



(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)



2-0004161

(51) **A61K 36/535**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00532

(22) 02/12/2021

(45) 25/07/2025 448

(43) 26/06/2023 423A

(73) Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Hà Nội (VN)
Số 334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân Trung, Thanh Xuân, Hà Nội

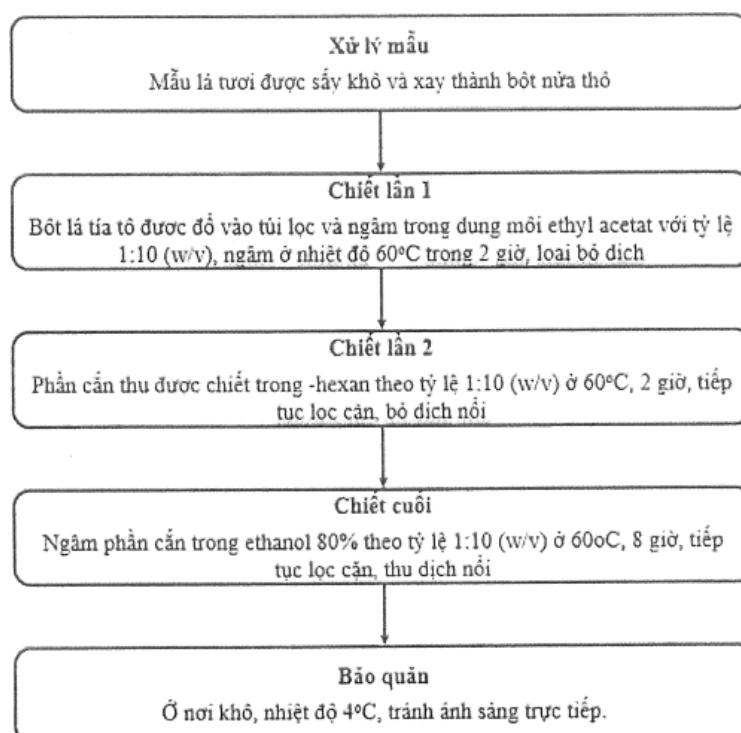
(72) Đỗ Minh Hà (VN); Nguyễn Thế Toàn (VN); Phạm Ngọc Sơn (VN); Lê Ánh Nguyệt (VN).

(54) QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT CAO CHIẾT CHỨA CÁC HỢP CHẤT PHENOLIC
TỪ TÍA TÔ (PERILLA FRUTESCENS (L.) BRITT.)

(21) 2-2021-00532

(57) Sáng chế đề xuất quy trình tách chiết cao chiết chứa các hợp chất phenolic từ lá tía tô *Perilla frutescens* (L.) Britt., trong đó quy trình này bao gồm các bước: xử lý mẫu, tách chiết, lọc dịch và cô cạn, định lượng flavonoid tổng số, và đánh giá khả năng chống oxy hóa. Quy trình có ưu điểm là thực hiện dễ dàng, đơn giản, thời gian thực hiện nhanh, chi phí thấp, có thể áp dụng trên quy mô lớn.

Hình 1



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực hóa học và dược phẩm, cụ thể là sáng chế đề cập đến quy trình tách chiết cao chiết chứa các hợp chất phenolic từ tía tô.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tía tô, tô diệp (*Perilla frutescens* (L.) Britt.) là cây thuộc họ Bạc hà (Lamiaceae). Lá của cây thường nhàu, cuộn lại và có lông tơ, khi được là phẳng, lá có hình trứng, dài 4-11 cm và rộng 2,5-9 cm. Trong lá tía tô có chứa 0,5% tinh dầu, trong đó chứa chủ yếu là perilla aldehyde (55%), limomen (20-30%), α -pinen và dihydrocumin. Bên cạnh đó, trong lá tía tô còn chứa các chất phenylpropanoid và β -caryophyllen, có tác dụng ức chế các loại vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm. Ngoài ra, cây còn có tác dụng khử mùi tanh của hải sản, giải độc cua cá [3].

