



(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)



1-0027236

(51)⁷ A23L 1/29; A61K 9/00; A61K 36/00

(13) B

(21) 1-2014-04215

(22) 20/05/2013

(86) PCT/US2013/041873 20/05/2013

(87) WO 2013/177067 28/11/2013

(30) 61/649,287 19/05/2012 US

(45) 25/01/2021 394

(43) 27/07/2015 328A

(73) Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd. (CN)

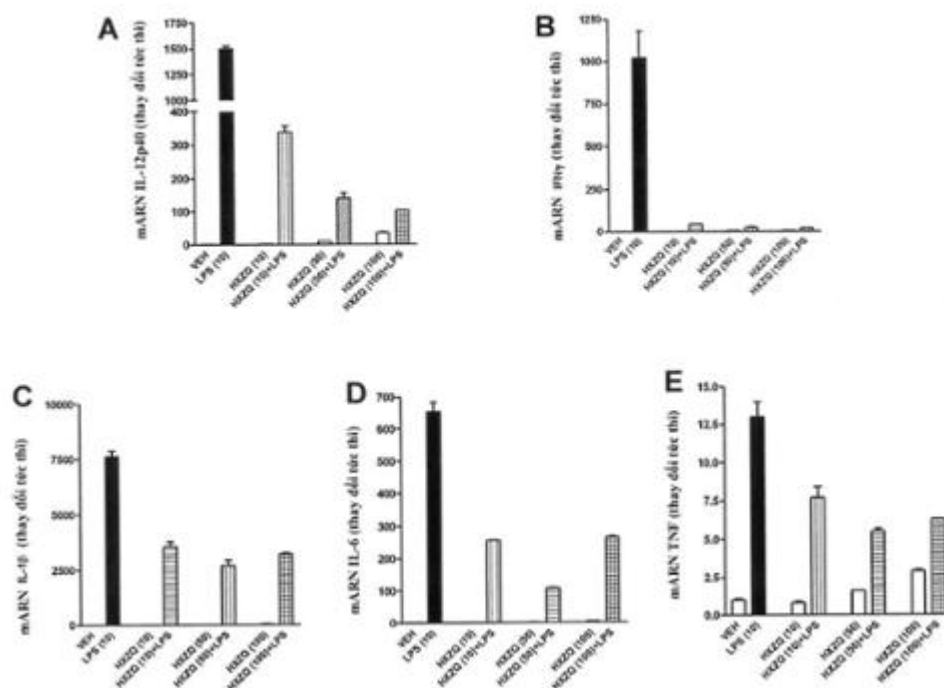
No. 58, Haichang South Road, Xinqu District Lianyungang, Jiangsu Province,
CHINA 222001

(72) ZHAO, Aiping (CN); ZHU, Kejin (CN); XIAO, Wei (CN); WANG, Zhenzhong
(CN).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM THẢO DƯỢC ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH VIÊM DẠ DÀY-RUỘT

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm thảo dược để điều trị bệnh viêm dạ dày-ruột ở đối tượng mắc bệnh này. Sáng chế còn liên quan đến phương pháp sử dụng lượng có hiệu quả làm thuốc của chế phẩm để điều trị bệnh viêm dạ dày-ruột. Cụ thể là, sáng chế liên quan đến việc sử dụng lượng có hiệu quả làm thuốc của dịch chiết có trong chế phẩm thảo dược có khả năng ức chế biểu hiện của các xytokin gây viêm, làm giảm sự phá vỡ của hàng rào biểu mô, và điều biến chức năng ruột.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm thảo dược để điều trị bệnh viêm dạ dày-ruột ở đối tượng mắc bệnh này. Sáng chế còn đề xuất phương pháp sử dụng lượng có hiệu quả làm thuốc của chế phẩm thảo dược để điều trị bệnh viêm dạ dày-ruột. Đặc biệt là, sáng chế đề cập đến việc dùng lượng có hiệu quả làm thuốc của dịch chiết HUOXIANG ZHENGQI (HXZQ) có khả năng ức chế biểu hiện của các xytokin gây viêm, làm giảm sự phá vỡ hàng rào biểu mô, cũng như điều biến chức năng ruột.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Viêm loét đại tràng (ulcerative colitis - UC) và bệnh Crohn (Crohn's disease - CD) là hai bệnh viêm mạn tính được biết chung là bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease - IBD). Ước tính khoảng 1,1 triệu người Mỹ mắc IBD, với khoảng 30000 trường hợp mới được phát hiện mỗi năm (Hanauer SB, 2006). IBD được đặc trưng bởi viêm mạn tính dẫn đến tiêu chảy và đau bụng. Bệnh nhân viêm ruột kết lâu dài có nguy cơ cao phát triển thành ung thư kết-trực tràng. Sự tái phát IBD yêu cầu bệnh nhân kéo dài chăm sóc bằng việc can thiệp phẫu thuật hoặc y tế tăng dần lên để đem lại sự thuyên giảm. Nguyên nhân của IBD không được biết đến, tuy nhiên, nó được nghĩ là kết quả của các thay đổi của hệ vi khuẩn, tổ bẩm di truyền để phát triển bệnh, và đáp ứng miễn dịch niêm mạc bị rối loạn. Hoạt động của lympho bào và sự quá mức của xytokin gây viêm dẫn đến viêm ruột mạn tính. Các nghiên cứu để phát triển các tác nhân điều trị mới tập trung chủ yếu vào các tác nhân sinh học phong bế đặc hiệu việc tạo ra các xytokin Th1 chủ đạo. Các liệu pháp sinh học hiện nay cho bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease - IBD), mục đích là phong bế việc tạo ra các xytokin Th1 chủ đạo, đã đem lại một số lợi ích cho bệnh nhân. Tuy nhiên, các tác nhân này không thể áp dụng phổ biến và thường mất hiệu quả sau khi sử dụng thời gian dài. Ngoài ra, trong khi các liệu pháp kháng Th1 đem lại một số lợi ích cho bệnh nhân mắc IBD, các tác nhân này không thể áp dụng phổ biến. Thứ nhất, chúng không có hiệu quả với tất cả bệnh nhân mắc IBD. Thứ hai, có xu hướng mất hiệu quả theo thời gian do sự phát triển của các kháng thể trung hòa kháng thuốc. Cuối cùng, các

xytokin Th1 cổ điển quan trọng trong việc bảo vệ chống lại các tác nhân gây bệnh nội bào và việc phong bế các xytokin chủ đạo này có thể đặt bệnh nhân vào rủi ro lớn hơn trong việc phát triển hoặc tái kích hoạt một số bệnh lây nhiễm nhất định.

Liệu pháp thảo dược Trung Quốc đã được sử dụng để điều trị các triệu chứng dạ dày-ruột (gastrointestinal - GI) trong nhiều thế kỷ, nhưng hiệu quả và các cơ chế cơ bản không được biết đến rộng rãi. Thông thường, các chế phẩm thảo dược truyền thống chứa nhiều thành phần khác nhau hoạt động trên nhiều vị trí/con đường có tác dụng hiệp đồng tiềm năng và phản ứng hóa học giữa các thành phần thảo dược có thể đạt hiệu quả tối đa.

HUOXIANG ZHENGQI là chế phẩm dược Trung Quốc có nguồn gốc từ sách y cổ Trung Quốc “Formularies of the Bureau of the People’s Welfare Pharmacies” và được sử dụng theo cách truyền thống để điều trị cảm nhiệt và các rối loạn liên quan đến GI. Vì vậy, có mong muốn điều tra các hiệu quả của chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI* với các bệnh viêm dạ dày-ruột, đặc biệt là hiệu quả với việc tạo ra xytokin từ các tế bào miễn dịch bẩm sinh, khả năng của chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI* để phong bế/làm giảm chức năng hàng rào bị rối loạn, và các hiệu quả của chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI* với việc điều biến sự co cơ trơn ở ruột và tiết biểu mô.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm thảo dược để điều trị các bệnh viêm GI ở đối tượng mắc bệnh này. Sáng chế còn đề xuất phương pháp sử dụng lượng có hiệu quả làm thuốc của chế phẩm thảo dược để điều trị các bệnh viêm GI.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm thảo dược để điều trị các bệnh viêm GI ở đối tượng chứa các dịch chiết thu được từ *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, và *Angelicae Dahuricae Radix*.

Theo một khía cạnh của phương án này, khoảng đơn vị theo khối lượng cho mỗi thành phần thảo dược như sau: *Pogostemonis Herba* nằm trong khoảng từ 18% khối lượng đến 48% khối lượng của chế phẩm, *Perillae Folium* nằm trong khoảng từ 6% khối lượng đến 16% khối lượng của chế phẩm, *Citri Reticulatae Pericarpium* nằm

trong khoảng từ 12% khối lượng đến 32% khối lượng của chế phẩm, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 12% khối lượng đến 32% khối lượng của chế phẩm, và *Angelicae Dahuricae Radix* nằm trong khoảng từ 6% khối lượng đến 16% khối lượng của chế phẩm.

Theo khía cạnh khác của phương án này, khoảng đơn vị theo khối lượng cho mỗi thành phần thảo dược như sau: *Pogostemonis Herba* nằm trong khoảng từ 28% khối lượng đến 38% khối lượng của chế phẩm, *Perillae Folium* nằm trong khoảng từ 9% khối lượng đến 13% khối lượng của chế phẩm, *Citri Reticulatae Pericarpium* nằm trong khoảng từ 17% khối lượng đến 27% khối lượng của chế phẩm, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 17% khối lượng đến 27% khối lượng của chế phẩm, và *Angelicae Dahuricae Radix* nằm trong khoảng từ 9% khối lượng đến 13% khối lượng của chế phẩm.

Theo khía cạnh khác nữa của phương án này, số đơn vị theo khối lượng cho mỗi thành phần thảo dược như sau: *Pogostemonis Herba* là khoảng 33% khối lượng của chế phẩm, *Perillae Folium* là khoảng 11% khối lượng của chế phẩm, *Citri Reticulatae Pericarpium* là khoảng 22% khối lượng của chế phẩm, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* là khoảng 22% khối lượng của chế phẩm, và *Angelicae Dahuricae Radix* là khoảng 11% khối lượng của chế phẩm.

Theo khía cạnh khác của phương án này, chế phẩm thảo dược là lượng có hiệu quả làm thuốc của các dịch chiết của tinh dầu từ thành phần thảo dược và tinh dầu được chiết xuất bằng cách chưng cất bằng hơi nước theo các thành phần thảo dược để tạo thành dung dịch nước.

Sáng chế cũng đề xuất các chế phẩm thảo dược chứa lượng hiệu quả chế phẩm ở trên và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược dược dụng, hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, chế phẩm ở trên là viên tròn, viên nang, hạt, viên nén, dạng hỗn dịch, dạng tiêm, sirô, hoặc cồn thuốc.

Sáng chế đề cập đến việc sử dụng lượng làm thuốc của chế phẩm thảo dược để ức chế biểu hiện của các xytokin gây viêm từ đại thực bào kích thích nội độc tố - LPS, làm giảm sự phá vỡ do IFN γ gây ra của hàng rào biểu mô, cũng như điều biến chức

năng ruột. Các hoạt động này góp phần vào hiệu quả có lợi của chế phẩm chống lại các bệnh hoặc các rối loạn viêm GI bao gồm bệnh viêm ruột (bệnh loét và bệnh Crohn), hội chứng ruột dễ bị kích thích, bệnh ở bụng, và các triệu chứng cai chế phẩm có thuốc phiện, như tiêu chảy.

Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, phương pháp được đề xuất để điều trị các bệnh viêm GI bằng cách cho đối tượng sử dụng lượng hiệu quả của chế phẩm thảo dược chứa các dịch chiết từ *Pogostemonis Herba* và *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, và *Angelicae Dahuricae Radix*.

Theo một khía cạnh của phương án này, chế phẩm thảo dược điều biến biểu hiện của các xytokin gây viêm, làm giảm sự phá vỡ của hàng rào biểu mô, hoặc điều biến chức năng ruột ở đối tượng mắc bệnh viêm GI.

Theo một phương án khác, chế phẩm thảo dược để điều trị các bệnh viêm GI chứa các dịch chiết thu được từ *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Angelicae Dahuricae Radix*, *Magnoliae Officinalis Cortex*, *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Platycodonis radix*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*.

