



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
1-0019524

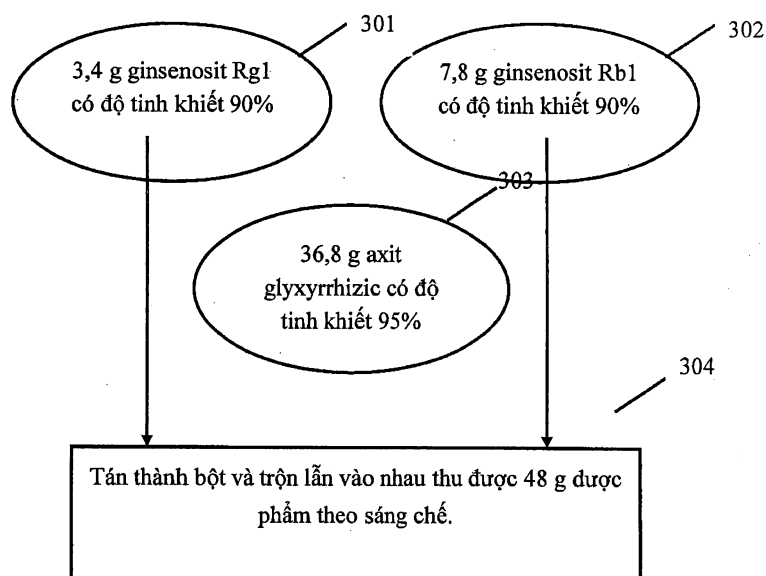
(51)⁷ A61K 36/725, 36/484, 36/258, A61P
25/24, 25/22

(13) B

- (21) 1-2010-01574 (22) 30.11.2007
(86) PCT/CN/2007/003386 30.11.2007 (87) WO2009/070915 11.06.2009
(45) 27.08.2018 365 (43) 27.12.2010 273
(73) 1. YU-FEN CHI (TW)
3.F., No. 9, Alley 27, Lane 67, Minzu St., Yonghe City, Taipei County 234,
TAIWAN
2. ZUOGUANG ZHANG (CN)
30 F., No. 807, Minwang Yuan, Dongcheng District, Beijing 100000, PEOPLE'S
REPUBLIC OF CHINA
(72) ZUOGUANG ZHANG (CN)
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Bình Minh (SUNRISE IP CO.,LTD.)

(54) DƯỢC PHẨM ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH TRÂM CẢM VÀ CHỨNG RỐI LOẠN LO
ÂU

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm hoặc thực phẩm chức năng để điều trị bệnh
trâm cảm và chứng rối loạn lo âu bao gồm saponin nhân sâm (Rg1+Rb1), axit
glyxyrrhizic và cAMP từ táo ta.



Lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế liên quan đến dược phẩm hay thực phẩm chức năng được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm: ginsenosit Rg1 và Rb1, axit glycyrrhizic và adenosin monophosphat vòng (cAMP) từ tảo ta dùng để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu. Cụ thể là, sáng chế liên quan đến dược phẩm và thực phẩm chức năng để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu; sản phẩm này có chức năng và thành phần cụ thể, có hiệu quả chữa bệnh rõ rệt, ít có tác dụng phụ và tính an toàn cao khi sử dụng trong thời gian dài.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Rối loạn tâm lý là do hoạt động khác thường của bộ não và người bị rối loạn có những biểu hiện khác thường trong nhận thức, suy nghĩ, cảm xúc, hành vi, mong muốn cũng như sự sáng suốt, v.v. Rối loạn tâm lý đứng vị trí thứ 4 trong 10 căn bệnh gây ra gánh nặng nghiêm trọng nhất cho xã hội. Con người ngày càng quan tâm hơn tới vấn đề rối loạn chức năng tâm lý trong quá trình phát triển của xã hội. Cả cộng đồng y tế và toàn xã hội đều đang khẩn trương tìm kiếm những loại thuốc tâm lý để chống lại chứng rối loạn tâm lý. Rối loạn lo âu và trầm cảm là rối loạn chức năng tâm lý phổ biến nhất, cùng với thuốc chống lại sự lo âu và trầm cảm là phương pháp điều trị chủ yếu.

Rối loạn lo âu là một bệnh tâm lý với biểu hiện chủ yếu là tâm trạng lo âu, căng thẳng. Đặc điểm chính là bất thần biểu lộ cảm xúc mạnh hoặc là tâm trạng lo lắng không ngừng như lo âu, rối loạn và sợ hãi, v.v, kết hợp với những hội chứng như rối loạn thần kinh tự trị, cứng cơ và rối loạn thao tác, v.v. Từ khi Sigmund Freud tách biệt rối loạn lo âu ra khỏi bệnh suy nhược thần kinh, các học giả trên toàn thế giới đã tiến hành nghiên cứu với quy mô lớn về rối loạn lo âu và đã thu được lượng dữ liệu rất lớn. Theo như nghiên cứu y học hiện đại, nguyên nhân của rối loạn lo âu bao gồm những thiếu sót trong giải phẫu tâm lý, chất truyền tín hiệu noron thần kinh/bộ phận điều chỉnh cơ quan cảm thụ và hệ thống noron thần kinh nội tiết, v.v.

Thuốc chống rối loạn lo âu chủ yếu hiện nay là benzodiazepin, tính năng của nó là điều chỉnh hoạt động của chất truyền tín hiệu noron thần kinh đang bị ức chế, axit gama-aminobutyric (GABA), để làm giảm và làm nhẹ các triệu chứng của bệnh. Tuy nhiên, benzodiazepin có rất nhiều tác dụng phụ, trong đó

bao gồm chứng mất ngủ, dị ứng với thuốc, chứng đau cơ, tình trạng yếu ớt, cảm giác buồn nôn và rối loạn hoạt động cơ thể, thị lực giảm, cảm giác mệt mỏi, cảm giác lo âu và ảo tưởng, v.v.

Trầm cảm là một căn bệnh phổ biến. Tổ chức Y Tế thế giới đã công bố “tỷ lệ của bệnh trầm cảm này trên thế giới vào khoảng 11%. Hiện nay, có khoảng 340 triệu bệnh nhân trầm cảm tâm lý trên thế giới và con số này ngày một gia tăng”. Một cuộc điều tra cho thấy bệnh trầm cảm sẽ tiếp tục tăng và sẽ trở thành căn bệnh phổ biến thứ 2 trên thế giới trong khoảng 20 năm tới.

Thuốc chống trầm cảm chủ yếu hiện nay là Prozac, Paxil và Zoloft, v.v, chúng thuộc nhóm chất ức chế tái hấp thu serotonin có lựa chọn (SSRI), chất ức chế tái hấp thu serotonin-norepinephrin (SNRI), và chất ức chế tái hấp thu norepinephrin và dopamin (NDRI), làm ức chế hấp thu 5-hydroxytryptamin (5-HT), norepinephrin (NE) và dopamin (DA). Cơ chế mà thuốc chống trầm cảm hoạt động là làm tăng lượng chất truyền tín hiệu noron thần kinh của con người như 5-HT và theo đó làm giảm triệu chứng bệnh trầm cảm. Tuy nhiên, thuốc chống trầm cảm trên thị trường có nhiều tác dụng phụ với những mức độ khác nhau như tăng tỉ lệ tự tử, đau đầu, choáng váng, hoa mắt chóng mặt, cảm giác thèm ăn, làm tăng cân, làm tăng áp lực máu, rối loạn tiêu hoá, nôn mửa, cảm giác buồn nôn, chứng khó tiêu, bệnh tiêu chảy, chứng táo bón, đau chân, phát ban, cảm giác rung mình, gây co giật, gây nhiều mồ hôi, chứng phù, ham muốn tình dục và liệt dương, v.v.,

Trong những năm gần đây, thuốc chống trầm cảm như Prozac, v.v., đã trở thành một vấn đề xã hội nghiêm trọng. Trong năm 2004, Cơ quan quản lý Thuốc và Thực phẩm (FDA) của Mỹ đã ra lệnh cho các công ty dược sửa lại các nhãn mác sản phẩm với mục đích chỉ rõ ra những tác dụng phụ và đưa ra những lời cảnh báo trong hướng dẫn sử dụng của 32 loại thuốc chống trầm cảm chính trên thị trường và lưu ý các thầy thuốc và y tá rằng những thuốc này có thể làm tăng tỉ lệ tự tử ở trẻ em và thanh thiếu niên. Tuy nhiên, rất nhiều bệnh nhân trầm cảm có điều kiện chữa bệnh lại dừng việc chữa bệnh lại hoặc từ chối liệu pháp điều trị vì lo lắng hoặc không có khả năng chịu đựng nhiều tác dụng phụ của thuốc chống trầm cảm hiện tại. Trước tình hình thực tế này, cuộc tìm kiếm một thể hệ thuốc mới với ít tác dụng phụ hơn, an toàn cao trong thời gian dài sử dụng và chất lượng chống trầm cảm cũng như chống lo âu cao hơn đã trở thành trung tâm sự chú ý của toàn thế giới y dược.

Vì vậy, nỗ lực của người nộp đơn là giải quyết tình hình trên trong cuộc độ sức với những giải pháp kỹ thuật trước đó.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đưa ra một loại dược phẩm hay thực phẩm chức năng để khắc phục sự thiếu sót của những cách điều trị hiện có về bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu. Dược phẩm hay thực phẩm chức năng được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm: ginsenosit Rg1 và Rb1, axit glyxyrrhizic và adenodin monophosphat vòng (cAMP) từ táo ta dùng để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu. Cụ thể là giải pháp kỹ thuật mới này đưa ra chức năng và thành phần cụ thể, hiệu quả chữa bệnh rõ rệt, ít có tác dụng phụ và tính an toàn cao khi sử dụng trong thời gian dài.

Giải pháp về dược phẩm trong sáng chế này là kết quả của sự nỗ lực của nhà sáng chế theo lý thuyết bệnh lý và dược lý của y học hiện đại để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu. Giải pháp này sử dụng 3 nguyên liệu bao gồm nhân sâm, cam thảo và táo ta, được phát triển dựa trên lý thuyết bệnh lý và dược lý của y học hiện đại để điều trị trạng thái lo âu, đặc biệt, nó kết hợp thành tựu nghiên cứu dược phẩm trong quá khứ với những kiến thức hiện tại được phát triển trong cơ chế cảm thụ tại chỗ. Ginsenosit từ nhân sâm có hoạt tính adenylat cyclaza (AC) làm kích thích sự tổng hợp cAMP và có hoạt tính ức chế cAMP phosphodiesteraza (CAPD) để làm giảm sự phá vỡ cAMP; axit glyxyrrhizic (và axit glyxyrrhetinic) từ cam thảo là những chất ức chế mạnh của CAPD. Ginsenosit Rg1 and Rb1 và axit glyxyrrhizic khi đi cùng với nhau và được sử dụng chung sẽ làm tăng hơn nồng độ và hoạt tính của cAMP và protein kinaza A (PKA) tương ứng trong cơ thể. Nồng độ và hoạt tính của cAMP tăng lên có thể (1) làm tăng sự tổng hợp và giải phóng chất truyền tín hiệu noron thần kinh như norepinephrin, v.v., (2) làm tăng biểu hiện của nhân tố nuôi dưỡng thần kinh sản sinh từ não (BDNF), và (3) ức chế hoạt tính quá mức của trục HPA (hypothalamic-pituitary-adrenal - vùng dưới đồi-tuyến yên-tuyến thượng thận) và sự bài tiết của glucocorticoid, để đạt được chức năng chống trầm cảm đáng kể. Nồng độ và hoạt tính của PKA tăng lên có thể khuếch đại chức năng ức chế của GABA ở noron thần kinh, để đạt được chức năng chống trầm cảm đáng kể. Hơn nữa, cAMP từ táo ta, bản chất là cAMP không thủy phân được, có thể tham gia vào sự lan truyền của cAMP trong cơ thể, kích thích chức năng enzym và tăng biểu hiện của cAMP và PKA trong cơ thể, để đạt được chức năng chống trầm cảm và chống lo âu đáng kể. Vì vậy, ginsenosit Rg1 and Rb1 đi cùng nhau và cùng với axit glyxyrrhizic và cAMP từ táo ta, những nguyên liệu này được mong đợi sẽ tương tác chung để làm tăng hơn nữa hiệu quả chống trầm cảm và chống lo âu trong sáng chế này. Nhân sâm, cam thảo và táo ta là dược liệu và thực

phẩm được sử dụng phổ biến trong y học Trung Quốc và được sử dụng trong bữa ăn chữa bệnh với chế độ ăn uống giàu dinh dưỡng trong nhiều thế kỷ. Trong lịch sử dài về chế độ dinh dưỡng và điều trị bệnh, tính an toàn và hiệu quả trong sử dụng kết hợp nhân sâm, cam thảo và táo ta đã được chứng minh một cách đầy đủ. Nghiên cứu của nhà sáng chế và những kết quả thử nghiệm đã chỉ ra rằng nếu 3 dược liệu này chỉ được sắc và chiết thông thường để thu được chất chiết, thì chất chiết này sẽ không có hiệu quả chống trầm cảm và chống lo âu một cách đáng kể khi so sánh với thuốc chống trầm cảm và chống lo âu chủ yếu của công nghệ hiện nay. Tuy nhiên, sau khi tinh chế thêm nữa chất chiết từ 3 dược liệu này để làm tăng độ đậm đặc của những thành phần có hiệu quả chứa ginsenosit Rg1 and Rb1, axit glyxyrrhizic và cAMP từ táo ta, v.v., như được mô tả trong sáng chế, sẽ thu được một dược phẩm chống trầm cảm và chống lo âu có tác dụng đáng kể. Kết quả thử nghiệm đã chứng minh rằng sáng chế có hiệu quả chống trầm cảm và chống lo âu đáng kể khi so sánh với loại thuốc chủ yếu, paroxetin and diazepam, trong điều trị trầm cảm và chứng rối loạn lo âu tương ứng. Phần còn lại của 3 nguyên liệu này sau khi tách chiết và tinh chế cũng được thu lại và thử nghiệm trên động vật. Mặc dù phần còn lại có chứa một lượng ginsenosit Rg1 and Rb1, axit glyxyrrhizic và cAMP từ táo ta, nhưng nó không có tác dụng chống trầm cảm và chống lo âu đáng kể khi thử nghiệm trên động vật. Một điều quan trọng, kết hợp nhân sâm, cam thảo và táo ta không phát sinh những tác dụng phụ của dược phẩm chống trầm cảm và lo âu chủ yếu của công nghệ hiện nay. Bệnh nhân sẽ không cần lo lắng về tác dụng phụ, vì vậy họ không cần dừng hay từ chối liệu pháp điều trị này nữa. Do đó, các nhà sáng chế đã chỉ ra rằng ginsenosit Rg1 and Rb1, axit glyxyrrhizic and cAMP từ táo ta là những nguyên liệu để sản xuất dược phẩm hay thực phẩm chức năng để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu. Cụ thể là giải pháp kỹ thuật mới này đưa ra một loại dược phẩm có chức năng và thành phần cụ thể, có tính an toàn cao khi sử dụng lâu dài mà không có tác dụng phụ, về căn bản, cải thiện được những hạn chế của những giải pháp kỹ thuật trước đó.

