



(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)



2-0002575

(51) A61K 31/00
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00505

(22) 21/03/2018

(67) 1-2018-01150

(45) 25/02/2021 395

(43) 25/02/2019 371A

(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 RESVERATROL**

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

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực được phẩm, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế vi nhũ tương nano resveratrol.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Hợp chất resveratrol được tìm thấy vào năm 1940, chủ yếu tồn tại trong nho, đậu phộng và hơn 70 loại cây khác với các hàm lượng khác nhau. Resveratrol là một loại phytoalexin nên resveratrol có hoạt tính oxy hóa và hoạt tính sinh học cao. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh được resveratrol có nhiều hiệu ứng tác động việc phòng ngừa khối u, chống lão hóa, chống bức xạ, chống viêm, phòng ngừa điều trị bệnh về tiểu đường, bệnh về phổi, tim mạch, xơ gan. Các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học cao rất quý không những được sử dụng rộng rãi trong y học mà còn được sử dụng phổ biến trong chăn nuôi, trồng trọt, thú y và mỹ phẩm. Đặc biệt trong những năm trở lại đây, các hợp chất thiên nhiên được sử dụng rộng rãi và hiệu quả trong việc sử dụng để sản xuất các thực phẩm chức năng, bổ sung dinh dưỡng hay sản phẩm nâng cao sinh lực, sức khỏe con người, chống oxy hóa, chống lão hóa, tăng cường miễn dịch, phòng và hỗ trợ điều trị bệnh tật, nâng cao tuổi thọ.

Resveratrol tồn tại ở dạng bột, khó hòa tan trong nước. Khi người dùng thực hiện quá trình tiêu hóa resveratrol thường bị phá hủy trong đường tiêu hóa, một phần được hấp thu vào máu thông qua quá trình tiêu hóa, còn lại đa số bị đào thải ra ngoài môi trường. Vì vậy, để cải thiện khả năng hấp thu resveratrol là một vấn đề đặt ra để tăng hiệu quả tác dụng của resveratrol. Có nhiều quy trình để làm tăng khả năng hấp thu resveratrol trong cơ thể, tuy nhiên với sự phát triển của nền khoa học thế giới thì việc nano hóa các hợp chất tự nhiên có hoạt tính cao kết hợp các thiết bị máy móc hiện đại là một bước tiến vượt bậc trong công nghệ. Trong giải pháp hữu ích này, các tác giả sáng chế đã làm tăng khả năng hấp thu resveratrol trong cơ thể theo hướng nano hóa.

Hiện nay, phần lớn các loại thuốc, thực phẩm chức năng có độ hòa tan trong nước thấp và khoảng hơn 40% số bệnh nhân sử dụng sản phẩm không hòa tan được trong nước

tham khảo trên công bố của tác giả Kawabata và cộng sự, 2011 trong nghiên cứu “Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications”. Do tính chất kỵ nước của nó cùng với sự ổn định kém và tính sinh khả dụng thấp nên việc sử dụng resveratrol vào trong cơ thể đạt hiệu quả rất thấp. Vì vậy việc cải thiện khả năng hấp thụ resveratrol là vấn đề đáng được quan tâm.

Nghiên cứu của tác giả Tingting Yang và các cộng sự trong công bố “Resveratrol inhibits Interleukin-6 induced invasion of human gastric cancer cells” chỉ ra được khả năng ức chế hỗ trợ điều trị bệnh ung thư dạ dày.

Tác giả Anupam Bishayee và các cộng sự trong nghiên cứu “Resveratrol and diabetes: A critical review of clinical studies” chỉ ra tác dụng điều trị bệnh tiểu đường và nghiên cứu lâm sàng về ảnh hưởng tích cực của resveratrol trong việc hỗ trợ điều bệnh.

Tác giả Sông Fu và các cộng sự trong nghiên cứu “Resveratrol an antioxydant, protects spinal cord injury in rats by suppressing MAPK pathway” chỉ ra khả năng oxy hóa mạnh, bảo vệ bệnh về tim mạch và nguy cơ ung thư.

