



(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)



2-0003143

(51)⁷ **A61K 9/107; A61K 9/14; B82Y 5/00; A61K 9/1075** (13) **Y**

(21) 2-2022-00195

(22) 14/01/2020

(67) 1-2020-00270

(45) 25/05/2023 422

(43) 25/05/2020 386ASC

(73) Công ty cổ phần Wakamono (VN)

95 Trần Trọng Cung, phường Tân Thuận Đông, Quận 7, TP. 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 ICARIIN**

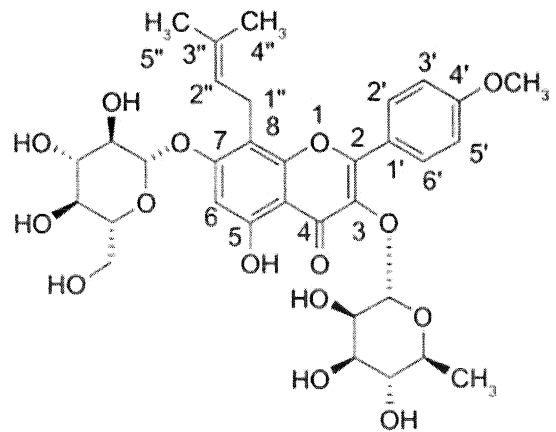
(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano icariin bao gồm các bước: (i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho icariin hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng icariin: dung môi etanol là 8:10 ở tốc độ nằm trong khoảng từ 300 đến 500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 giờ đến 8 giờ; (ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng, trong đó PEG chiếm từ 40 đến 60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước, đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C 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°C 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 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 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 giờ 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°C đến 60°C; tiến hành nhũ toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút; (v) đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30Mpa; (vi) 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 icariin.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Icariin là một hợp chất hóa học được phân loại là flavonol glycosit được prenyl hóa, một loại flavonoid. Nó là dẫn xuất 8-prenyl của kaempferol 3,7- *O*-di glucosid. Hợp chất này đã được phân lập từ một số loài thực vật thuộc chi *Epimedium* thường được biết đến với cái tên Horny Goat Weed, Yin Yang Huo hay dương dương hoắc. Chất chiết xuất từ cây này có tác dụng kích thích tình dục và được sử dụng trong y học cổ truyền Trung Quốc để điều trị



A(icariin)

loãng xương, bệnh động mạch vành, rối loạn chức năng tình dục nam, thiếu máu cơ tim cấp tính và ho hen. Ở Việt Nam dương dương hoắc được sử dụng như dược liệu quý giúp hỗ trợ chức năng sinh lý ở nam giới, nó được sử dụng rất nhiều trong các bài thuốc đông y. Thành phần hoạt tính chính có công dụng trong dương dương hoắc đã được chứng minh chính là icariin.

Các thử nghiệm và nghiên cứu đã chứng minh icariin là chất ức chế PDE5 và tăng cường sản xuất oxit nitric, cũng như có tác dụng tương tự testosterone ở chuột. Bằng chứng in vitro cho thấy nó là một chất chống oxy hóa yếu. Nó có tác dụng chống trầm cảm và bảo vệ tế bào thần kinh ở chuột. Dược lý hiện đại cho thấy icariin thực hiện rất nhiều hoạt động dược lý và sinh học, bao gồm ngăn ngừa loãng xương, bảo vệ tế bào thần kinh, tạo điều kiện cho dương vật cương cứng và thực hiện chống ung thư, chống trầm cảm và hạ đường huyết.

Icariin có hoạt tính cao trong cơ thể, nhưng nó có khả năng sinh khả dụng thấp, nghiên cứu của Ye L, Chen J, Liu S, 1999 đã chứng minh icariin dùng qua đường uống sinh khả dụng chỉ đạt 0,12. 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. 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 icariin. Sử dụng các hạt nano để mang thuốc và nhả thuốc là hướng mới để điều trị bệnh đặc biệt trong điều trị rối loạn chức năng sinh lý ở nam giới.

Tác giả Anitha Krishnan Nair và đồng sự trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2011/0229532 A1 đã đề cập đến quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương của hợp chất thuộc nhóm polyphenol thân dầu bằng cách sử dụng siêu âm với chất hoạt động bề mặt dạng không ion và một dung môi dạng không ion để tăng khả năng hòa tan trong nước. Cụ thể sáng chế này nói về quá trình nano hóa curcumin và các dẫn xuất của curcumin, không áp dụng được cho các chất khác. Quy trình nêu trên tạo ra các hạt tiểu phân có kích thước lớn hơn 100nm, các hạt không đồng đều kích thước, nên hiệu quả hòa tan trong nước chưa cao. Quy trình tạo các hạt tiểu phân curcumin và dẫn xuất curcumin không thể áp dụng cho icariin vì sẽ làm mất hoạt tính icariin.

