



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0034416

(51)^{2020.01} A61K 31/00; A61P 9/14; B82Y 5/00; (13) B
A61K 36/00

(21) 1-2020-02787

(22) 15/05/2020

(45) 26/12/2022 417

(43) 25/09/2020 390A

(73) Nguyễn Ánh Vân (VN)

W1104 The Manor, phường Mễ Trì, quận Nam Từ Liêm, thành phố Hà Nội

(72) Nguyễn Đức Nghĩa (VN); Nguyễn Ánh Vân (VN); Kiều Đình Hùng (VN); Nguyễn Thị Ngọc Bình (VN).

(54) CHẾ PHẨM NANO SOL GEL HỮU CƠ TỪ PANAX NOTOGINSENG, RUTIN, GINKGO BILOBA CÓ TÁC DỤNG TĂNG CƯỜNG HOẠT ĐỘNG BẢO VỆ NÃO, TIM MẠCH VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm nano sol gel hữu cơ chứa ba thành phần nano lipit rắn tải được chất hóa học từ thực vật có nguồn gốc từ thiên nhiên: panax notoginseng saponins chiết tách từ cây tam thất bắc của Việt Nam, rutin chiết tách từ cây hoa hòe ở tỉnh Thái Bình Việt Nam và ginkgo biloba chiết tách từ cây bạch quả. Chế phẩm theo sáng chế thể hiện độc tính thấp và sinh khả dụng cao. Cụ thể, chế phẩm theo sáng chế có tác dụng kháng thiếu máu cơ tim cục bộ, kháng loạn nhịp, cải thiện huyết lưu biến học, tuần hoàn và kháng kết tập tiểu cầu và hình thành huyết khối, hạ lipit máu đến giới hạn nhất định và hiệu quả tốt chống xơ vữa động mạch. Chế phẩm theo sáng chế có tác dụng chống oxy hóa để ngăn chặn các tổn thương do gốc tự do, và có tác dụng tăng cường sức chịu đựng của mao mạch, làm bền thành mạch làm giảm nguy cơ tăng huyết áp, nhờ đó bảo vệ thần kinh não, ngăn ngừa đột quỵ và còn sử dụng để hồi phục sức khỏe sau cơn đột quỵ và các bệnh xuất huyết khác nhờ tác dụng tăng cường và xây dựng lại các mạch máu bị hư hỏng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm nano sol gel hữu cơ chứa panax notoginseng saponins, rutin và ginkgo biloba có tác dụng tăng cường hoạt động bảo vệ não, tim mạch và phương pháp sản xuất chế phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Panax notoginseng saponins

Tam thất (tên khoa học là *Panax notoginseng*) là một loại sâm thuộc họ ngũ gia bì và rễ của nó dùng để làm thuốc, *Panax notoginseng* là thuốc truyền thống được sử dụng lâu đời, rễ Tam thất có hiệu quả cải thiện tuần hoàn mạch máu, cải thiện trì trệ, ứ đọng máu, giảm nhẹ sưng phù giảm đau, có hơn 10 loại saponin được chiết tách chứa trong tam thất. Thành phần chính là saponin Rb1 và Rg1 cao hơn nhân sâm. Tổng lượng saponin chiết xuất từ rễ tam thất được đem sản xuất thuốc hàng thập kỷ qua. Cấu trúc hóa học của các thành phần hoạt động chính của panax notoginseng saponins được thể hiện ở hình 1.

Rutin

Rutin còn được gọi là rutoside, quercetin-3-rutinoside, và sophorin là một flavonoit cam quýt glycosit tìm thấy trong kiều mạch (Kreft et al., 1997). Về mặt hóa học nó là một glycosit bao gồm flavonolic aglycon quercetin cùng với disutat carotarcin. Nó đã chứng minh một số hoạt động dược lý, bao gồm chất chống oxy hóa, bảo vệ tế bào, bảo vệ mạch, chống ung thư, hoạt động bảo vệ thần kinh và bảo vệ tim mạch.

Ginkgo biloba

Ginkgo biloba là tên khoa học của một loại cây thân gỗ, có lá hình quạt, thuộc họ Ginkgoaceae - cây bạch quả. Các thành phần hóa học cũng được kiểm tra trong chiết xuất của lá cây bạch quả. Tên và cấu trúc của ginkgolide trong ginkgo biloba được hiển thị trong hình 2. Cả hai loại bilobalide và ginkgolide là thành phần chính của ginkgo biloba hiển thị tất cả các

hoạt động sinh học và/hoặc dược lý của Ginkgo biloba. Tuy nhiên, cơ chế cơ bản của phân tử cũng như tương tác với dược liệu trong quá trình điều trị bệnh như vậy vẫn chưa rõ ràng. Kaempferol là một chất chuyển hóa của quercetin và isorhamnetin là một chất chuyển hóa của kaempferol. Ginkgo biloba thương mại của lá cây bạch quả được làm giàu bằng nước-axeton hoặc nước-etanol của chiết xuất từ lá bạch quả và được tiêu chuẩn hóa về hàm lượng flavonoid của chúng hoặc hàm lượng ba lần của chúng. Các thành phần này có thể tạo ra các hiệu ứng thay đổi tinh thần và tăng cường trí nhớ, đó là do các đặc tính thúc đẩy sự phát triển thần kinh và chất chống oxy hóa của flavanol của ginkgo biloba. Tác dụng dược lý của ginkgo biloba: ginkgo biloba có tác dụng trên bệnh tim mạch vành, rối loạn nhịp tim, bệnh cơ tim do tiểu đường, chứng mất trí nhớ, nhồi máu não, điều hòa lipid máu.

