



(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)



2-0002905

(51) **A61K 9/10; B82Y 5/00; A61K 9/107**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00550

(22) 08/01/2020

(67) 1-2020-00153

(45) 25/06/2022 411

(43) 27/04/2020 385ASC

(73) Công ty cổ phần Wakamono (VN)

95 Trần Trọng Cung, phường Tân Thuận Đông, quận 7, thành phố Hồ Chí Minh

(72) Lại Nam Hải (VN); Đặng Thị Hồng Ngọc (VN).

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

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT HỆ VI NHŨ TƯƠNG NANO SYLIMARIN

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin bao gồm các bước: (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho silymarin hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng silymarin: dung môi etanol là 8:10 ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở 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 bằng cách gia nhiệt hỗn hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 5:1,5 đến 6:1 đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, 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 400 đến 800 vòng/phút; (iv) nhũ hóa bằng cách: gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) cho đến khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán theo tỷ lệ nằm trong khoảng từ 40:61 đến 40:60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ toàn bộ hỗn hợp trong thời gian nằm trong khoảng từ 28 đến 32 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút; (v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin.

Tình trạng kỹ thuật của Giải pháp

Silymarin, một flavonolignan của *silybum marianum* (cây kế sữa), là một hỗn hợp phức tạp của bốn đồng phân flavonolignan: cụ thể là silybin (60% -70%), silychristin (20%), silydianin (10%), và isosilybin (5%) (Attama và cộng sự, 2003). Silybin là thành phần hoạt tính chính (Morazzoni và Bombardelli, 1994). Hoạt động điều trị của silymarin được dựa trên hai cơ chế hoạt động. Thứ nhất, nó làm thay đổi cấu trúc của màng tế bào bên ngoài của tế bào gan theo cách ngăn chặn sự xâm nhập của độc tố gan vào bên trong. Thứ hai, nó kích thích hoạt động của polymeraza nucleaza (polymerase nuclease) A, dẫn đến sự gia tăng tổng hợp protein ribosomal, qua đó kích thích khả năng phục hồi của gan và sự hình thành các tế bào gan mới (Muriel và cộng sự, 1992; Pepping, 1999; Kosina và cộng sự, 2002; Pradhan và Girish, 2006; Najafzadeh và cộng sự, 2010; Polyak và cộng sự, 2010). Cấp độ phân tử, silymarin ức chế phosphodiesteraza (phosphodiesterase) và peroxy hóa lipid của tế bào gan và màng ribosom (ribosome). Silymarin cũng ức chế sự tổng hợp các chất trung gian hóa học liên quan đến viêm bao gồm yếu tố hoại tử khối u (TNF- α), leukotrien (leukotriene) B₄ (LTB₄) và prostaglandin E₂ (PGE₂); loại hình procollagen III và cản trở quá trình xơ hóa gan.

Silymarin có tính tan trong nước thấp (0,04 mg/ml). Độ hòa tan của silymarin trong các dung môi khác như transcutool, etanol, polysorbat 20 và glyxeryl monooleat là 350,1 mg/ml, 225,2 mg/mL, 131,3 mg/ml và 33,2 mg/mL, tương ứng. Silymarin không có tính chất ưa béo, mặc dù độ hòa tan trong nước của nó kém. Silybin là thành phần chính của phức hợp silymarin. Tất cả các thông số dược động học của silymarin được chuẩn hóa như silybin. Silymarin dùng đường uống (silybin) được hấp thu nhanh với t_{max} (2-4 giờ) và t_{1/2} (6 giờ). Chỉ 20-50 phần trăm của silymarin uống được hấp thụ qua đường tiêu hóa. Sự hấp thụ silymarin từ đường tiêu hóa thấp, làm cho sinh khả dụng kém.

Wu và cộng sự đã báo cáo sinh khả dụng chỉ đạt 0,73 phần trăm khi sử dụng silymarin qua đường uống (tiêu chuẩn hóa như silybin) trong huyết tương chuột.

Công bố đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc số CN1463700A đã đề cập đến quá trình chuẩn bị và tạo hạt nano silymarin, theo quy trình của giải pháp này đã tạo ra hạt nano silymarin kích thước hạt 200nm. Với giải pháp này hạt tạo ra vẫn lớn hơn 100nm, và hiệu suất đóng gói chưa cao.

