



(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)



**2-0003208**

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

(13) **Y**

---

(21) 2-2021-00469

(22) 20/05/2020

(67) 1-2020-02827

(45) 25/07/2023 424

(43) 25/08/2020 389ASC

(73) Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội (VN)

Nhà Y1, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Thành Phố Hà Nội

(72) BÙI THANH TÙNG (VN); NGUYỄN THỊ HUYỀN (VN).

---

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT HỖN HỢP CAO CHIẾT CHÈ ĐẮNG VÀ MƯỚP ĐẮNG  
DÙNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG VÀ HỖN HỢP THU ĐƯỢC TỪ QUY  
TRÌNH NÀY**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất hỗn hợp cao chiết dùng để điều trị bệnh đái tháo đường bao gồm các bước: chuẩn bị nguyên liệu; chiết riêng rẽ nguyên liệu Chè đắng và nguyên liệu Mướp đắng; phối trộn cao chiết Chè đắng và cao chiết Mướp đắng tạo hỗn hợp cao chiết. Giải pháp hữu ích cũng đề cập hỗn hợp cao chiết thu được bởi quy trình này.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất hỗn hợp cao chiết dùng để điều trị bệnh đái tháo đường từ cây Chè đắng (*Ilex kaushue* S. Y. Hu) và cây Mướp đắng (*Momordica charantia*). Ngoài ra giải pháp hữu ích cũng đề cập đến hỗn hợp cao chiết gồm hai thành phần này.

### **Tình trạng kỹ thuật sáng chế**

Đái tháo đường (ĐTĐ) là một bệnh rối loạn chuyển hóa đặc trưng bởi nồng độ glucoza máu tăng thường xuyên và mãn tính do tụy sản xuất thiếu insulin (thiếu insulin tuyệt đối) hoặc do giảm tác dụng của insulin (thiếu insulin tương đối) bởi các nguyên nhân khác nhau với cơ chế bệnh sinh phức tạp. Tăng glucoza máu mãn tính thường kết hợp với sự hủy hoại, rối loạn và sự suy yếu chức năng của nhiều cơ quan trong cơ thể. Những rối loạn chuyển hóa này có thể gây hôn mê và tử vong trong thời gian ngắn nếu không được điều trị kịp thời. Hậu quả của các rối loạn chuyển hóa này là gây tổn thương các mạch máu nhỏ và mạch máu lớn dẫn đến mù mắt, hoại tử thận, hoại tử chi, nhiễm trùng, tổn thương thần kinh. Bệnh thường kèm theo các biến chứng cấp gây tử vong hoặc các biến chứng lâu dài như các bệnh lý về tim mạch, mắt, thận, thần kinh.

Bệnh đái tháo đường typ 2 là dạng ĐTĐ thường gặp nhất, chiếm khoảng 80-90% số bệnh nhân bị ĐTĐ. Thông thường, với bệnh ĐTĐ typ 2, trong cơ thể vẫn còn sản xuất insulin, nhưng insulin được sản xuất ra không đủ hoặc các tế bào không thể sử dụng nó.

Enzym  $\alpha$ -glucosidaza thuộc nhóm hydrolaza, là enzym nằm trong màng đường ruột, tham gia vào bước cuối của quá trình tiêu hóa. Enzym này xúc tác cho quá trình phân hủy các đường disaccarit như sucroza hay maltoza thành monosaccarit như glucoza. Bằng cách ức chế hoạt động của enzym  $\alpha$ -glucosidaza, có thể làm giảm sự thủy phân của hydrat cacbon và làm chậm sự thẩm thấu glucoza vào máu. Do đó, các chất ức chế  $\alpha$ -glucosidaza có vai trò quan trọng trong điều trị bệnh đái tháo đường. Acarbose và miglitol đang được sử dụng rộng rãi như thuốc điều trị đái tháo đường typ 2. Cơ chế hoạt động của các thuốc này là ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidaza ở ruột.

