



EVALUATE THE ACUTE TOXICITY AND THE SEDATIVE ACTIVITY OF AN THAN - TN TABLETS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Tran Thanh Binh^{1,*}, Truong Thi Thu Huong¹, Hoang Cong Huy¹, Pham Thi Van Anh², Luu Hong Son³

¹Thai Nguyen Traditional Medicine Hospital, Vietnam

²Hanoi Medical University, Vietnam

³Faculty of Biotechnology and Food technology, Vietnam

*Email address: thanhbinhyhcttn@gmail.com

<http://doi.org/10.51453/2354-1431/2021/597>

Article info

Received: 25/5/2021

Accepted: 05/7/2021

Keywords:

An than - TN tablets,
acute toxicity, advanced
cross model, activity cage
model, Rotarod test.

Abstract:

To evaluate the acute toxicity of An than - TN tablets made in Thai Nguyen traditional medicine hospital in experimental animals to the guidelines of the World Health Organization. The sedative effect was examined by advanced cross model, activity cage model, and the able to maintain of Swiss mice on the rotating rod of Rotarod test was assessed. The results showed that An than - TN from a dose of 21.2625g/kg to the highest dose of 35.4375g/kg did not show acute toxicity in mice. An Than - TN tablets at the dose of 1.44 tablets/kg/day and 4.32 tablets/kg/day did show the sedative activity on activity cage model, the advance cross and shortened the maintaining time of Swiss mice on Rotarod. Therefore, An than - TN tablet expressed no acute toxicity and had the effect of treating sleep disorders in experimental animals.



ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG AN THẦN CỦA VIÊN NÉN AN THẦN – TN TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Trần Thanh Bình^{1*}, Trương Thị Thu Hương¹, Hoàng Công Huy¹, Phạm Thị Vân Anh², Lưu Hồng Sơn³

¹Bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên, Việt Nam

²Đại học Y Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, Việt Nam

*Địa chỉ email: thanhbinhyhcttn@gmail.com

<http://doi.org/10.51453/2354-1431/2021/597>

Thông tin bài viết

Ngày nhận bài: 25/5/2021

Ngày duyệt đăng: 05/7/2021

Từ khóa:

Viên nén An thần – TN, độc tính cấp, mô hình đo hoạt động ký, mô hình dấu cộng nâng cao, trục quay Rotarod.

Tóm tắt

Đánh giá độc tính cấp của viên nén An thần –TN sản xuất tại Bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên trên động vật thực nghiệm theo hướng dẫn của Tổ chức y tế thế giới. Đánh giá tác dụng an thần bằng mô hình đo hoạt động ký, mô hình dấu cộng nâng cao, đánh giá ảnh hưởng lên sức bám của chuột trên trục quay Rotarod. Kết quả cho thấy các lô chuột uống An thần – TN ở liều từ 21,2625 gam cao dược liệu/kg đến liều tối đa 35,4375gam cao dược liệu/kg không có biểu hiện độc tính cấp. An thần - TN liều 1,44 viên/kg/ngày và 4,32 viên/kg/ngày đều thể hiện tác dụng an thần trên mô hình đo hoạt động ký, mô hình dấu cộng nâng cao, làm rút ngắn thời gian bám của chuột nhất trắng trên trục quay Rotarod. Do đó viên nén An thần – TN không có biểu hiện độc tính cấp và có tác dụng điều trị tình trạng rối loạn giấc ngủ trên chuột thử nghiệm.

1. Đặt vấn đề

Mất ngủ là một chứng bệnh khá phổ biến hiện nay. Tuy nhiên đến nay việc điều trị mất ngủ đang gặp không ít khó khăn. Ở các cơ sở y tế các thầy thuốc dùng phương pháp điều trị chủ yếu là: Điều chỉnh chế độ sinh hoạt, dùng các thuốc an thần là các dẫn chất benzodiazepine, barbiturat [7]. Tuy nhiên việc sử dụng các thuốc này kéo dài và liều cao có thể dẫn đến nhiều tác dụng phụ như làm tăng thời gian ngủ gà vào ban ngày hay lệ thuộc thuốc [7]. Chính vì vậy các nhà khoa học đang có xu hướng sử dụng thuốc có nguồn gốc thảo dược để khắc phục những tác dụng không mong muốn và

tình trạng lệ thuộc thuốc của các thuốc an thần tây y. Viên nén An thần – TN do Bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên sản xuất có nguồn gốc từ bài thuốc cổ phương Toan tảo nhân thang gia giảm được chuyển dạng từ thuốc thang sang dạng bào chế hiện đại là viên nén. Hiện nay, vấn đề an toàn và hiệu quả của thuốc đông y, thuốc từ dược liệu chưa được nghiên cứu đánh giá đầy đủ Bộ Y tế đã ban hành các tài liệu chuyên môn “hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu” Những văn bản này là cơ sở pháp lý cho hoạt động thử nghiệm lâm sàng thuốc

