



(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)



2-0002574

(51) **A61K 31/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00552

(22) 27/12/2018

(67) 1-2018-06001

(45) 25/02/2021 395

(43) 25/03/2019 372A

(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 ICARIIN**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icariin, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị pha phân tán; b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol; c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin; và d) tạo hệ vi nhũ tương nano icariin.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực dược phẩm, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icarrin.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Những dược chất có nguồn gốc từ thực vật là món quà quý giá của thiên nhiên. Icariin là hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học quý giá được chiết xuất từ lá cây Epimedium, và là một monome được nghiên cứu nhiều trên thế giới, đặc biệt là ở Trung Quốc. Epimedium là một vị thuốc bổ truyền thống của người Trung Quốc. Icariin trong vị thuốc của Trung Quốc từ xưa được dùng để tăng cường sinh lý và chống lão hóa. Hiện nay, các nghiên cứu thử nghiệm *in-vitro*, *in-vivo* đã công bố icariin còn có tác dụng chống ung thư, tăng cường hệ miễn dịch, chống viêm, bảo vệ tế bào thần kinh, bảo vệ tim mạch, kích thích sự hình thành và tái tạo xương ở vùng mô bị tổn thương.

Zhang Shi-eng và các cộng sự đã thực hiện nghiên cứu lâm sàng đánh giá hiệu quả của phức icariin trong điều trị bệnh xuất tinh sớm. Icariin được sử dụng qua đường da bôi trực tiếp vào dương vật, thời gian thí nghiệm trong 4 tuần. Kết quả công bố trong bài “Clinical Comparative Study of Icariin Complex Versus Lidocain for Treatment of Primary Premature Ejaculation” (2012) cho thấy các bệnh nhân điều trị với phức hợp icariin có mức độ hài lòng cao hơn nhóm đối chứng và có cải thiện chức năng cương dương.

Lenoble và các cộng sự đã đưa công bố tác dụng điều trị hiệu quả sự rối loạn chức năng tình dục hoặc duy trì chức năng tình dục ở nam và nữ với chế phẩm icariin chiết xuất từ Epimedium.

Dong và các cộng sự đã công bố trong bài “Medical Application of Icariin in Preparing Medicament for Antagonizing Myeloid-Derived Suppressor Cells”(2011) tác dụng icariin trong điều trị khối u ác tính và ung thư vú.

Hiệu quả chống loãng xương của icariin cũng được G. Zhang và các cộng sự công bố trong bài “ Epimedium-derived phytoestrogen flavonoids exert beneficial effect on preventing bone loss in late postmenopausal women: a 24-month”(2007). Thử nghiệm lâm sàng trên 73 phụ nữ ở độ tuổi mãn kinh, sử dụng hằng ngày hỗn hợp chiết xuất từ Epimedium chứa 60mg icariin, kết quả cho thấy các chỉ số khoáng (BMD) trong xương đùi, xương cột sống đã tăng lên sau 24 tháng sử dụng.

Tuy nhiên, icariin là một chất không tan trong nước, benzen, chloroform, ít tan trong etanol, etyl axetat. Icariin có những đặc điểm dược động học không thuận lợi như hấp thụ kém, chuyển hóa và thải trừ khỏi cơ thể nhanh nên khả năng sinh khả dụng thấp. Khả năng hấp thu icariin kém trong đường tiêu hóa có thể do độ hòa tan thấp và bị ảnh hưởng chuyển hóa của các enzym. Chính vì vậy, hiện nay có rất nhiều nghiên cứu biến đổi icariin thành các dạng nano có khả năng tan tốt trong nước và dễ dàng hấp thụ trên đường tiêu hóa.

Trong nghiên cứu của Sun Hongfan và các cộng sự (2015) quy trình tạo bột nano icariin với chất mang PLGA bằng phương pháp siêu âm đã được công bố. Tuy nhiên kích thước hạt nano khá lớn khoảng 300nm, nên hiệu quả hòa tan icariin chưa cao.

Do đó, có nhu cầu cao về một quy trình điều chế hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 100 nm, đồng đều, khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính icariin trong quá trình nano hóa.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là làm tăng tính sinh khả dụng của hoạt chất icariin. Để đạt được mục đích này, giải pháp đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icariin bằng cách tạo ra các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 100 nm, đồng đều,

khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính icariin trong quá trình nano hóa. Quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho icariin được hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ icarrin:dung môi etanol là 4:100 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ từ 400 đến 500 vòng/phút, và kết hợp nhiệt độ từ 50 đến 60°C trong thời gian 8 giờ đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol và etylen glycol với tỷ lệ PEG:EG là 4:10 (g/mL) và được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng;

c) tạo hỗn hợp hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất icarrin, polyetylen glycol và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất này có tỷ lệ icarrin:polyetylen glycol:lexitin là 4:4:10 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano icariin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c, ở nhiệt độ phòng, đem đi ly tâm với tốc độ 300 vòng/ phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano icariin.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là kết quả ảnh HR-TEM độ phân giải cao của hệ vi nhũ tương nano icariin thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icariin được trình bày một cách chi tiết dưới đây.

