



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

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

(11)



2-0002596

(51) **A61K 36/00; A61K 36/81; A61K 36/42**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00035

(22) 15/10/2018

(67) 1-2018-04560

(45) 25/04/2021 397

(43) 25/09/2019 378A

(73) **TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN (VN)**

334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội

(72) **PHẠM HÙNG VIỆT (VN); NGUYỄN QUYẾT THẮNG (VN); TRẦN VĂN ƠN
(VN); NGHIÊM ĐỨC TRỌNG (VN); NGUYỄN THANH HẢI (VN); BÙI THANH
TÙNG (VN); DƯƠNG HỒNG ANH (VN).**

(54) **HỖN HỢP DẠNG CAO CHIẾT CỦA CÁC CÂY BÀN TAY MA (*HELICIOPSIS
TERMINALIS* (KURZ) SLEUMER (PROTEACEAE)), GIẢO CỔ LAM (*GYNOSTEMMA
PENTAPHYLLUM* (THUNB.) MAKINO (CUCURBITACEAE)) VÀ CÀ GAI LEO
(*SOLANUM PROCUMBENS* LOUR. (SOLANACEAE)) CÓ TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN
VÀ LỢI MẬT, VÀ THỰC PHẨM BẢO VỆ SỨC KHỎE CHỨA HỖN HỢP NÀY**

(57) **Giải pháp hữu ích đề cập đến hỗn hợp dạng cao chiết của các cây Bàn tay ma
(*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma
pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens*
Lour. (Solanaceae)) có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật. Giải pháp hữu ích cũng đề cập đến
thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa hỗn hợp này.**

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến hỗn hợp dạng cao chiết của các cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật. Giải pháp hữu ích cũng đề cập đến thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa hỗn hợp này.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Gan là một trong những cơ quan lớn nhất của cơ thể, có tính chất sinh mạng và đảm nhận những chức năng vô cùng quan trọng đối với cơ thể như: biến đổi thức ăn thành những chất cần thiết cho sự sống và phát triển; sản xuất ra nhiều chất quan trọng sử dụng cho cơ thể; giải độc và bài tiết các chất độc trong cơ thể. Bên cạnh đó, gan cũng tạo ra mật, một chất dịch cần thiết cho sự tiêu hóa. Tuy nhiên, một thực tế hiện nay là số người mắc các bệnh về gan mật ngày càng gia tăng và mức độ nghiêm trọng của bệnh cũng tăng lên đáng kể. Cây thuốc đóng một vai trò quan trọng trong hệ thống chăm sóc sức khỏe con người. Hiện nay, dược liệu đang được ưa dùng vì tính hiệu quả, an toàn và ít tác dụng phụ. Trong số đó, một số lượng lớn các loài cây cỏ và các hợp chất tự nhiên đã được thử nghiệm trong điều trị bệnh lý gan. Y học cổ truyền từ lâu đã sử dụng các loại thảo dược với mục đích: kích thích tiêu hóa thông qua tác dụng tăng hoạt tính của men tụy như Bạch truật, Phục linh, Trần bì, v.v.; bảo vệ tế bào gan: Sài hồ, Đương quy, Đại táo, Glycyrrhizine của Cam thảo; điều hòa chức năng miễn dịch: Sài hồ, Đảng sâm, Bạch truật, Bạch thược, v.v.. Mặc dù đã có

nhều bài thuốc dân gian có tác dụng điều trị bệnh gan mật, nhưng vẫn cần có bài thuốc hữu hiệu để điều trị các bệnh này.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Để giải quyết vấn đề nêu trên, giải pháp hữu ích đề xuất hỗn hợp dạng cao chiết của các cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật và thực phẩm bảo vệ sức khỏe có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật chứa hỗn hợp này.

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp hữu ích đề xuất hỗn hợp dạng cao chiết của các cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật, trong đó hỗn hợp này được điều chế như sau:

- (i) thu hái nguyên liệu cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu;
- (ii) thu hái nguyên liệu cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu;
- (iii) thu hái nguyên liệu cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu;
- (iv) phối trộn các bột nguyên liệu của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) theo tỷ lệ 30:5:10 thu được hỗn hợp bột nguyên liệu;
- (v) chiết hỗn hợp bột nguyên liệu này bằng nước, đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu:dung môi là 45:2 (g/L), lặp lại 3 lần;

(vi) thu gom các dịch chiết, lọc và lấy phần dịch lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm, sau đó sấy trong tủ sấy ở 45°C tới khối lượng không đổi thu được dạng cao chiết của các cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)).

