

# Nghiên cứu phương pháp chiết và tinh chế solanesol tổng trong lá thuốc lá, lá khoai tây và lá cà chua

Nguyễn Thị Quỳnh Trang<sup>1,\*</sup>, Nguyễn Thị Phương<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Kỳ<sup>1</sup>,  
Phạm Tuấn Bảo Châu<sup>3</sup>, Mạc Đình Hùng<sup>1</sup>, Phạm Văn Phong<sup>1</sup>,  
Nguyễn Văn Tài<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thu Trang<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQGHN, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Hóa Thực vật, Viện Dược liệu, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường THPT Chuyên Hà Nội-Amsterdam

Nhận ngày 24 tháng 7 năm 2016

Chỉnh sửa ngày 23 tháng 8 năm 2016; chấp nhận đăng ngày 01 tháng 9 năm 2016

**Tóm tắt:** Trong nghiên cứu này, solanesol được phân tách từ lá thuốc lá, lá khoai tây, và lá cà chua bằng quá trình xà phòng hóa và chiết hồi lưu được tối ưu hóa. Hàm lượng solanesol tổng của các mẫu chọn lọc đạt cao nhất khi sử dụng phối hợp dung dịch KOH 2,0% với dung môi chiết ở nhiệt độ 60 °C trong thời gian 2 giờ. Kết quả phân tích với HPLC cho thấy, hàm lượng solanesol tổng tìm thấy trong thuốc lá đạt cao nhất là 1,840% (tăng 52,0% so với hàm lượng solanesol tự do tương ứng), trong khoai tây là 0,211% (tăng 85,0% so với hàm lượng solanesol tự do tương ứng), và trong cà chua là 0,239% (tăng 74,0% so với hàm lượng solanesol tự do tương ứng). Đã trực tiếp tinh chế solanesol từ cao thô bằng phương pháp kết tinh lại thay vì sắc ký cột với hiệu suất kết tinh 0,46% (độ tinh khiết 86,0%) từ cao lá thuốc lá, từ cao lá khoai tây với hiệu suất 0,105% (độ tinh khiết 80,7%), và từ cao lá cà chua với hiệu suất 0,135% (độ tinh khiết 82,1%).

**Từ khóa:** Solanesol tổng, thuốc lá, khoai tây, cà chua, chiết hồi lưu, xà phòng hóa, kết tinh lại.

## 1. Đặt vấn đề

Solanesol là ancol trisesquiterpenoid được phân lập đầu tiên từ lá cây thuốc lá vào năm 1956 bởi Rowland [1]. Solanesol trong tự nhiên tồn tại ở cả hai dạng: dạng tự do và dạng liên kết ester carboxylate và photphate [2]. Solanesol có tác dụng chống vi khuẩn, kháng virus, chống viêm loét, chống nấm, kháng viêm, chống oxy hóa và chống ung thư [3-5]. Gần đây, các nhà khoa học đã thử nghiệm hoạt tính chống ung thư của các dẫn xuất solanesol cho thấy tác dụng tốt trên các

dòng ung thư cổ tử cung, ung thư dạ dày, ung thư vú... [6-7]. Quan trọng hơn, solanesol là tiền chất để tổng hợp các thuốc dạng ubiquinone như coenzyme Q<sub>10</sub>, vitamin K<sub>2</sub> [8-9].

Nguồn nguyên liệu chứa solanesol nhiều nhất được biết đến cho đến nay là trong lá thuốc lá với hàm lượng 0,3 - 3,0% [10-11]. Ngoài ra, solanesol còn được tìm thấy trong các thực vật thuộc họ cà như khoai tây, cà chua... [11]. Với vai trò là nguyên liệu tái tạo được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp dược để tổng hợp các vitamin và coenzyme quan trọng, solanesol đã được phân lập từ lá thuốc lá và bán dưới dạng thành phẩm trên thế giới [12-13]. Tuy nhiên, ngoại trừ công trình nghiên cứu năm 2014 của nhóm chúng tôi, hiện chưa có công bố

\* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-983966248  
Email: nguyenthutrangkd@gmail.com

trong nước nào đánh giá về hàm lượng solanesol trong các thực vật họ cà Việt nam [14].