Để phối hợp các thành phần trên tạo công dụng hiệp đồng, chế phẩm được điều chế theo công nghệ nano lipid rắn (nano solid lipid) chứa nhiều dược chất liên hợp (Lipid drug conjugates nanoparticles- LDCN). Đây là công nghệ bào chế thuốc nano hiện đại nhất hiện nay. Công nghệ này có thể tải nhiều dược chất trong hạt nano. Hạt thuốc nano lipid dạng này có sinh khả dụng cộng hợp, tác dụng trị bệnh theo hiệu ứng liên hợp cường lực (Conjugate Potentiation Effect) mang lại hiệu quả trị bệnh cao.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm nano sol gel hữu cơ bao gồm các thành phần với tỷ lệ phần trăm khối lượng như sau:

- (a) nano lipid rắn ginkgo biloba: 15-30%
- (b) nano lipid rắn panax notoginseng saponins: 13,89%
- (c) nano lipid rắn rutin: 2,78%
- (d) dầu đậu nành: 40-65%
- (e) lecithin: 1-10%
- (f) tween 80: 0,1- 5%.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất quy trình bào chế chế phẩm nêu trên bao gồm các bước:

- i) điều chế dung dịch chất mang;
- ii) điều chế hỗn dịch tiền nano lipid liên hợp ba dược chất/chất mang;
- iii) điều chế tiền sol gel nano lipid liên hợp ba dược chất;
- iv) điều chế sol gel nano lipid liên hợp ba dược chất; và
- v) hoàn thiện chế phẩm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: Cấu trúc hóa học các thành phần chính của panax notoginseng saponins.

Hình 2: Cấu trúc hóa học của rutin.

Hình 3: Thành phần hóa học của ginkgo biloba.

Hình 4: Quy trình bào chế của chế phẩm có tác dụng tăng cường hoạt động bảo vệ não và tim mạch.

Hình 5 là biểu đồ 1: ngưỡng đau nền của các lô chuột theo thời gian.

Hình 6 là biểu đồ 2: ngưỡng đau sau điều trị của các lô chuột theo thời gian.

Mô tả chi tiết sáng chế

Chế phẩm nano sol gel hữu cơ theo sáng chế bao gồm các thành phần với tỷ lệ phần trăm khối lượng như sau:

- (a) nano lipid rắn ginkgo biloba: 15-30%
- (c) nano lipid rắn panax notoginseng saponins: 13,89%
- (b) nano lipid rắn rutin: 2,78%
- (d) dầu đậu nành: 40-65%
- (e) lecithin: 1-10%
- (f) tween 80: 0,1- 5%.

Panax notoginseng saponins (PNS) được chiết tách từ cây tam thất bắc Việt Nam bằng dung môi etanol.

Hạt nano lipit rắn panax notoginseng saponins (PNS) được mua từ nhà máy Nano sinh phẩm Vietlife có thông số kỹ thuật như sau: kích thước hạt nano trung bình là 9,94 nm. Hàm lượng PNS trong hạt nano trên 22%.

Rutin được chiết tách trong dung môi etanol từ hoa hòe của tỉnh Thái Bình Việt Nam.

Hạt nano lipit rắn rutin được mua từ nhà máy Nano sinh phẩm Vietlife có thông số kỹ thuật như sau: kích thước hạt nano trung bình 11.25 nm. Hàm lượng rutin trong hạt nano trên 22%.

Ginkgo biloba được mua từ công ty Shaan Meihe Biochemics Co.,Ltd (China)

Hạt nano lipit rắn ginkgo biloba (GBLB) được mua từ nhà máy Nano sinh phẩm Vietlife có thông số kỹ thuật như sau: Kích thước hạt nano trung bình 9,943 nm. Hàm lượng GBLB trong hạt nano trên 22%.

Ngoài ra các nguyên liệu tá được như: glyxeryl mono stearat, axit stearic, magie stearat, tween 80, lecithin, dầu gấc, dầu đậu nành. Tất cả đều là nguyên liệu theo tiêu chuẩn cơ sở để sử dụng làm nguyên liệu bào chế được phẩm theo quy định.

Thiết bị sử dụng trong sáng chế là thiết bị tạo gel có gia nhiệt, điều khiển nhiệt độ, thiết bị tạo chân không, thiết bị khuấy trộn có điều khiển

Quy trình bào chế chế phẩm theo sáng chế bao gồm các bước:

Bước 1: điều chế dung dịch chất mang: dầu đậu nành đưa vào bình phản ứng. Gia nhiệt ở nhiệt độ 70-100°C, tốt hơn là 80°C. Khuấy đều tốc độ 250-350 vòng/phút, tốt hơn là 300 vòng/phút. Tiếp theo cho lecithin vào bình phản ứng. Đun và khuấy đến khi tan hết. Sau khoảng 30-50 phút, tốt hơn là 45 phút, cho tiếp chất hoạt động bề mặt tween 80 vào bình. Đun nhẹ và khuấy đều trong khoảng 80-100 phút, tốt hơn là 90 phút, cho đến khi dung dịch chất mang trở nên trong suốt.

