

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT VÀ BÀO CHẾ CAO KHÔ RÂU MÈO (ORTHOSIPHON STAMINEUS BENTH)

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng quy trình chiết xuất cao định chuẩn từ dược liệu Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth.) với acid rosmarinic và sinensetin là chỉ thị hóa học.

Phương pháp: Dược liệu Râu mèo đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V. Hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong dược liệu và cao chiết được định lượng bằng HPLC-DAD. Quy trình chiết xuất được khảo sát, tối ưu và đánh giá khả năng mở rộng quy mô.

Kết quả: Kết quả cho thấy phương pháp chiết hồi lưu với ethanol 70%, chiết 3 lần, thời gian 3 giờ cho lần thứ nhất và 2 giờ cho các lần tiếp theo, tỷ lệ dung môi/dược liệu lần lượt là 10/1; 8/1 và 6/1 (mL/g) cho hiệu suất chiết và hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin cao. Phương pháp loại tạp bằng cách hòa tan cao trở lại trong ethanol nồng độ cao cho hiệu quả làm giàu hoạt chất tốt nhất. Quy trình được nâng cấp thành công lên quy mô 1 kg/mẻ, cho kết quả ổn định với hiệu suất thu hồi hoạt chất cao.

Kết luận: Quy trình chiết xuất cao Râu mèo định chuẩn có hiệu suất cao, ổn định và có khả năng mở rộng quy mô, là cơ sở cho phát triển các chế phẩm từ Râu mèo.

Từ khóa: Râu mèo, *Orthosiphon stamineus*, acid rosmarinic, sinensetin, chiết xuất cao định chuẩn, HPLC-DAD.

STUDY ON THE DEVELOPMENT OF AN EXTRACTION AND FORMULATION PROCESS FOR DRY EXTRACT OF ORTHOSIPHON STAMINEUS BENTH.

ABSTRACT

Objective: To establish a standardized extraction process for *Orthosiphon stamineus* Benth. using rosmarinic acid and sinensetin as chemical markers for quality control.

Methods: *Orthosiphon stamineus* herbal material complying with the Vietnamese Pharmacopoeia V

1. Trường Đại học Y Dược Thái Bình

*Tác giả chính: Nguyễn Duy Cường

Email: cuongnd@tbump.edu.vn

Ngày nhận bài: 25/2/2026

Ngày phản biện: 25/3/2026

Ngày duyệt bài: 30/3/2026

Nguyễn Duy Cường^{1*}, Nguyễn Thanh Bình¹,
Bùi Thị Bình¹, Nguyễn Thị Kim Oanh¹, Không Thị Hoa¹

was used in this study. The contents of rosmarinic acid and sinensetin in the raw material and extracts were determined by HPLC-DAD. The extraction process was investigated, optimized, and further evaluated for scale-up feasibility.

Results: The results indicated that reflux extraction using 70% ethanol, performed in three cycles with extraction times of 3 h for the first cycle and 2 h for subsequent cycles, at solvent-to-material ratios of 10/1, 8/1, and 6/1 (mL/g), provided the highest extraction efficiency for both rosmarinic acid and sinensetin. Purification of the extract by re-dissolving in high-concentration ethanol effectively enriched the marker compounds. The optimized process was successfully scaled up to 1 kg per batch, demonstrating good reproducibility and stable recovery of marker compounds.

Conclusion: A standardized extraction process for *Orthosiphon stamineus* extract was successfully established with high efficiency, good stability, and scale-up potential, providing a scientific basis for the development of preparations from this medicinal herb.

Keywords: *Orthosiphon stamineus*, rosmarinic acid, sinensetin, standardized extract, HPLC-DAD.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth.) là dược liệu được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền và y học hiện đại với các tác dụng lợi tiểu, hỗ trợ điều trị sỏi đường tiết niệu, viêm đường tiết niệu và các rối loạn chuyển hóa [1]. Nhiều nghiên cứu cho thấy tác dụng sinh học của Râu mèo chủ yếu liên quan đến các hợp chất polyphenol, trong đó acid rosmarinic và flavonoid sinensetin là hai thành phần hoạt chất quan trọng, thường được lựa chọn làm chỉ thị hóa học trong kiểm soát chất lượng dược liệu và cao chiết [2],[3],[4],[5]. Tuy nhiên, hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong dược liệu Râu mèo có sự biến động đáng kể, phụ thuộc vào nguồn gốc, điều kiện trồng trọt, thời điểm thu hái và phương pháp sơ chế [5],[6],[7]. Bên cạnh đó, các quy trình chiết xuất cao Râu mèo đã được công bố còn chưa thống nhất về dung môi, điều kiện chiết và khả năng mở rộng quy mô, gây khó khăn cho việc chuẩn hóa chất lượng và ứng dụng trong sản

xuất chế phẩm. Xuất phát từ thực tiễn đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng quy trình chiết xuất cao định chuẩn từ dược liệu Râu mèo, đồng thời định lượng acid rosmarinic và sinensetin làm cơ sở khoa học cho việc phát triển các chế phẩm hỗ trợ điều trị sỏi đường tiết niệu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là dược liệu Râu mèo đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V, được thu hái tại một số địa điểm ở Việt Nam trong năm 2024. Mẫu sau khi thu hái được sơ chế, sấy khô ở 55°C và bảo quản tại Phòng lưu mẫu, khoa Hoá Phân tích - Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu. Danh sách thu mẫu được trình bày ở Bảng 2.1.

