



(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)



2-0003356

(51) **A61K 9/107; A61K 36/16**
2022.01

(13) **Y**

(21) 2-2023-00306

(22) 30/10/2020

(67) 1-2020-06320

(45) 25/10/2023 427

(43) 25/05/2022 410

(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 GINKGO BILOBA

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba, trong đó quy trình này bao gồm các bước: (i) Chuẩn bị pha phân tán; (ii) Chuẩn bị hỗn hợp chất mang span 20/tween 20; (iii) Phối trộn hệ nhũ tương ginkgo biloba bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang span 20/tween 20 và chất nhũ hóa lexithin; và (iiii) Tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Ginkgo biloba (còn gọi là cây bạch quả) là một loài thực vật đã tồn tại rất lâu được trồng ở Trung Quốc. Thời đó, bột ginkgo biloba thường được sử dụng trong các bài thuốc giúp cải thiện hoạt động của não. Ngày nay, ginkgo biloba đã được nhiều nước phương Tây biết đến và được sử dụng trong nhiều loại thực phẩm chức năng và thuốc. Các nghiên cứu cho thấy hạt ginkgo chứa khoảng 60% –70% tinh bột, 2% –4% lipid, và 0,8% –1,2% pectin; còn lá ginkgo có chứa một loạt các hoạt chất trong đó có khoảng 24% là các polyphenol như isorhamnetin, kaempferol, và quercetin và 6% terpen lacton. Các chất này đều có hoạt tính chống ung thư, điều trị rối loạn chức năng thần kinh và hỗ trợ phòng ngừa bệnh. Chúng cũng đóng một vai trò trong việc cải thiện các triệu chứng suy giảm trí nhớ nhẹ, suy não và mất trí nhớ bao gồm cả bệnh Alzheimer. Các nghiên cứu thử nghiệm in vitro cho thấy các hoạt chất trong ginkgo biloba có thể bảo vệ chống thoái hóa thần kinh do thiếu máu cục bộ. Tuy nhiên, do khả năng khuếch tán thụ động, độ tan kém làm hạn chế sự hấp thu các hoạt chất và thẩm thấu chúng trong cơ thể nên sinh khả dụng của ginkgo biloba theo đường uống thấp. Trong giải pháp hữu ích này, chúng tôi mô tả phương pháp chế tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba nhằm mục tiêu làm tăng khả năng khuếch tán, tăng tỷ lệ hấp thu, tăng thời gian lưu giữ giúp cho các hạt nano ginkgo biloba có thể vượt qua được hàng rào máu não để tăng khả năng hỗ trợ trong điều trị bệnh của ginkgo biloba.

Có rất nhiều các nghiên cứu đã được thực hiện để cải thiện tốt hơn khả năng hấp thu và tận dụng những lợi ích tiềm năng mà ginkgo biloba đem tới đối với sức khỏe con người. Cụ thể là một số các công trình sau.

Tác giả Wang và cộng sự trong một nghiên cứu có tên “Enhanced dissolution rate and oral bioavailability of ginkgo biloba extract by preparing nanoparticles via emulsion

solvent evaporation combined with freeze drying (ESE-FR)” dùng phương pháp nhũ tương hoá và đông khô thu được hạt nano ginkgo kích thước 56 nm ở dạng nhũ tương và 277 nm sau khi đông khô. Ưu điểm của phương pháp là tăng sinh khả dụng của hạt nano ginkgo biloba lên 1,8 lần so với bột ginkgo biloba thô nhưng nó lại đi kèm với nhược điểm là sự phức tạp trong phương pháp chế tạo khi phải sử dụng thiết bị đông hoá áp suất cao tới 500 bar. Đặc biệt sản phẩm vẫn còn chứa một lượng nhỏ dung môi cloroform và etanol.

