



(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) 
2-0001795

(51)⁷ **A61K 31/12, 9/10, B02C 17/10**

(13) **Y**

(21) 2-2018-00099

(22) 09.01.2015

(67) 1-2015-00065

(30) 1-2014-02493 25.07.2014 VN

(45) 27.08.2018 365

(43)

(73) **TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU TRIỂN KHAI KHU CÔNG NGHỆ CAO THÀNH
PHỐ HỒ CHÍ MINH (VN)**

Lô I3, đường N2, khu công nghệ cao, quận 9, thành phố Hồ Chí Minh

(72) **Đỗ Thanh Sinh (VN), Lê Văn Giắt (VN), Trần Phước Toàn (VN), Phạm Hùng Nam
(VN), Tiêu Tư Doanh (VN), Lương Thị Anh Đào (VN)**

(74) **Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyến (INVENCO)**

(54) **QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ TINH THỂ NANO CURCUMIN PHÂN TÁN TRONG
DUNG DỊCH Ở NỒNG ĐỘ CAO BẰNG PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN UỐT**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế nano curcumin phân tán trong dung dịch ở nồng độ cao bằng phương pháp nghiền ướt trong môi trường axit hữu cơ kết hợp với chất hoạt động bề mặt để hạt curcumin vỡ thành hạt tinh thể nano để phân tán trong nước, quy trình này bao gồm các bước: chuẩn bị nguyên liệu, điều chế nano curcumin phân tán trong dung dịch và thu hồi sản phẩm gồm các thành phần như sau:

nano curcumin

1-10% khối lượng,

chất hoạt động bề mặt Tween 80

0,5-1,5% khối lượng,

axit ascorbic

0,2-1,5% khối lượng,

nước DI

80-90% khối lượng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến lĩnh vực công nghệ nano, cụ thể là quy trình điều chế tinh thể nano curcumin phân tán trong dung dịch ở nồng độ cao bằng phương pháp nghiền ướt.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Curcumin là hoạt chất được chiết xuất từ củ nghệ vàng đã được sử dụng làm màu phụ gia thực phẩm và dược liệu rất phổ biến từ xa xưa. Curcumin đã được nghiên cứu nhiều trên thế giới bởi các tác dụng điều trị như đặc tính chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống ung thư. Tuy nhiên, hạn chế của curcumin trong điều trị là sự khó tan trong nước và dễ bị thủy phân làm cho sinh khả dụng thấp.

Fatemeh Zabih và cộng sự đã điều chế hạt nano curcumin được bao phủ bởi axit poly(lactic-co-glycolic) bằng cách phun dung dịch polyme vào CO₂ siêu tới hạn đã được phân tán curcumin bằng siêu âm, hạt nano curcumin thu được có kích thước khoảng 63nm. Nhóm của Tatsuaki Tagami đã điều chế nano curcumin bằng nghiền ăn mòn laze với kích thước hạt thu được khoảng 500nm. Nano curcumin được kết hợp với piperin cũng được nghiên cứu để sử dụng vào thuốc, hạt nano kích thước 183nm nhằm cải thiện sinh khả dụng của curcumin.

Xiaoyong Wan và cộng sự đã điều chế hệ mixen kích thước từ 79,5 đến 618nm để bọc hạt curcumin và curcumin được bọc mixen có tính kháng viêm được cải thiện. Khả năng chống ung thư của curcumin được bọc bởi tinh bột biến tính cũng được nghiên cứu.

Nhóm của Savita Bisht đã sử dụng hỗn hợp isopropylacrylamit, N-vinyl-2-pyrrolidon và poly(etylenglycol) monoacrylat để bọc hạt nano curcumin với kích thước thu được khoảng 50nm và phân tán tốt trong nước. A. Anitha đã điều chế hạt nano dextran sulphat–chitosan kết hợp curcumin với kích thước hạt khoảng 200-300nm và đã chứng minh khả năng diệt tế bào ung thư. Kết hợp curcumin và nano vàng để cải thiện sinh khả dụng của curcumin cũng được nghiên cứu.

