

ISSN 0868 - 3859

TẠP CHÍ **DƯỢC LIỆU**

2

1999

TẬP 4

Journal of Materia Medica - Hanoi

MỤC LỤC TẬP 4, SỐ 2/1999

Trang	ĐƯỢC LIỆU VÀ Y HỌC CỔ TRUYỀN
33	Mối quan hệ giữa y học cổ truyền và y học hiện đại trong một số tác dụng dược lý và công dụng của dương quy Trung Quốc <i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels - Vũ Ngọc Lộ.
	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC
35	Nghiên cứu thành phần bệnh hại trên cây mã đề (<i>Plantago major</i> L.) và biện pháp phòng trừ - Nguyễn Thị Tuấn.
39	Xác định hàm lượng các ginsenosid chính của nhân sâm (<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer) bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp - Nguyễn Minh Cang, Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Thị Nga.
44	Kết quả nghiên cứu một số cây thuộc họ Cúc - Vũ Việt Nam, Trần Ngọc Ninh, J. McLeod, Nguyễn Xuân Dũng.
47	Nghiên cứu cấu trúc hoá học của các saponin trong cây cỏ xước (<i>Achyranthes aspera</i> L.) - Thông báo số 1 - Kazuo Yamasaki, Nguyễn Minh Đức, Võ Duy Huân.
52	Xác định hợp chất cannabinoid trong lá cần sa - Đinh Vinh, Patrick Mura, Yves Papet.
55	Hàm lượng và thành phần hoá học của tinh dầu lá dương quy Nhật Bản (<i>Angelica acutiloba</i> Kit.) trồng tại Thái Nguyên - Thái Thanh Hải, Nguyễn Thanh Hương, Bùi Thị Bằng, J. Casanova, A. Muselli, A. Bighelli.
59	Nghiên cứu thâm dò tác dụng hoạt huyết <i>in vitro</i> và trên lâm sàng của dương quy Nhật Bản (<i>Angelica acutiloba</i> Kit.) - Lê Tùng Châu, Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan, Trần Minh Vĩnh, Phạm Quang Táp.
	GIỚI THIỆU SÁCH
61	Sách mới về dược liệu - N.C.
	THÔNG BÁO - TRAO ĐỔI
62	Hội thảo Á-Âu về kết hợp y dược học cổ truyền với y dược học hiện đại trong chăm sóc sức khỏe nhân dân - N. C.
	ĐƯỢC LIỆU VÀ ĐỜI SỐNG
63	Táo mèo - Đỗ Huy Bích.
64	THÔNG TIN KHOA HỌC

CONTENTS VOL. 4 (2), 1999

Page	MATERIA MEDICA AND TRADITIONAL MEDICINE
33	On the Relationship between Traditional and Modern Medicine through Some Physiological Actions and Therapeutic Uses of <i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels - Vũ Ngọc Lộ.
	SCIENTIFIC RESEARCH
35	Studies on Disease Composition of <i>Plantago major</i> L. and Its Control Measures - Nguyễn Thị Tuấn.
39	Determination of Main Ginsenosides in <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer by High Pressure Liquid Chromatography - Nguyễn Minh Cang, Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Thị Nga.
44	Results of the Study on Some Species of Compositae - Vũ Việt Nam, Trần Ngọc Ninh, J. McLeod, Nguyễn Xuân Dũng.
47	Studies on Chemical Structures of Saponins from <i>Achyranthes aspera</i> L. Study N° 1 - Kazuo Yamasaki, Nguyễn Minh Đức, Võ Duy Huân.
52	Identification and Determination of Cannabinoids in Cannabis Leaves - Đinh Vinh, Patrick Mura, Yves Papet.
55	Oil Content and Chemical Composition in the Leaves of <i>Angelica acutiloba</i> Kit. Grown in Thai Nguyen - Thái Thanh Hải, Nguyễn Thanh Hương, Bùi Thị Bằng, J. Casanova, A. Muselli, A. Bighelli.
59	Preliminary Studies on <i>in vitro</i> and Clinical Blood Activating Effects of <i>Angelica acutiloba</i> Kit. - Lê Tùng Châu, Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan, Trần Minh Vĩnh, Phạm Quang Táp.
	BOOK REVIEWS
61	Books on Medicinal Plants - N. C.
	NOTICE - EXCHANGE
62	Asia - Europe Symposium on Combination of Traditional and Modern Medicine - Pharmacy in People's Healthcare - N. C.
	MATERIA MEDICA AND LIFE
63	<i>Docynia indica</i> (Wall.) Deene - Đỗ Huy Bích.
64	ABSTRACTS

MỐI QUAN HỆ GIỮA Y HỌC CỔ TRUYỀN VÀ Y HỌC HIỆN ĐẠI TRONG MỘT SỐ TÁC DỤNG DƯỢC LÝ VÀ CÔNG DỤNG CỦA ĐƯƠNG QUY TRUNG QUỐC

Vũ Ngọc Lộ

Đương quy Trung Quốc (ĐQTQ) - *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels - là một trong những vị thuốc đầu vị của y học cổ truyền được dùng làm thuốc bổ huyết, hoạt huyết và chỉ huyết. ĐQTQ có từ lâu đời và được ghi trong cuốn "Bản kinh" [4,9]. Bài báo này đề cập đến mối quan hệ giữa y học cổ truyền và y học hiện đại trong một số tác dụng dược lý và công dụng của ĐQTQ. Công việc đầu tiên là phải nói về thành phần hoá học của nó.

I. Thành phần hoá học [3,4,15,16,17]

1. Polysaccarid trong đó chất AS₁ (có tác dụng bảo vệ phóng xạ) nếu đem thủy phân sẽ cho L-arabinose, D-galactose, D-glucose, L-rhamnose.

2. Tinh dầu 0,2-0,4% (có tài liệu ghi nhiều hơn) với nhiều thành phần: 4-ethyl resorcinol, 2,4-dihydroxyacetophenon, carvacrol, isoeugenol, vanilin, myrcen, β -ocimen, alo-ocimen, (6-n-butylcycloheptadien-1,4), 2-methyldecan-5-on, bicycloelemen, β -bisabolen, isoacoradinen, acoradinen, trans- β -farnesen, γ -elemen, α -cedren, senkyunolid, n-butylphtalid, n-butylidenphtalid, ligustilid, β -phelandren, p-cymen, anhydrid phtalid, acid nonandioic, acid anisic, bergapten, acid n-valerophenon-O-carboxylic, anhydrid $\Delta^{2,4}$ -dihydrophthalic.

Ligustilid là thành phần chính với hàm lượng 50,29%, còn có ở nhiều bộ phận khác của cây.

Nước sắc 30 g ĐQTQ chứa 3-4 mg ligustilid.

3. Coumarin: scopoletin, umbelliferon.

4. Acid amin: 10 chất.

5. Vitamin: vitamin B₁₂, vitamin B₁, vitamin E.

6. Nguyên tố: K, Na, Ca, Mg, Si, Al, P, Fe, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Sn, Bo, Re, Ba, Se, Ti, V, Cr.

Ngoài ra, còn có brefeldin, faltarinol, faltarinolol, faltarindiol, cholin, acid ferulic.

II. Tác dụng dược lý và công dụng của ĐQTQ trong mối quan hệ giữa y học cổ truyền và y học hiện đại.

1. Độc tính. Hải Thượng Lãn Ông [11] nói ĐQTQ không độc. Điều này được minh họa trong cuốn "Từ Hải Trung dược" [5].

Một công trình cho biết 40 người được tiêm ĐQTQ theo đường tĩnh mạch trong 30 ngày không bị hiện tượng phụ.

2. ĐQTQ có tác dụng bổ huyết, bổ ngũ tạng (Cảnh nhạc toàn thư bản thảo chính, Nhật Hoa tử bản thảo, Danh y biệt lục) [4].

ĐQTQ được dùng trong các trường hợp thiếu máu dẫn đến hoa mắt, chóng mặt, người xanh xao gầy yếu [10]. Nhiều tài liệu góp phần giải thích tác dụng này:

Theo cuốn "Từ Hải Trung dược", ĐQTQ làm tăng hồng cầu, bạch cầu, huyết sắc tố. Trong trường hợp máu ngoại vi giảm hoặc tủy xương bị ức chế, tác dụng này lại càng được thể hiện rõ rệt [9].

Về thành phần hoá học, ĐQTQ chứa vitamin B₁₂ và các acid folic là những chất chống thiếu máu [4, 13].

Sự có mặt của polysaccarid bổ sung sự giải thích nói trên. Tiêm polysaccarid từ ĐQTQ vào màng bụng chuột nhắt làm tăng sinh huyết trong tủy xương. Đồng thời, polysaccarid còn kích thích các tế bào mầm tạo huyết mau chóng sinh sôi nảy nở và phân hoá nhanh ở chuột bình thường cũng như ở chuột thiếu máu [9, 14, 18].

Như vậy, ĐQTQ có tác dụng kích thích sự tạo máu, tăng cường số lượng hồng cầu và tăng cường chất lượng máu.

Bổ ngũ tạng được minh họa bằng thực nghiệm trên súc vật ở sự chuyển hoá cơ bản. Chuột nhắt được nuôi dưỡng bằng thức ăn có trộn ĐQTQ trong 3 tháng phát triển mạnh khoẻ, sự hô hấp tế bào gan được tăng cường và khả năng oxy hoá acid glutamic tăng lên, tiêm dung dịch ĐQTQ có thể bảo vệ tế bào gan đã được gây tổn thương do CCl₄ và các hoạt động của các men ATP-ase và gluco-6-phosphatase [4]. Acid ferulic có trong ĐQTQ bảo vệ được các tế bào trong tế bào gan chuột cống chống lại các tổn hại do các gốc tự do

gây ra.

3. ĐQTQ có tác dụng hoạt huyết [1, 4, 13]. Tác dụng này đã được ghi trong các sách: Dược tính bản thảo, Nhật Hoa tử bản thảo, Cảnh nhac toàn thư bản thảo chính [4]. Nhiều tác giả chứng minh tác dụng này.

3. 1. Teresawa K. và cs (1985) cho biết nước sắc ĐQTQ dùng cho 6 người (3 nam, 3 nữ) bằng đường uống làm cho độ nhớt của máu giảm đi rõ rệt [3].

3. 2. Đối với chuột cống trắng, ĐQTQ ức chế ngưng kết tiểu cầu do ADP và adrenalin gây ra.

Trong thí nghiệm *in vitro* và *in vivo*, nước sắc ĐQTQ (0,2 g/ml) ức chế ngưng kết tiểu cầu và đề phòng được sự tạo thành huyết khối [4]. Acid ferulic (0,4 mg/ml) đã được chứng minh tác dụng như ĐQTQ.

Mặt khác, ĐQTQ có thể tăng thời gian đông máu ở thỏ do thrombin tạo ra, làm cho độ nhớt giảm đi. Trong máu, tác dụng ức chế ngưng kết tiểu cầu thường kết hợp với tác dụng kháng thrombin của ĐQTQ [4].

3. 3. Lê Thị Kim Loan và cs. (1998) đã chứng minh cao nước (1/4), cao cồn (1/4) của ĐQTQ đều ức chế quá trình đông máu ở người bình thường theo 3 cơ chế: đông máu ngoại sinh, đông máu nội sinh và chuyển hoá fibrinogen thành fibrin [6].

3. 4. ĐQTQ thường được dùng làm thuốc điều kinh, phụ nữ bị huyết hư, kinh nguyệt không đều, thống kinh, bế kinh. Nó còn được dùng để trị xung huyết, tụ huyết do sang chấn [1, 10].

Về điều trị chứng vô kinh, thống kinh, đã có nhiều công trình được công bố vào những năm từ cuối thế kỷ thứ 9 đến đầu thế kỷ 20. Nhiều thí nghiệm lâm sàng đã chứng minh nhận xét này. Các phụ nữ dùng trong 1 tuần, mỗi ngày 3 lần, mỗi lần 5 ml cao lỏng ĐQTQ (1 g/ml) trước bữa ăn trong thời kỳ ra kinh, sẽ không bị đau đớn khi có kinh và ra kinh sớm hơn bình thường. Không thấy hiện tượng sảy thai ở phụ nữ có thai nếu dùng ĐQTQ.

3. 5. ĐQTQ được dùng điều trị viêm tắc động mạch. Có thể tiêm tĩnh mạch 80-100 ml dịch chiết ĐQTQ 10% hoặc tiêm bắp 5-20 ml dịch chiết ĐQTQ 5% vào tiết đoạn thần kinh. Theo nghiên cứu của Viện y học Hồ Bắc (1977), tiêm theo liệu trình 4 tuần, mỗi tuần 6 lần, mỗi ngày 1 lần để điều trị viêm tắc động mạch. Qua nghiên cứu 52 ca, kết quả đạt tốt là 88,5%. Tuần hoàn máu được tăng cường, hoại tử ngừng phát sinh và phát triển, vết loét chóng lành, giảm đau, tăng nhiệt độ ở da [4]. Giảm viêm tắc tĩnh mạch do huyết khối có

thể liên quan đến ức chế ngưng kết tiểu cầu và giải phóng 5-HT từ tiểu cầu [13].

3. 6. ĐQTQ với tác dụng hạ cholesterol. Cholesterol rất cần cho cơ thể, nhưng nếu hàm lượng trong máu cao quá mức cần thiết thì phần dư thừa sẽ bám vào thành động mạch làm cho mạch máu bị hẹp lại, tính đàn hồi giảm đi, máu sẽ khó lưu thông và có thể bị tắc nghẽn. Thí nghiệm trên chuột nhắt trắng, Nguyễn Văn Đồng (1995) nhận thấy ĐQTQ làm hạ được cholesterol trong máu với tỷ lệ 32%.

3. 7. Tác dụng hoạt huyết có liên quan tới tác dụng viêm nhiễm. Theo các tài liệu y học cổ truyền, ĐQTQ chữa tổn thương do té ngã, tiêu viêm trừ mủ. Nó đã được dùng để điều trị viêm xoang hàm mặt mãn tính có mủ, viêm mũi mãn. Chu Chuẩn Thành (1975) đã điều trị 267 ca viêm xoang hàm mặt mãn tính có mủ bằng cách bơm nước ĐQTQ, hoàng liên mỗi thứ 20 g/100 nước vào xoang, đạt kết quả khỏi 84,3%, tiến bộ 9% [4]. Ở đây cần nói lên nước sắc ĐQTQ có tác dụng ức chế *Escherichia coli*, *Streptococcus haemolyticus*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *Vibrio cholerae*, *Corynebacterium diptheriae*. Tinh dầu ĐQTQ ức chế *E. coli*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* [4].

4. Tác dụng cầm máu. Tác dụng này được nói đến trong y học cổ truyền [4]. Theo Hải Thượng Lãn Ông, hiện tượng chảy máu là do ứ máu, tụ máu. Như vậy, để cầm máu phải dùng thuốc tiêu ứ chỉ huyết hoặc kết hợp thuốc hoạt huyết với chỉ huyết để cầm máu [8]. Các tác giả khác (Tuệ Tĩnh, Hoàng Bảo Châu) cho biết các bài thuốc hoạt huyết khứ ứ dùng để chữa các bệnh do huyết ứ gây ra. Ứ huyết làm cho huyết bị ứ trệ và sẽ chảy ra ngoài gây chảy máu [8].

Hiện tượng này tương ứng với hội chứng chảy máu thứ phát sau tăng đông máu. Đó là đông máu rải rác trong lòng mạch theo y học hiện đại. Như vậy để điều trị, phải dùng thuốc chống đông máu [8]. Nhiều tác giả đã chứng minh ĐQTQ làm tăng thời gian đông máu theo nhiều cơ chế khác nhau [2, 6].

Ngoài ra, ĐQTQ còn một số tác dụng khác như hoạt tràng thông tiện, kháng loạn nhịp tim, trị hen suyễn (có vai trò của n-butylidin phthalid và ligustilid), trị vô sinh, tác dụng trên hiện tượng thiếu vitamin E, kích thích miễn dịch và trị một số bệnh ngoài da (Herpes zoster, vẩy nến, chứng trọc đầu, chàm, mề đay).

(Xem tiếp trang 38)

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN BỆNH HẠI TRÊN CÂY MÃ ĐỀ (*PLANTAGO MAJOR L.*) VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Nguyễn Thị Tuấn

Viện Dược liệu

(Nhận bài ngày 4 tháng 1 năm 1999)

Summary

*Large-scale cultivation of *Plantago major L.* in North Vietnam has been heavily affected by different pathogens, which broke out in an epidemic first in 1995-1996.*

*The study has revealed that two most serious diseases of the plant were powdery mildew caused by *Oidium sp.* and leaf spot caused by *Alternaria sp.* The former always appeared before the latter suggesting that the mildew condition the leaf spot. This hypothesis is supported by the fact that non-mildew infected or chemically treated populations were not affected by the leaf spot.*

The powdery mildew (and consequently the leaf spot) can be controlled by spraying of Tilt, Daconil and Anvil fungicides at 1.0 l/ha, 1.6 kg/ha and 1.0 l/ha, respectively.

*This *Oidium* species is a highly obligate parasite and cannot be transmitted to following crop if field sanitation or crop rotation is properly practiced.*

*Key-words: *Plantago major L.*, *Oidium sp.*, *Alternaria sp.*, Control, Tilt, Daconil, Anvil Fungicides.*

Đặt vấn đề

Mã đề (*Plantago major L.*- Plantaginaceae) là cây thuốc có tác dụng lợi tiểu, long đờm, kháng khuẩn, chống viêm,... được dùng để chữa bí đái, phù nề, huyết niệu, ho kéo dài, viêm phế quản, viêm thận, sỏi bàng quang, viêm kết mạc, tiêu chảy, kiết lỵ, chảy máu cam, v.v.[3].

Trước đây, ở trạng thái mọc hoang hoặc trồng trên diện tích nhỏ trong các vườn gia đình, mã đề không thấy có bệnh dịch đáng kể. Gần đây, do nhu cầu tiêu thụ nên cây đã trở thành hàng hoá và được trồng trên diện tích khá lớn ở nhiều địa phương như Hà Nội, Hà Tây, Hưng Yên,... Bắt đầu từ vụ đông xuân 1995-1996, bệnh hại lá và bông cây mã đề đã phát thành dịch và gây tổn thất nặng ở hầu hết các vùng sản xuất. Để góp phần hạn chế thiệt hại và phục vụ cho sản xuất, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thành phần và diễn biến của bệnh hại trên cây mã đề và đề xuất các biện pháp phòng trừ. Bài viết này sẽ trình bày những kết quả đạt được sau ba năm nghiên cứu (1995-1998).

Phương pháp nghiên cứu

Việc điều tra bệnh hại được tiến hành trên cây mã đề trồng tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội (Viện Dược liệu) theo phương pháp của Cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật [1]; ngoài ra, còn có điều tra bổ sung ở các diện tích sản xuất của các địa phương. Bệnh hại được phân theo thang 5 cấp; chỉ số bệnh được tính

theo công thức $A = \frac{\sum (x.y)}{n.k}$, trong đó x là số cây

theo dõi ở mỗi cấp bệnh, y là trị số cấp bệnh tương ứng, n là tổng số cây theo dõi và k là trị số cấp bệnh cao nhất phát hiện được; tỷ lệ bệnh được tính bằng số cây bị bệnh/tổng số cây theo dõi. Việc giám định thành phần bệnh hại được thực hiện tại bộ môn Bệnh cây - Viện Bảo vệ thực vật - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn [6,7].

Thí nghiệm khảo sát hiệu lực của một số loại thuốc được bố trí tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội theo phương pháp tuần tự có cách ly, với 3 lần nhắc lại, diện tích mỗi ô thí nghiệm là 20 m². Kỹ thuật trồng trọt

được áp dụng theo qui trình sản xuất của Trung tâm theo 2 cách: trồng cây con và gieo thẳng với khoảng cách 20 x 20 cm trên luống cao 0,25 m, rộng 1,2 m. Giữa các luống có rãnh để tưới và thoát nước. Thời vụ gieo hạt được tiến hành từ cuối tháng 10 hàng năm. Các loại thuốc khảo nghiệm bao gồm Anvil, Carbendas, Daconil, Fundazol, Tilt, và Vizines. Hiệu lực của thuốc được tính theo công thức Henderson-Tilton.

Thí nghiệm lây bệnh nhân tạo được thực hiện bằng phương pháp phun dịch chứa conidi nấm lên 2 loại mã đề *Plantago major* L. và *Plantago* sp.

Kết quả nghiên cứu

1. Thành phần và diễn biến của bệnh hại mã đề.

Sau khi điều tra ngoài đồng, các mẫu bệnh hại đã được thu thập và giám định. Kết quả giám định được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần bệnh hại trên cây mã đề

Tên bệnh	Tên khoa học	Bộ phận bị hại
Bệnh đốm lá	<i>Alternaria</i> sp.	Lá
Bệnh thối gốc mốc trắng	<i>Fusarium</i> sp.	Rễ và gốc
Bệnh thối củ đen gốc	<i>Aspergillus niger</i> Van Tiegh	Gốc
Bệnh phấn trắng	<i>Oidium</i> sp.	Lá, cuống lá, bông
Bệnh vàng lá	Bệnh sinh lý(?)	Lá

Bảng 1 cho thấy, trên ruộng mã đề đã xuất hiện 5 loại bệnh hại lá, bông, gốc và rễ cây. Trong số đó, có 4 loại bệnh do nấm gây ra và 1 loại chưa rõ nguyên nhân (có thể là một bệnh sinh lý).

Theo dõi diễn biến của các loại bệnh qua các tháng trong năm, chúng tôi đã thu được những số liệu ở bảng 2.

Bảng 2. Diễn biến của bệnh hại mã đề qua các tháng trong năm 1996 tại TT nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội

Tên bệnh	Tỷ lệ bệnh (%)							
	Tháng 12	Tháng 1	Tháng 2	Tháng 3	Tháng 4	Tháng 5	Tháng 6	Tháng 7
Bệnh đốm lá	-	-	31,5	28,3	23,7	12,8	-	-
Bệnh phấn trắng	10,7	15,7	73,5	75,3	35,7	16,7	-	-
Bệnh thối trắng	-	-	-	-	14,3	17,2	13,7	-
Bệnh thối đen gốc	-	-	-	-	5,7	7,5	6,5	-
Bệnh vàng lá	-	-	-	-	-	-	8,7	5,3

Các số liệu ở bảng 2 cho thấy bệnh đốm lá và bệnh phấn trắng là 2 đối tượng gây hại chính cho mã đề. Hai loại bệnh này thường xuất hiện và gây hại chủ yếu vào các tháng 2-3-4 hàng năm, khi nhiệt độ ban ngày ở mức dưới 23-25°C. Bệnh đốm lá thường xuất hiện sau bệnh phấn trắng, gây ra những vết khô không có hình thù cố định và làm thủng lá. Triệu chứng của bệnh phấn trắng được thể hiện rất rõ trên mặt lá bởi một lớp bụi màu trắng. Bệnh dù nhẹ cũng làm cho lá bị giảm màu xanh nên khi phơi khô, toàn bộ lá trở thành màu

nâu hoặc đen, ảnh hưởng rất lớn tới chất lượng sản phẩm. Bệnh nặng làm cho lá bị khô hoặc thối ngay trên cây, không còn giá trị thu hoạch.

Có một hiện tượng dễ nhận thấy là ở ruộng gieo thẳng mức độ bệnh hại thường cao hơn so với ở ruộng trồng từ cây con (bảng 3). Nguyên nhân ở đây có thể do thời gian cây sống trên ruộng gieo thẳng dài hơn và mật độ thường dày hơn so với ruộng trồng từ cây con. Điều này dẫn đến ẩm độ không khí trong ruộng (từ mặt đất đến tán lá)

thường cao hơn, mặt khác các lá phía dưới của nhiều hơn. Đây là những yếu tố thuận lợi cho cây ở ruộng gieo thẳng cũng bị che lấp ánh sáng bệnh phát triển.

Bảng 3. Mức độ bệnh phấn trắng và đốm lá mã đề ở tháng cao nhất trên ruộng gieo thẳng và ruộng trồng cây con

Phương thức trồng	Bệnh đốm lá		Bệnh phấn trắng	
	Tỉ lệ bệnh	Chỉ số bệnh	Tỉ lệ bệnh	Chỉ số bệnh
Gieo thẳng	45,3	20,6	94,5	52,7
Cây con	38,5	16,5	91,7	49,5

2. Hiệu lực của thuốc trừ bệnh phấn trắng và đốm lá mã đề.

Như đã trình bày ở phần trên, bệnh đốm lá thường chỉ xuất hiện sau khi tỉ lệ bệnh phấn trắng đã đạt đến 15-20% và bắt đầu gây hại, vì vậy mục

đích ban đầu của thí nghiệm này là nhằm tìm ra phương thuốc để khống chế bệnh phấn trắng. Các thuốc thử nghiệm được dùng ở liều lượng theo quy định chung [4,5] và được phun thuốc khi bệnh xuất hiện khoảng 20%. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Hiệu lực của thuốc trừ bệnh phấn trắng

Tên thuốc	Lượng dùng/ha	Q% sau 3 ngày	Q% sau 7 ngày	Thời gian tái xuất hiện bệnh
Anvil	1,0 lit	31,5	76,7	14,5 ± 2
Carbendas	2,0 kg	28,4	61,4	-
Daconil	1,6 kg	35,8	87,5	16,5 ± 1,5
Fundazol	1,6 kg	38,9	69,3	-
Tilt	1,0 lit	59,5	91,3	23,8 ± 1,5
Vizines	1,8 kg	26,7	59,5	

Kết quả trên cho thấy trong 6 loại thuốc đã thử nghiệm thì Tilt, Daconil và Anvil có tác dụng nhanh và hiệu quả hơn cả. Trong đó, Tilt có hiệu lực mạnh nhất. Thời gian tái xuất hiện của bệnh phấn trắng khác nhau trên các lô thí nghiệm là cơ sở để chọn loại thuốc cho phù hợp với thời gian của từng lứa cấy.

Có một điểm đáng lưu ý khác là sau khi phun thuốc, bệnh đốm lá hầu như không xuất hiện.

3. Nghiên cứu cơ sở khoa học của biện pháp xử lý tàn dư.

Oidium sp. gây bệnh phấn trắng trên mã đề thuộc lớp Nấm bất toàn (Deuteromycetes), bộ Moniliales, họ Moniliaceae, là lớp nấm chủ yếu gây bệnh hại cây trồng. Trên đồng ruộng, nấm lây lan bằng conidi và lưu lại vụ sau ở giai đoạn hữu tính trên tàn dư cây bệnh [2]. Chúng tôi đã tiến hành lấy nhân tạo bằng cách phun dung dịch chứa conidi của nấm *Oidium* sp. lên 2 loại mã đề (*Plantago major* L. và *Plantago* sp.) đang được trồng ở Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến dược liệu Hà Nội. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Mức độ nhiễm bệnh phấn trắng của mã đề sau lấy bệnh nhân tạo

Loại mã đề	Mức độ nhiễm bệnh phấn trắng		
	Sau 3 ngày(%)	Sau 7 ngày (%)	Sau 14 ngày(%)
<i>Plantago</i> sp.	0	0	0
<i>Plantago major</i> L.	0	32	100

Kết quả trên cho thấy, chỉ có loài *P. major* L. bị nhiễm do lấy bệnh. Điều này chứng tỏ *Oidium* sp. gây bệnh phấn trắng có đặc điểm chuyên tính rất cao, do đó khả năng ký sinh và lưu giữ lại vụ sau trên cây khác là rất nhỏ. Như vậy, việc xử lý tàn dư cây vụ trước, vệ sinh đồng ruộng và luân canh là những biện pháp phòng bệnh quan trọng. Đặc tính chuyên tính cao của bệnh phấn trắng cũng mở ra khả năng có thể chọn được giống mã đề có sức đề kháng đối với loại bệnh nguy hiểm này để thay thế cho giống đang trồng hiện nay.

Kết luận và đề nghị

Cây mã đề được đưa ra trồng ở diện tích lớn thường bị bệnh gây hại thành dịch. Trong các loại bệnh, bệnh phấn trắng và bệnh đốm lá là 2 loại có khả năng gây hại nặng về năng suất và chất lượng sản phẩm. Chúng thường phát triển mạnh vào vụ

đồng xuân, khi nhiệt độ ban ngày thấp hơn 23-25°C và ẩm độ không khí cao. Bệnh phấn trắng gây hại nghiêm trọng nhất và thường xuất hiện trước bệnh đốm lá.

Có thể sử dụng các loại thuốc : Anvil, Daconil, Tilt để phun phòng trừ. Tùy thuộc vào thời gian yêu cầu của từng lứa cắt mà sử dụng loại thuốc có thời gian hiệu lực kéo dài cho hợp lý.

Cần tránh trồng ở mật độ quá dày để đảm bảo cho ruộng có độ thông thoáng cần thiết. Sau mỗi vụ thu hoạch, cần dọn và tiêu hủy các tàn dư của cây vụ trước. Ruộng trồng mã đề cần được cày sâu, phơi đất và luân canh với cây trồng khác.

Hiện tượng vàng lá hàng loạt là một bệnh lý mới xuất hiện trên một số ruộng sản xuất, cần được quan tâm để khắc phục kịp thời.

Tài liệu tham khảo

- 1). Cục Bảo vệ thực vật. Phương pháp điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1987; 2). Đường Hồng Dật. Sổ tay bệnh hại cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1976; 3). National Institute of Materia Medica. Selected Medicinal Plants in Vietnam. Science and Technology Publishing House, Hanoi, 1999, pp. 184-189; 4). Novényvédoszerek, Mutragyak. Mezogazdasági Kiado, Budapest, 1985; 5). Trần Quang Hùng. Thuốc bảo vệ thực vật. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1995; 6). Viện BVTV. Điều tra cơ bản côn trùng và bệnh hại cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1961; 7). Vũ Khắc Nhượng. *Tạp chí BVTV*, số 2-1992.

Tài liệu tham khảo (Tiếp theo trang 34)

- 1). Bộ môn Y học Dân tộc Trường ĐHYK Hà Nội. Bài giảng Y học Dân tộc, tập 1. NXB Y học, 1987, 219;
- 2). Nguyễn Văn Đông. Luận án PTS Dược học. Trường ĐH Dược Hà Nội, 1995; 3). Katsutoshi Terasawa et al. *Fitoterapia* 1985, LVI (4), 968-975; 4). Trần Văn Kỳ. Thuốc bổ Đông y. NXB Y học, Hà Nội, 1993, 150-164;
- 5). A.Y. Leung et al. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics. John Wiley & sons, Inc. 1996, 553; 6). Lê Thị Kim Loan và cs. *Tạp chí Dược liệu*, số 4/1998, tr.112-115; 7). Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXBKH và KT, Hà Nội, 1995; 8). Nguyễn Hoàng Thanh. Chuyên đề NCS. Học viện Quân y, 1998; 9). Trung Quốc Dược khoa đại học và nhiều cơ sở khác. Từ hải Trung dược. Tập 1. NXBTQ Y Dược khoa, 1993, 2058-2061; 10). Tổ môn dược học cổ truyền Trường ĐH Dược. Dược học cổ truyền 1998; 11). Lê Hữu Trác. Hải Thượng Y Tông tâm lĩnh. Tập 6. Hội Y học Dân tộc TP Hồ Chí Minh và Hội Y học Tây Ninh (tái bản) 1987, 115-116; 12). Viện Dược liệu. Công trình NCKH 1972-1986, NXB Y học, Hà Nội, 1986, 125-136; 13). Viện Dược liệu. Tài nguyên cây thuốc. NXBKH và KT, Hà Nội, 1993, 415-429; 14). CA 109: 183305 q (1988); 15). CA 111: 208839 y (1989); 16). CA 113: 91456 (1990); 17). CA 121: 195371 u (1994); 18). CA 125: 238603 y (1996).

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CÁC GINSENO SID CHÍNH CỦA NHÂN SÂM (PANAX GINSENG C. A. MEYER) BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG CAO ÁP

Nguyễn Minh Cang, Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Thị Nga

Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

(Nhận bài ngày 6 tháng 11 năm 1998)

Summary

A reverse phase HPLC method using samples of ginseng saponins purified by Diaion HP-20 column chromatography was used to determine qualitatively and quantitatively the major ginsenoside contents in ginseng materials sold on the market. The HPLC procedure and obtained results were described.

Key-words: *Panax ginseng*, Ginsenoside, Reverse Phase HPLC, Diaion HP-20

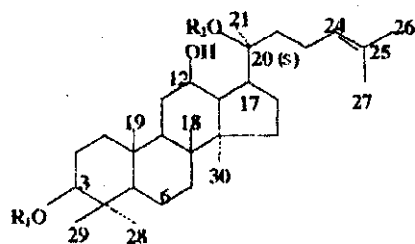
Đặt vấn đề

Nhân sâm (*Panax ginseng* C. A. Meyer - Araliaceae), là một dược liệu nổi tiếng của y học cổ truyền, được sử dụng để phục hồi năng lực thể chất, khả năng trí tuệ, cải thiện các quá trình biến dưỡng hay phòng chống ung thư [1], hỗ trợ cai nghiện các chất ma túy...[2]. Cây này mọc tự nhiên tại Triều Tiên, Đông Bắc Trung Quốc và Viễn đông nước Nga. Tuy nhiên, hiện nay hầu hết nhân sâm thương phẩm đều do trồng trọt xuất xứ từ Trung Quốc hay Triều Tiên. Ở thị trường thành phố HCM, các dạng bào chế cổ điển của nhân sâm như hồng sâm, bạch sâm...được nhập từ rất nhiều nguồn, chính thức cũng như không

chính thức với chất lượng đặc biệt là thành phần và hàm lượng của hợp chất saponin, vốn được xem là một trong những hoạt chất chính của nhân sâm, thay đổi rất nhiều. Hàm lượng này có thể được xác định bằng phương pháp đo quang [3], quét sắc đồ [4] hay sắc ký khí [5]. Gần đây, phương pháp sắc ký lỏng cao áp (High-Pressure Liquid Chromatography = HPLC) đã được áp dụng để xác định hàm lượng các ginsenosid chính trong thành phần saponin, với nhiều ưu điểm so với các phương pháp trước đây [6].

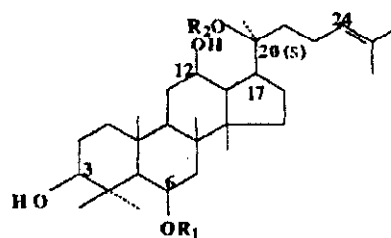
Mục tiêu của đề tài này là áp dụng phương pháp HPLC để định lượng các ginsenosid chính trong một số nguyên liệu nhân sâm có ở thị trường.

Saponin nhóm protopanaxadiol



$R_1 = R_2 = H$: 20 (S)-protopanaxadiol

Saponin nhóm protopanaxatriol



$R_1 = R_2 = H$: 20 (S)-protopanaxatriol

Hình 1: Các saponin chính trong nhân sâm

	R ₁	R ₂
ginsenosid Rb ₁	-Glc ² -Glc	-Glc ² -Glc
ginsenosid Rb ₂	-Glc ² -Glc	-Glc ² -Ara (p)
ginsenosid Rc	-Glc ² -Glc	-Glc ² -Ara (f)
ginsenosid Rd	-Glc ² -Glc	-Glc

	R ₁	R ₂
ginsenosid Re	-Glc ² -Rha	-Glc
ginsenosid Rf	-Glc ² -Glc	-H
ginsenosid Rg ₁	-Glc	-Glc

Nội dung nghiên cứu

1. Nguyên liệu:

Các mẫu nhân sâm được mua ở thị trường (các cửa hàng dược liệu ở đường Hải Thượng Lãn Ông, Quận 5, TPHCM) hoặc do XNDP 26 cung cấp.

Bảng 1: Các nguyên liệu thử nghiệm

Ký hiệu	Tên Việt	Dạng nguyên liệu	Nguồn cung cấp
BS1	Bạch sâm (mẫu 1)	Rễ củ	Thị trường
HS1	Hồng sâm (mẫu 1)	Rễ củ	Thị trường
BS2	Bạch sâm (mẫu 2)	Rễ củ	Thị trường
BHT	Bạch hỗn tu	Rễ phụ	XNDP26
HS2	Hồng sâm (mẫu 2)	Rễ củ	XNDP26
HHT	Hồng hỗn tu	Rễ phụ	XNDP26

2. Hoá chất và dụng cụ máy móc sử dụng:

2.1. Hóa chất:

- Chất chuẩn: các ginsenosid chuẩn, gồm G-Rb₁, G-Rc, G-Rd, G-Rf và G-Re của Wako Pure Chemicals (Nhật). G-Rg₁ và G-Rb₂ được phân lập từ sâm Việt Nam [7].
- Resin pha đảo Diaion HP-20 (styren divinyl copolymer resin) (Mitsubishi Chemical Co-Nhật) được sử dụng để tinh chế mẫu thử trước khi đưa vào máy HPLC. Resin sau khi sử dụng có thể được phục hồi lại để dùng nhiều lần.
- Dung môi sử dụng trong HPLC: acetonitril (Chromasolv-Riedel-de-Haen-Đức), metanol (Lichrosolv-Merck-Đức) và nước cất (được lọc qua màng lọc type GVWP-0,22μm trước khi sử dụng).
- Các dung môi dùng trong chiết xuất (metanol, aceton, cloroform) là loại công nghiệp và đều được cất lại trước khi sử dụng.

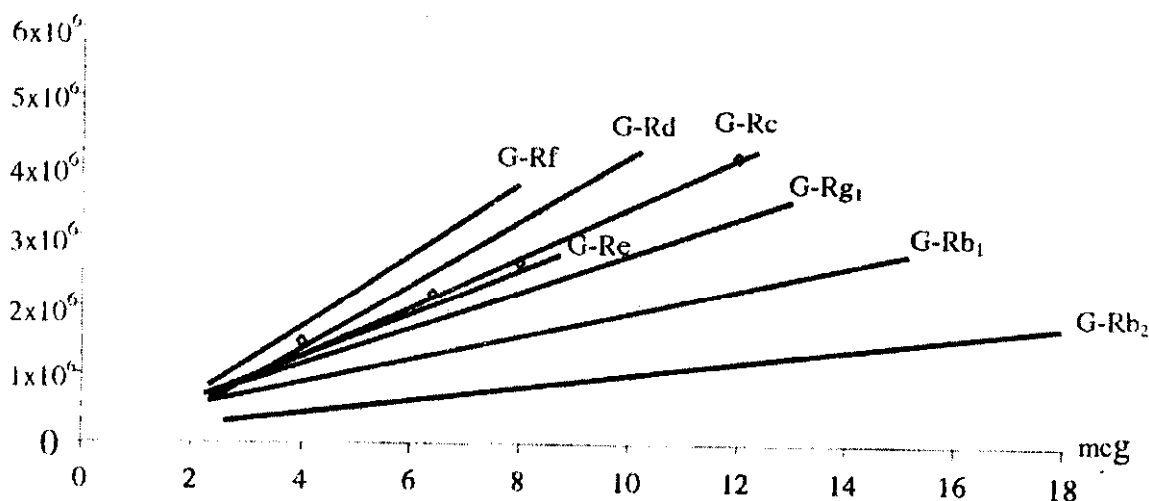
2.2. Dụng cụ máy móc:

- Máy HPLC (LC - 10AD-Shimadzu-Nhật), cột Supelcosil RP-C18 (150 mmx 4,6 mm) chứa chất nhồi cột có kích thước 5,0μm, kèm cột bảo vệ Supelguard (20 mmx 4,6 mm), detector photodiode array (đặt ở bước sóng 203 nm). Tốc độ dòng 1,0 ml/ph.
- Mẫu thử nghiệm được hoà tan trong metanol (Lichrosolv), lọc qua lọc Whatman 0,45μm PVDF trước khi bơm vào máy HPLC bằng loại microseringe 50μl (Hamilton 705 SNR Supelco-USA).

3. Xây dựng đường chuẩn từ các ginsenosid chuẩn:

Xây dựng đường chuẩn biểu diễn sự tương quan giữa nồng độ chất chuẩn với diện tích peak bằng cách bơm vào máy HPLC các lượng ước phân của từng dung dịch chuẩn với nồng độ thích hợp {ginsenosid Rx (mg/ml)}; G-Rg₁(0,85); G-Re(0,45); G-Rf(0,65); G-Rb₁(0,75); G-Rc(0,80); G-Rb₂(0,50), G-Rd(0,55).

Diện tích peak



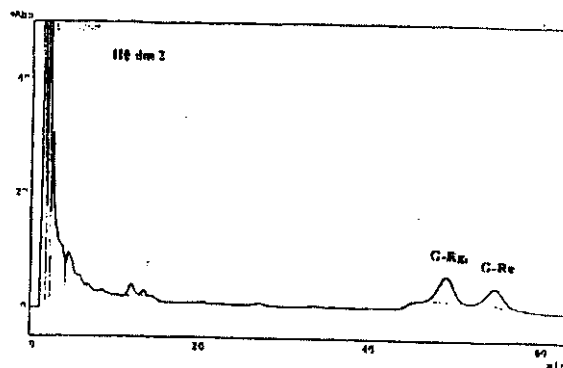
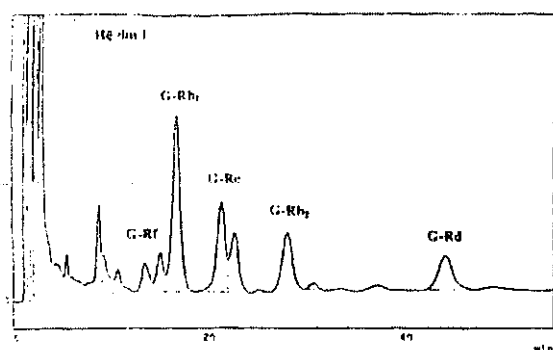
Hình 2: Các đường chuẩn biểu thị mối tương quan giữa nồng độ của từng ginsenosid chuẩn và diện tích pic tương ứng.

4. Tách hỗn hợp ginsenosid chuẩn bằng phương pháp HPLC pha đảo:

4.1. Điều kiện 1: Với hệ thống HPLC như được mô tả trong phần 2.2, sử dụng hệ dung môi 1: acetonitril-nước (30:70) có thể tách được các ginsenosid-Rf, G-Rb₁, G-Rc, G-Rb₂ và G-Rd với thời gian lưu tương đối (phút) theo thứ tự là 11,9; 16,1; 19,9; 25,4 và 40,2. Tuy nhiên, hai pic của G-Rg₁ và G-Re trùng nhau và rất gần với pic của dung môi metanol.

4.2. Điều kiện 2: Cũng với hệ thống HPLC trên, nhưng với hệ dung môi 2: acetonitril-nước (20: 80) có thể tách được G-Rg₁ ra khỏi G-Re với thời gian lưu tương đối (phút) theo thứ tự là 48,2 và 53,7. Ở điều kiện này các pic của G-Rf, G-Rb₁, G-Rc, G-Rb₂ và G-Rd có thời gian lưu dài nên không thể được đẩy ra khỏi cột trong thời gian quy định.

5. Sơ đồ xác định hàm lượng các ginsenosid chính của nhân sâm bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (Xem trang sau).



Hình 3: Sắc đồ HPLC của mẫu "HS2" (*Panax ginseng* C.A. Meyer).

Điều kiện: Cột supelcosil 150 x 4,6 mm. Hệ dm 1: acetonitril: H₂O (30:70); hệ dm 2: acetonitril: H₂O (20: 80). Detector UV 203 nm. Tốc độ dòng 1 ml/ph.

Mẫu dược liệu

- Sấy ở $60 \pm 5^\circ\text{C}$ trong 2 – 3 giờ
- Nghiền thành bột khá mịn (cân chính xác khoảng 5g)
- Chiết bằng MeOH và MeOH 50% (4 x 50ml)
- Chiết hồi lưu và khuấy trộn liên tục (máy khuấy từ)
- $t^\circ\text{C} \leq 50^\circ\text{C}$

Kiểm tra bằng SKLM
(đảm bảo chiết hết saponin)

Dịch MeOH

- Lọc và cô chân không đến cạn ($t^\circ \leq 50^\circ\text{C}$)
- Cân cẩn thu được, cho một lượng thích hợp vào cột Diaion HP-20 (2,5 x 30 cm)
- Chiết xuất lần lượt bằng nước, MeOH và CHCl_3

H_2O

Dịch H_2O
(hợp chất đường)

MeOH

Dịch MeOH
(hợp chất saponin)

CHCl_3

Dịch CHCl_3
(hợp chất béo)

Cô chân không
($t^\circ \leq 50^\circ\text{C}$)

Cẩn saponin

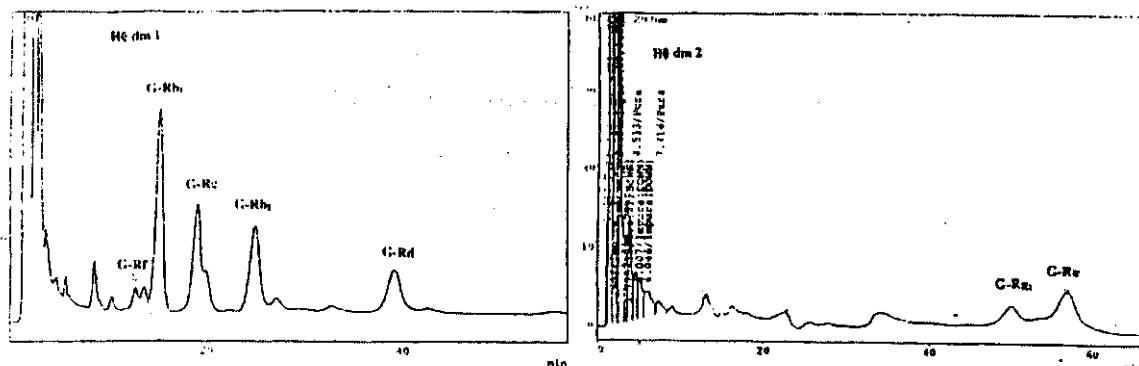
- Cân chính xác 15 - 25 mg cẩn
- Hòa tan trong 5 ml MeOH (bình định mức).
- Lọc qua lọc 0,45 μm
- Bơm vào máy HPLC (5 - 20 μl)

Sắc ký đồ (Hình 3, 4, 5)



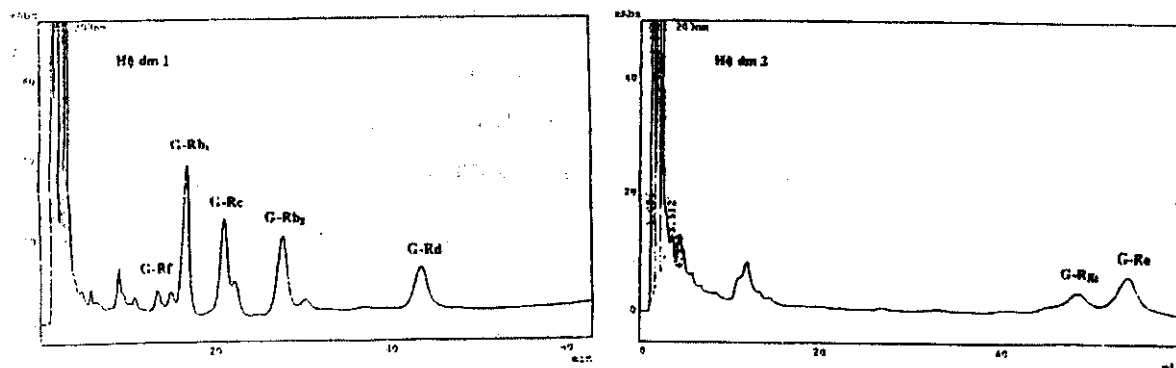
Điều kiện HPLC:

- Cột Supelcosil RP-C18 (150 x 4,6 mm) có kèm cột bảo vệ Supelguard (20 x 4,6 mm).
- Máy HPLC: LC-10 AD (Shimadzu).
- Detector: Photodiode Array (UV 203 nm).
- Pha động: acetonitril - nước (30: 70; 20: 80).
- Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút.
- Nhiệt độ: nhiệt độ phòng (26-28°C).
- Số liệu được xử lý bằng chương trình toán thống kê Excel



Hình 4: Sắc đồ HPLC của mẫu "HHT" (*Panax ginseng* C.A. Meyer).

Điều kiện: cột Supelcosil 150 x 4,6 mm. Hệ dm 1: acetonitril: H₂O (30:70); hệ dm 2: acetonitril: H₂O (20: 80). Detector UV 203 nm. Tốc độ dòng 1ml/ph.



Hình 5: Sắc đồ HPLC của mẫu "BHT" (*Panax ginseng* C.A. Meyer).

Điều kiện: cột Supelcosil 150 x 4,6 mm. Hệ dm 1: acetonitril: H₂O (30:70); hệ dm 2: acetonitril: H₂O (20: 80). Detector UV 203 nm. Tốc độ dòng 1 ml/ph.

Kết quả

Bảng 2: Hàm lượng các ginsenosid định lượng bằng phương pháp HPLC

Nguyên liệu	Hàm lượng các ginsenosid (%) ^(*)							Tổng cộng
	GRg ₁	GRe	GRf	GRb ₁	GRc	GRb ₂	GRd	
BS1	0,16	0,02	0,03	0,29	0,06	0,21	-	0,77
HS1	0,24	0,10	0,02	0,42	0,12	0,21	-	1,11
BS2	0,28	0,16	0,01	1,58	0,55	0,02	0,55	3,15
BHT	0,17	0,50	0,09	1,80	0,75	0,56	0,47	4,34
HS2	0,20	0,14	0,06	0,84	0,26	0,65	0,14	2,29
HHT	0,13	0,33	0,09	2,10	0,46	1,30	0,22	4,63

(*): Kết quả được tính trên dược liệu đã trừ độ ẩm và là trị số trung bình của 3 lần đo.

(-): Trị số đáp ứng pic quá nhỏ, không cho kết quả trên máy.

Kết luận

Với cách chiết xuất cổ điển sử dụng metanol và n-butanol bão hoà nước đòi hỏi nhiều công đoạn hơn và không loại được hết mono- và oligosaccharid đi kèm theo. Chúng tôi đã áp dụng cách chiết xuất bằng metanol với cách đun hồi lưu và khuấy trộn liên tục bằng máy khuấy từ ở $t^0 \leq 50^{\circ}\text{C}$. Việc loại tạp chất được thực hiện với polymer pha đảo Diaion HP-20. Phương pháp chiết xuất và điều chế này giúp thu được các hỗn hợp saponin đủ sạch để có thể phân tích HPLC. Ngoài ra, polymer này sau khi sử dụng có thể được phục hồi để dùng nhiều lần, và làm giảm chi phí định lượng.

Bằng cách sử dụng phương pháp HPLC, chúng tôi đã tách và định lượng các ginsenosid chính như G - Rg₁, G - Rb₁, G - Re, G - Rf, G - Rc, G -

Rb₂ và G - Rd trong một số mẫu nhân sâm bán ở thị trường. Các khảo sát trên các mẫu được cung cấp bởi XNDP 26 đều cho kết quả tốt, đặc biệt là các mẫu hồng hỗn tu và bạch hỗn tu. Điều này có thể do đây là một xí nghiệp chuyên sản xuất các chế phẩm từ dược liệu nên có nguồn cung cấp nguyên liệu đảm bảo. Tuy nhiên, một mẫu bạch sâm được mua ngẫu nhiên ở thị trường lại cho kết quả tương đối thấp (0,77%) nếu so với hàm lượng trung bình theo tài liệu công bố (1,29%) [8].

Ngày nay, với tiến bộ khoa học kỹ thuật, việc sử dụng phương pháp HPLC để định lượng các hoạt chất trong nguyên liệu đã trở nên phổ biến. Ở một số phòng thí nghiệm của nước ta hiện nay, kỹ thuật phân tích này đã trở nên thông dụng và chi phí định lượng có thể giảm xuống ở mức chấp nhận.

Tài liệu tham khảo

- 1). Yun, Taik-Koo et al. *Proceedings of the 7th International Symposium on Ginseng*. Seoul, Korea, 174-181, 1998; 2). H. S. Kim et al. *Proceedings of the 6th International Symposium on Ginseng*. Seoul, Korea, 119-123, 1993; 3). S. Hiai, H. Oura et al. *Planta Medica*, 28, 363-369, 1975; 4). H. Wagner and A. Wurmbock. *Deutsche Apoth. Zeit.*, 33, 1209-1213, 1978; 5). E. Bombadelli et al. *J. Chromatography*, 196, 121-132, 1980; 6). F. Soldati and O. Sticher. *Planta Medica*, 38, 348-357, 1980; 7). N. M. Duc, N. T. Nham, R. Kasai, A. Ito, K. Yamasaki and O. Tanaka. *Chem. Pharm. Bull.*, 41, 2010, 1993; 8). O. Tanaka, R. Kasai and T. Morita. *Abstract of Chinese Medicine*, 1 (1), 130-132, 1986.

Tap chí Dược liệu, tập 4, số 2/1999 (trang 44-47)

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU MỘT SỐ CÂY THUỘC HỌ CÚC

Vũ Việt Nam - Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên

Trần Ngọc Ninh - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

J. Mc Leod - The Australian National University, Australia

Nguyễn Xuân Dũng - TT Giáo dục và Phát triển Sắc ký VN.

(Nhận bài ngày 20 tháng 10 năm 1998)

Summary

3 β -Amyrin acetate, long chain fatty esters, long chain fatty alcohols, and a compound with the Mw of 232 (eudesmane sesquiterpene) were found in the leaves of *Artemisia vulgaris* L. Thiophene derivative 2-(prop-1-ynyl)-5-(5,6 dihydroxy hexa-1,3-diynyl)-thiophene was isolated from the leaves of *Pluchea indica* (L.) Less.

The structure of this compound was confirmed by spectroscopic methods.

Key-Words: *Artemisia vulgaris* L., *Pluchea indica* (L.) Less, 3 β -amyrin acetate, long chain fatty esters, long chain fatty alcohols, sesquiterpene, acetylenic thiophene.

Mở đầu

Ngải cứu và cúc tần là những cây mọc hoang và được trồng rất phổ biến ở nước ta. Trong y học dân tộc, chúng được dùng để chữa các bệnh như: đau, cảm sốt, không ra mồ hôi, thấp khớp, đau lưng, nhức xương, bồng, kiết lỵ, tiêu hoá kém [1].

Tiếp tục chương trình nghiên cứu các cây thuốc và cây tính dầu thuộc họ Cúc, chúng tôi đã khảo sát thành phần hoá học của cây ngải cứu và cây cúc tần.

Phân thực nghiệm

Mẫu nghiên cứu: Ngải cứu và cúc tần được thu hái vào tháng 5 năm 1996 ở Tam Đảo (Vĩnh Phúc) được rửa sạch và để khô trong không khí.

Tách chất từ mẫu thực vật: Mẫu được ngâm trong etanol 70%, thời gian 5-6 ngày, cất loại bỏ dung môi thu được cao thực vật. Tiến hành sắc ký trên cột silica-gel thu được các phân đoạn.

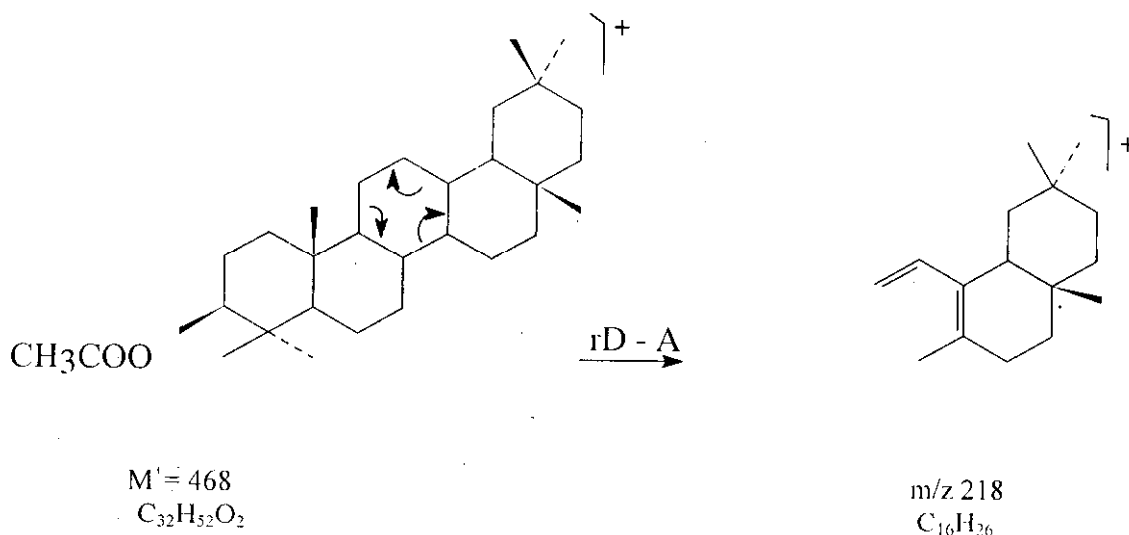
Tách các hợp chất có trong các phân đoạn bằng sắc ký cột hoặc HPLC.

Xác nhận cấu trúc: Sử dụng chủ yếu phương pháp phổ khối (MS) và cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) (Bruker 300 MHz).

Kết quả và thảo luận

Trong cuốn sách “Nghiên cứu hoá học các hợp chất thiên nhiên” do Atta-ur-Rahman chủ biên [2] các tác giả đã đưa ra các hợp chất được tìm thấy trong cây ngải cứu như các dẫn xuất của acetylen, artemesia ceton, các hợp chất cumarin, umbelliferon, aesculetin, scopoletin, dracunculid, các flavonoid như ayanin-isoquercitin, isorhamnetin 3-glucosid, isorhamnetin 3-rutinoid, rutin 5,7,3',4'-tetra OH, 3-OGlc (6→1α) rha, các sesquiterpen lacton bao gồm cả sesquiterpen acid và các hợp chất khác như fernesol, quinovic acid, eudesman III. Nguyễn Xuân Dũng, Vũ Việt Nam và cộng sự [3] đã nghiên cứu thành phần hoá học của tinh dầu lá ngải dại (*Artemisia vulgaris* L. var. *indica* Maxim). Chúng tôi tiếp tục nghiên cứu phần ngoài tinh dầu từ lá ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) mọc hoang ở Tam Đảo và đã tách được:

- Một hợp chất có khối lượng phân tử $MW = 486-3967$ tương ứng với công thức $C_{32}H_{52}O_2$, đó là chất 3-β-amyryl acetat. Khi so sánh với phổ chuẩn mảnh đặc trưng $m/z-218$ ứng với $C_{16}H_{26}$ đó là kết quả của chuyển vị retro-Diels Alder



Mảnh $m/z=453$ là 3-β-amyryl bị cắt một nhóm methyl.

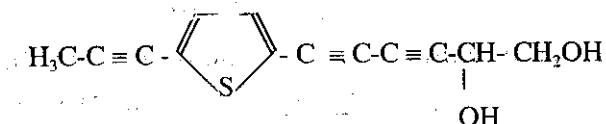
- Hỗn hợp của este acid béo mạch dài với một lượng nhỏ của alcol béo mạch dài $CH_3(CH_2)_nCOO(CH_2)_mCH_3$ và $CH_3(CH_2)_nCH_2OH$ được xác định trên cơ sở phổ MS và NMR.

- Một sesquiterpen $C_{15}H_{26}O_2$ có $MW=232$, dựa trên phổ MS và NMR cho thấy có chứa nhóm metylenlacton, việc giải thích cấu trúc kỹ hơn bị hạn chế do lẫn với phổ của các este acid béo. Có thể đây là một sesquiterpen eudesman như đã

công bố có chứa trong ngải cứu, khó khăn trong việc tách do mẫu ban đầu quá ít.

2. Tip-pyany Santi [4] đã sàng lọc các hợp chất hoá học phục vụ nông nghiệp từ cúc tần. U. Taketo và cộng sự [5,6] đã tách được hợp chất terpenic và lignan glycosid, M. Sibabrata và cộng sự đã xác định được sự có mặt của hợp chất 3-(2',3'-diacetoxy-2-metylbutyryl) cuahtemon [7] và các dẫn xuất thiophen mới từ rễ cúc tần [8].

Từ lá cúc tần, chúng tôi cũng đã tách được hợp chất chính thiophen acetylenic



Cấu trúc của chất này đã được khẳng định bằng phổ MS và NMR. MS: (m/z - cường độ %). $M^+ = 230$ (62), 199(93), 170(17), 149(14), 127(30), 121(5), 107(6), 97(15), 95(16), 81(20), 69(27), 63(17), 55(43), 31(100) (CH_2OH).

MS phân giải cao (EI mode) cho ta $MS=230.0402$ ứng với $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}$.

Phổ khối EI mode (EIMS) cho pic $M^+=230$ (62), 199 (93), ($M-\text{CH}_2\text{OH}$), 31(100%) (CH_2OH) có cường độ mạnh. M

Mặc dầu cường độ của các pic khác phần lớn nhỏ hơn 20% so với pic cơ sở, nhưng có thể tìm thấy một số pic rất có ích cho việc đánh giá cấu trúc của chất trên, ví dụ việc mất đi gốc $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ cho ta mảnh ion có m/z=170, gốc này mất đi gốc C_4H bao gồm 2 phân tử acetylen tạo ra gốc m/z=121. Mặt khác, sự phân chia của vòng thiophen của mẫu (m/z 170) với sự chuyển vị

hydro có thể dẫn đến pic có m/z 63 và 107.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD} = 70/30$) 300 MHz Bruker

δ ppm=1,96 (3H,s,- CH_3), 3,62 (2H,m, $\text{CHOH-CH}_2\text{-OH}$), 4,40 (1H,m, $\text{CHOH-CH}_2\text{-OH}$); 6,69 và 7,11 (mỗi 1H cho 1 proton ở vòng thiophen, AB vạch kép)

$^{13}\text{C-NMR}$. Nhờ kỹ thuật APT đã dễ dàng xác định được độ dịch chuyển hoá học của hợp chất (I), (Xem bảng 1)

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy hợp chất trên có bộ khung 13 carbon, trong đó có 8 C bậc bốn, 3CH, 1 CH_2 và 1 CH_3 . Sáu vạch đơn ở vùng 63,1 đến 92,2 ppm chỉ ra sự có mặt của 3 nhóm $\text{C}\equiv\text{C}$, 2 vạch đơn và 2 vạch kép ở vùng 123,3 đến 133,2 ppm biểu thị 4C của vòng thiophen.

Bảng 1. Độ dịch chuyển hoá học

$^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất (I)

Vị trí C	Dịch chuyển hoá học (ppm)
C4	133,2
C3	131,7
C5	124,0
C2	123,3
C acetylen	92,2
C acetylen	83,1
C acetylen	78,8
C6'	65,9
C acetylen	65,6
C acetylen	63,6
C acetylen	63,2
C5'	63,1
C3''	4,1

Vạch đôi và vạch ba trong vùng mạch thẳng 63,1-65,9 ppm khẳng định sự có mặt của nhóm $-\text{CHOH-CH}_2\text{OH}$, trong khi đó vạch bốn ở 4,1 ppm chứng tỏ C của nhóm methyl gắn với liên kết acetylen.

Từ các kết quả thu được ở trên đã xác nhận dẫn xuất thiophen được tìm thấy trong lá của cây cúc tần là 2-(prop-1-ynyl)-5-(5,6-dihydroxyhexa-1,3-diynyl)-thiophen.

Hợp chất mới này cũng đã được A. K. Chaleravarty và cộng sự tìm thấy trong rễ cúc tần của Ấn Độ [8].

Tài liệu tham khảo

- 1). Viện Dược liệu, Cây thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản KHKT, 1990; 2). Atta-ur-Rahman. Studies in Natural Products Chemistry, Vol.7, Structure and Chemistry (Part A), Elsevier Pub. 1990, p 201-264; 3). Nguyễn Xuân Dũng, Vũ Việt Nam, Hoàng Thanh Hương and Piet. A. Leclercq; *J. Essential Oil Research* (USA) 4, 433-434,

1992; 4). Tip-Pyang, Santi. Dissertation Abstr. Int. 51(11), 5272, 1991, Mississippi State Uni, MS-USA; 5). U. Taketo, M. Toshio, U. Akira and U. Khan. *Phytochemistry*, 30(2), 655-657, 1991; 6). U. Taketo, M. Toshio, U. Akira and U. Khan. *Phytochemistry*, 28(12), 3369-3372, 1989; 7). M. Sibabrata, G.A. Cordeell, R. Nisiri, R. Supseeya, T. Payom and P. J. Haylands, *J. Nat. Prod.* 46(5) 671-674, 1983; 8). A.K. Chaleravarty, M. Sibabrata, *Indian J. Chem. Biology*, Sect. B. Organic Chemistry, Inct. Med. Chem. 33B(10), 978-980, 1994.

Tạp chí Dược liệu, tập 4, số 2/1999 (trang 47-52)

NGHIÊN CỨU CẤU TRÚC HOÁ HỌC CỦA CÁC SAPONIN TRONG CÂY CỎ XƯỚC (*ACHYRANTHES ASPERA* L.) - Thông báo số 1.

Kazuo Yamasaki

Khoa Dược, Trường Đại học Y khoa, Viện
Đại học Hiroshima, Nhật Bản

Nguyễn Minh Đức, Võ Duy Huân

Khoa Dược, Trường Đại học Y-Dược, TP. Hồ
Chí Minh

(Nhận bài ngày 6 tháng 11 năm 1998)

Summary

Six triterpene saponins were isolated from the root of *Achyranthes aspera* L. On the basis of MS and NMR spectra, their structures were determined as dimethyl ester of 28-desglucosyl prosapogenin of Chikusetsu-saponin-IVa, prosapogenin of Chikusetsu-saponin-IVa, Chikusetsu-saponin-IVa methyl ester, Chikusetsu-saponin-V methyl ester, Achyranthoside B methyl ester, and saponin 5 which was previously isolated from *Pisonia umbellifera*.

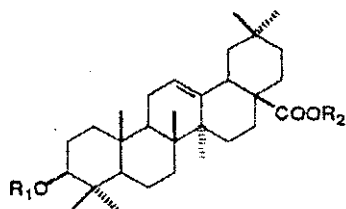
Key-words: *Achyranthes aspera* L., Triterpene Saponin, Oleanolic Saponin.

Đặt vấn đề

Ngưu tất (*Achyranthes aspera* L.) thuộc họ Dền (Amaranthaceae) là một trong những dược liệu kinh điển của y học cổ truyền, có tác dụng bổ, mạnh gân xương, trị đau nhức, phong thấp, hạ cholesterol máu, cao huyết áp... Cây đã được di thực và trồng thành công ở nước ta. Ngoài cây ngưu tất trên (ngưu tất bắc), y học dân gian nước ta và một số nước khác như Ấn Độ, Madagascar, Indonesia... đã sử dụng khá phổ biến cây cỏ xước,

còn gọi là ngưu tất nam, tên khoa học là *Achyranthes aspera* L., với công dụng tương tự.

Về mặt hoá học, Phạm Kim Mãn và cộng sự đã xác định rễ ngưu tất và cỏ xước đều chứa saponin triterpen có genin là acid oleanolic [1, 2]. Từ hạt cỏ xước, V. Hariharan và cộng sự đã phân lập hai saponin là *Achyranthes saponin A* và *B* [3]. Từ quả xanh cỏ xước, V. Seshadri và cộng sự chiết tách được *Achyranthes saponin C* và *D* [4].



Hình 1. Các saponin từ cỏ xước đã được chiết tách và xác định

(GlcA: β -D-glucuronopyranosyl, Glc: β -D-glucopyranosyl, Gal: β -D-galactopyranosyl; Rha: α -L-rhamnopyranosyl).

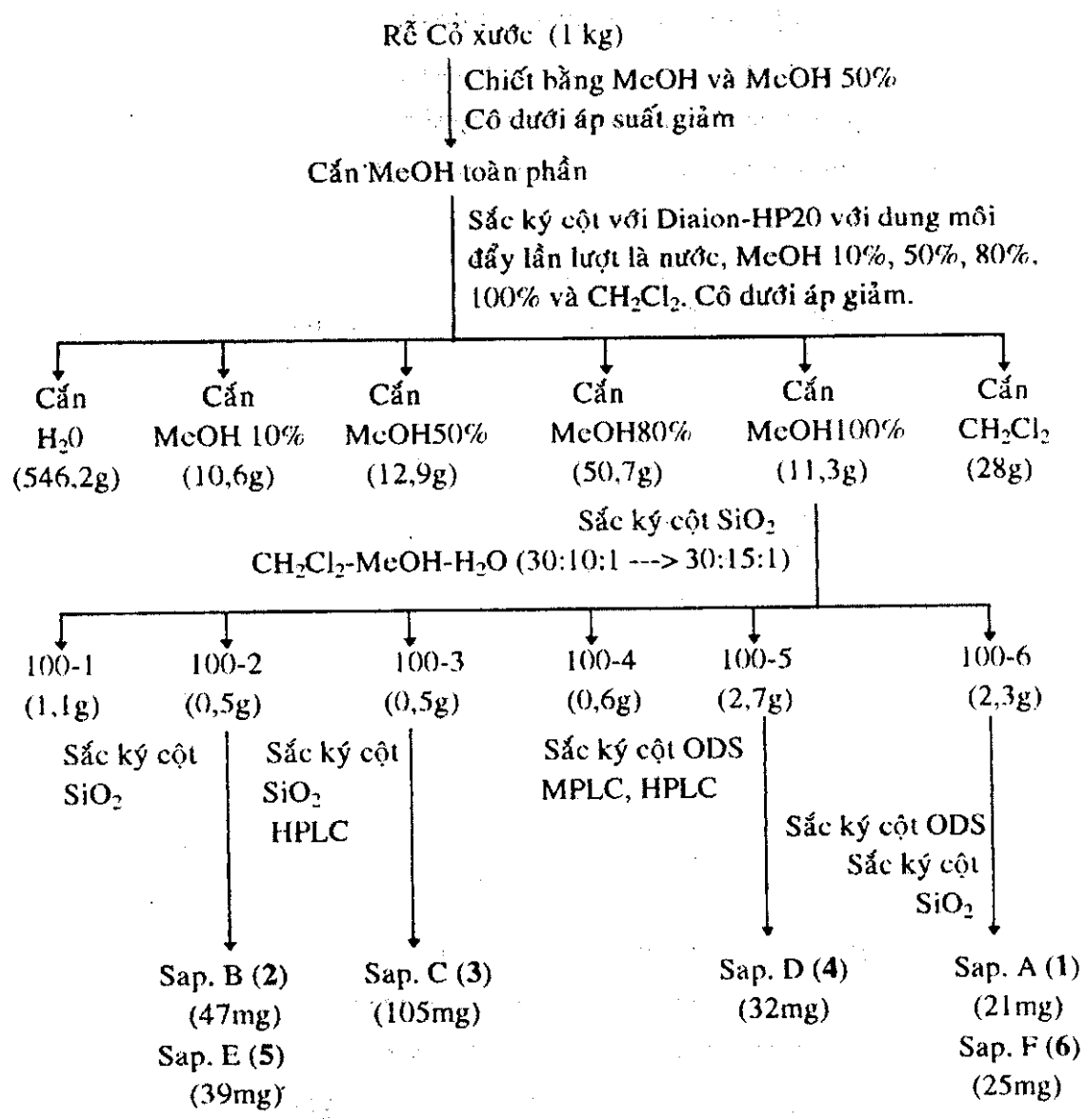
	R ₁	R ₂
Acid oleanolic	-H	-H
<i>Achyranthes saponin A</i>	-GlcA ⁴ -Glc ⁴ -Rha	-H
<i>Achyranthes saponin B</i>	-GlcA ⁴ -Glc ⁴ -Rha	-Gal
<i>Achyranthes saponin C</i>	-GlcA ⁴ -Rha	-Glc
<i>Achyranthes saponin D</i>	-GlcA ⁴ -Glc ⁴ -Rha	-Glc

Nội dung nghiên cứu

1. Chiết xuất và phân lập các saponin từ rễ cỏ xước

Rễ cây cỏ xước (1 kg) được chiết xuất bằng metanol và metanol 50%. Cẩn thu được từ dịch chiết metanol toàn phần (635,5 g) được sắc ký qua cột polymer pha đảo Diaion HP-20 (Mitsubishi Chemical Co.), với dung môi đẩy lần lượt là nước cất, metanol 10%, 50%, 80%, 100% và diclorometan. Sự kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng cho thấy đường đã được hoàn toàn loại ra trong dịch chiết, còn saponin chủ yếu có mặt trong phân đoạn metanol 80% và 100%. Sau khi

cô dưới áp suất giảm, phân đoạn metanol 100% (11,3 g) chứa các saponin kém phân cực hơn được sắc ký qua cột silica-gel với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂-MeOH-H₂O với tỷ lệ phân cực tăng dần (30:10:1 → 30:15:1). Các phân đoạn 2,3,5,6 thu được từ cột trên được tiếp tục tách qua nhiều giai đoạn bằng sắc ký cột với silica-gel thường và silica-gel pha đảo RP-18 (ODS), sắc ký lỏng áp suất trung bình (medium pressure liquid chromatography-MPLC), sắc ký lỏng cao áp (high pressure liquid chromatography-HPLC) với chất mang là silica-gel pha đảo RP-18 (ODS, Merck). Quy trình chiết xuất và phân lập được tóm tắt trong sơ đồ sau:



Hình 2. Sơ đồ chiết xuất và phân lập các saponin A-F từ rễ cỏ xước

2. Khảo sát cấu trúc hoá học của các saponin

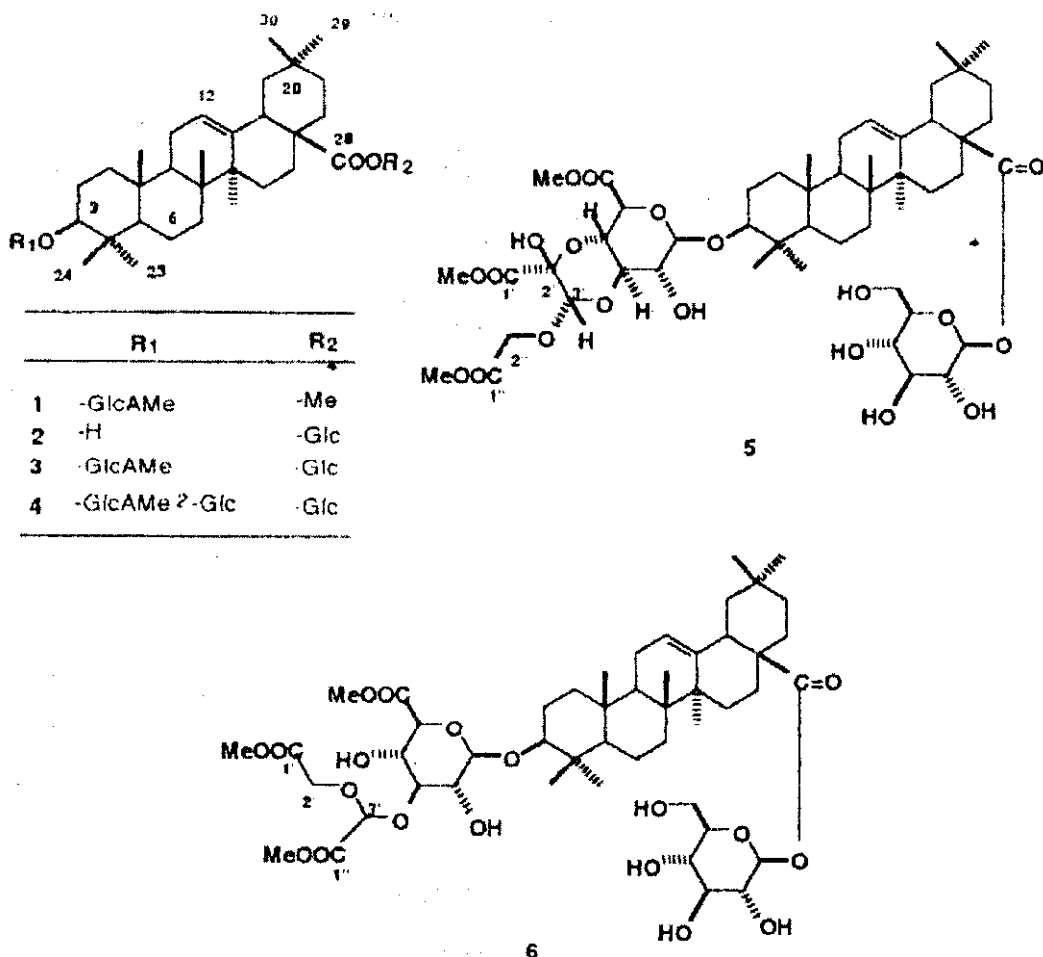
Cấu trúc hoá học các saponin đã phân lập được khảo sát bằng phương pháp phổ khối (mass spectroscopy-MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (nuclear magnetic resonance spectroscopy-NMR) trong những điều kiện tổng quát như sau:

Phổ NMR được đo bằng máy JEOL-JNM-A 400 (400 MHz) với dung môi sử dụng là pyridin- d_5 và chuẩn nội tetrametylsilan (TMS). Phổ MS được đo trên máy JEOL-JMX-SX 102 bằng phương pháp ngõ vào trực tiếp ở điện thế ion hoá là 70eV. Công thức nguyên của các hợp chất được xác định bằng phổ NMR kết hợp với phổ MS.

Kết quả và thảo luận

Theo sơ đồ chiết xuất trên, từ phân đoạn

metanol 100% qua cột Diaion-HP20, chúng tôi đã phân lập được 6 hợp chất saponin A, B, C, D, E và F. Dựa vào các độ dời hoá học (chemical shifts) đo được bằng phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân (bảng 1 và 2) so với các số liệu phổ NMR đã công bố và kết quả phân tích khối phổ FAB âm (Negative Fast Atom Bombardment Mass Spectroscopy, bảng 3), các saponin phân lập đã được xác định lần lượt là dimetyl ester của 28-desglucosyl prosapogenin của Chikusetsu-saponin-Va (1), prosapogenin của Chikusetsu-saponin-IVa (2), metyl ester của Chikusetsu-saponin-IVa (3), metyl ester của Chikusetsu-saponin-V (4), metyl ester của Achyrantoside B (5) [5] và saponin 5 trước đây đã phân lập từ *Pisonia umbellifera* (6) [6] (hình 3).



Hình 3. Cấu trúc hoá học các saponin A-F phân lập từ cỏ xước (Glc: β -D-glucopyranosyl; Glc A: β -D-glucuronopyranosyl)

Bảng 1. Số liệu phổ C^{13} -NMR (100 MHz, trong pyridin- d_5 , δ = ppm)
phần aglycon của các saponin A-F từ cỏ xước

C	1	2	3	4	5	6
1	38.7	39.0	38.7	38.7	38.5	39.0
2	26.7	28.0	26.5	26.5	26.4	26.5
3	89.2	78.1	89.2	89.4	89.5	89.4
4	39.6	39.3	39.5	39.5	39.5	39.4
5	55.8	55.8	55.8	55.8	55.6	55.7
6	18.5	18.8	18.5	18.5	18.4	18.4
7	33.2	33.2	33.1	33.1	33.1	33.1
8	39.7	39.9	39.9	39.9	39.8	39.8
9	47.9	48.1	48.1	48.0	47.9	48.0
10	37.0	37.4	37.0	36.9	36.9	36.9
11	23.8	23.8	23.6	23.8	23.7	23.7
12	122.9	122.9	122.8	122.9	122.5	122.8
13	144.2	144.1	144.1	144.1	144.1	144.1
14	42.0	42.1	42.1	42.1	42.1	42.1
15	28.2	28.2	28.2	28.2	28.2	28.0
16	23.7	23.6	23.7	23.5	23.6	23.6
17	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	46.9
18	41.8	41.8	41.7	41.8	41.7	41.7
19	46.1	46.3	46.2	46.2	46.1	46.2
20	30.8	30.7	30.7	30.7	30.7	30.8
21	34.0	34.0	34.0	34.0	33.9	34.0
22	32.8	32.5	32.5	32.5	32.5	32.5
23	28.1	28.7	28.2	28.1	28.0	28.2
24	16.9	16.4	16.9	16.7	16.7	16.7
25	15.5	15.6	15.5	15.5	15.4	15.5
26	17.1	17.5	17.5	17.5	17.4	17.4
27	26.2	26.0	26.1	26.1	26.0	26.1
28	178.0	176.4	176.4	176.4	176.4	176.4
29	33.1	33.1	33.1	33.1	33.0	33.1
30	23.4	23.4	23.4	23.4	23.4	23.6

Bảng 2. Số liệu phổ C^{13} -NMR (100 MHz, trong pyridin- d_5 , δ = ppm) phần đường và nhóm thế trên đường của các saponin A-F từ cỏ xước

C	1	2	3	4	5	6
3-O-Glc A						
1	107.4		107.1	105.2	107.4	106.8
2	75.5		75.3	82.6	71.7	74.8
3	78.0		77.9	76.7	72.0	84.2
4	73.3		73.1	72.8	69.6	71.1
5	77.3		73.2	76.9	74.0	76.7
6	170.9		170.7	170.4	169.0	170.2
OMe	52.0		51.9	52.0	51.5	51.4
Glc						
1				105.8		
2				77.5		
3				77.9		
4				71.8		
5				78.1		
6				62.8		
28-O-Glc						
1		95.7	95.7	95.7	95.7	95.7
2		74.1	74.1	74.1	74.1	74.1
3		79.1	79.1	79.2	79.2	79.3
4		71.2	71.2	71.2	71.1	71.1
5		78.8	78.8	78.8	78.8	78.9
6		62.3	62.3	62.3	62.2	62.2
Nhóm thế trên GlcA						
1'					169.8	170.6
OMe					52.5	52.1
2'					93.9	63.1
3'					97.9	99.4
1''					169.0	168.1
OMe					52.4	51.8
2''					64.6	

Bảng 3. Số liệu khối phổ (Negative FAB-MS) quan trọng của các saponin A-F phân lập từ cỏ xước

Saponin	Công thức nguyên	Các mảnh phổ quan trọng (m/z)
Saponin A (1)	$C_{18}H_{26}O_9$	659 [M - H] ⁻ , 645 [M - Me] ⁻
Saponin B (2)	$C_{36}H_{58}O_8$	617 [M - H] ⁻ , 455 [M - Glc] ⁻
Saponin C (3)	$C_{44}H_{68}O_{14}$	807 [M - H] ⁻ , 793 [M - Me] ⁻ , 645 [M - Glc] ⁻ , 455 [M - MeGlcA - Glc] ⁻
Saponin D (4)	$C_{49}H_{78}O_{19}$	969 [M - H] ⁻ , 807 [M - Glc] ⁻ , 645 [M - 2Glc] ⁻ , 455 [M - MeGlcA - 2Glc] ⁻
Saponin E (5)	$C_{50}H_{76}O_{20}$	995 [M - H] ⁻ , 833 [M - Glc] ⁻
Saponin F (6)	$C_{49}H_{76}O_{19}$	967 [M - H] ⁻ , 953 [M - Me] ⁻ , 791 [M - Glc - Me] ⁻

Kết luận

Từ phân đoạn metanol 100% qua cột Diaion-HP20 của rễ cỏ xước (*Achyranthes aspera* L.), chúng tôi đã chiết tách và phân lập 6 saponin đơn chất A-F. Cấu trúc của các chất này đã được xác định bằng các phương pháp khối phổ và cộng

hưởng từ hạt nhân. Chúng đều có aglycon là acid oleanolic và là những chất có cấu trúc đã biết.

Thành phần và cấu trúc hoá học của các saponin từ các phân đoạn khác đang được nghiên cứu và sẽ công bố trong thời gian gần đây.

Tài liệu tham khảo

- 1). Phạm Kim Mẫn. *Tạp chí Dược học*, 4, 10, 1976; 2). Phạm Kim Mẫn. *Tạp chí Dược học*, 4, 11, 1978; 3). V. Harihan, S. Rangaswami. *Phytochemistry*, 27, 409, 1970; 4). V. Seshari, A. K. Batta, S. Rangaswami. *Indian J. Chem. [B]*, 20, 773, 1981; 5). Y. Ida, Y. Satoh, M. Katsumata (nee Ohtsuka), M. Nagasao, K. Yamaguchi, H. Kamei, J. Shoji. *Tetrahedron letter*, 35, 6887, 1994; 6). G. Masiot, M. G. Dijoux, C. Lavaud, L. Le Men-Oliver, J. D. Connolly and D. M. Sheeley. *Phytochemistry*, 37, 1621, 1995.

Tạp chí Dược liệu, tập 4, số 2/1999 (trang 52-54)

XÁC ĐỊNH HỢP CHẤT CANNABINOID TRONG LÁ CẦN SA

Dinh Vinh, Patrick Mura, Yves Papet.

Phòng thí nghiệm sinh hoá và độc chất-
Trung tâm bệnh viện và đại học Poitiers-Pháp
(Nhận bài ngày 2 tháng 2 năm 1999)

Summary

A method for simultaneous identification and quantitative determination of cannabinoids in Cannabis leaves has been established. The procedure includes four steps, i. e., silanisation of glassware, liquid - liquid extraction, methylation and injection on a gas-chromatograph apparatus. Qualitative detection is performed by mass-spectrophotography while quantitation is carried out using trideuterated internal standards. Precision and limits of quantitation based on a real sample prove to be satisfactory.

Key-words: *Cannabis, Cannabinoids, Simultaneous Identification and Quantitation.*

Đặt vấn đề

Việc xác định một mẫu bột lá có phải là cần sa hay không (thường được hút ở dạng lá khô) làm cơ sở cho một hồ sơ pháp y là cần thiết. Dựa trên cơ sở phân tích bằng máy sắc ký khí ghép khối phổ, mẫu được chiết xuất và metyl hoá để định lượng, với chuẩn ngoại được đánh dấu bằng đồng vị trideuterium là Δ -9-tetrahydro-cannabinol-trideuterium (THC- d_3) và chuẩn nội được đánh dấu bằng đồng vị trideuterium là acid 11-nor Δ -9-tetrahydrocannabinol-trideuterium (THC-COOH- d_3).

Vật liệu và phương pháp

1. Dụng cụ

- Máy sắc ký khí Hewlett-Packard 5890 II với detector khối phổ HP-5972
- Cột mao quản HP 5 MS Chrompack (30 m x 0,25 mm) với bề dày lớp phim là 25 μ m.
- Khí mang helium: 1 ml/phút
- Kỹ thuật bơm không chia dòng (splitless)
- Chương trình sắc ký
- Nhiệt độ buồng bơm mẫu: 270 °C
- Nhiệt độ cột : 60°C/1 phút đầu, độ tăng nhiệt độ 30°C/5 phút đến 295°C/5 phút.
- Detector khối phổ: theo chế độ SIM (Single Ion Monitoring) dựa trên những phân mảnh ion của chuẩn ngoại và chuẩn nội.

- THC ion (m/z) 328
- THC-d₃ ion (m/z) 331 (chuẩn ngoại)
- THC-COOH ion (m/z) 313
- THC-COOH-d₃ ion (m/z) 316 (chuẩn nội)

2. Thuốc thử

- Acid acetic 10%, dung dịch n-hexan/ethyl acetat (9/1); methanol, isooctan
- Methyl iodid, DMCS (dimethyldicloro silan) 5% trong toluen (bảo quản ở 4°C trong 1 tháng), TMAH (tetramethylamoni pentahydrat hydroxyd) 2,49 g/ 5 ml nước (chỉ pha khi dùng).

Hỗn hợp 50 µl dung dịch TMAH vừa pha với 1 ml DMSO (dimethylsulfoxid).

- Chất chuẩn: 11- nor 9-carboxy Δ-9 - THC 100 µg/ml; Δ-9 - THC 1 mg/ml; 11- nor 9- carboxy Δ-9 - THC-d₃ 100 µg/ml; Δ-9 - THC-d₃ 100 µg/ml.

- Pha giai mẫu chuẩn:

Pha riêng rẽ các dung dịch mẹ chứa 10µg/ml của THC, THC- d₃, THC-COOH, THC- COOH-d₃ trong methanol đựng trong những ống nghiệm đã silan hoá và được bảo quản trong tủ cấp đông.

Pha khi dùng dung dịch con chứa đồng thời 1 µg/ml của THC và 1µg/ml của THC- COOH.

Pha khi dùng dung dịch con chứa đồng thời 1 µg/ml của THC-d₃ và 1µg/ml của THC- COOH-d₃.

3. Silan hoá dụng cụ thuỷ tinh

Sự silan hoá các ống nghiệm dùng để đựng mẫu thử và mẫu chuẩn nhằm mục đích che các nhóm hoạt tính có thể hấp phụ cannabinoid có trên thành thuỷ tinh (như gốc hydroxyl). Dùng các ống nghiệm đáy nhọn 5 ml và 15 ml có nắp vặn xoắn.

- Cho 1 ml (hoặc 3 ml tùy dung tích ống nghiệm) dung dịch DMCS 5% trong toluen vào mỗi ống nghiệm. Lắc trên máy lắc nằm ngang trong vòng 10 phút để dung dịch silan hoá tráng đều thành trong của ống nghiệm.
- Hút bỏ dung dịch silan hoá, cho vào 1,5 ml (hoặc 5 ml) toluen để tráng ống trong 30 giây. Hút bỏ toluen và cho vào với cùng thể tích của methanol. Tráng lại lần cuối với toluen rồi methanol.
- Làm khô ống ở 80°C trong 20 phút.

4. Chiết

Cân chính xác khoảng 0,100 g bột lá khô đã được tán nhuyễn cho vào ống nghiệm 15 ml đã được silan hoá, thêm vào 10 ml methanol, đậy nắp và cho lắc trên máy lắc nằm ngang (70-80 lần/phút) trong 15 phút, sau đó đem ly tâm ở gia tốc 3000-3500 g trong vòng 10 phút. Gạn lấy dịch chiết và làm lại lần thứ hai với 10 ml methanol. Gộp cả hai dịch chiết và bổ sung methanol vừa đủ 20 ml. Hút chính xác 0,1 ml dịch chiết cho vào ống nghiệm 15 ml đã được silan hoá thêm 9,9 ml methanol. Hút chính xác 0,1 ml dung dịch methanol này cho vào ống nghiệm 5 ml đã được silan hoá, thêm 20 µl dung dịch con có nồng độ 1 µg/ml của THC-d₃ và THC - COOH- d₃ . Bốc hơi đến gần khô trong dòng khí nitơ.

5. Methyl hoá

Sự methyl hoá nhằm vào nhóm hydroxyl của cannabinoid, tạo thành dẫn xuất dễ bay hơi.

- Thêm vào cần khô ở trên 200 µl hỗn hợp TMAH và DMSO. Để yên 2 phút.
- Thêm 50 µl methyl iodid (trong tủ hút). Để yên 15 phút.
- Thêm 200 µl HCl 0,1 N.
- Thêm 1 ml isooctan để hoà tan dẫn chất methyl hoá, lắc trong vòng 10 phút. Ly tâm ở gia tốc 3000g trong 5 phút.
- Hút lấy pha hữu cơ (ở trên), bốc hơi đến khô, rồi cho trở lại 25 µl isooctan để chuẩn bị bơm mẫu (2µl).

6. Tính kết quả:

THC-d₃ và THC- COOH- d₃ được xem như chuẩn ngoại và chuẩn nội.

Tính tỷ lệ diện tích giữa phân mảnh ion 328 và 331.

Kết quả (mg/ g lá khô)= (Tỷ lệ diện tích x 20 ng x 10) x 2000/ P x 10⁻⁶

Kết quả và bàn luận

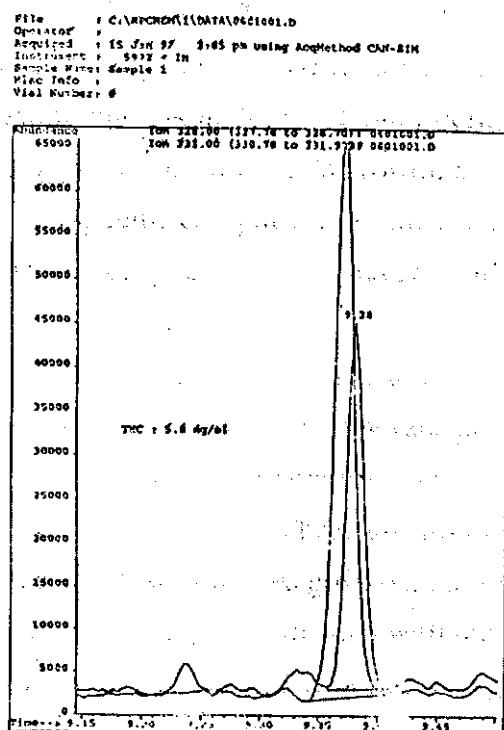
Thực hiện trên một mẫu bột lá khô với 5 phép đo song song. Kết quả ghi nhận trên hình 1 và bảng 1.

- Giới hạn định lượng: THC : 1 ng/ ml
THC- COOH: 0,5 ng/ml

Bảng 1: Hàm lượng THC trong bột lá cần sa trên 5 lần đo song song

Lần đo	P	Dd bơm mẫu (ng/ml)	Hàm lượng (mg/g)	P=0,95
1	0.092	5.80	0.126	Trung bình (mg/g) 0,1257
2	0.098	6.32	0.129	Độ lệch chuẩn 0,0027
3	0.103	6.38	0.124	Sai số chuẩn 0,0012
4	0.105	6.42	0.122	RSD% 2,13
5	0.095	6.05	0.127	

Thực nghiệm cho thấy qui trình có độ lặp lại tốt trên mẫu thực hiện.



Hình 1: Sắc ký đồ các phân mảnh ion 328 (ứng với THC) và 331 (ứng với THC- d₃).

Tài liệu tham khảo

- 1).Pascal Kintz, Vincent Cirimele. *Toxicorama* VII, N° 2. 1996; 2). Sperling A. *J. Chromatogr. Sci.*, 10, 268-275, 1972.

Tài liệu tham khảo (Tiếp theo trang 61)

- 1). Lê Kim Loan, Lê Tùng Châu, Bùi Thị Bằng, Trần Minh Vĩnh, Vũ Ngọc Lộ, Lê Thị Thủy. *Tạp chí Dược liệu*, số 4/1998; 2). Zhang Shi - Yu and Cheng Kuo - Chang. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol.7, Med. and Aromat. Plants II, 1989, 1- 22; 3). *Dược điển Việt Nam II*, T.3, 1994, 323.

HÀM LƯỢNG VÀ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA TINH DẦU LÁ ĐƯƠNG QUY NHẬT BẢN (*ANGELICA ACUTILOBA* KIT.) TRỒNG TẠI THÁI NGUYÊN

Thái Thanh Hải, Nguyễn Thanh Hương
Bùi Thị Bằng

J. Casanova, A. Muselli, A. Bighelli

Trường ĐH Sư phạm, ĐH Thái Nguyên
Viện Dược liệu

Trường ĐH Tổng hợp Corse (CH. Pháp)

(Nhận bài ngày 19 tháng 1 năm 1999)

Summary

Development of essential oil content and its chemical composition in the leaves of *Angelica acutiloba* Kit. grown in Thai Nguyen have been studied. Samples of the leaves were taken at ages of 4, 5, 6, 7 and 8 months. Six-month old plants gave the highest content (0.88% v/w). The figure of the rest varying from 0.31 to 0.64%. Main components of the oil and their contents at 5, 6, 7 and 8 months were *p*-cymene (6.2; 45.3; 25.9 and 14.1%), γ -terpinene (1.5; 11.5; 25.2 and 32.2%), *z*-butylidenephthalide (14.7; 4.2; 3.2 and 2.1%) and ligustilide (12.9; 2.8; 5.8 and 11.0%), respectively.

Key-words: *Angelica acutiloba* Kit., Leave Essential Oil Content, Chemical Composition.

Đặt vấn đề

Kết quả nghiên cứu tinh dầu rễ củ của các loài đương quy cho thấy một số thành phần của tinh dầu có tác dụng giảm đau, chống co thắt [1, 2, 3]. Lá đương quy Nhật Bản là phế liệu sau khi thu hoạch rễ làm thuốc, đã được nghiên cứu về hàm lượng và thành phần hoá học của tinh dầu. Việc làm này sẽ góp phần tăng giá trị sử dụng của lá đương quy và làm tăng hiệu quả kinh tế của cây thuốc này.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

1. *Vật liệu nghiên cứu.* Cây đương quy (*Angelica acutiloba* Kitagawa) di thực từ Nhật Bản. Hạt giống do Viện Dược liệu cung cấp, được gieo tại xã Đông Cao, huyện Phổ Yên, tỉnh Thái Nguyên. Mẫu lá để nghiên cứu được thu vào các tháng 4, 5, 6 và 7, tương ứng với 5, 6, 7 và 8 tháng tuổi của cây.

2. Phương pháp nghiên cứu.

- Thí nghiệm đồng ruộng được bố trí theo khối ngẫu nhiên trên diện tích 200 m² với 4 lần nhắc lại
- Hàm lượng tinh dầu được xác định bằng phương pháp cất kéo hơi nước [4].
- Chỉ số khúc xạ của tinh dầu được xác định trên khúc xạ kế ABBE-1 của hãng Carl-Zeiss-Jena.

- Tỷ trọng của tinh dầu được xác định bằng phương pháp picnomet-cân [5].
- Năng suất quay cực được xác định trên phân cực kế vòng của hãng Carl-Zeiss-Jena.
- Các chỉ số hoá học của tinh dầu được xác định theo tiêu chuẩn Việt Nam [5].
- Các thành phần hoá học của tinh dầu được nhận dạng và định lượng bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ C¹³ kết hợp với sắc ký khí trong những điều kiện sau: Phổ cộng hưởng từ C¹³ được ghi trên máy Bruker 200, tinh dầu pha trong CDCl₃ với nồng độ 140 mg/ml. Sắc ký khí tinh dầu được triển khai trên máy sắc ký khí Perkin-Elmer 8500, detector ion hoá ngọn lửa, cột mao quản dài 50 m, đường kính trong 0,22 mm. Pha tĩnh: BP 20 polyethylen glycol và BP 1 dimethyl siloxan. Khí mang: heli. Nhiệt độ cột tăng dần từ 60 đến 230°C (2°C/phút).

- Kết quả được xử lý theo phương pháp thống kê [4].

3. Thời gian và địa điểm thực nghiệm

- ❖ Thời gian thực nghiệm: năm 1996-1997.
- ❖ Địa điểm thực nghiệm: Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên.
- Hàm lượng và các chỉ số hoá lý của tinh dầu

được xác định tại phòng Phân tích - Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.

- Thành phần hoá học của tinh dầu được xác định tại trường Đại học Tổng hợp Corse (Cộng hoà Pháp).

Kết quả và thảo luận

1. Hàm lượng tinh dầu trong lá đương quy Nhật Bản trong quá trình sinh trưởng của cây.

Các mẫu lá thu hái vào lúc cây 5, 6, 7 và 8 tháng tuổi được dùng để cất tinh dầu ở dạng lá tươi. Các mẫu tinh dầu thu được là chất lỏng, màu vàng nhạt. Với mẫu thu lúc cây 5 tháng tuổi, tinh dầu đông lại ở nhiệt độ phòng. Sự biến động của hàm lượng tinh dầu theo tuổi cây được trình bày trong bảng 1.

Kết quả thu được cho thấy có 2 cực đại tích lũy tinh dầu trong lá trong quá trình sinh trưởng sinh dưỡng của cây đương quy, đó là lúc cây 6 và 8 tháng tuổi. Trong đó hàm lượng tinh dầu trong lá cao nhất vào lúc cây 6 tháng tuổi.

Bảng 2. So sánh các chỉ số lý, hoá học của tinh dầu lá đương quy trồng tại Thái Nguyên và Hà Nội (tháng 7-1998)

Vùng trồng	Chỉ số lý học			Chỉ số hoá học		
	d_{20}^{28}	N_D^{28}	α_D^{25}	Chỉ số acid	Chỉ số este	Hàm lượng (%) carbonyl
Thái Nguyên	0,9780	1,4985	-3,10	54,42	58,80	30,00
Hà Nội [8]	0,8917	1,5050	-3,48	28,05*	119,0*	20,00*

*) Số liệu phân tích bổ sung của Lê Kim Loan.

Kết quả cho thấy tinh dầu lá đương quy trồng tại Thái Nguyên có hầu hết các chỉ số vật lý tương tự như chỉ số vật lý của tinh dầu lá đương quy Nhật Bản trồng tại Thanh Trì, Hà nội. Trái với các chỉ số vật lý, các chỉ số hoá học của tinh dầu này lại khác với các chỉ số hoá học của tinh dầu lá đương quy trồng tại Thanh Trì, Hà Nội. Tinh dầu lá đương quy Nhật Bản trồng tại Thái Nguyên có chỉ số acid cao gấp 2 lần chỉ số acid của tinh dầu lá trồng tại Thanh Trì Hà Nội. Trong khi đó, chỉ số este của tinh dầu lá trồng tại Thanh Trì, Hà Nội lại cao gấp 2 lần chỉ số este của tinh dầu lá trồng tại Thái Nguyên. Sự khác nhau cũng nhận thấy đối với hàm lượng carbonyl. Tinh dầu lá đương quy trồng tại Thái Nguyên có hàm lượng carbonyl cao hơn tinh dầu lá của cây trồng ở Hà Nội 1,5 lần (bảng 2).

3. Hàm lượng các thành phần hoá học của tinh dầu lá đương quy Nhật Bản trong quá trình sinh trưởng của cây.

Bảng 1. Sự biến động của hàm lượng tinh dầu theo tuổi cây trong lá đương quy trồng tại Thái Nguyên năm 1997

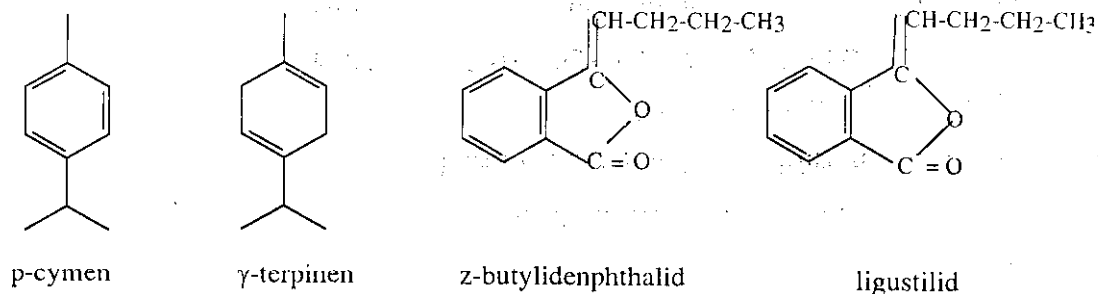
Tuổi cây (tháng)	Hàm lượng tinh dầu (%) so với trọng lượng khô tuyệt đối)
5 (20 tháng 4)	$0,31 \pm 0,02$
6 (20 tháng 5)	$0,88 \pm 0,05$
7 (20 tháng 6)	$0,35 \pm 0,03$
8 (20 tháng 7)	$0,64 \pm 0,05$

2. Đặc điểm lý, hoá học của tinh dầu lá đương quy trồng tại Thái Nguyên

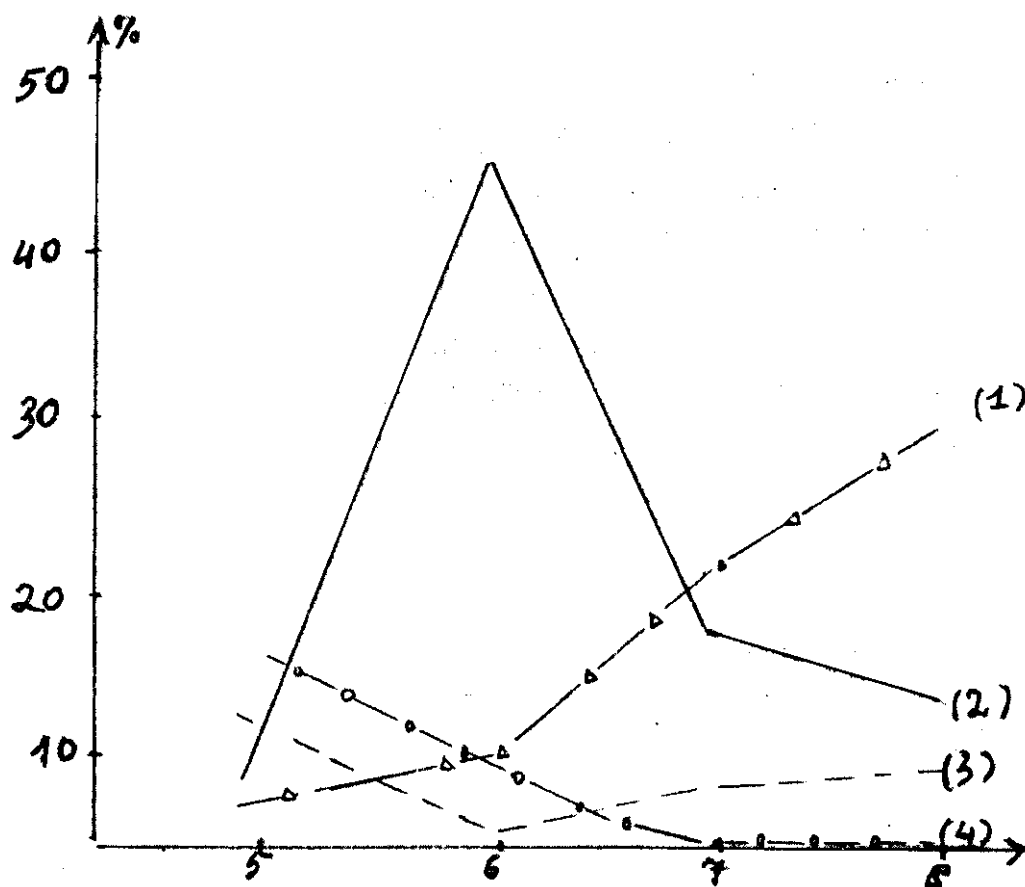
Tinh dầu được thu từ mẫu lá của cây 8 tháng tuổi vào thời điểm thu hoạch rễ củ làm thuốc. Kết quả xác định các chỉ số lý, hoá học của tinh dầu lá đương quy được trình bày ở bảng 2.

