



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0035276

(51)<sup>2019.01</sup> A61K 36/73; A61K 36/22; A23L  
33/105; A61K 31/7048

(13) B

(21) 1-2019-06428

(22) 17/04/2018

(86) PCT/KR2018/004403 17/04/2018

(87) WO 2018/194335 A1 25/10/2018

(30) 10-2017-0051156 20/04/2017 KR

(45) 25/04/2023 421

(43) 30/01/2020 382A

(73) GENENCELL INC. (KR)

120, Heungdeokjungang-ro, Giheung-gu Yongin-si Gyeonggi-do 16950 Republic of Korea

(72) KANG, Se-Chan (KR).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) DƯỢC PHẨM PHÒNG NGỪA HOẶC ĐIỀU TRỊ BỆNH DO SỰ LÂY NHIỄM  
VIRUT VIÊM GAN C GÂY RA

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C (HCV - hepatitis virus C) gây ra. Dược phẩm theo sáng chế phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C gây ra, dược phẩm này chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần, không có hại đối với cơ thể người và biểu hiện hiệu quả ức chế hữu hiệu đối với sự phát triển của virus viêm gan C. Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm thực phẩm phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến được phẩm phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C (HCV - hepatitis C virus) gây ra.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Sự lây nhiễm virus viêm gan C (sau đây, viết tắt là "HCV") xảy ra chủ yếu thông qua sự truyền máu và sự lây nhiễm mắc phải từ cộng đồng. Khoảng 20% số này phơi nhiễm HCV phát triển bệnh viêm gan cấp tính và khoảng 80% phát triển bệnh viêm gan mạn tính. Trong số đó, khoảng 30% phát triển bệnh xơ gan và ung thư gan. Theo báo cáo gần đây, khoảng 200 triệu người trên toàn cầu bị nhiễm HCV. Ước tính rằng có trên 4,50 triệu (lên đến 15 triệu) bệnh nhân mắc bệnh viêm gan C ở Mỹ. Ở châu Âu, đã biết rằng có trên 5 triệu bệnh nhân.

Vì chưa có vaccin hoặc thuốc hữu hiệu đối với bệnh viêm gan C, nhiều công ty dược phẩm và nhiều viện nghiên cứu trên thế giới đang phát triển thuốc phòng chống bệnh viêm gan C. Trên toàn cầu, bệnh viêm gan C phổ biến ngang với bệnh viêm gan B, và có tỷ lệ chuyển thành bệnh xơ gan và ung thư gan cao hơn nhiều so với bệnh viêm gan B. Bệnh này có tỷ lệ phát triển thành bệnh viêm gan mạn tính cao hơn nhiều và cơ chế của nó vẫn đang được nghiên cứu. Ngoài ra, bệnh viêm gan C lây nhiễm chủ yếu thông qua sự tiếp xúc máu như sự truyền máu mặc dù sự lây nhiễm cũng có thể thông qua sự tiêm vào tĩnh mạch hoặc xăm. Những bệnh nhân nhiễm virus viêm gan C chủ yếu tiến triển thành bệnh viêm gan mạn tính và sau đó tiến triển thành bệnh xơ gan và ung thư gan. Do vậy, cần phát triển các vaccin và các thuốc hữu hiệu. HCV biểu hiện nhiều kiểu gen và đột biến khác nhau giữa các chủng virus. Trong trường hợp bệnh viêm gan mạn tính do HCV, sự tái nhiễm, sự đồng nhiễm, v.v., thường xảy ra do các thể biến dị di truyền. Vì lý do này, rất khó phát triển thành công các vaccin viêm gan C hữu hiệu.

Hiện nay, interferon- $\alpha$  và ribavirin cùng được sử dụng để điều trị bệnh

viêm gan C. Tuy nhiên, tỷ lệ chữa khỏi bệnh là thấp và có các tác dụng phụ nghiêm trọng. Trong trường hợp của liệu pháp interferon, không quan sát thấy sự đáp ứng ở khoảng 25% và sự tái phát xảy ra ở khoảng 25% sau khi đáp ứng tạm thời. Ở khoảng 50% bệnh nhân còn lại, mức ALT được duy trì bình thường cho đến sau khi quá trình điều trị kết thúc và các bệnh nhân này có kết quả âm tính đối với HCV ARN. Bệnh viêm gan C tái phát ở khoảng 50% số bệnh nhân đó trong vòng 3-6 tháng sau khi kết thúc quá trình điều trị. Điều đó có nghĩa là, chỉ khoảng 25% thể hiện đáp ứng virus kéo dài với hiệu quả điều trị được duy trì trong ít nhất là 6 tháng. Hiện có 6 kiểu gen của virus viêm gan C. Kiểu gen 1b, là kiểu gen phổ biến nhất ở Hàn Quốc, không biểu hiện đáp ứng tốt đối với liệu pháp interferon so với các kiểu gen 2 và 3. Vì lý do này, liệu pháp dùng đồng thời với ribavirin được sử dụng. Trong trường hợp này, hiệu quả trị liệu được nâng cao khoảng 2 lần. Nhưng, khi ribavirin được sử dụng một mình, hiệu quả là không đáng kể và các tác dụng phụ như chứng thiếu máu xảy ra do sự phá hủy các hồng cầu. Do vậy, nó chỉ được chỉ định khi không có đáp ứng đối với liệu pháp interferon hoặc tái phát các triệu chứng nêu trên. Do vậy, thuốc kháng virus mà điều trị hữu hiệu bệnh viêm gan C bằng cách tác động đặc hiệu đối với HCV và ngăn chặn sự phát triển của virus này chưa được phát triển.

