



(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)



2-0002904

(51) **A61K 31/352; B82Y 5/00; A61K 9/107**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00501

(22) 20/05/2019

(67) 1-2019-02608

(45) 25/06/2022 411

(43) 25/07/2019 376A

(76) Lại Nam Hải (VN)

25A đường 5, khu phố 1, phường Linh Đông, quận Thủ Đức, thành phố Hồ Chí Minh

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

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT NANO CANNABIDIOL CẢI TIẾN

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất nano cannabidiol cải tiến bao gồm các bước: (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho cannabidiol hòa tan trong dung môi ethanol với tỷ lệ khối lượng cannabidiol: thể tích dung môi ethanol là 8:10 ở tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến 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, khuấy đều; (iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 60:40 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°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 80 và dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil) tỉ lệ 30:70 theo khối lượng 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 khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút; (v) đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao ở 30Mpa; (vi) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

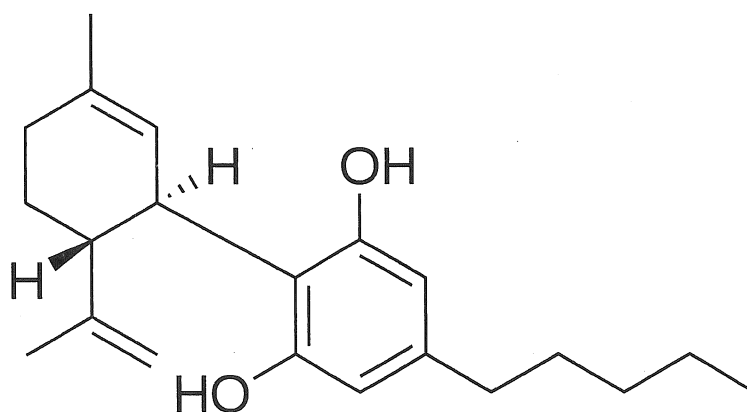
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất nano cannabidiol cải tiến.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Cannabidiol là một cannabinoid là xyclohexen được thay thế bởi nhóm metyl ở vị trí 1, nhóm 2,6-dihydroxy-4-pentylphenyl ở vị trí 3 và nhóm prop-1-en-2-yl ở vị trí 4. Nó có vai trò như một chất chuyển hóa thực vật. Cannabidiol là một phytocannabinoid có nguồn gốc từ loài Cannabis, không có hoạt động tâm sinh lý, được ứng dụng giảm đau, chống viêm, chống ung thư và dùng trong hóa trị.

Cannabidiol có công thức hóa học của là $C_{21}H_{30}O_2$, phân tử lượng là 314,469 g/mol và có cấu trúc phân tử như sau:



Khi dùng, cannabidiol hoạt động chống tăng sinh, chống tạo mạch và pro-apoptotic thông qua các cơ chế khác nhau, có thể không liên quan đến việc truyền tín hiệu bởi thụ thể cannabinoid 1 (CB1), CB2 hoặc thụ thể vanilloit và ức chế tín hiệu AKT/mTOR, do đó kích hoạt tự thực bào (hay autophagy - quá trình mà trong đó tế bào “ăn” các thành phần của chính nó, là một cơ chế dị hóa cơ bản, liên quan đến sự thoái hóa những thành phần không cần thiết hoặc các thành phần bị rối loạn chức năng trong tế bào, thông qua hoạt động của tiêu thể (lysosome) và thúc đẩy sự chết rụng tế bào (hay