Bước 2: điều chế hỗn dịch tiền nano lipit liên hợp ba được chất/chất mang: cho từ từ nano lipit rắn panax notoginseng saponins vào bình phản ứng, duy trì ở nhiệt độ 80-90°C, khuấy mạnh 400-600 vòng/phút, tốt hơn là 500 vòng/phút, khuấy và đun đến khi nano panax notoginseng saponins tan hết. Tiếp tục cho nano lipit rắn rutin vào, giữ nguyên nhiệt độ và tốc độ khuấy cho đến khi nano lipit rắn rutin tan hết. Sau đó cho nano lipit rắn ginkgo biloba vào, giữ nguyên nhiệt độ và tốc độ khuấy đến khi nano lipit rắn ginkgo biloba tan hết.

Bước 3: điều chế tiền sol gel nano lipit liên hợp ba dược chất: hỗn hợp chất mang chứa ba thành phần nano lipit rắn được khuấy trộn trong khoảng từ 3-24 giờ. Thời gian phụ thuộc vào hàm lượng của mỗi mẻ của sản phẩm: trong phòng thí nghiệm khoảng 3 giờ, bán sản xuất khoảng 7 giờ, sản xuất công nghiệp khoảng 18-24 giờ.

Bước 4: điều chế sol gel hữu cơ nano lipit liên hợp ba dược chất. Điều chỉnh hàm lượng các thành phần tạo sol gel hữu cơ để đạt chuẩn các thông số kỹ thuật: hàm lượng panax notoginseng saponins, rutin, ginkgo Biloba.

Bước 5: hoàn thiện chế phẩm: tạo gel theo nhiệt độ giải gel: đóng gel ở nhiệt độ thường (nhiệt độ phòng), nhiệt độ bảo quản (dưới 24°C), giải gel ở nhiệt độ 35-37°C (nhiệt độ cơ thể người).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Phương pháp bào chế chế phẩm

Bào chế 1 viên nang mềm 900 mg chế phẩm cần các thành phần với khối lượng như sau:

- (a) nano lipit rắn ginkgo biloba: 250mg
- (b) nano lipit rắn rutin: 25mg
- (c) nano lipit rắn panax notoginseng saponins: 125mg
- (d) dầu đậu nành: 450mg
- (e) lecithin: 40 mg
- (f) tween 80: 10mg.

Cho 450mg dầu đậu nành vào bình phản ứng, gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C, khuấy đều ở tốc độ 300 vòng/phút, tiếp theo cho 40mg lecithin vào bình phản ứng, đun và khuấy 45 phút. Cho tiếp 10mg tween 80 vào bình, giảm nhiệt độ xuống dưới 80 và khuấy đều trong 90 phút. Cho từ từ 125mg nano lipit rắn panax notoginseng saponins vào bình phản ứng, duy trì nhiệt độ 90°C, tăng khuấy lên 500 vòng/phút, khuấy và đun đến khi tan hết. Làm tương tự với nano lipit rắn rutin và nano lipit rắn ginkgo biloba. Tiếp tục khuấy trộn trong 3 giờ. Điều chỉnh các thành phần tạo sol-gel để các thành phần đạt hàm lượng.

Ví dụ 2: Đánh giá tác dụng giảm đau vận mạch của chế phẩm trên mô hình đau mạn tính Migrain

Thí nghiệm trên chuột nhắt trắng, được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con: Lô 1 (chứng sinh học) uống nước 0,2ml/10g; lô 2 (mô hình) tiêm nitroglycerin (NTG) 10 mg/kg, uống nước 0,2 ml/10g; lô 3 (chứng dương) tiêm nitroglycerin 10 mg/kg, uống propranolol 40 mg/kg; lô 4 tiêm nitroglycerin 10 mg/kg, uống chế phẩm 0,96 viên/kg/ngày (tương đương lâm sàng); lô 5 tiêm nitroglycerin 10 mg/kg, uống chế phẩm 2,88 viên/kg/ngày (gấp 3 lần lâm sàng)

