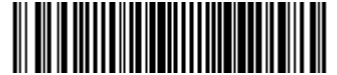




(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

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

(11)



2-0002899

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

(13) **Y**

(21) 2-2022-00026

(22) 29/03/2019

(67) 1-2019-01584

(45) 25/05/2022 410

(43) 26/10/2020 391A1

(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 MANGOSTIN

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano mangostin, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị pha phân tán; b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/tween 80; c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/tween 80 và chất nhũ hóa lexitin; và d) tạo hệ vi nhũ tương nano mangostin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với áp suất 15 Mpa, lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano mangostin.

Lĩnh vực được đề cập

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

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mangostin là một hoạt chất xathon được chiết tách ra từ vỏ quả măng cụt (*Garcinia*) và đã được rất nhiều nghiên cứu chứng minh là có hoạt tính kháng khuẩn rất tốt và có tác dụng trong việc hỗ trợ điều trị nhiều loại bệnh trong đó có cả ung thư. Mangostin có thể tạo ra những phản ứng ức chế hệ thần kinh trung ương nên có thể dùng vào việc giảm đau, giảm hoạt động của thần kinh vận động, tăng cường hoạt tính gây ngủ của pentobarbital. Trong một nghiên cứu của bộ môn sinh học phân tử đại học Tohoku (Nhật Bản) đã chứng minh được dung dịch metanol vỏ măng cụt chứa mangostin có tác dụng đối kháng chọn lọc thụ thể H-1 và thụ thể serotonin 5-HT_{2A}. Bộ môn hóa- Đại học Srinakharinwirot ở Băng Cốc (Thái Lan) cũng nghiên cứu và cho thấy mangostin ức chế rất mạnh vi khuẩn lao *Mycosporum tuberculosis* với MIC 6,25 micro gam/ml. Tác dụng chống ung thư của α -mangostin cũng được rất nhiều nghiên cứu chỉ ra ví dụ như theo nghiên cứu của bộ môn ung thư- Đại học y khoa Ryukyus (Nhật Bản) cho thấy mangostin có tác dụng trong việc phòng ngừa tiền ung thư ở ruột già. Viện kỹ thuật sinh học quốc tế Gifu (Nhật Bản) cũng đưa ra kết luận về việc ức chế sự tăng trưởng tế bào của dòng tế bào ung thư bạch cầu HL60 ở người hoàn toàn với nồng độ 10micro M bằng cách cảm ứng tế bào tự hủy của mangostin. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Aisha và cộng sự trong nghiên cứu “Solid dispersions of α -mangostin improve its aqueous solubility through self-assembly of nanomicelles” năm 2012, do tính tan trong nước kém của mangostin (0,2 micro gam/ml) nên khả năng ứng dụng hoạt tính này trong điều trị bệnh bị hạn chế.

Pan-In và cộng sự trong công bố “Combating *Helicobacter pylori* infections with mucoadhesive nanoparticles loaded with *Garcinia mangostana* extract” đã điều chế hạt nano mangostin sử dụng etyl xenluloza và metyl xenluloza làm chất mang để xử lý vi

khuẩn *Helicobacterium pylori* và *Propionibacterium acnes*. Kết quả là hoạt tính sinh học của hạt đã đạt được, nhưng cần cải tiến về kích thước và độ bền của hạt để có thể ứng dụng thực tế.

Yao và cộng sự trong công bố “Nanoformulated α -mangostin ameliorates Alzheimer's disease neuropathology by elevating LDLR expression and accelerating amyloid-beta clearance” cũng cho thấy sự thành công trong việc sử dụng hệ polyetylen glycol-polylactic axit (PEG-PLA) làm chất mang trong việc xử lý bệnh alzheimer. Tuy nhiên quy trình vẫn còn phức tạp và quy mô áp dụng chưa được đề cập.

Các công trình hiện nay đều có xu hướng chế tạo ra các hạt thuốc với kích thước nano sau đó bọc hạt bằng các polyme ưa nước để tăng sinh khả dụng và tăng độ tan của thuốc trong nước. Do vậy việc tạo ra quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương để tạo ra các hạt nano mangostin vẫn giữ nguyên cấu trúc và tăng sinh khả dụng để ứng dụng trong thực tế là điều hết sức cần thiết.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là tạo chế phẩm mangostin có độ tan cao, cải thiện tính thấm qua màng tế bào, hoạt tính ổn định, độ bền hệ vi nhũ tương cao. Để đạt được mục đích này, bằng cách tạo ra các hạt tiểu phân có kích thước nano, đồng đều, khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính mangostin trong quá trình nano hóa. Quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho mangostin hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 3:5 (g/mL) bằng máy khuấy có gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C với tốc độ khuấy 1500 vòng/phút trong thời gian 15 giờ cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/tween 80 bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol và tween 80 theo tỷ lệ 2:1 (g/mL) được phân tán đều trên máy khuấy trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng với tốc độ khuấy 300 vòng/phút;