Tốt hơn là, dịch chiết của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)) là dịch chiết của vỏ cây Bàn tay ma, dịch chiết của cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) là dịch chiết của cành mang lá cây Giảo cổ lam và dịch chiết của cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) là dịch chiết của thân cây Cà gai leo.

Theo khía cạnh khác, giải pháp hữu ích đề xuất thực phẩm bảo vệ sức khỏe có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật chứa hỗn hợp này.

Mô tả văn tắt hình vẽ

Hình 1 là hình ảnh giải phẫu vi thể tế bào gan chuột ở độ phóng đại 40 lần, trong đó: a) Lô 1; b) Lô 2; c) Lô 3; d) Lô 4; e) Lô 5.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích mô tả chi tiết các phương án cụ thể.

Giải pháp hữu ích đề cập đến hỗn hợp dạng cao chiết của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật.

Cây Bàn tay ma có tên khoa học là *Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae). Cây Bàn tay ma là cây gỗ nhỏ, cao tới 7-8m hay hơn, cành nhỏ và cuống lá non, thường có lông nhung. Lá có thể xẻ sâu lông chim gần hình bầu dục, xẻ sâu 3 thùy dạng trứng, hay hình tròn dài không xẻ thùy, mép lá nguyên hay có gợn sóng. Hoa của cây Bàn tay ma là hoa đơn tính, hay hình bầu dục, gần như

không cuống. Quả của cây Bàn tay ma hình trứng hay hình bầu dục, dẹt, không có lông, khi chín thì có màu nâu đen. Hạt của cây Bàn tay ma đơn độc, hình bầu dục. Cây ra hoa vào tháng 6. Cây thường mọc trong rừng núi đất ở Bắc Thái, Vĩnh Phú, Ninh Bình, Lạng Sơn, Quảng Ninh. Khi thu hái làm nguyên liệu có thể thu hái toàn cây, rửa sạch, thái nhỏ, phơi khô. Đồng bào Dao dùng cây chữa bệnh thấp khớp, nấu nước tắm cho phụ nữ sau khi sinh để cho khoẻ người và chống đau nhức. Cây cũng được dùng chữa lao hạch, chữa viêm gan siêu vi trùng.

Cây Giảo cổ lam có tên khoa học là *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae). Cây Giảo cổ lam có thân và nhánh mảnh, có góc-rãnh, nhẵn hoặc có lông tơ rải rác. Lá cây Giảo cổ lam là lá kép chân vịt có 3-9 lá chét, thường 5-7 lá chét, có lông tơ hoặc nhẵn; lá chét hình trứng – thuôn hoặc mác, lá chét giữa 3-12 x 1,5-4 cm, lá chét bên nhỏ hơn, cả hai mặt đôi khi có lông cứng, gân bên 6-8 đôi, gốc hẹp dần vào cuống, mép khía tai bèo, đỉnh nhọn hoặc có mũi nhọn ngắn; cuống lá chét 1-5 mm. Tua cuốn dạng chỉ, 2 nhánh. Hoa đực của cây Giảo cổ lam là hoa trong cụm hoa chùy, cuống cụm hoa dạng chỉ, 10-15 (-30) cm, rất nhiều nhánh; cuống hoa dạng chỉ, 1-4 mm; lá bắc hình giùi; ống dài rất ngắn; thùy đài hình tam giác, khoảng 0,7 mm, đỉnh nhọn; tràng màu xanh lá cây nhạt hoặc trắng; thùy tràng hình trứng-mác, 2,5-3 x khoảng 1 mm, 1 gân, đỉnh có mũi nhọn dài. Hoa cái của cây Giảo cổ lam là cụm hoa chùy ngắn hơn cụm hoa đực; đài và tràng giống hoa đực; bầu hình cầu, 2 hoặc 3 ô; vòi nhụy 3; núm nhụy 2 thùy; nhị lép 5, ngắn. Quả của cây Giảo cổ lam không tự mở, đến khi trưởng thành, hình cầu, đường kính 5-6 mm; 2-3 hạt, nhẵn hoặc dày đặc lông cứng và lông tơ. Hạt của cây Giảo cổ lam màu nâu, trứng-tim, đường kính khoảng 4 mm, dẹt, hai mặt có nhú, gốc tim, đỉnh tù. Hoa tháng 3-11, quả tháng 4-12. Cây Giảo cổ lam phân bố ở rất nhiều vùng như Lào Cai (Sapa), Lai Châu (Phong Thổ), Cao Bằng (Quảng Uyên, Hà Quảng), Lạng Sơn, Quảng Ninh (Móng Cái, Hà Cối), Hà Nội (Mỹ Đức, Sơn Tây, Ba Vì), Tuyên Quang, Bắc Kạn, Thái Nguyên, Hòa Bình (Quý Đức, Lương Sơn, Đà Bắc, Kim Bôi, Cao

