



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0053034

(51)^{2022.01} A61K 9/00; C07D 311/08; A61K 9/10

(13) B

(21) 1-2023-01163

(22) 24/02/2023

(45) 25/11/2025 452

(43) 27/11/2023 428A

(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); Lưu Hải Lâm (VN); Lưu Hải Long (VN).

(54) QUY TRÌNH BẢO CHẾ HỆ VI NHỮ NANO COUMARIN

(21) 1-2023-01163

(57) Sáng chế đề xuất quy trình bào chế hệ vi nhũ nano coumarin về cơ bản bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán chứa chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm Capryol 90 và Labrasol;

ii) chuẩn bị pha nước chứa chất nhũ hóa được chọn từ nhóm bao gồm poloxamer 407, poloxamer 188, carbopol 1442P NF và hỗn hợp của chúng;

iii) trộn hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm coumarin và dẫn xuất của nó, pha phân tán ở bước i) và pha nước ở bước ii) dưới điều kiện khuấy đến khi thu được dung dịch đồng nhất;

iv) tiến hành cô đuổi dung môi để thu được hệ vi nhũ nano coumarin bằng quá trình bay hơi chân không.

Quy trình theo sáng chế cho phép tạo ra hệ vi nhũ nano coumarin với kích thước tiểu phân nhỏ, ổn định, nhờ đó giúp tăng độ sinh khả dụng và sự hấp thu. Hệ nano theo sáng chế có thể còn chứa dầu có nguồn gốc tự nhiên giúp gia tăng tác dụng trị liệu bao gồm, ví dụ, tác dụng chống đông máu, đồng thời với việc sử dụng hệ chất hoạt động bề mặt và chất nhũ hóa phù hợp có thể cho phép duy trì sự ổn định của hoạt chất và hệ vi nhũ nano, giúp giảm tác dụng phụ, ví dụ, tính độc hại đối với gan và thận.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế liên quan đến công nghệ nhũ tương nano trong lĩnh vực y dược. Cụ thể, sáng chế đề xuất quy trình bào chế hệ vi nhũ nano coumarin mà cho phép tạo ra hệ vi nhũ nano coumarin với kích thước tiểu phân nhỏ, ổn định, nhờ đó giúp tăng độ sinh khả dụng và sự hấp thu. Hệ nano theo sáng chế có thể còn chứa dầu có nguồn gốc tự nhiên giúp gia tăng tác dụng trị liệu bao gồm, ví dụ, tác dụng chống đông máu, đồng thời với việc sử dụng hệ chất hoạt động bề mặt và chất nhũ hóa phù hợp có thể cho phép duy trì sự ổn định của hoạt chất và hệ vi nhũ nano, nhờ đó giúp giảm tác dụng phụ, ví dụ, tính độc hại đối với gan và thận.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đông máu, hậu quả và biến chứng

Bình thường máu trong cơ thể luôn ở thể lỏng để di chuyển khắp các cơ quan thực hiện nhiệm vụ nuôi sống cơ thể. Tuy nhiên, đôi khi dòng máu có thể đặc lại và vón cục, còn gọi là “sự đông máu”. Sự đông máu đóng vai trò quan trọng trong quá trình cầm máu, là quá trình phức tạp tạo ra các cục máu đông. Ngay sau khi xảy ra chấn thương làm tổn hại đến nội mạc mạch máu, phản ứng đông máu được kích hoạt. Quá trình cầm máu ban đầu diễn ra khi tiểu cầu tạo nút chặn cầm máu tại vết thương. Các yếu tố đông máu trong huyết tương đáp ứng chuỗi phản ứng để tạo các sợi huyết đóng vai trò củng cố nút chặn tiểu cầu, đây chính là quá trình cầm máu thứ phát.

Mặc dù, đông máu là một cơ chế tự nhiên và cần thiết của cơ thể, tuy nhiên khi cục máu đông xuất hiện không đúng lúc, đúng nơi sẽ gây ra nguy hiểm, đặc biệt ở sâu nơi tĩnh mạch sâu. Khi cục máu đông hình thành sâu trong cơ thể, còn được gọi là huyết khối sẽ khiến dòng máu gặp rào cản khi lưu thông, gây ra hiện tượng tắc nghẽn hệ tuần hoàn. Tùy vị trí của cục máu đông sẽ gây ra những hậu quả và biến chứng khác nhau. Nguy hiểm hơn nếu khối huyết này rời khỏi vị trí ban đầu, bắt đầu di chuyển đến phổi gây tắc nghẽn

mạch máu ở phổi, ngăn chặn quá trình phổi cung cấp khí oxy để nuôi cơ thể và quá trình bơm máu nuôi phổi. Tình trạng này dẫn đến toàn bộ hoạt động sống của cơ thể bị ảnh hưởng, thậm chí rơi vào tình trạng nguy cấp gây tử vong nếu không được điều trị kịp thời.

Dấu hiệu bị đông máu

Theo Hiệp hội Huyết học Mỹ, một số cục máu đông hình thành trong động mạch hoặc tĩnh mạch có thể gây hại và thậm chí đe dọa đến tính mạng. Các biến chứng có thể xảy ra nếu cục máu đông không tự tan được hoặc nếu không được điều trị. Các dấu hiệu và triệu chứng của cục máu đông sẽ tùy vào vị trí hình thành cục máu đông ở tim, não, cánh tay, chân, phổi hoặc bụng, mà gây ra các triệu chứng khác nhau. Sau đây là một số dấu hiệu và triệu chứng thầm lặng của cục máu đông mà cần được lưu ý.

Sung một bên chi: Một trong những dấu hiệu phổ biến nhất của bệnh đông máu (tắc nghẽn mạch máu) là tình trạng một bên cánh tay hoặc một bên chân bị sưng phù bất thường. Khi cục máu đông hình thành, quá trình lưu thông máu ở chân hoặc tay sẽ bị tắc nghẽn. Phần chi thiếu máu nuôi trong thời gian dài có thể bị hoại tử. Các dấu hiệu tắc động mạch nguy hiểm cần nhập viện ngay bao gồm: đau, tím tái, không bắt được mạch, tê hoặc mất cảm giác, yếu liệt chi.