Tác giả Shimada trong patent US 2008/0254126 A1 đã nêu lên quy trình điều chế hạt nano ginkgo biloba bằng phương pháp nghiền nhỏ kết hợp ở dạng khô và dạng ướt và thu được các hạt nano ginkgo biloba có kích thước dưới 100 nm. Nhược điểm của phương pháp này cũng là sử dụng áp suất cao 250 Mpa, nhiệt độ cao 80°C và thiết bị phun và hệ thống màng lọc phức tạp.

Tác giả Anna cùng các cộng sự với công trình Flavonoid loaded in nanocarriers: an opportunity to increase oral bioavailability and bioefficacy đã trình bày tổng kết các phương pháp dẫn thuốc sử dụng công nghệ nano để làm tăng tính ổn định, sinh khả dụng và hiệu quả sinh học của các flavonoid như hệ vi nhũ tương nanoemulsion, viên nang lipid cấu trúc nano...Điều này chứng tỏ phương pháp nhũ tương hoá kết hợp sử dụng công nghệ nano đã trở thành một phương pháp tiên tiến trong ngành y dược để làm tăng sinh khả dụng và hiệu quả sinh học của các hoạt chất thiên nhiên.

Tác giả Sandeep cùng các cộng sự với công trình *Ginkgo biloba a source of bioactive natural products: a review* đã tổng kết các tác dụng của các hoạt tính có trong dịch chiết ginkgo biloba như khả năng chống hình thành các khối u, chống vi khuẩn, chống nấm, tiêu diệt các gốc tự do, làm giảm kết tụ tiểu cầu, cải thiện lưu lượng máu và giảm tác dụng thần kinh được sử dụng trong các rối loạn trí nhớ bao gồm cả bệnh Alzheimer. Ngoài ra các hoạt chất còn được sử dụng trong tình trạng giảm lưu lượng máu trong não ở người lớn tuổi như mất trí nhớ, đau đầu, ù tai, chóng mặt, khó tập trung, rối loạn tâm lý và rối loạn thính giác. Điều đó chứng tỏ các tác dụng tuyệt vời và vai trò rất quan trọng của ginkgo biloba trong việc hỗ trợ điều trị và phòng ngừa rất nhiều bệnh cho con người.

Công bố đơn Việt Nam số VN 1-62656 A đề cập đến quy trình điều chế hệ nano ginkgo biloba dạng dung dịch bao gồm các bước: i) chuẩn bị dung dịch ginkgo biloba trong etanol; ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang PEG/EG; iii) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn dung dịch ginkgo biloba trong etanol, hỗn hợp chất mang PEG/EG và chất nhũ hóa lecithin; và iv) tạo hệ nano ginkgo biloba dạng dung dịch bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c, ở nhiệt độ phòng, đem đi đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/ phút và lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ nano ginkgo biloba dạng dung dịch. Hạt thu được trong quy trình này có kích thước 30-40 nm và chứa flavonol glycosit với lượng 2,74%.

Công bố đơn Mỹ số US 2004/0167034 A1 đề cập đến quy trình bào chế hệ nhũ tương ginkgo biloba bao gồm các bước: i) bổ sung hợp chất vào dung môi có thể chấp nhận được về mặt sinh lý, trong đó hợp chất có thể là phần chiết ginkgo biloba, dung môi có thể bao gồm tổ hợp của etanol, isopropanol; ii) bổ sung phospholipit, trong đó hợp chất phospholipit có thể là lecithin; iii) tiếp tục bổ sung chất nhũ hóa, trong đó chất nhũ hóa có thể là este sorbitan (span 20) và polysorbate 60 (Tween 60); và iv) tạo pha phân tán hỗn hợp nói trên.