Phong), Ninh Bình (Phúc Nhạc), Quảng Bình (Vườn quốc gia Phong Nha -Kẻ Bàng), Thừa Thiên Huế, Kon Tum, Đồng Nai (Biên Hòa, Định Quán, Dầu Giây). Cây Giảo cổ lam có hoạt chất chính là các saponin và flavonoid, đã được chứng minh có nhiều tác dụng sinh học mà nổi bật là các tác dụng trên chuyển hóa làm hạ đường huyết, hạ lipit máu. Ngoài ra, cây Giảo cổ lam còn có tác dụng chống oxy hóa, điều hòa huyết áp, bảo vệ động-tĩnh mạch, tăng cường miễn dịch, tác dụng bảo vệ gan, chống loét dạ dày, ức chế một số dòng tế bào ung thư (ung thư vú, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng...).

Cây Cà gai leo có tên khoa học là *Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae). Cây Cà gai leo là cây leo nhỡ, thân dài 0,6-1m hay hơn, rất nhiều gai, cành xoè rộng, trên phủ lông hình sao. Lá cây Cà gai leo hình trứng hay thuôn, phía gốc lá hình rìu hay hơi tròn, mép nguyên hay hơi lượn và khía thùy, hai mặt nhất là mặt dưới phủ lông nhạt, phiến dài 3-4cm, rộng 12-20mm, có gai cuống dài 4-5mm. Hoa cây Cà gai leo tím nhạt, nhị vàng, gộp thành sim 2-5 hoa. Quả hình cầu khi chín có màu vàng, bông nhẵn, đường kính 57mm. Hạt màu vàng hình thận, có mạng dài 4mm, rộng 2mm. Cây ra hoa vào tháng 4-5, ra quả vào tháng 7-9. Cây Cà gai leo mọc hoang ở khắp mọi nơi từ vùng núi thấp đến trung du và đồng bằng ven biển như Thái Bình, Nam Hà, Thanh Hoá, Nghệ An. Cây Cà gai leo cũng thường được trồng làm hàng rào. Cây Cà gai leo có thể thu hái rễ và cành lá quanh năm, rửa sạch, thái lát, phơi khô hay sấy khô. Cây Cà gai leo có thể dùng được liệu nấu cao chiết, cao mềm hay cao khô. Cụ thể, cây thường dùng trị cảm cúm, bệnh dị ứng, ho gà, đau lưng, đau nhức xương, thấp khớp, rắn cắn. Cao lỏng Cà gai leo dùng ngâm chữa viêm lợi, viêm quanh răng. Ngoài ra, rễ cây Cà gai leo xát vào răng khi uống rượu để tránh say rượu; cũng dùng rễ sắc nước cho người bị say uống để giải say.

Hỗn hợp dạng cao chiết của cây Bàn tay ma (*Heliconia terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)), theo giải

pháp hữu ích được điều chế như sau: thu hái các nguyên liệu cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)). Phơi khô các nguyên liệu và nghiền nhỏ, lần lượt thu được các bột nguyên liệu của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)). Phối trộn các bột nguyên liệu này theo tỷ lệ lần lượt là 30:5:10 thu được hỗn hợp bột nguyên liệu. Chiết hỗn hợp bột nguyên liệu thu được bằng nước, đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu:dung môi 45:2(g/L), lặp lại 3 lần. Thu gom các dịch chiết, lọc và lấy phần dịch lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm rồi sấy trong tủ sấy ở 45°C tới khối lượng không đổi thu được hỗn hợp dạng cao chiết của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)). Hiệu suất khoảng 6%.

Theo phương án ưu tiên, dịch chiết của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)) là dịch chiết của vỏ cây Bàn tay ma, dịch chiết của cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) là dịch chiết của cành mang lá cây Giảo cổ lam và dịch chiết của cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) là dịch chiết của thân cây Cà gai leo.

