



(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)



1-0027914

(51)⁷ A61K 47/48; A61K 31/05; A61K 47/10 (13) B

(21) 1-2018-03407

(22) 03/08/2018

(45) 25/04/2021 397

(43) 25/10/2018 367A

(73) Công ty cổ phần Wakamono (VN)

95 Trần Trọng Cung, phường Tân Thuận Đông, quận 7, thành phố Hồ Chí Minh

(72) Đặng Thị Hồng Ngọc (VN); Lại Nam Hải (VN).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ PADEMARK (PADEMARK CO.,LTD.)

(54) QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỆ VI NHŨ TƯƠNG NANO RESVERATROL

(57) Sáng chế đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano resveratrol bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng resveratrol;

(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng chiếm từ 40-60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước đến nhiệt độ từ 60-80°C, rồi bổ sung chất xúc tác zeolit (từ 0,1-0,4% khối lượng hỗn hợp PEG và nước), khuấy đều;

(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán (theo tỷ lệ 40:60), tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến 100°C, khuấy với tốc độ 400-800 vòng/phút;

(iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung Tween vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở phần (iii) theo tỷ lệ 40: 60 khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ 500-700 vòng/phút, ở nhiệt độ 100-130°C thực hiện nhũ hóa ở tốc độ 2500-3500 vòng/phút, kết hợp khuấy ở tốc độ 400-600 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 150°C trong 3-5 giờ, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn 40-60°C;

(v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano resveratrol.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Resveratrol là thành phần có nhiều trong ít nhất khoảng 70 loại thực vật, bao gồm nho (rượu nho), đậu phộng (đậu phộng là loại thức ăn hằng ngày có chứa hàm lượng resveratrol lớn, còn gọi là “quả trường sinh”), dứa, dâu... Resveratrol có kết cấu dạng vòng gồm nhiều hydroxy, những hydroxy có thể thông qua phương thức oxy hóa để phát huy chức năng chống oxy hóa, khả năng chống oxy hóa còn mạnh hơn vitamin C, E, và glutathion.

Resveratrol không chỉ giúp giảm mỡ máu, trị chứng cao huyết áp mà còn có thể ức chế sự đông tụ khác thường của tiểu cầu (chống tắc động mạch), làm rộng mạch máu, cải thiện vi tuần hoàn; giúp đề phòng bệnh động mạch vành, xơ cứng động mạch, giúp mạch máu não hồi phục thông suốt, tăng thời gian làm việc của não; tăng cường hệ miễn dịch, kháng khuẩn, kháng nhiễm virus, tác dụng kháng viêm và kháng dị ứng...

Resveratrol được hấp thu tốt sau khi uống, và có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng thấp. Nó được chuyển hóa nhanh, và do đó hàm lượng resveratrol chưa được phân huỷ trong máu thấp. Nó được phát hiện chủ yếu là chất chuyển hóa trong máu và nước tiểu, hoạt tính sinh học của những chất chuyển hóa này vẫn chưa được biết. Nó hòa tan chất béo, và được tìm thấy dưới dạng một dạng liên kết glucoza hoặc glucosid, được gọi là piceid. Resveratrol được hấp thu tốt sau khi uống, và có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng thấp. Nó được chuyển hóa nhanh, và do đó hàm lượng resveratrol chưa được phân huỷ trong máu thấp. Do đó cải thiện khả năng hấp thu, tăng sinh khả dụng của chất này là rất cần thiết. Áp dụng công nghệ nano là một ứng dụng công nghệ mới để tạo hệ dẫn thuốc và tăng sinh khả dụng của chất. Với kích thước hạt dưới 100nm, sẽ tăng khả năng hấp thu và khả năng lưu giữ. Resveratrol được gói trong hệ dẫn thuốc nano, độ lớn của hạt nhỏ hơn 100nm, nhờ khả năng lưu trữ các hệ dẫn nano giúp vận chuyển chất đến đích một cách chọn lọc, hiệu quả và tiết kiệm được chất. Ở

nước ta, công nghệ nano trong y sinh học vẫn còn mới, chưa có nhiều ứng dụng nhưng đã thu hút rất nhiều sự quan tâm nghiên cứu. Các nghiên cứu phổ biến nhất hiện nay là về ứng dụng của nano curumin và các hệ vận chuyển thuốc đến tế bào đích, chưa có nghiên cứu về chế tạo nano resveratrol. Sử dụng các hạt nano để mang thuốc và nhả thuốc là hướng mới để điều trị bệnh đặc biệt là bệnh ung thư trong tương lai.