Theo khía cạnh của phương án này, khoảng đơn vị theo khối lượng cho mỗi thành phần thảo dược như sau: *Pogostemonis Herba* nằm trong khoảng từ 10% khối lượng đến 20% khối lượng của chế phẩm, *Perillae Folium* nằm trong khoảng từ 2,5% khối lượng đến 7,5% khối lượng của chế phẩm, *Citri Reticulatae Pericarpium* nằm trong khoảng từ 5% khối lượng đến 15% khối lượng của chế phẩm, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 5% khối lượng đến 15% khối lượng của chế phẩm, *Angelicae Dahuricae Radix* nằm trong khoảng từ 2,5% khối lượng đến 7,5% khối lượng của chế phẩm, *Magnoliae Officinalis Cortex* nằm trong khoảng từ 5% khối lượng đến 15% khối lượng của chế phẩm, *Pinelliae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 5% khối lượng đến 15% khối lượng của chế phẩm, *Poria* nằm trong khoảng từ 2,5% khối lượng đến 7,5% khối lượng của chế phẩm, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma* nằm trong khoảng từ 5% khối lượng đến 15% khối lượng của chế phẩm, *Arecae*

Pericarpium nằm trong khoảng từ 2,5% khối lượng đến 7,5% khối lượng của chế phẩm, *Platycodonis radix* nằm trong khoảng từ 5% khối lượng đến 15% khối lượng của chế phẩm, *Zingiberis rhizoma recens* nằm trong khoảng từ 0,5% khối lượng đến 2,5% khối lượng của chế phẩm, và *Jujubae Fructus* nằm trong khoảng từ 1,5% khối lượng đến 3,5% khối lượng của chế phẩm.

Theo khía cạnh khác của phương án này, khoảng đơn vị theo khối lượng cho mỗi thành phần thảo dược như sau: *Pogostemonis Herba* nằm trong khoảng từ 12,5% khối lượng đến 17,5% khối lượng của chế phẩm, *Perillae Folium* nằm trong khoảng từ 4% khối lượng đến 6% khối lượng của chế phẩm, *Citri Reticulatae Pericarpium* nằm trong khoảng từ 7,5% khối lượng đến 12,5% khối lượng của chế phẩm, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 7,5% khối lượng đến 12,5% khối lượng của chế phẩm, *Angelicae Dahuricae Radix* nằm trong khoảng từ 4% khối lượng đến 6% khối lượng của chế phẩm, *Magnoliae Officinalis Cortex* nằm trong khoảng từ 7,5% khối lượng đến 12,5% khối lượng của chế phẩm, *Pinelliae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 7,5% khối lượng đến 12,5% khối lượng của chế phẩm, *Poria* nằm trong khoảng từ 4% khối lượng đến 6% khối lượng của chế phẩm, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma* nằm trong khoảng từ 7,5% khối lượng đến 12,5% khối lượng của chế phẩm, *Arecae Pericarpium* nằm trong khoảng từ 4% khối lượng đến 6% khối lượng của chế phẩm, *Platycodonis radix* nằm trong khoảng từ 7,5% khối lượng đến 12,5% khối lượng của chế phẩm, *Zingiberis rhizoma recens* nằm trong khoảng từ 1% khối lượng đến 2% khối lượng của chế phẩm, và *Jujubae Fructus* nằm trong khoảng từ 2% khối lượng đến 3% khối lượng của chế phẩm.

Theo khía cạnh khác của phương án này, phần trăm khối lượng cho mỗi thành phần thảo dược như sau: *Pogostemonis Herba* là khoảng 15% khối lượng của chế phẩm, *Perillae Folium* là khoảng 5% khối lượng của chế phẩm, *Citri Reticulatae Pericarpium* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Angelicae Dahuricae Radix* là khoảng 5% khối lượng của chế phẩm, *Magnoliae Officinalis Cortex* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Pinelliae Rhizoma* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Poria* là khoảng 5% khối lượng của chế phẩm, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Arecae Pericarpium* là khoảng 5% khối lượng

của chế phẩm, *Platycodonis radix* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Zingiberis rhizoma recens* là khoảng 1,5% khối lượng của chế phẩm, và *Jujubae Fructus* là khoảng 2,5% khối lượng của chế phẩm.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm thảo dược để điều trị các bệnh viêm GI ở đối tượng mắc bệnh này, được bào chế từ lượng hiệu quả hỗn hợp của ít nhất là dịch chiết thứ nhất và dịch chiết thứ hai. Dịch chiết thứ nhất chứa dịch chiết từ dung dịch rượu tinh chế của thảo dược *Magnoliae Officinalis Cortex*. Dịch chiết thứ hai chứa phần còn lại là nguyên liệu làm thuốc của *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* và *Angelicae Dahuricae Radix* sau khi loại bỏ tinh dầu bằng cách chưng cất các thành phần thảo dược ở trên này, sắc với *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Platycodonis radix*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*, kết hợp với dịch chiết từ dung dịch nước tinh chế của *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Platycodonis radix*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*.

Theo một khía cạnh của phương án này, dịch chiết thứ nhất là để chiết xuất *Magnoliae Officinalis Cortex* có 60% etanol trong ba lần, và được lọc thành phần dịch lọc, và phần dịch lọc này được kết hợp và cô đặc thành dịch chiết dạng nhão.

Theo khía cạnh khác của phương án này, tinh dầu được chiết xuất từ phần cất của quá trình chưng cất bằng hơi nước của *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* và *Angelicae Dahuricae Radix*. Dung dịch có nước tinh chế được bỏ đi sau khi tinh dầu được chiết xuất từ phần cất. Phần còn lại là nguyên liệu làm thuốc thu được sau khi chưng cất bằng hơi nước của các thành phần thảo dược ở trên.

Theo khía cạnh khác nữa của phương án này, dịch chiết thứ hai được lọc, phần dịch lọc được cô đặc tới thể tích thích hợp, ly tâm, và cô đặc thêm thành dịch chiết dạng nhão.

Theo khía cạnh khác của phương án này, hỗn hợp của dịch chiết thứ nhất và dịch chiết thứ hai được kết hợp với tinh dầu.

Theo khía cạnh khác của phương án này, sáng chế cũng đề xuất chế phẩm thảo dược chứa lượng hiệu quả chế phẩm ở trên và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng, hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo khía cạnh khác nữa, chế phẩm ở trên là viên tròn, viên nang, hạt, viên nén, dạng hỗn dịch, thuốc tiêm, sirô, hoặc cồn thuốc.

Theo phương án ưu tiên khác, sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị các bệnh viêm GI ở đối tượng bao gồm cho đối tượng sử dụng lượng hiệu quả chế phẩm thảo dược chứa các dịch chiết từ *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Angelicae Dahuricae Radix*, *Magnoliae Officinalis Cortex*, *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Platycodonis radix*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*.

Một khía cạnh của phương án này, bệnh viêm GI được chọn từ nhóm bao gồm: bệnh ruột bao gồm bệnh loét và bệnh Crohn, hội chứng ruột dễ bị kích thích, bệnh ở bụng, triệu chứng cai chế phẩm có thuốc phiện, và tiêu chảy.

Theo khía cạnh khác của phương án này, chế phẩm thảo dược điều biến biểu hiện của các xytokin gây viêm, làm giảm sự phá vỡ của hàng rào biểu mô, hoặc điều biến chức năng ruột ở đối tượng bị bệnh viêm GI.

Các đặc điểm, thuận lợi này và các phương án khác theo sáng chế còn được làm rõ, trong phần còn lại của bản mô tả này, với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Để hiểu biết đầy đủ về bản chất và các mục đích mong muốn của sáng chế, tham khảo phần mô tả chi tiết sau đây với các hình vẽ kèm theo.

FIG. 1A-FIG. 1E thể hiện biểu hiện mRNA của các xytokin viêm bởi phản ứng chuỗi trùng hợp - PCR thời gian thực sau khi điều trị bằng các dịch chiết *HUOXIANG ZHENGQI (HXZQ)*.

FIG. 2A-FIG. 2F thể hiện biểu hiện mRNA của các cytokin viêm bởi phản ứng chuỗi trùng hợp - PCR thời gian thực sau khi điều trị bằng tinh dầu *HUOXIANG ZHENGQI* (HXZQ).

FIG. 3A-FIG. 3E thể hiện các hiệu quả của dịch chiết *HUOXIANG ZHENGQI* (HXZQ) và tinh dầu làm giảm hàng rào biểu mô phá vỡ IFN γ .

FIG. 4A-FIG. 4D thể hiện các hiệu quả của dịch chiết *HUOXIANG ZHENGQI* (HXZQ) lên sự co cơ trơn ở ruột.

FIG. 5A-FIG. 5C thể hiện các dịch chiết *HUOXIANG ZHENGQI* (HXZQ) giảm tiết biểu mô ruột.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế có thể được hiểu dễ dàng hơn bằng cách tham khảo phần mô tả sáng chế chi tiết sau đây. Được hiểu rằng sáng chế không giới hạn ở thiết bị, phương pháp, điều kiện hoặc các thông số cụ thể được mô tả trong bản mô tả này, và thuật ngữ được sử dụng trong tài liệu này là nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể chỉ bằng ví dụ và không dự định sẽ bị hạn chế bởi sáng chế được yêu cầu bảo hộ. Ngoài ra, như được sử dụng trong bản mô tả bao gồm bộ yêu cầu bảo hộ kèm theo, dạng số ít được dùng như dạng số nhiều, và viện dẫn đến giá trị số cụ thể bao gồm ít nhất là giá trị cụ thể đó, trừ khi ngữ cảnh rõ ràng chỉ ra khác. Khoảng có thể được biểu hiện trong tài liệu này dưới dạng từ "khoảng" hoặc "xấp xỉ" một giá trị cụ thể và/hoặc đến "khoảng" hoặc "xấp xỉ" giá trị cụ thể khác. Khi khoảng này được biểu hiện, phương án khác bao gồm từ một giá trị cụ thể và/hoặc đến giá trị cụ thể khác. Tương tự, khi giá trị này được biểu hiện bằng xấp xỉ, bằng cách sử dụng tiền đề "khoảng", sẽ được hiểu rằng giá trị cụ thể tạo ra phương án khác.

Chi tiết của một hay nhiều phương án của sáng chế được nêu trong bản mô tả này. Các thay đổi với phương án được miêu tả trong bản mô tả này, và các phương án khác, sẽ rõ ràng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sau khi nghiên cứu thông tin được cung cấp trong bản mô tả này. Thông tin được cung cấp trong bản mô tả này, và đặc biệt là các chi tiết cụ thể của các phương án làm thí dụ được mô tả, chủ yếu được cung cấp để hiểu rõ, và không có giới hạn không cần thiết

để hiểu từ đó.

Trong khi các thuật ngữ sau đây được tin là hiểu rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, các định nghĩa được nêu để tạo thuận lợi cho việc giải thích sáng chế.

Trừ khi được xác định bằng cách khác, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa tương tự như ý hiểu thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà sáng chế có liên quan tới. Mặc dù nhiều phương pháp, thiết bị, và nguyên liệu tương tự hoặc tương đương với các phương pháp, thiết bị, và nguyên liệu được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng trong thực tiễn hoặc thử nghiệm sáng chế, các phương pháp, thiết bị, và nguyên liệu đại diện hiện được mô tả.

Theo quy ước luật sáng chế lâu nay, các thuật ngữ số ít dùng để chỉ “một hoặc nhiều” khi sử dụng trong sáng chế này, bao gồm các yêu cầu bảo hộ. Vì vậy, ví dụ, viện dẫn “polyme” bao gồm nhiều polyme này, và v.v.

