



(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)



2-0003037

(51) **A61K 36/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00466

(22) 25/09/2019

(67) 1-2019-05217

(45) 25/01/2023 418

(43) 25/11/2019 380A

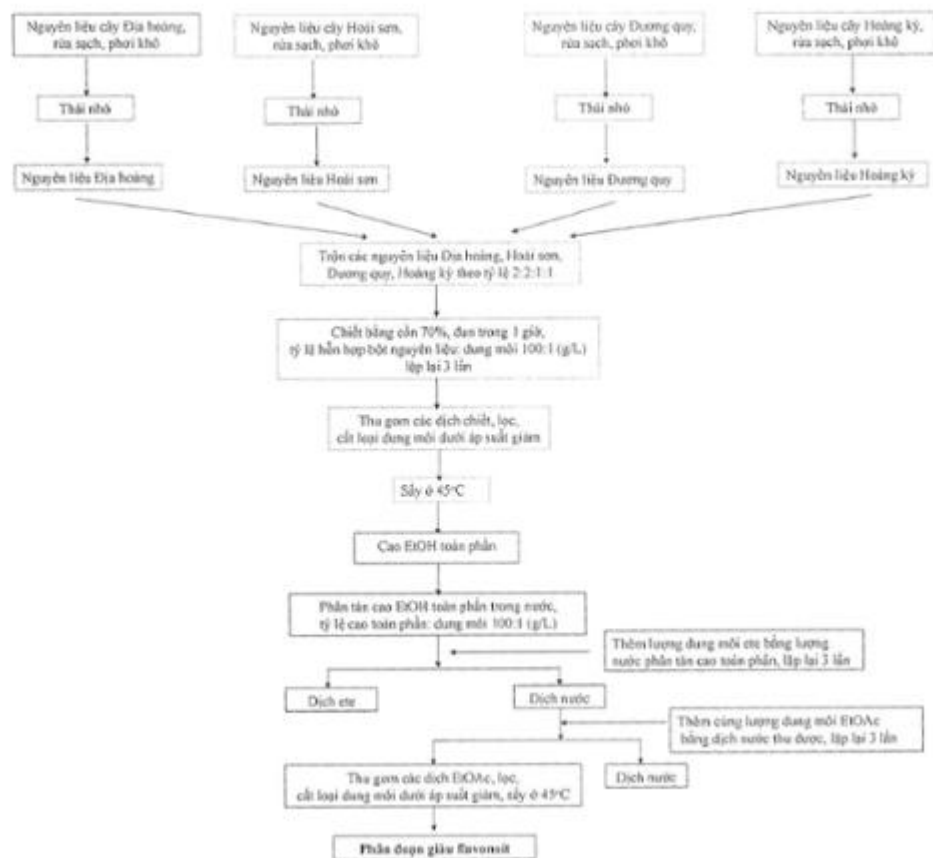
(73) **TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC, ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI (VN)**

Nhà Y1, 144 Xuân Thủy, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) **ĐẶNG KIM THU (VN); BÙI THANH TÙNG (VN).**

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT PHÂN ĐOẠN GIÀU FLAVONOIT HỮU ÍCH TRONG ĐIỀU
TRỊ ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TỪ ĐỊA HOÀNG, HOÀI SƠN, ĐƯƠNG QUY VÀ HOÀNG KỲ**