Axit glyxyrrhetic có nhiều khả năng hoà tan trong lipid hơn axit glyxyrrhizic và có thể dễ dàng đi vào não qua hàng rào máu não. Do axit glyxyrrhizic được chuyển thành axit glyxyrrhetic trong cơ thể con người với hiệu suất gần như 100%, việc ức chế CAPD bằng axit glyxyrrhizic được tiếp tục bởi sự chuyển hoá axit glyxyrrhizic thành axit glyxyrrhetic trong cơ thể. Do đó, axit glyxyrrhizic hay axit glyxyrrhetic có thể là nguyên liệu để sản xuất dược phẩm theo sáng chế này.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, loại dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu đã được tạo ra. Dược phẩm này bao gồm: ginsenosit Rg1 and Rb1; axit dẫn xuất của glyxyrrhizic là một chất được chọn từ nhóm chứa axit glyxyrrhizic, axit glyxyrrhetic và hỗn hợp của nó, và cAMP từ táo ta.

Tốt hơn là dược phẩm có chứa từ 2 đến 25 phần khối lượng ginsenosit, từ 3 đến 46 phần khối lượng của axit dẫn xuất của glyxyrrhizic và từ 0,002 đến 0,4 phần khối lượng cAMP từ táo ta.

Tốt hơn là dược phẩm có chứa từ 4 đến 12 phần khối lượng ginsenosit, từ 5 đến 15 phần khối lượng axit dẫn xuất của glyxyrrhizic và từ 0,01 đến 0,08 phần khối lượng cAMP từ táo ta.

Tốt hơn là ginsenosit được chiết từ nhân sâm, axit dẫn xuất của glyxyrrhizic được chiết từ cam thảo và cAMP từ táo ta được chiết từ táo ta.

Tốt hơn là táo ta được chiết để thu được phần chiết đầu tiên chứa một lượng chất cô cAMP từ táo ta đầu tiên. Phần chiết đầu tiên tiếp tục được chiết để thu được phần chiết lần thứ 2 chứa một lượng chất cô cAMP từ táo ta lần thứ 2, chất cô cAMP từ táo ta lần thứ 2 đậm đặc hơn chất cô cAMP từ táo ta lần đầu và dịch chiết lần thứ 2 là nguyên liệu trong dược phẩm.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, một loại dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu đã được tạo ra. Dược phẩm này bao gồm: ginsenosit; và axit dẫn xuất của glyxyrrhizic là một chất được lựa chọn từ một nhóm có chứa axit glyxyrrhizic, axit glyxyrrhetic và hỗn hợp của nó.

Tốt hơn là ginsenosit có chứa Rg1 và Rb1.

Tốt hơn là dược phẩm chứa từ 2 đến 25 phần khối lượng của ginsenosit và chứa từ 3 đến 46 phần khối lượng của axit dẫn xuất của glyxyrrhizic.

Tốt hơn là dược phẩm chứa từ 4 đến 12 phần khối lượng của ginsenosit và từ 5 đến 15 phần khối lượng của axit dẫn xuất của glyxyrrhizic.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, một loại dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu đã được tạo ra. Dược phẩm này bao gồm nhân sâm, cam thảo và táo ta.

Tốt hơn là dược phẩm có chứa từ 4 đến 60 phần khối lượng nhân sâm, từ 2 đến 30 phần khối lượng cam thảo và từ 2 đến 40 phần khối lượng táo ta.

Tốt hơn là dược phẩm có chứa từ 10 đến 28 phần khối lượng nhân sâm, từ 5 đến 14 phần khối lượng cam thảo và từ 4 đến 18 phần khối lượng táo ta.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, một loại dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu đã được tạo ra. Dược phẩm này bao gồm

nhân sâm, cam thảo.

Tốt hơn là dược phẩm có chứa từ 4 đến 60 phần khối lượng nhân sâm và từ 2 đến 30 phần khối lượng cam thảo.

Tốt hơn là dược phẩm có chứa từ 10 đến 28 phần khối lượng nhân sâm và từ 5 đến 14 phần khối lượng cam thảo.

Tốt hơn là dược phẩm bao gồm thêm ít nhất một chất mang dược dụng hoặc chất phụ gia.

Tốt hơn là dược phẩm có dạng liều dùng được chọn trong nhóm bao gồm dạng viên nén, viên nang, dạng bột, viên tròn, dạng bột mịn, dạng dung dịch, viên nang nhỏ, dạng huyền phù, dạng nhũ tương, dạng hạt, dạng nhỏ giọt, dạng cuộn.

Tốt hơn là dược phẩm được bào chế ở dạng thực phẩm chức năng và chất bổ sung dinh dưỡng.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, phương pháp điều chế cAMP từ tảo ta của dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu đã được tạo ra. Phương pháp điều chế gồm các bước: (a) chiết tảo ta để thu được phần chiết đầu tiên chứa một lượng chất cô cAMP từ tảo ta lần đầu tiên; và (b) tinh chế phần chiết đầu tiên để thu được phần chiết thứ 2 chứa chất cô cAMP từ tảo ta lần thứ 2. Chất cô cAMP từ tảo ta lần thứ hai đậm đặc hơn chất cô cAMP từ tảo ta lần thứ nhất.

Tốt hơn là bước (b) được xử lý bằng sắc ký phần chiết đầu tiên với nhựa có lỗ xốp to gắn kết với một nhóm andehyt.

Tốt hơn là bước (b) bao gồm thêm các bước: (b1) sắc ký phần chiết lần đầu với nhựa có lỗ xốp to OU-2 gắn kết với một nhóm andehyt; và (b2) sắc ký phần chiết đầu tiên với nhựa có lỗ xốp to ME-2 gắn kết với một nhóm andehyt.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, phương pháp điều chế cAMP từ tảo ta đã được tạo ra. Phương pháp này bao gồm các bước: (a) chiết tảo ta để thu được phần chiết lần đầu; và sau đó (b) sắc ký phần chiết lần đầu với nhựa có lỗ xốp to gắn kết với một nhóm andehyt.

Dược phẩm được mô tả trong phần mô tả và yêu cầu bảo hộ của sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu đã nêu ra đầy đủ nội dung cốt lõi của sáng chế này. Sau khi sáng chế được công bố, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể tiến hành tăng/giảm thông thường hoặc thay thế bằng những thành phần có hiệu quả khác của thảo dược (như onjisaponin, saikosaponin và coumarin cam thảo, v.v.) cũng có kết quả y hệt như với dược phẩm đề cập ở trên, theo thuyết y học Trung Hoa hay học thuyết của

được lý hiện đại liên quan. Sự thay thế tăng/giảm thông thường này, hoặc thay thế bằng loại thảo dược có cơ chế hoạt động tương tự, bằng chất ức chế CAPD, chất hoạt hoá AC giống khác, hoặc bằng các thành phần có hiệu quả tương ứng đều là những hoạt động kỹ thuật thông thường của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Vì vậy, tất cả các sự thay thế trên đều nằm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế này.

Những mục đích và lợi thế trên đây của sáng chế này sẽ trở nên rõ ràng với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sau khi xem xét mô tả chi tiết và hình vẽ đi kèm dưới đây, trong đó:

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ nhất của sáng chế.

Hình 2 là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ hai của sáng chế.

Hình 3 là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ ba của sáng chế.

Hình 4 là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ tư của sáng chế.

Hình 5 là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ năm của sáng chế.

Hình 6 là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ sáu của sáng chế.

Mô tả chi tiết các phương án ưu tiên

Sáng chế sẽ được mô tả một cách cụ thể hơn bằng cách xem xét các phương án sau. Xin lưu ý là mô tả dưới đây của các phương án ưu tiên theo sáng chế được đưa ra ở đây chỉ nhằm mục đích minh hoạ và diễn giải; không có ý định trình bày đầy đủ mọi khía cạnh hay bị hạn chế ở những dạng chi tiết đã được bộc lộ.

Để hoàn thành mục đích của sáng chế, các giải pháp kỹ thuật của sáng chế được nêu ra một cách cụ thể như dưới đây.

Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được đưa ra theo sáng chế và dược phẩm này được sản xuất bằng những nguyên liệu gồm ginsenosit Rg1 và Rb1, axit glycyrrhizic và cAMP từ táo ta.

Ví dụ 1:

Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm nhân sâm và cam thảo.

Ví dụ 2:

Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm từ 4 đến 60 phần khối lượng nhân sâm và từ 2 đến 30 phần khối lượng cam thảo.

Ví dụ 3:

Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm từ 10 đến 28 phần khối lượng nhân sâm và từ 5 đến 14 phần khối lượng cam thảo.

Ví dụ 4:

Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm nhân sâm, cam thảo và táo ta.

Ví dụ 5:

Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm từ 4 đến 60 phần khối lượng nhân sâm, từ 2 đến 30 phần khối lượng cam thảo và từ 2 đến 40 phần khối lượng táo ta.

Ví dụ 6:

Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm từ 10 đến 28 phần khối lượng nhân sâm, từ 5 đến 14 phần khối lượng cam thảo và từ 4 đến 18 phần khối lượng táo ta.

Ví dụ 7:

Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm ginsenosit Rg1 và Rb1, và axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetinic).

Ví dụ 8:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm tổng hợp của từ 2 đến 25 phần khối lượng ginsenosit Rg1 và Rb1, và từ 3 đến 46 phần khối lượng axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetinic).

Ví dụ 9:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm tổng hợp của từ 4 đến 12 phần khối lượng ginsenosit Rg1 và Rb1, và từ 5 đến 15 phần khối lượng axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetinic).

Ví dụ 10:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm chất chiết nhân sâm với phần khối lượng như đề cập ở trên của ginsenosit Rg1 và Rb1, và

chất chiết cam thảo với phần khối lượng của axit glyxyrrhizic như được đề cập ở trên.

Ví dụ 11:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm ginsenosit Rg1 và Rb1, axit glyxyrrhizic và cAMP từ táo ta.

Ví dụ 12:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm tổng hợp của từ 2 đến 25 phần khối lượng ginsenosit Rg1 và Rb1, từ 3 đến 46 phần khối lượng axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetinic) và từ 0,002 đến 0,4 phần khối lượng cAMP từ táo ta.

Ví dụ 13:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm tổng hợp của từ 4 đến 12 phần khối lượng ginsenosit Rg1 và Rb1, từ 5 đến 15 phần khối lượng axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetinic) và từ 0,01 đến 0,08 phần khối lượng cAMP từ táo ta.

Ví dụ 14:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu bao gồm chất chiết nhân sâm với những phần khối lượng như đề cập ở trên của ginsenosit Rg1 và Rb1, chất chiết cam thảo với phần khối lượng của axit glyxyrrhizic như được đề cập ở trên và chất chiết táo ta với phần khối lượng của cAMP từ táo ta như được đề cập ở trên.

Ví dụ 15:

Dược phẩm theo sáng chế được đưa ra, trong đó nguyên liệu có cAMP từ táo ta là phần chiết lần thứ 2 được mô tả như sau. Đầu tiên, táo ta được chiết để thu được phần chiết đầu tiên, sau đó, phần chiết đầu tiên được chiết tiếp để thu được phần chiết lần thứ 2, trong đó chất cô cAMP từ táo ta lần thứ 2 đậm đặc hơn chất cô cAMP từ táo ta lần đầu.

Ví dụ 16:

Dược phẩm theo sáng chế được đưa ra, trong đó phương pháp điều chế nguyên liệu chứa cAMP từ táo ta bao gồm các bước sau:

- (a) chiết táo ta để thu được phần chiết đầu tiên, và
- (b) chiết phần chiết đầu tiên để thu được phần chiết lần thứ 2, và chất cô cAMP từ táo ta lần thứ 2 đậm đặc hơn chất cô cAMP từ táo ta lần đầu.

Ví dụ 17:

Phương pháp điều chế đề cập ở trên được đưa ra, trong đó, bước (b) được xử lý bằng sắc ký, hút, tách cAMP từ táo ta trong phần chiết đầu tiên với nhựa có

lỗ xốp to gắn kết với một nhóm andehyt.

Ví dụ 18:

Phương pháp điều chế đề cập ở trên được đưa ra, trong đó, bước (b) được xử lý bằng sắc ký, hút, tách cAMP từ tảo ta trong phần chiết đầu tiên với nhựa có lỗ xốp to OU-2 gắn kết với một nhóm andehyt.

Ví dụ 19:

Phương pháp điều chế đề cập ở trên được đưa ra, trong đó, bước (b) được xử lý thêm bằng sắc ký, hút, tách cAMP từ tảo ta trong phần chiết đầu tiên với nhựa có lỗ xốp to ME-2 gắn kết với một nhóm andehyt.

Ví dụ 20:

Dược phẩm theo sáng chế có thể gồm chất mang dược dụng, chất phụ gia và tổ hợp của chúng.

Ví dụ 21:

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế dưới dạng liều dùng và liều dùng được chọn bất kỳ trong số các dạng viên nén, viên nang, dạng bột, viên tròn, dạng bột mịn, dạng dung dịch, viên nang nhỏ, dạng huyền phù, dạng nhũ tương, dạng hạt, dạng nhỏ giọt, dạng cuộn và dạng liều lượng dùng qua đường miệng.