Glycyrrhizin, catechin, silymarin, v.v., được biết là các thành phần thực vật tự nhiên hữu hiệu để điều trị bệnh viêm gan virus hoặc bảo vệ các tế bào gan. Mặc dù đã có báo cáo rằng các thành phần này có chức năng ức chế sự sinh sản của virus viêm gan và bảo vệ gan tốt hơn (*Altern Med Rev* 1999 Aug; 4(4): 220-38, *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 1992 Aug; 12), nhưng thuốc vẫn chưa được phát triển.

Do vậy, sự phát triển thuốc chống virus viêm gan C có hiệu quả điều trị tốt hơn và tương đối ít các tác dụng phụ là cần thiết.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Vấn đề kỹ thuật

Sáng chế đề xuất được phẩm có khả năng phòng ngừa hoặc điều trị hữu

hiệu bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C gây ra bằng cách gia tăng hoạt tính tự tiêu của các tế bào gan.

#### Giải pháp kỹ thuật

Theo phương án cụ thể của sáng chế, dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C gây ra chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần.

Dược phẩm theo sáng chế gia tăng hoạt tính tự tiêu của các tế bào gan.

Phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* được chiết bằng cách sử dụng dung môi rượu có 1 đến 4 nguyên tử cacbon.

Phần chiết nốt sần được chiết bằng cách sử dụng dung môi rượu có 1 đến 4 nguyên tử cacbon.

Cụ thể, thực vật thuộc giống *Agrimonia* có thể là *Agrimonia pilosa* L., và phần chiết *Agrimonia pilosa* L. này có thể chứa luteolin 7-O- $\beta$ -D glucuronit.

Phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần được trộn ở tỷ lệ trọng lượng là 5 : 5 đến 8 : 2.

Theo phương án khác nữa của sáng chế, chế phẩm thực phẩm phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C gây ra chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần.

#### Hiệu quả của sáng chế

Dược phẩm theo sáng chế phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C gây ra không có hại đối với cơ thể người và có hiệu quả ức chế hữu hiệu sự phát triển của virus viêm gan C.

#### Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 thể hiện kết quả so sánh hiệu quả gây ra sự tự tiêu của các thực vật thuộc giống *Agrimonia*.

FIG. 2 thể hiện quang phổ UV-Vis của các phần chiết *Agrimonia eupatoria* L. và *Agrimonia pilosa* L. (đỉnh: phần chiết *Agrimonia pilosa*, đáy:

phần chiết *Agrimonia eupatoria* L.).

FIG. 3 thể hiện hiệu quả gây ra sự tự tiêu của phần chiết nốt sần.

FIG. 4 thể hiện hiệu quả gây ra sự tự tiêu của phần chiết *Agrimonia pilosa* L. phụ thuộc vào nồng độ etanol trong khi bào chế.

FIG. 5 thể hiện hiệu quả gây ra sự tự tiêu của hỗn hợp của phần chiết *Agrimonia pilosa* L. và phần chiết nốt sần phụ thuộc vào tỷ lệ trọng lượng.

FIG. 6 so sánh hiệu quả gây ra sự tự tiêu của hỗn hợp của phần chiết *Agrimonia pilosa* L. và phần chiết nốt sần phụ thuộc vào thời gian.

FIG. 7 thể hiện kết quả kiểm tra hiệu quả ức chế virus viêm gan C của phần chiết hỗn hợp của sáng chế.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Sau đây, sáng chế được mô tả chi tiết. Cần hiểu rằng, các thuật ngữ hoặc các từ được sử dụng trong bản mô tả sáng chế và các điểm yêu cầu bảo hộ không bị giới hạn ở các nghĩa thông thường hoặc các nghĩa trong từ điển, mà nên được hiểu là có các nghĩa và các khái niệm, mà phù hợp với tinh thần kỹ thuật của sáng chế, dựa trên nguyên tắc là các tác giả sáng chế có thể định nghĩa một cách thích hợp khái niệm của thuật ngữ này để mô tả sáng chế theo cách tốt nhất. Do vậy, các cấu trúc được minh họa trong bản mô tả sáng chế không phải là ý tưởng kỹ thuật của sáng chế mà chỉ là các phương án cụ thể của sáng chế. Như vậy, cần hiểu rằng có thể có các sự cải biến và các nội dung tương đương, mà có thể được thay thế ở thời điểm nộp đơn sáng chế.

Dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C gây ra theo sáng chế chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần.

Thực vật thuộc giống *Agrimonia* được sử dụng trong sáng chế là cây lâu năm sinh trưởng trên đồi hoặc các cánh đồng, và được gọi bằng vài tên khác nữa. Giống cây này đã được sử dụng làm thuốc cầm máu hoặc thuốc chống tiêu chảy trong các bài thuốc dân gian, và cũng đã được sử dụng để điều trị chứng loét dạ

dày, viêm ruột, viêm thận và viêm khớp. Cụ thể, một vài loài thực vật thuộc giống *Agrimonia* đã được sử dụng để điều trị ung thư và điều hòa miễn dịch. Agrimonin, là một trong số các thành phần của thực vật thuộc giống *Agrimonia*, được biết đến dưới dạng thành phần tannin có hoạt tính điều hòa miễn dịch. Nó cũng được biết là có hoạt tính điều trị ung thư bằng cách cảm ứng interleukin-1.

