



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

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

(11)



2-0002492

(51) **A61K 31/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00404

(22) 20/12/2018

(67) 1-2018-05780

(45) 25/11/2020 392

(43) 25/04/2019 373A

(73) **CÔNG TY CỔ PHẦN CÔNG NGHỆ MỚI NHẬT HẢI (VN)**

Số 9 BT2 Bán đảo Linh Đàm, phường Hoàng Liệt, quận Hoàng Mai, thành phố Hà Nội

(72) Lưu Hải Minh (VN); Bùi Quốc Anh (VN).

(54) **QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỆ VI NHŨ TƯƠNG NANO GINKGO BILOBA**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị pha phân tán; b) chuẩn bị chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/ etylen glycol; c) phối trộn hệ nhũ tương ginkgo biloba bằng cách trộn pha phân tán, chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/ etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin; và d) tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Ginkgo biloba (còn gọi là cây bạch quả) là một loài thực vật đã tồn tại rất lâu được trồng ở Trung Quốc. Thời đó, bột ginkgo biloba thường được sử dụng trong các bài thuốc giúp cải thiện hoạt động của não. Ngày nay, ginkgo biloba đã được nhiều nước phương Tây biết đến và được sử dụng trong nhiều loại thực phẩm chức năng và thuốc. Các nghiên cứu cho thấy hạt ginkgo chứa khoảng 60% –70% tinh bột, 2% –4% lipid, và 0,8% –1,2% pectin; còn lá ginkgo có chứa một loạt các hoạt chất trong đó có khoảng 24% là các polyphenol như isorhamnetin, kaempferol, và quercetin và 6% terpene lacton. Các chất này đều có hoạt tính chống ung thư, điều trị rối loạn chức năng thần kinh và hỗ trợ phòng ngừa bệnh. Chúng cũng đóng một vai trò trong việc cải thiện các triệu chứng suy giảm trí nhớ nhẹ, suy não và mất trí nhớ bao gồm cả bệnh Alzheimer. Các nghiên cứu thử nghiệm in vitro cho thấy các hoạt chất trong ginkgo biloba có thể bảo vệ chống thoái hóa thần kinh do thiếu máu cục bộ. Tuy nhiên, do khả năng khuếch tán thụ động, độ tan kém làm hạn chế sự hấp thu các hoạt chất và thẩm thấu chúng trong cơ thể nên sinh khả dụng của ginkgo biloba theo đường uống thấp. Trong giải pháp hữu ích này, chúng tôi mô tả phương pháp chế tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba nhằm mục tiêu làm tăng khả năng khuếch tán, tăng tỷ lệ hấp thu, tăng thời gian lưu giữ giúp cho các hạt nano ginkgo biloba có thể vượt qua được hàng rào máu não để tăng khả năng hỗ trợ trong điều trị bệnh của ginkgo biloba.

Có rất nhiều các nghiên cứu đã được thực hiện để cải thiện tốt hơn khả năng hấp thu và tận dụng những lợi ích tiềm năng mà ginkgo biloba đem tới đối với sức khỏe con người. Cụ thể là một số các công trình sau.

Tác giả Wang và cộng sự trong một nghiên cứu có tên “Enhanced dissolution rate and oral bioavailability of ginkgo biloba extract by preparing nanoparticles via emulsion solvent evaporation combined with freeze drying (ESE-FR)” dùng phương pháp nhũ tương hoá và đông khô thu được hạt nano ginkgo kích thước 56 nm ở dạng nhũ tương và 277 nm sau khi đông khô. Ưu điểm của phương pháp là tăng sinh khả dụng của hạt nano ginkgo biloba lên 1,8 lần so với bột ginkgo biloba thô nhưng nó lại đi kèm với nhược điểm là sự phức tạp trong phương pháp chế tạo khi phải sử dụng thiết bị đông hoá áp suất cao tới 500 bar. Đặc biệt sản phẩm vẫn còn chứa một lượng nhỏ dung môi cloroform và etanol.

