



(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)



2-0002990

(51) **C07D 311/02; A61K 35/00**
2019.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00044

(22) 31/01/2020

(45) 25/10/2022 415

(43) 27/04/2020 385AHI

(73) Trường Đại học Phenikaa (VN)

Phường Yên Nghĩa, quận Hà Đông, thành phố Hà Nội

(72) Tô Đạo Cường (VN); Bùi Thanh Tùng (VN); Nguyễn Thị Phương Thảo (VN);
Nguyễn Việt Hoàng (VN); Vương Toàn Tùng (VN); Trần Mạnh Hùng (VN); Nguyễn
Phi Hùng (VN).

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT CAO CHIẾT TRÀ HOA VÀNG LÁ DÀY (CAMELLIA
CRASSIPHYLLA)

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*), trong đó quy trình sử dụng phức hệ dung môi polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM và nước để chiết trong điều kiện siêu âm để tăng hiệu suất thu sản phẩm chiết từ lá Trà hoa vàng. Ngoài ra, giải pháp hữu ích cũng đề cập đến chế phẩm bảo vệ gan chứa cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*) này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực công nghệ hóa sinh và các hợp chất thiên nhiên, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*) và chế phẩm bảo vệ gan chứa cao chiết này.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Trong cơ thể, gan là một bộ phận giải độc cho cơ thể, tuy nhiên, bản thân gan cũng bị ngộ độc nếu cơ thể đưa vào quá nhiều chất gây độc, ngoài ra, gan là đích của nhiều loại virus gây viêm gan, là một nguyên nhân hàng gây xơ gan, ung thư gan hàng đầu.

Đã có nhiều chế phẩm giúp bảo vệ gan, tuy nhiên, các chế phẩm này thường có nguồn gốc từ các thành phần tổng hợp, quá trình sản xuất, mặc dù đã cố gắng, nhưng vẫn tồn dư những thành phần không có lợi. Ngoài ra, việc bảo vệ gan mới chỉ dừng ở việc giúp gan đào thải nhanh chất độc chứ không giúp việc kích thích bảo vệ tế bào gan trước những tác nhân gây ngộ độc gan.

Đã có nhiều nỗ lực nhằm tìm kiếm các nguồn dược liệu có nguồn thảo dược thay thế cho các loại thuốc tổng hợp đã được quan tâm nghiên cứu. Đối với các loài thuộc chi *Camellia* (chi Trà), các tác giả đã phát hiện ra tác dụng của Trà xanh *Camellia sinensis*, ví dụ như các hợp chất tinh khiết axit gallic và epigallocatechin gallate (hợp chất chính) trong việc kháng viêm, bảo vệ tế bào (Sheida et al. Electrochemical Determination of Gallic Acid in *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, *Viola odorata* L., *Commiphora wightii* (Arn.) Bhandari, and *Vitex agnus-castus* L. by MWCNTs-COOH Modified CPE. *Journal of Nanostructures*, 2019, 9, 384–395; Wojciech et al. Applications of tea (*Camellia sinensis*) and its active constituents in cosmetics. *Molecules*, 2019, 24, 4277), các sản phẩm dưới dạng thực phẩm chức năng như mỹ phẩm (Xie et al. Baby care cream with prickly heat dispelling and itching relieving effects. *Faming Zhuanli Shenqing*, 2019, CN 110448485 A 20191115; Lee et al. Cosmetic composition and skin external composition comprising turmeric extract and camellia oil. *Republic of Korean Kongkae Taeho Kongbo*, 2019, KR 2019124947 A 20191106) và đồ uống (Chaudhari et al. Secrets of green tea and its potential health benefits. *Journal of Pharma Research*, 2018, 7, 261-275).

Cây Trà hoa vàng trong dân gian đã được sử dụng nhằm bồi bổ cơ thể, kháng viêm, giảm béo, điều trị bệnh tiểu đường và ngăn ngừa bệnh ung thư. Tuy nhiên, đến hiện tại, chưa có phương pháp cũng như các nghiên cứu cụ thể liên quan đến kỹ thuật cũng như cách thức để thu được chế phẩm chiết với hiệu quả chiết cao, giữ được các hoạt chất chính có trong lá Trà hoa vàng này. Các nghiên cứu liên quan đến cây Trà hoa vàng và các sản phẩm chứa Trà hoa vàng được thực hiện với loài *Camellia chrysantha* cho thấy chế phẩm thu được có tác dụng kháng viêm tốt (Wei. Maonan tincture and preparation method thereof. *Faming Zhuanli Shenqing*, 2019, CN 109517705 A 20190326; Zhu. *Camellia chrysantha*-containing chewing gum and its preparing method. *Faming Zhuanli Shenqing*, 2014, CN 103719526 A 20140416).

Các phương pháp chiết lá trà truyền thống nói chung thường là diệt men ở nhiệt độ cao, sấy và vò đến khi thu được sản phẩm lá trà khô. Sản phẩm lá trà được chiết để thu được bột chiết hoặc chiết trực tiếp lá trà tươi ở nhiệt độ cao. Tuy nhiên, kỹ thuật diệt men và sấy ở nhiệt độ cao khiến lá trà bị vàng do lượng diệp lục trong lá trà bị biến tính, cao chiết thu được có màu vàng, mùi nồng và đặc biệt các thành phần có lợi hoàn toàn bị mất. Một điều nữa là do cấu tạo của lá trà dày, nên để chiết hoặc phải kéo dài thời gian, hoặc phải tăng nhiệt độ chiết để thu được thành phần chiết hiệu quả.

