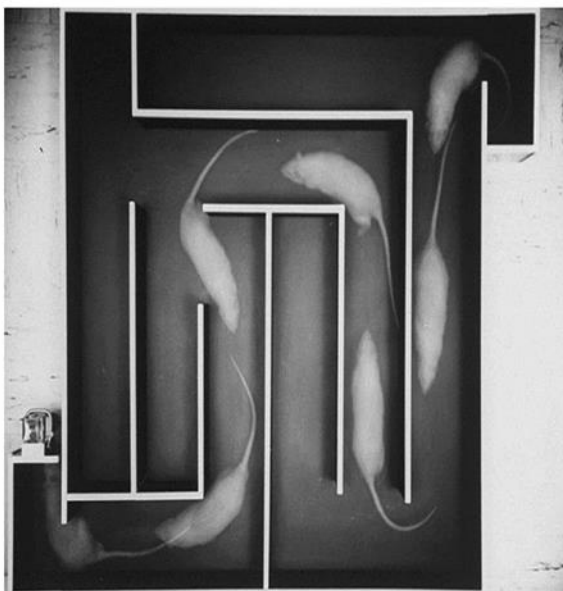
**Kiểm tra mô hình trước khi thí nghiệm**



**Bắt chuột chuẩn bị và cho uống thuốc**



**Quan sát và đánh giá thí nghiệm**



## PHỤ LỤC 2

### CÁC VỊ THUỐC TRONG VIÊN NANG HHDN001

#### 1. Gấc

**Tên khoa học:** Oleum Momordica cochinchinensis (Lour.) Spreng

**Bộ phận dùng:** Lớp màng hạt được bóc để sản xuất dầu.

**Hoạt chất:** acid oleic, acid linoleic, acid stearic, acid palmitic, B-caroten và lycopene



**Tác dụng dược lý :** Các chất Carotenoid có trong màng hạt Gấc có tính chất chống oxy hóa mạnh, giúp bảo vệ cơ thể khỏi các tác nhân oxy hóa và stress oxy hóa. B-Caroten là tiền vitamin A, hỗ trợ sự hoàn chỉnh của các tổ chức biểu mô như da và niêm mạc, ngăn ngừa sự teo và sừng hóa các tế bào biểu mô. Vitamin A tham gia vào quá trình hình thành rhodopsin, một chất cần thiết để mắt có thể nhìn vào ban đêm, đồng thời hỗ trợ sự tăng trưởng và tăng cường sức đề kháng cho cơ thể..

**Tính vị, quy kinh:** Dầu gấc có vị ngọt, tính bình.

**Tác dụng:** có tác dụng bổ tỳ vị, làm sáng mắt.

#### **Liều lượng:**

Đối với người lớn: Nhu cầu nạp dầu gấc của người trưởng thành là khoảng 2ml/ngày nếu ở dạng dầu ăn và từ 2 - 4 viên/ngày nếu ở dạng viên nang. Không nên dùng quá liều lượng trên để tránh bị ngộ độc vì dư thừa beta-carotene.

Đối với trẻ em: Không nên dùng quá 1ml dầu gấc cho trẻ mỗi ngày.

## 2. Đương quy

**Tên khoa học:** *Radix Angelicae sinensis*

**Bộ phận dùng:** Toàn rễ (toàn quy) đã phơi hay sấy khô của cây Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.), họ Hoa tán (*Apiaceae*).

**Hoạt chất:** Tinh dầu, coumarin, acid hữu cơ, polysaccharid, vitamin, polyacetylen, sterol, nguyên tố vi lượng.



**Tác dụng dược lý:** Tác dụng kiểu estrogen và progesteron yếu. Gây tăng trương lực và biên độ co bóp tử cung. Ức chế sự ngưng kết tập tiểu cầu. Tăng lực. Tăng đề kháng. Chống viêm. Ức chế co thắt cơ trơn ruột. Tăng cường tuần hoàn não

**Tính vị, quy kinh:** Vị ngọt, cay, tính ấm. Quy vào kinh tâm, can, tỳ.

**Tác dụng:** Bổ huyết, hành huyết.

**Ứng dụng lâm sàng:** Bổ huyết, bổ ngũ tạng: dùng trong trường hợp thiếu máu dẫn đến hoa mắt, chóng mặt, da xanh, người gầy yếu (dùng bài Tứ vật). Hoạt huyết, giải uất kết: điều kinh, chữa phụ nữ huyết hư kinh nguyệt không đều, thống kinh, bế kinh. Kết hợp với thực địa, hà thủ ô đỏ, bạch thược. Chữa xung huyết, tụ huyết do sang chấn. Kết hợp với xuyên khung, đào nhân, hồng hoa...Chữa cơn đau dạ dày, đau các dây thần kinh, các cơ do lạnh. Đau đầu nhiều dùng đương qui sao tẩm rượu. Nhuận tràng thông tiện do huyết hư gây táo bón. Giải độc tiêu viêm.

**Liều lượng:** 6g - 12g/ ngày.

### 3. Bạch quả

**Tên khoa học:** *Ginkgo biloba* L.

**Bộ phận dùng:** Quả chín được thu hái, bỏ phần thịt ngoài lấy hạt bên trong, phơi khô, khi dùng đập bỏ phần vỏ cứng lấy nhân ở trong, rửa sạch, đồ



hoặc nhúng vào nước sôi, rồi sấy ở nhiệt độ thấp đến khô. Hạt được dùng sống hoặc sao vàng, có độc, nên cẩn thận khi dùng.

**Hoạt chất:** Thịt quả chứa các acid phenol và phenol có độc tính gồm acid ginkgolic, acid hydroginkgolic và acid hydroginkgolinic, ginkgol và bilobal. Hạt Bạch quả chứa các acid béo và thịt quả chứa một số phenol độc như acid ginkgolic. Hạt còn một chất độc nữa là 4 - O - methylpyridoxin. Chất này đối kháng với vitamin B6 trong cơ chế và ức chế sự hình thành acid 4 - aminobutyric từ glutamat trong não.

**Tác dụng dược lý :** điều trị bệnh Alzheimer, bệnh thoái hóa thần kinh, suy não, các vấn đề về thần kinh (ví dụ: ù tai, chóng mặt), bệnh về mắt, suy mạch máu, suy giảm trí nhớ liên quan đến tuổi tác và stress oxy hóa, ngăn ngừa quá trình chết theo chương trình, chống oxy hóa.

**Tính vị, quy kinh:** vị ngọt, đắng chát với tính bình và có độc. Quy vào kinh Phế

**Tác dụng:** ích khí, ích phổi, tiêu đờm, sát trùng, giải rượu, cầm tiểu tiện... Chủ trị: Hen suyễn, khí hư bạch đới ở phụ nữ, viêm đường tiết niệu, xuất tinh sớm, di tinh ở nam giới, cơ thể suy nhược...

**Liều lượng:** Nhân Bạch quả ngày dùng 10 - 20g, bóc bỏ vỏ, dùng dưới dạng sắc hay nướng chín, tán bột. Thịt quả có độc không ăn sống được. Phải ép bỏ dầu trước rồi để lâu trên một năm mới dùng. Dùng 3 - 4 quả/ngày. Sử dụng một mình hoặc kết hợp với các loại thuốc khác.

**Kiêng kỵ:** Hạt bạch quả sống có chứa glycoside cyanogenic độc hại, không nên tiếp xúc hay ăn hạt này. Không dùng cho phụ nữ có thai

**GIẤY XÁC NHẬN**

Bộ môn Dược lý, Trung tâm Dược lý lâm sàng xác nhận **HHDN001** là tên mã hóa của viên nang mềm **Hoạt huyết dưỡng não**, được thực hiện trong khuôn khổ đề tài: **Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng cải thiện trí nhớ của viên nang HHDN001 trên thực nghiệm.**

Lô sản xuất: ..... *01/V.KIST-KIST.2022* .....

Ngày sản xuất: ..... *05/08/2024. Hạn dùng 24 tháng* .....

Các nội dung nghiên cứu:

1. Đánh giá độc tính cấp của viên nang **HHDN001**

2. Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ và hoạt động thần kinh cơ của viên nang **HHDN001** trên thực nghiệm. Ngày: **20-01-2026**

Đề tài được tiến hành tại Bộ môn Dược lý, Đại học Y Hà Nội, thực hiện bởi học viên **Đinh Văn Thao**, học viên Bác sỹ chuyên khoa cấp II của Học viện Y-Dược học cổ truyền Việt Nam, với sự giúp đỡ kỹ thuật của các kỹ thuật viên và nghiên cứu viên tại Trung tâm Dược lý lâm sàng, Bộ môn Dược lý, Đại học Y Hà Nội.

