

ISSN 1859 - 4735



TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 1 - TẬP 30
2/2025

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

3B Quang Trung - Hoàn Kiếm - Hà Nội - Việt Nam
TEL: (+84-24) 38247058 FAX: (+84-24) 39348740
Email: tapchiduoclieu@nimm.org.vn; tapchiduoclieu@gmail.com

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
3	Thành phần hóa học lá cây <i>Maesa chisia</i> D. Don (Primulaceae) - Đỗ Thị Thủy, Nguyễn Thành Công, Bùi Thu Hà, Nguyễn Hoàng Nam, Nguyễn Quốc Vương, Đỗ Thị Hà, Anna Stojakowska, Lê Nguyễn Thành	3	Chemical Constituents from the Leaves of <i>Maesa chisia</i> D. Don. (Primulaceae) - Do Thi Thuy, Nguyen Thanh Cong, Bui Thu Ha, Nguyen Hoang Nam, Nguyen Quoc Vuong, Do Thi Ha, Anna Stojakowska, Le Nguyen Thanh
8	Thành phần hóa học cao chiết ethyl acetat lá cây khô - Nguyễn Thị Hồng Anh, Nguyễn Thị Huệ, Phạm Thanh Huyền, Lại Việt Hưng, Nguyễn Văn Tài	8	Chemical Constituents from the Ethyl Acetate Extract of <i>Artisia gigantifolia</i> Stapf. Leaves - Nguyen Thi Hong Anh, Nguyen Thi Hue, Pham Thanh Huyen, Lai Viet Hung, Nguyen Van Tai
12	Thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu thân giả loài <i>Conanomonium vietnamense</i> - Ngô Thị Thủy, Trần Trung Hiếu, Ngũ Thị Trà Giang, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Hoàng Tuấn, Nguyễn Văn Thu	12	Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from the pseudo-stems of <i>Conanomonium vietnamense</i> - Ngo Thi Thuy, Tran Trung Hieu, Ngui Thi Tra Giang, Nguyen Thi Thu, Nguyen Hoang Tuan, Nguyen Van Thu
18	Chiết xuất, phân lập và đánh giá tác dụng ức chế α -glucosidase <i>in vitro</i> và <i>in silico</i> của ginsenosid Rd trong sâm Việt Nam - Chử Lương Luân, Nguyễn Thị Văn Anh, Đặng Hoàng Hiệp, Đặng Thị Ngần, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Nguyễn Ngọc Hiếu, Vũ Văn Tuấn, Phạm Hà Thanh Tùng, Nguyễn Hữu Tùng	18	Study on Extraction, Isolation and α -Glucosidase Inhibition <i>in vitro</i> and <i>in silico</i> of Ginsenoside Rd from Vietnamese ginseng (<i>Parax vietnamensis</i> Ha & Grushv.) - Chu Luong Lun, Nguyen Thi Van Anh, Dang Hoang Hiep, Dang Thi Ngan, Nguyen Thi Hoang Anh, Nguyen Ngoc Hieu, Vu Van Tuan, Pham Ha Thanh Tung, Nguyen Huu Tung
24	Tối ưu hóa quy trình chiết xuất để bào chế cao đặc Tan thông phong dựa trên chất đánh dấu berberin clorid - Bùi Hồng Cường, Bùi Thị Ngọc Huyền	24	Optimization of the Extraction Process for Preparing the Tan thông phong Viscous Extract Based on Marker Berberine Chloride - Bui Hong Cuong, Bui Thi Ngoc Huyen
30	Tác dụng kháng u của cao khô định chuẩn bảy lá một hoa trên mô hình chuột bị gây u vú thực nghiệm bằng tế bào 4T1 - Lý Hải Triều, Lê Thị Loan, Nguyễn Thị Thu, Đỗ Thị Thảo, Trần Văn Thông, Vũ Thị Diệp, Ngô Thị Thủy, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà	30	Antitumor Effect of Standardized Extract of <i>Paris polyphylla</i> var. <i>chinensis</i> Smith in 4T1 Cell-Induced Breast Tumor Mouse Model - Ly Hai Trieu, Le Thi Loan, Nguyen Thi Thu, Do Thi Thao, Tran Van Thong, Vu Thi Diep, Ngo Thi Thuy, Nguyen Minh Khoi, Do Thi Ha
37	Tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ của cao chiết lá chè đắng liên quan đến sự phục hồi biểu hiện của gen PIK3R2 trên mô hình chuột bị thoái hóa thần kinh gây bởi trimethyltin - Phạm Thị Nguyệt Hằng, Lê Khánh Duy, Nguyễn Văn Hiệp, Phạm Linh Chi, Lê Thị Xoa, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Trần Mai Phương, Lê Minh Khôi	37	Effect of <i>Ilex kudingcha</i> C.J. Tseng Extract on Improving Memory Deficits Associated with the Restoration of PIK3R2 Gene Expression in Mice Model of Trimethyltin-Induced Neurodegeneration - Pham Thi Nguyet Hang, Le Khanh Duy, Nguyen Van Hiep, Pham Linh Chi, Le Thi Xoa, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Tran Mai Phuong, Le Minh Khoi
43	Tác dụng chống lão hóa da của mỹ phẩm đắp mặt chứa cao dương xỉ và astaxanthin trên mô hình thực nghiệm - Lê Hồng Oanh, Nguyễn Thị Lê, Phạm Thị Kiều Dung, Đoàn Thị Nguyệt, Nguyễn Thị Thanh Hà, Phạm Thị Văn Anh, Phương Thiên Thương, Mai Thị Nga	43	The Anti-Aging Effect on Skin of Cosmetic Products Containing <i>Dryopteris crassirhizoma</i> Extract and Astaxanthin in a Mouse Experiment Model - Le Hong Oanh, Nguyen Thi Le, Pham Thi Kieu Dung, Doan Thi Nguyet, Nguyen Thi Thanh Ha, Pham Thi Van Anh, Phuong Thien Thuong, Mai Thi Nga
48	Tác dụng kháng viêm và kích thích miễn dịch của cao chiết và tinh dầu từ quả cây nhàu - Võ Thị Bạch Tuyết, Trần Thị Duoc, Nguyễn Thị Thu Hương	48	Anti-Inflammatory and Immunostimulating Effects of Crude Extract and Essential Oil from <i>Morinda citrifolia</i> Fruit (Noni) - Vo Thi Bach Tuyet, Tran Thi Duoc, Nguyen Thi Thu Huong
54	Khảo sát tác dụng an thần, giải lo âu của cao chiết từ thành phần dược liệu gồm: xấu hổ, vông nem, hậu phác nam và cam thảo nam trên mô hình chuột bị stress cô lập - Hứa Hoàng Oanh, Trần Thị Hồng Hải, Trần Thị Bích Hiền, Phạm Tấn Bảo	54	A Survey on the Sedative and Anxiolytic Effects of the Extract from Herbal Medicine Ingredients Including <i>Herba Mimosae pudicae</i> , <i>Folium Erythrinae variegatae</i> , <i>Cortex Cinnamomi iners</i> , <i>Herba et Radix Scopariae</i> by Employing a Social Isolation Stress Model in Mice - Hua Hoang Oanh, Tran Thi Hong Hai, Tran Thi Bích Hiền, Pham Tan Bao
60	Đa dạng cây thuốc tỉnh Bắc Giang - Phạm Thanh Huyền, Đặng Minh Tú, Nguyễn Quỳnh Nga, Lại Việt Hưng, Nguyễn Văn Hiếu, Phan Văn Trường, Nhâm Minh Phúc, Nguyễn Hoàng, Nguyễn Khương Duy, Trần Quang Thi, Trần Ngọc Bích, Ngô Hoàng Diệp, Trương Đức Đáng	60	Diversity of Medicinal Plants in Bac Giang Province - Pham Thanh Huyen, Nguyen Quynh Nga, Lai Viet Hung, Nguyen Van Hieu, Phan Van Truong, Nam Minh Phuc, Nguyen Hoang, Nguyen Khuong Duy, Tran Quang Thi, Tran Ngoc Bích, Ngo Hoang Diep, Truong Duc Dang

