



(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)



2-0003166

(51)⁷ **A61K 31/00**

(13) **Y**

(21) 2-2019-00025

(22) 16/01/2019

(45) 26/06/2023 423

(43) 27/07/2020 388AHI

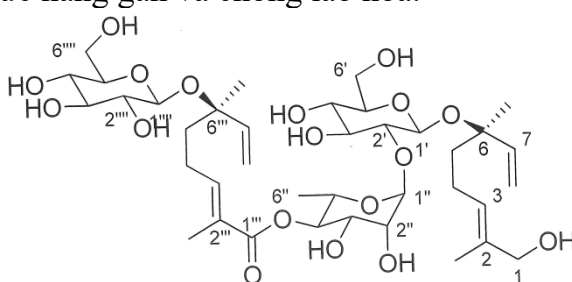
(73) Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (VN)

18 Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Chu Quang Truyền (VN); Ngô Kim Chi (VN); Nguyễn Mai Linh (VN); Đặng Ngọc Phụng (VN); Trần Ngọc Lân (VN); Võ Quyết Tiến (VN); Đào Ngọc Hoàng (VN); Nguyễn Văn Tiến (VN); Trần Thị Thu Thủy (VN); Đỗ Hữu Nghị (VN); Cầm Thị Ảnh (VN).

(54) HỢP CHẤT 1-HYDROXYANATOLIOSIDE B VÀ PHƯƠNG PHÁP CHIẾT HỢP CHẤT NÀY TỪ CÂY CHÈ VÀNG (*JASMINUM SUBTRIPLINERVE* BLUME)

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B có công thức (I) và phương pháp chiết hợp chất này từ cây chè vàng (*Jasminum suptriplinerve* Blume). Hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B có tác dụng trong điều trị và phòng ngừa các bệnh về gan cũng như hỗ trợ chức năng gan và chống lão hoá.



I

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B và phương pháp chiết hợp chất này từ cây chè vằng (*Jasminum suptriplinerve Blume*). Hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B lần đầu tiên được phân lập và xác định cấu trúc và được xác định là này có tác dụng chống oxy hóa.

Tình trạng kỹ thuật giải pháp hữu ích

Chè vằng có tên khoa học là *Jasminum suptriplinerve Blume*, thuộc họ Nhài (*Oleaceae*). Chè vằng là thuốc bổ đẳng dùng rất tốt cho phụ nữ đẻ, chè vằng có thể trị nhiễm khuẩn sau khi sinh, viêm hạch bạch huyết, viêm tử cung, viêm tuyến sữa, bế kinh, khí hư, thấp khớp, nhức xương. Hiện trong lễ hội rước kiệu tại La Vang, lá chè vằng vẫn được hái lá phơi khô bán cho sản phụ uống như một vị thuốc bồi dưỡng sức khỏe, gia tăng máu huyết, làm co rút tử cung của sản phụ nhanh mà không đau bụng, làm sản phụ nhiều sữa, gương mặt tươi tắn hồng hào. Chè vằng không chỉ được sử dụng ở Quảng trị, mà đã được nhiều dân tộc sử dụng từ lâu đời như một thứ nước uống hàng ngày nhằm tăng sức lực, chống bệnh tật v.v.. Đây là một cây thuốc đặc biệt và tri thức độc đáo của nhân dân ta.

Chè vằng (*Jasminum subtriplinerve Blume*) là một loài cây mọc khá phổ biến ở miền Trung và đặc biệt nổi tiếng là chè vằng La Vang – Quảng Trị, được sử dụng rộng rãi trong dân gian cho các mục đích kháng khuẩn, chống viêm, thông kinh, thông huyết, chữa bệnh ngoài da chữa viêm tuyến sữa, trị thiếu máu, điều kinh, bổ gan, thải độc, giảm sốt, ổn định huyết áp, kích thích tiêu hoá, giảm co thắt, ngủ không ngon giấc, chống oxy hoá, thải độc gan. Nghiên cứu từ những năm 1984 cho thấy chè vằng có terpenoid, glycozit đắng, flavonoid, syringin. Nhiều hợp chất có được tính tốt đã biết như betulin, axit betulinic, 3 β axetyl oleanoic, axit