Đái tháo đường typ 2 có liên quan tới đề kháng insulin. Các nghiên cứu cho thấy protein-tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) là enzym điều hòa sự hoạt động của insulin. Enzym PTP1B tăng hoạt động sẽ làm tăng quá trình khử phospho hóa  $\text{Ir}\beta$  và làm giảm tín hiệu insulin, và gây kháng insulin. Vì vậy, khi enzym PTP1B giảm hoạt tính thì sẽ làm tăng độ nhạy insulin. Do đó, các hợp chất ức chế PTP1B có tiềm năng trong điều trị bệnh đái tháo đường typ 2.

Sử dụng thuốc từ dược liệu trong phòng và chữa bệnh là thói quen, kinh nghiệm và truyền thống của người dân Việt Nam và một số nước trên thế giới. Sử dụng dược liệu cho bệnh nhân ĐTD là liệu pháp kinh tế nhất và hiệu quả hơn thuốc tân dược. Các thuốc tân dược điều trị bệnh ĐTD thường có nhiều tác dụng phụ. Nhóm thuốc biguanides gây buồn nôn, đầy hơi, tiêu chảy, thiếu vitamin B12 và đau dạ dày. Nhóm sulfonylureas gây hạ đường huyết, có triệu chứng như run rẩy, đổ mồ hôi, chóng mặt và lú lẫn. Nhóm Thiazolidinedion gây tích nước và dẫn tới phù, tăng cân và tăng mức cholesterol xấu LDL, có thể gây gãy xương, suy tim, tăng nguy cơ ung thư bàng quang ở phụ nữ. Nhóm thuốc ức chế DPP-4 như alogliptin, linagliptin, saxagliptin, Siagliptin có thể gây đau họng, nghẹt mũi, đau dạ dày, tiêu chảy, suy gan tụy cấp, suy tim nặng và đau khớp. Nhóm thuốc ức chế SGLT2 như Canagliflozin, dapagliflozin, empagliflozin, ertugliflozin làm tăng nguy cơ mắc

nhiễm trùng đường tiết niệu, nấm và gây hạ đường huyết quá nhiều. Nhiều dược liệu có tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường được dân gian sử dụng cho thấy tính hiệu quả và an toàn, ít tác dụng phụ. Hơn nữa, khi kết hợp các dược liệu với nhau thì sẽ tăng tính hiệp đồng, phát huy được tác dụng tốt hơn từng thành phần dược liệu riêng biệt. Ví dụ, xem công bố đơn quốc tế số WO2005076750A2. Mặc dù đã có nhiều bài thuốc dân gian có tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường, có sự kết hợp các dược liệu với nhau nhưng vẫn cần có nhu cầu tìm ra sự phối hợp tăng tính hiệp đồng của các dược liệu

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

Mục đích của giải pháp hữu ích là để giải quyết các vấn đề nêu trên. Do đó, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất hỗn hợp cao chiết dùng để điều trị bệnh đái tháo đường bao gồm các bước:

- bước 1- chuẩn bị nguyên liệu;
- bước 2- chiết nguyên liệu Chè đắng;
- bước 3- chiết nguyên liệu Mướp đắng;
- bước 4- phối trộn cao chiết Chè đắng và cao chiết Mướp đắng tạo hỗn hợp cao chiết.