TÁC DỤNG CẢI THIÊN SUY GIẢM TRÍ NHỚ CỦA CAO CHIẾT LÁ CHÈ ĐĂNG LIÊN QUAN ĐẾN SỰ PHỤC HỒI BIỂU HIỆN CỦA GEN PIK3R2 TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT BỊ THOÁI HÓA THẦN KINH GÂY BỞI TRIMETHYLTIN

Phạm Thị Nguyệt Hằng^{1*}, Lều Khánh Duy¹, Nguyễn Văn Hiệp¹, Phạm Linh Chi¹, Lê Thị Xoan¹, Nguyễn Thị Phụng¹, Nguyễn Trần Mai Phương², Lê Minh Khôi²

¹Viện Dược liệu; ²Trường Đại học Dược Hà Nội

*Email: nguyethangpt@nimm.org.vn

(Nhận bài ngày 18 tháng 11 năm 2024)

Tóm tắt

Thoái hóa thần kinh là sự mất dần cấu trúc hoặc chức năng của các tế bào thần kinh, cuối cùng có thể dẫn đến chết tế bào, đặc biệt trong các bệnh rối loạn tâm thần như Alzheimer, Parkinson, Huntington... Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá và tìm hiểu cơ chế tác dụng liên quan đến cải thiện suy giảm trí nhớ của cao chiết lá chè đăng (*Ilex kudingcha* C.J. Tseng - IKE) trên mô hình chuột gây thoái hóa thần kinh bằng trimethyltin (TMT). Chuột nhắt trắng đực, chủng *Swiss albino* được uống IKE (liều 270 và 540 mg/kg) hoặc nước cất liên tục trong 7 ngày, sau đó được tiêm một liều TMT 2,6 mg/kg và tiếp tục uống trong suốt quá trình thử nghiệm. Từ ngày thứ 28 sau khi điều trị, chuột sẽ được tiến hành các thử nghiệm hành vi để đánh giá tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ trên chuột. Sau khi kết thúc các thử nghiệm hành vi, chuột sẽ được tách hồi hải mã để tiến hành đánh giá thay đổi biểu hiện các gen *PIK3R2*, *IRS1* và *tyrosin hydroxylase* (*TH*) bằng phản ứng Realtime - PCR. Kết quả cho thấy, IKE (liều 270 và 540 mg/kg) có tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ tạm thời và khả năng ghi nhớ - học tập của chuột được đánh giá bằng thử nghiệm nhận diện đồ vật và thử nghiệm lần tránh thụ động. Kết quả đánh giá thay đổi biểu hiện gen cho thấy IKE có tác dụng phục hồi sự giảm biểu hiện của gen *PIK3R2* nhưng không làm thay đổi biểu hiện gen *IRS1* và gen mã hóa cho enzym *TH*. Những kết quả này cho thấy lá chè đăng có tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ trên chuột TMT có thể liên quan đến sự phục hồi biểu hiện của gen *PIK3R2*, đây là gen giúp tế bào thần kinh được bảo vệ bởi các tác nhân gây tổn thương như TMT.

Từ khoá: Lá chè đăng, Trimethyltin, Thử nghiệm nhận diện đồ vật, Thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến, Thử nghiệm lần tránh thụ động, *PIK3R2*, *IRS1*, *Tyrosin hydroxylase*.

Summary

Effect of *Ilex kudingcha* C.J. Tseng Extract on Improving Memory Deficits Associated with the Restoration of PIK3R2 Gene Expression in Mice Model of Trimethyltin-Induced Neurodegeneration

Neurodegeneration is the progressive loss of structure or function of neuronal cells and ultimately loss of neurons by death, particularly in neuropsychiatric disorders such as Alzheimer's, Parkinson's, and Huntington's diseases... This study was conducted to evaluate the improvement of cognitive deficit and related mechanism of the leaf extract of *Ilex kudingcha* C.J. Tseng (IKE) on a mice model of trimethyltin (TMT)-induced neurodegeneration. Male *Swiss albino* mice were orally administered IKE (at doses of 270 and 540 mg/kg) or distilled water continuously for 7 days, followed by a single injection of TMT (2.6 mg/kg; i.p). The IKE administration was continued throughout the experimental period. From the 28th day after treatment, behavioral tests were performed to assess memory improvement effects in TMT mice. After completing the behavioral tests, hippocampal tissues were dissected for analysis of changes in the expression of the *PIK3R2*, *IRS1*, and *TH* genes using Real-time PCR. The results showed that IKE (270 and 540 mg/kg) improved memory deficits and enhanced fear-based learning and memory in TMT mice using novel object recognition and passive avoidance tests. Gene expression analysis revealed that IKE restored the downregulation of *PIK3R2* but did not alter the expression of *IRS1* and *tyrosine hydroxylase* (*TH*) genes. These findings suggest IKE improves memory deficit in TMT-induced neurodegenerative mice, partly via the restoration of *PIK3R2*, which is critical for neuronal protection against damage caused by TMT.

Keywords: *Ilex kudingcha* extract, trimethyltin, Object Recognition Test, Modified Y-maze test, Passive avoidance test, *PIK3R2*, *IRS1*, *Tyrosine hydroxylase*.

1. Đặt vấn đề

Thoái hóa thần kinh là sự mất dần cấu trúc hoặc chức năng của các tế bào thần kinh, cuối cùng có thể dẫn đến chết tế bào. Nhiều bệnh rối loạn tâm thần như Alzheimer, Parkinson, Huntington ... xảy ra do quá trình thoái hóa thần kinh trong não. Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy sự tích tụ của các protein bất thường hoặc sự hình thành các nguyên bào sợi, rối loạn chức năng hệ thống ubiquitin-proteasome, tổn thương kích thích sinh độc tố, các stress oxy hóa hoặc nitro hóa, ... là các quá trình trong nhiều hội chứng thoái hóa thần kinh tiến triển chậm [1]. Mặc dù vậy, nghiên cứu y sinh ở cấp độ tế bào đã chứng minh liệu pháp điều trị chống lại thoái hóa tế bào thần kinh có thể cải thiện được những bệnh rối loạn tâm thần này [2].

Chè đăng có tên khoa học là *Ilex kudingcha* C.J. Tseng, thuộc chi *Ilex*, họ Trâm bầu

(Aquifoliaceae), phân bố chủ yếu vùng núi đá vôi thuộc tỉnh Cao Bằng và một số địa phương khác như Hoà Bình, Ninh Bình. Chè đăng được sử dụng trong Y học cổ truyền phương đông từ nghìn năm với khả năng tiêu đờm, đào thải độc tố, tăng cường trí nhớ, kích thích tiêu hoá...[3]. Các nghiên cứu hiện đại trong và ngoài nước đã chứng minh được nhiều tác dụng của lá chè đăng, đặc biệt trong một nghiên cứu trước đây, cho thấy cao chiết lá chè đăng có tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ ngắn hạn và dài hạn trên mô hình chuột bị cắt bỏ thụ khứu giác hai bên (QBX) [4]. Do vậy, để tiếp tục nghiên cứu thêm về tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ của lá chè đăng, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tìm hiểu cơ chế tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ của lá chè đăng trên mô hình chuột thoái hóa thần kinh gây bởi TMT.

2. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá chè đắng thu hái tại Cao Bằng (tháng 6/2023), được giám định và lưu mẫu tại Trung tâm Tài nguyên dược liệu, Viện Dược liệu. Dược liệu thu hái được sấy khô ở 50°C, đóng gói bảo quản nơi khô ráo để phục vụ nghiên cứu.

Mẫu cao chiết lá chè đắng (IKE) sử dụng trong nghiên cứu là cao tiêu chuẩn được chiết theo quy trình được mô tả trong tiêu dự án First: “*Hợp tác nghiên cứu sàng lọc dược liệu có tác dụng ngăn ngừa/hỗ trợ điều trị bệnh suy giảm trí nhớ và cơ chế tác dụng*”, do Ngân hàng thế giới tài trợ Viện Dược liệu, được nhóm nghiên cứu thuộc Khoa Hoá Thực vật, Viện Dược liệu điều chế. Quy trình chiết xuất được mô tả tóm tắt như sau: Lá chè đắng được sấy khô, xay thô, ngâm với cồn 80% theo tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/10 trong 48 giờ. Lọc rút lấy dịch trong. Bã dược liệu được ngâm tiếp với cồn thêm 2 lần, mỗi lần 24 giờ. Dịch chiết của 3 lần được cô đến cao lỏng 1:2; sau đó thêm nước theo tỷ lệ 4/1, để qua đêm, lọc lấy phần tủa, sấy chân không ở nhiệt độ 60°C cho đến đạt hàm ẩm < 5%. Cao tiêu chuẩn lá chè đắng (IKE) có hàm lượng kudinosid E và kudinosid D lần lượt là khoảng 4,3% và 3,0%.

2.2. Động vật thí nghiệm

Động vật được sử dụng trong nghiên cứu là chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino*, giới đực, trọng lượng trung bình 25 - 27 g được cung cấp bởi Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương. Chuột được chăm sóc và nuôi trong phòng thí nghiệm với nhiệt độ duy trì $22 \pm 1^\circ\text{C}$, ăn uống đầy đủ, chu kỳ sáng tối là 12/12 h (chu kỳ sáng từ 7:00 - 19:00). Chuột được nuôi ổn định 7 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Để thực hiện nghiên cứu này, chuột bị gây suy giảm trí nhớ bằng TMT sẽ được điều trị bằng cao tiêu chuẩn lá chè đắng (liều 270 và 540 mg/kg) trong 4 tuần, sau đó tiến hành đánh giá tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ thông qua các thử nghiệm hành vi, bao gồm thử nghiệm nhận diện đồ vật, thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến và thử nghiệm lần tránh thụ động. Sau khi kết thúc thử nghiệm hành vi, tiến hành tách hồi hải mã chuột để đánh giá cơ chế tác dụng của lá chè đắng thông qua thay đổi biểu hiện của các gen *IRS1*, *PIK3R2*, và *TH* bằng kỹ thuật Real-time PCR (RT-PCR).

- Nhóm chứng sinh lý: chuột được tiêm bằng đệm Phosphat - salin 1X (PBSX1), pH=7.4 (dung môi pha TMT) và uống nước cất trong suốt quá trình thí nghiệm.

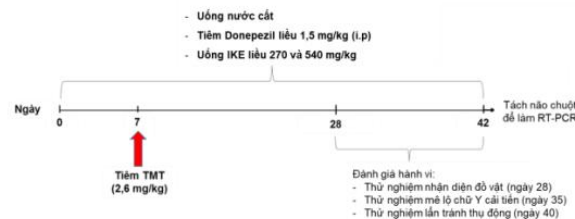
- Nhóm chứng bệnh lý: chuột được tiêm TMT liều duy nhất (2,6 mg/kg, i.p) và được uống nước cất trong suốt quá trình thí nghiệm.

- Nhóm điều trị bằng cao tiêu chuẩn lá chè đắng (IKE): Chuột được tiêm TMT liều duy nhất (2,6 mg/kg, i.p) và được điều trị bằng IKE (liều 270 và 540 mg/kg) trong suốt quá trình thử nghiệm. Thiết kế liều thử nghiệm dựa trên các

nghiên cứu trước [5] kết hợp với kinh nghiệm sử dụng dân gian.

- Nhóm đối chứng dương: chuột được tiêm TMT liều duy nhất (2,6 mg/kg, i.p) và điều trị bằng Donepezil (1,5 mg/kg; i.p) trong suốt quá trình thử nghiệm.

Sơ đồ thiết kế nghiên cứu được mô tả tóm tắt như trong Hình 1:



Hình 1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

2.3.1. Thử nghiệm nhận diện đồ vật (Object Recognition Test - ORT):

Chuột được tiến hành theo của tác giả De Rosa và cs. (2007) để đánh giá khả năng cải thiện trí nhớ tạm thời không phụ thuộc vào không gian (non-spatial short-term memory) [6]. Chuột được đánh giá thông qua tiêu chí thời gian chuột khám phá các đồ vật, và tính toán bằng phần mềm ANY-maze (Stoeling, Hoa Kỳ). Bài tập được thực hiện 1 lần duy nhất sau khi chuột được uống mẫu nghiên cứu 28 ngày.

2.3.2. Thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến (modified Y-maze):

Mê lộ chữ Y cải tiến (modified Y-maze) được sử dụng rộng rãi để đánh giá trí nhớ ngắn hạn phụ thuộc vào không gian của động vật [7]. Phần trăm thời gian chuột vào khám phá mới trên tổng số thời gian được phân tích so sánh giữa các nhóm chuột. Bài tập được thực hiện 1 lần duy nhất sau khi chuột được uống mẫu nghiên cứu 35 ngày.

2.3.3. Thử nghiệm lần tránh thụ động (Passive avoidance test):

Thử nghiệm lần tránh thụ động là một thử nghiệm hành vi đánh giá trí nhớ và khả năng học tập về mặt cảm xúc của động vật bằng cách đo mức độ tránh được kích thích gây khó chịu trong một môi trường cụ thể. Thiết bị được sử dụng trong thử nghiệm bao gồm các khoang sáng và tối được ngăn cách bằng cửa cắt tự động. Mỗi khoang có một sàn lưới thông qua độ dòng điện được phân phối. Thử nghiệm bao gồm hai pha: pha tập luyện và pha kiểm tra. Pha tập luyện, chuột được đặt vào trong khoang sáng, quay mặt ra khoang tối. Chuột được tự do khám phá trong 10 giây và sau đó cửa cắt được nhắc lên. Khi cả bốn chân của chuột bước vào khoang tối, cửa cắt đóng lại. Ba giây sau khi cánh cửa đóng lại, chuột nhận được những cú kích điện (0,5 mA, thời gian 3 giây) qua sàn lưới trong 10 giây và sau đó chúng được đưa trở lại chuồng. Pha kiểm tra được tiến hành sau pha tập luyện 24 giờ. Khi đó, chuột được đưa trở lại khoang sáng, quay mặt

ra khoảng tối. Sau 10 giây, cửa cắt được nhấc lên và ghi nhận thời gian tiêm ân chuột đặt 4 chân vào khoang tối. Chuột được đánh giá thông qua thời gian tiêm ân chuột đi vào khoang tối được sử dụng để đánh giá khả năng ghi nhớ và học tập dựa trên nỗi sợ hãi của chuột. Bài tập được thực hiện 1 lần duy nhất sau khi chuột được uống mẫu nghiên cứu 40 ngày.