Ngoài ra, nốt sần được sử dụng trong sáng chế là nốt sần của *Melaphis chinensis* Bell phát triển trên lá của *Rhus javanica* L. hoặc thực vật của cùng một giống của họ *Anacardiaceae*. Thành phần chính của nó là gallotannin (50-70%), bao gồm axit galic, pentagalloyl glucoza, v.v..

Dược phẩm theo sáng chế, mà chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần, gia tăng hoạt tính tự tiêu của các tế bào gan. Sự tự tiêu là cơ chế điều hòa tự nhiên của tế bào mà loại bỏ các thành phần không cần thiết hoặc các thành phần loạn chức năng. Dược phẩm theo sáng chế có thể phòng ngừa hoặc điều trị bệnh được gây ra bởi sự lây nhiễm virus viêm gan C bằng cách gia tăng hoặc gây ra sự tự tiêu.

Bệnh được gây ra bởi sự lây nhiễm virus viêm gan C có thể là bệnh bất kỳ xuất hiện do sự nhiễm virus viêm gan C, bao gồm bệnh viêm gan C được gây ra bởi virus viêm gan C, chứng xơ hóa gan được gây ra bởi virus viêm gan C mà do bệnh viêm gan C mạn tính gây ra, bệnh xơ gan và ung thư gan, dù vậy sáng chế không bị giới hạn ở các bệnh này.

Phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* có thể thu được theo phương pháp chiết thực vật bất kỳ đã biết. Cụ thể, có thể được chiết bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ.

Một ví dụ về phương pháp bào chế phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ là thực vật thuộc giống *Agrimonia* có thể được chiết bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ và phần chiết dung môi hữu cơ có thể thu được sau khi loại bỏ phần chiết tan được trong nước. Về một ví dụ khác, sau khi xử lý toàn bộ thực vật bằng dung môi hữu cơ và tách phần chiết dung môi hữu cơ và phần chiết tan được trong nước bằng cách xử lý

với dung môi hữu cơ không chứa nước, phần chiết tan được trong nước có thể được tiếp tục xử lý với dung môi hữu cơ không chứa nước để thu phần chiết dung môi hữu cơ và phần chiết tan được trong nước của nó.

Để bào chế phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* theo sáng chế, tốt hơn là dung môi rượu có 1 đến 4 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa là dung môi etanol, tốt nhất là etanol có nồng độ từ 30 đến 80% trọng lượng, có thể được sử dụng làm dung môi hữu cơ.

Thực vật thuộc giống *Agrimonia* mà có thể được sử dụng trong sáng chế có thể là ít nhất một trong số *Agrimonia eupatoria* L., *Agrimonia pilosa* L., *Agrimonia coreana* N., *Agrimonia coreana* N. for. *pilosella* Satake, *Agrimonia gryposepala*, *Agrimonia rostellata*, *Agrimonia pubescens*, *Agrimonia parviflora*, *Agrimonia striata*, *Agrimonia odorata*, *Agrimonia incisa*, *Agrimonia polyphylla*, *Agrimonia microcarpa*, *Agrimonia bracteata*, *Agrimonia repens*, *Agrimonia platycarpa*, *Agrimonia pumila* và *Agrimonia asiatica*. Tốt nhất là, thực vật này có thể là *Agrimonia pilosa* L.

Phần chiết *Agrimonia pilosa* L. chứa luteolin 7-O- $\beta$ -D glucuronit nhiều hơn tương đối so với các phần chiết khác của các thực vật thuộc giống *Agrimonia*. Nhờ có thành phần này, bệnh do sự nhiễm virus viêm gan C gây ra có thể được điều trị hoặc phòng ngừa một cách hữu hiệu.

Phần chiết nốt sần có thể thu được theo bất kỳ phương pháp cắt phân đoạn thực vật đã biết. Cụ thể, nó có thể được chiết bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ.

Một ví dụ về phương pháp bào chế phần chiết nốt sần bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ, *Rhus javanica* L. có thể được chiết bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ và phần chiết dung môi hữu cơ có thể thu được sau khi loại bỏ phần chiết tan được trong nước. Một ví dụ khác, sau khi xử lý toàn bộ thực vật bằng dung môi hữu cơ và tách phần chiết dung môi hữu cơ và phần chiết tan được trong nước bằng cách xử lý với dung môi hữu cơ không chứa nước, phần chiết tan được trong nước có thể được xử lý tiếp với dung môi hữu cơ không chứa

nước để thu phần chiết dung môi hữu cơ và phần chiết tan được trong nước của nó.

Để bào chế phần chiết nốt sần theo sáng chế, tốt hơn là dung môi rượu có 1 đến 4 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa là dung môi etanol, tốt nhất là etanol có nồng độ từ 30 đến 80% trọng lượng, có thể được sử dụng làm dung môi hữu cơ.

Phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần có thể được trộn ở tỷ lệ trọng lượng là 5 : 5 đến 8 : 2, tốt hơn nữa là ở tỷ lệ trọng lượng là 6 : 4 đến 7 : 3. Khi chúng được trộn ngoài khoảng tỷ lệ trọng lượng nêu trên, thì không hữu hiệu trong việc phòng ngừa hoặc điều trị bệnh được gây ra bởi sự nhiễm virus viêm gan C bởi vì hoạt tính tự tiêu của các tế bào gan bị giảm.

