

**BỘ Y TẾ**

**Trường đại học Kỹ thuật Y Dược Đà Nẵng**

**KHOA DƯỢC**



**GIÁO TRÌNH THỰC TẬP  
TÀI NGUYÊN CÂY THUỐC  
& CHIẾT XUẤT DƯỢC LIỆU**

**Dùng cho hệ đại học Dược**

**(Tài liệu lưu hành nội bộ)**

***Đà Nẵng, 2018***

## **LỜI NÓI ĐẦU**

Chương trình thực tập Tài nguyên cây thuốc và Chiết xuất dược liệu dùng cho sinh viên Dược đại học gồm 2 phần:

Phần Tài nguyên cây thuốc giúp sinh viên nhận biết rõ hơn về nguồn tài nguyên dược liệu nước ta nói chung và tại địa phương nói riêng

Phần Chiết xuất dược liệu nhằm giúp sinh viên hiểu rõ hơn về quá trình chiết xuất dược liệu, những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất dược liệu và một số phương pháp chiết xuất thường gặp

Tài liệu được trình bày theo từng phần riêng, mỗi phần được sắp xếp theo nội dung thực hành.

Vì đây là giai đoạn đầu thực hiện giảng dạy môn Dược học cổ truyền nên bộ môn rất mong nhận được các ý kiến đóng góp của đồng nghiệp và sinh viên để tài liệu được hoàn thiện hơn, phục vụ tốt hơn cho mục tiêu đào tạo.

**Bộ môn Dược liệu, Thực vật, Dược học cổ truyền**

**Khoa Dược**

## **Bài 1. ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ ĐẾN CHIẾT XUẤT DƯỢC LIỆU**

**Mục tiêu:** Đánh giá được sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình chiết xuất dược liệu

**Nguyên liệu:** Hoa hòe, lá ổi, hạt é

### ***Phương pháp chiết nóng***

Cân chính xác khoảng 2,000 - 4,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 hoặc 100,0 ml *nước*, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 1 giờ, sau đó đun sôi nhẹ dưới hồi lưu 1 giờ, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng *nước* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cạn khô, cân thu được sấy ở 105<sup>0</sup>C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cân. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô

### ***Phương pháp chiết lạnh***

Cân chính xác khoảng 2,000 - 4,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 hoặc 100,0 ml *nước*, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 2 giờ, thỉnh thoảng lắc. Sau đó lấy bình nón cân để xác định lại khối lượng, dùng *nước* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cạn khô, cân thu được sấy ở 105<sup>0</sup>C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cân. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô

**So sánh rút ra kết luận?**

## Bài 2. ẢNH HƯỞNG ĐỘ PHÂN CỰC DUNG MÔI ĐẾN CHIẾT XUẤT DƯỢC LIỆU

**Mục tiêu:** Đánh giá được sự ảnh hưởng của dung môi đến quá trình chiết xuất dược liệu

**Nguyên liệu:** bồ kết, hạt đậu đen, lá muồng trâu

**Dung môi:** nước, cồn 90%, chloroform (hoặc DMC)

### Chiết xuất

Cân chính xác khoảng 5,000 - 10,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 hoặc 100,0 ml *dung môi*, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 30', sau đó đun sôi nhẹ dưới hồi lưu 1 giờ, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng *dung môi* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến gần khô, cần thu được sấy ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cần. Tính phần trăm lượng chất chiết được theo dược liệu khô

<b>Dược liệu</b>	<b>Bồ kết</b>	<b>Hạt đậu đen</b>	<b>Lá muồng trâu</b>
<b>Dung môi</b>			
<b>Nước</b>			
<b>Cồn 90%</b>			
<b>Chloroform</b>			

**Nhận xét kết quả?**

### Bài 3. CHIẾT XUẤT ĐƯỢC LIỆU CÓ HỖ TRỢ SIÊU ÂM

**Mục tiêu:** Đánh giá được sự ảnh hưởng của yếu tố hỗ trợ là sóng siêu âm đến quá trình chiết xuất được liệu

**Nguyên liệu:** mỗi tổ chia 3-4 nhóm, mỗi nhóm chọn 1 được liệu bất kỳ nào có thể tự lấy mẫu, như các loài cây thuốc mọc hoang quanh trường (ví dụ: lá cà độc được, lá hen (còn gọi là bông bông), đơn kim, lục lạc,...)