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho icariin được hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ icariin:dung môi etanol là 4:100 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ từ 400 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ từ 40 đến 50°C trong thời gian 8 giờ đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán.

Việc sử dụng dung môi etanol có gốc OH^- tạo liên kết với nước có tác dụng ổn định cấu trúc vi nhũ tương dầu trong nước, nên có tác dụng ổn định cấu trúc hệ vi nhũ tương dầu trong nước. Bằng các thử nghiệm, các tác giả xác định được với tỷ lệ icariin:dung môi etanol là 4:100 (g/mL), thì icariin đạt được độ hòa tan lớn nhất và tránh việc sử dụng dư thừa dung môi etanol gây lãng phí nguyên liệu.

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol và etylen glycol theo tỷ lệ PEG:EG là 4:10 (g/mL) và được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng.

Tuy PEG là các chất mang polyme đã được sử dụng trong lĩnh vực dược phẩm và y tế, nhưng hệ vi nhũ tương thu được bằng cách sử dụng riêng lẻ PEG này có độ ổn định chưa cao vì trong quá trình tạo hệ vi nhũ tương có sự đứt gãy về liên kết mạch polyme, nên tác giả giải pháp hữu ích đã kết hợp PEG và EG. Khi dùng hỗn hợp chất mang PEG/EG này để tạo hệ vi nhũ tương, nếu có sự đứt gãy về liên kết mạch thì EG sẽ tự điền đầy.

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất icarrin, polyetylen glycol và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất này có tỷ lệ icarrin:polyetylen glycol:lexitin là 4:4:10 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng

Lexitin được tinh chế từ đậu nành có chứa một lượng lớn phospholipit, có tính chống oxy hóa cao. Ngoài ra, lexitin có tác dụng tăng cường quá trình hấp thụ các chất béo, môi trường hòa tan tốt các vitamin. Do đó, việc sử dụng hỗn hợp chất mang và chất nhũ hóa lexitin để tăng khả năng hấp thụ vận chuyển icariin trong cơ thể, đồng thời là chất bảo vệ icariin khỏi các tác nhân oxy hóa.

d) tạo hệ vi nhũ tương nano icarrin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu ở bước c, ở nhiệt độ phòng, đem đi ly tâm với tốc độ 300 vòng/phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano icariin.

Việc tạo hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c có thể phát sinh lượng icariin dư không được tạo thành hạt tiểu phân icariin. Lượng icariin này có thể lắng xuống trong hỗn hợp đồng nhất sau khi để hỗn hợp này qua đêm ở nhiệt độ phòng, nên có thể được tách ra bằng cách ly tâm để loại bỏ lượng icariin dư này.

Việc tiến hành ly tâm với tốc độ 300 vòng/phút và lặp lại 5 lần nhằm để loại bỏ hoàn toàn lượng icariin dư và thu được hệ vi nhũ tương nano icariin chứa các hạt tiểu phân icariin ổn định nằm trong khoảng 50 nm.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ: Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icariin

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 4 g icariin hòa tan trong 100 mL dung môi etanol trên máy khuấy từ với tốc độ từ 400 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 8 giờ thu được pha phân tán.

Chuẩn bị hỗn hợp chất mang bằng cách trộn hỗn hợp 4 g PEG 1000 và 10 mL EG được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng.

Trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang PEG/EG và 10 mL chất nhũ hóa lexitin trong thiết bị tạo nhũ LSP-500 trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng, thu được hỗn hợp đồng nhất.

Hỗn hợp đồng nhất thu được để qua đêm ở nhiệt độ phòng, sau đó đem đi ly tâm với tốc độ 300 vòng/ phút và lặp lại ly tâm 5 lần với mục đích loại bỏ lượng icariin dư không tạo thành hạt tiểu phân, thu được hệ vi nhũ tương nano icariin.

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

- Kết quả đo HR-TEM

Mẫu nano icariin dạng dung dịch phân tán trong dung môi nước được tiến hành phân tích bằng kính hiển vi điện tử truyền qua có độ phân giải cao (HR-TEM) JEM 2100. Hình ảnh từ HR-TEM cho thấy dung dịch icariin phân tán tốt trong nước, có chứa các hạt nano icariin hình cầu có đường kính khoảng 30-50 nm.