Bảng 1. Danh sách mẫu nghiên cứu

Ký hiệu	Thời gian thu mẫu	Địa điểm thu mẫu
RM7	12/10/2024	Sóc sơn- Hà Nội
RM8	20/12/2024	TT Trồng và chế biến cây thuốc, Hà Nội
RM9	20/12/2024	TT Trồng và chế biến cây thuốc, Hà Nội

2.2. Hóa chất, trang thiết bị dùng trong nghiên cứu

Các dung môi, hóa chất dùng cho chiết xuất: methanol, ethanol ... đạt tiêu chuẩn phân tích (P.A.). Các dung môi, hóa chất dùng cho sắc ký lỏng hiệu năng cao (methanol, acetonitrile, acid formic) của hãng Merck. Nước cất sử dụng là nước cất hai lần đã được deion hoá.

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) Shimadzu bao gồm: Hệ bơm binary LC-30AD, detector SPD-M20A DAD, hệ thống tiêm mẫu tự động SIL-30AC, bộ phận ổn nhiệt CTO-10AS của Shimadzu. Phần mềm điều khiển Labsolution.

Cột sắc ký C18 của hãng Agilent, kích thước cột 250 x 4,6mm, kích thước hạt 5µm, bản mỏng: DC-Alufolien 60 GF254 (Merck), bộ chiết hồi lưu và bếp cách thủy (Memmert, WB – 14 LO). Máy cô chân không Buchi, hệ thống chiết cô đa năng Daihan.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp định lượng các chất đối

chiếu trong dược liệu và cao chiết Râu mèo bằng phương pháp HPLC

Hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong dược liệu, dịch chiết và cao chiết được xác định bằng phương pháp HPLC-DAD. Phân tích được thực hiện trên cột C18, bước sóng phát hiện 320 nm, thể tích tiêm mẫu 10 µL, tốc độ dòng 1,5 mL/phút.

2.3.2. Xây dựng quy trình chiết xuất cao định chuẩn Râu mèo quy mô 100g/mẻ

Quy trình chiết xuất được khảo sát ở quy mô 100 g dược liệu/mẻ nhằm đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố: dung môi chiết, phương pháp chiết, kích thước dược liệu, thời gian chiết, số lần chiết và tỷ lệ dung môi/dược liệu (Dung môi chiết: nước, ethanol 25%, ethanol 50%, ethanol 70%, ethanol 90%, thời gian chiết: 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, số lần chiết: 1, 2, 3 lần, tỷ lệ dung môi/dược liệu (mL/g): tương ứng với 2 lần chiết lần lượt là 9/1 và 7/1; 10/1 và 8/1; 12/1 và 9/1; hoặc tương ứng với 3 lần chiết lần lượt là 10/1, 8/1 và 6/1 (ký hiệu là 10/8/6) hoặc 8/1, 6/1 và 4/1 (ký hiệu là 8/6/4)).

Tiêu chí đánh giá gồm hiệu suất chiết cao và hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin từ dược liệu.

2.3.3. Khảo sát phương pháp loại tạp

Khảo sát phương pháp loại tạp được tiến hành ở quy mô 20 g cao chiết/mẻ với ba phương pháp gồm tủa lại bằng nước, hòa tan cao trở lại trong ethanol và xử lý bằng than hoạt tính. Hiệu quả của các phương pháp được đánh giá thông qua hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong cao sau loại tạp và hiệu suất thu hồi hoạt chất.

2.3.4. Nâng cấp quy trình chiết xuất cao định chuẩn Râu mèo lên quy mô 1kg/mẻ

Quy trình chiết xuất tối ưu được áp dụng ở quy mô 1 kg/mẻ. Các thông số kỹ thuật được điều chỉnh phù hợp với thiết bị sản xuất. Mỗi quy mô được tiến hành nhiều mẻ liên tiếp để đánh giá tính ổn định của quy trình.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thực nghiệm được tổng hợp và xử lý bằng Microsoft Excel. Kết quả được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ít nhất 3 lần thí nghiệm độc lập.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả xây dựng và áp dụng phương pháp định lượng acid rosmarinic và sinensetin trong Râu mèo bằng HPLC-DAD

Hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong dược liệu, dịch chiết và cao chiết Râu mèo được xác định bằng phương pháp HPLC-DAD. Phân tích được thực hiện trên hệ thống HPLC Shimadzu, detector DAD, với các điều kiện chính như sau: Cột sắc ký: C18 (250 × 4,6 mm; 5 μm); Pha động: acetonitril – nước (có acid formic), rửa giải gradient; Tốc độ dòng: 1,5 mL/phút; Thẻ tích tiêm mẫu: 10 μL; Bước sóng phát hiện: 320 nm. Các pic acid rosmarinic và sinensetin được tách rõ ràng, không bị chồng lấn, đảm bảo tính đặc hiệu của phương pháp. Kết quả cho thấy mối tương quan tuyến tính tốt giữa diện tích pic và nồng độ chất chuẩn, với hệ số tương quan $R^2 = 0,9999$ cho cả hai hoạt chất. Phương trình đường chuẩn: Acid rosmarinic: $Y = 57330x + 125276$; Sinensetin: $Y = 65731x + 5972$. Kết quả định lượng acid rosmarinic và sinensetin trong các mẫu nghiên cứu dược liệu đầu vào được trình bày tại Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong các mẫu dược liệu và cao chiết

