



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

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

(11)



2-0003368

(51) **A61K 36/00; A61K 36/21**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2022-00178

(22) 20/05/2020

(67) 1-2020-02826

(45) 25/10/2023 427

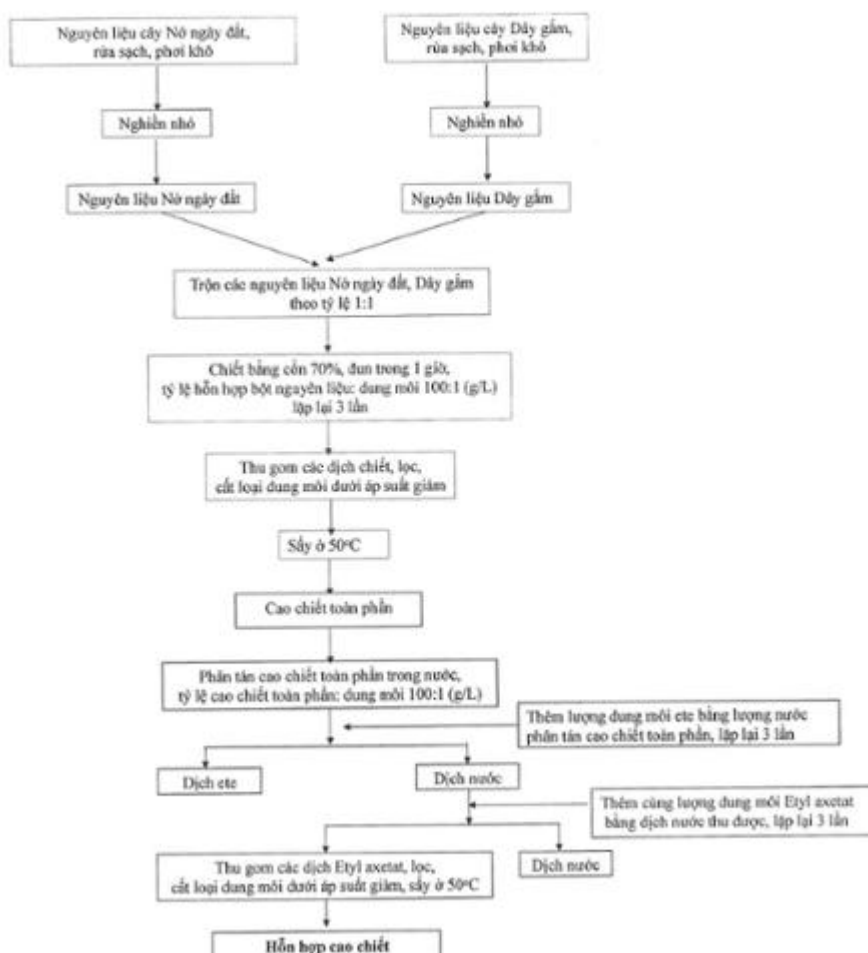
(43) 25/08/2020 389ASC

(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); ĐẶNG KIM THU (VN).

(54) QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỖN HỢP CAO CHIẾT TỪ CÂY NỎ NGÀY ĐẤT
(GOMPHRENA CELOSIODES) VÀ CÂY DÂY GẮM (GNETUM MONTANUM) DÙNG
ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH GÚT.

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hỗn hợp cao chiết của các cây Nỏ
ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gắm (*Gnetum montanum*) có tác dụng điều
trị bệnh gút.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hỗn hợp cao chiết của các cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gấm (*Gnetum montanum*) có tác dụng phòng ngừa và điều trị bệnh gút.

