



Đánh giá tác dụng an thần của viên nén Ích khí an thần - HVY trên thực nghiệm

ASSESS THE SEDATIVE EFFECT OF ICH KHI AN THAN - HVY TABLETS ON EXPERIMENTAL

Phạm Quốc Bình¹, Phạm Thị Vân Anh², Nguyễn Đức Nhân¹, Nguyễn Thị Lan¹

¹Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

²Đại học Y Hà Nội

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng an thần của viên nén Ích khí an thần – HVY trên động vật thực nghiệm.

Phương pháp nghiên cứu: Sử dụng 4 mô hình: Trục quay Rotarod (Shiotsuki H.và cộng sự); Đo hoạt động ký (Mill J. và cộng sự); Dấu cộng nâng cao (G.Oayiwola và cộng sự); Gây co giật bằng nikethamide (Wu X.Y. và cộng sự).

Kết quả: Tác dụng an thần của viên nén Ích khí an thần – HVY được khẳng định qua các bằng chứng thực nghiệm: Giảm thời gian bám trên trục quay Rotarod; giảm số lần di chuyển theo chiều dọc, chiều ngang trên mô hình hoạt động ký; tăng số lần lưu lại nhánh đóng và nhánh mở trên mô hình dấu cộng nâng cao; kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid có khác biệt so với lô chứng sinh học và thời điểm trước khi dùng thuốc thử ($p < 0,05$).

Kết luận: Tác dụng an thần ở mức liều 1,44 viên/kg/ngày và 4,32 viên/kg/ngày tương tự Diazepam 5mg.

SUMMARY

Objectives: The study was conducted to assess the sedative effects of Ich khi an than – HVY tablets on experimental animals.

Subjects and methods: Sedative effect: Use 4 models: Rotarod rotary shaft (Shiotsuki H. and et al); Measure signed activity (Mill J. and et al); Advanced plus sign (G. Olayiwola and et al); Causing seizures with nikethamid (Wu X.Y. and et al).

Results: The sedative effect of the Ich khi an than - HVY is confirmed by empirical evidence: reduced cling time on Rotarod rotary shaft; reduce the times of vertical and horizontal movements on the signed activity model; increasing the times of closed and open branches saved on the advanced plus sign model; prolonging the onset of

Ngày nhận bài: 12/3/2021

Ngày phản biện: 15/3/2021

Ngày chấp nhận đăng: 16/4/2021



convulsions and the time mice died after nikethamid injection were different with the biological control lot and the time before using the reagent ($p < 0,05$).

Conclusions: The sedative effect is similar to Diazepam 5mg at a dose of 1.44 tablets/kg/day and 4.32 tablets/kg/day.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Mất ngủ không thực tổn (mất ngủ mạn tính) là trạng thái không thoả mãn về số lượng và/hoặc chất lượng giấc ngủ, tồn tại trong thời gian ít nhất 1 tháng. Căn nguyên của bệnh khó được xác định chính xác, điều trị mất ngủ đa phần là cải thiện triệu chứng, giúp bệnh nhân hồi phục được giấc ngủ sinh lý, từ đó góp phần cải thiện tình trạng bệnh. Cùng với xu hướng chung hiện nay của việc sử dụng thảo dược thiên nhiên trong điều trị, Ích khí an thần-HVY được xây dựng và bào chế từ các vị thuốc thuộc nhóm an thần, ích khí giúp an thần, tạo giấc ngủ sâu với thành phần: Đinh lăng, Vòng nem, Lạc tiên, Ba kích, Viễn trí. Để có thêm cơ sở đưa thuốc vào thử nghiệm lâm sàng, nhóm nghiên cứu tiến hành đề tài này nhằm giải đáp câu hỏi: Tác dụng an thần của viên nén Ích khí an thần – HVY được thể hiện như thế nào?

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chất liệu nghiên cứu

Thuốc nghiên cứu là viên nén bao phim Ích khí an thần - HVY do Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam sản xuất với thành phần mỗi viên: 163 mg Đinh lăng, 147 mg Lạc tiên, 81 mg Bình vôi, 167 mg Ba kích nam và 145 mg Vòng nem. Liều dùng trên người: 6 viên/người/ngày.

Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

Ảnh hưởng của Ích khí an thần-HVY lên sức bám của chuột [5],[6]

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được uống nước cất/

thuốc chứng dương/thuốc thử trong 7 ngày liên tục: Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày, Lô 2: uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày; Lô 3: uống Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12); Lô 4: uống Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng).

Theo dõi thời gian bám trên trục quay của chuột ở 2 thời điểm: Trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7.

Ảnh hưởng của Ích khí an thần-HVY trên mô hình đo hoạt động ký [7]

Chuột nhắt trắng được chia lô và uống nước cất/chứng dương/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục như mô hình trên trục quay Rotarod.

Theo dõi số lần di chuyển theo chiều ngang, số lần di chuyển theo chiều dọc của chuột ở 2 thời điểm: Trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7.

Tác dụng của Ích khí an thần-HVY trên mô hình dấu cộng nâng cao [8]

Chuột nhắt trắng được chia lô và uống nước cất/chứng dương/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục như mô hình trên trục quay Rotarod.

Theo dõi số lần chuột vào nhánh mở, thời gian chuột ở nhánh mở; Số lần chuột vào nhánh đóng, thời gian chuột ở nhánh đóng; Tỷ lệ né tránh nhánh mở ở 2 thời điểm: trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7.

Tác dụng của Ích khí an thần-HVY trên mô hình gây co giật bằng nikethamid [9]

Chuột nhắt trắng thành 4 lô, mỗi lô 10 con:



Lô 1 (mô hình): uống nước cất 20 ml/kg/ngày; Lô 2: uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày; Lô 3: uống Ích khí an thần liều 1,44 viên/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12); Lô 4: uống Ích khí an thần liều 4,32 viên/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng). Chuột nhắt trắng được uống nước cất/chứng dương/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Tại thời điểm ngày thứ 7 sau khi uống thuốc thử 1 giờ, chuột được tiêm nikethamid liều 400 mg/kg.

Chỉ tiêu theo dõi sau 30 phút tiêm nikethamid: thời gian khởi phát cơn co giật; thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid.

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu sau thu thập được làm sạch, xử lý bằng thuật toán thống kê y sinh học dưới sự hỗ trợ của phần mềm SPSS 20.0 của IBM.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Ảnh hưởng của Ích khí an thần-HVY lên sức bám của chuột

Bảng 1. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian bám của chuột

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

Mô hình khung quay Rotarod cũng là một trong những thử nghiệm được áp dụng nhiều trong nghiên cứu tác dụng an thần của thuốc. Nghiên cứu của Duaham và Myia năm 1956 cho rằng tác dụng giãn cơ của thuốc có thể được đánh giá thông qua khả năng bám trên trục quay. Lực quay của thanh khác nhau được xác định bởi từng nghiên cứu. Nhiều thuốc chống trầm cảm cũng có tác dụng trên thử nghiệm này. Mặc dù không có

sự khác biệt rõ rệt giữa tác dụng bình thần và an thần kinh chủ yếu nhưng có hiệu quả tốt để nghiên cứu tác dụng giãn cơ của các thuốc tương tự như benzodiazepin. Hơn nữa, mô hình còn được dùng để nghiên cứu độc tính trên thần kinh-cơ. Cơ sở của phương pháp là dựa trên khả năng phối hợp thần kinh-cơ, khả năng định hướng không gian, sức căng cơ, khả năng giữ thăng bằng của động vật. Thanh quay có thể coi như tác nhân kích thích làm



tăng phản xạ bám giữ của chuột. Thuốc an thần ức chế thần kinh-cơ, giảm khả năng giữ thăng bằng và định hướng không gian nên giảm khả năng bám của chuột trên thanh quay. Sự giảm thời gian bám của chuột trên thanh quay so với nhóm chứng là bằng chứng cho tác dụng an thần của thuốc nghiên cứu. Điều đó nói lên tác dụng của diazepam và các lô uống viên nén Ích khí an thần-HVY thể hiện tác dụng an thần làm cho chuột giảm thời gian bám trên trục quay, có thể do làm giảm sự tập trung chú ý vào bám, thời gian bám giảm, mà đó là do thuốc làm thư giãn an thần gây nên, thể hiện sự giảm