Đối với cây Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*), trong y học dân tộc đã có phương pháp bí truyền trong việc tạo chế phẩm bảo vệ gan hiệu quả. Chế phẩm từ cây Trà hoa vàng lá dày được kết hợp với một số thành phần giúp bảo vệ gan hiệu quả, đặc biệt là bảo vệ gan đối với người uống rượu. Chế phẩm này được bào chế ở dạng viên hoàn tán kết hợp với một số thành phần bí mật khác cho phép bảo vệ gan hiệu quả. Tuy nhiên, các viên hoàn tán này có kích thước lớn, không phù hợp để sử dụng lâu dài.

Do đó, cần có phương pháp chiết hiệu quả giúp rút ngắn thời gian chiết để vừa tăng hiệu suất chiết, vừa thu được chế phẩm có tác dụng mong muốn và chế phẩm bảo vệ gan nhằm phát triển chế phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên an toàn, hiệu quả.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích nhằm giải quyết các vấn đề nêu trên, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày và chế phẩm bảo vệ gan chứa cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*).

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) sơ chế nguyên liệu bằng cách thu lá Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*), sau khi loại tạp chất, rửa sạch và sấy khô bằng sấy lạnh ở nhiệt độ từ 20 đến 30°C đến hàm ẩm còn khoảng 5% rồi nghiền nhỏ thu được nguyên liệu là lá Trà hoa vàng lá dày dạng bột;

b) xử lý nguyên liệu bằng cách đưa nguyên liệu vào thiết bị chiết, tiếp đó làm ẩm nguyên liệu với phức hệ dung môi bao gồm polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM và nước trong 5 phút, sau đó gia nhiệt đến khoảng từ 80 đến 95°C thu được phần nguyên liệu đã được xử lý;

c) chiết nguyên liệu bằng cách gia nhiệt hệ dung môi chiết bao gồm polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM và nước đến khoảng từ 80 đến 95°C rồi bổ sung vào phần bột lá trà hoa vàng lá dày theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5 (khối lượng/thể tích), sau đó khuấy và tiến hành chiết siêu âm với tần số từ 50Hz đến 100 Hz trong khoảng từ 30 đến 60 phút thu được phần dịch chiết; và

d) thu cao chiết bằng cách ly tâm phần dịch chiết với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút, sau khi loại phần cặn tiến hành sấy khô để thu được cao chiết Trà hoa vàng lá dày dạng bột khô.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó nhiệt độ sấy lá Trà hoa vàng lá dày trong khoảng từ 20 đến 25°C và nhiệt độ chiết là 90°C.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó quá trình chiết nguyên liệu được thực hiện trong điều kiện siêu âm với tần số là 60Hz trong khoảng thời gian 30 phút.

Theo một khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề xuất chế phẩm bảo vệ gan chứa cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*) thu được từ quy trình theo giải pháp, trong đó chế phẩm này bao gồm các thành phần theo tỷ lệ % trọng lượng sau:

Cao chiết Trà hoa vàng lá dày (<i>Camellia crassiphylla</i>):	20-40
Cao chiết nấm Linh chi (<i>Ganoderma lucidum</i>):	15-30
Cao chiết cà Gai leo (<i>Solanum procumbens</i> Lour):	15-30
Cao chiết Dâu tằm (<i>Morus alba</i>):	8-20
Bột chiết Artisô (<i>Cynara scolymus</i>):	5-10
Canxi cacbonat:	4-8
Tinh bột mỳ:	4-10

Lactoza:	7-10
Magnesi stearat:	0,1-0,5
Nước tinh khiết:	1-4.

Chế phẩm theo giải pháp hữu ích có hiệu quả trong việc giải độc gan, giúp hỗ trợ trong việc điều trị các bệnh liên quan đến gan.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: là ảnh chụp tế bào gan nuôi cấy dưới tác dụng của chế phẩm sau 48 giờ thử nghiệm.

Hình 2: là ảnh chụp tế bào gan nuôi cấy dưới tác dụng của chế phẩm sau 72 giờ thử nghiệm.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích được mô tả một cách chi tiết với các phương án thực hiện và các ví dụ minh họa cụ thể, tuy nhiên các phương án thực hiện và các ví dụ minh họa cụ thể này chỉ nhằm làm rõ bản chất của giải pháp hữu ích chứ không nhằm hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Cây Trà hoa vàng lá dày có tên khoa học là *Camellia crassiphylla* thuộc họ Chè (Theaceae), là cây gỗ nhỏ, cao 3-4 m. Cành non màu nâu nhạt, nhẵn. Lá có cuống dài 8-15 mm, nhẵn, phiến lá hình bầu dục, bầu dục rộng hoặc thuôn, dài 23,5-29 cm, rộng 9-11,5 cm, xanh đậm và láng ở mặt trên, xanh sáng ở mặt dưới với nhiều điểm tuyến màu đen, cả hai mặt đều không lông, lá dạng da, dày, gốc lá hình nêm hoặc tròn, chóp lá có mũi nhọn, mép lá có răng cưa nhỏ cách đều nhau, hệ gân lõm ở mặt trên và nổi rõ ở mặt dưới, gân bên 12-16 cặp. Cây Trà hoa vàng lá dày đã được biết đến có tác dụng như điều trị ung thư, ngăn ngừa bệnh tim mạch, hạ cholesterol, giảm béo, bồi bổ cơ thể giúp hạ đường huyết.