Tình trạng kỹ thuật giải pháp hữu ích

Gút là một bệnh rối loạn chuyển hóa purin, biểu hiện lâm sàng là tăng axit uric máu và hậu quả là viêm khớp mạn tính, tổn thương thận. Nguyên nhân của việc tăng axit uric trong máu chủ yếu là tăng sinh axit uric, suy thận, giảm bài tiết axit uric qua thận, hoặc là do vừa tăng sinh vừa giảm thải trừ axit uric máu. Xanthin oxidaza (XO) là một enzym có vai trò quan trọng trong tổng hợp axit uric. Enzym XO xúc tác các phản ứng cuối của quá trình chuyển hóa purin thành axit uric. Do đó, các chất ức chế enzym XO làm giảm sinh tổng hợp axit uric đã được sử dụng để phòng và điều trị bệnh gút. Hiện nay, bệnh gút ngày càng trở nên phổ biến ở người cao tuổi. Đặc biệt với sự tăng cường chất lượng cuộc sống, số lượng bệnh nhân tăng lên đáng kể. Các phương pháp điều trị hiện tại cho bệnh gút chủ yếu sử dụng allopurinol, probenecid, colchicin và các thuốc hóa dược khác. Tuy nhiên, các loại thuốc này thường gây rối loạn chức năng gan, thiếu máu bất sản, giảm bạch cầu trung tính, hoại tử biểu bì trung tính, viêm mạch dị ứng, suy thận cấp. Do đó, các dược liệu đang trở thành một xu hướng được sử dụng rộng rãi. Theo kinh nghiệm dân gian, các cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gấm (*Gnetum montanum*) được dùng để điều trị gút. Tuy nhiên, phương pháp điều chế hỗn hợp cao chiết của hai cây này dùng để điều trị bệnh gút thì chưa được mô tả.

Bản chất của kỹ thuật giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là để giải quyết vấn đề nêu trên. Do đó, theo một phương án, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hỗn hợp cao chiết từ cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gắm (*Gnetum montanum*) dùng để điều trị bệnh gút bao gồm các bước:

- a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách thu hái cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu; thu hái cây Dây gắm (*Gnetum montanum*), phơi khô, thái nhỏ đến 2 cm;
- b) thu cao chiết toàn phần bằng cách phối trộn bột cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gắm (*Gnetum montanum*) thu được ở bước a) theo tỷ lệ khối lượng là 1:5 đến 5:1 thu được hỗn hợp nguyên liệu; tốt hơn nếu, tỷ lệ phối trộn là 1:1; chiết hỗn hợp nguyên liệu bằng cồn 10%-90%, tốt hơn là cồn 70%, đun trong khoảng thời gian từ 1-3 giờ, tốt hơn là đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp nguyên liệu:dung môi là 100:1 (g/L), chiết lặp lại 3 lần, gộp dịch chiết, lọc qua giấy lọc thu dịch lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 50°C thu được cao chiết toàn phần; và
- c) thu hỗn hợp cao chiết bằng cách hòa tan cao chiết toàn phần thu được ở bước b) vào nước cất theo tỷ lệ cao chiết toàn phần: nước là 100:1 (g/L), sau đó thêm cùng một lượng thể tích dung môi ete vào, để tách lớp và thu lấy phần nước, lặp lại 3 lần, tiếp theo thêm cùng một lượng thể tích dung môi etyl axetat vào phần nước, để tách lớp và thu lấy phần dung môi etyl axetat, công đoạn này lặp lại 3 lần, sau đó gộp các dịch etyl axetat thu được, lọc qua giấy lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 50°C thu được hỗn hợp cao chiết.

Hỗn hợp cao chiết thu được từ quy trình này có tác dụng điều trị bệnh gút. Hỗn hợp cao chiết này có tác dụng ức chế enzym xanthin oxidaza và làm giảm lượng axit uric máu, qua đó phòng ngừa và điều trị bệnh gút.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ quy trình điều chế hỗn hợp cao chiết từ cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gắm (*Gnetum montanum*).

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 chứ không nhằm hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Cây Nở ngày đất có tên khoa học là *Gomphrena celosiodes*, là cây thân thảo, sống lâu năm, mọc nằm hoặc đứng và cây phân nhiều nhánh. Thân cây có rãnh sâu, nhiều lông trắng, ngắn và ngắn khi cây già. Cây có rễ chùm to. Lá cây nở ngày đất không có cuống hoặc cuống rất nhỏ. Lá cây mọc đối xứng, phiến lá dày, một cành mọc từ 5 - 7 lá. Lá có chiều dài từ 2 - 6cm và rộng khoảng 2cm. Lá có nhiều lông trắng nhưng mặt trên thường ít lông hơn mặt dưới. Hoa nở ngày đất có dạng bông, hình trụ dài từ 2 - 3cm. Hoa có màu trắng và thường nở 2 lần/năm, vào cuối mùa đông và đầu mùa hè. Cánh hoa cứng, thon gọn, mỗi một bông hoa đều có lá bắc ở phía dưới dài khoảng 5mm. Nhụy hoa màu nâu. Cây có nhiều quả nhỏ, hình hộp và chứa hạt nhỏ màu nâu. Thành phần hóa học của cây Nở ngày đất có chứa flavonoid, saponin, sterol, triterpen, tanin, coumarin... Theo y học cổ truyền cây nở ngày đất có nhiều tác dụng như thải độc, điều huyết, giảm sưng nề, tán phong, trị cảm cúm, ho có đờm và tiêu độc, tác dụng kháng khuẩn, chống viêm, trị mỡ máu, có tác dụng cải thiện triệu chứng, đau, sưng và viêm, đặc biệt là bệnh lý xương khớp.