Trong nghiên cứu trước [14], chúng tôi đã phân lập và đánh giá thành phần solanesol từ lá thuốc lá Cao Bằng, xây dựng phương pháp định lượng solanesol bằng HPLC-UV và xác định hàm lượng solanesol tự do trong một số loài thuộc họ cà ở Việt Nam. Tuy nhiên, sắc ký đồ cho thấy có thể solanesol tồn tại ở dạng ester chiếm tỷ lệ đáng kể trong nguyên liệu thô. Vì vậy, việc thủy phân ester để giải phóng solanesol có thể tăng lượng solanesol tổng thu được [15–16]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu, tối ưu hóa phương pháp xử lý mẫu thô để xác định hàm lượng solanesol tổng trong lá thuốc lá, lá khoai tây, và lá cà chua; đồng thời tinh chế trực tiếp sản phẩm bằng phương pháp kết tinh lại này từ cao thô tương ứng. Kết quả này tạo tiền đề cho việc nghiên cứu nâng cao giá trị và tận dụng nguồn phế liệu thực vật Việt Nam.

## 2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Chất chuẩn solanesol của hãng AK Scientific Inc, có độ tinh khiết 90%. Dung môi HPLC (metanol, isopropanol, axeton) đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích của Merck. Dung môi sử dụng trong quá trình chiết, tách solanesol là dung môi tinh khiết phân tích của Trung Quốc hoặc dung môi công nghiệp đã được cất lại. Sắc ký bản mỏng được triển khai trên bản mỏng silica gel trắng sẵn DC-Alufolien 60 F<sub>254</sub> của Merck. Lá thuốc lá được thu hái tại Cao Bằng, lá cà chua và khoai tây được thu hái tại Hưng Yên.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu.

*Chuẩn bị mẫu nghiên cứu:* Lá thuốc lá, khoai tây và cà chua được sấy ở 50 °C trong 12 h, xay nhỏ thành bột kích thước 0,1 – 0,2 mm có độ ẩm lần lượt là 7,8 ± 0,5%; 10,5 ± 0,7% và 8,7 ± 0,7%. Cân chính xác trên cân phân tích khoảng 5,0 g bột nguyên liệu vào bình cầu 100

mL chứa 50 mL dung dịch KOH trong ethanol có nồng độ nhất định. Hỗn hợp được gia nhiệt ở các nhiệt độ và khoảng thời gian khác nhau để khảo sát quá trình thủy phân giải phóng solanesol. Sau khi làm lạnh về nhiệt độ phòng, lọc qua giấy lọc thu phần dịch lọc, phân bã tiếp tục được chiết hồi lưu với *n*-hexan (2 lần x 50 mL, thời gian 1 h). Các dịch lọc được gộp với nhau, thêm vào 100 mL nước cất, tách lấy pha hữu cơ, pha nước lại được chiết tiếp với *n*-hexan (2 lần x 80 mL), toàn bộ pha hữu cơ được gộp lại và rửa với nước (2 lần x 100 mL), làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và cất loại dung môi dưới áp suất thấp ở nhiệt độ 40 °C thu được cao chiết giàu solanesol. Cao thu được sau khi cất loại dung môi được hòa tan trong axeton và định mức lên 100 mL. Các dung dịch này trước khi tiêm vào hệ thống sắc ký được lọc qua màng lọc kích cỡ 0,45 μm.

*Phương pháp HPLC-UV định lượng tổng solanesol trong nguyên liệu:* Áp dụng phương pháp đã được xây dựng trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi [14], sử dụng hệ thống HPLC-UV với các điều kiện: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao siêu nhanh UFLC Shimazu (Nhật Bản), bơm LC-20AD, detector SPD-20A tại bước sóng 210 nm, cột phân tích pha đảo C<sub>18</sub> Vertisep (5 μm, 250 mm x 4,6 mm), phần mềm Labsolution dùng để truy xuất hình ảnh và số liệu, phần mềm excel để tính toán kết quả và các số liệu, dung môi pha động isopropanol : methanol = 60 : 40 (v/v), tốc độ dòng 1 mL/phút, thể tích tiêm 10 μL, thời gian lưu 7,50 phút .