Ngoài ra, hỗn hợp của phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần có thể được sử dụng riêng ở lượng được lý hữu hiệu hoặc dưới dạng dược phẩm còn chứa một hoặc nhiều chất mang dược dụng, chất pha loãng dược dụng hoặc tá dược dược dụng. Thuật ngữ “lượng được lý hữu hiệu” là để chỉ lượng phần chiết đủ để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh, mà xứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý có thể áp dụng cho sự điều trị hoặc phòng ngừa. Tuy nhiên, cần hiểu rằng bác sĩ có thể xác định liều dùng hàng ngày của dược phẩm chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần theo sáng chế thông qua sự khám bệnh. Lượng hữu hiệu cụ thể cho bệnh nhân cụ thể sẽ được xác định phụ thuộc vào căn bệnh cụ thể và mức độ trầm trọng của bệnh, hoạt tính của phần chiết được sử dụng, thành phần cụ thể được sử dụng, độ tuổi của bệnh nhân, thể trọng, tình trạng sức khỏe, giới tính và chế độ ăn uống, thời gian sử dụng, đường sử dụng và tốc độ bài tiết của phần chiết cụ thể được sử dụng, khoảng thời gian điều trị, (các) thuốc được sử dụng kết hợp hoặc đồng thời với phần chiết cụ thể được sử dụng và các yếu tố khác đã biết trong lĩnh vực y tế. Ví dụ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết rằng phần chiết có thể được sử dụng bắt đầu ở mức thấp hơn mức được yêu cầu để đạt được hiệu quả trị liệu mong muốn và sau đó liều lượng này có thể được tăng dần cho đến khi đạt được hiệu quả trị liệu mong muốn.



Ngoài ra, hỗn hợp phần chiết chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần theo sáng chế có thể được sử dụng theo đường cụ thể, ví dụ, ở dạng liều dùng qua đường miệng như viên nén, viên nang, viên nén phủ đường, viên nén bao màng mỏng, chất lỏng hoặc huyền phù.

Hỗn hợp phần chiết theo sáng chế được tạo ra dưới dạng dược phẩm có liều lượng cụ thể kết hợp với chất mang dược dụng, chất pha loãng hoặc tá dược. Dược phẩm thường được phối chế theo phương pháp thông thường và được sử dụng ở dạng dược phẩm thích hợp. Ví dụ, dược phẩm rắn dùng qua đường miệng có thể chứa, cùng với thành phần hoạt tính, chất pha loãng (ví dụ, lactoza, dextroza, sucroza, xenluloza, tinh bột ngô hoặc tinh bột khoai tây), chất làm trơn (ví dụ, silic oxit, bột talc, axit stearic, magie hoặc canxi stearat và/hoặc polyetylen glycol), chất kết dính (ví dụ, tinh bột, gôm arabic, gelatin, methyl xenluloza, carboxymetyl xenluloza hoặc polyvinylpyrrolidon), chất gây phân rã (ví dụ, tinh bột, axit arginic, alginat hoặc natri tinh bột glycolat), hỗn hợp formal, thuốc nhuộm màu, chất làm ngọt, chất tạo ẩm (ví dụ, lexithin, polysorbat hoặc lauryl sulfat) và các nguyên liệu dược động học trợ khác thông thường được sử dụng trong lĩnh vực này. Dược phẩm có thể được bào chế bằng phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, bằng cách trộn, tạo hạt, tạo viên nén, hoặc phủ đường hoặc bao màng mỏng.

Một cách khác để sử dụng hỗn hợp phần chiết theo sáng chế qua đường miệng, nó có thể được bào chế thành dạng phân tán lỏng, mà có thể là xirô, nhũ tương hoặc huyền phù. Huyền phù và nhũ tương có thể chứa chất mang như gôm tự nhiên, thạch, natri alginat, pectin, methyl xenluloza, carboxymetyl xenluloza hoặc rượu polyvinyl.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất chế phẩm thực phẩm chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần theo sáng chế làm thành phần hoạt tính, mà có vai trò phụ trợ trong việc phòng ngừa hoặc điều trị bệnh về gan. Cần hiểu rằng chế phẩm thực phẩm theo sáng chế có thể được bào chế thành các loại thực phẩm khác nhau, bao gồm thực phẩm chức năng, sản phẩm bổ sung dinh dưỡng, sản phẩm dinh dưỡng, thực phẩm cận dược, thực phẩm tốt cho sức

khỏe, được thực phẩm, thực phẩm chức năng được tạo ra vì một mục đích cụ thể (designer food), phụ gia thực phẩm, v.v.. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng chế phẩm thực phẩm có thể được bào chế thành các dạng khác nhau theo các phương pháp thông thường. Ví dụ, thực phẩm tốt cho sức khỏe có thể uống chủ yếu ở dạng trà, nước ép trái cây, dạng thạch hoặc đồ uống, mà thường được sử dụng dưới dạng các bài thuốc dân gian. Ngoài ra, thực phẩm chức năng có thể ở dạng kẹo, sữa chua, bánh quy, bơ, bơ thực vật, v.v.. Và, phụ gia thực phẩm có thể ở dạng bột hoặc dung dịch cô đặc.