Cây Dây gắm có tên khoa học là *Gnetum montanum*, là loại thân leo trườn hóa gỗ, mọc cao, thân dài tới 10 – 12m. Thân cành có tiết diện tròn hoặc bầu dục, có nếp nhăn dọc. Thân cây to, phình lên ở các đốt. Lá cây là loại lá đơn, mọc đối. Lá to bản, dài 10–25 cm, rộng 4–11 cm, đầu là tù hơi có mũi nhọn. Lá dày, mặt

trên nhãn bóng. Hoa Dây gắm mọc từ thân cành. Hoa đực và hoa cái khác gốc, tập hợp thành nón. Nón đực mọc thành chùy dài 8 cm ở các mấu cành, phân nhánh 2 lần. Quả hình bầu dục, bóng, mặt ngoài phủ một lớp như sáp, khi chín có màu vàng đỏ. Quả có cuống ngắn. Hạt to, kích thước dài 1,5–2 cm, đường kính 1-1,2 cm. Thành phần hóa học của cây Dây Gắm có tinh dầu, chất béo, triterpenoit, anthraquinon, antraglycosit, ancaloit, flavonoit, tanin, saponin. Theo y học cổ truyền, cây Dây Gắm có vị đắng, tính mát, có tác dụng giải độc, tiêu viêm, thư giãn gân cốt, hoạt huyết, sát trùng, được sử dụng nhiều nhất để điều trị các chứng đau nhức xương khớp, chữa phong tê thấp, hỗ trợ trong điều trị bệnh gút.

Giải pháp hữu ích đề xuất quy trình điều chế hỗn hợp cao chiết từ cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gắm (*Gnetum montanum*) dùng để điều trị bệnh gút bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu

Thu hái cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu; thu hái cây Dây gắm (*Gnetum montanum*), phơi khô, thái nhỏ đến 2 cm;

b) thu cao chiết toàn phần

Phối trộn bột cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gắm (*Gnetum montanum*) thu được ở bước a) theo tỷ lệ khối lượng là 1:5 đến 5:1 thu được hỗn hợp nguyên liệu; tốt hơn nếu, tỷ lệ phối trộn là 1:1; chiết hỗn hợp nguyên liệu bằng cồn 10%-90%, tốt hơn là cồn 70%, đun trong khoảng thời gian từ 1-3 giờ, tốt hơn là đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp nguyên liệu:dung môi là 100:1 (g/L), chiết lặp lại 3 lần, gộp dịch chiết, lọc qua giấy lọc thu dịch lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 50°C thu được cao chiết toàn phần; và

c) thu hỗn hợp cao chiết

Hòa tan cao chiết toàn phần thu được ở bước b) vào nước cất theo tỷ lệ cao chiết toàn phần: nước là 100:1 (g/L), sau đó thêm cùng một lượng thể tích dung môi ete vào, để tách lớp và thu lấy phần nước, lặp lại 3 lần, tiếp theo thêm cùng một lượng thể tích dung môi etyl axetat vào phần nước, để tách lớp và thu lấy phần dung môi etyl axetat, công đoạn này lặp lại 3 lần, sau đó gộp các dịch etyl axetat thu được, lọc qua giấy lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 50°C thu được hỗn hợp cao chiết.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Điều chế 25g hỗn hợp cao chiết từ cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gấm (*Gnetum montanum*).

