



(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)



1-0025610

(51)⁷ A61K 9/127; A61K 47/44; A61K 31/05; (13) B
A61K 47/24

(21) 1-2019-00610

(22) 31/01/2019

(45) 25/09/2020 390

(43) 25/06/2019 375A

(76) Lại Nam Hải (VN)

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

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

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT HỆ LIPOSOM NANO CANABIDIOL (CBD)

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất hệ liposom nano canabidiol (CBD) bao gồm các bước: (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho CBD hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng CBD: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ; (ii) chuẩn bị chất mang liposom gồm lexitin, dầu ôliu với tỉ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C để đảm bảo lexitin hòa tan hoàn toàn trong dầu, khuấy đều; (iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 800 đến 1000 vòng/phút trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ; (iv) làm lạnh hỗn hợp thu được đến 25°C và bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu âm ở tần số 60 Hz, có kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 µm, công suất phun 10 ml/ phút, một thể tích nước cất nằm trong khoảng từ 1 đến 1,5 L, với nhiệt độ nước cất ở 25°C, thu được dung dịch huyền phù liposom - nước; (v) đồng hóa hỗn hợp dung dịch huyền phù liposom - nước bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa để thu được hệ liposom nano CBD là hỗn hợp đồng nhất, ổn định, đảm bảo kích thước hạt < 200nm.

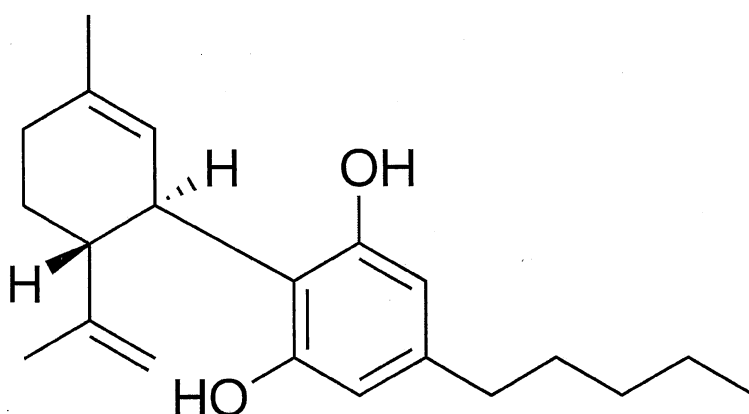
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất hệ liposom nano CBD.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

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

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



Khi được sử dụng, canabidiol (CBD) có hoạt tính chống tăng sinh, chống tạo mạch và tiền gây chết tế bào theo chương trình thông qua các cơ chế khác nhau, có thể không liên quan đến việc truyền tín hiệu bởi thụ thể cannabinoids 1 (CB1), CB2 hoặc thụ thể vanilloit và ức chế tín hiệu AKT/mTOR, do đó kích hoạt tự thực bào (hay autophagy - quá trình mà trong đó tế bào “ăn” các thành phần của chính nó, là một cơ chế dị hóa cơ

bản, liên quan đến sự thoái hóa những thành phần không cần thiết hoặc các thành phần bị rối loạn chức năng trong tế bào, thông qua hoạt động của lysosom) và thúc đẩy sự chết rụng tế bào (hay apoptosis - quá trình chết tế bào theo chương trình). Ngoài ra, CBD tăng cường việc tạo ra các nhóm oxy phản ứng (ROS), giúp tăng cường hơn nữa quá trình sự chết rụng tế bào. Tác nhân này cũng điều chỉnh tăng sự biểu hiện của phân tử bám dính giữa tế bào 1 (ICAM-1) và chất ức chế mô của matrix metalloproteinaza-1 (TIMP1) và làm giảm biểu hiện của chất ức chế gắn DNA 1 (ID-1). Điều này ức chế sự xâm lấn tế bào ung thư và di căn. CBD cũng có thể kích hoạt vanilloit điện thế tạm thời tuýp 2 (TRPV2), có thể làm tăng sự hấp thu của các tác nhân gây độc tế bào khác nhau trong các tế bào ung thư. CBD đã được chứng minh là có tác dụng giảm đau, chống co giật, giãn cơ, giảm lo âu, chống oxy hóa, và chống loạn thần, động kinh. Hiệu ứng đa dạng này có thể là do cơ chế dược lý phức tạp của CBD. Ngoài ràng buộc để CB1 và CB2 thụ của hệ thống canabinoit bên trong, có bằng chứng rằng CBD kích hoạt serotonin 5-HT1A và thụ thể vanilloit TRPV1-2, đối kháng alpha-1 adrenergic và thụ thể μ -opioid, ức chế sự hấp thu qua synaptosom của noradrenalin, dopamin, serotonin và axit gaminobutyric và sự hấp thu tế bào của anandamit, hoạt động trên các kênh Ca²⁺ của ty thể, chặn các kênh Ca²⁺ được kích hoạt điện áp thấp (loại T), kích thích hoạt động của thụ thể glyxin ức chế và ức chế hoạt động của hydrolaza béo (FAAH).

