



(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)



1-0034962

(51)^{2019.01} A61K 9/00; A61K 36/00; A61K 9/70;
A61K 9/14; A61K 31/00; A61K 36/28

(13) B

(21) 1-2020-01102

(22) 27/02/2020

(45) 27/03/2023 420

(43) 25/08/2020 389ASC

(73) 1. TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM HÀ NỘI (VN)

136 Xuân Thủy, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

2. VIỆN KỸ THUẬT NHIỆT ĐỐI - VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG
NGHỆ VIỆT NAM (VN)

Nhà A12-A13, số 18 Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Vũ Quốc Trung (VN); Nguyễn Thúy Chinh (VN); Vũ Quốc Mạnh (VN); Trần Thị
Thùy Dương (VN); Trần Ngọc Linh (VN); Hoàng Đức Anh (VN); Hoàng Trần Dũng
(VN); Nguyễn Ngọc Linh (VN).

(54) PHƯƠNG PHÁP CHẾ TẠO VẬT LIỆU CẦM MÁU TRÊN CƠ SỞ CHITOSAN
VÀ CAO CHIẾT CÂY CỎ MỤC (ECLIPTA ALBA HASSK.)

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ
mục (*Eclipta alba* Hassk.) và vật liệu thu được bằng phương pháp này. Phương pháp theo
sáng chế, đặc trưng ở chỗ, cao chiết, mà được điều chế từ cây cỏ mục bằng phương pháp
chiết thích hợp, và chitosan được xử lý bằng dung môi hữu cơ phù hợp trước khi được trộn
lẫn và xử lý trong các điều kiện tối ưu, nhờ đó tạo ra vật liệu cầm máu với cấu trúc đồng
đều và kích thước nhỏ, có khả năng cầm máu tốt hơn và thời gian đông máu nhanh hơn so
với các vật liệu đã biết.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

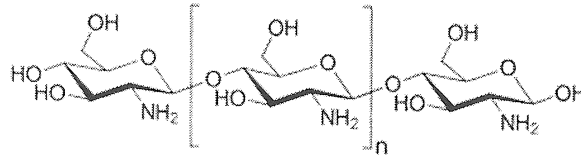
Sáng chế đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.) có tác dụng cầm máu và vật liệu thu được bằng phương pháp này. Phương pháp theo sáng chế, đặc trưng ở chỗ, cao chiết, mà được điều chế từ cây cỏ mực bằng phương pháp chiết thích hợp, và chitosan được xử lý bằng dung môi hữu cơ phù hợp trước khi được trộn lẫn và xử lý trong các điều kiện tối ưu, nhờ đó tạo ra vật liệu cầm máu với cấu trúc đồng đều và kích thước nhỏ, có khả năng cầm máu tốt hơn và thời gian đông máu nhanh hơn so với các vật liệu đã biết.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Chảy máu là tình trạng máu thoát ra khỏi các mạch máu ở bất cứ bộ phận nào trên cơ thể. Khi bị thương và chảy máu, điều quan trọng là phải nhanh chóng ngăn chặn mất máu. Thường thì việc cầm máu là không mấy khó khăn. Tuy nhiên, trong các trường hợp nặng, hiện tượng máu chảy nhiều và liên tục có thể dẫn đến sốc, rối loạn tuần hoàn máu hoặc gây ra các hậu quả nghiêm trọng khác. Trong một số trường hợp, tình trạng chảy máu không kiểm soát có thể gây tổn thương mô và các cơ quan trọng yếu của cơ thể, dẫn đến nguy cơ tử vong.

Các báo cáo cho thấy rằng mất máu ở những bệnh nhân do chấn thương cũng là một nguyên nhân hàng đầu dẫn đến tái phẫu thuật. Điều trị cầm máu tại chỗ được ứng dụng kể từ thời xa xưa. Con người đã sử dụng lông, hỗn hợp của sáp ong, mỡ và lúa mạch cũng như da sống của động vật trộn với cát nóng để cầm máu. Hai thập niên trở lại đây, những tiến bộ trong công nghệ sinh học đã đưa đến sự phát triển bùng nổ của các chất hoặc vật liệu cầm máu tại chỗ.

Chitosan là một polysaccharit mạch thẳng được cấu tạo từ các D-glucosamin (đơn vị đã deaxetyl hóa) và N-axetyl-D-Glucosamin (đơn vị chứa nhóm axetyl) liên kết tại vị trí β -(1-4). Hợp chất này có công thức sau:



Chitosan

Chitosan có nhiều ứng dụng trong thương mại và y sinh. Kể từ khi được phát hiện, chitosan đã được sử dụng một cách rộng rãi trong các loại băng vết thương tại chỗ nhờ tác dụng cầm máu hiệu quả của nó. Cụ thể hơn, hợp chất này có khả năng thúc đẩy quá trình đông máu, kích thích liền vết thương, kháng sinh và không độc hại. Các muối chitosan được tạo ra bằng cách pha trộn chitosan với axit hữu cơ như axit succinic hoặc lactic sẽ tác dụng với màng tế bào hồng cầu, tiểu cầu khiến sự hình thành cục máu đông được nhanh chóng hơn. Thử nghiệm chế phẩm chitosan trên lợn tại Mỹ cho kết quả cầm máu và phục hồi vết thương động mạch lên đến 100%. Băng gạc cầm máu chứa chitosan cũng đã được cho phép sử dụng tại Mỹ và châu Âu.

Cỏ mực hay cỏ nhọ nồi, hàn liên thảo (tên khoa học: *Eclipta alba* Hassk.) là một loài thực vật có hoa thuộc Họ Cúc (Asteraceae). Loài này xuất hiện ở một số nước như Việt Nam, Ấn độ, Trung Quốc, Pakistan và một số nước vùng Nam Á. Sở dĩ nhọ nồi được gọi là cỏ mực vì khi vò nát có nước chảy ra đen như mực. Nhọ nồi được biết đến với rất nhiều tác dụng chữa bệnh, trong đó có việc cầm máu hiệu quả. Theo các nghiên cứu gần đây cho thấy, cỏ nhọ nồi chứa tannin, caroten, tinh dầu, chất đắng, wedelolacton, chất ancaloit ecliptin có tác dụng chống lại các tác dụng của thuốc chống đông discumarin, cầm máu ở tử cung mà không làm tăng huyết áp hay giãn mạch. Theo Đông y, cỏ nhọ nồi có vị ngọt, chua, tính lương (mát huyết), chỉ huyết (cầm máu) vào hai kinh can và thận, tác dụng bổ thận âm, thanh can nhiệt, làm đen râu tóc, chỉ huyết ly, dùng chữa can thận âm kém, xuất huyết nội tạng (chảy máu dạ dày, tiểu tiện ra máu, thổ huyết do lao, rong kinh), kiết lý, viêm gan mạn, chấn thương sưng tấy lở loét, mẩn ngứa ở ngoài da, v.v. Trong dân gian, cỏ nhọ nồi thường được giã vắt lấy nước để uống cầm máu trong rong kinh, trĩ ra máu, bị thương chảy máu.

