

# NGHIÊN CỨU NHỮNG CÂY THUỐC CHI CITRUS Ở VIỆT NAM CÓ FLAVONOID ĐỂ SẢN XUẤT CHẾ PHẨM CITROFLAVONOID

TSKH. Trần Văn Thanh<sup>1</sup>, NCS. Trần Đức Hiệp<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Dược, Trường Đại học Hòa Bình

<sup>2</sup>NCS. Trường Đại học Tổng hợp Sungkyunkwan Hàn Quốc

Tác giả liên hệ: dr.tranvanthanh40@gmail.com

Ngày nhận: 01/12/2022

Ngày nhận bản sửa: 06/12/2022

Ngày duyệt đăng: 20/12/2022

## Tóm tắt

Nghiên cứu các cây thuốc chi *Citrus* có Flavonoid nguồn nguyên liệu để sản xuất Citroflavonoid ở Việt Nam. Bài viết đã nghiên cứu phân loại chi *Citrus* họ cam (Rutaceae), đặc điểm thực vật của chi, của các loài và các cây quan trọng: cây cam, quýt, bưởi, chanh, quất, phật thủ, thanh yên; thành phần hóa học của chúng; nghiên cứu các quy trình chiết xuất Flavonoid, Hesperidin, Naringin của một số cây quan trọng.

**Từ khóa:** Chi *Citrus*, rutaceae, cây cam, quýt, bưởi, chanh, quất...

## A Study of Citrus Herbal Plants with Flavonoid in Vietnam for Producing Citroflavonoid

### Abstract

The paper aims to study Citrus Herbal Plants with Flavonoid in Vietnam for producing Citroflavonoid. Studies are conducted on Genus citrus Family Rutaceae, the typical features of the important medicinal plants: *Citrus sinensis*, *Citrus recutilata*, *Citrus grandis*, *Citrus limonia*, *Citrus japonica*; their chemical and medicinal properties; and the process for extracting Flavonoids from Genus Citrus.

**Keywords:** *Citrus sinensis*, *recutilata*, *grandis*, *limonia*, *japonica*...

## 1. Đặt vấn đề

Những năm gần đây, thế giới đang có xu hướng quay về với các hợp chất tự nhiên, ưu tiên sử dụng các hoạt chất tự nhiên trong việc chăm sóc và bảo vệ sức khỏe con người.

Ở Việt Nam, chi *Citrus* là một chi lớn thuộc họ Cam (Rutaceae) có nguồn gốc từ Đông Nam Á. *Citrus* là một trong các chi có giá trị kinh tế quan trọng và được trồng rộng rãi khắp nước ta, đặc biệt là ở Đồng bằng sông Cửu Long. Có đến 76% cam, chanh được sản xuất từ vùng này và sản lượng cũng cao hơn bình quân cả nước: 12,9 tấn/ha so với 10,5 tấn/ha.

Từ lâu, ở nước ta, các cây thuộc chi *Citrus* được sử dụng chủ yếu trong y học cổ truyền với các tên quen thuộc như: Chi thực, chỉ xác, trần bì, thanh bì để làm thuốc ho, tiêu thực, trừ đờm... Hơn 60 flavonoid trong *Citrus* có một phạm vi tác dụng khá

rộng bao gồm tác dụng kháng viêm, chống khối u, chống virus, chống huyết áp cao, chống đông máu và đặc biệt tác dụng chống oxy hóa mạnh, phòng và chống ung thư. Flavonoid của *Citrus* còn có tác dụng làm giảm nguy cơ của bệnh mạch vành, một bệnh có tỷ lệ tử vong khá cao ở người cao tuổi hiện nay. Tuy nhiên, trong đời sống, lượng vỏ *Citrus* thải ra ngày càng nhiều, chưa được tận dụng. Trong khi đó, ở Pháp, người ta đã tận dụng bã vỏ thứ phẩm của các loài *Citrus*, sau công nghệ nước giải khát, sản xuất ra hàng trăm tấn Citroflavonoid mỗi năm và xuất khẩu đi các nước. Hàng năm, nước ta vẫn phải nhập các loại thuốc này như: Diosmin, Daflon, Flebosmil, Cemaflavone, Circularine, Bioflavonoid... với một giá khá đắt, khó có thể đáp ứng được nhu cầu của đa số người có thu nhập thấp. Như vậy, nếu chúng ta tận dụng được

nguồn nguyên liệu sẵn có và rẻ tiền này để phát triển sản xuất ra thành phẩm có ích, thì chúng ta sẽ có đóng góp lớn cho lợi ích kinh tế, môi trường và khoa học công nghệ. Với lí do đó, chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu các cây thuộc chi *Citrus* ở Việt Nam có Flavonoid để sản xuất chế phẩm Citroflavonoid.

## 2. Nội dung nghiên cứu

### 2.1. Về thực vật chi citrus

#### 2.1.1. Vị trí phân loại chi *Citrus*

Chi *Citrus* là một chi lớn nằm trong họ Cam - Rutaceae. Họ này có 150 chi và 2.000 loài. Chúng phân bố rộng rãi ở vùng nhiệt đới, ôn đới, đặc biệt ở Nam Phi và Australia. Nhiều loài trong họ này có quả ăn ngon miệng, bổ dưỡng và được trồng ở nhiều nơi. Việt Nam, có gần 30 chi, 110 loài, mọc hoang và được trồng phổ biến lấy quả: Bưởi, chanh, cam, quýt, quất, phật thủ, hồng bì, thanh yên.

#### 2.1.2. Đặc điểm thực vật của chi *Citrus*

Các cây chi *Citrus* thường là các cây gỗ nhỏ hay cây bụi. Quả mọng, vỏ quả ngoài chứa nhiều túi tiết tinh dầu, vỏ quả giữa màu trắng, xốp, vỏ quả trong có những lông mọng nước (được gọi là tôm, tép) có vị chua hay ngọt. Hạt của chúng thường có nhiều phôi, nhưng về sau, chỉ có một phôi phát triển thành cây trưởng thành, còn các phôi khác bị tiêu giảm đi.

Có nhiều tài liệu phân loại về các loài trong chi *Citrus*. Theo Engler thì có 9 loài, theo Swingle, có 16 loài, còn Tanaka lại liệt kê 166 loài thuộc chi *Citrus*. Ngày nay, đã có rất nhiều cá thể lai giữa các loài trong chi này, nên phân loại rất phức tạp.

Sau đây là các cây ăn quả rất phổ biến:

**(1) Bưởi** - Tên khoa học là *Citrus grandis* (L.) Osbeck.

Tên đồng nghĩa *C. Decumana* L. và *C. Maxima* (Burm.) Merr.

Đặc điểm thực vật

Cây nhỡ, cao tới gần 10m. Vỏ thân màu vàng nhạt, đôi khi ở kẽ nứt ở thân chảy ra một thứ gôm nhựa. Cành rủ thấp, có gai ở cây trồng bằng hạt hoặc không gai ở cây trồng bằng giâm cành, gai dài khoảng 5cm, các bộ phận cành non thường có lông tơ.

Lá mọc so le, phiến dài, hình trái xoan hoặc hình trứng, gốc và đầu tù, mặt trên nhẵn bóng, mặt dưới có gân lồi nổi rõ; cuống lá có cánh rộng tạo với phiến lá thành hình số 8. Cụm hoa mọc ở kẽ lá thành chùm, 6-10 hoa màu trắng rất thơm, lá bắc và cuống hoa có lông, đài hình đầu, có 4-5 răng nhỏ hàn liền, tràng có 5 cánh dày, rời nhau, nhị nhiều, ngắn bằng nửa cánh hoa, xếp tỏa tròn rất xít nhau; bầu hình cầu, có lông. Quả hình cầu, cùi rất dày, màu vàng hoặc màu đỏ nhạt (tùy giống), trong có nhiều múi mọng nước; hạt dẹt có cạnh và chất nhầy bao quanh. Lá và vỏ quả có tinh dầu thơm. Mùa hoa: tháng 3-5, mùa quả: tháng 8-11.

Bưởi có nguồn gốc ở vùng Ấn Độ - Malaysia. Cây được trồng nhiều ở khu vực Đông Nam Á, Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn Độ và các nước Địa Trung Hải. Ở Việt Nam, cây được trồng ở khắp nơi. Có nhiều giống bưởi ở nước ta, hay được biết đến như bưởi Biên Hòa (Đông Nai), Da Xanh (Bến Tre), Đoan Hùng (Phú Thọ), Năm Roi (Cần Thơ), Phúc Trạch (Hà Tĩnh). Tại Hà Nội, có bưởi Diễn cũng khá nổi tiếng.