CBD có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng thấp, theo nghiên cứu của Mechoulam R và các cộng sự, công bố trên Journal of Clinical Pharmacology sinh khả dụng khi dùng qua đường uống chỉ từ 13-19%, sử dụng qua mũi (hít) khoảng 31%. Nó được chuyển hóa nhanh, thời gian bán thải trong khoảng 9 giờ. CBD được hấp thu tốt sau khi uống, và có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng thấp. Do đó cải thiện khả năng hấp thu, tăng sinh khả dụng của chất này là rất cần thiết. Áp dụng công nghệ nano là một ứng dụng công nghệ mới để tạo hệ dẫn thuốc và tăng sinh khả dụng của chất. Đặc biệt là ứng dụng hệ liposom là hệ mới với cấu trúc bao gồm những tiểu phân tử hình cầu và kích thước rất nhỏ (nano), lõi của nó chứa các hoạt chất dinh dưỡng và được bao bọc phía ngoài bởi một hoặc nhiều lớp màng

phospholipit kép, có khả năng chứa, bảo vệ, vận chuyển và giải phóng những hoạt chất đến những vị trí mong muốn trong cơ thể một cách chính xác và đúng liều lượng. CBD được gói trong hệ dẫn thuốc nano giúp vận chuyển chất đến đích một cách chọn lọc, hiệu quả và tiết kiệm dược chất. Ở nước ta, công nghệ nano trong y sinh học vẫn còn mới, chưa có nhiều ứng dụng nhưng đã thu hút rất nhiều sự quan tâm nghiên cứu. Các nghiên cứu phổ biến nhất hiện nay là về ứng dụng của nano curcumin và các hệ vận chuyển thuốc đến tế bào đích, chưa có nghiên cứu về chế tạo nano CBD. Sử dụng hệ liposom tạo hạt nano để mang thuốc và nhả thuốc là hướng mới để điều trị bệnh đặc biệt là bệnh động kinh và ung thư trong tương lai.

Tác giả GART và đồng sự trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent số WO 2018/061007 A1 đã đề cập đến hệ dẫn cannabinoid dạng vi nhũ hóa (microemulsions).

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

Các quy trình nói trên tạo ra các hạt tiểu phân theo phương pháp vi nhũ hóa và mixen, các hạt tiểu phân không đồng đều, đặc biệt tạo nano CBD theo công thức liposom có kích thước lớn hơn 200nm, nên hiệu quả hòa tan trong nước và hiệu quả sử dụng chưa cao.

Do đó nhu cầu về quy trình sản xuất hệ liposom nano CBD có các hạt tiểu phân hệ liposom có kích thước nhỏ hơn 200nm, đồng đều, khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính CBD trong quá trình nano hóa.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất quy trình sản xuất hệ liposom nano CBD nhằm khắc phục các nhược điểm của quy trình đã biết nêu trên để tạo các hạt có kích thước nhỏ

hơn 200nm, đồng đều, có khả năng hòa tan trong nước mà hoạt tính và cấu trúc không đổi giúp làm tăng hiệu quả sử dụng của hoạt chất CBD, cụ thể là tăng khả năng hấp thu và tăng sinh khả dụng.

Để đạt được mục đích nêu trên, quy trình sản xuất hệ liposom nano CBD theo sáng chế bao gồm các bước:

(i) Bước 1: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho CBD hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng CBD: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;

(ii) Bước 2: chuẩn bị chất mang liposom gồm lexitin, dầu ôliu với tỉ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C để đảm bảo lexitin hòa tan hoàn toàn trong dầu, khuấy đều.

(iii) Bước 3: bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 800 đến 1000 vòng/phút, từ 1 đến 2 giờ.

