

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ THỰC VẬT HỌC CỦA CÁC LOÀI THUỘC CHI *GERANIUM* L. HIỆN CÓ Ở VIỆT NAM

Mai Lệ Hoa, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Thượng Đông - Viện Dược liệu
Nguyễn Việt Thân - Trường Đại học Dược Hà Nội.
(Nhận bài ngày 15 tháng 2 năm 2000)

Summary

Botanical Studies of *Geranium* Species Growing in Vietnam

Based on the analysis of botanical studies of the samples collected from different distribution places in Vietnam, the morphology and dissection of *Geranium* species have been described and systematized. *Geranium nepalense* Sweet and *Geranium sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi are growing wild in the mountain areas of North - Vietnam. Recently, *Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo has been introduced and cultivated in Vietnam as a medicinal plant for export purpose.

Key words: *Geranium nepalense* Sweet; *Geranium sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi, *Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo, Botany.

1. Đặt vấn đề

Geranium L. (Họ Geraniaceae) là một chi khá lớn, có số lượng xấp xỉ 400 loài, phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và á nhiệt đới núi cao [7]. Với thành phần chủ yếu là hợp chất polyphenol, các loài thuộc chi *Geranium* L. đã cho những hoạt tính sinh học phong phú. Một số loài được dùng làm thuốc trong y học dân tộc cổ truyền. Theo một số tài liệu, các loài thuộc chi *Geranium* L. có một số công năng như hoạt huyết, khử phong, tiêu viêm, dùng để chữa chứng đau gân cốt, trị tiêu chảy [17, 18, 19], và góp phần quan trọng trong việc cung cấp thuốc bảo vệ sức khỏe cộng đồng ở các nước như Ấn Độ, Nê Pan, Trung Quốc, Nhật Bản và một số nước châu Âu [8, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 20].

Ở Việt Nam, từ năm 1990 Viện Dược liệu đã đưa vào trồng một loài thuộc chi *Geranium* L. nhập nội từ Nhật Bản, cây sinh trưởng và phát triển tốt tại một số vùng núi cao phía bắc Việt Nam [3].

Để góp phần đưa cây thuốc vào sử dụng rộng rãi hơn, chúng tôi xin giới thiệu một số kết quả nghiên cứu về thực vật học của những loài *Geranium* sp. có ở Việt Nam.

2. Đặc điểm thực vật học

2. 1. Phân loại

Nhiều nước trên thế giới có số lượng loài thuộc chi *Geranium* L. tương đối lớn [9, 10, 21]. Song, ở Việt Nam thành phần loài của chi này rất nghèo nàn. Trong Thực vật chí Đông Dương, Tardieu - Blot chỉ mô tả hai loài là *Geranium nepalense* Sweet và *Geranium siamense* Craib, loài thứ hai phân bố ở Thái Lan [14].

Các tác giả khác như Phạm Hoàng Hộ (1992), Võ Văn Chí (1997), và Lê Khả Kế (1971) chỉ đề cập một loài Mỏ hạc duy nhất có ở Việt Nam là *Geranium nepalense* Sweet với đồng danh là *G. homeanum* Turcz, đặc điểm được mô tả có hoa màu vàng [1, 4, 5]. Song, đối chiếu với mẫu *Geranium nepalense* Sweet do Nguyễn Tập, Bùi Xuân Chương thu thập tại Mường Lống - Kỳ Sơn - Nghệ An, 1975 (Mẫu tiêu bản hiện lưu tại phòng Tài nguyên - Viện Dược liệu), và theo mô tả đặc điểm thực vật của một số tài liệu [10, 13, 16, 20, 21] cũng như quan sát thực địa tại một số vùng núi phía bắc Việt Nam như Sa Pa - Lao Cai; Mai Châu - Hoà Bình; Quán Bạ, Đông Văn, Yên Minh - Hà Giang chúng tôi mới chỉ thấy loài *Geranium nepalense* Sweet có hoa mọc từng đôi một, hoa đều với đường kính 1,2 - 1,5 cm cánh hoa màu

trắng hoặc hồng nhạt, chưa thấy loài *Mỏ hạc* có hoa màu vàng. Các nhà nghiên cứu thực vật và dược liệu sau này căn cứ vào Thực vật chí Đông Dương cũng chỉ giới thiệu một loài duy nhất là *Geranium nepalense* Sweet với tên Việt Nam là *Mỏ hạc*. Loài *Geranium nepalense* Sweet được “Sách đỏ Việt Nam” xếp vào tình trạng hiếm, số lượng ít, cần được bảo vệ [6].

Nguyễn Chiêu và Nguyễn Thượng Dong (1995) đã tiến hành nghiên cứu phân loại chi *Geranium* L. để định danh cho cây nhập nội. Kết quả đã xác định được cây nhập nội là *Geranium nepalense*

var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo (*Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc.).

Các cây *Mỏ hạc* mọc hoang dại ở Việt Nam gồm hai loài là *Geranium nepalense* Sweet và *Geranium sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi (*Geranium sibiricum* forma *glabrius* Hara) [2].

2.2. Đặc điểm hình thái

Để thuận lợi cho việc nghiên cứu và nhận biết, đặc điểm hình thái và sự khác biệt giữa các loài *Geranium* sp. được mô tả tóm tắt trong bảng 1 và 2.