Tài liệu “Manisha Singh et al. *Development, characterization and cytotoxicity evaluation of Ginkgo biloba extract (EGB761) loaded microemulsion for intra-nasal application*, Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol.7 (01), pages 024-034” mô tả phương pháp tạo ra nhũ tương ginkgo biloba, bao gồm bước: i) lần lượt hòa tan lượng dư chiết xuất ginkgo biloba (200mg) trong 5ml của mỗi loại trong các loại dầu khác nhau (Clove, Isopropyl Myristate (IPM), dừa, hướng dương và đậu nành), chất hoạt động bề mặt (Labrasol, Tween80, Tween 20, Plurol Oleique và Labrafac), và chất đồng hoạt động bề mặt (etanol, axit axetic và metanol) riêng biệt trong các ống nghiệm và lắc trong 15 phút; ii) Các ống nghiệm sau đó được giữ ở nhiệt độ phòng trên máy lắc trong 72 giờ để đạt trạng thái cân bằng; iii) Các mẫu cân bằng được lấy ra khỏi máy lắc và ly tâm ở 2800Xg trong 15 phút và được phân tích bằng phương pháp so màu cho ước tính flavonoid và phenolic.

Để khắc phục nhược điểm của các phương pháp và tận dụng được các hoạt tính tuyệt vời của ginkgo biloba, chúng tôi đề xuất một quy trình chế tạo hệ vi nhũ tương với cách tiến hành đơn giản, đồng thời thu được kích thước hạt lại nhỏ dưới 50 nm.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là làm tăng khả năng khuếch tán, hấp thu và thẩm thấu của hoạt chất ginkgo biloba trong cơ thể nhằm nâng cao khả năng vượt qua hàng rào máu não và tăng tính sinh khả dụng của hoạt chất này. Chính vì vậy, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba sử dụng công nghệ nhũ tương hoá với hệ chất hoạt động bề mặt thông minh.

Theo đó, quy trình điều chế vi nhũ tương nano ginkgo biloba bao gồm các bước:

(i) Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho một lượng bột ginkgo biloba hòa tan theo tỷ lệ ginkgo biloba/dung môi là 3/10 (g/mL) với hỗn hợp dung môi có tỷ lệ isopropanol/etanol là 4/6 (mL/mL), trên máy khuấy từ trong thời gian 3 tiếng, với tốc độ quay 500 vòng/phút, ở 50°C thu được dung dịch ginkgo biloba;

(ii) Chuẩn bị hỗn hợp chất mang span 20/tween 20 bằng cách phối trộn hỗn hợp span 20 và tween 20 theo tỷ lệ 2/1 (g/g), trên máy khuấy với tốc độ 500 vòng/phút trong thời gian 5 tiếng, ở nhiệt độ phòng;

(iii) Phối trộn hệ nhũ tương ginkgo biloba bằng cách trộn dung dịch ginkgo biloba, hỗn hợp chất mang span 20/tween 20 và chất nhũ hóa lexithin sao cho chất trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ ginkgo biloba/span20/lexithin là 5/4/5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 tiếng, với tốc độ khuấy 500 vòng/phút ở nhiệt độ phòng; và

(iiii) Tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước (iii), ở nhiệt độ phòng, sau đó đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/ phút và lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là hình vẽ kết quả ảnh TEM độ phân giải cao của hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba trong nước.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích mô tả chi tiết phương án cụ thể chế tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba, tuy nhiên phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả chi tiết giải pháp hữu ích để làm rõ các phương án thực hiện chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ giải pháp hữu ích.

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

(i) Chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan ginkgo biloba theo tỷ lệ ginkgo biloba/dung môi là 3/10 (g/mL) với hỗn hợp dung môi có tỷ lệ isopropanol/etanol là 4/6 (mL/mL), trên máy khuấy từ trong thời gian 3 tiếng, với tốc độ quay 500 vòng/phút, ở 50°C thu được dung dịch ginkgo biloba;

Việc sử dụng hỗn hợp dung môi isopropanol/etanol có tác dụng ổn định cấu trúc hệ nhũ tương khi bổ sung hỗn hợp chất mang span 20/tween 20. Các tác giả đã nghiên cứu và xác định được tỷ lệ hoà tan ginkgo biloba tốt nhất là 10 mL hỗn hợp isopropanol/etanol cho 3 g bột ginkgo biloba;

