



(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)



2-0003682

(51) **A61K 36/00**
2022.01

(13) **Y**

(21) 2-2023-00468

(22) 25/06/2021

(67) 1-2021-03847

(45) 25/09/2024 438

(43) 27/09/2021 402

(73) Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc Gia Hà Nội (VN)
Nhà Y1, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội

(72) BÙI THANH TÙNG (VN); PHẠM THỊ LAN (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT PHÂN ĐOẠN GIÀU CÁC HỢP CHẤT PHENOLIC
CỦA CÂY XÁU HỔ DÙNG ĐỂ LÀM GIẢM TRIỆU CHỨNG BỆNH THẬN ĐÁI
THÁO ĐƯỜNG**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất phân đoạn giàu các hợp chất phenolic của cây Xấu hổ bao gồm các bước: chuẩn bị nguyên liệu; chiết nguyên liệu; tạo phân đoạn giàu các hợp chất phenolic; và đóng gói.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất phân đoạn giàu các hợp chất phenolic của cây Xấu hổ dùng để giảm triệu chứng bệnh thận đái tháo đường.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Đái tháo đường là một rối loạn chuyển hóa mãn tính với tỷ lệ mắc bệnh đang gia tăng nhanh chóng trong những năm gần đây. Bệnh đái tháo đường là nguyên nhân quan trọng nhất gây suy thận và đái tháo đường typ 2, dẫn đến bệnh thận đái tháo đường phổ biến hơn nhiều so với bệnh đái tháo đường typ 1. Hơn nữa, đái tháo đường typ 2, thường liên quan đến tăng đường huyết và tăng lipit máu, cả hai đều có thể ảnh hưởng đến chức năng thận.

Tổn thương thận ở bệnh đái tháo đường, một biến chứng phổ biến của bệnh đái tháo đường, là nguyên nhân phổ biến nhất của bệnh thận giai đoạn cuối và các biến chứng về tim mạch, là mối đe dọa đối với sức khỏe và tỷ lệ tử vong ở người. Biến chứng tổn thương thận trong bệnh đái tháo đường tiến triển trong vài năm và liên quan đến những thay đổi bệnh lý đặc trưng như sự tích tụ quá mức các gốc tự do trong cầu thận, viêm cầu thận xơ hoá và xơ hóa mô kẽ. Bệnh đái tháo đường là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây suy thận mãn tính.

Nhiều yếu tố góp phần vào sự phát triển tổn thương thận của bệnh thận đái tháo đường bao gồm tăng đường huyết, tăng huyết áp, béo phì, lối sống ít vận động, yếu tố di truyền, hút thuốc và tuổi cao. Mặc dù nhiều nghiên cứu đã được thực hiện, tuy nhiên các cơ chế sinh bệnh học của bệnh thận đái tháo đường vẫn chưa được làm sáng tỏ rõ hoàn toàn. Bệnh thận đái tháo đường có đặc trưng bởi những thay đổi về

hình thái và cấu trúc tế bào ở thận bao gồm tích tụ quá mức ma trận phân tử và mất hàng rào điện tích trên màng đáy cầu thận. Sự tiến triển từ albumin niệu bình thường sang microalbumin niệu được coi là bước khởi đầu trong bệnh thận đái tháo đường, tiến triển thành macroalbumin niệu khi chức năng thận tiếp tục xấu đi và tốc độ lọc cầu thận bắt đầu suy giảm.

Bệnh thận đái tháo đường được đặc trưng bởi một loạt các màng tế bào đáy dày lên, phì đại cầu thận, ống thận và xơ hóa ống thận, bị kích hoạt bởi sự tương tác phức tạp của nhiều yếu tố, như stress oxy hóa và viêm. Cả hai yếu tố stress oxy hóa và viêm đều liên quan mật thiết với sự phát triển của bệnh thận đái tháo đường. Sự tăng oxy hóa stress có thể làm tăng sản xuất các cytokin gây viêm và tương tự, sự gia tăng các cytokine gây viêm có thể kích thích sản xuất các gốc tự do. Tổn thương thận và tăng oxy hóa stress có khả năng liên quan đến tăng glucoza tế bào do tăng sinh ra các gốc tự do. Trong điều kiện sinh lý bình thường, sự cân bằng giữa các gốc tự do và các cơ chế bảo vệ được duy trì. Mất cân bằng oxy hóa/chống oxy hóa dẫn đến stress oxy hóa trong nhiều tình trạng bệnh lý bao gồm cả bệnh thận đái tháo đường và dẫn đến tổn thương tế bào. Có nhiều bằng chứng nghiên cứu cho thấy có mối liên hệ chặt chẽ giữa tăng đường huyết, stress oxy hóa và biến chứng đái tháo đường.