Hiện nay, các nghiên cứu chủ yếu tập trung phát triển chất hoặc vật liệu chứa chitosan hoặc xác định thành phần hoạt chất, đặc tính cao chiết cây cỏ mực, tuy nhiên lại là các nghiên cứu độc lập đối với mỗi thành phần này. Nói cách khác, nghiên cứu phát triển vật liệu từ chitosan và cao chiết cây cỏ mực còn rất hạn chế, đặc biệt là vật liệu có khả năng cầm máu chứa hai thành phần này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật cần giải quyết theo sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.) có tác dụng cầm máu và vật liệu thu được bằng phương pháp này với cấu trúc đồng đều và kích thước nhỏ, có khả năng cầm máu tốt hơn và thời gian đông máu nhanh hơn so với các vật liệu đã biết.

Cách thức giải quyết vấn đề

Cụ thể hơn, để đạt được mục đích nêu trên, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực, phương pháp này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3%;
- ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và diclometan, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào diclometan;
- iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm;
- iv) bổ sung thêm natri tripolyphosphat (sodium tripolyphosphate - STPP) vào hỗn hợp của bước iii), tiếp tục khuấy trong 30 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất;

- v) tiếp tục bổ sung polyetylen oxit (polyethylene oxide – PEO), khuấy thêm 30 phút để tạo hệ vi nhũ;
- vi) khuấy siêu âm tốc độ cao hỗn hợp của bước v) trong 30 phút để tăng độ đồng đều của vi hạt;
- vii) loại bỏ PEO dư bằng cách bổ sung nước cất;
- viii) làm sa lắng các hạt vi nhũ bằng cách làm lạnh hệ trong 60 phút;
- ix) ly tâm hỗn hợp ở 6000 vòng/phút trong 6 phút, rửa thu phần chất rắn; và
- x) đông khô để thu được sản phẩm dạng bột, nghiền mịn và bảo quản.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực, phương pháp này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3%;
- ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và etanol, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào etanol;
- iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm;
- iv) bổ sung thêm natri tripolyphosphat vào hỗn hợp của bước iii), tiếp tục khuấy trong 30 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất;
- v) bổ sung nước cất, ly tâm hỗn hợp ở 6000 vòng/phút trong 6 phút, rửa thu phần chất rắn; và
- vi) đông khô để thu được sản phẩm dạng bột, nghiền mịn và bảo quản.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế còn đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực, phương pháp này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3%;
- ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và etanol, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào etanol;
- iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm trong 30 phút;
- iv) đổ dung dịch ra vật chứa, để bay hơi tự nhiên để thu được sản phẩm, và tiến hành bảo quản sản phẩm.

Theo một phương án ưu tiên của phương pháp theo khía cạnh bất kỳ trên đây, cao chiết được sử dụng là cao chiết thu được bằng cách chiết bột cây cỏ mực, mà thu được bằng cách rửa sạch, phơi khô và nghiền nhỏ cây cỏ mực, trong dung môi etanol bằng thiết bị cất quay, sau đó cất loại dung môi bằng thiết bị cô quay áp suất thấp.

Theo một phương án ưu tiên khác của phương pháp theo khía cạnh bất kỳ trên đây, dung dịch của bước ii) được bổ sung từ từ vào dung dịch của bước i) với tốc độ 3mL/phút.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất vật liệu cầm máu, đặc trưng ở chỗ, vật liệu này là vật liệu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực được sản xuất bằng phương pháp theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh nêu trên.

Theo một phương án ưu tiên của vật liệu cầm máu, vật liệu cầm máu này là ở dạng bột hoặc dạng màng.

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.) có tác dụng cầm máu và vật liệu thu được bằng phương pháp này với cấu trúc đồng đều và kích thước nhỏ, có khả năng cầm máu tốt hơn và thời gian đông máu nhanh hơn so với các vật liệu đã biết. Cụ thể hơn, khi so với mẫu đối chứng có thời gian đông máu lâu và mẫu chitosan không có khả năng cầm máu, mẫu vật liệu theo sáng chế có thời gian đông máu nhỏ hơn các đối chứng rất nhiều (mà sẽ được mô tả chi tiết hơn dưới đây).

Ngoài ra, giải pháp theo sáng chế được cho là không chỉ hoàn toàn khác biệt với các giải pháp đã biết xét về các thành phần của vật liệu và lượng tương ứng, v.v., mà còn có thể dùng làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực công nghệ vật liệu mới. Nói cách khác, sáng chế giải quyết được vấn đề cả về tính thực tiễn và học thuật. Cụ thể là, giải pháp theo sáng chế phù hợp với điều kiện chế tạo và ứng dụng tại Việt Nam và còn được sử dụng làm cơ sở tham khảo cho các nghiên cứu tiếp theo liên quan trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sau đây, sáng chế còn được mô tả một cách chi tiết hơn thông qua các phương án cụ thể với mục đích minh họa cho sáng chế với sự tham chiếu đến các hình vẽ, trong đó:

Hình 1 là hình vẽ minh họa sơ đồ tách chiết cao chiết cây cỏ mực theo một phương án được ưu tiên theo sáng chế;

Hình 2 là hình vẽ minh họa sơ đồ tổng hợp vật liệu theo phương pháp vi nhũ theo một phương án được ưu tiên theo sáng chế;

Hình 3 là hình vẽ minh họa sơ đồ tổng hợp vật liệu theo phương pháp dung dịch theo một phương án được ưu tiên theo sáng chế; và

Hình 4 là hình vẽ minh họa sơ đồ tổng hợp vật liệu theo phương pháp dung dịch có sử dụng chất liên kết ngang theo một phương án được ưu tiên theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế còn được mô tả thông qua các phương án cụ thể minh họa và mô tả chi tiết hơn nữa cho sáng chế. Ngoài ra, cần phải hiểu rằng, các phương án cụ thể sau đây được mô tả chỉ với mục đích minh họa cho sáng chế và sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương án cụ thể này. Rõ ràng là, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, trên cơ sở các nội dung mô tả trong bản mô tả này, có thể thực hiện các phương án tương đương mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế như được mô tả trong yêu cầu bảo hộ kèm theo sau đây.