Theo giải pháp hữu ích, thành phần được sử dụng làm nguyên liệu là lá tươi của cây Trà hoa vàng lá dày *Camellia crassiphylla* được phân bố ở Tam Đảo, Việt Nam.

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp đề cập đến quy trình sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*), trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) sơ chế nguyên liệu, b) xử lý nguyên liệu, c) chiết nguyên liệu và d) thu cao chiết.

Trong bước sơ chế nguyên liệu, lá tươi của cây Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*) được thu gom, sau khi loại tạp chất, rửa sạch, tiến hành sấy khô bằng sấy lạnh ở nhiệt độ từ 20 đến 30°C. Việc sấy lạnh ở nhiệt độ thấp giúp cho lá trà không những không bị mất màu mà còn giúp các thành phần polyphenol hữu ích có trong lá trà không bị biến tính. Việc sấy lạnh là một yếu tố giúp tăng cao hiệu suất chiết. Theo đó, nhiệt độ sấy lá trà tốt nhất là nằm trong khoảng từ 20 đến 25°C, cụ thể là 20, 21, 22, 23, 24 hoặc 25°C. Nhiệt độ sấy lá trà tốt hơn hết không quá 30°C để thu được lá trà sau khi sấy vẫn giữ được màu xanh. Hàm ẩm của lá trà tốt nhất là còn khoảng 5%. Sau khi sấy, lá trà được nghiền nhỏ để thu được nguyên liệu là lá Trà hoa vàng lá dày dạng bột có màu xanh, mùi thơm đặc trưng.

Trong bước xử lý nguyên liệu bằng cách đưa nguyên liệu vào thiết bị chiết, tiếp đó làm ẩm nguyên liệu với phức hệ dung môi bao gồm polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM và nước trong 5 phút. Việc làm ẩm nguyên liệu này trước khi chiết cho phép tăng hiệu suất chiết. Sau đó, gia nhiệt nguyên liệu đến khoảng từ 80 đến 95°C thu được phần nguyên liệu đã được xử lý. Quá trình này tốt nhất được thực hiện trong bình chiết. Cần lưu ý rằng, nhiệt độ nguyên liệu được khống chế không được vượt quá 100°C để tránh biến tính các hoạt chất có lợi trong quá trình chiết.

Trong bước chiết nguyên liệu, tiến hành gia nhiệt hệ dung môi chiết bao gồm polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM và nước đến khoảng từ 80 đến 95°C. Phần dung môi này được bổ sung vào phần bột lá Trà hoa vàng lá dày theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5 (khối lượng/thể tích). Các tác giả bất ngờ phát hiện ra rằng, bằng cách sử dụng hệ dung môi polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM và nước cho phép tăng hiệu suất chiết lên tới 20% so với phương pháp chiết bằng cồn và tới 30% so với phương pháp chiết bằng nước. Ngoài ra, khi chiết bằng siêu âm với tần số từ 50Hz đến 100 Hz cho phép rút ngắn thời gian chiết xuống còn từ 30 đến 60 phút. Theo một phương án ưu tiên, nhiệt độ chiết nằm trong khoảng từ 85 đến 90°C, theo các phương án ưu tiên cụ thể, nhiệt độ chiết tốt hơn là 86, 87, 88, 89 hoặc 90°C. Theo một phương án đặc biệt ưu tiên, nhiệt độ chiết là 90°C. Tần số siêu âm để chiết tốt nhất là từ 50 đến 100Hz, tốt nhất là 60Hz. Sản phẩm chiết được loại kiệt dung môi, thu được phần dịch chiết.

Trong bước thu cao chiết, tiến hành ly tâm phần dịch chiết với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút. Sau khi loại phần cặn tiến hành sấy khô để thu được cao chiết Trà hoa vàng lá dày dạng bột khô. Các kỹ thuật sấy khô theo phương pháp theo giải

pháp hữu ích tốt nhất không để nhiệt độ vượt quá 100°C và tốt nhất là sấy trong điều kiện áp suất giảm, tốt nhất là nhiệt độ sấy không vượt quá 90°C để cho phép giữ được các hoạt chất polyphenol và có trong lá chè không bị biến tính. Cao chiết Trà hoa vàng lá dày theo giải pháp hữu ích ở dạng bột khô, màu vàng, mùi thơm đặc trưng.