Giải pháp hữu ích cũng đề cập hỗn hợp cao chiết thu được bởi quy trình này.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Giải pháp hữu ích quy trình sản xuất hỗn hợp cao chiết dùng để điều trị bệnh đái tháo đường bao gồm các bước như sau:

- bước 1- chuẩn bị nguyên liệu: thu phần lá cây Chè đắng, quả Mướp đắng, rửa sạch, phơi khô, thái nhỏ đến kích cỡ nhỏ hơn 3 cm thì thu được nguyên liệu riêng rẽ của từng dược liệu, đều đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm;

- bước 2- chiết nguyên liệu Chè đắng: chiết bằng cồn 10%-90%, tốt hơn nếu bằng cồn 30%, đun trong 2 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu:dung môi 1:5 (kg/L), trong đó việc chiết này được lặp lại 3 lần; thu gom rồi trộn lẫn các dịch chiết thu được, lọc và lấy phần dịch lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm rồi sấy trong tủ sấy ở 50°C tới khối lượng không đổi, thu được cao chiết của cây Chè đắng;
- bước 3- chiết nguyên liệu Mướp đắng: chiết bằng cồn 10%-90%, tốt hơn nếu bằng cồn 30%, đun trong 2 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu:dung môi = 1:5 (kg/L), trong đó việc chiết này được lặp lại 3 lần; thu gom rồi trộn lẫn các dịch chiết thu được, lọc và lấy phần dịch lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm rồi sấy trong tủ sấy ở 50°C tới khối lượng không đổi, thu được cao chiết của cây Mướp đắng;
- bước 4- phối trộn cao chiết Chè đắng và cao chiết Mướp đắng tạo hỗn hợp cao chiết, tỷ lệ khối lượng là 1:5 đến 5:1 thu được hỗn hợp bột cao chiết; tốt hơn nếu, tỷ lệ phối trộn là 1:1.

Cây Chè đắng có tên khoa học là *Ilex kaushue* S. Y. Hu. Cây chè đắng trưởng thành có thể cao tới 30m. Cây mọc thẳng, có màu xanh, thân hình tròn, vỏ cây có màu tro. Trên thân có nhiều cành mọc không theo quy tắc. Lá đơn, lá mọc cách, dày và rất giòn. Lá dài từ 15 – 20cm hoặc có thể dài hơn, lá rộng khoảng 10cm. Cuống lá dài 15 – 20mm, không rãnh, cuống lá có hình tròn và thô ngắn. Mặt trên lá sáng bóng, xung quanh mép lá có nhiều răng cưa, đỉnh lá nhọn. Hoa cây chè đắng thường mọc ở nách lá. Đường kính hoa khoảng 1cm, có màu vàng, xếp thành hình tròn. Hoa thường ra thành từng chùm, mỗi chùm dao động từ 30 – 130 hoa. Mỗi hoa gồm 4 đài, 4 cánh và 4 nhị đực. Quả chè mọc nước, đường kính 8 – 12mm, có hình cầu, ra thành từng chùm. Mỗi chùm quả có 4 – 10 quả hoặc có thể vài chục quả, chùm dài 15 – 18cm. Lúc non thì quả có màu xanh còn khi chín sẽ có màu tím đỏ. Trong quả có từ 4 – 5 hạt, hạt quả hình cái lược, dài 6mm, hạt cứng. Thành phần hoá học của cây chè đắng gồm flavonoit, saponin, tanin, cafein, theophylin. Chè đắng có tác

dụng sau: tăng cường tiêu hóa, điều trị đau bụng không rõ nguyên nhân, điều trị viêm đại tràng, hạ huyết áp nhẹ, giảm cholesterol máu, giải độc, bảo vệ gan, kích thích thần kinh