(iv) Bước 4: làm lạnh hỗn hợp thu được đến 25°C và bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu âm ở tần số 60 Hz, có kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 μm , công suất phun 10 ml/ phút, một thể tích nước cất nằm trong khoảng từ 1 đến 1,5 L, với nhiệt độ nước cất ở 25°C, thu được dung dịch huyền phù liposom - nước;

(v) Bước 5: đồng hóa hỗn hợp dung dịch huyền phù liposom - nước bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa để thu được hệ liposom nano CBD là hỗn hợp đồng nhất, ổn định, đảm bảo kích thước hạt <200nm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa CBD đã biết và nano CBD thu được bằng quy trình theo sáng chế.

Hình 2 là ảnh phổ đo TEM kích thước hạt liposom nano CBD thu được bằng quy trình theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Quy trình sản xuất hệ liposom nano CBD theo sáng chế được thực hiện như sau:

(i) Bước thứ nhất: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho CBD hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng CBD: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ. Tác giả sáng chế sử dụng etanol là dung môi có khả năng hòa tan tốt CBD, giúp tạo pha phân tán tốt hơn và tạo điều kiện để pha phân tán có thể kết hợp với chất mang PEG tốt hơn. Việc sử dụng dung môi etanol có gốc hydroxyl (OH-) tạo liên kết với nước, nên có tác dụng ổn định cấu trúc hệ liposom dầu trong nước. Bằng các thử nghiệm, các tác giả sáng chế xác định được với tỷ lệ CBD: etanol là 8:10 (khối lượng: thể tích) CBD đạt được độ hòa tan lớn nhất và tránh dư thừa dung môi etanol gây lãng phí. Việc sử dụng khuấy và gia nhiệt để tạo CBD phân tán tốt hơn, khi tác giả thử nghiệm với nhiều điều kiện khuấy và nhiệt độ khác nhau cho thấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C thì pha phân tán CBD là tốt hơn và kết hợp với chất mang PEG tốt hơn.

(ii) Bước thứ hai: chuẩn bị chất mang liposom gồm lexitin, dầu ôliu tỉ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C để đảm bảo lexitin hòa tan hoàn toàn trong dầu, khuấy đều.

Khi sử dụng CBD thường bị phá hủy trong đường tiêu hóa, một phần được hấp thu vào máu, còn lại đa số bị đào thải. Vì vậy cần quy trình sản xuất hạt tiểu phân chứa hoạt chất CBD, với kích thước nhỏ có màng bao sinh học, cấu trúc có độ ổn định, không kết dính và độ hòa tan cao. Bởi vì hệ liposom nano CBD theo sáng chế được sử dụng trong các ngành công nghiệp mỹ phẩm và dược phẩm, nên các chất được lựa chọn sử dụng phải có độ an toàn cao, không có độc tính và ít tác dụng phụ.

Chất hoạt động bề mặt được sử dụng nhằm tạo sự ổn định và đồng nhất cho hệ, ngăn cản sự keo tụ, kết dính của các chất trong hệ, ở đây các tác giả sử dụng lexitin (các phospholipit). Trong quy trình này chúng tôi sử dụng lexitin từ đậu nành, an toàn cho người sử dụng và có giá thành hợp lý. Công thức phân tử của lexitin theo công bố của Willstatter năm 1918 gồm có axit glyxerophosphoric, axit béo và cholin, 3 thành phần này có thể ghép với nhau theo nhiều cách tạo nhiều loại lexitin. Hai phân tử axit béo hấp dẫn nhau nên chúng xếp trên cùng hướng, đầu của axit béo chứa gốc kỵ nước tạo nên phần kỵ nước của lexitin. Liên kết của C₂-C₃ ở gốc glyxerin có thể bị quay vặn đi một góc 180⁰ làm cho nhóm P phân cực nằm về chiều ngược lại với chuỗi axit béo, hình thành đầu ưa nước của lexitin. Do cấu trúc đặc biệt đó mà phân tử lexitin vừa ưa nước vừa kỵ nước (ưa dầu). Đó là ưu điểm để ứng dụng lexitin tạo hệ liposom. Hệ liposom có thể nhốt các hoạt chất hòa tan trong nước (ưa nước) trong khoang chứa nước bên trong và các hoạt chất không tan trong nước (kỵ nước) trong màng hai lớp của chúng. Đặc tính thứ hai làm cho nó có thể sử dụng liposom để tạo thành hạt nano CBD tương thích với nước. Sau nhiều thử nghiệm tác giả chọn lexitin, dầu ôliu với tỉ lệ 1:3 theo khối lượng để tạo được hệ ổn định nhất.

(iii) Bước thứ ba: bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 800 đến 1000 vòng/phút từ 1 đến 2 giờ.