oleanolic, lupeol, β -sitosterol, còn phát hiện 6 terpen glycozit đặc trưng của chè vàng, các flavonol glucozit có được tính phong phú như rutin, astragalin, isoquercetrin, nicotiflorin có trong chè vàng được công bố, các hoạt chất sinh học verbascozit, isoverbascozit, isooleoverbascozit, apiosylverbascoszit, 6'-O-menthiafoloylverbascoszit, daucosterol, dotriacontanol được nhận diện. Ngoài ra lá chè vàng còn chứa lượng tinh dầu: linalool, α -terpineol, geraniol, cis-linalool oxit phong phú. Năm 2017, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên đã chiết được dầu béo 1,05% trong hạt chè vàng và xác định dầu béo tổng số có trong hạt chè vàng là 1,05%, có đến 53,1% là axit béo không no như omega 6 và omega 9 có hoạt tính sinh học và 46,9% là các axit béo no, các axit béo không no có lợi cho sức khoẻ tim mạch, giảm xơ vữa.

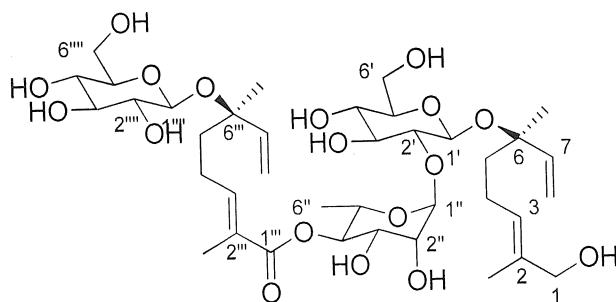
Trong một tài liệu của Viện hoá học các hợp chất thiên nhiên đã công bố “Phương pháp sản xuất cao và các phân đoạn chiết có hoạt tính sinh học của chè vàng (*Jasminum subtriplinerne Blume*)”, trong đó có đề cập đến phân đoạn chiết các chất có hoạt tính tan trong dung môi etyl axetat của cao chiết tổng chè vàng đạt 34,5%-36% so với cao chiết tổng. Phân đoạn chiết này thử nghiệm hoạt tính chống oxy hoá cao với nồng độ mẫu có khả năng trung hòa 50% gốc tự do là $SC_{50} = 12,7$ μ g/ml là có hoạt tính gây độc tế bào dòng ung thư gan Hep-G2 với cao chiết chè vàng khu vực La Vang – Quảng Trị.

Để khẳng định vai trò của các chất hoá học có hoạt tính trong nhận diện đặc trưng cho chè vàng khu vực La Vang, Quảng Trị các tác giả sáng chế đi sâu nghiên cứu phân lập, tách chiết các chất hoá học, xác định cấu trúc và thử nghiệm hoạt tính sinh học của chất mới và phát triển công nghệ riêng phù hợp để tách chiết chất mới được mô tả trong giải pháp này.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện một terpen glucozit gắn kết với các gốc đường đặc trưng cho chè vàng là chất hoàn toàn mới, chưa từng được công bố, chất có hoạt tính sinh học với khả năng chống oxy hoá cao.

Bản chất kĩ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích giải pháp hữu ích là đề xuất hợp chất 1-hydroxyanatoliosit-B chiết được từ cây chè vằng (*Jasminum subtriplinerne Blume*) có công thức cấu tạo (I):



(I)

Hợp chất 1-hydroxyanatoliosit-B được chiết theo phương pháp của giải pháp hữu ích này được thử nghiệm và được xác định là chất có hoạt tính chống oxy hoá.

Mục đích khác của giải pháp hữu ích là đề xuất phương pháp chiết hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B có công thức (I) từ cây chè vằng (*Jasminum subtriplinerne Blume*), trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

i) thu gom chè vằng, phơi khô trong bóng râm, sau đó xay thành bột nhỏ;

ii) ngâm chiết bột thu được ở bước (i) bằng dung môi hữu cơ theo tỷ lệ bột:dung môi hữu cơ là 1:3 (kg/l) trong khoảng thời gian từ 1 đến 48 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 80°C, chiết ba lần sau đó gộp dịch chiết dung môi hữu cơ từ các lần ngâm chiết và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết tổng gọi là cao chiết 1, trong đó dung môi hữu cơ được lựa chọn trong nhóm bao gồm metanol hoặc etanol;