Các hợp chất lớp phenol ở thực vật là nhóm các sản phẩm thứ cấp của quá trình tổng hợp carbohydrat thông qua con đường sinh tổng hợp shikimat, bắt đầu từ glycolysis và pentoza phosphat. Chúng đều là các hợp chất có chứa vòng benzen và ít nhất một nhóm chức hydroxyl. Các hợp chất lớp phenol có mặt trong tất cả các bộ phận của thực vật này nhưng phân bố không đều và rất khác nhau, hơn nữa, chúng thường tồn tại trong một hỗn hợp phức tạp và mỗi chất có tỷ lệ rất nhỏ, do đó, dữ liệu về các hợp chất lớp phenol vẫn chưa đầy đủ. Đã có hơn 8000 hợp chất thuộc nhóm này đã được xác định danh, tỷ lệ khối lượng của chúng chỉ chiếm vài phần ngàn trong dịch chiết tổng số. Từ đó gây nhiều khó khăn trong việc phân tách và định danh. Bên cạnh đó, các hợp chất lớp phenol có cấu trúc rất đa dạng, bao gồm các phenol đơn giản, nhóm các axit phenolic, coumarin, flavonoid, stilben, hydrolysable, tannin, lignan, và lignin [2].

Ở Việt Nam, hiện nay đã có một số công trình nghiên cứu tác dụng của dịch chiết lá tía tô đối với một số tình trạng bệnh lý. Ví dụ như nghiên cứu của Đặng Kim Thu năm 2017, tác giả đã sử dụng cao chiết của lá tía tô với ethanol 50% trên đối tượng chuột mô hình bệnh gout [1]. Tuy nhiên, nghiên cứu này mới chỉ dừng lại ở mức độ cao chiết nói chung mà chưa đi sâu và các thành phần cụ thể có trong cao chiết.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là nghiên cứu, tối ưu hóa toàn bộ quy trình tách chiết, và định lượng các hợp chất phenolic có trong lá tía tô. Việc xây dựng quy trình tối ưu nhằm định lượng tổng số các hợp chất phenolic này tạo tiền đề để xây dựng quy trình tách

chiết các hợp chất phenolic từ lá tía tô có độ tinh sạch cao và có thể được sử dụng trong sản xuất dược phẩm. Nhằm đạt được mục đích trên, sáng chế đề xuất quy trình tách chiết cao chiết chứa các hợp chất phenolic, định lượng polyphenol tổng số và đánh giá khả năng chống oxy hóa thông qua phản ứng với 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) từ 30 g mẫu lá tía tô bao gồm các bước sau:

- xử lý mẫu;
- chiết lần 1
- chiết lần 2
- chiết cuối
- sấy khô
- bảo quản.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 thể hiện quy trình tách chiết cao chiết chứa các hợp chất phenolic từ mẫu lá tía tô

Hình 2 thể hiện đường chuẩn tương quan giữa hàm lượng galic acid và cường độ hấp thụ theo test Folin-Ciocalteu cải tiến

Hình 3 thể hiện đường chuẩn hàm lượng vitamin C và cường độ hấp thụ ở bước sóng 517nm của hỗn hợp phản ứng với DPPH.

Mô tả chi tiết sáng chế

Quy trình tách chiết cao chiết chứa các hợp chất phenolic, định lượng polyphenol tổng số và đánh giá khả năng chống oxy hóa thông qua phản ứng với DPPH bao gồm

a) Xử lý mẫu

Mẫu lá tía tô tươi sau khi thu được sẽ được rửa sạch bằng nước cất, sau đó sấy khô đến khi độ ẩm của mẫu xuống còn dưới 13%. Mẫu sau khi sấy sẽ được xay nhỏ thành bột nửa thô, có 95% phần tử qua được rây số 710 (cỡ mắt rây 0,710 mm) và 40% qua được rây 250 (cỡ mắt rây 0,250 mm). Sau khi xay, bột lá tía tô được bảo quản trong điều kiện mát, từ 15-25°C.

b) Chiết lần 1

Mẫu lá tía tô sau khi được đem cân, sẽ được đổ trong túi lọc được làm bằng sợi cotton, có độ dày 0,074 mm, độ ngấm nước 350 mm và có tốc độ lọc 5%. Bổ sung dung môi chiết là ethyl acetat với tỷ lệ 1:10 (w/v) và ngâm ở nhiệt độ 40°C trong 1-2 giờ, loại bỏ dịch. Phần cặn trong túi lọc được sấy khô ở 60°C trong 1-2 giờ.