Phần mô tả nêu trên chỉ nhằm mục đích minh họa tinh thần kỹ thuật của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể thực hiện các sự cải biến và các sự thay đổi khác nhau mà không trệch khỏi các dấu hiệu cơ bản của sáng chế. Do vậy, các phương án cụ thể được mô tả trong sáng chế không gây ra sự giới hạn về tinh thần kỹ thuật của sáng chế và phạm vi kỹ thuật của sáng chế không bị giới hạn ở các phương án này. Phạm vi bảo hộ của sáng chế nên được hiểu dựa trên các điểm yêu cầu bảo hộ dưới đây và toàn bộ tinh thần kỹ thuật trong phạm vi tương đương nên được hiểu là cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thông qua các ví dụ. Tuy nhiên, các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa và đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này thì hiển nhiên là sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ đó.

#### **Ví dụ bào chế 1**

Sau khi sấy khô toàn bộ thực vật của từng giống trong số *Agrimonia eupatoria* L., *Agrimonia pilosa* L. và *Agrimonia coreana* N. và nghiền chúng thành bột, bổ sung 200L etanol 50% trọng lượng vào 20kg sản phẩm được nghiền thành bột và cô đến 20 Brix bằng cách tiến hành chiết hồi lưu ở 80°C trong 6 giờ, 1,5kg phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* thu được bằng cách sấy phun.

### Ví dụ bào chế 2

Sau khi sấy nốt sần thu được từ Jeju, Korea, nốt sần đã sấy được để khô trong bóng râm và sau đó được cắt lát. Sau khi sấy nốt sần được cắt lát và nghiền chúng thành bột, bổ sung 200L etanol 50% trọng lượng vào 20kg sản phẩm được nghiền thành bột và cô đến 20 Brix, 11,5kg phần chiết nốt sần thu được bằng cách sấy phun.

### Ví dụ thử nghiệm 1

Hiệu quả gây ra sự tự tiêu của các phần chiết được bào chế trong Ví dụ bào chế 1 được thẩm định bằng cách sử dụng các tế bào ung thư gan của chuột hepa1c1c-7 (Korea Cell Line Bank, KCLB22026). Kết quả được thể hiện trên FIG. 1.

Như thấy được từ FIG. 1, phần chiết *Agrimonia pilosa* L. thể hiện hoạt tính tự tiêu cao hơn nhiều so với phần chiết *Agrimonia eupatoria* L. và phần chiết *Agrimonia coreana* N..

### Ví dụ thử nghiệm 2

Quang phổ UV-Vis của các phần chiết *Agrimonia eupatoria* L. và *Agrimonia pilosa* L. được bào chế trong Ví dụ bào chế 1 được phân tích. Kết quả được thể hiện trên FIG. 2.

Như thấy được từ FIG. 2, đã xác nhận rằng phần chiết *Agrimonia pilosa* L. chứa hợp chất không có trong phần chiết *Agrimonia eupatoria* L.. Hợp chất này được xác định là luteolin 7-O- $\beta$ -D glucuronit.

Phần chiết *Agrimonia pilosa* L. và phần chiết *Agrimonia eupatoria* L. thể hiện sự khác biệt về các thành phần như luteolin 7-O- $\beta$ -D glucuronit mặc dù chúng là các phần chiết của các thực vật thuộc cùng một giống, và người ta cho rằng chúng có sự khác biệt về hoạt tính tự tiêu, v.v., là vì lý do này.

### Ví dụ thử nghiệm 3

Hiệu quả gây ra sự tự tiêu của phần chiết được bào chế trong Ví dụ bào chế 2 được đánh giá bằng cách sử dụng các tế bào ung thư gan của chuột

hepa1c1c-7 (Korea Cell Line Bank, KCLB22026). Kết quả được thể hiện trên FIG. 3.

Như thấy được từ FIG. 3, đã xác nhận rằng hoạt tính tự tiêu càng gia tăng khi nồng độ của phần chiết nốt sần càng cao.

#### Ví dụ thử nghiệm 4

Hiệu quả gây ra sự tự tiêu của phần chiết *Agrimonia pilosa* L. mà đã thể hiện hiệu quả tốt ở Ví dụ thử nghiệm 1 phụ thuộc vào nồng độ của dung môi chiết được đánh giá bằng cách sử dụng các tế bào ung thư gan của chuột hepa1c1c-7 (Korea Cell Line Bank, KCLB22026).

Phần chiết *Agrimonia pilosa* L. được bào chế theo phương pháp của Ví dụ bào chế 1. Quá trình chiết được tiến hành trong khi thay đổi nồng độ của etanol như 0% trọng lượng, 30% trọng lượng, 50% trọng lượng, 70% trọng lượng và 100% trọng lượng. Kết quả của các phần chiết tương ứng được thể hiện trên FIG. 4.

Như thấy được từ FIG. 4, đã xác nhận rằng hiệu quả gây ra sự tự tiêu có tác dụng tốt nhất khi phần chiết được bào chế bằng cách sử dụng 50% trọng lượng etanol.

#### Ví dụ 1

Phần chiết hỗn hợp của sáng chế thu được bằng cách trộn phần chiết *Agrimonia pilosa* L. mà đã thể hiện hiệu quả tốt nhất ở Ví dụ thử nghiệm 1 và phần chiết nốt sần mà đã thể hiện hiệu quả tốt nhất ở Ví dụ thử nghiệm 2.

#### Ví dụ thử nghiệm 5

Hiệu quả gây ra sự tự tiêu của phần chiết hỗn hợp của Ví dụ 1 được đánh giá bằng cách sử dụng các tế bào ung thư gan của chuột hepa1c1c-7 (Korea Cell Line Bank, KCLB22026). Hiệu quả được so sánh trong khi thay đổi tỷ lệ trộn của phần chiết *Agrimonia pilosa* L. và phần chiết nốt sần. Tỷ lệ trộn của phần chiết *Agrimonia pilosa* L. và phần chiết nốt sần được thay đổi ở 0-10 : 10-0 tính theo trọng lượng. Kết quả được thể hiện trên FIG. 5.