Công bố đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc số CN101632638A đã đề cập đến phương pháp chuẩn bị và vận chuyển cấu trúc lipid nano silybin, theo quy trình của giải pháp này đã tạo ra các hạt silymarin kích thước hạt 200nm, chức năng giải phóng chậm trong mô hình thí nghiệm, thời gian chu kỳ của thuốc kéo dài. Với giải pháp này hạt tạo ra vẫn lớn hơn 100nm, hiệu quả phân tán, sử dụng chưa cao và chỉ dừng ở mô hình thí nghiệm, chưa thể áp dụng cho các mô hình sản xuất.

Tác giả MIN YU và các cộng sự trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc số CN101229209A đã đề cập đến quy trình điều chế lipitosom dầu silybin, theo quy trình của giải pháp này giải quyết vấn đề cải thiện hiệu quả sử dụng dầu silybum marianum. giải pháp này chỉ mới tạo được hệ treo dầu vào pha nước, chưa tạo được cấu trúc hạt ổn định lâu dài.

Tài liệu “Formation Strategies for Enhancing the Bioavailability of Silymarin: The State of the Art” của A. Di Costanzo, R. Angelico trong *Molecules*, 24(11):2155, công bố ngày 07/06/2019 đã bộc lộ các chế phẩm vi nhũ tương chứa silymarin, trong đó chất mang là propylen glycol monocaprylat. Tài liệu này hiện đang nêu ra các phương pháp tăng sinh khả dụng cho silymarin chưa đưa ra quy trình cụ thể, trong các phương pháp có nói về hệ vi nhũ, với hệ dầu trong nước (O/W) trong quy trình hàm lượng chất là 5%, kích thước hạt trung bình từ 200 đến 300nm, ngoài ra quy trình còn đưa ra các lý thuyết nghiên cứu về hệ nhũ dầu tuy nhiên chưa đưa ra quy trình cụ thể cho chất. Với quy trình này hàm lượng chất đưa vào hệ chưa cao, nếu lên 5% thì kích thước hạt lớn hơn 100nm (trang 8 của quy trình). Trong nghiên cứu khác được nêu trích dẫn trong bài (trang 9)

chiết xuất SLM được nạp trong các hạt nano cho thấy độ ổn định, vì kích thước (30–40 nm), tuy nhiên chỉ ổn định trong 40 ngày quan sát, thời gian ổn định ngắn chưa đủ để đưa vào quy mô sản xuất.

Đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Việt Nam số 1-2018-01151 công bố ngày 25/02/2019 đã bộc lộ quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano silymarin, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

- i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách hòa tan silymarin trong etanol;
- ii) chuẩn bị hỗn hợp chất mang là hỗn hợp polyetylen glycol và etylen glycol (PEG/EG);
- c) nhũ hóa bằng cách bổ sung lexitin trộn vào hỗn hợp pha phân tán và chất mang polyetylen glycol và etylen glycol;
- iv) để qua đêm sau đó được ly tâm 6 lần ở tốc độ cao.

Tuy nhiên, tài liệu 1-2018-01151 với quy trình ở mô hình thí nghiệm, chưa áp dụng quy mô sản xuất công nghiệp.

Tài liệu “Tacrolimus-loaded lecithin-based nanostructured lipid carrier and nanoemulsion with propylene glycol monocaprylate as a liquid lipid: Formulation characterization and assessment of dermal delivery compared to referent ointment” của V. Savie’ và đồng tác giả trong International Journal of Pharmaceutics, Vol.569, công bố ngày 13/08/2019 đã bộc lộ việc kết hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin với tỷ lệ 6:1 làm chất mang trong hệ vi nhũ tương được đề cập trong bảng 1 và phần 2.1, quy trình đưa ra nhiều công thức dưới quy mô thử nghiệm, chưa đưa ra được công thức sản xuất. Ngoài ra, phân tích dữ liệu thu được bằng PCS, cho thấy rằng tất cả các công thức được kiểm tra đều có kích thước hạt từ 100 đến 200 nm (bảng 3), chưa có sự đồng nhất về cấu trúc hạt.

