



(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) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**



2-0002518

(51)⁷ **C07C 46/10; A01N 65/30; A01P 9/00 (13) Y**

(21) 2-2017-00134

(22) 23/05/2017

(45) 25/11/2020 392

(43) 26/11/2018 368A

(73) Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam (VN)

Số 2 Phạm Ngũ Lão, quận Hoàn Kiếm, thành phố Hà Nội

(72) Lê Đăng Quang (VN); Trần Thị Thu (VN); Lê Lương Khánh Chi (VN); Tạ Thị Sơn Đông (VN); Nguyễn Thị Duyên (VN); Đặng Khôi Nguyên (VN); Vũ Đình Hoàng (VN).

(54) **QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT EMODIN TỪ RỄ CÂY CỐT KHÍ POLYGONUM
CUSPIDATUM**

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum* bao gồm các bước:

(i) Chiết hồi lưu nóng thu cao chiết thô;

(ii) Chiết phân bố làm giàu cao chiết; và

(iii) Sắc kí cột thu emodin.

Quy trình này để thực hiện, sản phẩm thu được có độ tinh khiết cao, lượng sản phẩm tối đa.

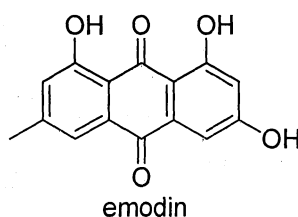
Lĩnh vực kĩ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực chiết xuất hoạt chất nguồn gốc thực vật có tác dụng sinh học. Cụ thể, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum* nhằm thu được emodin có hàm lượng cao nhờ quá trình trích ly rắn-lỏng và lỏng-lỏng.

Tình trạng kĩ thuật của giải pháp hữu ích

Cây cốt khí, có tên khoa học là *Polygonum cuspidatum*, thuộc loại cây nhỏ lâu năm, mọc hoang ở đồi núi hoặc ven đường ở nhiều tỉnh phía Bắc nước ta, đặc biệt mọc nhiều ở Sapa. Trong y học, rễ cây cốt khí thường được sử dụng như một vị thuốc chữa tê thấp, hoạt huyết, tiêu viêm, thông kinh giảm đau, giảm độc, kinh nguyệt bế tắc, đau do bị thương, bụng trướng, khó tiêu. Rễ cây chứa emodin, physcion, emodin 8-O- β -glucosid, β -sitosterol glucosid, 3,4,5-trihydroxystilben 3-O- β -O-glucosid, polygonin, rheochrysin, polydatin, resveratol, cuspidatin... Trong đó, emodin được biết đến là hoạt chất có tác dụng kích thích ruột, kháng sinh, giảm đau, kháng khuẩn, kháng vi rút, chống oxi hóa, bảo vệ tế bào gan, giảm các biểu hiện bệnh lý của gan, chống ung thư gan, ung thư phổi, chống loãng xương.

Emodin có tên khoa học là 1,3,8-trihydroxy-6-metyl-9,10-anthracenedion (công thức I), có công thức phân tử $C_{15}H_{10}O_5$. Emodin có dạng tinh thể kết tinh màu vàng cam, nóng chảy ở khoảng 256–257°C. Emodin không tan trong nước nhưng tan trong các dung môi hữu cơ (ete, ete dầu hỏa, cloroform, benzen, axeton, axit axetic), các dung dịch kiềm, dung dịch amoniac, dung dịch natri cacbonat.



Công thức I

Trên thế giới đã có một số sáng chế về các quy trình tách chiết emodin như:

CN 102875351 A: Chiết xuất emodin trong *Polygonum cuspidatum* bằng phương pháp chiết lôi cuốn hơi nước, sau đó hơi nước được ngưng tụ ở 40~90°C, emodin được kết tinh lại trong thiết bị kết tinh.

CN 102080108 A: Chiết xuất emodin trong *Polygonum cuspidatum* bằng cách sử dụng công nghệ enzym hóa chân không, bao gồm các bước: nghiền mẫu, ngâm mẫu trong dung dịch enzym, tạo vào duy trì môi trường chân không, phá bỏ môi trường chân không và duy trì nhiệt độ, chiết mẫu, điều chỉnh pH dịch chiết, kết tinh sản phẩm, lọc rửa thu sản phẩm.

