



(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) (11)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**



**2-0002491**

(51) **A61K 31/4045; B82Y 40/00; A61K 9/107 (13) Y**  
2020.01

---

(21) 2-2020-00403

(22) 01/03/2019

(67) 1-2019-01060

(45) 25/11/2020 392

(43) 25/04/2019 373A

(73) **CÔNG TY CỔ PHẦN CÔNG NGHỆ MỚI NHẬT HẢI (VN)**

Số 9 BT2 Báo đảo Linh Đàm, phường Hoàng Liệt, quận Hoàng Mai, thành phố Hà Nội

(72) Lưu Hải Minh (VN); Bùi Quốc Anh (VN).

---

(54) **QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỆ VI NHŨ TƯƠNG NANO MELATONIN**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano melatonin, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị dung dịch melatonin; b) chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ PEG 1000/EG/lexitin; c) tạo hỗn hợp vi nhũ tương: dung dịch melatonin được cho vào hỗn hợp chất tạo nhũ theo tỷ lệ xác định; d) đồng hóa hỗn hợp vi nhũ tương.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano melatonin.

### **Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Melatonin (hay còn là N-acetyl-5-metoxytryptamin) là một loại hormon nội sinh trong cơ thể, được sản xuất từ tuyến tùng ở não. Nó có vai trò quan trọng trong việc điều hòa nhịp sinh học, giấc ngủ, tâm trạng của cơ thể. Ngoài ra, nó có tác dụng tăng cường hệ miễn dịch, chống oxy hóa rất mạnh, làm sạch gốc tự do, làm thay đổi hoạt động của các enzym chống oxy hóa. Melatonin được một số nước như Mỹ cho phép sử dụng dưới dạng thực phẩm chức năng giúp an thần gây ngủ, giảm đau. Bên cạnh đó, rất nhiều công trình đã nghiên cứu ứng dụng melatonin trong điều trị một số bệnh như rối loạn giấc ngủ, stress v.v... Siegrist và các cộng sự (2001) đã khảo sát tác dụng của melatonin trong điều trị chứng rối loạn giấc ngủ ở các bệnh nhân cao tuổi và trung niên. Kết quả công bố trên bài “Lack of changes in serum prolactin, FSH, TSH, and estradiol after melatonin treatment in doses that improve sleep and reduce benzodiazepine consumption in sleep-disturbed, middle-aged, and elderly patients” cho thấy melatonin là một chất an toàn và có tác dụng tốt trong điều trị bệnh rối loạn giấc ngủ ở người già. Hàm lượng melatonin giảm ở người cao tuổi là nguyên nhân dẫn đến bệnh Alzheimer đã được Matsubara và các cộng sự công bố (2003) trên “Melatonin rhythmicity: effect of age and Alzheimer's disease”. Các nhà khoa học còn nghiên cứu ứng dụng melatonin trong việc kiểm soát quá trình chuyển hóa axit béo trong máu và lipit ở gan dành cho người mắc tiểu đường tuýp 2. Nishida và các cộng sự đã tiến hành thử nghiệm trên chuột mắc bệnh tiểu đường tuýp 2, kết quả công bố trên “Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of Delta-5 desaturase activity” cho thấy melatonin giúp cải thiện quá trình chuyển hóa lipip. Melatonin còn có thể được sử dụng trong liệu pháp hỗ trợ điều trị bệnh động kinh. Gupta và các cộng sự đã thực hiện thí nghiệm trên các bệnh nhân động kinh có độ tuổi từ 3 đến

12 tuổi. Kết quả công bố trên “Add-on melatonin improves quality of life in epileptic children on valproate monotherapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial” (2004) cho thấy melatonin hoạt động như một chất chống oxy hóa, làm sạch gốc tự do, bảo vệ hệ thần kinh và dễ dàng xâm nhập vào hàng rào mạch máu não, do đó nó có thể làm giảm các tác nhân gây stress. Các nghiên cứu đã công bố chứng tỏ melatonin là một hợp chất tiềm năng trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến hệ thần kinh trung ương.