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

Ảnh hưởng của Ích khí an thần-HVY trên mô hình đo hoạt động ký

Bảng 2. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến hoạt động di chuyển theo chiều dọc của chuột

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

Hoạt động tự nhiên của chuột được tự động ghi lại bằng thiết bị đặc biệt nhờ các bộ phận cảm ứng nhạy cảm với bất kỳ thay đổi hoạt động nào của động vật thí nghiệm. Cơ sở của mô hình dựa vào tác dụng ức chế thần kinh trung ương của thuốc làm giảm hoạt động tự nhiên như di chuyển, đứng lên, thăm dò... của động vật thí

nhệm. Kết quả trên mô hình Hoạt động ký cho thấy, chuột ở lô uống diazepam và các lô uống viên nén Ích khí an thần-HVY thể hiện tác dụng giải lo âu ở hai nhóm này thông qua giảm số lần chuột di chuyển theo chiều dọc có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học sau uống thuốc 7 ngày (với $p < 0,001$).



Bảng 3. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến hoạt động di chuyển theo chiều ngang của chuột

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

Nghiên cứu cho thấy chuột ở lô uống diazepam và các lô uống viên nén Ích khí an thần-HVY thể hiện tác dụng giải lo âu ở hai nhóm này thông qua giảm số lần chuột di chuyển theo chiều ngang có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học sau uống thuốc 7 ngày (với $p < 0,01$). Đây là mô hình đo sức bám của chuột được thực hiện theo phương pháp của Robert M.J. Deacon. Ngoài mô hình trên, có thể sử dụng thực nghiệm bằng mô hình mặt phẳng nghiêng (Inclined plane) và mô hình ống khói (Chimney test). Sau khi uống thuốc 1 giờ và 3 giờ, chuột được đo sức bám trên máy. Tác dụng thư giãn an thần của thuốc làm cho sức bám của chuột bị giảm, được thể hiện trên máy đo.

Tác dụng của Ích khí an thần-HVY trên mô hình dấu cộng nâng cao

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trên mô hình dấu cộng nâng cao, chuột ở lô uống diazepam liều 2,4mg/kg/24h và các lô uống Ích khí an thần-HVY

cả 2 liều (1,44 viên/kg/24h và 4,32 viên/kg/24h) đều thể hiện tác dụng giải lo âu so với lô chứng sinh học một cách rõ rệt. Kết quả được thể hiện: Giảm số lần vào nhánh đóng, rút ngắn thời gian lưu lại nhánh đóng; Tăng thời gian lưu lại nhánh mở, tăng số lần vào nhánh mở; Giảm tỷ lệ né tránh nhánh mở. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Thử nghiệm dấu cộng nâng cao là phương pháp thực hiện tốn nhiều thời gian, tuy nhiên là thử nghiệm đáng tin cậy và được dùng rộng rãi khi đánh giá tác dụng giải lo âu. Hiện nay, có nhiều cải tiến của phương pháp này như mô hình chữ T nâng cao. Tuy nhiên, thử nghiệm này bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như độ tuổi, giới của động vật thực nghiệm, thời gian thử nghiệm và ánh sáng. Như vậy có thể nói, khi chuột uống viên nén Ích khí an thần-HVY việc tăng lưu lại ở nhánh mở về thời gian và số lần nói lên tác dụng giải lo âu, giảm sợ sệt của viên nén Ích khí an thần-HVY đối



với chuột. Theo Silva và Frussa-Filho, mô hình dấu cộng nâng cao có thể đánh giá được cả tác dụng trên trí nhớ và tác dụng giải lo âu. Thử nghiệm đánh giá trí nhớ qua thời gian trong nhánh đóng và đánh

giá tác dụng an thần qua phần trăm thời gian chuột ở nhánh mở.