Bảng 1. Đặc điểm hình thái của một số loài thuộc chi *Geranium* L. có ở Việt Nam

Tên cây	Thân	Lá	Hoa	Quả
<i>Geranium nepalense</i> Sweet Tên Việt Nam: <i>Mỏ hạc</i> Tên Trung Quốc: Ngũ diệp thảo, đoản chuỷ lão quan thảo, lão quan thảo mỏ ngắn, lão quan thảo Nê Pan	Thân thảo, sống nhiều năm, thân mềm, gần vuông, cao 30 - 40 cm, đường kính 1 - 2 mm, phân cành nhiều, thân phủ lông trắng bạc.	Lá đơn mọc đối; lá kèm màu nâu, hình mác dài 5 - 7mm; lá ở gốc cuống dài 6 - 11 cm; lá ở trên cuống ngắn, phiến lá tròn 5 cạnh, xẻ 5 thùy, phân thùy nhỏ, hai mặt có lông nhỏ, mềm, gốc lá lõm hình tim, gân lá không rõ.	Cụm hoa ở nách lá, cuống dài 6 - 9 cm, mỗi cụm có 2 hoa, có 1 đôi tiểu bao ở gốc, gốc mỗi cuống cũng có 1 đôi tiểu bao, 5 cánh hoa hình trứng đảo, màu hồng nhạt, dài 8 mm, rộng 5 mm, có 5 gân màu tím, nhị 10 xếp 2 hàng, chỉ nhị hình mác nhọn, gốc phình to, bầu trên 5 ô, hình cầu, vòi nhụy dài, đầu nhụy có 5 thùy nhỏ nhọn, cong ra phía ngoài.	Quả nang hình cầu có mỏ dài và có lông, khi chín tách thành 5 phần quả, phần trên gắn vào đầu vòi nhụy, phần dưới mang 1 hạt. Hạt thuôn tròn, dài khoảng 3 mm, đầu tù, màu nâu sẫm, nhẵn bóng.
<i>Geranium nepalense</i> var. <i>thunbergii</i> (Sieb. et Zucc.) Kudo (<i>G. thunbergii</i> Sieb. et Zucc.) Tên Việt Nam: Cỏ quan, lão quan thảo Nhật	Cây thảo, cao 30 - 160 cm, thân và cành có lông màu trắng bạc, phân cành nhiều.	Lá mọc đối, lá kèm màu sẫm, lá ở gốc cuống dài 7 - 21 cm, lông dày, lá trên cuống ngắn, phiến lá hình tròn, dạng thận, xẻ 5 thùy, mặt trên nhiều lông hơn mặt dưới.	Cụm hoa ở nách lá, 2 hoa, cuống dài 6 - 8 cm, nhiều lông, gốc có đôi tiểu bao màu nâu, cuống hoa dài 1 - 2 cm, đầy lông, hoa 5 cánh hình trứng ngược, dài 8 cm, rộng 5 - 6 cm, trắng, phớt hồng, gân tím, nhị 10, bầu hình cầu 5 ô.	Quả nang hình cầu, có lông, mỏ dài, khi già tách thành 5 phần quả, phần trên gắn vào đầu mỏ, phần dưới mang 1 hạt thuôn tròn đen.
<i>Geranium sibiricum</i> var. <i>glabrius</i> (Hara) Ohwi (<i>G. sibiricum</i> forma <i>glabrius</i> Hara) Tên Việt Nam: <i>Mỏ hạc</i> Tên Trung Quốc: Thử chương thảo, đoản chuỷ lão quan thảo, lão quan thảo mỏ ngắn, lão quan thảo Siberia	Cây thảo, sống nhiều năm, cao 30 - 100 cm hoặc hơn, thân có rất ít lông, phân cành nhiều.	Lá mọc đối, lá kèm màu nâu, lá phía dưới có cuống dài 5 - 7 cm, phần ngọn cuống lá ngắn hoặc không, phiến lá gần tròn, dạng thận, xẻ 5 thùy hình thoi hẹp, có 3 răng không đều, mặt trên có lông, mặt dưới có lông trên gân lá.	Cụm hoa đơn ở nách lá, hay đầu cành, mỗi cụm có 1 hoa, cuống hoa dài bằng cuống cụm hoa, 5 lá đài hình mác tròn, dài 4 mm, 5 cánh hoa hình trứng đảo, màu trắng hoặc phớt hồng, dài 8 mm, rộng 4 mm, đầu bằng, hơi lõm, gân tím chạy từ gốc, nhị 10, chỉ nhị hình mác nhọn, gốc phình to, bao phấn màu tím, bầu trên hình cầu có 5 ô, có khía nông và có lông, vòi nhụy dài, đầu vòi có 5 thùy tự do.	Quả nang hình cầu khi chín tách thành 5 phần quả, phần trên gắn vào đầu mỏ, phần dưới mang 1 hạt thuôn tròn, đen nhẵn,

Bảng 2. Một số nét khác biệt giữa 3 loài *Geranium* ở Việt Nam

Đặc điểm Loài	thân	lá	hoa
<i>Geranium sibiricum</i> var. <i>glabrius</i> (Hara) Ohwi	Thân khoẻ, cao 50 - 100 cm, phủ ít lông.	Lá nhỏ hơn loài <i>G. nepalense</i> var. <i>thunbergii</i> , xẻ 5 thùy.	Cụm hoa đơn độc, chỉ có 1 hoa trên 1 cụm
<i>Geranium nepalense</i> Sweet	Thân yếu, cây nhỏ, cao 30-40cm, lông phủ ngược.	Lá nhỏ, xẻ 3 - 5 thùy sâu.	Có 2 hoa trên một cụm hoa
<i>Geranium nepalense</i> var. <i>thunbergii</i> (Sieb. et Zucc.) Kudo	Thân khoẻ, cao 50 - 160 cm, phủ nhiều lông.	Lá khá lớn, xẻ 3 - 5 thùy	Có 2 hoa trên một cụm hoa

2. 3. Đặc điểm vi phẫu

2. 3. 1. Cấu tạo giải phẫu lá

Các loài *Geranium sp.* ở Việt Nam có cấu tạo giải phẫu lá tương tự nhau.

• **Phân gân lá :** Gân lá phía trên lõm, phía dưới lồi. Biểu bì trên và dưới cấu tạo từ những tế bào lớn hình chữ nhật xếp thành một hàng, rải rác có lông che chở, lông tiết. Sát dưới lớp biểu bì là mô dày. Bó libe-gỗ gân chính gân sát biểu bì trên gồm một cung libe bao phía dưới bó gỗ. Các tế bào mô mềm lớn, thành mỏng (ảnh 1).