Tuy nhiên, melatonin là một hormon nội tiết nên thời gian bán phân hủy của nó rất ngắn, tính sinh khả dụng thấp do dễ bị biến đổi khi vận chuyển qua đường tiêu hóa. Hơn nữa, melatonin ít tan trong nước. Do những nhược điểm nêu trên, melatonin đã và đang được nghiên cứu chuyển hóa thành dạng có tính sinh khả dụng cao. Schaffazick và các cộng sự đã sử dụng Eudragit S100 như là một polymer bao bọc melatonin trong bài “Protective properties of melatonin-loaded nanoparticles against lipid peroxidation” (2006). Kết quả tạo ra các hạt nano có kích thước 255 nm với thế zeta âm. Ưu điểm của phương pháp này là đơn giản không đòi hỏi thiết bị phức tạp, hàm lượng melatonin được bao bọc cao gần 100%. Nhược điểm của phương pháp là kích thước hạt nano khá lớn.

Yuanyuan Li và các cộng sự đã sử dụng silica cùng với hợp chất hydroxypropyl methylxenuloza phthalat làm chất mang melatonin. Kết quả công bố trên “Melatonin-loaded silica coated with hydroxypropyl methylcellulose phthalate for enhanced oral bioavailability: Preparation, and in vitro-in vivo evaluation” cho thấy nồng độ melatonin của mẫu kết hợp với chất mang đã tăng lên trong máu so với mẫu không có chất mang. Phương pháp sử dụng chất bọc có ưu điểm là thời gian bảo quản lâu, nhưng kích thước hạt nano thường khá to. Bên cạnh phương pháp dùng chất mang, một số sáng chế công bố đã chuyển hóa melatonin thành dạng bột bằng phương pháp sấy phun. Loretta Maggi và các cộng sự đã công bố sáng chế “Melatonin-based solutions and powders for their preparation”, trong đó melatonin kết hợp với các chất hoạt động bề mặt khác nhau như tween 80, mannitol, lactoza, v.v... và được sấy phun để tạo thành dạng bột sử dụng qua đường uống hoặc đường tiêm. Kết quả tạo được các mẫu bột melatonin có kích thước trung bình từ 3 nm đến 63 nm. Dưới dạng bột melatonin có thời gian ổn định cao, nhưng phương pháp này đòi hỏi thiết bị đắt tiền, kỹ thuật cao do quá trình sấy thực hiện ở nhiệt

độ cao. Các sáng chế của nước ngoài đã được công bố với định hướng ứng dụng melatonin khác nhau và phương pháp chế tạo khác nhau có những ưu nhược điểm riêng, nhưng các sáng chế đều tạo được dạng nano melatonin có tính sinh khả dụng cao. Hiện nay, Ở Việt Nam hiện chưa có nghiên cứu nào công bố chế tạo melatonin dạng nano. Do đó, giải pháp hữu ích này đề cập đến quy trình tạo ra hệ vi nhũ tương nano melatonin có thời gian ổn định lâu dài và tính sinh khả dụng cao. Vi nhũ tương là một hệ phân tán có kích thước hạt từ 10 nm – 100 nm, có độ trong suốt cao, bền nhiệt động học, phân tán tốt trong nước và dầu, đồng thời giữ được hoạt tính của chất phân tán trong thời gian khá dài. Với những ưu điểm trên, phương pháp điều chế hệ vi nhũ tương hiện đang được ứng dụng trong công nghệ thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm.

### **Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Mục đích của giải pháp hữu ích là tạo chế phẩm melatonin có độ tan cao, cải thiện tính thấm qua màng tế bào, hoạt tính ổn định, độ bền hệ vi nhũ tương cao. Để đạt được mục đích này, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano melatonin bao gồm các bước sau:

- a) chuẩn bị dung dịch melatonin bằng cách hòa tan dung môi etanol;
- b) chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ: PEG 1000/EG/lexitin hỗn hợp được tạo thành với tỷ lệ xác định;
- c) tạo hỗn hợp vi nhũ tương: dung dịch melatonin được cho vào hỗn hợp chất tạo nhũ theo tỷ lệ xác định; và
- d) đồng hóa hỗn hợp vi nhũ tương: hỗn hợp trên được để qua đêm rồi thực hiện bằng thiết bị đồng hóa để thu được chế phẩm melatonin dạng lỏng có kích thước nano.

### **Mô tả vắn tắt hình vẽ**

Hình 1: Hình ảnh và kích thước tiểu phân melatonin chụp bằng TEM

### Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích mô tả chi tiết các phương án cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả chi tiết giải pháp hữu ích, chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ giải pháp hữu ích.