Ngoài ra, rất khó phân biệt giữa căng cơ và đông máu vì đôi khi, cục máu đông đã hình thành nhưng vẫn chưa dẫn đến sung chi. Nếu bạn thường xuyên bị chuột rút không thể cử động, kèm theo vùng da xung quanh có dấu hiệu sẫm màu và sờ vào thấy ấm hơn so các vùng da khác, bạn cần gặp bác sĩ để được chẩn đoán kịp thời.

Đau ngực: Khi cục máu đông rời khỏi vị trí ban đầu, di chuyển đến phổi làm tắc nghẽn phổi sẽ gây ra những cơn đau ngực. Ngoài ra, đau ngực cũng có thể do cục máu đông gây ra.

Khó thở, tim đập nhanh: Nếu trong phổi có sự xuất hiện của cục máu đông, quá trình lưu thông máu bị tắc nghẽn và dòng oxy cung cấp cho cơ thể cũng bị chậm lại. Khi lượng oxy giảm xuống ở mức thấp, tim phải đập nhanh hơn bình thường để bù cho lượng oxy đang thiếu hụt. Kết quả của quá trình này là người bệnh cảm thấy khó thở, tim đập nhanh, đôi khi có cảm giác đánh trống lồng ngực.

Ho không rõ nguyên nhân: Khi cục máu đông xuất hiện trong phổi sẽ gây ra viêm và tích dịch màng phổi. Ban đầu, người bệnh thỉnh thoảng bị ho khan, về sau cơn ho sẽ kéo dài liên tục, ho ra máu, kèm theo đó là cơn đau tim và khó thở.

Đau đầu dữ dội: Khi dòng máu truyền đến nuôi não bị tắc nghẽn do cục máu đông, người bệnh sẽ có những biểu hiện của đột quỵ hay tai biến mạch máu não như yếu liệt tay chân, nói đớ, méo miệng, nuốt sặc, nhìn mờ.

Nếu không được phát hiện và điều trị kịp thời sẽ có thể gây ra các cơn đột quỵ và nhồi máu, mà có thể dẫn đến nguy cơ tử vong.

Xét nghiệm đông máu và phương pháp ngăn ngừa, điều trị đông máu

Chỉ định xét nghiệm đông máu hợp lý sẽ giúp đánh giá loại và mức độ tình trạng bất thường, đó cũng là ý nghĩa xét nghiệm đông máu. Nhờ vào các xét nghiệm đông máu, có thể phát hiện hoặc loại trừ nguyên nhân trong trường hợp những bệnh nhân không dùng thuốc chống đông máu.

Ngoài việc chỉ định xét nghiệm đông máu, thuốc chống đông máu được dùng để phòng ngừa và điều trị các bệnh do cục máu đông gây ra. Hiện nay có 3 nhóm thuốc chống cục máu đông chính được sử dụng trong điều trị và phòng ngừa các bệnh do máu đông gây ra.

i) Heparin bao gồm 2 loại Heparin trọng lượng phân tử bình thường và Heparin trọng lượng phân tử thấp. Thuốc này được dùng với đường tiêm dưới da hoặc tiêm tĩnh mạch, không được tiêm bắp. Tùy vào trọng lượng phân tử của thuốc, tác dụng của Heparin là nhanh hay chậm. Heparin giúp ngăn ngừa

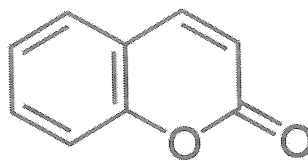
hình thành huyết khối cả trong và ngoài cơ thể một cách nhanh chóng, do đó được dùng trong điều trị và dự phòng các bệnh như thuyên tắc phổi, chạy thận nhân tạo, huyết khối tĩnh mạch sâu chi dưới và hội chứng mạch vành cấp (điều trị kết hợp).

ii) Thuốc kháng vitamin K: Đây là thuốc chống đông máu được dùng qua đường uống, thuốc được hấp thu nhanh qua đường ống tiêu hóa, tuy nhiên có tác dụng chậm, sau khi uống khoảng 2 - 5 ngày. Thuốc được dùng trong điều trị kháng đông máu kéo dài sau khi điều trị bằng Heparin bằng cách khử vitamin K trong tế bào gan. Thuốc chống kết tập tiểu cầu (gồm 5 nhóm chính là Aspirin, Clopidogrel (Plavix), Ticlopidin (Ticlid), Dipyridamol (Aggrenox, Persantin) và Triflusal (Disgren)).

iii) Aspirin: Aspirin là thuốc chống kết tập tiểu cầu. Đây là thuốc chống cục máu đông được sử dụng trong cầm máu sơ cấp với tác dụng phòng ngừa việc hình thành các nút chặn tiểu cầu. Thuốc chủ yếu được dùng ở những bệnh nhân bị nhồi máu cơ tim, tai biến mạch máu não, hội chứng mạch vành cấp, đau thắt ngực để phòng ngừa dài hạn những biến cố do cục máu đông trong động mạch gây ra.

Tuy nhiên, việc sử dụng thuốc chống đông máu cần phải thường xuyên theo dõi chặt chẽ các dấu hiệu để xử trí kịp thời những tác dụng phụ của thuốc chống đông máu gây ra.

Gần đây, các hoạt chất có nguồn gốc thiên nhiên với tác dụng chống đông máu đang thu hút được sự quan tâm bởi tính sẵn dụng và đặc tính tự nhiên của chúng. Coumarin, danh pháp tiếng Anh theo hệ thống IUPAC là: 2H-chromen-2-one, là hợp chất hữu cơ thơm trong nhóm benzopyron, mặc dù nó cũng có thể được xem như là hợp chất thuộc lớp con của lacton. Hợp chất này có công thức hóa học $C_9H_6O_2$ với công thức cấu tạo sau đây.



