



(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)



2-0002997

(51) **A61K 36/00; A61K 31/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00090

(22) 04/03/2020

(45) 25/10/2022 415

(43) 25/06/2020 387AHI

(73) Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VN)
Nhà A18, số 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, thành phố Hà
Nội

(72) Ninh Thế Sơn (VN); Nguyễn Thanh Trà (VN); Nguyễn Văn Tuyền (VN); Nguyễn
Thị Thu Hà (VN); Bá Thị Châm (VN); Lê Thị Tú Anh (VN).

(54) QUY TRÌNH BẢO CHẾ CHẾ PHẨM CÓ TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN TỪ CÂY AN XOA
(HELICTERES HIRSUTA)

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình bảo chế chế phẩm có tác dụng bảo vệ gan từ
thân và lá cây an xoa (*Helicteres hirsuta*). Chế phẩm được tạo ra có hàm lượng chất chống
oxy hóa flavonoid cao, không gây độc tính cấp, và có tác dụng làm giảm các trị số gây ảnh
hưởng đến gan.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực tìm kiếm các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học có nguồn gốc từ thực vật. Cụ thể, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình bào chế chế phẩm có tác dụng bảo vệ gan từ cây an xoa (*Helicteres hirsuta*) thuộc chi Dó (*Helicteres*), họ Trôm (Sterculiaceae). Chế phẩm theo giải pháp hữu ích được tạo từ cao chiết etyl acetat của thân và lá cây an xoa, có tác dụng bảo vệ gan thông qua việc ức chế hai enzym aspartat aminotransferaza (AST) và alanin aminotransferaza (ALT). AST và ALT sẽ được phóng thích vào trong máu và tăng rõ rệt khi gan bị tổn thương.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Cây an xoa (hay Dó lông, Tổ kén cái) có tên khoa học là *Helicteres hirsuta* Loureiro thuộc Họ Trôm Sterculiaceae. An xoa là loại cây bụi, cao khoảng 1-3 m, nhánh hình trụ, có lông. Lá hình trái xoan, dài 5-17 cm, rộng 2,5-7,5 cm. Gốc cụt hay hình tim, đầu thon thành mũi nhọn. Mép có răng không đều. Mặt dưới màu trắng, cả hai mặt phủ đầy lông hình sao, gân gốc 5, cuống lá dài 0,8-4 cm, lá kèm hình dải, có lông, dễ rụng. Cụm hoa là những bông ngắn, đơn hay xếp đôi ở nách lá. Hoa màu hồng hay đỏ, cuống hoa có khớp và có lá bắc dễ rụng, đài hình ống phủ lông hình sao, màu đỏ, chia 5 răng.

Cây an xoa phân bố ở Nam Trung Quốc và nhiều nước Nam Á như Ấn Độ, Campuchia, Thái Lan, Malaysia, Philippine, và Việt Nam. Ở Việt Nam, cây mọc rất phổ biến từ Bắc tới Nam, thường gặp trên các đồi cây bụi, rừng thưa, ven rừng (Võ Văn Chi, Từ điển cây thuốc Việt Nam-tập 2, Nhà Xuất bản Y học).

Ở nước ta, cây mọc nhiều ở Bình Phước, ngoài ra còn tìm thấy ở Lâm Đồng và một số tỉnh miền núi phía Bắc. Theo y học cổ truyền, từ xa xưa, cây an

xoa được xem như là một bài thuốc gia truyền hỗ trợ điều trị xơ gan của người dân tộc thiểu số Campuchia. Sau này, người Campuchia đã bày cách cho người dân ở Bình Phước uống cây này cho kết quả tốt. Cho đến gần đây, cây an xoa nổi lên như bài thuốc quý có tác dụng hỗ trợ điều trị các bệnh về gan hiệu quả. Loại cây này còn được gọi là “khắc tinh của bệnh gan” như chống viêm gan, giảm tích tụ mỡ trong gan, loại bỏ chất độc, tăng cường bài tiết dịch mật, giảm đau, chống viêm. Hiện nay, trên thị trường đang có bán các sản phẩm thảo dược từ cây an xoa dưới dạng bài thuốc cổ truyền chữa bệnh gan trong đó có kết hợp với Cà gai leo, Diệp hạ châu hay Nấm lim xanh giúp mát gan, giải độc gan, nhằm hỗ trợ điều trị viêm gan, xơ gan thậm chí là ung thư gan (www.tapchidongy.vn). Cây an xoa còn được dùng để chữa nhiều bệnh khác như cảm cúm, sỏi, ung nhọt hay kiết lỵ.