c) Chiết lần 2

Ngâm phần cần trong n-hexan theo tỷ lệ 1:10 (w/v) ở 40°C, 2 giờ, tiếp tục lọc cặn, loại bỏ dịch. Phần cần trong túi lọc được sấy khô ở 60°C trong 1 giờ.

d) Chiết cuối

Ngâm phần cần trong ethanol 80% theo tỷ lệ 1:10 (w/v) ở 50°C, 6-8 giờ, tiếp tục lọc cặn, thu dịch nổi.

e) Sấy khô

Dịch chiết cuối ở bước d) được để trong ống falcon hoặc ống thủy tinh, sấy cô quay chân không trong 3-5 giờ.

f) Bảo quản

Cao chiết thu được sau khi sấy được bảo quản ở nơi khô, nhiệt độ 4°C, tránh ánh sáng trực tiếp.

Ví dụ thực hiện sáng chế***Ví dụ 1: Định lượng polyphenol tổng số trong mẫu***

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định bằng phương pháp của Folin-Ciocalteu đã cải tiến. Mẫu chuẩn được chuẩn bị bằng cách dùng nước cất pha chuẩn galic acid để đạt nồng độ 10, 20, 40, 60, 80 µg/mL. Mẫu thử là dung dịch 1,0 µg/mL cao chiết thu được sau khi cô, pha trong nước cất. Dung dịch phản ứng (120µl) gồm 20 µl mẫu cần định lượng, 90 µl nước cất, và 10 µl thuốc thử folin, được nhỏ vào đĩa 96 giếng. Sau 5 phút, thêm 30 µl Na₂CO₃ 20%, ủ trong 2 giờ và đo độ hấp thụ ở bước sóng 758 nm. Mỗi mẫu được lặp lại 3 lần và tính giá trị trung bình. Đường chuẩn thu được có dạng $y=ax+b$ trong đó y là giá trị hấp thụ, x là nồng độ axit galic tương ứng.

Hàm lượng polyphenol trong mẫu được tính theo công thức ở hình 2.

$$F \text{ (mg/g cao chiết)} = \frac{A - b}{a \times m}$$

Kết quả từ hình 2 cho thấy đường chuẩn được xây có độ tuyến tính cao, $R^2=0,9906$, từ đường chuẩn này, hàm lượng polyphenol trong mẫu lá tía tô là 89,16 (mg/g cao chiết)

Ví dụ 2: Đánh giá khả năng chống oxy hóa

Khả năng chống oxy hóa của mẫu thử được xác định bằng phản ứng với DPPH. 4,3 mg DPPH được pha trong 3,3 ml Ethanol 100°. Mẫu chuẩn được chuẩn bị bằng cách

dùng nước cất pha chuẩn vitamin C để đạt nồng độ 0,1; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 và 100 µg/mL. Mẫu thử là dung dịch 1,0 µg/mL cao chiết thu được sau khi cô, pha trong nước cất. Dung dịch phản ứng (10ml) gồm 3,5 ml Ethanol 100°, 250 µl DPPH và 250 µl mẫu. Hỗn hợp được cho chung vào ống epp, lắc mạnh và để ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Sau khi ủ, hỗn hợp được đem đo giá trị hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Mỗi mẫu được lặp lại 3 lần và tính giá trị trung bình. Đường chuẩn thu được có dạng $y=ax+b$ trong đó y là giá trị hấp thụ, x là nồng độ vitamin C tương ứng. Khả năng chống oxy hóa của mẫu được tính theo công thức:

$$E \text{ (mg/g cao chiết)} = \frac{A - b}{a \times m}$$

Trong đó E (mg/g dược liệu): Hàm lượng các chất chống oxy hóa trong mẫu (tính tương đương với vitamin C); A: giá trị hấp thụ của mẫu thử; a,b: các giá trị của đường chuẩn; m: khối lượng mẫu thử ban đầu (mg).

Kết quả từ hình 3 cho thấy đường chuẩn được xây có độ tuyến tính cao, $R^2=0,9918$, từ đường chuẩn này, hàm lượng các chất có khả năng chống oxy hóa trong mẫu thử là 8,71 (mg/g cao chiết).