Tác giả Shimada trong patent US 2008/0254126 A1 đã nêu lên quy trình điều chế hạt nano ginkgo biloba bằng phương pháp nghiền nhỏ kết hợp ở dạng khô và dạng ướt và thu được các hạt nano ginkgo biloba có kích thước dưới 100 nm. Nhược điểm của phương pháp này cũng là sử dụng áp suất cao 250 Mpa, nhiệt độ cao 80°C và thiết bị phun và hệ thống màng lọc phức tạp.

Tác giả Anna cùng các cộng sự với công trình *Flavonoid loaded in nanocarriers: an opportunity to increase oral bioavailability and bioefficacy* đã trình bày tổng kết các phương pháp dẫn thuốc sử dụng công nghệ nano để làm tăng tính ổn định, sinh khả dụng và hiệu quả sinh học của các flavonoid như hệ vi nhũ tương nanoemulsion, viên nang lipid cấu trúc nano...Điều này chứng tỏ phương pháp nhũ tương hoá kết hợp sử dụng công nghệ nano đã trở thành một phương pháp tiên tiến trong ngành y dược để làm tăng sinh khả dụng và hiệu quả sinh học của các hoạt chất thiên nhiên.

Tác giả Sandeep cùng các cộng sự với công trình *Ginkgo biloba a source of bioactive natural products: a review* đã tổng kết các tác dụng của các hoạt tính có trong dịch chiết ginkgo biloba như khả năng chống hình thành các khối u, chống vi khuẩn, chống nấm, tiêu diệt các gốc tự do, làm giảm kết tụ tiểu cầu, cải thiện lưu lượng máu và giảm tác dụng thần kinh được sử dụng trong các rối loạn trí nhớ bao gồm cả bệnh Alzheimer. Ngoài ra các hoạt chất còn được sử dụng trong tình trạng giảm lưu lượng máu trong não ở người lớn tuổi như mất trí nhớ, đau đầu, ù tai, chóng mặt, khó tập trung, rối

loạn tâm lý và rối loạn thính giác. Điều đó chứng tỏ các tác dụng tuyệt vời và vai trò rất quan trọng của ginkgo biloba trong việc hỗ trợ điều trị và phòng ngừa rất nhiều bệnh cho con người.

Để khắc phục nhược điểm của các phương pháp và tận dụng được các hoạt tính tuyệt vời của ginkgo biloba, chúng tôi đề xuất một quy trình chế tạo hệ vi nhũ tương với cách tiến hành đơn giản, đồng thời thu được kích thước hạt lại nhỏ dưới 50 nm.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là làm tăng khả năng khuếch tán, hấp thu và thẩm thấu của hoạt chất ginkgo biloba trong cơ thể nhằm nâng cao khả năng vượt qua hàng rào máu não và tăng tính sinh khả dụng của hoạt chất này. Chính vì vậy, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba sử dụng công nghệ nhũ tương hoá với hệ chất hoạt động bề mặt thông minh. Quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho một lượng bột ginkgo biloba hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 5:100 (g/mL) trên máy khuấy từ trong thời gian 5 giờ với tốc độ quay 500 vòng/phút ở 50°C thu được dung dịch ginkgo biloba;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách phối trộn hỗn hợp polyetylen glycol và etylen glycol theo tỷ lệ 4:10 (g/mL) trên máy rung siêu âm trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng;

c) phối trộn hệ nhũ tương ginkgo biloba bằng cách trộn dung dịch ginkgo biloba, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin sao cho chất ginkgo biloba, polyetylen glycol và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ ginkgo biloba:polyetylen glycol:lexitin là 5/4/5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c, ở nhiệt độ phòng, sau đó ly tâm với tốc độ 3000 vòng/ phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là hình vẽ kết quả ảnh TEM độ phân giải cao của hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba được trình bày một cách chi tiết dưới đây.

a) chuẩn bị pha phân tán ginkgo biloba được hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 5:100 (g/mL) trên máy khuấy từ trong thời gian 5 giờ với tốc độ quay 500 vòng/phút ở 50°C thu được dung dịch ginkgo biloba.