Tác giả Anitha Krishnan Nair và đồng sự trong công bố đơn sáng chế tại Mỹ số US 2011/0229532 A1 đã đề cập quy trình điều chế hệ vi nhũ tương của hợp chất thuộc nhóm polyphenol thân dầu bằng cách sử dụng siêu âm với chất hoạt động bề mặt dạng non-ionic và một dung môi dạng non-ionic để tăng khả năng hòa tan trong nước.

Đã biết công bố đơn sáng chế Trung quốc số CN108014074 A công bố ngày 11/5/2018 đã đề cập quy trình điều chế huyền phù nano-resveratrol bao gồm các bước: (1) hòa tan resveratrol trong etanol, thu được dung dịch resveratrol trong etanol; (2) bổ sung từ từ dung dịch đệm PBS vào dung dịch resveratrol trong etanol, thu được thể huyền phù; (3) đồng nhất hóa huyền phù thu được trên đây trong 1-3 lần sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao, nhiệt độ $\leq 45^{\circ}\text{C}$; (4) dung dịch đồng nhất hóa thu được được chưng cất để loại bỏ bớt dung môi đồng nhất hóa etanol, thu được huyền phù nano resveratrol trong PBS, sản phẩm được lọc để loại bỏ chất không tan. Resveratrol trong các huyền phù có các kích thước nano 115,6nm, 89,09nm, 69,59nm. Tuy nhiên việc sử dụng PBS có nhược điểm là đệm PBS nhạy cảm ổn định pH từ 6,9-7,2. Nếu độ pH thấp hơn 6,5 hoặc cao hơn 7,5, không sử dụng. Hạn sử dụng của đệm PBS là 31 ngày kể từ ngày chuẩn bị hoặc đến hết hạn sử dụng của nhà sản xuất. Do đó sản phẩm tạo thành không thể để lâu, hạn sử dụng ngắn. Bên cạnh đó với quy trình này kích thước hạt nano là 115,6nm, 89,09nm, 69,59nm, kích thước không đồng đều và có các hạt trên 100nm. Với sáng chế không sử dụng đệm PBS do đó khắc phục độ nhạy do pH của phản ứng, tăng hạn sử dụng sản phẩm, tăng khả năng ứng dụng. Ngoài ra kích thước của sáng chế đồng đều hơn và nhỏ hơn 100nm.

Patent Trung quốc số CN103142457 B công bố ngày 21/01/2015 mô tả phương pháp điều chế chế phẩm nano resveratrol bao gồm các bước: (1) hòa tan resveratrol và dẫn xuất polyetylen glycol trong dung môi hữu cơ (có thể là etanol) trong điều kiện siêu âm từ 2-8 phút; (2) nước khử ion được bổ sung chất hoạt động bề mặt (có thể là Tween, PEG-

200), khuấy ở tốc độ 40-80 vòng/phút, ở 25-65°C, nhỏ từng giọt hỗn hợp thu được trong bước (1) trên đây vào dung dịch thu được, sau khi nhỏ giọt xong, làm giảm tốc độ trộn và tiếp tục khuấy trong 90-240 phút. Chế phẩm thu được là dạng kem màu trắng. Trong phương pháp này pha phân tán resveratrol và chất mang được trộn cùng một bước. Tuy nhiên phương pháp theo patent Trung Quốc này có nhược điểm là sử dụng đánh sóng siêu âm để tạo hệ phân tán, nếu chỉ sử dụng Tween, PEG-200 như trong quy trình thì không thể đưa hạt về kích thước nhỏ hơn 100nm nếu không có chất xúc tác ví dụ với sáng chế là sử dụng zeolit. Quy trình này nhóm tác giả dùng đánh sóng siêu âm, tuy nhiên sóng siêu âm chỉ có thể áp dụng trong quy mô phòng thí nghiệm, không thể áp dụng sản xuất số lượng lớn, sóng siêu âm nhạy với thiết bị kim loại và gây nguy hiểm cho người sử dụng với công suất lớn. Do đó với sáng chế sử dụng chất xúc tác để tạo phản ứng, vừa tạo hiệu quả đóng gói kích thước hạt nhỏ hơn 100nm, vừa đảm bảo quy trình sản xuất công nghiệp và an toàn.