Cho tới nay, các nghiên cứu khoa học trong và ngoài nước về cây an xoa còn hạn chế. Khi nghiên cứu loài An xoa có nguồn gốc từ Indonesia, Chin và cộng sự (Phytotherapy Research, 2006, 107, 304) đã phân lập được 6 lignan ($\pm$)-pinoresinol, ($\pm$)-medioresinol, ($\pm$)-syringaresinol, (-)-boehmenan, (-)-boehmenan H và ($\pm$)-*trans*-dihydro diconiferyl alcohol. Đây là lớp chất đã được nhiều công trình công bố có nhiều hoạt tính sinh học thú vị như kháng viêm, chống ung thư, đặc biệt là hoạt tính chống oxy hóa, bảo vệ gan (Natural Products Chemistry & Research, 2016, 4, 1-19). Nhóm tác giả Hữu Duyên (2016) đã phân lập được 4 hợp chất stigmasterol, lupeol, tiliroside và apigenin từ cao petroleum ether (PE) của cây an xoa thu hái ở Kiên Giang, kết quả thử nghiệm gây độc tế bào cho thấy cao chiết PE và cao chiết dichlorometan (DC) có hoạt tính ức chế tế bào ung thư HepG2 với IC_{50} lần lượt là 28,29 và 30,30 $\mu\text{g/mL}$ (Tạp chí đại học Cần thơ, 2016, 47, 93-97). Hồng Ngọc và cộng sự (2015 & 2016) đã chứng minh tác dụng chống oxy hóa đã của cao chiết nước và metanol từ lá và thân cây an xoa thu hái ở Khánh Hòa, Việt Nam là do nhóm

chất phenol và flavonoid quyết định (Technologies, 2015, 3, 285-301; Journal of Food Processing and Preservation, 2016, 41, 1).

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình bào chế chế phẩm từ thân và lá cây an xoa có tác dụng bảo vệ gan thông qua việc đánh giá hai chỉ tiêu enzym quan trọng liên quan đến bệnh gan là AST và ALT. Ở người khỏe mạnh hàm lượng AST và ALT trong máu thấp. Khi gan bị hư hỏng AST và ALT được phóng thích và tăng rõ rệt. Vì vậy, AST và ALT là hai thử nghiệm quan trọng để phát hiện gan bị tổn thương.

Cụ thể, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình bào chế chế phẩm chữa bệnh gan từ thân và lá cây an xoa-*Helicteres hirsuta*, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) mẫu bột khô cây an xoa bao gồm thân và lá được ngâm trong EtOH 70% có gia nhiệt và khuấy. Lọc thu dịch chiết, cô quay loại thu hồi dung môi cho tới khi dịch chiết còn lại từ 2-2.5 lít. Tiếp tục hòa dịch này với nước theo tỉ lệ 1:1. Dịch này được chiết phân bố với *n*-hexan nhằm loại bỏ chất màu và acid béo. Thu pha *n*-hexan và pha nước riêng rẽ. Pha nước tiếp tục được chiết phân bố với EtOAc, và cô quay dưới áp suất giảm loại EtOAc đến khô kiệt thu được cao chiết EtOAc. Sấy chân không ở 50°C thu được cao khô EtOAc, sau đó nghiền nhỏ thu được sản phẩm;

b) định lượng hàm lượng flavonoid tổng số có trong chế phẩm bằng phương pháp đo quang (UV-VIS) với chất so sánh chuẩn là quercetin. Các hợp chất phenolic dạng flavonoid là lớp chất chính quyết định đặc tính chống các tác nhân oxy hóa, gây hại cho tế bào gan;