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano melatonin, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) Chuẩn bị dung dịch melatonin bằng cách hòa tan vào dung môi etanol theo tỷ lệ là 1:20 (g/g) ở nhiệt độ 40°C kết hợp rung siêu âm cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;

Dung môi etanol là một chất dễ bay hơi, hòa tan tốt melatonin và đã được sử dụng nhiều trong ngành thực phẩm, dược phẩm. Vì vậy, đây là dung môi an toàn thích hợp để tạo dung dịch melatonin. Tỷ lệ hòa tan phù hợp theo tính toán để đạt được chế phẩm có hàm lượng mong muốn là 1 g melatonin trong 20 g etanol.

b) Chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ PEG/EG/lexitin: Hỗn hợp PEG 1000, EG lexitin được trộn với tỷ lệ 3:30:1(g/g/g) và được khuấy trộn trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 40°C;

PEG là một polyme tổng hợp không độc, không thể hiện tính kháng nguyên, có hệ số phân bố dầu nước thích hợp. PEG đã được được điển các nước công nhận làm tá dược cho nhiều dạng thuốc khác nhau như dạng uống, dạng tiêm truyền và dùng trên da. Lexitin được tinh chế từ đậu nành có chứa một lượng lớn phospholipit, có tính chống oxy hóa cao. Ngoài ra, lexitin còn có tác dụng tăng cường quá trình hấp thụ các chất béo, môi trường hòa tan tốt các vitamin. Do đó, hỗn hợp tạo nhũ PEG/EG/lexitin được sử dụng để tăng khả năng hấp thụ vận chuyển melatonin trong cơ thể, đồng thời là chất bảo vệ melatonin khỏi các tác nhân oxy hóa.

c) Tạo hỗn hợp vi nhũ tương: Dung dịch melatonin được trộn với hỗn hợp chất tạo nhũ với tỷ lệ 10:90 (g/g) trong thiết bị tạo nhũ với nhiệt độ 40°C trong 10 phút để tạo thành hỗn hợp đồng nhất; và

d) Hỗn hợp vi nhũ tương thu được ở bước c được để qua đêm, ở nhiệt độ phòng, sau đó được đồng hóa với tốc độ 2000 vòng/phút và lặp lại 5 lần để loại bỏ dung môi và thu được hệ vi nhũ tương nano melatonin.

### **Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích**

Ví dụ: Chế tạo 100 g hệ vi nhũ tương nano melatonin

Chuẩn bị dung dịch melatonin bằng cách hòa tan 2 g melatonin vào 40 g dung môi etanol ở nhiệt độ 40°C kết hợp rung siêu âm cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;

Chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ PEG/EG/lexitin bằng cách trộn 9 g PEG 1000 vào 90 g EG, sau đó bổ sung 3 g lexitin. Hỗn hợp được khuấy trộn trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 40°C;

Trộn 10 g dung dịch melatonin được trộn với 90 g hỗn hợp chất tạo nhũ trong thiết bị tạo nhũ ở nhiệt độ 40°C trong 10 phút để tạo thành hỗn hợp đồng nhất;

Hỗn hợp vi nhũ tương trên được để qua đêm, ở nhiệt độ phòng, sau đó được đồng hóa với tốc độ 2000 vòng/phút và lặp lại 5 lần để loại bỏ dung môi và thu được 100 g hệ vi nhũ tương nano melatonin.

Tiến hành thí nghiệm như phần mô tả chi tiết giải pháp hữu ích ở trên. Sản phẩm tạo thành được tiến hành kiểm tra với các phương pháp phân tích hiện đại. Kết quả phân tích như sau:

#### **1. Kết quả đo HR-TEM**

Mẫu nano melatonin dạng dung dịch phân tán trong dung môi nước được tiến hành phân tích bằng kính hiển vi điện tử truyền qua có độ phân giải cao (HR-TEM) JEM 2100. Kết quả HR-TEM cho thấy dung dịch melatonin phân tán tốt trong nước, có chứa các hạt nano melatonin hình cầu có đường kính khoảng 10-30 nm.

#### **2. Kết quả phân tích hàm lượng**

Hàm lượng của melatonin trong mẫu được đo bằng HPLC. Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng melatonin trong mẫu phân tích đạt 9,76 %.