Kết quả nghiên cứu

Ngưỡng đau nền

Lô chuột	nn	Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau (g)				
		Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 9	Ngày 11
Lô 1 (chứng sinh học)	110	7,6 ± 1,7	7,9 ± 0,9	7,5 ± 1,4	7,9 ± 1,2	7,6 ± 1,1
Lô 2 (NTG 10 mg/kg)	110	7,3 ± 1,6	6,2 ± 0,8	6,4 ± 0,7	6,2 ± 1,1	6,2 ± 0,5
p so chứng		> 0,05	< 0,001	< 0,05	< 0,01	< 0,01
Lô 3 Propranolol 40 mg/kg	110	7,6 ± 1,5	6,5 ± 1,1	6,4 ± 1,0	7,1 ± 0,9	7,1 ± 1,0
p so chứng		> 0,05	< 0,001	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p so mô hình		> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05
Lô 4 chế phẩm 0,96 viên/kg	110	7,1 ± 1,3	7,1 ± 0,7	6,5 ± 1,1	6,3 ± 1,4	6,2 ± 0,9
p so chứng		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,01
p so mô hình		> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Lô chuột	nn	Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau (g)				
		Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 9	Ngày 11
p so propranolol		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
Lô 5 chế phẩm 2,88 viên/kg	110	7,3 ± 1,1	6,2 ± 0,7	6,5 ± 0,8	6,2 ± 1,1	6,7 ± 0,6
p so chứng		> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,01	< 0,05
p so mô hình		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
p so propranolol		> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05
p so liều thấp		> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 1. Ảnh hưởng của chế phẩm lên lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau

Biểu đồ 1. Ngưỡng đau nền của các lô chuột theo thời gian

Kết quả bảng 1 và biểu đồ 1 cho thấy:

Ngưỡng đau nền của chuột lô mô hình giảm ở tất cả các thời điểm nghiên cứu, rõ nhất ở ngày 5 đến ngày 11 ($p < 0,05$, $p < 0,01$ và $p < 0,001$).

Ngưỡng đau nền của chuột lô uống propranolol 40mg/kg cao hơn lô mô hình ở hầu hết các thời điểm, rõ nhất ở ngày 9 và ngày 11 ($p < 0,05$).

Ngưỡng đau nền của chuột lô uống chế phẩm liều 0,96 viên/kg cao hơn lô mô hình ở thời điểm ngày 5 ($p < 0,05$), nhưng không khác biệt ở các thời điểm còn lại ($p > 0,05$).

Ngưỡng đau nền của chuột lô uống chế phẩm liều 2,88 viên/kg cao hơn lô mô hình ở thời điểm ngày 11 ($p < 0,05$), nhưng không khác biệt ở các thời điểm còn lại ($p > 0,05$).

Tác dụng của chế phẩm cả 2 liều kém hơn so với propranolol 40mg/kg.

Ngưỡng đau sau điều trị

Lô chuột	nn	Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau (g)				
		Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 9	Ngày 11
Lô 1 (chứng sinh học)	110	$8,3 \pm 1,2$	$7,6 \pm 0,7$	$7,2 \pm 1,1$	$7,8 \pm 1,3$	$7,2 \pm 0,7$
Lô 2 (NTG 10mg/kg)	110	$6,1 \pm 0,9$	$5,1 \pm 1,1$	$6,2 \pm 0,5$	$5,8 \pm 0,6$	$5,8 \pm 0,8$
p so chứng		< 0,001	< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,01
Lô 3 Propranolol 40mg/kg	110	$6,8 \pm 1,2$	$7,0 \pm 1,0$	$6,7 \pm 0,5$	$6,7 \pm 0,5$	$7,8 \pm 0,7$
p so chứng		< 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,01
p so mô hình		> 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,01	< 0,001
Lô 4 chế phẩm 0,96 viên/kg	110	$6,2 \pm 1,2$	$6,4 \pm 1,3$	$6,1 \pm 1,1$	$6,6 \pm 0,7$	$6,7 \pm 1,0$
p so chứng		< 0,001	< 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05
p so mô hình		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05
p so propranolol		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
Lô 5 chế phẩm 2,88 viên/kg	110	$6,0 \pm 1,1$	$6,0 \pm 0,8$	$6,8 \pm 0,6$	$6,3 \pm 0,3$	$7,4 \pm 1,4$
p so chứng		< 0,001	< 0,01	> 0,05	< 0,01	> 0,05
p so mô hình		> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,01
p so propranolol		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Lô chuột	nn	Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau (g)				
		Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 9	Ngày 11
p so liều thấp		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 2. Ảnh hưởng của chế phẩm lên lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau

Kết quả bảng 2 cho thấy:

Ngưỡng đau sau tiêm NTG của chuột lô mô hình giảm rõ rệt ở tất cả các thời điểm nghiên cứu ($p < 0,05$, $p < 0,01$ và $p < 0,001$).

Ngưỡng đau sau uống thuốc của chuột lô uống propranolol 40mg/kg cao hơn lô mô hình ở tất cả các thời điểm, rõ nhất từ ngày 5 đến ngày 11 ($p < 0,05$, $p < 0,01$ và $p < 0,001$).

Ngưỡng đau sau uống thuốc của chuột lô uống chế phẩm liều 0,96 viên/kg cao hơn lô mô hình ở hầu hết các thời điểm, rõ nhất ở ngày 5, ngày 9 và ngày 11 ($p < 0,05$). Tác dụng này kém so với propranolol 40mg/kg.

Ngưỡng đau sau uống thuốc của chuột lô uống chế phẩm liều 2,88 viên/kg cao hơn lô mô hình ở hầu hết các thời điểm, rõ nhất từ ngày 5 đến ngày 11 ($p < 0,05$ và $p < 0,01$). Tác dụng này tương đương với propranolol 40mg/kg.