• **Phân phiến lá :** Biểu bì trên và dưới giống như phân gân lá. Mô dày gồm một hàng tế bào dài, nhỏ, xếp đứng vuông góc với biểu bì, phía dưới mô dày rải rác có các tinh thể oxalat calci hình cầu gai (ảnh 2).

2. 3. 2. Cấu tạo giải phẫu thân

Các loài *Geranium sp.* có cấu tạo giải phẫu thân giống nhau (hình 1, ảnh 3).

Mặt cắt thân thường tròn, nhiều khi có những chỗ lồi lõm. Từ ngoài vào trong có lớp biểu bì (1) gồm các tế bào nhỏ xếp thành hàng, rải rác có lông che chở đơn bào (8) và lông tiết (9). Sát biểu bì là mô dày (2) gồm khoảng 2 - 3 lớp tế bào thành dày. Mô mềm vỏ (3) gồm các tế bào hình trứng xếp lộn xộn. Mô cứng (4) gồm 3 - 5 lớp tế bào thành dày hoá gỗ tạo thành vòng tròn liên tục. Trong vòng này thường có 8 bó libe - gỗ hình trứng xếp thành 2 vòng xen kẽ nhau, các bó libe - gỗ vòng ngoài nhỏ hơn bó libe gỗ vòng trong. Mỗi bó libe-gỗ gồm có phần libe (5) hướng ra phía ngoài, gỗ (6) hướng vào trong, đôi khi phần giữa libe có đám tế bào thành hoá gỗ. Mô mềm ruột (7) cấu tạo từ những tế bào hình trứng, đa giác xếp lộn xộn.

2. 3. 3. Bột dược liệu

Dược liệu là phần trên mặt đất được phơi hay sấy khô của các loài *Geranium sp.*, tùy thời gian thu hái các đặc điểm dược liệu có thể thay đổi. Nhìn chung bột dược liệu có màu lục xám đến nâu vàng, mùi hơi ngái, vị nhạt. Soi dưới kính hiển vi thấy mảnh phiến lá có các lỗ khí, tinh thể oxalat calci hình cầu gai có kích thước khoảng 0,02 - 0,03 mm. Với một số mảnh vỡ có thể thấy mô dày gồm một hàng tế bào dài, nhỏ, xếp đứng. Đoạn mạch xoắn riêng lẻ hay xếp thành bó. Lông che chở đơn bào hơi cong với bề mặt nhẵn hoặc lấm tấm có những chấm lồi nhỏ. Lông tiết đa bào hoặc đơn bào có chân dài hoặc ngắn. Mảnh biểu bì thân. Tinh thể oxalat calci hình cầu gai. Ngoài ra, còn có đặc điểm của các cơ quan sinh sản như hạt phấn, cánh hoa, mảnh vỏ quả, vỏ hạt v.v...(ảnh 4,5,6)

3. Phân bố, sinh thái của chi *Geranium L.* ở Việt Nam

3.1. Vùng phân bố

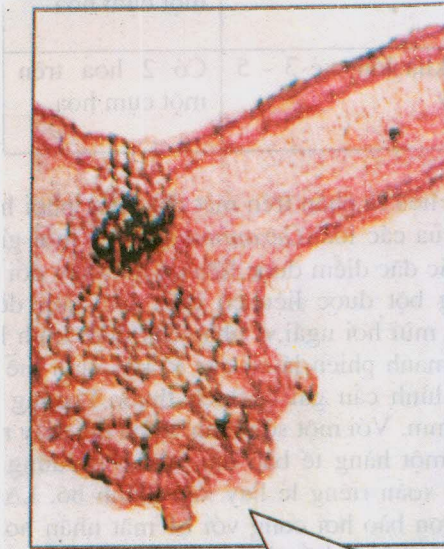
Do có nguồn gốc á nhiệt đới, nên các loài thuộc chi *Geranium L.* hiện có ở Việt Nam chỉ phân bố vùng núi phía bắc nước ta như Sa Pa - Lào Cai; Sin Hồ - Lai Châu; Quản Bạ - Hà Giang; Mai Châu - Hoà Bình; Tam Đảo - Vĩnh Phúc.

3.2. Đặc điểm sinh thái, tình hình sinh trưởng và phát triển

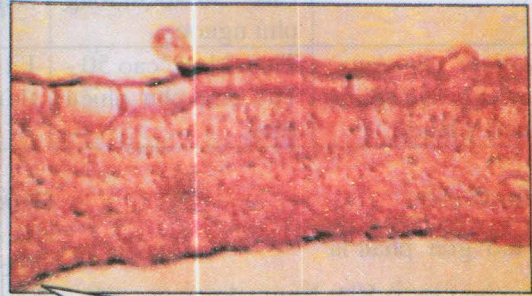
Các loài thuộc chi *Geranium L.* sinh trưởng và phát triển tốt trên vùng núi cao phía bắc Việt Nam nơi điều kiện khí hậu ôn hoà, mát mẻ. Các loài thường ra hoa từ tháng 5 - 8 và kết quả vào tháng 6 - 9. Tuy vậy, nếu cây con mọc từ mầm cây tàn lụi của vụ trước thì ra hoa sớm hơn. Trên thực tế đã thu thập được những mẫu cây mọc hạc mọc hoang ra hoa muộn trong tháng 11 - 12, hoặc có hoa sớm ngay từ tháng 2 - 3 khi cây mới có độ cao 20 - 30 cm.