c) xác định hoạt độ hai enzym AST và ALT trong huyết thanh chuột, cùng với sự quan sát mô bệnh học của gan chuột thực nghiệm để đánh giá tác dụng bảo vệ gan của mẫu thử nghiệm;

d) đánh giá độc tính cấp trên mô hình thử nghiệm với chuột theo đường uống.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là hình minh họa việc bào chế chế phẩm có tác dụng bảo vệ gan từ nguyên liệu thân và lá cây an xoa (*Helicteres hirsuta*).

Hình 2 là hình ảnh tiêu bản tế bào gan sau quá trình thí nghiệm.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình bào chế chế phẩm bảo vệ gan từ thân và lá cây an xoa và thử nghiệm tác dụng bảo vệ gan của chế phẩm này trên mô hình gan chuột bị gây tổn thương bằng paracetamol, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) Mẫu bột khô cây an xoa bao gồm thân và lá (3,2 kg) được ngâm trong EtOH 70% (15 lít) nạp vào bộ chiết 20 lít, gia nhiệt ở 60°C trong 3 giờ, có khuấy. Lọc thu dịch chiết, còn lại bã được chiết tiếp với EtOH thêm 2 lần nữa (10 lít x2). Gộp 3 lần dịch chiết thu được, cô quay dưới áp suất giảm loại EtOH cho đến khi còn lại 2,5 lít dịch. Tiếp tục hòa dịch này với nước theo tỉ lệ 1:1. Dịch này được chiết phân bố với *n*-hexan 3 lần (2,5 lít x 3). Thu pha *n*-hexan và pha nước riêng rẽ. Pha nước tiếp tục được chiết phân bố với EtOAc 3 lần (2,5 lít x 3). Thu lấy pha EtOAc của 3 lần chiết lại, cô quay dưới áp suất giảm loại EtOAc đến khô kiệt thu được cao chiết EtOAc. Sấy chân không ở 50°C/48 giờ thu được cao khô, sau đó nghiền nhỏ thu được 78,4 g chế phẩm dạng bột, đạt hàm lượng 2,45% so với nguyên liệu khô ban đầu;

b) xác định tổng hàm lượng flavonoid thông qua xây dựng phương trình đường chuẩn quercetin. Pha dải nồng độ quercetin (10, 20, 40, 60 và 100 µg/mL) bằng metanol từ dung dịch quercetin chuẩn (500 µg/mL). Mẫu thử chế phẩm cây an xoa được pha ở nồng độ 20 mg/mL. Lấy 2 mL mẫu thử chế phẩm cho phản ứng NaNO₂ 5% ở 25 °C, tiếp tục thêm AlCl₃ 10%, cuối cùng cho thêm NaOH

1M. Sau khi phản ứng xảy ra (15 phút) dung dịch phản ứng được hút ra phiếu 96 giếng (200 μ L/giếng) và đo mật độ quang ở 510 nm;

c) đánh giá tác dụng bảo vệ gan của chế phẩm trên mô hình thử nghiệm *in vivo*, xác định hoạt độ enzym AST và ALT trong huyết thanh chuột cùng với sự quan sát mô bệnh học của gan chuột. Chuột nhắt trắng dòng BALB/c (19-20 g/con) được chia làm 6 lô (6 con/lô), lô 1 (đối chứng sinh lý): uống nước cất 0,1 mL/10 g/lần/ngày; lô 2 (đối chứng bệnh lý): uống nước cất 0,1 mL/10 g/lần/ngày + uống paracetamol 300 mg/kg; lô 3 (đối chứng tham khảo): uống silymarin 100 mg/kg/lần/ngày + uống paracetamol 300 mg/kg; lô 4 (mẫu nghiên cứu): uống chế phẩm 1000 mg/kg/lần/ngày + uống paracetamol 300 mg/kg; lô 5 (mẫu nghiên cứu): uống chế phẩm 2000 mg/kg/lần/ngày + uống paracetamol 300 mg/kg; lô 6 (mẫu nghiên cứu): uống chế phẩm 3000 mg/kg/lần/ngày + uống paracetamol 300 mg/kg. Cho chuột uống nước hoặc mẫu nghiên cứu liên tục trong 8 ngày. Ngày thứ 8, sau uống mẫu paracetamol 3 giờ, gây tổn thương gan cho chuột từ lô 2-6 bằng cách cho uống paracetamol 300 mg/kg. Sau 48 giờ uống paracetamol, chuột được lấy máu để xác định AST và ALT, sau đó giết chuột tách lấy gan, cố định trong formol 10%, rồi làm tiêu bản;