Sáng chế CN103446057(A)-013-12-18 của YANG YILIN và HU YIQIAO liên quan đến điều chế hạt nano curcumin thông qua kết hợp 3 hợp chất axit taurocholic, heparin và curcumin bằng cầu nối amino, trong đó curcumin là phần lõi của hạt nano và axit taurocholic ưa nước nằm ở bề mặt của hạt nano. Do đó đã cải thiện được sinh khả dụng của curcumin theo đường uống, với phương pháp điều chế này khó xác định phần lõi là curcumin và các thành phần vỏ bọc bên ngoài của hạt nano và tác giả không cung cấp thông số kích thước và phân bố kích thước của hạt nano. Sáng chế CN103054810 của Liu Ke; Lang Yuewu; Xu Hui liên quan đến điều chế hạt nano bọc trong albumin dùng trong dược phẩm và được điều chế bằng cách hòa tan curcumin trong etanol và nhỏ giọt vào dung dịch nước muối sinh lý và phụ gia glutamic để tạo hạt nano với phương pháp này dung dịch hình thành có nồng độ curcumin trong sản phẩm thấp.

Sáng chế WO2010013224 đã điều chế nano curcumin và hạt nano chitosan bọc curcumin với kích thước hạt thu được tương ứng là khoảng 50nm đến 284 nm và 43nm đến 84nm. Quy trình điều chế nano curcumin bằng cách hòa tan curcumin trong etanol và phun vào dung dịch nước có chứa axit hữu cơ ở nhiệt độ thường. Điều chế hạt nano gồm curcumin và nano chitosan bằng cách tạo dung dịch nano chitosan trong nước khi có mặt axit hữu cơ, sau đó thêm dung dịch curcumin trong etanol, khuấy qua đêm, ly tâm thu hạt nano. Với quy trình này nồng độ của curcumin thấp không hiệu quả về mặt kinh tế và sử dụng nhiều dung môi sẽ tăng chi phí cho quy trình sản xuất.

Sáng chế CN101361713 (A) của Guangxi Zhai liên quan đến chế tạo tinh thể nano curcumin bằng cách hòa tan chất hoạt động bề mặt (polysorbate 80, poloxame, phosphatidyl cholin. hoặc lexithin, polyvinyl pyrrolidon Los pyrazol (PVP), hydroxypropylmetyl xenluloza (HPMC), metyl xenluloza (MC), Tirol Sharm, natri cholat, natri taurocholat hoặc polyetylen glycol) vào trong nước và thêm curcumin vào dung dịch sau đó đồng hóa (1000rpm) ở áp suất cao (1000-2000bar) 2-3 lần để thu được dung dịch hạt nano curcumin.

Tài liệu “Engineering nano-curcumin with enhanced solubility and in-vitro anti-cancer bioactivity” của tác giả Dong Liu (10/2013) mô tả quy trình nghiền ướt để điều chế huyền phù nano bao gồm bước: nạp được chất, chất đệm thích hợp, chất ổn định, nước, các hạt nghiền vào buồng nghiền; nghiền với tốc độ cao ở nhiệt độ không chế. Quy trình nghiền ướt này tạo thể phân tán nano curcumin trong nước sử dụng tinh bột biến tính làm chất ổn định, trong đó các hạt curcumin có kích thước giảm từ 2,4 μ m xuống 130-170nm. Tuy nhiên tài liệu này không mô tả việc sử dụng Tween 80 (polysorbate 80) làm chất bảo quản và axit ascorbic (vitamin C) làm chất điều chỉnh độ pH.

Tài liệu “Preparation and characterization of nanosuspensions for controlled drug delivery in preclinical research” của tác giả Frau Alexandra Hill (11/01/1985) mô tả quy trình điều chế huyền phù nano bằng cách nghiền ướt, trong đó các nguyên liệu được nạp vào buồng chứa cùng các hạt nghiền có đường kính nhỏ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 1,3mm. Tài liệu này mô tả các chất ổn định thường được sử dụng trong quy trình nghiền ướt để loại bỏ sự kết tụ của các hạt được nghiền là các polyme bao gồm các polysorbat. Tuy nhiên tài liệu này không mô tả cụ thể quy trình điều chế thể phân tán hệ nước chứa nano curcumin và việc sử dụng axit ascorbic (vitamin C) làm chất điều chỉnh độ pH.