Như thấy được từ FIG. 5, hoạt tính tự tiêu tốt nhất thu được khi phân chiết *Agrimonia pilosa* L. và phân chiết nốt sần được trộn ở tỷ lệ trọng lượng là 6 : 4.

#### Ví dụ thử nghiệm 6

Hoạt tính tự tiêu của phân chiết hỗn hợp trong đó phân chiết *Agrimonia pilosa* L. và phân chiết nốt sần được trộn ở tỷ lệ trọng lượng là 6 : 4, mà đã thể hiện hiệu quả tốt ở Ví dụ thử nghiệm 5, với thời gian được đánh giá bằng cách sử dụng các tế bào ung thư gan của chuột hepa1c1c-7 (Korea Cell Line Bank, KCLB22026). Hoạt tính được so sánh với hoạt tính của phân chiết *Agrimonia pilosa* L. mà đã thể hiện hiệu quả tốt nhất ở Ví dụ thử nghiệm 1 và phân chiết nốt sần mà được bào chế trong Ví dụ bào chế 2. Kết quả được thể hiện trên FIG. 6.

Như thấy được từ FIG. 6, đã xác nhận rằng phân chiết *Agrimonia pilosa* L. thể hiện hoạt tính từ 8 giờ sau khi xử lý và hoạt tính này bị giảm từ 48 giờ (xem FIG. 6, a). Ngoài ra, đã xác nhận rằng phân chiết nốt sần thể hiện hoạt tính từ 24 giờ (xem FIG. 6, b). Tuy nhiên, phân chiết hỗn hợp của phân chiết *Agrimonia pilosa* L. và phân chiết nốt sần đã thể hiện sự gia tăng và duy trì hoạt tính tự tiêu từ 8 giờ đến 48 giờ (FIG. 6, c).

#### Ví dụ thử nghiệm 7

Các tế bào ung thư gan của chuột hepa1c1c-7 (Korea Cell Line Bank, KCLB22026) được xử lý với 200 $\mu$ L máu nhiễm virus viêm gan C (HCV) (People's Liberation Army 302 Hospital) và được xử lý với chất phản ứng TRIzol LS Reagent (Ambion by Life Technologies) 24 giờ sau đó. Tiếp theo, hiệu quả ức chế HCV được đánh giá sau khi bổ sung từng phân chiết trong số phân chiết *Agrimonia eupatoria* L. và phân chiết *Agrimonia pilosa* L. được bào chế trong Ví dụ bào chế 1, luteolin 7-O- $\beta$ -D glucuronit có trong phân chiết *Agrimonia pilosa* L., phân chiết nốt sần được bào chế trong Ví dụ bào chế 2 và phân chiết hỗn hợp của Ví dụ 1 (phần chiết hỗn hợp trong đó phân chiết *Agrimonia pilosa* L. và phân chiết nốt sần được trộn ở tỷ lệ trọng lượng là 6 : 4,

mà đã thể hiện hiệu quả tốt ở Ví dụ thử nghiệm 3). Kết quả được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1

|                                         | Phần chiết<br><i>Agrimonia<br/>eupatoria</i><br>L. | Phần chiết<br><i>Agrimonia<br/>pilosa</i> L. | Phần chiết<br>nốt sần | Luteolin<br>7-O-beta-D<br>glucuronit | Ví dụ 1    |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------|
| Mức ức chế<br>virus (EC <sub>50</sub> ) | 23,2 ± 1,2                                         | 16,1 ± 1,1                                   | 27,7 ± 1,8            | 15,3 ± 1,3                           | 10,4 ± 1,0 |

Từ Bảng 1 đã xác nhận rằng phần chiết *Agrimonia pilosa* L. và luteolin 7-O-β-D glucuronit có trong đó thể hiện hiệu quả ức chế virus tốt hơn so với phần chiết *Agrimonia eupatoria* L. hoặc phần chiết nốt sần. Cụ thể, đã nhận thấy rằng phần chiết hỗn hợp của Ví dụ 1 của sáng chế có hiệu quả ức chế virus tốt hơn nhiều so với phần chiết *Agrimonia pilosa* L..

Để đánh giá hiệu quả ức chế HCV, sự thay đổi tỷ lệ HCV/β-actin được thẩm định. Kết quả được thể hiện trên FIG. 7.

Như thấy được từ FIG. 7, sự phát triển của virus viêm gan C được xác nhận ở mẫu 1 trong đó các tế bào gan được xử lý với máu của bệnh nhân mắc bệnh viêm gan C. Tuy nhiên, mẫu 2 trong đó các tế bào gan được xử lý với máu của bệnh nhân mắc bệnh viêm gan C patient và sau đó với phần chiết hỗn hợp đã cho thấy tác dụng ức chế sự phát triển virus viêm gan C.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm phòng ngừa hoặc điều trị bệnh do sự lây nhiễm virus viêm gan C gây ra, dược phẩm này chứa phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần làm thành phần hoạt tính,

trong đó phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần được trộn ở tỷ lệ trọng lượng là 5 : 5 đến 8 : 2,