Trong bản mô tả này, các giá trị số nên được hiểu là bao gồm cả nghĩa “khoảng”, cụ thể là chỉ chính giá trị số đó cũng như các giá trị số nằm trong khoảng $\pm 10\%$, tốt hơn là $\pm 5\%$, và tốt nhất là 0% của giá trị số đó. Do đó, ví dụ, nếu nồng độ dung dịch axit axetic được sử dụng theo sáng chế là 1% , thì cần phải hiểu rằng, các nồng độ $1,1\%$, $1,05\%$, $0,95\%$, $0,9\%$ hoặc các giá trị khác nằm trong khoảng các giá trị này đều có thể được sử dụng theo sáng chế; hoặc nếu tốc độ ly tâm được mô tả là 6000 vòng/phút, thì cần phải hiểu rằng tốc độ 6600 vòng/phút, 6300 vòng/phút, 5900 vòng/phút, 5400 vòng/phút hoặc các giá trị khác nằm trong khoảng các giá trị này đều có thể được sử dụng theo sáng chế.

Phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (Eclipta alba Hassk.) bằng cách sử dụng phương pháp vi nhũ

Theo một khía cạnh, như được mô tả trong Hình 2, sáng chế đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực, phương pháp này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ $0,1$ đến 3% ;
- ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và diclometan, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào diclometan;

- iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm;
- iv) bổ sung thêm natri tripolyphosphat (sodium tripolyphosphate - STPP) vào hỗn hợp của bước iii), tiếp tục khuấy trong 30 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất;
- v) tiếp tục bổ sung polyetylen oxit (polyethylene oxide – PEO), khuấy thêm 30 phút để tạo hệ vi nhũ;
- vi) khuấy siêu âm tốc độ cao hỗn hợp của bước v) trong 30 phút để tăng độ đồng đều của vi hạt;
- vii) loại bỏ PEO dư bằng cách bổ sung nước cất;
- viii) làm sa lắng các hạt vi nhũ bằng cách làm lạnh hệ trong 60 phút;
- ix) ly tâm hỗn hợp ở 6000 vòng/phút trong 6 phút, rửa thu phần chất rắn; và
- x) đông khô để thu được sản phẩm dạng bột, nghiền mịn và bảo quản.

Theo một phương án được ưu tiên, dung dịch axit axetic được sử dụng trong bước i) tốt hơn là có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2%, tốt nhất là 1% để tạo thuận lợi cho quá trình tạo ra vật liệu có kích thước nhỏ, đồng đều và nhờ đó tăng khả năng cầm máu.

Mặc dù cao chiết cây cỏ mực (nhọ nồi) bất kỳ đều có thể được sử dụng theo sáng chế, tuy nhiên theo một phương án cụ thể đặc biệt được ưu tiên, và như được mô tả trong Hình 1, cao chiết thu được bằng cách chiết bột cây cỏ mực, mà bột này thu được bằng cách rửa sạch, phơi khô và nghiền nhỏ cây cỏ mực, trong dung môi etanol (3 lần, mỗi lần 3h) bằng thiết bị cát quay, ở nhiệt độ 70°C, sau đó cất loại dung môi bằng thiết bị cô quay áp suất thấp. Theo một phương án khác, thiết bị cát quay tốt hơn là thiết bị cát quay Buchi R220.

Theo một phương án khác, dung dịch của bước ii) được bổ sung từ từ vào dung dịch của bước i), kết hợp vừa nhỏ vừa siêu âm để tạo ra dung dịch đồng đều

và đồng nhất. Theo một phương án cụ thể, tốc độ nhỏ ảnh hưởng rất lớn đến hiệu quả phân bố và độ đồng nhất của dung dịch thu được, từ đó ảnh hưởng đến cấu trúc của sản phẩm cuối, nên tốc độ nhỏ này tốt hơn là 3mL/phút để làm tăng đến mức tối đa hiệu quả phân bố và độ đồng nhất của dung dịch thu được. Cần lưu ý rằng, việc chọn lựa giá trị tốc độ nhỏ là kiến thức chung đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, tuy nhiên, các tác giả sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện ra rằng tốc độ nhỏ là 3mL/phút sẽ giúp gia tăng đến mức tối đa hiệu quả phân bố và độ đồng nhất của dung dịch thu được.

Cần lưu ý rằng, như được mô tả trên đây, trong bước iv) bổ sung thêm natri tripolyphosphat (sodium tripolyphosphate - STPP) vào hỗn hợp của bước iii), sau đó khuấy thêm 30 phút để tạo hệ vi nhũ, và bước v) tiếp tục bổ sung polyetylen oxit (polyethylene oxide – PEO) vào hỗn hợp và khuấy trong 30 phút để tăng độ đồng đều của vi hạt, natri tripolyphosphat và polyetylen oxit và các điều kiện thực hiện được mô tả là các hóa chất và điều kiện thực hiện tối ưu nhất theo sáng chế với mục đích tạo ra hệ vi nhũ đồng đều của vi hạt với độ phân tán tốt. Tuy nhiên, theo phương án khác, các hợp chất tương đương và/hoặc có đặc tính tương đương tạo ra kết quả mong muốn tương đương thông dụng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đều có thể sử dụng theo sáng chế.

Tiếp theo, hỗn hợp sẽ được khuấy siêu âm tốc độ cao trong 30 phút để tăng độ đồng đều của vi hạt; sau đó loại bỏ PEO dư bằng cách bổ sung nước cất; làm sa lắng các hạt vi nhũ bằng cách làm lạnh hệ trong 60 phút; tiến hành ly tâm hỗn hợp ở 6000 vòng/phút trong 6 phút, rửa thu phần chất rắn; và sau cùng là đông khô để thu được sản phẩm dạng bột, nghiền mịn và bảo quản.