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Trần Thái Hà

Thời gian thực hiện đề tài: 05/2025 – 09/2025

Hà Nội, ngày 02 tháng 01 năm 2026

Trưởng Bộ môn Dược lý

Giám đốc Trung tâm Dược lý lâm sàng



PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh

**CÔNG CHỨNG VIÊN**  
*Phạm Lhi Huyền*

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Bộ môn Dược lý

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

Trung tâm Dược lý lâm sàng



**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**  
**ĐỘC TÍNH CẤP VIÊN NANG HHDN001**  
**TRÊN THỰC NGHIỆM**

Nơi tiến hành nghiên cứu: **Bộ môn Dược lý – Đại học Y Hà Nội**

Thời gian tiến hành nghiên cứu: **5/2025 – 6/2025**

Cán bộ tham gia nghiên cứu: **1. PGS.TS. Trần Thái Hà**

**2. PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh**

**3. Đinh Văn Thao**

**Hà Nội – 2025**

## I. NGUYÊN LIỆU VÀ ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

### 1.1. Thuốc nghiên cứu:

#### 1.1.1. Chế phẩm nghiên cứu

- Tên chế phẩm: HHDN001 (gọi tắt là HHDN) được sản xuất và phân phối bởi Công ty cổ phần dược mỹ phẩm Kosna Việt Nam, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Các dược liệu đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V.
- Dạng bào chế: Viên nang.

**Bảng 1.1.** Thành phần một viên nang HHDN001

Thành phần		Hàm lượng	Tiêu chuẩn
1	Dầu gấc <i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng.	300 mg	TCCS ĐDVN V
2	Cao Đương quy <i>Radix Angelicae sinensis</i>	40 mg	
3	Cao Bạch quả <i>Ginko biloba</i> L.	40 mg	
Tá dược khác: Dầu cọ, Lecithin, Sáp ong, Colloidal silicon dioxide, Gelatin, Glycerin, Sorbitol, Ethyl vanillin, Titan dioxyd, Methylparaben, propylparaben, Brown HT, Brilliant blue, Nước tinh khiết vừa đủ.		Vừa đủ 1 viên	TCCS

Liều dùng dự kiến trên lâm sàng: Người lớn uống mỗi lần 01 viên, ngày 3 lần. Tính trung bình cho một người nặng 50 kg, liều trên người lớn là 1140 mg dược liệu (03 viên).

Quy đổi ra liều tương đương trên chuột nhắt trắng với hệ số ngoại suy 12 có liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhắt là 273,6 mg dược liệu/kg (0,72 viên/kg).

- Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu:

Lấy 40 viên, bỏ nang, nghiền trong cối, thêm nước cất vừa đủ thành 80 ml dung dịch đậm đặc cho chuột nhắt trắng uống bằng kim chuyên dụng. Dung dịch này là đậm đặc nhất có thể dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub>

của viên nang HHDN001.

## **1.2. Đối tượng nghiên cứu**

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

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

## **1.3. Máy móc phục vụ nghiên cứu**

- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Kim đầu tù cho chuột uống.
- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

## **1.4. Phương pháp nghiên cứu**

*Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang HHDN001 theo đường uống trên chuột nhắt trắng*

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của viên nang HHDN001 trên chuột nhắt trắng theo đường uống [1], [2].

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

Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống viên nang HHDN001 với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị để xác định LD<sub>50</sub> viên nang HHDN001. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống.

## **1.5. 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.

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Chuột nhắt trắng được uống viên nang HHDN001 từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 4 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc, theo dõi thấy các liều viên nang HHDN001 không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống.

Kết quả được trình bày ở bảng 2.1.

**Bảng 2.1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang HHDN001**

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (viên/kg)	Liều g/kg	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	60	30,0	11,40	0	Không
Lô 2	10	75	37,5	14,25	0	Không
Lô 3	10	100	50,0	19,00	0	Không

Kết quả bảng 2.1 cho thấy: các lô chuột uống viên nang HHDN001 liều từ 30 viên/kg tương ứng 11,40 g/kg đến liều tối đa 50 viên/kg tương ứng 19,00 g/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 2.1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của viên nang HHDN001 là: 50 viên/kg tương ứng 19,00 g/kg.

### 3. KẾT LUẬN:

- Chưa xác định được LD<sub>50</sub> trên chuột nhắt trắng của viên nang viên nang HHDN001 theo đường uống.
- Viên nang HHDN001 không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 19,00 g/kg (50 viên/kg).
- Viên nang HHDN001 ở liều gấp 69,44 lần liều dùng dự kiến trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống (Tính người lớn trưởng thành nặng 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt gấp 12 lần, liều dùng dự kiến tối đa 03 viên/ngày/người).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Gerhard Vogel H.** (2016), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
2. **World Health Organization (2013)**, *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.

Hà Nội, ngày 30 tháng 09 năm 2025

**Trưởng Bộ môn Dược lý**  
**Giám đốc Trung tâm Dược lý lâm sàng**



**PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh**

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam

Bộ môn Dược lý

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

Trung tâm Dược lý lâm sàng



**ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CẢI THIỆN TRÍ NHỚ  
VÀ HOẠT ĐỘNG THẦN KINH CƠ CỦA  
VIÊN NANG HHDN001 TRÊN THỰC NGHIỆM**

Nơi tiến hành nghiên cứu: **Bộ môn Dược lý – Đại học Y Hà Nội**

Thời gian tiến hành nghiên cứu: **6/2025 – 9/2025**

Cán bộ tham gia nghiên cứu: **1. PGS.TS. Trần Thái Hà  
2. PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh  
3. Đinh Văn Thao**

Hà Nội – 2025

\* B  
TH  
DUỢ  
Đ. A

TÁC DỤNG CẢI THIÊN TRÍ NHỚ CỦA HDNN001 – Mô hình MWM

Lô 1: Chứng sinh học

STT	Giai đoạn học hồi					Quãng đường tìm thấy bên đồ										Giai đoạn chính thức						MDA (nmol/100 mg)	GSH (µg/100 mg)	TNF-α (pg/mg)
	T1 (s)	T2 (s)	T3 (s)	T4 (s)	T5 (s)	D1(m)	D2(m)	D3(m)	D4(m)	D5(m)	Thời gian trong bể	Thời gian góc platform	Bên đồ (%)	Quãng đường trong bể	Quãng đường trong platform	% quãng đường trong bên đồ	Số lần vào góc platform							
																		Thời gian trong bể	Thời gian góc platform	Bên đồ (%)	Quãng đường trong bể			
1	14,73	20,50	16,28	15,50	14,78	3,29	5,37	3,32	5,24	4,71	60,0	12,8	21,33	11,89	4,28	35,97	6	39,6	353,5	6,41				
2	14,43	19,72	18,43	9,70	8,58	3,03	7,73	5,60	2,33	2,53	60,0	17,0	28,33	12,05	4,20	34,88	4							
3	17,73	22,00	15,53	11,95	11,45	4,14	8,02	4,58	3,92	3,68	60,0	22,2	37,00	13,70	5,23	38,20	3	49,4	326,3	3,53				
4	17,63	19,62	18,30	10,85	15,15	3,91	4,00	4,67	2,75	3,30	60,0	20,1	33,50	13,70	4,41	32,17	2	30,9	470,9	5,70				
5	20,07	17,14	19,30	10,55	8,48	4,95	3,68	4,37	2,67	2,18	60,0	12,1	20,17	19,42	3,59	18,51	2	31,8	394,9	3,81				
6	19,10	11,68	10,10	11,63	13,38	2,54	2,16	2,51	2,74	3,18	60,0	14,4	24,00	17,22	9,92	57,62	5	22,7	551,1	5,20				
7	15,93	14,28	10,90	14,38	8,55	3,94	4,17	4,03	3,22	3,01	60,0	21,8	36,33	18,20	6,19	34,03	6	37,4	373,3	4,60				
8	12,67	11,20	9,78	10,75	6,60	6,92	6,19	3,43	4,46	3,81	60,0	27,2	45,33	15,08	7,56	50,12	5	31,2	569,8	3,14				
9	15,50	9,46	8,47	7,75	9,95	4,02	3,36	2,19	2,15	3,44	60,0	27,6	46,00	15,06	6,69	44,41	5	35,4	374,2	4,40				
10	19,53	8,52	7,00	7,38	5,65	5,47	4,33	4,88	2,38	2,56	60,0	19,3	32,17	17,25	4,15	24,04	6							
TB	16,73	15,41	13,41	11,04	10,26	4,22	4,90	3,96	3,18	3,24	60,00	19,45	32,42	15,36	5,62	37,00	4,40	34,80	426,74	4,60				
SD	2,46	4,99	4,62	2,55	3,32	1,28	1,90	1,08	1,03	0,74	0,00	5,47	9,12	2,59	1,98	11,55	1,58	7,80	92,56	1,12				
SE	0,78	1,58	1,46	0,81	1,05	0,40	0,60	0,34	0,32	0,23	0,00	1,73	2,89	0,82	0,63	3,65	0,50	2,47	29,27	0,35				
p t-s	0,482	0,021	0,0096	0,0040		0,340	0,088	0,014	0,022															