Trừ khi được quy định khác, tất cả các số biểu hiện số lượng thành phần, các tính chất như điều kiện phản ứng, và v.v. được sử dụng trong bản mô tả này và các yêu cầu bảo hộ là nhằm được hiểu như được sửa đổi trong tất cả các trường hợp của thuật ngữ “khoảng”. Vì vậy, trừ khi có chỉ định ngược lại, các thông số dạng số nêu trong bản mô tả này và các yêu cầu bảo hộ là gần đúng có thể khác nhau tùy thuộc vào tính chất mong muốn tìm kiếm để thu được bằng sáng chế.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “khoảng”, khi dùng để chỉ giá trị hoặc lượng khối lượng, trọng lượng, thời gian, thể tích, nồng độ hoặc phần trăm có nghĩa là bao gồm các biến thể theo một số phương án là $\pm 20\%$, theo một số phương án là $\pm 15\%$, theo một số phương án là $\pm 10\%$, theo một số phương án là $\pm 5\%$, theo một số phương án là $\pm 2,5\%$, theo một số phương án là $\pm 2\%$, theo một số phương án là $\pm 1\%$, theo một số phương án là $\pm 0,5\%$, và theo một số phương án là $\pm 0,1\%$ từ lượng cụ thể, vì các biến thể này phù hợp để thực hiện phương pháp được công bố. Cũng sẽ hiểu rằng có một số giá trị được bộc lộ trong bản mô tả này, và mỗi giá trị cũng được bộc lộ trong bản mô tả này dưới dạng “khoảng” mà giá trị cụ thể thêm vào giá trị của nó. Ví

dụ, nếu giá trị “10” được bộc lộ, sau đó “khoảng 10” cũng được bộc lộ. Cũng sẽ hiểu rằng mỗi đơn vị giữa hai đơn vị cụ thể cũng được bộc lộ. Ví dụ, nếu 10 và 15 được công bố, sau đó 11, 12, 13, và 14 cũng được bộc lộ.

Các thuật ngữ “việc điều trị” hoặc “điều trị”, như được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ức chế quá trình phá hủy mô, ngừng sự phát triển phá hủy mô, làm giảm tính nghiêm trọng của sự phá hủy mô, cải thiện hoặc làm giảm các triệu chứng liên quan đến sự phá hủy mô, và sửa chữa, tái tạo, và/hoặc gây sự thoái triển mô bị phá hủy hoặc một hay nhiều triệu chứng liên quan đến mô bị phá hủy.

Thuật ngữ “lượng hiệu quả” được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ lượng chế phẩm (ví dụ, chế phẩm thảo dược có chứa các thành phần thảo dược của sáng chế) đủ để điều trị bệnh như được xác định trong bản mô tả này (ví dụ, làm giảm sự phá vỡ hàng rào biểu mô ở hệ thống GI). Lượng thực tế chế phẩm của sáng chế có thể thay đổi để sử dụng lượng chế phẩm hiệu quả để đạt được đáp ứng mong muốn cho đối tượng cụ thể và/hoặc áp dụng cho bệnh cụ thể. Lượng đã chọn sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm hoạt tính của chế phẩm, dạng bào chế, đường dùng thuốc, kết hợp với các thuốc hoặc phương pháp điều trị khác, sự nghiêm trọng của tình trạng bệnh được điều trị, và tình trạng cơ thể và tiền sử bệnh án của đối tượng được điều trị. Xác định và điều biến của lượng điều trị hiệu quả, cũng như đánh giá khi nào và làm thế nào để thực hiện điều biến này, được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực y học.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể bao gồm “lượng điều trị hiệu quả” của phần làm thuốc theo sáng chế. Thuật ngữ, “lượng điều trị hiệu quả” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là lượng hợp chất hoặc chế phẩm (ví dụ, các dịch chiết hoặc tinh dầu *HUXIANG HUANGQI*) đủ để đem lại thay đổi tích cực đáng kể ở tình trạng bệnh được kiểm soát hoặc được điều trị, nhưng đủ thấp để tránh các tác dụng phụ nếu có (ở tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý), trong phạm vi đánh giá y học chắc chắn. Lượng hợp chất hoặc chế phẩm điều trị hiệu quả sẽ thay đổi tùy theo tình trạng bệnh cụ thể được điều trị, độ tuổi và tình trạng cơ thể của người sử dụng cuối, sự nghiêm trọng của tình trạng bệnh điều trị/ngăn ngừa, thời gian điều trị, bản chất của liệu pháp đồng thời, hợp chất hoặc chế phẩm đặc hiệu được sử dụng, chất mang dược dụng cụ thể được dùng,

và các yếu tố tương tự. Được sử dụng trong bản mô tả này, tất cả tỷ lệ phần trăm là theo khối lượng trừ khi có quy định khác.

Dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được *tự nó* sử dụng cho đối tượng động vật có vú, hoặc ở dược phẩm trong đó chúng được trộn với các thành phần hoạt tính khác, như ở liệu pháp kết hợp, hoặc các chất mang hoặc (các) tá dược thích hợp. Kỹ thuật bào chế và sử dụng các chế phẩm được mô tả trong đơn có thể được tìm thấy trong "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, Pa., 18th edition, 1990. Các đường dùng phù hợp có thể, ví dụ, bao gồm dùng qua đường miệng, đường hậu môn, qua niêm mạc, hoặc ruột.

Với đối tượng được bộc lộ theo sáng chế, đối tượng được ưu tiên là đối tượng động vật có xương sống. Động vật có xương sống được ưu tiên là có máu nóng, động vật có xương sống có máu nóng được ưu tiên là động vật có vú. Động vật có vú được ưu tiên nhất là con người. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "đối tượng" bao gồm cả đối tượng con người và động vật. Vì vậy, việc sử dụng điều trị cho thú y được đề xuất theo sáng chế. Như vậy, sáng chế đề xuất sự chẩn đoán cho động vật có vú như con người, cũng như tầm quan trọng của các động vật có vú đó vì đang có nguy cơ bị tiệt chủng, như hổ Siberi, tầm quan trọng kinh tế, như động vật được nuôi ở nông trại để tiêu thụ bởi con người, và/hoặc các động vật có tầm quan trọng xã hội với con người, như các loài vật được nuôi làm thú cưng hoặc ở sở thú. Các ví dụ về động vật này bao gồm nhưng không giới hạn ở: các loài ăn thịt như mèo và chó, loài lợn, bao gồm lợn, lợn thiện, và lợn lòi đực hoang dã, động vật nhai lại và/hoặc động vật móng guốc như gia súc, bò đực, cừu, hươu cao cổ, nai, dê, bò rừng bizon, và lạc đà, và ngựa. Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị chim, bao gồm phương pháp điều trị các loài chim đang có nguy cơ bị tiệt chủng và/hoặc được nuôi ở sở thú, cũng như gia cầm, và cụ thể hơn là gia cầm đã thuần hóa, tức là, gia cầm, như gà tây, gà, vịt, ngỗng, gà Nhật, và tương tự, vì chúng cũng có tầm quan trọng về kinh tế với con người. Vì vậy, sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị thú nuôi, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, lợn, động vật nhai lại, động vật móng guốc, ngựa (bao gồm ngựa đua), gia cầm đã thuần hóa, và tương tự.

Thực tiễn của sáng chế có thể dùng, trừ khi được quy định khác, công nghệ

thông thường của sinh học tế bào, nuôi cấy tế bào, sinh học phân tử, sinh học chuyển gen, vi sinh vật học, ADN tái tổ hợp, và miễn dịch học, mà nằm trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các kỹ thuật đó được trình bày đầy đủ trong các tài liệu. Xem ví dụ, Molecular Cloning A Laboratory Manual (1989), 2nd Ed., ed. by Sambrook, Fritsch and Maniatis, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Chapters 16 and 17, Pat. Mỹ số 4,683,195, DNA Cloning, Volumes I and II, Glover, ed., 1985, Oligonucleotide Synthesis, M. J. Gait, ed., 1984, Nucleic Acid Hybridization, D. Hames & S. J. Higgins, eds., 1984, Transcription and Translation, B. D. Hames & S. J. Higgins, eds., 1984, Culture Of Animal Cells, R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987, Immobilized Cells And Enzymes, IRL Press, 1986, Perbal (1984), A Practical Guide To Molecular Cloning, See Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.), Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, J. H. Miller and M. P. Calos, eds., Cold Spring Harbor Laboratory, 1987, Methods In Enzymology, Vols. 154 và 155, Wu et al., eds., Academic Press Inc., N.Y., Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer và Walker, eds., Academic Press, London, 1987, Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV, D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986.

Thuật ngữ “bệnh viêm GI” dùng để chỉ bệnh hoặc rối loạn ở dải dạ dày-ruột được đặc trưng bởi viêm vì mức xytokin gây viêm tuần hoàn tăng. Các tế bào miễn dịch bao gồm tế bào T, đại thực bào, và bạch cầu trung tính là nơi sản xuất chính các xytokin gây viêm này. Bệnh viêm GI bao gồm bệnh ở ruột (bệnh loét và bệnh Crohn), hội chứng ruột dễ bị kích thích, bệnh ở bụng, triệu chứng cai chế phẩm có thuốc phiện, và tiêu chảy.

Thuật ngữ “tinh dầu” hoặc “dầu dễ bay hơi” như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ bất kỳ hợp chất thơm dễ bay hơi được cô đặc chiết xuất từ thảo dược và thực vật với xu hướng chung là ưa nước.

Thuật ngữ “được sắc” trong bản mô tả này dùng để chỉ quy trình gia nhiệt thảo dược với nước tới nhiệt độ cao, thông thường tại $100^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ và giữ lượng gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90°C đến 100°C .

Sáng chế đề cập đến việc sử dụng lượng làm thuốc của dịch chiết có trong chế

phẩm thảo dược *HUOXIANG ZHENGQI (HXZQ)* có khả năng ức chế biểu hiện của các xytokin gây viêm từ các đại thực bào kích thích LPS, làm giảm sự phá vỡ hàng rào biểu mô do IFN γ gây ra, cũng như điều biến chức năng ruột. Các hoạt động này góp phần vào hiệu quả có lợi của dịch chiết *HUOXIANG ZHENGQI* này ở dược phẩm để điều trị bệnh hoặc rối loạn viêm GI bao gồm bệnh viêm ruột (bệnh loét và bệnh Crohn), hội chứng ruột dễ bị kích thích, bệnh ở bụng, và triệu chứng cai chế phẩm có thuốc phiện.

Chế phẩm thảo dược *HUOXIANG ZHENGQI (HXZQ)* là chế phẩm dược Trung Quốc có nguồn gốc từ sách y cổ Trung Quốc "Formularies of the Bureau of the People's Welfare Pharmacies" và truyền thống được sử dụng để điều trị các rối loạn GI. Các hiệu quả có lợi đã chỉ ra, tuy nhiên, phần lớn là giai thoại và không được minh chứng bằng số liệu khoa học. Vì vậy, mục đích của sáng chế là nghiên cứu: (i) các hiệu quả của dịch chiết và tinh dầu HXZQ đối với việc sản xuất xytokin từ các tế bào miễn dịch bẩm sinh kích thích các chất trung gian gây viêm, (ii) khả năng của dịch chiết và tinh dầu HXZQ để phong bế/làm giảm chức năng hàng rào bị rối loạn ở tế bào đơn lớp T84, và (iii) hiệu quả của dịch chiết và tinh dầu HXZQ đối với việc điều biến sự co cơ trơn ở ruột và tiết biểu mô.

Theo một khía cạnh, chế phẩm chứa lượng hiệu quả dịch chiết và tinh dầu *HUOXIANG ZHENGQI* và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược chấp nhận được về mặt sinh lý, hoặc hỗn hợp của chúng. Thuật ngữ "chế phẩm dược" hoặc "dược phẩm" dùng để chỉ hỗn hợp của dịch chiết và tinh dầu *HUOXIANG ZHENGQI* với các thành phần hóa học khác, như chất pha loãng hoặc chất mang. Chế phẩm dược này tạo thuận lợi cho đối tượng sử dụng dược phẩm.

Thuật ngữ "chất mang" xác định hợp chất hóa học tạo thuận lợi cho việc hợp nhất dịch chiết và tinh dầu *HUOXIANG ZHENGQI* vào tế bào hoặc các mô. Ví dụ dimethyl sulfoxide (DMSO) là chất mang thường được sử dụng. Thuật ngữ "chất pha loãng" xác định các hợp chất hóa học được pha loãng trong nước sẽ hòa tan dịch chiết và/hoặc các tinh dầu *HUOXIANG ZHENGQI*. Muối hòa tan trong dung dịch đệm được sử dụng làm chất pha loãng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Thuật ngữ "chấp nhận được về mặt sinh lý" xác định chất mang hoặc chất pha loãng không hủy bỏ hoạt tính

sinh học và tính chất của dịch chiết và tinh dầu HUOXIANG ZHENGQI.