Đã biết patent Mỹ số US6414037 B1 công bố ngày 02/7/2002 mô tả các công thức được phẩm của resveratrol và phương pháp sử dụng chúng. Một phương pháp được cung cấp để ngăn ngừa hoặc điều trị các tình trạng, rối loạn hoặc bệnh về da, ví dụ như có thể liên quan hoặc gây ra bởi chứng viêm, tổn thương do ánh nắng mặt trời hoặc lão hóa tự nhiên. Phương pháp này liên quan đến việc sử dụng, tốt nhất là sử dụng tại chỗ, tác nhân có hoạt tính được chọn bao gồm resveratrol, muối được chấp nhận về mặt dược lý, este, amit, tiền chất và các chất tương tự của chúng. Phương pháp này là tạo chế phẩm để ứng dụng chất resveratrol trong sản phẩm bôi hoặc tạo hệ nhũ trong sản phẩm chứa resveratrol nó không tạo hệ vi nhũ và không tạo cấu trúc hạt về kích thước nanomet. Tuy nhiên phương pháp theo patent Mỹ US6414037 B1 này có nhược điểm là chỉ tạo hệ nhũ không đưa hạt về kích thước nanomet, nên hiệu quả hấp thu chưa tối ưu. Với sáng chế sản phẩm tạo thành có kích thước hạt nhỏ hơn 100nm mà vẫn ổn định sẽ tăng khả năng hấp thu chất cho sản phẩm.

Có nhu cầu về quy trình điều chế hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 100nm, 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 sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano resveratrol tạo các hạt có kích thước nhỏ hơn 100nm, đồng đều, có khả năng hòa tan trong nước mà hoạt tính và cấu trúc không đổi giúp làm tăng hiệu quả sử dụng của hoạt chất resveratrol, cụ thể là tăng khả năng hấp thu và tăng sinh khả dụng.

Để đạt được mục đích nêu trên, quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano resveratrol theo sáng chế bao gồm các bước:

- (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng resveratrol: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;
- (ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng chiếm từ 40 đến 60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C, rồi bổ sung chất xúc tác zeolit từ 0,1 đến 0,4% khối lượng hỗn hợp PEG và nước, khuấy đều;
- (iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến 100 °C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;
- (iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung Tween vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) theo tỷ lệ 40: 60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100 đến 130°C, thực hiện nhũ hóa ở tốc độ nằm trong khoảng từ 2500 đến 3500 vòng/phút, kết hợp khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 600 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 150°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5h, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn trong khoảng từ 40 đến 60°C;

- (v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa resveratrol 99% đã biết và nano resveratrol thu được bằng quy trình theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano resveratrol được thực hiện như sau:

(i) Bước thứ nhất: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng resveratrol: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng 300-500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ từ 40- 60⁰C trong thời gian từ 4-8 giờ.

Tác giả sáng chế sử dụng etanol là dung môi có khả năng hòa tan tốt resveratrol, giúp tạo pha phân tán tốt hơn và tạo điều kiện để pha phân tán có thể kết hợp với chất mang PEG tốt hơn.

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 sáng chế xác định được với tỷ lệ resveratrol: etanol là 8:10 (khối lượng: thể tích) resveratrol đạt được độ hòa tan lớn nhất và tránh dư thừa dung môi etanol gây lãng phí.

Việc sử dụng khuấy và gia nhiệt để tạo resveratrol phân tán tốt hơn, khi tác giả thử nghiệm với nhiều điều kiện khuấy và nhiệt độ khác nhau cho thấy với tốc độ nằm trong khoảng 300-500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ từ 40- 60⁰C thì pha phân tán resveratrol là tốt hơn và kết hợp với chất mang PEG tốt hơn.

(ii) Bước thứ hai: chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng chiếm từ 40-60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước đến nhiệt độ từ 60-80⁰C, rồi bổ sung chất xúc tác zeolit (từ 0,1-0,4% khối lượng hỗn hợp PEG và nước), khuấy đều.

Khi sử dụng resveratrol thường bị phá hủy trong đường tiêu hóa, một phần được hấp thu vào máu, còn lại đa số bị đào thải. Vì vậy, cần quy trình điều chế hạt tiểu phân chứa hoạt chất resveratrol, với kích thước nhỏ có màng bao sinh học, cấu trúc có độ ổn định cao, không kết dính và có độ hòa tan cao.

Bởi vì hệ vi nhũ theo sáng chế 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 đã chỉ ra rằng các quá trình vận chuyển thuốc có thể được nâng cao hiệu quả nhờ những hệ dẫn thuốc có nguồn gốc từ các loại polyme: polyme thiên nhiên ưa nước như protein (gelatin, albumin), polysacarit (alginat, dextran, chitosan), polyme tổng hợp kỵ nước như polyeste (poly (ϵ -caprolacton), poly axit lactic, poly axit lactic-co-glycolic. Các chất mang polyme với hàm lượng tải dược chất khá cao có thể đem tới nhiều thuận lợi về mặt dược động học như dược chất được giữ ổn định, có thể sử dụng để điều trị trong thời gian dài bằng quá trình nhả chậm thuốc theo sự phân hủy polyme, sự phân bố sinh học của dược chất, tính hướng đích, tính thấm qua màng tế bào,... có thể được điều khiển bằng các tính chất hóa lý của 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 các tác giả sáng chế đã kết hợp PEG, chất xúc tác zeolit và với các ngưỡng gia nhiệt để tạo hệ vi nhũ tương hiệu quả hơn.

