



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

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

(11)



1-0038317

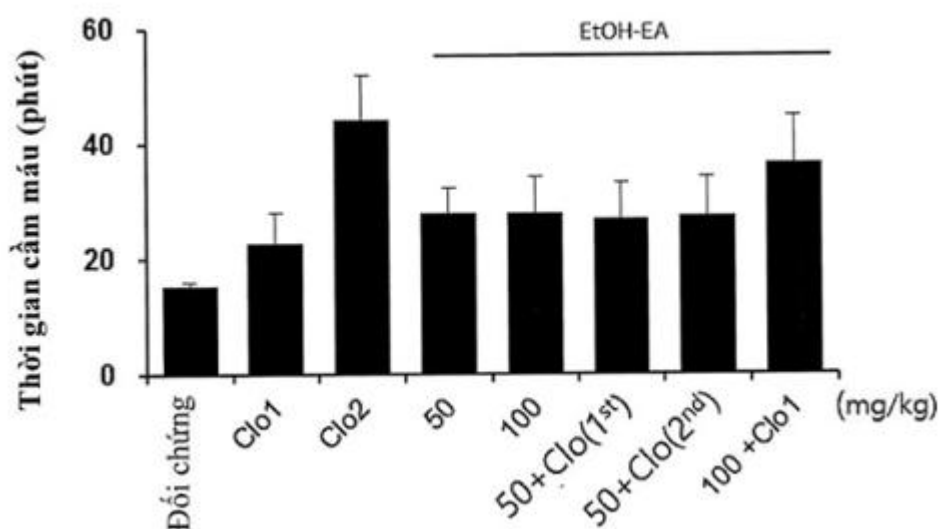
(51)<sup>2020.01</sup> **A61K 36/23**; A61K 31/4365; A61K 31/4709

(13) **B**

- (21) 1-2020-02126 (22) 11/10/2018  
(86) PCT/KR2018/011971 11/10/2018 (87) WO 2019/078543 25/04/2019  
(30) 10-2017-0135472 18/10/2017 KR  
(45) 25/01/2024 430 (43) 25/11/2020 392A  
(73) KOREAN DRUG CO., LTD. (KR)  
69-10, Wonjeok-ro, Sindun-myeon, Icheon-si, Gyeonggi-do 17303, Republic of Korea  
(72) PARK, Jeehun (KR); CHOI, Jungho (KR); KIM, Riyeon (KR); YU, Juhee (KR).  
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM CHỐNG CHỨNG HUYẾT KHỐI CHỨA DỊCH CHIẾT CỦA CÂY CẦN NƯỚC (OENANTHE JAVANICA) VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa dịch chiết *Oenanthe javanica* và một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó làm chất chống huyết khối, và phương pháp ức chế huyết khối hoặc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối bằng cách sử dụng chế phẩm này, và phương pháp điều chế chúng, và cụ thể là, sáng chế đề cập đến được phẩm để chống chứng huyết khối, hoặc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối, mà chứa dịch chiết *Oenanthe javanica* và một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó làm thành phần hoạt tính, và thể hiện tác dụng ức chế vượt trội chứng huyết khối khi được sử dụng một mình, so với các hỗn hợp của các chất chống huyết khối khác.



### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa dịch chiết của cây cần nước *Oenanthе javanica* và chất chống huyết khối, phương pháp ức chế huyết khối, hoặc phương pháp để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối, mà được đặc trưng bởi việc sử dụng chế phẩm này, và phương pháp điều chế dược phẩm, và cụ thể hơn là, sáng chế đề cập đến dược phẩm để chống chứng huyết khối, hoặc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối, chứa dịch chiết *Oenanthе javanica*, và một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối dược dụng của nó và Cilostazol hoặc muối dược dụng của nó làm chất chống huyết khối, làm thành phần hoạt tính, phương pháp ức chế huyết khối, hoặc phương pháp để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối, và phương pháp điều chế dược phẩm.

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

Bệnh tim mạch bao gồm các bệnh về tim (nhồi máu cơ tim, cao huyết áp, suy tim, loạn nhịp tim, chứng xơ vữa động mạch) và các bệnh về mạch (đột quỵ, bệnh lý mạch máu ngoại vi), và theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), mặc dù có sự phát triển đáng chú ý trong khoa học và y khoa hiện đại, đã được báo cáo là bệnh có tỷ lệ mắc mới và tỷ lệ mắc đang tăng dần trong ba thập kỷ qua, và là một trong số các bệnh gây tử vong trong đó tỷ lệ tử vong do bệnh về hệ tim mạch chiếm tỷ lệ rất cao, mà vào khoảng 30% của tổng tỷ lệ tử vong, không chỉ ở nội địa mà còn trên phạm vi toàn cầu. Việc tăng tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong của bệnh tim mạch chủ yếu do sự phát triển kinh tế và sự tây hóa lối sống, và ngoài ra, sự thay đổi chế độ ăn uống như chế độ ăn giàu chất béo, căng thẳng tăng, sự già hóa dân số do kéo dài tuổi thọ, thiếu vận động, và các nguyên nhân tương tự. Được chỉ ra là vấn đề nghiêm trọng về bệnh tim mạch là chi phí y tế quá mức cho quốc gia và giảm chất lượng cuộc sống gây ra bởi chính các bệnh này và hậu quả về mặt thể chất và xã hội nghiêm trọng sau khi xuất hiện các bệnh này. Do đó, khi vấn đề về bệnh tim mạch dần dần được ghi nhận là quan trọng, đã có nhiều sự đầu tư vào các nghiên cứu về sinh bệnh học cũng như ngăn ngừa và điều trị các bệnh này trên toàn cầu, và do đó, là một phần của nghiên cứu để phát triển chất chống huyết khối mới có hiệu quả cải

thiện tuần hoàn máu, nghiên cứu để phát triển chất mới thể hiện hoạt tính chống đông máu hoặc hoạt tính phân giải fibrin đã được thực hiện một cách tích cực. Tuy nhiên, vì tỷ lệ mắc và tỷ lệ mắc mới bệnh tim mạch đang tăng dần trên toàn thế giới, mặc dù có các nghiên cứu và phát triển thuốc liên quan đến các rối loạn tuần hoàn tới nay, vẫn có nhu cầu cấp bách phải phát triển thành phần hoạt tính và nguyên liệu thực phẩm mà có thể ức chế và ngăn ngừa sự bùng phát bệnh tim mạch với sự phát triển của liệu pháp điều trị cho bệnh liên quan.