**Dung môi:** nước, methanol, chloroform (hoặc DMC)

#### Chiết xuất

**Chiết hồi lưu:** Cân chính xác khoảng 5,000 - 10,000 g bột được liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 hoặc 100,0 ml *dung môi*, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 30', sau đó đun sôi nhẹ dưới hồi lưu 1 giờ, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng *dung môi* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cạn khô, cần thu được sấy ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cần. Tính phần trăm lượng chất chiết được theo được liệu khô

**Chiết hỗ trợ siêu âm:** Cân chính xác khoảng 5,000 - 10,000 g bột được liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 hoặc 100,0 ml *dung môi*, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 30', sau đó cho vào bể siêu âm 1 giờ, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng *dung môi* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cạn khô, cần thu được sấy ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cần. Tính phần trăm lượng chất chiết được theo được liệu khô

<b>PP chiết</b>	<b>Chiết hồi lưu</b>	<b>UAE</b>
<b>Dung môi</b>		
<b>Nước</b>		
<b>Methanol</b>		
<b>Chloroform</b>		

**Nhận xét kết quả?**

## Bài 4. CHIẾT XUẤT DƯỢC LIỆU CÓ HỖ TRỢ VI SÓNG

**Mục tiêu:** Đánh giá được sự ảnh hưởng của yếu tố hỗ trợ là vi sóng đến quá trình chiết xuất dược liệu

**Nguyên liệu:** mỗi tổ chia 3-4 nhóm, mỗi nhóm chọn 1 dược liệu bất kỳ nào có thể tự lấy mẫu, như các loài cây thuốc mọc hoang quanh trường (ví dụ: lá cà độc dược, lá hen (còn gọi là bông bông), đơn kim, lục lạc,...)

**Dung môi:** nước

### Chiết xuất

**Chiết hồi lưu:** Cân chính xác khoảng 5,000 - 10,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 hoặc 100,0 ml *dung môi*, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 30', sau đó đun sôi nhẹ dưới hồi lưu 30, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng *dung môi* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cạn khô, cân thu được sấy ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cân. Tính phần trăm lượng chất chiết được theo dược liệu khô

**Chiết hỗ trợ vi sóng:** Cân chính xác khoảng 5,000 - 10,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 hoặc 100,0 ml *dung môi*, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 30', sau đó cho vào lò vi sóng x phút, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng *dung môi* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cạn khô, cân thu được sấy ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cân. Tính phần trăm lượng chất chiết được theo dược liệu khô

<b>PP chiết</b>	<b>Chiết hồi lưu</b>	<b>MAE</b>
<b>Thời gian (x)</b>		
<b>5</b>		
<b>7</b>		
<b>10</b>		
<b>30</b>		

**Nhận xét kết quả?**

## Bài 5. CHIẾT XUẤT NARINGOSID TỪ VỎ BƯỞI

### Mục tiêu:

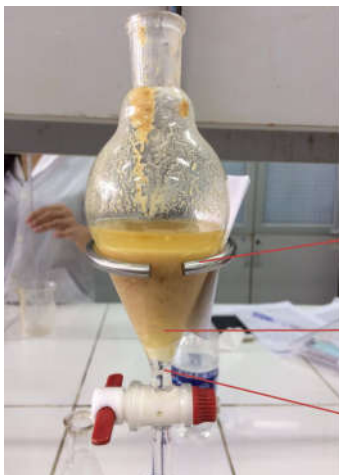
- Hiểu và thực hành được kỹ thuật chiết xuất flavonoid từ dược liệu
- Chiết xuất được Naringosid từ vỏ bưởi