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/tween 80 và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất mangostin, polyetylen glycol/tween 80 và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ mangostin:polyetylen glycol:lexitin là 1:5:5 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong thời gian 12 giờ ở nhiệt độ phòng với tốc độ khuấy 600 vòng/phút, sau đó tăng tốc độ khuấy lên 800 vòng/phút ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 4 giờ; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano mangostin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với áp suất 15 Mpa, lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano mangostin.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1: Ảnh TEM của hệ vi nhũ tương nano mangostin.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

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

a) Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho mangostin hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 3:5 (g/mL) bằng máy khuấy có gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C với tốc độ khuấy 1500 vòng/phút trong thời gian 15 giờ cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

Mục đích ban đầu là tạo ra các hạt mangostin với kích thước nano và ổn định trọng hệ, các tác giả đã sử dụng dung môi là etanol để hòa tan mangostin làm pha phân tán. Các nghiên cứu trước đây cũng thường dùng dung môi etanol để chiết mangostin ra khỏi vỏ măng cụt, thêm vào đó cũng tạo điều kiện để cho pha phân tán có thể phân tán tốt hơn trong hỗn hợp polyetylen glycol/tween 80. Bằng nhiều thí nghiệm thì các tác giả đã xác định được tỉ lệ hòa tan của mangostin và etanol là 3:5 (g/mL) là tỉ lệ hòa tan thích hợp.

b) Chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol /tween 80 bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol và tween 80 theo tỷ lệ 2:1 (g/mL) được phân tán đều trên máy khuấy trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng với tốc độ khuấy 300 vòng/phút.

Vì 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 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 như polyme thiên nhiên ưa nước như protein (gelatin, albumin), polysacarit (alginat, dextran, chitosan), polyme tổng hợp kỵ nước như polyeste (poly (ϵ -capprolacton), 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, v.v., có thể được điều khiển bằng các tính chất hóa lý của polyme.

Tuy polyetylen glycol (PEG) là các chất mang polyme đã được sử dụng trong các 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, thêm vào đó việc sử dụng phối hợp PEG với tween 80 theo các nghiên cứu hiện nay là khá thông dụng để cân bằng chỉ số cân bằng ưa dầu và giảm độ sa lắng của các hạt tiểu phân nano. Bằng nhiều thực nghiệm, các tác giả đã tìm ra tỉ lệ PEG/tween 80 là 2:1 (g/mL) là tỉ lệ tối ưu của chất mang giúp cho hệ được ổn định nhất.

c) Tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/tween 80 và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất mangostin, PEG/tween 80 và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ mangostin:PEG:lexitin là 1:5:5 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng với tốc độ khuấy 600 vòng/ phút, sau đó tăng tốc độ khuấy lên 800 vòng/ phút ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 4 giờ.

Giá trị cụ thể của tỉ lệ các chất trong hỗn hợp chất mang cũng như các chất nhũ hóa lexitin và các điều kiện như tốc độ khuấy, nhiệt độ, thời gian là kết quả của các quá trình thử nghiệm thực tế nhằm tối ưu hóa quy trình này.

d) Tạo hệ vi nhũ tương nano mangostin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với áp suất 15 Mpa, lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano mangostin.

Hỗn hợp thu được ở bước c có thể vẫn còn lẫn một lượng mangostin dư nhất định do bám trên thành thiết bị hoặc cánh khuấy mà không được hòa tan trong dung môi, lượng mangostin này có thể sa lắng sau khi để qua đêm và làm hỗn hợp trở nên không đồng nhất. Do đó, hỗn hợp thu được ở bước c cần được chạy trong thiết bị đồng hóa có áp suất để giảm kích thước của các hạt này lại đồng thời làm hỗn hợp cuối cùng trở nên đồng nhất.

Sản phẩm cuối cùng thu được là hệ vi nhũ tương gồm các hạt nano mangostin phân tán tốt trong nước với kích thước các hạt nano trung bình trong khoảng từ 5-10 nm.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích.

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

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 6g bột mangostin hòa tan trong 10mL dung môi etanol. Phân tán đều hỗn hợp bằng máy khuấy có gia nhiệt trong khoảng 50°C với tốc độ 1500 vòng/phút trong thời gian 15 giờ cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

Trộn 30g PEG 400 và 15 mL tween 80 và phân tán đều trên máy khuấy trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng với tốc độ khuấy 300 vòng/ phút;

Trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/tween 80 và 30 mL chất nhũ hóa trong thiết bị tạo nhũ trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng; tốc độ khuấy của thiết bị là 600 vòng/ phút, sau đó tăng tốc độ khuấy lên 800 vòng/ phút và nhiệt độ 120°C trong thời gian 4 giờ.