Công bố đơn quốc tế số WO2010/123121 (công bố ngày 28/10/2010) mô tả phương pháp gia tăng profile hòa tan của các chất có hoạt tính sinh học bằng cách

nghiền các chất có hoạt tính sinh học (bao gồm curcumin) và các chất nền nghiền trong máy nghiền có các phân tử nghiền, trong thời gian đủ để các chất có hoạt tính sinh học phân tán trong chất nền, trong đó chất nền bao gồm axit ascorbic, các polysorbat (bao gồm cả polysorbate 80). Tuy nhiên, tài liệu này không đề cập đến phương pháp nghiền ướt để điều chế thể phân tán hệ nước chứa nano curcumin.

Một số sáng chế liên quan đến curcumin ở dạng nhũ hóa (200510042547.9, 200780008293.6, 200910101327.7, 201010214085.5), dạng dung dịch phân tán hạt rắn (200510035060.8), liposom (200610026576.0, 200810155819.X, 200910009097.1, 201010561666.6), hạt nano (200610125179.9, 200810159648.8, 200910201403.1, 201010528014.2).

Quy trình điều chế nano curcumin bằng phương pháp nghiền ướt chưa có thông tin về đăng ký sáng chế giống như quy trình này được công bố. Ưu điểm của phương pháp điều chế này là đơn giản và hiệu suất cao không đòi hỏi thiết bị phức tạp và không gây ô nhiễm môi trường bởi các chất phụ gia cũng như chất dư.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình điều chế nano curcumin phân tán trong dung dịch ở nồng độ cao để có thể sử dụng vào việc điều chế thực phẩm chức năng và nguyên liệu dược nhằm đáp ứng yêu cầu nêu trên. Quy trình điều chế tinh thể nano curcumin phân tán trong dung dịch ở nồng độ cao bằng phương pháp nghiền ướt trong môi trường axit hữu cơ kết hợp với chất hoạt động bề mặt để hạt curcumin vỡ thành hạt tinh thể nano để phân tán trong nước theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

bước 1: chuẩn bị nguyên liệu:

tinh nghệ curcumin	1- 10% khối lượng
chất hoạt động bề mặt Tween 80 (polysorbate 80)	0,5 - 1,5 % khối lượng
axit ascorbic	0,2 - 1,5% khối lượng
nước DI	80-90% khối lượng

bi nghiền có đường kính từ 1-3 mm

70%-100% khối lượng tính
theo tổng khối lượng của các
nguyên liệu

bước 2: điều chế nano curcumin phân tán trong dung dịch:

- (i) cho các nguyên liệu được chuẩn bị ở bước 1 vào bình chứa, đậy nắp kín rồi cho bình chứa nguyên liệu vào máy nghiền quay tròn đều với tốc độ 200 vòng/ phút trong khoảng thời gian 120 giờ thu được hỗn dịch, sau đó lọc hỗn dịch này qua lưới lọc bằng vải lụa hoặc rây để loại bi, thu được hỗn dịch chứa nano curcumin;
- (ii) phân tích hỗn dịch chứa nano curcumin thu được bằng TEM và phân bố kích thước hạt bằng máy DLS, sau đó xác định hàm lượng curcumin có trong hỗn dịch bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC);

bước 3: thu hồi sản phẩm:

thử nghiệm tính chất phân tán của nano curcumin trong hỗn dịch bằng cách cho 1 gam sản phẩm hỗn dịch chứa nano curcumin vào cốc thủy tinh chứa 200ml nước, thu được sản phẩm phân tán đồng nhất trong nước và hỗn dịch có màu vàng ánh xanh gồm các thành phần như sau:

nano curcumin	1-10% khối lượng,
chất hoạt động bề mặt Tween 80	0,5-1,5% khối lượng,
axit ascorbic	0,2-1,5% khối lượng,
nước DI	80-90% khối lượng.