*Phương pháp định lượng solanesol trong các mẫu:* Các mẫu nghiên cứu chuẩn bị theo phương pháp trên được tiêm vào hệ thống HPLC. Các thí nghiệm làm lặp lại 3 lần và lấy kết quả trung bình. Hàm lượng solanesol trong mẫu được tính theo công thức:

$$\text{Hàm lượng solanesol tổng (\%)} = \frac{C \times 100 \times 0.9 \times 100 \times 100\%}{1000 \times a \times (100 - B)}$$

Trong đó: C là nồng độ solanesol trong mẫu thử tính theo phương trình hồi quy từ đường chuẩn  $y = 29427x + 663929$  (μg/mL) với  $R^2 = 0,9994$ , a là khối lượng mẫu thử phân tích (mg),

B là độ ẩm của mẫu thử (%), độ tinh khiết của chất chuẩn 90%.

Hàm lượng solanesol tự do trong thuốc lá, khoai tây và cà chua được xác định theo tài liệu [14]

Phương pháp phân lập và tinh chế solanesol:

Áp dụng quy trình thủy phân thu được solanesol tổng cao nhất ở trên và tham khảo các tài liệu nghiên cứu kết tinh và tinh chế solanesol [17, 18], tiến hành phân lập và tinh chế solanesol từ lá thuốc lá, lá khoai tây và lá cà chua như sau:

200 g lá thuốc lá thu được 11,31 g cao chiết sau thủy phân. Cho vào cao chiết 20 mL methanol, đun hồi lưu trong 30 phút, tách lấy phần tan trong methanol. Phần không tan được bổ xung tiếp 20 mL methanol, tiếp tục đun hồi lưu trong 30 phút, tách lấy phần tan trong methanol. Lặp lại quá trình trên một lần nữa. Pha methanol được gộp lại, cô cạn dung môi thu được 4,7 g sản phẩm solanesol thô màu vàng có độ tinh khiết đạt 55,7%. Solanesol thô được hòa tan trong 16 mL methanol đun nóng để chất rắn tan hoàn toàn, cho vào 1 g than hoạt tính, đun hồi lưu hỗn hợp trong 15 phút. Lọc lấy dịch lọc, để lạnh trong tủ lạnh (0-5 °C) qua đêm, xuất hiện kết tủa màu trắng. Li tâm loại bỏ dung môi thu được chất rắn. Tiếp tục, kết tinh lại với acetonitril (8 mL) bằng cách đun nóng đến tan hoàn toàn chất rắn, làm lạnh về nhiệt độ 0-5 °C qua đêm, li tâm, loại bỏ dung dịch thu chất rắn. Quá trình trên được lặp lại một lần nữa với 5 mL acetonitril thu được solanesol là chất rắn màu trắng (0,92 g) có độ tinh khiết 86%. Hiệu suất quá trình chiết tách solanesol là 0,46%, độ tinh khiết sản phẩm đạt 86,0%.

Áp dụng với 200 g lá khoai tây thu được 4,08 g và 5,28 g cao chiết sau thủy phân. Cho vào cao chiết 8 mL methanol, đun hồi lưu trong 30 phút, tách lấy phần tan trong methanol. Phần không tan được bổ xung tiếp 8 mL methanol, tiếp tục đun hồi lưu trong 30 phút, tách lấy phần tan trong methanol. Lặp lại quá trình trên một lần nữa. Pha methanol được gộp lại, cô cạn dung môi thu được 1,6 g sản phẩm solanesol thô màu vàng. Solanesol thô được hòa tan trong

6 mL methanol đun nóng để chất rắn tan hoàn toàn, cho vào 0,5 g than hoạt tính, đun hồi lưu hỗn hợp trong 15 phút. Lọc lấy dịch lọc, để lạnh trong tủ lạnh (0-5 °C) qua đêm, xuất hiện kết tủa màu trắng. Li tâm loại bỏ dung môi thu được chất rắn. Tiếp tục, kết tinh lại tương tự với acetonitril (4 mL) như qui trình với cao thuốc lá. Quá trình trên được lặp lại một lần nữa với 3 mL acetonitril thu được 0,21 g solanesol là chất rắn màu vàng nhạt. Hiệu suất quá trình chiết tách solanesol từ lá khoai tây là 0,105% độ tinh khiết sản phẩm là 80,7% (tính theo HPLC).