đồng y, thuốc từ dược liệu ở nước ta. Hiện nay trên con đường hiện đại hoá Y học cổ truyền trong sản xuất thuốc từ dược liệu việc nghiên cứu các dạng bào chế mới, tiêu chuẩn hoá, đánh giá tính an toàn và tác dụng của các bài thuốc là rất cần thiết để cung cấp những bằng chứng khoa học về sản phẩm góp phần vào việc khẳng định tính an toàn và hiệu quả của bài thuốc trong pha tiền lâm sàng, từ đó có thể điều trị an toàn và hiệu quả cho người bệnh.

Đề tài này được tiến hành nhằm 2 mục tiêu:

- *Đánh giá độc tính cấp của viên nén An thần – TN trên thực nghiệm*
- *Nghiên cứu tác dụng an thần của viên nén An thần – TN trên thực nghiệm*

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Chất liệu nghiên cứu

Viên nén An thần - TN được sản xuất bởi Bệnh viện Y học cổ truyền Thái Nguyên, thuốc thử đạt tiêu chuẩn cơ sở. Liều dùng dự kiến trên người 6 viên/ngày. Công thức cho 1 viên nén An thần – TN 650mg: Cao toan táo nhân 180mg, Cao tri mẫu 100mg, Cao sinh địa 170mg, Cao bạch linh 120mg, Cao cam thảo 60m, Tá dược vừa đủ

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 18 – 22 g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội 5-10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột (do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp), uống nước tự do.

2.3. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 10 năm 2020 đến tháng 10 năm 2021

2.4. Máy móc, hóa chất phục vụ nghiên cứu

Trục quay Rotarod của Hãng Ugo-Basile (Italy), máy đo hoạt động ký Activity cage của Hãng Ugo-Basile (Italy), mô hình Dấu cộng nâng cao.

2.5. Xử lý số liệu

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

2.6. Phương pháp nghiên cứu

2.6.1. Đánh giá độc tính cấp

Đánh giá độc tính cấp và xác định LD50 của viên nén An thần –TN trên chuột nhắt trắng theo đường uống theo hướng dẫn của Tổ chức y tế thế giới [1], [2], [4].

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

Chuột được chia thành 03 lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống viên nén An thần - TN với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột).

Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD50 của thuốc thử.

Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc thử.

2.6.2. Đánh giá tác dụng an thần của viên nén An thần – TN

**Đánh giá ảnh hưởng của An thần - TN lên sức bám của chuột*

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

- Lô 1 (n=10): (chứng sinh học): uống nước cất 20 ml/kg/ngày
- Lô 2 (n=10): uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày
- Lô 3 (n=10): uống An thần - TN liều 1,44 viên/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12)
- Lô 4 (n=10): uống An thần - TN liều 4,32 viên/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng)

Chuột nhắt trắng được ngày uống nước cất/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Theo dõi các chỉ tiêu ở 2 thời điểm: trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7. Tại mỗi thời điểm xác định thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod. Thời gian bám của chuột được tính từ khi đặt chuột lên trục quay cho tới khi chuột rơi khỏi trục quay [3].

Chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình

nguyên cứu:

Thời gian bấm trên trục quay của chuột.

**Đánh giá ảnh hưởng của An thần - TN trên mô hình đo hoạt động ký*

Chuột nhắt trắng được chia lô như thí nghiệm trên, uống nước cất/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Theo dõi các chỉ tiêu ở 2 thời điểm: trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7 [5].

Chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

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

**Đánh giá ảnh hưởng của An thần - TN trên mô hình dấu cộng nâng cao*

Chuột nhắt trắng được chia lô như thí nghiệm trên, uống nước cất/thuốc thử vào buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Theo dõi các chỉ tiêu ở 2 thời điểm: trước uống thuốc thử và 1 giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối vào ngày thứ 7 [6].

Chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

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

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Đánh giá độc tính cấp

Chuột nhắt trắng được uống thuốc thử An thần -TN từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc nhất tương đương 35,4375 gam cao được liệu/kg, theo dõi thấy các liều An thần -TN không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử.