Giải pháp hữu ích còn đề cập đến thực phẩm bảo vệ sức khỏe có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật chứa hỗn hợp này.

Các nguyên liệu đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm, đáp ứng đủ các điều kiện chế biến, bào chế thực phẩm bảo vệ sức khỏe theo quy định của các văn bản quy phạm pháp luật.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Điều chế hỗn hợp dạng cao chiết của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae))

Nguyên liệu thu hái để sử dụng theo giải pháp hữu ích được trồng ở huyện Bạch Thông, tỉnh Bắc Kạn, Việt Nam. Hỗn hợp dạng cao chiết được điều chế như sau:

Thu hái vỏ cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), phơi khô và nghiền nhỏ thành bột. Thu hái cành mang lá cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)), phơi khô và nghiền nhỏ thành bột. Thu hái thân cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)), phơi khô và nghiền nhỏ thành bột. Phối trộn các bột nguyên liệu của vỏ cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), cành mang lá cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và thân cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) theo tỷ lệ 30:5:10, thu được 45g hỗn hợp nguyên liệu. Chiết 45g hỗn hợp nguyên liệu này bằng nước, đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp nguyên liệu : dung môi nước là 45(g):2(L), lặp lại 3 lần. Thu gom các dịch chiết, lọc và lấy phần dịch lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm rồi sấy trong tủ sấy ở 45°C tới khối lượng không đổi, thu được hỗn hợp dạng cao chiết của các cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)). Hiệu suất đạt được là 6%.

Ví dụ 2. Đánh giá tác dụng dược lý của hỗn hợp dạng cao chiết thu được

Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng $25,0 \pm 2,0$ g để nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan, lợi mật và độc tính cấp do Viện Vệ sinh Dịch

tế Trung ương cung cấp. Động vật được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm từ 3-5 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu tại Khoa Y Dược, Đại Học Quốc Gia Hà Nội.

Hóa chất

Viên nén paracetamol (Sanofi Aventis, lô 17094, chứa 500 mg paracetamol); viên nang Legalon (Madaus, lô B1602390, chứa 70 mg silymarin); Formol; Kít định lượng ALT, AST của hãng Human (Đức).

Dụng cụ nghiên cứu

-Máy định lượng sinh hóa bán tự động HumaLyzer 2000 (Đức);

-Các dụng cụ thí nghiệm thông thường của Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

a) Phương pháp thử tác dụng bảo vệ gan

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

+ Lô 1 (đối chứng sinh lý): chuột uống nước cất;

+ Lô 2 (đối chứng bệnh lý): chuột uống paraceramol và nước cất;

+ Lô 3: chuột được cho uống hỗn hợp dạng cao chiết thu được theo ví dụ 1 liều 1 + paraceramol;

+ Lô 4: chuột được cho uống hỗn hợp dạng cao chiết thu được theo ví dụ 1 liều 2 + paraceramol;

+ Lô 5 (đối chứng dương): chuột được cho uống bột thuốc chứa silymarin (tương ứng lượng silymarin là 70 mg/kg) + paraceramol. Liều 1 và liều 2 được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Liều sử dụng trong nghiên cứu dựa trên quy đổi từ liều sử dụng trên người

Lượng dược liệu khô (mg/ngày/người)	Liều trên người (mg/kg/ngày)	Liều quy đổi trên chuột nhất (mg/kg/ngày)	Liều 1 trên chuột nhất 25g (mg)	Liều 2 trên chuột nhất 25g (mg)
45000	900	10800	270 (tương ứng 16,2 mg cao chiết)	540 (tương ứng 32,4 mg cao chiết)

Chuột được uống nước hoặc thuốc thử liên tục trong 8 ngày. Ngày thứ 8, sau uống thuốc 1 giờ (chuột được nhịn đói 16-18 giờ trước đó), gây tổn thương gan chuột ở các lô từ lô 2 đến lô 5 bằng uống paracetamol (PAR) liều 400 mg/kg với thể tích 0,2 ml/10 g. Sau khi gây độc bằng paracetamol 48 giờ, lấy máu động mạch cảnh của chuột để định lượng enzym AST, ALT và quan sát mô bệnh học (đại thể và vi thể). Gan chuột thí nghiệm sau khi mổ được cố định bằng formol 10%, xử lý và nhuộm Hematoxylin-Eosin và được thực hiện tại bộ môn Y Dược học cơ sở, Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

b) Phương pháp thử tác dụng lợi mật

Tiến hành: Dùng 30 chuột nhất trắng chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 10 con. Theo phương pháp của Rudi.