Nguyên liệu để sử dụng theo giải pháp hữu ích được thu hái ở Yên Bái, Việt Nam. Thu hái toàn bộ cây, bao gồm rễ, thân, lá và hoa của cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và nghiền thành bột; rễ và dây của cây Dây gấm (*Gnetum montanum*), rửa sạch, phơi khô đến độ ẩm dưới 13%, sau đó thái nhỏ đến kích cỡ 2 cm; tạo hỗn hợp nguyên liệu gồm 100 g Nở ngày đất, 100 g Dây gấm. Chiết 200g hỗn hợp nguyên liệu này bằng cồn 70%, đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp nguyên liệu:dung môi 200(g):2(L), lặp lại 3 lần thu 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 35 gam cao chiết toàn phần. Cao chiết toàn phần được phân tán vào 200 ml nước cất, sau đó thêm 200 ml dung môi ete vào, để tách lớp và thu lấy phần nước, lặp lại 3 lần. Tiếp đó, thêm 200 ml dung môi etyl axetat vào phần nước, để tách lớp và thu lấy phần dung môi etyl axetat, lặp lại 3 lần. Tiến hành cô quay dưới áp suất giảm loại bỏ toàn bộ dung môi etyl axetat, rồi sấy trong tủ sấy ở 50°C tới khối lượng không đổi thu được 25 gam hỗn hợp cao chiết.

Ví dụ 2: Đánh giá tác dụng ức chế enzym xanthin oxidaza (XO) *in vitro* của hỗn hợp cao chiết.

Hỗn hợp cao chiết được pha loãng trong dung dịch đệm phosphat (50 mM, pH 7,5) để được các nồng độ khác nhau là: 6,25 µg/mL; 12,5 µg/mL; 25 µg/mL; 50 µg/mL; 100 µg/mL. Allopurinol được pha theo các nồng độ: 1,25 µg/mL; 2,5 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL; 20 µg/mL. Hỗn hợp phản ứng được tiến hành trên đĩa 96 giếng, gồm: 20 µL dung dịch chứa xanthin oxidaza 0,05 U/ml, 140 µL dung dịch đệm phosphat 50 mM và 20 µL dung dịch cần thử được ủ ở 25°C trong 30 phút. Sau đó, thêm 20 µL xanthin 0,5 mM và ủ tiếp ở 25°C trong 30 phút. 20 µL dung dịch HCl 0,5 M được thêm vào để dừng phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được đem đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 295 nm. Mẫu chứng được tiến hành tương tự nhưng dung dịch thử được thay bằng dung dịch đệm.

Bảng 1: Tác dụng (I%) ức chế enzyme xanthin oxidaza của hỗn hợp cao chiết và allopurinol.

Nồng độ (µg/mL)	6,25	12,5	25	50	100	IC ₅₀ (µg/mL)
Hỗn hợp cao chiết	22,78	35,23	54,19	72,13	92,14	22,75
Cao chiết Nở ngày đất	7,98	17,84	37,48	58,78	72,46	40,67
Cao chiết Dây gấm	8,15	28,37	42,42	62,35	75,84	34,75
Nồng độ (µg/mL)	1,25	2,5	5	10	20	IC ₅₀ (µg/mL)
Allopurinol	23,61	32,74	55,12	75,42	97,124	4,47

Tác dụng ức chế enzym XO 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 hạ axit uric máu *in vivo* của hỗn hợp cao chiết

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng $25,0 \pm 2,0$ g 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 tại Trường Đại học Y Dược, Đại Học Quốc Gia Hà Nội.

Chuột được chia thành các lô (mỗi lô 10 con), bao gồm:

Lô chứng sinh lý (C): uống nước cất hàng ngày, liên tục 14 ngày.

Lô chứng bệnh lý (CB): tiêm phúc mô kali oxonat cách ngày, bắt đầu từ liều 300 mg/kg (ngày 1), giảm dần xuống 250 mg/kg (ngày 3), 200 mg/kg (ngày 5) và duy trì ở liều 150 mg/kg (ngày 7, 9, 11, 13). Chuột được uống nước cất hàng ngày, liên tục 14 ngày.

Lô uống hỗn hợp cao chiết: gây mô hình tương tự như lô chứng bệnh lý. Chuột được cho uống hỗn hợp cao chiết 100mg/kg/ngày, liên tục 14 ngày.

Lô uống cao chiết cây Nở ngày đất: gây mô hình tương tự như lô chứng bệnh lý. Chuột được cho uống cao chiết Nở ngày đất 100mg/kg/ngày, liên tục 14 ngày.