**(2) Cam** - Tên khoa học: *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.

Tên đồng nghĩa: *C. aurantium* L.

**Đặc điểm thực vật**

Cây nhỡ, cao vài mét. Thân nhẵn không gai hoặc có ít gai. Cành non hơi có cạnh. Lá mọc so le, phiến dài, hình trái xoan, dài 5-10cm, rộng 2,5-5cm, gốc thuôn, đầu nhọn, mép nguyên, hơi khía tai bèo ở phần đầu lá, gân lá nổi rõ ở mặt dưới, cuống lá hơi có cánh. Cụm hoa mọc ở kẽ lá thành chùm nhỏ gồm 6-8 hoa màu trắng; lá bắc hình mũi mác; đài hình đầu; 5 răng tròn dính nhau ở nửa phần dưới; tràng gồm 5 cánh thuôn rời nhau; nhị nhiều, ngắn hơn cánh hoa, dính nhau không đều; bầu hình cầu. Quả hình cầu, khi chín vàng da cam, vỏ khó bóc, có nhiều múi chứa tép vị chua, ngọt; hạt hình quả lê. Mùa hoa: tháng 1-2, mùa quả: tháng 10-12.

Trong số các loài cây trồng thuộc chi *Citrus*, cam là cây trồng thu hái quả phổ biến nhất, được trồng rộng rãi ở các nước nhiệt đới và á nhiệt đới trên thế giới. Ở nước

ta, cam cũng được trồng từ lâu đời. Ngày nay, có nhiều giống cam quý được trồng ở nước ta như cam Bồ Hạ (Yên Thế, Bắc Giang), cam Vinh và cam xã Đoài (Nghệ An), cam Bắc Quang (Hà Giang)...

**(3) Chanh** - Tên khoa học: *Citrus limonia* Osbeck (chanh kiên) được trồng nhiều ở miền Bắc và *C. aurantifolia* Swingle (chanh ta) được trồng nhiều ở miền Nam.

**Đặc điểm thực vật**

Cây nhỏ, nhẵn hay có gai, gai dài 35mm, búp non có màu đỏ. Lá hình trứng nhuốm tím nhạt hay đỏ tím, mọc đơn độc hay từng chùm 2-3 hoa. Lá bắc hình mũi mác, nhẵn hay hơi có lông. Quả nhỏ, vỏ mỏng, nhẵn, chia thành 10-12 múi, mỗi múi chứa 2-3 hạt. Cơm quả rất chua. Mùa hoa: tháng 3-5, mùa quả: tháng 6-9, nhưng còn một vụ chanh chín nữa vào các tháng 1-2.

Có nhiều chủng loại chanh: Chanh giầy, vỏ quả mỏng được trồng phổ biến. Chanh nùm, quả có nùm, vỏ dày. Chanh tứ thời, ra hoa và quả quanh năm. Chanh đào, vỏ quả vàng đỏ, ruột đỏ, vị thơm.

Cây chanh có nguồn gốc ở miền bắc Ấn Độ và vùng tiếp giáp với Myanma và phía bắc Malaysia. Hiện nay, chanh được trồng ở nhiều nơi trên thế giới thuộc khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới.

**(4) Quýt** - Tên khoa học: *Citrus reticulata* Blanco.

Tên đồng nghĩa: *C. nobilis* Lour. và *C. Chrysocarpa* Lush.

**Đặc điểm thực vật**

Quýt có nhiều loài. Trong nông nghiệp và thương mại, người ta phân thành 4 nhóm theo cách sắp xếp của Swingle:

- Nhóm quýt thông thường, có nguồn gốc Philipin: *C. reticulata* Blanco, cây có gai nhỏ, quả mỏng hình cầu, đáy lõm, vỏ quả xốp, khi chín có màu vàng cam hoặc đỏ tươi, loài này phát triển tốt ở vùng nhiệt đới.

- Nhóm quýt sành, hay quýt “King”. *C. nobilis* Loureiro, có nguồn gốc ở Đông Dương, quả to, vỏ dày.

- Nhóm quýt “Satsuma”. *C. unshiu* Marcovitch, có nguồn gốc Nhật Bản. Cây hầu như không có gai, quả cỡ trung bình, khi chín có màu vàng da cam, không có hạt.

- Nhóm quýt Địa Trung Hải: *C. deliciosa* Tenore, có nguồn gốc Italia, lá có dạng hình mác, quả cỡ trung bình, nhiều hạt.

- Nhìn chung, quýt là cây thích nghi với điều kiện khí hậu ôn hòa của vùng ôn đới ẩm (Địa Trung Hải, Trung Quốc), á nhiệt đới (Trung Quốc và vùng núi ở Bắc Việt Nam) và nhiệt đới (các nước vùng Đông Nam Á). Ở nước ta, có nhiều giống quýt nổi tiếng như: quýt đường (có vỏ dày), quýt tiêu, quýt Bắc Sơn, quýt hồng... Quýt được trồng lấy quả ở các tỉnh miền núi phía Bắc như Bắc Giang, Cao Bằng, Hà Giang, Lai Châu, Lạng Sơn, Thái Nguyên. Ở Hà Nội (Hà Tây cũ), cũng có nhiều vùng trồng quýt.

**(5) Quất** - Tên khoa học: *Citrus japonica* Thunb.

Tên đồng nghĩa: *Fortunella spp.*

**(6) Cháp** - Tên khoa học: *C. aurantium* L. Cây được trồng nhiều tại miền Bắc.

**(7) Phật thủ** - Tên khoa học: *C. medica* L. var. *Sarcodactylis* (Sieb.) Swingle.

Các loài liệt kê ở trên là các loài có nguồn gốc từ châu Á, đã được trồng trọt từ lâu. Ngày nay, đã có rất nhiều cá thể lai mà chúng ta không xác định được chính xác tên loài, nhưng để xác định các cá thể thuộc chi *Citrus* tương đối dễ dàng.

**(8) Thanh yên** - *Citrus medica* L.

**2.1.3. Thành phần hóa học của các loài Citrus**

Thành phần hóa học chính của *Citrus* là acid hữu cơ, alkaloid, coumarin, tinh dầu và các vitamin, đặc biệt là Flavonoid được phân bố trong các bộ phận (rễ, thân, cành, lá, hoa, quả...). Carotenoid có trong vỏ quả các loài citrus là các chất sắc tố từ vàng đến đỏ cam và tan trong tinh dầu vỏ. Thường gặp là carotene ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), cryptoxanthin, auroxanthin v.v.

- Tinh dầu: Vỏ quả ngoài của tất cả các loài *Citrus* đều chứa một lượng lớn tinh dầu nằm trong túi tiết. Thành phần trong tinh dầu rất đa dạng, bao gồm các monoterpen, các alcol, các aldehyd, các ester, ether, và các ceton. Một số thành phần chính trong tinh dầu *Citrus* có thể kể đến là cymen, geraniol, geranial, limone (chiếm hơn 80%),  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, sabinen, terpinen,

terpinolen... Tinh dầu *Citrus* có tác dụng chống oxy hóa, phòng, hỗ trợ điều trị ung thư, kháng khuẩn, kháng virus, kháng nấm. Tinh dầu được sử dụng trong công nghiệp làm mỹ phẩm và làm gia vị. Tinh dầu vỏ quả *Citrus* ép lạnh; trên thị trường thu được bằng cách phá vỡ các túi tiết khi ép. Có 5 loại tinh dầu vỏ quả *Citrus* thu được từ 5 nhóm: bưởi (grapefruit), cam (orange), quýt (tangerine), chanh nôm (lemon) và chanh thường (lime) tương ứng.

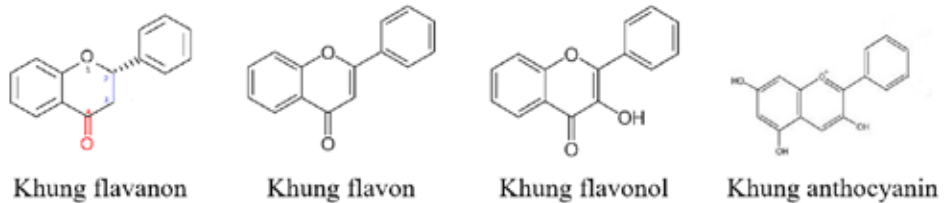
- Limonoid: Đây là thành phần đặc trưng và có hàm lượng lớn của các cây thuộc họ Rutaceae và Meliaceae nói chung, chi *Citrus* nói riêng. Về cấu trúc hóa học, limonoid là các dẫn chất triterpen có chứa nhiều oxy trong phân tử và có một vòng furan ở vị trí C-17, tồn tại cả ở dạng aglycon tự do và dạng glycoside. Một số limonoid có vị đắng và đây chính là nguyên nhân gây ra vị đắng trong vỏ quả và cả dịch quả của các loài *Citrus*. Các limonoid có tác dụng sinh học chống ung thư, giảm cholesterol trong máu, có tác dụng diệt côn trùng và kí sinh trùng sốt rét, kháng virus, kháng

khuẩn, kháng nấm và kể cả chống HIV.