apoptosis - quá trình của sự chết tế bào được lập trình). Ngoài ra, cannabidiol tăng cường việc tạo ra các loài oxy phản ứng (ROS), giúp tăng cường hơn nữa quá trình sự chết rụng tế bào. Tác nhân này cũng điều chỉnh tăng sự biểu hiện của phân tử bám dính giữa tế bào 1 (ICAM-1) và chất ức chế mô của matrix metalloproteinaza-1 (TIMP1) và làm giảm biểu hiện của chất ức chế gắn DNA 1 (ID-1). Điều này ức chế sự xâm lấn tế bào ung thư và di căn. Cannabidiol cũng có thể kích hoạt vanilloit tiềm năng loại 2 thoáng qua (TRPV2), có thể làm tăng sự hấp thu của các tác nhân gây độc tế bào khác nhau trong các tế bào ung thư. Cannabidiol đã được chứng minh là có tác dụng giảm đau, chống co giật, giãn cơ, giảm lo âu, chống oxy hóa, và chống loạn thần, động kinh. Hiệu ứng đa dạng này có thể là do cơ chế được lý phức tạp của Cannabidiol. Ngoài ràng buộc đề CB1 và CB2 thụ của hệ thống endocannabinoit, có bằng chứng rằng Cannabidiol kích hoạt serotonin 5-HT1A và thụ thể vanilloit TRPV1-2, đối kháng alpha-1 adrenergic và thụ thể μ -opioid, ức chế sự hấp thu synaptosomal của noradrenalin, dopamin, serotonin và axit gaminobutyric và sự hấp thu tế bào của anandamit, hoạt động trên các cửa hàng Ca^{2+} của ty thể, chặn các kênh Ca^{2+} được kích hoạt điện áp thấp (loại T), kích thích hoạt động của thụ thể glyxin (glyxin-receptor) ức chế và ức chế hoạt động của hydrolaza béo (FAAH).

Cannabidiol có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng thấp, theo nghiên cứu của Mechoulam R và các cộng sự, công bố trên Journal of Clinical Pharmacology, sinh khả dụng khi dùng qua đường uống chỉ nằm trong khoảng từ 13 đến 19%, sử dụng qua mũi (hít) khoảng 31%. Nó được chuyển hóa nhanh, thời gian bán thải trong khoảng 9 giờ. Cannabidiol được hấp thu tốt sau khi uống, và có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng 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. Cannabidiol được gói trong hệ dẫn thuốc nano, kích thước hạt nhỏ hơn 100nm 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 cannabidiol. Sử dụng các hạt nano để mang thuốc và nhả thuốc là hướng mới để điều trị bệnh đặc biệt là bệnh động kinh và ung thư trong tương lai.

Tác giả Anitha Krishnan Nair và đồng sự trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2011/0229532 A1 đã đề cập quy trình sản xuất 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. Cụ thể patent Mỹ này nói về quá trình nano hóa curcumin và các dẫn xuất của curcumin, không áp dụng được cho các chất khác.

Đã biết Đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Việt Nam số 1-2018-03407 công bố ngày 25/10/2018 đã bộc lộ 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 8:10, khuấy từ 300 đến 500 vòng/phút, gia nhiệt từ 40°C đến 60°C trong 4 đến 8 giờ;

(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng chiếm từ 40 đến 60% đến nhiệt độ từ 60 °C đến 80°C, khuấy đều;

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

(iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung TWEEN 80 và PEG vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán với tỷ lệ 40:60 khối lượng, khuấy ở tốc độ từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ 150°C trong môi trường chân, trong thời gian từ 3 đến 5 giờ, khi thấy trong suốt thì dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn 40°C đến 60°C, khuấy với tốc độ từ 400 đến 600 vòng/phút;

(v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói; trong đó cỡ hạt thu được là nằm trong khoảng từ 40 đến 55nm.

Tuy nhiên, US 2011/0229532 A1 và 1-2018-034707 không đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano cannabinoid.

Tác giả Robert WINNICKI và đồng sự trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent số WO2013009928A1 đã đề cập đến các công thức cannabinoid. Một dạng dung dịch huyền phù mixen (micelle) của một hoặc nhiều chất tương tự cannabinoid, tạo hạt có kích thước từ 50 đến 1000nm, một dạng khác là công thức liposom của một hoặc nhiều chất tương tự cannabinoid có kích thước hạt từ 200 đến 400nm.