Tác dụng chống co giật của của Ích khí an thần - HVY

Bảng 4. Ảnh hưởng của Ích khí an thần – HVY đến thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid

Lô chuột	n	Thời gian khởi phát cơn co giật (phút)	Thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid (phút)
Lô 1: Mô hình	10	1,37 ± 0,36	8,31 ± 2,41
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	2,08 ± 0,55	14,91 ± 3,67
p so với lô 1		< 0,01	< 0,001
Lô 3: Ích khí an thần-HVY liều 1,44 viên/kg/ngày	10	1,48 ± 0,47	9,01 ± 2,92
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05
Lô 4: Ích khí an thần-HVY liều 4,32 viên/kg/ngày	10	1,84 ± 0,41	11,41 ± 3,58
p so với lô 1		< 0,05	< 0,05

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

Như vậy, ở liều gấp 3 liều lâm sàng, Ích khí an thần-HVY có tác dụng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật trên chuột thực nghiệm.

KẾT LUẬN

Viên nén Ích khí an thần-HVY mức liều lâm

sàng thể hiện tác dụng giải lo âu an thần tại các thời điểm sau 7 ngày uống thuốc, thông qua:

- Tăng số lần, thời gian lưu lại nhánh mở, giảm tỷ lệ né tránh nhánh mở và rút ngắn thời gian lưu lại nhánh đóng.

- Giảm số lần chuột di chuyển theo chiều ngang và chiều dọc.

- Giảm thời gian bám và giảm sức bám của chuột nhắt trắng trên trục quay Rotarod và trên máy đo sức bám. Tác dụng giữa 2 liều tương đương nhau. Ở liều gấp 3 liều lâm sàng, Ích khí an thần - HVY có tác dụng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian gây chết trên chuột mô hình.

Tác dụng của viên nén Ích khí an thần-HVY và tác dụng của Diazepam tương tự nhau.



TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nguyễn Xuân Bích Huyền (2013)**, Bệnh rối loạn giấc ngủ ngày càng phổ biến ở Việt Nam, *Tạp chí Y học thực hành-Trung tâm sức khoẻ cộng đồng* số 6/2013, tr.37-45.
2. **Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (2001)**, *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học.
3. **Lê Thị Tuyết Lan (2010)**, Rối loạn giấc ngủ là một trong những rối loạn tâm thần là một bệnh “Tâm thần hiện đại” chiếm tỷ lệ cao, Báo cáo hội thảo tại Huế 2010, “Vấn đề toàn cầu hoá, thành thị hoá và sức khoẻ tâm thần”.
4. **Võ Văn Tới (1995)**, “Bệnh rối loạn giấc ngủ ngày càng phổ biến ở Việt Nam”, *Bài giảng giấc ngủ sinh lý và rối loạn giấc ngủ* - Bộ môn Kỹ thuật Y sinh - Trường Đại học Quốc tế thuộc Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
5. **Shiotsuki H et al (2010)**, A rotarod test for evaluation of motor skill learning, *J Neurosci Methods*; vol. 189: 180 – 185
6. **Robert M.J. Deacon (2013)**. Measuring Motor Coordination in Mice, *Journal of Visualized Experiments*, 75, 2609.
7. **Mill J., Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L. (2002)**, Home-cage activity in heterogeneous stock (HS) mice as a model of baseline activity, *Genes, Brain and Behavior*, **1(3)**, 166-173.
8. **Olayiwola G, Ukponmwan O. và Olawode D. (2013)**, Sedative and anxiolytic effects of the extracts of the leaves of *Stachytarpheta cayennensis* in mice, *African Journal of of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, **10(6)**, 568-579.
9. **Wu XY1, Zhao JL, Zhang M et al. (2011)**, Sedative, hypnotic and anticonvulsant activities of the ethanol fraction from *Rhizoma Pinelliae Praeparatum*, *J Ethnopharmacol*, **135(2)**, 325-329.