

BỘ CÔNG THƯƠNG
VIỆN HÓA HỌC CÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHCN CẤP BỘ:

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT
HESPERIDIN TỪ QUẢ PHẬT THỦ LÀM
NGUYÊN LIỆU SẢN XUẤT THUỐC

7449

15/7/2009

HÀ NỘI – 2008

BỘ CÔNG THƯƠNG
VIỆN HÓA HỌC CÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHCN CẤP BỘ:
NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁCH CHIẾT
HESPERIDIN TỪ QUẢ PHẬT THỦ LÀM
NGUYÊN LIỆU SẢN XUẤT THUỐC

Chủ nhiệm Đề tài: Ths. Nguyễn Văn Chính

Những người tham gia:

Ths. Trương T. Tổ Trinh

CN. Nguyễn Quốc Đạt

HÀ NỘI – 2008

TÓM TẮT

Flavonoid glycosid Hesperidin một loại nguyên liệu thuốc kháng viêm, chống ôxy hóa, chống dị ứng, chống ung thư, làm bền thành mạch và giảm tính thấm của mao mạch được sử dụng nhiều trong điều trị bệnh cao huyết áp và bệnh trĩ đã được tách chiết từ quả Phật thủ với năng suất chiết là 1,04% so với nguyên liệu khô.

Quy trình tách chiết flavonoid hesperidin đạt tiêu chuẩn làm nguyên liệu sản xuất thuốc quy mô phòng thí nghiệm từ nguyên liệu có chứa hesperidin đã được xây dựng trên cơ sở các kết quả khảo sát các thông số công nghệ về nhiệt độ, pH môi trường chiết và môi trường kết tinh, tỷ lệ dung môi vv. Việc chiết tách hesperidin ở quy mô lớn hơn 10 lần quy mô khảo sát đã được nghiên cứu nhằm hoàn chỉnh cơ sở dữ liệu phục vụ cho việc phát triển sản xuất ở quy mô lớn hơn.

Hesperidin tách chiết được đã được xác định cấu trúc, phân tích định tính, định lượng bằng các phương pháp phổ: IR, UV, MS, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HPLC và kiểm nghiệm các chỉ tiêu cơ bản.

Các kết quả nghiên cứu thu được có thể áp dụng vào sản xuất hesperidin từ nguồn nguyên liệu tự nhiên sẵn có và rất phong phú trong nước ở quy mô pilot nhằm đáp ứng nguyên liệu sản xuất thuốc cho công nghiệp bào chế dược phẩm trong nước.

MỤC LỤC

TÓM TẮT	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC BẢNG, BIỂU, HÌNH VẼ, SƠ ĐỒ	v
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT	vi
MỞ ĐẦU	1
I. TỔNG QUAN.....	3
I.1. Cây Phật thủ	3
I.1.1. Cây phật thủ và tác dụng chữa bệnh của Phật thủ	3
I.1.2. Thành phần hóa học của quả Phật thủ	4
I.2. Flavonoid, các hợp chất flavonoid trong cây họ Cam	6
I.2.1. Flavonoid.....	6
I.2.2. Flavonoid trong quả cây họ Cam	7
I.3. Hesperidin	11
I.3.1. Tính chất của Hesperidin	12
I.3.2. Tác dụng dược lý của Hesperidin	12
I.3.3. Tổng quan về tình hình nghiên cứu tách chiết hesperidin	17
I.4. Phân tích hesperidin	19
I.4.1. Phổ tử ngoại của hesperidin	20
I.4.2. Phổ khối MS của hesperidin	20
I.4.3. Phân tích hesperidin bằng HPLC.....	20
II. PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM.....	21
II.1. Phương pháp tiếp cận.....	21
II.2. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị.....	22
II.2.1. Nguyên liệu, hóa chất.....	22
II.2.2. Dụng cụ, thiết bị.....	22
II.3. Phương pháp chiết tách hesperidin	23
II.3.1. Phương pháp chiết flavonoid toàn phần	23
II.3.2. Phương pháp tách chiết Hesperidin	24
II.4. Phân tích sản phẩm	24
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	25