Theo Nguyễn Bá Hoạt [3], cây lão quan thảo nhập nội là giống cây trồng ngắn ngày, ưa ánh sáng, ưa ẩm. Cây sinh trưởng và phát triển tốt trong điều kiện mát lạnh ở nhiệt độ 20 - 22 °C, có khả năng chịu lạnh, chịu sương muối và băng giá. Cây giống có thể là cây con gieo từ hạt, là cây mầm sản xuất từ vụ trước, hoặc có thể lấy từ hom thân

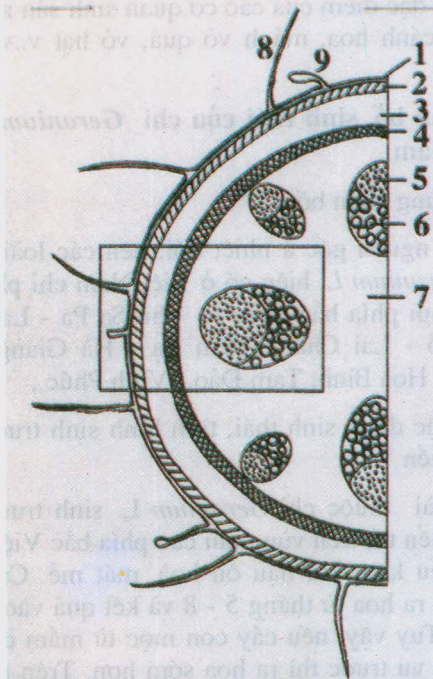
cắt đoạn có 2 - 3 mắt dài 5 - 7 cm. Giống cây trồng từ cây mầm có khả năng sinh trưởng phát triển nhanh, cho năng suất cao. Tuy vậy, phương pháp gieo giống từ hạt trên vườn ươm được áp dụng rộng rãi, phục vụ sản xuất đại trà, năng suất đạt được từ 25 000 đến 30 000 kg / ha. Thời vụ cây trồng hàng hoá kéo dài khoảng 8 tháng.