Áp dụng với 200 g cà chua thu được 5,28 g cao chiết sau thủy phân. Cho vào cao chiết 10 mL methanol, đun hồi lưu trong 30 phút, tách lấy phần tan trong methanol. Phần không tan được bổ xung tiếp 10 mL methanol, tiếp tục đun hồi lưu trong 30 phút, tách lấy phần tan trong methanol. Lặp lại quá trình trên một lần nữa. Pha methanol được gộp lại, cô cạn dung môi thu được 2,03 g sản phẩm solanesol thô màu vàng xanh. Solanesol thô được hòa tan trong 8 mL methanol đun nóng để chất rắn tan hoàn toàn, cho vào 0,7 g than hoạt tính, đun hồi lưu hỗn hợp trong 15 phút. Lọc lấy dịch lọc, để lạnh trong tủ lạnh (0-5 °C) qua đêm, xuất hiện kết tủa màu trắng. Li tâm loại bỏ dung môi thu được chất rắn. Tiếp tục, kết tinh lại với acetonitril (5 mL) như qui trình với cao thuốc lá. Quá trình trên được lặp lại một lần nữa với 4 mL acetonitril thu được 0,27 g solanesol. Hiệu suất quá trình chiết tách solanesol đạt 0,135% từ lá cà chua và độ tinh khiết sản phẩm đạt 82,1% (tính theo HPLC).

*Phương pháp xác định độ tinh khiết của sản phẩm solanesol kết tinh được:* Cân chính xác khoảng 10 mg sản phẩm solanesol tách được vào bình định mức 10 ml hòa tan trong axeton, siêu âm 5 phút để hòa tan hoàn toàn solanesol, định mức đến vạch định mức, lắc đều, lọc qua màng lọc kích cỡ 0,45 μm, tiêm 10 μl vào hệ thống sắc ký HPLC. Đo lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình. Độ tinh khiết của sản phẩm được tính theo công thức:

$$\text{Độ tinh khiết solanesol kết tinh được (\%)} = \frac{C \times 10 \times 0,9 \times 100\%}{1000 \times b}$$

Trong đó: C là nồng độ solanesol trong mẫu thử tính theo phương trình hồi quy từ đường chuẩn  $y = 29427x + 663929$  ( $\mu\text{g/mL}$ ), b là khối lượng mẫu thử solanesol phân tích (mg).

### 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

#### 3.1. Nghiên cứu điều kiện chiết solanesol tổng

Theo một số tài liệu đã công bố, một lượng đáng kể solanesol tồn tại dạng liên kết. Rowland và Latimer chỉ ra rằng solanesol có thể liên kết với các axit palmitic, linoleic, linolenic, myristic, oleic, caprylic, capric và phytosterols (stigmasterol và  $\beta$ -sitosterol) [19]. Sheen và cộng sự chỉ ra rằng có thể đến 68% solanesol trong lá thuốc lá nằm dưới dạng liên kết [20]. Sau đó, Zhu và cộng sự đã chứng minh được hàm lượng solanesol tự do tăng dần và hàm lượng solanesol liên kết lại giảm dần trong lá thuốc lá theo thời gian sau khi thu hoạch [21].

Để khai thác triệt để solanesol từ nguyên liệu, cần thiết phải thủy phân solanesol khỏi các liên kết và quá trình này thường được thực hiện bởi các dung dịch base/rượu, sau đó chiết

solanisol với dung môi thích hợp. Quá trình thủy phân chịu ảnh hưởng bởi nồng độ base và thời gian, nhiệt độ thủy phân. Quá trình thủy phân không những giải phóng solanesol dạng liên kết thành dạng tự do mà còn giúp cho quá trình tinh chế solanesol dễ dàng hơn do quá trình thủy phân đã loại bớt tạp chất acid trong cao chiết [22, 23].