- + Lô thử 1: chuột uống hỗn hợp dạng cao chiết thu được theo ví dụ 1 liều 1;
- + Lô thử 2: chuột uống hỗn hợp dạng cao chiết thu được theo ví dụ 1 liều 2;
- + Lô 3 (đối chứng sinh lý): chuột uống NaCl 0,9%.

Chuột ở 3 lô được uống mẫu thử theo liều qui định trong 3 ngày liên tục, ngày thứ 4 sau khi uống thuốc 30 phút tiến hành gây mê bằng ete etylic và mổ bụng để thắt ống dẫn mật rồi khâu thành bụng lại, sau 30 phút bóc tách túi mật, thấm qua giấy lọc, cân ngay được m_1 (mg).

Rạch túi mật cho mật chảy ra hết rồi thấm dịch mật còn lại vào giấy lọc và cân lại khối lượng túi mật được m_2 (mg).

Khối lượng mật mỗi con là $m = m_1 - m_2$ (mg)

Lượng sinh mật ở lô thử tăng hơn so với lô chứng tính theo công thức:

$$L\% = \frac{m_t - m_c}{m_c} \times 100$$

trong đó, m_t và m_c lần lượt là khối lượng mật của chuột lô thử và lô đối chứng sinh lý.

c) Nghiên cứu đánh giá độc tính cấp

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm. Chuột được chia thành các lô khác nhau (mỗi lô 10 con). Cho chuột uống hỗn hợp dạng cao chiết liều duy nhất với liều tăng dần đến khoảng 80000 mg cao/kg (gấp 62 lần liều 2) (liều cao nhất được thiết kế bằng cách thêm dần nước vào cao chiết đặc đến khi thể chất cao có dạng lỏng để có thể cho chuột uống, cho chuột uống 1,2 ml dịch đặc) 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). Lô thử uống thuốc với các mức liều tăng dần từ với cùng thể tích uống 1,2 ml. Nước cất và thuốc thử được đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù. Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như co giật, kích động, run rẩy, lơ lơ...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc.

d) Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình $\pm$ SEM (Standard Error of the Mean: Sai số chuẩn của giá trị trung bình) và được xử lý thống kê bằng phần mềm SigmaPlot 10.0 theo phép kiểm One-way ANOVA và Tukey test với độ tin cậy lớn hơn 95% ($p < 0,05$).

Tác dụng bảo vệ gan của hỗn hợp dạng cao chiết thu được theo ví dụ 1

e) Kết quả định lượng enzym gan

AST và ALT là các enzym transaminaza tìm thấy nhiều ở tế bào gan. Ở người khỏe mạnh, hàm lượng hai enzym này trong máu thấp. Khi gan bị tổn thương, các

enzym này được giải phóng vào trong máu làm cho hàm lượng của chúng trong máu tăng lên. Do đó, đây là hai enzym chính dùng để đánh giá các tổn thương gan. Để đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết nước, paracetamol ở liều thích hợp được sử dụng để gây độc gan. Các lô nghiên cứu có hàm lượng AST và ALT trong máu thấp hơn thì được xem như gan bị tổn thương ít hơn.

Kết quả đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết thu được theo ví dụ 1 thông qua kết quả định lượng các enzym transaminaza trong máu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của cao chiết lên hoạt độ AST và ALT trong huyết thanh chuột bị gây độc bằng paracetamol

	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5
AST (UI/L)	60,16±14,43	176,96 ± 32,13*	148,38 ± 13,42	124,4 ± 7,33 [#]	105,68 ± 7,58 [#]
ALT (UI/L)	97,33±4,02	156,89 ± 12,42*	133,81 ± 12,35	111,99 ± 6,9 [#]	102,54 ± 7,48 [#]

*: Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô 1 (Chứng sinh lý) ($p\text{-value} < 0,05$)

[#]: Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô 2 (Chứng bệnh lý) ($p\text{-value} < 0,05$)

Lượng enzym gan của lô 1 cao hơn hẳn so với lô 2, điều này cho thấy paracetamol đã làm tăng đáng kể enzym gan so với nhóm chứng đối chứng sinh lý. Thêm nữa là kết quả định lượng enzym gan của lô 5 cho thấy silymarin đã làm giảm enzym gan đáng kể ($p < 0,05$). Như vậy mô hình nghiên cứu là phù hợp để đánh giá tác dụng của cao chiết thu được theo ví dụ 1 trong bảo vệ gan.