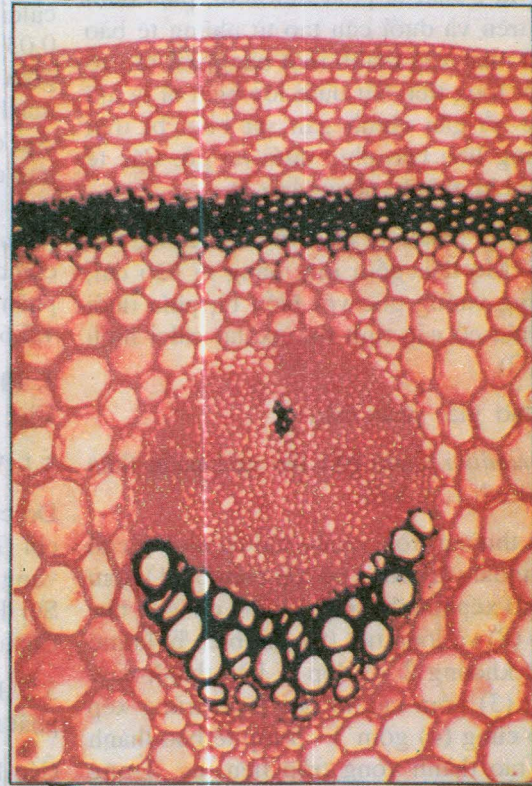
Ảnh 1: Vi phẫu lá Lão quan thảo



Ảnh 2: Phiến lá Lão quan thảo

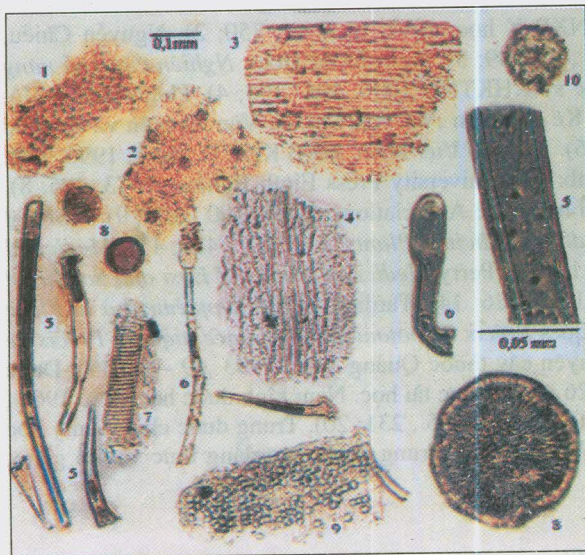


Hình 1: Sơ đồ tổng quát vi phẫu thân Lão quan thảo

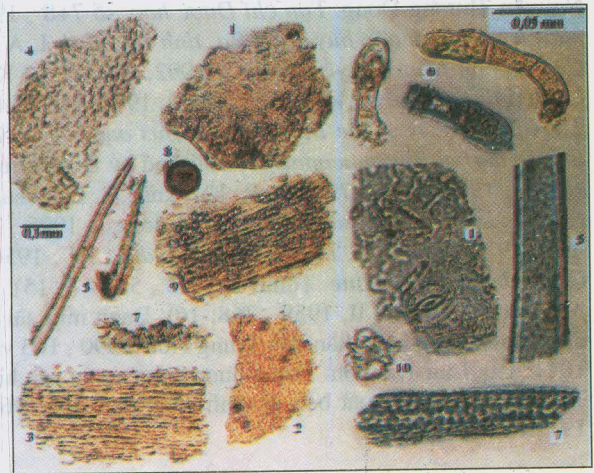


Ảnh 3: Vi phẫu thân Lão quan thảo

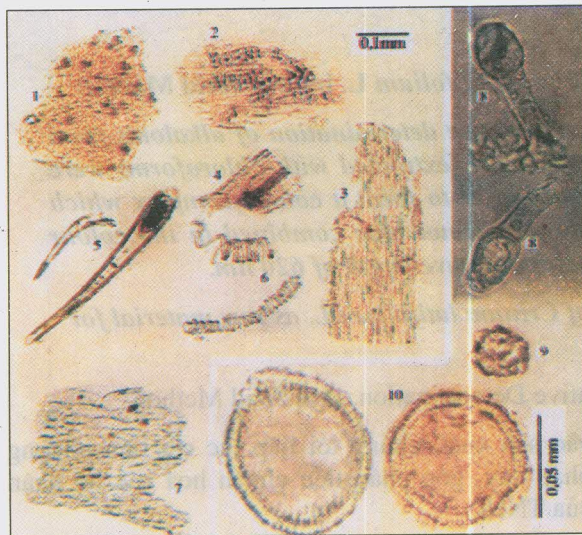
- | | |
|----------------|-------------------------|
| 1. Lớp biểu bì | 6. Gỗ |
| 2. Mô dày | 7. Mô mềm ruột |
| 3. Mô mềm vỏ | 8. Lông che chở đơn bào |
| 4. Mô cứng | 9. Lông tiết |
| 5. Libe | |



Ảnh 4. Một số đặc điểm bột *Geranium nepalense* Sweet - 1. Mảnh vỏ hạt; 2. Mảnh phiến lá mang tinh thể và mạch xoắn; 3. Mảnh biểu bì thân; 4. Mảnh cánh hoa; 5. Lông che chở; 6. Lông tiết; 7. Mảnh mạch; 8. Hạt phấn; 9. Mảnh mô chứa tinh bột; 10. Tinh thể oxalat calci.



Ảnh 6. Một số đặc điểm bột *Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb et Zucc) Kudo - 1. Mảnh phiến lá mang lỗ khí; 2. Mảnh phiến lá mang mạch xoắn và tinh thể oxalat calci; 3. Mảnh biểu bì thân; 4. Mảnh cánh hoa; 5. Lông che chở; 6. Lông tiết; 7. Mảnh mạch xoắn; 8. Hạt phấn; 9. Mảnh mô chứa tinh bột; 10. Tinh thể oxalat calci hình cầu gai.



Ảnh 5. Một số đặc điểm bột *Geranium sibiricum* var. *glaberrimum* (Hara) Ohwi - 1. Mảnh phiến lá mang tinh thể; 2. Mảnh mô chứa tinh bột; 3. Mảnh biểu bì thân; 4. Mảnh phiến lá có mô dậu; 5. Lông che chở; 6. Mảnh mạch xoắn; 7. Mảnh cánh hoa; 8. Lông tiết; 9. Tinh thể oxalat calci; 10. Hạt phấn.

Kết luận

Qua nghiên cứu các mẫu đã thu thập được, kết hợp với việc điều tra khảo sát thực địa, bước đầu chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

- Ở Việt Nam hiện có 2 loài và 1 dưới loài thuộc chi *Geranium* L. Song song với việc nhận biết hình thái bên ngoài, đã nêu được những nét giống nhau và khác nhau về hình thái thực vật của 3 cây.

- Đã đưa ra được các hình ảnh về đặc điểm giải phẫu và soi bột dược liệu của những loài đang được quan tâm.

- Đặc điểm từng loài được mô tả ngắn gọn nhưng khá đầy đủ nhằm góp phần nhận biết và phân biệt giữa các loài và dưới loài. Trừ cây nhập nội được trông như một dược liệu hàng hoá, 2 loài còn lại là những cây mọc hoang ở miền núi phía bắc nơi có khí hậu á nhiệt đới núi cao.

Số loài *Geranium* sp. của Việt Nam còn khá khiêm tốn so với các nước trong vùng như Ấn Độ, Trung Quốc ... Hy vọng rằng, chi *Geranium* L. sẽ được các nhà thực vật học nước ta quan tâm hơn nữa nhằm phát hiện ra loài mới, bổ sung và làm phong phú hơn nguồn tài nguyên thực vật vốn rất đa dạng và phong phú của nước nhà.

Tài liệu tham khảo

- 1). Võ Văn Chi. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. NXB Y học. 1997, tr. 4 và 750; 2). Nguyễn Chiêu, Nguyễn Thượng Dong. *Tạp chí Dược học*, số 7+8, 1995, 48 - 49; 3). Nguyễn Bá Hoat. *Nghiên cứu khả năng phát triển cây thuốc huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai*. L.A thạc sỹ KHKTNN 1996, 104 -105; 4). Phạm Hoàng Hộ. *Cây cỏ Việt Nam*, quyển 2, tập 2, 1992, 369; 5). Lê Khả Kế chủ biên, Võ Văn Chi, Vũ Văn Chuyên và cộng sự *Cây cỏ thường thấy ở Việt Nam*. Tập 2, 1971, 146 - 147; 6). *Sách đỏ Việt Nam*. NXB KHKT, tập 2, 1996, 142; 7). *A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns*. Cambridge University Press Eighth Edition. 1973, 485. 8). *British herbal Pharmacopoeia*. Published by British herbal medicine Association. 1983, 100 - 103; 9). *Flora of Japan*, 1965, 577 - 79; 10). R. Kirtikar; B. D. Basu. *Indian Medicinal Plants*. I, 1933, 429; 11). *Medicinal Herb Index in Indonesia*. P.T. Eisai Indonesia 1995, 37; 12). M. Perry *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*. 1978, 159; 13). *The Wealth of India*, IV, 1956, 125 - 126; 14). Tardieu - Blot, *Supplément à la Flore Générale de l'Indochine*. Tome 1, 1945, 551 - 3; 15). Roques *Précis de botanique pharmaceutique. Précis de phanerogami* Tome II, 1959, 368; 16). Danh mục tài nguyên cây thuốc Quảng Tây. 1993, 69 -70; 17). Dược điển nước cộng hòa nhân dân Trung Hoa. 1990, 103 và 426; 18). Dược tài học. Nam kinh dược học viện. 1960, 1071; 19). Lưu Thọ Sơn. Trung dược nghiên cứu văn hiến trích yếu. 1965, 231; 20). Trung dược chí. Viện y học Trung Quốc. Nhà xuất bản vệ sinh nhân dân. III, 1960, 79 - 84; 21). Trung Quốc cao đẳng thực vật đồ giám. 1972, 519 -530.

