

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

1

1999

TẬP 4

Journal of Materia Medica - Hano

MỤC LỤC TẬP 4, SỐ 1/1999

Trang

DUỐC LIỆU VÀ Y HỌC CỔ TRUYỀN

- 1 Cây làm thuốc với vấn đề trồng rừng trên vùng núi cao Sa Pa - Lao Cai - Nguyễn Bá Hoat.

NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

- 4 Nghiên cứu khử trùng bã mía và rơm để sản xuất nấm dược liệu bằng phương pháp chiếu xạ gamma - Nguyễn Duy Hạng, Vòng Sách Tày, Lê Xuân Thám, Trần Thị Thuỷ, Nguyễn Quốc Hiến.
- 7 Nghiên cứu so sánh sâm Việt Nam từ nguồn thiên nhiên và trồng trọt. Thông báo số 2: Cấu trúc hoá học của các saponin trong cây sâm trồng - Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Viết Tựu, Kazuo Yamasaki, Ryoji Kasai, Nguyễn Thị Hồng Hoa, Võ Duy Huân.
- 13 Khảo sát một số chỉ tiêu sinh hoá và tác dụng thủy phân protein của lá cây xuân hoa (*Pseuderanthemum palatiferum* Nees) - Lê Thị Lan Oanh, Võ Hoài Bắc, Nguyễn Văn Thiệt, Nguyễn Thị Dung, Hoa Thị Hằng, Trần Thị Thơm.
- 17 Phân lập và xác định cấu trúc của roemerin chiết xuất từ củ bình vôi (*Stephania glabra* (Roxb.) Miers) - Nguyễn Tiến Vững, Phạm Thanh Kỳ, Chu Đình Kính, Bùi Kim Liên.
- 21 Góp phần nghiên cứu cải tiến quy trình chiết xuất alkaloid toàn phần và ajmalicin trong rễ dừa cạn - Trần Văn Thanh, Phạm Ngọc Bùng, Trần Hữu Thị.
- 24 Góp phần nghiên cứu phương thuốc tam tử thang - Phạm Xuân Sinh, Cao Văn Thu, Trần Thị Oanh.

THÔNG BÁO - TRAO ĐỔI

- 29 Về hội nghị ASOMPS IX (Hội nghị châu Á lần thứ 9 về cây thuốc, gia vị và các sản phẩm thiên nhiên khác) - Nguyễn Xuân Dũng.

DUỐC LIỆU VÀ ĐỜI SỐNG

- 30 Củ chóc - Đỗ Huy Bích.

THÔNG TIN KHOA HỌC

CONTENTS VOL. 4 (1), 1999

Page

MATERIA MEDICA AND TRADITIONAL MEDICINE

- 1 Medicinal Plants and the Problem of Afforestation in High Mountainous Sa Pa - Lao Cai - Nguyễn Bá Hoat.

SCIENTIFIC RESEARCH

- 4 Studies on Decontamination of Sugar-cane Bagasse and Rice Straw for producing Medicinal Mushrooms by Gamma Irradiation - Nguyễn Duy Hạng, Vòng Sách Tày, Lê Xuân Thám, Trần Thị Thuỷ, Nguyễn Quốc Hiến.
- 7 Comparative Study on Wild Growing and Cultivated *Panax vietnamensis*. Study No. 2. Structure of Saponins in Cultivated Vietnamese Ginseng - Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Viết Tựu, Kazuo Yamasaki, Ryoji Kasai, Nguyễn Thị Hồng Hoa, Võ Duy Huân.
- 13 Investigation of Some Biochemical Characteristics and Proteolytic Properties of *Pseuderanthemum palatiferum* leaves - Lê Thị Lan Oanh, Võ Hoài Bắc, Nguyễn Văn Thiệt, Nguyễn Thị Dung, Hoa Thị Hằng, Trần Thị Thơm.
- 17 Isolation and Identification of Roemerine from *Stephania glabra* - Nguyễn Tiến Vững, Phạm Thanh Kỳ, Chu Đình Kính, Bùi Kim Liên.
- 21 Contribution to Improvement of the Procedure for Total Alkaloid and Ajmalicine Extraction from *Catharanthus roseus* - Trần Văn Thanh, Phạm Ngọc Bùng, Trần Hữu Thị.
- 24 Contribution to the Research into the Recipe of "Tam tu thang" - Phạm Xuân Sinh, Cao Văn Thu, Trần Thị Oanh.

SHORT COMMUNICATIONS

- 29 On the ASOMPS IX - Nguyễn Xuân Dũng

MATERIA MEDICA AND LIFE

- 30 *Typhonium trilobatum* (L.) Schott) - Đỗ Huy Bích.

ABSTRACTS

DƯỢC LIỆU VÀ Y HỌC CỔ TRUYỀN

CÂY LÀM THUỐC VỚI VẤN ĐỀ TRỒNG RỪNG TRÊN VÙNG NÚI CAO SA PA - LAO CAI

Nguyễn Bá Hoat
Viện Dược liệu

Đặt vấn đề

Các tỉnh phía bắc Việt Nam có vùng núi cao (trên 800 m) mang đặc tính á nhiệt đới mát và ẩm, có địa hình phức tạp, biến động khí hậu mang tính đặc thù riêng từng vùng, rừng đã bị phá nghiêm trọng, để lại diện tích đất trống, đồi núi trọc chiếm tỷ lệ cao. Hiện nay, nền sản xuất còn lạc hậu, mang nặng tính tự túc tự cấp, với phương thức canh tác nương rẫy là chủ yếu, địa hình và khí hậu vẫn còn là trở ngại lớn cho đầu tư phát triển cây lương thực, việc phát triển nghề rừng với việc trồng mới, khoanh nuôi tái sinh rừng gắn với khai thác nông sản phi gỗ, trong đó cây làm thuốc có vị trí quan trọng và là hướng đúng đắn để khai thác lợi thế khu vực cho phát triển kinh tế nông thôn vùng cao. Đối với vùng núi cao phía bắc Việt Nam, cây làm thuốc có vị trí quan trọng trong việc thực hiện quyết định 661/QĐ - TTg ngày 29 tháng 7 năm 1998 của Chính phủ về trồng mới 5 triệu ha rừng.

Tiềm năng và cơ sở thực tiễn rút ra qua chỉ đạo phát triển cây làm thuốc ở huyện Sa Pa

1. Dược liệu là nguồn thu lớn trong lâm sản phi gỗ của rừng vùng cao huyện Sa Pa

Kết quả điều tra cơ bản mới đây của Viện Dược liệu đã thống kê được khu vực Sa Pa có 749 loài thực vật có hạt được dùng làm thuốc. So với số loài thực vật có hạt được biết của khu hệ thực vật Hoàng Liên Sơn là 1195 loài, cây thuốc đã chiếm 62%. Nhiều loài cây thuốc mọc hoang dưới rừng quý về giá trị chữa bệnh và hiệu quả kinh tế cao như các loài sâm (*Panax bipinnatifidus*; *Panax stipuleatum*), các loài hoàng liên (*Coptis chinensis*; *Coptis quinquesecta*; *Berberis wallichiana*; *Berberis julianae*; *Mahonia nepalensis*), thổ hoàng liên (*Thalictrum foliolosum*; *Thalictrum ichangense*), các loài hoàng tinh (*Polygonatum kingianum*; *Disporopsis longifolia*; *Disporopsis aspera*; *Polygonatum odoratum*), cỏ nhung (*Anoectochilus roxburghii*), cỏ thơm (*Lysimachia confestigolia*), bách hợp (*Lilium brownii* var.

colchesteri), đảng sâm (*Codonopsis javanica*), hà thủ ô đỏ (*Polygonum multiflorum*), hoàng đằng (*Fibraurea tinctoria*), các loài ngũ gia bì gai (*Acanthopanax trifoliatum*; *Acanthopanax gracilistylus*), thanh thiên quỳ (*Nervilia fordii*), thảo quả (*Amomum aromaticum*) v.v... Những loài nêu trên đang bị lòng sự khai thác đến kiệt quệ, nhiều loài đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng.

Kết quả thống kê ở một điểm thu gom dược liệu khai thác tư nhân (xã Tả Giang Phìn) của Sa Pa năm 1992 như sau :

Tên dược liệu	Số lượng (kg)	Thành tiền (đồng)
Đảng sâm	3.000	2.400.000
Bảy lá một hoa	15.000	62.500.000
Bình vôi (tươi)	30.000	42.000.000
Cỏ thơm	5.000	27.500.000
Cỏ thơm lá to	1.000	2.000.000
Cỏ nhung	200	13.000.000
Hoàng liên gai	200	400.000
Tam thất hoang (tươi)	100	1.100.000
Củ cần (nam phòng phong)	2.000	4.000.000
Tục đoạn	500	1.700.000
Tổng cộng		182.000.000

Hiện nay, do cơ chế thị trường nên việc mua bán dược liệu mở rộng đến hộ nông dân, không còn những điểm thu gom lớn nên khó thống kê đầy đủ. Tổ chức khai thác dược liệu gắn liền với bảo vệ và phát triển, vừa bảo vệ rừng vừa tạo được nguồn thu ổn định là cơ sở vững chắc cho phát triển kinh tế vùng cao. Đây là một định hướng đầu tư phát triển trong kinh doanh rừng vùng cao.

2. Đổi mới cơ cấu cây trồng vùng cao, phát triển cây làm thuốc, khai thác lợi thế khí hậu đất đai, theo hướng sản xuất hàng hoá.

Tập đoàn cây làm thuốc đã được trồng ở Sa Pa có các thông số kinh tế kỹ thuật sau:

TT	Tên cây trồng	Thời vụ sản xuất			Loại đất trồng		Năng suất được liệu (tấn/ha)
		Bắt đầu (tháng)	Kết thúc (tháng)	Tháng sản xuất	Nương rẫy	Vườn cây ăn quả	
1	Đương quy	9	10	13	+	+	2,5 - 3
2	Bạch truật	9	10	13	+	+	2 - 2,5
3	Mộc hương	10	10	12	+	+	2,5
4	Xuyên khung	2	11	9	+	0	1,5 - 2
5	Tục đoạn	4	10	18	+	+	2 - 2,5
6	Actisô	5	12	19	+	+	2,7 - 3
7	Lão quan thảo	11	7	8	+	+	2 - 3
8	Thảo quả	5	9	8 - 10 năm		Đất rừng	1,2 - 2

Cây làm thuốc có thời gian sản xuất kéo dài, đất được sử dụng triệt để hơn so với cây nông nghiệp truyền thống. Thời vụ trồng và thu hoạch lệch với cây nông nghiệp, tạo điều kiện khai thác lao động nông nhàn. Nhiều cây thuốc được trồng ở đất vườn, dưới tán cây ăn quả, có thể khai thác giai đoạn đầu trồng rừng. Thời vụ cây thuốc bắt buộc người nông dân phải luân canh với cây nông nghiệp, nâng cao hệ số sử dụng đất. Giá thành dược liệu đều đạt trên 10.000đ/kg nên hiệu quả sản xuất cao hơn nhiều so với sản phẩm nông nghiệp. Trồng cây thuốc là hướng sản xuất sản phẩm giá trị cao, đỡ chi phí vận chuyển trên địa bàn vùng núi. Thực hiện đề tài KHCN 08 - 07 tại Sa Pa, đưa cây thuốc tham gia khai thác và cải tạo đất dốc đã hình thành hướng đưa cây thuốc vào sản xuất luân canh với cây lương thực, xen canh với cây rừng, cây ăn quả tạo nên hệ thống sản

xuất bền vững. Như vậy sản xuất hàng hoá đã thành mô hình từ thực tế sản xuất ở Sa Pa.

3. Cây thuốc tham gia trồng rừng gắn liền với chế biến tạo nguyên liệu cho phát triển công nghiệp vùng cao.

Những kết quả nghiên cứu bước đầu của Viện Dược liệu tại Sa Pa theo hướng trồng rừng tạo nguyên liệu cho phát triển công nghiệp chế biến của mô hình khai thác đất dốc (KHCN 08 - 07) cho những nhận định sau:

3.1. Cây tống quán sủi (*Alnus nepalensis*) là cây tiên phong trồng rừng vùng cao, cây sinh trưởng phát triển nhanh, tán lá rộng không rụng lá mùa đông, che phủ đất tốt. Vỏ thân được dùng làm thuốc chữa phù, tiêu chảy, ly trực khuẩn và phong thấp. Gỗ thân được nghiên cứu làm giá thể cho nuôi trồng nấm hương với kết quả nghiên cứu được thể hiện trong bảng sau:

Giá thể trồng nấm	Chu kỳ sản xuất	Thời gian nuôi sợi	Năng suất nấm tươi
Gỗ sồi, giẻ (truyền thống)	3 - 4 năm	16 tháng	30kg/m ³ năm đầu
Gỗ tống quán sủi	2 - 3 năm	6	60kg/m ³ năm đầu
Mùn cưa trong túi P.E	8 tháng	2,5 tháng	85/100kg mùn cưa

Trồng tống quán sủi làm nguyên liệu cho xí nghiệp sản xuất nấm hương với hai mô hình: Bảng giá thể mùn cưa từ gỗ tống quán sủi và bảng giá thể gỗ tống quán sủi trồng nấm hương phân tán trong hộ nông dân. Kết quả sản xuất thử nghiệm đã cung cấp các thông số kinh tế kỹ thuật cho phát triển sản xuất lớn.

3.2. Cây hoàng bá (*Phellodendron amurense*) là cây gỗ cao 10 - 15 m sinh trưởng phát triển nhanh, thích nghi với khí hậu vùng cao. Vỏ thân là thuốc bổ đắng trị kiết lỵ, hoàng đản, là nguyên liệu quan trọng cho công nghệ chiết xuất berberin. Cây 8 năm tuổi có năng suất vỏ thân đạt

trung bình 4 - 5 kg và hàm lượng berberin đến tối đa. Cây 14 năm tuổi: 10- 12 kg. Trồng hoàng bá với chu kỳ kinh doanh 14 năm, cây đã cao 10-12 m, đường kính thân 20 - 25 cm, cho năng suất gỗ và vỏ thân cao. Giai đoạn tiếp theo, tốc độ lớn của cây chậm hơn. Khi có diện tích khoảng 100 ha cây hoàng bá trên 8 năm tuổi thì đủ điều kiện xây dựng nhà máy chiết xuất berberin với hiệu suất 2,7%, triển vọng nâng lên 3%. Nhu cầu của thị trường trong nước và trên thế giới về berberin ngày càng lớn. Đây là đối tượng rất đáng chú ý trong đầu tư trồng rừng đặc sản cho vùng cao.

3.3. Cây hồng (*Paulownia fortunei*) là cây gỗ thay lá hàng năm, cao 10 - 20 m tán lá rộng ưa khí hậu mát ẩm, có tốc độ sinh trưởng rất nhanh. Hạt chứa 24% dầu, có tác dụng trừ thấp, giải độc, tiêu thũng. Quả chữa viêm khí quản mạn tính, rễ trị phong thấp, nhức xương.

Gỗ cây hồng nhẹ, thớ gỗ thẳng và cứng không vênh nứt khi khô nên rất phù hợp với ngành công nghiệp chế biến gỗ xây dựng với đặc tính cách điện, cách nhiệt cao, có mặt vân gỗ mịn bóng thích hợp cho việc trang trí nội thất và đóng nhạc cụ. Bột gỗ là nguyên liệu cho sản xuất bột giấy cao cấp. Gỗ hồng được thị trường Nhật Bản và Đài Loan tiêu thụ nhiều. Lá hồng giàu protein, là thức ăn cho thỏ và một số động vật nuôi khác. Cây hồng sinh trưởng nhanh mau khép tán nên tạo được môi trường trồng thảo quả sản xuất theo hệ sinh thái lâm được kết hợp, phủ xanh, khôi phục rừng ven suối và đầu nguồn. Ngoài ra, nhiều cây thuốc khác có thể tham gia trồng rừng như ngũ gia bì chân chim (*Schefflera octophylla*), thuốc bổ, mạnh gân xương. Cây đỗ trọng (*Eucommia ulmoides*), thuốc trị thận hư, chân gối yếu mỏi, cao huyết áp, di tinh, liệt dương. Cây táo mèo (*Docynia indica*), thuốc kích thích tiêu hoá. Cây màng tang (*Litsea cubeba*) cho tinh dầu xuất khẩu v.v...

Đề xuất mô hình trồng rừng khai thác đất dốc vùng cao

Viện Dược liệu đang thử nghiệm mô hình cây thuốc tham gia khai thác đất dốc ở 2 hộ nông dân Sa Pa. Từ kết quả bước đầu này, chúng tôi đề xuất mô hình kinh doanh rừng trên đất dốc vùng cao như sau:

Về quan điểm, cần nhận thức ở vùng cao sản xuất lương thực là thứ yếu và ở một chừng mực có thể, ở vùng sâu, giao thông khó khăn. Cần nhanh chóng đổi mới giống cây lương thực và kỹ thuật canh tác khai thác có hiệu quả nhất đất ruộng bậc thang hiện có. Ở vùng cao, kinh doanh nghề rừng là chủ yếu với việc trồng rừng và khai thác lâm sản là hướng chính cho hộ nông dân. Mọi đầu tư, tiền của, thiết bị kỹ thuật cho vùng cao nên định hướng vào mục tiêu này. Trồng rừng trước hết là trồng cây thuốc, cây công nghiệp phù hợp có thời gian kinh doanh ngắn và khai thác

được nguồn lâm sản phi gỗ. Cây trồng giai đoạn đầu có chu kỳ sản xuất ngắn đã nhanh chóng tạo nguyên liệu cho công nghiệp chế biến. Sau vài thập kỷ, các hộ nông dân hoàn toàn sống bằng sản phẩm rừng. Như vậy, nhà nước cần đầu tư xây dựng cho vùng cao hệ thống dịch vụ công ích đủ mạnh đáp ứng được các nhu cầu kỹ thuật và kinh tế.

Về kỹ thuật sản xuất trên đất dốc nên sử dụng cây trồng rừng tạo bằng chân sỏi mòn theo đường đồng mức như hoàng bá, hồng, tổng quán sủi với khoảng cách cây cách cây 2 - 2,5 m, hàng cách hàng 6 - 7 m để hạn chế tình trạng "khai thác trắng", không trồng thuần loại mà nên trồng nhiều loài đan xen theo hàng (trong một hàng thì trồng thuần loại). Cây trồng hàng năm như ngô, đậu tương (cây lương thực), tục đoạn, lão quan thảo, xuyên khung, mộc hương (cây làm thuốc). Trên bằng chống xói mòn, giữa các cây thân gỗ cần trồng xen ngũ gia bì gai, tiểu hồi, bình vôi tạo hàng bảo vệ ngăn nước. Sau 6 năm cây gỗ khép tán và bắt đầu trồng xen hàng cây gỗ đặc sản. Khi cây gỗ được 8 tuổi, bắt đầu khai thác để bù đắp đầu tư sản xuất cho hộ nông dân. Đồng thời, trồng thảo quả dưới tán rừng kinh doanh lâu dài.

Sản xuất vườn trang trại với các cây chống xói mòn theo đường đồng mức như đỗ trọng, hoàng bá, táo mèo và tập đoàn cây ăn quả như táo, đào, mận, lê. Cây hàng năm là các loại rau, đỗ, đương quy, bạch truật, ô đầu, actisô, lão quan thảo. Khi cây gỗ được 8 tuổi, nên trồng các loài cây thuốc quý dưới tán rừng như các loài sâm (*Panax spp.*), hoàng tinh, hoàng liên các loại.

Kết luận

Vùng đồi núi nước ta chiếm hơn 3/4 diện tích đất liền trong đó vùng cao có tỷ trọng đáng kể. Chỉ tiêu trồng 5 triệu ha rừng cho đến năm 2010 không chỉ nhằm mục tiêu kinh tế xã hội mà còn bảo đảm an toàn sinh thái môi trường. Viện Dược liệu đã và đang tiến hành một số đề tài trên huyện Sa Pa tỉnh Lao Cai. Những kết quả nghiên cứu bước đầu đó đã chỉ ra những cơ sở thực tiễn và lý luận khẳng định vị trí quan trọng của cây thuốc tham gia trồng rừng và kinh doanh nghề rừng vùng cao.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Tạp chí Dược liệu, tập 4, số 1/1999 (trang 4-6)

NGHIÊN CỨU KHỬ TRÙNG BÃ MÍA VÀ RƠM ĐỂ SẢN XUẤT NẤM DƯỢC LIỆU BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ GAMMA

Nguyễn Duy Hạng, Lê Xuân Thám,
Trần Thị Thuỷ, Nguyễn Quốc Hiến
Viện nghiên cứu hạt nhân (Đà Lạt).

Vòng Sách Tày
Công ty phát triển Công nghệ Sinh học.

Summary

*Gamma (Co-60) irradiation was used for decontamination of sugarcane bagasse and rice straw. Doses of 7-10 and over 15 kGy were suitable for pasteurization and sterilization of the substrates, respectively. Chemical components of the substrates such as lignin, cellulose and soluble content were almost unchanged upon irradiation up to 50 kGy, except the soluble content of rice straw was increased. Medicinal mushrooms like *Ganoderma lucidum*, *Pleutorus sajor-caju* and *Auricularia politrica* were successfully cultivated on these irradiated substrates.*

Key-words: Ganoderma lucidum, Pleutorus sajor-caju, Auricularia politrica, Gamma Irradiated Sugarcane Bagasse and Rice Straw.

Mở đầu

Bã mía và rơm là những phế phẩm chính của sản xuất nông nghiệp, đã được sử dụng làm nguyên liệu trồng các loại nấm linh chi, nấm mèo, nấm bào ngư...[8]. Trở ngại của việc sử dụng giá thể bã mía và rơm là hiện tượng nhiễm khuẩn như *Baccillus* spp, *Aspergillus* spp.... Các loài nhiễm tạp này cạnh tranh chất dinh dưỡng rất mạnh với các loài nấm dược liệu được nuôi trồng, làm giảm hiệu suất chuyển hoá cơ chất và ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng của sản phẩm. Để sản xuất các loài nấm dược liệu cần phải có biện pháp làm giảm mức độ nhiễm VSV trên các loại giá thể này.

Công nghệ bức xạ sử dụng nguồn bức xạ gamma Co-60 để khử trùng các vật phẩm đang được triển khai ứng dụng trên quy mô công nghiệp ở nhiều nước trên thế giới [5]. Bức xạ gamma có các ưu điểm như hiệu lực diệt khuẩn cao kể cả ở dạng dinh dưỡng, bào tử, nang trứng ký sinh trùng và siêu vi trùng ở nhiệt độ thường. Ở nước ta, một trung tâm chiếu xạ khử trùng đang được xây dựng tại thành phố Hồ Chí Minh.

Trong một công trình trước đây, chúng tôi đã nghiên cứu dùng bức xạ để khử trùng số được phẩm sản xuất ở trong nước [6]. Trong công trình này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khử trùng

giá thể bã mía và rơm bằng phương pháp chiếu xạ để trồng một số loại nấm dược liệu.

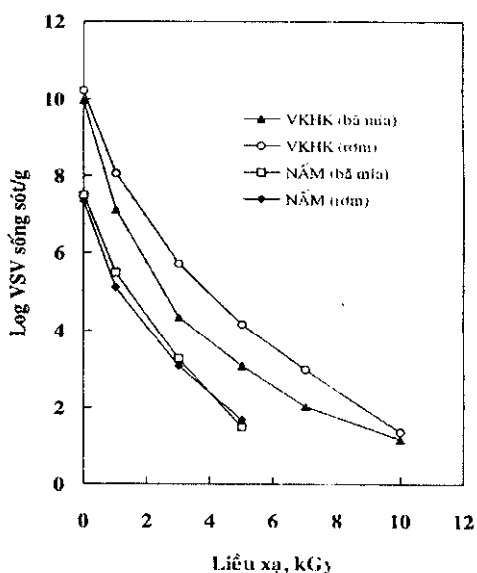
Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Bã mía được thu nhận từ nhà máy đường La Ngà, tỉnh Đồng Nai và rơm khô từ vùng trồng lúa của tỉnh Lâm Đồng. Các nguyên liệu này sau khi thu nhận, được sấy khô ở 35-40°C trong 5 ngày và cắt, nghiền đến kích thước cần thiết. Sau đó, tiến hành chiếu xạ bằng nguồn gamma Co-60 tại Viện nghiên cứu Hạt nhân (Đà Lạt) theo các liều xạ khác nhau, với suất liều 2,5 kGy/giờ. Thành phần vi khuẩn, nấm men và nấm mốc được xác định theo quy trình tiêu chuẩn của Cơ quan Năng lượng Nguyên tử Quốc tế (IAEA) [5]. Hàm lượng lignin, cellulosa, chất hoà tan trong nước và mức độ giữ nước của cơ chất được xác định theo phương pháp của Hiệp hội Hoá phân tích Mỹ (AOAC) [1].

Thành phần cơ chất để trồng các loài nấm *Ganoderma lucidum*, *Pleutorus sajor-caju* và *Auricularia politrica* được trình bày trong bảng 1. Độ ẩm của cơ chất được giữ ở 55-60%.

Bảng 1. Thành phần và tỷ lệ cơ chất

Thành phần	Tỷ lệ
Bã mía/rom	100,00
Cám gạo	10,00
CaCO ₃	0,50
CaSO ₄	2,00
NH ₄ SO ₄	0,05
Urea	0,10
NaNO ₃	0,30
KH ₂ PO ₄	0,20
MgSO ₄	0,05
FeSO ₄	0,001



Hình 1. Hiệu ứng bất hoạt vi sinh vật nhiễm trên bã mía và rom của bức xạ gamma Co-60.

Kết quả và thảo luận

1. Hiệu quả khử trùng bằng bức xạ gamma.

Độ nhiễm vi khuẩn hiếu khí (VKHK) ban đầu trên bã mía khá cao, khoảng 10^9 - 10^{10} tế bào/g và độ nhiễm nấm là 10^6 - 10^7 tế bào/g. Giá trị tương ứng đối với rom là 10^8 - 10^9 và 10^6 - 10^7 tế bào/g. Kết quả về hiệu quả khử trùng bằng bức xạ gamma đối với bã mía và rom (xem hình 1) cho thấy độ nhiễm nấm mốc và nấm men giảm nhanh khi tăng liều xạ đối với cả hai loại cơ chất. Khoảng liều xạ từ 7-10 kGy có thể xem là khoảng liều gây chết toàn bộ nấm men, nấm mốc nhiễm trên cơ chất với mức độ vô trùng (Sterility Assurance Level) là 10^3 [5,6].

Số lượng VKHK cũng suy giảm khá nhanh theo sự tăng liều xạ và tại 10 kGy số lượng VKHK giảm xuống còn $< 10^2$ tế bào/g. Từ kết

quả này có thể suy ra rằng với liều xạ trên 15 kGy, VKHK sẽ bị bất hoạt hoàn toàn với mức độ vô trùng là 10^3 [5,6].

Như vậy, khoảng liều xạ từ 7-10 kGy được chọn làm liều xạ thanh trùng và liều xạ lớn hơn 15 kGy là liều khử trùng đối với cơ chất bã mía và rom.

2. Ảnh hưởng của chiếu xạ gamma lên thành phần hoá học của cơ chất.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy hàm lượng lignin hầu như không thay đổi, còn hàm lượng cellulosa có xu hướng giảm nhẹ ở liều xạ cao (50 kGy) trong cả hai loại cơ chất. Chất hoà tan của bã mía không thay đổi nhưng đối với rom thì có sự gia tăng theo liều xạ (từ 3,55% lên khoảng 15%).

Bảng 2. Sự biến đổi thành phần hoá học của bã mía và rom do chiếu xạ.

Cơ chất	Thành phần (%)	Liều xạ, kGy				
		0	5	10	25	50
Bã mía	Celluloza	39,24	39,00	38,76	39,05	37,67
	Lignin	17,80	17,85	17,94	17,80	17,97
	Chất hoà tan*	4,06	4,28	4,32	4,58	4,59
Rom	Celluloza	25,90	25,00	24,84	24,60	24,45
	Lignin	13,90	14,05	14,25	13,94	14,30
	Chất hoà tan*	3,55	4,75	6,33	10,61	15,01

*Xác định bằng cách chiết trong nước 70°C, 3 giờ.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy mức độ giữ nước của cả hai loại cơ chất không bị ảnh hưởng trong khoảng liều xạ nhỏ hơn 50 kGy.

3. Khả năng sinh trưởng của hệ sợi và năng suất nấm được liệu.

Kết quả nghiên cứu khả năng sinh trưởng của hệ sợi và năng suất nấm (trọng lượng nấm tươi/trọng lượng cơ chất khô x 100) trên cơ chất có khử trùng bằng chiếu xạ gamma được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 3. Ảnh hưởng của chiếu xạ lên mức độ giữ nước của bã mía và rơm

Liều xạ kGy	Mức độ giữ nước (g H ₂ O/g cơ chất khô)	
	Bã mía	Rơm
Đối chứng	5,59	4,30
5	5,63	4,44
10	5,61	4,63
25	5,64	4,65
50	5,88	4,76

Bảng 4. Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm và năng suất trên cơ chất sau chiếu xạ gamma (15 kGy)

Loài nấm	Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi (µm/ giờ)		Năng suất (%)
	Bã mía	Rơm	Bã mía
<i>Ganoderma lucidum</i>	217 ± 50	213 ± 41	13,60
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	258 ± 34	345 ± 33	52,08
<i>Auricularia politrica</i>	196 ± 21	196 ± 25	63,75

Trong 7 ngày nuôi ủ đầu tiên, hai loài *Ganoderma lucidum* và *Pleurotus sajor-caju* sinh trưởng mạnh hơn loài *Auricularia politrica*, nhưng sau khoảng 30 ngày, cả 3 loài này đều phát triển tốt với hệ sợi phủ đều lên cả hai loại cơ chất. Hơn nữa, sự hình thành quả thể nấm và thời gian hình thành mầm quả và quả thể phát triển bình thường. Năng suất (chỉ khảo sát đối với cơ chất bã mía) đạt cao nhất đối với loài *Auricularia politrica* (~64%) và thấp nhất là *Ganoderma lucidum* (~14%). Điều này có thể là do đặc trưng sinh học của từng loài nấm khác nhau đối với thành phần cơ chất.

Kết luận

Phương pháp chiếu xạ gamma rất hiệu quả để khử nhiễm VSV đối với cơ chất bã mía và rơm. Liều xạ thanh trùng được xác định trong khoảng 7-10 kGy và liều xạ khử trùng là trên 15 kGy. Các thành phần hoá học lignin và cellulosa của cơ chất hầu như không bị biến đổi trong khoảng liều xạ này. Quá trình sinh trưởng của hệ sợi nấm, khả năng hình thành và phát triển quả thể xảy ra bình thường.

Tài liệu tham khảo

1). AOAC, Method of official analysis, Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., 1990; 2). Bisaria R., Madan M., Vasudevan P., *Bioresource Technology*, 59, 5-8, 1997; 3). Charlesby A., *J. Polym. Sci.*, Vol. 15, 263-270, 1955; 4). Ito H., Islam S., *Radiat. Phys. Chem.*, Vol. 43, No. 6, 545-550, 1994; 5). IAEA, International Atomic Energy Agency, Manual on radiation sterilization of medical and biological materials, *Technical Report*, Series No. 149, IAEA, Vienna, 1973; 6). Hang N.D., Canh T.T., Thuy T.T. *Radiat. Phys. Chem.*, 46, 623-627, 1995; 7). Kume T., Ito H., Ishigaki I., *J. Sci. Food Agric.*, 52, 147-157, 1990; 8). Stamets P., *Growing gourmet and medicine mushroom*, Ten Speed Press, Hongkong, 1993.

NGHIÊN CỨU SO SÁNH SÂM VIỆT NAM
TỪ NGUỒN THIÊN NHIÊN VÀ TRỒNG TRỌT

Thông báo số 2: Cấu trúc hoá học của các saponin trong cây sâm trồng.

Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Việt Tựu ,
Nguyễn Thị Hồng Hoa, Võ Duy Huân
Đại học Y-Dược Tp. Hồ Chí Minh

Kazuo Yamasaki, Ryoji Kasai
Viện đại học Hiroshima, Nhật Bản.

Summary

Five saponins were isolated from the rhizome of cultivated Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). The saponins proved to be ginsenosides-Rb₁, -Rd, -Rg₁, majonoside-R2 and vina-ginsenoside-R11, by comparative TLC chromatography and spectroscopic methods including NMR and MS.

These results show that the saponin composition of cultivated *P. vietnamensis* is similar to that of the wild plant. This provides strong evidence to support large-scale cultivation of Vietnamese ginseng.

Key-words: Cultivated *Panax vietnamensis*, Chemical Composition.

Đặt vấn đề

Sâm Việt Nam, còn gọi là sâm K 5, sâm Ngọc Linh..., tên khoa học là *Panax vietnamensis* Ha et Grush, thuộc họ Ngũ gia bì (Araliaceae), là một loài *Panax* mới. Những công trình nghiên cứu có hệ thống [1,6]...đã chứng tỏ cây sâm Việt Nam là một dược liệu có giá trị cao, có nhiều điểm tương đồng với nhân sâm (*Panax ginseng* C.A. Meyer)

Nguồn sâm thiên nhiên đang bị khai thác lên lút, bừa bãi và bị tàn phá nghiêm trọng. Vì vậy, đi đôi với việc tăng cường bảo vệ nguồn lợi thiên nhiên này, việc trồng trọt cây sâm Việt Nam là hết sức cấp bách. Một vấn đề cần đặc biệt quan tâm là chất lượng của sâm trồng như thế nào so với sâm thiên nhiên? Liệu có sự khác biệt quan trọng nào về thành phần hoá học, hoạt chất saponin, giữa chúng hay không?

Trong thông báo số 1[7], chúng tôi đã công bố các kết quả khảo sát so sánh ban đầu sâm thiên nhiên với sâm trồng trọt, bài báo này mô tả việc phân lập và nghiên cứu cấu trúc hoá học các saponin của cây sâm Việt Nam từ nguồn trồng.

Nội dung và phương pháp nghiên cứu

1. Chiết xuất và phân lập các saponin

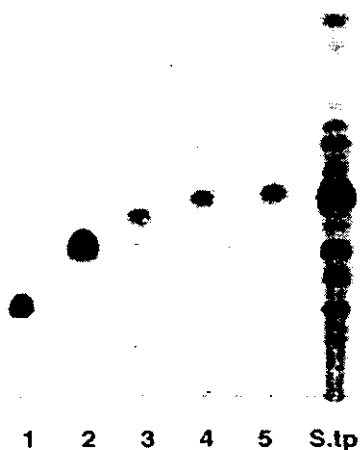
Nguyên liệu sử dụng để nghiên cứu là bộ phận dưới mặt đất đã phơi, sấy khô của cây sâm Việt Nam khoảng 5-6 tuổi, được trồng dưới qui mô thử nghiệm tại trại Dược liệu Trà Linh thuộc Công ty Dược tỉnh Quảng Nam.

Dược liệu được chiết hồi lưu với MeOH và MeOH 50%. Dịch chiết MeOH toàn phần được đem cô giảm áp đến dạng cao, sau đó được tinh chế qua cột polymer pha đảo Diaion HP-20 với dung môi chảy lần lượt là H₂O, MeOH, CHCl₃. Dịch MeOH rửa cột sau khi cô dưới áp suất giảm cho một hỗn hợp saponin toàn phần khá sạch. Hỗn hợp saponin toàn phần này được tiếp tục phân lập thành các đơn chất bằng sắc ký cột nhiều lần với chất hấp phụ là silica-gel thường và silica-gel pha đảo Lichroprep R.P-18, hoặc tiến hành chế hoá bằng sắc ký lỏng cao áp. Cuối cùng, chúng tôi đã phân lập được 5 đơn chất A (750 mg), C (600 mg), D1 (35 mg), D3 (62 mg) và D4 (11 mg) (hình 1).

2. Khảo sát cấu trúc hoá học của các saponin

2.1. Phương pháp chung khảo sát cấu trúc

Đầu tiên, tiến hành sắc ký lớp mỏng các chất phân lập được cùng với các chất chuẩn trên các hệ dung môi khác nhau, CHCl₃-MeOH-H₂O (65:35:10, lớp dưới) và CHCl₃-BuOH-MeOH-H₂O(2:4:1,5:2, lớp dưới), phun thuốc thử H₂SO₄ 10% /EtOH và sấy hiện màu ở 105°C / 15 phút, để có những dự đoán ban đầu về cấu trúc.



Hình 1. Sắc ký đồ các saponin phân lập từ sâm Việt Nam trắng.

Hệ dung môi: CHCl_3 -MeOH- H_2O
(65: 35: 10, lớp dưới)

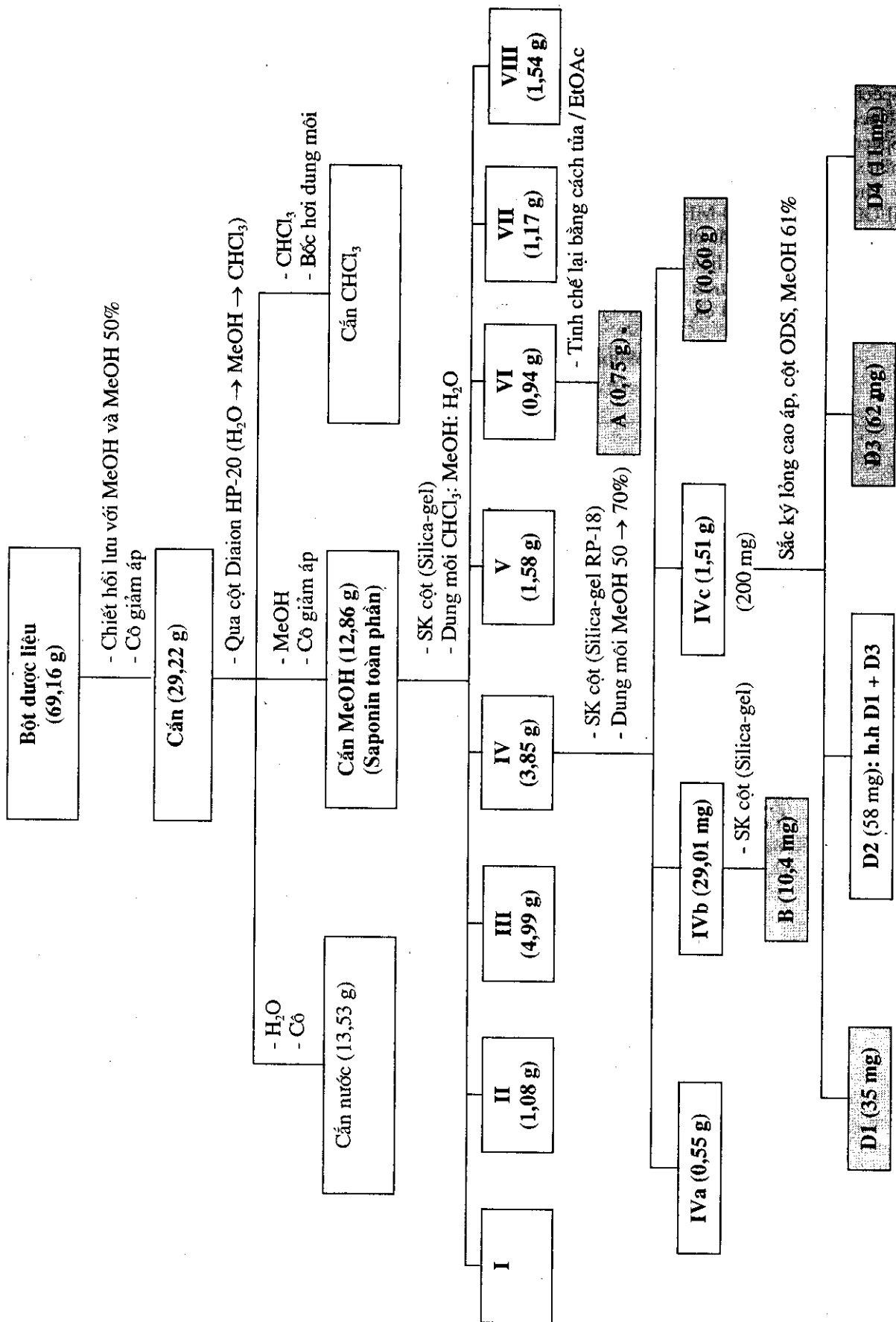
1: A; 2: C; 3: D4; 4: D1; 5: D3;

Stp: saponin toàn phần

Quá trình chiết xuất và phân lập các saponin từ sâm Việt Nam trắng được tóm tắt trong sơ đồ 1.

Bảng 1. Độ dời hoá học ^{13}C -NMR phân genin của các saponin đã phân lập so với các chất chuẩn tương ứng (100 MHz, piridin- d_5 , δ).

C	A	G,Rb ₁	C	G,Rd	D1	G,Rg	D3	M,R2	D4	V,R11
1	39,1	39,2	39,1	39,1	39,4	39,4	39,5	39,5	39,5	39,3
2	26,5	26,6	26,7	26,7	27,8	27,9	27,7	27,7	28,1	27,9
3	88,9	89,0	89,0	89,0	78,6	78,6	78,0	78,0	78,5	78,4
4	39,6	39,7	39,6	39,6	40,2	40,3	40,1	40,1	40,2	40,0
5	56,3	56,4	56,3	56,3	61,3	61,4	61,3	64,4	61,4	61,2
6	18,3	18,4	18,4	18,4	78,0	78,0	79,4	79,4	79,5	79,3
7	35,1	35,1	35,1	35,1	45,0	45,1	48,8	48,8	44,9	44,7
8	39,9	40,0	39,9	39,9	41,0	41,1	41,0	41,0	41,1	40,9
9	50,1	50,2	50,1	50,1	49,9	50,0	50,2	50,2	49,6	49,9
10	36,8	36,9	36,8	36,8	39,6	39,7	39,5	39,5	39,6	39,4
11	30,7	30,7	30,7	30,7	30,8	30,9	32,1	32,2	31,7	31,5
12	70,1	70,1	70,1	70,2	70,1	70,2	70,7	70,8	70,6	70,4
13	49,4	49,5	49,4	49,3	49,0	49,1	49,9	49,0	48,9	47,8
14	51,3	51,4	51,3	51,4	51,3	51,4	52,2	52,2	52,1	51,9
15	30,6	30,7	30,8	30,7	30,6	30,7	32,4	32,4	32,1	51,9
16	26,7	26,7	26,7	26,6	26,5	26,6	25,7	25,8	27,6	27,5
17	51,5	51,6	51,6	51,7	51,5	51,6	49,4	49,4	52,2	52,1
18	16,2	16,2	16,2	16,2	17,4	17,5	17,7	17,7	17,2	17,1
19	15,9	16,0	15,9	15,9	17,0	17,5	17,0	17,1	17,6	17,4
20	83,4	83,5	83,3	83,3	83,2	83,3	87,0	87,0	77,9	77,8
21	22,3	22,4	22,3	22,4	22,2	22,3	26,8	26,9	26,3	26,1
22	36,1	36,2	36,0	36,0	36,0	36,1	32,5	32,5	27,8	27,6
23	23,1	23,2	23,1	23,2	23,1	23,2	28,6	28,6	25,9	25,7
24	125,9	125,9	125,8	125,8	125,8	125,9	88,3	88,3	74,4	74,3
25	131,0	131,0	130,8	130,9	130,8	130,9	70,0	70,0	78,0	77,9
26	25,7	25,8	25,7	25,7	25,7	25,8	26,4	26,5	23,2	23,1
27	17,9	17,9	17,8	17,7	17,7	17,8	28,9	28,9	30,0	29,9
28	28,0	28,0	28,0	28,0	31,6	31,7	31,5	31,6	31,7	31,6
29	16,5	16,6	16,5	16,5	16,3	16,3	16,6	16,6	16,6	16,5
30	17,3	17,9	17,3	17,3	17,4	17,1	17,8	17,8	17,7	17,6



Cấu trúc hoá học của các chất tiếp tục được chứng minh bằng phương pháp phổ khối (Mass Spectroscopy-MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy) trong những điều kiện tổng quát như sau:

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân đo bằng máy JEOL-JMN-GX 400 MHz với dung môi sử dụng là pyridin- d_5 và chất chuẩn nội tetrametyl silan (TMS), chuyển dịch hoá học δ tính theo ppm.

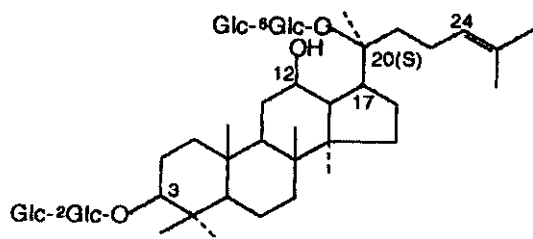
- Phổ khối được đo trên máy JEOL JMS-SX 102; điện thế ion hoá 70 eV. Kỹ thuật áp dụng: Phổ

khối bắn phá nguyên tử nhanh âm (Negative Fast Atom Bombardment Mass Spectroscopy —FAB-MS). Công thức nguyên được xác định bằng khối phổ có độ phân giải cao (High Resolution Mass Spectroscopy-HRMS).

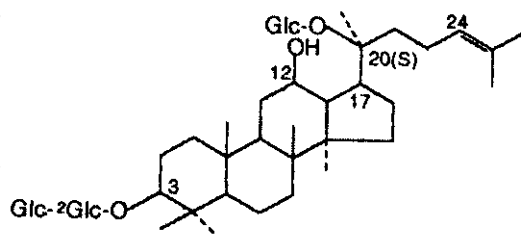
- Phổ MS và NMR được đo tại Viện đại học Hiroshima, Nhật Bản. Cấu trúc của các saponin được xác định bằng cách so sánh đối chiếu với các chất chuẩn bằng sắc ký lớp mỏng, phổ ^1H -NMR, ^{13}C -NMR (bảng 1 và 2) và phổ MS 9 (bảng 3).

Bảng 2. Độ dời hoá học ^{13}C -NMR phân đường của các saponin đã phân lập so với các chất chuẩn tương ứng (100 MHz, pyridin- d_5 , δ).

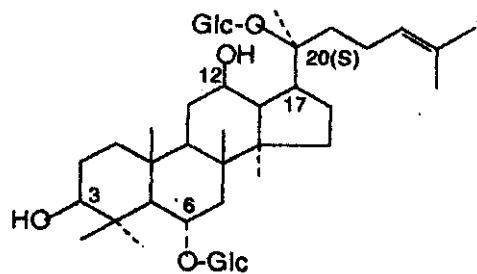
C	A	G,Rb ₁	C	G,Rd	D1	G,Rg	D3	M,R2	D4	V,R11
3-Glc1	105,0	105,0	105,0	105,0						
2	83,3	83,4	83,2	83,1						
3	78,0	77,9	78,1	78,1						
4	71,6	71,6	71,6	71,6						
5	78,1	78,0	78,2	78,1						
6	62,6	62,7	62,6	62,6						
6-Glc1					105,8	105,9	103,4	103,4	103,5	103,3
2					75,4	75,4	80,2	80,2	80,3	80,1
3					80,0	80,1	78,7	78,7	78,8	78,6
4					71,7	71,8	71,1	71,2	71,2	71,1
5					79,5	79,6	79,7	79,8	79,9	79,7
6					62,8	62,8	62,8	62,8	62,9	62,7
Glc1	105,9	105,9	105,9	105,8						
2	77,0	77,0	77,0	76,9						
3	79,1	79,2	79,1	79,0						
4	71,6	71,6	71,5	71,4						
5	78,2	78,2	78,2	78,2						
6	62,7	62,8	62,8	62,8						
Xyl1							104,7	104,8	104,9	104,6
2							75,7	75,7	75,8	75,6
3							78,6	78,6	78,7	78,6
4							71,6	71,7	71,7	71,6
5							67,1	67,2	67,2	67,1
20Glc1	98,0	98,0	98,2	98,2	98,1	98,2				
2	74,8	75,1	75,0	75,1	75,0	75,1				
3	77,8	77,9	78,0	78,0	79,1	79,2				
4	71,6	71,6	71,6	71,6	71,5	71,6				
5	76,9	77,0	77,8	77,8	78,1	78,2				
6	71,5	71,5	62,6	62,6	63,0	63,1				
Glc1	105,2	105,3								
2	75,1	75,1								
3	78,2	78,3								
4	71,6	71,6								
5	78,2	78,2								
6	62,8	62,8								



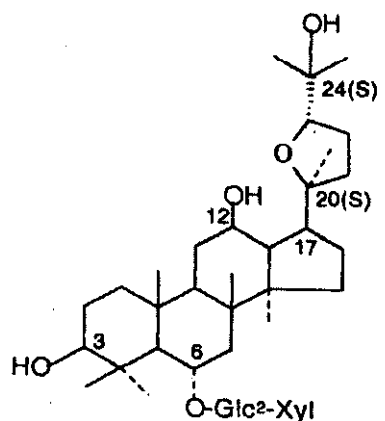
Saponin A
(Ginsenosid-Rb₁)



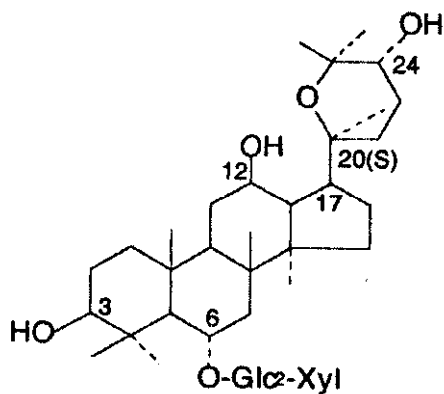
Saponin C
(Ginsenosid-Rd)



Saponin D1
(Ginsenosid-Rg₁)



Saponin D3
(Majonosid-R2)



Saponin D4
(Vina-ginsenosid R11)

Bảng 3. Các số liệu phổ khối FAB chính của các saponin được phân lập.

Saponin	Công thức nguyên	HR-FAB-MS (neg.) <i>m/z</i>	Các mảnh phổ FAB-MS (neg.) quan trọng (<i>m/z</i>)
A (G-Rb ₁)	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	-----	1107 [M-H] ⁻ , 945 [M-H-Glc] ⁻ , 783 [M-H-2Glc] ⁻ , 621 [M-H-3Glc] ⁻ , 459 [M-H-4Glc] ⁻
C (G-Rd)	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	945.5391 [C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈ -H] ⁻	945 [M-H-Glc] ⁻ , 783 [M-H-Glc] ⁻ , 621 [M-H-2Glc] ⁻ , 459 [M-H-3Glc] ⁻
D1 (G-Rg ₁)	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	799.4833 [C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄ -H] ⁻	799 [M-H] ⁻ , 637 [M-H-Glc] ⁻ , 475 [M-H-2Glc] ⁻
D3 (M-R2)	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₄	785.4687 [C ₄₁ H ₇₀ O ₁₄ -H] ⁻	785 [M-H] ⁻ , 653 [M-H-Xyl] ⁻ , 491 [M-H-Xyl-Glc] ⁻
D4 (V-R11)	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₄	785.4693 [C ₄₁ H ₇₀ O ₁₄ -H] ⁻	785 [M-H] ⁻ , 653 [M-H-Xyl] ⁻ , 491 [M-H-Xyl-Glc] ⁻

Kết quả

Cấu trúc hoá học của 5 saponin đơn chất phân lập được gồm A, C, D1, D3 và D4 đã được khảo sát. Dựa vào kết quả so sánh với các chất chuẩn trên sắc ký lớp mỏng và độ dời hoá học ¹³C-NMR của các saponin (bảng 1,2), kết hợp với kết quả phân tích khối phổ (bảng 3), các saponin A, C, D1, D3 và D4 được xác định lần lượt là ginsenosid-Rb₁, ginsenosid-Rd, ginsenosid-Rg₁, majonosid-R2 và vina-ginsenosid-R11.

Kết luận

Từ bộ phân dưới mặt đất của cây sâm Việt Nam được trồng, chúng tôi đã phân lập được 5 saponin đơn chất: A (750 mg), C (600 mg), D1 (35 mg), D3 (62 mg), và D4 (11 mg). Qua khảo sát cấu trúc, 5 chất này được xác định lần lượt là ginsenosid-Rb₁, ginsenosid-Rd, ginsenosid-Rg₁, majonosid-R2 và vina-

ginsenosid-R11.

Trong số các saponin đã phân lập và xác định cấu trúc, cây sâm Việt Nam từ nguồn thiên nhiên chứa ginsenosid-Rb₁, ginsenosid-Rd, ginsenosid-Rg₁ và majonosid-2 là chủ yếu, còn vina-ginsenosid-R11 là một saponin với hàm lượng thấp có cấu trúc hoá học mới đã được phân lập và xác định [3,4,5,6].

Kết quả nghiên cứu thu được phù hợp với kết quả so sánh thành phần saponin trong sâm Việt Nam từ nguồn thiên nhiên và nguồn trồng trọt bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng và sắc ký lỏng cao áp đã được công bố [7] và giúp kết luận là thành phần saponin của chúng giống nhau. Những kết quả nghiên cứu này góp phần làm cơ sở khoa học cho sự tăng cường đầu tư, mở rộng việc trồng trọt cây sâm Việt Nam trên quy mô lớn, đưa cây sâm quý này từ tiềm năng trở thành một nguồn tài nguyên quan trọng và nguồn thuốc dồi dào cho đất nước.

Tài liệu tham khảo

- 1). Nguyen Thoi Nham. Study on *Panax vietnamensis* Ha et Grush. - Araliaceae, Botany, Tissue Culture, Chemistry, Biological Properties. Luận án Tiến sĩ, Poznan, Ba Lan, 1990.
- 2). Nguyen Thoi Nham, Phan Van De, Tran Cong Luan, Nguyen Minh Duc, Shoji Shibata, Osamu Tanaka and Ryoji Kasai. *J. Jpn. Bot.*, 70, 1, 1995.
- 3). Nguyen Minh Duc, Nguyen Thoi Nham, Ryoji Kasai, Kazuhiro Ohtani, Aiko Ito, Kazuo Yamasaki and Osamu Tanaka. *Chem. Pharm. Bull.*, 41, 2010, 1993.
- 4). Nguyen Minh Duc, Ryoji Kasai, Kazuhiro Ohtani, Aiko Ito, Kazuo Yamasaki and Osamu Tanaka. *Chem. Pharm. Bull.*, 42, 115, 1994.
- 5). Nguyen Minh Duc, Ryoji Kasai, Kazuhiro Ohtani, Aiko Ito, Nguyen Thoi Nham, Kazuo Yamasaki and Osamu Tanaka. *Chem. Pharm. Bull.*, 42, 634, 1994.
- 6). Nguyen Minh Duc, Ryoji Kasai, Kazuhiro Ohtani, Aiko Ito, Kazuo Yamasaki, Nguyen Thoi Nham and Osamu Tanaka. New Saponin from Vietnamese Ginseng: Highlights on Biogenesis of Dammarane Triterpenoids, in *Saponin Used in Traditional and Modern Medicine* do G. Waller and K. Yamasaki chủ biên, Plenum Press, New York and London, 1996, p. 404.
- 7). Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Việt Tựu, Võ Văn Chín. *Tạp chí Dược liệu*, số 1, 3-8, 1997.

**KHẢO SÁT MỘT SỐ CHỈ TIÊU SINH HOÁ
VÀ TÁC DỤNG THỦY PHÂN PROTEIN CỦA LÁ CÂY XUÂN HOA**
(*Pseuderanthemum palatiferum* Nees)

**Lê Thị Lan Oanh, Võ Hoài Bắc,
Nguyễn Văn Thiết, Nguyễn Thị Dung,
Hoa Thị Hằng, Trần Thị Thom .**
Viện Công nghệ Sinh học.

Summary

Investigation of some biochemical characters of Pseuderanthemum palatiferum leaves has shown that they contain high contents of total proteins, polysaccharides and mineral elements (Ca, K, Mg, Na, and Fe). The leaves also possess a thermostable proteinase with highest proteolytic activity at 70°C and pH=7.5. The enzyme was partially purified.

Key-words: *Pseuderanthemum palatiferum, Mineral Elements, Proteins, Proteinase, Polysaccharides.*

Đặt vấn đề

Cây xuân hoa (*Pseuderanthemum palatiferum* Nees) thuộc họ Ô rô (Acanthaceae) [1] là một cây thuốc mọc tự nhiên ở Việt Nam. Trong vài năm gần đây, cây được trồng phổ biến ở nhiều nơi như một cây thuốc gia đình. Theo kinh nghiệm dân gian, cây được sử dụng chữa nhiều bệnh như nhiễm khuẩn đường tiêu hoá, trĩ, chảy máu, vết thương... Gần đây, Trần Công Khánh và cộng sự đã nghiên cứu về mặt thực vật, sơ bộ phân tích thành phần hoá học và tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm của cao đặc lá cây xuân hoa khô chiết bằng metanol [2].

Để góp phần bổ sung những thông tin nghiên cứu về cây thuốc này, chúng tôi đã bước đầu khảo sát một số chỉ tiêu sinh hoá và đã phát hiện tác dụng thủy phân protein của lá cây xuân hoa tươi. Đồng thời, đã sơ bộ tiến hành tinh chế và nghiên cứu một số tính chất của proteinaza trong lá cây xuân hoa.

Nguyên liệu và phương pháp

1. Nguyên liệu:

- Cây xuân hoa được trồng tại vườn thí nghiệm của phòng Sinh hoá Thực vật thuộc Viện Công nghệ sinh học. Khi cây lên cao, lá to được thu làm nguyên liệu thí nghiệm.

- Casein, (hãng Boehringer-Đức).

- Albumin huyết thanh bò (hãng Serva-Đức).

- Các hoá chất khác đều đạt độ tinh khiết.

2. Phương pháp:

- Hàm lượng chất khô được xác định bằng phương pháp cân trọng lượng khô không đổi sau khi sấy ở nhiệt độ 105°C [3].

- Hàm lượng diệp lục tổng số được xác định theo phương pháp Lichenthaler [4].

- Hàm lượng nitơ tổng số và protein tổng số xác định theo phương pháp Keldan [3].

- Hàm lượng protein hoà tan xác định theo phương pháp Lowry [5].

- Hoạt độ thủy phân protein xác định theo phương pháp Anson cải tiến [6]

- Hàm lượng chất khoáng (đa lượng và vi lượng) xác định theo phương pháp quang kế cao áp.

- Thành phần hoá học được khảo sát bằng đo phổ nhiễu xạ huỳnh quang tia X.

- Chuẩn bị dịch chiết để xác định hoạt tính thủy phân protein: lá tươi được nghiền mịn (có mercaptoetanol) trong cối sứ, sau đó chiết bằng đệm 0,05-0,10 M phosphat, pH 7,6 theo tỉ lệ 1:20 (trọng lượng/thể tích), khuấy nhẹ bằng máy khuấy từ trong 30 phút, sau đó ly tâm 12.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C, thu lấy dịch trong làm nguồn proteinaza.

- Thành phần protein được xác định bằng phương pháp điện di trên gel polyacrylamid 7,5%, pH 8,3 theo Davis [8].

- Proteinaza được xác định bằng phương pháp điện di trên gel polyacrylamid 7,5%, pH 8,3 có chứa cơ chất theo Haspal cải tiến [9].

Kết quả và thảo luận

1. Một số chỉ tiêu sinh hoá của lá tươi cây xuân hoa

Hàm lượng diệp lục tổng số được xác định bằng cách nghiền lá tươi trong cồn 96%, ly tâm lấy dịch, đo hấp phụ ở bước sóng 447, 662 và 668 [4].

Kết quả phân tích một số chỉ tiêu sinh hoá được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Một số chỉ tiêu sinh hoá của lá cây xuân hoa

Chỉ tiêu	Giá trị
Trọng lượng khô (%)	13,40± 0,81
Diệp lục tổng số (mg/g lá tươi)	2,65± 0,56
Nitơ tổng số (% chất khô)	4,90± 0,45
Protein tổng số (% chất khô)	30,80± 5,0
Protein hoà tan (mg/g lá tươi)	25,50± 2,50
Polysacarid hoà tan (%)	0,80± 0,02

Số liệu ở bảng 1 cho thấy: nhìn chung hàm lượng các chất được khảo sát không có gì khác biệt với các loại thực vật khác, đáng chú ý là hàm lượng protein tổng số (30,8%) và polysacarid hoà tan (0,8%) ở lá xuân hoa khá cao.

Kết quả phân tích phổ huỳnh quang tia X của phân đoạn chứa hoạt chất cho thấy sự có mặt của các chất n-hexadecyl thiomyristat ($C_{30}H_{60}OS$), n-tridecyl thiopalmitat ($C_{29}H_{58}OS$), 5,7 dihydroxy-4'-methoxy flavon ($C_{16}H_{12}O_5$) (hình 1). Theo kết

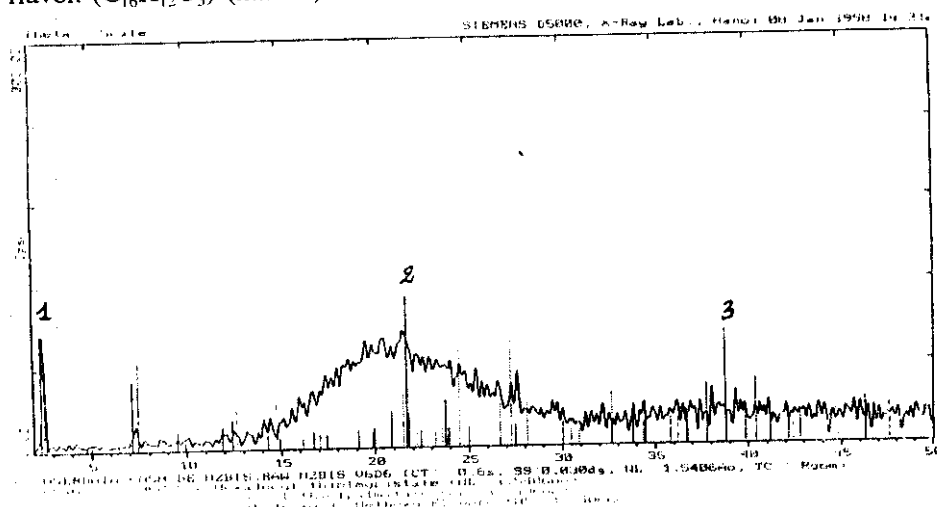
quả phân tích của Trần Công Khánh và cộng sự, lá cây xuân hoa chứa sterol, trong đó có β -sitosterol và cumarin [2].

2. Thành phần các nguyên tố đa lượng và vi lượng.

Bảng 2. Hàm lượng một số nguyên tố đa lượng và vi lượng trong lá xuân hoa.

Chất khoáng đa lượng	Hàm lượng (mg/100g lá tươi)	Chất khoáng vi lượng	Hàm lượng (mg/100g lá tươi)
Ca	875,5	Fe	38,75
Mg	837,6	Al	37,50
K	587,5	V	3,75
Na	162,7	Cu	0,43
		Mn	0,34
		Ni	0,19

Kết quả phân tích thành phần chất khoáng của lá xuân hoa được trình bày trong bảng 2 cho thấy hàm lượng (mg/100 g lá tươi) của các nguyên tố đa lượng và vi lượng (Na, Ca, K, Al, Mg và Fe) là cao so với hàm lượng các chất này ở các cây khác. Hàm lượng Fe là 38,75 mg, cao gấp gần 2 lần lượng Fe của con vẹm (24 mg), 3 lần gan lợn (13 mg) và 4 lần đậu tương (11 mg) [7]. Đây có thể là nguồn sắt dinh dưỡng rất quý. Không phát hiện các nguyên tố kim loại nặng như Cd, Pb, As, Cr..., đáng chú ý là hàm lượng vanadi khá cao (3,9 mg). Kết quả bảng 2 cho thấy phần nào giá trị dinh dưỡng khoáng của cây xuân hoa, đặc biệt là Ca (875,5 mg), K (587,5 mg) và Fe (38,75 mg).



Hình 1. Phổ thành phần hoá học của phân đoạn chứa hoạt chất của lá cây xuân hoa

1. n-hexadecyl thiomyristat; 2. n-tridecyl thiopalmitat; 3. 5,7-dihydroxy-4'-methoxy flavon.

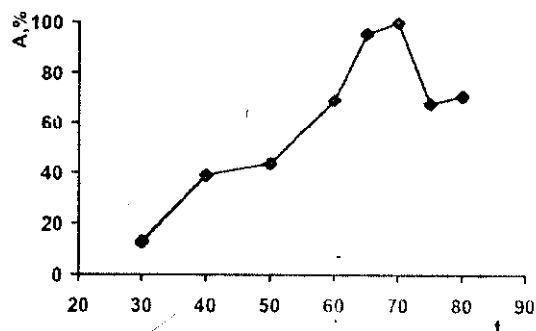
3. Tác dụng thủy phân protein của lá xuân hoa tươi

Theo kinh nghiệm dân gian, lá tươi của cây xuân hoa được nhiều người sử dụng giã nhỏ đắp các vết thương, tiêu mủ, tan các mụn lồi... Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành xác định hoạt tính thủy phân protein của dịch chiết lá xuân hoa và bước đầu tách chiết enzyme proteinaza để khảo sát tính chất và hoạt độ của enzyme này.

3.1. Nghiên cứu tính chất hoá lý của proteinaza trong dịch chiết lá cây xuân hoa

Để tối ưu hoá quy trình tinh chế enzyme sau này, chúng tôi nghiên cứu một số tính chất hoá lý như tính bền nhiệt, ảnh hưởng của pH và nhiệt độ của môi trường tới hoạt tính enzyme.

a) Tính bền nhiệt và thời gian



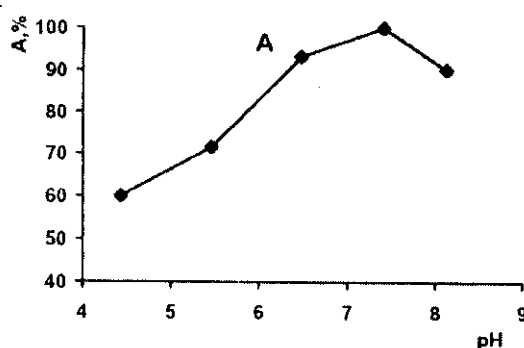
Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đối với hoạt tính của proteinaza trong dịch chiết thô lá xuân hoa.

Chúng tôi đã kiểm tra hoạt độ phân giải protein (proteolytic) trong dịch chiết từ lá tươi và lá sấy khô ở nhiệt độ 60°C. Kết quả ở lá đã sấy khô, hoạt tính proteinaza còn giữ lại được khoảng 30% so với lá tươi. Điều đó cho thấy proteinaza lá xuân hoa khá bền nhiệt.

Một nhận xét khác là hoạt tính enzyme khi giữ dịch chiết thô trong tủ lạnh (4°C) trong vòng 1 tháng giảm không đáng kể. Như vậy, enzyme khá bền trong quá trình bảo quản.

b) Ảnh hưởng của nhiệt độ và pH lên hoạt tính của enzyme

Dịch chiết enzyme thô thu được có hoạt tính thủy phân cao nhất trong môi trường có nhiệt độ 70°C và pH=7,5 (hình 2 và 3)



Hình 3. Ảnh hưởng của pH đối với hoạt tính của proteinaza trong dịch chiết thô lá xuân hoa.

3.2. Sơ bộ tinh chế proteinaza của lá cây xuân hoa

Sau khi khảo sát một số tính chất của enzyme, chúng tôi tiến hành tinh chế enzyme theo sơ đồ ở trang sau.

Từ dịch chiết, protein được thu hồi bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bão hoà, để lạnh 30 phút và ly tâm lấy cặn. Kết tủa được hoà lại bằng đệm phosphat Sorensen 0,1 M, pH 7,6 (dịch 2).

Dịch 2 được thẩm tích trong môi trường đệm phosphat Sorensen 0,02 M, NaCl 0,05 M, EDTA 0,0005 M, MgCl_2 0,01 M và mercaptoetanol. Sau 5 giờ lại thay dung dịch đệm. Tiếp tục làm như vậy cho tới khi không còn phản ứng của $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trong dung dịch đệm.

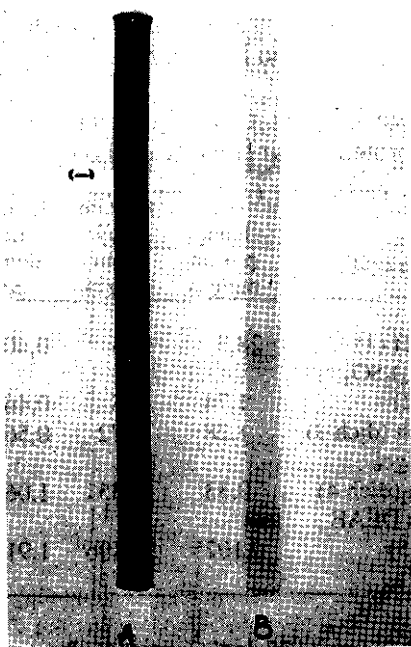
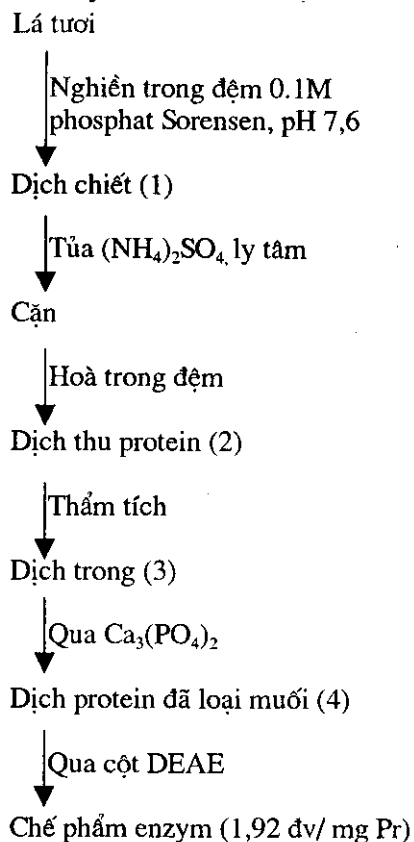
Chất màu được loại bằng gel $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (đã làm khô bằng ly tâm 8.000 v/phút). Nghiền nhỏ mịn hạt gel, cho dịch (3) hấp phụ vào gel, lắc đều. Sau đó, ly tâm thu dịch, tiếp tục làm như vậy cho đến khi dịch enzyme trở nên sáng trong và có màu vàng nhạt (dịch 4).

Bảng 3. Tóm tắt quá trình thu nhận proteinaza từ lá cây xuân hoa

Dịch chiết	Hàm lượng protein mg/g lá	Hoạt độ thủy phân đv/g lá	Hoạt độ riêng đv/mg pr.
Dịch chiết (1)			
Tủa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (dịch 2)	28,3	11,5	0,406
Thẩm tích (dịch 3)	1,74	0,8	0,460
Hấp phụ gel $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (dịch 4)	1,28	0,72	0,563
Dịch qua DEAE (dịch 5)	0,33	0,351	1,064
	0,1025	0,196	1,912

Dịch protein đã loại muối (4) được chạy qua cột DEAE có kích thước 2,5x25 cm đã cân bằng với đệm phosphat Sorensen 0,02 M, EDTA 0,0005 M, MgCl_2 0,005 M, pH 7,6.

Sơ đồ thu nhận và tinh chế proteinaza lá cây xuân hoa



Hình 4. Điện di đồ trên gel polyacrylamid của chế phẩm enzyme lá cây xuân hoa.

A: Điện di đồ có cơ chất.

B: Điện di đồ không có cơ chất.

(-): Băng proteinaza.

Tốc độ chiết rút 15 ml/giờ. Phần protein không hấp phụ được rửa bằng chính đệm trên. Sau đó, phần hấp phụ được rửa chiết bằng NaCl 0,5-1 M với các phân đoạn 3 ml. Kết quả xác định protein và proteinaza được tóm tắt ở bảng 3.

Để kiểm tra chế phẩm enzyme thu được, chúng tôi đã sử dụng phương pháp điện di trên gel polyacrylamid có chứa và không chứa cơ chất casein để xác định protein và proteinaza trong phân đoạn sau khi đã được làm sạch bằng gel $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Kết quả điện di cho thấy chế phẩm enzyme có 3 băng protein, trong đó chỉ có 1 băng có hoạt tính proteinaza, tương ứng với băng protein thứ 2. Như vậy, chế phẩm còn lẫn 2 băng protein không có hoạt tính enzyme (hình 4).

Chúng tôi nhận thấy chế phẩm enzyme thu được sau DEAE có hoạt độ riêng (1,912/ mg pr.) tăng gấp 5 lần so với hoạt tính trong dịch chiết và chiếm 0,4% protein trong dịch chiết.

Các proteinaza ở thực vật như papain ở đu đủ, bromelin ở dứa, phicin ở sung...có nhiều ứng dụng trong các lĩnh vực kinh tế quốc dân: công nghiệp thực phẩm, công nghiệp nhẹ, mỹ phẩm, y dược...Chế phẩm proteinaza ở cây xuân hoa có thể có các ứng dụng trong lĩnh vực nào? Trong thời gian tới việc hoàn thiện quy trình tinh sạch và nghiên cứu ứng dụng (đặc biệt là trong lĩnh vực y học) của chế phẩm enzyme của xuân hoa là rất cần thiết.

Kết luận

Từ các kết quả thu nhận đã được trình bày trên đây, có thể sơ bộ rút ra một số nhận xét sau:

- Lá xuân hoa chứa nhiều khoáng đa lượng với hàm lượng khá cao (đáng chú ý là hàm lượng Ca và Fe) và các nhóm chất có hoạt tính sinh học (enzyme thủy phân protein và polysacarid...)

- Enzyme thu được có hoạt tính cao nhất ở điều kiện pH=7,5, nhiệt độ 70°C và tương đối bền ở nhiệt độ cao và có thời gian bảo quản lâu.

- Đã thu nhận được chế phẩm enzyme có hoạt độ riêng tăng 5 lần.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn Tiến sĩ Phan Quốc Kinh đã giới thiệu và góp ý cho bài báo của chúng tôi.

Tài liệu tham khảo

- 1). Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học, Hà Nội, 1997; 2). Trần Công Khánh. *Tạp chí Dược liệu*, tập 3, số 2/1998, tr. 37-41; 3). Pleshkov, B.P. Thực hành sinh hoá thực vật. NXB "Bông lúa", Matxcova, 1968; 4). Lichtenthaler, H.K. *Method in Enzymology*, 1987, p. 366; 5). Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.C., Randall R.I. *J. Biol. Chem.*, 193-256, 1951; 6). Petrova và

Viniunaite. *Sinh hoá và thực nghiệm*, 2, 232, 1966; 7). *Sci.*, 121, 404, 1964; 9). Leluk J. XXI zjard PT Biol. Krakov Streszenia, 1985, p. 139.
Phạm Văn Tất. *Thuốc và sức khỏe*, số 117, 1998, tr. 20;
8). David B.F. *Disc electrophoresis II. An. N.Y. Acad.*

Tạp chí Dược liệu, tập 4, số 1/1999 (trang 17-20)

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CỦA ROEMERIN CHIẾT XUẤT TỪ CỎ BÌNH VÔI (STEPHANIA GLABRA (ROXB.) MIERS)

Nguyễn Tiến Vững, Phạm Thanh Kỳ,
Bùi Kim Liên
Trường Đại học Dược Hà Nội

Chu Đình Kính
Trung tâm Khoa học tự nhiên và
Công nghệ Quốc gia

Summary

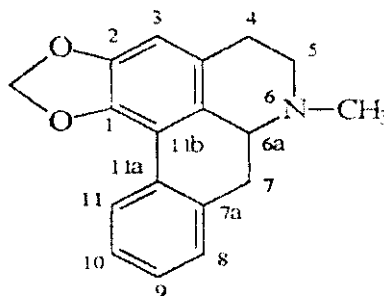
A substance isolated from the root of Stephania glabra (Roxb.) Mier. was identified to be roemerine on the basis of m.p., UV, IR, H-NMR, COSY, ¹³C-NMR and DEPT analysis.

Key-words: Stephania glabra, Roemerine

Đặt vấn đề

Ở Việt Nam, có nhiều loài bình vôi thuộc chi *Stephania* Lour. Trong quá trình nghiên cứu chi này, chúng tôi đã chiết xuất được một hỗn hợp alkaloid từ loài *S. glabra* (Roxb.) Miers và từ hỗn hợp này đã phân lập được một chất V_3 tinh khiết, dự kiến là roemerin.

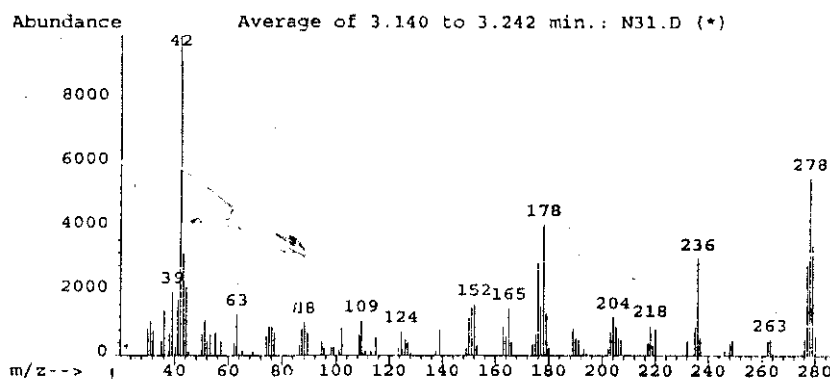
Theo các tài liệu đã công bố [1, 4, 5], roemerin có cấu trúc như ở hình 1. Trong bài này, chúng tôi sử dụng các phương pháp phổ khối lượng (MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) để xác định cấu trúc của alkaloid V_3 .



Hình 1. Cấu trúc của roemerin

Kết quả và thảo luận

1. Phổ khối lượng của alkaloid V_3 :

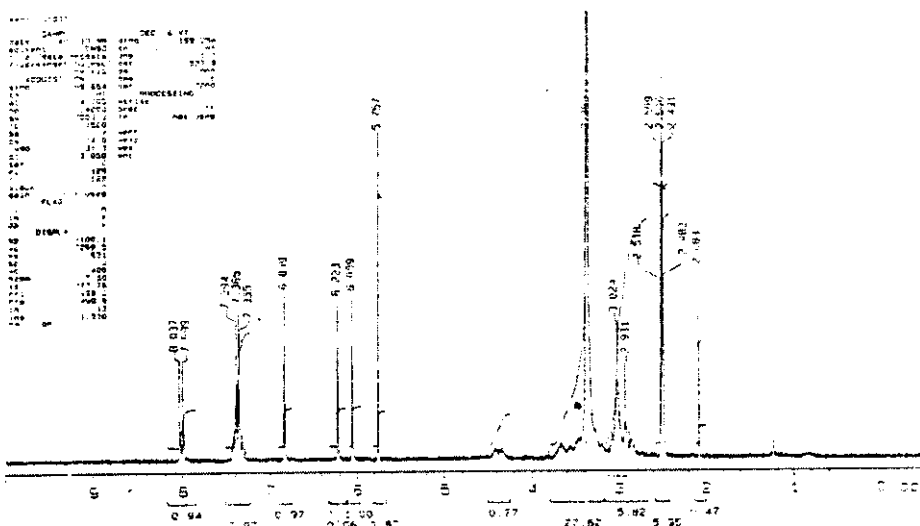


Hình 2. Phổ khối lượng của V_3 .

Phổ khối lượng của V_3 có cụm pic có giá trị m/z lớn nhất bao gồm các oic 275, 276, 277, 278, 279, 280. Trong đó, pic có cường độ lớn nhất là pic 278 m/z . Tỷ lệ cường độ của pic 279/278=62%. Như vậy, pic 278 m/z không thể là pic ion phân tử. Từ đó, có thể thấy giá trị M^+ của V_3 là 279 mu. Tỷ lệ cường độ của pic

$$279/280 \left(\frac{M^+}{(M^+ + 1)^+} \right) \approx 19\%. \text{ Điều đó cho thấy}$$

phân tử V_3 chứa 18 carbon. Dựa vào quy tắc nitơ và những quy luật khác, có thể kết luận V_3 có công thức phân tử là $C_{18}H_{17}NO_2$. Do cụm pic phân tử có cường độ lớn, V_3 phải là một hỗn hợp đa vòng. Sự tồn tại các giá trị $M-1$, $M-2$, $M-3$, $M-4$ cho thấy trong hệ thống của phân tử có những vị trí có nhóm methylen.



Hình 3. Phổ 1H -NMR của V_3

Ngoài ra, sự tồn tại của pic $(M-1)^+$ với cường độ rất mạnh cho phép giả định tồn tại liên kết $N-CH_3$ dễ dàng chuyển thành $N^+=CH_2$. Một dấu hiệu nữa chứng minh sự tồn tại của nhóm CH_3 là sự có mặt của pic $[M-CH_3]^+ = 279-15 = 264$. Phổ khối của V_3 còn chứa một số pic đặc trưng có số khối 236, 178, 165, 152... Đó là những dấu hiệu đặc trưng cho khung aporphin [2], [3].

Như vậy, những dấu hiệu rút ra từ phổ khối đều phù hợp với dự kiến V_3 là roemerin.

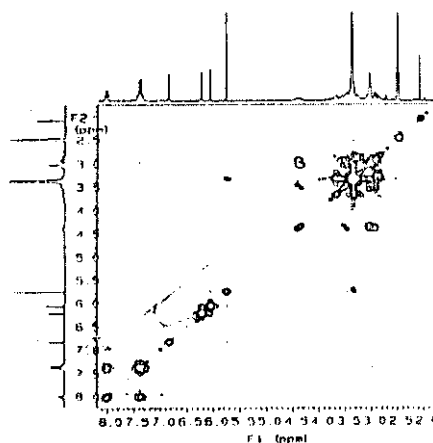
2. Phổ 1H -NMR, COSY, DEPT và ^{13}C -NMR của alkaloid V_3 :

-Qua phổ 1H -NMR thấy rõ sự có mặt của 1 nhóm $O-CH_2-O$ (6,223 ppm) và của CH_3 gắn với N ($\delta \approx 2,482-2,491$ ppm). Những nhóm CH của nhân thơm xuất hiện trong vùng $\delta = 7,394-7,9$ ppm.

-Qua phổ ^{13}C -NMR xác định sự có mặt của 18 C, phổ DEPT xác định trong cấu trúc V_3 có 3 nhóm CH_2 , 1 nhóm $O-CH_2-O$, 6 nhóm CH, 7 nhóm carbon bậc 4, 1 nhóm CH_3 .

Qua những đặc điểm phổ nêu trên đối chiếu với các tài liệu tham khảo nhận thấy V_3 đồng nhất với roemerin.

-Kết quả giải phổ của V_3 được ghi ở bảng 1.



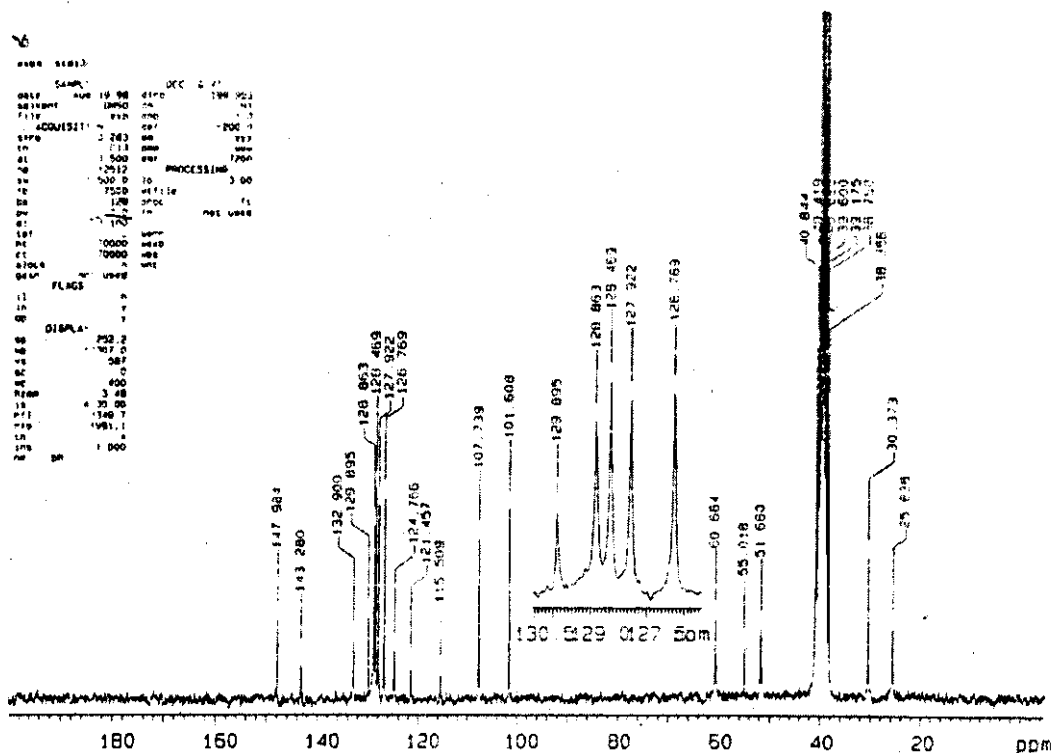
Hình 4. Phổ COSY của V_3

Bảng 1. Số liệu cộng hưởng từ hạt nhân của V₃. Tần số máy 200 MHz (50 MHz cho ¹³C)

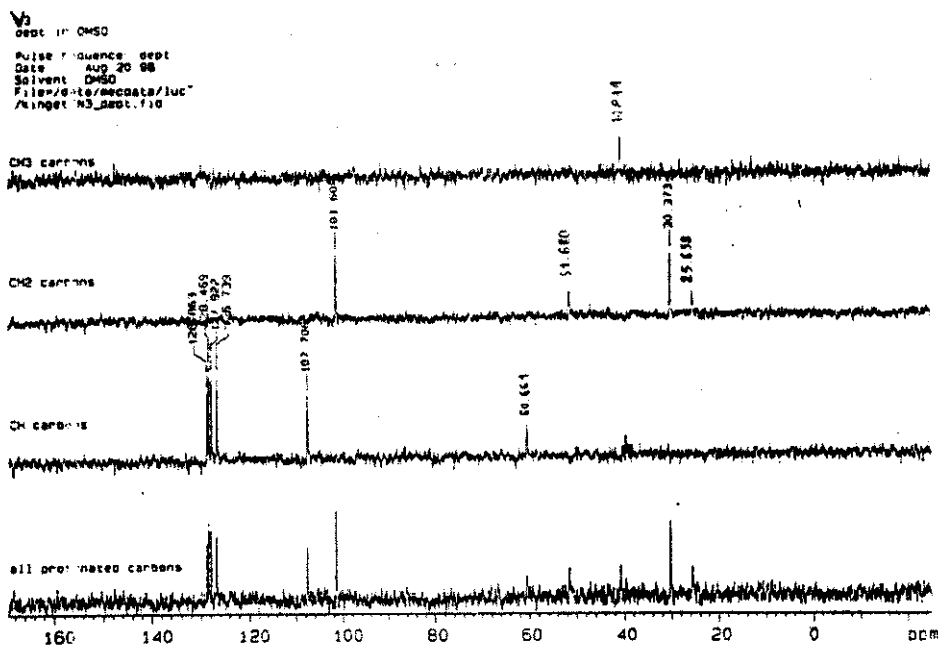
Ký hiệu	¹³ C-NMR (ppm)	¹ H-NMR (ppm)
4-CH ₂	25,638	2,500- 2,518
7-CH ₂	30,373	2,491- 2,509
6-N-CH ₂	40,844	2,482- 2,491
5-CH ₂	51,680	2,931- 3,024
6a-CH	60,664	4,4
O-CH ₂ O	101,608	6,223 (s)
3-CH	107,739	6,839 (s)
11b-C	115,509	
3a-C	121,457	
3b-C	124,766	
8-CH	126,769	7,394 (m)
9-CH	127,922	7,355 (m)
10-CH	128,469	7,365 (m)
11-CH	128,863	7,999- 8,037 (dd)
11a-C	129,895	
7a-C	132,900	
1-C	142,280	
2-C	147,894	

- Ở phổ ¹H-NMR có xuất hiện các Singulet tương ứng với các H của —O-CH₂O- và CH.
- H của 11-CH do tương tác với H của 10-CH và 9-CH (tương tác xa) tín hiệu là một doublet kép (double doublet) điều này cũng thể hiện rất rõ tại phổ COSY.
- H của 8,9, 10-CH tương tác với nhau multiplet (phổ COSY)
- Phổ ¹H cũng như ¹³C và COSY đều thấy 1 đám chồng pic cỡ 2,4-2,5 ppm (¹H) và 40 ppm (¹³C), đám pic này được gán cho các H cũng như C vị trí 4, 7, 6 và 5.

Do các dữ liệu trên có thể kết luận mẫu V₃ chính là roemerin.



Hình 5. Phổ ¹³C - NMR của V₃



Hình 6. Phổ DEPT của V₃

Phân thực nghiệm

Từ bột củ *S. glabra* (Roxb.) Miers [6] đã chiết xuất được hỗn hợp alcaloid, bằng sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng điều chế đã phân lập được chất V₃ tinh khiết. Tinh thể alcaloid V₃ không màu hoặc màu vàng nhạt, hoà tan trong ether, ethanol, methanol, clorofom.

-Độ chảy được đo trên máy Boetius của Đức; V₃ có độ chảy 101⁰-102⁰C.

-Đo phổ tử ngoại trên máy UV-VIS spectrophotometer cary 1E Varian (Australia) tại phòng thí nghiệm trung tâm Trường Đại học Dược Hà Nội. V₃ đo trong MeOH có các đỉnh hấp thụ $\lambda_{\max}$: 314, 444, 270, 232, 222, 213, 333.

-Đo phổ hồng ngoại trên máy FT-IE spectrophotometer 1650-Perkin Elmer (USA) tại phòng thí nghiệm trung tâm Trường Đại học Dược Hà Nội. V₃ có các đỉnh hấp thụ (Cm⁻¹): 2896,7; 2543,1; 2382,5; 1501,1; 1453,9; 1229; 1055; 972,5.

-Phổ khối được đo trên máy 5989B MS tại phòng cấu trúc Viện Hoá học. Ion hoá bằng và chạm electron với năng lượng 70ev và độ phân giải 0,01 mu.

-Phổ ¹H-NMR, COSY, ¹³C-NMR, DEPT được ghi trên máy có tần số 200MHz trong dung môi DMSO tại phòng thí nghiệm trường Đại học tổng hợp Leuven (Bỉ).

Kết luận

Căn cứ vào độ chảy, phổ tử ngoại, phổ hồng ngoại, kết quả phân tích phổ khối lượng, phổ ¹H-NMR, phổ COSY, và phổ ¹³C — NMR đã khẳng định cấu trúc của alcaloid V₃ chiết được từ loài *S. glabra* (Roxb.) Miers là phù hợp với cấu trúc của roemerin.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn GS. R. Busson trong việc đo phổ ¹H-NMR, COSY, ¹³C-NMR, và DEPT.

Tài liệu tham khảo

- 1). The Merck Index, twelfth Edition, 1996; 2). M. Debray, M. Plat and J. Lemen: *Annales pharmaceutiques françaises*, 25 (3), 237-242, 1967; 3). Phạm Ngọc Khanh, Luận án thạc sĩ hoá học, Viện Hoá học-Trung tâm KHTN và Công nghệ Quốc gia. 1998; 4). V. Dopke: *Ergebnisse der Alkaloid-chemie*. Akademie-Verlag Berlin 1976, 394; 5). *Journal of Natural products*, 57 (8), 1053, 1994; 6). Bùi Kim Liên, Nguyễn Tiến Vững, Phạm Thanh Kỳ, *Tạp chí Dược học*, tháng 5-1998, 4-5.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU CẢI TIẾN QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT ALCALOID TOÀN PHẦN VÀ AJMALICIN TRONG RỄ DỪA CẠN

Trần Văn Thanh - Xi nghiệp Dược phẩm TU2

Phạm Ngọc Hùng - Trường Đại học Dược Hà Nội

Trần Hữu Thị - Viện Dược liệu

Summary

The known methods for industrial extraction of *Catharanthus roseus* alkaloid was found to be unfeasible in Vietnam because of high toxicity of organic solvents used and the low efficacy of the procedure. Our studies show that, total alkaloids with high content of ajmalicine can be extracted from *Catharanthus roseus* roots using a simple but high efficient procedure without toxic organic solvents.

Key-words: *Catharanthus roseus*, Alkaloid Extraction

Đặt vấn đề

Cây dừa cạn (*Catharanthus roseus* G. Don, họ Trúc đào - Apocynaceae), đã được nghiên cứu và sử dụng ở nhiều nước trên thế giới. Việc chiết tách ajmalicin và các alkaloid khác của cây được tiến hành mạnh vào những năm 50 - 60 của thế kỷ XX [5]. Đã có nhiều quy trình chiết xuất và phân lập các alkaloid tinh khiết bằng sắc ký cột [5,6].

Ở nước ta, nghiên cứu chiết xuất phân lập alkaloid toàn phần và ajmalicin từ rễ dừa cạn cũng đã được tiến hành trong thời gian gần đây [2,3,4]. Các hoạt chất đã được chiết xuất pilot tại Xi nghiệp dược phẩm TU 2 [3,4].

Tuy nhiên, từ trước tới nay các quy trình còn sử dụng một số dung môi độc hại như benzen, cloroform và hiệu suất chiết còn thấp khoảng 50%. Trong bài này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu hoàn thiện quy trình chiết xuất để nâng cao hiệu suất alkaloid toàn phần và ajmalicin từ rễ dừa cạn và tránh dùng dung môi hữu cơ độc hại.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Nguyên liệu: Rễ dừa cạn 12 tháng tuổi,

được thu hái tại Tuy Hoà vào tháng 12 - 1997. Độ ẩm $10,5 \pm 1\%$ tính theo dược liệu khô tuyệt đối, alkaloid toàn phần là $1,2\% \pm 0,1\%$ và ajmalicin là $0,35 \pm 0,03\%$.

2. Phương pháp nghiên cứu:

- Định tính các alkaloid bằng sắc ký lớp mỏng [8].
- Định lượng alkaloid toàn phần bằng phương pháp môi trường khan (chưa công bố).
- Định lượng ajmalicin bằng quang phổ tử ngoại [7].
- Chiết xuất alkaloid toàn phần bằng phương pháp ngâm kiệt.

Thực nghiệm, kết quả và thảo luận

1. Thực nghiệm

1.1 Chiết xuất alkaloid toàn phần

Để nghiên cứu cải tiến, chúng tôi đã thực hiện 2 quy trình chiết xuất với qui mô 1 kg rễ/mẻ.

Quy trình 1 được tiến hành theo tài liệu đã công bố [4] chỉ khác là chúng tôi chiết toàn bộ lượng rễ dừa cạn sau khi xay. Quy trình này có thể tóm tắt bằng sơ đồ sau:

Đính chính

Tạp chí Dược liệu, số 4/1998, xin được sửa lại như sau:

- Trang 113, dòng 16 từ trên xuống, cột 2, "(dược liệu/ml nước)" sửa lại là "(g dược liệu/ml nước)".
- Trang 114, trong bảng 1, "ml" sửa lại là "µl", "clorid natri 9%" sửa lại là "clorid natri 9‰"; trong bảng 2, "dd NaCl 9%" sửa lại là "dd NaCl 9‰". Trang 117, "hình 2" sửa lại là "hình 1".
- Trang 126, dòng 8 từ trên xuống, "tác dụng đồng tế bào" sửa lại là "tác dụng chống tế bào"; dòng 17 từ trên xuống, cột 1, "ức chế" sửa lại là "ức chế u".

Thành thật xin lỗi tác giả và bạn đọc!

Tạp chí Dược liệu

Mặc dù hiệu suất chiết của quy trình 1 cao hơn trước (12 g alkaloid thô, tương đương 7,8 g alkaloid toàn phần/1 kg rễ) nhưng vẫn còn dùng dung môi độc hại (clorofoc) ở một số công đoạn, do đó, chúng tôi đã cải tiến và đề xuất quy trình 2.

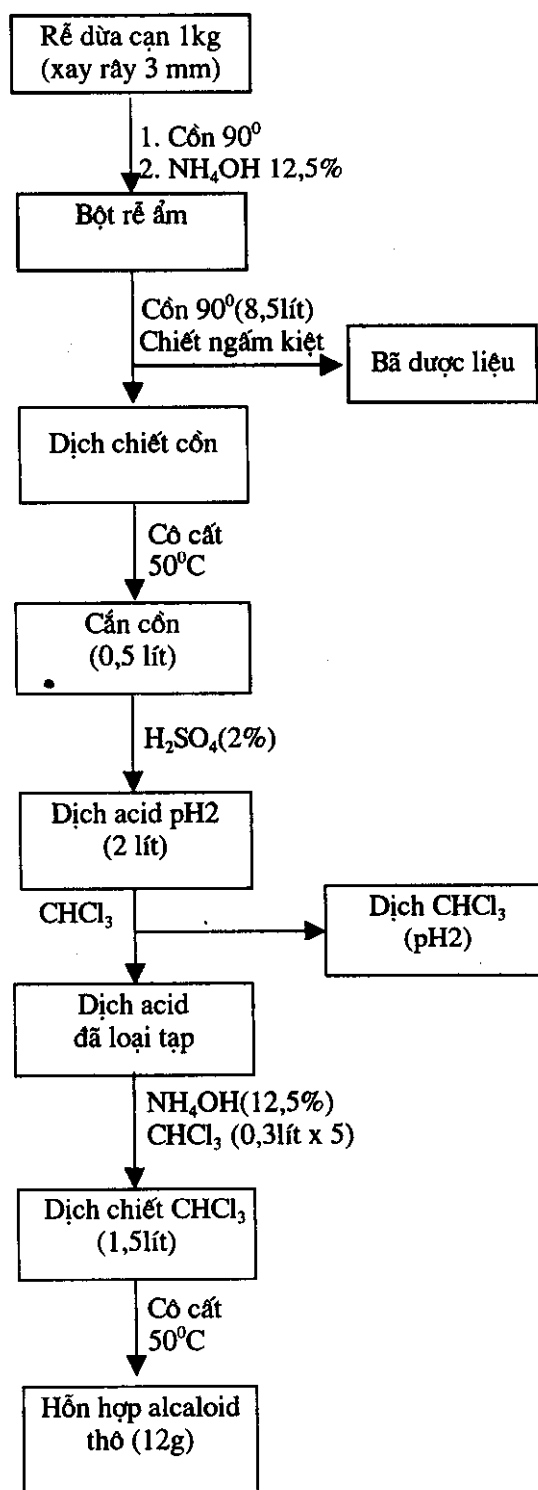
Trong quy trình 2, rễ dừa cạn (1 kg) được xay trên máy xay búa rây cỡ 3 mm, làm ẩm bằng 4l dung dịch acid tartric 2% trong 12 giờ, sau đó nạp lên bình ngâm kiệt inox. Dược liệu được ngâm với 2 lít cồn 96° trong 4h. Vừa rút dịch chiết (20ml/phút) vừa bổ sung dung môi cho đến khi dịch chiết cho phản ứng âm tính với thuốc thử Meyer. Cỏ dịch chiết dưới áp lực giảm trên máy cất quay ở 50°C. Cắn thu được trộn với dung dịch H₂SO₄ 0,1% (500ml). Lọc áp lực giảm. Dịch lọc trộn với bột giấy, khuấy kỹ trong 1 giờ rồi lọc tiếp qua phễu. Kiểm hoá dịch lọc bằng NH₄OH đặc tới pH10. Lọc lấy tủa. Rửa tủa bằng nước cất lạnh tới khi dịch rửa đạt pH7. Sấy tủa alkaloid thô ở 50°C tới khô (sơ đồ quy trình 2).

1.2. Phân tích alkaloid toàn phần:

a). Sắc ký lớp mỏng:

Dùng bản mỏng silica-gel GF 254 của hãng Merck 5 x 20cm. Lớp mỏng dày 250µm, hoạt hóa ở nhiệt độ 120°C trong 30 phút. Ajmalicin chuẩn và alkaloid toàn phần được hòa tan riêng rẽ trong cloroform. Hệ dung môi triển khai là CHCl₃ - CH₃OH (99:1). Chiều chạy từ dưới lên (15 cm). Chạy bậc thang 2 lần. Bản mỏng sau khi triển khai được soi dưới đèn UV ở bước sóng 254nm. Kết quả:

SƠ ĐỒ QUY TRÌNH 1



cả 2 mẫu thử alkaloid toàn phần thu được đều có 6 vết, trong đó có 1 vết ngang với vết ajmalicin chuẩn, có giá trị $R_f = 0,52$. Khi phun thuốc thử ceric amoni sulfat thì vết này cho màu vàng chanh giống với ajmalicin chuẩn. Như vậy cả 2 mẫu đều có ajmalicin.

b). Định lượng:

Alcaloid toàn phần trong các mẫu alkaloid thô được định lượng bằng phương pháp môi trường khan. Hàm lượng ajmalicin trong alkaloid toàn phần được xác định bằng phương pháp quang phổ tử ngoại ở bước sóng $\lambda = 282\text{nm}$ [7].

2. Kết quả và thảo luận :

Các kết quả phân tích hàm lượng alkaloid toàn phần và hàm lượng ajmalicin chiết xuất được từ rễ dừa cạn được thể hiện ở bảng 1.

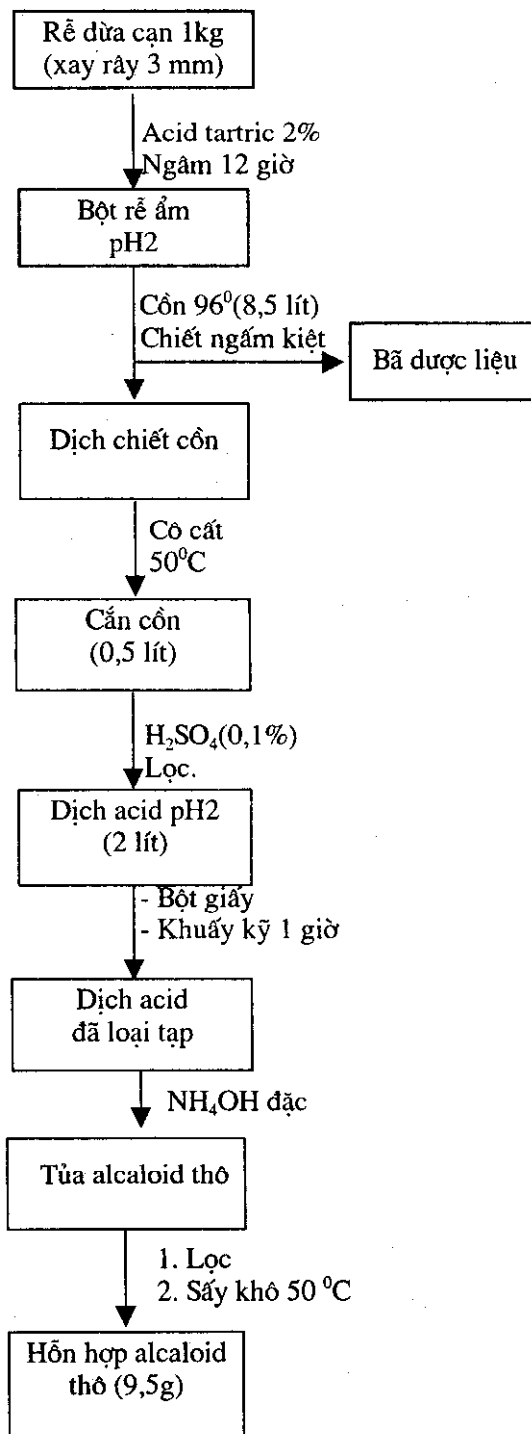
Nhận xét :

Kết quả phân tích trong bảng 1 cho thấy quy trình 2 có hiệu suất chiết của alkaloid toàn phần và ajmalicin đều cao hơn so với quy trình 1.

Kết luận

Đã chiết xuất alkaloid toàn phần và ajmalicin từ rễ dừa cạn bằng một quy trình cải tiến (quy trình 2). Quy trình này không dùng dung môi hữu cơ độc hại, có hiệu suất cao hơn các quy trình trước đây và có thể áp dụng ở quy mô pilot thay thế cho quy trình đã và đang được sử dụng ở Xí nghiệp Dược phẩm TU2.

SƠ ĐỒ QUY TRÌNH 2 (quy trình cải tiến)



Bảng 1. So sánh 2 quy trình chiết xuất alkaloid toàn phần rễ dừa cạn với quy mô 1kg bột rễ/mẻ.

Quy trình	Mẻ chiết	Hỗn hợp alkaloid thô (g)	Hàm lượng alkaloid*		Hiệu suất chiết ** (%)	Hàm lượng ajmalicin* (%)
			(%)	(g)		
QT1	1	12,6	64,5	8,127	75,7	18,9
	2	11,9	64,9	7,723	71,9	19,9
	3	11,5	65,6	7,544	70,2	19,7
	TB	12,0	65,0	7,8	72,6	19,5
QT2	1	8,8	85,2	7,498	69,8	26,8
	2	9,7	84,9	8,235	76,7	27,5
	3	10,0	84,9	8,49	79,1	27,9
	TB	9,5	85,0	8,075	75,7	27,4

* Các số liệu ở cột là giá trị trung bình của 3 lần định lượng trên từng mẫu phân tích.

** Tỷ lệ phần trăm của lượng alkaloid toàn phần so với hàm lượng có trong rễ (1,2%).

Tài liệu tham khảo

1). Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản KHKT năm 1997 tr. 324; 2). Nguyễn Văn Hối, Bùi Quang Tùng, Bùi Lệ Mỹ, Trần Nguyên Hữu, Nguyễn Tất Tế. *Tạp chí Dược học*, số 1 - 1973. 27 - 29; 3). Phạm Thanh Kỳ, Trần Nguyên Hữu, Nguyễn Việt Hùng. *Tạp chí Dược học*, số 5 - 1995 - tr 2,3; 4). Trần Văn Thanh, Nguyễn Xuân Chiến, Nguyễn Việt Hùng. *Tạp chí Dược học*, số 3. 1996. Tr.19 - 20; 5). Svoboda G.H., Norbert Neuss and Marvin Gorman. *J. Am. Pharm. Assoc.* Vol. XLVIII, N^o 11. 659 - 666, 1959; 6). Svoboda G.H., Thornton Oliver. A., and Donald R., Bedwill. *LLoydia*, Vol. 26, N^o 3; 141 - 153. 1963; 7). Gleye J., Lavergne de Cerval.E. *Annales pharmaceutique Francaises*, 37, N^o 5 - 6, 217- 224, 1979; 8). Nancy J. Cone, Ruthanne Miller and Norbert Neuss. *J. Pharm. Sci*, 52 (7), 688-691, 1963.

Tạp chí Dược liệu, tập 4, số 1/1999 (trang 24-28)

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU PHƯƠNG THUỐC TAM TỬ THANG

Phạm Xuân Sinh, Cao Văn Thu, Trần Thị Oanh

Trường Đại học Dược Hà nội.

Summary

"Tam tử thang", a traditional remedy consisting of semen Raphani, semen Brassicae and fructus Perillae in varying ratios is mainly used for the treatment of respiratory inflammation.

Two combinations of the herbal drugs have been chosen and studied chemically and biologically. Chemical composition and antibiotic properties of the remedy varied with the ratio of the herbal drugs and their ways of processing. Unroasted combination of 10 g of each component gave the best results in regard to antibiotic, anti-tussive and expectorant properties.

Key-words: Semen Raphani, Semen Brassicae, Fructus Perillae, Antibiotic, Anti-tussive, Expectorant.

Đặt vấn đề

Phương thuốc 'Tam tử thang' đã được dùng từ lâu trong y học cổ truyền với công dụng chủ yếu là điều trị các bệnh viêm phế quản.

Hiện nay, y học hiện đại cũng có rất nhiều chế phẩm để điều trị chứng bệnh này, nhưng còn gặp nhiều khó khăn trong lâm sàng như tình trạng kháng thuốc, dị ứng thuốc, đặc biệt đối với các thể mạn tính ở người cao tuổi. Bên cạnh đó, các bài thuốc cổ truyền được tạo thành từ các vị được liệu có nguồn gốc thiên nhiên cho hiệu quả điều trị tốt lại gần gũi với nhân dân và ít tác dụng phụ.

Do đặc điểm vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa của nước ta, căn bệnh viêm nhiễm đường hô hấp rất phổ biến. Với mục đích nghiên cứu tác dụng dược lý, tác dụng sinh học và kiểm định các thành phần hoá học của phương thuốc Tam tử thang, chúng tôi hy vọng phương thuốc này sẽ được sử dụng ngày càng rộng rãi.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Nguyên liệu

-Các vị thuốc trong Tam tử thang được phối hợp theo tỉ lệ như sau:

Vị thuốc	Công thức 1 (T1)	Công thức 2 (T2)
Lai phục tử (Semen Raphani) (LPT)	10 g	10 g
Bạch giới tử (Semen Brassicae) (BGT)	10 g	10 g
Tô tử (Fructus Perillae) (TT)	3 g	10 g

Mỗi công thức trên được chế biến dưới 2 dạng: sao (T1s, T2s) và không sao (T1k, T2k).

-Dụng cụ và súc vật nghiên cứu tác dụng dược lý. Dụng cụ và các chủng vi sinh vật thử tác dụng kháng khuẩn.

-Dụng cụ, hoá chất, thuốc thử định tính, định lượng các thành phần hóa học.

2. Phương pháp nghiên cứu:

2.1. Hoá học

-Định tính các thành phần hoá học bằng phương pháp ống nghiệm và sắc ký lớp mỏng.

-Định lượng tinh dầu và chất béo có trong vị thuốc.

2.2. Thử tác dụng sinh học của phương thuốc:

-Khảo sát tính an toàn của phương thuốc: Thử độc tính cấp diễn theo phương pháp của Viện Kiểm nghiệm Bucarest (Rumani).

-Thử tác dụng chống ho.

-Thử tác dụng trừ đờm bằng phương pháp đồ phenol.

-Thăm dò tác dụng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trong môi trường thạch. Vi sinh vật thí nghiệm gồm các chủng:

Gram(+): *Bacillus subtilis* (Bs), *Bacillus cereus* (Bc), *Bacillus pumilus* (Bp), *Sarcina lutea* (Sl), *Staphylococcus aureus* (Sa). Kháng sinh chuẩn là Penicillin G (Pen).

Gram (-): *Shigella flexneri* (Shi), *Salmonella typhi* (Sal), *Escherichia coli* (Ec), *Proteus mirabilis* (Prm), *Pseudomonas aeruginosa* (Pseu). Kháng sinh chuẩn Streptomycin (Step).

Kết quả thực nghiệm

1. Phân hoá học

1.1 Các phản ứng định tính thành phần hoá học:

-Bằng phương pháp ống nghiệm với các phản ứng đặc trưng cho kết quả trong bảng sau:

Bảng 1. Thành phần hoá học của TT, BGT, LPT, T1s, T1k, T2s, T2k.

Mẫu thử	Tinh dầu	Dầu béo	Glucosid	Alcaloid	Flavonoid
LPT	+++	+++	+++	+++	+++
BGT	+++	+++	+++	+++	+++
TT	-	+++	-	-	-
Ts	++	+	+++	+++	+++
Tk	+++	+++	+++	+++	+++

Ghi chú: (-): Phản ứng không xảy ra

(+ +): Phản ứng lên rõ

(+): Phản ứng dương tính

(+ + +): Phản ứng lên rất rõ

Nhận xét: Kết quả trên cho thấy dạng chế biến T1s và T2s có ảnh hưởng tới hàm lượng dầu béo và tinh dầu.

-Định tính các thành phần hoá học bằng sắc ký lớp mỏng cho kết quả như sau:

Bảng 2. Sắc ký lớp mỏng glucozid

	Dịch chạy sắc ký	Vết	R _f x 100	Màu sắc
-Dung môi khai triển: $n\text{BuOH-CHCl}_3(1:9)$ -Thuốc thử hiện màu: dd dinitrobenzen để 5' ở 60°C, hỗn hợp TT: 6 g NaOH + 25 ml H_2O + 45 ml methanol	Lai phục tử	L1	76,2	Hồng
	Bạch giới tử	B1	76,4	Hồng vàng
		B2	69,4	Nâu đậm
		B3	27,2	Tím hồng
	T2s	Vết không thay đổi		
	T2k	Vết không thay đổi		

Nhận xét: Quá trình sao không làm thay đổi thành phần glucozid của vị thuốc.

Bảng 3. Sắc ký lớp mỏng alcaloid

	Dịch chạy sắc ký	Vết	R _f x 100	Màu sắc
Dung môi khai triển: $n\text{Benzen-CHCl}_3$ (1:1) Thuốc thử hiện màu: TT Dragendorff	Lai phục tử	AL1	22,2	Vàng
		AL2	11,2	Vàng
		AL3	7,8	Vàng
	Bạch giới tử	AB1	72,2	Vàng
		AB2	26,6	Vàng
		AB3	10,0	Vàng
	T2s	Vết không thay đổi		
	T2k	Vết không thay đổi		

Nhận xét: Quá trình chế biến không làm thay đổi thành phần alcaloid của vị thuốc.

1.2. Kết quả định lượng hàm lượng dầu béo và tinh dầu được giới thiệu trong bảng 4:

Bảng 4.

Dược liệu	Dầu béo (%)	Tinh dầu (%)
TT	11,3	
BGT	27,2	0,13
LPT	41,4	0,03

sắc gần cạn, gạn lấy dịch. Làm 3 lần, gộp dịch chiết cô được tỉ lệ 3/1.

-Tiến hành: Chọn 10 con chuột nhắt trắng nặng 18-20 gam đủ tiêu chuẩn thí nghiệm, cho mỗi con uống 1 ml dịch thử, theo dõi chuột 72 giờ sau khi uống.

-Kết quả: Tất cả chuột đều sống bình thường không có biểu hiện mệt mỏi.

-Kết luận: Tam thử thang không độc ở liều 150g/kg thể trọng chuột nhắt trắng.

2.2. Tác dụng chống ho:

-Dịch thử: Chiết theo phương pháp trên, cô được tỉ lệ (1/1)

-Tiến hành: Chọn 60 chuột nhắt trắng, nặng 18-20 gam đủ tiêu chuẩn thí nghiệm. Chia thành 6 lô:

- Lô 1 (lô chứng) : Cho uống 0,5 ml nước cất
- Lô 2 (lô quy chiếu) : Cho uống 0,5 ml codein phosphat 0,4%
- Lô 3 (lô thử 1) : Cho uống 0,5 ml dịch chiết T1s
- Lô 4 (lô thử 2) : Cho uống 0,5 ml dịch chiết T1k
- Lô 5 (lô thử 3) : Cho uống 0,5 ml dịch chiết T2s
- Lô 6 (lô thử 4) : Cho uống 0,5 ml dịch chiết T2k

Sau khi cho chuột uống 1 giờ, xông hơi amoniac trong điều kiện hằng định về nhiệt độ để gây ho cho chuột, đếm số tiếng ho của chuột, rồi xử lý số liệu thực nghiệm bằng phương pháp thống kê áp dụng cho sinh y học, với kết quả ở độ tin cậy 95% theo bảng sau:

Bảng 5. Kết quả thử tác dụng chống ho

Lô thử	Chứng	Codein P	T1s	T1k	T2s	T2k
Liều		10g/kg	25g/kg	25g/kg	25g/kg	25g/kg
Số tiếng ho ($\bar{x} \pm t_{\alpha} s$)	23,6 $\pm$ 6,38	6,0 $\pm$ 1,05	7,7 $\pm$ 1,24	11,4 $\pm$ 3,03	8,5 $\pm$ 2,14	4,4 $\pm$ 0,89

Tra bảng Student-Fisher cho $T_0=2,23$, kiểm định test T cho kết quả như sau:

Bảng 6. Đánh giá kết quả thực nghiệm chống ho

Mẫu so sánh	Giá trị T	Đánh giá
Chứng - Codein	3,06	$T > T_0$: sự khác nhau có ý nghĩa thống kê
Chứng - T1s	2,0	$T < T_0$: sự khác nhau không có ý nghĩa thống kê
Chứng - T1k	2,37	$T > T_0$: sự khác nhau có ý nghĩa thống kê
Chứng - T2s	2,6	$T > T_0$: sự khác nhau có ý nghĩa thống kê
Chứng - T2k	3,43	$T > T_0$: sự khác nhau có ý nghĩa thống kê
Codein - T2k	0,97	$T < T_0$: sự khác nhau không có ý nghĩa thống kê

Nhận xét: Tam tử thang có tác dụng chống ho ở liều 25g/ kg thể trọng chuột nhất trắng và tác dụng chống ho của T2k ở liều 25g/ kg tương đương tác dụng chống ho của codein phosphat 0,04% ở ngưỡng 0,05.

2.3 Thăm dò tác dụng trừ đờm

-Dịch thử: Dịch chiết của T2k chuẩn bị tương tự dịch thử tác dụng chống ho.

-Tiến hành: Chọn 30 chuột nhất trắng nặng 18- 20 gam đủ tiêu chuẩn thí nghiệm, chia làm 3 lô:

-Lô 1 (lô chứng): cho uống 0,5 ml nước cất

-Lô 2 (lô qui chiếu): cho uống 0,5 ml dd natri benzoat 3%

-Lô 3 (lô thử): cho uống 0,5 ml dịch chiết T2k

Sau khi cho chuột uống 30 phút, tiêm vào phúc mạc chuột 0,5 ml dd đỏ phenol 0,6%. Sau 1 giờ, bóc lộ khí quản chuột, rửa 3 lần bằng 0,5 ml dd NaHCO_3 10%. Gộp dịch rửa của từng con vào

ống nghiệm rồi đem so sánh với dãy chuẩn đỏ phenol đã được pha sẵn ở nồng độ 0,1-2,0 g/l. Xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê cho kết quả như sau với độ tin cậy 95%:

Bảng 7. Kết quả thử tác dụng trừ đờm

Lô thử	Liều thử	Nồng độ đỏ phenol
Chứng		0,1
dd natri benzoat	75/ kg	0,2 $\pm$ 0,11
T2k	25 g/ kg	0,2 $\pm$ 0,09

Tra bảng Student-Fisher cho $T_0=2,23$, kiểm định test T cho kết quả như sau:

Bảng 8. Đánh giá kết quả thực nghiệm trừ đờm

Mẫu so sánh	Giá trị T	Đánh giá
Chứng - Na benzoat	6,37	$T > T_0$: sự khác nhau có ý nghĩa thống kê
Chứng - T2k	5,93	$T > T_0$: sự khác nhau có ý nghĩa thống kê
Na benzoat - T2k	0,72	$T < T_0$: sự khác nhau không có ý nghĩa thống kê

Nhận xét: Tam tử thang có tác dụng long đờm ở liều 25 g/kg thể trọng chuột nhắt trắng. Tác dụng long đờm của T2k tương đương 75 mg natri benzoat /kg thể trọng chuột nhắt trắng ở ngưỡng 0,05.

2.4. Thẩm dò tác dụng kháng sinh:

-Dịch thử: Dịch chiết của 10 gam TT, BGT, LPT, T1s, T1k, T2s, T2k.

-Tiến hành: Tẩm dịch thử vào các khoan giấy lọc vô trùng, để khô rồi đặt vào các đĩa thạch đã nuôi cấy các chủng vi sinh vật cho hoạt chất khuếch tán. Đo các vòng vô khuẩn tạo thành (nếu có). Tiến hành hiệu chỉnh chọn lọc được kết quả như sau:

Bảng 9. Kết quả thử tác dụng kháng khuẩn

Chủng	Đường kính vòng vô khuẩn									
Dịch thử	Bc	Bs	Bp	Sl	St	Shi	Sal	Ec	Pseu	Prm
TT	6,5	-	-	-	-	-	-	6,0	7,8	-
BGT	6,75	-	-	-	7,0	-	-	-	-	-
LPT	6,7	-	-	-	-	-	-	6,01	7,45	-
T1k	-	-	-	7,3	6,0	-	-	-	6,1	-
T1s	-	7,67	-	7,15	6,1	-	5,8	6,2	6,1	-
T2k	5,97	6,3	-	7,6	6,05	-	-	6,1	6,1	-
T2s	5,65	-	-	6,2	-	-	5,8	-	6,1	-
Step	-	-	-	-	-	5,85	5,9	6,1	5,8	6,0
Pen	15,0	10,8	6,1	19,6	18,5	-	-	-	-	-

Nhận xét: Sự phối hợp các vị thuốc cho phổ tác dụng kháng sinh rộng lên.

Kết luận

1. Hoá học:

Sơ bộ xác định thành phần hoá học cho kết quả như sau:

- Tô tử có 11,3% dầu béo
- Bạch giới tử có 0,13% tinh dầu, 27,2% dầu béo, alcaloid, glucosid, flavonoid.
- Lai phục tử có 0,03% tinh dầu, 41,1% dầu béo, alcaloid, glucosid, flavonoid.
- Phương T1s, T2s có sự thay đổi hàm lượng dầu béo và tinh dầu.

2. Tác dụng sinh học:

- Thử tác dụng dược lý:
- Tam tử thang không độc ở liều 150 g/kg thể trọng chuột nhắt trắng.
- Tam tử thang có tác dụng chống ho và trừ đờm, trong đó thang T2k cho tác dụng tốt hơn.
- Thử tác dụng kháng khuẩn:
- Tô tử có tác dụng ức chế *Bacillus cereus*,

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli*

- Bạch giới tử ức chế *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*.

- Lai phục tử ức chế *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

Tam tử thang cho tác dụng kháng khuẩn khác nhau khi tỉ lệ phối hợp hay chế biến khác nhau:

T1k: *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Pseudomonas aeruginosa*

T1s: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*.

T2k: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

T2s: *Bacillus cereus*, *Sarcina lutea*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Tài liệu tham khảo

- 1). Dược điển Việt Nam tập I. NXB Y học, Hà Nội, 1971, tr. 723; 2). Dược điển Việt Nam tập II. Phần đông dược. NXB Y học, Hà Nội, 1994; 3). Vũ Văn Chuyên. Thực vật học tập II. NXB Y học, 1987; 4). Nguyễn Văn Đàn-Nguyễn Viết Tự. Phương pháp nghiên cứu thành phần hoá học của cây thuốc. NXB Y học, 1985; 5). Lương y Lê Trần Đức. Cây thuốc Việt Nam. NXBKHK 1997, 889-990; 6). Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXBKHK, 1995; 7). Trần Văn Kỳ. Dược học cổ truyền. NXB Thành phố Hồ Chí Minh, 1995.

VỀ HỘI NGHỊ ASOMPS IX (HỘI NGHỊ CHÂU Á LẦN THỨ 9 VỀ CÂY THUỐC, GIA VỊ VÀ CÁC SẢN PHẨM THIÊN NHIÊN KHÁC)

Nguyễn Xuân Dũng

ASOMPS IX được tổ chức tại Hà Nội từ 24 đến 28 tháng 9 năm 1998 với sự tham gia của 335 nhà khoa học, các nhà quản lý, hoạch định chính sách của 30 nước trong đó có 135 khách nước ngoài và gần 200 nhà khoa học Việt Nam.

Lễ khai mạc được tổ chức long trọng tại khách sạn Bảo Sơn vào tối ngày 24 tháng 9 năm 1999 với sự có mặt của Phó Thủ tướng Phạm Gia Khiêm.

Các quan khách quốc tế và Việt Nam đã đọc lời chào mừng hội nghị với nội dung "Cây thuốc, gia vị và các sản phẩm thiên nhiên khác" đã và đang đóng vai trò quan trọng trong cuộc sống của các dân tộc ở châu Á cũng như ở các châu lục khác. Việc nghiên cứu, khai thác một cách hiệu quả, việc bảo tồn các nguồn gen và tính đa dạng sinh học cũng như sự bền vững của môi trường nói chung và cây thuốc, cây tinh dầu, cây gia vị nói riêng trở nên vô cùng khẩn cấp. Việc nghiên cứu cây thuốc đã tạo ra những sản phẩm mới có ứng dụng toàn cầu ngày càng được nhiều nhóm nghiên cứu, các công ty trên thế giới đầu tư và quan tâm. Những căn bệnh gây tổn hại đến sức khoẻ của cộng đồng như sốt rét, lao, HIV, ung thư v.v. đang là mục tiêu nghiên cứu của nhiều nhà khoa học nhằm tìm ra các loại thuốc có tác dụng hữu hiệu.

Việc hoạch định các chính sách cho mục tiêu vì sức khoẻ của cộng đồng là cấp bách, trong đó phải kể đến các luật lệ về khai thác tài nguyên thiên nhiên, sự cộng tác quốc tế bình đẳng, cùng có lợi giữa các nước đang phát triển và phát triển để thực hiện mục tiêu trên. Việc khai thác không có kế hoạch, nạn phá rừng với quy mô lớn đã làm tổn hại đến tài nguyên động thực vật, đến sinh thái môi trường đòi hỏi các quốc gia phải có những luật lệ, chính sách và các biện pháp hữu hiệu nhằm bảo tồn tính đa dạng sinh học cho thế giới ngày nay và mai sau.

Hội nghị đã nghe 12 báo cáo chung, 18 báo cáo song song ở hai ban của các nhà khoa học đầu ngành, 70 báo cáo ở 4 tiểu ban, 105 báo cáo treo tường về các lĩnh vực hoá thực vật, các hoạt chất sinh học, tách và xác định cấu trúc các hợp chất thiên nhiên từ biển, trên đất liền, các loại nấm,

tổng hợp các hợp chất thiên nhiên, dược liệu, dược lý học và đa dạng sinh học.