Lô 2: Mô hình

STT	Giai đoạn học hồi					Quãng đường tìm thấy bên đồ										Giai đoạn chính thức						MDA (nmol/100 mg)	GSH (µg/100 mg)	TNF-α (pg/mg)
	T1 (s)	T2 (s)	T3 (s)	T4 (s)	T5 (s)	D1(m)	D2(m)	D3(m)	D4(m)	D5(m)	Thời gian trong bể	Thời gian góc platform	Bên đồ (%)	Quãng đường trong bể	Quãng đường trong platform	% quãng đường trong bên đồ	Số lần vào góc platform							
																		Thời gian trong bể	Thời gian góc platform	Bên đồ (%)	Quãng đường trong bể			
1	22,93	27,36	20,43	22,18	36,73	5,06	7,68	5,37	5,59	9,78	60,00	20,50	34,17	17,32	4,85	28,01	2	49,8	319,3	4,29				
2	11,10	14,38	15,00	11,05	11,18	2,98	6,65	4,76	5,11	5,69	60,00	13,00	21,67	20,22	2,20	10,90	3	56,1	354,3	5,70				
3	14,90	24,56	19,18	14,60	13,53	3,79	8,18	11,13	10,68	8,02	60,00	10,50	17,50	29,16	3,92	13,44	1	59,2	377,0	5,03				
4	18,07	22,76	13,43	11,80	14,43	6,86	7,63	9,31	6,95	4,54	60,00	20,90	34,83	19,99	3,73	18,65	3							
5	26,57	15,22	16,50	15,13	16,18	8,35	5,45	10,64	5,49	4,57	60,00	17,30	28,83	17,81	4,95	27,77	2	20,9	442,5	6,86				
6	9,17	10,32	17,90	19,30	14,30	2,19	6,65	6,15	6,15	6,50	60,00	15,80	26,33	25,91	5,36	20,68	4	51,2	256,3	6,64				
7	18,00	14,74	17,50	14,70	18,23	5,77	9,09	8,58	6,41	9,54	60,00	14,20	23,67	20,97	4,64	22,13	5	54,5	271,2	4,54				
8	13,93	18,02	16,90	14,97	13,88	3,63	5,56	4,97	4,82	5,66	60,00	12,80	21,33	22,45	6,43	28,62	4	59,2	271,0	7,45				
9	21,43	18,74	14,63	17,65	14,78	7,27	5,32	6,86	9,95	4,46	60,00	13,50	22,50	21,41	3,96	18,47	4							
10	18,60	17,66	19,50	11,75	10,20	5,30	5,66	5,59	4,50	4,37	60,00	9,70	16,17	19,08	2,16	11,31	1	29,8	316,6	8,12				
TB	17,47	18,38	17,10	15,31	16,34	5,12	6,79	7,33	6,57	6,31	60,00	14,82	24,70	21,43	4,22	20,00	2,90	47,60	326,03	6,08				
SD	5,36	5,20	2,27	3,54	7,51	1,99	1,31	2,39	2,12	2,10	0,00	3,81	6,35	3,65	1,33	6,74	1,37	14,32	63,22	1,40				
SE	1,70	1,64	0,72	1,12	2,38	0,63	0,41	0,76	0,67	0,66	0,00	1,21	2,01	1,15	0,42	2,13	0,43	4,53	19,99	0,44				
p t-s	0,633	0,450	0,122	0,339		0,070	0,470	0,758	0,291															
pCSH	0,698	0,210	0,036	0,0063	0,031	0,246	0,019	0,0007	0,000	0,000	0,042	0,042	0,000	0,080	0,0008	0,036	0,043	0,024	0,024	0,035				

Lô 3: Chứng dương (donepezil)

STT	Giai đoạn học hỏi					Quãng đường tìm thấy bên đồ					Giai đoạn chính thức					MDA (nmol/100 mg)	GSH (µg/100 mg)	TNF-α (pg/mg)			
	T1 (s)	T2 (s)	T3 (s)	T4 (s)	T5 (s)	D1 (m)	D2 (m)	D3 (m)	D4 (m)	D5 (m)	Thời gian trong bể	Thời gian gốc platform	Bén đồ (%)	Quãng đường trong platform	Quãng đường trong bể				% quãng đường trong bén đồ	Số lần vào góc platform	
1	17,53	10,56	10,80	12,03	6,20	2,29	7,09	6,92	6,47	2,15	60,00	22,3	37,17	19,439	6,238	32,09	7	27,9	521,5	5,03	
2	13,57	11,64	7,83	5,33	6,10	8,43	10,16	8,68	7,43	5,78	60,00	20,1	33,50	15,659	2,683	17,13	3	46,6	381,6	3,79	
3	13,47	12,26	11,88	11,13	8,43	6,17	11,55	4,29	4,08	4,86	60,00	14,6	24,33	21,641	4,82	22,27	5	33,7	444,9	3,50	
4	11,10	8,44	7,63	11,83	12,48	3,10	5,96	4,41	3,64	3,89	60,00	17,2	28,67	20,223	5,459	26,99	3	43,6	408,5		
5	11,00	13,96	8,25	8,35	12,65	3,39	5,90	2,84	3,50	4,89	60,00	21,4	35,67	19,033	5,844	30,70	3				
6	15,67	19,74	17,68	10,00	9,00	3,49	8,71	5,33	3,65	1,80	60,00	23,8	39,67	18,688	6,668	35,68	6	23,4	411,9	5,51	
7	24,47	10,92	7,88	10,18	6,25	10,90	9,92	8,86	3,97	1,59	60,00	22,1	36,83	15,056	4,768	31,67	5	31,5	348,1	3,24	
8	14,33	12,44	11,23	8,40	5,68	8,76	8,31	3,54	3,61	2,00	60,00	18,5	30,83	20,82	5,982	28,73	3	40,7	331,3	3,50	
9	10,33	11,94	13,83	9,25	8,88	2,28	6,15	7,08	4,70	2,33	60,00	25,5	42,50	16,789	6,515	38,81	9				
10	15,43	15,60	16,70	9,23	10,58	3,77	4,22	5,18	2,83	3,41	60,00	10,1	16,83	18,479	9,079	49,13	8	21,5	417,4	4,14	
TB	14,69	12,75	11,37	9,57	8,62	5,26	7,80	5,71	4,39	3,27	60,00	19,56	32,60	18,58	5,81	31,32	5,20	33,62	408,16	4,10	
SD	4,13	3,12	3,70	1,98	2,62	3,09	2,31	2,09	1,45	1,51	0,00	4,61	7,69	2,17	1,64	8,83	2,25	9,33	59,21	0,86	
SE	1,31	0,99	1,17	0,63	0,83	0,98	0,73	0,66	0,46	0,48	0,00	1,46	2,43	0,68	0,52	2,79	0,71	2,95	18,72	0,27	
p t-s		0,264	0,093	0,033	0,007		0,0072	0,031	0,0010	0,000											
p MH	0,210	0,0088	0,0006	0,000	0,0066	0,907	0,245	0,124	0,015	0,002		0,022	0,022	0,048	0,029	0,005	0,013	0,036	0,018		0,007

Lô 4: HHND001 liều thấp

STT	Giai đoạn học hỏi					Quãng đường tìm thấy bên đồ					Giai đoạn chính thức					MDA (nmol/100 mg)	GSH (µg/100 mg)	TNF-α (pg/mg)			
	T1 (s)	T2 (s)	T3 (s)	T4 (s)	T5 (s)	D1 (m)	D2 (m)	D3 (m)	D4 (m)	D5 (m)	Thời gian trong bể	Thời gian gốc platform	Bén đồ (%)	Quãng đường trong platform	Quãng đường trong bể				% quãng đường trong bén đồ	Số lần vào góc platform	
1	10,43	16,34	7,13	13,60	10,55	2,85	7,80	2,20	9,35	8,73	60,00	15,3	25,50	19,827	4,908	24,75	1	39,9	490,0	2,70	
2	20,33	16,70	16,08	12,55	11,28	9,76	7,92	5,90	4,75	3,59	60,00	25,7	42,83	20,559	8,469	41,19	8	24,9	469,5	2,71	
3	14,77	14,86	13,95	8,45	7,65	2,54	7,75	7,18	5,52	4,88	60,00	19,7	32,83	15,292	5,357	35,03	6	32,2	433,1	3,53	
4	13,10	8,72	11,90	10,08	8,05	4,59	6,88	4,24	3,50	3,27	60,00	16,3	27,17	22,684	5,857	25,82	3	50,6	454,3	5,73	
5	19,83	14,50	15,60	10,70	10,78	9,19	3,59	4,91	4,17	4,56	60,00	17,7	29,50	20,701	5,59	27,00	3	29,0	417,7	7,51	
6	16,20	12,82	10,50	7,45	6,18	8,65	5,70	3,25	3,26	2,10	60,00	20,2	33,67	17,749	5,072	28,58	2	49,0	349,7	6,92	
7	16,37	8,06	15,20	10,90	13,53	6,09	4,18	4,89	4,09	4,34	60,00	25,8	43,00	16,107	7,58	47,06	7	34,2	412,4	7,17	
8	17,13	8,60	11,80	13,85	10,38	5,94	6,17	3,86	4,20	4,87	60,00	21,2	35,33	18,178	6,629	36,47	5				
9	18,87	11,32	17,00	6,78	7,13	4,87	5,57	5,80	2,56	2,40	60,00	21,2	35,33	19,247	5,962	30,98	6	33,5	420,9	6,64	
10	8,47	10,26	9,83	5,80	9,10	2,73	3,29	2,33	2,14	2,57	60,00	14,6	24,33	16,238	3,969	24,44	4				
TB	15,55	12,22	12,90	10,02	9,46	5,72	5,89	4,46	4,35	4,13	60,00	19,77	32,95	18,66	5,94	32,13	4,50	36,67	430,96	5,36	
SD	3,93	3,28	3,19	2,84	2,24	2,72	1,74	1,61	2,02	1,92	0,00	3,93	6,55	2,37	1,32	7,64	2,27	9,18	42,68	2,06	
SE	1,24	1,04	1,01	0,90	0,71	0,86	0,55	0,51	0,64	0,61	0,00	1,24	2,07	0,75	0,42	2,42	0,72	2,90	13,50	0,65	
p t-s		0,051	0,652	0,110	0,061		0,883	0,053	0,019	0,022											
p MH	0,373	0,005	0,003	0,002	0,012	0,579	0,208	0,005	0,028	0,026		0,010	0,010	0,059	0,0096	0,0014	0,073	0,091	0,002	0,431	
p Done	0,639	0,714	0,335	0,689	0,452	0,726	0,051	0,148	0,967	0,280		0,914	0,914	0,942	0,843	0,829	0,498	0,521	0,392	0,155	