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất phân đoạn giàu flavonoid hữu ích trong điều trị đái tháo đường từ Địa hoàng (*Rehmannia glutinosa Libosch.*), Hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk.), Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Deils) và Hoàng kỳ (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge) bao gồm các bước: i) chuẩn bị nguyên liệu; ii) tạo hỗn hợp nguyên liệu; iii) chiết hỗn hợp bột nguyên liệu bằng cồn 70%; và iv) tạo phân đoạn giàu flavonoid.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất phân đoạn giàu flavonoit của bài thuốc hữu ích điều trị bệnh đái tháo đường từ Địa hoàng (*Rehmannia glutinosa* Libosch.), Hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk.), Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Deils) và Hoàng kỳ (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) là bệnh rối loạn chuyển hóa glucoza huyết được đặc trưng bởi tế bào beta bị tổn thương nên không thể tạo đủ insulin cho cơ thể hoặc có sự kháng insulin dẫn đến tăng glucoza huyết. Bệnh gây ra nhiều biến chứng nguy hiểm nhất là về tim mạch, mắt, thận, thần kinh. Sự tăng glucoza huyết mạn tính sẽ làm tăng tình trạng stress oxy hóa (căng thẳng oxy hóa) của tế bào, mô và cơ quan; stress oxy hóa được chứng minh chính là nguyên nhân của các biến chứng ở bệnh đái tháo đường. Hiện nay được liệu được sử dụng nhiều trong việc phòng ngừa và điều trị bệnh đái tháo đường. Việc kết hợp các dược liệu trong một hỗn hợp sẽ phát huy được tác dụng tốt hơn từng thành phần dược liệu riêng biệt. Flavonoit được chứng minh có khả năng bảo vệ cơ thể chống lại các gốc tự do, kháng viêm, chống oxy hóa do đó làm giảm nguy cơ mắc bệnh đái tháo đường. Do đó, flavonoit toàn phần thu được từ bài thuốc có các thành phần dược liệu khác nhau sẽ có tác dụng cho việc phòng và điều trị bệnh đái tháo đường.

Bản chất của kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là để giải quyết các vấn đề nêu trên. Do đó, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất phân đoạn giàu flavonoit của bài thuốc gồm các

thành phần Địa hoàng, Hoài sơn, Đương quy và Hoàng kỳ để điều trị tiểu đường gồm các bước:

- bước i) Chuẩn bị nguyên liệu;
- bước ii) Tạo hỗn hợp nguyên liệu;
- bước iii) Chiết hỗn hợp nguyên liệu;
- bước iv) Tạo phân đoạn giàu flavonoit.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ quy trình sản xuất phân đoạn giàu flavonoit của bài thuốc gồm Địa hoàng (*Rehmannia glutinosa* Libosch.), Hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk.), Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Deils) và Hoàng kỳ (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge) theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế quy trình chiết xuất phân đoạn giàu flavonoit của bài thuốc dùng để điều trị bệnh đái tháo đường gồm các bước như sau:

- bước i) chuẩn bị nguyên liệu: thu nguyên liệu gồm rễ cây Địa hoàng (*Rehmannia glutinosa* Libosch.), củ cây Hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk.), rễ cây Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Deils) và rễ cây Hoàng kỳ (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge), rửa sạch, phơi khô đến độ ẩm dưới 13%, sau đó thái nhỏ đến kích cỡ nhỏ hơn 2cm để thu được nguyên liệu riêng rẽ của từng dược liệu, đều đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm;
- bước ii) tạo hỗn hợp nguyên liệu: trộn các nguyên liệu thu được từ bước i), trong đó Địa hoàng, Hoài sơn, Đương quy và Hoàng kỳ có tỷ lệ khối lượng tương ứng là 2:2:1:1 để thu được hỗn hợp bột nguyên liệu;
- bước iii) chiết hỗn hợp nguyên liệu bằng cồn 70% đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp nguyên liệu:dung môi là 100:1 (g/L), trong đó, việc chiết này được lặp lại 3 lần. Gộp các dịch chiết, lọc qua giấy lọc, gộp dịch lọc và thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 45°C thu được cao chiết toàn phần.

- bước iv) Tạo phân đoạn giàu flavonoid: Cao chiết toàn phần được phân tán vào nước cất theo tỷ lệ cao toàn phần: nước 100:1 (g/L). Sau đó, thêm cùng một lượng thể tích dung môi ete vào, để lắng, tách lớp và thu lấy phần dung môi nước, lặp lại 3 lần. Tiếp đó, thêm cùng một lượng thể tích dung môi etyl axetat vào phần nước thu được, để lắng, tách lớp và thu lấy phần dung môi etyl axetat, quá trình này lặp lại 3 lần, sau đó gộp các dịch etyl axetat thu được, lọc qua giấy lọc, và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 45°C thu được phân đoạn giàu flavonoid.

Địa hoàng có tên khoa học là *Rehmannia glutinosa* Libosch., là một cây thuộc họ thân thảo, chiều cao thân từ 10-30 cm, toàn cây có lông mềm và lông bài tiết màu tro trắng. Thân rễ lúc đầu mọc thẳng, sau mọc ngang, đường kính từ 0,4 đến 2-3cm. Lá mọc vòng ở gốc, ít khi thấy ở thân, phiến lá hình trứng ngược, dài 3-15cm, rộng 1,5-6cm, đầu lá hơi tròn, phai cuống hẹp lại, mép lá có răng cưa mập mô không đều, phiến lá có nhiều gân nổi ở mặt dưới chia lá thành những múi nhỏ. Mùa hạ nở hoa màu tím đỏ mọc thành chum ở đầu cành. Đài và tràng đều hình chuông, tràng hơi cong, dài 3-4cm, mặt ngoài tím sẫm, mặt trong hơi vàng với những đốm tím, 4 nhị với 2 nhị lớn. Trong địa hoàng có glucozit, glucoza và một lượng nhỏ caroten, alkaloid. Địa hoàng có tác dụng điều hoà đường huyết, lợi tiểu, tăng cường sức khoẻ tim mạch. Địa hoàng được dùng trong bệnh đái tháo đường, thiếu máu, suy nhược, khuynh hướng chảy máu.

Hoài sơn, có tên khoa học là *Dioscorea persimilis* Prain et Burk., họ củ nâu Dioscoreaceae, là một loại dây leo ở trên mặt đất, có thân củ. Củ có thể dài 1 mét, đường kính 2-10cm với nhiều rễ con. Thân cây nhẵn, hơi có góc cạnh, ở kẽ lá có những củ con. Lá đơn, mọc đối hoặc có khi so le, đầu lá nhọn, cuống hình tim, phiến lá dài 8-10cm, rộng 6-8cm. Cuống dài 1,5-3,5cm. Hoa đực, hoa cái khác gốc. Quả khô có 3 cạnh và có dìa. Mùa hoa vào tháng 7-8. Mùa quả vào tháng 9-10. Ngoài tinh bột, trong hoài sơn còn có muxin là một loại protit nhớt, alantoin, axit amin, acginin, cholin, saponin. Về công dụng, ngoài việc dùng để ăn, hoài sơn là vị thuốc thường dùng trong các trường hợp ăn uống khó tiêu, viêm ruột kinh niên, di

tinh, đi đái đêm, mồ hôi trộm, đái đường. Theo đông y, hoài sơn vị ngọt, tính bình, có tác dụng bổ tỳ vị, lợi niệu, bổ phế thận, sinh tân chỉ khát, bình suyễn, sáp tinh. Hoài sơn thường dùng chữa tả lỵ lâu ngày, tiêu khát, hư lao sinh ho, di tinh, đái hạ, tiểu tiện nhiều lần.

Đương quy có tên khoa học là *Angelica sinensis* (Oliv.) Deils là một loài thực vật có hoa trong họ Hoa tán (Apiaceae), là cây thảo sống nhiều năm, cao từ 40cm -1m. Thân hình trụ, có rãnh dọc, lá kép xẻ 3 lần lông chim, cuống lá dài, có bẹ ôm lấy thân, mép lá chia thùy và răng cưa không đều. Hoa tự hình tán kép, màu trắng xanh. Quả bế có rìa màu tím nhạt. Toàn cây có mùi thơm đặc biệt. Bộ phận dùng của Đương quy là rễ. Đương quy chứa chủ yếu là tinh dầu, các hợp chất phenol, coumarin, axit hữu cơ, polysaccharit, axit amin, caroten, vitamin B12. Đương quy có vị ngọt, hơi đắng, hơi cay, mùi thơm, tính ấm; có tác dụng bổ huyết, hoạt huyết, điều kinh, thông kinh, dưỡng gân, tiêu sưng, nhuận tràng. Trong đông y thường được dùng chữa các chứng bệnh: suy nhược, thiếu máu, táo bón, cao huyết áp, kém ăn, ra mồ hôi nhiều, phụ nữ tắc kinh, hành kinh đau bụng.

Hoàng kỳ có tên khoa học là *Astragalus membranaceus* (Fisch). Bunge, là cây thảo sống lâu năm, phân nhánh nhiều, cao khoảng 50-70cm. Rễ hình trụ, đường kính 1-2cm, dài và đâm sâu, dai, khó bẻ, vỏ ngoài màu nâu đỏ hay vàng nâu. Lá kép lông chim lẻ, mọc so le gồm 15-25 lá chét hình trứng dài, có lông trắng mịn ở mặt dưới. Cụm hoa chùm ở nách lá, dài hơn lá, mang 5-20 hoa màu vàng tươi. Quả đậu dẹt, đầu thuôn dài thành mũi nhọn, mặt ngoài có lông ngắn; hạt hình thận màu đen. Các thành phần có hoạt tính sinh học thuộc nhóm polysaccharit và saponin. Hoàng kỳ có tác dụng tăng cường chức năng miễn dịch cơ thể, thúc đẩy quá trình chuyển hóa trong cơ thể, lợi tiểu, tăng lực co bóp cơ tim, hạ áp, bảo vệ gan. Hoàng kỳ được dùng để chữa bệnh đái tháo đường, đái buốt, đái đục, phù thũng, viêm thận mạn tính, albumin niệu, lở loét, phong thấp, đau xương.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: sản xuất chế phẩm cao chiết bằng quy trình theo sáng chế: thu hái rễ củ của cây Địa hoàng, củ của cây Hoài sơn, rễ của cây Đương quy và rễ của cây Hoàng kỳ rồi phơi khô tất cả đến độ ẩm dưới 13%, thái nhỏ đến kích cỡ nhỏ hơn 2cm tạo thành nguyên liệu dùng để chiết. Tạo hỗn hợp nguyên liệu gồm 200g địa hoàng, 200g hoài sơn, 100g đương quy và 100g hoàng kỳ. Chiết 600g hỗn hợp nguyên liệu này bằng cồn 70%, đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp nguyên liệu: dung môi là 600(g):6(L), lặp lại 3 lần. Thu gom các dịch chiết, lọc và lấy phần dịch lọc; cất loại dung môi dưới áp suất giảm rồi sấy trong tủ sấy ở 45°C tới khối lượng không đổi, thu được 65 gam cao toàn phần. Cao chiết toàn phần được phân tán vào 600ml nước cất. Sau đó, thêm 650mL dung môi ete vào, để tách lớp và thu lấy phần dung môi nước, lặp lại 3 lần. Tiếp đó, thêm 650mL dung môi etyl axetat vào phần nước thu được, để tách lớp và thu lấy phần dung môi etyl axetat, lặp lại 3 lần. Tiến hành cô quay dưới áp suất giảm loại bỏ toàn bộ dung môi etyl axetat, rồi sấy trong tủ sấy ở 45°C tới khối lượng không đổi, thu được 45 gam phân đoạn giàu flavonoid.

Ví dụ 2: Tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường *in vivo*

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng $25,0 \pm 2,0$ g để nghiên cứu tác dụng điều trị rối loạn lipid máu và bệnh đái tháo đường do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm từ 3-5 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu. Hóa chất sử dụng là Glibenclamide (Việt Nam), Streptozotocin (Sigma, Singapore).

a) Tác dụng điều trị bệnh tiểu đường *in vivo*

Gây tiểu đường

Chuột bị gây tiểu đường bằng cách tiêm màng bụng STZ (80mg/kg thể trọng). STZ được hòa tan trong dung dịch đệm natri xitrat 10mM (pH 4,0), nhóm

chứng sinh lý được tiêm dung dịch đệm. Tình trạng bệnh tiểu đường được xác định bằng nồng độ glucoza huyết.

Quá trình thí nghiệm

Chuột nhắt được chia ngẫu nhiên thành 4 nhóm, mỗi nhóm 10 con, được điều trị theo chương trình như sau:

Nhóm I: là nhóm chứng sinh lý;

Nhóm II: Nhóm chứng STZ (80mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng).

Nhóm III: STZ (80mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + Glibenclamid (5mg/kg, đường uống) trong vòng 21 ngày.

Nhóm IV: STZ (80mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + cao chiết thu được theo ví dụ 1 (50mg/kg, thể trọng, đường uống) trong vòng 21 ngày.

Nồng độ glucoza được đo trong các khoảng thời gian xác định trong quá trình thí nghiệm. Tại ngày cuối của thí nghiệm, lấy máu chuột vào ống chứa sẵn heparin. Máu đem ly tâm với tốc độ vòng 3000 vòng/phút tại 25°C trong vòng 15 phút và đem phân tích các chỉ số sinh hóa: cholesterol toàn phần, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyxerit được đo bằng cách sử dụng các kit của hãng Biosino Biotechnology Company Ltd. (Beijing, PR China).

b) Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình $\pm$ SEM (Standard Error of the Mean: Sai số chuẩn của giá trị trung bình) và được xử lý thống kê bằng phần mềm SigmaPlot 10.0 theo phép kiểm One-way ANOVA và Tukey test với độ tin cậy lớn hơn 95% ($p < 0,05$).

c) Xác định hàm lượng flavonoit toàn phần

Hàm lượng flavonoit toàn phần được xác định theo phương pháp đo quang được tiến hành như sau: Thêm 50 μ L (1mg/mL ethanol) dung dịch mẫu thử vào 950 μ L metanol, rồi trộn với 4mL nước cất và sau đó thêm 0,3mL dung dịch NaNO₂ 5%; đem ủ 5 phút, sau đó thêm 0,3mL dung dịch AlCl₃ 10%, tiến hành ủ tiếp 6 phút. Sau đó, thêm 2mL dung dịch NaOH 1M và nước cất vừa đủ đến thể tích

10mL. Tiến hành ủ phản ứng 15 phút và đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 510nm. Hàm lượng flavonoid toàn phần được tính theo đường chuẩn, sử dụng quercetin làm chất chuẩn. Kết quả thu được cho thấy hàm lượng flavonoid toàn phần của phân đoạn cao chiết giàu flavonoid là 348.5 ± 3.4 mg quercetin/g cao.

Tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường của chế phẩm phân đoạn giàu flavonoid thu được theo ví dụ 1.

d) Kết quả tác dụng chống tiểu đường của cao chiết thu được theo ví dụ 1:

Nồng độ glucoza trong các nhóm chuột nghiên cứu được trình bày ở bảng 1 tóm tắt. Nhóm chuột tiểu đường tăng đáng kể nồng độ glucoza huyết khi so sánh với nhóm chứng sinh lý. Nhóm chuột tiểu đường điều trị bằng glibenclamide và nhóm chuột được điều trị bằng phân đoạn giàu flavonoid thu được theo ví dụ 1 liều 50 mg/kg đều giảm nồng độ glucoza so với trước khi điều trị và giảm đáng kể so với nhóm chứng bệnh tiểu đường ($p < 0,05$).

Bảng 1. Tác dụng của phân đoạn giàu flavonoid thu được theo ví dụ 1 lên nồng độ glucoza huyết (mmol/L) trên chuột bị tiểu đường do streptozotocin

	Ngày 0	Ngày 21
Nhóm I	$6,7 \pm 1,1$	$6, \pm 1,2$
Nhóm II	$15,9 \pm 1,4$	$15,8 \pm 2,1^{\#}$
Nhóm III	$15,6 \pm 1,3$	$12,1 \pm 1,5^*$
Nhóm IV	$15,8 \pm 1,5$	$12,8 \pm 1,4^*$

*Khác biệt có ý nghĩa thống kê, $^{\#}p < 0,05$ so sánh với nhóm I; $^*p < 0,05$ so sánh với nhóm II.*

Bảng 2 trình bày tác dụng của phân đoạn giàu flavonoid thu được theo ví dụ 1 lên nồng độ lipid máu của các nhóm chuột nghiên cứu. Nhóm chuột được điều trị bằng phân đoạn giàu flavonoid thu được theo ví dụ 1 liều 50mg/kg có khả năng làm hạ nồng độ cholesterol toàn phần, triglyxerit và LDL-cholesterol đáng kể so với nhóm chứng bệnh ($p < 0,05$). Hơn nữa, phân đoạn giàu flavonoid thu được theo ví dụ 1 liều

50mg/kg còn có tác dụng làm tăng đáng kể nồng độ HDL-cholesterol so với nhóm chứng bệnh ($p<0,05$).