Cây Mướp đắng có tên khoa học là *Momordica charantia*, là dạng cây thân leo với phần thân nhỏ và dài. Lá của mướp đắng có nhiều lông nhỏ bao phủ xung quanh, được xẻ thành 5 cho đến 7 thùy nhìn khá đều nhau với phần viền hai bên đều có răng cưa và hình trứng. Lá mọc ra từ thân dây lá mọc đơn và thường sẽ so le nhau. Mỗi 1 lá có cuốn dài khoảng từ 3 cho đến 5cm. Khi lá mướp đắng còn non thì sẽ mang sắc xanh đậm nhưng khi già chuyển dần sang màu vàng héo và rụng xuống. Hoa có cuống dài từ 5-7cm và mang sắc vàng nhạt, mỗi bông có 5 cánh và chính giữa hoa có nhụy cũng màu vàng. Quả mướp đắng có hình thon dài. Mặt ngoài của quả nổi lên những u cục nhỏ màu xanh. Khi quả còn non sẽ có màu xanh nhưng khi chín nó chuyển sang màu vàng hồng. Quả mướp đắng chứa có nhiều protein, lipid, hydrat cacbon, các vitamin A, B1, B2, C, khoáng chất canxi, kali, magie, sắt, kẽm. Mướp đắng có tác dụng kích thích tiêu hóa, chống viêm, giải nhiệt, có tác dụng chống ung thư, đái tháo đường, cải thiện dung nạp glucoza; giảm cholesterol, kháng khuẩn, giảm đau, chống đầy hơi, giải độc, táo bón, kiết lỵ, trĩ.

Giải pháp hữu ích cũng đề cập hỗn hợp cao chiết thu được bởi quy trình nêu trên. Hỗn hợp cao chiết này chứa kết hợp hai thành phần dược liệu từ cây Chè đắng và cây Mướp đắng theo tỷ lệ khối lượng là 1:5 đến 5:1, tốt hơn nếu tỷ lệ khối lượng là 1:1. Hỗn hợp cao chiết theo giải pháp hữu ích có thể được dùng để sản xuất thuốc hoặc thực phẩm bảo vệ sức khỏe có tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Ví dụ 1: sản xuất hỗn hợp cao chiết bằng quy trình theo sáng chế: thu hái lá cây chè đắng, quả mướp đắng, rửa sạch, phơi khô, thái nhỏ đến kích cỡ nhỏ hơn 3 cm thì thu được nguyên liệu riêng rẽ của từng dược liệu. Chiết riêng rẽ 500 g nguyên liệu Chè

đăng và 500 g nguyên liệu Mướp đắng bằng cồn 30%, đun trong 2 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu:dung môi = 1:5 (kg/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 50°C tới khối lượng không đổi, thu được 45 g cao chiết của Chè đắng và 52 g cao chiết của Mướp đắng. Phối trộn 30 g cao chiết Chè đắng và 30 g cao chiết Mướp đắng tạo hỗn hợp cao chiết.

Ví dụ 2: Đánh giá tác dụng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidaza

Tác dụng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidaza của hỗn hợp cao chiết và từng cao chiết thu được theo ví dụ 1 được hòa tan trong DMSO và pha loãng trong đệm phosphat 10 mM (pH 6.8) và 50  $\mu$ l được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ 100  $\mu$ g/ml; 50  $\mu$ g/ml; 25  $\mu$ g/ml; 12,5  $\mu$ g/ml; 6,25  $\mu$ g/ml; 3,125  $\mu$ g/ml;

- 20  $\mu$ l  $\alpha$ - glucosidaza (0,5U/ml) và 130  $\mu$ l đệm phosphat 100 mM (pH 6.8) được thêm vào mỗi giếng, trộn đều và ủ ở 37°C trong 15 phút.
- Cơ chất p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranosit (pNPG) được đưa tiếp vào từng giếng thí nghiệm rồi ủ tiếp ở 37°C trong 60 phút.
- Đã thí nghiệm chỉ có mẫu thử, đệm phosphat và pNPG được sử dụng làm đối chứng trắng (blank). Giếng thí nghiệm chỉ có DMSO 10%, đệm phosphat, enzym và pNPG được sử dụng làm đối chứng.
- Dừng thí nghiệm bằng cách thêm vào 80  $\mu$ l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,2M và đo OD ở bước sóng 405nm bằng máy đo ELISA Plate Reader (Bio-Rad).
- Khả năng ức chế enzym  $\alpha$ - glucosidaza của mẫu thử được xác định theo công thức sau:

$$\% \text{ ức chế} = 100 - (A_{\text{mẫu thử}} / A_{\text{đối chứng}} * 100)$$

Trong đó:  $A_{\text{đối chứng}} = \text{OD}_{\text{đối chứng}} - \text{OD}_{\text{blank}}$

$$A_{\text{mẫu thử}} = \text{OD}_{\text{mẫu thử}} - \text{OD}_{\text{blank mauthu}}$$