Lô 5: HHDN liều cao

STT	Giai đoạn học hỏi					Quãng đường tìm thấy bốn đồ					Giai đoạn chính thức					MDA (nmol/100 mg)	GSH (µg/100 mg)	TNF-α (pg/mg)			
	T1 (s)	T2 (s)	T3 (s)	T4 (s)	T5 (s)	D1(m)	D2(m)	D3(m)	D4(m)	D5(m)	Thời gian trong bể	Thời gian góc platform	Bén đầu (%)	Quãng đường trong bể	Quãng đường trong platform				% quãng đường trong bến đầu	Số lần vào góc platform	
1	18,47	16,40	11,45	10,93	6,53	7,79	4,25	11,01	6,52	2,04	60,00	17,1	28,50	18,387	4,475	24,34	3				
2	16,17	15,72	7,88	8,70	8,78	5,48	4,48	7,99	4,87	3,80	60,00	22	36,67	17,419	6,949	39,89	8	31,9	466,6	7,30	
3	13,20	13,58	11,90	12,45	13,78	7,00	5,86	3,75	3,79	4,43	60,00	12,4	20,67	20,342	4,108	20,19	4	44,1	214,2	2,83	
4	24,70	12,60	9,65	5,43	5,68	6,97	6,85	8,65	3,35	1,93	60,00	20,5	34,17	15,5	4,47	28,84	3	26,2	449,4		
5	20,80	9,58	9,70	12,50	8,55	5,36	6,04	7,73	3,73	2,50	60,00	21,6	36,00	21,599	7,342	33,99	6	39,2	450,5	2,43	
6	11,47	8,62	12,55	14,23	5,90	4,84	5,81	6,76	5,13	4,68	60,00	19,8	33,00	15,872	5,059	31,87	4	36,9	407,1	7,40	
7	10,17	16,74	7,23	4,90	6,10	3,39	8,96	6,20	2,77	5,68	60,00	20	33,33	19,445	6,232	32,05	7	33,1	447,7	6,64	
8	21,73	12,48	15,28	6,55	8,35	9,89	10,48	8,96	2,44	1,74	60,00	29,6	49,33	19,773	8,801	44,51	7	29,1	418,0	3,25	
9	11,80	12,86	12,18	9,73	13,28	5,46	7,15	3,68	2,07	4,10	60,00	14,6	24,33	18,113	4,401	24,30	4	37,9	417,3	5,96	
10	13,33	10,68	11,37	11,20	10,03	6,77	4,85	5,91	3,43	2,89	60,00	17	28,33	17,894	4,481	25,04	5				
TB	16,18	12,93	10,92	9,66	8,70	6,29	6,47	7,07	3,81	3,38	60,00	19,46	32,43	18,43	5,63	30,50	5,10	34,81	408,85	5,12	
SD	4,99	2,79	2,37	3,19	2,93	1,80	1,98	2,30	1,36	1,35	0,00	4,72	7,87	1,92	1,61	7,57	1,79	5,84	81,30	2,19	
SE	1,58	0,88	0,75	1,01	0,93	0,57	0,63	0,73	0,43	0,43	0,00	1,49	2,49	0,61	0,51	2,39	0,57	1,85	25,71	0,69	
p t-s		0,116	0,180	0,082	0,0103		0,822	0,567	0,024	0,002											
p MH	0,586	0,0091	0,000	0,001	0,0077	0,183	0,682	0,801	0,003	0,002		0,026	0,026	0,034	0,046	0,004	0,006	0,035	0,0392	0,323	
p Done	0,48	0,90	0,75	0,94	0,95	0,37	0,19	0,19	0,37	0,86		0,96	0,96	0,87	0,81	0,83	0,91	0,76	0,98	0,28	
p lô 4	0,76	0,61	0,13	0,80	0,52	0,58	0,49	0,01	0,49	0,33		0,87	0,87	0,82	0,65	0,64	0,52	0,64	0,51	0,82	



Lô 3: Chứng dương (donepezil)

SITT	Giai đoạn học hỏi										Số lần chọn đúng					Giai đoạn chính thức				MDA (nmol/10 0 mg)	GSH (µg/10 0 mg)	
	Thời gian					Quảng đường					L1 (lượt )	L2 (lượt )	L3 (lượt )	L4 (lượt )	Tcch	ĐĐct h	Số lần chọn sai	Số lần chọn đúng				
	T1 (s)	T2 (s)	T3 (s)	T4 (s)	D1 (m)	D2 (m)	D3 (m)	D4 (m)	L1 (lượt )	L2 (lượt )									L3 (lượt )			L4 (lượt )
1	291,7	193,1	130,5	160,0	20,15	10,76	14,57	14,43	8	5	13	4	11	15	13	12	201,0	8,22	5	8	31,85	461,72
2	290,0	239,8	147,3	231,1	14,13	17,87	9,47	13,78	5	11	8	10	10	11	8	19	188,0	6,50	12	12	31,25	249,45
3	250,1	150,3	152,1	260,0	18,16	22,00	16,72	16,16	9	10	11	4	10	16	14	11	239,2	9,90	10	9	32,77	412,14
4	203,5	250,1	259,7	205,2	21,07	8,76	11,32	11,10	13	7	10	11	5	7	10	12	205,8	12,74	7	21	33,69	361,41
5	180,5	275,1	181,8	195,4	10,32	24,64	7,01	5,81	6	18	5	8	15	18	23	20	198,5	16,17	6	7	42,45	336,74
6	180,8	252,5	253,7	161,9	15,98	14,59	12,30	6,00	6	4	5	6	12	13	12	11	119,9	5,64	5	12	47,36	348,15
7	153,4	270,9	254,1	260,0	11,33	15,66	9,78	11,54	8	10	5	7	11	10	15	17	202,1	13,94	4	18	27,54	443,52
8	209,8	250,3	210,8	158,0	18,94	27,82	20,07	10,52	4	13	12	7	7	13	12	23	151,2	10,23	5	20	40,79	420,68
TB	219,9	235,2	198,7	203,9	16,26	17,76	12,65	11,17	7,38	9,75	8,63	7,13	10,13	12,88	13,38	15,63	188,2	10,42	6,75	8	35,96	379,23
SD	51,90	42,46	53,07	42,94	4,02	6,67	4,26	3,75	2,83	4,53	3,34	2,53	3,04	3,52	4,47	4,72	36,66	3,67	2,82	5,55	6,77	69,35
SE	18,35	15,01	18,76	15,18	1,42	2,36	1,51	1,33	1,00	1,60	1,18	0,90	1,08	1,25	1,58	1,67	12,96	1,30	1,00	1,96	2,39	24,52
p-t-s	0,631	0,570	0,533	0,533	0,647	0,017	0,010	2	0,315	0,401	0,844	0,025	0,017	0,022	0,025	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,001	0,233
pMH	0,634	0,110	0,022	0,041	0,557	0,149	0,002	2	0,114	0,037	0,003	0,000	0,791	0,103	0,127	0,0007	0,018	0,002	2	1	0,001	0,233