Mẫu	Độ ẩm (%)	Mdl (g)	Diện tích pic (mAu.s)		Hàm lượng (%)		TB ± SD* (%)	
			ROS	SIN	ROS	SIN	ROS	SIN
RM7	8,98	0,2102	2381236	230308	1,01	0,087	1,02 ± 0,02	0,089 ± 0,002
		0,2007	2354870	226593	1,04	0,090		
		0,2013	2268608	229403	1,00	0,091		
RM8	7,35	0,1998	2543252	260314	1,12	0,102	1,13 ± 0,02	0,105 ± 0,002
		0,2028	2667397	275425	1,16	0,107		
		0,2017	2593550	270658	1,13	0,106		
RM9	8,30	0,1973	3541321	363110	1,61	0,147	1,59 ± 0,05	0,143 ± 0,004
		0,2010	3610286	362848	1,62	0,144		
		0,2100	3582308	363714	1,53	0,138		

*Hàm lượng tính trên khối lượng mẫu khô kiệt

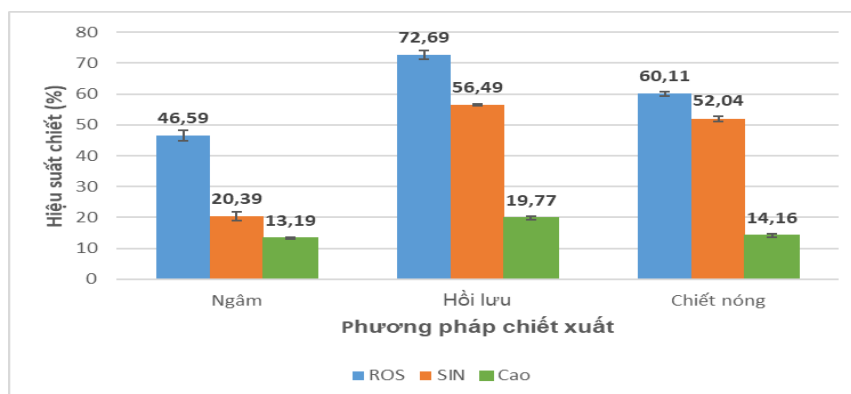
Kết quả cho thấy hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong dược liệu đầu vào dao động trong khoảng tương đối rộng, cho thấy sự cần thiết của việc xây dựng quy trình chiết xuất nhằm chuẩn hóa hàm lượng hoạt chất trong cao chiết.

3.2. Kết quả xây dựng quy trình chiết xuất cao định chuẩn Râu mèo quy mô 100 g/mẻ

3.2.1. Lựa chọn phương pháp chiết xuất

Ba phương pháp chiết xuất gồm ngâm ở nhiệt độ phòng (30°C), chiết nóng ở 60°C và chiết hồi lưu ở nhiệt độ sôi của dung môi được khảo sát trong cùng điều kiện dung môi ethanol 70%, thực hiện 2 lần chiết với tỷ lệ dung môi/dược liệu lần lượt là 9/1 và 7/1 (mL/g). Thời gian chiết đối với phương pháp ngâm là 24 giờ cho mỗi lần chiết, trong khi phương pháp chiết nóng và chiết hồi lưu được thực hiện trong 2 giờ cho mỗi lần.

Các dịch chiết sau khi gộp được sử dụng để xác định hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin theo phương pháp HPLC-DAD; Phần dịch còn lại được cô thu hồi dung môi dưới áp suất giảm để thu cao khô và tính hiệu suất chiết. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của phương pháp chiết đến hiệu suất chiết cao và hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin được thể hiện tại Hình 3.1.



Hình 1. Ảnh hưởng của phương pháp chiết xuất đến hiệu suất chiết cao và các hoạt chất chính trong dược liệu Râu mèo

Kết quả thu được cho thấy phương pháp chiết hồi lưu ở 85°C với dung môi ethanol 70% cho hiệu suất chiết cao đạt 19,77% và hiệu suất chiết ROS và SIN từ dược liệu cao đạt tương ứng 72,69% và 56,49% sau 2 lần chiết. Các giá trị này cao hơn rõ rệt so với phương pháp chiết ngâm ở nhiệt độ phòng và phương pháp chiết nóng ở 60°C. Ngoài ra, phương pháp chiết hồi lưu có thời gian chiết ngắn hơn và dễ áp dụng ở quy mô sản xuất. Do đó, phương pháp chiết hồi lưu ở 85°C với dung môi ethanol 70% được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

3.2.2. Lựa chọn kích thước dược liệu

Ảnh hưởng của kích thước dược liệu đến hiệu suất chiết được khảo sát với các dạng dược liệu gồm băm nhỏ (2–3 cm), xay thô và xay mịn trong cùng điều kiện chiết hồi lưu với dung môi ethanol 70%. Hiệu suất chiết cao và hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin được xác định để so sánh giữa các dạng kích thước dược liệu. Kết quả được trình bày ở Bảng 2.