III.1.	Tách chiết flavonoid toàn phần từ quả Phật thủ	25
III.2.	Tách chiết và tinh chế Hesperidin.....	25
III.3.	Khảo sát các thông số ảnh hưởng đến quá trình tách chiết hesperidin từ quả Phật thủ.....	27
III.3.1.	Ảnh hưởng của pH dung môi chiết đến hiệu suất tách chiết hesperidin.....	27
III.3.2.	Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi chiết.....	29
III.3.3.	Ảnh hưởng của nhiệt độ.....	30
III.3.4.	Ảnh hưởng của thời gian chiết mẫu.....	32
III.3.5.	Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu.....	34
III.3.6.	Ảnh hưởng của pH môi trường kết tinh.....	35
III.4.	Kết quả tách chiết hesperidin lượng lớn từ Phật thủ, vỏ Cam và vỏ Quýt.....	38
III.5.	Phân tích và kiểm nghiệm sản phẩm.....	39
III.5.1.	Phổ hồng ngoại và UV của sản phẩm.....	39
III.5.2.	Khối phổ MS của hesperidin.....	40
III.5.3.	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H -NMR của hesperidin	40
III.5.4.	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C -NMR của hesperidin	41
III.5.5.	Kết quả kiểm nghiệm	41
III.6.	Đề xuất công nghệ sản xuất Hesperidin.....	42
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ		45
TÀI LIỆU THAM KHẢO		47
CÁC PHỤ LỤC		50

DANH MỤC BẢNG, BIỂU, HÌNH VẼ, SƠ ĐỒ

Bảng 1: Các hợp chất flavanone dưới dạng aglycone.....	8
Bảng 2: Các hợp chất flavone dưới dạng aglycone	8
Bảng 3: Các hợp chất polymethoxyflavone	9
Bảng 4: Các hợp chất flavanone-O-glycosid	9
Bảng 5: Flavone-C-glucosid và flavone-O-glucosid	10
Bảng 6: Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất tách chiết hesperidin	27
Bảng 7: Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi chiết đến hiệu suất chiết hesperidin.....	29
Bảng 8: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết hesperidin.....	31
Bảng 9: Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chiết hesperidin	33
Bảng 10: Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến hiệu suất chiết hesperidin	34
Bảng 11: Ảnh hưởng của pH môi trường kết tinh	36
Bảng 12: Hiệu suất chiết hesperidin ở quy mô và nguồn nguyên liệu khác nhau	38
Biểu đồ 1: Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất quá trình chiết	28
Biểu đồ 2: Hiệu suất tách chiết hesperidin từ flavonoid toàn phần ở pH khác nhau	28
Biểu đồ 3: Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi chiết đến hiệu suất chiết hesperidin	30
Biểu đồ 4: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết hesperidin	32
Biểu đồ 5: Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chiết hesperidin	33
Biểu đồ 6: Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu	35
Biểu đồ 7: Ảnh hưởng của pH môi trường kết tinh	36
Hình 1: Cây, hoa và quả Phật thủ.....	3
Hình 2: Các hợp chất polyphenol chính trong phật thủ	5
Hình 3: Khung flavone và flavanone	6
Hình 4: Cấu trúc phân tử của các nhóm flavonoid	7
Hình 5: Rutinose và neohesperidose	10
Hình 6: Sơ đồ phân mảnh qua bước chuyển vị nội phân tử của hesperidin. ..	40
Hình 7: Sơ đồ công nghệ sản xuất Hesperidin.....	44

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

CS:	Cộng sự.
CP:	Cổ phần.
DMF:	Dimetyl formamid.
Gl:	Glucose.
HPLC:	Sắc ký lỏng hiệu năng cao.
KL/TT:	Khối lượng / Thể tích.
KL:	Khối lượng.
Rh:	Rhamnose.
THF:	Tetrahydrofuran.
TT/KL:	Thể tích/Khối lượng.
TP:	Toàn phần.
TT:	Thể tích.
YHCT:	Y học cổ truyền.