Lô uống cao chiết cây Dây gắm: gây mô hình tương tự như lô chứng bệnh lý. Chuột được cho uống cao chiết Dây gắm 100mg/kg/ngày, liên tục 14 ngày.

Lô đối chiếu: gây mô hình tương tự như lô chứng bệnh lý. Chuột được cho uống allopurinol 10 mg/kg vào ngày 7 và ngày 14.

Lấy máu đuôi chuột ở các thời điểm ngày 7,14 để định lượng axit uric trong huyết tương.

Bảng 2. Nồng độ axit uric máu (mg/mL) chuột nhắt sau tiêm kali oxonat 7 ngày, 14 ngày

Lô (n=10)	Sau 7 ngày	Sau 14 ngày
C	$4,21 \pm 0,15$	$4,97 \pm 0,46$
CB	$12,25 \pm 0,09^*$	$13,25 \pm 0,39^*$
Hỗn hợp cao chiết	$7,16 \pm 0,33^{\#}$	$7,38 \pm 0,27^{\#}$
Cao chiết Nở ngày đất	$9,59 \pm 0,63^{\#a}$	$9,95 \pm 0,48^{\#a}$
Cao chiết Dây gấm	$10,27 \pm 0,86^{\#a}$	$10,74 \pm 0,57^{\#a}$
Allopurinol	$5,51 \pm 0,62^{\#}$	$5,87 \pm 0,65^{\#}$

* Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng sinh lý C; [#] Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng bệnh CB; ^a Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm hỗn hợp cao chiết

Tác dụng ức chế tăng axit uric của hỗn hợp cao chiết trên mô hình tăng axit uric mạn

Kết quả ở bảng 2 cho thấy lượng axit uric máu tăng 8,04 mg/mL do kali oxonat (từ $4,21 \pm 0,15$ mg/mL lên $12,25 \pm 0,09$ mg/mL), và do được uống hỗn hợp cao chiết trong giải pháp hữu ích này, hàm lượng axit uric đã giảm xuống $7,16 \pm 0,33$ mg/mL, gần tương đương với tác dụng của chứng dương Allopurinol ($5,51 \pm 0,62$ mg/mL).

Ngoài ra, cao chiết Nở ngày đất làm giảm xuống $9,59 \pm 0,63$ mg/mL và cao chiết Dây gắm làm giảm xuống $10,27 \pm 0,86$ mg/mL. Điều này cho thấy tác dụng hạ axit uric máu của từng cây riêng rẽ thấp hơn hỗn hợp cao chiết hai cây. Kết quả này cho thấy kết hợp hai cây Nở ngày đất và Dây gắm có tác dụng hiệp đồng, cho hiệu quả hạ axit uric máu tốt hơn từng thành phần riêng rẽ.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình điều chế hỗn hợp cao chiết từ cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gắm (*Gnetum montanum*) đơn giản, sử dụng ít hóa chất và hỗn hợp cao chiết thu được từ quy trình này có tác dụng ức chế enzym xanthin oxidaza nên có hiệu quả điều trị bệnh gút.