2.3.4. Đánh giá cơ chế tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ của mẫu IKE thông qua thay đổi biểu hiện của một số gen liên quan bằng kỹ thuật RT-PCR:

Tách chiết RNA tổng số và tổng hợp cDNA:

Sau khi kết thúc thí nghiệm hành vi, tách hồi hải mã chuột, bảo quản ở -80°C cho đến khi tiến hành thí nghiệm. Tách ARN từ hồi hải mã và vỏ não bằng dung dịch TRIzol TM Kit (TRIzol RNA Isolation Reagents) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. cDNA được tổng hợp bằng phản ứng phiên mã ngược theo quy trình

của Promega Kit. Quy trình được mô tả tóm tắt như sau:

Thành phần phản ứng:

RNA tổng số: 2 µg

10X RT buffer: 2,0 µL

25X dNTP mix (100 mM): 0,8 µL

Primer oligodT: 0,5 µL

MultiScribe™ Reverse Transcriptase: 1,0 µL

Nuclease Free- water vừa đủ thể tích 20 µL/ 1 phản ứng

Chu trình nhiệt: 25°C/ 10 phút; 37°C/ 120 phút; 85°C/ 5 phút; 70°C/ 5 phút, 4°C

cDNA sau khi tổng hợp sẽ được bảo quản -20°C để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Phản ứng RT-PCR:

Tiến hành phản ứng RT-PCR để phát hiện biểu hiện của 3 gen, bao gồm: *IRS1*, *PIK3R2*, và *TH*. Gen *β-actin* sẽ dùng để là gen nội chuẩn trong nghiên cứu này.

Trình tự các cặp mồi thiết kế như sau:

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi

STT	Tên gen	Mồi xuôi	Mồi ngược
1	<i>IRS1</i>	5-TGTCACCCAGTGGTAGTTC-3	5-CTCTCAACAGGAGGTTGGCATG-3
2	<i>PIK3R2</i>	5-CAGTACAACGCCAAGCTGGACA-3	5-TGCTGGTGGTAGACCTTGAGCT-3
3	<i>TH</i>	5-TGCACACAGTACATCCGTCATGC-3	5-GCAAATGTGCGGTCAGCCAACA-3
4	<i>β-actin</i>	5-AAC GGT CTCACG TCA GTG TA-3	5-GTG ACA GCA TTG CTT CTG TG-3

- Thành phần của phản ứng (20 µL):

Nuclease Free-water: 6,0 µL

Mastermix (Syber green): 10,0 µL

10 pmol mỗi mồi: 1,0 µL mỗi xuôi + 1,0 µL

mỗi ngược cDNA: 2,0 µL

Tổng thể tích mỗi phản ứng: 20,0 µL

- Chu trình nhiệt cho gen *PIK3R2* và gen *TH*:

95°C/ 3 phút;

95°C/ 5 giây, 63°C/ 10 giây, 72°C/ 10 giây (45

chu kỳ)

Melt Curve: 65-95°C

4°C/ ∞

- Chu trình nhiệt cho gen *IRS1*:

95°C/ 3 phút;

95°C/ 5 giây, 61,5°C/ 10 giây, 72°C/ 10 giây

(45 chu kỳ)

Melt Curve: 65-95°C

4°C/∞

- Tiêu chí đánh giá:

Ct: chu kỳ ngưỡng của gen trong nghiên cứu

Công thức xử lý số liệu: $R = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ của Livak

Trong đó:

R là tỉ lệ biểu hiện của gen đích trên mẫu thử so với mẫu chứng

$\Delta\Delta Ct = [Ct(T/Tg) - Ct(T/Ref)] - [Ct(C/Tg) - Ct(C/Ref)]$

với:

Ct(T/Tg): chu kỳ ngưỡng của gen đích trong mẫu thử

Ct(T/Ref): chu kỳ ngưỡng của gen nội chuẩn *β-actin* trong mẫu thử

Ct(C/Tg): chu kỳ ngưỡng của gen đích trong mẫu chứng

Ct(C/Ref): chu kỳ ngưỡng của gen nội chuẩn *β-actin* trong mẫu chứng

Thí nghiệm được tiến hành với cỡ mẫu 5-6 con/lô.

2.4. Phương pháp phân tích số liệu

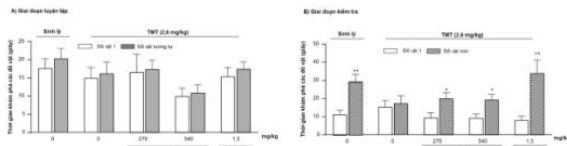
Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS 23. Với các mẫu phân bố chuẩn, dữ liệu được biểu diễn dưới dạng Mean ± S.E.M, sử dụng kiểm định ANOVA kèm hậu kiểm *LSD* hoặc *Dunnnett's T3* để so sánh sự khác biệt giữa các lô, sử dụng test so sánh cặp (*pair samples T test*) để so sánh sự khác nhau trong cùng một lô. Với các mẫu rời rạc hoặc không tuân theo phân bố chuẩn, dữ liệu được biểu diễn dưới dạng trung vị (khoảng tứ phân vị) và sử dụng kiểm định *Kruskal- wallis* để so sánh sự khác biệt giữa các lô, sử dụng test *Wilcoxon* để so sánh sự khác biệt trong cùng một lô. Sự khác biệt giữa các lô được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ của cao chiết IKE trên mô hình chuột bị thoái hóa thần kinh gây bởi TMT

3.1.1. Trên thử nghiệm nhận diện đồ vật (ORT):

Thử nghiệm nhận diện đồ vật nhằm đánh giá trí nhớ ngắn hạn không liên quan đến không gian của động vật nghiên cứu. Trong thử nghiệm ORT, chuột có xu hướng tìm kiếm vật thể mới. Kết quả đánh giá tác dụng của cao tiêu chuẩn lá chè đắng (IKE) trên thời gian chuột khám phá đồ vật cũ và mới được thể hiện trong Hình 2.



Hình 2. Tác dụng cải thiện trí nhớ tạm thời của cao tiêu chuẩn lá chè đắng (IKE) trên mô hình chuột bị thoái hóa thần kinh gây bởi TMT được đánh giá bằng thử nghiệm nhận diện đồ vật. A) Giai đoạn luyện tập; B) Giai đoạn kiểm tra

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ so với đồ vật 1 ở cùng một lô thử nghiệm ($n = 9-11$ con/lô)

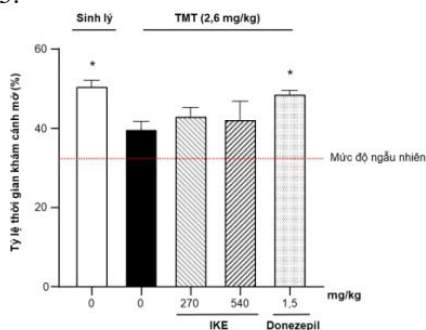
Kết quả ở Hình 2 cho thấy:

Ở giai đoạn luyện tập: Không có sự khác biệt về thời gian khám phá 2 đồ vật trong cùng một lô.