Bảng 1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Thuốc thử An thần -TN

Lô chuột	n	Liều (viên/kg)	Liều (gam cao /kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	33,75	21,2625	0	Không
Lô 2	10	45,00	28,3500	0	Không
Lô 3	10	56,25	35,4375	0	Không

Nhận xét: Kết quả cho thấy các lô chuột uống An thần -TN ở liều từ 21,2625 gam cao được liệu/kg đến liều tối đa 35,4375gam cao được liệu/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

3.2. Đánh giá tác dụng an thần của viên nén An thần – TN

3.2.1. Đánh giá ảnh hưởng của An thần - TN lên sức bấm của chuột

Bảng 2. Ảnh hưởng của An thần - TN đến thời gian bấm của chuột

Lô chuột	n	Thời gian bấm (giây)		P _{trước-sau}
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
Lô 1: Chứng sinh học	10	181,50 ± 52,77	183,40 ± 42,41	> 0,05
Lô 2: Diazepam	10	180,90 ± 57,94	116,60 ± 37,22	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	
Lô 3	10	182,20 ± 52,01	153,10 ± 37,70	> 0,05
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05	
p so với lô 2		> 0,05	< 0,05	
Lô 4	10	183,10 ± 51,81	127,71 ± 38,65	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả bảng 2 cho thấy sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và An thần - TN liều 4,32 viên/kg/ngày, thời gian bám của chuột trên trục quay Rotarod rút ngắn hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác

biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$ và $p < 0,05$). Lô chuột uống An thần - TN liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng rút ngắn hơn so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.2. Đánh giá ảnh hưởng của An thần - TN trên mô hình đo hoạt động ký

Bảng 3. Ảnh hưởng của An thần - TN đến hoạt động di chuyển theo chiều dọc của chuột

Lô chuột	n	Số lần di chuyển theo chiều dọc		P _{trước-sau}
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
Lô 1: Chứng sinh học	10	23,20 ± 5,71	22,90 ± 5,53	> 0,05
Lô 2: Diazepam	10	23,60 ± 6,65	15,20 ± 5,16	< 0,01
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	
Lô 3	10	23,90 ± 6,12	20,30 ± 5,12	> 0,05
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05	
p so với lô 2		> 0,05	< 0,05	
Lô 4	10	23,40 ± 5,91	16,30 ± 4,52	< 0,01
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	

Bảng 4. Ảnh hưởng của An thần - TN đến hoạt động di chuyển theo chiều ngang của chuột

Lô chuột	n	Số lần di chuyển theo chiều ngang		P _{trước-sau}
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
Lô 1: Chứng sinh học	10	236,90 ± 40,59	237,20 ± 49,11	> 0,05
Lô 2: Diazepam	10	236,10 ± 42,19	166,80 ± 45,79	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	
Lô 3	10	235,80 ± 41,55	213,40 ± 50,43	> 0,05
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05	
p so với lô 2		> 0,05	< 0,05	
Lô 4	10	239,60 ± 43,05	185,90 ± 48,35	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	

Nhận xét: Kết quả bảng 3, 4 cho thấy sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và An thần - TN liều 4,32 viên/kg/ngày, số lần di chuyển theo chiều ngang, số lần di chuyển theo chiều dọc của chuột giảm hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$ và $p < 0,05$). Lô chuột

uống An thần - TN liều 1,44 viên/kg/ngày có xu hướng giảm hơn so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.3. Đánh giá tác dụng của An thần - TN trên mô hình dấu cộng nâng cao

Bảng 5. Ảnh hưởng của An thần - TN đến số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng

Lô chuột	n	Số lần chuột vào nhánh đóng		Thời gian chuột vào nhánh đóng (giây)	
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc
Lô 1: Chứng sinh học	10	9,90 ± 3,00	9,70 ± 2,95	216,30 ± 14,03	218,70 ± 15,54
Lô 2: Diazepam	10	9,70 ± 2,41	3,10 ± 0,99	217,20 ± 13,85	149,00 ± 16,42
p so với lô 1		> 0,05	< 0,0001	> 0,05	< 0,0001
Lô 3	10	9,80 ± 2,35	8,10 ± 1,79	219,62 ± 13,79	209,60 ± 13,83
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p so với lô 2		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05
Lô 4	10	9,50 ± 2,51	3,70 ± 1,06	216,80 ± 12,03	163,60 ± 15,51
p so với lô 1		> 0,05	< 0,0001	> 0,05	< 0,0001
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 6. Ảnh hưởng của An thần - TN đến số lần và thời gian chuột vào nhánh mở