Thuật ngữ "dược dụng" như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là chất mang, chất pha loãng, tá dược, và/hoặc muối phải tương hợp với các thành phần khác của chế phẩm, và không có hại với bên nhận chúng.

Thuật ngữ "chất mang dược dụng" như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là nguyên liệu bột chất rắn, nửa rắn, chất pha loãng, trợ, không độc, hoặc chế phẩm phụ trợ của loại bất kỳ. Một số ví dụ về nguyên liệu có thể dùng làm chất mang dược dụng là các loại đường như lactoza, glucoza, và sucroza, tinh bột như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây, xenluloza và các dẫn xuất của nó như natri carboxymetyl xenluloza, etyl xenluloza và xenluloza axetat, mạch nha, gelatin, talc, cũng như các chất bôi trơn tương hợp không độc khác như natri lauryl sunfat và magie stearat, cũng như các chất tạo màu, chất giải phóng, chất phủ, tác nhân đường hóa, tạo vị và tạo hương, các chất dự phòng và chống oxi hóa cũng có thể có mặt trong chế phẩm, theo đánh giá của người bào chế.

Để dùng qua đường miệng, dịch chiết và tinh dầu HUOXIANG ZHENGQI có thể dễ dàng được bào chế bằng cách kết hợp nó với chất mang dược dụng đã được biết tới trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các chất mang này làm cho dịch chiết HUOXIANG ZHENGQI có thể được bào chế dưới dạng viên nén, viên tròn, viên bao đường, viên nang, dạng lỏng, gel, sirô, huyền phù đặc, dạng hỗn dịch và tương tự, để bệnh nhân được điều trị tiêu hóa qua đường miệng. Dược phẩm của dịch chiết và tinh dầu HUOXIANG ZHENGQI, để sử dụng qua đường miệng có thể thu được bằng cách trộn một hoặc nhiều tá dược dạng rắn với nghiền tùy ý hỗn hợp thu được, và xử lý hỗn hợp hạt, sau khi thêm vào chất phụ trợ phù hợp, nếu muốn, để thu được viên nén hoặc lõi viên bao đường.

Cụ thể là, tá dược phù hợp là chất độn như đường, bao gồm lactoza, sucroza, mannitol, hoặc socbitol, chế phẩm xenluloza như, ví dụ, tinh bột ngô, tinh bột lúa mì, tinh bột gạo, tinh bột khoai tây, gelatin, gồm tragacanth, methyl xenluloza, hydroxypropylmetyl-xenluloza, natri carboxymetyl xenluloza, và/hoặc polyvinylpyrrolidon (PVP). Nếu muốn, tác nhân phân hủy có thể được thêm vào, như polyvinyl pyrrolidon liên kết ngang, agar, hoặc axit alginic hoặc muối của nó như natri

alginat.

Liều lượng và nồng độ có thể được điều chỉnh theo tình huống thực tế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này nên biết làm thế nào để chọn liều lượng và cách tiêm chính xác theo tình huống thực tế.

Theo một phương án ưu tiên, sáng chế đề xuất chế phẩm thảo dược để điều trị các bệnh viêm GI ở đối tượng chứa dịch chiết thu được từ *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, và *Angelicae Dahuricae Radix*.

Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, phương pháp được đề xuất để điều trị bệnh viêm GI bằng cách sử dụng cho đối tượng lượng hiệu quả chế phẩm thảo dược chứa các dịch chiết từ *Pogostemonis Herba* và *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, và *Angelicae Dahuricae Radix*.

Theo một khía cạnh của phương án này, chế phẩm thảo dược điều biến biểu hiện của các xytokin gây viêm, làm giảm sự phá vỡ của hàng rào biểu mô, hoặc điều biến chức năng ruột ở đối tượng mắc bệnh viêm GI. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến việc sử dụng lượng dược phẩm của chế phẩm thảo dược để ức chế biểu hiện của các xytokin gây viêm từ các đại thực bào kích thích LPS, làm giảm sự phá vỡ hàng rào biểu mô do IFN γ gây ra, cũng như điều biến chức năng ruột. Các hoạt động này góp phần vào hiệu quả có lợi của chế phẩm chống lại các bệnh hoặc rối loạn viêm GI bao gồm bệnh viêm ruột (bệnh loét và bệnh Crohn), hội chứng ruột dễ bị kích thích, bệnh ở bụng, và triệu chứng cai chế phẩm có thuốc phiện, như tiêu chảy.

Theo một số phương án của sáng chế, mỗi thành phần thảo dược được thảo luận ở trên có thể ở chế phẩm như sau: *Pogostemonis Herba* nằm trong khoảng từ 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47% đến 48% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Perillae Folium* nằm trong khoảng từ 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15% đến 16% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Citri Reticulatae Pericarpium* nằm trong khoảng từ 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%,

19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, và 32% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, và 32% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, và *Angelicae Dahuricae Radix* nằm trong khoảng từ 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15% đến 16% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích.

Theo khía cạnh của phương án này, còn được thể hiện ở bảng 1, số đơn vị theo khối lượng cho mỗi thành phần thảo dược như sau: *Pogostemonis Herba* là khoảng 33% khối lượng của chế phẩm, *Perillae Folium* là khoảng 11% khối lượng của chế phẩm, *Citri Reticulatae Pericarpium* là khoảng 22% khối lượng của chế phẩm, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* là khoảng 22% khối lượng của chế phẩm, và *Angelicae Dahuricae Radix* là khoảng 11% khối lượng của chế phẩm.

Bảng 1

Số thứ tự	Tên	Lượng (g)	% khối lượng
1	<i>Pogostemonis Herba</i>	326,8	33
2	<i>Perillae Folium</i>	108,9	11
3	<i>Citri Reticulatae Pericarpium</i>	217,9	22
4	<i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>	217,9	22
5	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	108,9	11
	Tổng	980,4	100

Theo phương án khác, chế phẩm thảo dược là lượng có hiệu quả làm thuốc của dịch chiết của tinh dầu từ các thành phần thảo dược và tinh dầu được chiết xuất bằng cách chưng cất bằng hơi nước các thành phần thảo dược để tạo thành dung dịch nước.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm thảo dược chứa lượng hiệu quả chế phẩm ở trên và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng, hay hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh của phương án này, chế phẩm ở trên là viên tròn, viên nang, hạt, viên nén, dạng hỗn dịch, thuốc tiêm, sirô, hoặc cồn thuốc.

Theo phương án khác, chế phẩm thảo dược để điều trị bệnh viêm GI chứa các dịch chiết thu được từ *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Angelicae Dahuricae Radix*, *Magnoliae Officinalis Cortex*, *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Platycodonis radix*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*.

Theo một số phương án của sáng chế, mỗi thành phần thảo dược được thảo luận ở trên có thể ở chế phẩm như sau: *Pogostemonis Herba* nằm trong khoảng từ 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% đến 20% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Perillae Folium* nằm trong khoảng từ 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%, 5,5%, 6%, 6,5%, 7% đến 7,5% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Citri Reticulatae Pericarpium* nằm trong khoảng từ 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% đến 15% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% đến 15% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Angelicae Dahuricae Radix* nằm trong khoảng từ 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%, 5,5%, 6%, 6,5%, 7% đến 7,5% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Magnoliae Officinalis Cortex* nằm trong khoảng từ 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% đến 15% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Pinelliae Rhizoma* nằm trong khoảng từ 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% đến 15% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Poria* nằm trong khoảng từ 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%, 5,5%, 6%, 6,5%, 7% đến 7,5% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma* nằm trong khoảng từ 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% đến 15% % khối lượng/khối lượng, khối

lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Arecae Pericarpium* nằm trong khoảng từ 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%, 5,5%, 6%, 6,5%, 7% đến 7,5% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Platycodonis radix* nằm trong khoảng từ 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% đến 15% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, *Zingiberis rhizoma recens* nằm trong khoảng từ 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1,0%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, 2,0%, 2,1%, 2,2%, 2,3%, 2,4%, đến 2,5% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, và *Jujubae Fructus* nằm trong khoảng từ 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, 2,0%, 2,1%, 2,2%, 2,3%, 2,4%, 2,5%, 2,6%, 2,7%, 2,8%, 2,9%, 3,0%, 3,1%, 3,2%, 3,3%, 3,4%, đến 3,5% % khối lượng/khối lượng, khối lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích.

Theo khía cạnh khác của phương án này, như được thể hiện ở bảng 2, phần trăm khối lượng của mỗi thành phần thảo dược như sau: *Pogostemonis Herba* là khoảng 15% khối lượng của chế phẩm, *Perillae Folium* là khoảng 5% khối lượng của chế phẩm, *Citri Reticulatae Pericarpium* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Angelicae Dahuricae Radix* là khoảng 5% khối lượng của chế phẩm, *Magnoliae Officinalis Cortex* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Pinelliae Rhizoma* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Poria* phạm vi là khoảng 5% khối lượng của chế phẩm, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Arecae Pericarpium* là khoảng 5% khối lượng của chế phẩm, *Platycodonis radix* là khoảng 10% khối lượng của chế phẩm, *Zingiberis rhizoma recens* là khoảng 1,5% khối lượng của chế phẩm, và *Jujubae Fructus* là khoảng 2,5% khối lượng của chế phẩm.

Bảng 2

Số thứ tự	Tên	Lượng (g)	% khối lượng
1	<i>Pogostemonis Herba</i>	326,8	15
2	<i>Perillae Folium</i>	108,9	5
3	<i>Citri Reticulatae Pericarpium</i>	217,9	10

4	<i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>	217,9	10
5	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	108,9	5
6	<i>Magnoliae Officinalis Cortex</i>	217,9	10
7	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	217,9	10
8	<i>Poria</i>	108,9	5
9	<i>Glycyrrhize Radix et Rhizoma</i>	217,9	10
10	<i>Arecae Pericarpium</i>	108,9	5
11	<i>Platycodonis radix</i>	217,9	10
12	<i>Zingiberis rhizoma recens</i>	32,7	1,5
13	<i>Jujubae Fructus</i>	54,5	2,5
	Tổng	2157	100

Theo phương án ưu tiên khác, sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị bệnh viêm GI ở đối tượng bao gồm việc sử dụng đối tượng lượng hiệu quả của chế phẩm thảo dược chứa các dịch chiết từ *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, *Angelicae Dahuricae Radix*, *Magnoliae Officinalis Cortex*, *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Platycodonis radix*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*.

Theo một khía cạnh của phương án này, bệnh viêm GI được chọn từ nhóm bao gồm: bệnh ruột bao gồm bệnh loét và bệnh Crohn, hội chứng ruột dễ bị kích thích, bệnh ở bụng, triệu chứng cai chế phẩm có thuốc phiện, và tiêu chảy. Chế phẩm thảo dược điều biến biểu hiện của các xytokin gây viêm, làm giảm sự phá vỡ hàng rào biểu mô, hoặc điều biến chức năng ruột ở đối tượng mắc bệnh viêm GI.

Khía cạnh, đặc điểm và ưu điểm này và các khía cạnh, đặc điểm và ưu điểm khác của sáng chế sẽ được hiểu bằng cách tham khảo phần mô tả chi tiết ở đây, và sẽ được nhận ra bởi nhiều thành phần và kết hợp được nêu ra cụ thể ở bộ yêu cầu bảo hộ kèm theo. Được hiểu rằng cả phần mô tả chung nêu trên và mô tả chi tiết sau đây của sáng chế đều là ví dụ và giải thích của các phương án được ưu tiên theo sáng chế, và không hạn chế sáng chế, như được yêu cầu bảo hộ. Một số ví dụ sau đây là tiên đoán, tuy nhiên các giá trị dạng số, các kết quả và/hoặc dữ liệu được dùng để chỉ và bao gồm ở các ví dụ. Ngoài ra, các ví dụ sau đây có thể bao gồm sưu tập dữ liệu là đại diện của dữ liệu tập trung ở các thời điểm khác nhau trong suốt quá trình phát triển và thí nghiệm liên quan đến sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Tinh dầu *HUOXIANG ZHENGQI* (HXZQ)

Theo phương án ưu tiên khác của sáng chế này, tinh dầu được xử lý theo các bước sau đây: để lập một đơn thuốc của chế phẩm thảo dược, cân dược liệu thô *Pogostemonis Herba*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*(tâm-nướng), *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Perillae Folium* và *Angelicae Dahuricae Radix*, đặt dược liệu thô vào thùng chứa tinh dầu chiết, thêm nước vào dược liệu chìm sau khi thêm lượng nhỏ nước để làm ẩm chúng, gia nhiệt và chiết các tinh dầu bằng cách chưng cất bằng hơi nước trong tám (8) giờ, đặt phần cất vào phễu tách và để yên, sau đó phân chia tinh dầu nổi trên mặt và phần cất còn lại. Ngoài ra, thêm etanol 95% vào tinh dầu còn lại sạch. Cuối cùng bịt kín hỗn hợp tinh dầu để dự trữ. Phần còn lại là nguyên liệu làm thuốc là để dự trữ.