- Coumarin: Các coumarin có nhiều trong các cây thuộc họ Rutaceae nói chung. Tuy nhiên, hàm lượng coumarin trong vỏ quả thấp hơn trong rễ, thân, cành. Vì coumarin là các chất ít phân cực nên có thể tìm thấy trong vỏ quả trong. Một số coumarin hay gặp trong các loài *Citrus* là bergamottin, bergapten, imperatorin, isoimperatorin, osthol, psoralen... Coumarin có các tác dụng sinh học chống ung thư, chống oxy hóa, kháng virus, kháng khuẩn, kháng nấm.

- Alkaloid: Alkaloid có nhiều trong họ Rutaceae. Thông thường, các loài *Citrus* có chứa alkaloid có cấu trúc protoalkaloid là dẫn xuất của tyramin. Các alkaloid này có tác dụng diệt côn trùng.

- Flavonoid: Flavonoid là thành phần chính và quan trọng trong các loài *Citrus*, phân bố ở tất cả các bộ phận và đặc biệt có hàm lượng cao trong vỏ quả. Hiện nay, số lượng flavonoid đã được phân lập và xác định từ vỏ quả các loài *Citrus* là khoảng hơn 60 chất, thuộc các nhóm flavon, flavanon, flavonol, và anthocyanin. Thông thường,



**Hình 1.** Cấu trúc cơ bản của flavonoid trong vỏ quả của các loài *Citrus*

các flavonoid tồn tại trong *Citrus* ở cả dạng aglycon tự do và dạng glycoside.

Thành phần flavonoid chính có trong tất cả vỏ quả của các loài *Citrus* là các flavanon. Các flavanon aglycon và glycoside của chúng chiếm hàm lượng rất lớn trong vỏ quả của các loài *Citrus*, có thể tới hơn 90% trong flavonoid toàn phần. Các flavanon gồm Naringenin, Isosakuranetin, Hesperetin, và Eriodictyol, còn các glycosid của chúng đa số có đường gắn với cacbon ở vị trí số 7. Một số flavonoid thường gặp và hàm lượng cao trong vỏ quả của các loài *Citrus* được mô tả trên. Trong số các flavanon, Naringenin, Hesperetin và các glycoside của chúng là Naringin, Hesperidin là các thành phần

chính của vỏ quả các loài *Citrus*. Các chất này chiếm hàm lượng rất lớn, có thể tới 5-10% tính theo vỏ quả khô tuyệt đối. Trong nhiều loài *Citrus*, các glycoside Naringin và Hesperidin có nhiều trong quả nhưng lại không tìm thấy dạng glycon của chúng. Điều đặc biệt là Naringenin, naringin, hesperitin, và hesperidin có hàm lượng lớn trong các loài thuộc chi *Citrus* nhưng lại rất hiếm gặp ở các chi và họ khác. Vì vậy, chúng được coi là các flavonoid đặc trưng của chi *Citrus* và được gọi là Citroflavonoid.

Các flavon cũng thường gặp ở các loài *Citrus*, nhưng trong vỏ quả thì có hàm lượng thấp hơn nhiều. Một số flavon thường gặp là apigenin, luteolin, diosmetin,

nobiletin, tangeretin, sinensetin và glycosid của diosmetin là diosmin và neodiosmin. Trong số các flavon thì diosmetin, nobiletin, và diosmin là hay gặp hơn cả, có hàm lượng tương đối cao trong vỏ quả các loài *Citrus*. Quercetin và rutin là hai flavonoid nhóm flavanol thường gặp trong quả *Citrus*, nhưng có hàm lượng thấp.

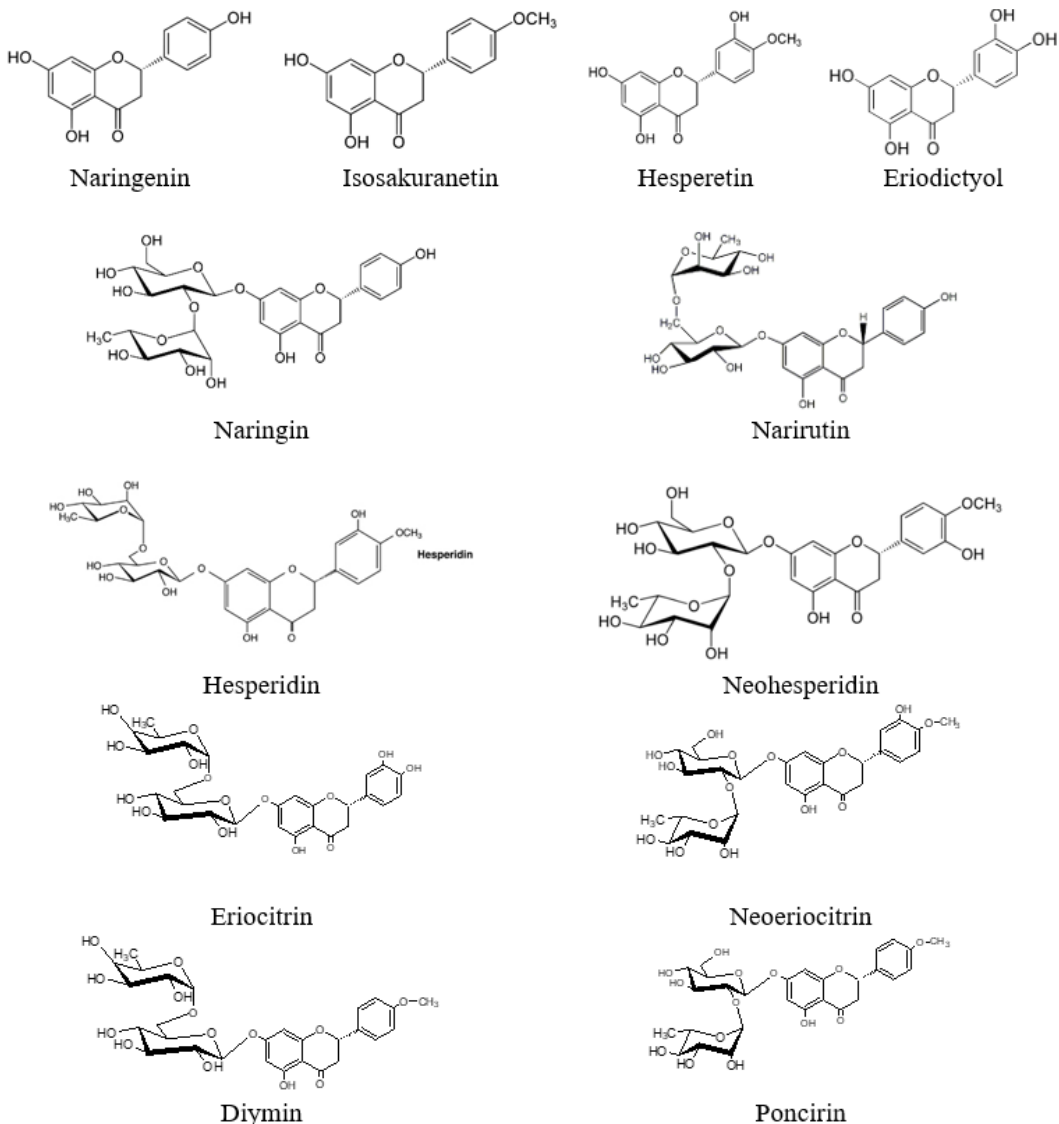
Các anthocyanin là các chất màu quan trọng trong quả của các loài *Citrus*, đặc biệt là các loài cam, quýt, quất. Thông thường, khi quả chín sẽ có hàm lượng anthocyanidin cao, do đó, vỏ quả từ xanh sẽ chuyển sang màu vàng, màu cam hoặc đỏ. Tuy nhiên, chúng lại được phân bố chủ yếu trong

vỏ quả trong (nước vắt) của các loài này. Các anthocyanin thường thấy trong chi *Citrus* là cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin.