Mặt khác, huyết khối là khối tụ của các yếu tố máu, và chủ yếu bao gồm các khối tụ của tiểu cầu và fibrin, và thường được tạo thành để ngăn việc chảy máu quá mức của mạch máu. Khi tiểu cầu ở trạng thái tiếp xúc với bề mặt của lớp dưới da, phản ứng được bắt đầu mà tạo ra huyết khối để chặn hệ mạch, và quy trình này được gọi là sự cầm máu, và quy trình này rất quan trọng trong việc ngăn ngừa sự chảy máu quá mức tại vị trí bị thương. Huyết khối ở động mạch gây bệnh nghiêm trọng do sự tắc nghẽn cục bộ, trong khi huyết khối ở tĩnh mạch chủ yếu gây ra sự tắc hoặc thuyên tắc mạch ở xa. Do đó, thuốc mà ức chế sự tạo khối tiểu cầu hoặc làm tan cục huyết có thể được sử dụng để ngăn ngừa và điều trị các bệnh liên quan đến chứng huyết khối và nghẽn mạch, như nhồi máu cơ tim, chứng đau thắt ngực, viêm tĩnh mạch huyết khối, chứng thuyên tắc động mạch, chứng huyết khối hình vành và động mạch não, chứng huyết khối máu ngoại vi hoặc tĩnh mạch sâu, chứng huyết khối hình vành của các mạch máu tùy ý, chứng huyết khối tĩnh mạch, chứng nhồi máu não do thiếu máu cục bộ, chứng xơ vữa động mạch, cao huyết áp, chứng tăng áp động mạch phổi, nhồi máu não, đột quỵ, sự tắc nghẽn động mạch mạn tính, chứng nhồi máu phổi, nghẽn mạch não, nghẽn mạch thận, nghẽn mạch huyết khối, và các triệu chứng bệnh lý sau khi xuất huyết khoang dưới nhện, can thiệp mạch vành qua da (PTCA) và chứng huyết khối trong quá trình đặt ống thông (stent), sự tái hẹp sau khi đặt ống thông, sự tắc nghẽn hoặc tái tắc nghẽn huyết khối ống thông, hội chứng động mạch vành cấp, TIA (cơn thiếu máu não thoáng qua hoặc hội chứng mạch não cấp), suy tim, đau ngực do căn nguyên thiếu máu não, hội chứng X và bệnh tiểu đường thực. Cơ chế mà phong bế các mạch máu bao gồm cơ chế đông máu và cơ chế tạo cục máu đông. Cơ chế đông máu là chất tạo fibrin hòa tan được thay đổi thành fibrin hòa tan kém và các chất đông máu, và yếu tố kích hoạt chính bao gồm yếu tố mô (TF) mà là yếu tố ngoại sinh và yếu tố VIIa mà là yếu tố ngoại sinh. Ở mỗi giai đoạn, một số yếu tố đông máu được hoạt hóa để tạo thành cục fibrin (phân tử fibrin liên kết chéo), mà tạo thành thrombin, và chất này là chất

hoạt động tiểu cầu mạnh và kích thích sự giải phóng yếu tố hoạt hóa. Cơ chế tạo huyết khối là quy trình tự nhiên để ngăn ngừa chảy máu khỏi bị thương tổn mạch máu, thay vì được tạo thành trong các tế bào nội mô trong mạch bình thường, vì tiểu cầu bám vào collagen và tạo thành khối gelatin nhờ sự hoạt hóa với nhau dựa vào sự tiếp xúc nội mô trong mạch bị thương tổn.

Chất mà loại bỏ các huyết khối này bao gồm chất tan huyết khối và chất chống tiểu cầu. Các chất tan huyết khối là các chất mà xúc tác cho quá trình hình thành serin proteaza plasmin từ chất sinh plasmin và phân hủy nhanh chóng huyết khối, và bao gồm streptokinaza, urokinaza, APSAC, t-PA và chất tương tự, các chất chống tiểu cầu được điều hòa bởi các chất nhóm 3 bao gồm các chất được tạo ra bên ngoài tiểu cầu và tương tác với các thụ thể màng tiểu cầu, catecholamin, collagen, thrombin, và prostacyclin; chất mà được tạo ra bên trong tiểu cầu và tương tác với thụ thể màng, ADP, PGD<sub>3</sub>, PGE<sub>2</sub>, và serotonin; và các chất mà được tạo ra bên trong tiểu cầu và hoạt động bên trong tiểu cầu, prostaglandin endoperoxid, thromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), cAMP, cGMP, và Ca<sup>2+</sup>. Các chất chống tiểu cầu cũng bao gồm A23187 là chất liên kết với màng tế bào dưới dạng thể mang ion canxi và gây ra sự kết tụ canxi ngoại bào vào trong tế bào bởi việc tạo ra lối đi canxi, và U46619 là chất tương tự thromboxan A<sub>2</sub>, mà hoạt động trên thụ thể thromboxan (TP) để thể hiện hiệu quả tương tự như thromboxan. Tuy nhiên, chất tan huyết khối và chất chống tiểu cầu được phát triển cho đến nay có các vấn đề gây ra các tác dụng phụ như ức chế quá mức sự cầm máu, gây vô sinh, rối loạn tiêu hóa và tác dụng phụ tương tự, và do đó có nhu cầu lớn trong việc nghiên cứu các hợp chất và các chất có hoạt tính sinh học mới để chống lại chứng huyết khối với cơ chế hoạt động khác, hiệu quả tăng và độc tính thấp.

Do đó, các tác giả sáng chế đã khẳng định rằng hoạt tính chống huyết khối vượt trội hơn đã thể hiện khi dịch chiết *Oenanthë javanica* và một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó làm chất chống huyết khối được sử dụng kết hợp, so với trường hợp trong đó mỗi thành phần được sử dụng một mình, nhờ đó tạo ra sáng chế.

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

#### **Vấn đề kỹ thuật**

Do đó, mục đích của sáng chế là đề xuất được phẩm để chống chứng huyết khối

chứa dịch chiết *Oenanthe javanica*, và một hoặc nhiều chất chống huyết khối được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính, và phương pháp ức chế huyết khối được đặc trưng bởi việc sử dụng được phẩm này.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất được phẩm để ngăn ngừa, cải thiện hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối, chứa dịch chiết *Oenanthe javanica*, và một hoặc nhiều chất chống huyết khối được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính, và phương pháp để ngăn ngừa, cải thiện hoặc điều trị bệnh liên quan đến huyết khối được đặc trưng bởi việc sử dụng được phẩm này.

#### Giải pháp kỹ thuật

Là một khía cạnh để đạt được các mục đích nêu trên, sáng chế đề xuất được phẩm để chống chứng huyết khối chứa dịch chiết *Oenanthe javanica*, và một hoặc nhiều chất chống huyết khối được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính, và phương pháp ức chế huyết khối bao gồm bước sử dụng được phẩm này, và phương pháp điều chế được phẩm này.

Là một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối, chứa dịch chiết *Oenanthe javanica*, và một hoặc nhiều chất chống huyết khối được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính, và phương pháp để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh liên quan đến huyết khối bao gồm bước sử dụng được phẩm này.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn.

Dược phẩm để chống chứng huyết khối hoặc để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối theo sáng chế chứa dịch chiết *Oenanthe javanica*, và một hoặc nhiều chất chống huyết khối được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính.

Cần nước (*Oenanthe javanica*) là cây gia vị hàng năm thuộc họ Apiaceae, và sống dưới nước hoặc chỗ ẩm và thân dài trong bùn và hoa trắng nở vào tháng 7 và tháng 8, và

có quả hình ôvan. Các chùm hoa đối diện với lá, chia thành từ 5 đến 15 cụm nhỏ, và mỗi cụm mang từ 10 đến 25 hoa. Các nhánh chia từ phần dưới của thân, và lan ra các bên, và vào mùa đông, rủ xuống từ đốt của thân mảnh hơn để sinh sản. Thân có lông tơ và có mùi thơm, và cao từ 20 đến 50 cm, và các lá xen kẽ, và dài từ 7 đến 15 cm, và kiểu hình lông chim từ 1 đến 2 lần, và cuống lá ngắn hơn khi chúng leo lên. Các lá nhỏ có dạng hình trứng và được đặt ở cuối, và có mép hình răng cưa. Trong số cần nước, cần nước đại mà sinh trưởng trên cánh đồng được gọi là *Oenanthe javanica*, và nó không có sự khác biệt về dinh dưỡng so với cần nước thông thường, nhưng giàu hương vị hơn một chút.

