(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) **1-0044667**

(51)[2006.01] **A61K 36/8969**; A61K 31/716; A61P 1/16; A61P 1/00; A61K 31/702

(13) **B**

(21) 1-2020-06561
(22) 20/07/2018
(86) PCT/CN2018/000264 20/07/2018
(87) WO/2019/241901 26/12/2019
(30) 201810631547.X 19/06/2018 CN
(45) 25/04/2025 445
(43) 25/03/2021 396A

(71) NINGBO YUFANGTANG BIOLOGICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY CO., LTD. (CN)
No. 188 Duantang West Road, Haishu District, Ningbo, Zhejiang 315012, China

(72) JIA, Fuhuai (CN); YAN, Yongqiu (CN); TU, Hongjian (CN); WANG, Jun (CN); TAO, Gang (CN); XIONG, Feifei (CN); WANG, Caixia (CN); YUAN, Yuan (CN); XU, Luyun (CN).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyến (INVENCO.,LTD)

(54) CHẤT ĐIỀU HÒA VI MÔI TRƯỜNG TRONG ĐƯỜNG RUỘT VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ CHẤT ĐIỀU HÒA NÀY

(21) 1-2020-06561

(57) Sáng chế đề cập đến chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột và phương pháp điều chế nó. Chất điều hòa vi môi trường này bao gồm các thành phần sau theo trọng lượng: 100 - 300 phần herba euphorbiae humifusae, 60 - 210 phần folium ampelopsis grossedentata, 100 - 300 phần fructus rubi, 100 - 300 phần herba portulacae, 60 - 180 phần rhizoma polygonati, 50 - 150 phần herba cistanche, 5 - 20 phần β-glucan nấm men, 10 - 50 phần fructooligosaccharit và 10 - 60 phần oligosaccharit đỗ tương. Chất điều hòa vi môi trường này sử dụng các dược phẩm cổ truyền Trung Quốc và prebiotic, chất điều hòa này là an toàn không độc và không có tác dụng phụ và không lệ thuộc và kháng thuốc, sẽ không tích tụ trong cơ thể, và có hiệu quả rõ ràng trong việc bảo vệ gan và điều hòa hệ vi môi trường đường ruột. Trong phương pháp điều chế, các hoạt chất chính có thể được bảo quản đến mức cao nhất, hiệu suất chiết có thể được gia tăng, thời gian chiết có thể được rút ngắn hiệu quả, và có thể giảm bớt sự tiêu tốn năng lượng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học, và cụ thể là đề cập đến chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột và phương pháp điều chế nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gan là cơ quan có chức năng chính là trao đổi chất và giải độc, trong khi dải đường ruột là cơ quan có chức năng chính là tiêu hóa và hấp thụ chất dinh dưỡng. Thường được cho rằng gan và dải đường ruột là là độc lập và không gây cản trở cho nhau. Với sự phát triển của khoa học và công nghệ sự nghiên cứu sâu thêm liên tục, càng có nghiều bằng chứng cho thấy rằng các chức năng sinh học của gan và dải đường ruột là có quan hệ chặt chẽ và có ảnh hưởng đến nhau, do vậy hình thành lý thuyết về "trục gan-đường ruột". Trong giai đoạn phôi, cả hai gan và dải đường ruột đều bắt nguồn từ ruột trước. Sau khi trưởng thành, hai cơ quan này có tương quan chủ yếu với nhau thông qua tĩnh mạch cửa. Khoảng 70% máu trong gan được cung cấp bởi tĩnh mạch cửa, trong khi hồi lưu của máu tĩnh mạch trong dải đường ruột là nguồn máu chính trong tĩnh mạch cửa. Nhiều chất dinh dưỡng và độc tố được hấp thụ qua dải đường ruột cần được chuyển hóa bởi gan. Nhiều vi sinh vật cư trú trong dải đường ruột của người. Các vi sinh vật này sống và phát triển cùng với sự sinh trưởng của người, nhờ đó hình thành dần dần hệ vi môi trường đường ruột khá ổn định. Hệ vi môi trường đường ruột này có các chức năng sinh lý của phần còn lại của toàn bộ tế bào ruột và hàng rào niêm mạc ruột, thúc đẩy sự hấp thu dinh dưỡng và nhu động ruột của cơ thể người, tổng hợp nhiều vitamin khác nhau, ức chế sự sinh trưởng của hệ vi khuẩn gây bệnh, điều hòa hệ miễn dịch và yếu tố tương tự, và tuyệt đối cần thiết để đảm bảo sức khỏe người. Gần đây, mối quan hệ giữa vi môi trường đường ruột và sức khỏe và bệnh dần dần trở thành trọng tâm và tâm

điểm trong lĩnh vực nghiên cứu khoa học sống toàn cầu.

Gan có thể làm sạch các độc tố khác nhau và nhiều vi sinh vật trong ruột từ dải đường ruột, và cũng điều hòa cấu trúc và chức năng của hệ sinh vật trong đường ruột thông qua sự tiết của axit mật cũng như tuần hoàn ruột gan để duy trì sự cân bằng vi môi trường trong dải đường ruột. Hệ vi sinh vật trong đường ruột có thể biến đổi axit mật bậc một được tiết ra từ gan vào trong dải đường ruột thành axit mật bậc hai mà được tái hấp thu bởi thành ruột. Axit mật được sử dụng lại có thể kích thích tiết mật, và có thể làm nhẵn dải mật và làm sạch các chất có hại như độc tố nấm và nội độc tố đường ruột để bảo vệ gan và túi mật. Nhiều nghiên cứu lâm sàng đã cho thấy rằng hệ vi môi trường đường ruột đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh lý học bệnh lý của gan, và sự tấn công của các bệnh về gan sẽ lần lượt ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của hệ vi môi trường đường ruột. Bình thường, chỉ một lượng dạng vết của các vi sinh vật đường ruột có thể đi qua hàng rào niêm mạc ruột và đi tới gan thông qua tĩnh mạch cửa, và các vi sinh vật đường ruột này có thể hoạt hóa hệ thống lưới nội mô của gan để cho hệ thống lưới nội mô là ở trạng thái hoạt hóa. Khi hệ vi môi trường đường ruột là mất cân bằng, hàng rào niêm mạc ruột có thể bị tổn thương, và lượng lớn các vi sinh vật đường ruột và các độc tố sẽ di chuyển đến gan để phá hủy sự dung nạp miễn dịch của gan và hoạt hóa quá mức hệ miễn dịch vốn có của gan để tạo ra chuỗi phản ứng viêm, dẫn đến sự nhiễm trùng huyết và sự nhiễm độc nội độc tố và gây ra sự tổn thương gan. Khi gan bị tổn thương gây ra các tổn thương, chức năng tổng hợp của gan sẽ bị giảm, và khối lượng albumin huyết tương giảm một cách rõ rệt, mà dễ dàng dẫn đến đau chấn thủy. Trong khi đó, do sự tiết mật không đủ của gan, thiếu muối mật trong dải đường ruột dẫn đến tăng huyết áp cực phát, dẫn đến sự xung huyết và chứng giảm oxy thở vào trong dải dạ dày-ruột non và do vậy dẫn đến bệnh chảy máu đường ruột do tăng huyết áp kịch phát. Việc giảm các yếu tố đông máu được tổng hợp bởi gan bị tổn thương sẽ làm nặng thêm triệu chứng chảy máu của dải dạ dày-ruột non và làm tổn thương thêm hệ cân bằng vi môi trường của dải đường ruột. Do đó, hệ vi môi trường đường ruột có quan hệ chặt

chẽ với gan, và sự mất cân bằng vi môi trường đường ruột và bệnh gan tác động qua lại là cả hai nguyên nhân và hiệu quả để dẫn đến hàng loạt sự thay đổi bệnh lý. Mối quan hệ chặt chẽ giữa cả hai yếu tố này cũng chỉ ra rằng hệ vi môi trường đường ruột nên được điều hòa khi xảy ra các bệnh gan, và gan nên được bảo vệ trong khi mất cân bằng vi môi trường đường ruột. Điều này cung cấp ý kiến mới cho nghiên cứu bệnh học này và ngăn ngừa và điều trị mất cân bằng vi môi trường đường ruột và các bệnh gan.