##### 3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ base/alcohol đến hàm lượng solanesol tổng

Tiến hành xác định hàm lượng solanesol trong lá thuốc lá, khoai tây, cà chua với các dung dịch KOH/EtOH 0,5%; 1,0%; 2,0%, 3,0% và 4,0% tại nhiệt độ hồi lưu của dung môi và thời gian thủy phân là 2 giờ. Kết quả cho thấy khi tăng nồng độ KOH từ 0,5% lên 2,0% thì hàm lượng solanesol tổng trong nguyên liệu tăng dần, tuy nhiên khi tăng nồng độ KOH lên 3,0%, 4,0% thì hàm lượng solanesol tổng không tăng nữa mà có xu hướng giảm. Điều này có thể giải thích do khi nồng độ KOH tăng cao thì solanesol cũng bị phá hủy làm giảm nồng độ solanesol tổng trong nguyên liệu [22]. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Sự phụ thuộc giữa hàm lượng solanesol tổng và nồng độ dung dịch KOH/EtOH\*

%KOH/EtOH Nguyên liệu	0,5%	1,0%	2,0%	3,0%	4,0%
Thuốc lá (% solanesol)	1,560 ± 0,040	1,720 ± 0,020	<b>1,840 ± 0,050</b>	1,780 ± 0,030	1,630 ± 0,070
Lá khoai tây (% solanesol)	0,150 ± 0,005	0,172 ± 0,007	<b>0,211 ± 0,005</b>	0,207 ± 0,008	0,194 ± 0,006
Lá cà chua (% solanesol)	0,167 ± 0,007	0,185 ± 0,004	<b>0,237 ± 0,008</b>	0,214 ± 0,004	0,209 ± 0,005

\* Mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần lặp lại.

Kết quả khảo sát cho thấy hàm lượng solanesol tổng trong nguyên liệu thu được cao nhất khi nồng độ KOH/EtOH là 2%.

##### 3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hàm lượng solanesol tổng

Để xác định hàm lượng solanesol tổng và tiếp tục tìm hiểu ảnh hưởng của thời gian thủy phân khi tiến hành quá trình thủy phân với dung dịch KOH/EtOH 2%, ở nhiệt độ sôi của dung môi, thời gian lần lượt là 0,5; 1; 2; 3 và 4 giờ

cho kết quả được trình bày trong Bảng 2. Như vậy: Quá trình thủy phân đạt hiệu quả cao nhất khi thời gian thủy phân tại nhiệt độ hồi lưu của dung môi là 2 giờ. Tại nhiệt độ này nếu quá trình thủy phân dưới 2 giờ thì solanesol chưa được giải phóng hoàn toàn khỏi nguyên liệu còn nếu tăng thời gian lên 4 giờ thì solanesol kém bền có thể lại bị phân hủy, chuyển hóa thành các hợp chất khác [23]. Như vậy, thời gian tối ưu để thủy phân cao chứa solanesol là từ 2-3 giờ.

Bảng 2. Sự phụ thuộc giữa hàm lượng solanesol tổng và thời gian thủy phân

Thời gian Nguyên liệu	0,5 h	1,0 h	2,0 h	3,0 h	4,0 h
Thuốc lá (% solanesol)	1,690 ± 0,070	1,74 ± 0,030	1,840 ± 0,050	1,820 ± 0,040	1,760 ± 0,040
Lá khoai tây (% solanesol)	0,147 ± 0,006	0,172 ± 0,003	0,211 ± 0,007	0,213 ± 0,004	0,185 ± 0,009
Lá cà chua (% solanesol)	0,149 ± 0,005	0,192 ± 0,006	0,237 ± 0,008	0,221 ± 0,002	0,207 ± 0,010

\* Mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần lặp lại.