US 7977516 B2: Chiết xuất emodin trong *Polygonum cuspidatum* bằng phương pháp trích ly chọn lọc dung môi: chiết mẫu lần lượt với dung môi thơm, dung môi hydrocacbon mạch hở / ete, dung môi phân cực.

CN 103073409 A: Phân lập emodin trong *Polygoni cuspidati*, quá trình bao gồm các bước: sấy khô, nghiền mẫu, chiết với etanol, lọc, cô lấy cao chiết, tách phân đoạn bằng nhựa thô, rửa giải bằng nước và gradient nước-etanol, gom phân đoạn và thu hồi dung môi, sử dụng sắc ký cột silica gel, rửa giải bằng hỗn hợp clorofom:metanol 7:3, gom phần rửa giải, kết tinh bằng axeton thu được emodin.

CN 102329209 A: Chiết xuất emodin từ *knotweed rhizome*, quy trình bao gồm các bước: nghiền mẫu, ngâm mẫu, chiết mẫu, điều chỉnh pH, hấp phụ mẫu trên cột nhựa thô, rửa giải bằng các nồng độ etanol khác nhau, cô đặc các phần rửa giải rồi hòa trong natricacbonat, chiết trong butanol, điều chỉnh pH, kết tủa, lọc lấy kết tủa, hòa tan kết tủa lần lượt trong axeton và etanol thu được sản phẩm.

So với các sáng chế trên, sáng chế này cũng bao gồm các bước cơ bản của quá trình xử lý mẫu ban đầu và chiết mẫu, tuy nhiên phương pháp này dùng metanol làm dung môi chiết, không áp dụng quá trình điều chỉnh pH mà sử dụng phương pháp chiết phân bố thu lấy phần cao etyl axetat, sau đó tiếp tục sử dụng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexan:etyl axetat để phân tách các phân đoạn nhằm làm giàu hàm lượng chất, sau đó kết tinh thu được emodin.

Bản chất kĩ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum*. Trong giải pháp này, các tác giả đề xuất quy trình chiết xuất emodin với quy trình đơn giản, dễ thực hiện, dung môi có thể thu hồi nên an toàn với môi trường, sản phẩm thu được có độ tinh khiết cao, lượng sản phẩm thu được gần như tối đa.

Quy trình chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum* theo giải pháp hữu ích gồm các bước sau:

(i) Chiết hồi lưu nóng thu cao chiết thô:

- sơ chế làm sạch và sấy khô rễ cây cốt khí, nghiền nhỏ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum* thu rễ cây cốt khí nghiền nhỏ;
- chiết hồi lưu nóng rễ cây cốt khí nghiền nhỏ bằng dung môi metanol, lọc thu dịch chiết rễ cây;
- cô quay chân không dịch chiết rễ cây thu cao chiết rễ cây;

(ii) Chiết phân bố làm giàu cao chiết:

- hòa tan cao chiết rễ cây trong hỗn hợp metanol:nước 8:2;
- chiết phân bố hỗn hợp cao chiết rễ cây đã hòa tan trong metanol:nước 8:2 với dung môi *n*-hexan;
- tháo riêng hai phân lớp là phân lớp dung môi (dịch chiết *n*-hexan) và phân lớp metanol:nước;
- cô quay chân không phân lớp metanol:nước nhằm loại bỏ dung môi metanol trong phân lớp này và bổ sung nước để thu hỗn hợp chứa nước và các chất còn lại của cao chiết rễ cây sau khi đã trích ly bằng *n*-hexan (hỗn hợp A);
- chiết phân bố hỗn hợp A với etyl axetat, tháo riêng pha dung môi là dịch chiết etyl axetat;
- cô quay chân không dịch chiết etyl axetat thu cao chiết etyl axetat; và

(iii) Sắc kí cột thu emodin:

- cao chiết etyl axetat được chạy sắc kí bằng phương pháp sắc kí cột silica gel thu được các phân đoạn nhỏ; kết tinh sơ bộ các phân đoạn này để thu emodin.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Thuật ngữ “nguyên liệu” được sử dụng trong giải pháp hữu ích này có nghĩa là rễ cây cốt khí (*Polygonum cuspidatum*) của cây đã trưởng thành, được sấy khô tới độ ẩm bằng 10%, nghiền nhỏ đến kích thước 3 đến 4 mm.