Kết quả tác dụng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidaza :

Kết quả hỗn hợp cao chiết và từng cao chiết thu được theo ví dụ 1 ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidaza được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Tác động ức chế  $\alpha$ -glucosidaza của hỗn hợp cao chiết và từng cao chiết thu được theo ví dụ 1

| <div>Nồng độ<br/>(<math>\mu\text{g/mL}</math>)</div> <div>Phần<br/>trăm<br/>ức<br/>chế (I %)</div> |                     |                     |                        |                        |                        |                     |                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------|------------------|
|                                                                                                    | 10 0                | 50                  | 25                     | 12,5                   | 6,25                   | 3,125               | IC <sub>50</sub> |
| Hỗn hợp cao chiết                                                                                  | 95,11 $\pm$<br>2,23 | 73,14 $\pm$<br>3,87 | 65,57<br>$\pm$<br>3,65 | 55,74<br>$\pm$<br>2,48 | 32,84<br>$\pm$<br>3,74 | 18,45<br>$\pm$ 3,12 | 11,07            |
| Cao chiết chè đắng                                                                                 | 73,12 $\pm$<br>3,12 | 59,26<br>$\pm$ 3,56 | 48,17<br>$\pm$<br>4,62 | 33,67<br>$\pm$<br>2,55 | 16,47<br>$\pm$<br>3,18 | 7,24 $\pm$<br>2,78  | 27,72            |
| Cao chiết mướp<br>đắng                                                                             | 79,25 $\pm$<br>3,28 | 63,51 $\pm$<br>2,15 | 52,47<br>$\pm$<br>3,64 | 36,74<br>$\pm$<br>3,57 | 25,78<br>$\pm$<br>2,33 | 9,54 $\pm$<br>3,65  | 21,68            |



Giá trị  $IC_{50}$  của hỗn hợp cao chiết thu được theo ví dụ 1 là 11,07  $\mu\text{g/mL}$ , của cao chiết chè đắng là 27,72  $\mu\text{g/mL}$ ; và của cao chiết mướp đắng là 21,68  $\mu\text{g/mL}$ . Như vậy, tác dụng ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidaza của hỗn hợp cao chiết mạnh hơn từng thành phần cao chiết riêng rẽ, thể hiện qua giá trị  $IC_{50}$  thấp hơn.

### Ví dụ 3: Đánh giá tác dụng ức chế enzym PTP1B

Phương pháp đánh giá tác dụng ức chế enzym PTP1B của hỗn hợp cao chiết và từng cao chiết chè đắng và mướp đắng thu được theo ví dụ 1 được tiến hành như sau. Cơ chất là p-nitrophenyl phosphat (pNPP) được sử dụng trong thí nghiệm. Dung dịch đệm gồm có 1 mM dithiothreitol (DTT), 0,1 M NaCl, 1 mM axit ethylenediaminetetraacetic (EDTA) và 50 mM xitrat (pH 6.0). Thí nghiệm được tiến hành bằng cách thêm 10  $\mu\text{L}$  dung dịch cao chiết thu được theo ví dụ 1 vào 20  $\mu\text{L}$  dung dịch enzym PTP 1B (1  $\mu\text{g/ml}$ ), và trộn đều với 40  $\mu\text{L}$  pNPP 4 mM trong 130  $\mu\text{L}$  dung dịch đệm trong đĩa 96 giếng. Ủ ở 37°C trong vòng 30 phút, sau đó thêm 10  $\mu\text{L}$  NaOH 1M để dừng phản ứng. Đo lượng p-nitrophenol sinh ra bằng cách đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 405 nm. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Phần trăm ức chế hoạt độ enzym PTP 1B (% I) được tính theo công thức:

$$\% I = \frac{A_c - A_t}{A_c - A_o} \times 100$$

Trong đó: I% phần trăm hoạt tính PTP 1B bị ức chế

$A_c$  : độ hấp thụ của mẫu chứng

$A_t$  : độ hấp thụ của cao chiết thu được theo ví dụ 1

$A_o$  : độ hấp thụ của mẫu trắng

Kết quả tác dụng ức chế enzym PTP 1B:

Bảng 2 tóm tắt giá trị  $IC_{50}$  của hỗn hợp cao chiết và từng cao chiết thu được theo ví dụ 1.

Bảng 2. Tác dụng ức chế PTP 1B *in vitro* của hỗn hợp cao chiết và từng cao chiết thu được theo ví dụ 1

| Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )<br>Phần<br>trăm<br>ức<br>chế (I %) | 100                 | 50                     | 25                  | 12,5                   | 6,25                | 3,125                  | IC <sub>50</sub> |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|------------------------|------------------|
| Hỗn hợp cao chiết                                               | 98,58 $\pm$<br>2,58 | 78,63<br>$\pm$<br>3,64 | 59,52<br>$\pm$ 2,98 | 45,47<br>$\pm$<br>4,86 | 32,76<br>$\pm$ 2,69 | 17,33<br>$\pm$<br>2,62 | 15,12            |
| Cao chiết chè đắng                                              | 75,89 $\pm$<br>3,21 | 55,26<br>$\pm$<br>4,57 | 39,45<br>$\pm$ 3,76 | 28,27<br>$\pm$<br>3,27 | 18,25<br>$\pm$ 2,78 | 8,17<br>$\pm$ 3,42     | 45,83            |
| Cao chiết mướp<br>đắng                                          | 80,15 $\pm$<br>2,52 | 58,15<br>$\pm$<br>4,29 | 42,45<br>$\pm$ 3,23 | 26,18<br>$\pm$<br>2,88 | 22,18<br>$\pm$ 3,35 | 9,48<br>$\pm$ 2,55     | 37,18            |

Giá trị IC<sub>50</sub> của hỗn hợp cao chiết thu được theo ví dụ 1 là 15,12  $\mu\text{g/mL}$ , của cao chiết chè đắng là 45,83  $\mu\text{g/mL}$ , và của cao chiết mướp đắng là 37,18  $\mu\text{g/mL}$ . Như vậy, tác dụng ức chế enzym PTP 1B của hỗn hợp cao chiết mạnh hơn từng thành phần cao chiết riêng rẽ, thể hiện qua giá trị IC<sub>50</sub> thấp hơn.

Ví dụ 4: Tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường *in vivo*

Chuột nhất trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng  $25,0 \pm 2,0$ g để nghiên cứu tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường do Viện Vệ sinh Dịch tễ 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. Thuốc đối chứng sử dụng là Glibenclamid (Việt Nam), hóa chất gây bệnh đái tháo đường là Streptozotocin (Sigma, Singapore).

Chuột bị gây đái tháo đường bằng cách tiêm màng bụng STZ (80 mg/kg thể trọng). STZ được hòa tan trong dung dịch đệm 10 mM natri xitrat (pH 4.0), nhóm chứng sinh lý được tiêm dung dịch đệm. Tình trạng bệnh đái tháo đường được xác định bằng nồng độ glucoza huyết. Sau khi chuột bị gây đái tháo đường thành công, khi chỉ số nồng độ glucoza huyết (mmol/L) lớn hơn 10 mmol/L, tiến hành chia ngẫu nhiên chuột thành 6 nhóm, mỗi nhóm 10 con, được điều trị theo chương trình như sau:

Nhóm C: là nhóm chứng sinh lý; là nhóm chuột không bị gây đái tháo đường.