Lô chuột	n	Số lần chuột vào nhánh mở		Thời gian chuột vào nhánh mở (s)	
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc
Lô 1: Chứng sinh học	10	4,60 ± 1,26	4,80 ± 1,14	72,50 ± 14,19	70,30 ± 12,51
Lô 2: Diazepam	10	4,30 ± 1,16	7,30 ± 1,89	72,90 ± 13,54	141,70 ± 18,30
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,0001
Lô 3	10	4,50 ± 1,43	4,90 ± 1,85	70,70 ± 13,33	78,90 ± 10,46
p so với lô 1		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p so với lô 2		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05
Lô 4	10	4,40 ± 1,35	7,10 ± 1,60	72,40 ± 14,72	126,30 ± 18,40
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,0001
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Nhận xét: Kết quả bảng 5, 6 cho thấy sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và An thần - TN liều 4,32 viên/kg/ngày số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng giảm hơn, số lần và thời gian chuột vào nhánh mở tăng hơn từ đó dẫn tới tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột giảm hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$). Lô uống An thần - TN liều 1,44 viên/kg/ngày cũng có xu hướng thay đổi như lô uống An thần - TN liều 4,32 viên/kg/ngày tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

4. Thảo luận

4.1. Về độc tính cấp

Viên nén An thần - TN ở liều 35,4375gam cao được liều/kg (liều gấp 39,1 lần liều trên người)

nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt. Chuột vẫn ăn uống, hoạt động và bài tiết bình thường, không có biểu hiện ngộ độc ở chuột và không có chuột nào chết trong vòng 72 giờ và suốt 2 tuần tiếp theo sau khi uống thuốc [1], [4]. Chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng của viên nén An thần - TN trên đường uống.

4.2. Về tác dụng an thần của viên nén An thần - TN

Với mục tiêu nghiên cứu tác dụng an thần giải lo âu, chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm trên mô hình chử thập nâng cao, đây là mô hình khá đơn giản và được áp dụng trong nhiều nghiên cứu trong nước và ngoài nước với thuốc đối chiếu là Diazepam [1], [2]. Để có thêm cơ sở chứng minh tác dụng an thần giải lo âu, chúng tôi tiếp tục thử

nghiệm trên mô hình đo hoạt động ký và đánh giá sức bám của chuột thông qua trục quay Rotarod [3], [5]. Cơ sở của thử nghiệm này là dựa trên khả năng phối hợp thần kinh-cơ, khả năng định hướng không gian, sức căng cơ, khả năng giữ thăng bằng của động vật. Thuốc an thần ức chế thần kinh trung ương, làm giảm phối hợp thần kinh-cơ, giảm khả năng giữ thăng bằng và định hướng không gian nên giảm khả năng đeo bám trên thanh quay của chuột [6].

An thần - TN liều 4,32 viên/kg/ngày làm rút ngắn thời gian bám của chuột nhất trắng trên trục quay Rotarod và giảm hoạt động di chuyển của chuột trên mô hình đo hoạt động ký. Trên mô hình dấu cộng nâng cao, An thần TN làm giảm rõ rệt số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng, tăng số lần và thời gian chuột vào nhánh mở và làm giảm tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. An thần - TN liều 1,44 viên/kg/ngày ở các mô hình cũng có xu hướng thay đổi tương tự như liều 4,32 viên/kg/ngày, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

5. Kết luận

Về độc tính cấp: Viên nén An thần - TN liều 35,4375 gam cao được liều/kg (gấp 39,1 lần liều trên người) không gây độc tính cấp.

Về tác dụng an thần: Viên nén An thần - TN liều 4,32 viên/kg/ngày có tác dụng an thần. Liều

1,44 viên/kg/ngày có xu hướng tác dụng an thần nhưng chưa rõ rệt.

REFERENCES

- [1] National Institute of Medicinal Materials. (2006). *Research Methods on Pharmacological Effects of Herbal Medicine*. Science and Technics Publishing House, Ha Noi, Vietnam
- [2] Gerhard, V. H. (2016). *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
- [3] Robert, M. J. D. (2013). Measuring Motor Coordination in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, 75: 2609.
- [4] World Health Organization. (2013). *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*. Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
- [5] Mill, J., Galsworthy, M. J., Paya-Cano, J. L. (2002). Home-cage activity in heterogeneous stock (HS) mice as a model of baseline activity. *Genes, Brain and Behavior*, **1**(3): 166-173.
- [6] Olayiwola, G., Ukponmwan, O., Olawode, D. (2013). Sedative and anxiolytic effects of the extracts of the leaves of *Stachytarpheta cayennensis* in mice. *African Journal of of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, 10(6):568-579.
- [7] http://thankinh.edu.vn/chi_tiet/254/Tong-Quan-Dieu-Tri-Mat-Ngu.html