Thuật ngữ “chiết hồi lưu nóng” được sử dụng trong giải pháp hữu ích này có nghĩa là quá trình trích ly các chất trong rễ cây cốt khí ra khỏi rễ cây cốt khí bằng dung môi ở nhiệt độ chiết trong khoảng từ 45 đến 64 °C.

Thuật ngữ “cao chiết thô” được sử dụng trong giải pháp hữu ích này có nghĩa là cao chiết thu được từ quá trình chiết hồi lưu nóng bởi dung môi metanol .

Thuật ngữ “chiết phân bố” được sử dụng trong giải pháp hữu ích này có nghĩa là quá trình trích ly các chất phân bố *n*-hexan và etyl axetat ra khỏi cao chiết thô trong điều kiện lắc hoặc khuấy mạnh ở nhiệt độ 20 đến 35°C và thời gian từ 1 đến 2 giờ.

Thuật ngữ “cao chiết etyl axetat” được sử dụng trong giải pháp hữu ích này có nghĩa cao chiết có chứa các chất thu được từ quá trình trích ly cao chiết thô, lần lượt với các dung môi *n*-hexan và etyl axetat để loại bỏ các chất phân bố trong dung môi *n*-hexan và thu các chất phân bố trong dung môi etyl axetat.

Quy trình chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum* gồm các bước:

(i) Chiết hồi lưu nóng thu cao chiết thô;

Rễ cây cốt khí sau khi thu hái được mang về sơ chế làm sạch loại bỏ đất cát, sau đó cắt mỏng và đem sấy khô ở nhiệt độ tốt hơn từ 40 đến 50°C cho tới khi độ ẩm bằng 10%. Nghiền nhỏ nguyên liệu tới kích thước 2 đến 4 mm trước khi tiến hành ngâm chiết với metanol để quá trình chiết tốt hơn. Đổ nguyên liệu vào thiết bị chiết hồi lưu và chiết với metanol ở tỉ lệ nguyên liệu:dung môi là từ 1:3 đến 1:5 (khối lượng:thể tích), chiết hồi lưu ở nhiệt độ tốt hơn từ 55 đến 64°C, trong thời gian tốt hơn từ 6 đến 10 giờ. Sau đó, ngừng gia nhiệt và để nguội tới nhiệt độ phòng, tháo dịch chiết metanol từ rễ cây cốt khí sang bình chứa, quá trình chiết lặp lại 3 lần. Dịch chiết metanol từ rễ cây cốt khí sau 3 lần chiết hồi lưu được gộp lại và cô quay chân không loại bỏ dung môi metanol trong thiết bị cô quay chân không ở nhiệt độ tốt hơn từ 50 đến 60°C và áp suất trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (10,1 đến 50,5KPa) cho tới khi loại hết dung môi metanol và thu được cao chiết thô. Chiết

ở các khoảng thông số công nghệ như tỉ lệ nguyên liệu:dung môi từ 1:4 đến 1:5 (khối lượng:thể tích), nhiệt độ chiết hồi lưu từ 60 đến 64°C, thời gian chiết từ 8 đến 10 giờ là các khoảng thông số tối ưu, ở các khoảng này quá trình chiết đạt hiệu quả cao. Nếu các thông số này thấp hơn thì hiệu quả của quá trình chiết giảm, nếu các thông số này cao hơn thì tiêu tốn nguyên liệu, hóa chất, năng lượng và hiệu quả quá trình chiết cũng giảm.

(ii) Chiết phân bố làm giàu cao chiết:

Cao chiết thô được tinh chế lại bằng cách chiết lần lượt trong dung môi *n*-hexan và etyl axetat ở nhiệt độ 25 đến 35 °C trong khoảng 1-2 giờ. Cao chiết thô được chiết phân bố với dung môi *n*-hexan bằng cách hòa tan hoàn toàn cao chiết thô trong hỗn hợp metanol:nước 8:2, tỉ lệ cao chiết thô:hỗn hợp dung môi metanol:nước là từ 1:5 đến 1:8 (khối lượng:thể tích) thu được hỗn hợp cao chiết thô trong metanol:nước 8:2. Đổ hỗn hợp trên vào thiết bị chiết, tiếp theo nạp thêm một đơn vị thể tích dung môi *n*-hexan bằng với thể tích hỗn hợp metanol:nước 8:2 dùng hòa tan cao chiết thô. Sau đó chiết phân bố ở nhiệt độ 25 đến 35 °C trong khoảng thời gian tốt hơn từ 1 đến 2 giờ. Hỗn hợp trên sẽ phân thành hai pha là pha metanol:nước và pha dung môi. Tháo riêng và loại bỏ pha dung môi là dịch chiết *n*-hexan. Pha metanol:nước được tháo ra, cô quay chân không ở nhiệt độ 50 đến 60 °C nhằm loại hoàn toàn dung môi metanol, sau đó bổ sung thêm nước để thu được phân lớp nước chứa các chất còn lại của cao chiết thô sau khi trích ly với *n*-hexan (hỗn hợp A).

Tiến hành chiết phân bố hỗn hợp A với dung môi etyl axetat bằng cách đổ hỗn hợp A và một đơn vị thể tích dung môi etyl axetat tương đương với thể tích hỗn hợp A vào thiết bị chiết. Tiến hành chiết phân bố ở nhiệt độ 25 đến 35 °C trong khoảng thời gian tốt nhất từ 1 đến 2 giờ. Hỗn hợp trên sẽ phân thành hai pha là pha nước và pha dung môi. Tháo riêng pha dung môi là dịch chiết etyl axetat vào bình hứng. Sau đó tiến hành cô quay hút chân không loại dung môi etyl axetat trong dịch chiết etyl axetat. Quá trình hút chân không loại dung môi được tiến hành ở nhiệt độ tốt nhất từ 55 đến 65°C và áp suất chân không trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (10,1 đến 50,5KPa) cho tới khi loại hết dung môi và thu được cao chiết etyl axetat. Cao chiết etyl axetat là cao chiết chứa hàm lượng lớn emodin so với cao chiết thô. Cao chiết etyl axetat được sử dụng để chạy sắc kí cột silica gel nhằm thu emodin có độ tinh khiết cao.

(iii) Sắc kí cột thu emodin:

Tiến hành làm giàu emodin bằng phương pháp sắc kí cột. Cao chiết etyl axetat được hòa tan hoàn toàn trong dung môi metanol với tỉ lệ cao chiết etyl axetat:metanol là 1:10 (khối lượng:thể tích), bổ sung thêm một lượng silica gel (40-63 μ m) với tỉ lệ silica gel : cao chiết etyl axetat là 2:1 (khối lượng: khối lượng) và lắc đều, sau đó cô quay loại hết dung môi để thu được hỗn hợp cao chiết etyl axetat trộn trong silica gel.

Chuẩn bị cột sắc kí với chất hấp phụ là silica gel có kích thước hạt 40 đến 63 μ m, lượng silica gel nhồi trên cột tỉ lệ với lượng silica gel trộn với cao chiết etyl axetat theo tỉ lệ từ 20:1 đến 40:1 (khối lượng:khối lượng), ổn định cột sắc kí bằng cách cho một lượng dung môi *n*-hexan:etyl axetat 80:20 (thể tích: thể tích) chạy qua cột với tỉ lệ dung môi *n*-hexan:etyl axetat (80:20): silica gel nhồi cột là 6:1 (thể tích:khối lượng) chạy qua cột.

Hỗn hợp cao chiết etyl axetat trộn trong silica gel được đưa lên trên cột sắc kí silica gel với chất hấp phụ là silica gel có kích thước hạt 40 đến 63 μ m. Cho lần lượt các hệ dung môi rửa giải có độ phân cực tăng dần là *n*-hexan:etyl axetat từ 80:20 đến 30:70 (thể tích: thể tích) và hứng dung môi chảy ra khỏi cột vào các ống nghiệm. Sắc kí lớp mỏng các ống nghiệm thu được, tiến hành gộp các ống nghiệm thành các phân đoạn khác nhau dựa trên sự giống nhau khi sắc kí lớp mỏng của các ống nghiệm. Kết tinh sơ bộ các phân đoạn, thu được chất kết tinh màu đỏ, gạn rửa kết tinh thu được các tinh thể hình kim, màu đỏ. Cấu trúc hóa học của tinh thể này được xác định bằng các phương pháp phổ khối và phổ cộng hưởng từ hạt nhân, kết quả chất thu được là emodin.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Dưới đây là một số ví dụ minh họa về quy trình chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum*. Những ví dụ này chỉ có mục đích minh họa mà không làm giới hạn phạm vi bảo hộ.