(ii) Chuẩn bị hỗn hợp chất mang span 20/tween 20 bằng cách phối trộn hỗn hợp Span 20 và tween 20 theo tỷ lệ 2/1 (g/g) trên máy khuấy với tốc độ 500 vòng/phút trong thời gian 5 tiếng ở nhiệt độ phòng;

Span 20, Sorbitan Laurate, chất nhũ hóa S20 là chất hoạt động bề mặt phân hủy sinh học dựa trên một axit béo tự nhiên (axit lauric) và sorbitol alcohol đường. Sorbitan ester này có hiệu quả cao trong việc hình thành dầu trong nước nhũ tương. Tỷ lệ span 20/tween 20 đã được tính toán và thử nghiệm để nhũ tương tạo thành có độ bền cao;

(iii) Phối trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang và chất tạo nhũ bằng cách trộn dung dịch ginkgo biloba, hỗn hợp chất mang span 20/tween 20 và chất nhũ hóa lexithin với tỷ lệ ginkgo biloba/span 20/lexithin là 5/4/5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 tiếng ở nhiệt độ phòng, khuấy ở tốc độ 500 vòng/phút; và

(iiii) Tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba bằng cách để hỗn hợp nhũ tương thu ở (iii) qua đêm ở nhiệt độ phòng, sau đó đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/phút và lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Việc sử dụng thêm lexithin để tăng tính liên kết của hạt nano ginkgo biloba với hệ chất nhũ hoá và cải thiện khả năng hoà tan. Kết hợp với phương pháp đồng hoá trên máy cô quay để loại bỏ dung môi, giúp cho quá trình tạo hạt nano được hoàn thiện.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Chế tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba được thực hiện như sau:

Chuẩn bị dung dịch ginkgo biloba bằng cách hòa tan 30 g bột ginkgo biloba vào trong 100 mL hỗn hợp dung môi isopropanol/etanol đã pha sẵn có 40 mL isopropanol và 60 mL etanol. Quá trình hòa tan được thực hiện trên máy khuấy từ gia nhiệt ở 50°C trong thời gian 3 tiếng với tốc độ khuấy 500 vòng/phút thu được pha phân tán;

Chuẩn bị hỗn hợp chất mang bằng cách trộn hỗn hợp 30 g span 20 và 15 g tween 20 trên máy khuấy từ, trong thời gian 5 tiếng ở nhiệt độ phòng;

Phối trộn 50 g dung dịch ginkgo biloba, 40 g hỗn hợp chất mang span 20/tween 20 và 50 g chất nhũ hóa lexithin vào thiết bị tạo nhũ với tốc độ khuấy 500 vòng/phút trong 5 tiếng ở nhiệt độ phòng; và

Để qua đêm hỗn hợp đồng nhất ở nhiệt độ phòng, sau đó đem đi đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/ phút và lặp lại quy trình đồng hóa 5 lần, thu được 100 g hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.

Sau khi thu được sản phẩm, các phương pháp phân tích hiện đại đã được tiến hành và kết quả đạt được như sau:

1. Kết quả đo TEM

Ảnh đo TEM với độ phân giải cao cho thấy các tiểu phân hạt nano ginkgo biloba có dạng hình cầu với đường kính vào khoảng 30-40 nm.