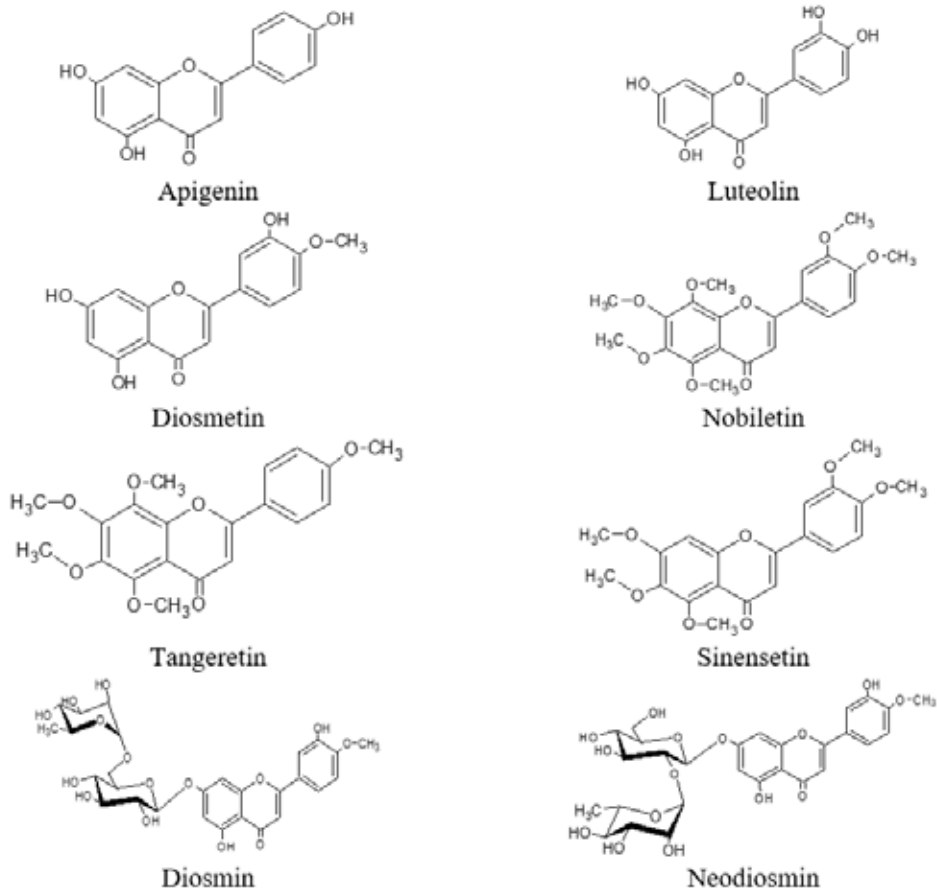
**2.1.4. Tác dụng sinh học của các flavonoid trong chi *Citrus***

Như đã trình bày ở trên, flavonoid là một trong những thành phần hóa học chính của các loài *Citrus*. Các flavonoid này cũng giống như các flavonoid nói chung, có rất nhiều tác dụng sinh học. Dưới đây là những tác dụng có nhiều ý nghĩa trong việc sử dụng chúng làm thuốc trong y học.

- Tác dụng chống oxy hóa: Các flavonoid có nhóm hydroxyl (OH) gắn với vòng thơm



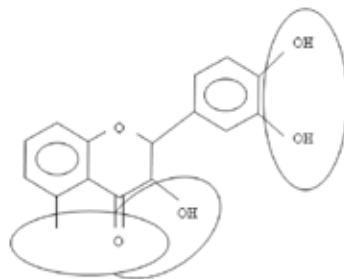
**Hình 2.** Flavonoid nhóm flavanon trong quả các loài *Citrus* và các glycoside của chúng



**Hình 3.** Flavonoid nhóm flavon và flavanol có trong vỏ quả các loài *Citrus*

có tác dụng chống oxy hóa. Nếu flavonoid có nhóm catechin (nhóm o-dihydroxy), hay có một nhóm OH ở vị trí số 3 và số 5 sẽ cho tác dụng chống oxy hóa mạnh. Các nhóm này có tác dụng loại bỏ các gốc tự do của cơ thể, như các gốc tự do superoxid ( $O_2 \bullet$ ), hydroxyl ( $OH \bullet$ ), lipid peroxy ( $LOO \bullet$ ),

lipid alkoxy ( $LO \bullet$ ), oxyd nitric ( $NO \bullet$ ). Các gốc tự do là nguyên nhân gây ra quá trình oxy hóa trong cơ thể, chúng có thể gây ra sự oxy hóa lipid, protein và kể cả DNA. Khi các quá trình oxy hóa xảy ra nhiều trong cơ thể, chúng sẽ gây ra sự phá hủy các tế bào, và do đó, dẫn đến bệnh tật.



**Hình 4.** Tác dụng sinh học của các flavonoid trong chi *Citrus*

**Các nhóm chức có tác dụng chống oxy hóa mạnh của flavonoid**

Các Citroflavonoid có tác dụng chống oxy hóa mạnh, nên được ứng dụng nhiều trong y học. Thông thường, các aglycon

flavonoid có tác dụng mạnh hơn các glycoside của chúng. Chúng giúp cơ thể chống lại sự oxy hóa lipid, protein và DNA gây ra bởi các gốc tự do. Do đó, chúng có tác dụng phòng và chống được nhiều bệnh,



đặc biệt là ung thư, bệnh quái ác hiện nay.

- Tác dụng giảm mỡ máu: Flavonoid của chi *Citrus* có tác dụng hạ cholesterol trong máu, góp phần điều hòa mỡ máu của người béo phì, người già, và do đó, phòng ngừa bệnh tật.

- Tác dụng chống viêm: Các flavonoid có tác dụng chống viêm. Chúng ức chế các enzyme gây ra quá trình viêm như cyclooxygenase (COX), lipoxigenase, phospholipase, phosphodiesterase. Trên mô hình in vitro, mô hình tế bào, các flavonoid đã được chứng minh có tác dụng chống viêm. Trên mô hình in vivo, diosmin và hesperidin có tác dụng ức chế quá trình gây viêm gây ra bởi carragenin trên chuột.

- Chống các bệnh tim mạch: Vì có tác dụng chống oxy hóa, hạ cholesterol trong máu và tác dụng chống viêm nên các Citroflavonoid có tác dụng phòng và chống các bệnh về tim mạch. Làm bền thành mạch, chống oxy hóa các lipoprotein và chống viêm đã đem lại tác dụng chống xơ vữa động mạch, một bệnh rất hay gặp ở người cao tuổi và người béo phì. Các Citroflavonoid còn có tác dụng chống kết dính tiểu cầu và tăng tính thấm của mao mạch. Đây là một tác dụng quan trọng của flavonoid, vì nó giúp thành mạch bền vững hơn và nó chống các rối loạn thành mạch như xơ vữa động mạch, nhồi máu cơ tim, viêm tĩnh mạch gây tê đau chân tay, trĩ. Những tác dụng trên cũng góp phần làm giảm một số triệu chứng các bệnh về não như bệnh mất trí nhớ, Alzheimer và Parkinson. Các công ty dược phẩm trên thế giới đã dựa trên tác dụng này của Citroflavonoid để làm thuốc chữa bệnh. Một số sản phẩm lưu hành trên thị trường như Daflon, Diosmin, Flebosmin, Cemaflavone, Circularine. Trong đó, sản phẩm Daflon dạng bào chế viên bao phim của Công ty Dược phẩm Servier Pháp là nổi tiếng nhất và bán được nhiều nhất. Thành phần chính của thuốc Daflon là phân đoạn flavonoid chiết xuất từ vỏ quả của các loài *Citrus*, hàm lượng 500mg (bao gồm diosmin 450mg và flavonoid tương đương với 50mg hesperidin). Thuốc có tác dụng làm tăng trương lực của tĩnh mạch, giảm ứ trệ ở tĩnh mạch, tăng sức bền ở mao mạch. Thuốc

được dùng điều trị các bệnh suy tĩnh mạch bạch huyết (nặng chân, đau chân, bứt rứt, phù chân) và điều trị các triệu chứng của bệnh trĩ. Thuốc Daflon đã được lưu hành ở Việt Nam từ lâu và bán rất chạy trên thị trường.

Hiện tại, chưa có sản phẩm nào có thành phần là các flavonoid chiết xuất từ vỏ quả của các loài *Citrus* được sản xuất bởi các công ty dược phẩm Việt Nam, trong khi chúng ta có nhu cầu rất lớn về loại thuốc này.

- Chống ung thư: Tác dụng chống ung thư của flavonoid đã được chứng minh trên cả in vitro và in vivo. Chúng có tác dụng chống đột biến, vì có tác dụng bảo vệ DNA trước sự tấn công của các tác nhân gây ung thư như các gốc tự do, các tác nhân vật lý và hóa học. Các Citroflavonoid cũng ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư và ức chế sự phát triển của khối u, vì vậy, phòng ngừa và làm chậm quá trình sinh ung thư.