Ví dụ 22:

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế thành dược phẩm, thực phẩm chức năng và chất bổ sung dinh dưỡng để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu.

Để hoàn thành mục tiêu của sáng chế, phương pháp điều chế dược phẩm được mô tả như sau.

Phương pháp 1:

Dược phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu có từ 4 đến 60 phần khối lượng nhân sâm và từ 2 đến 30 phần khối lượng cam thảo và nguyên liệu này được chiết xuất và tinh chế để thu được phần chiết có ginsenosit Rg1 và Rb1 và axit glyxyrrhizic.

Phương pháp 2:

Dược phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu có từ 10 đến 28 phần khối lượng nhân sâm và từ 5 đến 14 phần khối lượng cam thảo và nguyên liệu này được chiết xuất và tinh chế để thu được phần chiết có ginsenosit Rg1 và Rb1 và axit glyxyrrhizic.

Phương pháp 3:

Dược phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo

âu được sản xuất từ nguyên liệu có từ 4 đến 60 phần khối lượng nhân sâm, từ 2 đến 30 phần khối lượng cam thảo và từ 2 đến 40 phần khối lượng táo ta, và nguyên liệu này được chiết xuất và tinh chế để thu được phần chiết có ginsenosit Rg1 và Rb1, axit glyxyrrhizic và cAMP từ táo ta.

Phương pháp 4:

Dược phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu có từ 10 đến 28 phần khối lượng nhân sâm, từ 5 đến 14 phần khối lượng cam thảo và từ 4 đến 18 phần khối lượng táo ta, và nguyên liệu này được chiết xuất và tinh chế để thu được phần chiết có ginsenosit Rg1 và Rb1, axit glyxyrrhizic và cAMP từ táo ta.

Phương pháp 5:

Dược phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu của phần chiết có ginsenosit Rg1 và Rb1 được chiết xuất và tinh chế từ nhân sâm, có axit glyxyrrhizic được chiết xuất và tinh chế từ cam thảo hoặc từ nguyên liệu thô chế sẵn có ginsenosit Rg1 và Rb1 và axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetic) và cAMP từ táo ta.

Phương pháp 6:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu tổng hợp từ 2 đến 25 phần khối lượng ginsenosit Rg1 và Rb1, từ 3 đến 46 phần khối lượng axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetic) và cAMP từ táo ta.

Phương pháp 7:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu tổng hợp từ 4 đến 12 phần khối lượng ginsenosit Rg1 và Rb1 và từ 5 đến 15 phần khối lượng axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetic) và cAMP từ táo ta.

Phương pháp 8:

Dược phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu được sản xuất từ nguyên liệu thô của chất chiết có ginsenosit Rg1 và Rb1 được chiết xuất và tinh chế từ nhân sâm, có axit glyxyrrhizic được chiết xuất và tinh chế từ cam thảo, và có cAMP từ táo ta được chiết xuất và tinh chế từ táo ta, hoặc từ nguyên liệu thô chế sẵn của chất chiết có ginsenosit Rg1 và Rb1 và axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetic) và cAMP từ táo ta.

Phương pháp 9:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu tổng hợp từ 2 đến 25 phần khối lượng ginsenosit Rg1 và Rb1, từ 3 đến 46 phần khối lượng axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetic) và từ 0,002 đến 0,4 phần khối lượng cAMP từ táo ta.

Phương pháp 10:

Dược phẩm theo sáng chế được sản xuất từ nguyên liệu tổng hợp từ 4 đến 12 phần khối lượng ginsenosit Rg1 và Rb1, từ 5 đến 15 phần khối lượng axit glyxyrrhizic (hoặc axit glyxyrrhetic) và từ 0,01 đến 0,08 phần khối lượng cAMP từ tảo ta.

Phương pháp 11:

Dược phẩm theo sáng chế được đưa ra, trong đó phương pháp điều chế nguyên liệu có chứa tảo ta bao gồm các bước sau:

- (a) chiết xuất tảo ta để thu được phần chiết đầu tiên, và
- (b) tinh chế phần chiết đầu tiên để thu được phần chiết thứ 2 và chất cô cAMP từ tảo ta lần thứ 2 đậm đặc hơn chất cô cAMP từ tảo ta lần đầu.

Phương pháp 12:

Phương pháp điều chế trên được đưa ra, trong đó bước (b) được xử lý bằng sắc ký, hút, tách cAMP từ tảo ta trong phần chiết đầu tiên với nhựa có lỗ xốp to gắn kết với một nhóm andehyt.

Phương pháp 13:

Phương pháp điều chế trên được đưa ra, trong đó bước (b) được xử lý bằng sắc ký, hút và tách cAMP từ tảo ta trong phần chiết đầu tiên với nhựa có lỗ xốp to OU-2 gắn kết với một nhóm andehyt.

Phương pháp 14:

Phương pháp điều chế trên được đưa ra, trong đó bước (b) được xử lý bằng sắc ký, hút và tách cAMP từ tảo ta trong phần chiết đầu tiên với nhựa có lỗ xốp to ME-2 gắn kết với một nhóm andehyt.

Phương pháp 15:

Dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm chất mang dược dụng, chất phụ gia và tổ hợp của chúng.

Phương pháp 16:

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế dưới dạng liều dùng và liều dùng được chọn bất kỳ trong số các dạng: viên nén, viên nang, dạng bột, viên tròn, dạng bột mịn, dạng dung dịch, viên nang nhỏ, dạng huyền phù, dạng nhũ tương, dạng hạt, dạng nhỏ giọt, dạng cuộn và dạng liều lượng dùng qua đường miệng.

Phương pháp 17:

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế thành dược phẩm, thực phẩm chức năng và chất bổ sung dinh dưỡng để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu theo tiêu chuẩn Thực Hành Tốt Sản Xuất Thuốc (GMP) và phương

pháp của tiêu chuẩn sản xuất thực phẩm chức năng.

Phương án ưu tiên

Sáng chế được minh hoạ rõ hơn nữa bằng cách kết hợp hình ảnh và phương án ưu tiên dưới đây.

Phương án 1:

Xem xét hình 1, đó là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ nhất của sáng chế. Trong hình 1, sau khi 20 kg nhân sâm (101) được chặt nhỏ, làm nóng để chiết xuất bằng dung dịch rượu etanol 70%. Nhân sâm đã chiết được tách ra và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột và được sấy khô, và 0,8 kg phần chiết của nhân sâm có chứa 120 g ginsenosit Rg1 và Rb1 (102) đã thu được. Thêm nữa, sau khi 10 kg cam thảo (103) được chặt nhỏ, ngâm trong phòng có nhiệt độ khoảng 12 giờ. Cam thảo đã ngâm được tách chiết bằng quá trình sắc và cho lắng bằng cồn, được cô đặc và làm khô, và 2 kg phần chiết của cam thảo có chứa 200 g axit glyxyrrhizic (104) đã thu được. Sau đó, 150 g phần chiết nhân sâm thu được và 200 g phần chiết cam thảo thu được tán thành bột và trộn lẫn vào nhau, và đã thu được 350 g dược phẩm (chứa 22,5 g ginsenosit Rg1 và Rb1 và 20 g axit glyxyrrhizic) theo sáng chế (105).

Phương án 2:

Xem xét hình 2, đó là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ 2 của sáng chế. Trong hình 2, sau khi 3,96 g đã điều chế của axit glyxyrrhetic có 96% độ tinh khiết (202) và 200 g phần chiết của nhân sâm thu được ở phương án 1 (201) được tán thành bột và trộn lẫn vào nhau, thu được 203,96 g dược phẩm (chứa 30 g ginsenosit Rg1 và Rb1 và 3,8 g axit glyxyrrhetic) theo sáng chế (203).

Phương án 3:

Xem xét hình 3, đó là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ 3 của sáng chế. Trong hình 3, sau khi 3,4 g ginsenosit Rg1 đã điều chế có 90% độ tinh khiết (301), 7,8 g ginsenosit Rb1 đã điều chế có 90% độ tinh khiết (302) và 36,8 g axit glyxyrrhizic có 90% độ tinh khiết (303) được tán thành bột và trộn lẫn vào nhau, thu được 48 g dược phẩm (chứa 10 g ginsenosit Rg1 và Rb1 và 35 g axit glyxyrrhizic) theo sáng chế.

Phương án 4:

Xem xét hình 4, đó là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế dược phẩm theo phương án ưu tiên thứ 4 của sáng chế. Trong hình 4, 10 kg táo ta (401) được chặt nhỏ và ngâm trong nước ở nhiệt độ phòng, sau đó, táo ta đã ngâm được chiết

bằng quá trình sắc và quá trình lắng bằng cồn để thu được phần chiết tảo ta, phần chiết này sau đó được cho hấp thụ nước và tách ra bằng nhựa có lỗ xốp to OU-2 và ME-2 và làm khô. 30 g của phần chiết tảo ta có chứa 0,3 g cAMP từ tảo ta thu được làm nguyên liệu để điều chế được phẩm theo sáng chế (402).

Tiếp theo, sau khi 150 g phần chiết nhân sâm và 200 g phần chiết cam thảo đã thu được ở phương án 1 được tán thành bột và trộn lẫn vào với 3 g phần chiết tảo ta đã đề cập ở trên, thu được 353 g dược phẩm (có chứa 22,5 g ginsenosit Rg1 và Rb1, 20 g axit glyxyrrhizic và 0,03 g cAMP từ tảo ta) theo sáng chế (403).

Phương án 5:

Xem xét hình 5, đó là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế được phẩm theo phương án ưu tiên thứ 5 của sáng chế. Trong hình 5, sau khi 150 g phần chiết nhân sâm (501) và 200 g phần chiết cam thảo (502) đã thu được ở phương án 1 được tán thành bột và trộn lẫn với 0,5 g phần chiết tảo ta thu được ở phương án 4 (503), thu được 350,5 g dược phẩm (có chứa 22,5 g ginsenosit Rg1 và Rb1, 20 g axit glyxyrrhizic và 0,005 g cAMP từ tảo ta) theo sáng chế này (504).

Phương án 6:

Xem xét hình 6, đó là biểu đồ thể hiện phương pháp điều chế được phẩm theo phương án ưu tiên thứ 6 của sáng chế. Trong hình 6, sau khi 6,8 g ginsenosit Rg1 có 90% độ tinh khiết đã điều chế (601), 15,6 g ginsenosit Rb1 có 90% độ tinh khiết đã điều chế (602), 26 g axit glyxyrrhetinic có 90% độ tinh khiết (603) và 10 g phần chiết tảo ta thu được ở phương án 4 (604) được tán thành bột và trộn lẫn với nhau, thu được 58,4 g dược phẩm (có chứa 20 g ginsenosit Rg1 và Rb1, 25 g axit glyxyrrhetinic và 0,1 g cAMP từ tảo ta) theo sáng chế (605).

Thử nghiệm 1: Ảnh hưởng của phương án 1 trong thử nghiệm treo đuôi chuột.

- 1.1 Động vật thử nghiệm: Những con chuột ICR, con đực, nặng khoảng $22,0 \pm 2$ g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp.
- 1.2 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 1 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp và paroxetin (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.)
- 1.3 Dụng cụ thử nghiệm: Đồng hồ bấm giờ.
- 1.4 Dạng liều dùng: 1. Liều dùng cao của phương án 1 (80 mg/kg/ngày); 2.

Liều dùng trung bình của phương án 1 (40 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng thấp của phương án 1 (20 mg/kg/ngày).

1.5 Phương pháp và kết quả thử nghiệm:

1.5.1. Chia nhóm và sử dụng thuốc: Các con chuột được chia thành nhóm một cách ngẫu nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của phương án 1 (80 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 1 (40 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 3. Liều dùng thấp của phương án 1 (20 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 4. Paroxetin (3 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (cho mỗi miệng chuột). 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng, tiến hành thử nghiệm treo đuôi chuột.

1.5.2 Phương pháp thử nghiệm: Đuôi chuột (chỗ cách phần cuối cùng của đuôi 1 cm) được buộc vào một mảnh gỗ cao hơn mặt nền khoảng 5 cm và treo khoảng 6 phút. Thời gian khi chuột không cử động khoảng 5 phút cuối cùng được ghi lại.

1.5.3 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5.

1.5.4. Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 1.

Bảng 1: Ảnh hưởng của phương án 1 đến thời gian không cử động của chuột

Nhóm	Số lượng động vật	Thời gian không cử động (giây)
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	113,22±21,18
Paroxetin	10	75,33±22,91*
Liều dùng cao của phương án 1	10	54,67±26,38**
Liều dùng trung bình của phương án 1	10	72,68±27,06*
Liều dùng thấp của phương án 1	10	95,26±49,91

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Theo thử nghiệm ở trên, có thể thấy rằng liều dùng cao và trung bình của phương án 1 theo sáng chế và paroxetin, tất cả đều làm giảm thời gian không cử động sau khi đuôi chuột bị treo, điều này khác biệt đáng kể với nhóm sinh lý (đối chứng). Vì vậy, có thể suy ra phương án 1 của sáng chế này có chức năng chống trầm cảm theo thử nghiệm.

Thử nghiệm 2: Ảnh hưởng của phương án 1 trong thử nghiệm làm giảm thân nhiệt của chuột do reserpin gây ra

- 2.1 **Động vật thử nghiệm:** Những con chuột ICR, con đực, nặng khoảng 22,0±2 g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp.
- 2.2 **Dược phẩm thử nghiệm:** Dược phẩm theo phương án 1 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp, paroxetin (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.), và reserpin là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm BangMin Quảng Đông (Guangdong BangMin Pharmaceutical Co., Ltd.)
- 2.3 **Dụng cụ thử nghiệm:** Nhiệt kế điện tử (loại: GM222) và đồng hồ bấm giờ.
- 2.4 **Dạng liều dùng:** 1. Liều dùng cao của phương án 1 (80 mg/kg/ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 1 (40 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng thấp của phương án 1 (20 mg/kg/ngày).
- 2.5 **Phương pháp và kết quả thử nghiệm:**
 - 2.5.1 **Chia nhóm và sử dụng thuốc:** Chuột được chia thành nhóm một cách ngẫu nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của phương án 1 (80 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 1 (40 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 3. Liều dùng thấp của phương án 1 (20 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 4. Paroxetin (3 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (cho mỗi miệng chuột).
 - 2.5.2 **Phương pháp thử nghiệm:** 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng vào ngày thứ 8, tiến hành đo nhiệt độ hậu môn của chuột. Sau đó tiêm vào bụng chuột lượng 2 mg reserpin trên mỗi kg cân nặng của chuột. Sau 4 giờ tiêm reserpin, tiến hành đo nhiệt độ hậu môn chuột 1 lần nữa. Độ sâu và thời gian đưa nhiệt kế vào hậu môn chuột mỗi lần đo nhiệt độ là như nhau.