Lô 4: HHND001 liều thấp

SITT	Giai đoạn học hỏi										Số lần chọn đúng					Giai đoạn chính thức				MDA (nmol/10 0 mg)	GSH (µg/10 0 mg)	
	Thời gian					Quảng đường					L1 (lượt )	L2 (lượt )	L3 (lượt )	L4 (lượt )	Tcch	ĐĐct h	Số lần chọn sai	Số lần chọn đúng				
	T1 (s)	T2 (s)	T3 (s)	T4 (s)	D1 (m)	D2 (m)	D3 (m)	D4 (m)	L1 (lượt )	L2 (lượt )									L3 (lượt )			L4 (lượt )
1	254,3	237,4	184,3	241,5	16,07	20,00	14,85	15,21	10	12	10	12	17	16	14	17	203,2	14,67	12	17	56,38	400,85
2	202,1	237,3	201,8	160,0	17,49	20,06	8,19	12,36	9	13	7	9	10	18	10	7	256,5	10,48	5	8	40,53	351,43
3	201,4	244,8	228,8	214,0	19,08	11,58	19,39	13,65	15	12	14	7	12	8	12	16	203,0	8,51	9	14	31,91	385,96
4	212,2	161,9	201,0	181,3	17,20	12,75	22,11	18,50	5	7	12	10	8	8	13	19	211,8	12,67	10	14	38,13	456,75
5	177,5	251,7	275,7	261,7	10,17	24,93	16,14	19,78	7	7	7	6	8	3	15	10	210,6	18,84	8	12	43,77	427,79
6	202,6	288,3	202,9	186,3	16,39	11,52	10,04	10,94	8	5	8	12	10	9	13	12	140,3	12,70	9	11	30,88	409,97
7	275,6	148,6	125,3	161,9	15,61	14,45	12,40	7,46	11	8	9	8	6	9	10	13	204,7	8,07	11	10	41,02	380,16
8	202,5	267,5	249,7	206,4	16,78	9,88	11,95	10,10	9	5	7	13	8	5	9	11	158,0	9,30	12	10	55,20	462,76
TB	216,0	229,6	208,6	201,6	16,10	15,64	14,38	13,50	9,25	8,63	9,25	9,63	9,88	9,50	12,00	13,13	198,5	11,90	9,50	0	42,23	409,46
SD	32,26	49,09	45,14	36,52	2,62	5,36	4,71	4,20	2,96	3,25	2,60	2,56	3,40	5,10	2,14	3,98	35,45	3,62	2,33	2,88	9,47	38,30
SE	11,40	17,35	15,96	12,91	0,93	1,90	1,66	1,48	1,05	1,15	0,92	0,91	1,20	1,80	0,76	1,41	12,53	1,28	0,82	1,02	3,35	13,54
p-t-s	0,460	0,091	0,033	0,020	0,413	0,047	0,006	4	0,789	0,007	0,003	0,009	0,934	0,865	0,218	0,004	0,043	0,007	0,12	0,00	0,040	0,026
pMH	0,858	0,812	0,693	0,909	0,926	0,495	0,454	0,260	0,216	0,577	0,682	0,070	0,879	0,146	0,446	0,271	0,577	0,428	0,05	0,54	0,150	0,299

Lô 5: HHDN001 liều cao

STT	Giải đoạn học hỏi										Số lần chọn đúng					Số lần chọn sai					Số lần chọn đúng					MDA (nmol/100 mg)	GSH (µg/100 mg)
	Thời gian					Quãng đường					Số lần chọn sai					Số lần chọn đúng											
	T1 (s)	T2 (s)	T3 (s)	T4 (s)	D1 (m)	D2 (m)	D3 (m)	D4 (m)	L1 (hạt)	L2 (hạt)	L3 (hạt)	L4 (hạt)	L1 (hạt)	L2 (hạt)	L3 (hạt)	L4 (hạt)	L1 (hạt)	L2 (hạt)	L3 (hạt)	L4 (hạt)	T <sub>th</sub>	Đ <sub>Đ</sub> (h)	số lần chọn sai	số lần chọn đúng			
1	147,4	115,1	255,1	257,0	13,34	11,93	16,70	12,43	7	6	15	14	15	14	6	12	234,0	11,192	11	15	36,64	463,75					
2	255,0	213,1	175,9	195,0	19,60	18,73	11,80	11,53	6	11	5	8	8	21	9	12	201,3	10,966	10	17	29,51	413,83					
3	212,2	251,9	119,5	152,0	12,64	27,81	9,37	16,20	8	5	8	10	11	9	17	16	255,0	11,439	9	13	34,37	428,95					
4	203,4	178,6	187,1	164,5	17,59	10,72	12,10	22,86	12	7	8	12	17	11	5	9	143,9	16,11	8	11	38,94	432,40					
5	238,1	201,6	163,8	188,3	12,71	18,92	12,35	13,21	9	10	6	8	11	10	11	15	171,2	11,323	10	9	33,99	438,03					
6	203,6	247,0	232,9	193,3	12,08	14,82	10,29	8,01	12	13	7	6	8	14	18	18	151,1	6,036	5	19	32,51	384,02					
7	200,1	295,3	203,7	130,1	23,71	15,34	22,75	7,62	7	17	12	9	7	3	7	13	221,9	10,029	9	14	40,78	442,97					
8	226,6	256,7	200,5	275,5	15,05	12,22	16,80	13,64	9	12	11	7	9	6	9	11	184,7	5,83	5	9	35,59	626,72					
TB	210,8	219,9	192,3	194,4													195,3										
SD	32,05	55,89	41,74	49,80	15,84	16,31	14,02	13,19	8,75	10,13	9,00	9,25	10,75	11,00	10,25	13,25	9	10,37	8,38	8	35,29	453,83					
SE	11,33	19,76	14,76	17,61	4,14	5,54	4,44	4,84	2,25	4,02	3,38	2,66	3,58	5,50	4,86	2,92	39,81	3,29	2,26	3,62	3,57	73,59					
p-ts	0,622	0,458	0,492	0,492	1,47	1,96	1,57	1,71	0,80	1,42	1,20	0,94	1,26	1,95	1,72	1,03	14,08	1,16	0,80	1,28	1,26	26,02					
pMH	0,335	0,056	8	0,026	0,430	0,067	0,004	0,002	0,474	0,040	0,004	0,006	0,527	0,629	0,737	0,001	0,040	0,001	0,01	0,00	0,000	0,007					
Done	0,677	0,546	0,791	0,689	0,840	0,643	0,541	0,367	0,300	0,863	0,826	0,124	0,712	0,431	0,202	0,246	0,713	0,977	0,22	1,00	0,808	0,056					
p16.4	0,750	0,716	0,464	0,747	0,884	0,811	0,876	0,891	0,710	0,425	0,871	0,778	0,624	0,581	0,367	0,944	0,871	0,389	0,34	0,41	0,073	0,153					

W.V. SA N / ml

**TÁC DỤNG CẢI THIỆN TRÍ NHỚ CỦA VIÊN NANG HHDN001**  
**MÔ HÌNH ROTAROD**

<b>Lô 1: Chứng sinh học</b>			<b>Lô 2: Mô hình</b>		
STT	Thời gian trên trục quay Rotarod (s)		STT	Thời gian trên trục quay Rotarod (s)	
	Học hỏi	Chính thức		Học hỏi	Chính thức
1	120	243	1	125	145
2	235	270	2	123	219
3	103	283	3	188	171
4	214	189	4	188	202
5	208	300	5	161	260
6	233	247	6	200	145
7	158	289	7	150	143
8	203	234	8	185	171
9	170	213	9	207	198
10	189	211	10	272	260
<b>TB</b>	<b>183,30</b>	<b>247,90</b>		<b>179,90</b>	<b>191,40</b>
<b>SD</b>	<b>45,20</b>	<b>37,10</b>		<b>43,82</b>	<b>44,49</b>
<b>SE</b>	<b>14,29</b>	<b>11,73</b>		<b>13,86</b>	<b>14,07</b>
<b>pt-s</b>		<b>0,011</b>	<b>p CSH</b>	<b>0,866</b>	<b>0,0064</b>
			<b>pt-s</b>		<b>0,481</b>

<b>Lô 3: Chứng dương (donepezil)</b>		
STT	Thời gian trên trục quay Rotarod (s)	
	Học hỏi	Chính thức
1	162	253
2	233	278
3	149	212
4	267	300
5	132	119
6	231	292
7	129	201
8	188	233
9	123	300
10	259	241
	<b>187,30</b>	<b>242,90</b>
	<b>55,97</b>	<b>56,20</b>
	<b>17,70</b>	<b>17,77</b>
<b>pMH</b>	<b>0,746</b>	<b>0,036</b>
<b>pt-s</b>		<b>0,011</b>