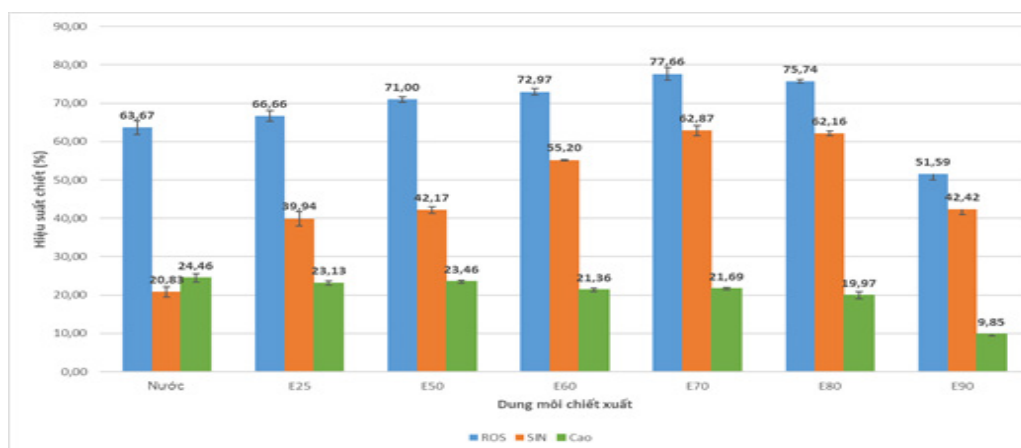
Bảng 2. Kết quả khảo sát kích thước dược liệu

Kích thước dược liệu	M _{dl} (g)	m _{cao} (g)	Hiệu suất chiết cao (%)	M ± SD (%)	Hiệu suất chiết hoạt chất từ dược liệu			
					ROS	M ± SD (%)	SIN	M ± SD (%)
Băm nhỏ	100,10	20,90	21,10	21,29	75,77	77,02	62,98	62,30
	100,00	21,60	21,83	± 0,48	77,91	± 1,11	61,43	± 0,80
	101,40	21,00	20,93		77,36		62,49	
Xay thô	101,40	21,80	21,73	21,92	78,88	77,66	63,56	62,87
	101,60	22,40	22,28	± 0,32	78,34	± 1,67	63,68	± 1,30
	100,40	21,60	21,75		75,76		61,38	
Xay mịn	101,70	24,00	23,85	24,32	77,07	77,26	58,96	59,50
	99,50	24,90	25,29	± 0,85	77,79	± 0,46	59,89	± 0,49
	100,20	23,60	23,81		76,94		59,67	

Dược liệu xay mịn cho hiệu suất chiết cao lớn nhất (24,32%), tuy nhiên hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin không tăng tương ứng (lần lượt khoảng 77,1% và 59,5%) và gây khó khăn cho quá trình lọc khi áp dụng ở quy mô lớn. Dược liệu băm nhỏ (2–3 cm) cho hiệu suất chiết (21,29%) và hiệu suất thu hồi acid rosmarinic (77,0%) và sinensetin (62,3%) tương đương dạng xay thô, đồng thời thuận lợi hơn cho sản xuất. Do đó, lựa chọn dược liệu băm nhỏ (2–3 cm) cho các khảo sát tiếp theo.

3.2.3. Lựa chọn dung môi chiết xuất

Để khảo sát dung môi chiết xuất, các dung môi gồm nước và ethanol ở các nồng độ khác nhau (25–90%) được sử dụng trong cùng điều kiện chiết hồi lưu. Hiệu suất chiết cao và hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin được xác định để so sánh giữa các dung môi. Kết quả khảo sát được trình bày ở Hình 3.

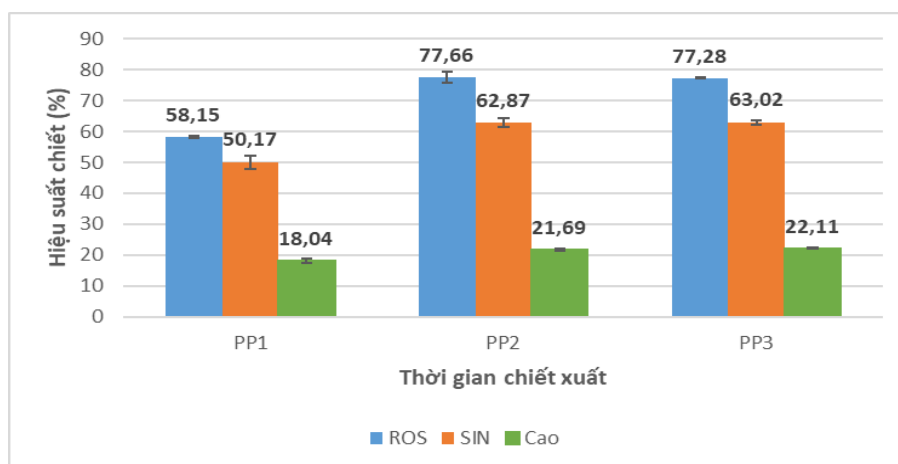


Hình 2. Ảnh hưởng của dung môi chiết (nước và ethanol ở các nồng độ khác nhau) đến hiệu suất chiết cao, acid rosmarinic và sinensetin từ dược liệu Râu mèo

Kết quả khảo sát cho thấy nước cho hiệu suất chiết cao lớn (24,46%) nhưng hiệu suất thu hồi sinensetin thấp (20,83%). Các dung môi ethanol 60-80% cho hiệu suất chiết hoạt chất tương đương, trong đó ethanol 70% cho hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin cao nhất, lần lượt đạt 77,66% và 62,87%. Do đó, ethanol 70% được lựa chọn làm dung môi chiết cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2.4. Lựa chọn thời gian chiết xuất

Ảnh hưởng của thời gian chiết xuất được khảo sát thông qua các phương pháp chiết hồi lưu sau: Phương pháp 1: chiết 2 lần, lần thứ nhất trong 2 giờ, lần thứ 2 trong 1 giờ, phương pháp 2: chiết 2 lần, lần thứ nhất 3 giờ, lần thứ 2 trong 2 giờ, phương pháp 3: chiết 2 lần, lần thứ nhất 4 giờ, lần thứ 2 trong 3 giờ. Kết quả khảo sát được trình bày ở Hình 4.