Tạp chí Dược liệu, tập 5, số 2/2000 (trang 38 - 42)

ĐỊNH LƯỢNG ALCALOID TỪ TRINH NỮ HOÀNG CUNG (*CRINUM LATIFOLIUM* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ACID MÀU

Tôn Nữ Quỳnh Như, Võ Thị Bạch Huệ

Đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh

(Nhận bài ngày 26 tháng 1 năm 2000)

Summary

Quantitative Determination of Alkaloids from *Crinum latifolium* L. by Dye Acid Method

A dye acid (bromothymol blue) has been used for quantitative determination of alkaloids from different parts of Crinum latifolium L. The total alkaloids (extracted with chloroform) were brought together with bromothymol blue in a neutral buffer to form a colour complex which could be separated into a chloroform phase. The bromothymol blue combined in the colour complex was then freed by alkalization and measured at the wavelength of 620 nm.

This method proves to be useful in standardization of Crinum latifolium L. as raw material for medicinal purposes.

Key words: *Crinum latifolium* L., Alkaloids, Quantitative Determination, Dye Acid Method

Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, trinh nữ hoàng cung (TNHC) đã là một cây thuốc được nhiều người quan tâm do khả năng trị viêm tuyến tiền liệt và được chứng minh có kết quả tốt. Ngoài ra, TNHC còn được sử dụng để điều trị một số bệnh khác như u xơ tử cung, viêm loét... Nhưng việc tiêu chuẩn hoá, nhất là chỉ tiêu định lượng còn ít được đề cập. Xuất phát từ nhu cầu trên, từ năm 1997-1998 chúng tôi đã công bố việc định lượng alkaloid trong các bộ phận của TNHC bằng phương pháp acid màu.

Với mục đích hoàn thiện quy trình để ứng dụng

vào sản xuất, chúng tôi tiếp tục cải tiến phương pháp này, góp phần tiêu chuẩn hoá các bộ phận của TNHC.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

1. Đối tượng nghiên cứu

- Alkaloid chiết từ TNHC
- Chất chuẩn: 6-hydroxy crinamidin được phân lập từ lá của TNHC
- Acid màu: dung dịch xanh bromothymol
- Dung dịch đệm: dung dịch đệm phosphat pH = 6
- Dung môi hữu cơ: CHCl₃
- Dung dịch kiềm: NaOH 0,1N

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên tắc của phương pháp acid màu:

Alcaloid (base hữu cơ) kết hợp với acid màu (xanh bromothymol, methyl da cam...) ở pH đậm sẽ tạo thành một phức (cặp ion) tan trong dung môi hữu cơ (CHCl_3 , toluen, benzen...). Đo màu của dung dịch này ở bước sóng thích hợp, so sánh với chất chuẩn đã biết nồng độ, tính chất. Trong trường hợp định lượng alcaloid toàn phần chiết từ thực vật, vì có những tạp màu cũng tan theo vào dung môi hữu cơ nên cũng cần phải giải phóng acid màu đã kết hợp với base hữu cơ trở lại môi trường bằng cách dùng kiềm rồi đo màu của acid màu này ở bước sóng thích hợp.

2.2. Chiết alcaloid toàn phần từ lá (kiềm hoá được liệu rồi chiết siêu âm bằng dung môi hữu cơ)

2.2.1. Quy trình chiết

Cân chính xác khoảng 1g bột dược liệu được kiểm ẩm qua đêm với 2 ml NH_4OH đậm đặc (trong bình nón có nút mài) sau đó cho thêm 40 ml CHCl_3 , đặt lên máy siêu âm trong 2 giờ, lọc qua giấy lọc, thu được dịch lọc và tiến hành tiếp quy trình định lượng.

2.2.2. Định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng

- Bản mỏng tráng sẵn: Silicagel GF254
- Dung môi khai triển: CHCl_3 : MeOH: NH_4OH đ (12:2:0,5)
- Kết quả: alcaloid toàn phần chiết từ lá TNHC có từ 10 đến 12 vết có thể phát hiện được bằng thuốc thử Dragendorff.

2.3. So sánh pKb của berberin và 6-hydroxy crinamidin

6-hydroxy crinamidin là một alcaloid chiết từ lá TNHC và đã được xác định cấu trúc. Hàm lượng của alcaloid toàn phần chiết từ các bộ phận của TNHC được quy về alcaloid này. Tuy nhiên, do thu được ít 6-hydroxy crinamidin nên chúng tôi đã chọn một alcaloid có cấu trúc tương tự mà lại có bán nhiều trên thị trường để thay thế. Đó là berberin.

Trước khi sử dụng berberin làm chất đối chiếu, chúng tôi đã so sánh pKb của berberin và 6-hydroxy crinamidin.

Quy trình vận hành của máy chuẩn độ điện thế 702 Titration-Switzerland cho biết giá trị pK trong môi trường nước là giá trị HNP trong môi trường khan, do đó có thể sử dụng giá trị HNP để so sánh vì tỷ lệ về giá trị HNP của 6-hydroxy

crinamidin và berberin cũng sẽ tương ứng với tỷ lệ giá trị pKb của hai chất.

2.4. Khảo sát các thông số tối ưu

2.4.1. Lựa chọn pH của dung dịch đệm phosphat Xanh bromothymol kết hợp với base hữu cơ tạo phức màu tan vào CHCl_3 ở pH trong khoảng trung tính (pH ~ 7). Lựa chọn khoảng pH của dung dịch đệm sao cho ở khoảng pH này, màu của mẫu trắng gần như không thay đổi.

2.4.2. Lựa chọn nồng độ dung dịch xanh bromothymol để đảm bảo sự chiết tối đa cặp ion tạo thành, nhưng lại có mẫu trắng gần như không màu.

2.4.3. Xác định bước sóng để định lượng

Chọn bước sóng sao cho ở đó đỉnh hấp thụ cực đại của 6-hydroxy crinamidin kết hợp với xanh bromothymol và đỉnh hấp thụ cực đại của berberin kết hợp với xanh bromothymol, đỉnh hấp thụ cực đại của alcaloid toàn phần kết hợp với xanh bromothymol là trùng nhau.

2.4.4. Khảo sát thời gian để tách lớp hoàn toàn

Sau khi kết hợp alcaloid toàn phần với xanh bromothymol, lắc với CHCl_3 . Tìm khoảng thời gian sao cho việc tách lớp hoàn toàn và hai lớp dung dịch trong suốt.

2.4.5. Khảo sát khoảng tuyến tính

- Khảo sát khoảng tuyến tính của alcaloid toàn phần

Tìm độ hấp thụ của dung dịch ở những nồng độ khác nhau cho kết quả tạo thành một đường thẳng tuân theo định luật Lambert - Beer và tính được theo phương trình $y = ax + b$ với a, b nằm trong sai số cho phép.

- Khảo sát khoảng tuyến tính của 6-hydroxy crinamidin

- Khảo sát khoảng tuyến tính của berberin

2.5. Khảo sát sự tương quan của berberin và 6-hydroxy crinamidin

Pha dung dịch chuẩn có nồng độ 40 $\mu\text{g/ml}$ và dung dịch berberin có nồng độ 20 $\mu\text{g/ml}$, tiến hành bằng phương pháp acid màu (đo màu ở bước sóng 620 nm).

2.6. Xây dựng quy trình định lượng bằng phương pháp acid màu

Dung dịch thử : Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu tiến hành chiết theo quy trình 2.1, dịch

chiết cho vào bình định mức 100 ml, thêm CHCl₃ vào cho đến vạch.

Dung dịch berberin : Cân chính xác 100 mg berberin tinh khiết 99.8%, hoà tan vào CHCl₃, cho vào bình định mức 100 ml, thêm CHCl₃ đến vạch

để có nồng độ 1000 µg/ml (dung dịch mẹ). Từ dung dịch mẹ, hút chính xác 5 ml cho vào bình định mức 250 ml, thêm CHCl₃ cho đến vạch để có nồng độ 20 µg/ml. Cho vào bình lắng 1,2,3,4,5, 6,7 lần lượt những lượng dung dịch sau (bảng 1):

Bảng 1. Pha chế định lượng (giai đoạn 1)

Bình	1	2	3	4	5	6	7
Dung dịch thử	0	0	5	5	5	5	5
Dung dịch berberin	0	10	0	0	0	0	0
Dung dịch xanh bromothymol	2	2	2	2	2	2	2
Dung dịch đệm phosphat	20	20	20	20	20	20	20
CHCl ₃	20	10	15	15	15	15	15

Lắc đều hỗn hợp, để lắng ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, sau đó lấy lớp CHCl₃ tách ra ở mỗi bình 1,2,3,4,5,6,7 lần lượt được gọi là, dịch trắng 2, dịch thử 2, dịch berberin 2 được tiếp tục cho vào

bình lắng 1',2',3',4',5',6',7' những lượng dung dịch sau (bảng 2). Sau đó để lắng ở nhiệt độ phòng 1 giờ và đo độ hấp thụ thu dịch kiểm chứa dung dịch xanh bromothymol ở bước sóng 620 nm.

Bảng 2. Pha chế định lượng (giai đoạn 2)

Bình	1'	2'	3'	4'	5'	6'	7'
Dung dịch trắng	10	0	0	0	0	0	0
Dung dịch thử 2	0	0	10	10	10	10	10
Dung dịch berberin 2	0	10	0	0	0	0	0
Dung dịch NaOH 0,1N	20	20	20	20	20	20	20
Độ hấp thụ Abs	0	Y	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅

Kết quả:

Gọi At: độ hấp thụ của dung dịch thử

Ac: độ hấp thụ của dung dịch chuẩn

Cc: nồng độ dung dịch berberin = 5 µg/ml = 5.10⁻⁶ g/ml

Ct: nồng độ alkaloid trong 1 ml (X")

Tính toán kết quả theo công thức:

$$Ct = \frac{At}{Ac} \times Cc \times \text{độ pha loãng}$$

Hàm lượng alkaloid toàn phần trong 100g được liệu tính theo berberin

$$X\% = \frac{At}{Ac} \times 5 \times 10^{-6} \times (100 - \text{độ ẩm}) \times 800$$

Hàm lượng alkaloid toàn phần trong 100g được liệu quy về 6-hydroxy crinamidin.

$$Y\% = X\% \times K$$

Với K (hệ số hiệu chỉnh) = 0.3435.

2.7. ứng dụng phương pháp acid màu

2.7.1. Khảo sát hàm lượng alkaloid toàn phần từ lá *C. latifolium* L. thay đổi theo tháng.

Nguyên liệu là lá TNHC hái vào đầu mỗi tháng mùa khô (11,12/1998, 1,2/1999) và mùa mưa (3,4,5,6/1999) sau khi đã khảo sát độ ẩm.

2.7.2. Khảo sát hàm lượng alkaloid toàn phần trong lá *C. latifolium* L. của cùng một cây được thu hái giữa lúc chưa ra hoa và có hoa.

2.7.3. Khảo sát hàm lượng alkaloid toàn phần từ các bộ phận của hoa TNHC.

2.7.4. Xác định hàm lượng alkaloid toàn phần trong cao.

Kết quả và bàn luận

So sánh pKb của 6- hydroxy crinamidin và berberin: Giá trị HNP trung bình sau 3 lần xác định của 6-hydroxy crinamidin là -492,4 và của berberin là -491,5.