Cũng đã biết Công bố đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc số CN103110582A công bố ngày 22/05/2013 đã bộc lộ quy trình điều chế hệ vi nhũ tương micro CBD bao gồm các bước:

(i) hòa tan CBD với lượng từ 1% đến 30% khối lượng với pha dầu với lượng từ 1% đến 30% khối lượng và được chọn từ dầu thực vật, etyl este của axit béo, isopropyl este của axit béo, axit béo glyxerit, axit béo polyetylen glycol glyxerit;

(ii) bổ sung chất hoạt động bề mặt với lượng từ 1% đến 60% và được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol (PEG - polyoxethylene hydrogenated castor oil), TWEEN 80;

(iii) bổ sung chất hoạt động bề mặt với lượng từ 1% đến 40% khối lượng và được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol, khuấy đều đồng nhất, trong đó cỡ hạt thu được là nằm trong khoảng từ 10 đến 100nm.

Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương micro CBD trong CN103110582A, trong quy trình này tác giả nêu chung các phương pháp tạo hệ vi nhũ, quy trình chưa rõ ràng, chưa khảo sát độ ổn định, với quy trình này sản phẩm cuối sử dụng vẫn còn phần dư là nước hoặc nước đã khử ion, không sử dụng được cho các sản phẩm cần loại bỏ nước hoàn toàn, hàm lượng chất dao động lớn 0,2 đến 15% khối lượng.

Do đó, nhu cầu về quy trình sản xuất 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 cannabidiol trong quá trình nano hóa, đặc biệt là khả năng áp dụng quy trình vào sản xuất số lượng lớn, quy mô công nghiệp.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình sản xuất nano cannabidiol cải tiến nhằm khắc phục các nhược điểm của quy trình đã biết nêu trên để 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 cannabidiol, cụ thể là tăng khả năng hấp thu và tăng sinh khả dụng, đặc biệt là quy trình đã được tối ưu, đơn giản, nguyên liệu dễ tìm và giá thành hợp lý, có khả năng áp dụng quy trình vào sản xuất số lượng lớn, quy mô công nghiệp.

Để đạt được mục đích nêu trên, quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano cannabidiol theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho cannabidiol hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng cannabidiol: 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 đến 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 khuấy gia đến khoảng từ 60 đến 80°C,

(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 60:40 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°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 80 và dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil, hay còn gọi là ACRY SOL K-140) tỉ lệ 30: 70 theo khối lượng vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) theo tỷ lệ 60:40 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong, 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 nằm trong

khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;

(v) đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao (high pressure homogenizer) 30Mpa (300 bar);

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

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa cannabidiol 99% đã biết và nano cannabidiol thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Hình 2 là ảnh Phổ đo TEM kích thước hạt nano cannabidiol thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất nano cannabidiol cải tiến theo giải pháp hữu ích được thực hiện như sau:

(i) Bước thứ nhất: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho cannabidiol hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng cannabidiol: 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 đến nhiệt độ từ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ. Tác giả giải pháp hữu ích sử dụng etanol là dung môi có khả năng hòa tan tốt cannabidiol, 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 giải pháp hữu ích xác định được với tỷ lệ cannabidiol: etanol là 8:10 (khối lượng: thể tích) thì cannabidiol 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 cannabidiol phân tán tốt hơn, khi tác giả thử nghiệm với nhiều điều kiện khuấy và

nhệt độ khác nhau cho thấy với 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 thì pha phân tán cannabidiol là tốt hơn và kết hợp với chất mang PEG tốt hơn.

(ii) Bước thứ hai:

chuẩn bị chất mang bằng cách khuấy gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng khuấy gia đến khoảng từ 60 đến 80°C,

Khi sử dụng cannabidiol 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 sản xuất hạt tiểu phân chứa hoạt chất cannabidiol, với kích thước nhỏ có màng bao sinh học, cấu trúc có độ ổn định, không kết dính và độ hòa tan cao. Bởi vì hệ vi nhũ 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: 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 được chất khá cao có thể đem tới nhiều thuận lợi về mặt dược động học như được 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 được chất, tính hướng đích, tính thấm qua màng tế bào,... có thể được điều khiển bằng các tính chất hóa lý của polyme.