MỞ ĐẦU

Hesperidin là một Flavonoid có tác dụng kháng viêm, chống ôxy hóa, chống dị ứng, chống ung thư nhờ khả năng hấp thụ tác nhân gây ung thư. Hesperidin có tác dụng làm bền thành mạch và giảm tính thấm của mao mạch nên được sử dụng trong điều trị bệnh cao huyết áp và bệnh trĩ. Tác dụng chữa ho của hesperidin là do khả năng chống dị ứng nhờ tính chất ức chế việc giải phóng histamine từ các tế bào lớn. Hesperidin khi dùng phối hợp với vitamin C có tác dụng cộng hưởng và hỗ trợ hấp thụ vitamin C.

Hesperidin là hợp chất flavonoid chủ yếu trong vỏ quả cây họ Cửu lý hương (*Rutaceae*) thường được gọi là họ Cam như: Cam, Quýt, Chanh, Phật thủ, Thanh yên, Bưởi vv. Nhiều bộ phận của cây họ này được sử dụng làm thuốc trong y học cổ truyền để điều trị bệnh đặc biệt là để chữa ho. Đặc biệt thuốc ho đông dược từ Phật thủ có thể dùng được cho trẻ em. Tuy nhiên, việc nghiên cứu tách chiết các hoạt chất có trong các loại dược liệu này để làm nguyên liệu sản xuất thuốc ở nước ta còn được quan tâm chưa nhiều.

Năm 2007 Viện Hóa học công nghiệp Việt Nam hợp tác với Công ty CP Vimedimex nghiên cứu phát triển thuốc ho từ quả Phật thủ. Trong quá trình triển khai nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy phần bã thải còn chứa một lượng lớn flavonoid glycosid mà chủ yếu là hesperidin. Vì vậy chúng tôi đặt vấn đề nghiên cứu chiết hesperidin từ quả Phật thủ nhằm tận dụng và nâng cao hiệu quả kinh tế.

Với những lý do đề cập ở trên, việc nghiên cứu chiết xuất Hesperidin từ nguồn nguyên liệu thiên nhiên sẵn có trong nước trên cơ sở công nghệ tự nghiên cứu là hết sức cần thiết. Hơn nữa, việc tự sản xuất hesperidin trong nước vừa góp phần đa dạng hóa sản phẩm, vừa góp phần tự chủ, đa dạng hóa nguồn nguyên liệu sản xuất thuốc phù hợp với mục tiêu, chiến lược xây dựng và phát triển ngành công nghiệp hóa dược.

Mục tiêu của đề tài:

- Xây dựng quy trình tách chiết, phân lập Hesperidin làm nguyên liệu sản xuất thuốc từ quả phật thủ.

Đề tài đã tiến hành các nội dung nghiên cứu sau:

- Xác định điều kiện chiết tách flavonoid toàn phần từ quả phật thủ.
- Phân lập và tinh chế Hesperidin đạt tiêu chuẩn nguyên liệu thuốc.
- Xây dựng quy trình tách chiết Hesperidin từ quả phật thủ.
- Phân tích kiểm nghiệm một số chỉ tiêu cơ bản của sản phẩm.

I. TỔNG QUAN

I.1. Cây Phật thủ

I.1.1. Cây phật thủ và tác dụng chữa bệnh của Phật thủ

Cây Phật thủ có tên khoa học là *Citrus medica L var. Sarcodactylis Swingle* thuộc chi Cam quýt (*Citrus*) họ Cửu lý hương (*Rutaceace*) thường được gọi là họ Cam; tên thường gọi là Buddha's Hand citron, Finger citrom frenit, Phật thủ. [5]

Cây Phật thủ là dạng cây nhỏ xanh tốt quanh năm, lá mọc so le, hình trứng, mép có răng cưa nhỏ, gai ngắn mọc ở dưới lá. Vào đầu mùa hạ ra hoa màu trắng, cánh hoa trên trắng dưới đỏ, quả chín vào mùa đông, vỏ ngoài màu vàng, trên một số những múi chạy dài dọc quả phía dưới tách ra trông như ngón tay nên có tên là phật thủ.[5], [4] (Hình 1)



Hình 1: Cây, hoa và quả Phật thủ