Coumarin

Coumarin và dẫn xuất của hợp chất này có nhiều trong các loài thuộc họ Đậu (*Fabaceae*), họ Hoa tán (*Apiaceae*), và họ Cam (*Rutaceae*). Coumarin và dẫn xuất là nhóm các hợp chất thiên nhiên quan trọng, có tác dụng dược lý cao, được dùng làm thuốc chống đông máu lớp thuốc kháng vitamin K. Ngoài ra, coumarin còn phòng chữa nhiều bệnh bao gồm, ví dụ, chống HIV, chống khối u, chống cao huyết áp, chống loạn nhịp tim, chống loãng xương, giảm đau, ngăn ngừa bệnh suyễn và sát trùng.

Mặc dù hợp chất này có mùi thơm hoa quế dễ chịu, tuy nhiên khi sử dụng theo đường miệng có vị đắng. Ngoài ra, mặc dù có các tác dụng dược lý giá trị, tuy nhiên coumarin có thể gây độc hại cho gan và thận, có thể làm chảy máu nếu cơ thể hấp thụ phải lượng lớn. Đặc biệt với phụ nữ mang thai, nếu thường xuyên hít phải chất này có thể sẽ gây sảy thai, thai chết lưu hoặc bóc nhau thai. Điều này hạn chế rất nhiều ứng dụng của, thậm chí có thể bị cấm sử dụng, hợp chất này, đặc biệt là trong thuốc lá và phụ gia thực phẩm. Hiện nay, ở Việt Nam, nhóm chất Coumarin không có trong danh mục được phép sử dụng trong thực phẩm theo Thông tư số 27/2012/TT-BYT ngày 30/11/2012 của Bộ Y tế Hướng dẫn việc quản lý phụ gia thực phẩm. Do đó, hợp chất này tốt hơn là được sử dụng ở dạng ổn định với liều lượng nhỏ và tốt hơn là có đặc tính hướng đích chọn lọc để đạt được các hiệu quả trị liệu, giảm đến mức tối thiểu độc tính và/hoặc tác dụng phụ không mong muốn.

Trong những năm gần đây, công nghệ nano đã có những bước phát triển vượt bậc và đem lại nhiều lợi ích trong chẩn đoán và điều trị. Công nghệ nano cho phép bào chế ra các phân tử nano có cấu trúc siêu phân tử giới hạn kích thước 1 – 100 nano mét (nm). Các vật thể có kích thước nano này dễ dàng đi

qua các khe hở của tế bào. Dễ dàng hòa tan trong nước, hấp thu vào máu với nồng độ lớn và đi đúng tới tế bào đích (tổ chức bị bệnh) mà không cần phải đi qua các tế bào lành khác.

Công bố đơn Mỹ số US2019/0263765 A1 bộc lộ phương pháp gia tăng hiệu quả điều trị của chế phẩm chống đông máu trên cơ sở coumarin, tốt hơn là warfarin, coumarin thế hệ thứ hai. Tuy nhiên, công bố này không đề cập đến việc nano hóa chế phẩm để tạo ra tác dụng trị liệu và hướng đích mong muốn hơn.

Công bố đơn Mỹ số US2011/0206739 A1 bộc lộ chế phẩm và phương pháp bào chế nhũ tương nano chứa thành phần hoạt tính, kết hợp với các thành phần ưa dầu như dầu, các thành phần ưa nước như nước, và một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt có khả năng gây ra sự đảo pha phụ thuộc vào nhiệt độ, như chất hoạt động bề mặt polyetoxyl hóa không ion. Nhũ tương nano chứa thành phần hoạt tính theo công bố này có thể được tạo ra có kích thước giọt dầu trung bình nhỏ hơn 100 nm, 50 nm hoặc 25 nm. Tuy nhiên, công bố này tập trung vào việc mô tả phổ các nguyên liệu và chế phẩm có thể có mà chưa thực nhấn mạnh vào nguyên liệu nào. Ngoài ra, quy trình, điều kiện thực hiện và thành phần trong công bố này cũng khác với quy trình, điều kiện thực hiện và thành phần như theo sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là tạo ra hệ vi nhũ nano coumarin hoặc dẫn xuất của nó với kích thước tiểu phân nhỏ, ổn định, nhờ đó giúp tăng độ sinh khả dụng, sự hấp thu và tính hướng đích, đồng thời khắc phục được điểm tác dụng chậm của thuốc kháng vitamin K.

Mục đích khác của sáng chế là giảm đến mức tối thiểu độc tính và/hoặc tác dụng phụ của coumarin hoặc dẫn xuất của nó thông qua đặc tính hướng đích một cách chọn lọc.

Mục đích khác nữa của sáng chế là tận dụng các nguyên liệu, bao gồm dầu, có nguồn gốc tự nhiên giúp gia tăng tác dụng trị liệu bao gồm, ví dụ, tác

dụng chống đông máu, đồng thời với việc sử dụng hệ chất hoạt động bề mặt và chất nhũ hóa phù hợp có thể cho phép duy trì sự ổn định của hoạt chất và hệ vi nhũ nano, giúp giảm tác dụng phụ, ví dụ, tính độc hại đối với gan và thận, và đạt các chỉ tiêu về độ an toàn khi sử dụng.

Để đạt được các mục đích trên đây, sáng chế đề xuất quy trình bào chế hệ vi nhũ nano coumarin bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán chứa chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm Capryol 90 và Labrasol, trong đó pha phân tán được chuẩn bị bằng cách hòa tan chất hoạt động bề mặt vào dung môi etanol theo tỷ lệ về khối lượng của chất hoạt động bề mặt/etanol là khoảng 5/4;

ii) chuẩn bị pha nước chứa chất nhũ hóa được chọn từ nhóm bao gồm poloxamer 407, poloxamer 188, carbopol 1342P NF và hỗn hợp của chúng, trong đó pha nước chứa chất nhũ hóa được chuẩn bị bằng cách trộn chất nhũ hóa và nước theo tỷ lệ khối lượng của chất nhũ hóa/nước là khoảng 1/9;

iii) trộn hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm coumarin và dẫn xuất của nó, pha phân tán ở bước i) và pha nước ở bước ii) dưới điều kiện khuấy đến khi thu được dung dịch đồng nhất, trong đó tỷ lệ khối lượng của coumarin so với tổng khối lượng của hỗn hợp nằm trong khoảng từ 2 đến 3% khối lượng;

iv) tiến hành cô đuổi dung môi để thu được hệ vi nhũ nano bằng quá trình bay hơi chân không.