<b>Lô 4: HHDN001 liều thấp</b>			<b>Lô 5: HHDN001 liều cao</b>		
STT	Thời gian trên trục quay Rotarod (s)		STT	Thời gian trên trục quay Rotarod (s)	
	Học hỏi	Chính thức		Học hỏi	Chính thức
1	201	178	1	189	167
2	183	251	2	177	293
3	179	285	3	178	181
4	119	200	4	102	156
5	213	237	5	163	211
6	159	201	6	172	221
7	179	162	7	261	260
8	289	298	8	143	186
9	132	156	9	243	188
10	153	116	10	235	281
<b>TB</b>	<b>180,70</b>	<b>208,40</b>	<b>TB</b>	<b>186,30</b>	<b>214,40</b>
<b>SD</b>	<b>47,86</b>	<b>58,70</b>	<b>SD</b>	<b>48,37</b>	<b>48,33</b>
<b>SE</b>	<b>15,13</b>	<b>18,56</b>	<b>SE</b>	<b>15,30</b>	<b>15,28</b>
<b>pMH</b>	<b>0,969</b>	<b>0,475</b>	<b>pMH</b>	<b>0,760</b>	<b>0,283</b>
<b>pt-s</b>		<b>0,096</b>	<b>pt-s</b>		<b>0,097</b>
<b>p Done</b>	<b>0,780</b>	<b>0,196</b>	<b>p so lo 4</b>	<b>0,798</b>	<b>0,806</b>
			<b>p so Done</b>	<b>0,966</b>	<b>0,240</b>

**TÁC DỤNG CẢI THIỆN TRÍ NHỚ CỦA VIÊN NANG HHDN001  
MÔ HÌNH PAT**

Lô 1: Chứng sinh học			Lô 2: Mô hình		
STT	Thời gian trễ chuột bước sang khoang tối (giây)		STT	Thời gian trễ chuột bước sang khoang tối (giây)	
	Học hỏi	Chính thức		Học hỏi	Chính thức
1	20,9	68,3	1	17,9	42,5
2	32,7	65,7	2	15,8	32,6
3	46,2	72,9	3	39,6	15,2
4	36,2	48,2	4	32,1	44,1
5	22,6	48,5	5	28,7	57,9
6	21,4	68,6	6	28,4	45,5
7	37,3	92,3	7	35,1	24,5
8	20,0	80,0	8	28,5	20,1
<b>TB</b>	<b>29,66</b>	<b>68,06</b>		<b>28,26</b>	<b>35,30</b>
<b>SD</b>	<b>9,80</b>	<b>14,82</b>		<b>8,04</b>	<b>14,65</b>
<b>SE</b>	<b>3,46</b>	<b>5,24</b>		<b>2,84</b>	<b>5,18</b>
p t-s		0,000	p CSH	0,759	0,0006
			pt-s		0,332

Lô 3: Chứng dương (donepezil)		
STT	Thời gian trễ chuột bước sang khoang tối (giây)	
	Học hỏi	Chính thức
1	47,6	75,2
2	20,8	82,7
3	26,8	40,8
4	26,5	56,7
5	40,1	40,0
6	35,9	66,4
7		
8	46,3	44,3
	<b>34,86</b>	<b>58,01</b>
	<b>10,44</b>	<b>17,25</b>
	<b>3,69</b>	<b>6,10</b>
pMH	0,191	0,016
		0,031

Lô 4: HHDN001 liều thấp			Lô 5: HHDN001 liều cao		
STT	Thời gian trễ chuột bước sang khoang tối (giây)		STT	Thời gian trễ chuột bước sang khoang tối (giây)	
	Học hỏi	Chính thức		Học hỏi	Chính thức
1	25,5	45,5	1	32	61,5
2	22,7	48,8	2	10,6	61,1
3	29,6	68,1	3	28	50,8
4	31,3	62,1	4	55	78,6
5	25,1	39,7	5	26,9	40,5
6	27,8	37,5	6	28,3	47
7	47,3	40	7	15	34,8
8			8	20,8	51,8
<b>TB</b>	<b>29,90</b>	<b>48,81</b>		<b>27,08</b>	<b>53,26</b>
<b>SD</b>	<b>8,20</b>	<b>11,89</b>		<b>13,43</b>	<b>13,74</b>
<b>SE</b>	<b>2,90</b>	<b>4,20</b>		<b>4,75</b>	<b>4,86</b>
pMH	0,703	0,074		0,833	0,024
pt-s		0,016			0,000
					0,5176

Hà Nội, ngày 20 tháng 09 năm 2025

**Trưởng Bộ môn Dược lý**  
**Giám đốc Trung tâm Dược lý lâm sàng**



PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh

**BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**  
**VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM – HÀN QUỐC**



**QUY TRÌNH SẢN XUẤT**  
**VIÊN NANG MỀM HOẠT HUYẾT DƯỠNG NÃO**

**Hà Nội, 2025**



**BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**  
**VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM – HÀN QUỐC**



**QUY TRÌNH SẢN XUẤT**  
**VIÊN NANG MỀM HOẠT HUYẾT DƯỠNG NÃO**

**Thuộc nhiệm vụ:** “Nghiên cứu phát triển các sản phẩm chăm sóc sức khỏe từ quả Gấc Việt Nam”

**Mã số:** 01/VKIST-KIST/2022

**Chủ nhiệm nhiệm vụ:** PGS.TS. Phương Thiện Thương

**Đơn vị chủ trì:** Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam – Hàn Quốc

**Hà Nội, 2025**

## CHƯƠNG I. THÔNG TIN CHUNG

**Cơ quan ban hành:** Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam – Hàn Quốc

**Phạm vi sử dụng:** Lưu hành nội bộ

**Nơi xây dựng quy trình:** Phòng Công nghệ sinh học – Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam – Hàn Quốc.

**Nguồn gốc:** Quy trình được soạn thảo trên cơ sở kết quả dự án “Nghiên cứu phát triển các sản phẩm chăm sóc sức khỏe từ quả Gấc Việt Nam, thuộc đề tài hợp tác giữa Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam – Hàn Quốc (VKIST) và Viện Khoa học và Công nghệ Hàn Quốc (KIST), Mã số: 01/VKIST-KIST/2022

## CHƯƠNG II. ĐẶC ĐIỂM CHẾ PHẨM

### 1. Tên sản phẩm: (Thực phẩm bảo vệ sức khỏe)

- Hoạt huyết dưỡng não (Vết tất là HHDN001)

### 2. Trạng thái sản phẩm

- Trạng thái: Viên nang mềm

- Cảm quan: Viên nang mềm màu nâu, có vach kẻ ở giữa

### 3. Thành phần: (Cho 1 viên)

Mỗi viên có chứa hỗn hợp thảo mộc tương đương với:

Dầu gấc (Natural Gac oil)	300 mg
Chiết xuất Đương quy (Angelica extract)	40 mg
Chiết xuất Bạch quả (Ginkgo biloba extract)	40 mg

Phụ liệu: Gelatin, sorbitol, glycerin, titan dioxyd, ethyl vanilin, xanh briliieant, đỏ allura, nipagin, nipasol) vừa đủ 1 viên

### 4. Chỉ tiêu chất lượng chủ yếu

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức chất lượng
1	Dầu gấc	Định tính	Dương tính
2	Đương quy	Định tính	Dương tính
3	Bạch quả	Định tính	Dương tính

### 5. Chỉ tiêu an toàn

#### 5.1. Giới hạn về vi sinh vật

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức ối đa
1	Tổng vi sinh vật hiếu khí	CFU/g	1 0000
2	Coliforms	CFU/g	10
3	Cl.perfringens	CFU/g	10
4	E.Coli	CFU/g	10
5	Tổng số BTNM-NM	CFU/g	100

## 5.2. Giới hạn về kim loại nặng

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức độ tối đa
1	Pb	ppm	3
2	Cd	ppm	1
3	Hg	ppm	0,1

## 6. Hướng dẫn sử dụng

### 6.1. Công dụng

- Bổ sung các chất chống oxy hóa
- Hoạt huyết dưỡng não, tăng hoạt động của tế bào thần kinh, cải thiện trí nhớ, chống sa sút trí tuệ.

- Hỗ trợ quá trình phục hồi sau tai biến do tắc mạch

### 6.2. Đối tượng sử dụng

- Người mắc chứng thiếu năng tuần hoàn máu não, rối loạn tiền đình, ù tai, nhức đầu, chóng mặt do thiếu máu lên não.
- Người mất tập trung trong học tập, hay quên, giảm trí nhớ, tâm lý lo âu, mệt mỏi.
- Người phục hồi sau tai biến mạch máu não.

### 6.3. Cách dùng:

- Ngày uống 2 lần, mỗi lần 1 viên. Uống sau bữa ăn.

### 6.4. Chú ý

*Thực phẩm này không phải là thuốc, không có tác dụng thay thế thuốc chữa bệnh.*

*Không sử dụng cho người mẫn cảm với bất kỳ thành phần nào của sản phẩm.*

*Không dùng cho phụ nữ có thai, người âm hư hỏa vượng.*

## 7. Chất lượng bao bì đóng gói

- *Chất lượng bao bì:* sản phẩm được đóng gói trong lọ PE, nắp PE, hộp giấy.
- *Quy cách đóng gói:* Hộp 60 viên.