Theo phương án ưu tiên này, một đơn thuốc (tổng khối lượng và khối lượng của mỗi thành phần thảo dược như được thể hiện ở bảng 1) của chế phẩm thảo dược có thể sản xuất khoảng 1ml tinh dầu. Tỷ lệ chiết tinh dầu là 1,0%

Ví dụ 2. Dịch chiết HXZQ

Theo phương án ưu tiên này của sáng chế, các dịch chiết của chế phẩm thảo dược được tạo ra theo các bước sau: *Magnoliae Officinalis Cortex* được đặt trong thùng chiết đa chức năng, được chiết ba lần với etanol 60% (sáu thể tích etanol cho

lần thứ nhất và bốn thể tích etanol cho lần thứ hai và thứ ba) với mỗi lần 1 giờ, lọc, kết hợp phần dịch lọc, thu hồi rượu từ phần dịch lọc qua giảm áp để sản xuất dịch chiết dạng nhão I.

Tiếp đó, theo phương án ưu tiên này, lấy phần còn lại là nguyên liệu làm thuốc của *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, và *Angelicae Dahuricae Radix* sau khi chiết tinh dầu, và kết hợp phần còn lại là nguyên liệu làm thuốc với *Pinelliae Rhizoma* (đã xử lý), *Platycodonis radix*, *Poria*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus* vào thùng chiết đa chức năng, thêm nước để chiết hai lần: chiết lần đầu trong 2 giờ sau khi thêm tám thể tích nước chiết lần hai trong 1 giờ sau khi thêm sáu thể tích nước, bộ lọc, kết hợp phần dịch lọc và phần cặn còn dư sau khi chiết tinh dầu, hạ áp và cô đặc đến mật độ tương đối là 1,12 (80°C) để sản xuất dịch chiết dạng nhão, ly tâm để thu dịch chiết dạng nhão II.

Bước tiếp theo là để tiếp tục cô đặc dịch chiết dạng nhão I và II đến mật độ tương đối là 1,35 (80°C), làm khô trong chân không, nghiền để sản xuất dịch chiết, rồi bọc kín để dự trữ.

Theo phương án ưu tiên này, một đơn thuốc (tổng khối lượng và khối lượng của mỗi thành phần thảo dược như được thể hiện ở bảng 2) của chế phẩm thảo dược có thể sản xuất khoảng 1ml dầu dễ bay hơi và khoảng 0,54kg dịch chiết kết hợp từ etanol và nước, với tỷ lệ của tinh dầu trong dịch chiết ở khoảng 0,185%.

Ví dụ 3. Viên nang mềm HXZQ

Chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI* có các tính chất tốt được tạo ra bằng việc thu nhận mười ba loại dược liệu bao gồm: *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Angelicae Dahuricae Radix*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (tẩm-nướng), *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Pinelliae Rhizoma* (đã xử lý), *Magnoliae Officinalis Cortex* (đã xử lý với gừng), *Poria*, *Platycodonis radix*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*. Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, *Magnoliae Officinalis Cortex* được chiết bằng etanol 60% trong ba lần, và được lọc. Phần dịch lọc, được kết hợp và cô đặc

đến dịch chiết nhão I. Dầu dễ bay hơi của *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* và *Angelicae Dahuricae Radix* được chiết bằng cách chưng cất bằng hơi nước để thu được dung dịch nước. Dung dịch nước được lọc sau khi chưng cất, và phần dịch lọc được gom ở vật chứa khác. Phần dịch lọc chứa phần còn lại là nguyên liệu làm thuốc được sắc với *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Platycodonis radix*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus* hai lần trong nước. Thuốc sắc được kết hợp với dung dịch nước ở trên. Bộ lọc, cô đặc phần dịch lọc đến thể tích phù hợp, ly tâm, và cô đặc thêm phần nổi trên mặt đến dịch chiết nhão II. Các dịch chiết nhão I và II, được kết hợp và cô đặc đến dịch chiết đặc (hoặc được sấy khô trong chân không). Dịch chiết khô được nghiền và sàng thành bột mịn. Theo phương án ưu tiên, dầu dễ bay hơi, dầu đậu nành tinh luyện, sáp ong và polysorbat 80 được thêm vào dịch chiết *HUOXIANG ZHENGQI* và chế phẩm được nghiền trong máy nghiền keo, và sau đó được nén vào các viên nang mềm.

Ví dụ 4. Các hoạt tính kháng viêm và điều biến chức năng ruột của chế phẩm thảo dược Trung Quốc cổ truyền *HUOXIANG ZHENGQI*

Các bệnh hoặc các rối loạn viêm GI thường được đặc trưng bởi mức độ tăng của các xytokin gây viêm tuần hoàn và các đại thực bào là nơi sản xuất chính của các xytokin gây viêm này. Để xác định liệu *dịch chiết HUOXIANG ZHENGQI* có hoạt tính kháng viêm hay không, các đại thực bào từ tủy xương được điều trị bằng LPS có hoặc không có mặt chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI*.

Nguyên liệu và phương pháp

Các đại thực bào từ tủy xương chuột (mouse bone marrow-derived macrophages - BMDM) được sử dụng để nghiên cứu các hoạt tính kháng viêm của chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI*. Biểu hiện mRNA xytokin được đo bởi các tế bào qPCR.T84, được sinh trưởng trên các tấm TRASNWELL, các tế bào này tạo thành các lớp đơn biệt hóa hoàn toàn, được sử dụng để thiết lập hiệu quả của chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI* theo ví dụ thứ nhất và chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI* thêm tinh dầu theo ví dụ thứ hai ở chức năng hàng rào biểu mô.

Ngoài ra, các dải cơ trơn ở ruột được đặt trong các bể nội tạng và niêm mạc được định vị trong các buồng Ussing để xác định hiệu quả của chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI* điều hòa sự co cơ trơn, cũng như tiết biểu mô. Theo thí nghiệm này, các đoạn hồng tràng được treo theo chiều dọc ở các bể nội tạng. Sự co cơ trơn có hoặc không có chế phẩm *HUOXIANG ZHENGQI* được xác định trong đáp ứng với axetylcholin, chất dẫn truyền thần kinh tiết axetyl-cholin thông thường nhất, 5-HT, hoặc sự kích thích trường điện mà bất trước kích thích dây thần kinh. Đo biên độ của sự co cơ trơn tự phát.

Chuột nhắt. Chuột nhắt C57BL/6 được mua từ phòng thí nghiệm The Jackson (Bar Harbor, ME). Tất cả các thí nghiệm được tiến hành theo bộ nguyên tắc nêu trong Guide for Care and Use of Laboratory Animals, Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council, Health and Human Services Publication (National Institutes of Health 85-23, revised 1996).

Liên quan tới các ví dụ 1-3 để điều chế các dịch chiết và tinh dầu HXZQ. Ngoài ra, với các nghiên cứu in vitro, các dịch chiết hoặc tinh dầu thảo dược được xử lý để loại bỏ LPS có thể gây ô nhiễm sử dụng gel loại bỏ nội độc tố detoxi-gel (Thermo Scientific, Rockford, IL).

Điều chế các đại thực bào có nguồn gốc tủy xương (bone marrow-derived macrophages - BMDM) và nuôi cấy tế bào. Các tế bào đơn nhân tủy xương không dính thu được từ chuột nhắt bằng cách làm cho ngang bằng tủy xương từ xương chày và xương đùi vào môi trường HyClone MEM Alpha (Thermo) chứa FBS 10%. Các tế bào được nuôi cấy qua đêm tại 37°C với CO₂ 5% ở môi trường HyClone MEM Alpha để làm suy giảm các tế bào mô đệm dính. Các tế bào đơn nhân không dính được thu gom, được xử lý bằng dung dịch ly giải hồng cầu – Red Blood Cell Lysis Buffer để làm suy giảm các tế bào hồng cầu. Các tế bào này sau đó được nuôi cấy khi có mặt 20ng/ml M-CSF ở chuột tái tổ hợp (R & D Systems, Minneapolis, MN) trong 7 ngày để tạo ra các đại thực bào biệt hóa hoàn toàn với môi trường thay đổi mỗi ngày. Các đại thực bào được đặt ở tám 6 lỗ nhỏ và được xử lý ba lần bằng các dịch chiết hoặc tinh dầu thảo dược của HXZQ khi có mặt hoặc không các chất trung gian gây viêm LPS, IFN γ , hoặc cả hai. Sau 24 giờ, các tế bào được thu gom ở Trizol để phân lập

ARN trong khi các chất nổi trên mặt không có tế bào được thu gom Luminex Assay trên xytokin giải phóng. Dựa trên các thí nghiệm sơ bộ, các tác giả sáng chế lựa chọn nồng độ LPS phù hợp nhất cho các thí nghiệm riêng lẻ như sau: 1ng/ml cho biểu hiện mARN xytokin của BMDM, 10ng/ml cho xytokin giải phóng của BMDM.

Khả năng co cơ trơn in vitro ở bề mặt nội tạng. Khả năng co cơ trơn in vitro được đo như đã mô tả trước đây (Zhao et al, 2003). Các đáp ứng cơ trơn với axetyl cholin, chất dẫn truyền thần kinh tiết axetyl-cholin, và kích thích điện trường (electric field stimulation - EFS), mà bắt trước kích thích dây thần kinh, cũng như biên độ của sự co tự phát được xác định. Độ căng được biểu hiện dưới dạng lực trên diện tích mặt cắt ngang (Zhao et al., 2001).

Ion tế bào biểu mô di chuyển in vitro ở buồng Ussing. Đoạn không có cơ của ruột non được định vị ở buồng Ussing như đã mô tả trước đây (Shea-Donohue, et al., 2001). Các thay đổi phụ thuộc vào nồng độ ở dòng đoạn mạch (I_{sc}) được xác định trong đáp ứng với việc bổ sung axetyl cholin vào bên màng thanh dịch hoặc glucoza vào thành niêm mạc. Các đáp ứng từ tất cả các đoạn mô phơi nhiễm với axetyl cholin hoặc glucoza từ cá thể động vật được tính trung bình để thu đáp ứng trung bình với mỗi động vật.

Quá trình phân tích lỗ nhỏ Microsnap với điện trở xuyên biểu mô (Transepithelial electrical resistance - TEER). Các tế bào T84 (CCL-248, ATCC), dòng tế bào biểu mô trực tràng ở người, được nuôi cấy trong môi trường DMEM/F12 có FBS 5%. 5×10^5 tế bào cho mỗi lỗ nhỏ được gieo trên tấm transwell 12 lỗ nhỏ có vòng đệm 12mm (Costar 3460, Corning Incorporated) và được ủ ở 37°C với CO₂ 5%. Phần đáy của lỗ nhỏ (phía nền bên) được điền đầy 1,5 ml môi trường nuôi cấy và buồng trên (phía đầu) với 0,5 ml môi trường. Các tế bào là lớp tế bào biểu mô phân cực dính chùm sau 10-14 ngày nuôi cấy. Lớp tế bào sau đó được xử lý bằng các dịch chiết hoặc tinh dầu thảo dược HXZQ được bổ sung vào cả phía đầu và nền bên khi có mặt IFN- γ hoặc không (được bổ sung vào phía nền bên), gây rối loạn hàng rào biểu mô được công nhận. TEER được kiểm soát hàng ngày trước khi xử lý và sau đó làm lại ở 24, 48 giờ sau khi xử lý.