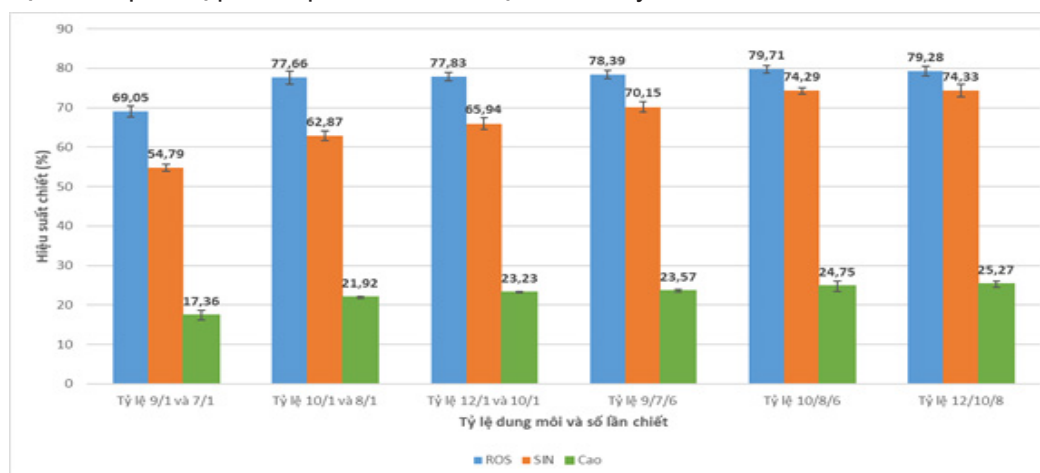


Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu suất chiết cao, acid rosmarinic và sinensetin từ dược liệu Râu mèo.

Kết quả khảo sát cho thấy, khi tăng thời gian chiết từ phương pháp 1 (2 giờ + 1 giờ) lên phương pháp 2 (3 giờ + 2 giờ) làm tăng rõ rệt hiệu suất chiết acid rosmarinic (ROS) (58,15% → 77,66%), sinensetin (SIN) (50,17% → 62,87%) và hiệu suất thu hồi cao (18,04% → 21,69%). Khi tiếp tục kéo dài thời gian ở PP3 (4 giờ + 3 giờ), các giá trị chỉ tăng không đáng kể (ROS 77,28%; SIN 63,02%; cao 22,11%). Kết quả cho thấy điều kiện 3 giờ cho lần chiết thứ nhất và 2 giờ cho lần thứ hai là phù hợp, đảm bảo hiệu suất và tính kinh tế của quy trình.

3.2.5. Lựa chọn tỷ lệ và số lần chiết xuất

Ảnh hưởng của số lần chiết và tỷ lệ dung môi/dược liệu đến quá trình chiết xuất được khảo sát với các phương pháp chiết hồi lưu bằng ethanol 70%, thay đổi số lần chiết (2-3 lần) và tỷ lệ dung môi/dược liệu khác nhau. Hiệu suất chiết cao và hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin được xác định để lựa chọn điều kiện chiết phù hợp. Kết quả khảo sát được trình bày ở Hình 5.

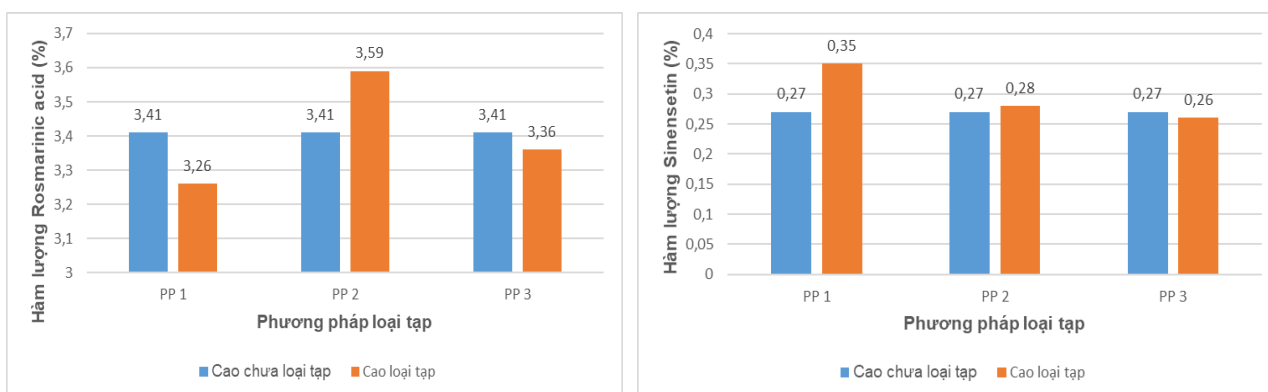


Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ dung môi/dược liệu và số lần chiết đến hiệu suất chiết cao, acid rosmarinic và sinensetin từ dược liệu Râu mèo.