Liều 1 có xu hướng có tác dụng làm hạ enzym gan, nhưng sự giảm ấy chưa đủ ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng bệnh lý (lô 2) để kết luận. Tuy nhiên, cùng xu thế ấy, liều 2 lại cho thấy sự giảm enzym gan đáng kể so với nhóm chứng bệnh lý. Như vậy, tính theo liều lượng được qui đổi cho chuột nhất loại 25 g, cao chiết thu được theo ví dụ 1 với liều 1296 mg/kg có tác dụng hạ enzym gan tốt hơn liều thông thường (648 mg/kg).

f) Kết quả giải phẫu bệnh

Tác dụng bảo vệ gan của cao chiết thu được theo ví dụ 1 còn được đánh giá thông qua kết quả giải phẫu bệnh đại thể và vi thể của chuột được gây độc bằng paracetamol (bảng 3 và bảng 4).

Bảng 3. Ảnh hưởng của cao chiết lên sự thay đổi đại phẫu mô bệnh học gan chuột bị gây độc bằng paracetamol

	Đại phẫu
Lô 1	Gan màu đỏ, mặt nhẵn, mật độ mềm, không phù nề, không sung huyết
Lô 2	Gan bị bạc màu đỏ, phù nề, sung huyết, bề mặt sần sùi, có các chấm xuất huyết, các điểm tổn thương trải khắp bề mặt.
Lô 3	Gan màu đỏ, ít bị bạc màu, có các điểm tổn thương và sung huyết nhẹ, bề mặt ít sần sùi.
Lô 4	Gan màu đỏ, ít bị bạc màu, có một số điểm tổn thương và sung huyết nhẹ, bề mặt ít sần sùi.
Lô 5	Gan màu đỏ, sung huyết nhẹ, có một vài điểm tổn thương, một vài điểm bạc màu

Bảng 4. Ảnh hưởng của cao chiết lên sự thay đổi vi phẫu mô bệnh học gan chuột bị gây độc bằng paracetamol (mỗi lô đánh giá vi phẫu 3 con và lấy giá trị trung bình)

Chỉ tiêu	Lô 1(%)	Lô 2(%)	Lô 3(%)	Lô 4(%)	Lô 5(%)
Thoái hóa tế bào gan	0	80	40	0	0
Chảy máu	0	90	0	0	0
Hoại tử gan cấp	0	80	0	0	0
Xâm nhập viêm khoảng cửa	20	100	70	50	40

Kết quả giải phẫu bệnh cho thấy paracetamol có tác dụng làm tăng thoái hóa tế bào gan và xâm nhập viêm ở khoảng cửa, gây chảy máu và hoại tử gan. Phương pháp gây tổn thương gan là phù hợp cho nghiên cứu. So với nhóm chứng bệnh lý, cao chiết ở liều 1 (648 mg/kg) làm cho tỉ lệ thoái hóa tế bào gan giảm rõ rệt, đồng thời hết hẳn hiện tượng chảy máu và hoại tử gan. Ở liều 2 (1296 mg/kg), hiện tượng

chảy máu và hoại tử gan cũng không còn, đặc biệt là đã không xuất hiện sự thoái hoá tế bào gan, sự thâm nhập viêm khoảng cửa cũng đã giảm thêm 20%. Kết quả này cho thấy liều 2 có tác dụng bảo vệ gan tốt hơn liều 1 (liều thông thường) và kết quả này cũng phù hợp với kết quả về định lượng enzym gan. Từ các kết quả đánh giá sinh hóa và kết quả vi phẫu thì nhận thấy trên chuột nhất, cao chiết thu được theo ví dụ 1 có tác dụng bảo vệ gan và tác dụng ở liều cao gấp đôi tốt hơn tác dụng của liều thông thường.

g) Kết quả tác dụng lợi mật

Tác dụng lợi mật được đánh giá thông qua lượng mật tiết ra sau quá trình cho chuột uống thuốc. Lượng mật tiết ra nhiều hơn thông thường chứng tỏ thuốc có tác dụng lợi mật. Nghiên cứu cũng được tiến hành trên lô chứng sinh lý, lô cho chuột uống cao chiết với liều thông thường và lô cho chuột uống với liều cao gấp đôi. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở bảng 5. Từ kết quả bảng 5 cho thấy liều 1 có tác dụng làm tăng lượng mật tiết ra 18,8%, liều 2 làm tăng 45,8%.