Đã biết đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Việt Nam số 1-2019-00609 công bố ngày 25/06/2019 đã bộc lộ quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano cannabidiol bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho cannabidiol hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng cannabidiol: thể tích dung môi etanol là 8:10 ở 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 bằng cách gia nhiệt polyetylen glycol (PEG) và nước với từ 40 đến 60% theo khối lượng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C, 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 400 đến 800 vòng/phút;

(iv) nhũ hóa bằng cách: khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (ACRYSOL K-140) vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ nằm trong khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;

(v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

Kích thước các hạt của hệ vi nhũ tương nano cannabidiol thu được là từ 30-80nm.

Tuy nhiên, quy trình đề cập trong đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Việt Nam số 1-2019-00609 không áp dụng được để sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin. Với đặt điểm mỗi chất khác nhau sẽ chọn hệ chất mang tương tích để đạt hiệu quả cao, quy trình số 1-2019-00609 cho hoạt chất cannabidiol đang sử dụng chất mang là polyetylen glycol (PEG), đặc tính silymarin có 5 vòng trong cấu trúc và mạch dài hơn quy trình đăng ký đang đưa ra sử dụng hỗn hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin để đạt hiệu quả mang hoạt chất tối ưu hơn, hoàn toàn khác với quy trình số 1-2019-00609.

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. Với kích thước hạt dưới 100nm, sẽ tăng khả năng hấp thu và khả năng lưu giữ. Silymarin trong hệ dẫn thuốc nano có kích thước hạt nhỏ hơn 100nm, nhờ khả năng lưu trữ các hệ dẫn 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 sản xuất nano silymarin. Sử dụng các hạt nano để mang thuốc và nhả thuốc là hướng mới để điều trị bệnh, đặc biệt là các bệnh về gan trong tương lai.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp là đề xuất quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin mà hoạt tính và cấu trúc không đổi giúp làm tăng hiệu quả sử dụng của hoạt chất silymarin, 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 vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho silymarin hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng silymarin: 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 ở 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 bằng cách gia nhiệt hỗn hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 5:1,5 đến 6:1 đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy đều;

(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;

(iv) nhũ hóa bằng cách: gia nhiệt hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) cho đến khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 (PEG 40 hydrogenated castor oil) vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán theo tỷ lệ nằm trong khoảng từ 40:61 đến 40:60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ nằm trong khoảng 100 °C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ trong thời gian nằm trong khoảng từ 40 phút đến 60 phút cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong thời gian nằm trong khoảng từ 28 đến 32 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/ phút.

(v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa silymarin 99% đã biết và nano silymarin thu được bằng quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp.

Hình 2 là ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano silymarin thu được bằng quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp được thực hiện như sau:

(i) Bước thứ nhất: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho silymarin hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng silymarin: dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 đến 8 giờ. Tác giả giải pháp sử dụng etanol là dung môi có khả năng hòa tan tốt silymarin, giúp tạo pha phân tán tốt hơn và tạo điều kiện để pha phân tán có thể kết hợp với chất mang hỗn hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin. Việc sử dụng dung môi etanol có gốc hydroxyl (OH-) tạo liên kết với nước, nên có tác dụng ổn định cấu trúc hệ vi nhũ tương dầu trong nước. Bằng các thử nghiệm, các tác giả giải pháp xác định được với tỷ lệ silymarin: etanol là 8:10 (theo khối lượng) silymarin 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 silymarin 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 ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C thì pha phân tán silymarin là tốt hơn và kết hợp với chất mang hỗn hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin tốt hơn.

(ii) Bước thứ hai: chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt hỗn hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 5:1,5 đến 6:1 đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy đều.

Khi sử dụng, silymarin 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 tiêu phân chứa hoạt chất silymarin, 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 vi nhũ theo giải pháp được sử dụng

trong các ngành công nghiệp thực 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.