2.5.3 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5

2.5.4 Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 2.

Bảng 2: Ảnh hưởng của phương án 1 đến việc giảm thân nhiệt của chuột do reserpin gây ra

Nhóm	Số lượng động vật	Nhiệt độ giảm (độ)
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	3,65±0,77
Paroxetin	10	2,38±0,69**
Liều dùng cao của phương án 1	10	1,85±1,01**
Liều dùng trung bình của phương án 1	10	2,05±1,03**
Liều dùng thấp của phương án 1	10	2,35±0,69**

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Theo thử nghiệm trên, có thể thấy rằng, liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 1 theo sáng chế và paroxetin, tất cả đều làm giảm thân nhiệt do reserpin gây ra, và nó có nghĩa là chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm có liên quan và ảnh hưởng đến lượng chất truyền tín hiệu noron thần kinh monoamin. Vì vậy, có thể suy ra phương án 1 theo sáng chế có chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm.

Thử nghiệm 3: Ảnh hưởng của phương án 1 trong thử nghiệm chuyển trạng thái sáng-tối của chuột

3.1 Động vật thử nghiệm: Những con chuột Kunming (KM), con đực, nặng khoảng 24 đến 26 g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp.

3.2 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 1 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp, và diazepam là sản phẩm của Công ty TNHH Amino Axit Jinhuei Thiên Tân (Tianjin Jinhuei Amino Acid Co. Ltd.)

3.3 Dụng cụ thử nghiệm: Phòng chuyển trạng thái sáng-tối tự làm.

3.4 Dạng liều dùng: 1. Liều dùng cao của phương án 1 (80 mg/kg/ngày); 2.

Liều dùng trung bình của phương án 1 (40 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng thấp của phương án 1 (20 mg/kg/ngày).

3.5 Phương pháp và kết quả thử nghiệm:

3.5.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột được chia thành 5 nhóm một cách ngẫu nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của phương án 1 (80 mg/kg); 2. Liều dùng trung bình của phương án 1 (40 mg/kg); 3. Liều dùng thấp của phương án 1 (20 mg/kg); 4. Diazepam (2,5mg/kg); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (Nước muối thông thường, NS). Thuốc được cho vào dạ dày chuột 1 lần mỗi ngày và chuột được cho dùng thuốc 7 ngày liên tiếp. Trong quá trình tiến hành, chuột được ăn và uống một cách tự do và thử nghiệm được bắt đầu 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng vào ngày thứ 8.

3.5.2 Phương pháp thử nghiệm:

Kiểm tra sự chuyển trạng thái sáng-tối của chuột: Phòng tối bằng 1/3 phòng chuyển tiếp sáng-tối (44 cm × 21 cm × 21 cm) và phía trên được che đầy. Phòng sáng cũng bằng 1/3 phòng chuyển tiếp sáng-tối và được chiếu sáng rực rỡ. Một cửa giữa hai phòng được mở để cho chuột di chuyển qua lại. Chuột được đặt ở giữa phòng sáng khi thử nghiệm bắt đầu và lưng của chuột đối diện với phòng tối. Thời gian mà chuột đi vào phòng tối và trở lại phòng sáng trong khoảng 10 phút cũng được xác định, và chính thời gian từ đó là chỉ số để đánh giá chức năng chống lo âu của thuốc.

3.5.3 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn ở dạng $\bar{X} \pm SD$ và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5

3.5.4 Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 3.

Bảng 3: Ảnh hưởng của phương án 1 đến số lần của thử nghiệm chuyển trạng thái sáng-tối của chuột

Nhóm	Số lượng động vật	Số lần di chuyển từ phòng tối sang phòng sáng
Liều dùng cao của phương án 1	10	11,2±3,84*
Liều dùng trung bình của phương án 1	10	13,1±5,38**

Liều dùng thấp của phương án 1	10	13,5±4,65**
Diazepam	10	11,3±4,54*
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	6,2±4,32

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

- 3.6 Mô tả: Thử nghiệm chuyển trạng thái sáng-tối của chuột thông qua thử nghiệm này được xây dựng trên cơ sở là chuột bẩm sinh vốn ghét ánh sáng rực rỡ và có thói quen thích khám phá môi trường mới. Thuốc diazepam để điều trị lo âu ở con người và phương án 1 có sự tương quan tuyệt vời trong cải thiện chức năng làm tăng thói quen thích khám phá môi trường mới của chuột ở mô hình này. Theo thử nghiệm trên, có thể thấy rằng liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 1 theo sáng chế này và diazepam tất cả đều làm tăng một cách đáng kể số lần mà chuột di chuyển qua lại từ phòng tối sang phòng sáng, và có ý nghĩa về mặt thống kê khi so sánh với dung dịch nước muối sinh lý. Kết quả của thử nghiệm đã chứng minh phương án 1 có chức năng chống lo âu.
- 3.7 Kết luận: Theo thử nghiệm trên, liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 1 theo sáng chế này và diazepam, tất cả đều làm tăng một cách đáng kể số lần mà chuột di chuyển từ phòng tối sang phòng sáng. Kết quả cho thấy phương án 1 có hiệu quả chống lo âu.

Thử nghiệm 4: Ảnh hưởng của phương án 2 trong thử nghiệm treo đuôi chuột

- 4.1 Động vật thử nghiệm: Những con chuột ICR, con đực, nặng khoảng 22,0±2 g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp.
- 4.2 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 2 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp và paroxetine (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.)
- 4.3 Dụng cụ thử nghiệm: Đồng hồ bấm giờ.
- 4.4 Dạng liều dùng: 1. Liều dùng cao của phương án 2 (80 mg/kg/ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 2 (40 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng

thấp của phương án 2 (20 mg/kg/ngày).

4.5 Phương pháp và kết quả thử nghiệm:

4.5.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột được chia thành nhóm một cách ngẫu nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của phương án 2 (80 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 2 (40 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 3. Liều dùng thấp của phương án 2 (20 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 4. Paroxetin (3 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (cho mỗi miệng chuột). 1 giờ sau lần sử dụng cuối cùng, tiến hành thử nghiệm treo đuôi chuột.

4.5.2 Phương pháp thử nghiệm: Đuôi chuột (đoạn 1 cm tới phần cuối cùng của đuôi) được buộc vào một mảnh gỗ cao hơn nền sàn khoảng 5 cm và treo khoảng 6 phút. Thời gian khi chuột không cử động khoảng 5 phút cuối cùng được ghi lại.

4.5.3 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5

4.5.4 Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 4.

Bảng 4: Ảnh hưởng của phương án 2 lên thời gian không cử động của chuột

Nhóm	Số lượng động vật	Thời gian không cử động (giây)
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	113,22±21,18
Paroxetin	10	75,33±22,91*
Liều dùng cao của phương án 2	10	93,27±36,42
Liều dùng trung bình của phương án 2	10	76,21±28,36*
Liều dùng thấp của phương án 2	10	107,79±32,56

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Theo thử nghiệm ở trên, có thể thấy rằng liều dùng trung bình của phương án 2 theo sáng chế và paroxetin, tất cả đều làm giảm thời gian không cử động sau khi đuôi chuột bị treo, điều này khác biệt đáng kể với nhóm sinh lý

(đối chứng). Vì vậy, có thể suy ra phương án 2 theo sáng chế có chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm.

Thử nghiệm 5: Ảnh hưởng của phương án 2 trong thử nghiệm làm giảm thân nhiệt của chuột do reserpin gây ra

- 5.1 Động vật thử nghiệm: Những con chuột ICR, con đực, nặng khoảng $22,0 \pm 2$ g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp.
- 5.2 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 2 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp, paroxetin (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.), và reserpin là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm BangMin Quảng Đông (Guangdong BangMin Pharmaceutical Co., Ltd.)
- 5.3 Dụng cụ thử nghiệm: Nhiệt kế điện tử (loại: GM222) và đồng hồ bấm giờ.
- 5.4 Dạng liều dùng: 1. Liều dùng cao của phương án 2 (80 mg/kg/ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 2 (40 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng thấp của phương án 2 (20 mg/kg/ngày).
- 5.5 Phương pháp và kết quả thử nghiệm:
 - 5.5.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột được chia thành nhóm một cách ngẫu nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của phương án 2 (80 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 2 (40 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 3. Liều dùng thấp của phương án 2 (20 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 4. Paroxetin (3 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (cho mỗi miệng chuột).
 - 5.5.2 Phương pháp thử nghiệm: 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng vào ngày thứ 8, tiến hành đo nhiệt độ hậu môn của chuột. Sau đó tiêm vào bụng chuột lượng 2 mg reserpin trên mỗi kg cân nặng của chuột. Sau 4 giờ tiêm reserpin, tiến hành đo nhiệt độ hậu môn chuột 1 lần nữa. Độ sâu và thời gian đưa nhiệt kế vào hậu môn chuột mỗi lần đo nhiệt độ là như nhau.
 - 5.5.3 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5.
 - 5.5.4 Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 5.

Bảng 5: Ảnh hưởng của phương án 2 đến việc giảm thân nhiệt của chuột do reserpin gây ra

Nhóm	Số lượng động vật	Thời gian không cử động (giây)
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	3,65±0,77
Paroxetin	10	2,38±0,69**
Liều dùng cao của phương án 2	10	2,93±0,74*
Liều dùng trung bình của phương án 2	10	2,31±0,82**
Liều dùng thấp của phương án 2	10	3,21±0,71

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Theo thử nghiệm trên, có thể thấy rằng, liều dùng trung bình của phương án 2 theo sáng chế và paroxetin, tất cả đều làm giảm thân nhiệt của chuột do reserpin gây ra, và nó có nghĩa là chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm có liên quan và ảnh hưởng đến lượng chất truyền tín hiệu noron thần kinh monoamin. Vì vậy, có thể suy ra phương án 2 theo sáng chế có chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm.

Thử nghiệm 6: Ảnh hưởng của phương án 3 trong thử nghiệm chuyển trạng thái sáng-tối của chuột

- 6.1 Động vật thử nghiệm: Những con chuột ICR, con đực, nặng khoảng 22,0±2 g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp.
- 6.2 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 3 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp và paroxetin (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.)
- 6.3 Dụng cụ thử nghiệm: Đồng hồ bấm giờ
- 6.4 Dạng liều dùng: 1. Liều dùng cao của phương án 3 (80 mg/kg/ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 3 (40 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng thấp của phương án 3 (20 mg/kg/ngày).

6.5 Phương pháp và kết quả thử nghiệm:

6.5.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột được chia thành nhóm một cách ngẫu nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của phương án 3 (80 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 3 (40 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 3. Liều dùng thấp của phương án 3 (20 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 4. Paroxetin (3 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (cho mỗi miệng chuột). 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng, tiến hành thử nghiệm treo đuôi chuột.

6.5.2. Phương pháp thử nghiệm: Đuôi chuột (đoạn 1 cm tới phần cuối cùng của đuôi) được buộc vào một mảnh gỗ cao hơn bề mặt sàn khoảng 5 cm và treo khoảng 6 phút. Thời gian chuột không cử động trong 5 phút cuối cùng được ghi lại.

6.5.3. Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5

6.5.4 Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 6.

Bảng 6: Ảnh hưởng của phương án 3 đến thời gian không cử động của chuột

Nhóm	Số lượng động vật	Thời gian không cử động (giây)
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	113,22±21,18
Paroxetin	10	75,33±22,91*
Liều dùng cao của phương án 3	10	70,37±28,14*
Liều dùng trung bình của phương án 3	10	76,26±23,81*
Liều dùng thấp của phương án 3	10	90,40±31,32

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Theo thử nghiệm trên, có thể thấy rằng liều dùng cao và trung bình của phương án 3 theo sáng chế và paroxetin, tất cả đều làm giảm thời gian không chuyển động sau khi đuôi chuột bị treo, điều này khác biệt đáng kể so với

nhóm sinh lý (đối chứng). Vì vậy, có thể suy ra phương án 3 theo sáng chế có chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm.

Thử nghiệm 7: Ảnh hưởng của phương án 3 trong thử nghiệm làm giảm thân nhiệt của chuột do reserpin gây ra

- 7.1 Động vật thử nghiệm: Những con chuột ICR, con đực, nặng khoảng $22,0 \pm 2$ g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp.
- 7.2 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 3 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp, paroxetin (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.), và reserpin là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm BangMin Quảng Đông (Guangdong BangMin Pharmaceutical Co., Ltd.)
- 7.3 Dụng cụ thử nghiệm: Nhiệt kế điện tử (loại: GM222) và đồng hồ bấm giờ.
- 7.4 Dạng liều dùng: 1. Liều dùng cao của phương án 3 (80 mg/kg/ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 3 (40 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng thấp của phương án 3 (20 mg/kg/ngày).
- 7.5 Phương pháp và kết quả thử nghiệm:
 - 7.5.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột được chia thành nhóm một cách ngẫu nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của phương án 3 (80 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 3 (40 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 3. Liều dùng thấp của phương án 3 (20 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 4. Paroxetin (3 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (cho mỗi miệng chuột).
 - 7.5.2 Phương pháp thử nghiệm: 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng vào ngày thứ 8, tiến hành đo nhiệt độ hậu môn của chuột. Sau đó tiêm vào bụng chuột lượng 2 mg reserpin trên mỗi kg cân nặng của chuột. Sau 4 giờ tiêm reserpin, tiến hành đo nhiệt độ hậu môn chuột 1 lần nữa. Độ sâu và thời gian đưa nhiệt kế vào hậu môn chuột mỗi lần đo nhiệt độ là như nhau.
 - 7.5.3 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5
 - 7.5.4 Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 7.