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

(iv) Bước thứ tư: nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung TWEEN 80 và dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil, hay còn gọi là ACRY SOL K-140) tỉ lệ 30:70 theo khối lượng vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) theo tỷ lệ 60:40 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong

khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách cho 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 nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/ phút.

Bằng các nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm, các tác giả giải pháp hữu ích nhận thấy rằng để sản xuất nano cannabidiol 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 giải pháp hữu ích đã lựa chọn chất nhũ hóa là TWEEN 80 và dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil, hay còn gọi là ACRY SOL K-140) tỉ lệ 30:70 theo khối lượng, bởi vì TWEEN 80 và PEG-40 hydrogenated castor oil, đều là chất thân nước, không có độc tính và độ an toàn cao, tuy nhiên khi sử dụng đơn lẻ hiệu quả sử dụng khi tạo cấu trúc nano chưa cao, thời gian phản ứng lâu, không phù hợp trong sản xuất quy mô công nghiệp. Các tác giả giải pháp hữu ích đã phải tiến hành rất nhiều thử nghiệm để xác định được với tỷ lệ TWEEN 80 và dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil, hay còn gọi là ACRY SOL K-140) để hình thành các mạch polyme bền vững.

Do chất nhũ hóa TWEEN 80 và PEG-40 hydrogenated castor oil là phân tử có 2 phần riêng biệt, phần thân dầu và phần thân nước, nên có khả năng tạo liên kết với cannabidiol và hỗn hợp chất mang. Phần thân dầu của TWEEN 80 và PEG-40 hydrogenated castor oil tạo liên kết với cannabidiol và phần thân nước tạo liên kết với phần thân nước của hỗn hợp chất mang PEG, nên đã tạo ra các hạt tiểu phân nano cannabidiol và với cấu trúc này bảo vệ tốt hoạt tính cannabidiol.

Tạo hệ vi nhũ tương nano cannabidiol bằng cách thực hiện kết hợp khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản

ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ, sau đó tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút. Việc kết hợp TWEEN 80 và PEG-40 hydrogenated castor oil với tỉ lệ 30:70 đã cải thiện hiệu quả phản ứng, rút ngắn thời gian phản ứng xuống một nửa, chỉ còn từ 1 đến 2 giờ thay vì từ 3 đến 5 giờ nếu dùng đơn lẻ.

Hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích 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 cannabidiol 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 cannabidiol sẽ bị phá hủy trong đường tiêu hóa.

Hệ vi nhũ tương nano cannabidiol thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích 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 cannabidiol thân nước, không kết dính, kích thước của các hạt ổn định nằm trong khoảng từ 15 đến 40 nm, nên có thể thâm nhập dễ dàng qua màng tế bào để phát huy hiệu quả và tăng độ hòa tan của cannabidiol trong nước, từ đó làm tăng tính sinh khả dụng của chất.

(v) Bước thứ năm: đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao (high pressure homogenizer) 30Mpa (300 bar). Đồng hóa huyền phù nhằm làm giảm kích thước các hạt thuộc pha phân tán và phân bố đều chúng trong pha liên tục để hạn chế sự tách pha dưới tác dụng của trọng lực, đảm bảo độ đồng đều, ổn định của dung dịch, tăng tuổi thọ cho sản phẩm.

(vi) Bước thứ sáu: 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 giải pháp hữu ích

Ví dụ: Sản xuất 100 ml nano cannabidiol

Ví dụ 1: Điều chế 100 ml nano cannabidiol

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 7,5g cannabidiol hòa tan trong 9g 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, thu được 16g dung dịch pha phân tán

Chuẩn bị chất mang: 24g dung dịch PEG được gia nhiệt đến 70⁰C, khuấy đều.

