



(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)



2-0003386

(51) **A61K 9/10**
2022.01

(13) **Y**

(21) 2-2023-00307

(22) 23/06/2020

(67) 1-2020-03658

(45) 27/11/2023 428

(43) 27/12/2021 405

(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 OLIGOME
PROANTHOCYANIDIN (OPC) BẢO VỆ SỨC KHỎE

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano oligome proanthocyanidin (OPC) bảo vệ sức khỏe, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị dung dịch OPC; b) chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ tween 20/span 20/lecithin; c) tạo hỗn hợp vi nhũ tương, trong đó dung dịch OPC được cho vào hỗn hợp chất tạo nhũ theo tỷ lệ xác định; d) đồng hóa hỗn hợp vi nhũ tương.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano oligome proanthocyanidin (OPC) bảo vệ sức khỏe.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

OPC (oligome proanthocyanidin) là hợp chất polyphenolic có nhiều trong vỏ cây thông biển Bark của Pháp. Ngoài ra, hợp chất OPC còn được tìm thấy trong nhiều loại thực phẩm như trái cây, rau, sô cô la, rượu táo, rượu vang và trà. Hợp chất này đã và đang được sử dụng trong thực phẩm bổ sung và các loại thuốc hơn 30 năm qua. OPC có trong các sản phẩm thực phẩm dinh dưỡng thường được chiết xuất từ hạt nho và vỏ cây thông. OPC là một polyme có khối lượng phân tử lớn với mức độ trùng hợp từ 4 đến 11. Hỗn hợp OPC trong nho bao gồm các đime, trime, tetrame, oligome và polyme. Các tác dụng của OPC được phát hiện là tính chống oxy hóa mạnh, ức chế xơ vữa động mạch, giảm quá trình oxy hóa lipid ở bề mặt của các động mạch. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, OPC còn có các đặc tính chống ung thư, chống viêm và kháng khuẩn.

Bagchi D và các cộng sự đã thực hiện thí nghiệm tác dụng chống oxy hóa của OPC trên chuột. Kết quả nghiên cứu trên bài “Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice” chứng tỏ OPC ức chế các phản ứng hóa học như phản ứng peroxid hóa lipid, phân mảnh DNA, ngăn chặn quá trình tổn thương mô tế bào do quá trình oxy hóa gây ra. Mức độ chống oxy hóa phụ thuộc nồng độ của OPC trong gan và não. Các thử nghiệm trên người cũng cho thấy OPC có khả năng giảm quá trình peroxid hóa lipid của LDL cholesterol và tăng khả năng khóa các gốc tự do khi thử nghiệm với rượu vang đỏ chứa OPC. Vì vậy, OPC được biết đến là một chất có tác dụng chống xơ vữa động mạch rất tốt. OPC có ái lực với các mô máu và có khả năng ức chế mạnh một số enzym liên quan đến sự thoái hóa collagen, elastin và axit hyaluronic là thành phần cấu tạo nên thành mạch máu. Tác dụng này có thể là do khả năng bắt giữ các chất

tham gia phản ứng oxy hóa và ngăn chặn các tổn thương do quá sự oxy hóa tới nội mô mạch máu. Các nghiên cứu khác cũng cho thấy OPC có khả năng tăng sức đề kháng của màng tế bào chống lại các tác nhân gây tổn thương và phá hủy tế bào. OPC làm giãn mạch bằng cách tăng sản xuất oxit nitric đồng thời kích thích yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu dẫn đến thúc đẩy quá trình tự chữa lành vết thương. OPC cũng có thể bảo vệ vi mạch của võng mạc và tăng thị giác bằng cách tăng tỷ lệ tái sinh rhodopsin.

Để nghiên cứu tác dụng của OPC trong điều trị các chứng rối loạn thành mạch như giãn tĩnh mạch, mao mạch dễ vỡ, các thí nghiệm lâm sàng trên 50 cặp bệnh nhân đã được Delacroix P. tiến hành. Trong đó 50 bệnh nhân được chỉ định sử dụng 150 mg OPC/ngày, 50 bệnh nhân còn lại sử dụng 450 mg diosmin/ngày (diosmin là một flavonoid thường được dùng trong điều trị chứng suy mạch máu) với thời gian thử nghiệm là 1 tháng. Kết quả nghiên cứu công bố trên bài "Double-blind study on Endotelon in chronic venous insufficiency" cho thấy nhóm bệnh nhân sử dụng OPC có tác dụng giảm nhanh các triệu chứng lâm sàng và kéo dài hơn nhóm sử dụng diosmin. Thí nghiệm lâm sàng khác thực hiện trên 92 bệnh nhân suy tĩnh mạch ngoại biên sử dụng 300 mg OPC/ngày trong 28 ngày. Kết quả cho thấy 69 bệnh nhân giảm 50% các triệu chứng lâm sàng như cảm giác đau, chuột rút, phù nề... và 75% bệnh nhân cảm thấy việc điều trị có kết quả cao hơn nhóm dùng giả dược (42%).