Cần nước đại bao gồm tất cả các dạng thường được sử dụng để thu được dịch chiết trong lĩnh vực chiết mà không có sự giới hạn cụ thể bất kỳ ở dạng của nó. Ngoài ra, dịch chiết này có thể là dịch chiết dung môi được chiết bằng dung môi chiết, phân đoạn được cất phân đoạn bằng cách bổ sung dung môi cất phân đoạn vào dịch chiết được điều chế bằng cách chiết bằng dung môi chiết, hoặc sản phẩm đã tinh chế thu được bằng cách tiến hành quá trình sắc ký trên phân đoạn này. Dung môi chiết này có thể là nước, dung dịch nước natri clorua, dung môi hữu cơ hoặc dung môi hỗn hợp của chúng mà có thể được sử dụng trong quá trình chiết các sản phẩm tự nhiên, tốt hơn là, loại bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm nước, dung dịch nước natri clorua, etyl axetat, các rượu có từ 1 đến 5 nguyên tử cacbon, và hỗn hợp của chúng. Dung môi hữu cơ này có thể là dung môi phân cực như các rượu mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 5 nguyên tử cacbon (rượu mạch thẳng hoặc mạch nhánh  $C_1-C_5$ ) như metanol, etanol, và loại tương tự, và dung môi không phân cực như hexan hoặc diclometan, và dung môi trung tính như keton có từ 3 đến 5 nguyên tử cacbon và loại tương tự, hoặc dung môi hỗn hợp của chúng, và tốt hơn là, có thể là dung dịch nước rượu mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 5 nguyên tử cacbon như dung dịch nước từ 30 đến 90% thể tích/thể tích etanol, tốt hơn nữa là, từ 50 đến 80 % thể tích/thể tích etanol. Dung môi cất phân đoạn này có thể là rượu mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 5 nguyên tử cacbon, etyl axetat hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một khía cạnh được ưu tiên, dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế có thể là phân đoạn etyl axetat của dịch chiết thô được chiết từ *Oenanthe javanica* bằng etanol. Dịch chiết *Oenanthe javanica* này có thể được điều chế bằng các phương pháp điều chế dịch chiết thực vật thông thường. Cụ thể là, nó có thể được thực hiện bằng phương pháp bổ sung dung môi chiết vào *Oenanthe javanica* mà các tạp chất được loại bỏ và thực hiện

quy trình chiết. Quy trình chiết này có thể là quy trình chiết thẩm tách (enfleurage extraction), trích ly (maceration extraction), chiết điều áp, chiết hồi lưu hoặc chiết siêu âm. Quá trình điều chế phân đoạn của *Oenanthе javanica* có thể được thực hiện bằng phương pháp thu các phân đoạn phụ thuộc vào tính phân cực của dung môi cất phân đoạn sau khi bổ sung dung môi cất phân đoạn vào dịch chiết được chiết bằng phương pháp chiết, mà là dịch chiết thô hoặc dung môi được chiết thô. Phương pháp thu các phân đoạn có thể thực hiện bởi bước tách hoặc cất phân đoạn bằng sự tách lớp. Kỹ thuật sắc ký để tinh chế các phân đoạn có thể được thực hiện bằng kỹ thuật sắc ký khác nhau như sắc ký cột silica gel, sắc ký lớp mỏng (TLC) hoặc sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), và loại tương tự. Ngoài ra, dịch chiết này có thể được cô hoặc dung môi có thể được loại bỏ bằng cách thực hiện quy trình lọc giảm áp hoặc tiến hành thêm quá trình cô và/hoặc đông khô, sau khi tiến hành quy trình chiết, cất phân đoạn hoặc tinh chế. Do đó, dịch chiết *Oenanthе javanica* theo sáng chế được sử dụng dưới dạng bao gồm sản phẩm được sấy của dịch chiết được sấy bằng phương pháp thông thường, chất cô của dịch chiết được cô bằng phương pháp thông thường, và dung dịch pha loãng của dịch chiết, sản phẩm được sấy hoặc chất cô.

Cụ thể hơn, trong một ví dụ của sáng chế, 5kg cỏ khô *Oenanthе javanica* được rửa và được cắt nhỏ, và 35L dung dịch nước etanol cốt (95% thể tích/thể tích) được bổ sung để chiết lần thứ nhất tại 70°C trong 5 năm, và sau khi chiết lần thứ nhất, quá trình chiết lần thứ hai và thứ ba được thực hiện bằng cách sử dụng 15L cốt trong 5 giờ trong cùng điều kiện như quá trình chiết lần thứ nhất. Sau khi hoàn thành quá trình chiết, dịch chiết được thu và được làm lạnh tại 4°C. Chất chiết được sàng bằng mắt lưới 100, và sau đó được lọc bằng giấy lọc 10µm, và sau đó chất này được làm lạnh lại ở 4°C, và chất này được cô (51/1 giờ) để tạo ra dịch chiết *Oenanthе javanica* theo sáng chế. Lưu đồ về ví dụ điều chế dịch chiết *Oenanthе javanica* cụ thể này được thể hiện trên Fig.4.

Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế chứa một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó làm chất chống huyết khối, làm thành phần hoạt tính khác.

Trong số đó, Clopidogrel có tên hóa học là metyl(+)-(S)- $\alpha$ -(o-clophenyl)-6,7-dihydrothieno[3,2-c]pyridin-5(4H)-axetat (chất đồng phân đối quang quay phải), mà ngăn hiện tượng thiếu máu gây ra bởi các bệnh về mạch như chứng xơ vữa động mạch và đau tim bởi có hoạt tính ức chế tiểu cầu. Clopidogrel có hiệu quả chống huyết khối

bằng cách ức chế sự kết tụ tiểu cầu, và do đó nó hữu dụng để ngăn ngừa và điều trị các loại bệnh về mạch khác nhau như chứng xơ vữa động mạch, nhồi máu cơ tim, và tắc nghẽn động mạch ngoại vi. Là muối của Clopidogrel, hydroclorua, hydro sulfat, bromat, tauroclorat, và chất tương tự đã biết, và hiện nay, trong thực hành lâm sàng, nó được sử dụng ở dạng Clopidogrel hydro sulfat (hoặc được gọi là sulfat, chứa trong chế phẩm theo sáng chế có thể là hydro sulfat).

Hơn nữa, Cilostazol là 6-[4-(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)-butoxy]-3,4-dihydrocarbostyryl, và thể hiện hoạt tính ức chế phosphodiesteraza, hoạt tính chống khối u, hoạt tính chống cao huyết áp, và hoạt tính chống viêm, cũng như hoạt tính ức chế kết tụ tiểu cầu cao, và do đó nó là chất được sử dụng rộng rãi không chỉ làm chất ức chế phosphodiesteraza mà cả chất chống huyết khối, chất tăng cường tuần hoàn não, chất chống viêm, chất chống khối u, chất chống tăng huyết áp, và chất chống hen. Muối được dụng của Cilostazol có thể được điều chế dễ dàng bằng cách cho Cilostazol phản ứng với axit được dụng. Axit được dụng này bao gồm ví dụ, các axit vô cơ như clorua, sulfat, phosphat, và axit bromhydric, và axit hữu cơ như oxalat, axit maleic, axit fumaric, axit malic, axit tartric, axit xitric và benzoat.