Theo một phương án, trong bước i), chất hoạt động bề mặt là Capryol 90.

Theo phương án khác, trong bước ii), chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 407 và carbopol 1342P NF.

Theo phương án khác nữa, trong bước ii), chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 188 và carbopol 1342P NF.

Theo phương án khác nữa, trong bước ii), chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 188, poloxamer 407 và carbopol 1342P NF.

Theo phương án khác nữa, trong bước ii), tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,2% khối lượng.

Theo phương án khác nữa, trong bước ii), tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa là khoảng 0,1% khối lượng.

Theo phương án khác nữa, trong bước ii), tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa là khoảng 0,2% khối lượng.

Theo phương án khác nữa, trong bước ii), Tween 20 còn được bổ sung vào pha nước.

Theo phương án khác nữa, chất nhũ hóa, Tween 20 và nước được trộn lẫn theo tỷ lệ khối lượng của chất nhũ hóa/Tween 20/nước là khoảng 3/70/27.

Theo phương án khác nữa, trong bước iii), hoạt chất là coumarin.

Theo phương án khác nữa, trong bước iii), hoạt chất là dẫn xuất coumarin được chọn từ nhóm bao gồm warfarin, 4-hydroxycoumarin, 3,4-Dihydrocoumarin, esculin và 2-amino-4-(4-hydroxy-3-metoxyphenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano[3,2-c]chromen-3-carbonitril.

Theo phương án khác nữa, trong bước iii), hoạt chất là warfarin.

Theo phương án khác nữa, trong bước iii), hoạt chất là 3,4-Dihydrocoumarin.

Theo phương án khác nữa, trong bước iii), hoạt chất là esculin.

Theo phương án khác nữa, trong bước iii), hoạt chất là 2-amino-4-(4-hydroxy-3-metoxyphenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano [3,2-c]chromen-3-carbonitril.

Theo phương án khác nữa, trong bước iii), hoạt chất còn chứa dầu được chọn từ nhóm bao gồm dầu có nguồn gốc từ ô liu, lựu, tỏi, cà chua và kiwi.

Theo phương án khác nữa, dầu có nguồn gốc từ ô liu.

Theo phương án khác nữa, dầu có nguồn gốc từ lựu.

Theo phương án khác nữa, dầu có nguồn gốc từ trái wiki.

Theo phương án khác nữa, tỷ lệ khối lượng dầu là khoảng 5% khối lượng.

Theo phương án khác nữa, trong bước iv), dung môi được loại bỏ bằng thiết bị cô quay chân không.

Theo phương án khác nữa, quy trình này có bao gồm bước v) lọc để loại bỏ các tạp chất để thu được hệ nano coumarin sạch, ổn định và đồng nhất.

Theo phương án khác nữa, việc lọc được tiến hành qua lưới lọc có kích thước lỗ từ 30 đến 50 nm.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Sau đây, sáng chế còn được minh họa thông qua các phương án cụ thể với sự tham chiếu đến hình vẽ, trong đó:

Hình 1 là kết quả đo sự phân bố cỡ hạt của hệ nano coumarin theo cường độ theo một phương án được ưu tiên của sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế mô tả chi tiết phương án cụ thể chế tạo hệ nano coumarin, tuy nhiên phương án này chỉ nhằm mục đích minh họa cho sáng chế, mà không làm giới hạn sáng chế.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "khoảng" được dùng để chỉ chính giá trị số đó cũng như các giá trị được xem là sai số nằm trong khoảng $\pm 10\%$, tốt hơn là chỉ chính trị số đó.

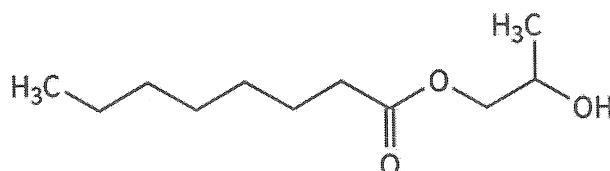
Quy trình bào chế hệ vi nhũ nano coumarin

Sáng chế đề cập đến quy trình bào chế hệ vi nhũ nano coumarin ổn định chứa các tiểu phân có kích thước nhỏ, ổn định. Quy trình theo sáng chế bao gồm các bước được mô tả chi tiết hơn dưới đây.

Bước i) chuẩn bị pha phân tán.

Theo sáng chế, pha phân tán chứa chất hoạt động bề mặt trước tiên được chuẩn bị bằng cách trộn dầu với chất hoạt động bề mặt. Thông qua các nghiên cứu tổng hợp về cấu trúc và sự tương tác, chất hoạt động bề mặt cụ thể được ưu tiên sử dụng theo sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm Capryol 90 và Labrasol bởi các chất hoạt động bề mặt cụ thể này cùng với các hóa chất khác, mà sẽ được mô tả chi tiết sau đây và/hoặc trong bản mô tả này, cho phép tạo ra hệ vi nhũ với cấu trúc ổn định, bền vững, trong đó hóa chất được duy trì trong hệ vi nhũ nano, tránh thất thoát, biến chất.

Capryol 90, hay Capryol® 90, còn có tên gọi tiếng Anh: Propylene glycol monocaprylate, là chất hoạt động bề mặt ở dạng dầu lỏng không ion không tan trong nước.



Capryol 90

Labrasol, hay Labrasol®, còn có một số tên gọi tiếng Anh: Caprylocaproyl macrogol-8 glycerides, Polyoxylglycerides, mà bao gồm một phần nhỏ của mono-, di- và triglycerides và chủ yếu là mono- và dieste polyetylen glycol (PEG)-8 của axit caprylic (C₈) và capric (C₁₀). Labrasol là chất hoạt động bề mặt không ion dầu-trong-nước, được sử dụng làm chất hòa tan.

Không có giới hạn bất kỳ nào đối với các hóa chất này và các nguồn bán sẵn trên thị trường từ các nhà cung cấp có thể được sử dụng theo sáng chế.

Theo phương án cụ thể, chất hoạt động bề mặt được sử dụng là Capryol 90. Theo phương án cụ thể khác, chất hoạt động bề mặt được sử dụng là Labrasol.