Ví dụ 1: Chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí

Rễ cây cốt khí sau khi thu hái được mang về sơ chế làm sạch loại bỏ đất cát, sau đó cắt mỏng và đem sấy khô ở nhiệt độ 45 °C cho tới khi độ ẩm bằng 10%. Nghiền nhỏ nguyên liệu tới kích thước 2 đến 4 mm trước khi tiến hành ngâm chiết với metanol để quá trình

chiết tốt hơn. Đổ nguyên liệu vào thiết bị chiết hồi lưu và chiết với metanol ở tỉ lệ nguyên liệu:dung môi là 1:4 (khối lượng:thể tích), chiết hồi lưu ở nhiệt độ 64°C, trong thời gian 8 giờ. Sau đó, ngừng gia nhiệt và để nguội tới nhiệt độ 35 °C, tháo dịch chiết metanol từ rễ cây cốt khí sang bình chứa, quá trình chiết lặp lại 3 lần. Dịch chiết metanol từ rễ cây cốt khí sau 3 lần chiết hồi lưu được gộp lại và cô loại bỏ dung môi metanol trong thiết bị cô hút chân không ở nhiệt độ 60 °C và áp suất trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (10,1 đến 50,5KPa) cho tới khi loại hết dung môi metanol và thu được cao chiết thô.

Cao chiết thô được tinh chế lại bằng cách chiết lần lượt trong dung môi *n*-hexan và etyl axetat ở nhiệt độ 35 °C trong khoảng 2 giờ. Cao chiết thô được chiết phân bố với dung môi *n*-hexan bằng cách phân tán hoàn toàn cao chiết thô trong hỗn hợp metanol:nước 8:2, tỉ lệ cao chiết thô:hỗn hợp dung môi metanol:nước là 1:5 (khối lượng:thể tích) và đổ hỗn hợp vào thiết bị chiết. Bổ sung thêm một đơn vị thể tích dung môi *n*-hexan bằng với thể tích hỗn hợp dung môi metanol:nước dùng để hòa tan cao chiết thô. Sau đó chiết phân bố ở nhiệt độ 35 °C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp trên sẽ phân thành hai pha là pha metanol:nước và pha dung môi. Tháo riêng và loại bỏ pha dung môi là dịch chiết *n*-hexan sang bình chứa, quá trình chiết được lặp lại 3 lần. Dịch chiết *n*-hexan của 3 lần chiết được gộp lại và tiến hành cô quay hút chân không tại nhiệt độ 55°C và áp suất trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (0,98 đến 49KPa) nhằm loại hết dung môi, thu cao chiết *n*-hexan đã tinh chế. Pha metanol:nước còn lại được tháo ra, cô quay chân không ở nhiệt độ 60 °C nhằm loại dung môi metanol, sau đó bổ sung thêm nước để thu được hỗn hợp chứa các chất còn lại của cao chiết thô sau khi trích ly với *n*-hexan (hỗn hợp A).

Tiến hành chiết phân bố hỗn hợp A với dung môi etyl axetat bằng cách đổ hỗn hợp A và một đơn vị thể tích dung môi etyl axetat tương đương với thể tích hỗn hợp A vào thiết bị chiết. Tiến hành chiết phân bố ở nhiệt độ 35 °C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp trên sẽ phân thành hai pha là pha nước và pha dung môi. Tháo riêng pha dung môi là dịch chiết etyl axetat vào bình hứng, quá trình chiết được lặp lại 3 lần. Dịch chiết etyl axetat của 3 lần chiết được gộp lại và tiến hành cô quay hút chân không loại dung môi dịch chiết etyl axetat. Quá trình hút chân không loại dung môi được tiến hành ở nhiệt độ 60 °C và áp suất

chân không trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (10,1 đến 50,5KPa) cho tới khi loại hết dung môi và thu được cao etyl axetat đã tinh chế.