Phương pháp sử dụng trong giải pháp hữu ích là phương pháp nano hoá theo hướng “bottom up” tức là tạo ra hạt nano từ mức độ phân tử. Do đó các tác giả sáng chế đã nghiên cứu lựa chọn dung môi hoà tan ginkgo biloba là etanol vì dung môi này có khả năng hoà tan tốt mà lại rất phổ biến với giá thành rẻ. Việc hoà tan này tạo điều kiện cho sự kết hợp của pha phân tán với chất mang polyetylen glycol và chất nhũ hoá tốt hơn.

Hơn nữa, các tác giả cũng đã nghiên cứu và xác định được tỷ lệ hoà tan ginkgo biloba tốt nhất là 100 mL etanol cho 5 g bột ginkgo biloba;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách phối trộn hỗn hợp polyetylen glycol (PEG) và etylen glycol (EG) theo tỷ lệ 4:10 (g/mL) trên máy rung siêu âm trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng.

PEG là một hoá chất rất an toàn và có khả năng bao bọc tốt, giúp cho cơ thể không đào thải các hoạt chất bên trong, khiến cho việc dẫn thuốc trong cơ thể trở nên đơn giản mà không bị đào thải. Việc sử dụng thêm EG là để hỗ trợ cho việc bao bọc của PEG với hoạt chất ginkgo biloba;

c) tạo hỗn hợp nhũ tương ginkgo biloba đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/EG và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất trong hỗn hợp đồng

nhất có tỷ lệ ginkgo biloba: PEG: lexitin là 5/4/5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba bằng cách để hỗn hợp nhũ tương thu ở c qua đêm ở nhiệt độ phòng, sau đó ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Việc sử dụng thêm lexitin để tăng tính liên kết của hạt nano ginkgo biloba với hệ chất nhũ hoá và cải thiện khả năng hoà tan. Kết hợp với phương pháp ly tâm để loại bỏ hoàn toàn lượng ginkgo biloba dư và thu được hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba chứa các hạt tiểu phân ginkgo biloba ổn định nằm trong khoảng 50 nm.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan 5 g bột ginkgo biloba vào trong 100 mL dung môi etanol trên máy khuấy từ gia nhiệt ở 50°C trong thời gian 5 giờ với tốc độ khuấy 500 vòng/phút đến khi thu được pha phân tán;

Chuẩn bị hỗn hợp chất mang bằng cách trộn hỗn hợp 4 g PEG 800 và 10 mL EG được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng;

Trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/EG với 5 g chất nhũ hóa lexitin trong thiết bị tạo nhũ LSP-500 trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng thu được hỗn hợp đồng nhất;

Hỗn hợp đồng nhất thu được để qua đêm ở nhiệt độ phòng, sau đó đem đi ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút và lặp lại ly tâm 5 lần với mục đích loại ginkgo biloba dư không tạo thành hạt tiểu phân, thu được hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Sau khi thu được sản phẩm, các phương pháp phân tích hiện đại đã được tiến hành và kết quả đạt được như sau:

- Kết quả đo TEM

Ảnh đo TEM với độ phân giải cao cho thấy các tiểu phân hạt nano ginkgo biloba có dạng hình cầu với đường kính vào khoảng 30-40 nm.