Đã biết Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế Việt Nam số 62287 A (tương ứng với đơn số 1-2018-06001), công bố ngày 25/3/2019, đã đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icariin bao gồm các bước: chuẩn bị pha phân tán: hoà tan icariin trong dung môi etanol theo tỷ lệ 4:100 (g/ml) trên máy khuấy từ trong thời gian 8 giờ, tốc độ từ 400 đến 500 vòng/phút, nhiệt độ từ 50°C đến 60°C đến khi tạo dung dịch đồng nhất; chuẩn bị hỗn hợp chất mang PEG 1000/EG với tỷ lệ 4:10 (g/ml), được phân tán đều trên máy rung siêu âm trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ phòng; tạo hỗn hợp vi nhũ tương bằng cách phối trộn pha phân tán, hỗn hợp chất mang và chất nhũ hóa lexitin với tỷ lệ icariin:PEG:lexitin = 4:7:10 (g/g/ml) vào thiết bị tạo nhũ trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng; hỗn hợp thu được để qua đêm ở nhiệt độ phòng, sau đó được đồng hoá với tốc độ

3000 vòng/phút và lặp lại 5 lần để thu được hệ vi nhũ tương nano icariin. Tuy nhiên, quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icariin trong sáng chế này tốn nhiều thời gian xử lý, như khuấy 8 giờ, siêu âm 5 giờ, nhũ 5 giờ, để qua đêm,... tổng hơn 30 giờ, tốn nhiều thời gian, đặc biệt là đánh sóng siêu âm 5 giờ, không phù hợp để ứng dụng sản xuất công nghiệp.

Đã biết Công bố đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc số CN 101513388 A công bố ngày 26/8/2009 đã bộc lộ quy trình bào chế hệ vi nhũ tương chứa icariin bao gồm bước hoà tan icariin trong dầu tạo dung dịch bão hoà của icariin trong dầu, sau đó bổ sung chất nhũ hoá, chất đồng hoá, nước để tạo thành vi nhũ tương chứa icariin có đường kính nằm trong khoảng từ 10nm đến 100nm. Hệ vi nhũ tương icariin này có các thành phần theo phần trăm khối lượng: 0,66-6,02% dung dịch bão hòa dầu icariin, 10-50% chất tạo nhũ, 10-38% chất trợ nhũ hóa và nước cân bằng, dung dịch muối cân bằng Hank (HBSS), đệm PBS hoặc nước muối thông thường. Tuy nhiên, quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano icariin trong Công bố đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc này có hàm lượng chất thấp chỉ từ 0,66-6,02%, hệ đệm chiếm tỉ lệ cao trong công thức, các đệm HBSS hoặc đệm PBS là đệm muối các thành phần chính của dung dịch muối cân bằng là: natri, kali, canxi, magie và clorua, có thể bao gồm kali clorua, dinatri hydro phosphat, kali dihydro phosphat, natri format, canxi clorua, magie clorua và natri clorua. Một thành phần khác là glucoza. Các thành phần bổ sung có thể bao gồm magie sulfat ngậm nước ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) và natri bicacbonat ($NaHCO_3$), cung cấp sai tỉ lệ dẫn đến các rủi ro và gây ra bị hạn chế trong ứng dụng.

Đã biết Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế Việt Nam số 63896 A (đơn số 1-2019-00609) công bố ngày 25/6/2019 đã bộc lộ quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương 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 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°C đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 giờ đến 8 giờ; (ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng chiếm từ 40 đến 60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước đến nhiệt độ

nằm trong khoảng từ 60°C 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°C 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 ACRY SOL K-140 (dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40) 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°C đến 60°C; tiến hành nhũ 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 để thu được sản phẩm trước khi chiết rót đóng gói. Tuy nhiên, Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế này chỉ bộc lộ việc áp dụng cho sản xuất hệ vi nhũ tương nano CBD mà không đề cập đến việc sản xuất hệ vi nhũ tương nano icariin.