### 3.1.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ của quá trình thủy phân đến hàm lượng solanesol tổng

Hàm lượng solanesol tổng trong nguyên liệu khi tiến hành quá trình thủy phân với dung dịch KOH/EtOH 2% tại các nhiệt độ khác nhau

thu được kết quả được trình bày trong bảng 3 sau đây. Như vậy, hàm lượng solanesol tổng trong lá thuốc lá, khoai tây và cà chua đều cho kết quả cao nhất khi thủy phân ở 60 °C hoặc ở nhiệt độ hồi lưu của dung môi trong 2 giờ.

Bảng 3. Sự phụ thuộc giữa hàm lượng solanesol tổng và nhiệt độ của quá trình thủy phân\*

Nhiệt độ Nguyên liệu	Nhiệt độ phòng 24 h	40 °C, 2 h	60 °C, 2 h	Đun hồi lưu, 2 h
Thuốc lá (% solanesol)	1,630 ± 0,060	1,690 ± 0,100	1,840 ± 0,050	1,840 ± 0,090
Lá khoai tây (% solanesol)	0,157 ± 0,005	0,186 ± 0,003	0,209 ± 0,009	0,211 ± 0,007
Lá cà chua (% solanesol)	0,182 ± 0,002	0,197 ± 0,006	0,239 ± 0,010	0,237 ± 0,008

\* Mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần lặp lại.

Từ những khảo sát các yếu tố ảnh hưởng lên hàm lượng solanesol tổng trong lá thuốc lá, khoai tây và cà chua cho thấy: Hàm lượng solanesol tổng cao nhất khi tiến hành đun hồi lưu nguyên liệu trong 10 lần thể tích/khối lượng dung dịch KOH/EtOH 2% tại nhiệt độ sôi của dung dịch, trong khoảng thời gian 2 giờ. Kết quả thu được hàm lượng solanesol tổng số trong thuốc lá đạt 1,840% (hàm lượng solanesol tự do

tương ứng là 1,210%), trong khoai tây đạt 0,211% (hàm lượng solanesol tự do tương ứng là 0,114%) và trong cà chua là 0,239% (hàm lượng solanesol tự do tương ứng là 0,137%). Như vậy: Quá trình thủy phân đã làm tăng đáng kể hàm lượng solanesol trong nguyên liệu thuốc lá (tăng 52%), khoai tây (tăng 85%) và cà chua (tăng 74%).

### 3.2. Kết tinh lại solanesol từ cao thô

Áp dụng quy trình tinh chế cao có hàm lượng solanesol tổng cao nhất từ kết quả khảo sát với 200 g nguyên liệu thu được kết quả trình bày trong bảng 4. Như vậy sau hai lần kết tinh

lại từ cao thô với dung môi methanol và acetonitrile thay vì sắc ký cột, chúng tôi đã thu được solanesol với độ tinh khiết từ 80–86% khá gần với sản phẩm thương mại hoá với độ tinh khiết 90%.

Bảng 4. Kết tinh lại solanesol từ 200 g nguyên liệu

Nguyên liệu	Nhiệt độ	Lần 1	Lần 2
		Hiệu suất (độ tinh khiết)	Hiệu suất (độ tinh khiết)
Thuốc lá		2,35%	0,46% (86,0%)
Lá khoai tây		0,80%	0,105% (80,7%)
Lá cà chua		1,10%	0,135% (82,1%)

## 4. Kết luận

Trong công trình này chúng tôi sử dụng phương pháp định lượng solanesol tổng trong lá thuốc lá, lá khoai tây, và lá cà chua bằng phương pháp HPLC-UV. Đồng thời, đã nghiên cứu các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình thủy phân giải phóng solanesol để xác định hàm lượng solanesol tổng, làm tiền đề cho việc phát triển phương pháp chiết tách solanesol với qui mô lớn hơn từ các phế liệu thực vật họ cà này. Kết quả khảo sát cho thấy điều kiện tối ưu là: thủy phân nguyên liệu trong dung dịch KOH/EtOH 2% (10 mL/ 1 g cao nguyên liệu) ở nhiệt độ 60 °C trong 2 giờ. Hàm lượng solanesol toàn phần trong mẫu lá thuốc lá, lá cà chua và lá khoai tây tăng hơn 52-85% so với hàm lượng solanesol tự do tương ứng phân tích được trong nghiên cứu trước đây. Đặc biệt, đã bước đầu nghiên cứu quá trình tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại solanesol trực tiếp thay vì sắc ký cột với độ tinh khiết bước đầu trên 80%, gần đạt được độ tinh khiết của sản phẩm thương mại (90%).

## Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Hà Nội trong đề tài mã số QG.16.10.

## Tài liệu tham khảo

- [1] Rowland, R. L.; Latimer, P. H.; Giles, J. A. (1956), "Flue-cured Tobacco. I. Isolation of Solanesol, an unsaturated alcohol.", *Journal of the American Chemical Society*, 78 (18), pp. 4680-4683.
- [2] Stedman, R. L. (1968), "Chemical composition of tobacco and tobacco smoke", *Chemical Reviews*, 68 (2), pp. 153-207.
- [3] Serebryakov, E. P.; Nigmatov A. G.; (1990), "Biologically active derivatives of polyprenylacetic acids and related compounds (review).", *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 24(2), pp. 88-98.
- [4] Khidyrova, N. K.; Shakhidoyatov, Kh. M. (2002), "Plant polyprenols and their biological activity", *Chemistry of Natural Compounds.*, 38(2), pp. 107-121.
- [5] Guo, Y.; Ni J. R.; Huang, W. (2008), "Comparison on bioactivities of solanesol extracted from tobacco leaves by different methods.", *Journal of Anhui Agricultural Science*, 36, pp. 6356-6359.
- [6] Zhao, J.; Bu, Z. W.; Liu, Y. (2006), "Synthesis and biological activity of new solanesyl nitrogen mustards.", *Chinene Journal of Applied Chemistry.*, 23, pp. 514-518.
- [7] Wang, J. H.; Gao, R. H.; Gan, Y.; Xie, S.Q.; Wang, C. J.; Zhao, J. (2009), "Synthesis and evaluation of solanesol derivatives as novel potent synergistic agents.", *Journal of Asian Natural Products Research*, 11(11), pp. 978-984.
- [8] Naruta, Y. (1980), "Regio and stereoselective synthesis of coenzyme Q<sub>n</sub> (n = 2-10), vitamin K, and related polyprenylquinones.", *The Journal of Organic Chemistry*, 45, pp. 4097-4104.