Kết luận:

Chế phẩm liều 0,96 viên/kg và 2,88 viên/kg có tác dụng làm giảm ngưỡng đau sau điều trị trên mô hình đau mạn tính migraine.

Chế phẩm liều 2,88 viên/kg có tác dụng mạnh hơn liều 0,96 viên/kg và tương đương với propranolol 40mg/kg.

Ví dụ 3: Nghiên cứu tác dụng an thần của chế phẩm trên mô hình dầu cộng nâng cao

Thí nghiệm trên chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con: Lô 1 (chứng sinh học) uống nước cất 20 ml/kg/ngày; lô 2 (chứng dương) uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày; lô 3 uống chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày (tương đương lâm sàng); lô 5 uống chế phẩm 2,88 viên/kg/ngày (gấp 3 lần lâm sàng).

Kết quả:

Lô chuột	n	Số lần chuột vào nhánh đóng		Thời gian chuột vào nhánh đóng (giây)	
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc
Lô 1: Chứng sinh học	10	11,10 $\pm 2,56$	10,50 $\pm 2,80$	176,70 $\pm 33,77$	182,10 $\pm 36,27$
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	11,50 $\pm 2,32$	6,40 $\pm 2,07$	173,70 $\pm 36,50$	121,20 $\pm 27,18$
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,01
Lô 3: Chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày	10	10,60 $\pm 3,34$	7,50 $\pm 2,42$	187,10 $\pm 41,02$	136,70 $\pm 40,32$
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 4: Chế phẩm liều 2,88 viên/kg/ngày	10	10,90 $\pm 2,38$	6,10 $\pm 2,02$	182,10 $\pm 39,03$	124,90 $\pm 26,48$
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 3. Ảnh hưởng của chế phẩm đến số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng

Kết quả bảng 3 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày và liều 2,88 viên/kg/ngày, số lần và thời gian chuột vào nhánh đóng giảm hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của Chế phẩm cả 2 mức liều tương đương với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày.

Lô chuột	n	Số lần chuột vào nhánh mở		Thời gian chuột vào nhánh mở (giây)	
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc
Lô 1: Chứng sinh học	10	$3,90 \pm 1,20$	$3,70 \pm 1,06$	84,50 $\pm 24,66$	80,40 $\pm 26,73$
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	$4,30 \pm 1,42$	$6,90 \pm 2,33$	90,40 $\pm 29,51$	150,10 $\pm 26,36$
p so với lô 1		> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,001
Lô 3: Chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày	10	$3,70 \pm 1,16$	$6,10 \pm 2,13$	81,70 $\pm 26,59$	131,80 $\pm 39,40$
p so với lô 1		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,01
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 4: Chế phẩm liều 2,88 viên/kg/ngày	10	$4,10 \pm 1,10$	$6,50 \pm 2,12$	83,80 $\pm 27,58$	148,40 $\pm 33,08$
p so với lô 1		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,001
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 4. Ảnh hưởng của Chế phẩm đến số lần và thời gian chuột vào nhánh mở

Kết quả bảng 4 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày và liều 2,88 viên/kg/ngày, số lần và thời gian chuột vào nhánh mở tăng hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tác dụng của chế phẩm cả 2 mức liều tương đương với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày.

Lô chuột	n	Tỷ lệ né tránh nhánh mở		p _{trước-sau}
		Trước uống thuốc	Sau 7 ngày uống thuốc	
Lô 1: Chứng sinh học	10	70,47 ± 7,55	71,37 ± 7,75	> 0,05
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	69,21 ± 8,88	46,37 ± 9,21	< 0,0001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,0001	
Lô 3: Chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày	10	71,44 ± 8,08	52,90 ± 7,84	< 0,001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,0001	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	
Lô 4: Chế phẩm liều 2,88 viên/kg/ngày	10	70,20 ± 9,23	47,15 ± 9,96	< 0,0001
p so với lô 1		> 0,05	< 0,0001	
p so với lô 2		> 0,05	> 0,05	

Bảng 5. Ảnh hưởng của chế phẩm đến tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột

Kết quả bảng 5 cho thấy:

Sau 7 ngày uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày và chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày và liều 2,88 viên/kg/ngày, tỷ lệ né tránh nhánh mở của chuột giảm hơn so với thời điểm trước dùng thuốc thử và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Tác dụng của chế phẩm cả 2 mức liều tương đương với diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày.

Ví dụ 4: Đánh giá tác dụng chống co giật của của chế phẩm

Thí nghiệm trên chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con: Lô 1 (chứng sinh học) uống nước cất 20 ml/kg/ngày; lô 2 (chứng dương) uống diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày; lô 3 uống chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày (tương đương lâm sàng); lô 5 uống chế phẩm 2,88 viên/kg/ngày (gấp 3 lần lâm sàng). Chuột sau khi tiêm nikethamid được đo thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chuột chết.