(iv) Bước thứ tư: hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 25°C và được bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu âm (Ultrasonic Atomizer Nozzle) ở tần số 60 Hz (kích thước giọt 20 µm, 10 ml / phút), vào 1 đến 2 lít nước cất (nhiệt độ nước cất là 25°C.). Dung dịch huyền phù liposom - nước được cô đặc bằng cách cô quay bay hơi ở áp suất nằm trong khoảng từ 20 đến 30 mm Hg và nhiệt độ dưới 55°C.

Hạt nano có xu hướng kết tụ, để phân tán hạt nano cần phải cung cấp đủ năng lượng để tách các lực liên kết. Sử dụng vòi phun siêu âm là một phương tiện hiệu quả trong việc phân tán hạt nano và giảm kích thước hạt nano, tạo ra các hạt có kích thước

nhỏ hơn và kích thước đồng đều hơn. Sự phân tán và phá vỡ sự kết tụ của hạt nano là kết quả của hiện tượng xâm khí thực do sóng siêu âm. Khi siêu âm lan truyền vào trong dung môi, sẽ liên tục tạo ra các chu kỳ xen kẽ giữa áp suất cao và áp suất thấp, điều này tác động lên lực liên kết của hạt nano. Đồng thời, khi hàng loạt các bọt khí vỡ tung sẽ tạo ra một áp lực rất lớn tác động lên chùm hạt nano khiến chúng tách ra khỏi nhau dễ dàng.

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

Sử dụng đánh sóng siêu âm (ultrasonic) giúp tác động lên các hạt nano, làm cho chúng không kết dính lại với nhau. Tuy nhiên, phương pháp này có nhược điểm là đầu ultrasonic bằng kim loại nên khi siêu âm ở cường độ cao có thể làm sản phẩm nhiễm titanium. Để đảm bảo an toàn cho sản phẩm, nhóm tác giả đã thử nghiệm và chọn ra tần số 60hz để phân tách hạt nano mà vẫn đảm bảo an toàn cho sản phẩm. Tuy nhiên ở tần số này, sản phẩm nano không duy trì độ ổn định hạt lâu dài, hạn sử dụng của sản phẩm ngắn. Để tăng tuổi thọ và độ ổn định, nhóm tác giả tiến hành bơm dung dịch đã thu qua hệ thống đồng hóa áp lực cao (high pressure homogenizers) 300 bar để đảm bảo độ đồng đều, ổn định của dung dịch, tăng tuổi thọ cho sản phẩm.

Hệ liposom thu được bằng quy trình theo sáng chế có độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 7,5. Với giá trị độ pH này, các hạt tiểu phân tồn tại ổn định do trong môi trường trung tính này liên kết giữa CBD và vật liệu mang được giữ trong quá trình phân tán, trong khi hệ nano liposom có độ pH <7 thì liên kết này suy yếu dẫn đến hạt nano CBD sẽ bị phá hủy trong đường tiêu hóa.

Hệ liposom nano CBD thu được bằng quy trình theo sáng chế có HLB nằm trong khoảng từ 13 đến 18 là hệ liposom thân nước. Hệ liposom này có các hạt tiểu phân chứa CBD thân nước, không kết dính, kích thước của các hạt ổn định nằm trong khoảng từ 10

đến 200 nm, nên có thể thâm nhập dễ dàng qua màng tế bào để phát huy hiệu quả và tăng độ hòa tan của CBD trong nước, từ đó làm tăng tính sinh khả dụng của chất.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ: Sản xuất 1000 ml hệ liposom nano CBD

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 80g CBD hòa tan trong 100 g dung môi etanol bằng máy khuấy từ gia nhiệt KIA – Đức C-MAG HS 4/7/10 với tốc độ 400 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C trong thời gian 6 giờ thu được 180g pha phân tán.

Chuẩn bị chất mang liposom gồm 30g lexitin và 90 g dầu ôliu được trộn trong bể ổn nhiệt Labtech LWB-106D, 1200 W, ở nhiệt độ 50°C để đảm bảo lexitin hòa tan hoàn toàn trong dầu ôliu, khuấy đều trong 30 phút thu được 120g dung dịch chất mang.

Bổ sung 120g chất mang vào 180g pha phân tán, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ 50°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 9000 vòng/phút trong thời gian 2 giờ.

Hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 25°C và được bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu âm (máy Ultrasonic Atomizer Nozzle, 100W, 30Khz) ở tần số 60 Hz (vòi phun siêu âm có kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 μm , công suất phun 10 ml/phút) vào 1 lít nước cất (ở 25°C), thu được dung dịch huyền phù liposom - nước. Dung dịch huyền phù liposom - nước được cô đặc bằng cách cô quay bay hơi ở áp suất nằm trong khoảng từ 20 đến 30 mm Hg và nhiệt độ dưới 55°C cho đến khi còn 1000ml dung dịch huyền phù.

Đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa. Thu được 1000ml hệ liposom nano CBD là hỗn hợp đồng nhất, ổn định, đảm bảo kích thước hạt <200nm.

Bằng phương pháp đo phổ bằng UV-vis, các tác giả sáng chế đã nhận thấy là vị trí các pick của CBD nguyên liệu và hệ liposom nano CBD hoàn toàn trùng khớp. Điều này cho thấy hệ liposom thu được bằng quy trình theo sáng chế vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính CBD trong quá trình nano hóa. Sử dụng phương pháp đo phổ bằng UV-Vis để định

lượng hàm lượng CBD trong hệ liposom. Kết quả cho thấy nồng độ CBD trong hệ liposom nano CBD nằm trong khoảng 8 đến 10%.

Tiến hành đo kích thước hạt nano CBD bằng kính hiển vi điện tử quét TEM (Kính hiển vi điện tử truyền qua - transmission electron microscopy, viết tắt: TEM) được thể hiện theo Hình 2 cho thấy kích thước hạt dao động nằm trong khoảng từ 10 đến 200nm chiếm tỉ lệ 81,3% trong dung dịch.

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

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

Kích thước (nm, theo TEM)	Kích thước (nm, theo DLS)	Thế zeta (mV)	Độ ổn định (tháng)	Tính tan trong nước
10-200	10-200	-40	> 12	Tan tốt trong nước, sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 30 ngày

Từ kết quả trên thấy rằng, hệ liposom có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 200nm, có ổn định cao (>12 tháng), tan tốt trong nước và sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 30 ngày.

Theo Hình 1, là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa CBD 99% đã biết và nano CBD thu được bằng quy trình theo sáng chế, trong đó bình A thể hiện CBD 99% phân tán trong nước đã biết, bình B thể hiện nano CBD phân tán trong nước thu được

bằng quy trình theo sáng chế. Hình 1 cho thấy CBD 99% đã biết không tan trong nước, tạo hạt lơ lửng trong nước, dung dịch đục, để thêm một thời gian đóng lại dưới đáy bình (A); nano CBD thu được bằng quy trình theo sáng chế phân tán hoàn toàn trong nước tạo dung dịch trong suốt, đồng nhất (B).

Theo Hình 2, là kết quả ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano CBD thu được bằng quy trình sáng chế, ta thấy kích thước hạt trung bình là 81,65nm, với mật độ 81,3%, với đỉnh phổ 1 có đường kính hạt 174,3nm, chiều rộng 44,03nm. Các hạt có sự đồng đều về kích thước, dao động trong khoảng 10 đến 200nm (Hình 2), xuất hiện đỉnh phổ 2 có đường kính hạt 16,2nm, chiều rộng 2,966nm nhưng chỉ chiếm 15,3%, đỉnh phổ 3 có đường kính hạt 32,9nm, chiều rộng 5,776nm nhưng chỉ chiếm 3,4%.

Bảng dưới đây thể hiện các số liệu đo:

		Đường kính (nm)	Mật độ %	Chiều rộng (nm)
Kích thước hạt trung bình (d.nm): 81,65	Đỉnh phổ 1	174,3	81,3	44,03
Pdl: 0,412	Đỉnh phổ 2	16,2	15,3	2,966
Khả năng chặn: 0,953	Đỉnh phổ 3	32,9	3,4	5,776
Kết quả đánh giá: tốt				

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Quy trình sản xuất hệ liposom nano CBD theo sáng chế đã thành công trong việc sản xuất hệ liposom có các hạt tiểu phân nano CBD có kích thước nhỏ hơn 200nm, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước mà vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính CBD trong quá trình nano hóa.

Các chất được sử dụng trong quy trình sản xuất nano CBD phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ liposom nano CBD thu được từ quy trình theo sáng chế có độ an toàn cao khi sử dụng.