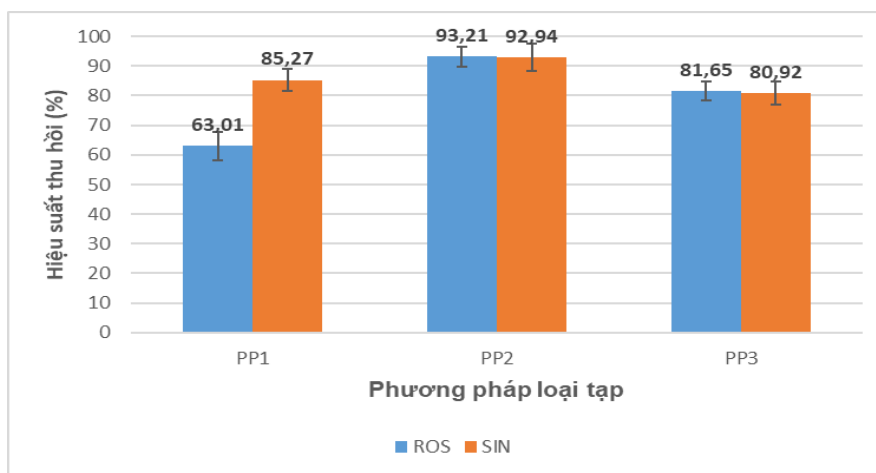
Kết quả khảo sát cho thấy khi tăng tỷ lệ dung môi/dược liệu và số lần chiết, hiệu suất chiết cao và hiệu suất thu hồi hoạt chất đều tăng. Khi tăng số lần chiết từ 2 lên 3 lần, hiệu suất thu hồi acid rosmarinic tăng không đáng kể, trong khi hiệu suất thu hồi sinensetin tăng rõ rệt từ 65,94% lên 74,29%. Trong các phương pháp khảo sát, điều kiện chiết 3 lần với tỷ lệ dung môi/dược liệu 10/1; 8/1; 6/1 (mL/g) cho hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin cao và ổn định, tương đương phương pháp có tỷ lệ dung môi cao hơn nhưng tiết kiệm dung môi hơn. Do đó, điều kiện chiết này được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát phương pháp loại tạp

Để làm giàu hoạt chất trong cao Râu mèo, dựa trên độ tan của các nhóm hoạt chất chính, ba phương pháp loại tạp gồm rửa lại bằng nước (PP1), hòa tan cao trong ethanol nồng độ cao (PP2) và xử lý bằng than hoạt tính (PP3) được khảo sát. Hiệu quả của các phương pháp được đánh giá thông qua hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong cao sau tinh chế và hiệu suất thu hồi hoạt chất. Kết quả được trình bày ở Hình 6 và Hình 7.



Hình 5. Ảnh hưởng của phương pháp loại tạp đến hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong cao Râu mèo.

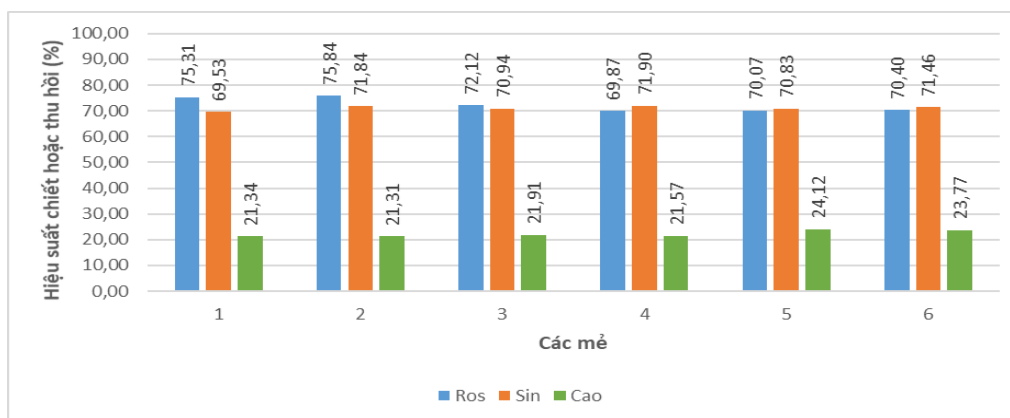


Hình 6. Ảnh hưởng của phương pháp loại tạp đến hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin trong cao Râu mèo.

Kết quả cho thấy PP1 làm giảm hàm lượng acid rosmarinic từ 3,41% xuống 3,26% và cho hiệu suất thu hồi ROS 63,01%, SIN 85,27%. PP3 cải thiện ở mức trung bình (acid rosmarinic 3,36%; ROS 81,65%; SIN 80,92%). PP2 cho kết quả tối ưu khi làm tăng hàm lượng acid rosmarinic lên 3,59% và đạt hiệu suất thu hồi cao nhất (ROS 93,21%; SIN 92,94%). Do đó, PP2 được lựa chọn cho quá trình tinh chế cao Râu mèo.