Sản phẩm hỗn dịch chứa nano curcumin phân tán rất tốt trong nước và kích thước hạt tinh thể nano curcumin trung bình 50nm. Sản phẩm được bảo quản ở nhiệt độ 25°C, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng và không khí. Sau quá trình thực hiện điều chế hỗn dịch nano curcumin, hiệu suất của quy trình đạt được 90%.

Quy trình này không phát sinh chất thải và các nguyên liệu sử dụng thân thiện môi trường.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: Sơ đồ quy trình điều chế nano curcumin.

Fig. 2: Biểu đồ thể hiện phân bố hạt trong hỗn dịch nano curcumin được điều chế có sử dụng axit ascorbic và không sử dụng axit ascorbic.

Fig. 3: Ảnh TEM của curcumin.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Như trên đã đề cập, quy trình điều chế nano curcumin có 3 bước:

Bước 1: Chuẩn bị nguyên liệu

Nguyên liệu để điều chế tinh thể nano curcumin phân tán trong dung dịch gồm:

Tinh nghệ curcumin	1- 10% khối lượng
Chất hoạt động bề mặt tween 80 (polysorbate 80)	0,5-1,5% khối lượng
Axit ascorbic	0,2- 1,5% khối lượng
Nước DI	80-90% khối lượng
Bi nghiền có đường kính từ 1-3mm	khoảng 70%-100% khối lượng tính theo tổng khối lượng các nguyên liệu

Bước 2: Điều chế tinh thể nano curcumin phân tán trong dung dịch.

Nguyên liệu sau khi chuẩn bị được cho vào bình chứa, sau đó đậy nắp kín rồi cho bình nguyên liệu vào máy nghiền quay tròn đều với tốc độ 200 vòng/ phút, trong khoảng 120 giờ, ở nhiệt độ phòng. Sự tương tác giữa các viên bi với khối curcumin bằng lực quay tròn làm cho hạt curcumin vỡ ra thành hạt nhỏ, đồng thời sự có mặt của chất hoạt động bề mặt Tween 80 làm cho các hạt bị vỡ không kết dính lại, đồng thời sự có mặt của axit ascorbic để duy trì độ pH cũng như tương tác tĩnh điện của các phân tử curcumin với phân tử axit ascorbic làm cho hạt curcumin dễ vỡ thành hạt nhỏ. Các kỹ thuật nghiền cần điều kiện nhiệt độ 25 độ C, tốc độ quay 200V/phút. Tốc độ quay nhanh sẽ làm cho hỗn hợp nóng lên và sự va đập của bi dễ vỡ hơn.

Sau khi kết thúc quá trình nghiền, hỗn dịch được cho qua lưới lọc (bằng vải lụa hoặc rây) để loại bỏ và thu hồi hỗn dịch chứa nano curcumin. Sau khi thu hồi, hỗn dịch chứa nano curcumin được đem đi phân tích bằng TEM và phân bố kích thước hạt bằng máy DLS, sau đó xác định hàm lượng curcumin có trong hỗn dịch bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Hỗn dịch thu được là các hạt nano curcumin phân tán trong dung dịch.

Bước 3: Thu hồi sản phẩm

Nano curcumin sau khi thu được được đưa vào thử tính chất phân tán trong nước bằng cách cho 1 gam sản phẩm hỗn dịch chứa nano curcumin vào cốc thủy tinh chứa 200ml nước thấy sản phẩm phân tán đồng nhất trong nước và hỗn dịch có màu vàng ánh xanh.