**Nguyên liệu:** vỏ bưởi

**Dung môi, hóa chất:** nước, methanol, ethanol, HCl, NaOH

*Làm ẩm dược liệu:* 50-100g bột vỏ bưởi, làm ẩm với lượng vừa đủ còn 96%

*Nạp dược liệu vào bình ngâm chiết:* lót đáy bình bằng 1 lớp bông gòn dày cỡ 1cm, cho dược liệu vào bình, vừa cho vừa nén nhẹ. Đặt miếng giấy lọc lên bề mặt khối dược liệu, dẫn lại bằng sỏi. Mở khóa, nạp còn 96%, chờ khi dịch chiết chảy ra không còn bọt khí nữa thì khóa vòi lại. Đổ dịch chiết trở lại bình, nạp tiếp còn 96% cho tới khi lớp còn cao hơn lớp dược liệu chừng 5cm. Đậy kín, để khoảng 2h



*Rút dịch chiết:* mở khóa, rút dịch chiết (20-30 giọt/phút) vào becher cho đến khi thu được khoảng 500ml. Dịch chiết được cô thu hồi còn hoặc bốc hơi cách thủy cho đến khi thu được dịch chiết đậm đặc (A)

*Kết tinh naringosid:* cho dịch A vào 1 chén sứ, cô cách thủy đến cạn sệt như siro (B). Để nguội, rửa chén B bằng ether ethylic (20ml x 2lần), gạn ether rửa cho vào chai thu hồi. Cặn được hòa tan trong 30ml nước sôi, thêm 0.5g than hoạt, khuấy đều, đun cách thủy 5' và lọc nóng qua phễu Buchner. Chỉnh pH dịch lọc đến 5 bằng HCl 10%, để nguội rồi cho vào tủ lạnh, thỉnh thoảng dùng đũa thủy tinh cạo vào thành, naringosid sẽ kết tinh dưới dạng bột tinh thể màu trắng. Lọc tủa, rửa bằng nước lạnh, để khô ở nhiệt độ phòng rồi sấy 60°C.

*Cân, tính hiệu suất*

## Bài 6. CHIẾT XUẤT SAPONIN

### Mục tiêu học tập:

Sau khi thực hành bài này, sinh viên phải:

- Hiểu và thực hành được kỹ thuật chiết xuất saponin từ dược liệu
- Chiết xuất được acid glycyrrhizic từ dược liệu Cam thảo, saponin toàn phần từ bồ kết.

### 1. Nguyên vật liệu thí nghiệm

Bột quả Bồ kết (*Gleditschia sinensis* Lam. họ Đậu, Fabaceae)

Bột Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae glabrae* = *Liquiritiae Radix*)

### 2. Chiết xuất saponin toàn phần từ quả Bồ kết

#### 2.1. Nguyên tắc

Dùng dung môi là methanol để chiết xuất saponin toàn phần từ dược liệu, sau đó tinh chế saponin thô theo phương pháp tạo tủa trong các dung môi thích hợp.

#### 2.2. Thực hành

Cân 20 g bột Bồ kết cho vào một bình cầu hoặc bình nón nút mài 250 ml, đun hồi lưu với MeOH hoặc EtOH 96% (150 ml  $\times$  3 lần  $\times$  30 phút). Dịch chiết sau khi lọc được gộp chung, cô thu hồi dung môi bằng máy cô quay chân không đến gần khô (có thể cô cách thủy nếu chiết bằng cồn).

Hòa lại cặn này vào một ít MeOH rồi nhỏ từ từ từng giọt vào trong một becher có chứa sẵn khoảng 100 ml aceton (hoặc ether ethylic), vừa nhỏ vừa khuấy đều. Saponin sẽ cho tủa bông trắng và nhanh chóng lắng thành một lớp màu nâu dưới đáy becher.

Gạn lớp dung môi ở phía trên vào chai thu hồi, cân sẵn giấy lọc và lấy lớp saponin cho vào đĩa petri, đem sấy nhẹ đến khô. Tính hiệu suất chiết (cho độ ẩm của dược liệu là 10%).