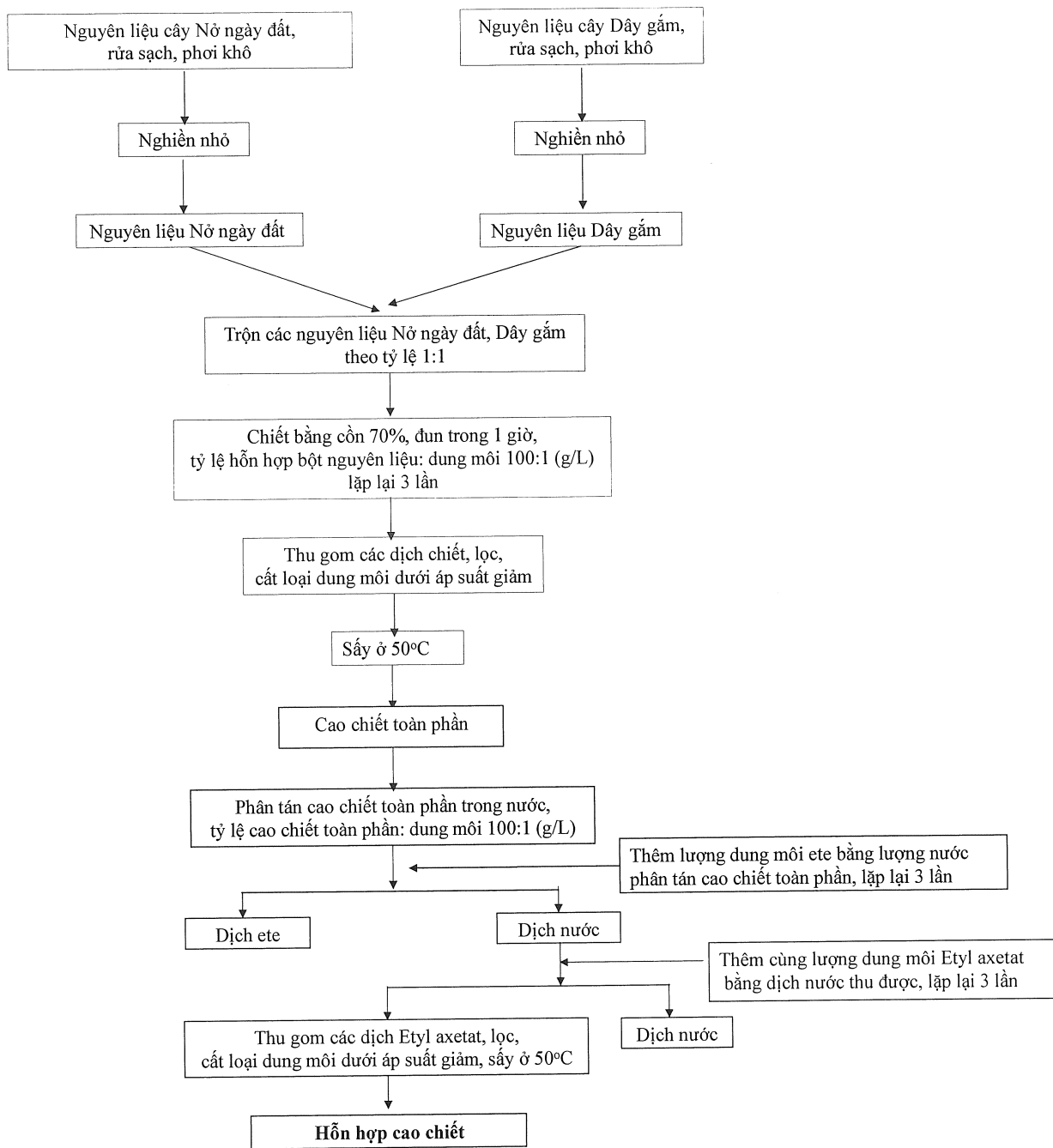
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình điều chế hỗn hợp cao chiết từ cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gấm (*Gnetum montanum*) bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách thu hái cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*), phơi khô, nghiền nhỏ thu được bột nguyên liệu; thu hái cây Dây gấm (*Gnetum montanum*), phơi khô, thái nhỏ đến 2 cm;

b) thu cao chiết toàn phần bằng cách phối trộn bột cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes*) và cây Dây gấm (*Gnetum montanum*) thu được ở bước a) theo tỷ lệ khối lượng là 1:5 đến 5:1 thu được hỗn hợp nguyên liệu; tốt hơn nếu, tỷ lệ phối trộn là 1:1; chiết hỗn hợp nguyên liệu bằng cồn 10%-90%, tốt hơn là cồn 70%, đun trong khoảng thời gian từ 1-3 giờ, tốt hơn là đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp nguyên liệu:dung môi là 100:1 (g/L), chiết lặp lại 3 lần, gộp dịch chiết, lọc qua giấy lọc thu dịch lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 50°C thu được cao chiết toàn phần; và

c) thu hỗn hợp cao chiết bằng cách hòa tan cao chiết toàn phần thu được ở bước b) vào nước cất theo tỷ lệ cao chiết toàn phần: nước là 100:1 (g/L), sau đó thêm cùng một lượng thể tích dung môi ete vào, để tách lớp và thu lấy phần nước, lặp lại 3 lần, tiếp theo thêm cùng một lượng thể tích dung môi etyl axetat vào phần nước, để tách lớp và thu lấy phần dung môi etyl axetat, công đoạn này lặp lại 3 lần, sau đó gộp các dịch etyl axetat thu được, lọc qua giấy lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 50°C thu được hỗn hợp cao chiết.



Hình 1