d) xác định độc tính cấp của chế phẩm. Chuột nhắt trắng sử dụng từ điểm c, được chia làm 7 lô (6 con/lô) và bị bỏ đói 16 giờ trước khi được uống mẫu nghiên cứu. Sau đó, lô 1 chỉ được cho uống nước 0,2-0,3 mL/con, từ lô 2-7 chuột được uống chế phẩm ở mức tăng dần từ 5000-10000 mg/kg trọng lượng cơ thể. Xác định liều gây chết 50% động vật (LD_{50}) trong 72 giờ đầu và trạng thái biểu hiện, khối lượng của chuột trong thời gian 7 ngày. Theo phân loại chất độc theo đường uống của tổ chức WHO, các mẫu thử nghiệm không gây độc ở liều tối đa có $LD_{50} > 5000$ mg/kg thể trọng hoặc không xác định được giá trị LD_{50} theo đường uống thì được coi là không độc hoặc không phân loại.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích được minh họa bằng các ví dụ cụ thể, các ví dụ này chỉ nhằm mục đích làm rõ, nhưng không làm giới hạn phạm vi bảo hộ của giải pháp này. Các ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích tiến hành đo độ hấp thụ bằng máy đo phổ UV-Vis, máy cô cất chân không hiệu Buchi, bộ chiết sholet, máy ly tâm, micropipet, các dung môi hóa chất cho việc tạo chế phẩm như EtOH, *n*-hexan, EtOAc, nước cất. Dung môi hóa chất cho công đoạn xác định tổng hàm lượng flavonoid như chất chuẩn quercetin (độ sạch trên 90,87%), MeOH dùng cho phân tích, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaOH khan. Các hóa chất được sử dụng trong các ví dụ thử nghiệm tác dụng bảo vệ gan và độc tính cấp bao gồm: paracetamol gây viêm gan cấp, nước cất, kim công đầu tù, xilanh, ống ly tâm các loại, chuột nhắt trắng thuần chủng dòng BALB/c.

Ví dụ 1: Khảo sát quy trình bào chế chế phẩm chữa bệnh gan từ thân và lá cây an xoa

Mẫu bột cây an xoa (50 g) được chiết bằng 70% EtOH (300 mL) trong 3 giờ ở các nhiệt độ khác nhau 40-70 °C, có siêu âm. Lọc thu dịch chiết, bã còn lại tiếp tục chiết thêm 2 lần, mỗi lần 250 mL. Gộp cả ba lần chiết cô quay cất loại dung môi thu được dịch lỏng 150 mL. Dịch này được hòa với nước tỉ lệ 1:1 và chiết với *n*-hexan (3 lần x 150 mL). Dịch nước sau khi chiết với *n*-hexan tiếp tục được chiết với EtOAc (3 lần x 150 mL), cất loại dung môi thu cao chiết tương ứng. Bảng 1 cho thấy lượng cao chiết EtOAc tăng dần cùng nhiệt độ, đạt hiệu suất cao nhất ở 60 °C, tuy nhiên có xu hướng giảm ở 70 °C.