Tương tự, cần lưu ý rằng, các bước, hóa chất sử dụng và điều kiện thực hiện trên đây được xem là tối ưu nhất để thực hiện phương pháp theo sáng chế để thu được sản phẩm cuối có cấu trúc đồng đều và kích thước nhỏ, khả năng cầm máu tốt hơn và thời gian đông máu nhanh hơn so với các vật liệu đã biết. Tuy nhiên, các hóa chất sử dụng và điều kiện thực hiện mà tạo ra kết quả tương đương cũng có thể được sử dụng theo sáng chế. Ví dụ, thay vì khuấy siêu âm tốc độ cao trong 30 phút

để tăng độ đồng đều của vi hạt, có thể sử dụng phương pháp khuấy cơ học trong thời gian đủ dài cần thiết để thu được mức độ đồng đều mong muốn của vi hạt; hoặc thay vì loại bỏ PEO dư bằng cách bổ sung nước cất, có thể sử dụng nước sạch sẵn có từ vòi nước, v.v.

Theo một phương án khác, sản phẩm sau khi được đông khô sẽ có dạng bột, màu xanh đậm dễ quan sát. Sau đó, sản phẩm sẽ được nghiền mịn, đến kích thước nhỏ tốt hơn là kích thước nano, và bảo quản trong ống kín ở nhiệt độ phòng. Theo một phương án cụ thể, sản phẩm tốt hơn là được bảo quản trong ống polyetylen (Polyethylene – PE) kín ở nhiệt độ phòng, mặc dù bảo quản trong ống nhựa kín khác cũng có thể được thực hiện.

Phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (cây nhọ nồi) bằng cách sử dụng phương pháp dung dịch sử dụng chất tạo liên kết ngang

Theo một khía cạnh khác, và như được mô tả trong Hình 4, sáng chế còn đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực, phương pháp này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3%;
- ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và etanol, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào etanol;
- iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm;
- iv) bổ sung thêm natri tripolyphosphat (sodium tripolyphosphate - STPP) vào hỗn hợp của bước iii), tiếp tục khuấy trong 30 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất;

v) bổ sung nước cất, ly tâm hỗn hợp ở 6000 vòng/phút trong 6 phút, rửa thu phần chất rắn; và

vi) đông khô để thu được sản phẩm dạng bột, nghiền mịn và bảo quản.

Theo một phương án cụ thể, dung dịch axit axetic được sử dụng trong bước i) tốt hơn là có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2%, tốt nhất là 1% với lý do như nêu trên đây.

Theo phương án khác, cao chiết được sử dụng trong bước ii) là cao chiết được tạo ra như được mô tả trên đây, mặc dù sáng chế không chỉ giới hạn ở việc sử dụng cao chiết này. Cụ thể, cao chiết cây cỏ mực (nhọ nồi) bất kỳ đều có thể được sử dụng theo sáng chế, tuy nhiên theo một phương án cụ thể đặc biệt được ưu tiên, cao chiết thu được bằng cách chiết bột cây cỏ mực, mà bột này thu được bằng cách rửa sạch, phơi khô và nghiền nhỏ cây cỏ mực, trong dung môi ethanol (3 lần, mỗi lần 3h) bằng thiết bị cất quay, ở nhiệt độ 70°C, sau đó cất loại dung môi bằng thiết bị cô quay áp suất thấp. Theo một phương án khác, thiết bị cất quay tốt hơn là thiết bị cất quay Buchi R220.

Theo phương án được ưu tiên khác, trong bước iii), tốt hơn là dung dịch của bước ii) được bổ sung từ từ vào dung dịch của bước i) với tốc độ 3mL/phút để làm tăng đến mức tối đa hiệu quả phân bố và độ đồng nhất của dung dịch thu được.

Theo phương án được ưu tiên khác, sản phẩm thu được sau bước đông khô sẽ ở dạng bột, được nghiền mịn và bảo quản trong ống PE kín ở nhiệt độ phòng.

Phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực bằng cách sử dụng phương pháp dung dịch không sử dụng chất tạo liên kết ngang

Theo một khía cạnh khác, và như được mô tả trong Hình 3, sáng chế còn đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực, phương pháp này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3%;
- ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và etanol, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào etanol;
- iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm trong 30 phút;
- iv) đổ dung dịch ra vật chứa, để bay hơi tự nhiên để thu được sản phẩm, và tiến hành bảo quản sản phẩm.

Như được mô tả trên đây, theo một phương án cụ thể, dung dịch axit axetic được sử dụng trong bước i) tốt hơn là có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2%, tốt nhất là 1%.

Tương tự, cao chiết được ưu tiên sử dụng trong bước ii) là cao chiết cây cỏ mực được tạo ra bằng cách chiết trong dung môi etanol như được mô tả trên đây.

Theo phương án khác, trong bước iii), dung dịch của bước ii) được bổ sung từ từ vào dung dịch của bước i) với tốc độ 3mL/phút.

Theo phương án khác nữa, vật chứa được sử dụng trong bước iv) là khay để làm tăng diện tích bề mặt tạo thuận lợi cho quá trình bay hơi tự nhiên nhằm thu được sản phẩm có dạng màng, màu xanh đậm dễ quan sát. Sau đó, sản phẩm được bảo quản trong, tốt hơn là, túi PE kín ở nhiệt độ phòng.

Vật liệu cầm máu

Theo một khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất vật liệu, đặc trưng ở chỗ, vật liệu này là vật liệu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực được sản xuất bằng phương pháp theo khía cạnh bất kỳ trên đây. Vật liệu thu được theo phương pháp của sáng chế thể hiện khả năng cầm máu tốt nhờ có cấu trúc đồng đều và kích

thước nhỏ, nhờ đó có khả năng cầm máu tốt hơn (so với mẫu đối chứng mà như được mô tả sau đây).

Theo một phương án khác, vật liệu theo sáng chế được tạo ra ở dạng bột, tốt hơn là có kích thước nhỏ (kích thước nano), hoặc dạng màng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế còn được mô tả chi tiết hơn nữa thông qua các ví dụ. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng, các ví dụ này không làm giới hạn sáng chế theo bất kỳ cách nào.

Nguyên liệu, hoá chất

- Chitosan (CS), natri tripolyphosphat(STPP) từ hãng Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ) sản xuất;

- Mẫu cây nhọ nôi được thu hái tại xã Liêm Chung, thành phố Phủ Lý, tỉnh Hà Nam;

- Một số hóa chất và dung môi khác là các sản phẩm thương mại của Việt Nam và Trung Quốc.