Dịch chiết *Oenanthe javanica*, và một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó làm chất chống huyết khối, làm thành phần hoạt tính trong chế phẩm theo sáng chế có thể được điều chỉnh thích hợp bởi loại và mục đích sử dụng, tình trạng của bệnh nhân, loại triệu chứng và mức độ nghiêm trọng và yếu tố tương tự, và nó có thể được giảm hoặc được tăng theo nhu cầu của người sử dụng, và nó có thể được giảm hoặc tăng thích hợp theo các yếu tố khác nhau như chế độ ăn, tình trạng dinh dưỡng, và sự tiến triển huyết khối, và yếu tố tương tự. Ngoài ra, tỷ lệ khối lượng của dịch chiết *Oenanthe javanica*, và một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó mà là chất chống huyết khối trong chế phẩm theo sáng chế có thể là từ 200:1 đến 1:200, tốt hơn là, từ 100:1 đến 1:100, và tốt hơn nữa là từ 1:1 đến 1:100.

Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cho động vật có vú bao gồm người theo các đường khác nhau. Phương pháp sử dụng có thể là phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được sử dụng phổ biến, và ví dụ, nó có thể được sử dụng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, da, trong tĩnh mạch, trong cơ, dưới da) hoặc loại

trương tự, và tốt hơn là, nó có thể được sử dụng qua đường miệng. Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng bằng cách bào chế thành các dạng bào chế dùng đường miệng như dạng bột, dạng hạt, viên nén, viên nang, dạng lỏng, huyền phù, nhũ tương, siro, sol khí và loại tương tự, hoặc dạng bào chế dùng ngoài đường tiêu hóa như dùng dưới da, viên đạn, thuốc mỡ và dung dịch tiêm được vô trùng, bằng phương pháp thông thường, tương ứng.

Chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa chất bổ trợ như chất mang, tá dược và chất pha loãng mà thích hợp về mặt dược lý và chấp nhận được về mặt sinh lý, ngoài dịch chiết được trộn. Ví dụ, các chế phẩm để sử dụng đường miệng có thể được bào chế bằng cách sử dụng tá dược, chất liên kết, chất gây rã, chất làm trơn, chất làm tan, chất tạo huyền phù, chất bảo quản hoặc chất độn, hoặc chất tương tự.

Liều của dược phẩm theo sáng chế có thể được xác định bởi chuyên gia dựa trên các yếu tố khác nhau như tình trạng của bệnh nhân, tuổi, cân nặng, mức độ tổn thương phế quản hoặc phổi do hen, mức độ tiến triển bệnh và yếu tố tương tự. Ngoài ra, nó được dự tính chứa liều hàng ngày hoặc 1/2, 1/3 hoặc 1/4 liều dược phẩm trên mỗi liều đơn vị, và có thể được sử dụng từ 1 đến 6 lần mỗi ngày.

Do đó, khía cạnh khác là, sáng chế mô tả phương pháp ức chế huyết khối bao gồm bước sử dụng dược phẩm. Các đối tượng liên quan đến dược phẩm có thể được sử dụng cho các đối tượng của các phương pháp sử dụng và các liều dùng và tương tự.

Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng hữu dụng dưới dạng chế phẩm để chống chứng huyết khối và dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh huyết khối, vì nó thể hiện hiệu quả chống huyết khối vượt trội bằng cách ức chế một cách hiệu quả sự kết tụ các tiểu cầu. Khía cạnh khác là, sáng chế mô tả phương pháp để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh huyết khối bao gồm bước sử dụng dược phẩm. Các đối tượng liên quan đến dược phẩm có thể được sử dụng cho các đối tượng của các phương pháp sử dụng và các liều dùng và tương tự.

Bệnh huyết khối này bao gồm một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm chứng nhồi máu cơ tim, chứng đau thắt ngực, viêm tĩnh mạch huyết khối, chứng thuyên tắc động mạch, chứng huyết khối hình vành, chứng huyết khối động mạch não, chứng huyết khối mạch máu ngoại vi, chứng huyết khối tĩnh mạch sâu, chứng huyết khối hình vành, chứng huyết khối tĩnh mạch, nhồi máu não do thiếu máu, chứng xơ vữa động mạch,

cao huyết áp, chứng tăng áp động mạch phổi, nhồi máu não, đột quỵ, sự tắc nghẽn động mạch mạn tính, chứng nhồi máu phổi, nghẽn mạch não, nghẽn mạch thận, nghẽn mạch huyết khối, các triệu chứng bệnh lý sau khi xuất huyết khoang dưới nhện, can thiệp mạch vành qua da (PTCA) hoặc chứng huyết khối trong quá trình đặt ống thông, sự tái tắc nghẽn sau khi đặt ống thông, sự tắc nghẽn hoặc tái tắc nghẽn huyết khối ống thông, hội chứng động mạch vành cấp tính, TIA (con thiếu máu não thoáng qua hoặc hội chứng mạch não cấp) và suy tim, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Khía cạnh khác là, sáng chế mô tả phương pháp điều chế dược phẩm để chống chứng huyết khối hoặc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối chứa dịch chiết *Oenanthе javanica* và Clopidogrel hoặc muối dược dụng của nó. Cụ thể, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế chế phẩm để chống chứng huyết khối hoặc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến huyết khối, bao gồm bước:

a) điều chế dịch chiết *Oenanthе javanica*;

b) trộn dịch chiết *Oenanthе javanica* được điều chế ở bước a); và một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối dược dụng của nó và Cilostazol hoặc muối dược dụng của nó mà là chất chống huyết khối, và chất mang dược dụng và/hoặc chất hỗ trợ; và

c) điều chế chế phẩm bằng cách bào chế hỗn hợp được điều chế trong bước b).

Tốt hơn là, trong phương pháp điều chế theo sáng chế, ở bước a), dịch chiết *Oenanthе javanica* có thể được điều chế bằng cách sử dụng các dung môi chiết và các phương pháp chiết khác nhau được nêu trên liên quan đến chế phẩm. Ngoài ra, ở bước b), sau khi trộn các thành phần của chế phẩm, để tăng độ lưu động, độ an toàn đồng nhất hàm lượng của chế phẩm, và tương tự, ngoài ra, chế phẩm có thể được tạo viên hoặc được kết hạt đến kích thước thích hợp thông qua quy trình như sàng và quy trình tương tự. Sau đó, viên hoặc hạt của các hỗn hợp được điều chế như trên có thể còn được trộn với chất mang và/hoặc chất hỗ trợ dược dụng trước khi bào chế tiếp.

Ở bước c), đối với phương pháp bào chế hỗn hợp được điều chế ở bước b), phương pháp bất kỳ đã biết được sử dụng để điều chế chế phẩm có thể được sử dụng, nhưng thông thường, trong trường hợp viên nén, có thể được điều chế bằng phương pháp tạo viên nén bằng cách bổ sung lượng đồng nhất của hỗn hợp vào máy tạo viên nén, và kỹ thuật đúc ép trực tiếp (nén trực tiếp), nghiền ướt hoặc nghiền khô, mà thường được sử dụng để điều

chế viên nén, có thể được sử dụng mà không bị giới hạn. Hơn nữa, trong trường hợp viên nang, có thể được điều chế bằng cách bổ sung đều đặn hỗn hợp của bước b) ở hàm lượng mong muốn vào trong viên nang rỗng như viên nang gelatin ở kích thước thích hợp.

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Như được mô tả trên đây, được phẩm theo sáng chế chứa dịch chiết *Oenanthe javanica*, và một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó làm chất chống huyết khối, làm thành phần hoạt tính cùng nhau, và do đó thể hiện hiệu quả hiệp đồng vượt trội ức chế chứng huyết khối so với sự kết hợp của các chất chống huyết khối khác, nhờ đó hữu dụng làm chất chống huyết khối và chất phòng ngừa hoặc điều trị bệnh huyết khối trong công nghiệp dược phẩm.

#### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Fig.1 là đồ thị thể hiện thời gian ngừng chảy máu qua động mạch cảnh bởi sự hình thành huyết khối khi dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế và Clopidogrel được sử dụng đồng thời (Thời gian cầm máu, TTO). Trên Fig.1, Clo 1 nghĩa là Clopidogrel 1mg/kg, và Clo 2 nghĩa là Clopidogrel 2mg/kg.

Fig.2 là đồ thị phép đo khối lượng huyết khối khi dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế và Clopidogrel được sử dụng đồng thời. Trên Fig.2, Clo 1 nghĩa là Clopidogrel 1mg/kg, và Clo 2 nghĩa là Clopidogrel 2mg/kg.

Fig.3 là đồ thị khẳng định hoạt tính ức chế sự kết tụ tiểu cầu nhờ sự kết hợp của dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế được chiết bởi các dung môi chiết và các chất chống huyết khối khác nhau.

Fig.4 là lưu đồ minh họa một ví dụ điều chế dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế.

#### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết bằng cách ví dụ và ví dụ thử nghiệm, nhưng các ví dụ và ví dụ thử nghiệm sau đây chỉ nhằm để minh họa sáng chế, và phạm vi của sáng chế không được hiểu là bị giới hạn ở các ví dụ và ví dụ thử nghiệm sau đây.

1. Ví dụ điều chế 1: Điều chế dịch chiết nước, dịch chiết NaCl và dịch chiết etanol của *Oenanthe javanica*

Để điều chế dịch chiết *Oenanthе javanica* theo sáng chế, dịch chiết nước *Oenanthе javanica*, dịch chiết NaCl và dịch chiết etanol của *Oenanthе javanica* được điều chế bằng phương pháp sau đây.

Đầu tiên, trong trường hợp nước và dịch chiết 0,15M NaCl, 5kg cỏ khô *Oenanthе javanica* được chiết lần thứ nhất tại 90°C trong 17 giờ, bằng cách sử dụng 35L nước và dung dịch 0,15M NaCl, tương ứng. Hơn nữa, sau khi chiết lần thứ nhất, quá trình chiết lần thứ hai được thực hiện trong 3 giờ bằng cách sử dụng 15L dung môi chiết tương tự trong cùng điều kiện. Chất chiết đã chiết được thu gom và được bảo quản lạnh tại 4°C, và sau đó được sàng bằng sàng mắt lưới 100 và được lọc bằng máy lọc 10µm. Sau đó, chất lọc đã lọc được ly tâm (4.500 vòng/phút trong 30 phút), và sau đó được lọc bằng giấy lọc, và được giữ lạnh tại 4°C và được làm đông khô (50l/5 ngày).

Trong trường hợp dịch chiết etanol, 5 kg cỏ khô *Oenanthе javanica* được rửa và được cắt nhỏ, và 35L dung dịch nước etanol cốt (95% thể tích/thể tích) được bổ sung và nó được chiết lần thứ nhất tại 70°C trong 5 giờ, và sau khi chiết lần thứ nhất, quá trình chiết lần thứ hai và lần thứ ba được tiến hành bằng cách sử dụng 15L cốt trong 5 giờ trong cùng điều kiện như quá trình chiết lần thứ nhất. Sau khi hoàn thành quá trình chiết, nó được thu và được làm lạnh tại 4°C. Quá trình chiết này được sàng bằng sàng mắt lưới 100, và được lọc bằng thiết bị lọc 10µm, và sau đó chất này được làm lạnh lại ở 4°C, và chất này được cô (5l/1 giờ) để tạo ra dịch chiết *Oenanthе javanica* theo sáng chế. Lưu đồ cụ thể về ví dụ điều chế dịch chiết *Oenanthе javanica* này được thể hiện trên Fig.4.

## 2. Ví dụ điều chế 2: Điều chế các phân đoạn của dịch chiết *Oenanthе javanica*

Các phân đoạn dung môi khác nhau của dịch chiết *Oenanthе javanica* được điều chế bằng cách sử dụng dịch chiết nước, dịch chiết NaCl, và dịch chiết etanol của *Oenanthе javanica* được điều chế trong ví dụ điều chế 1. Cụ thể là, các chất cô của dịch chiết *Oenanthе javanica* được điều chế trong ví dụ điều chế 1 được tạo huyền phù trong nước, và clorofom ở cùng lượng dưới dạng huyền phù được bổ sung và được trộn, và sau đó các lớp được tách trong khoảng 4 giờ, và quy trình này được lặp lại thêm hai lần. Sau khi bổ sung và trộn cùng lượng etyl axetat với các phân đoạn nước được tách này, các lớp được tách trong khoảng 4 giờ, và quy trình này được lặp lại thêm hai lần. Ngoài ra, cùng lượng butanol được bổ sung và được trộn với các phân đoạn nước được tách, và sau đó các lớp được tách trong khoảng 4 giờ, và quy trình này được lặp lại thêm hai lần. Sau đó,

mỗi phân đoạn được tách được cô (5l/giờ) để tạo ra từng phân đoạn dung môi, và lưu đồ của nó được thể hiện trên Fig.4.

3. Ví dụ thử nghiệm 1: Đánh giá hiệu quả chống huyết khối của dịch chiết *Oenanthe javanica* sử dụng mô hình chứng huyết khối động mạch ở chuột cống

Để khẳng định hiệu quả chống huyết khối trong trường hợp sử dụng riêng lẻ hoặc sử dụng đồng thời dịch chiết *Oenanthe javanica* là một trong số các thành phần hoạt tính của chế phẩm theo sáng chế, và 4 loại chất chống huyết khối đã biết, thí nghiệm trên động vật được phát triển bằng cách sử dụng mô hình chứng huyết khối động mạch cảnh được gây ra bởi  $\text{FeCl}_3$ .

### 3-1. Các chất phản ứng và các mẫu thí nghiệm

Là dịch chiết *Oenanthe* theo sáng chế, các phân đoạn ethyl axetat của dịch chiết ethanol *Oenanthe javanica* được điều chế trong ví dụ điều chế 2 được sử dụng, và Clopidogrel, Cilostazol, dịch chiết bạch quả (*Ginkgo biloba*) và chất tương tự được điều chế nội bộ và được sử dụng.  $\text{FeCl}_3$ , gồm Arabic và Aspirin được mua từ Sigma-Aldrich (Yongin, Hàn Quốc). Tất cả các mẫu được tạo huyền phù trong 5% gồm Arabic để phát triển thí nghiệm trên động vật.

### 3-2. Các động vật thí nghiệm và các nhóm thí nghiệm

Chuột cống SD (đực, 6 tuần tuổi) được mua từ công ty Orientbio (Seoul, Hàn Quốc), và được thích ứng với phòng thí nghiệm trung tâm Konkuk University RIC trong 1 tuần, và sau đó được cho nhịn đói trong tối thiểu 18 giờ, và sau đó được sử dụng trong thí nghiệm.

Các nhóm thí nghiệm được chia thành tổng cộng 8 nhóm như sau, và 7 con chuột cống được sắp xếp vào mỗi nhóm để đánh giá hiệu quả chính xác do bản chất của mô hình bệnh.