Chiết ARN, tổng hợp cADN, và PCR định lượng theo thời gian thực. Tổng

ARN được chiết từ các tế bào được nuôi cấy như đã mô tả trước đây (Zhao et al. 2010). Các mẫu ARN (2 mg) được phiên mã ngược thành cADN sử dụng bộ kit tổng hợp cADN dài thứ nhất - First Strand cDNA Synthase Kit (MBI Fermentas, Hanover, MD) có đoạn môi hexame ngẫu nhiên. PCR định lượng theo thời gian thực (qPCR) được thực hiện trên hệ thống phát hiện iCycler (Bio-Rad, Hercules, CA) như đã mô tả. Các thay đổi lần ở biểu hiện mARN với các gen mục tiêu liên quan đến các nhóm vật truyền tương ứng của chuột nhắt sau khi chuẩn hóa thành rARN 18S. Các đoạn mồi cho qPCR được thiết kế bởi Beacon Designer 7.0 (Premier Biosoft International, Palo Alto, CA) và được tổng hợp bởi Sigma hoặc phòng thí nghiệm polyme sinh học của Đại học Maryland (Baltimore, MD).

Phân tích số liệu. Phân tích thống kê được thực hiện sử dụng ANOVA một chiều tiếp theo là thử nghiệm Newman-Keuls để so sánh các đáp ứng và biểu hiện gen. Các đối chứng cùng vật truyền, thời gian, và độ tuổi thích hợp cũng có trong suốt các nghiên cứu.

Các kết quả và thảo luận

Các dịch chiết hoặc tinh dầu HXZQ có hiệu lực ức chế biểu hiện/sản xuất của các xytokin gây viêm ở các đại thực bào.

Là một trong các thành phần quan trọng trong miễn dịch ở ruột, các đại thực bào có mặt chủ yếu ở lớp đệm niêm mạc ruột (Zhao A. et al., 2008, Weber B. et al., 2009, Platt AM et al., 2008). Trong điều kiện thông thường, đại thực bào ở ruột thiếu hoặc giảm các đáp ứng với kích thích viêm. Trong khi bệnh hoạt động, số lượng đại thực bào được tăng ở lớp đệm niêm mạc là kết quả của việc tuyển các bạch cầu đơn nhân tuần hoàn. Các đại thực bào được tuyển giải phóng lượng lớn các xytokin gây viêm, như IL-1 β , IL-12, TNF α , và IFN γ , quan trọng ở cả giai đoạn bắt đầu và phát triển viêm (Weber B. et al., 2009). Cuối cùng, các đại thực bào có thể ảnh hưởng đến sự biệt hóa và nhân rộng của các tế bào hiệu quả viêm Th1/Th17 bằng cách giải phóng IL-12 và IFN γ (Weber B. et al., 2009, McKeernan DP, et al., 2009). Do thực tế là IBD được đặc trưng bởi mức tăng các xytokin gây viêm tuần hoàn và các đại thực bào là nơi sản xuất chủ yếu xytokin gây viêm này trong khi nhiều thảo dược Trung Quốc có tính kháng viêm (Yang Z, et al., 2012), các tác giả sáng chế tìm cách để xác định xem

liệu HXZQ có thể ức chế sự sản xuất xytokin gây viêm từ đại thực bào. Các tác giả sáng chế thực hiện các nghiên cứu trong các đại thực bào có nguồn gốc từ tủy xương (Bone marrow-derived macrophages - BMDM) thường được xem như là quần thể thuần các đại thực bào chín và thường làm mô hình tế bào có giá trị để đánh giá các hoạt động kháng viêm (Zhang X. et al., 2001). Ba nồng độ dịch chiết HXZQ khác nhau được thử nghiệm: HXZQ ở tất cả các nồng độ được thử nghiệm, 10, 50, và 100 $\mu\text{g/ml}$, có hiệu lực ức chế điều biến lên kích thích LPS của một vài xytokin gây viêm chủ yếu, bao gồm IL-12p40, IFN γ , IL-1 β , IL-6, và TNF α (FIG. 1A-FIG. 1E).

Các thí nghiệm tiếp theo được thực hiện để xác định hiệu quả của tinh dầu từ HXZQ. Tương tự như các dịch chiết, tinh dầu ở nồng độ 1, 5, và 20 $\mu\text{l/ml}$ ức chế đáng kể điều biến lên kích thích LPS (10ng/ml) của IL-12p40, IFN γ , IL-1 β , IL-6, và TNF α (FIG. 2A-FIG. 2E). Thí nghiệm riêng biệt còn thể hiện rằng các dầu ở độ thấp bằng 0,2 $\mu\text{l/ml}$ có thể ức chế điều biến lên tất cả các xytokin thử nghiệm (FIG. 2F). Số liệu này ủng hộ việc chế phẩm thảo dược HXZQ có tính kháng viêm mạnh mẽ.

HXZQ hoặc các tinh dầu làm giảm/phong bế rối loạn chức năng hàng rào biểu mô do IFN γ gây ra.

Kiểm soát độ thấm ở ruột nguy cấp đến việc bảo vệ chủ thể do độ thấm tăng tạo thuận lợi cho sự bài tiết của lượng lớn vi khuẩn gian miệng ống, kháng nguyên, hoặc các phân tử tạo tác nhân gây bệnh khác qua hàng rào niêm mạc gây ra hoạt động miễn dịch (Turner JR et al., 2009). Các tế bào biểu mô ở bề mặt niêm mạc tạo thành hàng rào lớp tế bào giới hạn sự phơi nhiễm của các tác nhân gây bệnh hoặc các sản phẩm ở các tế bào miễn dịch ở dưới, vì vậy, duy trì hàng rào niêm mạc còn nguyên vẹn có thể cho rằng là một trong các yếu tố nguy cấp nhất ở không gian đồng phơi miễn dịch. Quả thực, rối loạn chức năng hàng rào tế bào biểu mô ruột quan sát được ở các bệnh nhân mắc IBD. Thiết lập các hoạt động kháng viêm của HXZQ ở các đại thực bào, các tác giả sáng chế kế tiếp xác định liệu rằng HXZQ có thể ảnh hưởng chức năng hàng rào biểu mô. Các tác giả sáng chế nuôi cấy các tế bào T84, dòng tế bào biểu mô trực tràng ở người, và xử lý chúng bằng các dịch chiết hoặc tinh dầu HXZQ khi có mặt IFN γ , gây rối loạn hàng rào biểu mô được thiết lập tốt. Điện trở xuyên biểu mô (transepithelial electrical resistance - TEER) được đo dưới dạng chỉ số của độ thấm. Phù hợp với các

báo cáo trước đó, TEER giảm hiệu quả IFN γ của lớp tế bào T84 sau 24 và 48 giờ điều trị cho thấy sự tăng độ thấm (FIG. 3). Sự có mặt của HXZQ ở nồng độ 50 μ g/ml là không có hiệu quả, nhưng ở 500 μ g/ml đã ngăn chặn việc giảm TEER do IFN γ gây ra cho thấy sự duy trì chức năng hàng rào bình thường (FIG. 3A & FIG. 3B). Các tinh dầu ở nồng độ 0,1 μ l/ml và 0,2 μ l/ml hoàn toàn phong bế sự phá vỡ biểu mô do IFN γ gây ra của lớp tế bào T84 ở 24 giờ, nhưng mất hiệu quả của nó ở 48 giờ sau điều trị (FIG. 3D & FIG. 3E). Hiệu quả suy giảm của các dịch chiết HXZQ với rối loạn chức năng hàng rào biểu mô còn được xác nhận bởi thí nghiệm đo dòng chảy của thác dextran xanh, trong đó các dịch chiết ở 500 μ g/ml đã giảm dòng chảy dextran do IFN γ (FIG. 3C). Đáng chú ý là các dịch chiết hoặc tinh dầu không có hiệu quả bất kỳ với TEER cơ bản (số liệu không thể hiện).

Các dịch chiết HXZQ ức chế sự co cơ trơn và tiết biểu mô của ruột.

Các bệnh viêm GI có liên quan đến bất thường ở chức năng ruột dẫn đến các triệu chứng như đau bụng, tiêu chảy, hay táo bón. Các tác giả sáng chế đã khảo sát xem liệu các dịch chiết HXZQ có điều biến chức năng ruột hay không. Như được thể hiện, sự co cơ trơn ruột ở đáp ứng với axetyl cholin (FIG. 4A), kích thích điện trường (EFS, FIG. 4B), và sự co tự phát của dải ruột (FIG. 4D) được ức chế đáng kể bằng 0,1 mg/ml dịch chiết HXZQ, và còn được ức chế hoặc xóa bỏ bằng 1 mg/ml dịch chiết HXZQ. Phần lớn đáp ứng làm giảm có thể phục hồi một phần hoặc hoàn toàn sau khi các dịch chiết được rửa sạch (số liệu không được thể hiện). Cuối cùng, đáp ứng cơ trơn với 5-HT được xóa bỏ bằng 0,1mg/ml dịch chiết HXZQ (FIG. 4C).

Vai trò sinh lý chủ yếu của biểu mô ruột là sự hấp thụ chất dinh dưỡng hoặc ion, tiết chất lỏng, và duy trì chức năng hàng rào niêm mạc, vì vậy, hiệu quả của HXZQ với việc điều hòa tiết biểu mô ruột cũng được khảo sát. HXZQ ở 0,1 mg/ml ức chế đáng kể sự tiết clorua ở đáp ứng với axetyl cholin, và xóa bỏ đáp ứng bài tiết ở 1mg/ml (FIG. 5A). 5-HT là vật truyền nội tiết tố thần kinh quan trọng ở cả hệ thống dây thần kinh trung tâm và ngoại biên (Gershon MD et al., 1991). Ruột là nguồn 5-HT lớn nhất, phần lớn từ các tế bào enterochromaffin (EC), và chứa lượng phong phú kiểu phụ thụ thể 5-HT có trong quy định sinh lý của niêm mạc ruột và chức năng cơ trơn (Gershon MD 1991, Gershon MD 2004, Gershon MD 2003). 5-HT cũng đóng vai trò

quan trọng trong việc duy trì không gian đồng phân niêm mạc. Các thay đổi về số lượng tế bào EC và hàm lượng 5-HT được tiết lộ ở nhiều bệnh lý ruột bao gồm IBS, IBD, và bệnh ở bụng (Beaurepaire et al., 2009, Spiller R. 2008). Không ngạc nhiên là, dịch chiết HXZQ ở 0,1mg/ml xóa bỏ tiết biểu mô ruột ở đáp ứng với 5-HT (FIG. 5B). Các số liệu này chứng minh rằng HXZQ có khả năng điều biến chức năng ruột.

Tóm lại, nghiên cứu này chứng minh rằng HXZQ có các hoạt tính kháng viêm và điều biến chức năng ruột mạnh mẽ. Các dịch chiết thảo dược không chỉ ức chế sự sản xuất cytokin gây viêm từ các tế bào miễn dịch, mà còn phong bế sự phá vỡ hàng rào tế bào biểu mô do chất trung gian viêm gây ra. Ngoài ra, HXZQ có khả năng điều biến cơ trơn ruột và chức năng biểu mô. Vì vậy, HXZQ có thể là tác nhân điều trị tiềm năng với bệnh lý ruột trội Th1 như IBD.

Danh mục tài liệu tham khảo

1. Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis* 2006,12 Suppl 1:S3-S9.
2. Zhao A, McDermott J, Urban JF, Jr., Gause W, Madden KB, Yeung KA, Morris SC, Finkelman FD, Shea-Donohue T. Dependence of IL-4, IL-13, and nematode-induced alterations in murine small intestinal smooth muscle contractility on Stat6 and enteric nerves. *J Immunol* 2003,171:948-954.
3. Zhao A, Bossone C, Pineiro-Carrero V, Shea-Donohue T. Colitis-induced alterations in adrenergic control of circular smooth muscle in vitro in rats 8. *J Pharmacol Exp Ther* 2001,299:768-774.
4. Shea-Donohue T, Sullivan C, Finkelman FD, Madden KB, Morris SC, Goldhill J, Pineiro-Carrero V, Urban JF, Jr. The role of IL-4 in *Heligmosomoides polygyrus*-induced alterations in murine intestinal epithelial cell function. *J Immunol* 2001,167:2234-2239.
5. Zhao A, Urban JF, Sun R, Stiltz J, Morimoto M, Notari L, Madden KB, Yang Z, Grinchuk V, Ramalingam TR, Wynn TA, Shea-Donohue T. Critical Role of IL-25 in Nematode Infection-Induced Alterations in Intestinal Function. *J Immunol*

2010,185:6921-6929.