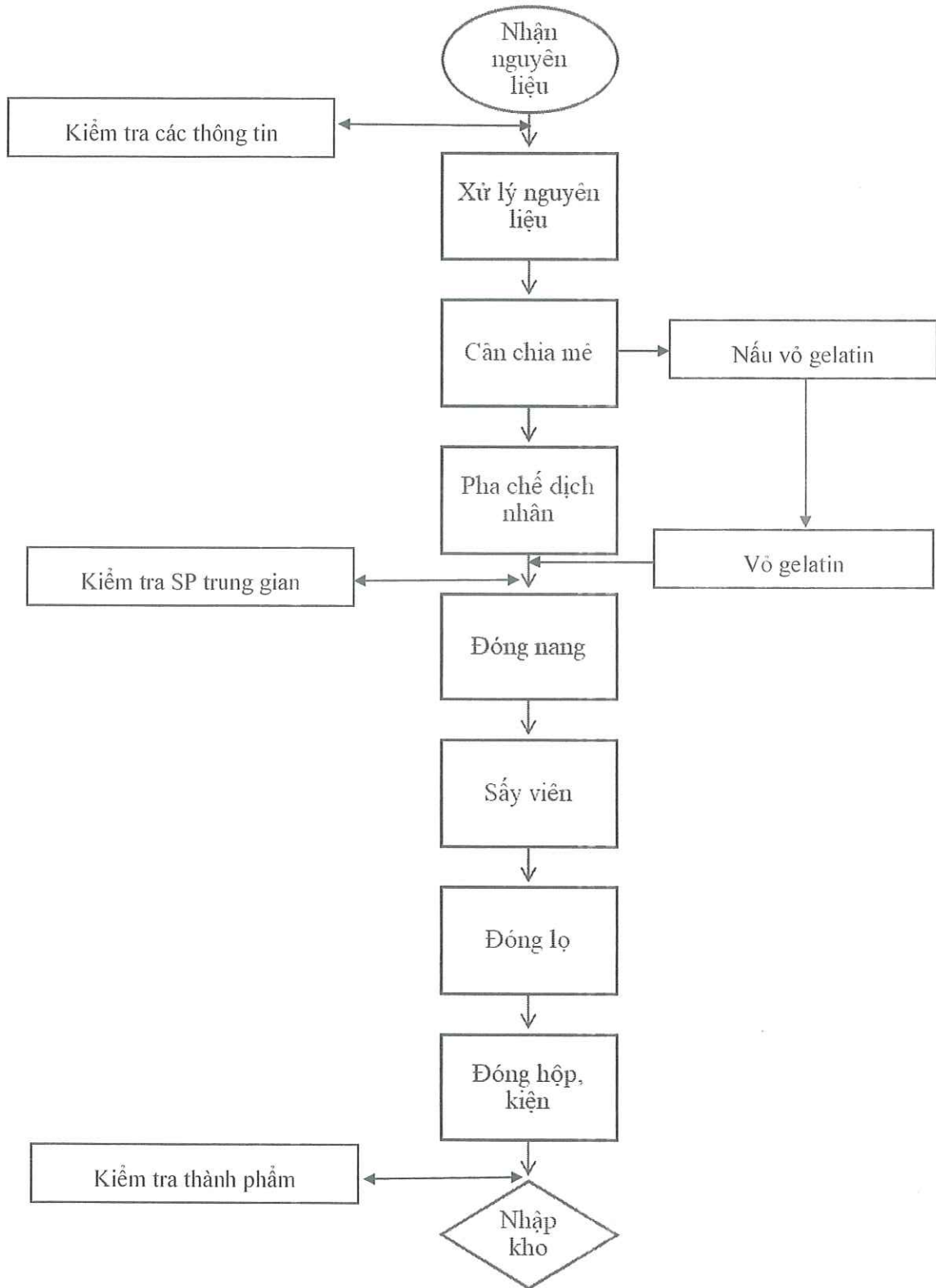
## 8. Thời gian sử dụng

## 9. Bảo quản

Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh nắng trực tiếp.

### CHƯƠNG III. MÔ TẢ CÁC GIAI ĐOẠN SẢN XUẤT

#### I. SƠ ĐỒ QUY TRÌNH SẢN XUẤT



## II. MÔ TẢ QUY TRÌNH SẢN XUẤT

### 2.1. Nhận nguyên liệu

- Nguyên liệu đạt tiêu chuẩn lĩnh về xưởng sản xuất theo Phiếu xuất kho.
- Nguyên liệu được chuyển vào phòng biệt trữ nguyên liệu, để riêng từng loại tránh nhầm lẫn, có nhãn rõ ràng.

### 2.2. Xử lý nguyên liệu

- Nguyên liệu được thay bao bì ngoài, có nhãn rõ ràng, chuyển vào phòng cân nguyên liệu.

### 2.3. Cân chia mẻ

- Cân, chia nguyên liệu theo từng mẻ, có nhãn rõ ràng, để riêng từng loại, tránh nhầm lẫn.

### 2.4. Nấu vỏ gelatin:

- Vận hành bồn pha chế gelatin theo SOP: QT.SX.10.01
- Cài đặt nhiệt độ nồi 80°C. Bật hệ thống gia nhiệt nồi.
- Cho nước, glycerin, sorbitol vào nồi nấu: Cho vào nồi lần lượt các chất theo thứ tự sau: Nước, RO (bớt lại nước tráng glycerin, sorbitol); Glycerin; Sorbitol. Bật cánh khuấy nồi.

- Pha chất bảo quản và hương liệu: Cân còn 96<sup>o</sup> vào nồi inox, lần lượt cho methyl paraben,

propyl paraben, vanillin vào khuấy tan hoàn toàn rồi phối vào bồn pha chế gelatin.

Cân và

trộn đều màu (nếu có) từ bên ngoài, rồi phối vào bồn pha chế gelatin.

- Cho gelatin vào nồi nấu: Khi nhiệt độ trong nồi đạt 80°C, tắt cánh khuấy, cho gelatin vào.

Vết hết gelatin bám trên cánh khuấy và thành nồi xuống. Nấu Gelatin ở 80°C trong 2 giờ.

- Hút chân không đánh tan gelatin: Dậy nắp nồi, bật hút chân không. Theo dõi độ bông lên của gelatin trong nồi nấu. Chú ý khi gelatin dâng lên cao quá trực cần xả áp để tránh hút gelatin vào ống và máy hút chân không. Khi gelatin bắt đầu hạ xuống thì tắt hút chân không. Kết thúc giai đoạn hút chân không đánh tan gelatin: gelatin được trộn đều với các thành phần khác, nồi nấu kín, duy trì cánh khuấy và gia nhiệt.

- Hút xả lần 1: Điều kiện bắt đầu hút xả: Nhiệt độ trong nồi nấu đạt 80°C, áp suất 0.05-0.06. Mpa. Tiến hành hút xả:

+ Bật máy hút chân không, thời gian hút chân không từ 10-15 phút.

+ Theo dõi độ bông lên của gelatin trong nồi nấu. Chú ý khi gelatin dâng lên cao quá trực cần xả áp để tránh hút gelatin vào ống và máy hút chân không. Nồi nấu được giữ kín, duy trì cánh khuấy và gia nhiệt.

- Hút xả lần 2: Tiến hành hút xả:

+ Bật máy hút chân không, thời gian hút chân không từ 25-30 phút.

+ Theo dõi độ bông lên của gelatin trong nồi nấu. Chú ý khi gelatin dâng lên cao quá trực cần xả áp để tránh hút gelatin vào ống và máy hút chân không.

+ Kết thúc xả bột tắt đồng thời cánh khuấy và bơm chân không. Mở van xả áp, tiến hành xả áp chậm, tránh để bột khí trộn lẫn vào gelatin.

- Kiểm tra gelatin: mở nôi, lấy mẫu kiểm tra cảm quan, độ dẻo dai: Nếu đạt thì chuyển sang

giai đoạn tiếp theo. Nếu không đạt thì thực hiện lại thao tác hút xả lần 2.

- Lọc gelatin: Gelatin sau khi hút xả lần 2 sạch bột đảm bảo yêu cầu về cảm quan và độ dẻo

dai. Khi nhiệt độ gelatin đạt 75°C thì tiến hành lọc gelatin qua vải lọc vào bồn chứa gelatin

để ủ. Lưu ý trong quá trình lọc thường xuyên giám sát để tránh vải lọc bị tụt.

- Ủ gelatin: Bồn chứa gelatin: Kiểm tra mực nước vỏ nôi, cài nhiệt 55-58°C. Sau khi lọc gelatin vào nôi, đậy nắp nôi, tiến hành ủ trong thời gian 14-16 h. Kiểm tra cảm quan, nhiệt độ gelatin sau ủ trước khi đóng nang: nhiệt độ 52-58°C; đồng nhất, không có bột khí.

2.5. Pha chế dịch nhân:

+ **Bước 1:** Trong cốc thủy tinh 500 ml, đun nóng chảy hoàn toàn hỗn hợp: *sáp ong, lecithin, dầu cọ tinh luyện*. Ngừng gia nhiệt, thêm từng phần *dầu gấc* vào hỗn hợp, khuấy đều.

+ **Bước 2:** Trong túi bóng kính, cân, trộn đồng lượng đến đồng nhất hỗn hợp chất rắn (*cao đường quy, cao bạch quả, Aerosil*). Rây nhanh hỗn hợp qua rây 0.4mm.