1) Thử nghiệm sử dụng riêng lẻ (5 nhóm thí nghiệm):

Đối chứng (1 nhóm): 5% gồm Arabic (nhóm sử dụng dung môi)

Nhóm được chất (2 nhóm): Clopidogrel 1, 2 mg/kg (chất đối chứng dương)

Dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế (2 nhóm): Dịch chiết *Oenanthe javanica* 50 và 100 mg/kg

2) Thử nghiệm sử dụng phức hợp (3 nhóm thí nghiệm):

Dịch chiết *Oenanthe javanica* 50 mg/kg + Clopidogrel 1 mg/kg (2 nhóm)

Dịch chiết *Oenanthe javanica* 100 mg/kg + Clopidogrel 1 mg/kg

### 3-3. Phương pháp thí nghiệm

Mô hình động vật (chuột cống) bị chứng huyết khối động mạch cảnh được chuẩn bị theo các phương pháp bởi JH Cho et al. (Thrombosis Research 100: 97-107, 2000), JH Cho et al. (Thromb Haemost 86: 1512-1520, 2001), và KD Kurz et al. (Thrombosis Research 60:269-280, 1990), và thời gian để dừng dòng động mạch cảnh do chứng huyết khối gây ra bởi  $\text{FeCl}_3$  (TTO, thời gian cầm máu) và khối lượng huyết khối được tạo ra trong động mạch cảnh ở mô hình động vật bị chứng huyết khối bởi phương pháp cụ thể sau đây.

1) Sử dụng qua đường miệng chất thử nghiệm, dung môi, chất đối chứng dương, và chất tương tự cho chuột cống ở lượng nhất định theo khối lượng.

2) Sử dụng thuốc gây mê theo khối lượng chuột cống ở khoảng 40 phút sau khi sử dụng qua đường miệng (tiêm trong màng bụng pentobarbital Na 60 mg/kg).

3) Cố định chuột cống trên bàn thí nghiệm trên tấm gia nhiệt với băng giấy và cắt gần cổ nơi mà đường dẫn vai (giữ nhiệt độ cơ thể của chuột cống đến  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  bằng cách sử dụng đèn sinh nhiệt trong suốt thí nghiệm).

4) Tiến hành thủ thuật mở khí quản (Đảm bảo đường hô hấp).

5) Cắt bằng kéo nhỏ, và sau đó để lộ căn thân động mạch cảnh bên trái, bằng cách sử dụng hai kẹp để làm rách cơ.

6) Loại bỏ mô mỡ dính với mạch máu và cắt thêm cơ xung quanh cả hai đầu của mạch máu và chèn nhíp nhỏ dưới mạch máu để cố định nó (ngăn mạch máu không bị ép bởi nhíp).

7) Đặt parafilm ( $1 \times 3$  cm) dưới mạch máu của động mạch cảnh bên trái (vai trò cố định mẫu dò dòng).

8) Sau khi rửa động mạch cảnh bên trái bằng nước muối 0,9%, mẫu dò dòng cận âm được chèn vào trong mạch máu.

9) Chèn mẫu dò dòng cận âm vào động mạch cảnh, và sau đó kết nối với thiết bị

đo dòng cận âm đo để khẳng định dòng máu được theo dõi chính xác.

10) Ở giữa nơi đặt  $\text{FeCl}_3$ , và mẫu dò, cuộn giấy lọc và đặt nó trên mạch máu.

11) Ngâm đĩa giấy lọc (Whatman No.1) ( $1 \times 2$  mm) vào dung dịch 20%  $\text{FeCl}_3$  (trong 0,9% NaCl).

12) Trong 1 giờ sau khi sử dụng qua đường miệng, mẫu, gắn đĩa giấy lọc với phần trên của mạch máu theo hướng hướng xuống của mẫu dò, và loại bỏ giấy lọc trong 10 phút từ thời gian đó.

13) Theo dõi cẩn thận tình trạng mở động mạch cảnh của động mạch cảnh, trong khi đo dòng máu động mạch cảnh bằng máy đo dòng trong 60 phút sau khi gắn  $\text{FeCl}_3$  với mạch máu.

14) Sau khi thí nghiệm, thắt và tách mẫu mạch máu đủ dài gắn đĩa giấy lọc được gắn bằng chỉ phẫu thuật bằng cách sử dụng kẹp mạch máu để đo khối lượng huyết khối được tạo ra trong mạch máu.

### 3-4. Phân tích thống kê

Tất cả các kết quả được thể hiện bằng Trung bình  $\pm$  SEM, và được phân tích ở mức  $p < 0,05$  của độ sai khác có ý nghĩa bằng phân tích ANOVA một chiều và Kiểm định nhiều so sánh Dunnett và kiểm định t Student không theo cặp (một phía).

### 3-5. Kết quả

Hiệu quả đối với 2 tham số liên quan đến chứng huyết khối (thời gian cầm máu, TTO, phút; khối lượng huyết khối, mg), trong trường hợp sử dụng riêng lẻ hoặc sử dụng đồng thời mẫu và chất đối chứng dương được thể hiện trong bảng 1 sau đây và Fig.1 và Fig.2 bằng cách sử dụng mô hình chứng huyết khối động mạch cảnh chuột cống.

#### 1) Gây ra chứng huyết khối bằng dung dịch sắt clorua

Quan sát thấy rằng thời gian để dừng dòng máu khỏi động mạch cảnh bởi chứng huyết khối (thời gian cầm máu, TTO, phút) là 15,1 phút và khối lượng huyết khối được tạo thành trong động mạch cảnh tại vị trí mà sự kích thích sắt clorua được sử dụng là 2,1 mg, khi động mạch cảnh này được tiếp xúc với mẫu giấy lọc ( $1 \times 2$  mm) được làm bão hoà bằng sắt clorua (20%) ở chuột cống được gây mê bằng pentobarbital, và do đó có thể thấy rằng huyết khối được cảm ứng tốt ở động mạch cảnh do các tổn thương máu nội mô bởi

sắt clorua.

2) Hiệu quả sử dụng một mình dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế và chất đối chứng dương

Clopidogrel được sử dụng làm chất đối chứng dương thể hiện xu hướng tăng TTO và giảm khối lượng huyết khối phụ thuộc liều so với nhóm sử dụng dung môi, khi sử dụng qua đường miệng ở liều 1 hoặc 2 mg/kg (nhóm sử dụng liều cao:  $p < 0,05$  so với nhóm sử dụng dung môi; xem Fig.1 và Fig.2, và bảng 1 như sau).

Dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế thể hiện xu hướng tăng TTO (nhóm sử dụng liều thấp và cao:  $p < 0,05$  so với nhóm sử dụng dung môi) và giảm khối lượng huyết khối (nhóm sử dụng liều cao:  $p < 0,05$  so với nhóm sử dụng dung môi. Xem Fig.1 và Fig.2, và bảng 1), so với nhóm sử dụng dung môi, khi sử dụng qua đường miệng ở các liều 50 và 100 mg/kg.