#### **2.1.5. Phương pháp chiết xuất (Chiết xuất dược liệu bằng các dung môi đã được khảo sát)**

- Dựa vào tính tan của flavonoid để chọn lựa dung môi cho phù hợp (cồn, nước, cồn - nước, dung dịch kiềm...).

- Chọn kỹ thuật chiết: chiết hồi lưu.

- Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết và chất lượng sản phẩm thông qua kiểm nghiệm sản phẩm.

##### **2.1.5.1. Nghiên cứu chiết xuất nhóm flavonoid**

Mục đích: Nghiên cứu, thăm dò các phương pháp chiết xuất để tìm ra phương pháp chiết xuất hiệu quả nhất.

##### **Chiết xuất nhóm flavonoid từ vỏ bưởi**

Do tính phân cực flavonoid của vỏ bưởi có thể được chiết bằng Ethanol, nước hoặc hỗn hợp cồn - nước.

##### **Chiết xuất bằng phương pháp đun hồi lưu với EtOH 96%**

- Chiết xuất vỏ xanh bằng phương pháp đun hồi lưu cách thủy với EtOH 96%.

Vỏ bưởi còn xanh (100g), sau khi đã xác định độ ẩm, được cho vào một bình cầu dung tích 2 lít, chiết bằng đun hồi lưu cách thủy với EtOH 96% trong một giờ (600ml x 3 lần). Lọc, gộp các dịch chiết và thu hồi EtOH bằng cách cô dưới áp suất giảm đến khi được cao lỏng 1/1. Loại tạp bằng cách lắc với n-Hexan trong bình lắng gạn. Lốp

n-Hexan cất thu hồi dung môi để dùng cho lần sau, phần cao lỏng đem đun trong 15 phút để bay hơi hết n-Hexan, để nguội, kết tinh lạnh ở 5°C. Sau 48 giờ, xuất hiện nhiều tủa, lọc, rửa tủa bằng nước lạnh, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (1,04g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột vàng nâu, kiểm tra trên SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 7,58%) là 1,13%.

- Chiết xuất cùi trắng bằng đun hồi lưu cách thủy với EtOH 96%.

Cùi trắng (vỏ bưởi đã bỏ vỏ xanh 100g), được tiến hành chiết với EtOH 96% như trên (1200ml x 3 lần) dịch chiết thu hồi dung môi và loại tạp bằng n-Hexan và kết tinh lạnh ở 5°C. Sau 48 giờ, xuất hiện nhiều tủa, lọc, rửa tủa bằng nước lạnh, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (0,95g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng nhạt, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 9,27%) là 1,05%.

**Chiết xuất bằng phương pháp đun hồi lưu cách thủy với EtOH 90%**

Làm tương tự như quy trình dưới đây, thay EtOH 96% bằng EtOH 90%.

Cao lỏng vỏ xanh, kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 48 giờ sau xuất hiện nhiều tủa, lọc, rửa tủa bằng nước lạnh, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (1,46g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng đậm, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 6,1%) là 1,55%.

Làm tương tự, cao lỏng 1/1 cùi trắng kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 24 giờ sau xuất hiện nhiều tủa và thu được (1,97g) tủa flavonoid thô. Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng nhạt, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 10,15%) là 2,2%.

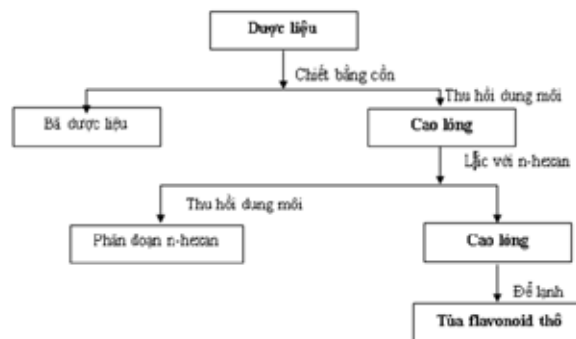
**Chiết xuất bằng phương pháp đun hồi lưu cách thủy với EtOH 70%**

Làm tương tự như quy trình dưới đây, thay EtOH 96% bằng EtOH 70%. Cao lỏng vỏ xanh, kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 1 tuần sau xuất hiện tủa, lọc, rửa tủa bằng nước lạnh, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (0,34g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng đậm, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 7,31%) là 0,37%.

Cao lỏng cùi trắng kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 96 giờ sau xuất hiện nhiều tủa và thu được 1,46g tủa flavonoid thô. Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng đậm, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 9,02%) là 1,60%.

**Chiết xuất bằng phương pháp đun hồi lưu cách thủy với EtOH 50%**

Làm tương tự như quy trình dưới đây, thay EtOH 96% bằng EtOH 50%. Cao lỏng 1/1 cùi trắng, kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 1 tuần sau xuất hiện tủa và thu được 0,131g tủa flavonoid thô. Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng đậm, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 9,02%) là 0,144%.



Sơ đồ 1. Chiết xuất flavonoid từ vỏ bưởi bằng EtOH



**Chiết xuất bằng phương pháp đun cách thủy với nước**

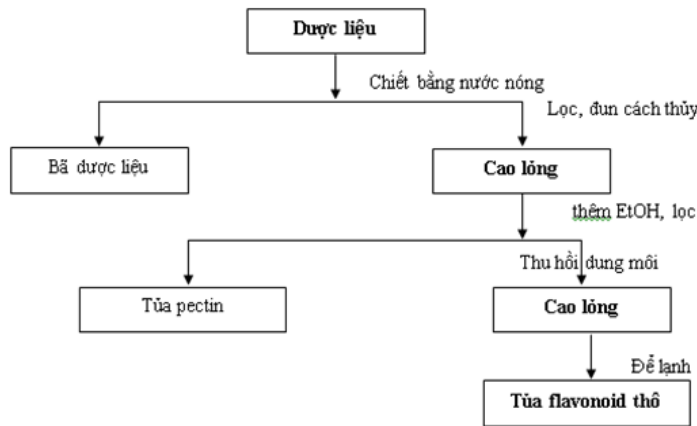
- Chiết xuất vỏ xanh bằng đun cách thủy với nước.

Vỏ xanh (100g), sau khi đã đo độ ẩm, được cho vào một bình cầu dung tích 2 lít. Chiết bằng đun cách thủy với nước 950C trong một giờ (600ml x 2 lần). Lọc, gộp các dịch chiết và tiếp tục cô cách thủy đến cao lỏng 1/1. Thêm 500ml EtOH 96% khuấy để pectin tủa. Lọc riêng lấy tủa pectin. Dịch EtOH đem thu hồi bớt dung môi còn khoảng 100ml, để nguội, kết tinh lạnh ở 5°C, thấy nhiều tuần sau có rất ít tủa, xấu.

- Chiết xuất cùi trắng bằng đun cách thủy với nước.

Cùi trắng (vỏ bưởi đã bỏ vỏ xanh 100g), làm tương tự như quy trình trên (1200ml x 2 lần). Lọc, gộp các dịch chiết và tiếp tục cô cách thủy đến cao lỏng 1/1. Thêm 500ml EtOH 96% khuấy để kết tủa pectin. Lọc lấy riêng tủa pectin. Dịch EtOH đem thu hồi bớt dung môi còn khoảng 100ml, để nguội, kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 1 tuần sau xuất hiện tủa, lọc, rửa tủa bằng nước lạnh, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (0,99g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu nâu vàng, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 9,02%) là 1,09%.

Nhận xét: Trong các phương pháp trên,



**Sơ đồ 2.** Chiết xuất flavonoid từ vỏ bưởi bằng nước nóng

**Bảng 1.** Hiệu suất chiết xuất flavonoid trong vỏ bưởi bằng cồn và nước ở các nồng độ khác nhau

Phương pháp chiết	Chiết vỏ xanh				Chiết cùi trắng				
	EtOH 96%	EtOH 90%	EtOH 70%	Nước	EtOH 96%	EtOH 90%	EtOH 70%	EtOH 50%	Nước
Lượng dược liệu (g)	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Độ ẩm	7,58	6,1	7,31	6,1	9,27	10,15	9,02	9,02	9,02
Flavonoid thô	1,04	1,46	0,34	Rất ít	0,95	1,97	1,46	0,131	0,99
Hiệu suất chiết so với dược liệu khô kiệt (%)	1,13	1,55	0,37		1,05	2,20	1,60	0,144	1,09
Thời gian kết tinh	48 giờ	48 giờ	1 tuần	1 tuần	48 giờ	24 giờ	96 giờ	1 tuần	1 tuần
Mô tả sản phẩm	Bột màu nâu	Bột màu đậm	Bột màu đậm	Bột màu vàng	Bột màu nhạt	Bột màu nhạt	Bột màu đậm	Bột màu đậm	Bột màu vàng

chúng tôi nhận thấy phương pháp chiết bằng EtOH 90% là tốt nhất vì sản phẩm thu được là đẹp nhất thông qua cảm quan, thời gian kết tinh cũng nhanh hơn, chiết từ vỏ trắng cho hàm lượng cao hơn (2,2%), sản phẩm đẹp hơn so với chiết từ vỏ xanh.