Bằng cách kết hợp hệ dung môi, điều kiện chiết và khống chế nhiệt độ chiết, các tác giả cho phép rút ngắn thời gian chiết xuống dưới 60 phút, nhiệt độ chiết được khống chế không quá 100°C cho phép giữ được các hoạt chất có trong lá Trà hoa vàng lá dày không bị biến tính. Ngoài ra, hệ dung môi được sử dụng polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM là một hệ dung môi không độc, cho phép giữ được hiệu suất chiết và an toàn khi sử dụng cho người và động vật.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm bảo vệ gan chứa cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*) thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó chế phẩm này bao gồm các thành phần theo tỷ lệ % trọng lượng sau:

Cao chiết Trà hoa vàng lá dày (<i>Camellia crassiphylla</i>):	20-40
Cao chiết nấm Linh chi (<i>Ganoderma lucidum</i>):	15-30
Cao chiết cà Gai leo (<i>Solanum procumbens</i> Lour):	15-30
Cao chiết Dâu tằm (<i>Morus alba</i>):	8-20
Bột chiết Artisô (<i>Cynara scolymus</i>):	5-10
Canxi cacbonat:	4-8
Tinh bột mỳ:	4-10
Lactoza:	7-10
Magnesi stearat:	0,1-0,5
Nước tinh khiết:	1-4.

Trong đó, cao chiết Trà hoa vàng lá dày là dạng cao bột được chiết từ lá cây *Camellia crassiphylla* được phân bố ở Tam Đảo, Việt Nam. Quy trình chiết cao chiết Trà hoa vàng lá dày được thực hiện ở nhiệt độ dưới 100°C bằng dung môi polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM kết hợp với điều kiện siêu âm bằng phương pháp chiết được mô tả theo giải pháp hữu ích. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần cao chiết Trà hoa vàng lá dày nằm trong khoảng từ 20 đến 40% trọng lượng chế phẩm, cao chiết Trà hoa vàng lá dày là thành phần chính trong việc bảo vệ gan của chế phẩm theo giải pháp hữu ích. Thành phần cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*) kết hợp

với cao chiết nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*), cao chiết cà Gai leo (*Solanum procumbens* Lour), cao chiết Dâu tằm (*Morus alba*) và bột chiết Artisô (*Cynara scolymus*) giúp tăng hiệu quả hiệp đồng trong bảo vệ gan. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết Trà hoa vàng lá dày nếu dưới 20% cho hiệu quả bảo vệ gan kém, trên 40% thì lượng các thành phần hiệp đồng khác giảm khiến hiệu quả bảo vệ gan giảm. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết Trà hoa vàng lá dày theo giải pháp nằm trong khoảng từ 20 đến 40% trọng lượng chế phẩm, cụ thể là 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 hoặc 40% trọng lượng chế phẩm.

Cao chiết nấm Linh chi là cao chiết thu được từ nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, cao chiết nấm Linh chi có tác dụng điều hòa huyết áp, suy nhược chống béo phì, tiêu độc, bổ máu. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần cao chiết nấm Linh chi tốt hơn là cao chiết nấm Linh chi đỏ nằm trong khoảng từ 15 đến 30% trọng lượng chế phẩm, cao chiết nấm Linh chi đóng vai trò là thành phần phụ trợ, kết hợp với các thành phần cao chiết Trà hoa vàng lá dày, cao chiết cà Gai leo, cao chiết Dâu tằm, bột chiết Artisô giúp bảo vệ gan của chế phẩm theo giải pháp hữu ích. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết nấm Linh chi nếu dưới 15% cho hiệu quả bảo vệ gan kém, trên 30% thì lượng các thành phần hiệp đồng khác giảm khiến hiệu quả bảo vệ gan giảm. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết nấm Linh chi theo giải pháp tốt nhất là nằm trong khoảng từ 15 đến 30% tổng trọng lượng chế phẩm, cụ thể là 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30% trọng lượng chế phẩm.

Thành phần cao chiết cà Gai leo được chiết từ cây cà Gai leo (*Solanum procumbens* Lour), trong đông y, cà gai leo có tác dụng tán phong thấp, tiêu đờm, tiêu độc giảm đau trừ ho, cầm máu. Trong Cà gai leo có chứa hoạt chất glyco alkaloit có tác dụng chống oxy hóa, giảm tác động của các bệnh về gan. Cao chiết cà Gai leo được chiết bằng phương pháp chiết đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần cao chiết cà Gai leo nằm trong khoảng từ 15 đến 30% trọng lượng chế phẩm, cao chiết cà Gai leo đóng vai trò là thành phần phụ trợ, kết hợp với các thành phần cao chiết Trà hoa vàng lá dày, cao chiết nấm Linh chi, cao chiết Dâu tằm, bột chiết Artisô giúp bảo vệ gan của chế phẩm theo giải pháp hữu ích. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết cà Gai leo nếu dưới 15% cho hiệu quả bảo vệ gan kém, trên 30% thì lượng các thành phần hiệp đồng khác giảm khiến hiệu quả bảo vệ gan giảm. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết

cà Gai leo theo giải pháp tốt nhất là nằm trong khoảng từ 15 đến 30% tổng trọng lượng chế phẩm, cụ thể là 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30% trọng lượng chế phẩm.