Bảng 1

|                                | Nhóm<br>đối<br>chứng | Clopidogrel<br>1mg/kg | Clopidogrel<br>2mg/kg | Phân đoạn<br>EtOH-EA<br><i>Oenanthe</i><br><i>javanica</i><br>50mg/kg | Phân đoạn<br>EtOH-EA<br><i>Oenanthe</i><br><i>javanica</i><br>100mg/kg | Phân đoạn<br>EtOH-EA<br><i>Oenanthe</i><br><i>javanica</i><br>50mg/kg+<br>Clopidogrel<br>1mg/kg | Phân đoạn<br>EtOH-EA<br><i>Oenanthe</i><br><i>javanica</i><br>50mg/kg+<br>Clopidogrel<br>1mg/kg | Phân đoạn<br>EtOH-EA<br><i>Oenanthe</i><br><i>javanica</i><br>100mg/kg+<br>Clopidogrel<br>1mg/kg |
|--------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TTO                            | 66,8%                | 100%                  | 195,1%                | 123,5%                                                                | 123,0%                                                                 | 118,1%                                                                                          | 121,2%                                                                                          | 160,6%                                                                                           |
| Khối<br>lượng<br>huyết<br>khối | 116,7%               | 100%                  | 22,2%                 | 94,4%                                                                 | 88,9%                                                                  | 61,1%                                                                                           | 66,7%                                                                                           | 77,8%                                                                                            |

3) Hiệu quả sử dụng đồng thời dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế và Clopidogrel

Hoạt động trên TTO

Khi đồng sử dụng mỗi liều của dịch chiết *Oenanthe javanica* theo sáng chế (50,

100 mg/kg) với liều Clopidogrel 1 mg/kg tại cùng thời điểm, việc sử dụng đồng thời với dịch chiết *Oenanthе javanica* 50 mg/kg thể hiện mức độ TTO tương tự với sử dụng mình dịch chiết *Oenanthе javanica*, và TTO lâu hơn so với sử dụng mình Clopidogrel. Mặt khác, việc sử dụng đồng thời với dịch chiết *Oenanthе javanica* 100 mg/kg có xu hướng thể hiện TTO lâu hơn so với sử dụng mình dịch chiết *Oenanthе javanica* hoặc sử dụng mình Clopidogrel (xem Fig.1 và Fig.2, và bảng 1).

#### Hoạt động trên khối lượng huyết khối động mạch cảnh

Khi sử dụng đồng thời mỗi liều của dịch chiết *Oenanthе javanica* theo sáng chế (50, 100 mg/kg) với liều Clopidogrel 1 mg/kg tại cùng thời điểm, việc sử dụng đồng thời với dịch chiết *Oenanthе javanica* 50 mg/kg thể hiện hiệu quả làm giảm khối lượng huyết khối so với sử dụng mình dịch chiết *Oenanthе javanica* và sử dụng mình Clopidogrel (xem Fig.1 và Fig.2, và bảng 1). Việc sử dụng đồng thời với dịch chiết *Oenanthе javanica* 100 mg/kg thể hiện xu hướng làm giảm khối lượng cục huyết khối so với sử dụng mình dịch chiết *Oenanthе javanica* hoặc sử dụng mình Clopidogrel.

#### 4. Ví dụ thử nghiệm 2: Đánh giá hoạt tính ức chế sự kết tụ tiểu cầu bởi dịch chiết

Với độ truyền ánh sáng của PRP và WP là 0% và độ truyền ánh sáng của huyết thanh nghèo tiểu cầu (PPP), đệm huyền phù là 100%, độ truyền ánh sáng theo mức độ kết tụ tiểu cầu được đo. Phương pháp đo là phương pháp được bộc lộ trong tài liệu Watson et al (“Inhibition of mitogen-activated protein kinase does not impair primary activation of human platelets”, Biochem J. 1996 Aug 15; 318(Pt 1): 207-212) được sử dụng.

Cụ thể là, được tiến hành theo phương pháp đánh giá sau đây, và các tiểu cầu cô đặc được sử dụng sau đó được pha loãng đến 1/7 và được sử dụng tại 37°C trong vòng 2 giờ, và các phân đoạn etyl axetat của dịch chiết etanol *Oenanthе javanica*, các phân đoạn etyl axetat của dịch chiết nước *Oenanthе javanica*, các phân đoạn etyl axetat của dịch chiết 0,15 NaCl *Oenanthе javanica*, Clopidogrel, Cilostazol, và Aspirin lần lượt được sử dụng làm các mẫu.

#### Phương pháp đánh giá

1. Thiết lập máy đo kết tụ bốn kênh của công ty Chrono-Log (gia nhiệt sơ bộ 30 phút, 37°C)

2. Bổ sung các thanh khuấy vào các cuvet đẻo ở PRP 4 kênh và bổ sung dung dịch pha loãng tiểu cầu (483 $\mu$ l) và làm tăng nhiệt độ (37°C). Bổ sung cuvet đẻo và đệm huyền phù 500 $\mu$ l trong ngăn chứa PPP

3. Vận hành máy đo khối tụ và thiết lập đường cơ sở

- Chuẩn bị mẫu chuẩn, axit ascorbic 1mg với DMSO 1ml

4. Bổ sung mẫu và chất làm đông

- Sau khi bổ sung đối chứng vào kênh số 1 và mẫu vào kênh số 2, 3, 4, phản ứng trong khoảng 1 phút

- Xử lý chất làm đông và đo trong 5 phút

5. Lưu các kết quả

- Chỉ định các điểm bắt đầu và kết thúc sự kết tụ bằng cách chọn "Set Start and Stop Time"

- Khẳng định độ dốc và biên độ bằng cách chọn "Compute slop and amplitude"

Các kết quả cho thử nghiệm để khẳng định hoạt tính ức chế sự kết tụ tiểu cầu được thể hiện trong bảng 3 sau đây. Như có thể được thấy trên Fig.3, có thể thấy rằng dịch chiết etyl axetat của chất chiết etanol trong số các phân đoạn của dịch chiết *Oenanthе javanica* thể hiện hoạt tính ức chế sự kết tụ tiểu cầu vượt trội trong trường hợp sử dụng riêng lẻ, thậm chí cả sử dụng đồng thời với Clopidogrel, Cilostazol hoặc Aspirin.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm chống chứng huyết khối chứa dịch chiết *Oenanthе javanica*; và một hoặc nhiều chất chống huyết khối được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó làm thành phần hoạt tính, trong đó dịch chiết *Oenanthе javanica* là nước, etanol hoặc dịch chiết dung môi *Oenanthе javanica* hỗn hợp của chúng hoặc các phân đoạn của dịch chiết *Oenanthе javanica* này.
2. Chế phẩm chống chứng huyết khối theo điểm 1, trong đó dịch chiết *Oenanthе javanica* là các phân đoạn etyl axetat của dịch chiết etanol *Oenanthе javanica*.
3. Chế phẩm chống chứng huyết khối theo điểm 1, trong đó muối được dụng của Clopidogrel là hydro sulfat.
4. Chế phẩm chống chứng huyết khối theo điểm 1, trong đó tỷ lệ khối lượng của dịch chiết *Oenanthе javanica* so với một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó (dịch chiết *Oenanthе javanica* : một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó) là 200 : 1 đến 1 : 200.
5. Chế phẩm ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến chứng huyết khối chứa dịch chiết *Oenanthе javanica*; và một hoặc nhiều loại chất chống huyết khối được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó làm thành phần hoạt tính, trong đó dịch chiết *Oenanthе javanica* là nước, etanol hoặc dịch chiết dung môi *Oenanthе javanica* hỗn hợp của chúng hoặc các phân đoạn của dịch chiết *Oenanthе javanica* này; và

bệnh liên quan đến huyết khối này là một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm chứng nhồi máu cơ tim, chứng đau thắt ngực, viêm tĩnh mạch huyết khối, chứng thuyên tắc động mạch, chứng huyết khối hình vành, chứng huyết khối động mạch não, chứng huyết khối mạch máu ngoại vi, chứng huyết khối tĩnh mạch sâu, chứng huyết khối hình vành, chứng huyết khối tĩnh mạch, nhồi máu não do thiếu máu, chứng xơ vữa động mạch, cao huyết áp, chứng tăng áp động mạch phổi, nhồi máu não, đột quy, sự tắc nghẽn động mạch mạn tính, chứng nhồi máu phổi, nghẽn mạch não, nghẽn mạch thận, nghẽn mạch huyết khối, các triệu chứng bệnh lý sau khi xuất huyết khoang dưới nhện, can thiệp mạch vành qua da (PTCA) hoặc chứng huyết khối trong quá trình đặt ống thông, sự tái

tắc nghẽn sau khi đặt ống thông, sự tắc nghẽn hoặc tái tắc nghẽn huyết khối ống thông, hội chứng động mạch vành cấp tính, TIA (con thiếu máu não thoáng qua hoặc hội chứng mạch não cấp) và suy tim.