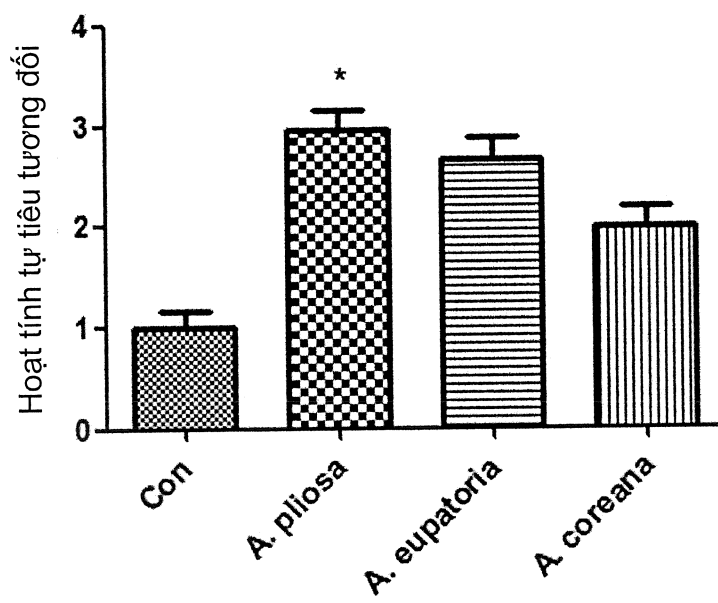
thực vật thuộc giống *Agrimonia* là *Agrimonia pilosa* L, và

phần chiết của thực vật thuộc giống *Agrimonia* và phần chiết nốt sần được chiết bằng cách sử dụng dung môi rượu có 1 đến 4 nguyên tử cacbon.

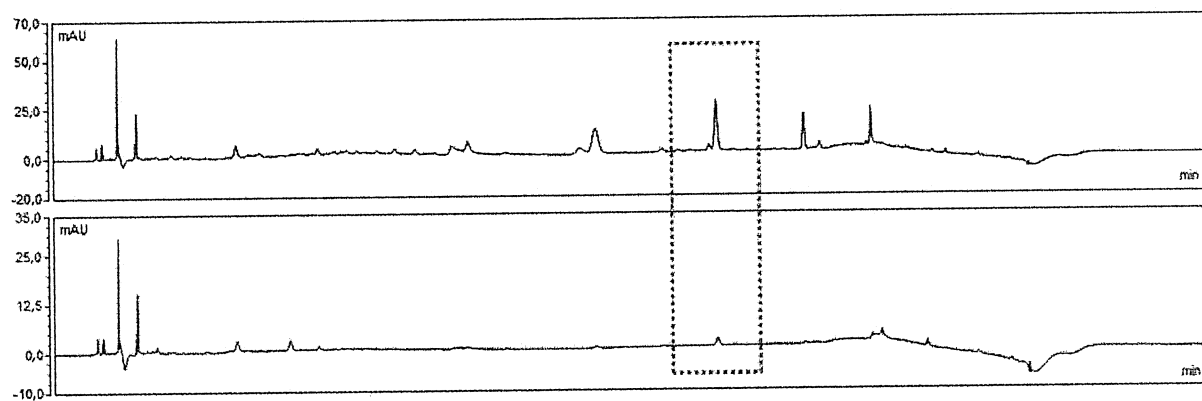
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này gia tăng hoạt tính tự tiêu của các tế bào gan.

3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó phần chiết *Agrimonia pilosa* L. chứa luteolin 7-O- $\beta$ -D glucuronit.