Bảng 1: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết

Nhiệt độ chiết (°C)	Lượng cao chiết EtOAc (g)	Hiệu suất (%)
40	1,32	2,64
50	1,41	2,82
60	1,49	2,98
70	1,43	2,86

Ví dụ 2: Xác định hàm lượng flavonoid có trong chế phẩm

Các flavonoid có trong chế phẩm phản ứng với AlCl_3 với sự có mặt của NaNO_2 tạo phức chất màu đỏ cam. Đo mật độ quang của phức này ở bước sóng 510 nm, sử dụng chất đối chiếu chuẩn là quercetin, từ đó xác định được hàm lượng flavonoid có trong mẫu thử. Phương trình đường chuẩn phụ thuộc nồng độ quercetin là $Y = 0,004x + 0,005$ ($R^2 = 0,997$). Từ đó xác định phần trăm flavonoid toàn phần theo công thức

$$\text{TFC} = (\text{C}_{\text{dc}} \times \text{K} \times \text{V}_c) / (\text{C} \times \text{V}_d)$$

TFC: Hàm lượng flavonoid tổng tính theo mg querE/g mẫu

C_{dc} : Nồng độ quercetin tính theo phương trình đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$);

C: Nồng độ ban đầu của mẫu thử (mg/mL);

K: Hệ số pha loãng;

V_d : Thể tích mẫu thử trong dung dịch phản ứng (mL);

V_c : Thể tích tổng của dung dịch phản ứng (mL)

Kết quả hàm lượng flavonoid tổng trong mẫu thử nghiệm (Bảng 2)

Tên mẫu	Hàm lượng flavonoid tổng	
Mẫu chế phẩm cây an	(mg querE/g)	%
xoa	98,52	9,85

Ví dụ 3: Sự thay đổi nồng độ AST và ALT dưới tác dụng của chế phẩm

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy:

-Lô uống chế phẩm liều 1000 mg/kg, chỉ số AST, ALT đã giảm là 18,26 và 5,33% so với lô đối chứng bệnh lý, tuy nhiên chưa ở mức có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

-Lô uống chế phẩm liều 2000 mg/kg, chỉ số AST, ALT đã giảm là 22,16 và 7,31% so với lô đối chứng bệnh lý, tuy nhiên chưa ở mức có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

-Lô uống chế phẩm liều 3000 mg/kg, chỉ số AST, ALT đã giảm so với lô đối chứng bệnh lý là 51,21% và 62,19%, và sự giảm này là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

-Lô uống đối chứng tham khảo (silymarin) liều 100 mg/kg cho thấy có tác dụng tốt: Chỉ số AST, ALT đã giảm so với lô đối chứng bệnh lý là 55,69 và 67,95%, và sự giảm này là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Bảng 3: Sự thay đổi nồng độ AST và ALT

Lô TNo	Thuốc và liều lượng	AST (UI/L)	ALT (UI/L)
1	Đối chứng sinh lý	103.62 ± 1.75	35.80 ± 0.76
2	Đối chứng bệnh lý	285.40 ± 33.49	127.48 ± 8.86
3	Đối chứng tham khảo	126.45* ↓ ± 4.86	40.85* ↓ ± 1.06
4	Chế phẩm liều 1000 mg/kg	233.28 ↓ ± 23.03	120.68 ± 9.35
5	Chế phẩm liều 2000 mg/kg	222.15 ↓ ± 28.06	118.15 ↓ ± 17.76
6	Chế phẩm liều 3000 mg/kg	139.23* ↓ ± 16.16	48.20* ↓ ± 4.00

* Sự sai khác có ý nghĩa thống kê so với đối chứng bệnh lý ($P < 0,05$)

Ví dụ 3: Kết quả bệnh học thu được qua tiêu bản vi thể

Để xác định hiệu quả bảo vệ gan của chế phẩm (liều 3000 mg/kg) chúng tôi đã tách lấy gan và nhuộm HE (hematoxylin và eosin), kết quả được trình bày ở Hình 2.