Ví dụ 1: Điều chế cao chiết cây cỏ mực (cây nhọ nôi)

Mẫu cây nhọ nôi (10 kg) được rửa sạch, phơi khô, sau đó nghiền nhỏ thu được 1,4 kg bột. Bột này sau đó được trong dung môi etanol (3lần, mỗi lần 3 giờ) bằng máy cất quay Buchi R220 ở 70°C.

Dịch chiết thu được được cất loại dung môi bằng máy cô quay áp suất thấp để thu được mẫu cao cây nhọ nôi toàn phần.

Ví dụ 2: Chế tạo vật liệu nano chitosan mang cao chiết cây nhọ nôi

Ví dụ 2-1: Sử dụng phương pháp vi nhũ để chế tạo vật liệu tổ hợp chitosan-cao chiết cây nhọ nôi kích thước nano

Cụ thể, chitosan được hòa tan trong dung dịch axit axetic 1%.

Cao chiết cây nhọ nồi được hòa tan trong diclometan (CH_2Cl_2).

Sau đó, dung dịch cao chiết được nhỏ từ từ vào dung dịch chitosan với tốc độ 3 mL/phút, kết hợp vừa nhỏ vừa siêu âm. Tiếp tục thêm dung dịch natri tripolyphosphat (STPP) vào hỗn hợp, khuấy từ trong 30 phút để đạt độ đồng đều. Sau đó, polyetylen oxit (PEO) được thêm vào cốc và khuấy trong 30 phút để tạo hệ vi nhũ. Hỗn hợp này sau đó được khuấy siêu âm tốc độ cao trong 30 phút để tăng độ đồng đều của vi hạt.

Thêm 50 mL nước cất vào hỗn hợp để loại bỏ PEO dư, làm lạnh hệ trong 60 phút để sa lắng các hạt vi nhũ. Hỗn hợp sau đó được ly tâm ở 6000 vòng/phút trong vòng 6 phút và rửa thu phần chất rắn.

Đồng khô thu được sản phẩm dạng bột, màu xanh đậm. Nghiền mịn, bảo quản trong ống PE kín ở nhiệt độ phòng.

Thí nghiệm này được lặp lại thêm 02 lần (tổng 03 mẫu), với lượng mỗi thành phần là như được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1: Ký hiệu và tỷ lệ thành phần trong vật liệu được chế tạo bằng phương pháp vi nhũ

Ký hiệu mẫu	Chitosan (g)	Axit axetic 1% (mL)	Natri tripolyphosphat (g)	Cao chiết (g)	CH_2Cl_2 (mL)	Polyetylen oxit (g)
EP30	0,2	20	0,07	0,06	6	0,15
EP40	0,2	20	0,07	0,08	8	0,15
EP50	0,2	20	0,07	0,10	10	0,15

Ví dụ 2-2: Sử dụng phương pháp dung dịch để chế tạo vật liệu tổ hợp chitosan-cao chiết cây nhọ nồi có dạng màng.

Cụ thể, đối với ví dụ này:

Chitosan được hòa tan trong dung dịch axit axetic 1%.

Cao chiết cây nhọ nồi được hòa tan trong etanol.

Sau đó, dung dịch cao chiết được nhỏ từ từ vào dung dịch chitosan với tốc độ 3 mL/phút, kết hợp vừa nhỏ vừa siêu âm trong vòng 30 phút.

Đổ dung dịch thu được ra khay, để bay hơi tự nhiên, thu được sản phẩm dạng màng, màu xanh đậm. Sản phẩm được bảo quản trong túi PE kín ở nhiệt độ phòng.

Thí nghiệm này được lặp lại thêm 03 lần (tổng 04 mẫu bao gồm cả mẫu đối chứng), với lượng mỗi thành phần là như được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây

Bảng 2: Ký hiệu và tỷ lệ thành phần trong vật liệu được chế tạo bằng phương pháp dung dịch

Ký hiệu mẫu	Chitosan (g)	Axit axetic 1% (mL)	Cao chiết (g)	C ₂ H ₅ OH (mL)
CS	0,3	30	0,000	0,000
F30	0,3	30	0,09	9
F40	0,3	30	0,12	12
F50	0,3	30	0,15	15

Ví dụ 2-3: Sử dụng phương pháp dung dịch để chế tạo vật liệu tổ hợp chitosan-cao chiết cây nhọ nồi có dạng màng có sử dụng chất tạo liên kết ngang

Để khảo sát ảnh hưởng của chất liên kết ngang lên mẫu vật liệu tổ hợp chitosan/cao chiết cây nhọ nồi, các mẫu tổ hợp cũng bằng phương pháp dung dịch mà có sử dụng chất liên kết ngang còn được điều chế. Cụ thể:

Chitosan được hòa tan trong dung dịch axit axetic 1%.

Cao chiết cây nhọ nồi được hòa tan trong etanol.

Sau đó, dung dịch cao chiết được nhỏ từ từ vào dung dịch chitosan với tốc độ 3 mL/phút, kết hợp vừa nhỏ vừa siêu âm trong vòng 10 phút. Tiếp tục thêm dung dịch natri tripolyphosphat vào hỗn hợp, khuấy từ trong 30 phút để đạt độ đồng đều.

Thêm 30 mL nước cất vào hỗn hợp, sau đó ly tâm ở 6000 vòng/phút trong vòng 6 phút và rửa thu phần chất rắn.

Đông khô thu được sản phẩm dạng bột, màu xanh đậm. Nghiền mịn, bảo quản trong ống PE kín ở nhiệt độ phòng.

Thí nghiệm này được lặp lại thêm 02 lần (tổng 03 mẫu), với lượng mỗi thành phần là như được thể hiện trong Bảng 3 dưới đây

Bảng 3: Ký hiệu và tỷ lệ thành phần trong vật liệu được chế tạo bằng phương pháp dung dịch có sử dụng chất liên kết ngang

Ký hiệu mẫu	Chitosan (g)	Axit axetic 1% (mL)	Natri tripolyphosphat (gam)	Cao chiết (gam)	C ₂ H ₅ OH (mL)
CLP30	0,3	30	0,05	0,09	9
CLP40	0,3	30	0,05	0,12	12
CLP50	0,3	30	0,05	0,15	15

Ví dụ 4: Đặc trưng của vật liệu

Các vật liệu được điều chế còn được xác định các đặc trưng vật liệu. Kết quả được thể hiện trong các Bảng sau đây.