6. Zhao A, Urban Jr JF, Anthony RM, Sun R, Stiltz J, van Rooijen N, Wynn TA, Gause WC, Shea-Donohue T. Th2 Xytokin-Induced Alterations in Intestinal Smooth Muscle Function Depend on Alternatively Activated Macrophages. *Gastroenterology* 2008,135:217-225.

7. Weber B, Saurer L, Mueller C. Intestinal macrophages: differentiation and involvement in intestinal immunopathologies. *Seminars in Immunopathology* 2009,31:171-184.

8. Platt AM, Mowat AM. Mucosal macrophages and the regulation of immune responses in the intestine. *Immunology Letters* 2008,119:22-31.

9. McKernan DP, Nolan A, Brint EK, O'Mahony SM, Hyland NP, Cryan JF, Dinan TG. Toll-Like Receptor mRNA Expression Is Selectively Increased in the Colonic Mucosa of Two Animal Models Relevant to Irritable Bowel Syndrome. *PLoS ONE* 2009,4:e8226.

10. Yang Z, Grinchuk V, Ip SP, Che CT, Fong HH, Lao L, Wu JC, Sung JJ, Berman B, Shea-Donohue T, Zhao A. Anti-Inflammatory Activities of a Chinese Herbal Formula IBS-20 In Vitro and In Vivo. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012,2012:491496.

11. Zhang X, Goncalves R, Mosser DM. The Isolation and Characterization of Murine Macrophages. John Wiley & Sons, Inc., 2001.

12. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009,9:799-809.

13. Gershon MD. Serotonin: its role and receptors in enteric neurotransmission. *Adv Exp Med Biol* 1991,294:221-230.

14. Gershon MD. Review article: serotonin receptors and transporters -- roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. *Aliment Pharmacol Ther* 2004,20 Suppl 7:3-14.

15. Gershon MD. Plasticity in serotonin control mechanisms in the gut. *Curr Opin Pharmacol* 2003,3:600-607.

16. Beaufrepairé C+, Smyth D, McKay DM. Interferon- γ Regulation of Intestinal Epithelial Permeability. *Journal of Interferon & Cytokine Research* 2009,29:133-144.

17. Spiller R. Serotonin and GI clinical disorders. *Neuropharmacology* 2008,55:1072-1080.

Yêu cầu bảo hộ

1. Chế phẩm thảo dược để điều trị các bệnh viêm dạ dày-ruột ở đối tượng chứa các dịch chiết thu được từ *Pogostemonis Herba* và *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, và *Angelicae Dahuricae Radix*, trong đó các dịch chiết này là tinh dầu.

2. Chế phẩm thảo dược theo điểm 1 trong đó các tinh dầu này được chiết bằng cách chưng cất bằng hơi nước để tạo thành dung dịch nước.

3. Chế phẩm thảo dược để điều trị các bệnh viêm dạ dày-ruột ở đối tượng chứa các dịch chiết thu được từ *Pogostemonis Herba* và *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, và *Angelicae Dahuricae Radix*, các dịch chiết từ *Magnoliae Officinalis Cortex*, *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Platycodonis radix*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus* và lượng hiệu quả của hỗn hợp của ít nhất dịch chiết thứ nhất và dịch chiết thứ hai trong đó

dịch chiết thứ nhất này chứa dịch chiết từ dung dịch rượu tinh chế của thảo dược *Magnoliae Officinalis Cortex* và

dịch chiết thứ hai này chứa phần còn lại là nguyên liệu làm thuốc của *Pogostemonis Herba*, *Perillae Folium*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* và *Angelicae Dahuricae Radix* sau khi chiết tinh dầu, được sắc với *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Platycodonis radix*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*, kết hợp với dịch chiết từ dung dịch nước tinh chế của *Pinelliae Rhizoma*, *Poria*, *Platycodonis radix*, *Glycyrrhize Radix et Rhizoma*, *Arecae Pericarpium*, *Zingiberis rhizoma recens* và *Jujubae Fructus*.

4. Chế phẩm thảo dược theo điểm 3, trong đó dịch chiết thứ nhất này được chiết bằng ethanol 60% trong ba lần, và được lọc để thu được phần dịch lọc.

5. Chế phẩm thảo dược theo điểm 4, trong đó phần dịch lọc này được kết hợp và thu hồi bằng ethanol, và được cô đặc thành dịch chiết nhão.

6. Chế phẩm thảo dược theo điểm 3, trong đó tinh dầu này được chiết từ *Pogostemonis Herba*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*(tắm-nướng), *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Perillae Folium* và *Angelicae Dahuricae Radix* bằng cách chưng cất bằng hơi nước để tạo thành dung dịch nước.
7. Chế phẩm thảo dược theo điểm 6, trong đó phần còn lại là nguyên liệu làm thuốc thu được sau khi chưng cất bằng hơi nước *Pogostemonis Herba*, *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (tắm-nướng), *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Perillae Folium* và *Angelicae Dahuricae Radix*.
8. Chế phẩm thảo dược theo điểm 3, trong đó dịch chiết thứ hai được lọc, phần dịch lọc được cô đặc đến thể tích thích hợp, được ly tâm, và được cô đặc thêm thành dịch chiết nhão.
9. Chế phẩm thảo dược theo điểm 3, trong đó hỗn hợp của ít nhất dịch chiết thứ nhất và dịch chiết thứ hai được kết hợp với một tinh dầu.
10. Chế phẩm thảo dược theo điểm 3, trong đó chế phẩm này còn chứa chất mang dược dụng, chất pha loãng, hoặc tá dược, hoặc hỗn hợp của chúng.
11. Chế phẩm thảo dược theo điểm 10, trong đó chế phẩm này được bào chế dưới dạng viên tròn, viên nang, hạt, viên nén, dạng hỗn dịch, thuốc tiêm, sirô hoặc cồn thuốc.