Ở giai đoạn kiểm tra: Thời gian khám phá vật mới và vật tương tự có sự khác biệt đáng kể đạt ý nghĩa thống kê của nhóm chuột sinh lý ($p < 0,01$); trong khi ở nhóm chuột bệnh lý không có sự khác biệt giữa thời gian khám phá vật mới và vật tương tự, cho thấy thử nghiệm ORT phù hợp để đánh giá tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ ngắn hạn trên mô hình chuột TMT. Chuột TMT được điều trị bằng cao tiêu chuẩn chè đắng (liều 270 và 540 mg/kg) đều có thời gian khám phá đồ vật mới tăng đáng kể so với đồ vật tương tự ($p < 0,05$). Chuột điều trị bằng Donepezil 1,5 mg/kg thể trọng có thời gian khám phá đồ vật mới tăng đáng kể so với đồ vật tương tự, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Như vậy cao tiêu chuẩn lá chè đắng (270 và 540 mg/kg) có tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ tạm thời không phụ thuộc vào không gian, được đánh giá bằng thử nghiệm nhận diện đồ vật trên chuột TMT.

3.1.2. Trên thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến:

Thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến nhằm đánh giá trí nhớ làm việc phụ thuộc vào không gian. Trong thử nghiệm này, khả năng ghi nhớ của động vật được đánh giá thông qua % thời gian chuột khám phá cánh mới so với thời gian khám phá các cánh còn lại. Kết quả đánh giá tác dụng của cao tiêu chuẩn lá chè đắng trên tỷ lệ thời gian chuột khám phá cánh mở được thể hiện trong Hình 3.



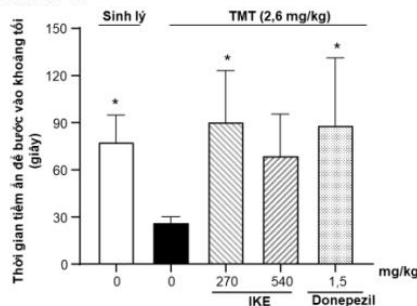
Hình 3. Tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ ngắn hạn phụ thuộc vào không gian của cao tiêu chuẩn lá chè đắng (IKE) trên mô hình chuột bị thoái hóa thần kinh gây bởi TMT được đánh giá bằng thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến ($n = 9 - 11$); * $p < 0,05$ so với lô bệnh lý

Kết quả ở Hình 3 cho thấy:

Chuột bệnh lý TMT có tỷ lệ thời gian khám phá cánh mới thấp hơn so với chuột sinh lý, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả này cho thấy thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến phù hợp để đánh giá tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ ngắn hạn phụ thuộc vào không gian trên mô hình chuột TMT. Chuột được điều trị bằng IKE (liều 270 và 540 mg/kg) có tỷ lệ thời gian khám phá cánh mới không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột bệnh lý ($p > 0,05$). Chuột được điều trị bằng Donepezil 1,5 mg/kg có tỷ lệ thời gian khám phá cánh mới nhiều hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với nhóm chuột bệnh lý. Như vậy cao tiêu chuẩn lá chè đắng (270 và 540 mg/kg) chưa có tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ ngắn hạn phụ thuộc vào không gian, được đánh giá bằng thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến trên chuột TMT.

3.1.3. Trên thử nghiệm lần tránh thụ động:

Thử nghiệm lần tránh thụ động được sử dụng để đánh giá khả năng ghi nhớ và học tập dựa trên nỗi sợ hãi của chuột. Kết quả đánh giá tác dụng của cao tiêu chuẩn chè đắng (IKE) trên tỷ lệ thời gian chuột khám phá cánh mở được thể hiện trong Hình 4.



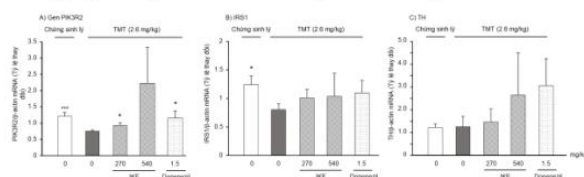
Hình 4. Tác dụng cải thiện suy giảm khả năng ghi nhớ và học tập dựa trên nỗi sợ hãi của cao IKE trên chuột TMT được đánh giá bằng thử nghiệm lần tránh thụ động * $p < 0,05$ so với nhóm bệnh lý ($n = 8 - 10$ con/lô)

Kết quả ở Hình 4 cho thấy:

Chuột bệnh lý TMT có thời gian tiềm ẩn vào khoảng tối giảm đáng kể so với lô sinh lý, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả này cho thấy thử nghiệm lần tránh thụ động là phù hợp để đánh giá tác dụng cải thiện suy giảm khả năng ghi nhớ và học tập dựa trên nỗi sợ hãi trên mô hình chuột TMT. Chuột điều trị bằng IKE ở cả 2 mức liều thử nghiệm đều có thời gian tiềm ẩn đi vào khoảng tối tăng hơn so với lô bệnh lý, tuy nhiên chỉ có liều 270 mg/kg cho thấy sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Chuột TMT được điều trị bằng Donepezil liều 1,5 mg/kg có thời gian tiềm ẩn đi vào khoảng tối tăng đáng kể so với lô bệnh lý, với sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$). Như vậy, cao tiêu chuẩn chè đắng với mức liều 270 mg/kg có tác dụng cải thiện trí nhớ và học tập dựa trên nỗi sợ hãi trên mô hình chuột TMT.

3.2. Kết quả đánh giá thay đổi biểu hiện một số gen liên quan bằng kỹ thuật RT-PCR

Để tìm hiểu cơ chế tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ/nhận thức của cao chiết lá chè đắng trên mô hình chuột TMT, chúng tôi tiến hành đánh giá thay đổi biểu hiện các gen *PIK3R2*, *IRS1* và *TH*. Những gen này đã được ghi nhận có sự thay đổi biểu hiện qua sàng lọc bằng kỹ thuật RNAseq. Kỹ thuật phân tích biểu hiện gen định lượng RT-PCR được sử dụng để đánh giá cụ thể mức độ thay đổi biểu hiện của các gen trên. Kết quả sự thay đổi biểu hiện các gen của chuột TMT bằng kỹ thuật RT-PCR được biểu hiện ở Hình 5.



Hình 5. Mức độ thay đổi biểu hiện gen trên chuột TMT bằng kỹ thuật RT-PCR

A) Gen *PIK3R2*, B) Gen *IRS1*, C) Gen *TH*

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ so với nhóm bệnh lý ($n = 5-6$ con/lô)

Kết quả ở Hình 5 cho thấy:

Gen *PIK3R2*: Chuột bệnh lý TMT có mức độ biểu hiện gen *PIK3R2* giảm mạnh so với lô sinh lý, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Chuột TMT được điều trị bằng IKE ở các mức liều nghiên cứu có mức độ biểu hiện gen *PIK3R2* cao hơn so với lô bệnh lý, nhưng chỉ có mức liều 270 mg/kg có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Chuột TMT được điều trị bằng Donepezil với liều 1,5 mg/kg có mức độ biểu hiện gen *PIK3R2* cao hơn so với lô bệnh lý, đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Gen *IRS1*: Chuột bệnh lý TMT có mức độ biểu hiện gen *IRS1* giảm so với lô sinh lý, đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tuy nhiên, chuột TMT được điều trị bằng IKE với các liều 270, 540 mg/kg và được điều trị bằng Donepezil 1,5 mg/kg không phát hiện thấy sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê về mức độ biểu hiện gen *IRS1* so với lô chuột bệnh lý.