Bảng 7: Ảnh hưởng của phương án 3 đến việc giảm thân nhiệt của chuột do resetpin gây ra

Nhóm	Số lượng động vật	Nhiệt độ giảm (°C)
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	3,65±0,77
Paroxetin	10	2,38±0,69**
Liều dùng cao của phương án 3	10	2,18±0,92**
Liều dùng trung bình của phương án 3	10	2,36±0,83**
Liều dùng thấp của phương án 3	10	2,97±0,67*

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Theo thử nghiệm trên, có thể thấy rằng, khi dùng liều cao, trung bình và thấp của phương án 3 theo sáng chế và paroxetin, tất cả đều làm giảm thân nhiệt của chuột do resetpin gây ra, và nó có nghĩa là chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm có liên quan và ảnh hưởng tới lượng chất truyền tín hiệu noron thần kinh monoamin. Vì vậy, có thể suy ra phương án 3 của sáng chế có chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm.

Thử nghiệm 8: Ảnh hưởng của phương án 4 trong thử nghiệm thương tổn khứu giác của chuột

8.1 Động vật thử nghiệm:

Mẫu nghiên cứu thương tổn khứu giác: Con chuột đực Health Wistar, đời thứ hai, nặng khoảng 330±20 g được mua từ Công ty TNHH Công nghệ động vật thử nghiệm Vital River Bắc Kinh (Beijing Vital River Experimental Animal Technology Ltd. Co.) (Số chứng nhận chất lượng: SCXK (JING) 2002-2003).

8.2 Thuốc thử và dược phẩm: Dược phẩm theo phương án 4 được Công ty Beijing Wonner Biotech Ltd. Co. (Lô 060313) cung cấp và paroxetin do Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.) (Lô: 04050011) sản xuất. Dược phẩm trên được pha chế với 0,5% natri xenluloza metyl carboxyl (CMC-Na) để cho chuột ăn. Natri benzyl penixillin để tiêm là sản phẩm của Công ty TNHH Huasheng Dược phẩm Bắc Trung Hoa

(North China Pharmaceutical Huasheng Co. Ltd.) (Lô: S0511204), và norepinephrin (NE) và 5-hydroxytryptamin (5-HT) chuẩn là sản phẩm của Công ty Sigma. Các loại thuốc thử khác đều có bán trên thị trường.

- 8.3 Dụng cụ: Hộp hoạt động môi trường mở (không tách biệt với thế giới xung quanh) có thể tự tay làm, hộp đi xuyên qua được, dụng cụ tiếp xúc chuột, máy sắc ký dùng cho thể lỏng mức độ thể hiện cao (HPLC) và máy kế toán không bị ảnh hưởng bởi bức xạ gama (γ) có 10 ống (kiểu: DFM-96).
- 8.4 Phương pháp thử nghiệm:
- 8.4.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột được chia thành 6 nhóm một cách ngẫu nhiên. 1. Nhóm liệu pháp sai; 2. Nhóm mẫu (đối chứng); 3. Liều dùng cao của phương án 4 (60 mg/kg/ngày); 4. Liều dùng trung bình của phương án 4 (30 mg/kg/ngày); 5. Liều dùng thấp của phương án 4 (15 mg/kg/ngày); và 6. Paroxetin (2 mg/kg/ngày). Thuốc thử và thuốc đã định được pha với 0,5% CMC-Na để cho chuột ăn mỗi ngày 1 lần.
- 8.4.2 Phương pháp chuẩn bị mô hình: Chuột bị gây mê bằng chloral hydrat. Sau khi gây mê, động mạch giữa dây thần kinh ở thóp chuột bị bị rạch từ 1 cm ở phần phía trước thóp trước tới 1 cm ở phần phía sau thóp trước và xương sọ bị lộ ra. Nắp đậy của hộp sọ có đường kính 2 mm đã mở cách thóp trước 8 mm về phía trước và trong khoảng 2 mm ở hai phía của động mạch giữa dây thần kinh. Một mỏ hàn điện được chế tạo đặc biệt chèn thẳng đứng vào hộp sọ khoảng 2 giây và bộ phận khurú giác bị phá huỷ. Gạc cầm máu được chèn vào trong nắp đậy hộp sọ và lớp da được khâu lại. Sau liệu pháp này, 40.000 đơn vị natri benzyl penixillin trên 1 kg cân nặng cơ thể chuột được tiêm vào trong bụng chuột 4 ngày một lần và thuốc thử tiến hành liên tục trong 24 ngày.
- 8.5 Chỉ số theo dõi:
- 8.5.1 Thử nghiệm hoạt động môi trường mở: Hộp hoạt động môi trường mở (1 m $\times$ 1 m $\times$ 0,4 m) được dựng bằng gỗ dán màu xanh da trời sáng và khung hộp kim nhôm. Đáy hộp được chia làm 25 ô (20 cm x 20 cm mỗi ô), chủ yếu là các ô ngoại biên (16 ô) và những ô khác là ô trung tâm (9 ô). Chuột được đặt ở giữa của các ô trung tâm và số ô đi qua của chuột (số ô đi qua để tới ô bên cạnh với hơn 3 chân) và số ô đứng của chuột (hai chân trước rời mặt đất hơn 1 cm) được tính toán/quan sát trong khoảng 3 phút.
- 8.5.2 Thử nghiệm tránh thụ động (kiểm tra bước đi qua): Hộp đi qua được định hình bằng phòng sáng và phòng tối và một rãnh nối giữa hai phòng để chuột có thể đi vào và đi ra. Lưới sắt của phòng tối được nối với thiết bị

điện giật và một tấm mỏng di chuyển được đặt ở giữa đó. Nếu chuột đi vào phòng tối, chuột sẽ bị điện giật. Trong suốt quá trình tập dượt, chuột được đặt ở phòng sáng và sau đó mang trở lại hang để cho thích nghi khoảng 5 phút. Tiếp đó, tấm mỏng được dỡ đi và chuột được quan sát trong khoảng 5 phút nữa. Thời gian chuột đi vào lần đầu tiên được ghi lại (giai đoạn vẫn còn ảnh hưởng của điện giật) và thời gian từ đó chuột tiếp nhận kiến thức. Sau 24 giờ, thử nghiệm được lặp lại. Tấm mỏng được bỏ ra và phòng tối được tích điện khoảng 5 phút để quan sát thời gian chuột đi vào phòng tối lần đầu tiên. Thời gian từ đó chuột ghi nhớ.

8.6 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5

8.7 Kết quả thử nghiệm:

8.7.1 Kết quả của thử nghiệm hoạt động môi trường mở: Theo dõi bảng 8.

Bảng 8. Kết quả của mô hình thương tổn khứu giác chuột trong thử nghiệm hoạt động môi trường mở.

Nhóm	Số lượng động vật	Chuyển động chiều ngang (ô đi qua)	Chuyển động chiều thẳng đứng (ô đứng)
Liều dùng cao của phương án 4	11	49,18±27,68**	10,91±6,91**
Liều dùng trung bình của phương án 4	11	54,55±23,01	13,45±5,72*
Liều dùng thấp của phương án 4	11	61,82±21,43	15,18±4,47
Paroxetin	11	55,36±25,96*	14,36±5,55
Nhóm mẫu (đối chứng)	11	79,55±24,33	19,09±8,53
Nhóm liệu pháp sai	11	45,36±26,84**	10,45±6,19**

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 and **P < 0,01.

8.7.2 Kết quả của thử nghiệm đi xuyên qua: Theo dõi bảng 9.

Bảng 9. Kết quả của mô hình thương tổn khứu giác chuột trong thử nghiệm đi xuyên qua.

Nhóm	Số lượng động vật	Giai đoạn vẫn còn ảnh hưởng của điện giật ngày đầu tiên (giây)	Giai đoạn vẫn còn ảnh hưởng của điện giật ngày thứ 2 (giây)
Liều dùng cao của phương án 4	11	187,00±87,59*	289,82±28,59*
Liều dùng trung bình của phương án 4	11	191,71±72,95*	288,82±37,09*
Liều dùng thấp của phương án 4	11	152,44±76,81	271,18±38,61
Paroxetin	11	181,87±90,54*	265,00±65,39
Nhóm mẫu (đối chứng)	11	111,21±82,93	236,88±74,17
Nhóm liệu pháp sai	11	211,46±82,10**	292,82±14,37*

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Kết quả của thử nghiệm 8 chỉ ra rằng liều dùng cao của phương án 4 có thể cải thiện rõ ràng việc làm tăng sự di chuyển theo chiều ngang và thẳng đứng của chuột gây ra bởi thương tổn khứu giác và liều dùng trung bình của phương án 4 cũng có cải thiện rõ ràng chức năng làm tăng việc di chuyển theo chiều thẳng đứng gây ra bởi mô hình thương tổn khứu giác chuột. Thêm nữa, liều dùng cao và trung bình của phương án 4 có hiệu quả cải thiện rõ ràng việc giảm chức năng tiếp nhận kiến thức và ghi nhớ gây ra bởi thương tổn khứu giác.

Thử nghiệm 9: Ảnh hưởng của phương án 4 trong thử nghiệm kích thích không đoán trước trong thời gian dài của chuột.

- 9.1 Động vật thử nghiệm: Mô hình kích thích không đoán trước trong thời gian dài: con chuột đực Health Wistar, đang trưởng thành, nặng khoảng 240 đến 270 g được mua từ Công ty TNHH Công nghệ động vật thử nghiệm Vital River Bắc Kinh (Beijing Vital River Experimental Animal Technology Ltd. Co.) (Số chứng nhận chất lượng: SCXK (JING) 2002-2003).
- 9.2 Thuốc thử và dược phẩm: Dược phẩm theo phương án 4 được Công ty Beijing Wonner Biotech Ltd. Co. (Lô 060313) cung cấp và paroxetin được sản xuất bởi Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.) (Lô:

04050011). Dược phẩm trên được pha chế với 0,5% natri xenluloza metyl carboxyl (CMC-Na) để cho chuột ăn. Natri benzyl penixillin để tiêm là sản phẩm của Công ty TNHH Huasheng Dược phẩm Bắc Trung Hoa (North China Pharmaceutical Huasheng Co. Ltd.) (Lô: S0511204), và norepinephrin (NE) và 5-hydrotryptamin (5-HT) chuẩn là sản phẩm của Công ty Sigma. Các thuốc thử khác đều có trên thị trường.

9.3 Dụng cụ: Hộp hoạt động môi trường mở tự làm, hộp đi xuyên qua, dụng cụ tiếp xúc chuột, sắc ký chất lỏng mức độ thể hiện cao (HPLC) và máy kế toán không bị ảnh hưởng bởi bức xạ gama (γ có 10 ống (kiểu: DFM-96).

9.4 Phương pháp thử nghiệm:

9.4.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột được chia thành 6 nhóm một cách ngẫu nhiên. 1. Nhóm liệu pháp sai; 2. Nhóm mẫu (đối chứng); 3. Liều dùng cao của phương án 4 (60 mg/kg/ngày); 4. Liều dùng trung bình của phương án 4 (30 mg/kg/ngày); 5. Liều dùng thấp của phương án 4 (15 mg/kg/ngày); và 6. Paroxetin (2 mg/kg/ngày). Thuốc thử và thuốc đã định được pha chế với 0,5% CMC-Na để cho chuột ăn 1 lần mỗi ngày.

9.4.2 Phương pháp chuẩn bị mô hình: Mô hình kích thích không đoán trước trong thời gian dài: Chuột trong nhóm đối chứng cho ăn và uống bình thường và không có kích thích nào. Trong 5 nhóm còn lại, mỗi con chuột được cho ăn ở một cũi và chúng bị kích thích/gây lo âu không đoán trước trong vòng 24 ngày, bao gồm 3 lần ăn kiêng mỗi lần 24 giờ; 3 lần không uống mỗi lần 24 giờ; 3 lần sống trong nền ướt mỗi lần 24 giờ (200ml nước cho vào mỗi cũi chuột), 3 lần chiếu sáng qua đêm, 3 lần cho bơi ở nhiệt độ 4°C trong 5 phút, 3 lần chịu nóng ở nhiệt độ 45°C trong lò trong 5 phút, 3 lần bấm đuôi chuột mỗi lần 1 phút, và 3 lần rung ngang với tốc độ cao mỗi lần 30 phút. Một kích thích được thực hiện ngẫu nhiên mỗi ngày và tổng là 24 ngày. Mỗi kích thích không thể thực hiện liên tục. Dược phẩm cho vào dạ dày chuột mỗi ngày 1 lần và tổng là 24 ngày.

9.5 Chỉ số quan sát:

9.5.1 Thử nghiệm hoạt động môi trường mở: Tương tự như trên.

9.5.2 Thử nghiệm tránh thụ động: Tương tự như trên.

9.5.3 Chuột bơi bằng thử nghiệm bắt buộc: Thử nghiệm này tiến hành trong 2 ngày sau lần dùng thuốc cuối cùng. Vào ngày đầu tiên, thử nghiệm được tiến hành trước 15 phút. Nhiệt độ của nước trong thùng thủy tinh là 25°C và độ sâu của nước là 25 cm. Sau 24 giờ, thử nghiệm chính thức được tiến

hành. Sau 1 giờ dùng thuốc, chuột được đặt trong thùng và thời gian không cử động của chuột trong 5 phút cuối cùng được ghi lại.

9.5.4 Đo trọng lượng cơ thể chuột: Giá trị tăng thêm trước và sau mỗi thử nghiệm được so sánh.