Từ các tài liệu nghiên cứu tổng hợp được có thể thấy OPC là một hợp chất thiên nhiên quý giá, có khả năng hỗ trợ điều trị một số bệnh như ung thư, tiểu đường, các bệnh liên qua đến sự rối loạn do lão hóa dây thần kinh và sự tổn thương não. Tuy nhiên, nếu sử dụng OPC qua đường uống thì khả năng sinh khả dụng của nó rất thấp do tỷ lệ hấp thụ OPC qua đường tiêu hóa thấp (<25%). Hơn nữa OPC dễ bị biến tính dưới tác dụng của nhiệt độ, ánh sáng, oxy và dịch tiêu hóa. Chính vì vậy, để giải quyết vấn đề hòa tan kém của OPC đã có một số nghiên cứu chuyển hóa OPC thành dạng nano. Ở kích thước nano các dược chất có khả năng tan tốt hơn trong nước với mức độ đồng nhất và khả năng phân bố trong tĩnh mạch tốt.

Trên thế giới đã có một số nghiên cứu công bố quy trình chuyển hóa OPC thành các dạng nano khác nhau. Trong đó, Qian Juan đã dùng phương pháp nghiền ướt, sau đó sản phẩm được tiến hành sấy để bảo quản. Phương pháp này đã được công bố trên

sáng chế “Nano-scale pine bark extract and preparation method thereof”. Kết quả, sản phẩm thu được ở dạng bột có kích thước khoảng 60 nm. Ưu điểm của phương pháp này là tạo được chế phẩm OPC có hàm lượng cao, kích thước hạt bé tuy nhiên phương pháp này cần thiết bị nghiền và sấy phun có giá thành cao. Hơn nữa, OPC là hợp chất dễ bị biến đổi dưới tác dụng nhiệt độ, ánh sáng và sự có mặt của oxy nên chế phẩm dưới dạng bột sẽ có thời hạn sử dụng ngắn.

Tác giả Zhongkai Zhou và các cộng sự đã sử dụng phương pháp bao gói proanthocyanidin trong ferritin. Kết quả công bố trên bài “A Novel Approach to Prepare Protein-proanthocyanidins Nano-complexes by the Reversible Assembly of Ferritin Cage” đã tạo được chế phẩm dạng nano có kích thước 12 nm chứa 25% proanthocyanidin. Phương pháp này có ưu điểm là OPC được bảo vệ khỏi các tác nhân oxy hóa làm biến đổi hoạt tính sinh học của nó, làm tăng khả năng hấp thụ qua thành ruột. Tuy nhiên, do bị bao gói trong bởi các phân tử polyme nên thời gian phân giải OPC lâu hơn và với hàm lượng thấp hơn.

Các phương pháp đã nêu ở trên đều có những ưu và nhược điểm riêng. Điểm hạn chế chung của các nghiên cứu trên là khả năng phân bố và hấp thụ của OPC tạo thành còn thấp. Vì vậy, giải pháp hữu ích này đề xuất quy trình tạo chế phẩm nano OPC đơn giản mà có tính sinh khả dụng cao. Hơn nữa, ở Việt Nam hiện chưa có nghiên cứu nào chế tạo ra chế phẩm OPC dạng nano. Do đó, quy trình được đề cập trong giải pháp hữu ích là tạo ra hệ vi nhũ tương nano OPC có độ hòa tan cao, cải thiện tính thấm qua màng tế bào có hoạt tính ổn định và độ bền hệ vi nhũ tương cao.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là tạo chế phẩm OPC có độ tan cao, cải thiện tính thấm qua màng tế bào, hoạt tính ổn định, độ bền hệ vi nhũ tương cao. Để đạt được mục đích này, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano OPC như sau:

a) Chuẩn bị dung dịch OPC bằng cách hòa tan OPC trong hỗn hợp dung môi diclometan/etyl axetat;

b) Chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ: tween 20/span20/lecithin hỗn hợp được tạo thành với tỷ lệ xác định;

c) Tạo hỗn hợp vi nhũ tương: Dung dịch OPC được cho vào hỗn hợp chất tạo nhũ theo tỷ lệ xác định; và