Gen *TH*: Chuột bệnh lý TMT có mức độ biểu hiện gen *TH* không có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý. Chuột TMT được điều trị bằng IKE và Donepezil đều có xu hướng tăng cường mức độ biểu hiện gen *TH* cao hơn so với lô bệnh lý, tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê. Như vậy, cao tiêu chuẩn lá chè đắng có tác dụng tăng cường mức độ biểu hiện gen *PIK3R2* trên chuột bị suy giảm trí nhớ do thoái hóa thần kinh gây bởi TMT.

4. Bàn luận

TMT là hợp chất hữu cơ, có tác dụng gây độc thần kinh mạnh, gây suy giảm trí nhớ; hoặc có thể gây co giật và tử vong. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã sử dụng TMT làm mô hình gây thoái hóa tế bào thần kinh, hướng đến việc tìm kiếm thuốc mới điều trị các bệnh liên quan đến thoái hóa tế bào thần

kinh và suy giảm trí nhớ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng TMT làm chất độc để gây suy giảm trí nhớ nhằm đánh giá tác dụng của lá chè đắng và chứng minh cơ chế tác dụng bảo vệ thần kinh thông qua thay đổi biểu hiện của một số gen liên quan, bao gồm gen *PIK3R2*, *IRS1* và *TH*.

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy cao IKE ở mức liều 270 và 540 mg/kg dựa trên các công bố trước đây của chúng tôi đã chứng minh cao chiết lá chè đắng có tác dụng cải thiện trí nhớ tạm thời không phụ thuộc vào không gian và khả năng ghi nhớ - học tập dựa trên sự sợ hãi được đánh giá bằng thử nghiệm nhận diện đồ vật (ORT) và lần tránh thụ động, tuy nhiên không phát hiện thấy có sự cải thiện trí nhớ ngắn hạn phụ thuộc vào không gian được đánh giá bằng thử nghiệm mê lộ chữ Y cải tiến. Những nghiên cứu trước đây cũng chỉ sự liên quan giữa acetylcholin (*ACh*) tới rất nhiều quá trình hoạt động của thần kinh như nhận thức, ghi nhớ, giải phóng chất dẫn truyền thần kinh [8],[9],[10], tuy nhiên trong rất nhiều trường hợp rối loạn phổ tự kỷ (Autism spectrum disorder - ASD), người ta thấy mất sự điều hoà *ACh* trong quá trình dẫn truyền thần kinh và phát triển não bộ, hình thành các hành vi bệnh lý tự kỷ [9],[10],[11]. Donepezil là một chất ức chế enzym cholinesterase (*ChE-I*) làm tăng nồng độ *ACh* trong não thông qua ức chế thuận nghịch enzym dị hóa chất dẫn truyền thần kinh *ACh* [12] kết hợp với kết quả của chúng tôi trong thử nghiệm ORT có thể giúp đưa ra một giả thuyết rằng cao tiêu chuẩn lá chè đắng có thể giúp cải thiện trí nhớ trên chuột gây mô hình bằng TMT thông qua tăng cường hệ cholinergic. Những nghiên cứu tiền thương lâm ảnh hưởng tới khả năng ghi nhớ, nhận diện đồ vật trên chuột liên quan tập trung tới thùy hải mã, không phải ở vùng vỏ não hoặc vỏ não trước trán [13],[14],[15],[16]. Thùy hải mã có vai trò trong nhận thức môi trường xung quanh, một phần của hệ thống ghi nhớ như ghi nhớ thông tin về môi trường, không gian, các vị trí, đồ vật đặc hữu [17].

Thêm vào đó, thử nghiệm lần tránh thụ động là một trong những thử nghiệm dùng để đánh giá khả năng học tập và trí nhớ ngắn hạn dựa trên nỗi sợ hãi. Chuột bình thường ở lô sinh lý có thời gian tiềm ẩn để bước vào khoang tối cao hơn so với chuột ở lô bệnh lý. Điều này cho thấy các tế bào não bị tổn thương bởi TMT dẫn đến suy giảm khả năng học tập và trí nhớ ngắn hạn. Kết quả này tương đồng với những nghiên cứu trước đây trên chuột TMT [18],[19]. Từ đó, ta có thể thấy rằng TMT gây mất khả năng học tập và trí nhớ ngắn hạn dựa trên nỗi sợ hãi do hợp chất này gây tổn thương đến các tế bào thần kinh ở hạch hạnh nhân, khu vực điều khiển cảm xúc trong não [20],[21]. Kết quả của nghiên cứu này cũng cho thấy cao chiết tiêu chuẩn lá chè đắng có tác dụng cải thiện suy giảm khả năng học tập và trí nhớ ngắn hạn phụ thuộc nỗi sợ. Cơ chế của tác dụng này có thể do cao IKE giúp bảo vệ các tế bào thần kinh ở hạch hạnh nhân trong não, giúp bảo tồn chức năng của khu vực này.

Để đánh giá cơ chế tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ của cao chiết lá chè đắng, chúng tôi tiến hành đánh giá sự thay đổi mức độ biểu hiện của các gen *PIK3P2*, *IRS1* và *TH*. Kết quả cho thấy cao IKE có tác dụng phục hồi sự giảm biểu hiện của gen *PIK3R2* (gen mã hóa cho tiểu phần điều hòa hoạt động PI3K) đạt ý nghĩa thống kê. Đây là gen đóng vai trò quan trọng đối với sự bảo vệ tổn thương thần kinh hồi hải mã. Mặc dù cao tiêu chuẩn lá chè đắng có xu hướng làm tăng cường sự biểu hiện gen *IRS1* và gen *TH*, tuy nhiên mức độ tăng này không đạt ý nghĩa thống kê.

PIK3R2 là gen mã hóa tiểu phần p85 β trong phức hợp của protein PI3K để điều hòa hoạt tính của enzym này [22],[23]. PI3K là enzym sinh tổng hợp chất truyền tin PIP3, đóng vai trò quan trọng trong con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR. Protein cơ chất của thụ thể insulin (*IRS1*) là một protein chủ chốt trong việc truyền tín hiệu từ thụ thể insulin trên bề mặt tế bào đến các đường truyền tín hiệu phía dưới. Cả thụ thể insulin và *IRS1* đều được biểu hiện phổ biến ở các loại tế bào khác nhau, bao gồm cả tế bào thần kinh và tế bào nội mô [24],[25]. *IRS1* và dạng phosphoryl hóa của nó trong hệ thần kinh trung ương điều hòa sự biệt hóa của tế bào thần kinh và phản ứng với các yếu tố dinh dưỡng [26]. Tiểu phần p85 β cũng tạo phức hợp với *IRS1* đã được phosphoryl hóa và PI3K, giúp hoạt hóa con đường tín hiệu PI3K/AKT [27]. *PI3K* và con đường điều hòa âm tính AKT qua trung gian *IRS1* đóng vai trò quan trọng trong sự sống chết của tế bào thông qua sự điều chỉnh p53, protein đại diện cho apoptosis [28],[29]. Trong một nghiên cứu trên các tế bào thần kinh bị gây tổn thương bằng ethanol cho thấy rằng các tế bào bị tổn thương bởi ethanol có hoạt tính của PI3K giảm so với các tế bào bình thường. Thêm vào đó, khi có mặt của các yếu tố phát triển, hoạt tính của PI3K lại tăng trở lại mức bình thường và giúp tế bào thoát khỏi tổn thương [30]. Một nghiên cứu khác trên mô hình tế bào thần kinh chuột gây độc bởi trimethyltin (TMT) đã cho thấy chất này tạo ra stress oxy hóa cho tế bào thần kinh. Stress oxy hóa gây ức chế con đường tín hiệu PI3K/AKT, dẫn đến thoái hóa tế bào thần kinh [31]. Nếu được kích hoạt lại bằng yếu tố phát triển, con đường tín hiệu PI3K/AKT sẽ giúp tế bào hồi phục khỏi ảnh hưởng của TMT [32]. Sự ức chế con

đường tín hiệu PI3K/AKT cũng có thể điều hòa âm tính hoạt động của *IRS1* [24]. Do đó, thoái hóa thần kinh gây ra bởi TMT cũng có khả năng ảnh hưởng đến biểu hiện của *IRS1* và *PIK3R2*.