**2.1.5.2. Nghiên cứu chiết xuất nhóm flavonoid từ vỏ quýt**

Hesperidin là flavonoid chính của vỏ quả quýt, cam, chanh và hầu như không có trong vỏ bưởi. Flavonoid này rất kém tan trong các dung môi hữu cơ nhưng lại dễ tan trong các dung dịch kiềm. Chúng tôi đã khảo sát một vài phương pháp chiết xuất hesperidin.

**Chiết xuất bằng đun hồi lưu EtOH 96%**

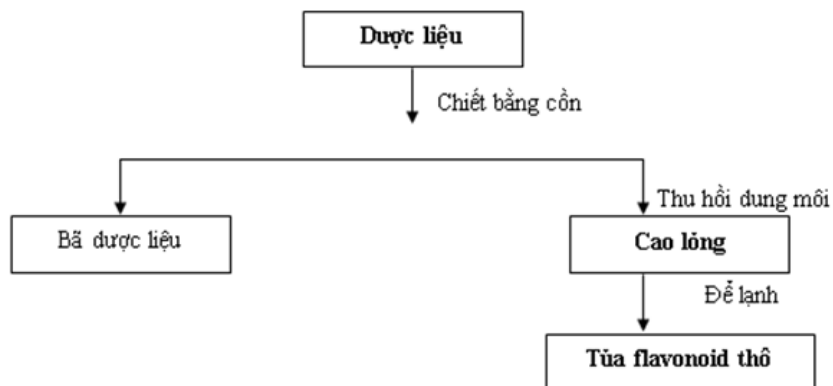
Vỏ quýt (50g), sau khi đã đo độ ẩm, được cho vào một bình cầu dung tích 1 lít. Chiết bằng đun hồi lưu cách thủy với EtOH 96% trong 02 giờ (400ml x 3 lần). Lọc, gộp các dịch chiết và thu hồi EtOH bằng cô áp dưới áp suất giảm đến cao lỏng 1/1, cho vào kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 12 giờ

sau xuất hiện nhiều tủa, lọc, rửa tủa bằng cồn tuyệt đối, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (0,3g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột nâu vàng, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 10%) là 0,67%.

**Chiết xuất vỏ quýt bằng đun hồi lưu cách thủy với EtOH 70%**

- Chiết xuất vỏ quýt bằng đun hồi lưu cách thủy với EtOH 70% và không loại tạp bằng n-Hexan

Vỏ quýt (50g), sau khi đã đo độ ẩm, được tiến hành tương tự như quy trình thay EtOH 96% bằng EtOH 70% (400ml x 3 lần). Kết tinh lạnh ở 5°C qua đêm, xuất hiện nhiều tủa, lọc, rửa tủa bằng cồn tuyệt đối, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (1,33g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng đậm, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 10%) là 3%.

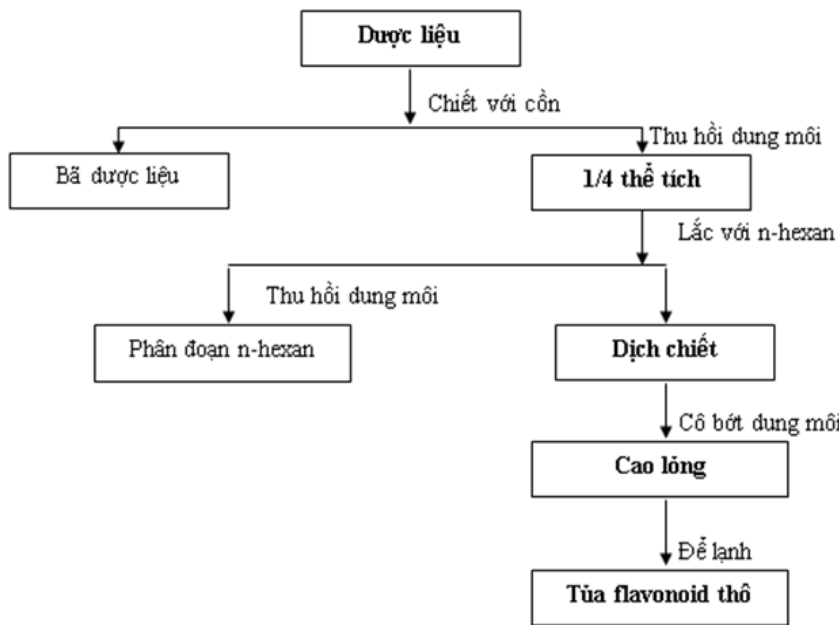


**Sơ đồ 3.** Chiết xuất flavonoid từ vỏ quýt bằng EtOH không loại tạp bằng n-Hexan

- Chiết xuất vỏ quýt bằng đun hồi lưu cách thủy với EtOH 70% và loại tạp bằng n-Hexan.

Vỏ quýt (50g), sau khi đã đo độ ẩm, được cho vào một bình cầu dung tích 1 lít. Chiết bằng đun hồi lưu cách thủy với EtOH 70% trong 02 giờ (400ml x 3 lần). Lọc, gộp các dịch chiết và thu hồi EtOH bằng cô dưới áp suất giảm đến 1/4 thể tích. Loại tạp bằng cách lắc với n-Hexan trong bình lắc gạn. Lớp n-Hexan cất thu hồi dung môi để dùng cho lần sau, phần dịch EtOH

đem cô cạn bớt dung môi, để nguội kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 12 giờ sau xuất hiện nhiều tủa, lọc, rửa tủa bằng cồn tuyệt đối, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (1,18g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng đậm, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 10,1%) là 2,63%.



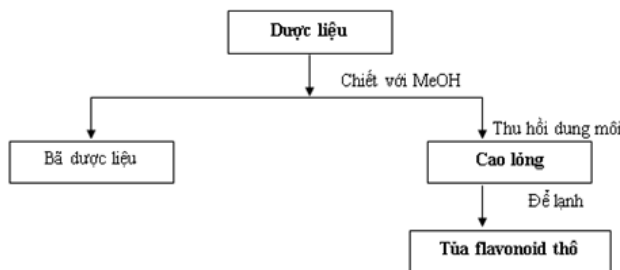
Sơ đồ 4. Chiết xuất flavonoid từ vỏ quýt bằng EtOH và loại tạp bằng n-Hexan

**Chiết xuất vỏ quýt bằng đun hồi lưu cách thủy với MeOH**

- Chiết xuất vỏ quýt bằng đun hồi lưu cách thủy với MeOH không qua loại tạp bằng n-Hexan.

Vỏ quýt (50g), sau khi đã đo độ ẩm, được cho vào một bình cầu dung tích 2 lít. Chiết bằng đun hồi lưu cách thủy với MeOH trong 2 giờ (400ml x 3 lần). Lọc, gộp các dịch chiết và thu hồi MeOH bằng cô

áp dưới áp suất giảm đến cao lỏng 1/1. Kết tinh lạnh ở 5°C, sau 48 giờ, xuất hiện nhiều tủa, lọc, rửa tủa bằng cồn tuyệt đối, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (1,37g). Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng nhạt, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 10,1%) là 3,05%.

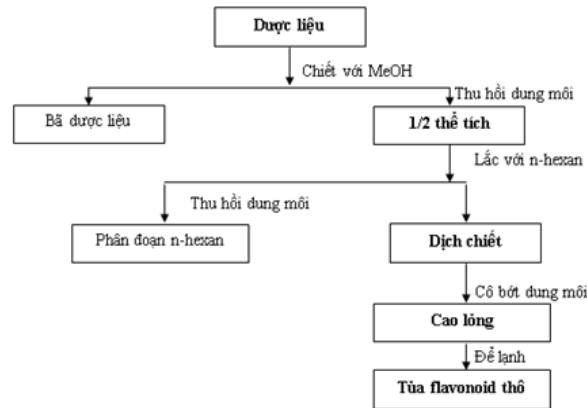


Sơ đồ 5. Chiết xuất flavonoid từ vỏ quýt bằng MeOH không qua loại tạp n-Hexan

- Chiết xuất vỏ quýt bằng đun hồi lưu cách thủy với MeOH và loại tạp bằng n-Hexan.