Bảng 4: Vị trí các pic dao động của một số nhóm đặc trưng trong các mẫu vật liệu dạng bột

Mẫu	Số sóng (cm ⁻¹)						
	$\nu_{\text{OH, NH}}$	$\nu_{\text{C-H}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C=C}}$	$\delta_{\text{NH, } \nu}$ C=C(aromatic)	δ_{CH}	$\nu_{\text{C-O}}$
Cao nhò nồi	3378	2922, 2852	1738	1630	1556	1456, 1375	1159 1048
CS	3249	2921	-	1634	1539	1405	1151, 1065
EP30	3263	2921	1741	1631	1537	1465,	1064

						1377	
EP40	3201	2922 2850	1740	1631	1535	1448, 1377	1062
EP50	3208	2922 2843	1741	1631	1536	1448, 1366	1062
CLP30	3193	2921	1740	1630	1534	1468, 1378	1062
CLP40	3201	2922	1736	1631	1534	1458, 1378	1063
CLP50	3199	2921	1733	1630	1534	1465, 1378	1063

Bảng 5: Vị trí các pic dao động của một số nhóm đặc trưng trong các mẫu vật liệu

Mẫu	Số sóng (cm⁻¹)						
	v_{OH, NH}	v_{C-H}	v_{C=O}	v_{C=C}	δ_{NH}	δ_{CH}	v_{C-O}
Cao nhỏ nội	3419	2919	1745	1615	1545	1387	1125
CS	3305	2922	1720	1656	1565	1451	1136
F30	3327	2924	1723	1675	1571	1452	1150
F40	3325	2919	1696	1672	1562	1450	1173
F50	3317	2950	1678	1665	1564	1463	1165

Bảng 6: Bảng phân bố kích thước hạt của các mẫu vật liệu nano chitosan mangcao chiết cây nhỏ nội

Mẫu	Khoảng phân bố kích thước hạt (nm)	Kích thước hạt chủ yếu		Kích thước trung bình của hạt (nm) D = d ± r/2
		nm (d)	%	
CLP30	164,2 - 1484	219	6,32	219 ± 15,55
		1019	23,52	1019 ± 94,45

CLP40	396,1 – 712,4	518,1	37,84	518,1 ± 44,865
CLP50	91,28 – 712,4	104,7 519,1	3,49 27,14	104,7 ± 46,4 519,1 ± 5,68
EP30	342 – 531,2	419,13	52,12	419,13 ± 20,145
EP40	190,1 – 458,7	304,9	24,6	304,9 ± 32,64
EP50	68,06 – 531,2	81,64 414,8	4,3 30	81,64 ± 4,302 414,8 ± 32,68

Bảng 7. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu chế tạo

TT	Tên mẫu	Giá trị IC ₅₀ đối với các chủng (µg/mL)						
		Gram (+)			Gram (-)			Nấm
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
1	CS	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128
2	EP40	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128
3	CLP40	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128
4	F40	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128

Có thể thấy rằng, kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn cho thấy mẫu CS và các mẫu vật liệu tổ hợp chitosan mang cao chiết nhô nổi ở các dạng bột và dạng màng không có khả năng kháng khuẩn vì giá trị IC₅₀ đều lớn hơn 128 (µg/mL).

Để đánh giá khả năng cầm máu của vật liệu chế tạo được, các mẫu được chuyển đến Học viện Quân y, Bệnh viện Quân y 103 để thử nghiệm.

Máu được thu thập từ người tình nguyện khỏe mạnh, người không uống bất kỳ loại thuốc nào có hoạt tính tiểu cầu trong 10 ngày trước đó. Quá trình thử nghiệm như sau:

1 mL máu toàn phần được nhỏ giọt trực tiếp từ đường tĩnh mạch (lấy tại vùng mắt trước khuỷu tay) vào một bộ ống 5 mL chứa 10 mg mẫu, hoặc không có gì (mẫu đối chứng). Không có thuốc chống đông máu được sử dụng.

Sau khi 1 mL máu được đưa vào ống, nắp được đậy và từ từ đảo ngược liên tục cho đến khi hình thành cục máu đông. Số giây (s) cho đến khi hình thành cục máu đông được ghi lại cho mỗi ống. Các cá nhân đánh giá sự hình thành cục máu đông bị mù với nội dung của các ống. Kết quả thu được sau 2 lần thử nghiệm được thống kê trong Bảng 8.

Bảng 8: Thời gian cầm máu của cao nhọ nổi và các mẫu vật liệu

Mẫu	Thời gian đông máu* (phút:giây)	Thời gian đông máu** (phút:giây)
Mẫu đối chứng	21:26	15:40
Cao chiết cây nhọ nổi	14:34	12:17
CS	25:75	20:22
F30	14:31	13:18
F40	11:09	10:11
F50	10:36	10:24
EP30	10:12	9:52
EP40	11:08	9:14
EP50	10:47	10:03
CLP30	08:14	6:46
CLP40	14:59	8:01
CLP50	11:43	7:57

*Thử lần 1

** Thử lần 2

Như được thể hiện trong Bảng 8, kết quả cho thấy trường hợp thử nhất là thử nghiệm đối với mẫu máu của người đông máu chậm:

- Mẫu máu đông chứng cần thời gian đông máu khá lâu nếu để tự nhiên (khoảng 21 phút);
- Mẫu chitosan không có khả năng cầm máu;
- *Mẫu cao chiết cây nhọ nồi và các mẫu vật liệu tổ hợp chitosan mang cao chiết cây nhọ nồi theo sáng chế có thời gian cầm máu nhỏ hơn mẫu chứng rất nhiều;*
- Các sản phẩm CS mang cao chiết nhọ nồi dạng màng và dạng bột có thời gian cầm máu chênh lệch nhau không nhiều;
- So sánh mẫu dạng bột chế tạo bằng phương pháp dung dịch có sử dụng chất liên kết ngang và bằng phương pháp vi nhũ có thể thấy mẫu chế tạo bằng phương pháp dung dịch có sử dụng chất liên kết ngang STPP CLP30 có thời gian đông máu thấp nhất.