Sản phẩm thu được gồm có thành phần như sau: nano curcumin 1-10%, chất hoạt động bề mặt Tween 80 0,5-1,5%; axit ascorbic 0,2-1,5%, nước DI 80-90%. Sản phẩm hỗn dịch chứa nano curcumin phân tán rất tốt trong nước và kích thước hạt tinh thể nano curcumin trung bình khoảng 50nm. Sản phẩm được bảo quản ở nhiệt độ 25°C, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng và không khí. Sau quá trình thực hiện điều chế hỗn dịch nano curcumin, hiệu suất của quy trình đạt được 90%.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Để điều chế 100ml hỗn dịch chứa nano curcumin nồng độ 10%, trước hết chuẩn bị bình chứa thể tích 200ml và lần lượt cho vào bình thể tích 200ml có nắp các nguyên liệu sau: 10g curcumin, tween 80 1,25g, axit ascorbic 1g, nước 87,75g, bi thủy tinh 1mm 69,8g, sau đó đậy kín bình và đặt bình vào máy nghiền quay, toàn bộ bình được nghiền quay trong 120 giờ và tốc độ quay 200 vòng/phút và ở nhiệt độ 25°C. Sau đó tách bi thủy tinh ra khỏi hỗn hợp bằng cách đổ hỗn hợp qua lưới lọc (200mesh) và thu được hỗn dịch nước lọc (nano curcumin). Sản phẩm được xác định kích thước hạt bằng phân bố kích thước hạt, kết quả cho thấy kích thước hạt

trung bình dưới 50nm. Phân tích định lượng sản phẩm bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao. Kết quả cho thấy hàm lượng curcumin là khoảng 9,1%.

Hiệu quả đạt được

Sản phẩm thu được là một hỗn dịch màu vàng có hàm lượng nano curcumin là 9,1% (tương đương với 9g nano curcumin), chất hoạt động bề mặt Tween 80 1,26%; axit ascorbic 1,01%, nước DI 88,63%. Kích thước hạt trung bình của tinh thể nano curcumin khoảng 50nm.

Sau quá trình thực hiện điều chế hỗn dịch nano curcumin, hiệu suất của quy trình đạt được 90%.

Quy trình này không phát sinh chất thải và các nguyên liệu sử dụng thân thiện môi trường.

Phương pháp nghiền ướt sử dụng rất phổ biến trong nhiều lĩnh vực trong đó ngành chế tạo sơn là được dùng rất nhiều.

Những hợp chất họ curcumin rất dễ bị hồ biến từ dạng keto sang enol hoặc ngược lại bởi nhiệt độ và tinh thể curcumin rất dễ vỡ khi tác động lực cơ học va đập, vì vậy quá trình nghiền ướt sử dụng một lực vừa đủ không sinh nhiệt kết hợp với chất hoạt động bề mặt làm cản trở quá trình kết tụ lại của hạt curcumin. So sánh với nhiều quy trình điều chế khác sử dụng nhiệt 60-80°C để hòa tan curcumin hoặc sử dụng một năng lượng lớn để đập vỡ curcumin để chuyển thành hạt nano vì vậy có khả năng làm phân hủy một phần curcumin.

Ngoài ra, quy trình này sử dụng rất ít phụ gia và rất ít giai đoạn điều chế vì vậy hiệu suất thu được sản phẩm rất cao, năng lượng sử dụng cho quy trình ít hơn, khả năng nhiễm bẩn trong quy trình sẽ hạn chế hơn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình điều chế tinh thể nano curcumin phân tán trong dung dịch ở nồng độ cao bằng phương pháp nghiền ướt trong môi trường axit hữu cơ kết hợp với chất hoạt động bề mặt để hạt curcumin vỡ thành hạt tinh thể nano để phân tán trong nước, quy trình này bao gồm các bước:

bước 1: chuẩn bị nguyên liệu:

tinh nghệ curcumin	1- 10% khối lượng
chất hoạt động bề mặt Tween 80 (polysorbate 80)	0,5 - 1,5 % khối lượng
axit ascorbic	0,2 - 1,5% khối lượng
nước DI	80-90% khối lượng
bi nghiền có đường kính từ 1-3 mm	70%-100% khối lượng tính theo tổng khối lượng của các nguyên liệu

bước 2: điều chế nano curcumin phân tán trong dung dịch:

(i) cho các nguyên liệu được chuẩn bị ở bước 1 vào bình chứa, đậy nắp kín rồi cho bình chứa nguyên liệu vào máy nghiền quay tròn đều với tốc độ 200 vòng/ phút trong khoảng thời gian 120 giờ thu được hỗn dịch, sau đó lọc hỗn dịch này qua lưới lọc bằng vải lụa hoặc rây để loại bi, thu được hỗn dịch chứa nano curcumin;

(ii) phân tích hỗn dịch chứa nano curcumin thu được bằng TEM và phân bố kích thước hạt bằng máy DLS, sau đó xác định hàm lượng curcumin có trong hỗn dịch bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC);

bước 3: thu hồi sản phẩm:

thử nghiệm tính chất phân tán của nano curcumin trong dung dịch bằng cách cho 1 gam sản phẩm hỗn dịch chứa nano curcumin vào cốc thủy tinh chứa 200ml nước, thu được sản phẩm phân tán đồng nhất trong nước và hỗn dịch có màu vàng ánh xanh gồm các thành phần như sau:

nano curcumin	1-10% khối lượng,
---------------	-------------------

chất hoạt động bề mặt Tween 80	0,5-1,5% khối lượng,
axit ascorbic	0,2-1,5% khối lượng,
nước DI	80-90% khối lượng.