Kết quả thu được trình bày ở bảng 3. Rõ ràng là hàm lượng các thành phần của tinh dầu lá đương quy thay đổi rất nhiều trong quá trình sinh trưởng của cây. Sự khác nhau về thành phần hoá học đã thể hiện trên thể chất của các mẫu tinh dầu thu được. Mẫu tinh dầu lá của cây 5 tháng tuổi đông đặc ở nhiệt độ phòng. Sau đó độ đặc sánh của các mẫu tinh dầu giảm dần theo sự tăng trưởng của tuổi cây.

Thành phần của tinh dầu lá khi cây 5 tháng tuổi chủ yếu là các terpenoid. Trong khi đó thành phần của tinh dầu lá thu vào các giai đoạn sau bao gồm cả các terpen và các terpenoid. Đặc biệt sự tăng hàm lượng của terpen (p-cymen, γ -terpinen) xảy ra đồng thời với sự giảm hàm lượng của các terpenoid (z-butyliciden phthalid và ligustilid) và ngược lại (đồ thị 1). Mặc dù xét về mặt cấu trúc hoá học các hợp chất này không "gắn nhau" lắm. (hình 1, đồ thị 1)



Hình 1: Cấu trúc hoá học của một số thành phần chính của tinh dầu lá đương quy Nhật Bản trồng tại Thái Nguyên. [1, 2, 6]



Đồ thị 1. Sự biến động hàm lượng một số thành phần trong tinh dầu lá đương quy trồng tại Thái Nguyên. (1) γ -terpinen; (2) p-cymen; (3) ligustilid; (4) z-butylidenphthalid.

So sánh với thành phần hoá học của tinh dầu lá đương quy Nhật Bản thu hoạch cùng thời điểm tháng 7 ở Hà Nội cho thấy tinh dầu lá đương quy trồng ở Thái Nguyên có hàm lượng các terpen cao hơn tinh dầu lá đương quy trồng ở Hà Nội [6, 4].

Bảng 3. Động thái của hàm lượng các thành phần trong tinh dầu lá đương quy Nhật Bản trồng tại Phố Yên - Thái Nguyên qua các giai đoạn sinh trưởng

Tuổi cây (tháng)	Hàm lượng các thành phần trong tinh dầu (%)											Tổng số
	α -pinen	Cam-phen	Myr-cen	P-cy-men	Limo-nen	Cis- β -oci-men	γ -ter-pinen	Trans- β -phar-nesen	Oxyd caryo-phyll-en	z-butyl-iden phtha-lid	Ligus-tilid	
5	-	-	-	6,2	-	-	1,5	2,1	11,7	14,7	12,9	49,
6	1,2	1,7	2,9	45,3	2,5	1,3	11,5	1,2	0,5	4,2	2,8	75,
7	0,4	0,5	4,6	25,9	2,8	3,1	25,2	2,7	3,5	3,2	5,8	77,
8	1,1	1,2	4,9	14,1	7,1	4,0	32,2	2,5	3,2	2,1	11,0	83,

Bảng 4: So sánh thành phần hoá học của tinh dầu lá đương quy trồng ở Thái Nguyên và Hà Nội (mẫu thu tháng 7 năm 1997)

Nơi trồng	α -pinen	Cam-phen	Myr-cen	P-cy-men	Limon-en	β -oci-men	γ -ter-pinen	β -phar-nesen	Oxyd-caryo-phyll-en	Butyl-iden phtha-lid	Ligus-tilid
Thái Nguyên	1,1	1,2	4,9	14,1	7,1	4,0	32,2	2,5	3,2	2,1	11,0
Hà nội	-	-	5,1	17,1	2,4	3,1	36,5	-	2,2	-	16,1

Kết quả thu được trên đây cho thấy hàm lượng các thành phần chính của tinh dầu lá đương quy thay đổi rất nhiều trong quá trình sinh trưởng của cây. Trong đó, tinh dầu lá của cây 5 tháng tuổi có hàm lượng phthalid và ligustilid cao nhất, đây là các thành phần có tác dụng giãn mạch, giảm đau trong cây đương quy [1, 2, 7].

Kết luận

1. Hàm lượng tinh dầu trong lá đương quy Nhật

Bản trồng tại Thái Nguyên cao nhất vào lúc cây được 6 và 8 tháng tuổi (0,88% và 0,64%).

2. Hàm lượng của các thành phần chính của tinh dầu thay đổi đáng kể trong quá trình sinh trưởng của cây, trong đó khi cây 5 tháng tuổi thành phần chính là z-butyliden phthalid, ligustilid và oxyd caryophyllen, khi cây 6, 7, 8 tháng tuổi, thành phần chính của tinh dầu là p-cymen, γ -terpinen và ligustilid.

Tài liệu tham khảo

- 1). Chenyao Zu et al. Analysis of the chemical ingredients of Angelica sinensis. *Chem. J. Chin. Univer.*, 5, 1984, 515-520; 2). Zhang Shi-Yu and Cheng Kuochang. A. Sinensis (Oliv.) Diels. *Med. and Aromat. Plants*, II, 1989, 1-22. 3). Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt nam. NXB KH-KT, 1991, 69-74. 4). Dược điển Việt nam II, tập 3, 1994, NXB Y học, 493-494. 5). Tinh-dầu. Tiêu chuẩn Nhà nước. TCVN 189-66, 1976. 6). Gorlaev, Pliva. Phương pháp phân tích tinh dầu, Alma-ata, 1960. 7). Wun Chang Ko et al. *Planta Medica*, 64(3), 1998, 229-232. 8). Lê Kim Loan, Bùi Thị Bằng, Lê Tùng Châu, I. Casanova, Vũ Văn Điền, Phạm Văn ý. *Tạp chí Dược liệu*, số 1, tập 3, 1998, 19-22.

NGHIÊN CỨU THÂM ĐÒ TÁC DỤNG HOẠT HUYẾT *IN VITRO* VÀ TRÊN LÂM SÀNG CỦA ĐƯƠNG QUY NHẬT BẢN (*ANGELICA ACUTILoba KIT.*)

Lê Tùng Châu
Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan
Viện Dược liệu

Trần Minh Vinh
Phạm Quang Táp
Bệnh viện Quân đội trung ương 108
(Nhận bài ngày 20 tháng 11 năm 1998)

Summary

Chinese Dang gui (Angelica sinensis) has been used nationwide in the blood circulation activating CM₃ tablets. This paper presents the results of the study on Japanese Dang gui (A. acutiloba) in order to replace Chinese Dang gui in these tablets.

Evaluation of coagulating paramaters and blood fibrinogen content in cancer patients has shown that active partial thromboplastin time (APTT) and Quick time (QT) were increased in both groups of patients treated with CMs containing Japanese Dang gui and CM₃ containing Chinese Dang gui (APTT=45"±6 and 42"±8, QT=17"±3 and 17"±5, respectively). The blood fibrinogen content was significantly decreased in both patient groups (from 480 mg% to 310-315 mg%).

Clinical observation on the status of patients' health has shown a remarkable relief of pain in the whole body and numbness of the fingers and toes two or three days after taking medicine.

These results suggest that Japanese Dang gui has similar function of inhibiting blood coagulation, relieving pain, decreasing blood fibrinogen and can be used as a substitute for the Chinese Dang gui in "the blood activating" medicine.

Keywords: *Angelica acutiloba Kit. Anticoagulant Activity, Activating Blood Circulation.*

Đặt vấn đề

Tác dụng ức chế đông máu của đương quy Nhật Bản đã được chứng minh bằng các thử nghiệm *in vitro* [1]. Để thăm dò tác dụng ức chế đông máu của đương quy Nhật Bản trên lâm sàng, chúng tôi đã sử dụng dược liệu này thay cho đương quy Trung Quốc trong thuốc hoạt huyết CM₃, loại thuốc đã được Bộ Y tế cho phép lưu hành trong cả nước. Thành phần của thuốc hoạt huyết CM₃ gồm 4 vị, trong đó đương quy Trung Quốc là vị chính (quân) có tác dụng hoạt huyết [2].

Phương pháp nghiên cứu

1. Chuẩn bị mẫu thuốc:

Nguyên liệu để thử là cao cồn của đương quy Nhật Bản. Dịch chiết cồn đương quy điều chế bằng cách ngâm kiệt phân đoạn ở nhiệt độ phòng theo Dược điển Việt Nam II, tr.3, (1994) [3]. Sau khi thu hồi dung môi, thu được cao đặc để làm thuốc CM₃.

Thuốc hoạt huyết được bào chế làm 2 lô:

Lô 1: thuốc hoạt huyết CM₃, trong đó có đương quy Trung Quốc.

Lô 2: thay thế đương quy Trung Quốc bằng đương quy Nhật Bản.

2. Phương pháp thử:

Bước 1: Thử tác dụng ức chế đông máu *in vitro* của 2 lô thuốc hoạt huyết CM₃: lô 1 và lô 2. Thuốc được hoà ở dạng dịch, ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút, lấy dịch trong để thử.

Bước 2: Xét nghiệm huyết học và theo dõi lâm sàng bệnh nhân ung thư được điều trị bằng hoá chất. Cho bệnh nhân uống ngay ngày hôm sau khi truyền hoá chất liều 3 viên x 3 lần/ngày x 8 ngày. Bệnh nhân được chia làm 3 lô: Lô A: không dùng thuốc; Lô B: dùng CM₃ có đương quy Nhật Bản; Lô C: dùng CM₃ có đương quy Trung Quốc.

Các xét nghiệm được theo dõi bằng máy CA-1000 (Automated Blood Coagulation Analyzer).

- APTT (Active partial thromboplastin time) thăm dò đông máu nội sinh.

- Thời gian Quick (hay tỷ lệ prothrombin) + Tê bì đầu ngón tay chân.
thăm dò đông máu ngoại sinh.

- Fibrinogen.

+ Đau ê ẩm toàn thân.

Kết quả nghiên cứu

Đồng thời theo dõi tình trạng bệnh nhân với 2 dấu hiệu:

1) Thử nghiệm *in vitro*:

Bảng 1

Chỉ tiêu	n	APTT (giây)	TG Quick (giây)	TG Thrombiih (giây)
Chúng	20	36"±3	12"5±2	20'±3
CM ₃ có quy NB đi thực	20	Không đông***	Không đông***	Không đông***
CM ₃ có quy TQ	20	155"±18**	21"±5*	184"±19**

*: P < 0.05

**: P < 0.01

***: P không xác định được vì không có chỉ số cụ thể nhưng sự khác nhau rất rõ rệt.

2) Xét nghiệm huyết tương bệnh nhân về tác dụng ức chế đông máu:

Bảng 2

Lô thử nghiệm	n	APTT (giây)		TG Quick (giây)		Fibrinogen mg%	
		Trước dùng thuốc	Sau dùng thuốc 8 ngày	Trước dùng thuốc	Sau dùng thuốc 8 ngày	Trước dùng thuốc	Sau dùng thuốc 8 ngày
Chúng XN		36" ± 3	36" ± 3	12"5 ± 2	12" ± 2	250 ± 60	250 ± 50
Lô A: không dùng thuốc	20	30"3 ± 4	31" ± 3	12" ± 3	11" ± 2	470 ± 80	480 ± 75
Lô B: CM ₃ có quy NB đi thực	20	30"5 ± 4,5	45" ± 6	12 ± 4	17"5 ± 3	480 ± 70	310 ± 50
Lô C: CM ₃ có quy TQ	20	30"7 ± 4	42"5 ± 8	12"5 ± 3,5	17" ± 5	475 ± 65	315 ± 60

3) Theo dõi lâm sàng:

Bảng 3

	n	Trước dùng thuốc	Sau dùng thuốc 8 ngày
Lô A: không dùng thuốc	20	-Tê đầu ngón tay chân -Đau ê ẩm người	-Tê đầu ngón tay chân -Đau ê ẩm người
Lô B: CM ₃ có quy NB đi thực	20	-Tê đầu ngón tay chân -Đau ê ẩm người	Đỡ nhiều từ ngày thứ 2
Lô C: CM ₃ có quy TQ	20	-Tê đầu ngón tay chân -Đau ê ẩm người	Đỡ nhiều từ ngày thứ 3

Bàn luận

Để đánh giá tác dụng hoạt huyết, có rất nhiều chỉ tiêu sinh học, song để thừa kế nghiên cứu của đề tài cấp nhà nước mã số 50B-02-03B, chúng tôi chọn 3 xét nghiệm đông máu tiêu biểu là APTT, TG Quick, TG thrombin hoặc fibrinogen vì sự khác nhau rất rõ rệt về tác dụng của thuốc hoạt huyết CM₃. Kéo dài được thời gian đông máu, giảm được fibrinogen đến ngưỡng bình thường là biểu hiện thuốc có tác dụng ức chế được quá trình hoạt hoá các yếu tố đông máu, giảm được fibrinogen làm máu giảm độ nhớt, máu lưu thông tốt hơn, phòng được tắc nghẽn vi mạch. Khi có tắc nghẽn vi mạch biểu hiện đầu tiên là bệnh nhân bị tê ở đầu ngón tay chân, có khi lan lên cánh tay, bắp tay đồng thời có cảm giác đau ê ẩm thân mình.

Kết quả:

Qua bảng 1 (thử nghiệm *in vitro*) thấy rõ các xét nghiệm APTT, thời gian Quick, thời gian thrombin bị ức chế hoạt hoá cả đông máu nội sinh và ngoại sinh, thể hiện bằng kéo dài thời gian rõ rệt với $P < 0.01$ so với chứng. Đặc biệt, CM₃ có quy Nhật Bản, máy báo máu không đông, chứng tỏ quy Nhật Bản ức chế đông máu tốt hơn quy Trung Quốc. Trên cơ sở này, chúng tôi ứng dụng vào bệnh nhân ung thư được điều trị bằng hoá

chất để phòng và làm giảm đau do ung thư và hoá chất gây nên.

Bảng 2 cho thấy đặc xét nghiệm APTT, TG Quick ở lô dùng thuốc đều kéo dài hơn lô không dùng thuốc. Song APTT kéo dài rõ rệt hơn với $P < 0.01$, thời gian Quick kéo dài $P < 0.05$. Fibrinogen ở bệnh nhân ung thư thường tăng (đây là một trong những nguyên nhân gây tắc vi mạch làm xuất hiện triệu chứng đau trong bệnh ung thư). Sau dùng thuốc đều thấy giảm xuống ngưỡng bình thường với $P < 0.01$ so với lô không dùng thuốc. Lâm sàng bệnh nhân đỡ tê bì đầu ngón, đỡ đau. Nhưng so sánh giữa 2 lô CM₃ có đương quy Nhật Bản di thực và đương quy Trung Quốc về các chỉ tiêu đông máu và lâm sàng thì tác dụng như nhau. Kết quả này mở ra triển vọng có thể sử dụng đương quy Nhật Bản thay cho đương quy Trung Quốc trong viên CM₃.

Kết luận

- 1- Đương quy Nhật Bản có tác dụng ức chế hoạt hoá đông máu trên lâm sàng, làm kéo dài thời gian đông máu, giảm hàm lượng fibrinogen trong máu, giảm đau và tê bì đầu ngón chân tay ở bệnh nhân ung thư dùng hoá trị liệu.
- 2- Đương quy Nhật Bản có thể dùng thay thế đương quy Trung Quốc để sản xuất thuốc hoạt huyết CM₃ (Xem tiếp trang 54)

SÁCH MỚI VỀ DƯỢC LIỆU

1. Selected Medicinal Plants in Vietnam

Sách do một số giáo sư và chuyên gia Viện Dược liệu biên soạn bằng tiếng Anh. Sách gồm 2 tập, giới thiệu 200 cây thuốc thường dùng của Việt Nam, kèm theo 200 ảnh màu và 92 tranh vẽ các cây để nhầm lẫn. Mỗi cây được trình bày tỉ mỉ về phân loại thực vật, phân bố, sinh thái, kỹ thuật trồng trọt, thành phần hoá học, tác dụng dược lý và công dụng. Cuối mỗi tập có bảng tra cứu theo tên khoa học, tên Việt Nam và theo tác dụng chữa bệnh.

Khổ sách 16 x 24 cm. Tập I gồm 440 trang, tập II gồm 460 trang. Nhà xuất bản KHKT ấn hành tháng 1 - 1999. Giá (cả bộ 2 tập): 280.000 VNĐ (giá nội địa).

2. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials

Sách do Tổ chức Y tế thế giới (WHO) xuất bản năm 1999. Nội dung giới thiệu các phương pháp kiểm nghiệm thành phần hoá học trong cây thuốc được dùng trong các phòng kiểm nghiệm quốc gia về chất lượng thuốc tại các nước phát triển và đang phát triển, bao gồm cách xác định các chất lạ, độ tro, các thành phần tan trong nước, các chất tan trong dung môi hữu cơ, tinh dầu, chỉ số đắng, chỉ số phá huyết, chỉ số trương, chỉ số bọt, tanin cùng các phương pháp xác định các chất độc hại như thuốc trừ sâu, arsen, kim loại nặng, vi khuẩn. Ngoài ra, còn có các phương pháp chuẩn bị môi trường nuôi cấy, các chủng vi khuẩn dùng trong xét nghiệm, các đặc tính của chất hấp phụ dùng trong SKLM và những yêu cầu đối với thuốc thử và dung dịch.

Sách dày 115 trang, khổ 16 x 24 cm, viết bằng tiếng Anh. Giá bán: ở các nước phát triển là 35 franc Thụy sĩ ($\approx 31,50$ USD) và ở các nước đang phát triển là 24,5 franc Thụy sĩ ($\approx 22,05$ USD).

N.C.

HỘI THẢO Á- ÂU VỀ KẾT HỢP Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VỚI Y DƯỢC HỌC HIỆN ĐẠI TRONG CHĂM SÓC SỨC KHỎE NHÂN DÂN

N. C.

Để triển khai sáng kiến của Việt Nam về "kết hợp nền y học phương Đông và nền y học phương Tây trong chăm sóc sức khỏe nhân dân" do Thủ tướng Phan Văn Khải đưa ra tại hội nghị cấp cao Á - Âu (ASEM) lần thứ 2 tại Luân Đôn tháng 4 - 1998, Bộ Y tế - có sự phối hợp của Bộ Ngoại giao - đã tổ chức "Hội thảo Á - Âu về kết hợp y dược học cổ truyền (YDHCT) và y dược học hiện đại (YDHHĐ) trong chăm sóc sức khỏe nhân dân" tại Hà Nội trong hai ngày 18 và 19 tháng 3 năm 1999. Trên 70 đại biểu của chính phủ, các viện nghiên cứu, các trường đại học, các doanh nghiệp, các tổ chức phi chính phủ của các nước thành viên ASEM, cùng đại diện của Tổ chức Y tế thế giới (WHO), Quỹ nhi đồng LHQ (UNICEF) và Quỹ Á - Âu đã tham gia hội thảo.

Phó Thủ tướng Phạm Gia Khiêm đã đến dự và đọc diễn văn khai mạc. Diễn văn của Phó Thủ tướng nhấn mạnh ý nghĩa của hội thảo không chỉ phù hợp với các thoả thuận của các hội nghị cấp cao ASEM, mà còn diễn ra trong bối cảnh tại hai khu vực đang diễn ra nhiều sự kiện quan trọng và hợp tác Á - Âu ngày càng được mở rộng trên cả ba lĩnh vực: đối thoại chính trị, kinh tế và các lĩnh vực khác. Hội thảo này cùng hội thảo ASEM I về di sản văn hoá hợp tại Hà Nội vừa qua là một biểu hiện nữa của đường lối đối ngoại rộng mở, tích cực hội nhập khu vực và quốc tế của Việt Nam, cũng như mong muốn và quyết tâm của Việt Nam góp phần đa dạng hoá hợp tác ASEM.

Tại hội thảo, nước chủ nhà đã đưa ra 9 báo cáo làm nền. Ngoài báo cáo chung về y học cổ truyền (YHCT) Việt Nam trong chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân và bản dự án về hợp tác Á - Âu, các báo cáo đã nêu lên kinh nghiệm của Việt Nam về kết hợp YHCT và y học hiện đại (YHHĐ) trong điều trị một số bệnh khó chữa, chăm sóc sức khỏe người cao tuổi và sức khỏe ban đầu, trong công tác dược và đào tạo cán bộ YHCT. Các đại biểu đã trao đổi ý kiến và thông báo cho nhau về những thành tựu và kinh nghiệm của nước mình về kết hợp YDHCT và YDHHĐ trong chăm sóc sức khỏe ban đầu cũng như trong điều trị một số bệnh khó chữa.

Các đại biểu đều cho rằng cuộc hội thảo có ý nghĩa thiết thực trong bối cảnh nhiều vấn đề về

chăm sóc sức khỏe cộng đồng đang trở thành những vấn đề toàn cầu, đòi hỏi những nỗ lực chung của quốc tế để cùng giải quyết, trong đó có vấn đề chăm sóc sức khỏe cho người nghèo. Bởi vậy, sự hợp tác Á - Âu trong lĩnh vực này không chỉ có ý nghĩa khoa học, mà còn có ý nghĩa xã hội, nhân văn và kinh tế. Các nước Á - Âu có nhiều mối quan tâm chung và tiềm năng hợp tác trong lĩnh vực này.

Các đại biểu cũng đã đưa ra nhiều khuyến nghị để trình lên hội nghị Bộ trưởng Ngoại giao ASEM lần thứ hai sẽ tổ chức tại Berlin cuối tháng 3/1999, cụ thể là: Từ nay đến hội nghị cấp cao Á - Âu lần thứ ba (năm 2000), cần sớm thành lập mạng lưới hợp tác và trao đổi thông tin giữa các thành viên ASEM do Việt Nam, nước đưa ra sáng kiến này, làm điều phối viên, tổ chức cuộc họp giữa các nhà hoạch định chính sách, các nhà quản lý, tổ chức các hội thảo chuyên đề và các khoá đào tạo về kết hợp YDHCT và YDHHĐ.

Các đại biểu cũng đã trao đổi về khả năng hợp tác trong lĩnh vực giáo dục nâng cao nhận thức của nhân dân, tổ chức định kỳ các hội nghị khoa học, hợp tác nghiên cứu khoa học, xây dựng các cơ sở chế biến dược liệu... tiến tới xây dựng các trung tâm nghiên cứu chung trong lĩnh vực này.

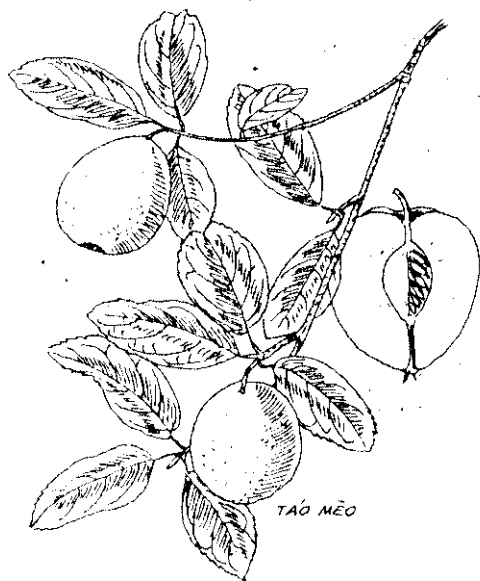
Tại hội thảo, một cuộc triển lãm về những thành tựu của Việt Nam trong lĩnh vực kết hợp YDHCT và YDHHĐ trong chăm sóc sức khỏe nhân dân đã được tổ chức. Sau hội thảo, các đại biểu đã tham quan Viện Y học cổ truyền, Viện Y học cổ truyền quân đội, Viện Châm cứu, Viện Dược liệu và xã Thổ Tang (Vĩnh Tường, Vĩnh Phúc), một xã có truyền thống về kết hợp YDHCT và YDHHĐ trong chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

Sau hội thảo, ban tổ chức đã nhận được thư và điện của nhiều đoàn đại biểu cảm ơn và đánh giá cao kết quả của hội thảo, đồng thời thông báo kế hoạch triển khai các kết quả của hội thảo ở nước mình. Hội thảo cũng được lãnh đạo Bộ Y tế và Bộ Ngoại giao đánh giá là thành công tốt đẹp và cho biết Hội nghị Bộ trưởng các nước ASEM vừa họp cuối tháng 3 và tháng 4 vừa qua đã đánh giá cao kết quả của hội thảo và có nghị quyết về việc tiếp tục triển khai việc hợp tác trong lĩnh vực này.

TÁO MÈO

Hỏi: Ở nước ta, không có cây sơn tra. Người ta vẫn dùng táo mèo để thay thế. Xin cho biết cụ thể về cây táo mèo.

Lưu Vĩnh Niên (Yên Bái)



Đáp: Sơn tra (*Crataegus*) thuộc họ Hoa hồng (Rosaceae), có nhiều loài trên thế giới. Trung Quốc có bắc sơn tra hay sơn tra (*Crataegus pinnatifida* Bunge) và nam sơn tra hay dã sơn tra (*Crataegus cuneata* Sieb. et Zucc.). Châu Âu lại có loài *Crataegus oxyacantha* L.. Những loài này chưa phát hiện được ở Việt nam.

Lâu nay, dược liệu "sơn tra" được thu mua và sử dụng làm thuốc ở nước ta vẫn lấy chủ yếu từ cây táo mèo.

Táo mèo (*Doynia indica* (Wall.) Decne, *Pyrus indica* Wall., *Cydonia indica* Spach), tên khác là táo rừng, mắc cắ, mắc sắ chá (Tây), chi tô di (H'Mông), là một cây nhỏ, cao 5-6 m. Cành non có gai. Lá mọc so le, ở cây con xẻ 3-5 thùy, mép khía răng không đều. Lá già hình bầu dục, nguyên hoặc có răng cưa nhỏ ở gần đầu lá, dài 6-10 cm, rộng 2-4 cm, gốc tròn, đầu nhọn, mặt trên xanh sẫm bóng, mặt dưới có lông trắng mịn; cuống lá dài 1-1,5 cm. Cụm hoa mọc ở kẽ lá gồm 1-3 hoa màu trắng, đài có lông màu trắng bạc, tràng có cánh mỏng, nhị nhiều. Quả hình trứng thuôn, đường kính 3-4 cm, lúc non có lông, sau nhẵn, khi chín màu vàng lục, có vị chua dịu, hơi chát.

Mùa hoa: tháng 3-4, mùa quả: tháng 8-10 hoặc đến tháng 11.

Cây mọc hoang ở miền núi Tây Bắc và là đặc sản của các tỉnh Lào Cai, Lai Châu, Hà Giang với độ cao phân bố từ 1300m trở lên, thường gặp ở đồi, nương rẫy cũ. Tên gọi "táo mèo" có lẽ xuất phát từ chỗ cây mọc ở vùng cao có đồng bào Mèo (H'Mông) sinh sống.

Hàng năm, công ty dược liệu thu mua táo mèo với khối lượng lớn dùng trong nước và xuất khẩu. Nhân dân vùng biên giới phía bắc cũng thu hái táo mèo bán tự do với tên sơn tra.

Quả táo mèo chứa tanin, đường, acid hữu cơ (citric và tartaric), có vị chua, ngọt, hơi chát, tính ôn, là thuốc bổ tỳ, có tác dụng kích thích tiêu hoá, làm ăn ngon, dễ tiêu, chữa đầy bụng, ợ chua. Thuốc được dùng dưới dạng bột, viên hoặc cao lỏng. Cao lỏng được dùng phổ biến hơn. Cách làm cụ thể như sau: Quả vừa chín hái về, bỏ ngang thành từng phiến dày khoảng 0,4 cm, loại bỏ hạt và phần đầu quả có vết đài còn sót lại, phơi hoặc sấy khô. Lấy 1000 g dược liệu, rửa sạch. Đổ vào 3 lít nước, nấu còn 1 lít. Chắt nước đầu. Đổ thêm 3 lít nước nữa, nấu còn nửa lít. Lại chắt nước, bỏ bã. Trộn hai nước lại, cô còn khoảng 1 lít. Cho 800 g keo mạch nha hoặc đường vào, khuấy tan. Cô đặc còn 1 lít thành phẩm. Để nguội. Hoà 40 ml rượu ngâm trần bì hoặc đại hồi. Ngày dùng hai lần, mỗi lần 1 thìa canh. Cao này mang tên sơn tra, đã được sản xuất và bán ở các hiệu thuốc.

Có thể dùng táo mèo phối hợp với nhiều vị thuốc khác theo công thức sau: Quả táo mèo (25g), củ sả (25 g), chỉ xác (25 g), vỏ cây vối (25 g), vỏ quýt (25 g), củ gấu (40 g), gừng tươi (20 g), phen phi (10 g). Tất cả phơi khô, sao giòn, tán bột mịn. Người lớn: mỗi lần uống 2 thìa cà phê với nước ấm, trẻ em: 1/2-1 thìa cà phê tùy tuổi.

Để tận dụng nguồn nguyên liệu sẵn có với trữ lượng lớn và mở rộng thị trường tiêu thụ trong nước và xuất khẩu, Phân viện nghiên cứu thực nghiệm KHKH lâm đặc sản đã phối hợp với Xí nghiệp rượu và nước giải khát Thăng Long dùng quả táo mèo chế thử sản phẩm Rượu vang Sơn tra. Vang Sơn tra có vị chua, hơi ngọt, chát, mùi thơm dịu, không thua kém và giá thành thấp hơn vang Thăng Long.

Đỗ Huy Bích

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CỦA CÁC CAROTENOID TỪ HẠT CÂY ĐIỀU NHUỘM (*BIXA ORELLANA* L.)

A. Z. Mercadante và cs
Phytochemistry, 1997, 46 (8), 1379 - 1383

Trong các công trình trước đây, các tác giả đã chiết tách và xác định cấu trúc 7 chất carotenoid từ hạt cây điều nhuộm (*Bixa orellana* L.).

Trong công trình này, các tác giả chiết được các chất carotenoid bằng sắc ký (sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng, sắc ký lỏng cao áp) và nhận dạng bằng nhiều loại phổ (phổ UV, phổ khối, phổ ^1H và ^{13}C NMR các chất dimethyl - (9Z, 9'Z) - 6, 6' - diapocaroten - 6, 6' - dioat, methyl (9Z) - 10' - oxo - 6, 10' - diapocaroten - 6 - oat, methyl (9Z) - 6' - oxo - 6, 5' - diapocaroten - 6 - oat, methyl (4Z) - 4, 8 - dimethyl - 12 - oxo - dodecyl - 2, 4, 6, 8, 10 - pentanoat, methyl bixin và methyl (9Z) - 8' - oxo - 6, 8' - diapocaroten - 6 - oat.

Bốn chất đầu là các hợp chất mới.

N.V

CÁC ALKAN DIOL TỪ CÁNH HOA CỦA CÂY HỒNG HOA (*CARTHAMUS TINCTORIUS*)

Toshihiro Akihisa và cs
Phytochemistry, 1997, 45 (4), 725 - 728

Các tác giả đã chứng minh dịch chiết methanol của các cánh hoa của cây hồng hoa (*Carthamus tinctorius*) ức chế viêm và u của ung thư ở giai đoạn 2 trên chuột nhắt được gây ra do 12 - O - tetradecanoyl phorbol - 13 acetat. Trong dịch chiết này, các sterol và alkandiol đã tỏ ra có hoạt tính mạnh nhất.

Công trình này đề cập đến việc phân lập và nhận dạng các chất thuộc nhóm alkandiol. Các chất này là hexatriacontan - 6, 8 - diol, triacontan - 7, 9 - diol (1), triacontan - 7, 9 - diol acetal, octacosan - 7, 9 - diol, dotriacontan - 7, 9 - diol, tetratriacontan - 7, 9 - diol, hexatriacontan - 7, 9 - diol, nonacosan - 8, 10 - diol (2), nonacosan - 8, 10 - diol acetal, heptacosan - 8, 10 - diol, hentriacontan - 8, 10 - diol, tritriacontan - 8, 10 - diol, pentatriacontan - 8, 10 - diol.

Các chất nói trên trừ 2 chất (1) và (2), đều là các chất mới.

N.V

FLAVONOID TRONG HÀNH TÂY (*ALLIUM CEPA*)

Torgils Fossen và cs
Phytochemistry, 1998, 47 (2), 281 - 283

Các công trình trước đây đã chứng minh hành tây (*Allium cepa*) chứa quercetin, quercetin - 4' - glucosid, quercetin - 3, 4' - diglucosid, quercetin - 7, 4' - diglucosid, isoramnetin glycosid, quercetin - 3 - glucosid, quercetin - 5 - glucosid, các anthocyan có nhóm thế acyl mạch thẳng ít gặp.

Trong công trình này, các tác giả đã chiết tách được từ các vảy mang sắc tố của hành tây (*Allium cepa* var. "Red Baron") các chất quercetin 3,7, 4' - O - β - triglucopyranosid cùng với các chất quercetin, quercetin - 4' - O - β - glucopyranosid và quercetin - 3, 4' - O - β - diglucopyranosid. Ngoài ra, còn phát hiện thấy có taxifolin - 4' - O - β - glucopyranosid với lượng nhỏ.

Cấu trúc của các chất được xác định dựa trên sự thủy phân acid, phân tích bằng sắc ký (sắc ký lớp mỏng, sắc ký lỏng cao áp) và phổ NMR.

N.V