2. Kết quả phân tích hàm lượng bằng HPLC

Hàm lượng của ginkgo biloba trong mẫu được đo bằng HPLC. Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng ginkgo biloba trong mẫu phân tích đạt 2,74 g/100g

3. Kết quả chỉ tiêu Hoá lý và vi sinh vật

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	6,21
7	Hàm lượng carbohydrate	g/100g	H.HD.QT.336	93,9
8	Tỷ trọng	g/ml	H.HD.QT.084	1,135
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)	<0.012

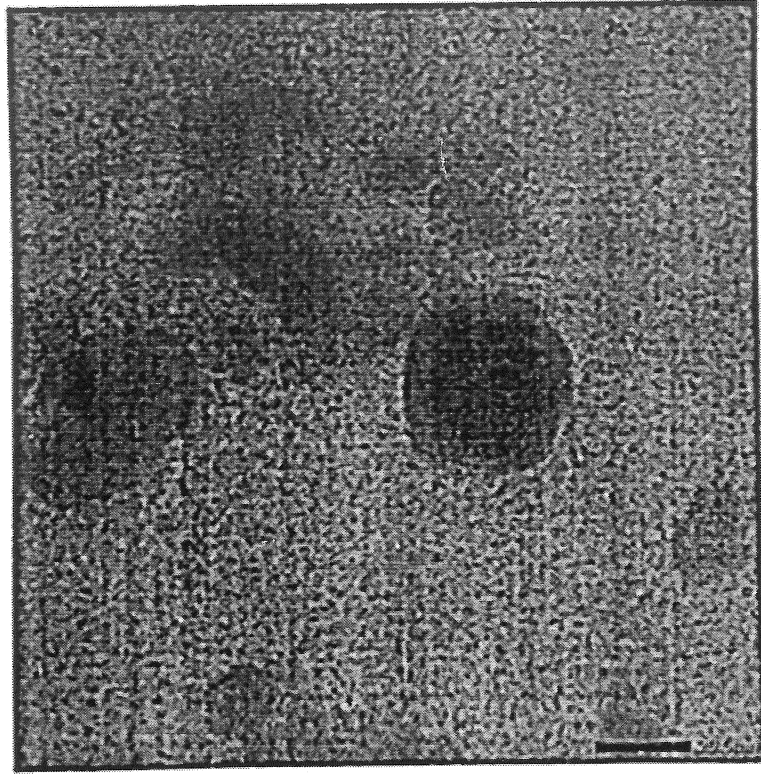
Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình điều chế vi nhũ tương nano ginkgo biloba đã chế tạo thành công hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba tan tốt trong nước, có chứa các tiểu phân nano ginkgo biloba kích thước 30-40 nm, hàm lượng ginkgo biloba là 2,74%, hoạt tính, cấu trúc của dược chất vẫn giữ ổn định. Sản phẩm thu được từ quy trình theo giải pháp hữu ích đạt các chỉ tiêu an toàn khi sử dụng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba bao gồm các bước:

- (i) Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho một lượng bột ginkgo biloba hòa tan theo tỷ lệ ginkgo biloba/dung môi là 3/10 (g/mL) với hỗn hợp dung môi có tỷ lệ isopropanol/etanol là 4/6 (mL/mL), trên máy khuấy từ trong thời gian 3 tiếng, với tốc độ quay 500 vòng/phút, ở 50°C thu được dung dịch ginkgo biloba;
- (ii) Chuẩn bị hỗn hợp chất mang span 20/tween 20 bằng cách phối trộn hỗn hợp span 20 và tween 20 theo tỷ lệ 2/1 (g/g), trên máy khuấy với tốc độ 500 vòng/phút trong thời gian 5 tiếng, ở nhiệt độ phòng;
- (iii) Phối trộn hệ nhũ tương ginkgo biloba bằng cách trộn dung dịch ginkgo biloba, hỗn hợp chất mang span 20/tween 20 và chất nhũ hóa lexithin sao cho chất trong hỗn hợp đồng nhất có tỷ lệ ginkgo biloba/span20/lexithin là 5/4/5 (g/g/g) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 tiếng, với tốc độ khuấy 500 vòng/phút ở nhiệt độ phòng; và
- (iiii) Tạo hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước (iii), ở nhiệt độ phòng, sau đó đồng hóa với tốc độ 3000 vòng/phút và lặp lại đồng hóa 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano ginkgo biloba.



Hình 1