Bảng 2. Tác dụng của phân đoạn giàu flavonoit thu được theo ví dụ 1 lên lipit máu (mg/ml) trên chuột bị tiểu đường do streptozotocin

Nhóm	Cholesterol toàn phần (mg/ml)	Triglyxerit (mg/ml)	HDL cholesterol (mg/ml)	LDL cholesterol (mg/ml)
Nhóm I	46,7 ± 3,4	58,4 ± 6,7	42,9 ± 4,1	16,8 ± 2,9
Nhóm II	85,1 ± 5,7 [#]	98,8 ± 7,3 [#]	17,2 ± 3,5 [#]	49,5 ± 2,1 [#]
Nhóm III	64,4 ± 4,8 [*]	72,5 ± 6,2 [*]	32,1 ± 2,4 [*]	28,7 ± 3,3 [*]
Nhóm IV	69,5 ± 5,7 [*]	77,3 ± 4,9 [*]	35,7 ± 2,8 [*]	34,2 ± 2,8 [*]

Khác biệt có ý nghĩa thống kê, [#] $p<0,05$ so sánh với nhóm I; ^{} $p<0,05$ so sánh với nhóm II.*

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Sáng chế đã tìm ra phương pháp sản xuất phân đoạn giàu flavonoit từ bài thuốc để phát huy được tính hiệp đồng của các thành phần dược liệu từ cây địa hoàng, hoài sơn, đương quy và hoàng kỳ, trong đó việc kết hợp thành phần dược liệu từ cây địa hoàng, hoài sơn, đương quy và hoàng kỳ, theo tỷ lệ khối lượng 2:2:1:1 làm cho chế phẩm phân đoạn giàu flavonoit từ bài thuốc có hiệu quả điều trị bệnh đái tháo đường. Chế phẩm phân đoạn giàu flavonoit từ bài thuốc của các cây địa hoàng, hoài sơn, đương quy và hoàng kỳ với liều 50mg/kg có tác dụng điều trị rối loạn lipit máu và bệnh đái tháo đường do STZ liều 80mg/kg gây ra ở chuột nhắt trắng. Tác dụng ấy thể hiện thông qua tác dụng giảm nồng độ glucoza huyết, triglyxerit máu, LDL-cholesterol, làm tăng HDL-cholesterol.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất phân đoạn giàu flavonoid hữu ích trong điều trị đái tháo đường bao gồm các bước:

- bước i) chuẩn bị nguyên liệu: thu riêng rễ rễ của cây Địa hoàng (*Rehmannia glutinosa* Libosch.), củ của cây Hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk.), rễ của cây Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Deils) và rễ của cây Hoàng kỳ (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge), rửa sạch, phơi khô đến độ ẩm dưới 13%, sau đó, thái nhỏ đến kích cỡ nhỏ hơn 2cm để thu riêng rễ của từng nguyên liệu được liệt;

- bước ii) tạo hỗn hợp nguyên liệu: trộn các nguyên liệu riêng rẽ thu được từ bước i) theo tỷ lệ khối lượng Địa hoàng: Hoài sơn: Đương quy: Hoàng kỳ tương ứng là 2:2:1:1 để thu được hỗn hợp bột nguyên liệu;

- bước iii) chiết hỗn hợp nguyên liệu: bằng cồn 70% đun trong 1 giờ theo tỷ lệ hỗn hợp bột nguyên liệu: dung môi 100:1 (g/L), trong đó, việc chiết này được lặp lại 3 lần, gộp các dịch chiết, lọc qua giấy lọc, gộp dịch lọc và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 45°C thu được cao chiết toàn phần;

- bước iv) tạo phân đoạn giàu flavonoid: phân tán cao chiết toàn phần ở bước iii) vào nước cất theo tỷ lệ cao toàn phần: nước là 100:1 (g/L), sau đó, thêm cùng lượng thể tích dung môi ete vào cao chiết toàn phần sau phân tán, để tách lớp và thu lấy phần dung môi nước, lặp lại 3 lần, tiếp đó, thêm cùng một lượng thể tích dung môi etyl axetat vào phần nước thu được, để tách lớp và thu lấy phần dung môi etyl axetat, quá trình này lặp lại 3 lần, sau đó gộp các dịch etyl axetat thu được, lọc qua giấy lọc, và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, sấy khô ở 45°C thu được phân đoạn giàu flavonoid.

Hình 1