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Quy trình tách chiết các hợp chất phenolic từ lá tía tô: Có các thông số kỹ thuật được tối ưu hóa, được tiến hành trong điều kiện phòng thí nghiệm. Quy trình định lượng nhanh, đơn giản, phù hợp với điều kiện cơ sở vật chất của các phòng thí nghiệm cơ bản ở Việt Nam.

Kết quả nghiên cứu có tính ứng dụng thực tiễn cao và có thể được sử dụng trong sản xuất với số lượng lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. N. T. K. T. Đặng Kim Thu, Bùi Thanh Tùng (2017), "Tác dụng ức chế enzym xanthin oxidase và hạ acid uric máu của dịch chiết lá tía tô (*Perilla frutescens* L.)". *Tạp chí Dược học*, 11, pp. 57.
2. D. Lin, Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., Chen, S. (2016), "An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes". *Molecules*, 21 (10), pp. 1374-1393.
3. Đ. T. Lợi (2004), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Y học: Hà Nội.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình tách chiết cao chiết chứa các hợp chất phenolic từ lá tía tô *Perilla frutescens* (L.) Britt. bao gồm các bước:

xử lý mẫu như sau:

mẫu lá tía tô tươi sau khi thu được sẽ được rửa sạch bằng nước cất, sau đó sấy khô đến khi độ ẩm của mẫu xuống còn dưới 13%; mẫu sau khi sấy sẽ được xay nhỏ thành bột nửa thô, có 95% phần tử qua được rây số 710 (cỡ mắt rây 0,710 mm) và 40% qua được rây 250 (cỡ mắt rây 0,250 mm); bột lá tía tô được bảo quản trong điều kiện mát, từ 15-25°C; và

chiết lần 1 được tiến hành:

mẫu lá tía tô sau khi được đem cân, sẽ được đổ trong túi lọc được làm bằng sợi cotton, có độ dày 0.074 mm, độ ngâm nước 350 mm và có tốc độ lọc 5%, lọc có kích thước bổ sung dung môi chiết là ethyl acetat với tỷ lệ 1:10 (w/v) và ngâm ở nhiệt độ 40°C trong 2 giờ, loại bỏ dịch; phần cặn trong túi lọc được sấy khô ở 60°C trong 1 giờ và sau đó

chiết lần 2 được tiến hành:

ngâm phần cặn trong n-hexan theo tỷ lệ 1:10 (w/v) ở 40°C trong 2 giờ, tiếp tục lọc cặn, loại bỏ dịch; phần cặn trong túi lọc được sấy khô ở 60°C trong 1 giờ và

chiết cuối được tiến hành:

ngâm phần cặn trong ethanol 80% theo tỷ lệ 1:10 (w/v) ở 50°C trong 8 giờ, tiếp tục lọc cặn, thu dịch nổi; sau đó