- [9] Choi, J. H.; Ryu, Y. W.; Seo, J. H. (2005), "Biotechnological production and applications of coenzyme Q<sub>10</sub>." *Applied Microbiology Biotechnology*, 68(1), pp. 9–15.
- [10] Chen, A. G.; Shen, G. M.; Liang, X. F.; Liu, G. L.; Pei, J.; Li, F.; Lv, S. F.; Wang, W. J.; Yue, Y. X.; Wang, X. W. (2007), "Research advances and progress of solanesol.", *Chinese Tobacco Science*, 28, pp. 44–48.
- [11] Kotipalli, K. P.; Rao, N. C. V.; Raj, K. (2008) "Estimation of solanesol in tobacco and nontobacco plants from Solanaceae family", *Journal of medicinal and aromatic plant sciences*, 30(1), pp.65–68.
- [12] Taylor, M. A.; Fraser, P. D. (2011); "Solanesol: Added value from Solanaceous waste", *Phytochemistry*, 72, pp. 1323–1327.
- [13] Yan, N.; Lui, Y.; Gong, D.; Du, Y.; Zhang, H.; Zhang, Z. (2015), "Solanesol: a review of its resources, derivatives, bioactivities, medicinal applications, and biosynthesis", *Phytochemistry Reviews*, 14 (3), pp. 403 - 417.
- [14] Nguyễn, Trường Giang, Mạc Đình Hùng, Phạm Văn Phong, Nguyễn Thị Thu Trang (2014), "Phân lập và định lượng solanesol trong một số loài thuộc họ cà (Solanaceae) ở Việt Nam", *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 30(5S), pp. 116-122.
- [15] Tang, D. S.; Zhang, L.; Chen, H. L.; Liang, Y. R.; Lu, J. L.; Liang, H. L.; Zheng, X. Q. (2007), "Extraction and purification of solanesol from tobacco: (I). Extraction and silica gel column chromatography separation of solanesol", *Separation and Purification Technology*, 56(3), pp. 291–295.
- [16] Mahendra, K.; Murthy, Y. L. N.; Narasimha Rao, C. V.; Bala Murali Krishna, K.; and Machiraju, P. V. S. (2011), "Isolation of polyprenols from tobacco and their separation by adopting new chromatographic techniques", *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 1 (1), pp. 125-133.
- [17] Gu, Z.; Ge, X.; Liu, L.; Gu, M. (2013), "A new method of extraction and purification of solanesol from tobacco extracts", *Materials for Renewable Energy and Environment*, 3, pp. 938 - 941.
- [18] Atla, S. R.; Raja, B.; Dontamsetti, B. R. (2015), "A new method of extraction, isolation and determination of solanesol from tobacco waste (Nicotiana Tobacum L.) by non-aqueous RP-HPLC", *International Journal Pharmaceutical Sciences*, 6 (2), pp. 543-546.
- [19] Rowland, R. L.; Latimer, P.H. (1959), "Flue-cured tobacco, IV, isolation of solanesyl esters", *Tobacco International*, 3, pp. 1-3.
- [20] Sheen, S. J.; Davis, D. L.; DeJong, D. W., Chaplin, J. F. (1978), "Gas-liquid chromatographic quantification of solanesol in chlorophyll mutants of tobacco", *Journal of agricultural and food chemistry*, 26(1), pp. 259-262.
- [21] Zhu, Y.; Hu, X. B.; Huang, J.; Li, P. (2006), "A new extract procedure of solanesol from abandoned tobacco leaves", *West China Journal Pharmaceutical Sciences*, 21, pp. 518-520.
- [22] Zhou, H. Y.; Liu, C. Z. (2006), "Microwave-assisted extraction of solanesol from tobacco leaves", *Journal of Chromatography A*, 1129(1), pp. 135-139.
- [23] Chen, J.; Liu, X.; Xu, X.; Lee, F. S.; Wang, X. (2007), "Rapid determination of total solanesol in tobacco leaf by ultrasound-assisted extraction with RP-HPLC and ESI-TOF/MS", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(3), pp. 879-885.

## Study on Extraction and Purification of Total Solanesol in Tobacco, Tomato, and Potato Leaves

Nguyen Thi Quynh Trang<sup>1</sup>, Nguyen Thi Phuong<sup>1</sup>, Pham Tuan Bao Chau<sup>3</sup>,  
Mac Dinh Hung<sup>1</sup>, Pham Van Phong<sup>1</sup>, Nguyen Van Tai<sup>2</sup>, Nguyen Thi Thu Trang<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Chemistry, VNU University of Science*

<sup>2</sup>*Department of Phytochemistry, National Institute of Medicinal Materials, Hanoi, Vietnam*

<sup>3</sup>*Hanoi-Amsterdam High School for the Gifted*

**Abstract:** In this study, total solanesol amounts were obtained from tobacco, tomato, and potato leaves by optimized saponification and reflux extraction processes. The highest total solanesol amounts from selected raw materials were obtained when combining KOH 2% solution with the extraction solvent at 60 °C for 2 h. The HPLC-UV analyses have indicated that the total obtained solanesol amounts in the tobacco leaves is highest 1.84% (increase 52.0% compare with corresponding free solanesol amount), in tomato leaves is highest 0.211% (increase 85.0% compare with corresponding free solanesol amount), and in potato leaves is highest 0.239% (increase 74,0% compare with corresponding free solanesol amount). Initially, solanesol has been purified by direct recrystallization from raw materials instead of column chromatography with 0.46% yield (86,0% purity) from tobacco leaves extract; 0.105% yield (80.7% purity) from tomato leaves extract; 0.135% yield (82.1% purity) from potato leaves extract.

*Keywords:* Total solanesol, tobacco, tomato, potato, reflux extraction, saponification, recrystallization.