(iii) Bước thứ ba: bổ sung chất mang vào pha phân tán (theo tỷ lệ 40:60), tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến 100 °C, khuấy với tốc độ 400-800 vòng/phút

(iv) Bước thứ tư: nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung Tween vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở phần (iii) theo tỷ lệ 40: 60 khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ 500-700 vòng/phút, ở nhiệt độ 100-130°C thực hiện nhũ hóa ở tốc độ 2500-3500 vòng/phút, kết hợp khuấy ở tốc độ 400-600 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 150°C trong 3-5h, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn 40-60°C.

Bằng các nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng để điều chế nano resveratrol tan tốt trong nước, thì hệ nhũ tương này ở dạng nhũ tương dầu

trong nước. Việc lựa chọn chất nhũ hóa để tăng tính bền của hệ vi nhũ tương dựa vào đặc điểm của hệ vi nhũ tương (dạng hệ vi nhũ tương dầu trong nước, dạng hệ vi nhũ tương nước trong dầu,...). Vì vậy, các tác giả sáng chế đã lựa chọn chất nhũ hóa là Tween, bởi vì tween là chất thân nước, không có độc tính và độ an toàn cao. Các tác giả sáng chế đã phải tiến hành rất nhiều thử nghiệm để xác định được với tỷ lệ PEG: tween là 50: 40 (khối lượng: khối lượng) để hình thành các mạch polyme bền vững.

Do chất nhũ hóa tween là phân tử có 2 phần riêng biệt, phần thân dầu và phần thân nước, nên có khả năng tạo liên kết với resveratrol và hỗn hợp chất mang. Phần thân dầu của Tween tạo liên kết với resveratrol và phần thân nước của Tween tạo liên kết với phần thân nước của hỗn hợp chất mang PEG, nên đã tạo ra các hạt tiểu phân nano resveratrol và với cấu trúc này bảo vệ tốt hoạt tính resveratrol.

Tạo hệ vi nhũ tương nano resveratrol bằng cách thực hiện nhũ hóa ở tốc độ 2500-3500 vòng/phút, kết hợp khuấy ở tốc độ 400-600 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 150°C trong 3-5h

Hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình theo sáng chế có độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 7,4. Với giá trị độ pH này, các hạt tiểu phân tồn tại ổn định do trong môi trường trung tính này liên kết giữa resveratrol và vật liệu mang được giữ trong quá trình phân tán, trong khi hệ vi nhũ có độ pH <7 thì liên kết này suy yếu dẫn đến hạt nano resveratrol sẽ bị phá hủy trong đường tiêu hóa.

Hệ vi nhũ tương nano resveratrol thu được bằng quy trình theo sáng chế có HLB nằm trong khoảng từ 13 đến 18 là hệ vi nhũ tương thân nước. Hệ vi nhũ tương này có các hạt tiểu phân chứa resveratrol thân nước, không kết dính, kích thước của các hạt ổn định nằm trong khoảng từ 40 đến 55 nm, nên có thể thâm nhập dễ dàng qua màng tế bào để phát huy hiệu quả và tăng độ hòa tan của resveratrol trong nước, từ đó làm tăng tính sinh khả dụng của chất.

(iv) Bước thứ năm: lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói để loại bỏ các lượng dư các chất và đảm bảo độ đồng đều, ổn định của dung dịch.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Điều chế 100 ml hệ vi nhũ tương nano resveratrol

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 8g resveratrol hòa tan trong 10ml dung môi etanol 96⁰ bằng máy khuấy có tốc độ 400 vòng/phút, kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ 40⁰C trong thời gian 6 giờ để tạo thành dung dịch đồng nhất.

Tạo chất mang: 70ml PEG được gia nhiệt đến 70⁰C. Chất xúc tác zeolit (0,2g) được bổ sung vào PEG ở nhiệt độ 70⁰C, trộn đều.

Bổ sung 70ml chất mang vào pha phân tán đã chuẩn bị ở trên, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến 100⁰C, khuấy với tốc độ 400-800 vòng/phút. Tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG và chất nhũ hóa Tween (20ml) trong thiết bị tạo nhũ LSP – 500 với tần số là 20 KHz ở tốc độ khuấy 600 vòng/phút,

Ở nhiệt độ 100⁰C, tiếp tục khuấy ở tốc độ 600 vòng/phút, ở nhiệt độ 115⁰C thực hiện nhũ hóa ở tốc độ 3000 vòng/phút, kết hợp khuấy ở tốc độ 500 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 150⁰C trong 4h, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn 50⁰C.