Như vậy cao chiết thu được theo ví dụ 1 đã làm tăng lượng mật tiết ra, trong đó ở liều 2 có tác dụng lợi mật rõ rệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng.

Bảng 5. Kết quả đánh giá tác dụng lợi mật của cao chiết thu được theo ví dụ 1

	Liều 1 m _t (mg)	Liều 2 m _t (mg)	Lô chứng m _c (mg)
TB ± SEM	2,8±0,9	3,5±1,3	2,4±0,3
p so với lô chứng	p>0,05	p<0,05	
L%	18,8%	45,8%	

h) Kết quả độc tính cấp

Triệu chứng lâm sàng:

Sau khi cho uống liều cao nhất (gấp khoảng 62 lần liều 2), tất cả chuột giảm hoạt động, đi lại chậm chạp (sau 15 phút), chuột nằm cụp lại (sau 30 phút), chuột ít

ăn uống, có vẻ mệt (sau 45 phút), sau 60 phút phân nửa số chuột bắt đầu ăn uống khá hơn và linh hoạt trở lại và sau 90 phút chuột hoạt động và ăn uống bình thường, khảo sát đến 72 giờ không có chuột chết.

Mổ khám và quan sát nội tạng sau 72 giờ dùng thuốc:

Mổ khám tất cả chuột thí nghiệm, nhận thấy: cơ tim bình thường, toàn bộ gan có màu đỏ tươi (hai chuột gan có màu đỏ sậm), túi mật đầy, dịch mật có màu vàng trong, phổi trắng hồng và ruột tiêu hóa tốt (không biểu hiện bất thường).

Khảo sát vi thể ở gan chuột sau 72 giờ dùng thuốc:

Khảo sát vi thể gan của các chuột thử nghiệm và chuột đối chứng cho thấy: các tế bào gan, khoảng cửa ở gan có hình thái bình thường và mô kẽ bình thường; không có hiện tượng hủy hoại tế bào gan.

Các kết quả trên cho thấy khi cho chuột uống cao chiết thu được theo ví dụ 1 liều 80000mg cao/kg cân nặng (liều cao nhất có thể cho chuột uống) sau 72 giờ, đã không gây chết hoặc có triệu chứng ngộ độc. Do đó, có thể thấy rằng cao chiết thu được theo ví dụ 1 có phạm vi an toàn khá rộng và vẫn chưa xác định được độc tính cấp và LD₅₀ (Lethal dose 50%).

Hỗn hợp dạng cao chiết thu được trong ví dụ 1 cũng có thể được sử dụng làm thực phẩm bảo vệ sức khỏe có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật.

Hiệu quả có thể đạt được của giải pháp hữu ích

Hỗn hợp dạng cao chiết của các cây Bàn tay ma (*Heliconia terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) và hỗn hợp dạng cao chiết với liều 648 mg/kg và 1296 mg/kg đều có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol liều 400 mg/kg ở chuột nhắt trắng. Tác dụng này thể hiện thông qua sự giảm hoạt độ enzym AST và ALT, cùng với đó là sự giảm tổn thương gan trên kết quả giải phẫu bệnh đại thể và vi thể.

Hỗn hợp dạng cao chiết cũng cho thấy tác dụng lợi mật rõ rệt khi làm tăng lượng mật tiết ra so với nhóm đối chứng sinh lý. Trong điều kiện cho phép về liều phù hợp có thể cho chuột uống, hỗn hợp dạng cao chiết không thể hiện độc tính cấp.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hỗn hợp dạng cao chiết của các cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật, trong đó hỗn hợp này được điều chế như sau:

(i) thu hái nguyên liệu cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu;

(ii) thu hái nguyên liệu cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu;

(iii) thu hái nguyên liệu cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu;

(iv) phối trộn các bột nguyên liệu của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) theo tỷ lệ 30:5:10 thu được hỗn hợp bột nguyên liệu;