Tiến hành làm giàu emodin bằng phương pháp sắc kí cột. Cao chiết etyl axetat (5 g) được phân tán hoàn toàn trong 50 ml dung môi metanol, bổ sung thêm 10 g silica gel (40-63 μ m) và lắc đều, sau đó cô quay loại hết dung môi để thu được hỗn hợp cao chiết etyl axetat trộn trong silica gel. Chuẩn bị cột sắc kí với chất hấp phụ là silica gel có kích thước hạt 40 đến 63 μ m, lượng silica gel nhồi trên cột tỉ lệ với lượng silica gel trộn với cao chiết etyl axetat theo tỉ lệ từ 20:1 (khối lượng:khối lượng), ổn định cột sắc kí bằng cách cho một lượng dung môi *n*-hexan:etyl axetat 80:20 (thể tích: thể tích) chạy qua cột với tỉ lệ dung môi *n*-hexan:etyl axetat (80:20): silica gel nhồi cột là 6:1 (thể tích:khối lượng) chạy qua cột.

Hỗn hợp cao chiết etyl axetat trộn trong silica gel được đưa lên trên cột sắc kí silica gel với chất hấp phụ là silica gel có kích thước hạt 40 đến 63 μ m, kích thước cột là 3,2 \times 25cm). Cho lần lượt các hệ dung môi rửa giải có độ phân cực tăng dần là *n*-hexan:etyl axetat với tỉ lệ 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60 và 30:70 (thể tích: thể tích) chạy qua cột và hứng dung môi chảy ra khỏi cột vào các ống nghiệm. Sắc kí lớp mỏng các ống nghiệm thu được, tiến hành gộp các ống nghiệm thành các phân đoạn khác nhau dựa trên sự giống nhau khi sắc kí lớp mỏng của các ống nghiệm. Kết tinh sơ bộ các phân đoạn, thu được chất kết tinh màu đỏ, gạn rửa kết tinh thu được kết tinh hình kim, màu đỏ.

Xác định cấu trúc hóa học của tinh thể bằng phương pháp phổ khối và phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Trên phổ khối của tinh thể này cho pic ion phân tử $[M+H]^+$ với số khối $m/z=271,16$; $[M-H]^+$ với số khối $m/z=268,96$. Vậy $M=270$ phù hợp với công thức phân tử tinh thể này và hợp chất $C_{15}H_{10}O_5$. Phổ 1H -NMR của tinh thể này đo trong dung môi metanol tại tần số 500Hz xuất hiện các nhóm tín hiệu 7,12 (1H, brd, $J=0,5Hz$, H-2), 7,60 (1H, d, $J=1,5Hz$, H-4), 7,21 (1H, d, $J=2,5Hz$, H-5), 6,59 (1H, d, $J=3,0$, H-7), 2,462 (3H, s, 3- CH_3). Phổ ^{13}C -NMR của tinh thể này trong dung môi metanol tại tần số 500Hz xuất hiện các tín hiệu 165,2 (C-1), 121,8 (C-2), 149,7 (C-3), 125,2 (C-4), 110,3 (C-5), 161,6 (C-6), 109,1 (C-7), 167,5 (C-8), 190,4 (9-C=O), 183,36 (10-C=O), 134,6 (C-4a), 110,9 (C-8a), 114,8

(C-9a), 134,6 (C-10a), 22,0 (3-CH₃). Từ các dữ liệu phổ khối và phổ cộng hưởng từ hạt nhân, kết luận tinh thể hình kim màu đỏ này là emodin.

Lợi ích đạt được của giải pháp hữu ích

Nhóm tác giả đã sử dụng quy trình chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum* với điều kiện chiết đơn giản, dễ thực hiện, dung môi có thể thu hồi nên an toàn với môi trường, sản phẩm thu được có dạng tinh thể, có độ tinh khiết cao có độ ổn định cao và dễ dàng bảo quản, lượng sản phẩm thu được gần như tối đa. Hợp chất emodin thu được từ quy trình này có nhiều ứng dụng trong thực tế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình chiết xuất emodin từ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum* bao gồm các bước:

(i) Chiết hồi lưu nóng thu cao chiết thô:

- sơ chế làm sạch và sấy khô rễ cây cốt khí tại nhiệt độ từ 40 đến 50°C, nghiền nhỏ rễ cây cốt khí *Polygonum cuspidatum* đến kích thước 3 đến 4 mm, thu rễ cây nghiền nhỏ;