Tiêu bản số 1 (Đối chứng bệnh lý): Có tổn thương viêm hoại tử, tế bào gan: Hoại tử tế bào: thành ổ nhỏ, rải rác một vài ổ trong nhu mô gan, giữa các ổ có xâm nhiễm bạch cầu đa nhân. Xâm nhập viêm vào hệ mao mạch xoang: mức độ nhẹ, chủ yếu là lympho bào, tĩnh mạch trung tâm: Xâm nhiễm viêm: mức độ trung bình, xâm nhiễm chủ yếu lympho bào, kèm phản ứng tăng sinh mô xơ, xâm nhiễm viêm quanh khoảng cửa: mức độ nặng, hầu hết các khoảng cửa bị xâm nhiễm nhiều lympho bào, tạo thành đám, phản ứng đường mật: ống mật teo nhỏ. Ứ mật trong vi quản mật, trong tế bào gan, trong tế bào Kuffer: mức độ nhẹ.

Tiêu bản số 2 (Silymarin): Tế bào gan: cấu trúc dải, bề còn rõ, xâm nhiễm một số đám lympho bào giữa các dải tế bào gan. Thoái hoá nước, mức độ nhẹ, thoái hoá nước ở một số đám tế bào gan, mao mạch nan hoa xung huyết mức độ nhẹ, xâm nhiễm viêm mức độ nhẹ, chủ yếu lympho bào ở một số ít tĩnh mạch. Xâm nhiễm viêm quanh khoảng cửa, mức độ nhẹ, một số khoảng cửa bị xâm nhiễm các đám lympho bào.

Tiêu bản số 3 (chế phẩm liều 3000 mg/kg): Tế bào gan thoái hoá nước mức độ nhẹ, mao mạch nan hoa xung huyết mức độ nhẹ. Tĩnh mạch trung tâm xâm nhiễm viêm mức độ nhẹ, một số ít tĩnh mạch trung tâm có xâm nhiễm rải rác lympho bào. Xâm nhiễm viêm quanh khoảng cửa mức độ nhẹ, một số khoảng cửa bị xâm nhiễm các đám lympho bào, xâm nhiễm mạnh lympho bào quanh đường mật.

Tiêu bản số 4 (đối chứng sinh lý): Tế bào gan cấu trúc dải, bề còn rõ, mao mạch nan hoa không xung huyết, không có xâm nhiễm.

Như vậy, chế phẩm cây an xoa liều 3000 mg/kg đã thể hiện hoạt tính bảo vệ gan trên mô hình chuột bị gây tổn thương gan bằng paracetamol. Kết quả này cho thấy, chế phẩm giàu flavonoit cây an xoa có tiềm năng phát triển thành sản phẩm hỗ trợ điều trị các bệnh về gan.

Ví dụ 4: Thử độc tính cấp của chế phẩm.

Một trong số điều kiện bắt buộc để đưa chế phẩm có tác dụng dược lý vào sử dụng làm thuốc chữa bệnh cho con người là xác định độc tính cấp trên động vật thí nghiệm. Do đó, chế phẩm cây an xoa được đánh giá độc tính cấp trên mô hình chuột theo đường uống, từ đó làm cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo. Kết quả thí nghiệm trên cho thấy: mẫu chế phẩm cây an xoa uống ở các mức liều 5000 -10000 mg/kg thể trọng đều không gây chết động vật thí nghiệm (Bảng 4).

Bảng 4: Số lượng chuột chết, biểu hiện bên ngoài khi uống mẫu

Lô	Uống (mg/kg thể trọng)	Số chuột chết trong 72 giờ	Biểu hiện bên ngoài trong vòng 0-72 giờ
1	Đối chứng	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt.
2	Chế phẩm liều 5000 mg/kg	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt.
3	Chế phẩm liều 6 000 mg/kg	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt.
4	Chế phẩm liều 7000 mg/kg	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt.
5	Chế phẩm liều 8000 mg/kg	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt.
6	Chế phẩm liều 9000 mg/kg	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt.
7	Chế phẩm liều 10000 mg/kg	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt.