Propylen glycol monocaprylat là một hỗn hợp của monoeste propylen glycol và dieste của axit béo bao gồm chủ yếu là axit caprylic. Hàm lượng monoeste và dieste khác nhau đối với hai loại propylene glycol monocaprylat (Type I và Type II), chất này được công nhận an toàn. Với đặc tính là chất mang hòa tan chuyên dụng cho thuốc tiêm, dung dịch (Dược và Thú y), tác nhân điều chỉnh ổn định độ nhớt, tạo dịch vi nhũ tương, propylen glycol monocaprylat giúp nhũ hóa và tạo hệ vi nhũ tương tốt giúp tăng hấp thu. Tuy nhiên, chất mang này nếu dùng trên da liều cao sẽ gây kích ứng. Do đó để tạo hệ vi nhũ tương ổn định và an toàn cho người dùng, sản phẩm có thể sử dụng được trên da và cả đường uống, theo khảo sát, tác giả giải pháp đã kết hợp giữa propylen glycol monocaprylat và lexitin theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 5:1,5 đến 6:1, tốt nhất là 5:1. Lexitin là một chất phụ gia thực phẩm rất phổ biến và được châu Âu công nhận là an toàn với sức khỏe con người. Lexitin có bản chất là một loại phospholipit, thành phần có trong mỗi tế bào của cơ thể con người. Công thức hóa học của lexitin cho thấy lexitin là chất béo tuy nhiên thành phần cấu tạo lên phân tử lexitin lại có thể hòa tan trong nước. Điều này giúp lexitin nhũ tương hóa silymarin giúp chúng phân tán trong nước.

Nếu tỷ lệ giữa propylen glycol monocaprylat và lexitin nhỏ hơn 5:1,5 thì khả năng chất mang tạo thành không mang được toàn bộ lượng dầu, dẫn đến kích thước hạt không đồng nhất, hệ tạo thành không ổn định, dễ tách lớp; còn nếu tỷ lệ nêu trên cao hơn 6:1 thì lượng lexitin sẽ còn thừa trong hệ, gây lãng phí và cũng làm hệ kém ổn định hơn.

(iii) Bước thứ ba: bổ sung chất mang vào pha phân tán (theo tỷ lệ 40:60), 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 400 đến 800 vòng/phút.

(iv) Bước thứ tư: nhũ hóa bằng cách: gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) cho đến khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu theo tỷ lệ nằm trong khoảng từ 40:61 đến 40:60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700

vòng/phút, ở nhiệt độ khoảng 100°C trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành được bằng cách hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ trong thời gian nằm trong khoảng từ 40 phút đến 60 phút cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C. Sau đó tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong thời gian nằm trong khoảng từ 28 đến 32 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút.

Bằng các nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm, các tác giả giải pháp nhận thấy rằng để sản xuất nano silymarin tan tốt trong nước, thì hệ nhũ tương này ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Việc lựa chọn chất nhũ hóa để tăng tính bền của hệ vi nhũ tương dựa vào đặc điểm của hệ vi nhũ tương (dạng hệ vi nhũ tương dầu trong nước, dạng hệ vi nhũ tương nước trong dầu,...). Vì vậy, các tác giả giải pháp đã lựa chọn chất nhũ hóa là dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40, bởi vì dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 là chất thân nước, không có độc tính và độ an toàn cao. Các tác giả giải pháp đã phải tiến hành rất nhiều thử nghiệm để xác định được với tỷ lệ PEG: dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 để hình thành các mạch polyme bền vững. Do chất nhũ hóa dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 là phân tử có 2 phần riêng biệt, phần thân dầu và phần thân nước, nên có khả năng tạo liên kết với silymarin và hỗn hợp chất mang. Phần thân dầu của dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 tạo liên kết với silymarin và phần thân nước của dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 tạo liên kết với phần thân nước của hỗn hợp chất mang hỗn hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin, nên đã tạo ra các hạt tiểu phân nano silymarin và với cấu trúc này bảo vệ tốt hoạt tính silymarin.

Tạo hệ vi nhũ tương nano silymarin bằng cách thực hiện kết hợp khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, sau đó tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong thời gian nằm trong khoảng từ 28 đến 32 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/ phút.

(v) Bước thứ năm: lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói để loại bỏ các lượng dư các chất và đảm bảo độ đồng đều, ổn định của dung dịch.

Hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp có độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 7,4. Với giá trị độ pH này, các hạt tiểu phân tồn tại ổn định do trong môi trường trung tính này liên kết giữa silymarin và vật liệu mang được giữ trong quá trình phân tán, trong khi hệ vi nhũ có độ pH <7 thì liên kết này suy yếu dẫn đến hạt nano silymarin sẽ bị phá hủy trong đường tiêu hóa.