Tyrosin hydroxylase là một enzym đóng vai trò then chốt trong quá trình sinh tổng hợp các catecholamin. Một nghiên cứu cho thấy rằng việc gia tăng hoạt tính của tyrosin hydroxylase gây tăng nồng độ dopamin trong não. Nồng độ dopamin trong tế bào tăng sẽ kích hoạt con đường thoái hóa dopamin bằng enzym MAO. Con đường thoái hóa này tạo ra nhiều gốc tự do và gốc oxy hóa như hydroxy peroxid, nguyên nhân gây stress oxy hóa [33],[34]. Việc tăng nồng độ dopamin cũng khiến các tế bào thần kinh nhạy cảm hơn với các chất gây độc thần kinh như amphetamin hoặc methamphetamin [33]. Hoạt động của enzym này được điều hòa bởi một số tín hiệu như PI3K/AKT và MAPK/ERK. Các con đường tín hiệu này giúp tăng cường biểu hiện gen *TH* giúp tế bào được bảo vệ khỏi các tổn thương [35]. Do đó, nếu có các thay đổi liên quan đến các con đường tín hiệu như PI3K/AKT sẽ gây ảnh hưởng đến biểu hiện của *TH*.

Kết quả phân tích biểu hiện gen bằng kỹ thuật RT-PCR trên mô hình chuột suy giảm trí nhớ gây bởi TMT cho thấy mức độ biểu hiện gen *PIK3R2* và *IRS1* giảm đáng kể ở lô bệnh lý. Như vậy, tác động của TMT lên gen *PIK3R2* gây ức chế con đường tín hiệu PI3K/AKT, từ đó làm tế bào không thể hồi phục lại sau tổn thương và thoái hóa tế bào thần kinh. Điều trị bằng cao chiết IKE có tác dụng phục hồi sự giảm biểu hiện *PIK3R2* do TMT gây ra.

5. Kết luận

Từ những kết quả trên, có thể kết luận như sau: Cao tiêu chuẩn lá chè đắng có tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ ngắn hạn không phụ thuộc vào không gian và trí nhớ liên quan đến nỗi sợ hãi trên mô hình chuột bị thoái hóa tế bào thần kinh gây bởi trimethyltin liên quan đến phục hồi sự giảm biểu hiện của gen *PIK3R2*.

Lời cảm ơn: Kết quả thu được trong nghiên cứu này là sản phẩm của đề tài cấp Viện Dược liệu (2023-2024): “Nghiên cứu cơ chế tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ liên quan đến bảo vệ tế bào thần kinh của cao tiêu chuẩn lá chè đắng (*Ilex kudingcha* C.J.Tseng) trên mô hình chuột thực nghiệm”

Tài liệu tham khảo

1. Bossy-Wetzel E., Schwarzenbacher R., and Lipton S.A. (2004), Molecular pathways to neurodegeneration. *Nature Medicine*, 10(7), S2-S9.
2. Tanna T., Sachan V. (2014), Mesenchymal stem cells: potential in treatment of neurodegenerative diseases. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 9(6), 513-21.
3. Dacheng Hao, Xiaojie Gu, Peigen Xiao, Zhanguo Liang, Lijia Xu, Yong Peng (2013), Research progress in the phytochemistry and biology of *Ilex* pharmaceutical resources. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 3(1), 8-19.
4. Phạm Thị Nguyệt Hằng, P.T.X., Lê Thị Xoan, Nguyễn Minh Khoi, Nguyễn Thị Lap, Kinzo Matsumoto, Masamitsu Yamaguchi, William R. Folk (2018), Anti-dementia effects of *Ilex kudingcha* leaves on olfactory bulbectomy-induced memory impairment in mice. *Journal of Medicinal Materials*, 23(5), 301-308.
5. Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Thị Phương, Lê Thị Xoan, Nguyễn Minh Khoi, Đỗ Thị Hà, Hà Văn Oanh, Masamitsu Yamaguchi, William R. Folk, Kinzo Matsumoto (2020), Tác dụng cải thiện hội chứng tự kỷ của lá chè đắng trên mô hình chuột nhắt tự kỷ gây bởi natri valproat. *Tạp chí Dược liệu*, 24(1), 50-56.
6. De Rosa R., Garcia A. A., Braschi C., Capsoni S., Maffei L., Berardi N., Cattaneo A. (2005), Intranasal administration of nerve growth factor (NGF) rescues recognition memory deficits in AD11 anti-NGF transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(10), 3811-3816.
7. Phạm H. T. N., Phan S. V., Tran H. N., Phi X. T., Le X. T., Nguyen K. M., Fujiwara H., Yoneyama M., Ogita K., Yamaguchi T., Matsumoto K. (2019), *Bacopa mormieri* (L.) ameliorates cognitive deficits caused in a trimethyltin-induced neurotoxicity model mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 42(8), 1384-1393.
8. Barnes C.A., Meltzer J., Houston F., Orr G., McGann K., Wenk G. L. (2000), Chronic treatment of old rats with donepezil or galantamine: effects on memory, hippocampal plasticity and nicotinic receptors. *Neuroscience*, 99(1), 17-23.
9. Picciotto M. R., Higley M. J., Mineur Y.

S. (2012), Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron*, 76(1), 116-29.

10. Sarter M., Bruno J. (2004), Developmental origins of the age-related decline in cortical cholinergic function and associated cognitive abilities. *Neurobiology of Aging*, 25(9), 1127-1139.

11. Mikhail F.M., Lose E. J., Robin N. H., Descartes M., D., Rutledge K. D., Rutledge S. L., Korf B. R., Carroll A. J. (2011), Clinically relevant single gene or intragenic deletions encompassing critical neurodevelopmental genes in patients with developmental delay, mental retardation, and/or autism spectrum disorders. *American Journal of Medical Genetics*, 155a(10), 2386-96.

12. Marucci G., Moruzzi M., Amenta F. (2020), Chapter 31 - Donepezil in the treatment of Alzheimer's disease, in *Diagnosis and Management in Dementia*, Academic Press, 495-510.

13. Ennaceur A., Neave N., Aggleton J. (1996), Neurotoxic lesions of the perirhinal cortex do not mimic the behavioural effects of fornix transection in the rat. *Behavioural Brain Research*, 80(1-2), 9-25.

14. Barker G. R., Warburton E. C. (2011), When is the hippocampus involved in recognition memory?, *the Journal of Neuroscience*, 31(29), 10721-31.

15. Warburton E. C., Barker G. R., Brown M.W. (2013), Investigations into the involvement of NMDA mechanisms in recognition memory. *Neuropharmacology*, 74, 41-7.