9.5.5 Kiểm tra dung tích đường mía uống vào: Dung tích đường mía vào cơ thể chuột được so sánh. Chuột trong mỗi nhóm uống đường mía 1% trong 1 giờ. Dung tích uống được xác định trước khi kích thích và 3 tuần sau kích thích. 14 giờ sau khi chuột trong chế độ ăn uống kiêng, đường mía 1% được đặt vào trong cũi thay thế nước uống thông thường. Sự khác nhau giữa khối lượng chai trước và sau khi chuột uống đường mía khoảng 1 giờ được đo và ghi lại và dung tích đường mía mỗi lần cũng được tính toán. Sự khác nhau của dung tích đường mía vào trong cơ thể mỗi lần cũng được so sánh.

9.5.6 Kiểm tra điện hoá-HPLC: Lượng norepinephrin và 5-hydrotryptamin trong vỏ não chuột được đo.

9.6 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5

9.7 Kết quả thử nghiệm:

9.7.1 Kiểm tra lượng đường mía uống vào: Theo dõi bảng 10,

Bảng 10: Lượng đường mía vào cơ thể chuột trong mô hình kích thích không đoán trước trong thời gian dài.

Nhóm	Số lượng động vật	Lượng đường mía vào trong cơ thể (g)
Liều dùng cao của phương án 4	13	22,55±5,03
Liều dùng trung bình của phương án 4	13	26,53±4,99**
Liều dùng thấp của phương án 4	13	26,97±6,93**
Paroxetin	13	26,29±4,87**
Nhóm mẫu (đối chứng)	13	19,42±4,25
Nhóm liệu pháp sai	13	29,41±3,83**

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

9.7.2 Kết quả làm tăng cân nặng cơ thể chuột. Theo dõi bảng 11:

Bảng 11: Sự tăng cân nặng cơ thể chuột trong mô hình kích thích không đoán trước trong thời gian dài

Nhóm	Số lượng động vật	Thời gian không cử động (giây)
Liều dùng cao của phương án 4	13	86,08±10,84
Liều dùng trung bình của phương án 4	13	96,00±11,05**
Liều dùng thấp của phương án 4	13	95,15±15,46**
Paroxetin	13	96,85±9,30**
Nhóm mẫu (đối chứng)	13	84,92±12,61
Nhóm liệu pháp sai	13	120,54±10,60**

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

9.7.3 Thời gian không cử động của chuột trong thử nghiệm chuột bị ép buộc bơi. Theo dõi bảng 12.

Bảng 12: Thời gian không cử động trong mô hình kích thích không đoán trước trong thời gian dài của thử nghiệm chuột bị ép buộc bơi.

Nhóm	Số lượng động vật	Thời gian không cử động (giây)
Liều dùng cao của phương án 4	13	23,28±18,05**
Liều dùng trung bình của phương án 4	13	18,95±12,55**
Liều dùng thấp của phương án 4	13	25,20±13,60*
Paroxetin	13	31,38±19,59
Nhóm mẫu (đối chứng)	13	39,95±17,46
Nhóm liệu pháp sai	13	120,54±10,60**

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

9.7.4 Kết quả của thử nghiệm hoạt động môi trường mở: Theo dõi bảng 13.

Bảng 13: Kết quả của mô hình kích thích không đoán trước trong thời gian dài trong thử nghiệm hoạt động môi trường mở.

Nhóm	Số	Chuyển động chiều	Chuyển động
------	----	-------------------	-------------

	lượng động vật	ngang (ô đi qua)	chiều thẳng đứng (ô đứng)
Liều dùng cao của phương án 4	14	58,31±15,35*	16,54±4,24**
Liều dùng trung bình của phương án 4	14	49,15±14,26	13,54±4,48
Liều dùng thấp của phương án 4	14	52,62±21,83	16,15±7,32*
Paroxetin	14	61,85±21,68**	14,69±4,2
Nhóm mẫu (đối chứng)	14	39,54±16,31	11,46±3,26
Nhóm liệu pháp sai	14	64,00±11,97**	16,85±3,18**

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

9.7.5 Kết quả của thử nghiệm tránh thụ động của chuột: Theo dõi bảng 14.

Bảng 14: Kết quả của mô hình kích thích không đoán trước trong thời gian dài trong thử nghiệm tránh thụ động của chuột.

Nhóm	Số lượng động vật	Thời kỳ ảnh hưởng kích thích ngày đầu tiên (giờ)	Thời kỳ ảnh hưởng kích thích ngày thứ 2 (giờ)
Liều dùng cao của phương án 4	13	65,43±31,44	259,22±56,51
Liều dùng trung bình của phương án 4	13	58,18±18,0	212,76±77,27
Liều dùng thấp của phương án 4	13	75,98±32,22*	204,85±94,99
Paroxetin	13	75,75±46,52*	257,46±66,92
Nhóm mẫu (đối chứng)	13	50,01±15,7	189,25±111,99
Nhóm liệu pháp sai	13	80,00±39,17*	263,38±59,68

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

9.7.6 Kết quả của lượng NE và 5-HT trong vỏ não chuột: Theo dõi bảng 15:

Bảng 15: Kết quả của lượng NE và 5-HT trong vỏ não chuột trong mô hình kích thích không đoán trước trong thời gian dài.

	Số lượng động vật	5-HT (nmol/L rút từ mạch não)	NE (nmol/L rút từ mạch não)
Liều dùng cao của phương án 4	12	230,4157±47,78554*	269,5409±58,86389**
Liều dùng trung bình của phương án 4	12	303,4418±70,31711**	227,2976±28,95101**
Liều dùng thấp của phương án 4	12	332,7343±76,25168**	201,8688±29,80775**
Paroxetin	12	227,0637±46,53838*	220,5419±38,31681**
Nhóm mẫu (đối chứng)	12	179,3866±20,49374	57,6671±77,66958
Nhóm liệu pháp sai	12	228,1478±28,40397*	132,8598±20,84756**

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Kết quả của thử nghiệm 9 chỉ ra như sau: Liều dùng trung bình và thấp của phương án 4 có thể cải thiện một cách rõ ràng việc lượng đường máu uống vào giảm đi và việc cân nặng cơ thể giảm đi trong kích thích/căng thẳng không đoán trước trong thời gian dài. Liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 4 tất cả đều làm tăng một cách rõ ràng thời gian không cử động trong thử nghiệm ép buộc chuột bơi. Liều dùng cao của phương án 4 có thể cải thiện một cách rõ ràng việc chuyển động theo chiều ngang và chiều thẳng đứng giảm đi do kích thích/căng thẳng không đoán trước trong thời gian dài gây ra. Liều dùng thấp của phương án 4 cũng có chức năng cải thiện rõ rệt về việc chuyển động theo chiều thẳng đứng của chuột giảm đi do kích thích/căng thẳng không đoán trước trong thời gian dài. Liều dùng thấp của phương án 4 có chức năng cải thiện sự suy giảm khả năng thu nhận kiến thức của chuột do kích thích/căng thẳng không đoán trước trong thời gian dài gây ra. Liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 4, tất cả đều làm tăng lượng NE và 5-HT trong vỏ não chuột.

Thử nghiệm 10: Ảnh hưởng của phương án 4 trong thử nghiệm chuyển trạng thái sáng-tối của chuột

10.1 Động vật thử nghiệm: Những con chuột Kunming (KM), con đực, nặng khoảng 24 đến 26 g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp.

- 10.2 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 4 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp, và diazepam là sản phẩm của Công ty TNHH Amino Axit Jinhuei Thiên Tân (Tianjin Jinhuei Amino Acid Co. Ltd.)
- 10.3 Dụng cụ thử nghiệm: Phòng chuyển trạng thái sáng-tối tự làm.
- 10.4 Dạng liều dùng: 1. Liều dùng cao của phương án 4 (80 mg/kg/ngày); 2. Liều dùng trung bình của phương án 4 (40 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng thấp của phương án 4 (20 mg/kg/ngày).
- 10.5 Phương pháp và kết quả thử nghiệm:
- 10.5.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột được chia thành 5 nhóm một cách ngẫu nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của phương án 4 (80 mg/kg); 2. Liều dùng trung bình của phương án 4 (40 mg/kg); 3. Liều dùng thấp của phương án 4 (20 mg/kg); 4. Diazepam (2,5 mg/kg); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (nước muối thông thường, NS). Thuốc được cho vào dạ dày chuột 1 lần mỗi ngày và chuột được cho dùng thuốc 7 ngày liên tiếp. Trong quá trình tiến hành, chuột được ăn và uống một cách tự do và thử nghiệm được bắt đầu 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng vào ngày thứ 8.
- 10.5.2 Phương pháp thử nghiệm: Thử nghiệm sự chuyển trạng thái sáng-tối của chuột: Phòng tối bằng 1/3 phòng chuyển tiếp sáng-tối (44 cm × 21 cm × 21 cm) và phía trên được che đậy. Phòng sáng cũng bằng 1/3 phòng chuyển tiếp sáng-tối và được chiếu sáng rực rỡ. Một cửa giữa hai phòng được mở để cho chuột di chuyển qua lại. Chuột được đặt ở giữa phòng sáng khi thử nghiệm bắt đầu và lưng của chuột đối diện với phòng tối. Số lần mà chuột đi vào phòng tối và trở lại phòng sáng trong vòng 10 phút được xác định, và số lần đó là chỉ số để đánh giá chức năng chống lo âu của thuốc.
- 10.5.3 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi 1 chiều (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS.
- 10.5.4 Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 16.
- Bảng 16: Ảnh hưởng của phương án 4 đến số lần trong thử nghiệm chuyển trạng thái sáng-tối của chuột

Nhóm	Số lượng	Số lần di chuyển từ phòng tối
------	----------	-------------------------------

	động vật	sang phòng sáng
Liều dùng cao của phương án 4	10	11,6±4,53*
Liều dùng trung bình của phương án 4	10	13,9±3,76**
Liều dùng thấp của phương án 4	10	13,4±4,12**
Điazepam	10	11,7±4,47*
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	6,8±3,85

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05, và **P < 0,01.

10.6 Mô tả: Thử nghiệm về việc chuyển trạng thái sáng-tối của chuột thông qua thử nghiệm này được xây dựng trên cơ sở là chuột bẩm sinh vốn ghét ánh sáng rực rỡ và thói quen thích khám phá môi trường mới. Thuốc điều trị diazepam để điều trị lo âu ở con người và phương án 4 có tương quan tuyệt vời trong cải thiện chức năng làm tăng thói quen thích khám phá môi trường mới ở mẫu chuột này. Theo thử nghiệm trên, có thể thấy rằng liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 4 theo sáng chế này và diazepam, tất cả đều làm tăng một cách đáng kể số lần mà chuột di chuyển từ phòng tối sang phòng sáng, và có ý nghĩa thống kê khi so sánh với dung dịch nước muối sinh lý. Kết quả của thử nghiệm đã chứng minh phương án 4 có chức năng chống lo âu.

10.7 Kết luận: Theo kết quả thử nghiệm trên, liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 4 theo sáng chế này và diazepam tất cả đều làm tăng một cách đáng kể số lần mà chuột di chuyển từ phòng tối sang phòng sáng. Kết quả cho thấy phương án 4 có khả năng chống lo âu.

Thử nghiệm 11: Ảnh hưởng của phương án 5 trong thử nghiệm treo đuôi chuột

11.1 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 5 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp (sản phẩm tán dương hoa tiêu) và paroxetine (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.) (Lô: 05070384). Dược phẩm trên được pha chế cùng với dung dịch muối sinh lý để cho vào bụng.

11.2 Động vật thử nghiệm: Những con chuột ICR, con đực, nặng khoảng

20,0±1 g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp. Số giấy chứng nhận chất lượng của chuột là SCXK (JING) 2006-2008.

11.3 Dụng cụ thử nghiệm: Đồng hồ bấm giờ.

11.4 Phương pháp: 70 con chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 nhóm: nhóm dung dịch nước muối thông thường, nhóm paroxetin (3 mg/kg/ngày), nhóm liều dùng cao của phương án 5 (80 mg/kg/ngày); nhóm liều dùng trung bình của phương án 5 (40 mg/kg/ngày); và nhóm liều dùng thấp của phương án 5 (20 mg/kg/ngày). Dược phẩm được cho vào dạ dày chuột 1 lần mỗi ngày. 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng vào ngày thứ 8, đuôi chuột (đoạn 1 cm tới phần cuối cùng của đuôi) được buộc vào giá đỡ nằm ngang trong 1 cái hộp mở nắp và chuột ở trạng thái bị treo ngược. Đầu chuột cách đáy hộp khoảng 10 cm và chuột bị treo khoảng 6 phút. Thời gian chuột không cử động trong 5 phút cuối cùng được ghi lại.

11.5. Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) một chiều bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5.

11.6. Kết quả thử nghiệm: Kết quả của thời gian không cử động của thử nghiệm treo đuôi chuột. Theo dõi bảng 17.

Bảng 17: Ảnh hưởng của phương án 5 đến thời gian không cử động của chuột cộng dồn.

Nhóm	Số lượng động vật	Liều (mg/kg/ ngày)	Thời gian không cử động (giây)
Liều dùng cao của phương án 5	14	80	64,75±42,22**
Liều dùng trung bình của phương án 5	14	40	55,41±33,83**
Liều dùng thấp của phương án 5	14	20	62,75±26,61**
Paroxetin	14	3	53,27±20,02**
Nhóm dung dịch nước muối thông thường	14		113,59±36,11

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05, và **P < 0,01.

Kết luận: Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 5 và dược phẩm chống trầm cảm có hiệu quả điều trị, paroxetin, tất cả đều làm giảm rõ rệt thời gian không cử động cộng dồn sau khi đuôi chuột bị treo. Nó thể hiện rằng phương án 5 của sáng chế này có khả năng chống trầm cảm trên thử nghiệm.

Thử nghiệm 12: Ảnh hưởng của phương án 5 trong thử nghiệm ép buộc chuột bơi.

12.1 Dược phẩm thử nghiệm: Dược phẩm theo phương án 5 do Công ty TNHH Kỹ thuật sinh học Wonner Bắc Kinh (Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co.) cung cấp (sản phẩm tán dương hoa tiêu) và paroxetin (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.) (Lô: 05070384). Thuốc đề cập trên được pha chế cùng với dung dịch muối sinh lý để cho vào bụng.