Thành phần cao chiết Dâu tằm là cao chiết từ quả dâu tằm (*Morus alba*), quả dâu tằm chín được nghiền bỏ bã, phần nước cốt được cô đặc thành cao. Cao dâu tằm có tác dụng bổ can, ích thận, trị tóc bạc sớm, trị thần kinh suy nhược, giảm sự tích tụ chất béo trong gan, tăng cường chức năng gan. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần cao chiết cà Dâu tằm nằm trong khoảng từ 8 đến 20% trọng lượng chế phẩm, cao chiết Dâu tằm đóng vai trò là thành phần phụ trợ, kết hợp với các thành phần cao chiết Trà hoa vàng lá dày, cao chiết nấm Linh chi, cao chiết cà Gai leo, bột chiết Artisato giúp bảo vệ gan của chế phẩm theo giải pháp hữu ích. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết cà Gai leo nếu dưới 8% cho hiệu quả bảo vệ gan kém, trên 20% thì lượng các thành phần hiệp đồng khác giảm khiến hiệu quả bảo vệ gan giảm. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết Dâu tằm theo giải pháp tốt nhất là nằm trong khoảng từ 8 đến 30% tổng trọng lượng chế phẩm, cụ thể là 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 hoặc 20% trọng lượng chế phẩm.

Thành phần bột chiết Artisato là thành phần chiết từ cây Artisato (*Cynara scolymus*) có tác dụng thúc đẩy tái tạo và phục hồi tế bào gan bị tổn thương, hỗ trợ điều trị viêm gan, giúp hạ cholesterol, hỗ trợ tiêu hóa. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần bột chiết Artisato đóng vai trò là thành phần phụ trợ, kết hợp với các thành phần cao chiết Trà hoa vàng lá dày, cao chiết nấm Linh chi, cao chiết cà Gai leo, cao chiết Dâu tằm, bột chiết Artisato giúp bảo vệ gan của chế phẩm theo giải pháp hữu ích. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết cà Gai leo nếu dưới 15% cho hiệu quả bảo vệ gan kém, trên 30% thì lượng các thành phần hiệp đồng khác giảm khiến hiệu quả bảo vệ gan giảm. Tỷ lệ trọng lượng cao chiết cà Gai leo theo giải pháp tốt nhất là nằm trong khoảng từ 15 đến 30% tổng trọng lượng chế phẩm, cụ thể là 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30% trọng lượng chế phẩm.

Thành phần canxi carbonat được sử dụng như một chất đệm và chất trợ hòa tan trong các chế phẩm dược phẩm và thực phẩm chức năng. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần canxi carbonat đóng vai trò là thành phần tá dược, chúng giúp tăng tính bền của chế phẩm, thành phần canxi carbonat giúp liên kết kết hợp các thành phần cao chiết Trà hoa vàng lá dày, cao chiết nấm Linh chi, cao chiết cà Gai leo, cao chiết Dâu tằm, bột chiết Artisato và các tá dược đệm, chất điều vị giúp làm cứng, tạo hình chế

phẩm bảo vệ gan theo giải pháp hữu ích. Tỷ lệ trọng lượng canxi carbonat được sử dụng với lượng từ 4 đến 8%, cụ thể là 4, 5, 6, 7 hoặc 8% trọng lượng chế phẩm.

Thành phần tinh bột mỳ có tác dụng làm chất kết dính và chất độn, tăng cường khả năng hòa tan vào nước của các thành phần trong chế phẩm thuốc và dược phẩm. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần tinh bột mỳ đóng vai trò là tá dược độn, chúng giúp tăng độ dính của các thành phần trong chế phẩm như cao chiết nấm Linh chi, cao chiết cà Gai leo, cao chiết Dây tằm, bột chiết Artiso và các tá dược, chất điều vị hỗ trợ trong việc tạo hình chế phẩm bảo vệ gan theo giải pháp hữu ích. Tỷ lệ tinh bột mỳ được sử dụng với lượng từ 4 đến 10%, cụ thể là 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10% trọng lượng chế phẩm.

Thành phần lactoza thường được sử dụng như một chất điều vị do vị ngọt của chúng. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần lactoza đóng vai trò là chất điều vị. Lactoza trong chế phẩm giúp giảm vị đắng của cao chiết nấm Linh chi. Tỷ lệ lactoza được sử dụng với lượng từ 7 đến 10%, cụ thể là 7, 8, 9 hoặc 10% trọng lượng chế phẩm.

Thành phần Magnesi stearat đóng vai trò như chất làm trơn giúp cải thiện đặc tính và chất lượng của thuốc. Thành phần magnesi stearat còn giúp giải phóng chậm hoạt chất. Trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích, thành phần Magnesi stearat đóng vai trò là tá dược tạo độ trơn và lâu tan cho chế phẩm. Magnesi stearat được sử dụng trong chế phẩm theo giải pháp hữu ích với lượng từ 7 đến 10%, cụ thể là 7, 8, 9 hoặc 10% trọng lượng chế phẩm.

Nước tinh khiết đóng vai trò là chất tạo độ ẩm, lượng nước tinh khiết trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 1 đến 4% trọng lượng giúp các thành phần trong chế phẩm được liên kết với nhau khi tạo hình.

Chế phẩm theo giải pháp hữu ích có hiệu quả trong việc giải độc gan, giúp hỗ trợ trong việc điều trị các bệnh liên quan đến gan.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày *Camellia crassiphylla*

Để thử nghiệm phương pháp chiết của giải pháp so với phương pháp chiết bằng hệ dung môi truyền thống, tiến hành thử nghiệm với các phương pháp chiết khác nhau. Trong đó lá Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*) tươi được thu hái và được tiến hành chiết bằng các phương pháp sau:

ĐC: Lá trà tươi được chiết bằng nước, nhiệt độ sôi trong 1 giờ.