Nhóm CB: Nhóm chứng bệnh STZ (80 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng).

Nhóm ĐC: STZ (80 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + Glibenclamide (5 mg/kg, đường uống) trong vòng 21 ngày.

Nhóm HH CC: STZ (80 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + hỗn hợp cao chiết thu được theo ví dụ 1 (100mg/kg, thể trọng, đường uống) trong vòng 21 ngày.

Nhóm Chè đắng: STZ (80 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + cao chiết chè đắng thu được theo ví dụ 1 (100mg/kg, thể trọng, đường uống) trong vòng 21 ngày.

Nhóm Mướp đắng: STZ (80 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + cao chiết mướp đắng thu được theo ví dụ 1 (100mg/kg, thể trọng, đường uống) trong vòng 21 ngày.

Nồng độ glucoza được đo trong các khoảng thời gian xác định trong quá trình thí nghiệm.

Kết quả tác dụng chống đái tháo đường của hỗn hợp cao chiết, cao chiết chè đắng và mướp đắng thu được theo ví dụ 1:

Nồng độ glucoza trong các nhóm chuột nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Tác dụng của hỗn hợp cao chiết và từng cao chiết thu được theo ví dụ 1 lên nồng độ glucoza huyết (mmol/L) trên chuột bị đái tháo đường do streptozotocin

|                   | Ngày 0      | Ngày 7     | Ngày 14    | Ngày 21                 |
|-------------------|-------------|------------|------------|-------------------------|
| Nhóm C            | 6,58 ± 1,12 | 6,68±1,24  | 6,79±1,21  | 6,88±1,23               |
| Nhóm CB           | 14,94±1,41  | 15,12±1,24 | 15,69±1,51 | 16,88±2,31 <sup>#</sup> |
| Nhóm ĐC           | 15,23±1,3   | 13,14±2,21 | 10,48±1,37 | 9,12±1,5 <sup>*</sup>   |
| Nhóm HH<br>CC     | 15,87±1,5   | 13,87±1,89 | 11,69±1,45 | 10,41±1,48 <sup>*</sup> |
| Nhóm Chè<br>đắng  | 15,49±1,52  | 14,77±1,25 | 13,78±1,82 | 12,51±1,54 <sup>*</sup> |
| Nhóm<br>Mướp đắng | 15,68±1,27  | 14,84±1,28 | 13,82±1,36 | 12,74±1,21 <sup>*</sup> |

*Khác biệt có ý nghĩa thống kê, <sup>#</sup>p<0,05 so sánh với nhóm C; <sup>\*</sup>p<0,05 so sánh với nhóm CB.*

Nồng độ glucoza huyết tăng đáng kể ở nhóm chứng bệnh (CB) khi so sánh với nhóm chứng sinh lý. Nhóm chuột đái tháo đường điều trị bằng glibenclamid và nhóm chuột được điều trị bằng hỗn hợp cao chiết, cao chiết chè đắng và cao chiết mướp đắng thu được theo ví dụ 1 liều 100 mg/kg đều giảm nồng độ glucoza huyết so với trước khi điều trị và đặc biệt giảm đáng kể so với nhóm chứng bệnh đái tháo đường ( $p < 0,05$ ). Ngoài ra, nồng độ glucoza huyết ở nhóm chuột được điều trị bằng hỗn hợp cao chiết giảm nhiều hơn so với nhóm chuột được điều trị bằng cao chiết chè đắng và cao chiết mướp đắng riêng rẽ. Như vậy, tác dụng hạ glucoza huyết của hỗn hợp cao chiết mạnh hơn từng thành phần cao chiết riêng rẽ.

Ví dụ 5: Thử nghiệm tác dụng hỗ trợ điều trị đái tháo đường của hỗn hợp cao chiết thu được theo ví dụ 1.

Đối tượng: 5 người bị bệnh đái tháo đường typ 2 tình nguyện tham gia.