- Kết quả phân tích hàm lượng bằng HPLC

Hàm lượng của ginkgo biloba trong mẫu được đo bằng HPLC. Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng ginkgo biloba trong mẫu phân tích đạt 2,74 g/100g

- Kết quả phân tích chỉ tiêu kỹ thuật

Các chỉ tiêu cảm quan:

STT	Tên chỉ tiêu	Yêu cầu
1	Trạng thái	Dạng dung dịch sệt, trong đồng nhất không tách lớp
2	Màu sắc	Màu vàng nâu đậm
3	Mùi, vị	Không ôi mốc, vị đắng

Chỉ tiêu chất lượng chủ yếu

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
1	pH		H.HD.QT.070	6,21
2	Hàm lượng carbohydrate	g/100g	H.HD.QT.336	93,9
3	Tỷ trọng	g/ml	H.HD.QT.084	1,135

Các chỉ tiêu vi sinh vật

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
1	Tổng số VSV hiếu khí	CFU/g	ISO 4833-1:2013	< 1 CFU/g
2	<i>Cl. perfringens</i>	CFU/g	TCVN 4991:2005	< 1 CFU/g
3	Coliforms	CFU/g	TCVN 6848:2007	< 1 CFU/g
4	<i>E. coli</i>	CFU/g	TCVN 7924-2:2008	< 1 CFU/g
5	Tổng số bào tử nấm mốc-men	CFU/g	TCVN 8257-2:2010	< 1 CFU/g

Hàm lượng kim loại nặng

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
1	Hàm lượng Cadimi	mg/kg	H.HD.QT.429 (ICP-MS)	<0,004
2	Hàm lượng Chì	mg/kg	H.HD.QT.429 (ICP-MS)	<0.012

Các kết quả về chỉ tiêu cảm quan, chỉ tiêu chất lượng, chỉ tiêu vi sinh vật và hàm lượng kim loại nặng cho thấy hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích đạt tiêu chuẩn được công nhận VILAS.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình điều chế vi nhũ tương nano ginkgo biloba đã chế tạo thành công hệ vi nhũ tương chứa các tiểu phân nano ginkgo biloba có kích thước giảm, đồng đều, và khả năng tan tốt trong nước.

Các chất được sử dụng trong quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba thu được từ quy trình theo sang chế có độ an toàn cao khi sử dụng.

Quy trình theo sang chế đơn giản, dễ thực hiện và phù hợp với các điều kiện thực tế hiện nay của nước ta.

YÊU CẦU BẢO HỘ

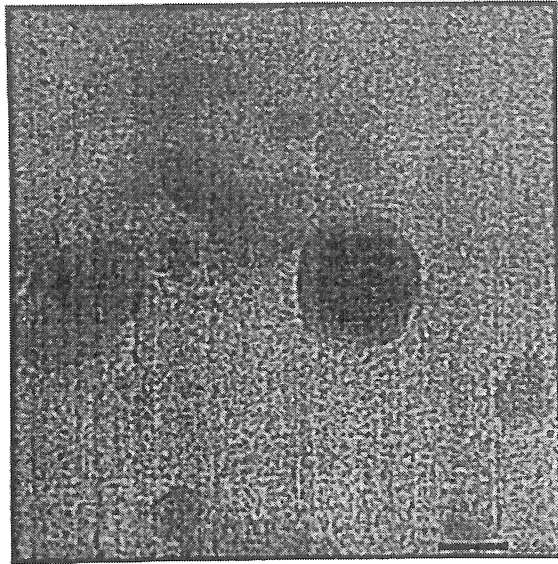
1. Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba, trong đó quy trình bao gồm các bước:

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho một lượng bột ginkgo biloba hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 5:100 (g/mL) trên máy khuấy từ với tốc độ quay 500 vòng/phút ở 50°C trong thời gian 5 giờ đến khi tạo được dung dịch đồng nhất ginkgo biloba, thu được pha phân tán;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách phối trộn hỗn hợp polyetylen glycol và etylen glycol theo tỷ lệ 4:10 (g/mL) được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ 50°C;

c) tạo hỗn hợp nhũ tương ginkgo biloba đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/EG và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ ginkgo biloba:PEG: lexitin là 5:4:5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước (c), ở nhiệt độ phòng, đem đi ly tâm với tốc độ 3000 vòng/ phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.



Hình 1