TN1: Lá trà tươi được sấy khô, nghiền nhỏ thành bột và ngâm chiết bằng dung dịch cồn 90° trong 60 phút.

TN 2: Lá trà tươi được sấy khô, nghiền nhỏ thành bột, chiết hồi lưu bằng dung dịch cồn 90° trong 60 phút.

TN 3: Lá trà được chiết bằng phương pháp theo giải pháp hữu ích.

Theo đó, trong TN3, sau khi loại tạp chất, rửa sạch, tiến hành sấy khô bằng sấy lạnh ở nhiệt độ 25°C trong 10 giờ đến khi khô giòn và nghiền thành bột. Cân 5 kg bột lá trà khô đưa vào bình chiết siêu âm, tiếp đó bổ sung 5 lít dung dịch bằng phức hệ dung môi bao gồm polyoxyethylene (23) lauryl ether 7 mM và nước trong 5 phút để làm ẩm nguyên liệu. Sau khi làm ẩm bổ sung 20 lít dung dịch polyoxyethylene (23) lauryl ether 7 mM và nước đã gia nhiệt đến 90°C.

Tiến hành khuấy đều và chiết trong điều kiện siêu âm với tần số siêu âm 60 Hz trong thời gian 30 phút và thu được phần dịch chiết.

Ly tâm phần dịch chiết trên máy ly tâm với tốc độ 10,000 vòng/phút trong 10 phút. Sau khi loại phần cặn tiến hành sấy khô ở nhiệt độ 55°C, thu được 0,48 kg cao chiết Trà hoa vàng lá dày dạng bột khô màu vàng, mùi thơm. Hiệu suất chiết đạt 9,60%. Kết quả thử nghiệm được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1: Hiệu suất chiết Trà hoa vàng lá dày với các phương pháp chiết khác nhau.

Thử nghiệm	Hiệu suất (%)	Thời gian chiết (giờ)	Sản phẩm
ĐC	4,32	1	Dạng bột, màu vàng, mùi nồng
TN1	5,05	1	Dạng bột, màu vàng, mùi hơi nồng
TN2	6,72	1	Dạng bột, màu vàng, mùi nồng
TN3	9,60	0,5	Dạng bột, màu vàng, mùi thơm

Theo kết quả thử nghiệm cho thấy, việc chiết trong điều kiện gia nhiệt hoặc ngay cả trong điều kiện không gia nhiệt khi chiết bằng hệ dung môi, sản phẩm thu được có màu vàng, tuy nhiên, có mùi nồng, điều này có thể lý giải là thành phần chất diệp lục, vốn dễ bị biến tính trong điều kiện nhiệt độ cao đã bị biến tính khi sử dụng nhiệt độ và các dung môi mạnh.

Các tác giả đã thử nghiệm và thấy rằng, việc tăng thời gian chiết cho TN3 không những không tăng được hiệu suất chiết nhiều mà còn làm giảm chất lượng bột chiết, cụ

thể, nếu tăng thời gian chiết trong TN3 lên đến 2 giờ, hiệu suất chiết chỉ lên 1%, nhưng đồng thời toàn bộ sản phẩm thu được chuyển sang màu nâu đen. Điều này cho thấy, điều kiện tối ưu là chiết trong 0,5 giờ trong điều kiện siêu âm sẽ cho hiệu quả tối ưu.

Ví dụ 2. Sản xuất chế phẩm bảo vệ gan

Để sản xuất chế phẩm bảo vệ gan, tiến hành cân 250 g cao chiết Trà hoa vàng lá dày thu được từ Ví dụ 1 vào thiết bị trộn, sau đó bổ sung lần lượt 170 g cao chiết nấm Linh chi, 170 g cao chiết cà Gai leo, 100 g cao chiết Dâu tằm, 90 g cao chiết Atisô, tiến hành trộn đến khi thu được hỗn hợp đồng nhất. Sau đó bổ sung 60 g canxi cacbonat, 67 g tinh bột mỳ, 70 g lactoza, 3 g magnesi stearat và 20 g nước. Các thành phần được trộn đều tạo ra được dạng bột ẩm.

Sản phẩm bột ẩm được đưa đi ép, tạo viên, thu được chế phẩm bảo vệ gan dạng viên nén.

Ví dụ 3. Thử nghiệm tác dụng bảo vệ gan

Để đánh giá khả năng ức chế sự nhân lên của virus HBV của chế phẩm, tiến hành đánh giá trên dòng tế bào Hep3B ung thư gan người được tích hợp mảnh ADN của HBV (tế bào biến nạp HBV tái tổ hợp). Chế phẩm được pha trong dung môi DMSO trước khi cho vào môi trường nuôi cấy. Trong đó, Lamivudin (có tác dụng ức chế sự nhân lên của HBV đã được chứng minh trên lâm sàng) được sử dụng là đối chứng dương và DMSO làm đối chứng âm. Quá trình thử nghiệm được tiến hành như sau:

Nuôi cấy tế bào Hep3B

Tế bào Hep3B được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy chuẩn Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM/F12) (Invitrogen, USA) với 100 U/mL penicilin và 100 mg/mL streptomycin (Invitrogen, USA) ở nhiệt độ 37°C trong môi trường chứa 5% CO₂. Khi tế bào nuôi cấy đạt tỉ lệ 70 - 80% diện tích đĩa nuôi, ta tiến hành cấy chuyển sử dụng 0,05 % trypsin/EDTA (Invitrogen, USA, 5 phút ở 37°C) để tách tế bào khỏi đĩa nuôi cấy và chuyển sang đĩa nuôi cấy mới với môi trường như trên.

Xác định ngưỡng nồng độ thuốc thử không gây độc tính tế bào Hep3B

Chế phẩm được sản xuất theo Ví dụ 2 được pha trong DMSO với nồng độ dung dịch gốc là 10 mg/mL theo lượng cao chiết Trà hoa vàng lá dày, riêng với Lamivudin có nồng độ 10 mM/L. Chế phẩm được đưa vào dung dịch nuôi cấy tế bào với các nồng độ được xác định là 50 và 25 µg/mL.

Đánh giá tác dụng kháng HBV của chế phẩm

Tế bào Hep3B được gieo vào đĩa nuôi cấy 6 giếng (đường kính 5 cm) với nồng độ 10^5 tế bào/mL, tổng lượng tế bào là $2 \text{ mL} \times 10^5$ tế bào/giếng trong môi trường nuôi cấy chuẩn. Sau 24 giờ, tiến hành thay dịch nuôi cấy chứa chế phẩm. Tiến hành thu tế bào và dịch nuôi cấy ở các thời điểm 48 giờ và 72 giờ sau khi thử chế phẩm. Tế bào nuôi cấy được sử dụng để tách ADN và dùng để định lượng HBV-ADN bằng kỹ thuật realtime-PCR.

Kết quả ở hình 1 và hình 2 cho thấy các tế bào phát triển khỏe mạnh và phủ hầu hết bề mặt đĩa đến thời điểm 72 giờ sau thử chế phẩm. Như vậy với nồng độ tối ưu của chế phẩm như trên không làm ảnh hưởng đến sự phát triển tự nhiên của các tế bào Hep3B.

Để đánh giá tác dụng ức chế sự nhân lên HBV *in vitro* của chế phẩm, tế bào Hep3B tích hợp mảnh ADN của HBV (ATCC) được nuôi cấy trong môi trường có chứa chế phẩm. Hiệu quả ức chế sự nhân lên HBV của chế phẩm được xác định thông qua so sánh lượng HBV-ADN với Lamivudin và DMSO. Tế bào được thu để định lượng HBV-ADN ở thời điểm 48 giờ và 72 giờ sau thử chế phẩm bằng kỹ thuật Realtime-PCR. Kết quả thu được tại bảng 2 và bảng 3.

Bảng 2: Kết quả ức chế sự nhân lên HBV của chế phẩm sau 48 giờ thử nghiệm.

	HBV tương đối $\times 10^9/1 \text{ mg}$ ADN tổng số	% HBV sống	% lỗi	% ức chế nhân lên HBV
DMSO	1020,13	100	11,68	0
Lamivudin	136,15	13,19	6,21	86,80
Chế phẩm	149,69	18,24	10,08	81,75

Bảng 3: Kết quả ức chế sự nhân lên HBV của chế phẩm sau 72 giờ thử nghiệm.

	HBV tương đối $\times 10^9/1 \text{ mg}$ ADN tổng số	% HBV sống	% lỗi	% ức chế nhân lên HBV
DMSO	1210,20	100	9,55	0
Lamivudin	135,98	13,58	5,23	86,41
Chế phẩm	140,14	15,25	4,41	84,74

Kết quả bảng 2 và bảng 3 cho thấy, khi sử dụng chế phẩm, lượng HBV-ADN giảm dần theo thời gian, trong khi đó nhóm thử DMSO có lượng HBV-ADN tăng dần theo thời gian. Ở mẫu đối chứng dương, Lamivudin có lượng HBV-ADN hầu như không thay đổi (bảng 2 và bảng 3). Như vậy, sau 72 giờ dùng thuốc, chế phẩm có tác dụng làm giảm lượng HBV-ADN trong tế bào Hep3B.

Ngoài ra, chế phẩm còn có tác dụng ức chế tốt sự nhân lên của HBV (%) theo thời gian (81,75% ở thời điểm 48 giờ và 84,74% ở thời điểm 72 giờ) sau khi thử chế phẩm, trong khi đối chứng dương Lamivudin ức chế 86,80% ở thời điểm 48 giờ và 86,41% ở thời điểm 72 giờ sau khi thử chế phẩm (bảng 2 và bảng 3).

Kết quả thử nghiệm cho thấy rằng chế phẩm theo giải pháp hữu ích có tác dụng bảo vệ tế bào gan trước virus gây viêm gan HBV.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày *Camellia crassiphylla* đơn giản, cho phép rút ngắn thời gian chiết trong điều kiện nhiệt độ dưới 100°C đảm bảo thu được các hoạt chất có tác dụng bảo vệ gan hiệu quả. Các thử nghiệm với cao chiết Trà hoa vàng lá dày *Camellia crassiphylla* cho thấy cao chiết không gây độc cho người, giúp bảo vệ gan hiệu quả.