Do đó, có nhu cầu về quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ hơn 100nm, đồng đều, khả năng hòa tan tốt hơn trong nước và vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính icariin trong quá trình nano hóa. Với kích thước hạt dưới 100nm, sẽ tăng khả năng hấp thu và khả năng lưu giữ. Icariin được gói trong hệ dẫn thuốc nano, kích thước hạt nhỏ hơn 100nm giúp vận chuyển chất đến đích một cách chọn lọc, hiệu quả và tiết kiệm được chất.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano icariin nhằm khắc phục các nhược điểm của quy trình đã biết nêu trên để tạo các hạt có kích thước nhỏ hơn 100nm, 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 icariin, 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 icariin theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho icariin hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng icariin: 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 và giữ nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 giờ đến 8 giờ;

(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng, trong đó PEG chiếm từ 40 đến 60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước, đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 80°C, khuấy đều;

(iii) bổ sung chất mang vào pha phân tán theo tỷ lệ 40:60 theo khối lượng, tiếp tục giữ nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C 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 60: 40 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 giờ 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 từ 1 giờ đến 2 giờ cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40°C 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) đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30Mpa để thu được hệ nano đồng nhất, ổn định, đảm bảo kích thước hạt đồng đều, tạo cấu trúc 3D tròn, không bị góc cạnh;

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

Mô tả văn tắt hình vẽ

Hình 1 là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa icariin 95% đã biết và nano icariin thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Hình 2 là ảnh phổ đo TEM kích thước hạt nano icariin thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

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

(i) Bước thứ nhất: chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho icariin hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng icariin: 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 và giữ nhiệt ở nhiệt độ từ nằm trong khoảng từ 40°C đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 giờ đến 8 giờ. Tác giả giải pháp hữu ích sử dụng etanol là dung môi có khả năng hòa tan tốt icariin, 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 vi nhũ tương dầu trong nước. Bằng các thử nghiệm, các tác giả giải pháp hữu ích xác định được với tỷ lệ icariin: etanol là 8:10 (theo khối lượng) icariin 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 icariin 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°C đến 60°C thì pha phân tán icariin là tốt hơn và kết hợp với chất mang PEG tốt hơn.

(ii) Bước thứ hai: chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng, trong đó PEG chiếm từ 40 đến 60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước, đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 80°C, khuấy đều.

Khi sử dụng icariin 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 icariin, 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 hữu ích 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.

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng các quá trình vận chuyển thuốc có thể được nâng cao hiệu quả nhờ những hệ dẫn thuốc có nguồn gốc từ các loại polyme: polyme thiên nhiên ưa nước như protein (gelatin, albumin), polysacarit (alginat, dextran, chitosan), polyme tổng hợp kỵ nước như polyeste (poly (ϵ -capprolacton), poly axit lactic, poly axit lactic-co-glycolic, cũng như như chất mang PEG (Polyetylen Glycol) là polyme mạch dài có công thức chung là $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_n\text{H}$. Các chất mang polyme với hàm lượng tải được chất khá cao có thể đem tới nhiều thuận lợi về mặt dược động học như dược chất được giữ ổn định, có thể sử dụng để điều trị trong thời gian dài bằng quá trình nhả chậm thuốc theo sự phân hủy polyme, sự phân bố sinh học của dược chất, tính hướng đích, tính thấm qua màng tế bào,... có thể được điều khiển bằng các tính chất hóa lý của polyme.

(iii) Bước thứ ba: bổ sung chất mang vào pha phân tán (theo tỷ lệ 40:60), tiếp tục giữ nhiệt pha phân tán ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C 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 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 ở bước (iii) theo tỷ lệ 60:40 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 giờ 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 từ từ trong thời gian từ 1 giờ đến 2 giờ cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40°C đến 60°C. Sau đó tiến hành nhũ hóa trong thiết bị tạo nhũ toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ khuấy nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút.

Bằng các nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm, các tác giả giải pháp hữu ích nhận thấy rằng để sản xuất nano icariin 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 hữu ích 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 hữu ích đã phải tiến hành rất nhiều thử nghiệm để xác định được với tỷ lệ hỗn hợp chất mang PEG và pha phân tán: 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 icariin và hỗn hợp chất mang. Phần thân dầu của dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 tạo liên kết với icariin và phần thân nước của dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 tạo liên kết với phần thân nước của hỗn hợp chất mang PEG, nên đã tạo ra các hạt tiểu phân nano icariin và với cấu trúc này bảo vệ tốt hoạt tính icariin.

Tạo hệ vi nhũ tương nano icariin 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 giờ đến 5 giờ, sau đó tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút.