Trong tài liệu sáng chế WO 2010059628 A1 đã đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano resveratrol. Tuy nhiên, quy trình này tạo ra các hạt tiểu phân resveratrol có kích thước lớn hơn 100 nm trở lên, nên hiệu quả hòa tan resveratrol trong nước chưa cao.

Do đó, có nhu cầu cao về một quy trình điều chế hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 100 nm, đồng đều, khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính resveratrol trong quá trình nano hóa.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là làm tăng tính sinh khả dụng của hoạt chất resveratrol. Để đạt được mục đích này, giải pháp đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano resveratrol bằng cách tạo ra các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 100 nm,

đồng đều, khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính resveratrol trong quá trình nano hóa. Quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ resveratrol:dung môi etanol là 8:10 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ từ 500 đến 600 vòng/phút, và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ phòng trong thời gian 24 giờ đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol và etylen glycol theo tỷ lệ 3:100 (g/mL) được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng.

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất resveratrol, polyetylen glycol và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất này có tỷ lệ resveratrol:polyetylen glycol:lexitin là 8:3:100 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano resveratrol 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 200 vòng/phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano resveratrol.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là kết quả ảnh TEM độ phân giải cao của hệ vi nhũ tương nano resveratrol 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 resveratrol được trình bày một cách chi tiết dưới đây.

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ resveratrol:dung môi etanol là 8:10 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ từ 500 đến 600 vòng/phút, và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ phòng trong thời gian 24 giờ đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán.

Với mục đích tạo ra các hạt tiểu phân chứa resveratrol có kích thước nano và ổn định, các tác giả đã sử dụng etanol là dung môi có khả năng hòa tan resveratrol cao,

nên đã giúp tạo pha phân tán tốt hơn và tạo điều kiện để pha phân tán có thể kết hợp với hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol tốt hơn.

Ngoài ra, việc sử dụng dung môi etanol có gốc hydroxyl (OH^-) tạo liên kết với nước, nên có tác dụng ổn định cấu trúc hệ vi nhũ tương dầu trong nước. Bằng các thử nghiệm, các tác giả xác định được với tỷ lệ resveratrol:dung môi etanol là 8:10 (g/mL), thì resveratrol đạt được độ hòa tan lớn nhất và tránh việc sử dụng dư thừa dung môi etanol gây lãng phí nguyên liệu.

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol (PEG) và etylen glycol (EG) theo tỷ lệ 3:100 (g/mL) được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng.

Khi resveratrol được đưa vào cơ thể qua đường miệng, resveratrol thường bị phá hủy trong đường tiêu hóa, một phần được hấp thu vào máu thông qua quá trình tiêu hóa, còn lại đa số resveratrol bị đào thải ra môi trường. Vì vậy, cần quy trình điều chế hệ nhũ tương có các hạt tiểu phân chứa hoạt chất resveratrol, trong đó resveratrol với kích thước nhỏ có màng bao sinh học, nên cấu trúc resveratrol có độ ổn định cao, không kết dính và có độ hòa tan cao.

Hệ vi nhũ tương theo giải pháp hữu ích được sử dụng trong các ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm nên các chất được lựa chọn sử dụng phải có độ an toàn cao, không có độc tính và ít tác dụng phụ.

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng các quá trình vận chuyển thuốc được nâng cao hiệu quả nhờ những hệ dẫn thuốc có nguồn gốc từ các loại polyme như polyme thiên nhiên ưa nước, polyme tổng hợp kỵ nước, poly axit lactic, poly axit lactic-co-glycolic. Các chất mang polyme với hàm lượng tải dược chất khá cao có thể đem đến nhiều thuận lợi về mặt dược động học như dược chất được giữ ổn định, có thể sử dụng điều trị trong thời gian dài bằng cách nhả chậm thuốc theo sự phân hủy polyme.