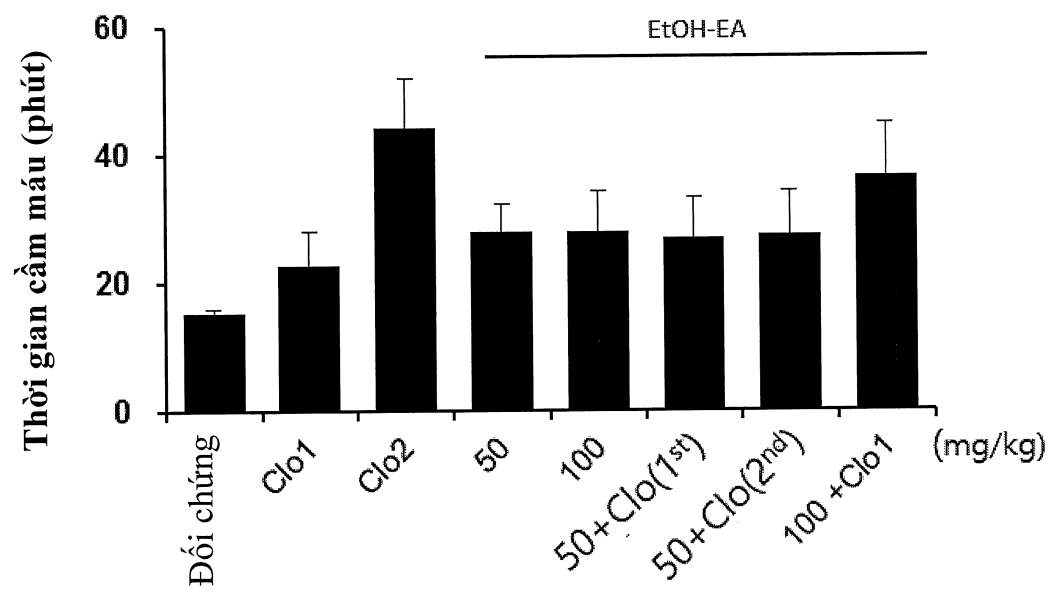
6. Phương pháp điều chế chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

a) điều chế dịch chiết *Oenanthe javanica*;

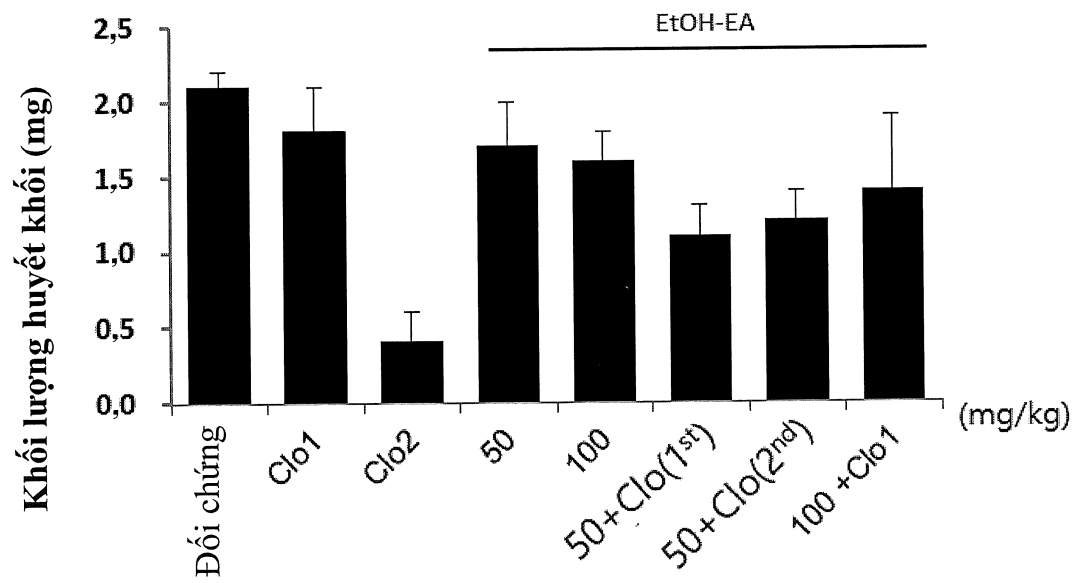
b) trộn dịch chiết *Oenanthe javanica* được điều chế ở bước a); và một hoặc nhiều loại chất chống huyết khối được chọn từ nhóm bao gồm Clopidogrel hoặc muối được dụng của nó và Cilostazol hoặc muối được dụng của nó, và chất mang được dụng và/hoặc chất hỗ trợ; và

c) điều chế chế phẩm bằng cách bào chế hỗn hợp được điều chế trong bước b).

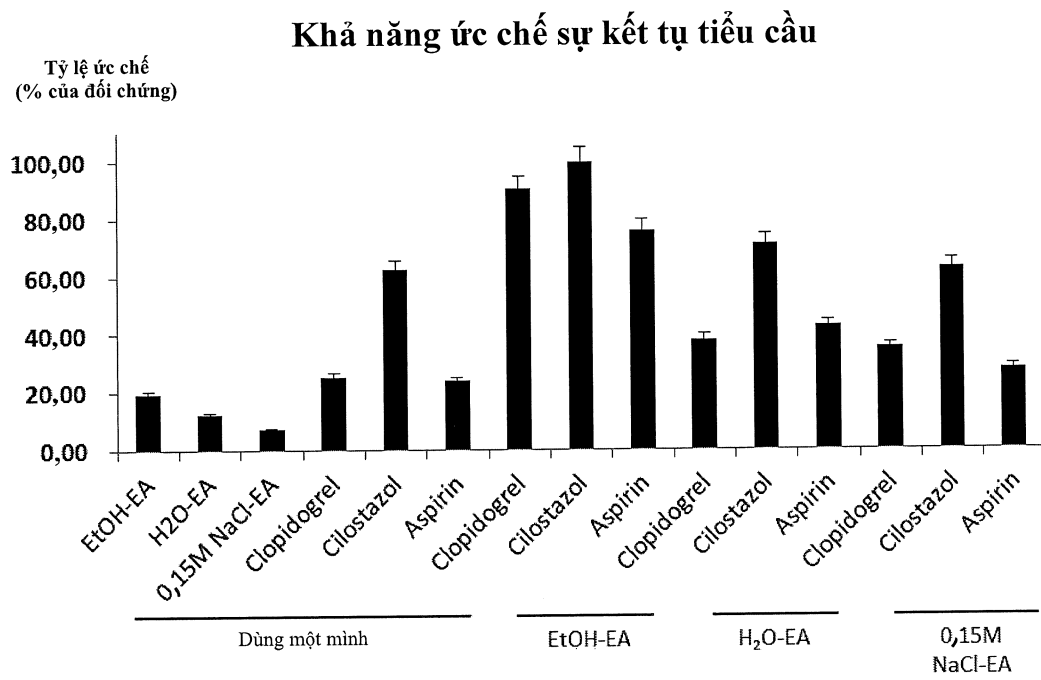
[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]