Liều sử dụng cho người bị bệnh đái tháo đường typ 2 máu là 10mg/kg trọng lượng cơ thể. Cách dùng là hỗn hợp cao chiết được hòa tan trong nước nóng uống hàng ngày trong vòng 21 ngày. Đo nồng độ glucoza huyết của bệnh nhân trong vòng 21 ngày vào các thời điểm buổi sáng sau khi ngủ dậy.

#### Kết quả

Bảng 4. Tác dụng của hỗn hợp cao chiết thu được theo ví dụ 1 lên nồng độ glucoza huyết (mmol/L) trên bệnh nhân bị bệnh đái tháo đường typ 2.

|                   | Trước điều trị | Sau điều trị 7 ngày | Sau điều trị 14 ngày | Sau điều trị 21 ngày |
|-------------------|----------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| Hỗn hợp cao chiết | 10,65 ± 2,57   | 9,86 ± 3,18         | 9,12 ± 3,28          | 8,28 ± 2,46          |

Sau 21 ngày sử dụng hỗn hợp cao chiết, nồng độ glucoza huyết của các bệnh nhân đã ổn định và giảm về mức gần như bình thường. Tuy nhiên, các bệnh nhân được khuyến cáo tiếp tục dùng hỗn hợp cao chiết, tránh tái phát.

#### Hiệu quả đạt được của sáng chế

Giải pháp hữu ích đã tìm ra phương pháp sản xuất hỗn hợp cao chiết để phát huy được tính hiệp đồng của các thành phần dược liệu từ cây Chè đắng và cây Mướp đắng, trong đó việc kết hợp thành phần dược liệu từ cây Chè đắng và cây Mướp đắng theo tỷ lệ khối lượng là 1:5 đến 5:1, tốt hơn nếu tỷ lệ khối lượng là 1:1 có hiệu quả điều trị bệnh đái tháo đường, thể hiện thông qua tác dụng giảm nồng độ glucoza huyết, ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidaza và enzyme PTP1B.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất hỗn hợp cao chiết Chè đắng (*Ilex kaushue* S. Y. Hu) và Mướp đắng (*Momordica charantia*) dùng để điều trị bệnh đái tháo đường bao gồm các bước:

- bước 1- chuẩn bị nguyên liệu;
- bước 2- chiết nguyên liệu Chè đắng: chiết bằng cồn 10%-90%, tốt hơn nếu bằng cồn 30%, đun trong 2 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu:dung môi = 1:5 (kg/L), trong đó việc chiết này được lặp lại 3 lần; thu gom rồi trộn lẫn các dịch chiết thu được, lọc và lấy phần dịch lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm rồi sấy trong tủ sấy ở 50°C tới khối lượng không đổi, thu được cao chiết của cây Chè đắng;
- bước 3- chiết nguyên liệu Mướp đắng: chiết bằng cồn 10%-90%, tốt hơn nếu bằng cồn 30%, đun trong 2 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu:dung môi = 1:5 (kg/L), trong đó việc chiết này được lặp lại 3 lần; thu gom rồi trộn lẫn các dịch chiết thu được, lọc và lấy phần dịch lọc, cất loại dung môi dưới áp suất giảm rồi sấy trong tủ sấy ở 50°C tới khối lượng không đổi, thu được cao chiết của cây Mướp đắng;
- bước 4- phối trộn cao chiết Chè đắng và cao chiết Mướp đắng tạo hỗn hợp cao chiết, tỷ lệ khối lượng là 1:5 đến 5:1 thu được hỗn hợp cao chiết; tốt hơn nếu, tỷ lệ phối trộn là 1:1.

2. Hỗn hợp cao chiết gồm các thành phần cao chiết Chè đắng và cao chiết Mướp đắng dùng để điều trị bệnh đái tháo đường, trong đó hỗn hợp cao chiết này thu được từ quy trình theo điểm 1.