Tuy PEG là các chất mang polyme đã được sử dụng trong lĩnh vực dược phẩm và y tế, nhưng hệ vi nhũ tương thu được bằng cách sử dụng riêng lẻ PEG này có độ ổn định chưa cao vì trong quá trình tạo hệ vi nhũ tương có sự đứt gãy về liên kết mạch polyme,

nên tác giả giải pháp hữu ích đã kết hợp PEG và EG. Khi dùng hỗn hợp chất mang PEG/EG này để tạo hệ vi nhũ tương, nếu có sự đứt gãy về liên kết mạch thì EG sẽ tự điền đầy.

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylglycol/etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất resveratrol, polyetylen glycol và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất này có tỷ lệ resveratrol:polyetylen glycol:lexitin là 8:3:100 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng;

Giá trị tỷ lệ cụ thể pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/EG và chất nhũ hóa lexitin và các điều kiện cụ thể được thực hiện tạo nhũ đều là kết quả của quá trình nghiên cứu và thử nghiệm nhằm tối ưu hóa quá trình này.

d) tạo hệ vi nhũ tương nano resveratrol 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 200 vòng/phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano resveratrol.

Việc tạo hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước có thể phát sinh lượng resveratrol dư là resveratrol không được tạo thành hạt tiểu phân resveratrol. Lượng resveratrol này có thể lắng xuống trong hỗn hợp đồng nhất sau khi để hỗn hợp này qua đêm ở nhiệt độ phòng, nên có thể được tách ra bằng cách ly tâm để loại bỏ lượng resveratrol dư này.

Việc tiến hành ly tâm với tốc độ 200 vòng/phút và lặp lại 5 lần nhằm để loại bỏ hoàn toàn lượng resveratrol dư và thu được hệ vi nhũ tương nano resveratrol chứa các hạt tiểu phân resveratrol ổn định nằm trong khoảng 20 – 50 nm.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

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

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 8g resveratrol hòa tan trong 10 mL dung môi etanol trên máy khuấy từ với tốc độ 500 vòng/phút, và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ phòng trong thời gian 24 giờ thu được pha phân tán;

Chuẩn bị hỗn hợp chất mang bằng cách trộn hỗn hợp 3 g PEG 1000 và 100 mL EG được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng;

Trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/EG và 100 mL 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 200 vòng/ phút và lặp lại ly tâm 5 lần với mục đích loại bỏ lượng resveratrol dư không tạo thành hạt tiểu phân, thu được hệ vi nhũ tương nano resveratrol.

Sau khi thu được sản phẩm, các quy trình 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 resveratrol tồn tại ở dạng tập hợp khối kích thước khoảng 20 – 30 nm. Sự phân bố các hạt khá đều, kích thước đồng nhất. Điều này giúp cho quá trình khuếch tán và hấp thu vào cơ thể được dễ dàng hơn.

- 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	Quy trình thử	Kết quả
1	pH		H.HD.QT.070	6,74
2	Hàm lượng carbohydrat	g/100g	H.HD.QT.336	79,5
3	Tỷ trọng	g/ml	H.HD.QT.084	1,077

Các chỉ tiêu vi sinh vật

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Quy trình 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

Hàm lượng kim loại nặng

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Quy trình 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)	0,023

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 các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