Đối với lần thử thứ 2 có thể thấy các mẫu dạng bột có thời gian đông máu thấp hơn so với các mẫu dạng màng. *Đặc biệt là các mẫu CLP có thời gian cầm máu thấp hơn rất nhiều so với các mẫu còn lại. Điều này có thể do cấu trúc đồng đều và kích thước nhỏ của mẫu làm cho mẫu có khả năng cầm máu tốt hơn.* Kết quả này mở ra triển vọng ứng dụng của vật liệu cầm máu dạng màng và dạng bột theo sáng chế.

Sáng chế đã được mô tả thông qua các phương án và ví dụ cụ thể minh họa cho sáng chế liên quan đến các hiệu quả kỹ thuật cụ thể và hiệp đồng mà sáng chế tạo ra. Các hóa chất được sử dụng theo sáng chế là thông dụng đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực này và do đó người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng thu mua từ các nguồn hoặc nhà cung cấp, hoặc có thể điều chế theo các phương pháp thông dụng đã biết trong lĩnh vực này.

Ngoài ra, cần phải hiểu rằng, các phương án và ví dụ được mô tả chỉ với mục đích minh họa cho sáng chế và sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương án và ví dụ này. Rõ ràng là, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, trên cơ sở các nội dung mô tả trong bản mô tả này, có thể thực hiện các phương án biến

đôi tương đương mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế như được mô tả trong yêu cầu bảo hộ kèm theo sau đây.

Khả năng áp dụng trong công nghiệp

Sáng chế đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.) có tác dụng cầm máu và vật liệu thu được bằng phương pháp này. Phương pháp theo sáng chế, đặc trưng ở chỗ, cao chiết, mà được điều chế từ cây cỏ mực bằng phương pháp chiết thích hợp, và chitosan được xử lý bằng dung môi hữu cơ phù hợp trước khi được trộn lẫn và xử lý trong các điều kiện tối ưu, nhờ đó tạo ra vật liệu cầm máu với cấu trúc đồng đều và kích thước nhỏ, có khả năng cầm máu tốt hơn và thời gian đông máu nhanh hơn so với các vật liệu đã biết.

Yêu cầu bảo hộ

1. Phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.), phương pháp này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3%;
- ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và diclometan, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào diclometan;
- iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm;
- iv) bổ sung thêm natri tripolyphosphat (natri tripolyphosphat - STPP) vào hỗn hợp của bước iii), tiếp tục khuấy trong 30 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất;
- v) tiếp tục bổ sung polyetylen oxit (polyetylen oxit – PEO), khuấy thêm 30 phút để tạo hệ vi nhũ;
- vi) khuấy siêu âm tốc độ cao hỗn hợp của bước v) trong 30 phút để tăng độ đồng đều của vi hạt;
- vii) loại bỏ PEO dư bằng cách bổ sung nước cất;
- viii) làm sa lắng các hạt vi nhũ bằng cách làm lạnh hệ trong 60 phút;
- ix) ly tâm hỗn hợp ở 6000 vòng/phút trong 6 phút, rửa thu phần chất rắn; và
- x) đông khô để thu được sản phẩm dạng bột, nghiền mịn và bảo quản.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó dung dịch axit axetic trong bước i) có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2%, tốt hơn là 1%.

3. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó cao chiết được sử dụng trong bước ii) là cao chiết thu được bằng cách chiết bột cây cỏ mực, mà thu được bằng cách rửa

sạch, phơi khô và nghiền nhỏ cây cỏ mực, trong dung môi etanol (3 lần, mỗi lần 3h) bằng thiết bị cắt quay, tốt hơn là thiết bị cắt quay Buchi R220, ở 70°C, sau đó cất loại dung môi bằng thiết bị cô quay áp suất thấp.

4. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó trong bước iii), dung dịch của bước ii) được bổ sung từ từ vào dung dịch của bước i) với tốc độ 3mL/phút.

5. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó sản phẩm thu được ở dạng bột.

6. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó sản phẩm được bảo quản trong ống polyetylen (Polyethylene – PE) kín ở nhiệt độ phòng.

7. Phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.), phương pháp này bao gồm các bước:

i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3%;

ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và etanol, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào etanol;

iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm;

iv) bổ sung thêm natri tripolyphosphat (natri tripolyphosphat - STPP) vào hỗn hợp của bước iii), tiếp tục khuấy trong 30 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất;

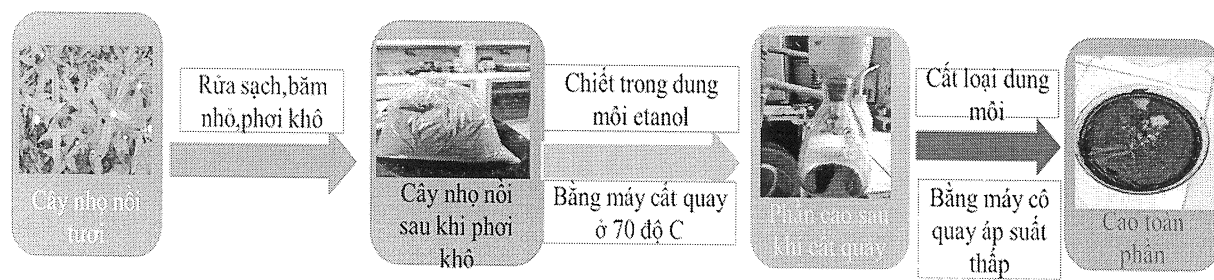
v) bổ sung nước cất, ly tâm hỗn hợp ở 6000 vòng/phút trong 6 phút, rửa thu phần chất rắn; và

vi) đông khô để thu được sản phẩm dạng bột, nghiền mịn và bảo quản.