Fig. 1 : Sơ đồ quy trình chế tạo Nano curcumin

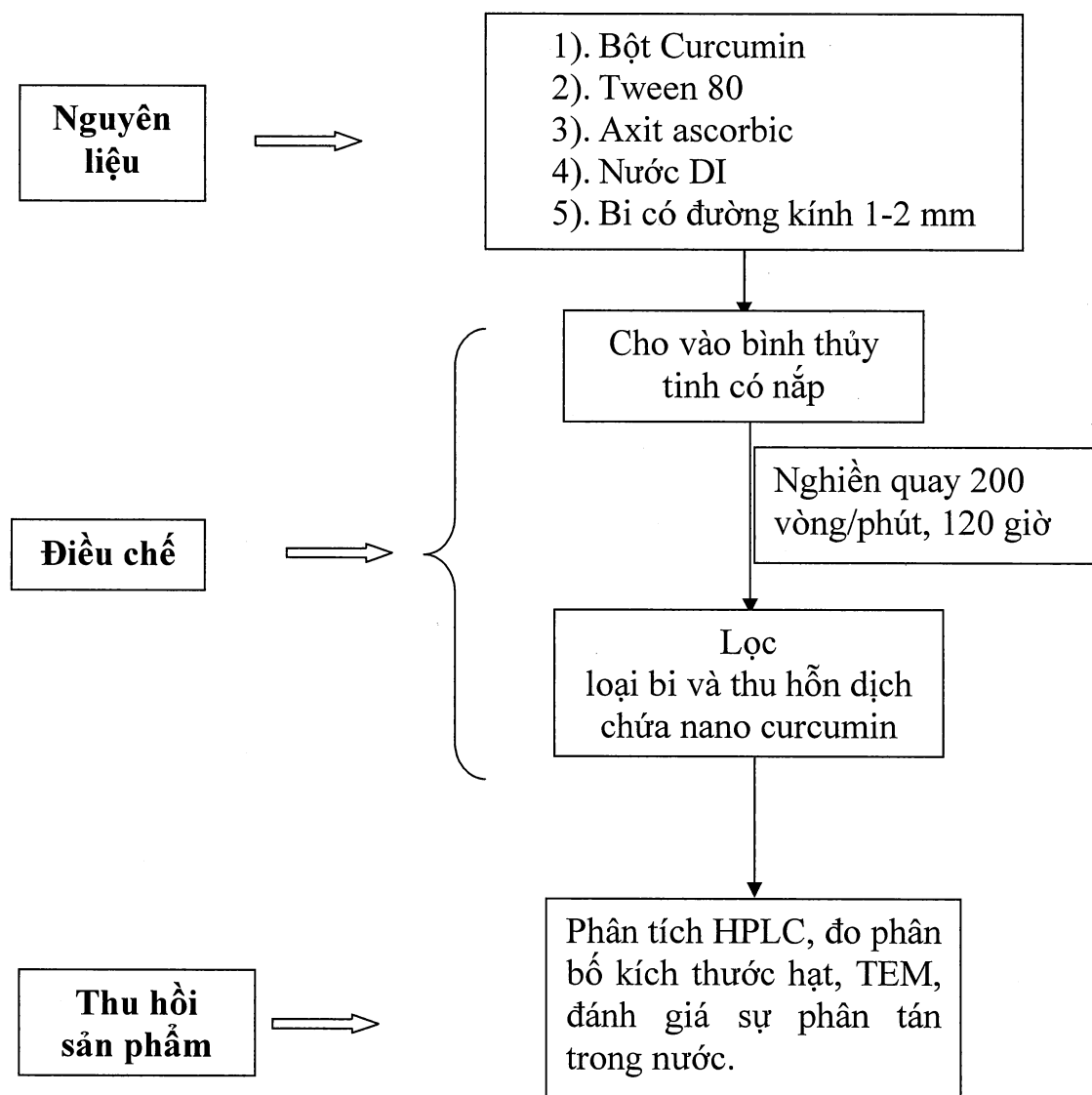
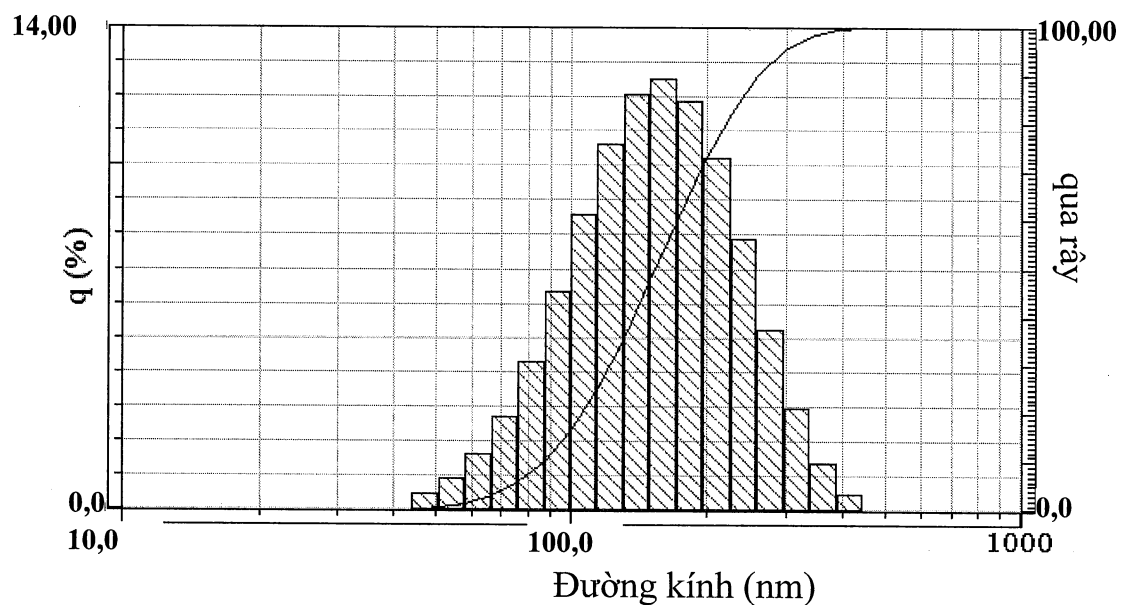
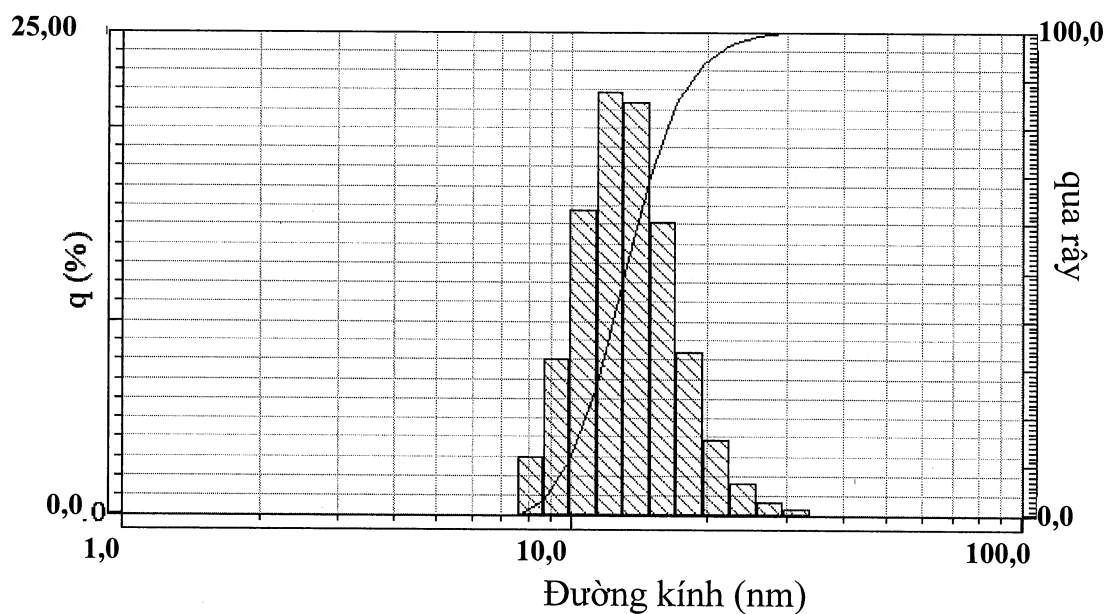