Chi phí điều trị bệnh thận đái tháo đường bằng thuốc tân dược khá tốn kém và thường có nhiều các phản ứng phụ. Những năm gần đây nhiều công trình nghiên cứu về sử dụng dược liệu để điều trị bệnh thận đái tháo đường được quan tâm do có hiệu quả trong thời gian kéo dài và ít gây tác dụng phụ.

Các hợp chất phenolic 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 các triệu chứng của bệnh thận đái tháo đường. Do đó, các phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được từ dược liệu có tác dụng làm giảm các triệu chứng của bệnh thận đái tháo đường.

Cây xấu hổ (*Mimosa pudica* Linn.) là cây thân thảo, mọc hoang ở nhiều nơi trong nước ta và các khu vực nhiệt đới. Cây nhỏ, thân có gai hình móc. Lá hai lần kép lông chim, cuống phụ xếp như hình chân vịt, khi khế động vào lá sẽ cụp xuống. Cuống chung gầy, mang nhiều lông, dài 4 cm, cuống phụ 2 đôi, có lông trắng cứng. Lá chét 15-20 đôi nhỏ, gần như không có cuống. Hoa màu tím đỏ, tụ thành hình đầu trái xoan. Quả giáp dài 2 cm, rộng 3 mm, tụ thành hình ngôi sao, ở phần giữa các hạt quả hẹp lại, có lông cứng ở mép. Hạt gần như hình trái xoan, dài 2 mm, rộng 1,5 mm. Nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy, cây xấu hổ có chứa các hợp chất như phytosterol, axit amin, alcaloit, tannin, glycosit, acid béo. Cây được sử dụng trong dân gian như vị thuốc hỗ trợ chữa giảm đau, tiêu viêm, hạ huyết áp, lợi tiểu, các bệnh về phong thấp, kháng nọc rắn, kháng nấm, chống co giật... Các nghiên cứu về tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường của cây Xấu hổ còn ít.

Bản chất của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là để giải quyết các vấn đề nêu trên. Do đó, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất phân đoạn giàu các hợp chất phenolic của cây Xấu hổ dùng để giảm triệu chứng bệnh thận đái tháo đường gồm các bước:

- Bước 1) Chuẩn bị nguyên liệu;
- Bước 2) Chiết nguyên liệu;
- Bước 3) Tạo phân đoạn giàu flavonoid; và
- Bước 4) Đóng gói;

Mô tả vấn đề hình vẽ

Hình 1. Là sơ đồ quy trình sản xuất phân đoạn giàu các hợp chất phenolic của cây Xấu hổ dùng để làm giảm triệu chứng bệnh thận đái tháo đường.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất phân đoạn giàu các hợp chất phenolic của cây Xấu hổ dùng để làm giảm triệu chứng bệnh thận đái tháo đường gồm các bước như sau:

- Bước 1) chuẩn bị nguyên liệu:

Cây Xấu hổ được rửa sạch, phơi khô đến độ ẩm dưới 13%, sau đó xay nhỏ đến kích cỡ nhỏ hơn 1 cm, thu được nguyên liệu được liệu đều đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm;

- Bước 2) chiết nguyên liệu:

Nguyên liệu được liệu được chiết bằng cồn từ 10% đến 96%, tốt hơn là cồn 80%, đun trong vòng từ 30 phút đến 2 giờ, tốt hơn là 1 giờ, theo tỷ lệ nguyên liệu:dung môi từ 10:1 (g/L) đến 500:1 (g/L), tốt hơn là 100: 1 (g/L), trong đó, việc chiết này được lặp lại từ 1 đến 5 lần, tốt hơn là 3 lần. Gộp các dịch chiết, lọc qua giấy lọc, gộp dịch lọc và thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được cao chiết toàn phần.

- Bước 3) tạo phân đoạn giàu các hợp chất phenolic:

Cao chiết toàn phần được phân tán vào nước cất theo tỷ lệ cao chiết 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, thu được phân đoạn giàu các hợp chất phenolic.