#### **3. Kết quả phân tích chỉ tiêu hóa lý và vi sinh vật**

Mẫu nano melatonin sau khi chế tạo được đi kiểm nghiệm các tiêu chuẩn về vi sinh vật và hóa lý. Kết quả kiểm nghiệm được thể hiện trong bảng dưới đây:

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	Kết quả
10.1	Tổng vi sinh vật hiếu khí	CFU/mL	ISO 4833-1:2013	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.2	<i>Cl. Perfringens</i>	CFU/mL	TCVN 4991:2005	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.3	Coliforms	CFU/mL	TCVN 6848:2007	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.4	<i>E. coli</i>	CFU/mL	TCVN 7924 -2:2008	KPH (LOD:1CFU/mL)
10.5	Tổng số bào tử nấm men-mốc		TCVN 8275-1:2010	KPH (LOD:1 CFU/mL)
10.6	Hàm lượng Cadmi	mg/kg	H.HD.QT.429(ICP-MS)	KPH (LOD:0,004 mg/kg)
10.7	Hàm lượng Chì	mg/kg	H.HD.QT.429(ICP-MS)	<0.025
10.8	Độ pH	-	H.HD.QT.070	8,64
10.9	Tỷ trọng	g/mL	NIFC.05.M.197	1,056

Kết quả cho thấy, mẫu melatonin chế tạo được đạt các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm.

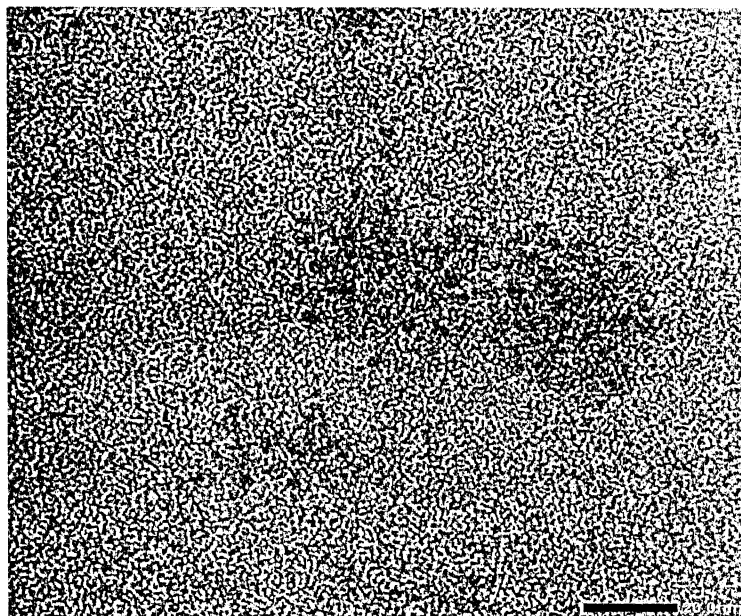
#### Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Đã chế tạo thành công hệ vi nhũ tương có chứa các tiểu phân nano melatonin có kích thước tiểu phân trong khoảng 10-30 nm, hàm lượng melatonin trong hệ vi nhũ là 9,76 %

**Yêu cầu bảo hộ**

1. Quy trình điều chế hệ vi nhũ tương nano melatonin, trong đó quy trình này bao gồm các bước:
  - a) chuẩn bị dung dịch melatonin bằng cách hòa tan vào dung môi etanol theo tỷ lệ là 1:20 (g/g) ở nhiệt độ 40°C kết hợp rung siêu âm cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất;
  - b) chuẩn bị hỗn hợp chất tạo nhũ PEG/EG/lexitin, trong đó hỗn hợp bao gồm PEG 1000, EG, lexitin được trộn với tỷ lệ 3:30:1(g/g/g) và được khuấy trộn trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 40°C;
  - c) tạo hỗn hợp vi nhũ tương, trong đó dung dịch melatonin được trộn với hỗn hợp chất tạo nhũ với tỷ lệ 10:90 (g/g) trong thiết bị tạo nhũ với nhiệt độ 40°C trong 10 phút để tạo thành hỗn hợp đồng nhất; và
  - d) để hỗn hợp vi nhũ tương thu được ở bước c) qua đêm, ở nhiệt độ phòng, sau đó được đồng hóa với tốc độ 2000 vòng/phút và lặp lại 5 lần để loại bỏ dung môi và thu được hệ vi nhũ tương nano melatonin.





*Hình 1. Hình ảnh và kích thước tiểu phân melatonin chụp bằng TEM*