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

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

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

YÊU CẦU BẢO HỘ

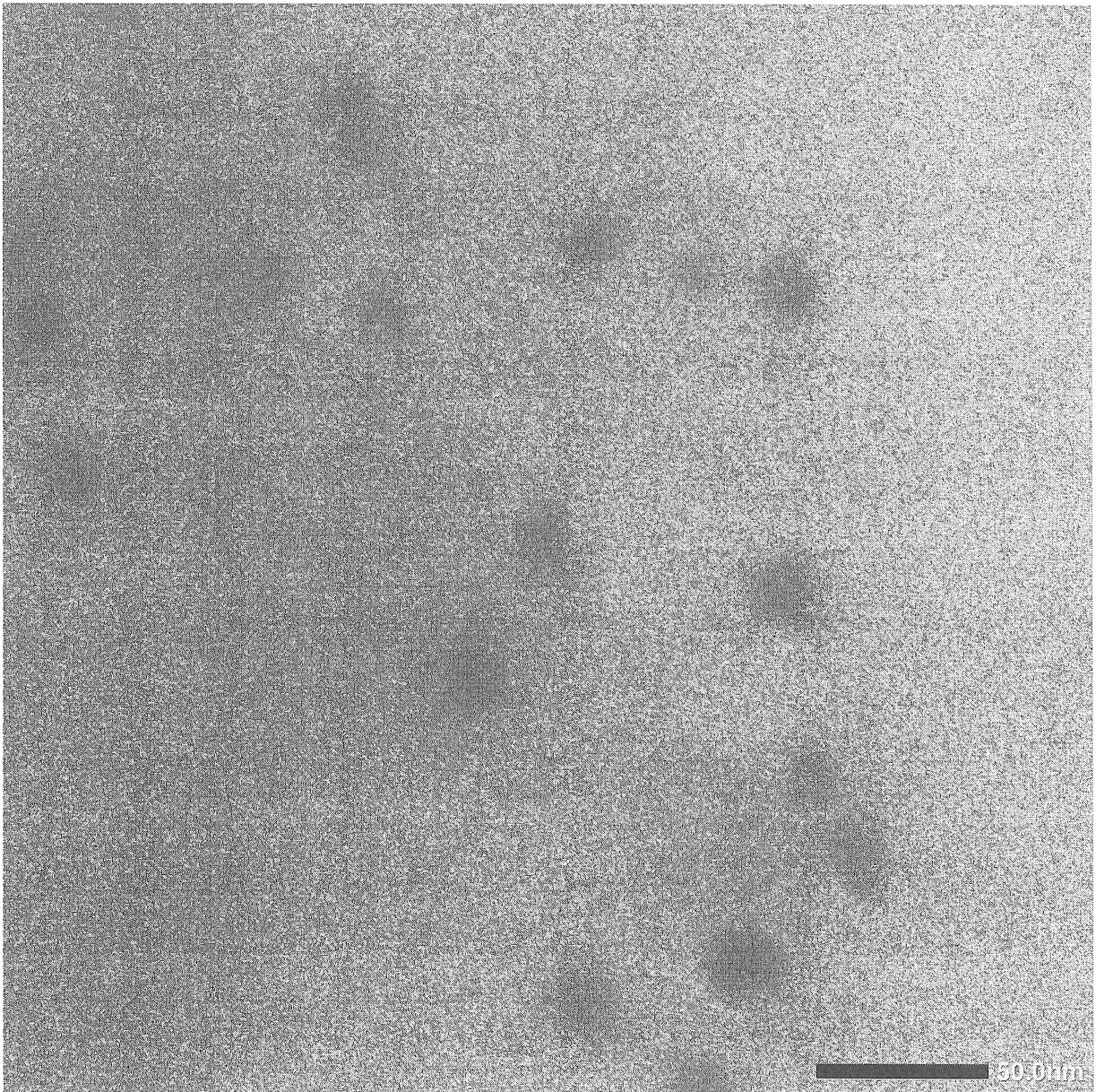
1. Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano resveratrol, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ resveratrol:dung môi etanol là 8:10 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ từ 500 đến 600 vòng/phút, và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ phòng trong thời gian 24 giờ đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol và etylen glycol theo tỷ lệ 3:100 (g/mL) được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng;

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất resveratrol, polyetylen glycol và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất này có tỷ lệ resveratrol:polyetylen glycol:lexitin là 8:3:100 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano resveratrol 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 200 vòng/phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano resveratrol.



Hình 1