d) Đồng hóa hỗn hợp vi nhũ tương: Hỗn hợp trên được để qua đêm rồi thực hiện bằng thiết bị đồng hóa. Kết quả thu được hệ vi nhũ tương OPC có kích thước nano.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là hình ảnh và kích thước tiểu phân OPC chụp bằng TEM.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích mô tả chi tiết các phương án cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả chi tiết giải pháp hữu ích, 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 OPC, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) Pha dung môi diclometan/etyl axetat với tỷ lệ 1/9. Chuẩn bị dung dịch OPC bằng cách hòa tan OPC vào hỗn hợp dung môi diclometan/etyl axetat theo tỷ lệ là 1/10 (g/mL) ở nhiệt độ 40°C kết hợp rung siêu âm cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;

Mục đích ban đầu là hòa tan OPC, các tác giả đã sử dụng hỗn hợp dung môi là diclometan/etyl axetat làm pha phân tán OPC. Diclometan và etyl axetat thường được dùng trong tách chiết các dược chất bởi độ tính thấp. Bằng nhiều thí nghiệm thì các tác giả đã xác định được tỉ lệ hòa tan của OPC và diclometan/etyl axetat là 1/10 (g/mL) là tỉ lệ hòa tan thích hợp.

b) Chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ tween 20/span20/lecithin: Hỗn hợp tween 20, span 20, lecithin được trộn với tỷ lệ 3/3/1 (g/g/g) và được khuấy trộn trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 40°C, với tốc độ 400 vòng/ phút;

Tween 20 là một chất nhũ hoá không ion cho hệ nhũ tương dầu nước, có nguồn gốc từ các thành phần tự nhiên (dầu cọ, dầu dừa...). Với đặc tính nhũ hoá ổn định và an

toàn cho người sử dụng, tween 20 được sử dụng nhiều trong các lĩnh vực đời sống. Lecithin được tinh chế từ đậu nành có chứa một lượng lớn phospholipid, có tính chống oxy hóa cao. Ngoài ra, lecithin còn có tác dụng tăng cường quá trình hấp thụ các chất béo và là môi trường hòa tan tốt các vitamin. Span 20 (chất nhũ hóa S20) là chất hoạt động bề mặt phân hủy sinh học của một axit béo tự nhiên (axit lauric) và đường sorbitol. Do đó, hỗn hợp tạo nhũ tween 20/span 20/lecithin được sử dụng để tăng khả năng hấp thụ và vận chuyển OPC trong cơ thể, đồng thời là chất bảo vệ OPC khỏi các tác nhân oxy hóa.

c) Tạo hỗn hợp vi nhũ tương: Hỗn hợp OPC được ở bước a trộn với hỗn hợp chất tạo nhũ thu được ở bước b với tỷ lệ 1/4 (mL/g) trong thiết bị tạo nhũ với nhiệt độ 80°C trong 5 giờ để tạo thành hỗn hợp đồng nhất; và

d) Hỗn hợp vi nhũ tương thu được ở bước c được để qua đêm, ở nhiệt độ phòng, sau đó được đồng hóa với ở áp suất 150 MPa và lặp lại 5 lần để loại bỏ dung môi và thu được hệ vi nhũ tương nano OPC.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ: Chế tạo 25 g hệ vi nhũ tương nano OPC

Pha 5 mL hỗn hợp dung môi với tỷ lệ diclometan/etyl axetat là 1/ 9. Chuẩn bị dung dịch OPC bằng cách hòa tan 0,5 g OPC vào 5 mL hỗn hợp dung môi ở nhiệt độ 40°C kết hợp rung siêu âm cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;

Chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ tween 20/span20/lecithin bằng cách trộn 9 g tween 20 vào 9 g span 20, sau đó bổ sung 3 g lecithin. Hỗn hợp được khuấy trộn trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 40°C, với tốc độ 400 vòng/ phút;

Trộn 5 mL dung dịch OPC với 21 g hỗn hợp chất tạo nhũ trong thiết bị tạo nhũ ở nhiệt độ 80°C trong 5 giờ để tạo thành hỗn hợp đồng nhất;

Hỗn hợp vi nhũ tương trên được để qua đêm, ở nhiệt độ phòng, sau đó được đồng hóa ở áp suất 150 MPa và lặp lại 5 lần để loại bỏ dung môi và thu được 25 g hệ vi nhũ tương nano OPC.

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

1. Kết quả đo HR-TEM

Hệ nano Oligomers Proanthocyanidin phân tán tốt trong nước, có chứa các đám hạt nano không có hình dạng xác định, kích thước trung bình 50-100 nm.

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

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

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
10.1	Tổng vi sinh vật hiếu khí	CFU/mL	ISO 4833-1:2013	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.2	<i>Cl. Perfringens</i>	CFU/mL	TCVN 4991:2005	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.3	Coliforms	CFU/mL	TCVN 6848:2007	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.4	<i>E. coli</i>	CFU/mL	TCVN 7924 -2:2008	KPH (LOD:1CFU/mL)
10.5	Tổng số bào tử nấm men-mốc		TCVN 8275-1:2010	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.6	Hàm lượng Cadmi	mg/kg	H.HD.QT.429(ICP-MS)	KPH (LOD:0,004 mg/kg)
10.7	Hàm lượng Chì	mg/kg	H.HD.QT.429(ICP-MS)	0.037
10.8	Độ pH	-	H.HD.QT.070	7,29
10.9	Tỷ trọng	g/mL	NIFC.05.M.197	1,076

Kết quả cho thấy, mẫu OPC chế tạo được đạt các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Đã chế tạo thành công hệ vi nhũ tương có chứa các tiểu phân nano OPC có kích thước tiểu phân trong khoảng 50 đến 100 nm.

Yêu cầu bảo hộ

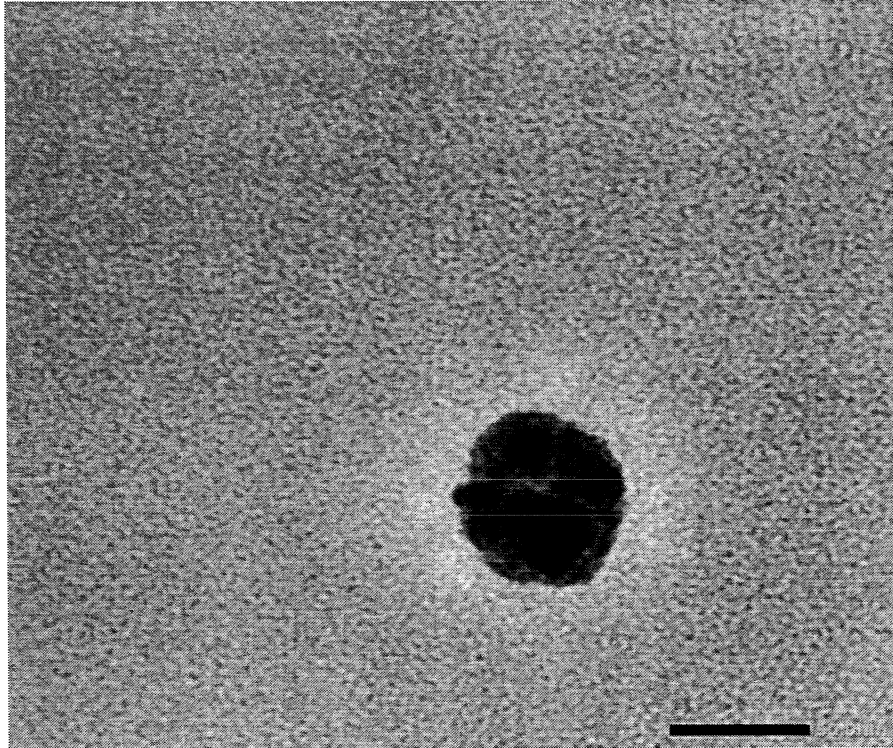
1. Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano oligome proanthocyanidin (OPC) bảo vệ sức khỏe, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) Chuẩn bị dung dịch OPC bằng cách hòa tan OPC vào hỗn hợp dung môi diclometan/etyl axetat theo tỷ lệ là 1/10 (g/mL) ở nhiệt độ 40°C kết hợp rung siêu âm cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;

b) Chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ tween 20/span 20/lecithin, trong đó hỗn hợp bao gồm tween 20, span 20, lecithin được trộn với tỷ lệ 3/3/1 (g/g/g) và được khuấy trộn trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 40°C, với tốc độ 400 vòng/ phút;

c) Tạo hỗn hợp vi nhũ tương, trong đó hỗn hợp OPC được ở bước a) trộn với hỗn hợp chất tạo nhũ thu được ở bước b với tỷ lệ 1/4 (mL/g) trong thiết bị tạo nhũ với nhiệt độ 80°C trong 5 giờ để tạo thành hỗn hợp đồng nhất; và

d) Hỗn hợp vi nhũ tương thu ở bước c được để qua đêm, ở nhiệt độ phòng, sau đó được đồng hóa ở áp suất 150 MPa và lặp lại 5 lần để loại bỏ dung môi và thu được hệ vi nhũ tương nano OPC.



Hình 1