- Bước 4) đóng gói:

Phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được đem sấy khô, đóng gói trong các túi hút chân không để bảo quản.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Chiết xuất phân đoạn giàu các hợp chất phenolic

10 kg dược liệu phân trên mặt đất cây Xấu hổ được rửa sạch, phơi khô đến độ ẩm dưới 13%, sau đó xay nhỏ đến kích cỡ nhỏ hơn 1 cm thì thu được nguyên liệu cây xấu hổ; chiết nguyên liệu bằng 100 L cồn 80%, đun trong vòng 1 giờ, quá trình chiết này được lặp lại 3 lần. Gộp các dịch chiết, lọc qua giấy lọc, gộp dịch lọc và cất quay, thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được 850 g cao chiết toàn phần. Cao chiết toàn phần được phân tán vào 8,5 L nước cất. Sau đó, thêm 8,5 L dung môi ete vào, để lắng, tách lớp và thu lấy phần dung môi nước, lặp lại 3 lần. Tiếp đó, thêm 8,5 L 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, thu được 120,5 g phân đoạn giàu các hợp chất phenolic. Sau đó phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được đem sấy khô, đóng gói trong các túi hút chân không để bảo quản.

Xác định hàm lượng phenolic

Hàm lượng phenolic toàn phần được xác định bằng cách thuốc thử Folin và Ciocalteu. Mẫu thử (0,2 mL) được trộn với 0,6 mL nước cất và 0,2 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu. Sau 5 phút, thêm 1 ml dung dịch Na_2CO_3 10% và 1 ml nước cất vào phản ứng. Đem ủ 30 phút trong bóng tối. Sau đó đem ly tâm, đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 765nm. Hàm lượng phenolic toàn phần được tính theo đường chuẩn, sử dụng axit gallic làm chất chuẩn. Kết quả thu được cho thấy hàm lượng phenolic toàn phần của phân đoạn cao chiết giàu phenolic là $125,6 \pm 4,3$ mg axit gallic/g mẫu thử.

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 $30,0 \pm 2,0$ g để nghiên cứu tác dụng điều trị 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 5-7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian

nghiên cứu. Thuốc đối chứng sử dụng là glicazide (Việt Nam), hóa chất gây bệnh đái tháo đường là Streptozotocin (Sigma, Singapore).

Chuột bị gây đái tháo đường bằng cách tiêm màng bụng STZ (50 mg/kg thể trọng), nhắc lại 3 lần STZ được hòa tan trong dung dịch đệm 10 mM natri citrat (pH 4.0), nhóm chứng sinh lý được tiêm dung dịch đệm. Tình trạng bệnh đái tháo đường được xác định bằng nồng độ glucoza huyết. Sau khi chuột bị gây đái tháo đường thành công, khi chỉ số nồng độ glucoza huyết (mmol/L) dao động xung quanh 10 mmol/L, tiến hành chia ngẫu nhiên chuột thành 5 nhóm, mỗi nhóm 10 con, được điều trị theo chương trình như sau:

Nhóm 1: là nhóm chứng sinh lý; là nhóm chuột không bị gây đái tháo đường.

Nhóm 2: Nhóm chứng bệnh STZ (50 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng).

Nhóm 3: STZ (50 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + glicazide (5 mg/kg, đường uống) trong vòng 21 ngày.

Nhóm 4: STZ (50 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 (50mg/kg, thể trọng, đường uống) trong vòng 60 ngày.

Nhóm 5: STZ (50 mg/kg thể trọng, tiêm màng bụng) + phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 (100mg/kg, thể trọng, đường uống) trong vòng 60 ngày.

Các nhóm chuột được điều trị trong 60 ngày. Trọng lượng của chuột được theo dõi mỗi ngày, và chuột được nước cất, uống thuốc và cao chiết cố định vào 8-9 giờ sáng hàng ngày. Đường huyết của chuột được theo dõi vào buổi sáng (sau khi nhịn ăn cả đêm trước khi đo) các ngày 0, thứ 10, thứ 20, thứ 30, thứ 40, thứ 50 và thứ 60. Sau khi đo đường huyết, chuột được cho ăn và uống nước.