Hệ vi nhũ tương nano silymarin thu được bằng quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp có chỉ số cân bằng ưa nước- ưa dầu (HLB - hydrophilic lipophilic balance) nằm trong khoảng từ 13 đến 18 là hệ vi nhũ tương thân nước. Hệ vi nhũ tương này có các hạt tiểu phân chứa silymarin thân nước, không kết dính, kích thước của các hạt ổn định nằm trong khoảng từ 30 đến 80 nm, nên có thể thâm nhập dễ dàng qua màng tế bào để phát huy hiệu quả và tăng độ hòa tan của silymarin trong nước, từ đó làm tăng tính sinh khả dụng của chất.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Sản xuất 58g hệ vi nhũ tương nano silymarin

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 8g silymarin hòa tan trong 10g dung môi etanol 96° bằng máy khuấy có tốc độ 400 vòng/phút, kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 6 giờ để tạo thành dung dịch đồng nhất bằng máy khuấy từ gia nhiệt IKA C-MAG HS 7 công suất 1000 W. Thu được 15g pha phân tán (dung môi etanol 96° bay hơi một phần trong quá trình khuấy gia nhiệt).

Chuẩn bị chất mang: cho hỗn hợp gồm 8,5g Capryol 90 (Propylene Glycol Monocaprylate) và 1,7g lexitin được gia nhiệt đến 60°C trong 40 phút, khuấy đều.

Bổ sung 10g chất mang vào 15g pha phân tán đã chuẩn bị ở trên (tỷ lệ chất mang: pha phân tán là 40:60 theo khối lượng), tiếp tục gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân

tán đến 60°C, khuấy với tốc độ 600 vòng/phút bằng máy khuấy từ gia nhiệt IKA C-MAG HS 7 công suất 1000 W. Thu được 35g hỗn hợp chất mang và pha phân tán.

Sau đó, gia nhiệt 35g hỗn hợp chất mang và pha phân tán thu được cho đến khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung 23,3g ACRY SOL K-140 vào 35g hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu được ở trên, tiếp tục khuấy ở tốc độ 700 vòng/phút, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian trong 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong suốt, nếu không đạt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ từ từ trong thời gian nằm trong khoảng từ 40 phút đến 60 phút cho đến khi nhiệt độ còn 50°C; tiến hành nhũ toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ 800 vòng/phút bằng máy nhũ IKA T25 DIGITAL ULTRA- TURRAX công suất 800W.

Trước khi chiết rót, sản phẩm được bơm qua hệ thống lọc nano mục đích loại bỏ lượng silymarin dư không tạo thành hạt tiểu phân, thu được hệ vi nhũ tương nano silymarin phân tán tốt trong nước.

Bằng phương pháp đo phổ bằng UV-vis, các tác giả giải pháp đã nhận thấy là vị trí các pick của silymarin nguyên liệu và hệ vi nhũ tương nano silymarin hoàn toàn trùng khớp. Điều này cho thấy hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính silymarin trong quá trình nano hóa. Sử dụng phương pháp đo phổ bằng UV-Vis để định lượng hàm lượng silymarin trong hệ vi nhũ. Kết quả cho thấy nồng độ silymarin trong hệ vi nhũ tương nano silymarin nằm trong khoảng 10%.

Tiến hành đo kích thước hạt nano silymarin 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 30nm đến 80nm chiếm tỉ lệ 91,5% 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.

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
30-80	30-80	-40	> 12	Tan tốt trong nước, sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 7 ngày

Từ kết quả trên thấy rằng, với việc sử dụng chất mang PEG với ACRYCOL K-140, thu được hệ vi nhũ tương nano silymarin có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ từ 30 đến 80nm, có ổn định cao (>12 tháng), tan tốt trong nước và sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 7 ngày.

Theo Hình 1, là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa silymarin 99% đã biết và nano silymarin thu được bằng quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp, trong đó bình A thể hiện silymarin 99% phân tán trong nước đã biết, bình B thể hiện nano silymarin phân tán trong nước thu được bằng quy trình theo giải pháp. Hình 1 cho thấy silymarin 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 (bình A); nano silymarin thu được bằng quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp phân tán hoàn toàn trong nước tạo dung dịch trong suốt, đồng nhất (bình B).