- Kết quả phân tích chỉ tiêu kỹ thuật

Các chỉ tiêu cảm quan:

STT	Tên chỉ tiêu	Yêu cầu
1	Trạng thái	Dạng dung dịch sệt, trong đồng nhất không tách lớp
2	Màu sắc	Màu vàng nâu đậm
3	Mùi, vị	Không ôi mốc, vị đắng

Chỉ tiêu chất lượng chủ yếu:

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
1	pH		H.HD.QT.070	9,08
2	Tỷ trọng	g/mL	NIFC.05.M.197	1,094

Các chỉ tiêu vi sinh vật:

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
1	Tổng vi sinh vật hiếu khí	CFU/mL	ISO 4833-1:2013	< 1 CFU/mL
2	<i>Cl. Perfringens</i>	CFU/mL	TCVN 4991:2005	< 1 CFU/mL
3	Coliforms	CFU/mL	TCVN 6348:2007	< 1 CFU/mL
4	<i>E. coli</i>	CFU/mL	TCVN 7924 -2:2008	< 1CFU/mL
5	Tổng số bào tử nấm men-mốc		TCVN 8275-1:2010	< 1 CFU/mL

Hàm lượng kim loại nặng:

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
1	Hàm lượng Cadimi	mg/kg	H.HD.QT.429(ICP-MS)	< 0,004

2	Hàm lượng Chì	mg/kg	H.HD.QT.429(ICP-MS)	<0.028
---	---------------	-------	---------------------	--------

Các kết quả về chỉ tiêu cảm quan, chỉ tiêu chất lượng, chỉ tiêu vi sinh vật và hàm lượng kim loại nặng cho thấy hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích đạt tiêu chuẩn an toàn thực phẩm.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình điều chế vi nhũ tương nano icariin đã thành công trong việc điều chế hệ vi nhũ tương chứa các tiểu phân nano icariin có kích thước giảm, đồng đều, và khả năng tan tốt trong nước.

Các chất được sử dụng trong quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icariin phân tán tốt trong nước có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ vi nhũ tương nano icariin 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

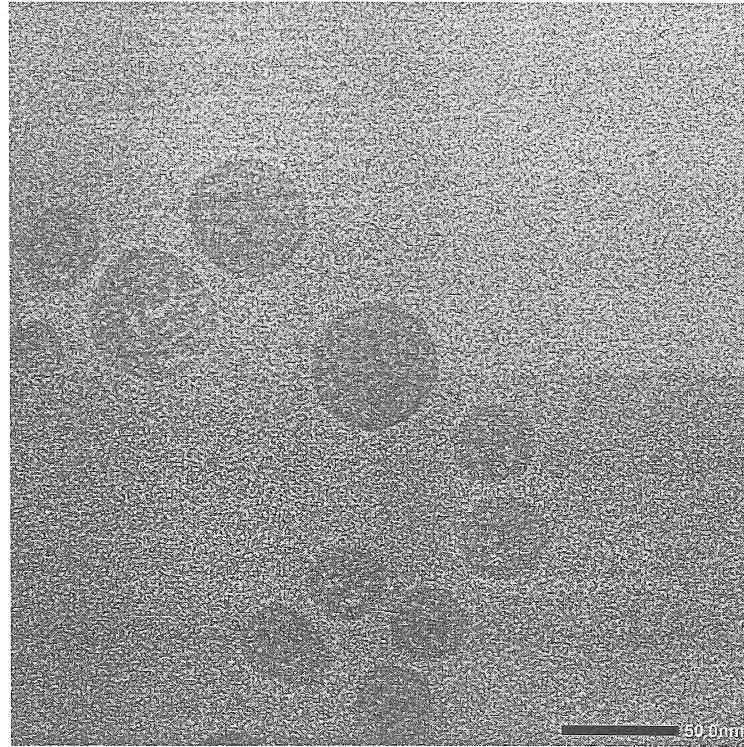
1. Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano Icariin, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho icariin được hòa tan trong dung môi etanol theo tỷ lệ icarrin:dung môi etanol là 4:100 (g/mL) bằng máy khuấy từ với tốc độ từ 400 đến 500 vòng/phút, và kết hợp nhiệt độ từ 50 đến 60°C trong thời gian 8 giờ đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, thu được pha phân tán;

b) chuẩn bị hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol bằng cách trộn hỗn hợp polyetylen glycol và etylen glycol với tỷ lệ PEG:EG là 4:10 (g/mL) và được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng;

c) tạo hỗn hợp đồng nhất bằng cách trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang polyetylen glycol/etylen glycol và chất nhũ hóa lexitin sao cho các chất icarrin, polyetylen glycol và lexitin trong hỗn hợp đồng nhất này có tỷ lệ icarrin:polyetylen glycol:lexitin là 4:4:10 (g/g/mL) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng; và

d) tạo hệ vi nhũ tương nano icariin bằng cách để qua đêm hỗn hợp đồng nhất thu được ở bước c, ở nhiệt độ phòng, đem đi ly tâm với tốc độ 300 vòng/ phút và lặp lại ly tâm 5 lần, thu được hệ vi nhũ tương nano icariin.



Hình 1