Kết quả tác dụng nên nồng độ glucoza máu in vivo

Nồng độ glucoza trong các nhóm chuột nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Tác dụng của mẫu thử lên nồng độ glucoza huyết (mmol/L) trên chuột bị bệnh thận đái tháo đường do streptozotocin.

	t=0	t=10	t=20	t=30	t=40	t=50	t=60
Nhóm 1	5,4±0,3	5,3±0,9	5,6±0,6	6,4±0,9	6,1±1,1	5,5± 0,3	5,7±0,2
Nhóm 2	9,8±1,6	13,2±2,3 [#]	13,0±3,2 [#]	21,1±3,0 [#]	17,2±3,7 [#]	20,3±1,2 [#]	22,9±3,7 [#]
Nhóm 3	9,8±2,7	7,3±1,7 [*]	9,7±1,2 [*]	13,5±2,8 [*]	7,3±0,8 [*]	11,2 ±2,3 [*]	9,8±1,4 [*]
Nhóm 4	9,7±2,8	6,2±1,2 [*]	9,5±1,7 [*]	9,5±1,8 [*]	8,1±2,2 [*]	9,1±2,0 [*]	10,0±1,5 [*]
Nhóm 5	9,7±1,2	5,2±0,6 [*]	6,6±1,4 [*]	8,2±1,4 [*]	6,1±1,1 [*]	7,1±0,7 [*]	6,6±0,9 [*]

Khác biệt có ý nghĩa thống kê, [#]p<0,05 so sánh với nhóm 1; ^{}p<0,05 so sánh với nhóm 2.*

Nồng độ glucoza huyết tăng đáng kể ở nhóm chứng bệnh (Nhóm 2) khi so sánh với nhóm chứng sinh lý (Nhóm 1). Nhóm chuột đái tháo đường điều trị bằng glicazide và nhóm chuột được điều trị bằng phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 liều 50mg/kg và liều 100mg/kg đều giảm nồng độ glucoza huyết so với trước khi điều trị và đặc biệt giảm đáng kể so với nhóm chứng bệnh ($p < 0,05$). Tác dụng hạ glucoza huyết của phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 liều 100g/kg mạnh hơn liều 50g/kg.

Kết quả tác dụng lên nồng độ lipid máu in vivo

Bảng 2 trình bày tác dụng của phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 lên nồng độ lipid máu của các nhóm chuột nghiên cứu sau 60 ngày sau khi uống mẫu thử. Nhóm chuột được điều trị phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 liều 50mg/kg và 100mg/kg có khả năng làm hạ nồng độ cholesterol toàn phần, triglycerit và LDL-cholesterol đáng kể so với nhóm chứng bệnh. Hơn nữa, hai liều phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 50mg/kg và 100mg/kg cũng cho thấy hiệu quả làm tăng đáng kể nồng độ HDL-cholesterol so với nhóm chứng bệnh.

Bảng 2. Tác dụng của mẫu thử lên nồng độ lipit máu (mg/ml) trên chuột bị tiểu đường do streptozotocin sau 60 ngày điều trị.

	Cholesterol toàn phần (mg/ml)	Triglycerit (mg/ml)	HDL cholesterol (mg/ml)	LDL cholesterol (mg/ml)
Nhóm 1	3,09 ± 0,26	1,21 ± 0,30	2,2 ± 0,35	1,1 ± 0,23
Nhóm 2	4,63±0,56	1,40±0,84	2,67±0,29 [#]	1,33±0,19
Nhóm 3	4,42±1,01	1,36±0,56	2,43±0,53	1,38±0,87
Nhóm 4	4,36±1,51	1,55±0,29	2,70±0,59	0,96±0,21 [*]
Nhóm 5	4,65±0,72	1,53±0,39	3,05±0,34 [*]	0,89±0,15 [*]

Khác biệt có ý nghĩa thống kê, [#]p<0,05 so sánh với nhóm 1; ^{}p<0,05 so sánh với nhóm 2.*