Quy trình theo sáng chế đơn giản, dễ thực hiện và phù hợp với các điều kiện thực tế hiện nay của nước ta.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình sản xuất hệ liposom nano canabidiol (CBD) bao gồm các bước:

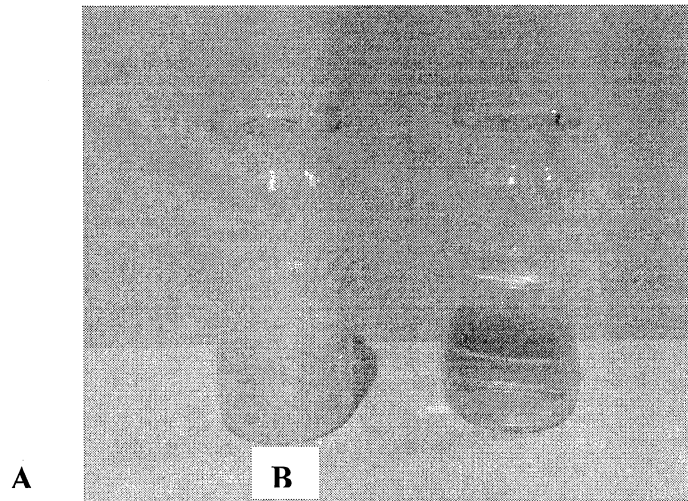
(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho CBD hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng CBD: thể tích dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ;

(ii) chuẩn bị chất mang liposom gồm lexitin, dầu ôliu với tỉ lệ 1:3 theo khối lượng được trộn trong bể ổn nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C để đảm bảo lexitin hòa tan hoàn toàn trong dầu, khuấy đều;

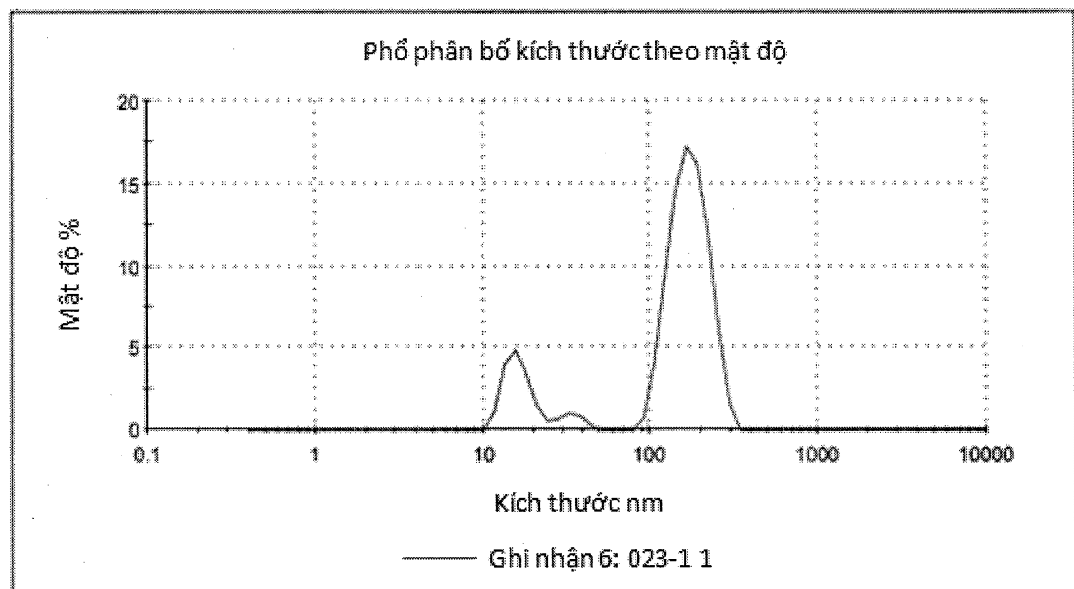
(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 800 đến 1000 vòng/phút trong thời gian nằm trong khoảng từ 1 đến 2 giờ;

(iv) làm lạnh hỗn hợp thu được đến 25°C và bơm bằng cách sử dụng vòi phun siêu âm ở tần số 60 Hz, có kích thước giọt nằm trong khoảng từ 10 đến 20 μm , công suất phun 10 ml/ phút, một thể tích nước cất nằm trong khoảng từ 1 đến 1,5 L, với nhiệt độ nước cất ở 25°C, thu được dung dịch huyền phù liposom - nước;

(v) đồng hóa hỗn hợp dung dịch huyền phù liposom - nước bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30 Mpa để thu được hệ liposom nano CBD là hỗn hợp đồng nhất, ổn định, đảm bảo kích thước hạt <200nm.



Hình 1:



Hình 2: