

## XÂY DỰNG QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT ALKALOID TỪ RỄ CŨ CÂY BÁCH BỘ PHÂN BỐ TẠI THÁI NGUYÊN

Đông Quang Huy<sup>1\*</sup>, Nguyễn Ngọc Minh<sup>1</sup>, Nguyễn Quốc Thịnh<sup>1</sup>,  
Nguyễn Khắc Tùng<sup>1</sup>, Lê Thu Hoài<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên, <sup>2</sup>Trường Cao đẳng Y tế Thái Nguyên

### TÓM TẮT

Bách bộ là loại dược liệu quý từ thiên nhiên đã được sử dụng từ hàng ngàn năm nay trong bồi bổ sức khỏe và chữa bệnh. Bách bộ có chứa nhiều hợp chất quý trong đó phải kể đến nhóm hợp chất alkaloid có tác dụng chống ho, chữa các bệnh về da, ung thư gan. Nghiên cứu được thực hiện trên cơ sở khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất alkaloid trong rễ củ bách bộ tại Thái Nguyên gồm thời gian chiết xuất, nhiệt độ chiết xuất, tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi, các dung môi chiết xuất là cloroform, ethanol và methanol. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng alkaloid trong rễ củ bách bộ tại Thái Nguyên là 1,18% so với tổng khối lượng nguyên liệu, kết quả phân tích cho thấy khối lượng và hàm lượng alkaloid bị ảnh hưởng bởi 2 yếu tố khảo sát chính là nhiệt độ chiết và thời gian chiết. Thời gian chiết xuất là 4 giờ, nhiệt độ chiết xuất là 60°C, dung môi là ethanol 80°, tỷ lệ dược liệu dung môi 1/8 cho khối lượng căn 0,172 g và hàm lượng alkaloid toàn phần là 57,17%. Quá trình chiết xuất alkaloid toàn phần được thực hiện bằng phương pháp ngâm có tác động của siêu âm, định lượng alkaloid toàn phần tính theo tuberostemonin theo phương pháp chuẩn độ acid- base.

**Từ khóa:** chiết xuất, alkaloid, bách bộ

*Ngày nhận bài: 29/11/2018; Ngày hoàn thiện: 12/12/2018; Ngày duyệt đăng: 31/01/2019*

## BUILDING ALKALOID EXTRACT PROCESSING FROM THE ROOTS OF *STEMONA* IN THAI NGUYEN

Dong Quang Huy<sup>1\*</sup>, Nguyen Ngoc Minh<sup>1</sup>, Nguyen Quoc Thinh<sup>1</sup>,  
Nguyen Khac Tung<sup>1</sup>, Le Thu Hoai<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Medical and Pharmacy - TNU, <sup>2</sup>Thai Nguyen College of Medical

### ABSTRACT

Stemona is a precious medicine from nature that has been used for thousands of years in health and healing support. Stemona contains many precious compounds, including the alkaloid compounds that fight against cough, skin diseases and liver cancer. The effects of extraction temperature, extraction time and material/solvent ratio on extraction process of alkaloid content from root of stemona in Thai Nguyen were studied, extraction solvent is chloroform, ethanol and methanol. The results showed that the concentration of alkaloid in stemona was 1.18% compared to the raw material, data analysis showed that the amount and concentration of alkaloid were affected by two factors including temperature and extraction times. The extraction time (4 hours), the extraction temperature (60°C), ethanol 80°, the material/solvent ratio (1/8) for the 0.172 grs and the total alkaloid content is 57.17%. The total alkaloid extraction was performed by ultrasonic immersion, totaling alkaloid by tuberostemonin by acid-base titration

**Keywords:** extract, Alkaloid, stemona

*Received: 29/11/2018; Revised: 12/12/2018; Approved: 31/01/2019*

\* Corresponding author: Email: [HuyDongQuangh@gmail.com](mailto:HuyDongQuangh@gmail.com)

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam chúng ta là một nước giàu tiềm năng cây thuốc. Trong những năm gần đây xu hướng trên thế giới dùng thuốc từ dược liệu ngày càng tăng lên, việc nghiên cứu và phát triển thuốc từ dược liệu tạo thuận lợi để ngành công nghiệp dược nước ta phát triển theo hướng hiện đại hóa các thuốc y học cổ truyền, thuốc có nguồn gốc dược liệu và tận dụng nguồn tài nguyên dược liệu.

Cây bách bộ ở Việt Nam đã được các nhà khoa học tìm hiểu và nghiên cứu từ lâu và đã tìm ra được rất nhiều các hợp chất có tính chất quý báu, đặc biệt là các alkaloid có nhiều trong rễ củ bách bộ [2].

Bách bộ thuộc loại cây bụi, mọc hoang nhiều ở vùng rừng núi nước ta: Hòa Bình, Phú Thọ, Bắc Giang, Thanh Hóa, Thái Nguyên..., người ta đã sử dụng phần củ của cây bách bộ để làm thuốc chữa nhiều loại bệnh có hiệu quả như: Chữa ho, các bệnh về da, ung thư gan [5]... Ngoài ra, củ bách bộ còn có khả năng làm thuốc diệt sâu bọ, mỗi một [3]... Việc nghiên cứu về cây bách bộ ở Thái Nguyên còn hạn chế: Phần lớn chỉ dừng ở mức nghiên cứu đặc điểm sinh thái, phân loài thực vật. Vì những lý do trên đây, chúng tôi chọn đề tài: “Xây dựng quy trình chiết xuất alkaloid từ rễ củ cây bách bộ phân bố tại Thái Nguyên”

## VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Nguyên liệu

Rễ củ bách bộ được thu mua tại huyện Võ Nhai tỉnh Thái Nguyên, vào mùa thu, rửa sạch thái lát, sau đó phơi khô dưới ánh nắng mặt trời, đem sấy khô ở 50°C, nghiền thành bột thô. Thử các phản ứng định tính, định lượng alkaloid toàn phần theo dược điển Việt Nam IV.

### Vi phẫu

Ngoài cùng là lớp bần có chỗ bị rách. Ở rễ củ non vẫn còn biểu bì gồm những tế bào xếp đều đặn, phía ngoài phủ lớp cutin. Lớp mô mềm vỏ rất dày, chiếm phần lớn vi phẫu gồm các tế bào gần tròn tương đối đều nhau, có

thành mỏng. Các tế bào mô mềm xếp lộn xộn tạo ra những khoảng gian bào nhỏ. Nội bì cấu tạo bởi một lớp tế bào có thành dày hình chữ nhật, xếp đều đặn. Libe – gỗ cấu tạo cấp I, phân hóa hướng tâm. Bó libe xếp xen kẽ bó gỗ và nằm sát nhau nên giữa chúng không tạo thành những tia ruột. Mô mềm tủy cấu tạo bởi những tế bào to nhỏ không đều, thành mỏng, xếp lộn xộn [4].

### Độ ẩm

Dùng dụng cụ sấy bằng thủy tinh rộng miệng đáy bằng có nắp mài làm bì đựng mẫu bột dược liệu, làm khô bì trong 30 phút trong tủ sấy ở 70°C. Cân 2 g bột rễ củ bách bộ vào bì, dàn mỏng thành lớp có độ dày không quá 5 mm. Sấy trong tủ sấy ở 60°C đến khối lượng không đổi. Sau khi sấy làm nguội ở nhiệt độ phòng, cân trong bình hút ẩm có silicagel [1].

### Tạp chất

Cân 1 g bột rễ củ bách bộ, dàn mỏng trên tờ giấy, quan sát bằng kính lúp, dùng rây để phân tách tạp chất và dược liệu [1]. Cân phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

$$x\% = \frac{a}{p} \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng tạp chất tính bằng gam.

p là khối lượng mẫu thử tính bằng gam.

### Định tính

Cân khoảng 2 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng amoniac đậm đặc, để yên 20 phút. Sau đó thêm 15 ml cloroform, đun trong cách thủy 5 phút. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Hòa tan cặn trong 6 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 N. Lọc, dùng dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt thuốc thử Mayer, xuất hiện tủa trắng

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt thuốc thử Bouchardat, xuất hiện tủa đỏ nâu

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt thuốc thử Dragendorff, xuất hiện tủa đỏ gạch

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt dung dịch bão hòa acid picric, xuất hiện tủa vàng [1].

**Định lượng**

Cân chính xác 2 g bột dược liệu cho vào bình Soxhlet sau đó chiết bằng ethanol 96% cho đến khi hết alkaloid (dùng 1 giọt thuốc thử Mayer). Cách thử: Lấy 0,1 ml đến 0,2 ml của dịch chiết tiếp theo sau khi đã acid hóa bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 N, thêm 0,05 ml dung dịch thuốc thử Mayer, không được có tủa hay tạo dung dịch đục. Cát thu hồi dung môi. Hòa tan cần bằng 10 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 N. Lọc lấy dịch acid. Tráng cần với giấy lọc bằng ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 N và gộp chung với dịch lọc trên. Kiểm hóa dịch lọc bằng amoniac đậm đặc tới pH 10, chiết với ether 5 lần, 2 lần đầu mỗi lần 15 ml và 3 lần sau mỗi lần 10 ml. Sau đó chiết tiếp bằng cloroform 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết ether và cloroform lại. Làm bay hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cần với 10 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1N,

thêm 5 ml nước và giọt dung dịch phenolphthalein, chuẩn độ acid thừa bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N. Hàm lượng alkaloid toàn phần (X) tính theo công thức:

$$X\% = \frac{(10 - n) \times 3,75}{a}$$

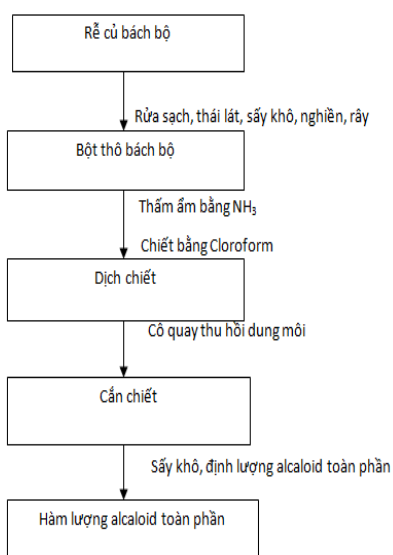
n: Dung dịch natri hydroxyd đã dùng tính bằng ml.

a: Khối lượng bột dược liệu đem định lượng đã trừ độ ẩm, tính theo miligam[1].

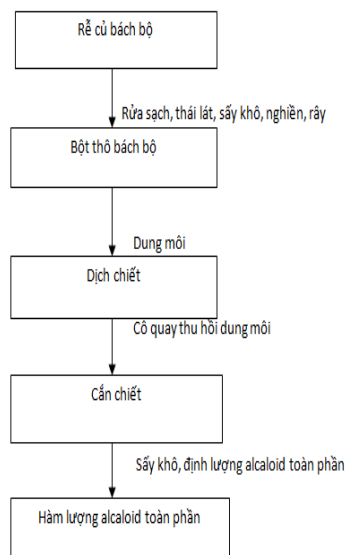
**Quy trình chiết xuất:**

Cân bột dược liệu vào bình chiết (nếu chiết bằng cloroform thì thấm ẩm dược liệu bằng dung dịch NH<sub>3</sub> trước). Thêm dung môi chiết ngập mặt dược liệu, ngâm trong thời gian thích hợp, có tác động của sóng siêu âm. Rút dịch chiết. Tiến hành chiết tương tự để thu được dịch chiết lần n. Bay hơi dung môi thu được cần chiết, sấy khô đến khối lượng không đổi, tiến hành định lượng alkaloid toàn phần [6] [7].

Sơ đồ quy trình chiết xuất alkaloid từ rễ củ cây bách bộ bằng dung môi cloroform



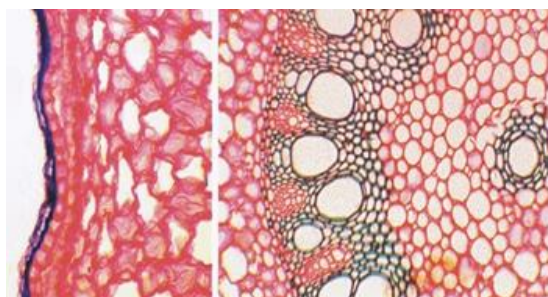
Sơ đồ quy trình chiết xuất alkaloid từ rễ củ cây bách bộ bằng dung môi methanol, ethanol



**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU THẢO LUẬN**

**Chuẩn hóa nguyên liệu**

Các kết quả làm vi phẫu, định tính đúng như mô tả của Dược điển Việt Nam IV về chi *Stemona*.



Hình ảnh vi phẫu rễ bách bộ

Độ ẩm đạt 9,6% không quá 14% theo Dược điển Việt Nam IV.

Tạp chất lẫn trong bột dược liệu đạt 0,43% không quá 1% theo Dược điển Việt Nam IV.

**Xác định hàm lượng alkaloid toàn phần trong rễ củ bách bộ tại Thái Nguyên tính theo tuberostemonin LG**

Xác định hàm lượng alkaloid trong rễ củ bách bộ để đánh giá chất lượng nguyên liệu và tính được hiệu suất của quá trình chiết. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

**Bảng 1. Hàm lượng alkaloid trong dược liệu nghiên cứu**

STT	Hàm lượng alkaloid (C <sub>22</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>4</sub> )(%)
1	1,16
2	1,22
3	1,17
TB	1,18 ± 0,033

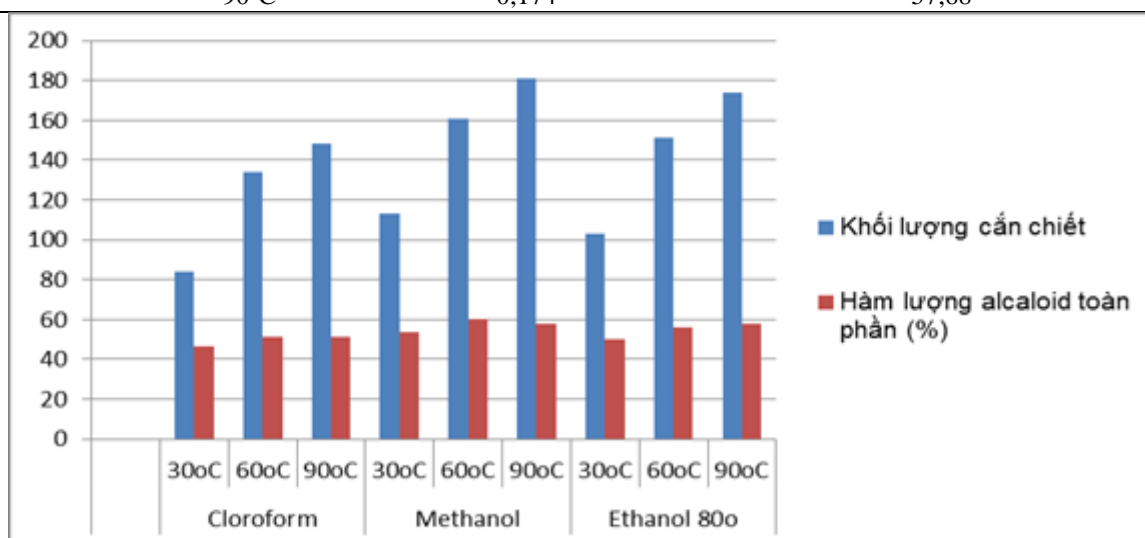
Hàm lượng alkaloid trung bình của nguyên liệu đem khảo sát là 1,18% ± 0,033% như vậy dược liệu đem khảo sát đạt tiêu chuẩn chất lượng theo ĐDVN IV (Hàm lượng alkaloid (C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>4</sub>) không ít hơn 0,50% tính theo tuberostemonin LG (C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>4</sub>).

**Đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến quy trình chiết xuất alkaloid**

Tiến hành: Cân 10 gam bột dược liệu vào bình chiết soxhlet, thêm khoảng 50 ml dung môi, chiết xuất ở các nhiệt độ chiết 30°C, 60°C, 90°C trong thời gian 2 giờ. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả thu được như sau:

**Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết xuất**

Dung môi	Nhiệt độ(°C)	Khối lượng cặn chiết (gam)	Hàm lượng alkaloid toàn phần (%)
Cloroform	30°C	0,084	46,36
	60°C	0,134	51,43
	90°C	0,148	51,35
Methanol	30°C	0,113	53,62
	60°C	0,161	60,14
	90°C	0,181	58,11
Ethanol 80°	30°C	0,103	50,23
	60°C	0,151	56,17
	90°C	0,174	57,68



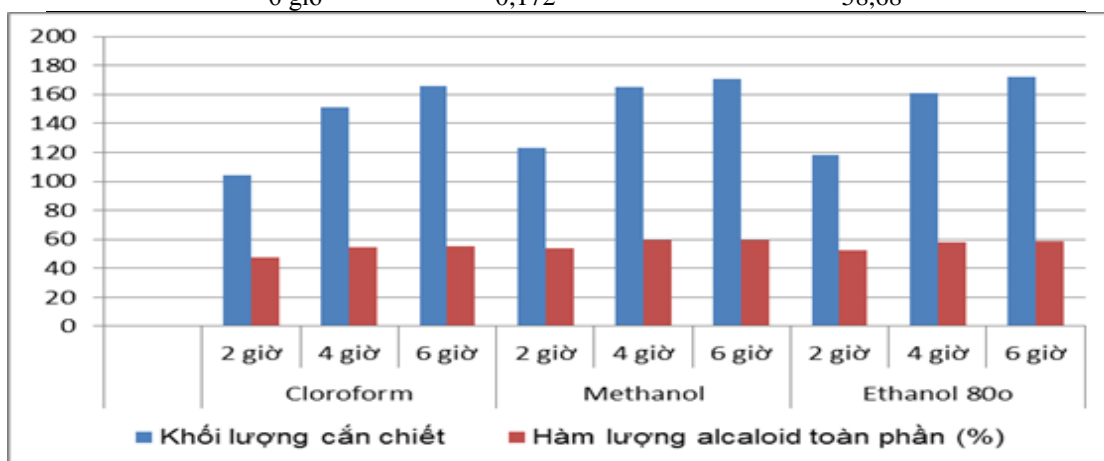
Nhận xét: Nhiệt độ chiết xuất càng cao, càng gần nhiệt độ sôi của dung môi (cloroform là 61,2°C, methanol là 64,7°C, ethanol là 78,3°C) thì thu được khối lượng căn chiết càng lớn. Hàm lượng alcaloid cũng tăng khi tăng nhiệt độ chiết xuất, tuy nhiên ở nhiệt độ 90°C hàm lượng alcaloid không thay đổi nhiều mặc dù khối lượng căn chiết vẫn tiếp tục tăng (chủ yếu là tạp chất không phải alcaloid).

### Đánh giá ảnh hưởng của thời gian chiết đến quy trình chiết xuất alcaloid

Tiến hành: Cân 10 gam bột dược liệu vào bình chiết, thêm khoảng 50 ml dung môi, siêu âm ở nhiệt độ phòng trong thời gian 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả thu được như sau:

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của thời gian chiết xuất

Dung môi	Thời gian(giờ)	Khối lượng căn chiết (gam)	Hàm lượng alcaloid toàn phần (%)
Cloroform	2 giờ	0,104	47,36
	4 giờ	0,151	54,43
	6 giờ	0,166	55,35
Methanol	2 giờ	0,123	53,80
	4 giờ	0,165	59,14
	6 giờ	0,171	59,63
Ethanol 80°	2 giờ	0,118	52,23
	4 giờ	0,161	58,17
	6 giờ	0,172	58,68



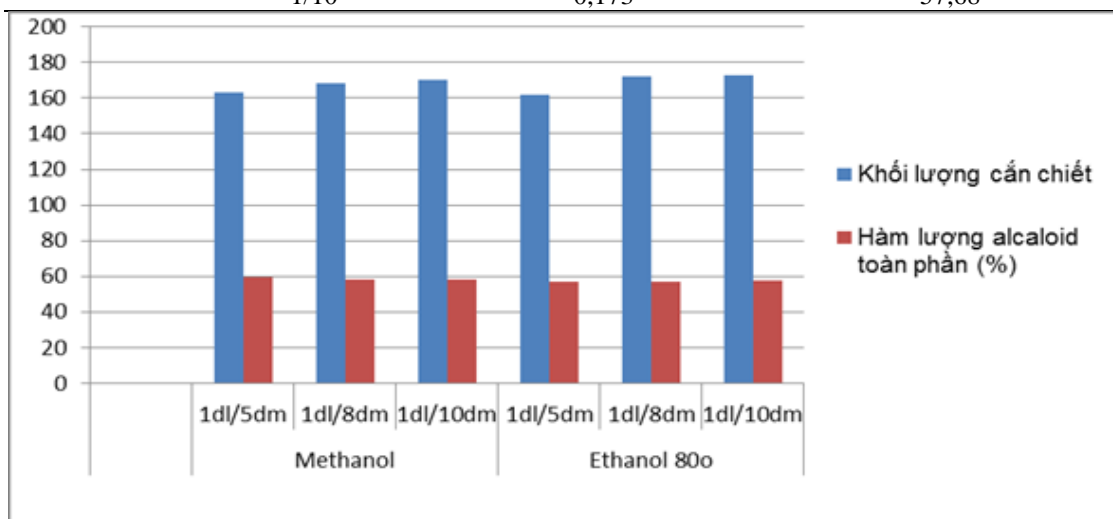
Nhận xét: Thời gian chiết càng dài dưới tác động của siêu âm thu được càng nhiều căn chiết. Sau thời gian 4 giờ đạt tới cân bằng nồng độ chiết xuất, hàm lượng alcaloid không tăng thêm. Hai dung môi ethanol và methanol cho khối lượng căn chiết cao hơn so với dung môi cloroform.

### Đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ dược liệu/ dung môi đến quy trình chiết xuất alcaloid:

Chọn 2 dung môi chiết là ethanol 80°, methanol; nhiệt độ chiết là 60°C; thời gian chiết là 4 giờ; tỷ lệ dược liệu dung môi lần lượt là 1/5, 1/8, 1/10.

Tiến hành: Cân 10 gam bột dược liệu vào 3 bình chiết; thêm vào mỗi bình chiết 50 ml, 80 ml, 100 ml dung môi, siêu âm ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 4 giờ. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả thu được như sau:

Dung môi	Tỷ lệ dược liệu/dung môi	Khối lượng cần chiết (gam)	Hàm lượng alkaloid toàn phần (%)
Methanol	1/5	0,163	59,62
	1/8	0,168	58,14
	1/10	0,170	58,11
Ethanol 80°	1/5	0,162	56,83
	1/8	0,172	57,17
	1/10	0,173	57,68



Nhận xét: Tỷ lệ dược liệu/ dung môi ảnh hưởng không rõ rệt đến quy trình chiết (khối lượng cần và hàm lượng alkaloid ít thay đổi), để tiết kiệm dung môi, hóa chất lựa chọn tỷ lệ :1 phần dược liệu, 8 phần dung môi chiết.

#### KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu: Thời gian chiết 4 giờ; nhiệt độ chiết xuất 60°C, tỷ lệ dược liệu/ dung môi là 1/8 có tác động của siêu âm. Việc lựa chọn dung môi chiết xuất là ethanol 80° cho khối lượng và hàm lượng alkaloid toàn phần cao hơn so với cloroform. Dung môi methanol là dung môi độc nên hạn chế sử dụng mặc dù cho hiệu suất chiết cao nhất.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2007), *Dược điển Việt Nam IV*, tr. 312 – 313, Nxb Y học.

2. Phạm Hữu Điền, Phạm Văn Kiệm, Lưu Văn Chính, Châu Văn Minh (2000), “Alcaloid từ rễ củ Bách Bộ *Stemona tuberosa* Lour”, *Tạp chí Hóa học*, tập 38, tr. 64-67.

3. Phạm Hoàng Hộ, (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, quyển 3, Nxb Trẻ.

4. Vũ Ngọc Kim, (1996), *Nghiên cứu ba loài Bách Bộ thuộc chi Stemona được dùng làm thuốc ở Việt Nam*, Luận án tiến sĩ Khoa học y dược, Trường Đại học Dược Hà Nội.

5. Đỗ Tất Lợi (1977), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb KHKT, Hà Nội, tr. 180-181.

6. Li-Gen Lin, Phạm Hữu Dien, Chu-Ping Tang, Chang-Qiang Ke, Xin-Zhou Yang, Yang Ye (2007), “Alkaloids from the roots of *Stemona cochinchinensis*”, *Helv. Chim. Acta*, 9, pp. 2167-2175.

7. Yang Ye, Guo-Wei Qin and Ren-Sheng Xu (1994), “Alkaloids from *Stemona tuberosa*”, *Phytochemistry*, 37, pp. 1201-1203.