Kết quả tác dụng lên các chỉ số sinh hóa bệnh thận đái tháo đường in vivo

Bảng 3 trình bày tác dụng của phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 lên các chỉ số abumin niệu, creatinin niệu, albumin máu, creatinin máu và hệ số thanh thải creatinin của các nhóm chuột nghiên cứu sau 60 ngày sau khi uống phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1. Các chỉ số abumin niệu và creatinin máu tăng đáng kể ở nhóm chứng bệnh khi so sánh với nhóm chứng sinh lý. Ngoài ra các chỉ số creatinin niệu, albumin máu và hệ số thanh thải creatinin giảm đáng kể ở nhóm chứng bệnh khi so sánh với nhóm chứng sinh lý. Điều đó cho thấy chuột ở nhóm chứng bệnh bị suy giảm chức năng thận do biến chứng của bệnh đái tháo đường gây ra. Nhóm chuột được điều trị phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 liều 50mg/kg và 100mg/kg có khả năng làm hạ các chỉ số abumin niệu, creatinin máu đáng kể so với nhóm chứng bệnh. Hơn nữa, hai liều phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 50mg/kg và 100mg/kg cũng cho thấy hiệu quả làm tăng đáng kể các chỉ số creatinin niệu, albumin máu và hệ số thanh thải creatinin so với nhóm chứng bệnh. Như vậy, chuột được điều trị bằng phân đoạn

giàu các hợp chất phenolic thu được theo ví dụ 1 đã cải thiện được các tổn thương thận.

Bảng 3. Tác dụng của mẫu thử lên các chỉ số chức năng thận (mg/ml) trên chuột bị tiểu đường do streptozotocin sau 60 ngày điều trị.

	Albumin niệu (g/L)	Creatinin niệu (uM/l)	Albumin máu (g/L)	Creatinin máu (uM/L)	Hệ số thanh thải creatinine (ul/phút)
Nhóm 1	1,33 ± 0,35	827,5± 162,63	26,75 ± 4,39	30,71 ± 2,55	87,25±7,94
Nhóm 2	1,68±0,32	486,43±118,80	22,21±1,82 [#]	38,83±4,54 [#]	31,14±6,84 [#]
Nhóm 3	1,53±0,35	786,88± 162,22 [*]	34,64±9,68	33,61±3,29 [*]	57,38±13,52 [*]
Nhóm 4	1,48±0,32	601,70±113,43	33,49±3,68 [*]	31,00±1,42 [*]	51,50±11,64 [*]
Nhóm 5	1,43±0,33	496,70±43,96	30,70±7,22	31,69±2,76 [*]	53,60±6,35 [*]

Khác biệt có ý nghĩa thống kê, [#]p<0,05 so sánh với nhóm 1; ^{}p<0,05 so sánh với nhóm 2.*

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích đã tìm ra quy trình tạo phân đoạn giàu các hợp chất phenolic của cây Xấu hổ để phát huy được công năng của cây Xấu hổ trong đó liều cao 100g/kg có hiệu quả hơn liều 50g/kg trong giảm các triệu chứng bệnh thận đái tháo đường.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất phân đoạn giàu các hợp chất phenolic của cây Xấu hổ dùng để làm giảm các triệu chứng bệnh thận đái tháo đường bao gồm các bước:

- Bước 1) chuẩn bị nguyên liệu:

Cây Xấu hổ được rửa sạch, phơi khô đến độ ẩm dưới 13%, sau đó xay nhỏ đến kích cỡ nhỏ hơn 1 cm thu được nguyên liệu được liệu, đạt tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm;

- Bước 2) chiết nguyên liệu:

Nguyên liệu được chiết bằng cồn từ 10% đến 96%, tốt hơn là cồn 80%, đun trong vòng từ 30 phút đến 2 giờ, tốt hơn là 1 giờ, theo tỷ lệ nguyên liệu:dung môi từ 10:1 (g/L) đến 500:1 (g/L), tốt hơn là 100: 1 (g/L), trong đó, việc chiết này được lặp lại từ 1 đến 5 lần, tốt hơn là 3 lần; gộp các dịch chiết, lọc qua giấy lọc, gộp dịch lọc và thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được cao chiết toàn phần;

- Bước 3) tạo phân đoạn giàu các hợp chất phenolic:

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; sau 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, thu được phân đoạn giàu các hợp chất phenolic;

- Bước 4) đóng gói:

Phân đoạn giàu các hợp chất phenolic thu được đem sấy khô, đóng gói trong các túi hút chân không để bảo quản.

Hình 1. Sơ đồ quy trình sản xuất phân đoạn giàu các hợp chất phenolic của cây Xấu hổ dùng để làm giảm triệu chứng bệnh thận đái tháo đường.