Trong bước i) để tạo ra pha phân tán chứa chất hoạt động bề mặt, dung môi hữu cơ, tốt hơn là etanol được dùng để hòa tan chất hoạt động bề mặt. Theo phương án khác, để đảm bảo việc sử dụng hóa chất tiết kiệm, không gây bất lợi cho sản phẩm cuối và các khâu xử lý sau đó, tỷ lệ khối lượng của chất hoạt động bề mặt/etanol là khoảng 5/4.

Trong bước này, có thể tiến hành gia nhiệt và khuấy trộn để gia tăng hiệu quả, thúc đẩy sự phân tán, hòa tan các hóa chất. Nhiệt độ có thể gia nhiệt đến 80°C. Tốc độ khuấy có thể lên đến 500 vòng/phút. Nói chung, việc chọn lựa nhiệt độ, sự gia nhiệt và khuấy trộn là kỹ năng mà chuyên gia có hiểu biết trung bình có thể thực hiện được.

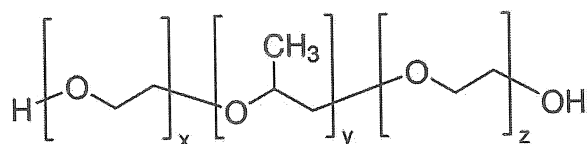
Bước ii) chuẩn bị pha nước chứa chất nhũ hóa.

Trong bước tiếp theo, pha nước chứa chất nhũ hóa được chuẩn bị. Cần lưu ý rằng, chất nhũ hóa là phụ gia được sử dụng làm giảm sức căng bề mặt của các pha trong hệ, từ đó duy trì được sự ổn định cấu trúc của hệ nhũ tương. Cụ thể, hệ nhũ tương thường bao gồm hai chất lỏng không hòa tan nhưng có thể trộn lẫn với nhau, trong đó chất lỏng tồn tại dưới dạng “pha phân tán”, chất lỏng còn lại được gọi là “pha liên tục”. Cấu trúc phân tử của chất nhũ hóa có cả phần ưa béo và phần ưa nước nên được sử dụng nhằm tạo sự ổn định của hệ keo phân tán trong pha liên tục. Mặt khác nó còn làm giảm sức căng bề mặt của pha phân tán từ đó làm giảm năng lượng hình thành các giọt trong hệ.

Chất nhũ hóa theo sáng chế được lựa chọn để giúp hình thành và ổn định nhũ tương, với tỷ lệ phù hợp sẽ giúp cho các sản phẩm thành phẩm ổn định, không gây biến chất. Theo đó, sáng chế ưu tiên sử dụng chất nhũ hóa được chọn từ nhóm bao gồm poloxamer 407, poloxamer 188, carbopol 1342P NF và hỗn hợp của chúng.

Poloxamer 407, hay Pluronic® F127, là chất hoạt động bề mặt không ion ưa nước thuộc một nhóm lớn, được gọi là các “Poloxamer”. Poloxamer 407 là một chất đồng trùng hợp bao gồm một khối kỵ nước ở trung tâm là polypropylen glycol và được bao bọc bởi hai khối polyetylen glycol ưa nước. Cụ thể, poloxamer 407 là một polyme polyoxyetylen và chất hoạt động bề mặt không ion ưa nước. Poloxamer 407 bao gồm một khối kỵ nước là polypropylen glycol ở trung tâm và hai bên được xếp bởi các khối polyetylen glycol, cả hai đều có bản chất là ưa nước. Độ dài gần đúng của hai khối polyetylen glycol là 101 đơn vị lặp lại, trong khi độ dài gần đúng của khối propylen glycol là 56 đơn vị lặp lại. Poloxamer 407 được sử dụng như một chất nhũ hóa và chất hòa tan.

Tương tự, Poloxamer 188, hay Pluronic F68, là chất hoạt động bề mặt (thuộc nhóm Poloxamer) được tạo thành từ một chuỗi polyoxypropylen kỵ nước ở trung tâm và được bao quanh bởi hai chuỗi polyoxyetylen ưa nước ở mỗi bên.



Công thức hóa học chung nhóm Poloxamer

Carbopol 1342P NF, hay polyme của axit acrylic chứa liên kết chéo, còn gọi là carbomer, được sử dụng như là chất nhũ hóa góp phần làm ổn định hệ vi nhũ.

Chi tiết hơn nữa về cấu tạo và thành phần của các hóa chất này có thể dễ dàng truy hồi từ các nguồn sẵn có bao gồm các tài liệu chuyên ngành trong lĩnh vực này, hoặc các thông tin sẵn có trên Internet. Theo một phương án, các hóa chất này có thể được sử dụng ở dạng nguyên trạng khi thu mua từ các nguồn sẵn có trên thị trường.

Theo phương án cụ thể, trong bước ii), chất nhũ hóa là poloxamer 407. Theo phương án cụ thể khác, chất nhũ hóa là poloxamer 188.

Theo một số phương án khác, chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 407 và carbopol 1342P NF. Theo phương án khác nữa, chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 188 và carbopol 1342P NF. Theo phương án khác nữa, chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 188, poloxamer 407 và carbopol 1342P NF.

Theo phương án khác nữa, trong bước ii), trường hợp chất nhũ hóa sử dụng là hỗn hợp bao gồm carbopol 1342P NF, tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,2% khối lượng. Theo phương án cụ thể, tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa là khoảng 0,1% khối lượng. Theo phương án cụ thể khác nữa, tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa là khoảng 0,2% khối lượng.

Trong bước ii), pha nước chứa chất nhũ hóa được chuẩn bị bằng cách trộn chất nhũ hóa và nước. Theo phương án cụ thể, tốt hơn nếu tỷ lệ khối lượng của chất nhũ hóa/nước là khoảng 1/9 để đảm bảo việc sử dụng hóa chất tiết kiệm, không gây bất lợi cho sản phẩm cuối và các khâu xử lý sau đó.

Theo phương án khác nữa, trong bước ii), Tween 20 còn được bổ sung vào pha nước để tạo thuận lợi cho việc phân tán các hóa chất cũng như góp phần làm ổn định hệ nhũ tương nano thành phẩm. Tween 20, hay Polysorbat 20, với danh pháp tiếng Anh theo hệ thống IUPAC là: “Polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate”. Tween 20 là este sorbitol polyoxyetylen thuộc họ polysorbat, trong đó sorbitol tạo thành vòng xương sống mà các tiểu phân đơn vị etylen oxit được gắn vào. Về cơ chế, các tiểu đơn vị etylen oxit chịu trách nhiệm cho tính chất ưa nước của chất này, trong khi đó chuỗi hydrocarbon tạo ra đặc tính kỵ nước.

Theo phương án cụ thể đặc biệt được ưu tiên, chất nhũ hóa, Tween 20 và nước được trộn lẫn theo tỷ lệ khối lượng của chất nhũ hóa/Tween 20/nước là khoảng 3/70/27.

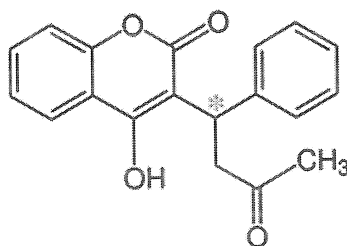
Trong bước này, có thể tiến hành gia nhiệt và khuấy trộn để gia tăng hiệu quả, thúc đẩy sự phân tán, hòa tan các hóa chất và việc chọn lựa các điều kiện này là kỹ năng mà chuyên gia có hiểu biết trung bình có thể thực hiện được. Ví dụ, nhiệt độ có thể gia tăng lên đến 50°C, hoặc việc khuấy có thể là khuấy mạnh, thậm chí tạo xoáy, nếu cần để phân tán, hòa tan tối đa các hóa chất.

Bước iii) tạo hỗn hợp đồng nhất chứa hoạt chất coumarin.

Trong bước tiếp theo, hỗn hợp đồng nhất chứa hoạt chất coumarin được tạo ra bằng cách trộn hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm coumarin và dẫn xuất của nó, pha phân tán ở bước i) và pha nước ở bước ii) dưới điều kiện khuấy đến khi thu được dung dịch đồng nhất.

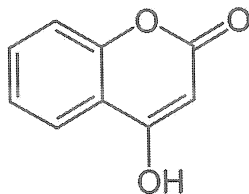
Theo sáng chế, coumarin hoặc dẫn xuất của nó đều có thể được sử dụng theo sáng chế. Theo đó, theo phương án cụ thể, trong bước iii), hoạt chất là coumarin. Theo phương án cụ thể khác, hoạt chất là dẫn xuất của coumarin được chọn từ nhóm bao gồm warfarin, 4-hydroxycoumarin, 3,4-Dihydrocoumarin, esculin và 2-amino-4-(4-hydroxy-3-metoxyphenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano[3,2-c]chromen-3-carbonitril (hay Coumarin 3004).

Warfarin là dẫn xuất của coumarin có công thức phân tử $C_{19}H_{16}O_4$ và công thức cấu tạo sau đây.



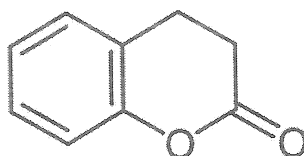
Warfarin

4-hydroxycoumarin, hay hydroxycoumarin, là dẫn xuất của coumarin với nhóm hydroxy được thế ở vị trí số 4. Hợp chất này có công thức phân tử là $C_9H_6O_3$ và công thức cấu tạo sau đây.



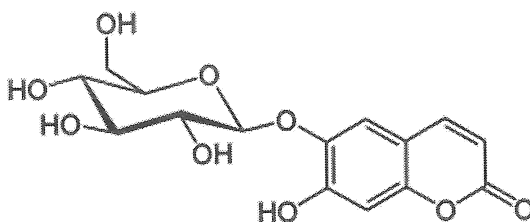
4-hydroxycoumarin

3,4-Dihydrocoumarin, một chromanon, là dẫn xuất 3,4-dihydro của coumarin. Hợp chất này có công thức cấu tạo sau đây.



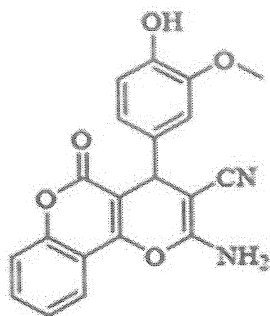
3,4-Dihydrocoumarin

Esculin là một glucosid coumarin xuất hiện tự nhiên trong cây dẻ ngựa, cây mứt đỏ California, cây cà gai leo và daphnin. Nó cũng được tìm thấy trong cà phê bồ công anh. Hợp chất này có công thức sau đây.



Esculin

2-amino-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano[3,2-c]chromen-3-carbonitril (danh pháp tiếng Anh: 2-amino-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano [3,2-c] chromene-3 carbonitrile) là dẫn xuất của coumarin, hay còn được gọi là coumarin 3004. Hợp chất này có công thức cấu tạo sau đây.



2-amino-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano[3,2-c]
chromen-3-carbonitril

Không có giới hạn bất kỳ nào đối với coumarin và dẫn xuất của nó. Các hợp chất này có thể được sử dụng ở dạng nguyên trạng khi được thu mua từ các nguồn sẵn có trên thị trường, hoặc được tổng hợp hoặc phân tách, tinh chế bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Theo phương án cụ thể, hoạt chất được sử dụng là Coumarin.

Theo phương án cụ thể khác, hoạt chất được sử dụng là warfarin.

Theo phương án cụ thể khác nữa, hoạt chất là 3,4-Dihydrocoumarin.

Theo phương án cụ thể khác nữa, hoạt chất là esculin.

Theo phương án cụ thể khác nữa, hoạt chất là 2-amino-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano [3,2-c]chromen-3-carbonitril.