Ví dụ 5: Sự thay đổi khối lượng cơ thể chuột dưới tác dụng của chế phẩm

Kết quả theo dõi khối lượng cơ thể chuột ở nhóm chứng và nhóm thử được thể hiện trong Bảng 5. Sau khi uống mẫu thử 1 ngày, 4 ngày và 7 ngày: Chuột thí nghiệm ở nhóm chứng và nhóm thử không có sự khác biệt ($P > 0,05$). Kết quả thu được chứng tỏ chế phẩm cây an xoa không ảnh hưởng đến quá trình phát triển bình thường của chuột. Chế phẩm cây an xoa thuộc nhóm không gây độc theo đường uống, với mức liều thử cao nhất là 10000 mg/kg thể trọng.

Bảng 5: Kết quả theo dõi khối lượng của chuột ở các lô

Lô	Khối lượng trung bình của chuột thí nghiệm (gr)			
	Trước khi uống	ngày 1	ngày 4	ngày 7
Đối chứng	20,50 ± 1,32	20,57 ± 1,10	22,50 ± 1,32	24,93 ± 0,93
Chế phẩm cây an xoa (5000 mg/kg)	20,50 ± 1,00	20,53 ± 1,12	22,83 ± 1,53	24,90 ± 0,69
Chế phẩm cây an xoa (6000 mg/kg)	20,42 ± 1,21	20,59 ± 1,27	22,99 ± 1,38	24,82 ± 0,95
Chế phẩm cây an xoa (7000 mg/kg)	20,55 ± 0,89	21,04 ± 1,67	22,92 ± 1,49	25,09 ± 0,77
Chế phẩm cây an xoa (8000 mg/kg)	20,52 ± 0,98	20,66 ± 1,24	22,47 ± 1,57	24,81 ± 1,06
Chế phẩm cây an xoa (9000 mg/kg)	20,52 ± 1,04	20,68 ± 1,83	22,59 ± 1,34	24,89 ± 1,15
Chế phẩm cây an xoa (10000 mg/kg)	20,51 ± 0,95	20,80 ± 0,47	22,87 ± 1,45	24,88 ± 0,88
<i>P</i>	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Ghi chú: * $P < 0,05$ là có sự sai khác thống kê so với lô đối chứng

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình theo giải pháp hữu ích đã thu nhận được chế phẩm từ thân và lá cây an xoa (*Helicteres hirsuta*). Quy trình được thực hiện đơn giản, xác định được hàm lượng flavonoid có trong chế phẩm là 9,85%. Ở liều lượng 3000 mg/kg, chế phẩm từ cây an xoa làm giảm 50-60% hàm lượng AST và ALT trong máu. Chế phẩm từ cây an xoa an toàn, không gây độc với đối tượng thử nghiệm với giá trị LD₅₀ 10000 mg/kg thể trọng. Kết quả này là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm phát triển và sử dụng chế phẩm cây an xoa trong hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến gan.

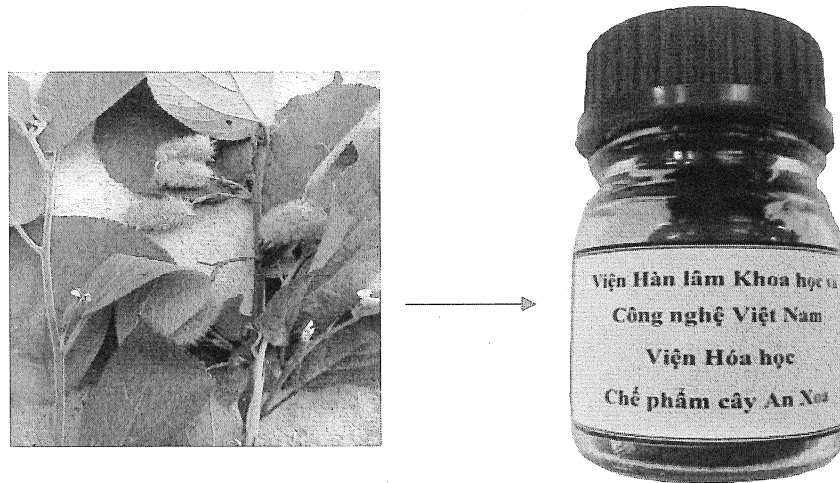
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình bào chế chế phẩm có tác dụng bảo vệ gan từ thân và lá cây an xoa (*Helicteres hirsuta*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) phơi khô, nghiền nhỏ thân và lá cây an xoa, sau đó ngâm chiết nóng bột đã phơi khô này với dung môi cồn 70% ở 60°C trong 3 giờ theo tỉ lệ 1/5 (trọng lượng/thể tích), tiến hành ngâm chiết lặp lại 3 lần; sau đó lọc lấy phần dịch chiết, cất loại hoàn toàn dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết cồn; phần cao lỏng này được phân bố lại trong hỗn hợp cồn nước theo tỉ lệ 1:1 về thể tích, chiết với dung môi *n*-hexan, dịch chiết cồn nước sau khi chiết với *n*-hexan tiếp tục chiết với EtOAc và cô quay cất loại dung môi thu được cao chiết EtOAc, cao chiết này được sấy khô chân không ở 50°C trong khoảng 48 giờ thu được chế phẩm an xoa;