iii) hòa tan cao chiết 1 vào nước theo tỷ lệ cao chiết:nước là 1:3 (kg/l) và chiết phân bố bằng dung môi hữu cơ có độ phân cực thấp, không tan hoặc tan ít trong nước theo tỷ lệ dung môi:hỗn hợp chứa cao chiết 1 và nước là 1:2 (l/l), chiết phân bố từ 2 đến 5 lần, sau đó tách loại lớp dung môi hữu cơ nằm bên trên và giữ lại phần nước bên dưới, trong đó dung môi hữu cơ được lựa chọn từ nhóm bao gồm ete dầu hỏa, *n*-hexan, dietyl ete;

iv) chiết phân bố phần nước thu được ở bước (iii) bằng etyl axetat theo tỷ lệ dung môi:phần nước là 1:2 (l/l), chiết phân bố từ 2 đến 5 lần, tiếp đó tách và thu gom lớp dịch chiết etyl axetat bên trên và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết etyl axetat gọi là cao chiết 2;

v) tách cao chiết 2 thu được ở bước (iv) trên cột sắc ký với chất hấp phụ silica gel pha thường (cỡ hạt 230-400mesh tỷ lệ cao chiết/hấp phụ bằng 1/10 theo khối lượng) và dung môi rửa giải là hệ diclorofom/metanol/nước ở tỷ lệ 5/1,5/0,1 theo thể tích, gom phân đoạn rửa giải ký hiệu là E2 từ hệ dung môi và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết 3;

vi) tiến hành phân tách cao chiết 3 thu được ở bước (v) bằng sắc ký cột với chất hấp phụ là silica gel pha đảo RP₁₈ hệ dung môi rửa giải là metanol/nước với tỷ lệ 1/1,5 theo thể tích, kiểm tra dịch rửa giải bằng sắc ký lớp mỏng, gom dịch rửa giải có sắc ký đồ giống nhau thu được 3 phân đoạn E2.1, E2.2, E2.3 và cất loại dung môi dưới áp suất giảm phân đoạn E2.3 để thu được cao chiết 4; và

vii) tinh chế cao chiết 4 thu được ở bước (vi) trên cột sắc ký với chất hấp phụ silica gel pha đảo RP₁₈, rửa giải bằng hệ dung môi metanol/nước với tỷ lệ 2/1,5 theo thể tích để thu được hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B ở dạng bột vô định hình không màu.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Chè vằng là một dược liệu được sử dụng rộng rãi trong dân và trong y học cổ truyền, cây chè vằng sau thu hái được phơi đến khô xay nhỏ và tiến hành chiết bằng nước hoặc dung môi hữu cơ theo phương pháp mô tả dưới đây. Các phương pháp sắc ký sử dụng theo phương pháp giải pháp hữu ích bao gồm phương pháp sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ và RP₁₈ F₂₅₄ (Merck- Đức), trong đó các vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại hai bước sóng 254 và 368 mm hoặc dùng thuốc thử là H₂SO₄ 10% phun đều trên bản mỏng rồi sấy ở nhiệt độ cao cho đến khi hiện màu và phương pháp sắc lý cột được tiến hành với chất hấp phụ silica gel pha thường hoặc pha đảo C₁₈. Các dung môi

hữu cơ sử dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở metanol, etanol, axeton, diclorofom, clorofoc, etylaxetat, *n*-hexan. Để xác định cấu trúc của hợp chất thu được, các tác giả GPHI sử dụng các phương pháp phổ bao gồm phổ cộng hưởng từ nhân (^1H -NMR và ^{13}C -NMR) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer, phổ khối lượng phun mờ điện tử ESI-MS.

Theo đó phương pháp chiết hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B có công thức (I) từ cây chè vằng (*Jasminum suptriplinerve Blume*), trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

i) thu gom chè vằng, phơi khô trong bóng râm, sau đó xay thành bột nhỏ;

ii) ngâm chiết bột thu được ở bước (i) bằng dung môi hữu cơ theo tỷ lệ bột:dung môi hữu cơ là 1:3 (kg/l) trong khoảng thời gian từ 1 đến 48 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 80°C, chiết ba lần sau đó gộp dịch chiết dung môi hữu cơ từ các lần ngâm chiết và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết tổng gọi là cao chiết 1, trong đó dung môi hữu cơ được lựa chọn trong nhóm bao gồm metanol hoặc etanol;

iii) hòa tan cao chiết 1 vào nước theo tỷ lệ cao chiết:nước là 1:3 (kg/l) và chiết phân bố bằng dung môi hữu cơ có độ phân cực thấp, không tan hoặc tan ít trong nước theo tỷ lệ dung môi:hỗn hợp chứa cao chiết 1 và nước là 1:2 (l/l), chiết phân bố từ 2 đến 5 lần, sau đó tách loại lớp dung môi hữu cơ nằm bên trên và giữ lại phần nước bên dưới, trong đó dung môi hữu cơ được lựa chọn từ nhóm bao gồm ete dầu hỏa, *n*-hexan, dietyl ete;

iv) chiết phân bố phần nước thu được ở bước (iii) bằng etyl axetat theo tỷ lệ dung môi:phần nước là 1:2 (l/l), chiết phân bố từ 2 đến 5 lần, tiếp đó tách và thu gom lớp dịch chiết etyl axetat bên trên và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết etyl axetat gọi là cao chiết 2;

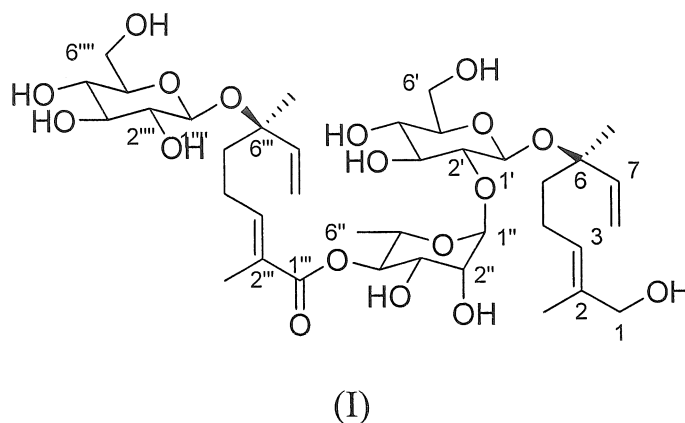
v) tách cao chiết 2 thu được ở bước (iv) trên cột sắc ký với chất hấp phụ silica gel pha thường (cỡ hạt 230-400mesh tỷ lệ cao chiết/hấp phụ bằng 1/10 theo khối lượng) và dung môi rửa giải là hệ diclorofom/metanol/nước ở tỷ lệ 5/1,5/0,1

theo thể tích, thu gom phân đoạn rửa giải ký hiệu là E2 từ hệ dung môi và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết 3;

vi) tiến hành phân tách cao chiết 3 thu được ở bước (v) bằng sắc ký cột với chất hấp phụ là silica gel pha đảo RP₁₈ hệ dung môi rửa giải là metanol/nước với tỷ lệ 1/1,5 theo thể tích, kiểm tra dịch rửa giải bằng sắc ký lớp mỏng, gom dịch rửa giải có sắc ký đồ giống nhau thu được 3 phân đoạn E2.1, E2.2, E2.3 và cất loại dung môi dưới áp suất giảm phân đoạn E2.3 để thu được cao chiết 4; và

vii) tinh chế cao chiết 4 thu được ở bước (vi) trên cột sắc ký với chất hấp phụ silica gel pha đảo RP₁₈, rửa giải bằng hệ dung môi metanol/nước với tỷ lệ 2/1,5 theo thể tích để thu được hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B ở dạng bột vô định hình không màu.

Hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B có công thức cấu tạo sau:



Hợp chất này có các thông số hóa lý như sau:

- Bột vô định hình không màu
- Điểm nóng chảy 166⁰C
- Công thức phân tử là C₃₈H₆₂O₁₈
- Phổ khối lượng phân giải cao FTICR-MS *m/z*: 805.3863

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 3,93 (2H, chồng lên nhau) 5,40 (1H, m), 2,16 (2H, m), 1,71 (2H, m), 6,15 (1H, m), 5,20-5,24 (2H, chồng lên nhau), 1,66 (3H, s), 1,42 (3H, s), 4,44 (1H, d); 7,5, 2x 3,50 (1H, chồng

lên nhau), 3,32 (1H, chồng lên nhau), 3,17 (1H, m), 3,81 (1H, chồng lên nhau), 3,65 (1H, chồng lên nhau), 5,47 (1H, brs), 2x 3,93 (1H, chồng lên nhau), 5,02 (1H, t; 9,5), 4,42 (1H, m), 1,11 (3H, d; 6,5), 6,82 (1H, m), 2,35 (2H, m), 1,76 (2H, m), 5,97 (1H, ddd; 2,5, 11,0, 18,0), 5,25 (2H, chồng lên nhau), 1,87 (3H, s), 1,37 (3H, s), 4,75 (1H, d; 8,0), 3,32 (1H, chồng lên nhau), 4,08 (1H, m), 3,50 (1H, chồng lên nhau), 3,65 (1H, chồng lên nhau), 3,81 (1H, chồng lên nhau), 3,65 (1H, chồng lên nhau)

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): 68,9 (C-1), 136,1 (C-2), 126,6 (C-3), 23,3 (C-4), 41,5 (C-5), 81,6 (C-6), 144,2 (C-7), 115,1 (C-8), 13,9 (Me-2), 23,8 (Me-6), 97,9 (C-1'), 80,1 (C-2'), 76,6 (C-3'), 72,0 (C-4'), 77,6 (C-5'), 62,8 (C-6'), 101,1 (C-1''), 72,0 (C-2''), 70,4 (C-3''), 76,0 (C-4''), 67,3 (C-5''), 17,9 (C-6''), 169,4 (C-1'''), 128,6 (C-2'''), 144,5 (C-3'''), 24,4 (C-4'''), 40,2 (C-5'''), 80,8 (C-6'''), 144,1 (C-7'''), 115,3 (C-8'''), 12,7 (Me-2'''), 23,8 (Me-6'''). 96,7 (C-1'''), 72,2 (C-2'''), 73,2 (C-3'''), 69,0 (C-4'''), 75,1 (C-5'''), 63,2 (C-6''').

Phương pháp chiết tách theo giải pháp hữu ích này có ưu điểm là đơn giản, dễ thực hiện và cho phép chiết được hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B tinh khiết ra khỏi hỗn hợp của nhiều chất từ chè vằng (*Jasminum suptriplinerve Blume*). Hợp chất này thử nghiệm hoạt chất sinh học và kết quả cho thấy rằng nó có hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH được thực hiện các bước tiếp theo để tìm giá trị SC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) bằng phần mềm *TableCurve AISN Software* (Jandel Scientific, USA) qua giá trị $\text{SC}\%$ và dãy các nồng độ chất thử tương ứng [8].

Hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B phân lập được có tác dụng chống oxy hóa, do đó thể được sử dụng trong điều trị và phòng ngừa các bệnh về gan cũng như hỗ trợ chức năng gan và chống lão hoá.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Phương pháp chiết hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B từ cây chè vằng (*Jasminum suptriplinerve Blume*)

Chè vằng sau khi thu hái, phơi khô trong bóng râm, sau đó xay thành bột nhỏ. Ngâm chiết 2kg nguyên liệu bột khô bằng 6 lít dung môi etanol ở nhiệt độ 30°C, sau 24 giờ, dịch chiết được rút kiệt ra và bổ sung etanol vào và ngâm tiếp. Sau 3 lần ngâm chiết như vậy các dịch chiết được gom lại và cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 500g cao chiết 1.

Hòa tan cao chiết 1 vào 1,5lit nước rồi chiết phân bố bằng *n*-hexan 3 lần, mỗi lần 1 lít. sau khi tách loại lớp dịch dung môi *n*-hexan phía trên, phần dịch nước phía dưới tiếp tục chiết phân bố etyl axetat (1 lít x 3 lần). Tách và thu gom lớp dịch etyl axetat nằm bên trên và cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 13g cao chiết etyl axetat, ký hiệu là cao chiết 2.

Tách phân đoạn cao chiết etyl axetat (2) thu được trên cột sắc ký với chất hấp phụ silica gel pha thường (cỡ hạt 230-400mesh tỷ lệ cao chiết hấp phụ bằng 1/10 theo khối lượng, cột nhồi đường kính 6cm) 6

6 Cao chiết 3 tiếp tục được phân tách qua sắc ký cột với chất hấp phụ là silica gel pha đảo RP₁₈, (tỷ lệ cao chiết/chất hấp phụ 1/10 theo khối lượng, cột nhồi đường kính là 3 cm), theo khối lượng dung môi rửa giải 2 lít hệ dung môi rửa giải là metanol/nước với tỷ lệ 1/1,5 theo tỷ lệ thể tích thu được 3 phân đoạn E2.1 (thể tích rửa giải 900ml), E2.2 (thể tích rửa giải 680ml), E2.3 (thể tích rửa giải 420ml). Cất loại dung môi dưới áp suất giảm phân đoạn E2.3 thu được 125mg cao chiết 4.

Tiến hành chạy sắc ký đối với cao chiết 4 trên cột với chất hấp phụ silica gel pha đảo RP₁₈, rửa giải bằng hệ dung môi metanol/nước với tỷ lệ 2/1,5 theo thể tích để thu được 8mg hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B ở dạng bột vô định hình không màu, cấu trúc hóa học của 1-hydroxyanatoliosit B được xác định bằng các số liệu phổ khối lượng phân giải cao FTICR-MS *m/z*: 805.3863 và phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1 và 2 chiều như thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1: Số liệu phổ cộng hưởng từ nhân ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất (I).

3 (CD ₃ OD)					
C	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm); J (Hz)	C	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm); J (Hz)
1	68,9	3,93 (2H, chồng lên nhau)	4''	76,0	5,02 (1H, t); 9,5
2	136,1		5''	67,3	4,42 (1H, m)
3	126,6	5,40 (1H, m)	6''	17,9	1,11 (3H, d); 6.5
4	23,3	2,16 (2H, m)	1'''	169,4	
5	41,5	1,71 (2H, m)	2'''	128,6	
6	81,6		3'''	144,5	6,82 (1H, m)
7	144,2	6,15 (1H, m)	4'''	24,4	2,35 (2H, m)
8	115,1	5,20-5,24 (2H, chồng lên nhau)	5'''	40,2	1,76 (2H, m)
Me-2	13,9	1,66 (3H, s)	6'''	80,8	
Me-6	23,8	1,42 (3H, s)	7'''	144,1	5,97 (1H, ddd); 2.5, 11,0, 18.0
1'	97,9	4,44 (1H, d); 7.5	8'''	115,3	5,25 (2H, chồng lên nhau)
2'	80,1	3,0 (1H, chồng lên nhau)	Me-2'''	12,7	1,87 (3H, s)
3'	76,6	3,50 (1H, chồng lên nhau)	Me-6'''	23,8	1,37 (3H, s)
4'	72,0	3,32 (1H, chồng lên nhau)	1''''	96,7	4,75 (1H, d); 8,0
5'	77,6	3,17 (1H, m)	2''''	72,2	3,32 (1H, chồng lên nhau)

6'	62,8	3,81 (1H, chồng lên nhau) 3,65 (1H, chồng lên nhau)	3''''	73,2	4,08 (1H, m)
1''	101,1	5,47 (1H, brs)	4''''	69,0	3,50 (1H, chồng lên nhau)
2''	72,0	3,93 (1H, chồng lên nhau)	5''''	75,1	3,65 (1H, chồng lên nhau)
3''	70,4	3,93 (1H, chồng lên nhau)	6''''	63,2	3,81 (1H, chồng lên nhau) 3,65 (1H, chồng lên nhau)

Cấu trúc (I) được so sánh với cơ sở dữ liệu về hợp chất hóa học và không thấy có cấu trúc tương tự. Dữ liệu này khẳng định hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B là hợp chất mới chưa từng được bộc lộ trước đó.

Ví dụ 2: Thử nghiệm tác dụng chống oxy hóa của hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B

Hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B được xác định dựa trên khả năng bắt các gốc tự do tạo bởi DPPH. Hấp phụ DPPH bước sóng 515nm đọc trên ELISA sau khi nhỏ DPPH vào mẫu thử trên phiên vi lượng 96 giếng và xác định SC%. Mẫu có biểu hiện hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH được thực hiện các bước tiếp theo để tìm giá trị SC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) bằng phần mềm *TableCurve AISN Software* (Jandel Scientific, USA) qua giá trị SC% và dãy các nồng độ chất thử tương ứng.