Theo phương án khác nữa, trong bước iii), hoạt chất còn chứa dầu, tốt hơn là dầu có nguồn gốc tự nhiên để giúp gia tăng tác dụng trị liệu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tác dụng chống đông máu. Theo đó, theo một số phương án cụ thể, dầu được chọn từ nhóm bao gồm dầu có nguồn gốc từ ô liu, lựu, tỏi, cà chua và kiwi. Theo phương án khác, dầu có nguồn gốc từ ô liu. Theo phương án khác nữa, dầu có nguồn gốc từ lựu. Theo phương án khác nữa, dầu có nguồn gốc từ trái wiki.

Tỷ lệ khối lượng dầu tốt hơn là có mặt với khoảng 5% khối lượng.

Trong bước này, hỗn hợp đồng nhất chứa hoạt chất coumarin được tạo ra bằng cách trộn hoạt chất, pha phân tán ở bước i) và pha nước ở bước ii) dưới điều kiện khuấy đến khi thu được dung dịch đồng nhất. Ngoài ra, để hòa tan, phân tán các hóa chất, ngoài việc khuấy, có thể tiến hành gia nhiệt lên đến 80°C để thúc đẩy tiến trình hòa tan, phân tán nhằm tạo ra hỗn hợp đồng nhất.

Bước iv) tiến hành cô đuổi dung môi để thu được hệ vi nhũ nano bằng quá trình bay hơi chân không.

Trong bước tiếp theo, tạo hệ tiền vi nhũ từ hỗn hợp đồng nhất ở bước iii) bằng cách cô đuổi dung môi. Mục đích của bước này là loại bỏ dung môi, tạo điều kiện để hoạt chất được bao bọc hiệu quả với hệ chất mang và chất nhũ hóa, nhờ đó tạo ra hệ tiền vi nhũ bền vững. Việc này được thực hiện, ví dụ, bằng cách cô đuổi trong chân không hỗn hợp ở bước iii) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 100°C , tốt hơn là khoảng 80°C .

Cần lưu ý rằng, đối với việc tách loại bỏ dung môi, phương pháp gia nhiệt ở nhiệt độ cao sẽ làm cho các hợp chất bị phân hủy. Do đó, phương pháp loại bỏ dung môi ở nhiệt độ thấp được ưu tiên sử dụng và theo đó thiết bị cô quay chân không được ưu tiên sử dụng theo sáng chế. Máy cô quay chân không là một thiết bị trong phòng thí nghiệm với công dụng giúp loại bỏ dung môi thông qua phương pháp làm nóng và bay hơi trong môi trường chân không. Thiết bị này giúp duy trì các hợp chất, hạn chế hiện tượng phân hủy so với sử dụng phương pháp gia nhiệt.

Ngoài ra, có thể tiến hành thêm bước đồng hóa hệ tiền vi nhũ ở bước iv) trong hệ thống máy đồng hóa áp suất để tăng hơn nữa độ ổn định cho hệ tiền vi nhũ. Ở bước này, hỗn hợp được đồng hóa áp suất cao để tạo ra hệ tiền vi nhũ đồng nhất, ổn định, bền trong thời gian dài. Theo một phương án cụ thể, có thể lặp lại một số chu kỳ được thực hiện để tăng độ ổn định cho hệ tiền vi nhũ. Việc thực hiện đồng hóa tạo hệ tiền vi nhũ trong hệ thống máy đồng hóa áp suất cao còn cho phép tiếp tục loại bỏ dung môi một cách đồng thời.

Bước vi) tạo hệ tiền vi nhũ nano sạch, đồng nhất và ổn định.

Theo phương án khác nữa, quy trình theo sáng chế còn bao gồm bước v) lọc để loại bỏ các tạp chất để thu được hệ nano coumarin sạch, ổn định và đồng nhất. Theo phương án khác nữa, việc lọc được tiến hành qua lưới lọc có kích thước lỗ từ 30 đến 50 nm để loại bỏ các tạp chất rắn làm sạch nhũ tương, tăng sự ổn định và đồng nhất cho hệ tiền vi nhũ. Kết quả thu được hệ nano coumarin dạng lỏng.

Mẫu hệ nano coumarin dạng lỏng thu được theo sáng chế được phân tán trong nước và tiến hành phân tích bằng máy đo kích thước hạt. Kết quả như được thể hiện trong Hình 1 cho thấy hệ nano coumarin chủ yếu chứa các tiểu phân nano coumarin nhỏ có đường kính (d) nano khoảng 36 nm.

Ứng dụng của hệ vi nhũ nano coumarin

Như được mô tả trên đây, hệ vi nhũ nano coumarin theo sáng chế có thể được sử dụng để bào chế các sản phẩm bao gồm các sản phẩm có tác dụng chống đông máu. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn chỉ ở ứng dụng này. Hệ vi nhũ nano theo sáng chế có thể, ví dụ, dùng để bào chế các sản phẩm dùng trong lĩnh vực thủy sản, cụ thể là nuôi tôm, để ngăn ngừa và/hoặc phòng bệnh đốm trắng do virus hội chứng đốm trắng (White Spot Syndrome Virus – WSSV) cho tôm.

Sản phẩm và hàm lượng của coumarin hoặc dẫn xuất của chúng tốt hơn là được sử dụng trong ngưỡng giới hạn cho phép tùy thuộc vào lĩnh vực cụ thể mà có thể được xác định bởi chuyên gia có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực tương ứng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Bào chế hệ vi nhũ nano coumarin theo sáng chế.

Ví dụ 1-1

Trong ví dụ này, quy trình bào chế là như được mô tả như trên đây, trong đó thành phần và lượng tương ứng của chúng được dùng để bào chế hệ vi nhũ là như được mô tả trong Bảng 1 sau đây.

Bảng 1

Thành phần	Phần khối lượng
Capryol 90	5
Etanol	4
Tween 20	70
Nước	27
Poloxamer 188 và carbopol 1342P NF, trong đó % khối lượng của carbopol 1342P NF là 0,1%	3
Coumarin	2,3

Ví dụ 1-2

Trong ví dụ này, thành phần và lượng tương ứng của chúng được dùng để bào chế hệ vi nhũ là như được mô tả trong Bảng 2 sau đây.