+ **Bước 3:** Trong thùng nhựa khô sạch, thêm dần từng phần hỗn hợp dầu vào hỗn hợp chất rắn, khuấy cho phân tán đều.

+ **Bước 4:** Chuyển toàn bộ hỗn hợp vào phễu của máy nghiền keo, chạy tuần hoàn 30-40 phút.

+ Sau đó rây hỗn hợp qua rây 0.4mm.

+ Kiểm tra bán thành phẩm.

2.6. Đóng nang

- Vận hành máy tạo nang theo SOP QT.SX.04.01

2.7. Sấy viên

- Sấy viên:

+ Điều kiện phòng sấy viên: nhiệt độ 18- 20°C, độ ẩm < 30%.

+ Thời gian sấy: 40 – 48 h.

+ Định kỳ tiến hành đảo viên kết hợp với đảo vị trí khay sấy để đảm bảo các viên khô đều, 2 tiếng/ 1 lần.

+ Nhật loại các viên không đạt yêu cầu trong quá trình sấy: viên vỡ, viên dị dạng, viên rỉ dầu, viên có bột khí, viên có khối lượng không đạt...

- Thu viên:

+ Sau khi sấy khoảng 40 - 48h, kiểm tra độ ẩm của vỏ viên bằng cân hàm ẩm. Nếu đạt yêu cầu thì thu viên.

+ Viên sau khi thu được để trong túi PE sạch, buộc kín và đưa vào phòng biệt trữ viên.

+ Nhân viên QA kiểm tra viên (không đạt tiêu chuẩn cho sấy thêm)

+ Loại các viên chảy dầu, méo, lỗ khí...

- Lau viên:

+ Tiến hành lau viên bằng lồng sấy viên để loại bỏ lớp dầu paraffin bám trên vỏ:

+ Khối lượng viên trong mỗi lồng lau: 2-4 kg.

+ Thời gian lau: 20 phút.

+ Viên sau khi lau được để trong túi PE sạch, buộc kín và đưa vào phòng biệt trữ viên.

### 2.8. Đóng lọ

- Mỗi hũ chứa 60 viên nang mềm, 1 hạt hút ẩm. trên hũ in lô sản xuất, ngày sản xuất, hạn sử dụng.

- Nhân viên IPC kiểm tra hình thức viên, hình thức, độ kín của hũ.

### 2.9. Đóng hộp, kiện:

- Kiểm tra bao bì: hình thức, số lô, ngày sản xuất, hạn sử dụng.

- Đóng gói: 1 hộp gồm: 01 chai đựng 60 viên nang mềm.

- Xếp hộp vào thùng, kiểm tra số lượng hộp trong thùng: 250 hộp/thùng. Dán thẻ nhận diện lên thùng.

### 2.10. Nhập kho

- Kiểm tra thành phẩm. Nếu đạt chất lượng, tiến hành nhập kho lưu trữ.

## III. Kiểm soát thông số quy trình

Công đoạn sản xuất	Thông số kiểm tra	Giới hạn chấp nhận	Chu kỳ lấy mẫu
Chuẩn bị	Dụng cụ, máy móc, thiết bị, nguyên vật liệu, phòng sản xuất.	Đạt tiêu chuẩn	Trước khi tiến hành pha chế
Cân nguyên liệu	Điều kiện sản xuất	Nhiệt độ: $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ Độ ẩm: $50 \pm 5\%$	Trước và trong khi cân

	Khối lượng nguyên liệu	Chính xác theo lệnh sản xuất, sử dụng cân hợp lý đã được hiệu chuẩn	Trong khi cân
Nấu vỏ gelatin			
Pha chế			
Điều kiện phòng	Nhiệt độ, độ ẩm	Nhiệt độ: $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ Độ ẩm: $50 \pm 5\%$	Trước và trong khi pha chế
Pha chế dịch nhân	Nhiệt độ hỗn hợp dầu	$33-35^{\circ}\text{C}$	Trước khi pha chế dịch nhân
Xay keo	Nhiệt độ dịch nhân sau khi xay	$34-38^{\circ}\text{C}$	Khi xay dịch nhân
Lọc dịch nhân	Cỡ rây	0.4 mm	Trước khi lọc
Công đoạn đóng nang và sấy viên			
Tạo nang	Nhiệt độ, độ ẩm	Nhiệt độ: $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ Độ ẩm: $50 \pm 5\%$	30-60 phút/lần
	Nhiệt độ, cảm quan gelatin	Nhiệt độ $52-58^{\circ}\text{C}$ , đồng nhất, không bọt khí	Trước khi đóng nang
	Nhiệt độ, cảm quan dịch nhân	Nhiệt độ $28-33^{\circ}\text{C}$ , đồng nhất, không bọt khí, không tách lớp	
	Độ dày màng gelatin	0.8 – 0.9 mm	Lúc đầu kiểm tra liên tục, khi ổn định kiểm tra 15-30 phút /lần
	Hình thức	Độ dày đường hàn > 40% Viên không dị dạng	1 mẫu/ 30-60 phút 2 viên/mẫu
	Khối lượng dịch viên	$500 \text{ mg} \pm 7.5\%$	1 mẫu/ 30-60 phút 4 viên/mẫu
Sấy viên	Điều kiện phòng sấy	Nhiệt độ: $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$	30-60 phút/lần

		Độ ẩm: $30 \pm 3\%$	
	Hình thức	Viên cân đối, màu đều, đường hàn không bị dạn, độ dày đường hàn > 40%	Trước khi thu viên Lấy 3 viên ở khay giữa xe đo hàm ẩm
	Độ ẩm	Độ ẩm: $5\% \leq$ vỏ viên $\leq 7\%$ . Đo ở điều kiện 150 °C/auto	
Đóng lọ			
Đóng lọ	Điều kiện sản xuất	Nhiệt độ: $23 \pm 2^\circ\text{C}$ Độ ẩm: $50 \pm 5\%$	30-60 phút/lần
	Độ kín	Lọ kín	60 phút/lần ở điều kiện 500 mmHg trong 3 phút

Hà Nội, ngày ..06.. tháng 05.. Năm 2025

**KT. VIỆN TRƯỞNG**

**PHÓ VIỆN TRƯỞNG**



*Phượng Liên Chương*

**BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**  
**VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM – HÀN QUỐC**



**TIÊU CHUẨN CƠ SỞ**  
**VIÊN NANG MỀM HOẠT HUYẾT DƯỠNG NÃO**

**Năm 2025**



BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ	TIÊU CHUẨN CƠ SỞ	Số:
VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM HÀN QUỐC	VIÊN NANG MỀM HOẠT HUYẾT DƯỠNG NÃO	Trang:
		Có hiệu lực từ:

## II. THÔNG TIN SẢN PHẨM

### 1. Tên sản phẩm:

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe Viên nang mềm Hoạt huyết dưỡng não (HHDN001)

### 2. Trạng thái sản phẩm

- Trạng thái: Viên nang mềm

- Cảm quan: Viên nang mềm màu nâu, có vạch kẻ ở giữa

### 3. Thành phần: (Cho 1 viên)

Mỗi viên có chứa hỗn hợp thảo mộc tương đương với:

Dầu gấc (Natural Gac oil)	300 mg
Chiết xuất Đương quy (Angelica extract)	40 mg
Chiết xuất Bạch quả (Ginkgo biloba extract)	40 mg

Phụ liệu: Gelatin, sorbitol, glycerin, titan dioxyd, ethyl vanilin, xanh brilliant, đỏ allura, nipagin, nipasol) vừa đủ 1 viên

### 4. Chỉ tiêu chất lượng chủ yếu

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức chất lượng
1	Dầu gấc	Định tính	Dương tính
2	Đương quy	Định tính	Dương tính
3	Bạch quả	Định tính	Dương tính

### 5. Chỉ tiêu an toàn

#### 5.1. Giới hạn về vi sinh vật

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức tối đa
1	Tổng vi sinh vật hiếu khí	CFU/g	10000
2	Coliforms	CFU/g	10
3	Cl.perfringens	CFU/g	10
4	E.Co1i	CFU/g	10
5	Tổng số BTNM-NM	CFU/g	100

BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ	TIÊU CHUẨN CƠ SỞ	Số:
VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM HÀN QUỐC	VIÊN NANG MỀM HOẠT HUYẾT DƯỠNG NÃO	Trang:
		Có hiệu lực từ:

### 5.2. Giới hạn về kim loại nặng

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức độ tối đa
1	Pb	ppm	3
2	Cd	ppm	1
3	Hg	ppm	0,1

### 6. Đóng gói và bảo quản

- Đóng gói và bảo quản trong lọ PE, nắp PE, hộp giấy, hộp 60 viên.

- Quy cách đóng gói: Hộp 60 viên.

### 7. Hạn sử dụng: 24 tháng

Hà Nội, ngày ..06... tháng ..05.. Năm 2025

KT. VIỆN TRƯỞNG

PHÓ VIỆN TRƯỞNG



*Phương Thiện Thương*