Theo Hình 2, là kết quả ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano silymarin thu được bằng quy trình giải pháp, ta thấy kích thước hạt trung bình là từ 30 đến 80nm.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp đã thành công trong việc sản xuất hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân nano silymarin có kích thước nhỏ từ 30 đến 80nm, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước mà vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính silymarin trong quá trình nano hóa.

Các chất được sử dụng trong quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp phân tán tốt trong nước, có độ an toàn cao, không độc hại và ít tác dụng phụ, nên hệ vi nhũ tương nano silymarin thu được từ quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp có độ an toàn cao khi sử dụng.

Quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano silymarin theo giải pháp 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 vi nhũ tương nano silymarin bao gồm các bước:

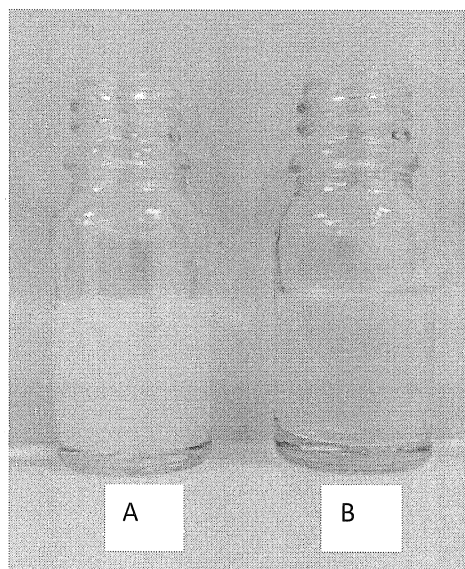
(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho silymarin hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng silymarin: dung môi etanol là 8:10 bằng máy khuấy có tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ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

(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt hỗn hợp propylen glycol monocaprylat và lexitin theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 5:1,5 đến 6:1 đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 100°C, khuấy đều;

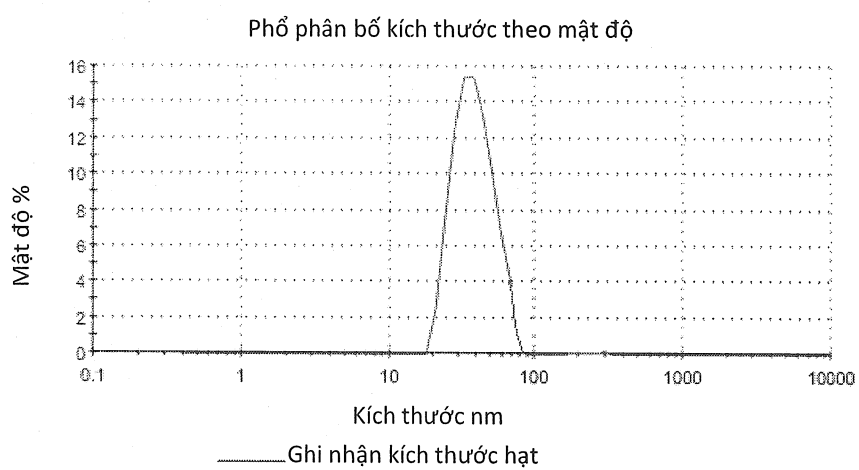
(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục gia nhiệt pha phân tán đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, khuấy với tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;

(iv) nhũ hóa bằng cách: gia nhiệt hợp chất mang và pha phân tán đã thu ở bước (iii) cho đến khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán theo tỷ lệ nằm trong khoảng từ 40:61 đến 40:60 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, ở nhiệt độ nằm trong khoảng 100°C, trong môi trường chân không, nhiệt độ phản ứng được duy trì ở 100°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 3 đến 5 giờ, kiểm soát chất lượng sản phẩm tạo thành bằng cách cho hòa tan vào nước và đo độ trong, nếu không đạt độ trong suốt thì tiếp tục gia nhiệt và đo độ trong 30 phút một lần cho đến khi kiểm tra thấy trong suốt, dừng phản ứng, hạ nhiệt độ trong thời gian nằm trong khoảng từ 40 phút đến 60 phút cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong thời gian nằm trong khoảng từ 28 đến 32 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút.

(v) lọc sản phẩm bằng cách bơm qua hệ thống lọc nano trước khi chiết rót đóng gói.



Hình 1



Hình 2