Với sự phát triển nhanh của xã hội, tốc độ tiến triển của cuộc sống là trở nên nhanh hơn và các cấu trúc thực chế của con người và thói quen sống thay đổi nhanh chóng. Ngủ dậy muộn trong một thời gian dài, ăn kiêng không đúng, hút thuốc, uống rượu mạnh, dùng dược chất không thích hợp và các yếu tố tương tự sẽ mang đến gánh nặng cho gan và hệ vi môi trường đường ruột. Tuy nhiên, gan và hệ vi môi trường đường ruột được xử lý một cách khác nhau trong hầu hết tất cả các sản phẩm có trên thị trường. Nhiều bệnh gan khác nhau được điều trị một cách thông thường bằng các viên nén bảo vệ gan, bifendat, Fufang Yiganling và các dược chất tương tự, để nuôi dưỡng và bảo vệ gan. Tuy nhiên, có một số vấn đề như hiệu quả của dược chất chậm, khoảng thời gian sử dụng dài và sinh khả dụng thấp, hoặc thậm chí có các tác dụng phụ như buồn nôn, nôn, viêm da và phát ban. Hệ vi môi trường đường ruột thường được điều hòa bằng probiotic (men vi sinh), prebiotic (chất xơ) hoặc synbiotic (hỗn hợp của men vi sinh và chất xơ). Các chất điều hòa trong đường ruột này, cụ thể là các chất điều hòa chứa probiotic, là một tác nhân bao gồm nhiều chủng khác nhau, không ổn định, khó bảo quản, tỷ lệ sống thấp, tỷ lệ vi sinh cư trú trong đường ruột thấp và yếu tố tương tự. Đối với nhiều người bị mắc các bệnh gan, tỷ lệ chữa khỏi thường là thấp và dễ bị tái phát. Do đó, vấn đề quan trọng cần được giải quyết khẩn cấp hiện nay đó là hiểu đúng về mối quan hệ giữa gan và hệ vi môi trường đường ruột và nhờ đó phát triển chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan mà là an toàn, hiệu quả, độc tố thấp và ít tác dụng phụ, và ổn định và có thể kiểm soát chất lượng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Với tình trạng như được nêu trong phần tình trạng kỹ thuật, vấn đề kỹ thuật thứ nhất được giải quyết bởi sáng chế là cung cấp chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột, mà là an toàn và hiệu quả, độc tố thấp và ít tác dụng phụ, ổn định và có thể kiểm soát về chất lượng và không bị phụ thuộc vào thuốc và có tính kháng thuốc, mà sẽ không bị tích lũy trong cơ thể, và có thể bảo vệ gan và điều hòa hệ vi môi trường đường ruột.

Với tình trạng như được nêu trong phần tình trạng kỹ thuật, vấn đề kỹ thuật thứ hai được giải quyết bởi sáng chế là cung cấp phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột. Phương pháp điều chế có thể không chỉ duy trì các thành phần hoạt tính chính đến mức lớn nhất và gia tăng hiệu suất chiết, mà còn rút ngắn một cách hiệu quả thời gian chiết và giảm tiêu tốn năng lượng.

Để giải quyết vấn đề kỹ thuật thứ nhất, chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột được đề xuất, trong đó nguyên liệu thô để điều chế chất điều hòa chứa các thành phần sau theo trọng lượng:

100 - 300 phần herba euphorbiae humifusae, 60 - 210 phần folium ampelopsis grossedentata, 100 - 300 phần fructus rubi, 100 - 300 phần herba portulacae, 60 - 180 phần rhizoma polygonati, 50 - 150 phần herba cistanche, 5 - 20 phần β-glucan nấm men, 10 - 50 phần fructooligosaccharit và 10 - 60 phần oligosaccharit đỗ tương.

Ưu tiên là, chất điều hòa này được điều chế từ các nguyên liệu thô sau theo phần trọng lượng: 210 phần herba euphorbiae humifusae, 165 phần folium ampelopsis grossedentata, 240 phần fructus rubi, 210 phần herba portulacae, 140 phần rhizoma polygonati, 100 phần herba cistanche, 16 phần β-glucan nấm men, 24 phần fructooligosaccharit và 30 phần oligosaccharit đỗ tương.

Ưu tiên là, chất điều hòa này chứa dịch chiết herba euphorbiae humifusae, dịch chiết folium ampelopsis grossedentata, dịch chiết fructus rubi, dịch chiết

herba portulacae, dịch chiết rhizoma polygonati, dịch chiết herba cistanche, β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương. Chất điều hòa theo sáng chế sử dụng các thành phần trên đây làm các hoạt chất chính, và các nguyên liệu phụ trợ thích hợp có thể được bổ sung một cách ưu tiên. Chất điều hòa được làm thành dạng chế phẩm bất kỳ thích hợp để dùng qua đường miệng, như viên nén, viên nang, cốm, bột, viên tròn hoặc dịch lỏng dùng qua đường miệng, bằng các quy trình thông thường được sử dụng trong ngành dược.

Ưu tiên là, dịch chiết herba euphorbiae humifusae, dịch chiết folium ampelopsis grossedentata và dịch chiết fructus rubi thu được bằng cách chiết ép kết hợp với chiết chân không dưới áp suất thấp và sau đó xử lý sau, và dịch chiết herba portulacae, dịch chiết rhizoma polygonati và dịch chiết herba cistanche thu được bằng cách chiết hóa cơ học kết hợp với chiết có sự trợ giúp siêu âm và sau đó xử lý sau. Bằng cách chiết các thành phần khác nhau bằng cách chiết ép kết hợp với chiết chân không dưới áp suất thấp và chiết hóa cơ học kết hợp với chiết có sự trợ giúp siêu âm, các hoạt chất chính có thể được bảo quản đến mức cao nhất, hiệu suất chiết có thể được gia tăng, thời gian chiết có thể được rút ngắn hiệu quả, và có thể giảm bớt sự tiêu tốn năng lượng.

Để giải quyết vấn đề thứ hai, phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột được đề xuất, bao gồm các bước sau:

(1) chuẩn bị dịch chiết herba euphorbiae humifusae, dịch chiết folium ampelopsis grossedentata và dịch chiết fructus rubi;

(2) chuẩn bị dịch chiết herba portulacae, dịch chiết rhizoma polygonati và dịch chiết herba cistanche;

(3) trộn dịch chiết herba euphorbiae humifusae, dịch chiết folium ampelopsis grossedentata, dịch chiết fructus rubi, dịch chiết herba portulacae, dịch chiết rhizoma polygonati và dịch chiết herba cistanche được điều chế trong các bước (1) và (2), bổ sung β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng, và trộn

đồng nhất thu được chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột.