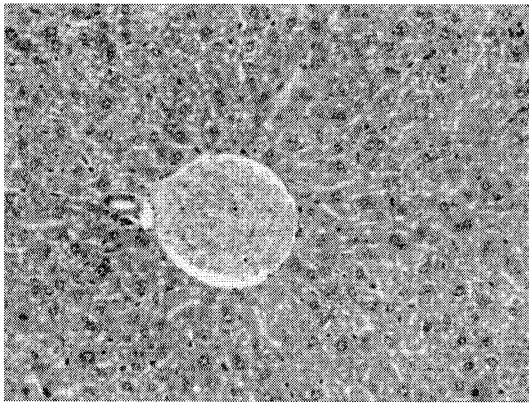
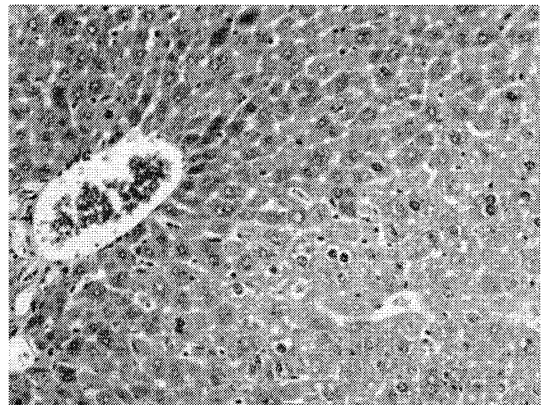
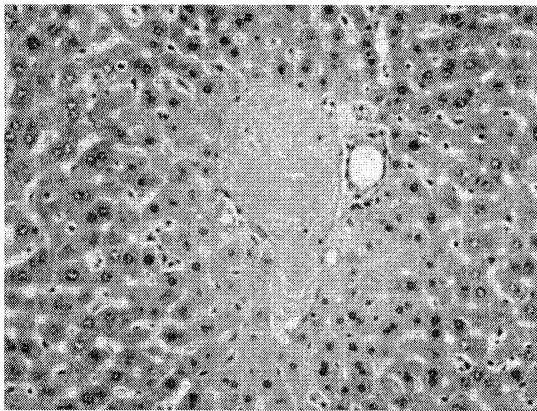
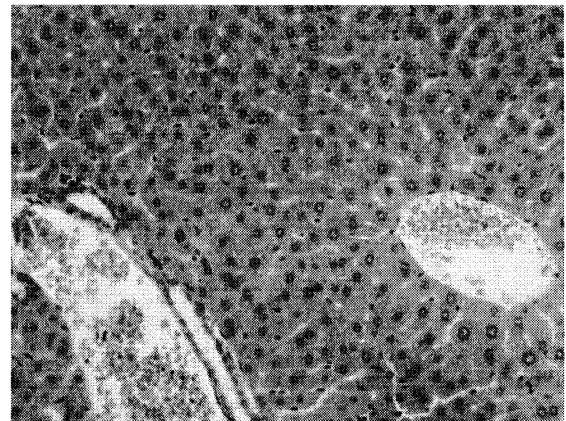
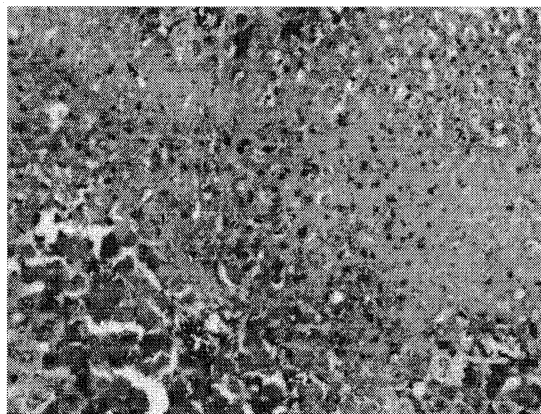
(v) chiết hỗn hợp bột nguyên liệu này bằng nước, đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu:dung môi 45:2(G/L), lặp lại 3 lần;

(vi) thu gom các dịch chiết, lọc và lấy phần dịch lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm rồi sấy trong tủ sấy ở 45°C tới khối lượng không đổi, thu được hỗn hợp dạng cao chiết của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) và Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)).

2. Hỗn hợp dạng cao chiết theo điểm 1, trong đó dịch chiết của cây Bàn tay ma (*Heliciopsis terminalis* (Kurz) Sleumer (Proteaceae)) là dịch chiết của vỏ cây Bàn tay ma, dịch chiết của cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitaceae)) là dịch chiết của cành mang lá cây Giảo cổ lam và dịch chiết của

cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour. (Solanaceae)) là dịch chiết của thân cây Cà gai leo.

3. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe có tác dụng bảo vệ gan và lợi mật chứa hỗn hợp theo điểm 1 hoặc 2.

*a)**b)**c)**d)**e)***Hình 1.**