Bảng 2: Tác dụng chống oxy hóa của hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B

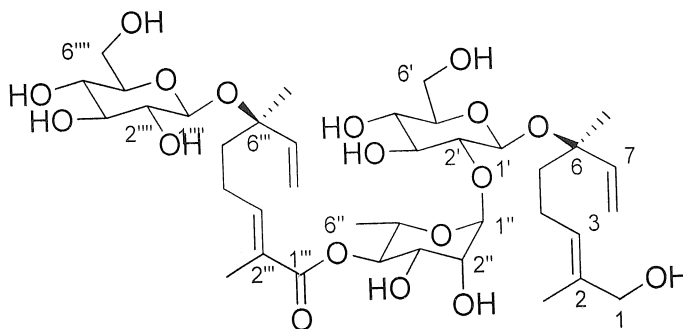
T T	Kí hiệu mẫu	Nồng độ đầu của mẫu ($\mu\text{g/ml}$)	Scavenging capacity (SC, %)	SC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Kết quả
	Chứng (+)	44	$80,87 \pm 0,13$	20,7	Dương tính
	Chứng (-)	-	$0,0 \pm 0,0$	-	Âm tính
1	CV	200	$73,15 \pm 2,9$	14,2	Dương tính

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Phương pháp chiết hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B từ cây chè vằng (*Jasminum suptriplinerve Blume*) theo giải pháp hữu ích thu được hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B độ tinh khiết cao và xác định được hợp chất này có tác dụng chống oxy hóa, nhờ đó tạo cơ sở vững chắc cho các nghiên cứu ứng dụng trong điều trị và phòng ngừa các bệnh về gan cũng như hỗ trợ chức năng gan và chống lão hoá.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B có công thức (I):



(I)

2. Phương pháp chiết hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B có công thức (I) theo điểm 1 từ cây chè vằng (*Jasminum suptriplinerne* Blume), trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

i) thu gom chè vằng, phơi khô trong bóng râm, sau đó xay thành bột nhỏ;

ii) ngâm chiết bột thu được ở bước (i) bằng dung môi hữu cơ theo tỷ lệ bột:dung môi hữu cơ là 1:3 (kg/l) trong khoảng thời gian từ 1 đến 48 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 80°C, chiết ba lần sau đó gộp dịch chiết dung môi hữu cơ từ các lần ngâm chiết và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết tổng gọi là cao chiết 1, trong đó dung môi hữu cơ được lựa chọn trong nhóm bao gồm metanol hoặc etanol;

iii) hòa tan cao chiết 1 vào nước theo tỷ lệ cao chiết:nước là 1:3 (kg/l) và chiết phân bố bằng dung môi hữu cơ có độ phân cực thấp, không tan hoặc tan ít trong nước theo tỷ lệ dung môi:hỗn hợp chứa cao chiết 1 và nước là 1:2 (l/l), chiết phân bố từ 2 đến 5 lần, sau đó tách loại lớp dung môi hữu cơ nằm bên trên và giữ lại phần nước bên dưới, trong đó dung môi hữu cơ được lựa chọn từ nhóm bao gồm ete dầu hỏa, *n*-hexan, dietyl ete;

iv) chiết phân bố phần nước thu được ở bước (iii) bằng etyl axetat theo tỷ lệ dung môi:phần nước là 1:2 (l/l), chiết phân bố từ 2 đến 5 lần, tiếp đó tách và thu

gom lớp dịch chiết etyl axetat bên trên và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết etyl axetat gọi là cao chiết 2;

v) tách cao chiết 2 thu được ở bước (iv) trên cột sắc ký với chất hấp phụ silica gel pha thường (cỡ hạt 230-400mesh tỷ lệ cao chiết/hấp phụ bằng 1/10 theo khối lượng) và dung môi rửa giải là hệ diclorofom/metanol/nước ở tỷ lệ 5/1,5/0,1 theo thể tích, gom phân đoạn rửa giải ký hiệu là E2 từ hệ dung môi và cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết 3;

vi) tiến hành phân tách cao chiết 3 thu được ở bước (v) bằng sắc ký cột với chất hấp phụ là silica gel pha đảo RP₁₈ hệ dung môi rửa giải là metanol/nước với tỷ lệ 1/1,5 theo thể tích, kiểm tra dịch rửa giải bằng sắc ký lớp mỏng, gom dịch rửa giải có sắc ký đồ giống nhau thu được 3 phân đoạn E2.1, E2.2, E2.3 và cất loại dung môi dưới áp suất giảm phân đoạn E2.3 để thu được cao chiết 4; và

vii) tinh chế cao chiết 4 thu được ở bước (vi) trên cột sắc ký với chất hấp phụ silica gel pha đảo RP₁₈, rửa giải bằng hệ dung môi metanol/nước với tỷ lệ 2/1,5 theo thể tích để thu được hợp chất 1-hydroxyanatoliosit B ở dạng bột vô định hình không màu.