Bảng 2

Thành phần	Phần khối lượng
Capryol 90	5
Etanol	4
Tween 20	70
Nước	27
Poloxamer 407 và carbopol 1342P NF, trong đó % khối lượng của carbopol 1342P NF là 0,2%	3
Warfarin và dầu oliu, trong đó % khối lượng của dầu oliu là 5%	2,4

Ví dụ 1-3

Trong ví dụ này, thành phần và lượng tương ứng của chúng được dùng để bào chế hệ vi nhũ là như được mô tả trong Bảng 3 sau đây.

Bảng 3

Thành phần	Phần khối lượng
Capryol 90	5
Etanol	4
Tween 20	70
Nước	27
Poloxamer 407 và carbopol 1342P NF, trong đó % khối lượng của carbopol 1342P NF là 0,2%	3
Coumarin 3004	2,3

Ví dụ 2: Đặc tính của hệ nano coumarin

Mẫu của ví dụ 1 được tiến hành kiểm tra kích thước hạt theo phương pháp tiêu chuẩn NSX tại Trung tâm Phân tích – Kiểm nghiệm TVU, trường Đại học Trà Vinh. Kết quả cho thấy mẫu chứa tiểu phân có kích thước hạt khoảng 36 nm như được thể hiện trong bảng sau đây.

Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp	Kết quả
Nano coumarin	Kích thước hạt	Tiêu chuẩn NSX	36 nm

Cụ thể hơn, như được thể hiện trong Hình 1, mẫu dạng dung dịch chứa trong lọ kín được phân tán trong nước, nhiệt độ của hệ thống là 25°C. Kết quả cho thấy hệ vi nhũ nano coumarin phân tán tốt trong nước, chủ yếu chứa các hạt nano coumarin có đường kính (d) trung bình khoảng 36,05nm (với 1 đỉnh % cường độ 100%). Kích thước nhỏ cho phép hệ vi nhũ có tính ổn định cao (rất lâu phân lớp), giúp tăng hạn thời gian sử dụng, độ sinh khả dụng và sự hấp thu.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Sáng chế thành công trong việc tạo ra hệ nano coumarin với kích thước tiểu phân nhỏ, ổn định, nhờ đó giúp tăng độ sinh khả dụng và sự hấp thu. Hệ

nano theo sáng chế có thể còn chứa dầu có nguồn gốc tự nhiên giúp gia tăng tác dụng trị liệu bao gồm, ví dụ, tác dụng chống đông máu, đồng thời với việc sử dụng hệ chất hoạt động bề mặt và chất nhũ hóa phù hợp có thể cho phép duy trì sự ổn định của hoạt chất và hệ vi nhũ nano, nhờ đó giúp giảm tác dụng phụ, ví dụ, tính độc hại đối với gan và thận.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình bào chế hệ vi nhũ nano coumarin bao gồm các bước:

i) chuẩn bị pha phân tán chứa chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm Capryol 90 và Labrasol, trong đó pha phân tán được chuẩn bị bằng cách hòa tan chất hoạt động bề mặt vào dung môi etanol theo tỷ lệ về khối lượng của chất hoạt động bề mặt/etanol là khoảng 5/4;

ii) chuẩn bị pha nước chứa chất nhũ hóa được chọn từ nhóm bao gồm poloxamer 407, poloxamer 188, carbopol 1342P NF và hỗn hợp của chúng, trong đó pha nước chứa chất nhũ hóa được chuẩn bị bằng cách trộn chất nhũ hóa và nước theo tỷ lệ khối lượng của chất nhũ hóa/nước là khoảng 1/9;

iii) trộn hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm coumarin và dẫn xuất của nó, pha phân tán ở bước i) và pha nước ở bước ii) dưới điều kiện khuấy đến khi thu được dung dịch đồng nhất, trong đó tỷ lệ khối lượng của coumarin so với tổng khối lượng của hỗn hợp nằm trong khoảng từ 2 đến 3% khối lượng;

iv) tiến hành cô đuổi dung môi để thu được hệ vi nhũ nano bằng quá trình bay hơi chân không.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó trong bước i), chất hoạt động bề mặt là Capryol 90.

3. Quy trình theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó trong bước ii), chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 407 và carbopol 1342P NF.

4. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước ii), chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 188 và carbopol 1342P NF.

5. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước ii), chất nhũ hóa là hỗn hợp bao gồm poloxamer 188, poloxamer 407 và carbopol 1342P NF.

6. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước ii), tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,2% khối lượng.
7. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước ii), tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa là khoảng 0,1% khối lượng.
8. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước ii), tỷ lệ khối lượng của carbopol 1342P NF trong hỗn hợp chất nhũ hóa là khoảng 0,2% khối lượng.
9. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước ii), Tween 20 còn được bổ sung vào pha nước.
10. Quy trình theo điểm 9, trong đó chất nhũ hóa, Tween 20 và nước được trộn lẫn theo tỷ lệ khối lượng của chất nhũ hóa/Tween 20/nước là khoảng 3/70/27.
11. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước iii), hoạt chất là coumarin.
12. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước iii), hoạt chất là warfarin.
13. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước iii), hoạt chất là 2-amino-4-(4-hydroxy-3-metoxyphenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano [3,2-c]chromen-3-carbonitril.
14. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước iii), hoạt chất còn chứa dầu được chọn từ nhóm bao gồm dầu có nguồn gốc từ ô liu, lựu, tỏi, cà chua và kiwi.
15. Quy trình theo điểm 14, trong đó dầu có nguồn gốc từ ô liu.
16. Quy trình theo điểm 14, trong đó dầu có nguồn gốc từ lựu.
17. Quy trình theo điểm 14, trong đó dầu có nguồn gốc từ trái wiki.

18. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 14 đến 17, trong đó tỷ lệ khối lượng dầu là khoảng 5% khối lượng.

19. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trong bước iv), dung môi được loại bỏ bằng thiết bị cô quay chân không.

20. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó quy trình này có bao gồm bước v) lọc để loại bỏ các tạp chất để thu được hệ nano coumarin sạch, ổn định và đồng nhất.

21. Quy trình theo điểm 20, trong đó việc lọc được tiến hành qua lưới lọc có kích thước lỗ từ 30 đến 50 nm.

Hình 1

Sự phân bố cỡ hạt theo cường độ