Lô chuột	n	Thời gian khởi phát cơn co giật (phút)	Thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid (phút)
Lô 1: Mô hình	10	$1,37 \pm 0,36$	$8,31 \pm 2,41$
Lô 2: Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày	10	$2,08 \pm 0,55$	$14,91 \pm 3,67$
p so với lô 1		$< 0,01$	$< 0,001$
Lô 3: Chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày	10	$1,41 \pm 0,44$	$8,83 \pm 2,55$
p so với lô 1		$> 0,05$	$> 0,05$
p so với lô 2		$< 0,05$	$< 0,05$
Lô 4: Chế phẩm liều 2,88 viên/kg/ngày	10	$1,45 \pm 0,48$	$8,92 \pm 2,72$
p so với lô 1		$> 0,05$	$> 0,05$
p so với lô 2		$< 0,05$	$< 0,05$

Bảng 6. Ảnh hưởng của Chế phẩm đến thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid

Kết quả bảng 6 cho thấy:

Diazepam liều 2,4 mg/kg/ngày có tác dụng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p < 0,05$).

Chế phẩm liều 0,96 viên/kg/ngày và liều 2,88 viên/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian khởi phát cơn co giật và thời gian chuột chết sau khi tiêm nikethamid so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm nano sol gel hữu cơ chứa panax notoginseng saponins, rutin, ginkgo biloba có tác dụng tăng cường hoạt động bảo vệ não và tim mạch, trong đó chế phẩm này chứa các thành phần theo tỉ lệ % khối lượng:

- (a) nano lipit rắn ginkgo biloba: 15-30%
- (b) nano lipit rắn panax notoginseng saponins: 13,89%
- (c) nano lipit rắn rutin: 2,78%
- (d) dầu đậu nành: 40-65%
- (e) lecithin: 1-10%
- (f) tween 80: 0,1- 5%.

2. Quy trình bào chế chế phẩm theo điểm 1 bao gồm các bước:

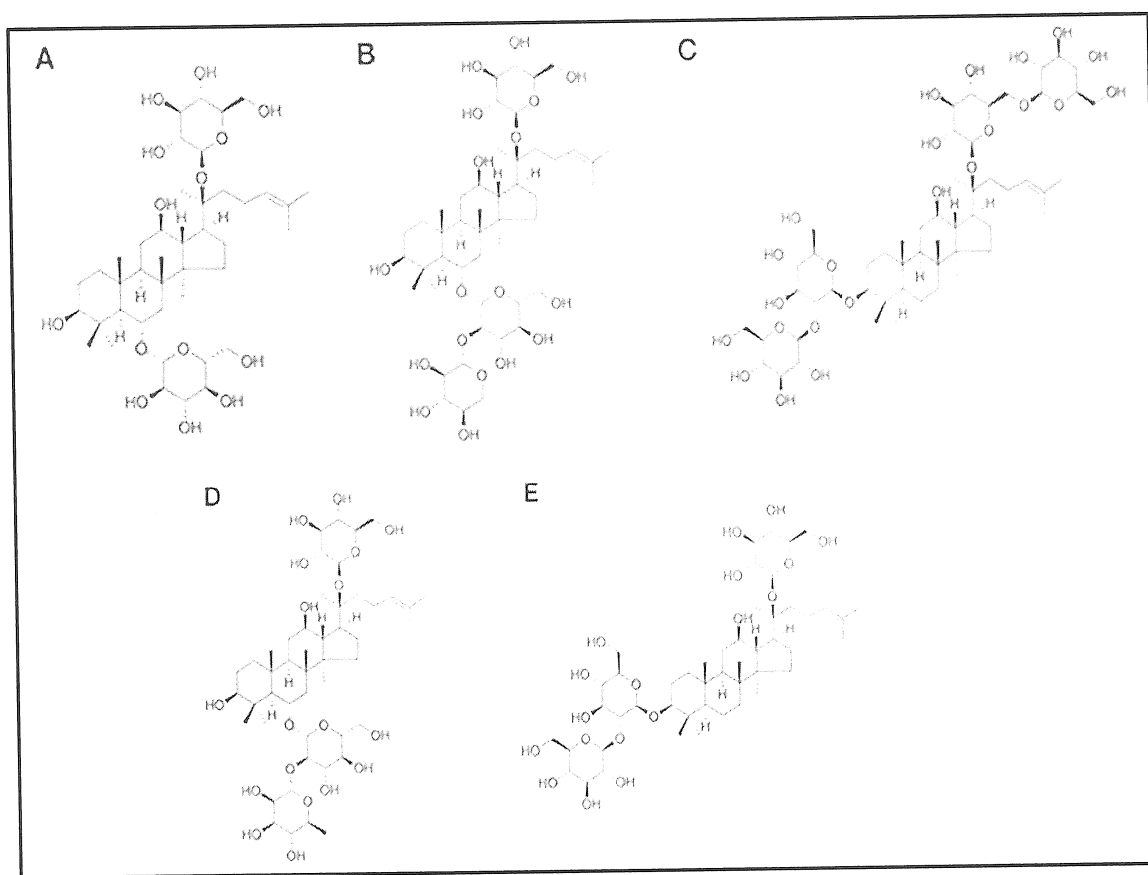
- (i) điều chế dung dịch chất mang: dầu đậu nành đưa vào bình phản ứng, gia nhiệt ở nhiệt độ 70-100°C, tốt hơn là 80°C; khuấy đều tốc độ 250-350 vòng/phút, tốt hơn là 300 vòng/phút; tiếp theo cho lecithin vào bình phản ứng, đun và khuấy đến khi tan hết; sau khoảng 30-50 phút, tốt hơn là 45 phút, cho tiếp chất hoạt động bề mặt tween 80 vào bình; đun nhẹ và khuấy đều trong khoảng 80-100 phút, tốt hơn là 90 phút, cho đến khi dung dịch chất mang trở nên trong suốt;
- (ii) điều chế hỗn dịch tiền nano lipit liên hợp ba dược chất/chất mang: cho từ từ nano lipit rắn panax notoginseng saponins vào bình phản ứng, duy trì ở nhiệt độ 80-90°C, khuấy mạnh 400-600 vòng/phút, tốt hơn là 500 vòng/phút, khuấy và đun đến khi nano panax notoginseng saponins tan hết; tiếp tục cho nano lipit rắn rutin vào, giữ nguyên nhiệt độ và tốc độ khuấy cho đến khi nano lipit rắn rutin tan hết; sau đó cho nano lipit rắn ginkgo biloba vào, giữ nguyên nhiệt độ và tốc độ khuấy đến khi nano lipit rắn ginkgo biloba tan hết;
- (iii) điều chế tiền sol gel nano lipit liên hợp ba dược chất: hỗn hợp chất mang chứa ba thành phần nano lipit rắn được khuấy trộn trong khoảng từ 3-24 giờ; thời gian phụ thuộc vào hàm