Để hỗn hợp thu được ở bước c qua đêm ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với áp suất 15 Mpa, lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano mangostin.

Tiến hành thí nghiệm như phần mô tả chi tiết giải pháp hữu ích ở trên. Sản phẩm tạo thành được tiến hành kiểm tra với các phương pháp phân tích hiện đại. Kết quả phân tích như sau:

- Kết quả đo HR-TEM:

Kích thước của các tiểu phân được chứng minh bằng ảnh TEM kết quả cho thấy các hạt nano mangostin có hình cầu và kích thước trung bình khoảng 5-10 nm.

- Kết quả phân tích hàm lượng:

Hàm lượng mangostin trong hệ được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng HPLC thu được kết quả 17,72 mg/100 g.

- Kết quả phân tích chỉ tiêu hóa lý và vi sinh vật

Mẫu nano mangostin sau khi chế tạo được đi kiểm nghiệm các tiêu chuẩn về vi sinh vật và hóa lý. Kết quả kiểm nghiệm được thể hiện trong bảng dưới đây:

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
6	pH		H.HD.QT.070	6,75
8	Tỷ trọng	g/ml	H.HD.QT.084	1,056
9	Hàm lượng Cadimi	mg/kg	H.HD.QT.429 (ICP-MS)	<0,004
10	Hàm lượng Chì	mg/kg	H.HD.QT.429 (ICP-MS)	<0.025

Kết quả cho thấy, mẫu mangostin chế tạo được 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 mangostin đã thành công trong việc điều chế hệ vi nhũ tương có chứa các tiểu phân nano mangostin có kích thước 5-10 nm, 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 mangostin phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ vi nhũ tương nano mangostin thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích có độ an toàn cao khi sử dụng.

Quy trình theo giải pháp hữu ích đơn giản, dễ thực hiện và phù hợp với các điều kiện thực tế hiện nay của nước ta.

YÊU CẦU BẢO HỘ

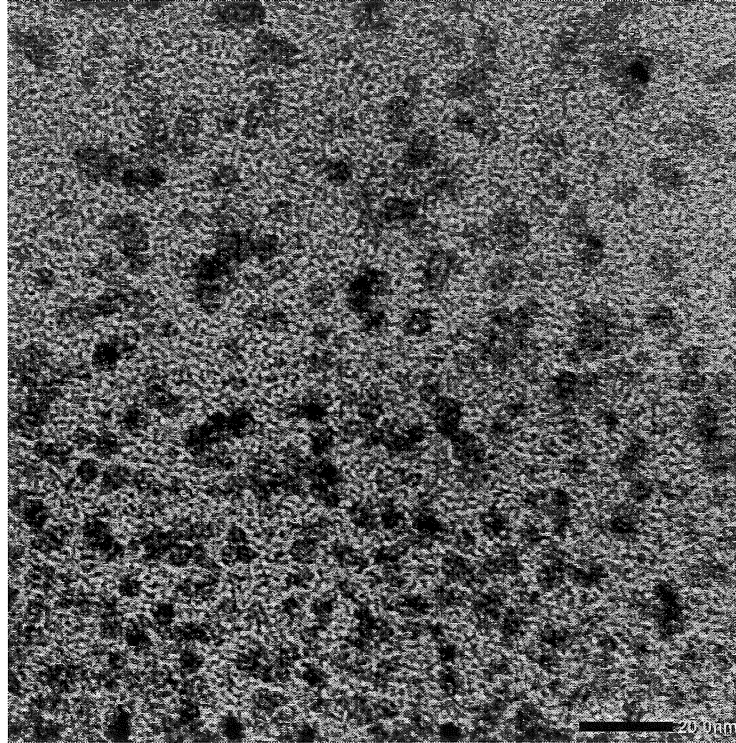
1. Quy trình chế tạo hệ vi nhũ tương nano mangostin.

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho mangostin hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ là 3:5 (g/mL) bằng máy khuấy có gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C với tốc độ khuấy 1500 vòng/phút trong thời gian 15 giờ cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/tween 80 bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol và tween 80 theo tỷ lệ 2:1 (g/mL) được phân tán đều trên máy khuấy trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng với tốc độ khuấy 300 vòng/phút;

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/tween 80 và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất mangostin, polyetylen glycol/tween 80 và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ mangostin:polyetylen glycol:lexitin là 1:5:5 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong thời gian 12 giờ ở nhiệt độ phòng với tốc độ khuấy 600 vòng/phút, sau đó tăng tốc độ khuấy lên 800 vòng/phút ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 4 giờ; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano mangostin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp được chạy trong thiết bị đồng hóa với áp suất 15 Mpa, lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano mangostin.



Hình 1