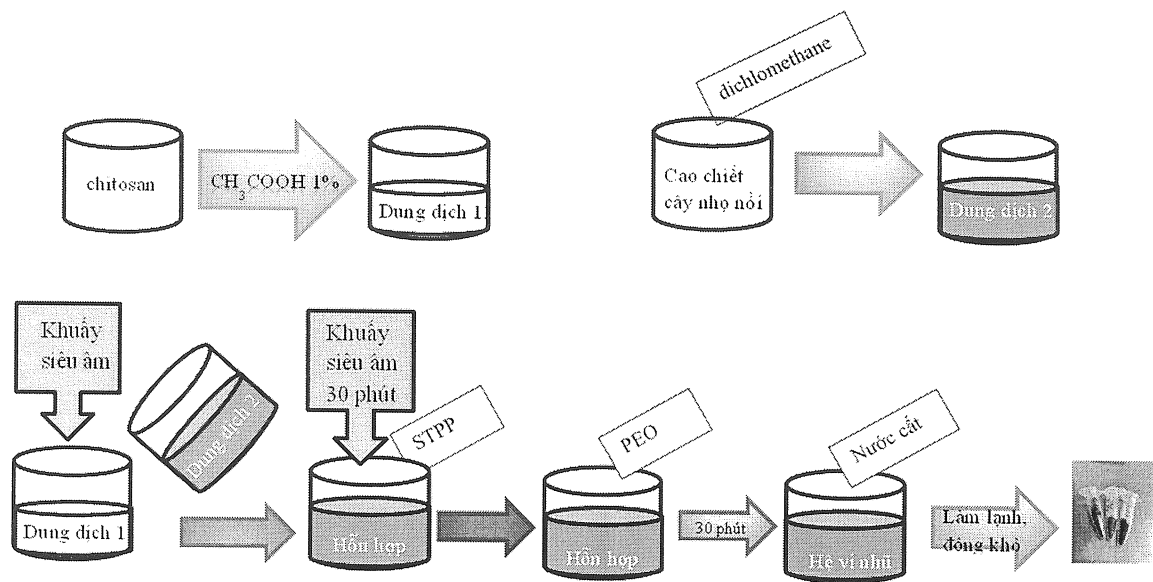
8. Phương pháp theo điểm 7, trong đó dung dịch axit axetic trong bước i) có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2%, tốt hơn là 1%.
9. Phương pháp theo điểm 7 hoặc 8, trong đó cao chiết được sử dụng trong bước ii) là cao chiết được tạo ra như được mô tả trong điểm 3.
10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 7 đến 9, trong đó trong bước iii), dung dịch của bước ii) được bổ sung từ từ vào dung dịch của bước i) với tốc độ 3mL/phút.
11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 7 đến 10, trong đó sản phẩm thu được ở dạng bột.
12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 7 đến 11, trong đó sản phẩm được bảo quản trong ống PE kín ở nhiệt độ phòng.
13. Phương pháp chế tạo vật liệu cầm máu trên cơ sở chitosan và cao chiết cây cỏ mực (*Eclipta alba* Hassk.), phương pháp này bao gồm các bước:
 - i) chuẩn bị dung dịch chứa chitosan và axit axetic, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan chitosan vào dung dịch axit axetic có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3%;
 - ii) chuẩn bị dung dịch chứa cao chiết cây cỏ mực và etanol, trong đó dung dịch này được tạo ra bằng cách hòa tan cao chiết cây cỏ mực vào etanol;
 - iii) bổ sung từ từ dung dịch của bước ii) vào dung dịch của bước i), kèm khuấy siêu âm trong 30 phút;
 - iv) đổ dung dịch ra vật chứa, để bay hơi tự nhiên để thu được sản phẩm, và tiến hành bảo quản sản phẩm.
14. Phương pháp theo điểm 13, trong đó dung dịch axit axetic trong bước i) có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2%, tốt hơn là 1%.

15. Phương pháp theo điểm 13 hoặc 14, trong đó cao chiết được sử dụng trong bước ii) là cao chiết được tạo ra như được mô tả trong điểm 3.
16. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 15, trong đó trong bước iii), dung dịch của bước ii) được bổ sung từ từ vào dung dịch của bước i) với tốc độ 3mL/phút.
17. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 16, trong đó vật chứa trong bước iv) là khay.
18. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 17, trong đó sản phẩm thu được có dạng màng.
19. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 18, trong đó sản phẩm được bảo quản trong túi PE kín ở nhiệt độ phòng.

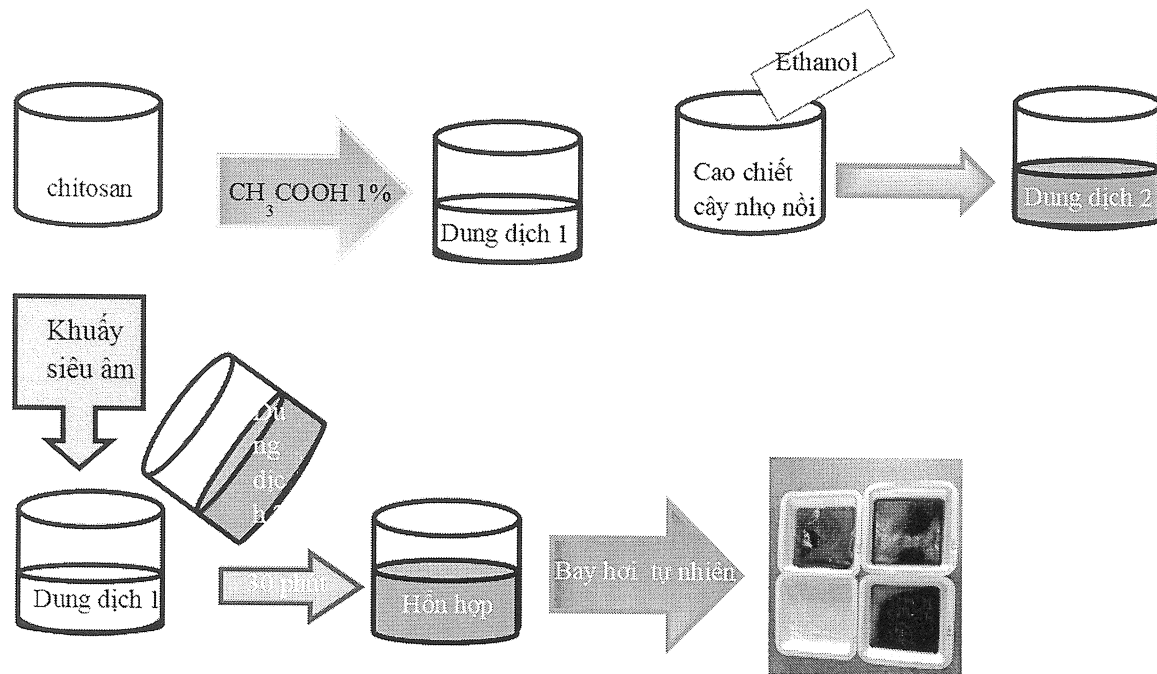
Hình 1



Hình 2



Hình 3



Hình 4