Hệ vi nhũ tương thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích 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 icariin 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 icariin sẽ bị phá hủy trong đường tiêu hóa.

Hệ vi nhũ tương nano icariin thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích có chỉ số cân bằng ưa nước – ưa béo viết tắt là HLB 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 icariin thân nước, không kết dính, kích thước của các hạt ổn định nằm trong khoảng từ 10nm đến 55nm, nên có thể thâm nhập dễ dàng qua màng tế bào để phát huy hiệu quả và tăng độ hòa tan của icariin trong nước, từ đó làm tăng tính sinh khả dụng của chất.

(v) Bước thứ năm: Đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30Mpa để thu được hệ nano đồng nhất, ổn định, đảm bảo kích thước hạt đồng đều, tạo cấu trúc 3D tròn, không bị góc cạnh.

(vi) Bước thứ sáu: 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.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ: Sản xuất 100g hệ vi nhũ tương nano icariin

Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho 8g icariin hòa tan trong 10g dung môi etanol 96° bằng máy khuấy có tốc độ 400 vòng/phút, kết hợp gia nhiệt và giữ 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 1000W. Thu được 15g pha phân tán (dung môi etanol 96° bay hơi một phần trong quá trình khuấy gia nhiệt).

Chuẩn bị chất mang: 45g PEG dạng lỏng, trong đó gồm 20g PEG và 25g nước, được gia nhiệt đến 60°C, khuấy đều bằng máy khuấy từ gia nhiệt IKA C-MAG HS 7 công suất 1000W.

Bổ sung 45g chất mang vào 15g pha phân tán đã chuẩn bị ở trên (tỷ lệ chất mang: pha phân tán là 3:1 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 trong môi trường hút chân không bằng máy khuấy từ gia nhiệt IKA C-MAG HS 7 công suất 1000W. Thu được 60g hỗn hợp chất mang và pha phân tán.

Sau đó, gia nhiệt 60g hỗn hợp chất mang và pha phân tán thu được cho đến khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung 40g ACRY SOL K-140 vào 60g 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 30 phút đến 60 phút cho đến khi nhiệt độ còn 50°C; tiến hành nhũ hóa toàn bộ hỗn hợp trong

30 phút, ở tốc độ 800 vòng/phút bằng máy nhũ IKA T25 DIGITAL ULTRA- TURRAX công suất 800W.

Hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 25°C và được đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30Mpa (máy đồng hóa áp lực cao công suất tối đa 60Mpa). Trước khi chiết rót, sản phẩm được bơm qua hệ thống lọc nano (gồm màng lọc đường kính lỗ 1µm, kết hợp bơm áp suất cao *Leybold*, 250-600Bar (25 đến 60MPa), lưu lượng bơm từ 0,1 đến 10ml/phút) nhằm mục đích loại bỏ lượng icariin dư không tạo thành hạt tiểu phân, thu được hệ vi nhũ tương nano icariin phân tán tốt trong nước.

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

Tiến hành đo kích thước hạt nano icariin bằng kính hiển vi điện tử quét TEM (Kính hiển vi điện tử truyền qua - *transmission electron microscopy*, viết tắt: TEM) được thể hiện trong Hình 2 cho thấy kích thước hạt dao động từ nằm trong khoảng từ 10 đến 55nm chiếm tỉ lệ hơn 95% 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
10-55	10-55	-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 đầu thầu dầu hydro hóa PEG-40, thu được hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân có kích thước nhỏ từ 10nm đến 55nm, có ổn định cao (>12 tháng), tan tốt trong nước và sau khi hoà tan trong nước hệ ổn định > 7 ngày.

Bảng dưới đây thể hiện các số liệu đo:

		Đường kính (nm)	Mật độ %	Chiều rộng (nm)
Kích thước hạt trung bình (d.nm): 27,25	Đỉnh phổ 1	20,61	81,5	4,376
Pdl: 0,412	Đỉnh phổ 2	0,00	0,00	0,00
Khả năng chặn: 0,930	Đỉnh phổ 3	0,00	0,00	0,00
Kết quả đánh giá: tốt				

Theo Hình 1, là ảnh so sánh khả năng phân tán trong nước giữa icariin 99% đã biết và nano icariin thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó bình A thể hiện icariin 99% phân tán trong nước đã biết, bình B thể hiện nano icariin phân tán trong nước thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích. Hình 1 cho thấy icariin 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 icariin thu được bằng quy trình theo giải pháp hữu ích 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 icariin thu được bằng quy trình giải pháp hữu ích, ta thấy kích thước hạt trung bình dao động trong khoảng từ 10nm đến 55nm.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất hệ vi nhũ tương nano icariin theo giải pháp hữu ích đã thành công trong việc sản xuất hệ vi nhũ tương có các hạt tiểu phân nano icariin có kích thước nhỏ từ 10nm đến 55nm, đồng đều và khả năng hòa tan tốt trong nước mà vẫn giữ được cấu trúc, hoạt tính icariin trong quá trình nano hóa.