Trước khi chiết rót, sản phẩm được bơm qua hệ thống lọc nano mục đích loại bỏ lượng resveratrol dư không tạo thành hạt tiểu phân, thu được hệ vi nhũ tương nano resveratrol phân tán tốt trong nước.

Bằng phương pháp đo phổ bằng UV-vis các tác giả sáng chế đã nhận thấy là vị trí các pick của resveratrol nguyên liệu và hệ vi nhũ tương nano resveratrol hoàn toàn trùng khớp. Điều này cho thấy hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình theo sáng chế vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính resveratrol trong quá trình nano hóa.

Sử dụng phương pháp đo phổ bằng UV-Vis để định lượng hàm lượng resveratrol trong hệ vi nhũ. Kết quả cho thấy nồng độ resveratrol trong hệ vi nhũ tương nano resveratrol nằm trong khoảng 10%.

Tiến hành đo kích thước hạt nano resveratrol bằng kính hiển vi điện tử quét TEM cho thấy kích thước hạt dao động từ 40-55nm.

Kích thước (nm, theo TEM)	Kích thước (nm, theo DLS)	Thế zeta (mV)	Độ ổn định (tháng)	Tính tan trong nước
------------------------------	------------------------------	------------------	-----------------------	------------------------

40-55	40-55	-40	> 12	tan tốt trong nước, sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 7 ngày
-------	-------	-----	------	--

Từ kết quả trên thấy rằng, việc sử dụng chất mang PEG tỷ lệ với Tween là 50:40, xúc tác zeolit thu được hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ (40 – 55 nm), có ổn định cao (>12 tháng), tan tốt trong nước và sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 7 ngày.

Theo Hình 1, là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa resveratrol 99% đã biết và nano resveratrol thu được bằng quy trình theo sáng chế, trong đó bình A thể hiện resveratrol 99% phân tán trong nước đã biết, bình B thể hiện nano resveratrol phân tán trong nước thu được bằng quy trình theo sáng chế:

Hình ảnh cho thấy resveratrol 99% đã biết không tan trong nước, tạo hạt lơ lửng trong nước, dung dịch đục, để thêm một thời gian đóng lại dưới đáy bình.

Nano resveratrol thu được bằng quy trình theo sáng chế phân tán hoàn toàn trong nước tạo dung dịch trong suốt, đồng nhất.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Quy trình điều chế hệ nano resveratrol đã thành công trong việc điều chế hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân nano resveratrol có kích thước nhỏ từ 40-55nm, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước mà vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính resveratrol trong quá trình nano hóa.

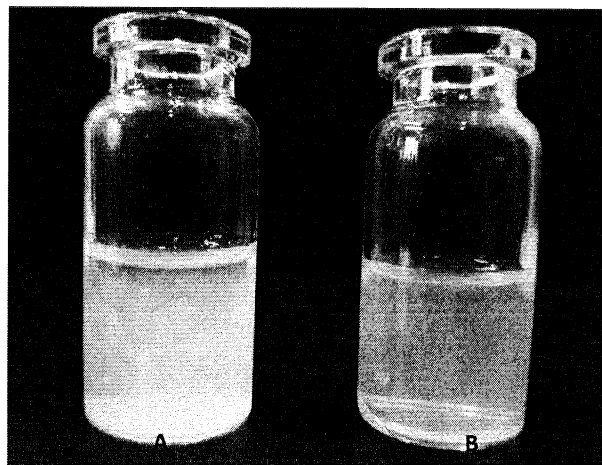
Các chất được sử dụng trong quy trình điều chế nano resveratrol phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ vi nhũ tương nano resveratrol thu được từ quy trình theo sáng chế có độ an toàn cao khi sử dụng.

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 bao gồm các bước:
 - (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho resveratrol hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng resveratrol : thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;
 - (ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng chiếm từ 40 đến 60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C, rồi bổ sung chất xúc tác zeolit từ 0,1 đến 0,4% khối lượng hỗn hợp PEG và nước, khuấy đều;
 - (iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến 100°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;
 - (iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung Tween vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) theo tỷ lệ 40: 60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100 đến 130°C, thực hiện nhũ hóa ở tốc độ nằm trong khoảng từ 2500 đến 3500 vòng/phút, kết hợp khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 600 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 150°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn trong khoảng từ 40 đến 60°C;
 - (v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

27914



Hình 1