Ưu tiên là, dịch chiết herba euphorbiae humifusae, dịch chiết folium ampelopsis grossedentata và dịch chiết fructus rubi thu được bằng các bước sau:

(A) chiết ép: nghiền và sàng herba euphorbiae humifusae/folium ampelopsis grossedentata/fructus rubi bằng sàng cỡ 10-80, cho vào trong thùng chiết, bổ sung etanol 20-75%, làm dung môi chiết, với khối lượng gấp từ 8-30 lần trọng lượng của nguyên liệu này, và chiết trong 5 - 120 giây ở nhiệt độ trong phòng;

(B) chiết chân không dưới áp suất thấp: mở van nối giữa thiết bị chiết ép và thiết bị chiết giải nén chân không, và nạp nguyên liệu lỏng này vào trong thiết bị chiết giải nén chân không do sự khác biệt về áp suất chiết thu được dung dịch chiết;

(C) ly tâm: ly tâm dung dịch chiết thu được dung dịch trong;

(D) cô đặc dưới áp suất thấp: cô đặc dung dịch trong này dưới áp suất thấp thu được dịch chiết;

(E) làm khô phun: làm khô phun dịch chiết này thu được cao herba euphorbiae humifusae/cao folium ampelopsis grossedentata/cao fructus rubi.

Ưu tiên là, trong khi chiết chân không dưới áp suất thấp, nhiệt độ chiết là từ 40℃ đến 65℃, áp suất chiết là từ 0,05 - 0,1 Mpa, và chiết kéo dài trong 20 - 40 phút; và, trong khi cô đặc dưới áp suất thấp, nhiệt độ cô đặc là 50℃, mức chân không được kiểm soát là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa, tỷ trọng tương đối được kiểm soát là từ 1,05 - 1,15.

Ưu tiên là, các thông số quy trình để làm khô phun là như sau: nhiệt độ đầu phun là từ 160℃ đến 180℃, nhiệt độ đầu ra là từ 70℃ đến 85℃, và tốc độ nạp là từ 10 - 20 mL/phút.

Ưu tiên là, dịch chiết herba portulacae, dịch chiết rhizoma polygonati và dịch chiết herba cistanche thu được bằng các bước sau:

(A) chiết hóa cơ học: bổ sung herba portulacae/rhizoma polygonati/herba cistanche được ép thô vào trong thùng nghiền hạt, bổ sung Na_2CO_3 có nồng độ theo thể tích là từ 5 - 30% làm tác nhân trợ giúp nghiền, chiết trong từ 3 - 15 phút, và cung cấp nước cất trong toàn bộ quá trình này;

(B) chiết có sự trợ giúp siêu âm: chuyển nguyên liệu thu được bằng cách chiết hóa cơ học vào trong thiết bị chiết siêu âm, bổ sung nước với khối lượng mà là gấp từ 10-30 lần trọng lượng của nguyên liệu này làm dung môi chiết, và chiết thu được dung dịch chiết;

(b) ly tâm: ly tâm dung dịch chiết thu được dung dịch trong;

(D) cô đặc dưới áp suất thấp: cô đặc dung dịch trong này dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 60℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 - 1,15 thu được dịch chiết;

(E) làm khô phun: làm khô phun dịch chiết này ở nhiệt độ vòi phun là từ 130℃ đến 160℃, nhiệt độ đầu ra từ 60℃ đến 80℃ và nhiệt độ nạp là từ 10 - 20 mL/phút thu được cao herba portulacae/cao rhizoma polygonati/cao herba cistanche.

Ưu tiên là, trong khi chiết có sự trợ giúp siêu âm, nhiệt độ chiết là từ 40℃ đến 80℃, chiết kéo dài trong từ 20 - 80 phút, và cường độ siêu âm là từ 100 - 500 W.

So với kỹ thuật trước đây, sáng chế này có các lợi ích sau.

Trong công thức chất điều hòa theo sáng chế, sự tương tác hiệp đồng được nhận biết bằng sử dụng một cách khoa học và thích hợp các sản phẩm tự nhiên khác nhau, nhằm để điều hòa hệ vi môi trường đường ruột được thúc đẩy trong khi bảo vệ gan. Herba euphorbiae humifusae và herba portulacae có hướng kích thích cao nhất trong gan và đường tiêu hóa lớn, và có hiệu quả làm mát máu, giải độc tố và điều trị bệnh tiêu chảy kết hợp, đặc biệt là ức chế hiệu quả nhiều mầm bệnh trong đường ruột khác nhau như escherichia coli, shigella dysenteriae, salmonella, shigella và staphylococcus aureus. Nếu herba

euphorbiae humifusae và herba portulacae được sử dụng cùng với folium ampelopsis grossedentata, sự ức chế các mầm bệnh như escherichia coli và staphylococcus aureus được tăng cường thêm nữa. Hoạt hóa probiotic đường ruột và các yếu tố tăng sinh như β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương có thể thúc đẩy hiệu quả sự tăng sinh của probiotic, và có thể ức chế hiệu quả sự tạo ra các chất có hại trong đường ruột và thúc đẩy việc thải các chất này. Sự kết hợp hữu cơ của các nguyên liệu thô có thể duy trì hiệu quả sự cân bằng của hệ vi môi trường đường ruột. Trong khi, sự kết hợp của herba euphorbiae humifusae, folium ampelopsis grossedentata và herba portulacae có thể bảo vệ gan bằng cách cải thiện quá trình loại bỏ độc tố của gan. Fructus rubio có thể tăng cường hoạt tính của các enzym chống oxy hóa trong mô gan và ức chế việc tạo ra các yếu tố viêm, và herba cistanche có khả năng chống oxi hóa và giảm sự tạo ra các gốc tự do để giảm bớt sự tổn thương do các gốc tự do đối với mô gan và ty thể, cải thiện khả năng oxi hóa của gan và giảm quá trình peroxit lipit. Sự tương tác hiệp đồng của fructus rubi và herba cistanche với rhizoma polygonati có thể tăng cường hiệu quả khả năng của cơ thể để loại bỏ các gốc tự do và các peroxit lipid trong tế bào. Kết hợp với β-glucan nấm men, liên kết đặc hiệu của các tế bào miễn dịch có thể được thúc đẩy, và lympho bào và đại thực bào trong cơ thể có thể được kích thích để có hoạt tính miễn dịch, sao cho miễn dịch của cơ thể được cải thiện hiệu quả, sự phục hồi của các mô và các cơ quan bị tổn thương như gan được thúc đẩy, và sự cân bằng vi môi trường đường ruột được cải thiện bởi trục gan-đường ruột. Do đó, trong sáng chế này, bằng cách kết hợp hữu cơ nhiều sản phẩm tự nhiên khác nhau, sự tương tác hiệp đồng được nhận thấy ở mức vi sinh vật, mức tế bào và mức chuyển hóa, sự thải bỏ độc tố trong gan, sự phục hồi mô gan bị tổn thương và bảo vệ gan được thúc đẩy, sự cân bằng vi môi trường đường ruột trong cơ thể có thể được điều hòa cụ thể, và sức khỏe đường ruột có thể được cải thiện.

So với việc sử dụng chỉ mình dược chất hoặc prebiotic, hiệu quả điều trị của các chế phẩm theo sáng chế được cải thiện một cách đáng kể. Các chế

phẩm được cung cấp trên cơ sở lý thuyết chăm sóc sức khỏe của y học cổ truyền Trung Quốc và lý thuyết "trục gan-đường ruột" của nghiên cứu y học hiện đại, và các thành phần kết hợp với nhau để thu được sự tương tác hiệp đồng, đúng hơn là sự chồng lấn của các thành phần riêng rẽ.

Chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột được cung cấp bởi sáng chế chủ yếu sử dụng các dược phẩm tự nhiên cổ truyền Trung Quốc và prebiotic, và được sử dụng trên cơ sở là các dược phẩm và thức ăn hoặc được sử dụng làm nguyên liệu thức ăn thô mới. Ngoài ra, chất điều hòa này là an toàn không độc và không gây ra tác dụng phụ và không tạo ra sự phụ thuộc và kháng lại dược chất, sẽ không bị tích lũy trong cơ thể, và có hiệu quả xác định để bảo vệ gan và điều hòa hệ vi môi trường đường ruột.

Trong phương pháp điều chế được cung cấp bởi sáng chế, bằng cách chiết các thành phần khác nhau bằng cách chiết ép kết hợp với chiết chân không dưới áp suất thấp và chiết hóa cơ học kết hợp với chiết có sự trợ giúp siêu âm, các hoạt chất chính có thể được bảo quản đến mức cao nhất, hiệu suất chiết có thể được gia tăng, thời gian chiết có thể được rút ngắn hiệu quả, và có thể giảm bớt sự tiêu tốn năng lượng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả tiếp dưới đây chi tiết bằng các phương án.

Phương án 1:

Trong phương án này, chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột được điều chế bằng các nguyên liệu thô sau theo trọng lượng: 150 phần herba euphorbiae humifusae, 130 phần folium ampelopsis grossedentata, 200 phần fructus rubi, 150 phần herba portulacae, 120 phần rhizoma polygonati, 60 phần herba cistanche, 8 phần β-glucan nấm men, 15 phần fructooligosaccharit và 20 phần oligosaccharit đỗ tương.

Phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột bao gồm các bước sau.

(1) Chuẩn bị cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata và cao fructus rubi.

Herba euphorbiae humifusae/folium ampelopsis grossedentata/fructus rubi mà đã được nghiền và sàng bằng sàng cỡ 10 được bổ sung vào trong thùng chiết, bổ sung 30% etanol, làm dung môi chiết, với khối lượng gấp 10 lần trọng lượng của nguyên liệu này, và chiết trong 10 giây ở nhiệt độ trong phòng. Van nối giữa thiết bị chiết ép và thiết bị chiết giải nén chân không được mở, và nguyên liệu lỏng được nạp vào trong thiết bị chiết giải nén chân không do sự khác biệt về áp suất và sau đó chiết trong 20 phút ở nhiệt độ là 40℃ và áp suất là 0,05 Mpa thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết thu được và cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 50℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 đến 1,15 thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là 160℃, nhiệt độ đầu ra từ 70℃ và nhiệt độ nạp là từ 10 mL/phút thu được cao herba euphorbiae humifusae hoặc cao folium ampelopsis grossedentata hoặc cao fructus rubi.

(2) Chuẩn bị cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche.

Herba portulacae/rhizoma polygonati/herba cistanche nghiền thô được bổ sung vào trong thùng nghiền hạt, bổ sung 5% Na_2CO_3 làm tác nhân trợ giúp nghiền, và chiết trong 3 phút. Bổ sung nước cất trong suốt quá trình này. Nguyên liệu thu được bằng cách chiết hóa cơ học được chuyển vào trong thiết bị chiết siêu âm, bổ sung nước với khối lượng gấp 10 lần trọng lượng của nguyên liệu này làm dung môi chiết, và chiết trong 20 phút ở nhiệt độ là 40℃ và cường độ siêu âm là 150 W thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết này, và sau đó cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 60℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 đến 1,15 thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là

130℃, nhiệt độ đầu ra từ 60℃ và nhiệt độ nạp là từ 10 mL/phút thu được cao herba portulacae hoặc cao rhizoma polygonati hoặc cao herba cistanche.

(3) Trộn cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata, cao fructus rubi, cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche được điều chế trong các bước (1) và (2), bổ sung β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng, và trộn đồng nhất thu được chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột.

Phương án 2:

Trong phương án này, chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột được điều chế bằng các nguyên liệu thô sau theo trọng lượng: 180 phần herba euphorbiae humifusae, 150 phần folium ampelopsis grossedentata, 220 phần fructus rubi, 180 phần herba portulacae, 140 phần rhizoma polygonati, 80 phần herba cistanche, 13 phần β-glucan nấm men, 20 phần fructooligosaccharit và 40 phần oligosaccharit đỗ tương.

Phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột bao gồm các bước sau.

(1) Chuẩn bị cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata và cao fructus rubi.

Herba euphorbiae humifusae hoặc folium ampelopsis grossedentata hoặc fructus rubi mà đã được nghiền và sàng bằng sàng cỡ 24 được bổ sung vào trong thùng chiết, bổ sung 40% etanol, làm dung môi chiết, với khối lượng gấp 15 lần trọng lượng của nguyên liệu, và chiết trong 40 giây ở nhiệt độ trong phòng. Van nối giữa thiết bị chiết ép và thiết bị chiết giải nén chân không được mở, và nguyên liệu lỏng được nạp vào trong thiết bị chiết giải nén chân không do sự khác biệt về áp suất và sau đó chiết trong 25 phút ở nhiệt độ là 50℃ và áp suất là 0,07 Mpa thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết thu được và cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 50℃, mức chân không là từ -0,05

Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 đến 1,15 thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là 165℃, nhiệt độ đầu ra từ 75℃ và nhiệt độ nạp là từ 14 mL/phút thu được cao herba euphorbiae humifusae hoặc cao folium ampelopsis grossedentata hoặc cao fructus rubi.

(2) Chuẩn bị cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche.

Herba portulacae hoặc rhizoma polygonati hoặc herba cistanche nghiền thô được bổ sung vào trong thùng nghiền hạt, bổ sung 10% Na_2CO_3 làm tác nhân trợ giúp nghiền, và chiết trong 10 phút. Bổ sung nước cất trong suốt quá trình này. Nguyên liệu thu được bằng cách chiết hóa cơ học được chuyển vào trong thiết bị chiết siêu âm, bổ sung nước với khối lượng gấp 20 lần trọng lượng của nguyên liệu làm dung môi chiết, và chiết trong 40 phút ở nhiệt độ là 55℃ và cường độ siêu âm là 250 W thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết này, và sau đó cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 60℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 đến 1,15 thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là 140℃, nhiệt độ đầu ra từ 65℃ và nhiệt độ nạp là từ 14 mL/phút thu được cao herba portulacae hoặc cao rhizoma polygonati hoặc cao herba cistanche.

(3) Trộn cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata, cao fructus rubi, cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche được điều chế trong các bước (1) và (2), bổ sung β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng, và trộn đồng nhất thu được chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột.

Phương án 3:

Trong phương án này, chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo

vệ gan dựa trên trục gan đường ruột được điều chế bằng các nguyên liệu thô sau theo trọng lượng: 210 phần herba euphorbiae humifusae, 165 phần folium ampelopsis grossedentata, 240 phần fructus rubi, 210 phần herba portulacae, 140 phần rhizoma polygonati, 100 phần herba cistanche, 16 phần β-glucan nấm men, 24 phần fructooligosaccharit và 30 phần oligosaccharit đỗ tương.

Phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột bao gồm các bước sau.

(1) Chuẩn bị cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata và cao fructus rubi.