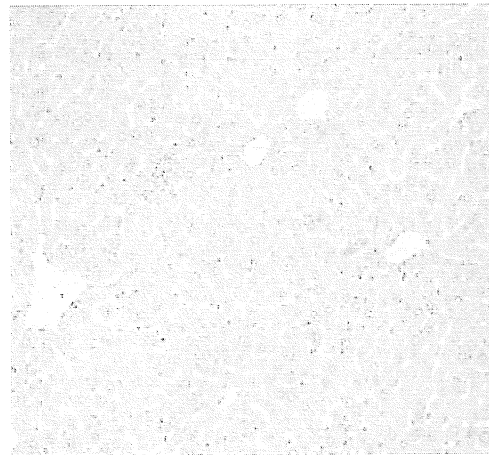
b) xác định tổng hàm lượng chất chống oxy hóa flavonoid có mặt trong chế phẩm thu được từ bước (a) dựa theo phương pháp đo quang, hàm lượng flavonoid có được là số mg querE/g mẫu.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này thu được chế phẩm có hàm lượng flavonoid đạt 9,85% và chế phẩm này ở liều 3000 mg/kg có tác dụng làm giảm 51,21% và 62,19% chỉ số AST và ALT tương đương với sử dụng silymarin.

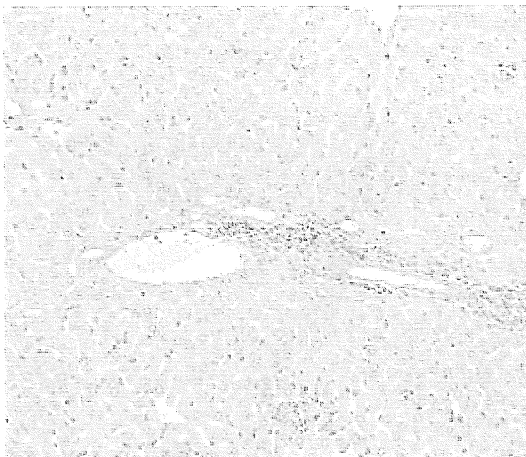
**Hình 1**



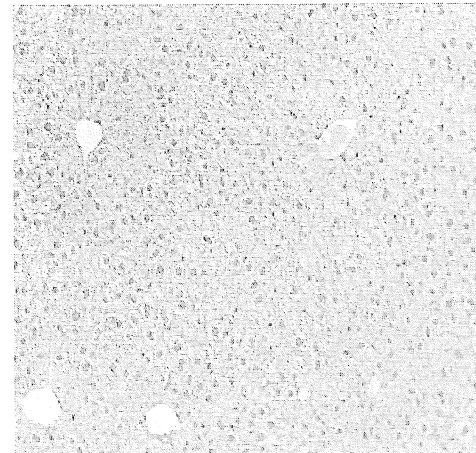
Tiêu bản số 1 (Đối chứng bệnh lý)



Tiêu bản số 2 (Đối chứng - silymarin)



Tiêu bản số 3 (Chế phẩm liều 3000 mg/kg)



Tiêu bản số 4 (Đối chứng sinh lý)

Hình 2