Các chất được sử dụng trong quy trình sản xuất 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 giải pháp hữu ích có độ an toàn cao khi sử dụng.

Quy trình theo giải pháp hữu ích 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 icariin bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho icariin hòa tan trong dung môi etanol với tỷ lệ khối lượng icariin: 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°C đến 60°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 giờ đến 8 giờ;

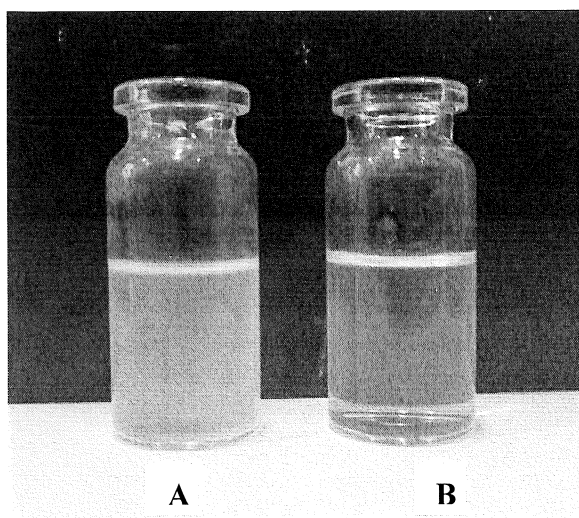
(ii) chuẩn bị chất mang bằng cách gia nhiệt PEG (polyetylen glycol) dạng lỏng, trong đó PEG chiếm từ 40 đến 60% khối lượng hỗn hợp PEG và nước, đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 80°C, khuấy đều;

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

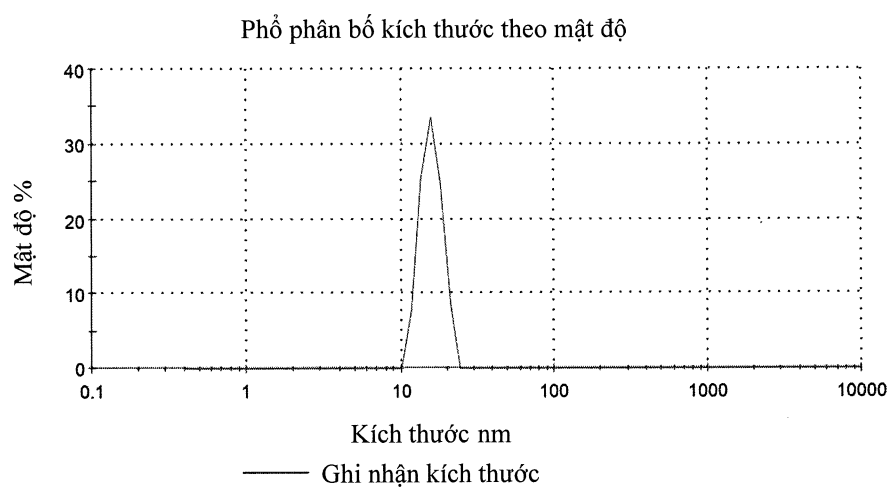
(iv) nhũ hóa bằng cách: gia nhiệt hỗn hợp chất mang và pha phân tán đã thu được ở bước (iii) cho đến khi nhiệt độ đạt 100°C, bổ sung dầu thầu dầu hydro hóa PEG-40 vào hỗn hợp chất mang và pha phân tán theo tỷ lệ 60:40 theo khối lượng, tiếp tục khuấy ở tốc độ nằm trong khoảng từ 500 đến 700 vòng/phút, 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 giờ 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 từ 1 giờ đến 2 giờ cho đến khi nhiệt độ còn nằm trong khoảng từ 40°C đến 60°C; tiến hành nhũ toàn bộ hỗn hợp trong 30 phút, ở tốc độ nằm trong khoảng từ 400 đến 800 vòng/phút;

v) đồng hóa hỗn hợp bằng cách bơm qua hệ thống đồng hóa áp lực cao 30Mpa;

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



Hình 1



Hình 2