【FIG. 1】

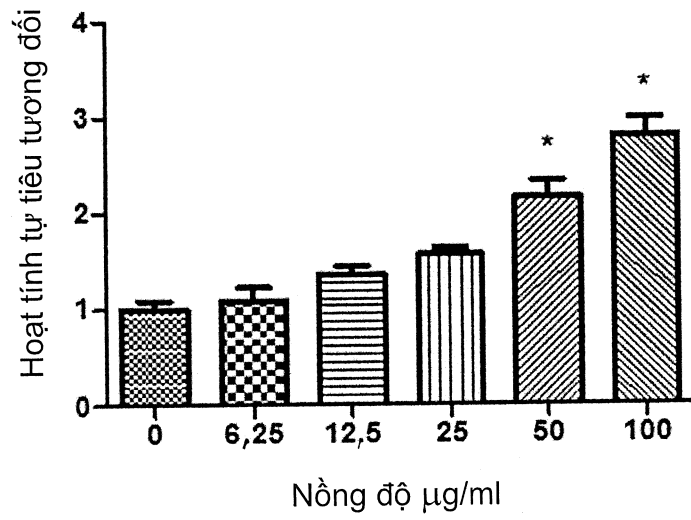


【FIG. 2】

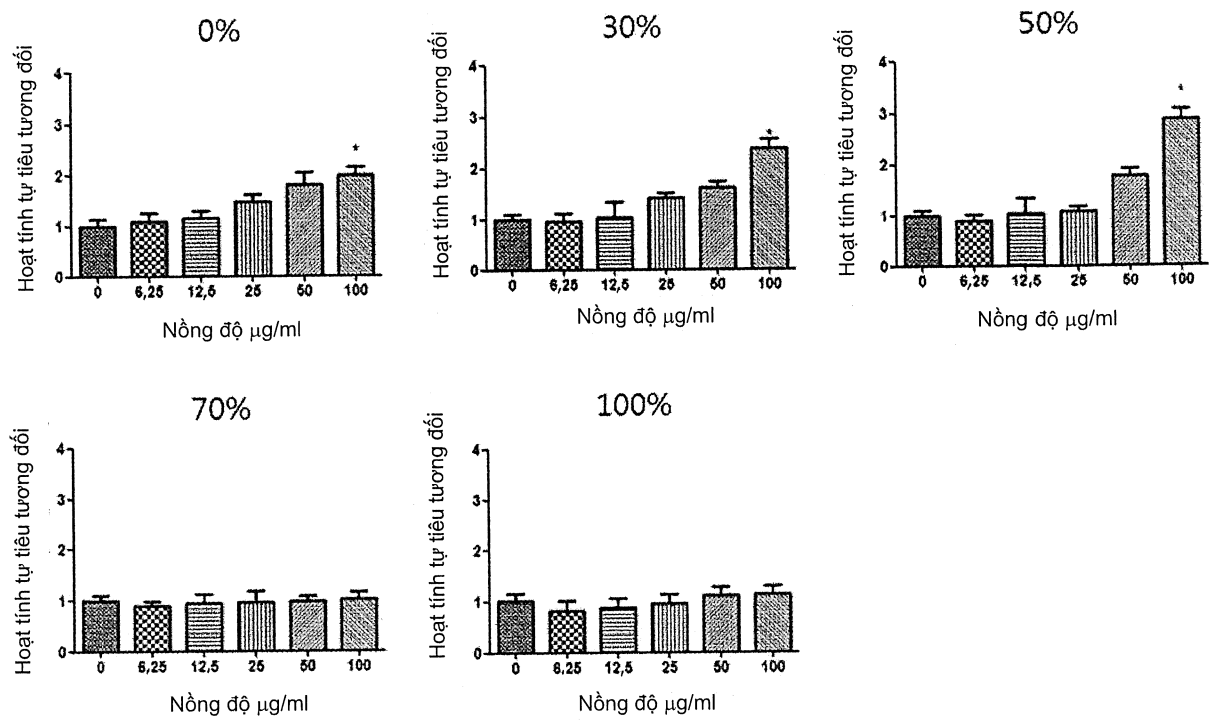




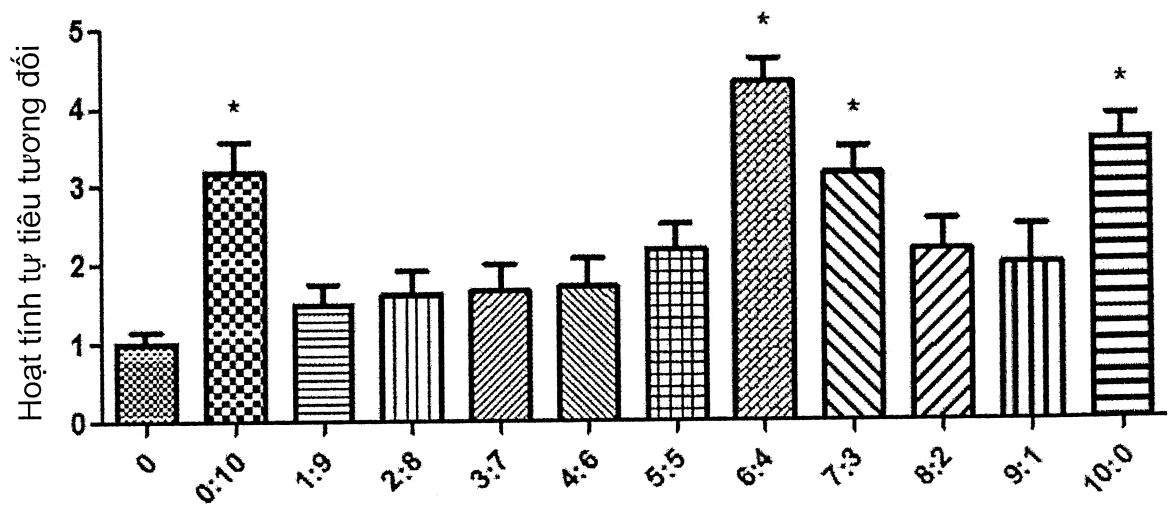
【FIG. 3】



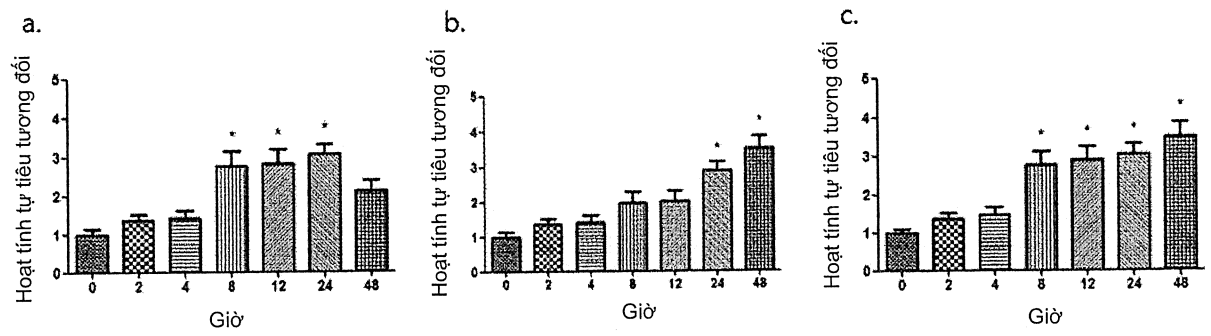
【FIG. 4】



【FIG. 5】



[FIG. 6]



[FIG. 7]