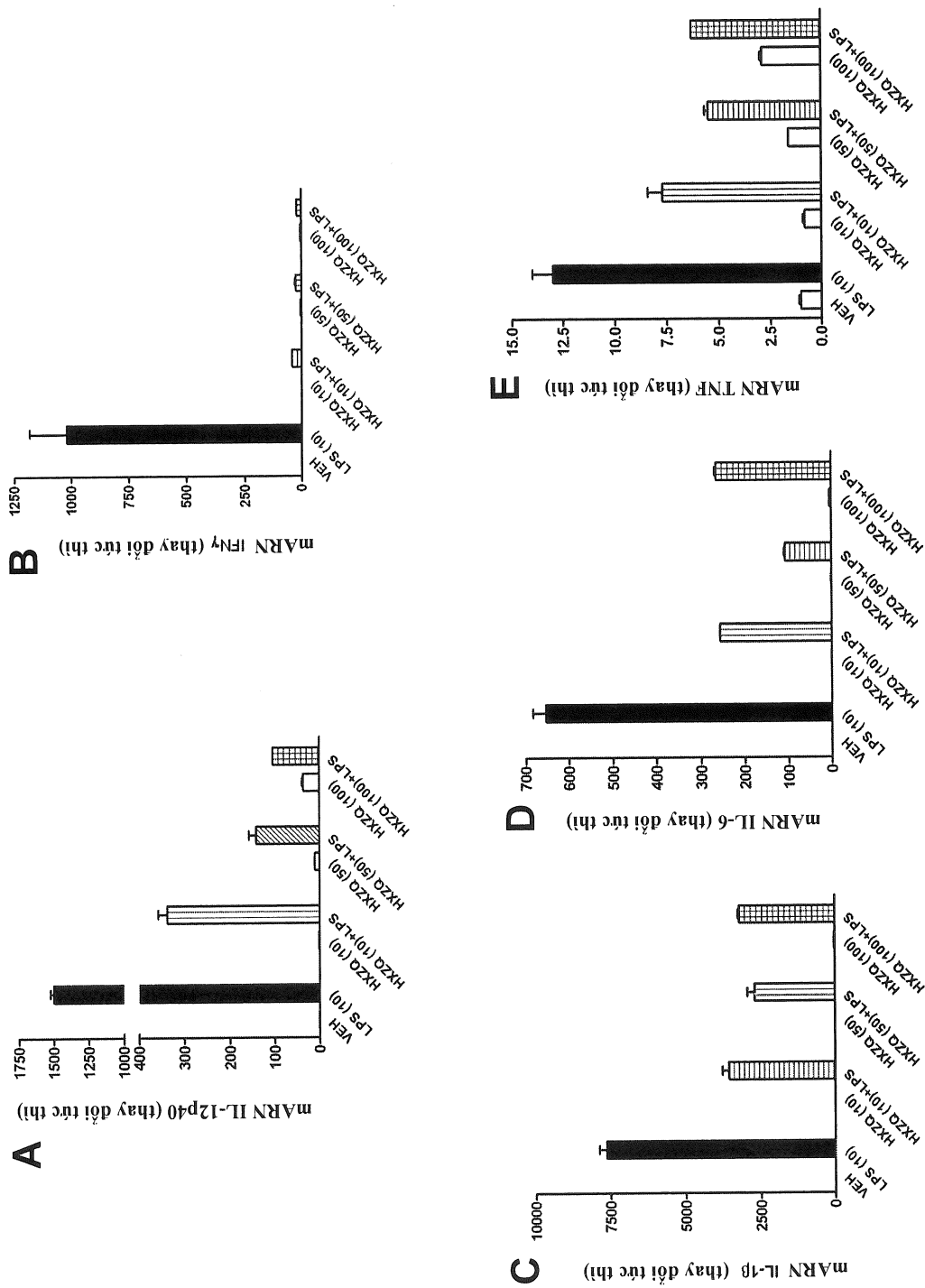


FIG.1

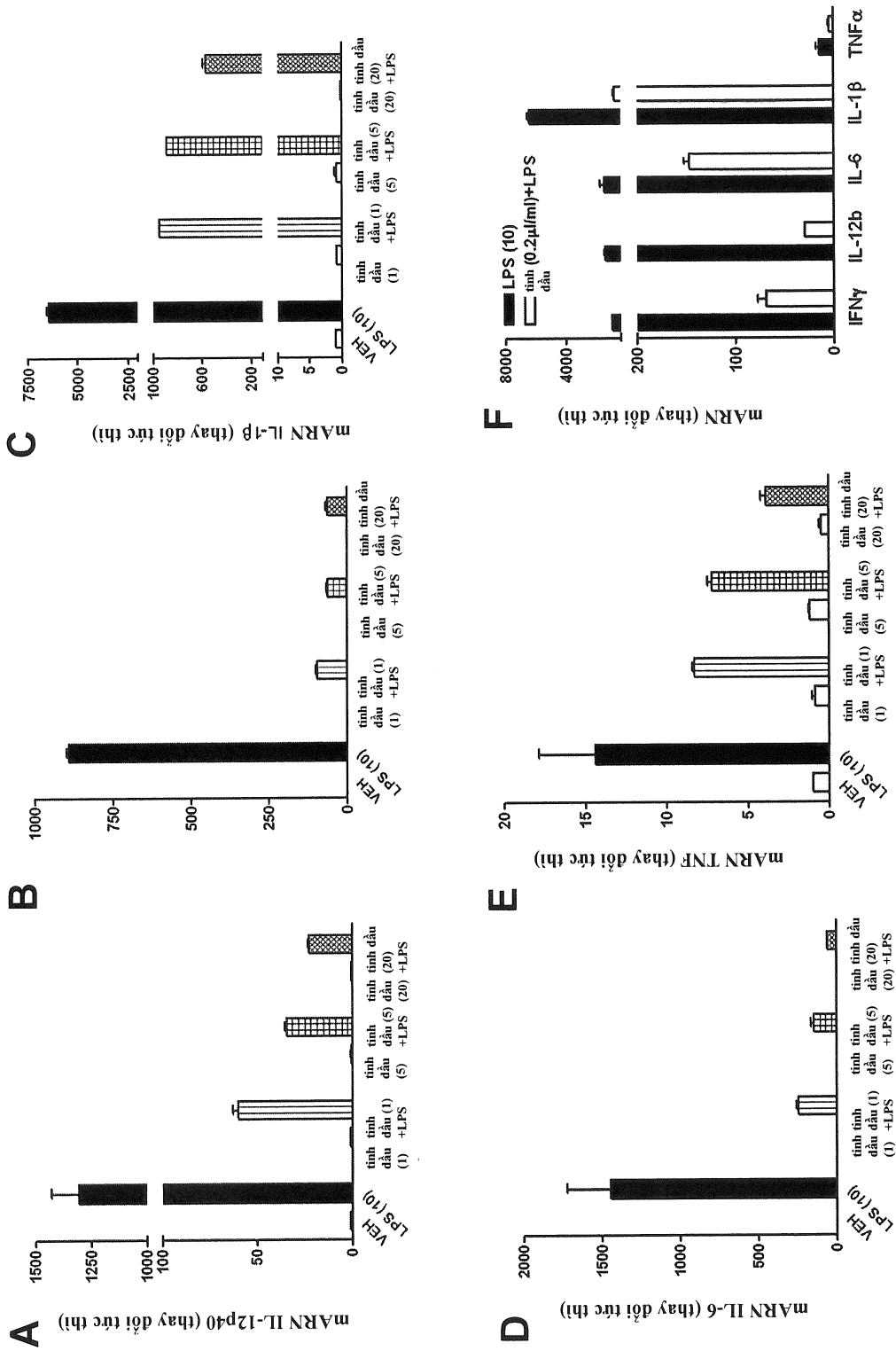


FIG. 2

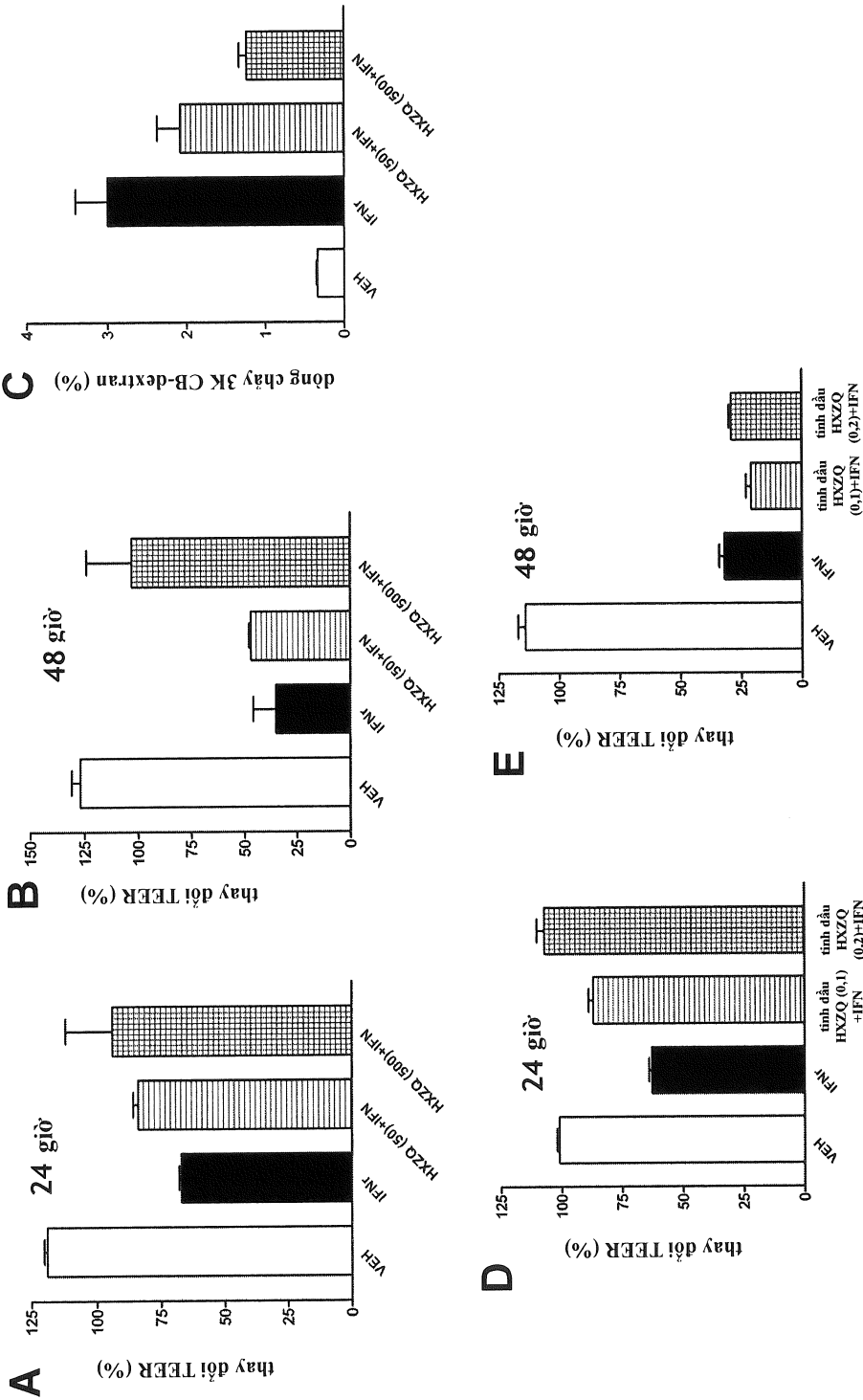


FIG. 3

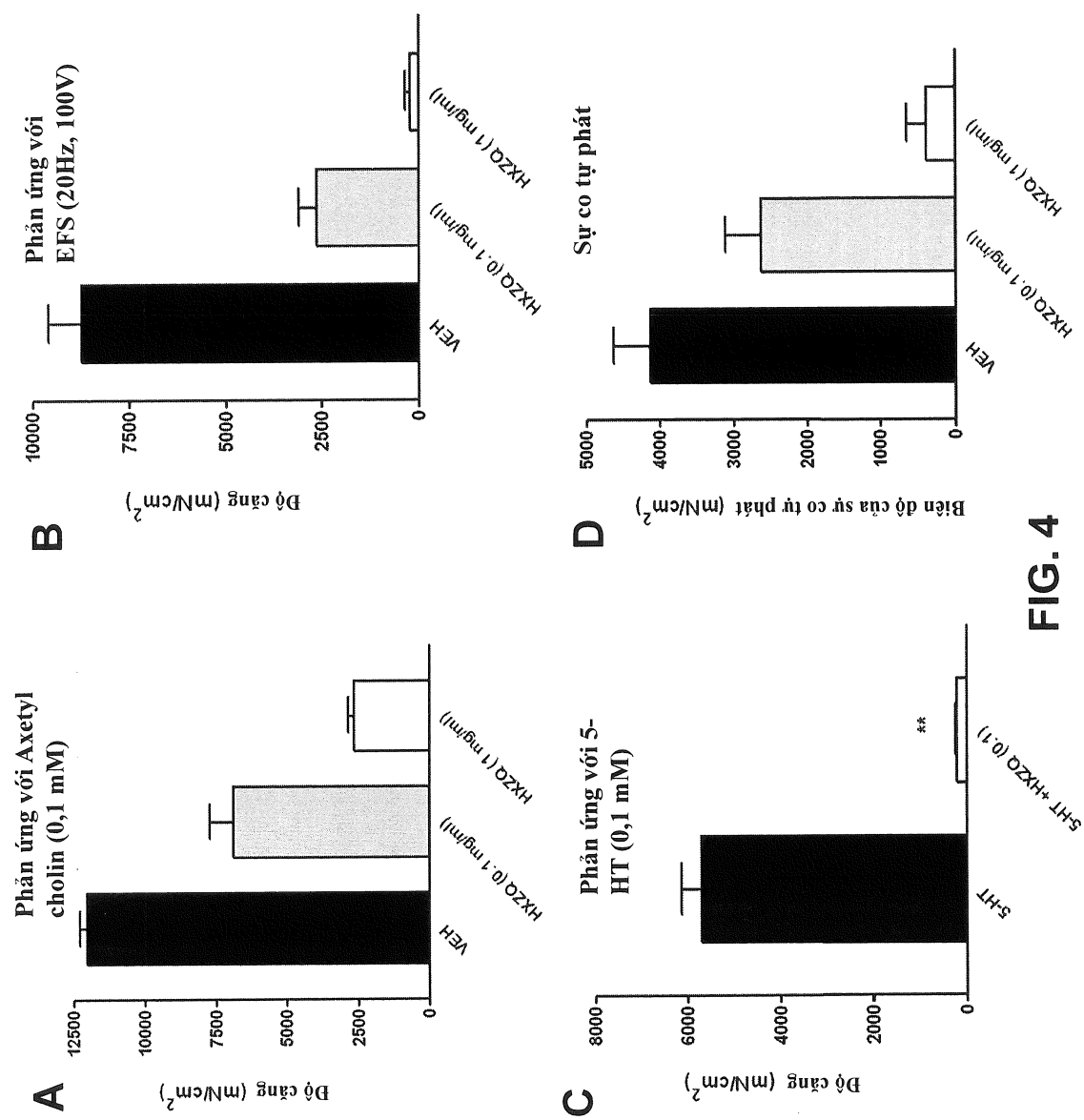


FIG. 4

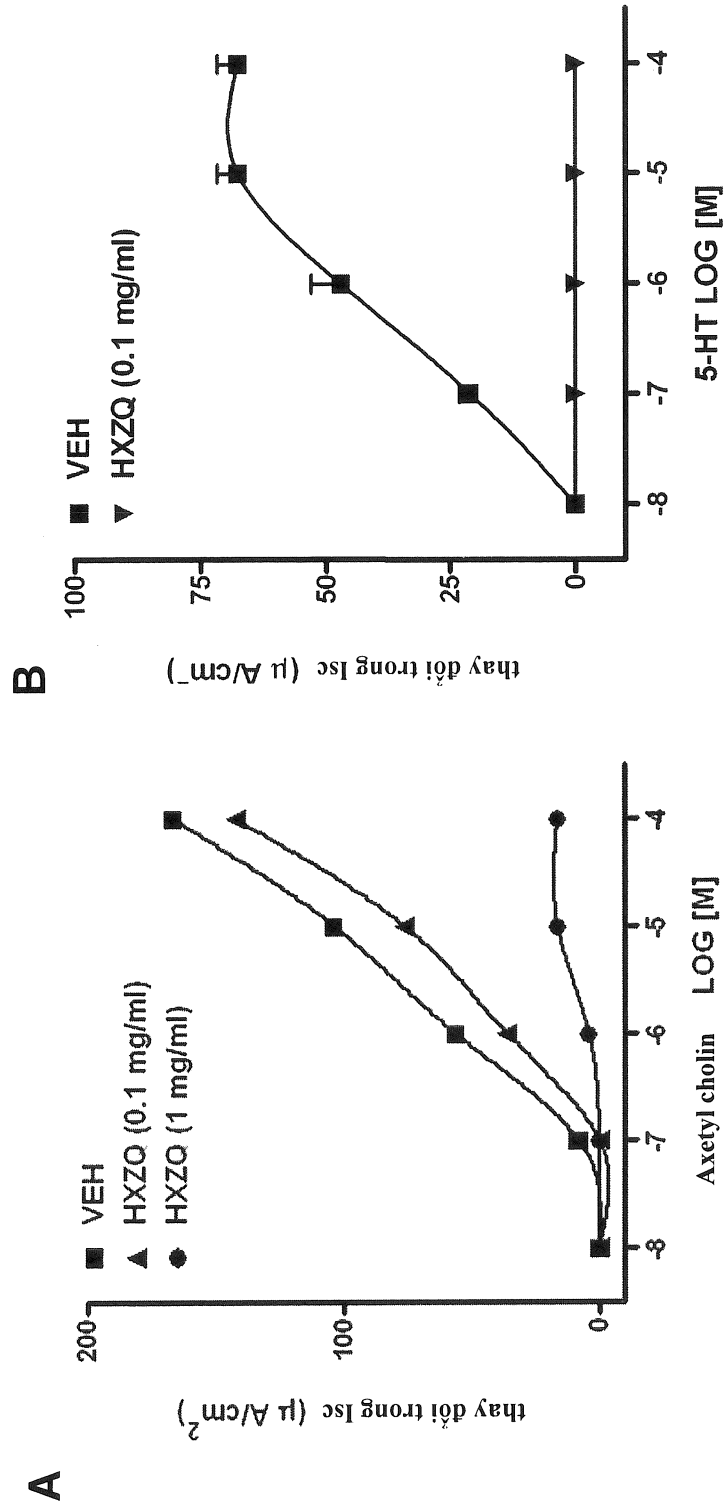


FIG. 5