Vỏ quýt (50g), sau khi đã đo độ ẩm, tiến hành tương tự như quy trình, thay EtOH bằng MeOH (400ml x 3 lần). Dịch chiết thu hồi MeOH đến 1/2 thể tích. Loại tạp bằng

n-Hexan, phần dịch MeOH đem cô cạn bớt dung môi, kết tinh lạnh ở 5°C, thấy 48 giờ sau xuất hiện nhiều tủa, lọc, rửa tủa bằng cồn tuyệt đối, thu tủa qua phễu buchner được tủa flavonoid thô (1,16g CH10). Sản phẩm thu được dưới dạng bột màu vàng nhạt, kiểm tra bằng SKLM thấy có một vết



Sơ đồ 6. Chiết xuất flavonoid từ vỏ quýt bằng MeOH qua loại tạp bằng n-Hexan.

Bảng 2. Hiệu suất chiết xuất flavonoid trong vỏ quýt bằng MeOH và cồn ở các nồng độ khác nhau

Dược liệu	Vỏ quýt (50g)				
	Không qua loại tạp bằng n-Hexan			Loại tạp bằng n-Hexan	
	EtOH 96%	EtOH 70%	MeOH	EtOH 70%	MeOH
Độ ẩm (%)	10	10	10,1	10,1	10,1
Flavonoid thô (g)	0,3	1,33	1,37	1,18	1,16
Hiệu suất chiết so với dược liệu khô kiệt (%)	0,67	3	3,05	2,63	2,58
Mô tả sản phẩm	Bột màu nâu vàng	Bột màu vàng đậm	Bột màu vàng nhạt	Bột màu vàng đậm	Bột màu vàng nhạt

chính và nhiều vết khác. Hiệu suất tính trên dược liệu khô (dược liệu dùng có độ ẩm 10,1%) là 2,58%.

Nhận xét: Trong các phương pháp chiết xuất trên, chúng tôi nhận thấy phương pháp chiết bằng MeOH cho hiệu suất cao nhất và sản phẩm cũng đẹp nhất thông qua cảm quan.

2.1.5.3. Phương pháp tinh chế

Bằng kỹ thuật kết tinh phân đoạn nhiều lần trên các hệ dung môi đã chọn lọc.

- Tinh chế, phân lập naringin từ vỏ bưởi.

Mục đích: Thăm dò các phương pháp tinh chế, phân lập naringin hiệu quả nhất.

\* Thăm dò dung môi kết tinh: hòa tan 0,5g flavonoid thô chiết từ vỏ bưởi vào hỗn hợp EtOH 96% - nước ở các tỉ lệ khác nhau: 1:1, 1:2, 1:3 và để kết tinh lạnh ở 5°C trong 48 giờ. Kết quả cho thấy các tinh thể hình kim xuất hiện ở hỗn hợp cồn - nước tỉ lệ 1:3 có dạng tinh thể đẹp hơn cả. Do đó, tỉ lệ này được chọn để kết tinh các mẫu sau này.

\* Tinh chế: Hòa tan 5g flavonoid thô của vỏ bưởi trong 350ml hỗn hợp cồn 96%

- nước (1:3) tỷ lệ 1/70. Thêm 0,5g than hoạt đun nóng khoảng 5 phút để loại màu. Lọc loại than hoạt. Dịch lọc để kết tinh lạnh trong 48 giờ, lọc, lấy tinh thể khô ở nhiệt độ phòng rồi sấy ở 60°C cho đến khối lượng không đổi cân được 4,01g. Hiệu suất tinh chế là 80,2%. Mẫu tinh chế này được ký hiệu là CF1 được kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng và được sử dụng để đo các hằng số vật lý và các loại phổ sau này.

- Tinh chế, phân lập hesperidin từ vỏ quýt

Mục đích: Thăm dò các phương pháp tinh chế, phân lập hesperidin hiệu quả nhất.

\* Thăm dò dung môi kết tinh:

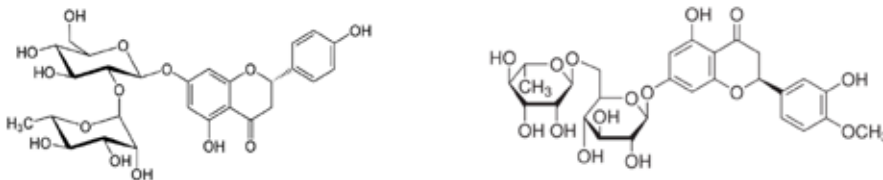
- **Phương pháp 1:** Hòa tan flavonoid chiết từ vỏ bưởi (thu từ các phương pháp trên) vào hỗn hợp EtOH 96% - nước ở các tỉ lệ khác nhau: 1:1, 1:2, 1:3 và để kết tinh lạnh ở 5°C trong 48 giờ. Kết quả cho thấy sản phẩm kết tinh xuất hiện ở hỗn hợp cồn - nước tỉ lệ 1:3 là đẹp và nhiều hơn cả.

- **Phương pháp 2:** Flavonoid từ vỏ quýt (0,5g), được đun hồi lưu với MeOH

(100ml) ở 80°C trong 60 phút, bỏ ra để lắng, gạn dịch chiết, tiếp tục làm như trên đến khi tan hết (làm khoảng 5 lần, hết 500ml MeOH), dịch chiết đem kết tinh lại ở 5°C trong 48 giờ, lọc lấy tinh thể, dung môi cất thu hồi. Sấy tinh thể ở 60°C cho đến khô.

Kiểm tra độ tinh khiết của chất tinh chế được từ hai phương pháp trên bằng SKLM. Nhận thấy với phương pháp 2 thì cho một vết duy nhất, do đó, phương pháp 2 được chọn làm phương pháp tinh chế chất phân lập được sau này.

\* Tinh chế: Flavonoid từ vỏ quýt (4,7g),



Hình 5. Cấu trúc của CF<sub>1</sub> và CF<sub>2</sub>

#### 2.1.5.4. Phương pháp xác định cấu trúc

- Sơ bộ kiểm tra độ tinh khiết: Dùng phương pháp SKLM để kiểm tra và đánh giá mức độ tinh khiết của chất phân lập được. Sắc ký đồ được quan sát dưới ánh sáng thường, ánh sáng tử ngoại UV 254nm, 365nm, và thuốc thử hiện màu FeCl<sub>3</sub> 5% trong HCl. Nếu chất phân lập được chỉ cho một vết duy nhất trên sắc ký đồ thì có thể sơ bộ kết luận chất đó là tinh khiết.

- Kiểm tra bằng nhiệt độ nóng chảy: điểm chảy gọn, không kéo dài.

- Xác định cấu trúc các phân lập được thông qua cảm quan, tính chất, các phổ hồng ngoại (IR), phổ tử ngoại (UV), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (<sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR), phổ khối (MS), nhiệt độ nóng chảy.

##### 2.1.5.4.1. Chiết xuất Naringin từ vỏ bưởi

Naringin có tính phân cực, có thể tan được trong ethanol, nước hoặc các hỗn hợp ethanol - nước. Qua nghiên cứu, chúng tôi đã thu được hai phương pháp chiết Naringin từ vỏ bưởi với các dung môi đơn giản như Ethanol và nước. Trong các phương pháp này, phương pháp chiết bằng cồn 96% cho hiệu suất (vỏ xanh: 1,13% sản phẩm (SP) là bột màu vàng nâu, cùi vỏ: 1,05% với sản phẩm là bột màu vàng nhạt), phương pháp chiết bằng cồn 90° cho hiệu suất (vỏ xanh:

được đun hồi lưu với MeOH (1000ml) ở 80°C trong 60 phút, bỏ ra để lắng, gạn dịch chiết, tiếp tục làm như trên đến khi tan hoàn toàn (làm khoảng 5 lần, hết 5000ml MeOH), dịch chiết đem kết tinh lại ở 5°C trong 48 giờ, lọc lấy tinh thể, dung môi cất thu hồi. Sấy tinh thể ở 60°C cho đến khô. Kết quả thu được 3,75g chất tinh khiết được đặt tên là CF2. Hiệu suất tinh chế là 79,79% mẫu CF2 này được kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng và được sử dụng để đo các hằng số hóa lý và các loại phổ sau này.