Bổ sung 24g ml chất mang vào 16g dung dịch pha phân tán đã chuẩn bị ở trên (tỷ lệ theo khối lượng chất mang:pha phân tán = 60:40), tiếp tục gia nhiệt đến 50⁰C, khuấy với tốc độ 600 vòng/phút. Thu được 60 ml tương đương 40g hỗn hợp chất mang và pha phân tán.

Cân 18g Tween 80 và 42g dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil), sau đó trộn đều thu được 60g hỗn hợp. Bổ sung 60g hỗn hợp tween 80 và dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil) đã chuẩn bị vào 40g hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu được ở trên, tiếp tục khuấy ở tốc độ 700 vòng/phút, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100⁰C trong thời gian trong 2 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách cho 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; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ 800 vòng/phút.

Tiếp theo, đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm toàn bộ hỗn hợp qua hệ thống đồng hóa áp lực cao ở 30Mpa.

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

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

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

Tiến hành đo kích thước hạt nano cannabidiol bằng phương pháp *tán xạ ánh sáng động* (Dynamic Light Scattering - *DLS*) cho thấy kích thước hạt nằm trong khoảng từ 15 đến 40nm chiếm tỉ lệ 100% trong dung dịch.

Kích thước hạt được đo bằng DLS: Các hạt lơ lửng trong một chất lỏng liên tục trải qua chuyển động ngẫu nhiên, và kích thước của các hạt trực tiếp ảnh hưởng đến tốc độ của chúng, hạt nhỏ di chuyển nhanh hơn so với những hạt lớn hơn. Trong DLS, ánh sáng đi qua mẫu, và ánh sáng tán xạ được phát hiện và ghi nhận ở một góc độ nhất định.

Điện thế zeta hay điện thế động: điện thế giữa pha phân tán và môi trường phân tán.

Kích thước (nm, theo TEM)	Kích thước (nm, theo DLS)	Thế zeta (mV)	Độ ổn định (tháng)	Tính tan trong nước
15-40	15-40	-40	> 12	Tan tốt trong nước, sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 15 ngày

Từ kết quả trên thấy rằng, việc sử dụng chất mang PEG với dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil, hay còn gọi là ACRY SOL K-140), thu được hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ từ 15 đến 40nm, có ổn định cao (>12 tháng), tan tốt trong nước và sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 15 ngày.

Bảng dưới đây thể hiện các số liệu đo bằng phương pháp *tán xạ ánh sáng động* (Dynamic Light Scattering - *DLS*):

		Đường kính (nm)	Mật độ %	Chiều rộng (nm)

Kích thước hạt trung bình (d.nm): 21,42	Đỉnh phổ 1	21,22	100.0	3.556
Pdl: 0,131	Đỉnh phổ 2	0.00	0.00	0.00
Khả năng chặn: 0,949	Đỉnh phổ 3	0,00	0,00	0,00
Kết quả đánh giá: tốt				

Theo Hình 1, là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa cannabidiol 99% đã biết và nano cannabidiol thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó bình A thể hiện cannabidiol 99% phân tán trong nước đã biết, bình B thể hiện nano cannabidiol phân tán trong nước thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích. Hình 1 cho thấy cannabidiol 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 (bình A); nano cannabidiol thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích phân tán hoàn toàn trong nước tạo dung dịch trong suốt, đồng nhất (bình B).

Theo Hình 2, là kết quả ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano cannabidiol thu được bằng quy trình giải pháp hữu ích, ta thấy các hạt có sự đồng đều về kích thước, dao động trong khoảng 15 đến 40nm (Hình 2).

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất nano cannabidiol cải tiến theo giải pháp hữu ích đã thành công trong việc sản xuất hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân nano cannabidiol có kích thước nhỏ từ 15 đến 40nm, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước mà vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính cannabidiol trong quá trình nano hóa.