Sau đây là một số lĩnh vực lớn đã được trình bày ở hội nghị:

- Xu hướng tự động hoá việc chiết tách và đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất tự nhiên, đặc biệt là việc ghép nối các phương pháp sắc ký với các phương pháp quang phổ để nâng cao hiệu suất chiết và xác định đồng thời cấu trúc của chúng.

- Thành phần hoá học của nhiều họ cây thuốc, trong đó alkaloid, flavonoid, steroid,... là những nhóm chất được nhiều báo cáo đề cập.

- Tổng hợp và bán tổng hợp các hợp chất tự nhiên.

Ngoài ra, còn có các báo cáo về nghiên cứu các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu biển, từ nấm, các nghiên cứu về tinh dầu và gia vị.

Cuối hội nghị, có hội thảo về "Thực vật châu Á năm 2000" (Botany - 2000 - Asia) được sự chủ toạ của TS. Newille Marchaut, Giám đốc bảo tàng thực vật Tây Úc, với chủ đề "Thực vật dân tộc và chủ quyền của cộng đồng" (Ethnobotany and Community Rights).

Các báo cáo về luật lệ, sách lược và mô hình đánh giá cũng như bảo tồn đa dạng sinh học, về đào tạo các nhà khoa học nghiên cứu triển khai (R & D) cũng được thể hiện trong một số báo cáo của hội nghị nhưng cũng chưa nêu lên được cách giải quyết vấn đề ở tầm vi mô và vĩ mô.

Tuy tiêu đề hội nghị có vấn đề gia vị, nhưng rất ít báo cáo về vấn đề này, đây là điểm yếu của các hội nghị ASOMPS từ trước đến nay, mặc dù khu vực châu Á là khu vực sản xuất và sử dụng gia vị từ lâu và là nơi xuất khẩu các loại gia vị cho thế giới; có lẽ hội nghị chủ yếu do các nhà hoá học tham gia.

ASOMPS IX đã thành công rực rỡ, các nhà khoa học ở châu Á và thế giới đã có tiếng nói chung, trong định hướng phát triển, trong hợp tác quốc tế, trong các vấn đề cấp bách phải làm để chuẩn bị bước sang thế kỷ 21 và chuẩn bị cho ASOMPS X tại Dakka - Bangladesh năm 2000.

CỦ CHÓC

Hỏi: Ở nước ta, không có vị thuốc bán hạ. Một số thầy thuốc y học cổ truyền đã dùng củ chóc để thay thế. Xin cho biết cụ thể vị thuốc này.

Nguyễn Chí Cường

(Hà Nội)

Đáp: Bán hạ là một vị thuốc bắc. Dược liệu là thân rễ của cây *Pinellia ternata* (Thunb.) Ten. ex Breit., thuộc họ Ráy (Araceae), không thấy mọc ở nước ta. Từ lâu, các thầy thuốc y học cổ truyền trong nước đã dùng thân rễ củ chóc thay thế bán hạ.



Củ chóc (*Typhonium trilobatum* (L.) Schott) cùng họ Ráy, có tên khác là chóc chuột, ba chìa, bán hạ, bán hạ nam, bán hạ ba thùy, nam tính; phắc hèo (Tây), co thả lửa (Thái), năng pía hấu (Dao), là một cây cỏ, sống hàng năm, cao 20-30 cm. Rễ củ hình cầu có những khía ngang. Lá có cuống dài pha màu đỏ tía nhạt, phần gốc loe ra thành bẹ; phiến lá chia ba thùy, thùy giữa to, hai thùy bên hẹp hơn, gốc hình tim, đầu nhọn, mép uốn lượn; gân lá mặt dưới đôi khi cũng có màu đỏ tím. Cụm hoa là một bông mo ngắn hơn lá, màu lục pha đỏ tím, phần thùy thành bản rộng, thuôn nhọn dần ở đầu; hoa nhiều và nhỏ gồm hoa đực, hoa cái và hoa không sinh sản, có mùi khó ngửi. Mùa hoa quả: tháng 5-7.

Cây mọc hoang ở chỗ ẩm mát trong vườn, bãi cỏ ven đường, ven rừng, nương rẫy, ruộng bỏ hoang, trên đất phù sa bãi sông.

Còn có loài củ chóc ri (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) và rau chóc (*T. flagelliforme* Blume) với dáng cây nhỏ hơn, đôi khi cũng được dùng với công dụng tương tự.

Rễ củ chóc thu hái vào giữa mùa hạ, cắt bỏ rễ con, rửa sạch, phơi hay sấy khô. Khi dùng uống,

phải chế biến như sau: Ngâm rễ củ vào nước vo gạo trong 1-2 ngày. Vớt ra, rửa sạch, ngâm với nước phèn chua trong 2 ngày với tỷ lệ 50 g phèn cho 1 kg dược liệu để loại trừ tác dụng gây ngứa. Sau cùng, tẩm nước gừng (300 g gừng cho 1 kg dược liệu) để tăng tác dụng trị ho. Lấy ra, phơi khô, thái mỏng, tẩm nước cam thảo, sao vàng. Dược liệu có vị cay, vào tỳ phế, có tác dụng giảm ho, tiêu đờm, chống nôn, chữa ho gió, ho có đờm, ho lâu ngày, hen suyễn, nôn mửa. Dùng riêng hoặc phối hợp với các vị thuốc khác theo công thức sau:

-Rễ củ chóc (150 g), vỏ quýt khô (150 g), vỏ rễ dâu (150 g), cát cánh (100 g), ô mai (100 g), lá chanh (100 g), lá táo (100 g), cam thảo dây (100 g), đường (200 g). Củ chóc, vỏ quýt, rễ dâu, cát cánh đem phơi và sấy cho khô giòn, tán bột; ô mai bóc lấy cùi, giã nhuyễn; lá chanh, lá táo, cam thảo dây sắc với 400 ml nước còn khoảng 50 ml; đường nấu thành sirô. Tất cả trộn đều làm viên 0,5 g. Người lớn dùng 15-20 viên một ngày. Trẻ em tùy tuổi: 5-15 viên. Ngâm làm nhiều lần.

-Bột củ chóc (8 g) trộn đều với bột gừng (5 g), rồi hãm với nước sôi, để nguội, uống làm một lần trong ngày.

-Rễ củ chóc (15 g), vỏ quýt (15 g), hạt cải củ (15 g), hạt cải bẹ (10 g), sắc uống trong ngày (kinh nghiệm của tỉnh hội y học dân tộc Thanh Hoá).

Dùng ngoài, rễ củ chóc tươi giã nát, đắp chữa mụn nhọt, sưng tấy, rắn cắn.

Theo tài liệu nước ngoài, ở Ấn Độ, củ chóc chuột được dùng chữa bệnh đau dạ dày, đau bụng, trĩ; củ chóc ri có tác dụng chữa tiêu chảy.

Đỗ Huy Bích

CÁC THÀNH PHẦN CÓ TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA RỄ BẠCH CHỈ (*ANGELICA DAHURICA*)

Yong Soo Kwon và cs
Phytochemistry 1997, 44, 5, 887-889

Từ rễ cây bạch chỉ (*Angelica dahurica*), các tác giả đã chiết được 7 chất coumarin, nhận dạng là 5,8 - di (2,3 - dihydroxy - 3 - methylbutoxy) - psoralen (1), (R) - heraclenol (2), isoimperatorin (3), imperatorin (4), phellopterin (5), byakangelicin (6), scopoletin (7) và một dẫn chất phenol, nhận dạng là acid ferulic (8).

Chất 5,8-di(2,3-dihydroxy-3-methyl-butoxy)-psoralen lần đầu tiên được công bố. Tám hợp chất nói trên có tính kháng khuẩn và kháng nấm như sau:

Nồng độ tối thiểu ức chế kháng khuẩn, kháng nấm ($\mu\text{g/ml}$):

Các vi sinh vật thử	Nồng độ tối thiểu của các chất thử ($\mu\text{g/ml}$)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Bacillus subtilis</i>	>1000	62,5	>1000	500	250	250	250	>500
<i>Escherichia coli</i>	>1000	>1000	>500	1000	>1000	>1000	>250	100 062,5
<i>Cladosporium herbarum</i>	>500	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	62,5	250
<i>Aspergillus candidus</i>	>62,5	250	>1000	>1000	>1000	250	>125	125

N.V

CÁC CHẤT CÓ TÁC DỤNG VỚI HISTAMIN TỪ RỄ BẠCH CHỈ (*ANGELICA DAHURICA* VAR. *DAHURICA*)

Yoshiyuki Kimura và cs
J. Nat. Prod. 1997, 60, 249-251

Từ rễ khô bạch chỉ (*Angelica dahurica* var. *dahurica*), các tác giả đã chiết tách được 6 chất và xác định là bergapten, oxypeucedanin, oxypeucedanin hydrat, byakangelicin, sec-o-acetyl-byakangelicin, phellopterin.

Ba chất bergapten, oxypeucedanin hydrat và byakangelicin có tác dụng ức chế tăng histamin do hợp chất 48/80 (là chất do ngưng tụ N-methyl-p-methoxyphenylamin và formaldehyd) tạo ra ở liều 25 mg/kg.

Ngược lại, chất sec-o-acetylbyakangelicin lại làm tăng histamin do hợp chất 48/80 tạo ra ở liều 25 mg/kg trong khi đó phellopterin và oxypeucedanin lại không có tác dụng.

N.V

SESQUITERPEN TỪ NGHỆ XANH (*CURCUMA AERUGINOSA*)

Hasnah M. Sirat và cs
Planta Medica 1998, 64(6), 584-585

Các công trình trước đây cho biết nghệ xanh (*C. aeruginosa*) chứa aerugidiol, difurocumenon, guaian sesquiterpen lactam. Tinh dầu chứa chủ yếu curzerenon.

Trong công trình này, các tác giả đã phân lập và nhận dạng bằng phổ khối, phổ ^1H -, ^{13}C -NMR, DEPT, TOCY và HMQC 6 chất sesquiterpen là isofuranodien, furanodienon, dehydrocurdion, curcumenon, 13-hydroxygermacron, zedoarol. Sáu chất này được công bố lần đầu tiên.

N.V

**PORIGENIN A VÀ B (CÁC SAPOGENIN ĐỘC HẠI VÀ CHỐNG TĂNG SINH VỚI TẾ BÀO)
TỪ TỎI TÂY (*ALLIUM PORRUM*)**

Alfonso Carotenuto và cs
J. Nat. Prod. 1997, 60, 1003-7

Bốn chất sapogenin mới - các porigenin A (2a) và B (3a) - được chiết xuất từ tỏi tây (*Allium porrum*) và được nhận dạng là (25) - 5 α - spirostan - 2 β - triol, (25R) - 2 - oxo - 5 α - spirostan - 3 β , 6 β - diol, neoporigenin A (2b) và B (3b). Các chất này được phân tích bằng các phổ NMR và phổ khối. Các hợp chất 1a, 2a và 3a đều được chứng minh có độc hại và chống tăng sinh mạnh đối với tế bào trên 4 dòng tế bào u khác nhau in vitro.

N.V

**VỀ TÍNH ĐỘC HẠI TẾ BÀO IN VITRO CỦA CÁC CHẤT TANSHINON TRONG
CÂY ĐAN SÂM (*SALVIA MILTIORRHIZA*)**

Shi Yong Ryu và cs
Planta medica 1997, 63, 339-342

Từ rễ cây đan sâm (*Salvia miltiorrhiza*), các tác giả đã chiết xuất được 18 hoạt chất, nhận dạng bằng các phổ UV, phổ khối, phổ cộng hưởng từ hạt nhân là miltiron, dehydromiltiron, cryptotanshinon, tanshinon II A, tanshinon B, przewaquinon A, tanshinon II B, hydroxytanshinon II A, 15, 16 - dihydrotanshinon I, tanshinon I, tanshinol A, 1,2 - dihydrotanshiniquinon I, methylentanshiniquinon, tanshiniquinon, tanshindiol A, tanshindiol B (przewaquinon D), tanshindiol C (przewaquinon E), methyltanshinoniat. Các chất này có tác dụng độc hại đối với các dòng tế bào u trên người A 549 (phổi), SK-OV-3 (buồng trứng), SK-MEL-2 (u melanin), XF-498 (hệ thần kinh trung ương), HTC-15 (kết tràng), có sử dụng phương pháp SRB (sulfrhodamin - B) in vitro.

Tất cả 18 hợp chất tanshinon (trong đó có 2 chất mới tanshinol B và tanshinol A) đều bao gồm các sắc tố tanshinon là các hợp chất diterpen không phổ biến mà chỉ có ở loài cây này. Mọi sự tăng sinh của từng dòng tế bào u quan sát đều bị ức chế một cách có ý nghĩa trong thời gian tiếp xúc liên tục của các tế bào u với các chất tanshinon (từ chất 1 đến 18) trong 48 giờ. Nồng độ ức chế (IC₅₀) nằm trong phạm vi 0,2 đến 8,1 μ g/ml.

N.V

HAI THỨ HUƠNG LÂU MỚI (*VETIVERIA ZIZANOIDES*) ĐƯỢC PHÁT HIỆN Ở ẤN ĐỘ

Nanmap⁽¹⁾
1998, 32 (8), 4-5

Hương lâu là cây tinh dầu quý có giá trị kinh tế cao được ứng dụng trong ngành công nghiệp mỹ phẩm.

Bốn mươi lăm mẫu cây hương lâu thu thập được từ nhiều vùng ở Ấn Độ đã được di thực vào Viện cây thuốc và cây tinh dầu trung ương tại Lucknow trước năm 1990.

Đã chọn được 3 thứ hương lâu ưu việt là các thứ Dharini, Gulabi, Kesari. Năm 1998, ba thứ này đã được khai thác với mục đích kinh tế.

Thứ hương lâu làm mẫu đối chiếu là KS-1. Năng suất rễ/ha : 1,6 tấn. Hàm lượng tinh dầu: 0,95%. Năng suất tinh dầu/ha (qui mô sản xuất nhỏ): 15,3 kg.

Thứ Dharini. Năng suất rễ/ha: 3,1 tấn. Hàm lượng tinh dầu: 1,25%. Năng suất tinh dầu/ha (qui mô sản xuất nhỏ): 38,89 kg. Mùi thơm điển hình của hương lâu.

Thứ Gulabi. Năng suất rễ/ha: 2,8 tấn. Hàm lượng tinh dầu: 1,20%. Năng suất tinh dầu /ha (qui mô sản xuất nhỏ): 33,60 kg. Có thoảng hương của hoa hồng.

Thứ Kesari. Năng suất rễ/ha: 2,9 tấn. Hàm lượng tinh dầu: 1,02%. Năng suất tinh dầu/ha (qui mô sản xuất nhỏ): 29,6 kg. Có pha hương của *Crocus sativus*.

N.V

¹ Newsletter of the Asian Network on Medicinal and Aromatic Plants

Tạp chí Dược liệu - Viện Dược liệu - Bộ Y tế xuất bản

Giấy phép số 859/GPXB ngày 26/4/1996 của Bộ Văn hoá Thông tin, chỉ số ISSN 0868-3859

*Tổng biên tập
Phó Tổng biên tập
Thư ký tòa soạn
Trị sự*

*PTS. Nguyễn Thượng Dong
PTS. Phạm Văn Hiến
CN. Đặng Quang Chung
DS. Hàn Duyên Chí*

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

*DS. CKII Đỗ Huy Bích
GS. PTS. Nguyễn Gia Chấn
PGS. PTS. Lê Tùng Châu
PTS. Nguyễn Thượng Dong
PGS. TS. Nguyễn Xuân Dũng
PGS. TS. Đỗ Trung Đàm
PTS. Trần Văn Hiến
PTS. Phạm Văn Hiến
ThS. Nguyễn Bá Hoạt*

*GS. PTS. Phạm Thanh Kỳ
GS. PTS. Nguyễn Liêm
GS. Vũ Ngọc Lộ
PGS. PTS. Phạm Kim Mãn
PGS. TS. Trần Văn Sung
PTS. Nguyễn Văn Tập
PGS. PTS. Nguyễn Văn Thang
ThS. Nguyễn Văn Thuận
PGS. PTS. Phạm Quang Tùng*

THỂ LỆ GỬI BÀI ĐĂNG TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

Tạp chí Dược liệu đăng những bài, tin về đường lối, chính sách của Đảng và Nhà nước về dược liệu, những thành tựu nghiên cứu khoa học và kinh nghiệm chuyên môn có liên quan tới cây, con làm thuốc nhằm phát triển sản xuất thuốc từ dược liệu.

Các bạn gửi bài, tin đăng Tạp chí Dược liệu cần lưu ý:

1. Bài gửi đăng phải là bài chưa gửi in ở các tạp chí khác.
2. Các bài công bố những công trình nghiên cứu khoa học phải có phần tóm tắt bằng tiếng Anh không quá 200 từ, để ở đầu bài viết. Từ khoá (key-words) đặt dưới phần tóm tắt bằng tiếng Anh. Bài gửi đăng dài không quá 2500 từ, kể cả hình vẽ, bảng số liệu và tài liệu tham khảo, trừ trường hợp có yêu cầu của Hội đồng biên tập.
3. Các bài dịch, trích dịch phải ghi rõ nguồn để người đọc có thể tìm xem nguyên bản.
4. Bản thảo cần đánh máy trên một mặt giấy hoặc ghi trên đĩa từ. Các ký hiệu, hình vẽ, công thức cần viết rõ ràng, chính xác, đặt đúng chỗ. Tài liệu tham khảo, nếu là tạp chí cần ghi theo thứ tự: tên tác giả, tên tạp chí, tập, số, trang, năm in; nếu là sách: tên tác giả, tên sách, lần xuất bản, nhà xuất bản, nơi xuất bản, năm xuất bản, trang.
5. Bài viết cần ghi đầy đủ tên tác giả, địa chỉ, số điện thoại, số fax hoặc e-mail (nếu có) của cơ quan hoặc nhà riêng để tiện liên hệ khi cần thiết.
6. Bài không đăng không trả lại bản thảo
Thư, bài, tin xin gửi theo địa chỉ:

- Tạp chí Dược liệu (Viện Dược liệu)
- 3bB Quang Trung, Hà Nội
- ĐT: 8 267 623, 8 252 644
- Fax: 84-4-8 254 357
- E-mail: imm @ fpt.vn