### 3. Chiết xuất Glycyrrhizin từ Cam thảo

#### 3.1. Cơ sở lý thuyết

Dược liệu Cam thảo là rễ và thân ngầm của một số loài thuộc chi *Glycyrrhiza* (*G. glabra* L., *G. uralensis* Fisch., *G. inflata* Bat., họ Fabaceae), các loài này không có ở Việt Nam.

Thành phần hóa học chủ yếu của Cam thảo là saponin (saponin triterpenoid 5 vòng thuộc phân nhóm oleanan) và flavonoid (thuộc phân nhóm flavanon).

Saponosid chủ yếu của Cam thảo là glycyrrhizin tồn tại trong cây dưới dạng muối K, Mg, Ca... của acid glycyrrhizic (M = 822, phân tử của acid glycyrrhizic có 3 nhóm  $\text{-COOH}$ ). Dạng thương phẩm của glycyrrhizin là muối glycyrrhizat ammonium, muối này tan trong nước, vị rất ngọt. Khi thủy phân trong môi trường acid vô cơ, glycyrrhizin sẽ cho một sapogenin có tên là acid glycyrrhetic (M = 470). Acid glycyrrhetic không có vị ngọt.

Glycyrrhizin dạng muối tinh khiết là bột tinh thể màu trắng, dễ tan trong nước nóng, còn loãng, không tan trong ether ethylic, chloroform.



*Nguyên tắc chiết xuất:*

- dùng nước nóng hoặc cồn 75% để chiết glycyrrhizat ra khỏi bột Cam thảo,
- kết tủa acid glycyrrhizic trong môi trường acid vô cơ, lọc lấy tủa,
- cho acid glycyrrhizic + ammoniac  $\rightarrow$  muối glycyrrhizat ammonium
- tinh chế glycyrrhizat ammonium bằng các phương pháp thích hợp.

### **3.2. Thực hành**

Cân 100 g bột Cam thảo, làm ẩm trong 15 phút với 120 ml cồn 75%, nạp vào bình và ngâm kiệt với 600 ml cồn 75%. Sau 24 giờ, rút dịch chiết (# 600 ml). Cho dịch chiết vào chén sứ, cô cách thủy còn 1/4 thể tích, để nguội rồi cho vào 1 becher cỡ 1000 ml.

Tráng chén sứ bằng 500 – 600 ml nước, gộp vào becher.

Acid hóa dịch chiết bằng cách rót acid HCl 10%, vừa rót vừa khuấy đều đến pH = 1-2 (thử bằng giấy pH). Acid glycyrrhizic tự do sẽ cho kết tủa màu nâu lắng thành một khối dẹt dưới đáy becher.

Gạn bỏ dịch, rửa tủa (acid glycyrrhizic tự do) bằng nước máy nhiều lần, cho tủa vào 1 đĩa petri, để khô ở nhiệt độ phòng rồi sấy tiếp ở 60 °C cho đến khô.

Cân tủa, tính hiệu suất chiết (cho độ ẩm của dược liệu Cam thảo là 10%).

## **Bài 7,8. KHẢO SÁT MỘT SỐ LOÀI CÂY THUỐC TẠI HÒA QUÍ, Q. NGŨ HÀNH SƠN, TP. ĐÀ NẴNG**

### **Mục tiêu:**

- Khảo sát sự hiện diện một số loài cây thuốc có trên địa bàn
- Đánh giá được giá trị sử dụng, mức độ phong phú, phân bố và tiềm năng khai thác của loài cây thuốc cụ thể

**Dụng cụ:** máy ảnh, dao, kim mũi mác, dao lam,...

**Thực hiện:** Đi thực địa khu vực xung quanh trường, nhận biết các loài cây thuốc, bộ phận dùng, tác dụng, công dụng của cây thuốc. Chụp ảnh và lấy mẫu cây

Sinh viên chia thành các nhóm nhỏ 5-6 người, lựa chọn một trong các loài cây thuốc đã ghi nhận ở thực địa, làm bài báo cáo về loài đó vào buổi học tiếp theo