Fig. 2: Phân bố kích thước hạt nano curcumin trong hỗn dịch nano curcumin được điều chế có sử dụng axit ascorbic và không sử dụng axit ascorbic

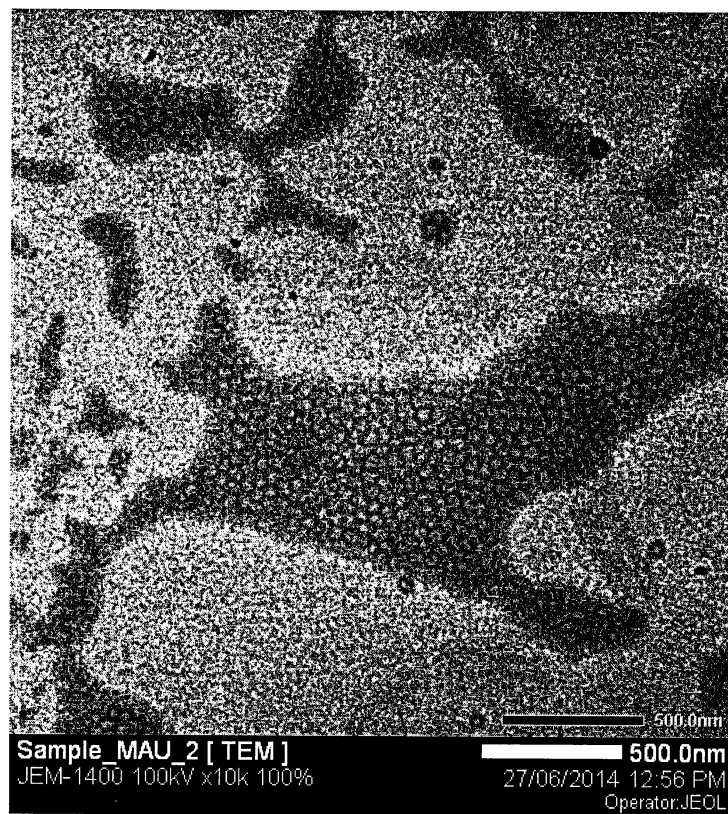


Hỗn dịch nano curcumin điều chế không sử dụng axit ascorbic



Hỗn dịch nano curcumin điều chế có sử dụng axit ascorbic

Fig. 3



Ảnh TEM của nano curcumin