3.4. Kết quả nâng cấp quy trình chiết xuất cao định chuẩn Râu mèo lên quy mô 1kg/mẻ

Quy trình chiết xuất cao định chuẩn Râu mèo được nâng cấp lên quy mô 1 kg/mẻ với các thông số kỹ thuật tối ưu gồm: dung môi chiết ethanol 70%, phương pháp chiết hồi lưu, 3 lần chiết (3 giờ cho lần thứ nhất và 2 giờ cho các lần tiếp theo) và tỷ lệ dung môi/dược liệu lần lượt 10/1; 8/1; 6/1 (mL/g). Quy trình được tiến hành 06 mẻ liên tiếp nhằm đánh giá tính ổn định. Kết quả thu được được trình bày ở Hình 3.8.



Hình 7. Hiệu suất chiết và thu hồi hoạt chất của cao Râu mèo ở quy mô 1 kg/m³.

Kết quả cho thấy khi nâng cấp quy trình chiết xuất lên quy mô 1 kg/m³ và tiến hành trên 6 mẻ liên tiếp, hiệu suất chiết hoạt chất từ dược liệu đạt từ 69,53–75,84%, hiệu suất thu hồi cao dao động 21,31–24,12%. Hàm lượng acid rosmarinic trong cao chiết tương đối ổn định giữa các mẻ. Sự sai khác giữa các mẻ không đáng kể, chứng tỏ quy trình chiết xuất ở quy mô 1 kg/m³ có tính lặp lại và độ ổn định tốt, phù hợp để tiếp tục nghiên cứu nâng cấp lên quy mô lớn hơn.

IV. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng acid rosmarinic và sinensetin trong dược liệu Râu mèo có sự biến động giữa các mẫu thu hái tại các thời điểm và địa điểm khác nhau, phù hợp với các công bố cho thấy thành phần hóa học của dược liệu chịu ảnh hưởng bởi điều kiện sinh thái, mùa vụ, giai đoạn sinh trưởng và phương pháp sơ chế sau thu hoạch [8],[9],[10],[11],[12]. Akowuah và cộng sự cũng ghi nhận sự khác biệt đáng kể về hàm lượng hai hoạt chất này giữa các vùng trồng khác nhau [7].

Phương pháp HPLC-DAD được xây dựng cho phép định lượng đồng thời acid rosmarinic và sinensetin với độ tuyến tính cao ($R^2 = 0,9999$), phù hợp với các nghiên cứu gần đây về định lượng các hoạt chất chính trong Râu mèo [13],[14]. Việc lựa chọn acid rosmarinic và sinensetin làm chỉ thị định chuẩn là hợp lý do đây là các hợp chất đặc trưng, liên quan trực tiếp đến hoạt tính sinh học và giá trị dược lý của dược liệu [7],[15],[16],[17].

Kết quả khảo sát cho thấy phương pháp chiết hồi lưu với ethanol 70% cho hiệu suất chiết và hiệu suất thu hồi hoạt chất cao hơn so với chiết ngâm và chiết nóng, phù hợp với các công bố cho thấy ethanol nồng độ trung bình là dung môi tối ưu để chiết xuất đồng thời các hợp chất phenolic và flavonoid từ dược liệu [7],[13]. Việc sử dụng nhiệt độ sôi của dung môi trong chiết hồi lưu giúp tăng khả năng khuếch tán hoạt chất và rút ngắn thời gian chiết.

Ảnh hưởng của kích thước dược liệu và dung môi chiết cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Dược liệu xay mịn cho hiệu suất chiết cao nhưng không cải thiện đáng kể hiệu suất thu hồi hoạt chất và gây bất lợi cho quá trình lọc ở quy mô lớn,

trong khi ethanol 70% cho hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin cao hơn so với nước, do đặc tính phân cực của các hoạt chất này [8],[15].

Việc tăng thời gian và số lần chiết giúp cải thiện hiệu suất thu hồi hoạt chất, tuy nhiên hiệu quả tăng không đáng kể khi vượt quá ngưỡng tối ưu, trong khi chi phí năng lượng và thời gian sản xuất tăng lên, phù hợp với các nghiên cứu về tối ưu hóa quy trình chiết xuất dược liệu [8]. Trong khảo sát phương pháp loại tạp, phương pháp hòa tan cao trở lại trong ethanol nồng độ cao cho hiệu suất thu hồi và khả năng làm giàu hoạt chất tốt hơn so với rửa lại bằng nước hoặc xử lý bằng than hoạt tính, phù hợp với đặc tính độ tan của các hợp chất phenolic và flavonoid [15].

Quy trình chiết xuất sau khi nâng cấp lên quy mô 1 kg/m³ cho kết quả ổn định với hiệu suất thu hồi hoạt chất cao, cho thấy quy trình có tính khả thi và phù hợp cho sản xuất quy mô công nghiệp, đáp ứng yêu cầu chuẩn hóa cao dược liệu theo định hướng của Dược điển Việt Nam V.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng và áp dụng thành công phương pháp HPLC-DAD để định lượng đồng thời acid rosmarinic và sinensetin trong dược liệu, dịch chiết và cao chiết Râu mèo với độ chính xác và độ lặp lại cao. Kết quả cho thấy hàm lượng hai hoạt chất trong dược liệu Râu mèo thu hái tại Việt Nam có sự biến động, khẳng định sự cần thiết của việc kiểm soát chất lượng nguyên liệu đầu vào.