Quy trình sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày *Camellia crassiphylla* cho phép phát triển nguồn dược liệu thay thế cho nguồn dược liệu tổng hợp. Các chế phẩm có nguồn gốc từ tự nhiên cho phép sản xuất các dược phẩm an toàn và hiệu quả hơn cho người và động vật, giúp rút ngắn được các quá trình thử nghiệm lâm sàng, đánh giá độc tính trên người và động vật. Đây là một lợi thế đối với các sản phẩm có nguồn gốc từ tự nhiên.

Chế phẩm bảo vệ gan theo giải pháp hữu ích cho phép bảo vệ gan hiệu quả, dựa trên bài thuốc y học cổ truyền của chính tác giả, bằng cách cải tiến phương pháp chiết, các tác giả cho phép tạo ra chế phẩm bảo vệ gan hiệu quả, an toàn, nhỏ, thích hợp để sử dụng hàng ngày.

Chế phẩm bảo vệ gan chứa cao chiết Trà hoa vàng lá dày *Camellia crassiphylla* còn cho phép điều hòa huyết áp, giảm mỡ máu khi kết hợp với Linh chi và cà Gai leo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất cao chiết Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) sơ chế nguyên liệu bằng cách thu lá Trà hoa vàng lá dày (*Camellia crassiphylla*), sau khi loại tạp chất, rửa sạch và sấy khô bằng sấy lạnh ở nhiệt độ từ 20 đến 30°C đến hàm ẩm còn khoảng 5% rồi nghiền nhỏ thu được nguyên liệu là lá Trà hoa vàng dạng bột;

b) xử lý nguyên liệu bằng cách đưa nguyên liệu vào thiết bị chiết, tiếp đó làm ẩm nguyên liệu với phức hệ dung môi bao gồm polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM và nước trong 5 phút, sau đó gia nhiệt đến khoảng từ 80 đến 95°C thu được phần nguyên liệu đã được xử lý;

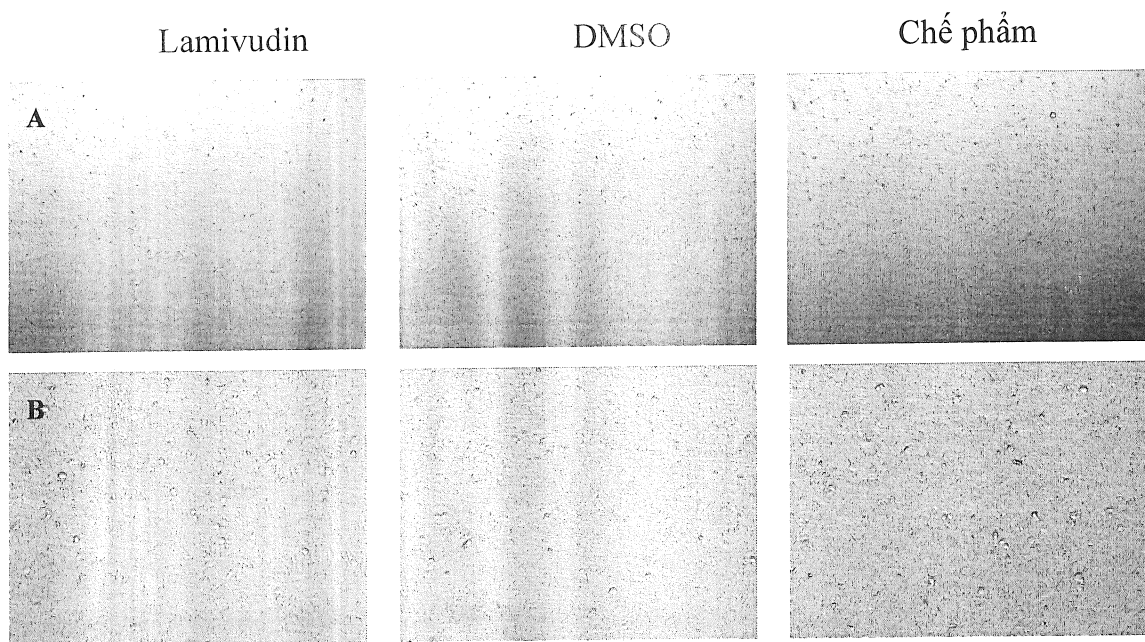
c) chiết nguyên liệu bằng cách gia nhiệt hệ dung môi chiết bao gồm polyoxyetylen (23) lauryl ete 7 mM và nước đến khoảng từ 80 đến 95°C rồi bổ sung vào phần bột lá Trà hoa vàng lá dày theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/5 (khối lượng/thể tích), sau đó khuấy và tiến hành chiết siêu âm với tần số từ 50Hz đến 100 Hz trong khoảng từ 30 đến 60 phút thu được phần dịch chiết; và

d) thu cao chiết bằng cách ly tâm phần dịch chiết với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút, sau khi loại phần cặn tiến hành sấy khô để thu được cao chiết Trà hoa vàng lá dày dạng bột khô.

2. Quy trình theo điểm 1 trong đó, nhiệt độ sấy lá Trà hoa vàng lá dày trong khoảng từ 20 đến 25°C và nhiệt độ chiết là 90°C.

3. Quy trình theo điểm 1 hoặc 2, trong đó quá trình chiết nguyên liệu được thực hiện trong điều kiện siêu âm với tần số là 60 Hz trong khoảng thời gian 30 phút.

HÌNH 1



HÌNH 2