12.2 Động vật thử nghiệm: Những con chuột ICR, con đực, nặng khoảng $20,0 \pm 1$ g, loại đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Thủ đô Bắc Kinh cung cấp. Số chứng nhận chất lượng của chuột là SCXK (JING) 2006-2008.

12.3 Dụng cụ thử nghiệm: Đồng hồ bấm giờ.

12.4. Phương pháp thử nghiệm: Chuột chia nhóm và cho dùng thuốc giống với thử nghiệm treo đuôi chuột. Chuột để kiểm tra trong mỗi nhóm được bắt đầu thử nghiệm sau 1 giờ dùng thuốc. Chuột được huấn luyện để bơi 15 phút trước thử nghiệm và vào ngày thứ 8. Sau 24 giờ thử nghiệm được tiến hành. Chuột được cho vào trong thùng thủy tinh đựng nước 25°C , nước có độ sâu 10 cm và đường kính thùng là 14 cm. Thời gian cộng dồn chuột không cử động trong 5 phút cuối được ghi lại.

12.5. Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự biến đổi (ANOVA) một chiều bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5

12.6 Kết quả thử nghiệm: Kết quả của việc ép buộc chuột bơi: Theo dõi bảng 18.

Bảng 18: Ảnh hưởng của phương án 5 trong thử nghiệm ép buộc chuột bơi.

Nhóm	Số lượng	Liều (mg/kg/n	Thời gian không cử động (giây)
------	----------	---------------	--------------------------------

	động vật	gày)	
Liều dùng cao của phương án 5	14	80	88,35±51,64*
Liều dùng trung bình của phương án 5	14	40	65,87±38,96**
Liều dùng thấp của phương án 5	14	20	88,12±38,57*
Paroxetin	14	3	57,80±38,07**
Nhóm dung dịch nước muối thông thường	14		132,47±40,64

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Kết quả thử nghiệm cho thấy liều dùng cao, trung bình và thấp của phương án 5 và dược phẩm chống trầm cảm điều trị hiệu quả, paroxetin, tất cả đều làm giảm rõ rệt thời gian cộng dồn không cử động của thử nghiệm ép buộc chuột bơi. Nó thể hiện rằng phương án 5 theo sáng chế có khả năng chống trầm cảm trên thử nghiệm.

Thử nghiệm 13:

9 kg nhân sâm đã tán nhỏ và 7 kg cam thảo đã tán nhỏ được chiết ra từ phương án 1 và phương án 4 thu lại, làm khô, tán thành bột và trộn đều vào nhau để thu được hỗn hợp chứa lượng nhỏ của ginsenosit Rg1 và Rb1 và axit glycyrrhizic và cAMP từ tảo ta. Thử nghiệm đối chứng về ảnh hưởng trong thử nghiệm treo đuôi chuột được tiến hành.

13.1 Động vật thử nghiệm: Chuột đực ICR, nặng 22,0±2 g, đang trưởng thành, do Phòng Khoa học động vật thử nghiệm, Đại học Y khoa Bắc Kinh cung cấp.

13.2 Dược phẩm thử nghiệm: Hỗn hợp đã nghiền nhỏ trên do Công ty Beijing Wonner Biotech. Ltd. Co. cung cấp, và paroxetin (Paxil) là sản phẩm của Công ty TNHH Dược phẩm Smith Kline Thiên Tân Zhong Mei (Zhong Mei Tianjin Smith Kline pharmaceuticals Co. Ltd.)

13.3 Dụng cụ thử nghiệm: Đồng hồ bấm giây

13.4 Dạng liều dùng: 1. Liều dùng cao của hỗn hợp (160 mg/kg/ngày); 2. Liều dùng trung bình của hỗn hợp (80 mg/kg/ngày); và 3. Liều dùng thấp của hỗn hợp (40 mg/kg/ngày).

13.5 Phương pháp và kết quả thử nghiệm:

13.5.1 Chia nhóm và sử dụng thuốc: Chuột đực chia thành nhóm một cách ngẫu

nhiên và 10 con chuột trong mỗi nhóm. 1. Liều dùng cao của hỗn hợp vụn (160 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 2. Liều dùng trung bình của hỗn hợp vụn (80 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 3. Liều dùng thấp của hỗn hợp vụn (40 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); 4. Paroxetin (3 mg/kg, cho mỗi miệng chuột, dùng trong 7 ngày); và 5. Dung dịch nước muối sinh lý (cho mỗi miệng chuột). 1 giờ sau lần sử dụng thuốc cuối cùng, thử nghiệm treo đuôi chuột được tiến hành.

13.5.2 Phương pháp thử nghiệm: Đuôi chuột (đoạn 1 cm cách đầu cuối cùng của đuôi) được buộc vào một mảnh gỗ cao hơn nền 5 cm và treo trong 6 phút. Thời gian chuột không cử động trong 5 phút cuối cùng được ghi lại.

13.5.3 Tính toán thống kê: Dữ liệu thử nghiệm được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, và kết quả thử nghiệm được tính toán như phân tích sự dao động (ANOVA) bằng phần mềm thống kê SPSS 11.5.

13.5.4 Kết quả thử nghiệm: Theo dõi bảng 19.

Bảng 19: Ảnh hưởng của hỗn hợp đến thời gian chuột không cử động.

Nhóm	Số lượng động vật	Thời gian không cử động (giây)
Dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng)	10	82,03±43,01
Paroxetin	10	38,37±20,76*
Liều dùng cao của hỗn hợp	10	76,91±31,09
Liều dùng trung bình của hỗn hợp	10	78,89±48,18
Liều dùng thấp của hỗn hợp	10	81,31±58,68

So sánh với nhóm đối chứng: *P < 0,05 và **P < 0,01.

Kết luận: Theo thử nghiệm trên, có thể thấy rằng dù liều dùng của hỗn hợp vụn là cao, trung bình hay thấp đều có thể làm rút ngắn thời gian không cử động của chuột bị treo đuôi, 3 nhóm này không có ý nghĩa khi so sánh với dung dịch nước muối sinh lý (đối chứng). Vì vậy, có thể suy ra hỗn hợp không có chức năng chống trầm cảm trên thử nghiệm.

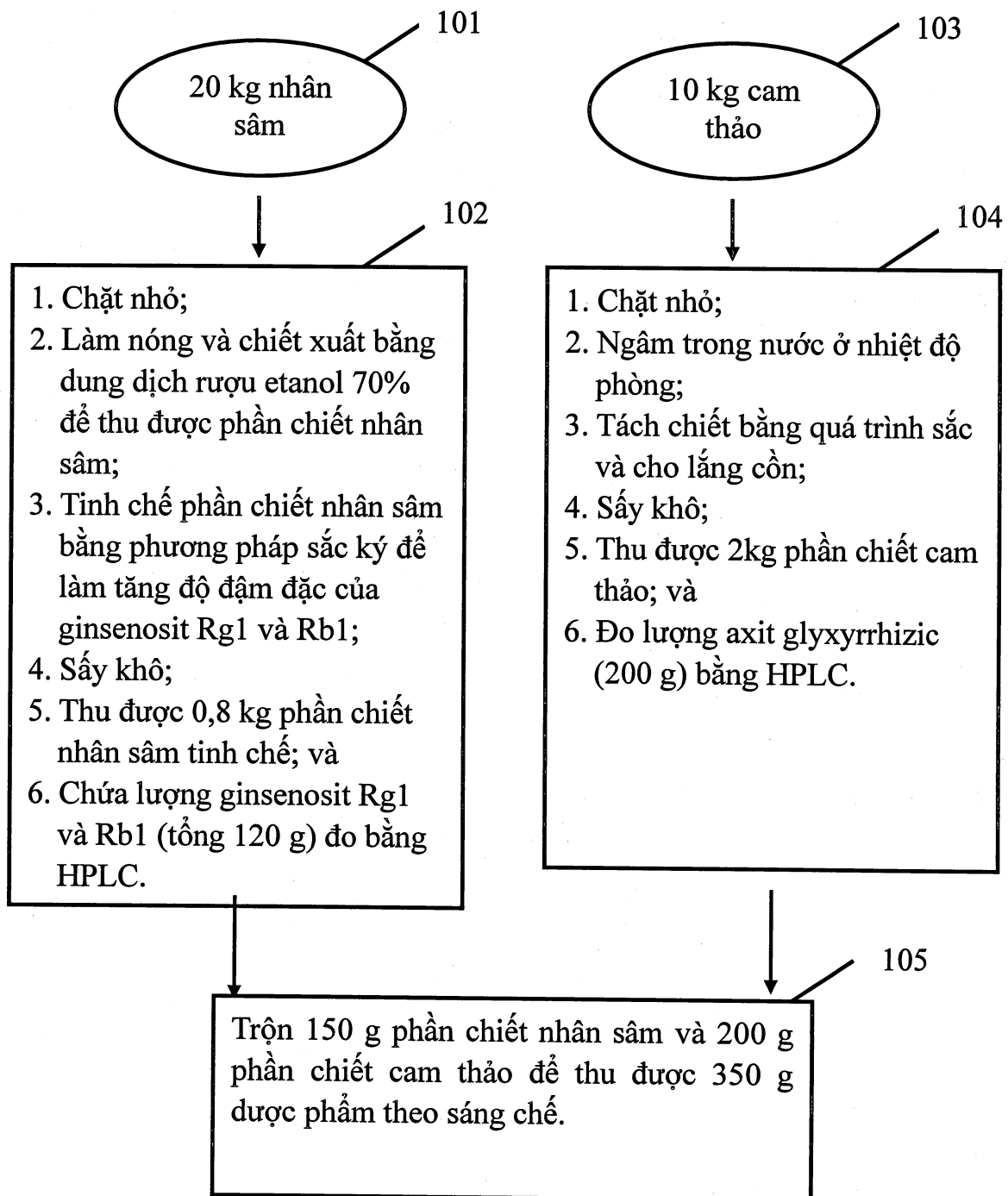
Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

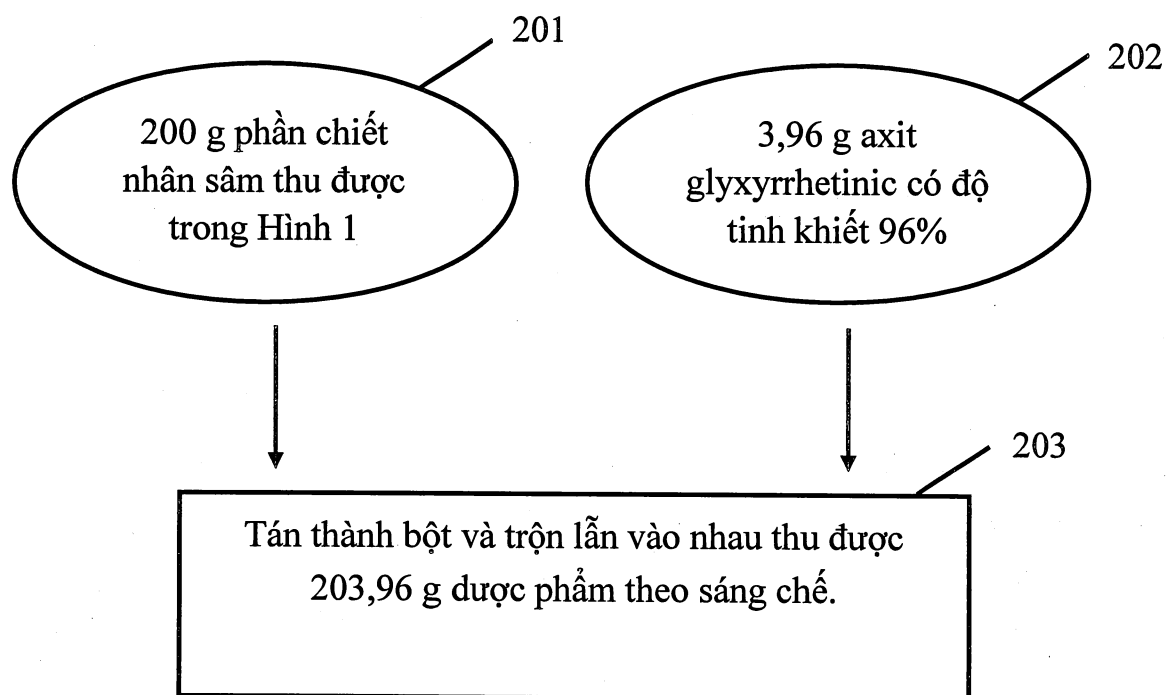
Phạm vi áp dụng của dược phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu như sau:

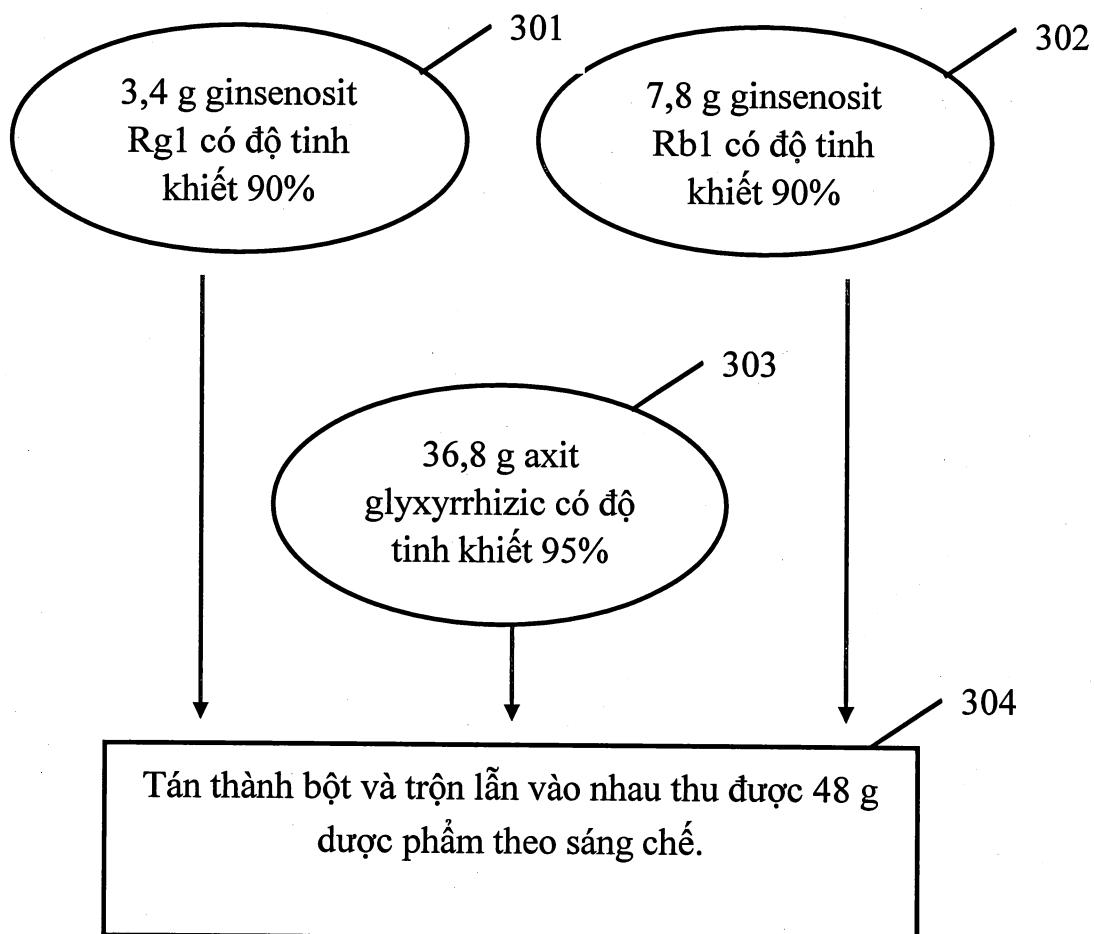
1. Dược phẩm được mô tả theo sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu có thể bao gồm chất gây nghiện được dùng;
2. Dược phẩm được mô tả theo sáng chế này để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu có thể được bào chế ở dạng liều dùng đã biết như dạng bột, viên nang, viên nén, v.v.; và
3. Dược phẩm được mô tả trong sáng chế để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu có thể được bào chế ở dạng thực phẩm chức năng để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu.