lượng của mỗi mẻ của sản phẩm: trong phòng thí nghiệm khoảng 3 giờ, bán sản xuất khoảng 7 giờ, sản xuất công nghiệp khoảng 18-24 giờ;

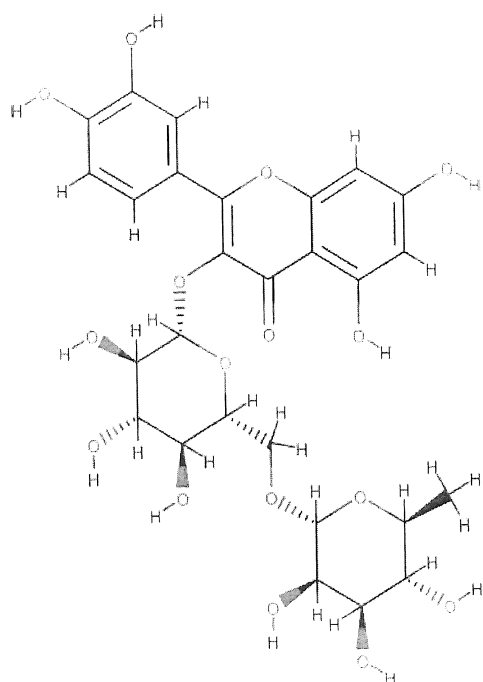
(iv) điều chế sol gel hữu cơ nano lipid liên hợp ba dược chất, điều chỉnh hàm lượng các thành phần tạo sol gel hữu cơ để đạt chuẩn các thông số kỹ thuật: hàm lượng panax notoginseng saponins, rutin, ginkgo biloba;

(v) hoàn thiện chế phẩm: tạo gel theo nhiệt độ giải gel: đóng gel ở nhiệt độ thường (nhiệt độ phòng), nhiệt độ bảo quản (dưới 24°C), giải gel ở nhiệt độ 35-37°C (nhiệt độ cơ thể người).

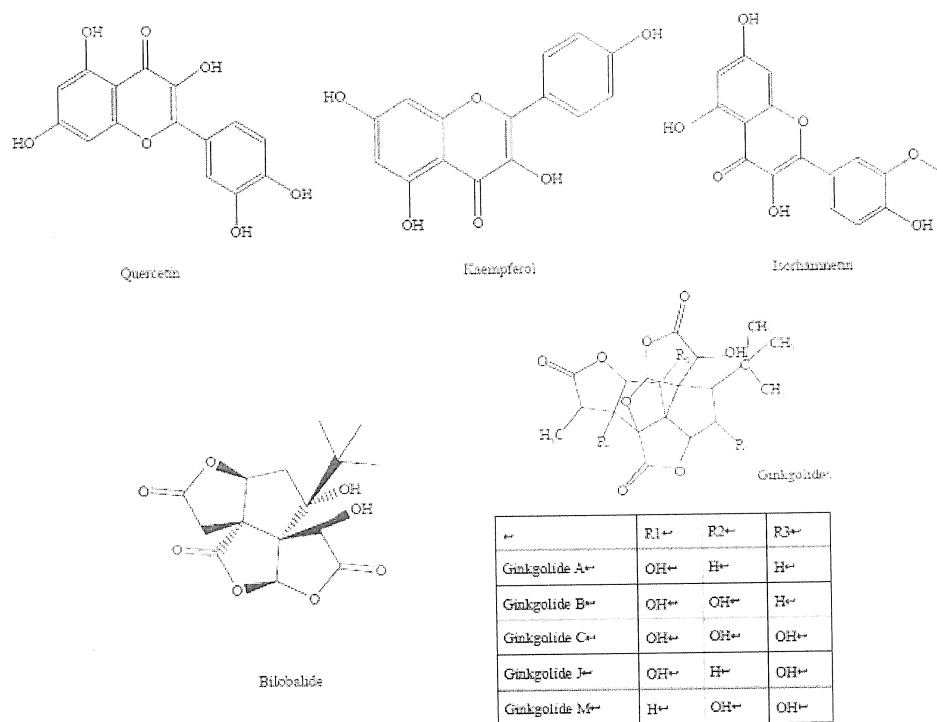
Hình 1:



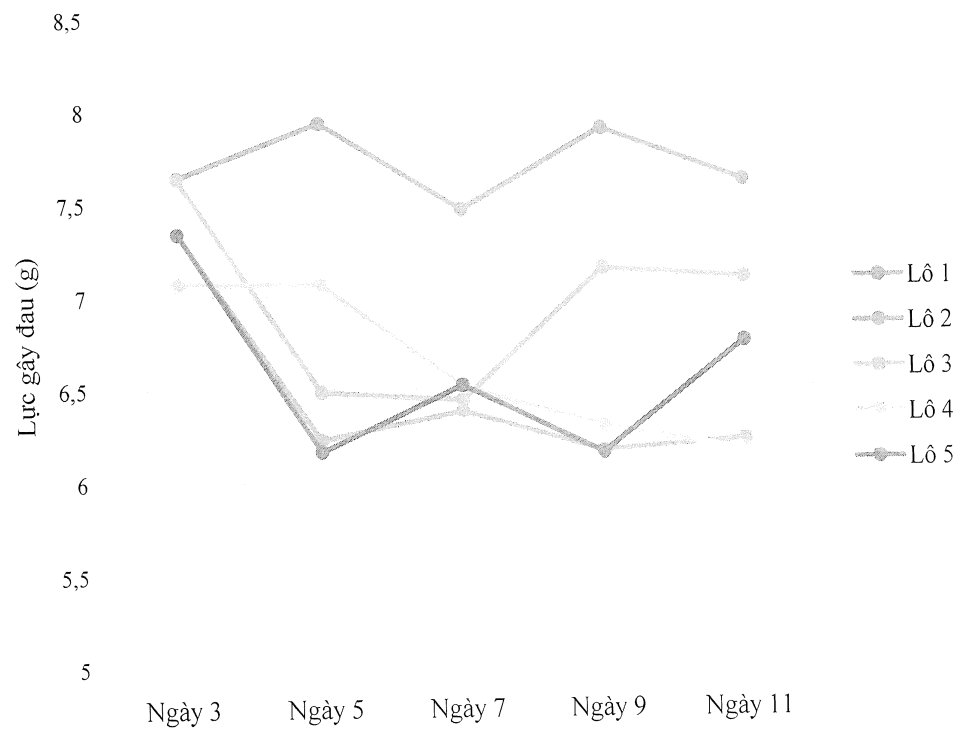
Hình 2:



Hình 3:

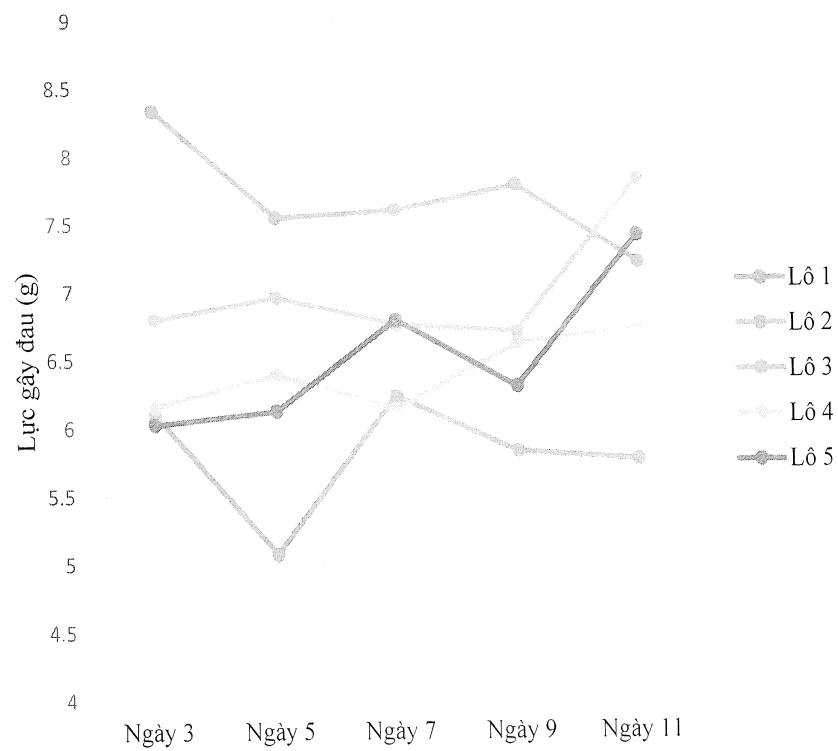


Hình 5:



Biểu đồ 1. Ngưỡng đau nền của các lô chuột theo thời gian

Hình 6:



Biểu đồ 2. Ngưỡng đau sau điều trị của các lô chuột theo thời gian