- chiết hồi lưu nóng rễ cây cốt khí nghiền nhỏ bằng dung môi metanol với tỉ lệ nguyên liệu:dung môi là 1:3-1:5 (khối lượng/thể tích), tại nhiệt độ chiết là 60 đến 64°C, thời gian chiết 8 đến 10 giờ, thu dịch chiết metanol;

- cô quay chân không dịch chiết rễ cây ở nhiệt độ 50 đến 60°C, áp suất trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (10,1 đến 50,5KPa), thu cao chiết thô;

(ii) Chiết phân bố làm giàu cao chiết:

- hòa tan cao chiết thô trong hỗn hợp metanol:nước 8:2 với tỉ lệ cao chiết:hỗn hợp dung môi là 1:5 đến 1:8 (khối lượng:thể tích);

- chiết phân bố hỗn hợp cao chiết thô trong hỗn hợp metanol:nước 8:2 với dung môi *n*-hexan với tỉ lệ hỗn hợp cao chiết hòa tan:*n*-hexan là 1:1 (thể tích:thể tích), nhiệt độ 25 đến 35°C, thời gian 2 giờ, loại bỏ dịch chiết *n*-hexan và thu hỗn hợp metanol:nước;

- cô quay chân không hỗn hợp metanol:nước còn lại tại nhiệt độ 60°C, áp suất trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (10,1 đến 50,5KPa), để loại hết dung môi metanol trong hỗn hợp và bổ sung nước để thu hỗn hợp A;

- chiết phân bố hỗn hợp A với etyl axetat với tỉ lệ hỗn hợp A:dung môi etyl axetat là 1:1 (thể tích:thể tích), nhiệt độ 20 đến 35°C, thời gian 1 đến 2 giờ, tháo riêng nhằm thu dịch chiết etyl axetat; cô quay chân không dịch chiết etyl axetat tại nhiệt độ từ 50 đến 60°C, áp suất trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (10,1 đến 50,5KPa), thu cao chiết etyl axetat; và

(iii) Sắc kí cột thu emodin:

- hòa tan hoàn toàn cao chiết etyl axetat trong dung môi metanol với tỉ lệ cao chiết etyl axetat:metanol là 1:10 đến 1:20 (khối lượng:thể tích);
- bổ sung thêm một lượng silica gel (40-63 μ m) với tỉ lệ cao chiết etyl axetat: silica gel trộn là 1:1,5 đến 1:2,5 (khối lượng: khối lượng) và lắc đều;
- cô quay loại hết dung môi metanol tại nhiệt độ từ 50 đến 60 °C, áp suất trong khoảng từ 0,1 đến 0,5 atm (10,1 đến 50,5KPa), để thu được hỗn hợp cao chiết etyl axetat trộn trong silica gel;
- chuẩn bị cột sắc kí với chất hấp phụ là silica gel có kích thước hạt 40 đến 63 μ m, lượng silica gel nhồi trên cột tỉ lệ với lượng cao chiết etyl axetat theo tỉ lệ từ 20:1 đến 40:1 (khối lượng:khối lượng);
- ổn định cột sắc kí được bằng cách cho một lượng dung môi *n*-hexan:etyl axetat 80:20 (thể tích: thể tích) chạy qua cột với tỉ lệ dung môi *n*-hexan:etyl axetat (80:20): silica gel nhồi cột là 6:1 (thể tích:khối lượng);
- đưa hỗn hợp cao chiết etyl axetat trộn trong silica gel lên trên cột sắc kí silica gel, cho lần lượt các hệ dung môi rửa giải có độ phân cực tăng dần là *n*-hexan:etyl axetat từ 80:20 đến 30:70 (thể tích: thể tích) chạy qua và hứng dung môi chảy ra khỏi cột vào các ống nghiệm;
- sắc kí lớp mỏng các ống nghiệm thu được, tiến hành gộp các ống nghiệm thành các phân đoạn khác nhau dựa trên sự giống nhau khi sắc kí lớp mỏng của các ống nghiệm;
- kết tinh sơ bộ các phân đoạn, thu được chất kết tinh màu đỏ, gạn rửa kết tinh thu được các tinh thể hình kim màu đỏ là emodin.