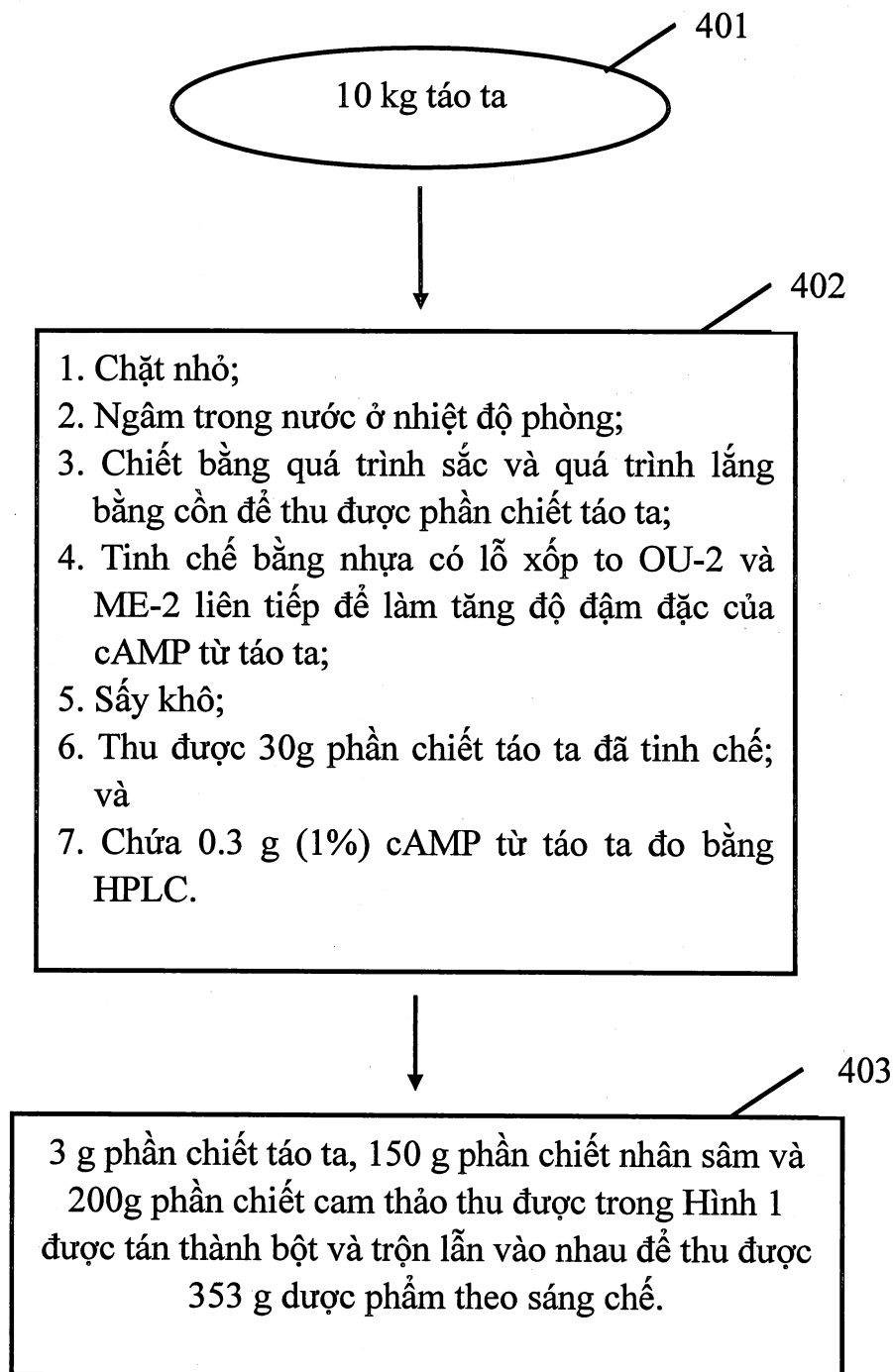
YÊU CẦU BẢO HỘ

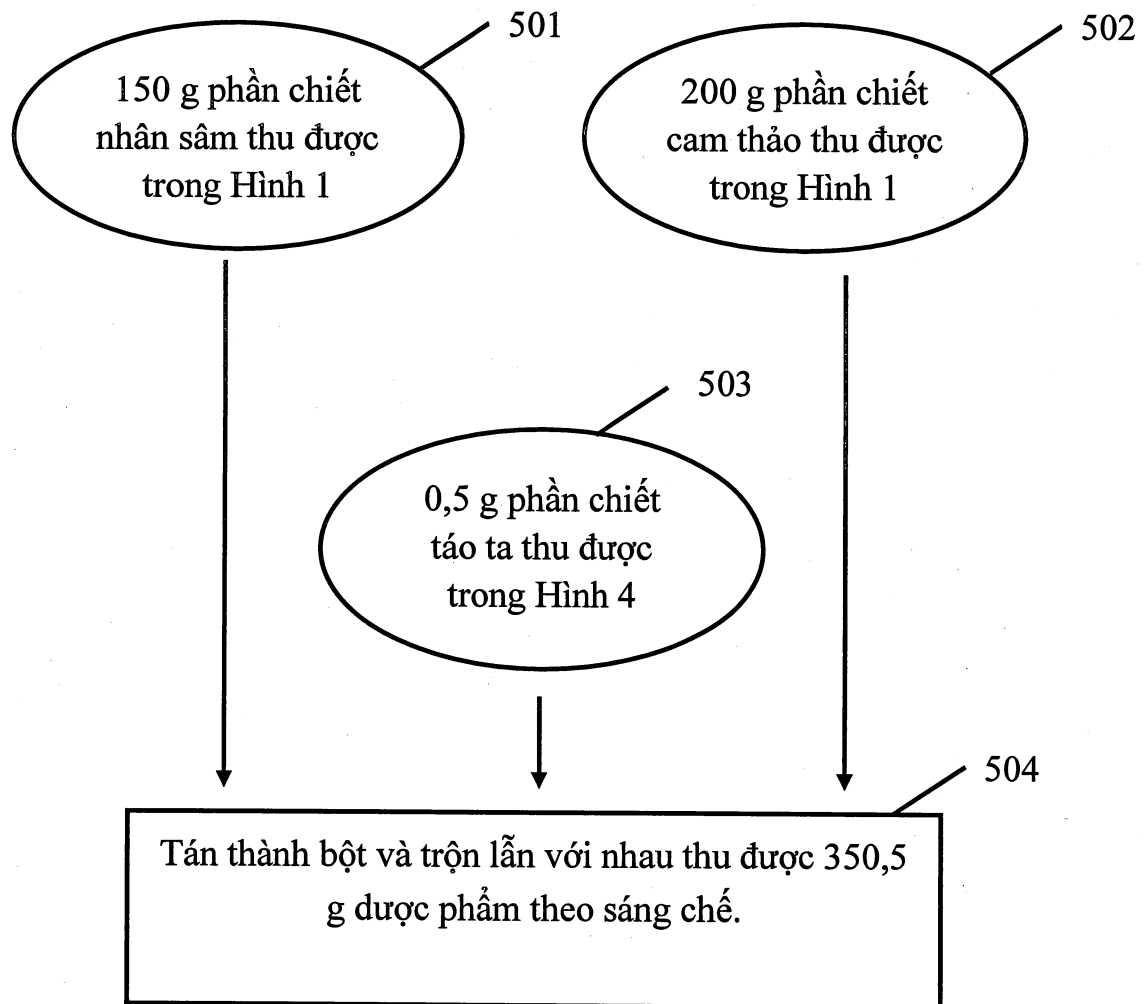
1. Dược phẩm để điều trị bệnh trầm cảm và chứng rối loạn lo âu bao gồm từ 2 đến 25 phần khối lượng của ginsenosit có Rg1 và Rb1; và từ 3 đến 46 phần khối lượng của axit dẫn xuất của glyxyrrhizic được chọn trong từ nhóm gồm axit glyxyrrhizic, axit glyxyrrhetinic hoặc hỗn hợp của chúng.
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm còn chứa thêm adenosin monophosphat vòng (cAMP) từ tảo ta.
3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này được bào chế ở dạng một trong các loại gồm dược phẩm, thực phẩm chức năng và chất bổ sung dinh dưỡng.

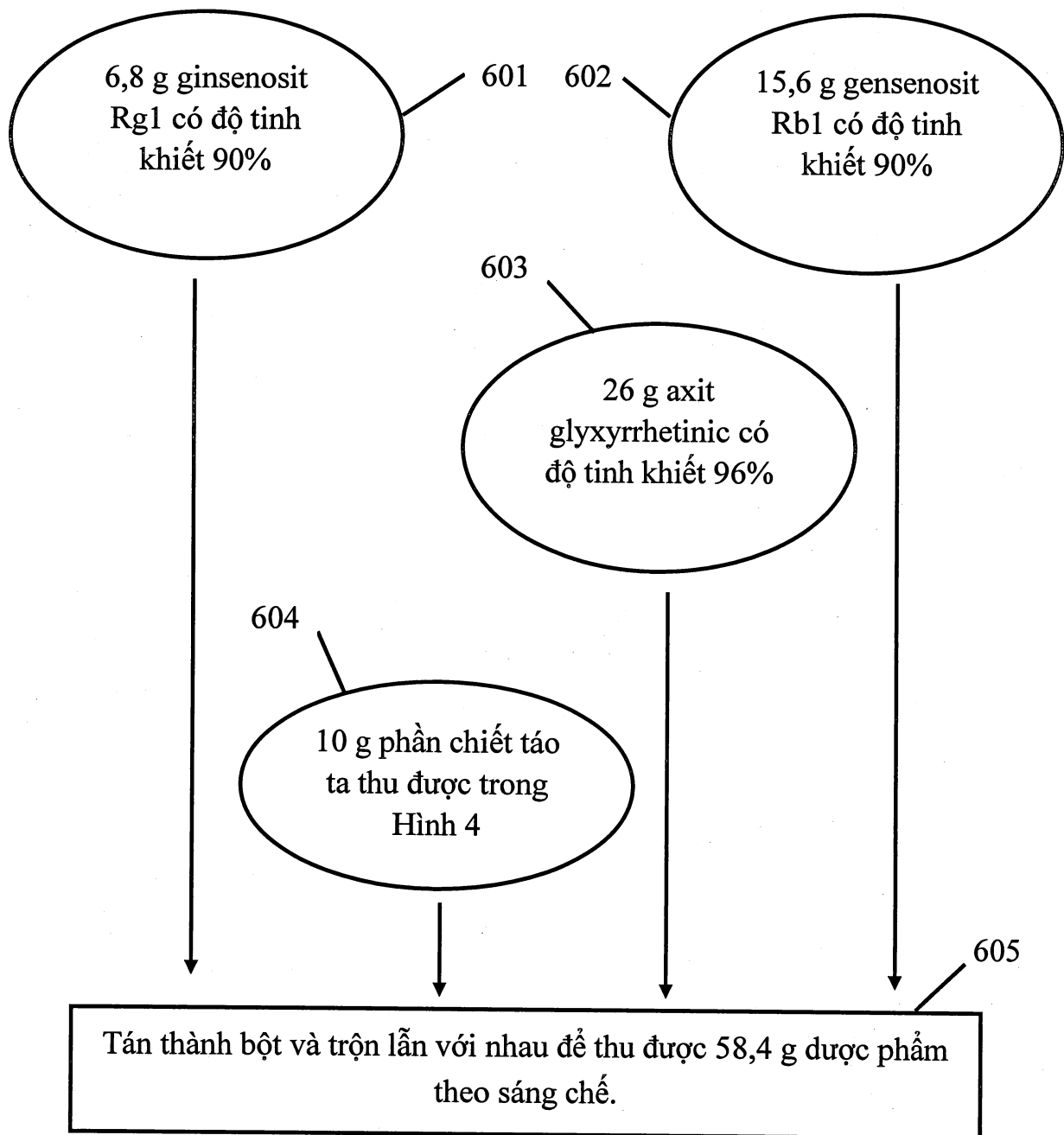
**Hình 1**

**Hình 2**

**Hình 3**

**Hình 4**

**Hình 5**

**Hình 6**