Herba euphorbiae humifusae hoặc folium ampelopsis grossedentata hoặc fructus rubi mà đã được nghiền và sàng bằng sàng cỡ 24 được bổ sung vào trong thùng chiết, bổ sung 55% etanol, làm dung môi chiết, với khối lượng gấp 20 lần trọng lượng của nguyên liệu, và chiết trong 50 giây ở nhiệt độ trong phòng. Van nối giữa thiết bị chiết ép và thiết bị chiết giải nén chân không được mở, và nguyên liệu lỏng được nạp vào trong thiết bị chiết giải nén chân không do sự khác biệt về áp suất và sau đó chiết trong 25 phút ở nhiệt độ là 50℃ và áp suất là 0,08 Mpa thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết thu được và cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 50℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 đến 1,15 thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là 165℃, nhiệt độ đầu ra từ 75℃ và nhiệt độ nạp là từ 15 mL/phút thu được cao herba euphorbiae humifusae hoặc cao folium ampelopsis grossedentata hoặc cao fructus rubi.

(2) Chuẩn bị cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche.

Herba portulacae hoặc rhizoma polygonati hoặc herba cistanche nghiền thô được bổ sung vào trong thùng nghiền hạt, bổ sung 10% Na_2CO_3 làm tác nhân trợ giúp nghiền, và chiết trong 4 phút. Bổ sung nước cất trong suốt quá

trình này. Nguyên liệu thu được bằng cách chiết hóa cơ học được chuyển vào trong thiết bị chiết siêu âm, bổ sung nước với khối lượng gấp 15 lần trọng lượng của nguyên liệu làm dung môi chiết, và chiết trong 30 phút ở nhiệt độ là 65℃ và cường độ siêu âm là 350 W thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết này, và sau đó cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 60℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 đến 1,15 thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là 160℃, nhiệt độ đầu ra từ 60℃ và nhiệt độ nạp là từ 10 mL/phút thu được cao herba portulacae hoặc cao rhizoma polygonati hoặc cao herba cistanche.

(3) Trộn cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata, cao fructus rubi, cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche được điều chế trong các bước (1) và (2), bổ sung β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng, và trộn đồng nhất thu được chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột.

Phương án 4:

Trong phương án này, chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột được điều chế bằng các nguyên liệu thô sau theo trọng lượng: 280 phần herba euphorbiae humifusae, 210 phần folium ampelopsis grossedentata, 260 phần fructus rubi, 280 phần herba portulacae, 170 phần rhizoma polygonati, 140 phần herba cistanche, 20 phần β-glucan nấm men, 45 phần fructooligosaccharit và 50 phần oligosaccharit đỗ tương.

Phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột bao gồm các bước sau.

(1) Chuẩn bị cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata và cao fructus rubi.

Herba euphorbiae humifusae hoặc folium ampelopsis grossedentata hoặc fructus rubi mà đã được nghiền và sàng bằng sàng cỡ sàng 50 được bổ sung

vào trong thùng chiết, bổ sung 60% etanol, làm dung môi chiết, với khối lượng gấp 30 lần trọng lượng của nguyên liệu, và chiết trong 100 giây ở nhiệt độ trong phòng. Van nối giữa thiết bị chiết ép và thiết bị chiết giải nén chân không được mở, và nguyên liệu lỏng được nạp vào trong thiết bị chiết giải nén chân không do sự khác biệt về áp suất và sau đó chiết trong 40 phút ở nhiệt độ là 60℃ và áp suất là 0,1 Mpa thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết thu được và cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 50℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 đến 1,15 thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là 175℃, nhiệt độ đầu ra từ 80℃ và nhiệt độ nạp là từ 18 mL/phút thu được cao herba euphorbiae humifusae hoặc cao folium ampelopsis grossedentata hoặc cao fructus rubi.

(2) Chuẩn bị cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche.

Herba portulacae hoặc rhizoma polygonati hoặc herba cistanche nghiền thô được bổ sung vào trong thùng nghiền hạt, bổ sung 25% Na_2CO_3 làm tác nhân trợ giúp nghiền, và chiết trong 10 phút. Bổ sung nước cất trong suốt quá trình này. Nguyên liệu thu được bằng cách chiết hóa cơ học được chuyển vào trong thiết bị chiết siêu âm, bổ sung nước với khối lượng gấp 25 lần trọng lượng của nguyên liệu làm dung môi chiết, và chiết trong 60 phút ở nhiệt độ là 75℃ và cường độ siêu âm là 450 W thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết này, và sau đó cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 60℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 đến 1,15 thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là 160℃, nhiệt độ đầu ra từ 75℃ và nhiệt độ nạp là từ 18 mL/phút thu được cao herba portulacae hoặc cao rhizoma polygonati hoặc cao herba cistanche.

(3) Trộn cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis

grossedentata, cao fructus rubi, cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche được điều chế trong các bước (1) và (2), bổ sung β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng, và trộn đồng nhất thu được chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ so sánh 1:

Trong phương án này, chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột được điều chế bằng các nguyên liệu thô sau theo trọng lượng: 210 phần herba euphorbiae humifusae, 165 phần folium ampelopsis grossedentata, 240 phần fructus rubi, 210 phần herba portulacae, 140 phần rhizoma polygonati, 100 phần herba cistanche, 16 phần β-glucan nấm men, 24 phần fructooligosaccharit và 30 phần oligosaccharit đỗ tương.

Phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột bao gồm các bước sau.

(1) Herba euphorbiae humifusae, folium ampelopsis grossedentata, fructus rubi, herba portulacae, rhizoma polygonati, herba cistanche, β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng được cho vào trong thùng chiết, bổ sung nước với khối lượng gấp 20 lần trọng lượng của nguyên liệu, ngâm trong 30 phút và chiết bằng phương pháp chiết thông thường, nghĩa là nấu sôi và sau đó chiết trong 60 phút, thu được dung dịch chiết. Ly tâm dung dịch chiết thu được và cô đặc dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 50℃, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 - 1,15, thu được dịch chiết sệt. Làm khô phun dịch chiết sệt này ở nhiệt độ vòi phun là 165℃, nhiệt độ đầu ra từ 75℃ và nhiệt độ nạp là từ 15 mL/phút thu được hỗn hợp cao chiết năm nguyên liệu thô này.

(2) Hỗn hợp cao chiết được điều chế trong bước (1) được bổ sung β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng và trộn đồng nhất thu được chất điều hòa vi

môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột.

Hiệu quả của chất điều hòa được điều chế trong các phương án này được thử nghiệm trong sáng chế này. Cụ thể là, các thử nghiệm đánh giá hiệu quả của chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan được tiến hành trên cơ sở mô hình chuột bị tổn thương gan cấp tính cùng với rối loạn vi môi trường đường ruột.

Phương pháp thử nghiệm: 130 con chuột Kunming với trọng lượng 20±2g được sử dụng, bao gồm cả hai chuột đực và cái. Chuột được cho ăn để thích ứng trong 1 tuần, và sau đó chia ngẫu nhiên thành 13 nhóm mỗi nhóm có 10 con chuột, nghĩa là, nhóm đối chứng bình thường, nhóm đối chứng mô hình, nhóm chế phẩm livzon bifidobacterium (nhóm đối chứng dương 1), nhóm sử dụng viên nén bảo vệ gan (nhóm đối chứng dương 2), nhóm theo phương án 1, nhóm theo phương án 2, nhóm liều thấp theo phương án 3 (5,0 g/kg), nhóm liều trung bình theo phương án 3 (10,0 g/kg), nhóm liều cao theo phương án 3 (20,0 g/kg), nhóm dịch chiết theo phương án 3 (hỗn hợp chứa các loại cao dược phẩm y học cổ truyền Trung Quốc), nhóm prebiotic theo phương án 3 (hỗn hợp các prebiotic), nhóm theo phương án 4 và nhóm theo phương án 5. Ngoại trừ nhóm đối chứng bình thường, chuột trong mỗi nhóm được dùng lincomycin bằng cách đưa vào trong dạ dày 0,3 mL/lần, hai lần một ngày trong 3 ngày liên tiếp, và chuột trong mỗi nhóm được tiêm trong màng bụng 10% D-aminogalactoza với liều dùng 0,8 g/kg, để tạo mô hình chuột bị tổn thương gan cấp tính cùng với rối loạn vi môi trường đường ruột. Sau khi tạo ra mô hình này, chuột trong nhóm đối chứng bình thường và nhóm mô hình đối chứng được sử dụng bằng nước muối bình thường với thể tích như bằng ống đưa vào dạ dày; chuột trong nhóm livzon bifidobacterium được sử dụng dung dịch chế phẩm livzon bifidobacterium với 50 triệu vi khuẩn sống/mL với liều dùng 0,3 mL/lần bằng ống đưa vào dạ dày; chuột trong nhóm sử dụng viên nén bảo vệ gan, nhóm theo phương án 1, nhóm theo phương án 2, nhóm theo phương án 4, nhóm theo phương án 5, nhóm liều trung bình theo phương án 3, nhóm dịch chiết theo phương án 3 và nhóm prebiotic theo phương án 3 được sử

dụng bằng nước muối bình thường với liều dùng 10,0 g/kg bằng ống đưa vào dạ dày; chuột trong nhóm liều thấp theo phương án 3 và nhóm liều cao theo phương án 3 được sử dụng tách biệt bằng nước muối bình thường với liều dùng 5,0 g/kg và 20,0 g/kg bằng ống đưa vào dạ dày một lần một ngày trong 7 ngày liên tiếp. Chuột được giết bằng cách trật khớp cổ tử cung. Lấy máu từ nhãn cầu của tất cả các con chuột, tách huyết thanh, và các mức nội độc tố, alanin aminotransferaza (ALT) huyết thanh và aspertat aminotransferaza (AST) được đo. Thùy trái của gan chuột trong mỗi nhóm được cố định, được cắt lát thành các phần đông lạnh và nhuộm bằng HE, và sự thay đổi bệnh lý của mô gan được quan sát bằng kính hiển vi. Các mô gan nhỏ, mà là cách xa 0,5cm từ cạnh của thùy gan phải của chuột trong mỗi nhóm, được cố định bằng dung dịch formaldehyt 10% và được làm thành hỗn dịch gan 10% với nước muối bình thường lạnh, và hàm lượng malondialdeht (MDA) và superoxit dismutaza (SOD) trong dịch đồng nhất mô gan được đo. 5,0 g chất chứa trong manh tràng được thu lại một cách vô trùng bổ sung nước muối bình thường, 4 mL nước muối bình thường cho 1,0 g chất chứa, và được làm dao động trong 15 phút bằng máy dao động thu được huyền phù. Ly tâm huyền phù này để thu được phần để thu được dung dịch vi khuẩn đường ruột. Dung dịch vi khuẩn đường ruột này được pha loãng bằng nước muối bình thường vô trùng, và được sử dụng để nuôi cấy chọn lọc bifidobacterium, lactobacillus, enterobacterium và enterococcus. Khi kết thúc nuôi cấy, số lượng các khuẩn lạc được đếm. Các kết quả được biểu thị bằng giá trị loga của số khuẩn lạc cho mỗi gam phân.

Kết quả thử nghiệm:

(1) Chuột trong nhóm đối chứng bình thường sống trong tinh thần tốt, có lông bóng, sự hấp thu thức ăn, sự hấp thu nước và phân bình thường, và nhạy với các kích thích bên ngoài. Sau khi đưa vào lincomycin bằng ống đưa vào dạ dày, chuột đã ngủ lịm, chuyển động chậm sự hấp thu thức ăn và sự hấp thu nước giảm, phân ướt và các tình trạng tương tự. Sau khi được tiêm trong màng bụng D-aminogalactoza, chuột trong tinh thần kém, với bộ lông xù xì và xỉn màu, kèm với rụng lông, phân ướt trầm trọng hơn. Sau khi được xử lý trong

bảy ngày, chuột trong nhóm đối chứng dương và trong tất cả các nhóm dùng được đảo ngược đến mức độ nhất định, và sự di chuyển, tình trạng lông, sự hấp thu thức ăn, sự hấp thu nước, độ khô của phân và tình trạng tương tự được cải thiện đến mức độ nhất định.

(2) So với nhóm đối chứng bình thường, các mức nội độc tố, ALT, AST và MDA trong huyết thanh của chuột trong nhóm mô hình đối chứng được tăng lên đáng kể ($P<0,01$), và mức SOD được giảm đáng kể ($P<0,01$). Cho thấy rằng mô hình tổn thương gan được thiết lập thành công. So với nhóm mô hình đối chứng, mức nội độc tố, ALT, AST và MDA trong huyết thanh của chuột trong nhóm sử dụng viên nén bảo vệ gan được giảm đáng kể ($P<0,05$ và $P<0,01$), và mức SOD được tăng đáng kể ($P<0,01$). Mặc dù các mức nội độc tố, ALT, AST và MDA trong huyết thanh của chuột trong nhóm livzon bifidobacterium và nhóm prebiotic theo phương án 3 thể hiện xu hướng giảm, sự khác biệt không đáng kể ($P>0,05$); và, mức SOD cho thấy xu hướng tăng, nhưng sự khác biệt không đáng kể ($P<0,01$). Cho thấy rằng sự điều hòa đơn giản vi môi trường đường ruột là có lợi để cải thiện sự tổn thương gan đến mức độ nhất định. Các mức nội độc tố, ALT, AST và MDA trong huyết thanh của chuột trong nhóm theo phương án 1, nhóm theo phương án 2, các nhóm liều dùng khác nhau của phương án 3, nhóm dịch chiết theo phương án 3, nhóm theo phương án 4 và nhóm theo phương án 5 bị giảm đáng kể ($P<0,05$ và $P<0,01$), và mức SOD được tăng đáng kể ($P<0,01$). Cho thấy rằng sự tổn thương gan có thể được cải thiện hiệu quả trong các nhóm này. Các kết quả về sự so sánh giữa các nhóm nữa cho thấy rằng việc sử dụng các cao này với prebiotic cho thấy sự tương tác hiệp đồng tốt, và cao được điều chế bằng cách chiết ép kết hợp với chiết chân không dưới áp suất thấp và chiết hóa cơ học kết hợp với chiết có sự trợ giúp siêu âm có hiệu quả tốt hơn so với các cao được điều chế bằng phương pháp chiết thông thường. Các kết quả thử nghiệm cụ thể được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1: So sánh hàm lượng nội độc tố, ALT, AST, MDA và SOD trong

huyết thanh chuột trong các nhóm thử nghiệm ($\bar{x}$±s, n=10)

Nhóm	Nội độc tố (ng/mL)	ALT (U/L)	AST (U/L)	MDA (nmol/g)	SOD (U/mg)
Nhóm theo phương án 1	50,50±4,88##	77,68±4,49##	74,57±7,88##	2,89±0,56#	173,50±8,44##
Nhóm theo phương án 2	52,56±3,46##	79,80±5,45##	79,45±6,79##	3,00±0,59#	167,77±6,76##
Nhóm liều thấp theo phương án 3 (5,0g/kg)	58,25±6,28##	89,33±8,90##	79,30±5,90##	2,87±0,55#	160,78±9,32##
Nhóm liều trung bình theo phương án 3 (10,0g/kg)	40,75±4,70##	67,36±5,77##	60,21±3,44##	2,68±0,88#	189,78±10,20##
Nhóm liều cao theo phương án 3 (20,0g/kg)	38,58±9,55##	71,34±5,70##	58,56±5,78##	2,48±0,81#	193,72±9,56##
Nhóm dịch chiết theo phương án 3	65,20±4,29#	110,22±8,97#	80,55±4,00#	2,98±0,47#	147,78±13,60#
Nhóm phương án 3 prebiotic	72,58±4,55	133,23±11,34	88,45±7,44	3,55±0,57	126,52±14,50
Nhóm theo phương án 4	51,57±3,59##	70,32±6,77##	62,00±5,22##	2,77±0,34#	178,84±8,68##
Nhóm theo phương án 5	63,10±5,45#	100,23±6,57#	78,05±4,56#	2,98±0,45#	139,56±10,21#
Nhóm chế phẩm livzon bifidobacterium	70,57±2,77	134,32±10,21	85,77±4,57	3,38±0,30	130,00±12,44

Nhóm sử dụng viên nén bảo vệ gan	32,22±7,79$^{\#\#}$	61,32±6,89$^{\#\#}$	54,37±8,40$^{\#\#}$	2,47±1,08$^{\#}$	198,45±12,56$^{\#\#}$
Nhóm đối chứng mô hình	77,47±6,77**	145,67±19,22**	92,55±9,96**	3,68±0,45**	123,27±15,27**
Nhóm đối chứng bình thường	26,85±5,89	39,33±4,87	27,63±5,43	1,87±0,66	256,34±21,33

So với nhóm đối chứng bình thường: $^{**}P<0,01$; so với nhóm mô hình đối chứng: $^{\#}P<0,05$, $^{\#\#}P<0,01$

(3) Bằng cách so sánh các lát cắt mô gan chuột được nhuộm HE trong mỗi nhóm, có thể được biết rằng tiểu thùy gan chuột trong nhóm đối chứng bình thường có cấu trúc bình thường, không sưng phồng, thoái hóa mỡ, hoại tử mô và yếu tố tương tự, và không có sự thâm nhiễm tế bào viêm trong tiểu thùy gan và vùng rãnh ngang gan và không có chứng phì đại mô liên kết sợi. So với nhóm bình thường, tiểu thùy gan chuột trong nhóm mô hình đối chứng có ranh giới không rõ ràng và các vùng và có vùng hoại tử ổ, các tế bào gan đang sưng lên rõ ràng và có sự thay đổi phồng lên khuếch tán, có sự hoại tử như bông tế bào gan cùng với sự thâm nhiễm tế bào viêm trong vùng tiểu thùy, và có sự thâm nhiễm tế bào viêm trong vùng rãnh ngang gan, được chỉ ra tiếp rằng mô hình này được thiết lập thành công. Các cấu trúc của các tiểu thùy gan và các vùng rãnh ngang gan của chuột trong nhóm sử dụng viên nén bảo vệ gan có xu hướng bình thường, mức độ bệnh được giảm và giảm thâm nhiễm tế bào viêm. Chuột trong nhóm livzon bifidobacterium và nhóm prebiotic theo phương án 3 được cải thiện nhẹ, nhưng vẫn phồng, phù tế bào gan cao, thay đổi phồng, hoại tử ổ và sự thâm nhiễm tế bào viêm rõ ràng. Trong nhóm theo phương án 1, nhóm theo phương án 2, các nhóm liều dùng khác nhau theo phương án 3 và nhóm theo phương án 4, các mô gan cho thấy không hoại tử rõ ràng, các tế bào gan thể hiện phù nhẹ, và hầu hết các tế bào gan có cấu trúc bình thường. Trong

nhóm dịch chiết theo phương án 3 và nhóm theo phương án 5, khối lượng nhỏ tế bào gan phồng và một phần tế bào gan phồng nhẹ, với sự thay đổi phồng không thường xuyên, hoại tử ổ và sự thâm nhiễm tế bào viêm. Do đó, chỉ ra tiếp rằng chất điều hòa theo sáng chế có thể phục hồi mô gan bị tổn thương và bảo vệ chống lại sự tổn thương gan.

(4) So với nhóm đối chứng bình thường, số lượng bifidobacterium và lactobacillus trong dải đường ruột của chuột trong nhóm mô hình đối chứng đã giảm đáng kể ($P<0,01$), và số lượng enterobacterium và enterococcus đã tăng đáng kể ($P<0,01$). Được chỉ ra rằng mô hình rối loạn vi môi trường đường ruột được thiết lập thành công. So với nhóm mô hình đối chứng, số lượng bifidobacterium và lactobacillus trong dải đường ruột của chuột trong nhóm livzon bifidobacterium đã tăng đáng kể ($P<0,01$), và số lượng enterobacterium và enterococcus đã giảm đáng kể ($P<0,05$ và $P<0,01$). Trong nhóm dịch chiết theo phương án 3 và nhóm sử dụng viên nén bảo vệ gan, số lượng bifidobacterium và lactobacillus trong dải đường ruột của chuột cho thấy xu hướng tăng, và số lượng enterobacterium và enterococcus cho thấy xu hướng giảm, nhưng sự khác biệt không đáng kể ($P>0,05$). Được chỉ ra rằng việc sử dụng dược chất bảo vệ gan là có lợi để điều hòa hệ vi môi trường đường ruột đến mức độ nhất định, nhưng hiệu quả là không rõ ràng trong khoảng thời gian ngắn. Trong nhóm theo phương án 1, nhóm theo phương án 2, các nhóm liều dùng khác nhau theo phương án 3, nhóm prebiotic theo phương án 3, nhóm theo phương án 4 và nhóm theo phương án 5, số lượng bifidobacterium và lactobacillus trong dải đường ruột của chuột đã tăng đáng kể ($P<0,05$ và $P<0,01$), và số lượng enterobacterium và enterococcus đã giảm đáng kể ($P<0,05$ và $P<0,01$). Được chỉ ra rằng, cho tất cả các nhóm này, sự sinh trưởng và nhân lên của các vi khuẩn có lợi trong dải đường ruột, sự ức chế vi khuẩn có hại và điều hòa hệ vi môi trường đường ruột có thể được thúc đẩy hiệu quả. Kết quả của sự so sánh giữa các nhóm nữa cho thấy rằng việc sử dụng các cao này cùng với prebiotic cho thấy sự tương tác hiệp đồng tốt, và cao được điều chế bằng cách chiết ép kết hợp với chiết chân không dưới áp suất thấp và chiết hóa

cơ học kết hợp với chiết có sự trợ giúp siêu âm có hiệu quả tốt hơn so với cao được điều chế bằng phương pháp chiết thông thường. Kết quả thử nghiệm cụ thể được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2: So sánh các kết quả phát hiện định lượng của bốn loại vi khuẩn trong dải đường ruột của chuột trong các nhóm thử nghiệm (logN/g, x±s, n=10)

Nhóm	Bifidobacterium	Lactobacillus	Enterobacterium	Enterococcus
Nhóm theo phương án 1	7,42±0,55##	6,96±0,79#	8,90±0,39##	7,31±1,09##
Nhóm theo phương án 2	7,72±0,46##	7,12±0,37##	8,79±0,48##	7,43±0,38#
Nhóm liều thấp theo phương án 3 (5,0g/kg)	7,62±0,40##	7,07±0,46##	8,95±0,70#	7,26±0,66##
Nhóm liều trung bình theo phương án 3 (10,0g/kg)	8,23±0,57##	7,53±0,77##	8,25±0,59#	6,89±0,79##
Nhóm liều cao theo phương án 3 (20,0g/kg)	8,55±0,64##	7,86±0,89##	7,95±0,77##	6,55±0,72##
Nhóm dịch chiết theo phương án 3	6,05±0,26	5,22±0,30	9,33±0,27	8,34±0,25
Nhóm prebiotic phương án 3	6,98±0,19#	6,84±0,52#	9,08±0,20#	8,16±0,40#
Nhóm theo phương án 4	7,91±0,22##	7,25±0,37##	8,87±0,36#	7,12±0,33##
Nhóm theo phương án 5	7,21±0,33#	6,94±0,18#	9,06±0,40#	7,77±0,38#

Nhóm chế phẩm livzon bifidobacterium	7,81±0,26##	7,58±0,35##	8,86±0,36#	7,67±0,07##
Nhóm sử dụng viên nén bảo vệ gan	5,97±0,20	5,66±0,09	9,47±0,87	8,45±0,28
Nhóm đối chứng mô hình	5,47±0,11**	5,29±0,23**	10,23±1,77**	9,23±0,48**
Nhóm đối chứng bình thường	9,09±0,98	8,33±0,23	7,26±0,07	5,44±0,69

So với nhóm đối chứng bình thường: $^{**}P<0,01$; so với nhóm mô hình đối chứng: $^{\#}P<0,05$, $^{\#\#}P<0,01$

Yêu cầu bảo hộ:

1. Chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột, trong đó nguyên liệu thô để điều chế chất điều hòa này bao gồm các thành phần sau theo trọng lượng:

100 - 300 phần herba euphorbiae humifusae, 60 - 210 phần folium ampelopsis grossedentata, 100 - 300 phần fructus rubi, 100 - 300 phần herba portulacae, 60 - 180 phần rhizoma polygonati, 50 - 150 phần herba cistanche, 5 - 20 phần β-glucan nấm men, 10 - 50 phần fructooligosaccharit và 10 - 60 phần oligosaccharit đỗ tương;

trong đó, phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột này bao gồm các bước sau:

(1) chuẩn bị cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata và cao fructus rubi;

(2) chuẩn bị cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche; và

(3) trộn cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata, cao fructus rubi, cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche được điều chế trong các bước (1) và (2), bổ sung β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng, và trộn đồng nhất thu được chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột;

cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata và cao fructus rubi thu được bằng các bước sau:

(A) chiết ép: nghiền và sàng herba euphorbiae humifusae/folium ampelopsis grossedentata/fructus rubi bằng sàng cỡ 10-80, cho vào trong thùng chiết, bổ sung etanol 20-75%, làm dung môi chiết, với khối lượng gấp từ 8-30 lần trọng lượng của nguyên liệu này, và chiết trong 5 - 120 giây ở nhiệt độ trong phòng;

(B) chiết chân không dưới áp suất thấp: mở van nối giữa thiết bị chiết ép và thiết bị chiết giải nén chân không, và nạp nguyên liệu lỏng này vào trong

thiết bị chiết giải nén chân không do sự khác biệt về áp suất chiết thu được dung dịch chiết;

(C) ly tâm: ly tâm dung dịch chiết thu được dung dịch trong;

(D) cô đặc dưới áp suất thấp: cô đặc dung dịch trong này dưới áp suất thấp thu được dịch chiết; và

(E) làm khô phun: làm khô phun dịch chiết này thu được cao herba euphorbiae humifusae/cao folium ampelopsis grossedentata/cao fructus rubi.

2. Chất điều hòa vi môi trường theo điểm 1, trong đó chất điều hòa này được điều chế từ các nguyên liệu thô sau theo phần trọng lượng: 210 phần herba euphorbiae humifusae, 165 phần folium ampelopsis grossedentata, 240 phần fructus rubi, 210 phần herba portulacae, 140 phần rhizoma polygonati, 100 phần herba cistanche, 16 phần β-glucan nấm men, 24 phần fructooligosaccharit và 30 phần oligosaccharit đỗ tương.

3. Chất điều hòa vi môi trường theo điểm 2, trong đó dịch chiết herba euphorbiae humifusae, dịch chiết folium ampelopsis grossedentata và dịch chiết fructus rubi thu được bằng cách chiết ép kết hợp với chiết chân không dưới áp suất thấp và sau đó xử lý sau, và cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche thu được bằng cách chiết hóa cơ học kết hợp với chiết có sự trợ giúp siêu âm và sau đó xử lý sau.

4. Phương pháp điều chế chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 - 3, trong đó bao gồm các bước sau:

(1) chuẩn bị cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata và cao fructus rubi;

(2) chuẩn bị cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche; và

(3) trộn cao herba euphorbiae humifusae, cao folium ampelopsis grossedentata, cao fructus rubi, cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati

và cao herba cistanche được điều chế trong các bước (1) và (2), bổ sung β-glucan nấm men, fructooligosaccharit và oligosaccharit đỗ tương theo các phần tương ứng theo trọng lượng, và trộn đồng nhất thu được chất điều hòa vi môi trường trong đường ruột bảo vệ gan dựa trên trục gan đường ruột.

5. Phương pháp theo điểm 4, trong đó trong khi chiết chân không dưới áp suất thấp, nhiệt độ chiết là từ 40°C đến 65°C, áp suất chiết là từ 0,05 - 0,1 Mpa, và chiết kéo dài trong 20 - 40 phút; và, trong khi cô đặc dưới áp suất thấp, nhiệt độ cô đặc là 50°C, mức chân không được kiểm soát là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa, tỷ trọng tương đối được kiểm soát là từ 1,05 - 1,15.

6. Phương pháp theo điểm 4, trong đó các thông số quy trình để làm khô phun là như sau: nhiệt độ đầu phun là từ 160°C đến 180°C, nhiệt độ đầu ra là từ 70°C đến 85°C, và tốc độ nạp là từ 10 - 20 mL/phút.

7. Phương pháp theo điểm 4, trong đó cao herba portulacae, cao rhizoma polygonati và cao herba cistanche thu được bằng các bước sau:

(A) chiết hóa cơ học: bổ sung herba portulacae/rhizoma polygonati/herba cistanche được ép thô vào trong thùng nghiền hạt, bổ sung Na_2CO_3 có nồng độ theo thể tích là từ 5 - 30% làm tác nhân trợ giúp nghiền, chiết trong từ 3 - 15 phút, và cung cấp nước cất trong toàn bộ quá trình này;

(B) chiết có sự trợ giúp siêu âm: chuyển nguyên liệu thu được bằng cách chiết hóa cơ học vào trong thiết bị chiết siêu âm, bổ sung nước với khối lượng mà là gấp từ 10-30 lần trọng lượng của nguyên liệu này làm dung môi chiết, và chiết thu được dung dịch chiết;

(b) ly tâm: ly tâm dung dịch chiết thu được dung dịch trong;

(D) cô đặc dưới áp suất thấp: cô đặc dung dịch trong này dưới áp suất thấp ở nhiệt độ là 60°C, mức chân không là từ -0,05 Mpa đến -0,08 Mpa và tỷ trọng tương đối là từ 1,05 - 1,15 thu được dịch chiết; và

(E) làm khô phun: làm khô phun dịch chiết này ở nhiệt độ vòi phun là từ

130°C đến 160°C, nhiệt độ đầu ra từ 60°C đến 80°C và nhiệt độ nạp là từ 10 - 20 mL/phút thu được cao herba portulacae/cao rhizoma polygonati/cao herba cistanche.

8. Phương pháp theo điểm 7, trong đó trong khi chiết có sự trợ giúp siêu âm, nhiệt độ chiết là từ 40°C đến 80°C, chiết kéo dài trong 20 - 80 phút, và cường độ siêu âm là từ 100 - 500 W.