Các chất được sử dụng trong quy trình sản xuất nano cannabidiol phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ vi nhũ tương nano cannabidiol 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 sản xuất nano cannabidiol cải tiến bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho cannabidiol hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng cannabidiol: 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 đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;

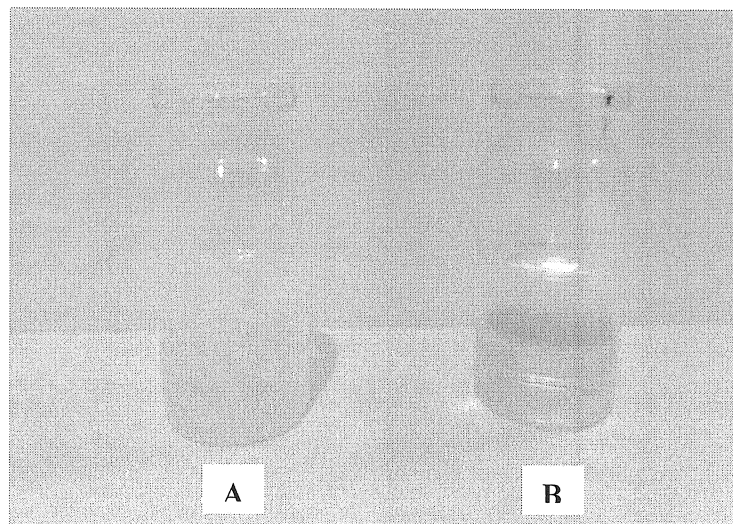
(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng chiếm từ 40 đến 60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C, khuấy đều;

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

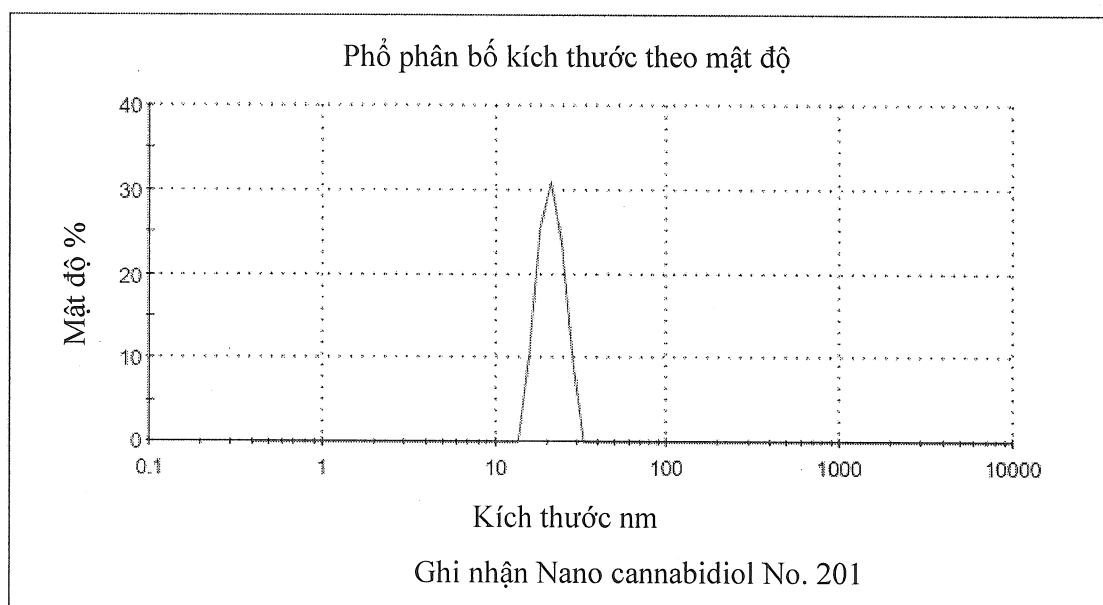
(iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung TWEEN 80 và dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG-40 hydrogenated castor oil) tỉ lệ 30:70 theo khối lượng vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) theo tỷ lệ 60:40 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong, 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 nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;

(v) đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao ở 30Mpa;

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



Hình 1



Hình 2