Thông qua việc khảo sát có hệ thống các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất, nghiên cứu đã lựa chọn được điều kiện tối ưu để thu cao Râu mèo

giàu hoạt chất, bao gồm: chiết hồi lưu với ethanol 70%, dược liệu dạng băm nhỏ, chiết 3 lần với thời gian 3 giờ cho lần thứ nhất và 2 giờ cho các lần tiếp theo, tỷ lệ dung môi/dược liệu lần lượt là 10/1; 8/1 và 6/1 (mL/g). Phương pháp loại tạp bằng cách hòa tan cao trở lại trong ethanol nồng độ cao cho hiệu quả làm giàu hoạt chất tốt nhất.

Quy trình chiết xuất cao định chuẩn Râu mèo đã được nâng cấp từ quy mô 100 g/mẻ lên 1 kg/mẻ với kết quả ổn định giữa các mẻ. Hiệu suất chiết và hiệu suất thu hồi acid rosmarinic và sinensetin ở quy mô 1 kg/mẻ đạt giá trị cao. Cao thu được có hàm lượng hoạt chất ổn định, đáp ứng yêu cầu xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho cao dược liệu.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ Y tế do Trường Đại học Y Dược Thái Bình chủ trì: Nghiên cứu tạo sản phẩm viên nang cứng từ cây Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth.) và một số dược liệu khác hỗ trợ điều trị sỏi đường tiết niệu. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí và các điều kiện nghiên cứu từ đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Sahib H., Ismail Z., Othman N., et al. (2009).** *Orthosiphon stamineus* Benth. methanolic extract enhances the anti-proliferative effects of tamoxifen on human hormone dependent breast cancer. *International Journal of pharmacology*, 5(4):273-6.
- Guerin J-C., Reveillere H-P., Ducrey P., et al. (1989).** *Orthosiphon stamineus* as a potent source of methylripariochromene A". *Journal of Natural Products*, 52(1):171-3.
- Ohashi K., Bohgaki T., Matsubara T., et al. (2000).** Indonesian Medicinal Plants. XXIII. Chemical Structured of Two New Migrated Pimarane-type Diterpenes, Neoorthosiphols A and B, and Suppressive Effects on Rat Thoracic Aorta of Chemical Constituents Isolated from the Leaves of *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae). *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 48(3):433-5.
- Awale S., Tezuka Y., Banskota AH., et al. (2002).** Norstaminane-and isopimarane-type diterpenes of *Orthosiphon stamineus* from Okinawa. *Tetrahedron*, 58(27):5503-12.
- Awale S., Tezuka Y., Banskota AH., et al. (2003).** Highly-oxygenated isopimarane-type diterpenes from *Orthosiphon stamineus* of Indonesia and their nitric oxide inhibitory activity. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 51(3):268-75.
- Awale S., Tezuka Y., Banskota AH., et al. (2003).** Inhibition of NO production by highly-oxygenated diterpenes of *Orthosiphon stamineus* and their structure-activity relationship. *Biol Pharm Bull*, 26(4):468-73.
- Nguyen MTT., Awale S., Tezuka Y., et al. (2004).** Staminane-and isopimarane-type diterpenes from *Orthosiphon stamineus* of Taiwan and their nitric oxide inhibitory activity. *Journal of Natural Products*, 67(4):654-8.
- Elgorashi E., Drewes S., Van Staden J., et al. (2002).** Organ-to-organ and seasonal variations of alkaloids from *Crinum moorei*. *South African journal of botany*, 68(1):111-4.
- Johanna BM. (2007).** Variation of active constituents in *Euclea natalensis* based on seedling stages, seasons, and fertilizers. University of Pretoria, South Africa.
- Laitinen M-L., Julkunen-Tiitto R., Tahvanainen J., et al. (2005).** Variation in Birch (*Betula pendula*) Shoot Secondary Chemistry due to Genotype, Environment, and Ontogeny: Laitinen et al. *Journal of Chemical Ecology*, 31(4):697-717.
- Liu Z., Carpenter SB., Bourgeois WJ., et al. (1998).** Variations in the secondary metabolite camptothecin in relation to tissue age and season in *Camptotheca acuminata*. *Tree Physiology*, 18(4):265-70.
- Nikolova M., Velickovic D. (2007).** Phenological Variations in the Surface Flavonoids of *Artemisia vulgaris* L. and *Artemisia absinthium* L. *Turkish Journal of Botany*, 31(5):459-62.
- Pham QT., Nguyen TMD., Tran TVA., et al. (2023).** Development of an HPLC Method for Simultaneous Quantification of Rosmarinic Acid, Sinensetin in *Herba Orthosiphonis spiralis*. *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, 39(2):
- Thúy PT., Thông VV., Vy VPT. (2019).** Định lượng một số hợp chất trong dược liệu râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth) thu hái tại tỉnh Thái Nguyên. *TNU Journal of Science and Technology*, 194(01):189-93.
- Li S., Pan M-H., Lo C-Y., et al. (2009).** Chemistry and health effects of polymethoxyflavones and hydroxylated polymethoxyflavones. *Journal of Functional Foods*, 1(1):2-12.
- Schut G., Zwaving J. (1993).** Pharmacological investigation of some lipophilic flavonoids from *Orthosiphon aristatus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 38(2-3): 129-137.
- Park SU., Uddin R., Xu H., et al. (2008).** Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant. *African journal of biotechnology*, 7(25): 4959-4965.