1,55% với sản phẩm là bột màu vàng đậm, vỏ trắng 2,2% với sản phẩm là bột màu vàng nhạt), phương pháp chiết bằng cồn 70° cho hiệu suất (vỏ xanh: 0,37% với SP là bột màu vàng đậm, vỏ trắng 1,6% với SP là bột màu vàng đậm), phương pháp chiết bằng cồn 50° cho hiệu suất (vỏ trắng: 0,144% với SP là bột màu vàng đậm), phương pháp chiết bằng nước cho hiệu suất (vỏ trắng: 1,09% với SP là bột màu nâu vàng), thì chiết xuất bằng cồn cao độ cho sản phẩm đẹp và năng suất hơn, đặc biệt là phương pháp chiết bằng cồn 90° vì sản phẩm thu được là đẹp nhất thông qua cảm quan, chiết từ vỏ trắng cho hàm lượng cao hơn, sản phẩm đẹp hơn so với chiết xuất từ vỏ xanh. Với phương pháp chiết nước cho hiệu suất thấp hơn, nhưng có thể cho sản phẩm phụ là pectin.

##### 2.1.5.4.2. Chiết xuất Hesperidin từ vỏ quýt

Hesperidin là một flavanon rất ít tan trong nước, ethanol và methanol ở nhiệt độ phòng và hầu như không tan trong các dung môi kém phân cực khác. Chúng tôi đã thăm dò được ba phương pháp chiết hesperidin từ vỏ quýt. Phương pháp dùng EtOH nóng (96%, 70%), và phương pháp dùng MeOH nóng. Trong đó, phương pháp dùng EtOH 96%, 70% nóng không loại tạp bằng n-Hexan cho hiệu suất tương ứng là 0,67% và 3,0%.



Với màu sản phẩm tương ứng là bột màu nâu vàng và bột màu vàng đậm. Phương pháp chiết bằng cồn 70% có loại tạp bằng n-Hexan cho hiệu suất là 2,63% với bột màu vàng đậm. Phương pháp dùng MeOH nóng không loại tạp bằng n-Hexan cho hiệu suất là 3,05% với bột màu vàng nhạt và có loại tạp bằng n-Hexan cho hiệu suất là 2,58% sản phẩm là bột màu vàng nhạt.

Trong các phương pháp chiết xuất trên, chúng tôi nhận thấy phương pháp chiết bằng MeOH cho hiệu suất cao nhất và sản phẩm cũng đẹp nhất thông qua cảm quan. Khi chiết bằng MeOH, nếu loại tạp bằng n-Hexan thì sản phẩm thu được không có khác biệt lớn so với phương pháp không loại tạp bằng n-Hexan thì sản phẩm thu được không có khác biệt lớn so với phương pháp không loại tạp bằng n-Hexan mà chế phẩm có thể loại tạp đơn giản hơn bằng cách rửa tủa nhiều lần với cồn tuyệt đối.

Từ hesperidin, nếu dùng những tác nhân oxy hóa thích hợp, có thể chuyển hesperidin thành một sản phẩm khác là Diosmin. Diosmin là nguyên liệu chính của

một chế phẩm nổi tiếng trên thị trường hiện nay là Daflon, được dùng chủ yếu để chữa trĩ, các chứng rối loạn tuần hoàn mao mạch và viêm tắc tĩnh mạch.

#### 2.1.5.4.3. Phân lập flavonoid

Đã phân lập được flavonoid từ các loài Citrus bằng hỗn hợp cồn 96% - nước (1:3) đã thu được 2 glycosid flavonoid. Bằng các phương pháp dùng phổ UV, IR, MS, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều, hai chiều, DEPT... đã xác định được 2 hợp chất chính là Naringin và hesperidin, được ứng dụng nhiều trong Y học.

### 3. Kết luận

Bài viết đã nghiên cứu và lưu được nhiều tiêu bản của 8 loài Citrus và đặc biệt là bưởi, cam, quýt, chanh có hàm lượng Flavonoid cao để sản xuất Citroflavonoid; Các nghiên cứu đặc điểm thực vật, hóa học, tác dụng sinh học và công dụng của các loài thuộc chi Citrus; Sàng lọc hóa học, các phương pháp chiết xuất là cơ sở để chọn lọc được nguồn nguyên liệu vỏ quả Citrus phù hợp nhất, phục vụ cho nghiên cứu sản xuất Citroflavonoid ở Việt Nam.

### Tài liệu tham khảo

Benavente-García O, Castillo J. Update on uses and properties of Citrus flavonoids: new finding in anticancer, cardiovascular and anti-inflammatory activity. *J. Agric. Food Chem.* 56, 6185-6205, 2008.

Benavente-Garcia O., Castillo J., Marin F. R., Ortuno A., Del Rio J. A. Uses and properties of Citrus flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4505-4515.

Bộ Y Tế (1978), *Dược liệu Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội.

Bruneton J. Pharmacognosy, phytochemistry and medicinal plants. Lavoisier Publishing Inc., Paris, 2nd edition, 1999.

Võ Văn Chi, Dương Đức Tiến (1978), *Phân loại thực vật bậc cao*, NXB Đại học và THCN.

Choi S. Y., Ko H. C., Ko S. Y., Hwang J. H., Park J. G., Kang S. H., Han S. H., Yun S. H., Kim S. J. Correlation between flavonoid content and the NO production inhibitory activity of peel extracts from various Citrus fruits. *Biol. Pharm. Bull.* 30, 772-778, 2007.

Vũ Văn Chuyên (1971), *Thực vật học (phân loại thực vật bậc cao)*, NXB Y học, 358-361.

Da Silva E. L., Oliveira A. S., Lapa A. J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 46, 118-122, 1994.

Diaz M. N., Frei B., Vita J. A., Keaney J. F. Antioxidants and atherosclerotic heart diseases. *New Engl. J. Med.* 337, 408-416, 1997.

Erlund I. Review of the flavonoids quercetin, hesperitin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr. Res.* 24, 851-874, 2004.

Ficarra R., Tommasini S., Raneri D., Calabro M.L., di Bella M.R., Rustichelli C., Gamberini M.C., Ficarra P. Study of flavonoids/b-cyclodextrins inclusion complexes by NMR, FR-IR, DSC,

X-Ray investigation. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2002, 29, 1005-1014.

Girenavar B., Poulouse S. M., Jayaprakasha G. K., Bhat N. G., Patil B. S. Furanocoumarins from grapefruit juice and their effect on human CYP 3A4 and CYP 1B1 isoenzymes. Bioorg. Med. Chem, 14, 2606-2612, 2006.

Gross J. Carotenoid pigments in Citrus. In Citrus Science and Technology. Avi Publisher, Westport 1st edition, 1997, pp 302-348.

Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, 3rd edition, 2000.

Hirata R., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M., Hongo D. Identification and physiological evaluation of the components from Citrus fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer. Bioorg. Med. Chem. 17, 25-28, 2009.

[http://vi.wikipedia.org/wiki/Chi\\_Cam\\_chanh](http://vi.wikipedia.org/wiki/Chi_Cam_chanh)Citrus

Phạm Hoàng Hộ (2000), *Cây cỏ Việt Nam*, Quyển 2, NXB Trẻ, 429-436.

Kawai S., Tomono Y., Katase E., Ogawa K., Yano M. Quantitation of flavonoid constituents in Citrus fruits. J. Agric. Food Chem. 47, 3565-3571, 1999.

Phạm Thanh Kỳ, Nguyễn Thị Tâm, Trần Văn Thanh (2007), *Bài giảng Dược liệu, tập 2*, NXB Y học.

Đỗ Tất Lợi (1999), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học.

Maltese F., Erkelens C., Van der Kooy F., Choi Y. H., Verpoort R. Identification of natural epimeric flavanone glycosides by NMR spectroscopy. Food Chemistry 2009, 116, 575-579.

Manners G. D. Citrus limonoids: analysis, bioactivity, and biomedical prospects. J. Agric. Food. Chem. 55, 8285-8294, 2007.

Lã Đình Mỡ, Trần Minh Hợi(2005), *Tài nguyên thực vật Việt Nam những cây chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học*, NXB Nông nghiệp, tập 1,24.

Nogata Y. Sakamoto K., Shiratsuchi H., Ishii T., Yano M., Ohta H. Flavonoids composition of fruit tissues of Citrus species. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70, 178-192, 2006.

Obdulio Benavente - García, Julián Castillo, Francisco R. Martín, Ana Ortuno, José A. Del Río (1997), "Uses of properties of Citrus flavonoids", J. Agric. Food. Chem., 45 (12), pp. 4505-4515.

Pietta P. G. Flavonoids as antioxidants. J. Nat. Prod. 63, 1035-1042, 2000.

Ngô Văn Thu (2011), *Dược liệu học*, tập 1, NXB Y học.

Nguyen T. T., Kashiwaghi T., Sawamura M. Characterization by GC-MS of Vietnamese Citrus species and hybrids based on the isotope ratio of monoterpane hydrocarbons. Biosci. Biotechnol. Biochem. 71, 2155-2161, 2007.

Viện Dược liệu (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc*, tập (1,2,3), NXB Khoa học và Kỹ thuật.