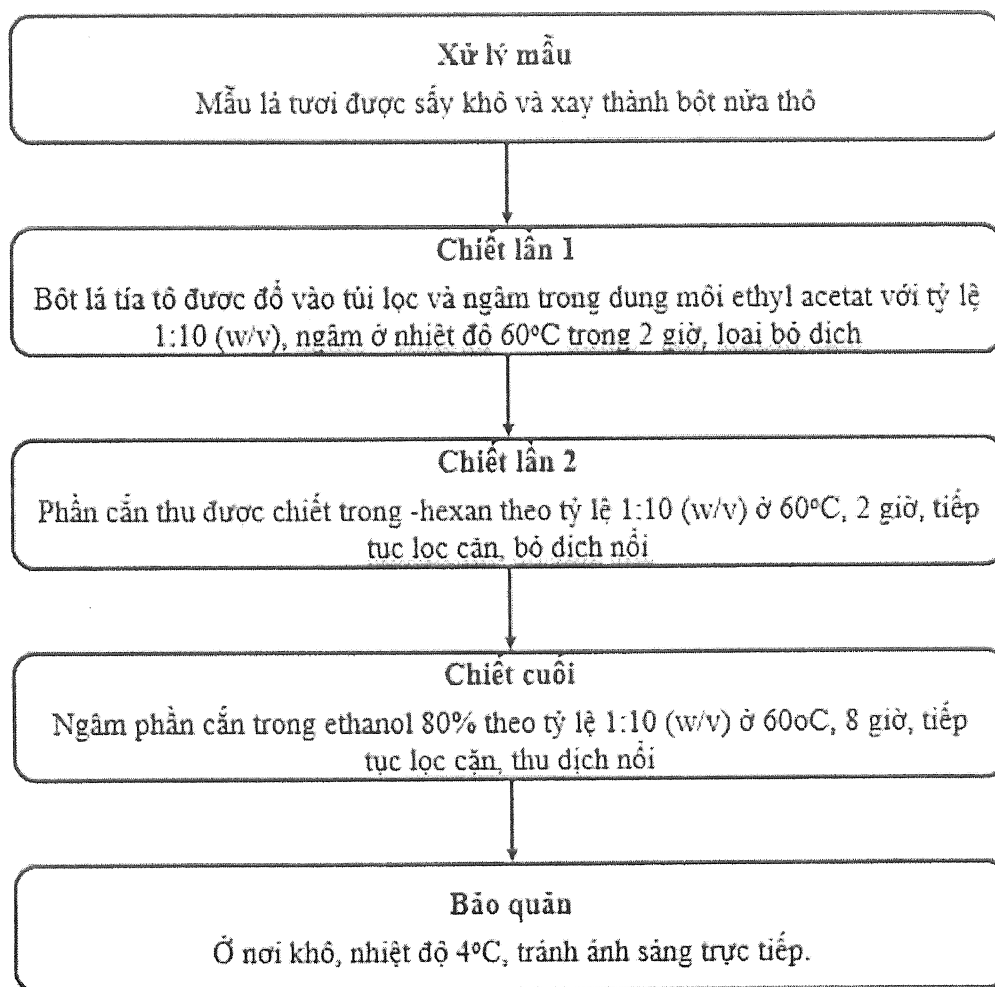
sấy khô được tiến hành:

dịch nổi thu được ở bước chiết cuối được để trong ống falcon hoặc ống thủy tinh, sấy cô quay chân không trong 3 giờ thu được cao chiết; cuối cùng

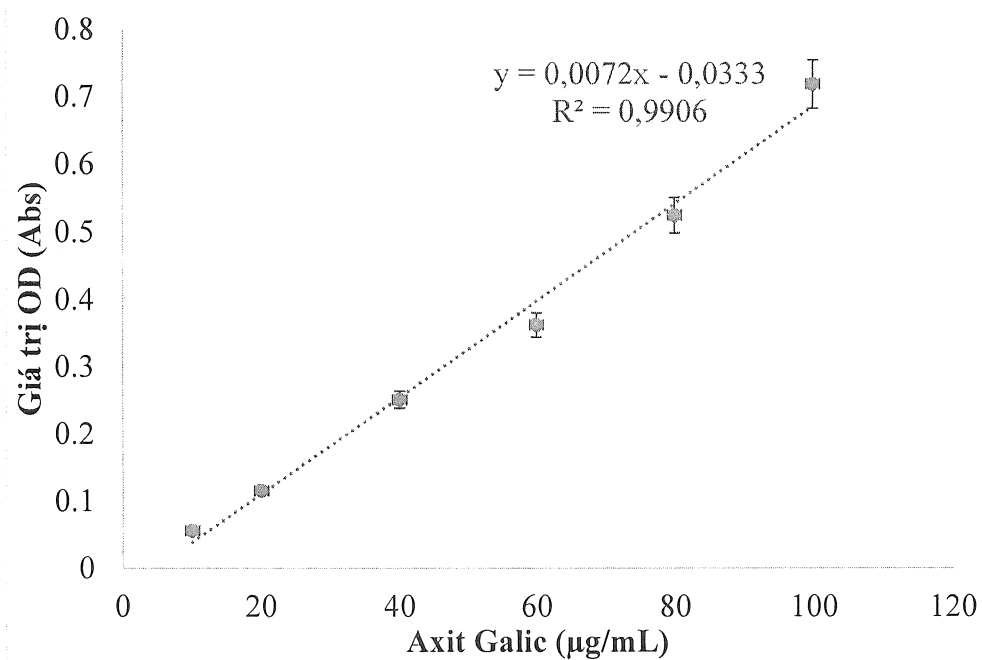
bảo quản như sau:

cao chiết thu được sau khi sấy được bảo quản ở nơi khô, nhiệt độ 4°C, tránh ánh sáng trực tiếp.

Hình 1



Hình 2



Hình 3