16. Hattiangady B., Mishra V., Kodali M., Shuai B., Rao X., Shetty A.K. (2014), Object location and object recognition memory impairments, motivation deficits and depression in a model of Gulf War illness. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 78-78.

17. Manns J. R., Eichenbaum H. (2009), A cognitive map for object memory in the hippocampus. *Learning Memory*, 16(10), 616-24.

18. Walsh T.J., Miller D.B., Dyer R.S. (1982), Trimethyltin, a selective limbic system neurotoxicant, impairs radial-arm maze performance. *Neurobehavioral Toxicology & Teratology*, 4(2), 177-183.

19. Parihar V.K., Hattiangady B., Shuai B., Shetty A.K. (2013), Mood and memory deficits in a model of Gulf War illness are linked with reduced neurogenesis, partial neuron loss, and mild inflammation in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, 38(12), 2348-62.

20. Park H. J., Lee S. Y., Shim H. S., Kim J. S., Kim K. S., Shim I. (2012), Chronic treatment with squid phosphatidylserine activates glucose uptake and ameliorates TMT-induced cognitive deficit in rats via activation of cholinergic systems. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012(1), 601018.

21. Whittington D. L., Woodruff M. L., Baisden R. H. (1989), The time-course of trimethyltin-induced fiber and terminal degeneration in hippocampus. *Neurotoxicology and Teratology*, 11(1), 21-33.

22. Otsu M., Hiles I., Fry M. J., Ruiz-Larea F., Panayotou G., Thompson A., Dhand R., Hsuan J., Totty N. (1991), Characterization of two 85 kd proteins that associate with receptor tyrosine kinases, middle-T/pp60c-src complexes, and PI3-kinase. *Cell Press*, 65(1), 91-104.

23. Fruman D. A. (2011), Regulatory subunits of class IA PI3K, in *phosphoinositide 3-kinase in health and disease: Volume 1*, C. Rommel, B. Vanhaesebroeck, and K. Vogt, Editors., Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 225-244.

24. Le Marchand-Brustel G. Y., Tanti J. F. (2005), Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie*, 87(1), 99-10.

25. Shaw, L.M. (2011), The insulin receptor substrate (IRS) proteins. *Cell Cycle*, 10(11), 1750-1756.

26. Morione A., Navarro M., Romano G., Dewes M., Reiss K., Valentini B., Belletti B., Baserga R. (2001), The role of the insulin receptor substrate-1 in the differentiation of rat hippocampal neuronal cells. *Oncogene*, 20(35), 4842-4852.

27. Backer J. M., Myers M. G., Shoelson S. E., Chin D. J., Sun X. J., Miralpeix M. Hu P., Margolis B., Skolnik E. Y., Schlessinger J. (1992), Phosphatidylinositol 3'-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. *The EMBO Journal*, 11(9), 3469-3479.

28. Cantley L. C. (2002), The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*, 296(5573), 1655-1657.

29. Tu Y. F., Jiang S. T., Chow Y. H., Huang C. C., Ho C. J., Chou Y. P. (2016), Insulin receptor substrate-1 activation mediated p53 downregulation protects against hypoxic-ischemia in the neonatal brain. *Molecular Neurobiology*, 53(6), 3658-3669.

30. de la Monte S. M., Ganju N., Banerjee K., Brown N. V., Luong T., Wands J. R. (2000), Partial rescue of ethanol-induced neuronal apoptosis by growth factor activation of phosphoinositide-3-kinase. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24(5), 716-726.

31. Zhao W., Pan X., Li T., Zhang C., Shi N. (2016), Lycium barbarum polysaccharides protect against trimethyltin chloride-induced apoptosis via sonic hedgehog and PI3K/Akt signaling pathways in mouse neuro-2a cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1), 9826726.

32. Casalbore P., Barone I., Felsani A., D'Agostino I., Michetti F., Maira G., Cenciarelli C. (2010), Neural stem cells modified to express BDNF antagonize trimethyltin-induced neurotoxicity through PI3K/Akt and MAP kinase pathways. *Journal of Cellular Physiology*, 224(3), 710-721.

33. Vecchio L. M., Sullivan P., Dunn A. R., Bermejo M. K., Fu R., Masoud S. t., Gregersen E., Urs N. M., Nazari R., Jensen P. H., Ramsey A., Goldstein D. S., Miller G. W., Salahpour A. (2021), Enhanced tyrosine hydroxylase activity induces oxidative stress, causes accumulation of autotoxic catecholamine metabolites, and augments amphetamine effects in vivo. *Journal of Neurochemistry*, 158(4), 960-979.

34. Zhou Z. D., Saw W. T., Ho P. G. H., Zhang Z. W., Zeng L., Chang Y. Y., Sun A. X. Y., Ma D. R., Wang H. Y., Zhou L., Lim K. L., Tan E. K. (2022), The role of tyrosine hydroxylase-dopamine pathway in Parkinson's disease pathogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 79(12), 599.

35. Chen H., Teng Y., Chen X., Liu Z., Geng F., Liu Y., Jiang H., Wang Z., Yang L. (2021), Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB protects dopaminergic neurons via activation of Akt/ERK1/2/CREB pathways to upregulate tyrosine hydroxylase. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 27(11), 1300-1312.

Tạp chí Dược liệu, tập 30, số 1/2025 (Trang 43 - 47)

TÁC DỤNG CHỐNG LÃO HÓA DA CỦA MỸ PHẨM ĐẮP MẶT CHỨA CAO DƯƠNG XÍ VÀ ASTAXANTHIN TRÊN MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM

**Lê Hồng Oanh¹, Nguyễn Thị Lê¹, Phạm Thị Kiều Dung¹, Đoàn Thị Nguyệt¹,
Nguyễn Thị Thanh Hà², Phạm Thị Vân Anh², Phương Thiện Thương¹, Mai Thị Nga^{1,*}**

¹Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam - Hàn Quốc (VKIST); ²Đại học Y Hà Nội

*Email: maingamt@gmail.com

(Nhận bài ngày 18 tháng 12 năm 2024)

Tóm tắt

Nghiên cứu này đánh giá tác dụng chống lão hóa da của mỹ phẩm đắp mặt chứa cao dương xỉ *Dryopteris crassirhizoma* Nakai và astaxanthin (gọi tắt là mặt nạ) trên mô hình lão hóa da trên chuột gây bởi D-galactose liều 1000 mg/kg tiêm dưới da. Tác dụng chống lão hóa da của mặt nạ trên chuột ở hai mức liều là 0,2 mL/lần, 01 lần/ngày và liều 0,2 mL/lần, 02 lần/ngày; chứng dương sử dụng là vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày, cùng bôi trong 42 ngày. Kết quả cho thấy ở cả hai mức liều nghiên cứu mặt nạ đều cải thiện đại thể và vi thể da chuột, tăng độ ẩm da, tăng nồng độ hydroxyprolin và giảm nồng độ malondialdehyd da chuột, làm tăng độ dày lớp thượng bì và trung bì da chuột, so với lô mô hình ($p < 0,05$); tương đương với chứng dương vitamin E 1% liều 0,2 mL/ngày. Kết quả đã ghi nhận mặt nạ chứa cao dương xỉ có tác dụng chống lão hóa da trên mô hình chuột bị gây lão hóa bởi D-galactose.

Từ khóa: Cao dương xỉ (*Dryopteris crassirhizoma* Nakai), Astaxanthin, Mỹ phẩm đắp mặt (mặt nạ), Chống lão hóa da.