Nhận xét: HNP của 6-hydroxy crinamidin và berberin cho trị số gần như tương đương nhau.

Các thông số tối ưu:

- pH của dung dịch đệm phosphat: 6,9-7,1
- Nồng độ dung dịch xanh bromothymol: 1ml dung dịch xanh bromothymol sẽ phản ứng với 10 ml dung dịch thử (theo ĐDVN II tập 3).
- Bước sóng để định lượng: 620 nm

Nhận xét:

- 6-hydroxy crinamidin, berberin và alcaloid toàn phần khi tạo phức với xanh bromothymol có thể định lượng ở bước sóng 420nm nhưng có nhược điểm dung môi $CHCl_3$ dễ bay hơi nên gây sai số.

- Xanh bromothymol được giải phóng từ 6-hydroxy crinamidin, berberin hoặc alcaloid toàn phần được dùng để định lượng ở bước sóng 620 nm có ưu điểm là dung dịch ổn định và trong nhanh. Do đó sẽ sử dụng dung dịch xanh bromothymol được giải phóng từ alcaloid toàn phần và berberin để định lượng ở bước sóng 620 nm.

- Thời gian để tách lớp hoàn toàn.

Sau khi để yên bình lắng ở nhiệt độ phòng từ 2 giờ trở đi, độ hấp thu của dung dịch hầu như không thay đổi, đến 5 giờ độ hấp thu bắt đầu giảm.

Vậy thời gian để tách lớp hoàn toàn và cho độ hấp

Bảng 3: Hàm lượng alcaloid toàn phần từ lá *C. latifolium* L. thay đổi theo tháng

Hàm lượng (%) tính theo	11/98	12/98	1/99	2/99	3/99	4/99	5/99	6/99
Berberin	0,379	0,452	0,300	0,351	0,412	0,423	0,547	0,202
6-OH crinamidin	0,13	0,155	0,103	0,121	0,142	0,145	0,188	0,069

Nhận xét

- Hàm lượng alcaloid toàn phần của lá thu hái vào mùa khô tập trung cao nhất vào đầu tháng 12 rồi giảm đi và tiếp tục tăng lên nhẹ ở các tháng 1,2.

- Hàm lượng alcaloid toàn phần của lá thu hái vào mùa mưa vẫn tiếp tục tăng đến đầu tháng 5. Nhưng đến đầu tháng 6 cây đã trở hoa thì hàm lượng này giảm đột ngột, thấp nhất so với các tháng đã khảo sát.

Có thể giải thích là do các alcaloid được tích lũy

thu ổn định là 2- 5 giờ.

- Khoảng tuyến tính

- Dung dịch 6- hydroxy crinamidin.

Phương trình hồi quy: $Y = 0.2049X + 0,051$ ($R^2 = 0,999$)

- Dung dịch berberin.

Phương trình hồi quy: $Y = 0,1885X + 0,0021$ ($R^2 = 0,9994$)

- Khoảng tuyến tính của dung dịch 6- hydroxy crinamidin và berberin: 1-10 $\mu\text{g/ml}$.

Sự tương quan của 6-hydroxy crinamidin và berberin.

1 ml dung dịch berberin với nồng độ 5 $\mu\text{g/ml}$ có độ hấp thu = 0,475

1 ml dung dịch chuẩn với nồng độ 3 $\mu\text{g/ml}$ có độ hấp thu = 0,461

Nhận xét:

Có thể dùng dung dịch berberin (5 $\mu\text{g/ml}$) để làm chất đối chiếu thay cho chất chuẩn 6-hydroxy crinamidin với hệ số hiệu chỉnh:

$$K = \frac{0,475}{0,461 \times 3} = 0,3435$$

- Ứng dụng của phương pháp acid màu:

- Hàm lượng % alcaloid toàn phần từ lá *C. latifolium* L. thay đổi theo tháng.

đã phân tán vào các bộ phận mới tạo thành, trong khi bắt đầu tạo hoa như trục phát hoa, hoa, bầu hạ...

Vì thế, việc khảo sát hàm lượng alcaloid toàn phần của lá ngay vừa lúc cây bắt đầu trở hoa, cũng như khảo sát hàm lượng alcaloid toàn phần trong các bộ phận của hoa được tiến hành nhằm xác định nơi chứa alcaloid nhiều nhất.

Hàm lượng alcaloid toàn phần từ lá *C. latifolium* L. của cùng một cây được thu hái giữa lúc chưa ra hoa và lúc có hoa.

Bảng 4. Hàm lượng alkaloid toàn phần từ lá *C. latifolium* L. của cùng một cây được thu hái giữa lúc chưa ra hoa và lúc có hoa.

Hàm lượng (%) tính theo	Lúc chưa ra hoa	Lúc đã có hoa
Berberin	0,432	0,253
6- hydroxy crinamidin	0,148	0,087

Nhận xét:

Trong cùng một cây ở cùng một tháng, nhưng khi chưa ra hoa thì hàm lượng alkaloid toàn phần trong lá cao gấp 1,7 lần alkaloid toàn phần có trong lá khi cây bắt đầu trở hoa. Như vậy chứng tỏ rằng khi cây bắt đầu trở hoa thì hàm lượng

alkaloid trong lá giảm, vậy alkaloid đã phân tán vào đâu? Từ suy nghĩ đó việc xác định hàm lượng alkaloid trong các bộ phận của hoa TNHC được tiến hành.

*Hàm lượng alkaloid toàn phần từ các bộ phận của hoa TNHC

Bảng 5. Hàm lượng alkaloid toàn phần từ các bộ phận của hoa TNHC

Hàm lượng (%) tính theo	Hoa búp	Hoa nở	Hoa héo	Trục của hoa búp	Trục của hoa nở	Bầu hạ của hoa héo
Berberin	0,303	0,212	0,186	0,126	0,101	0,642
6- hydroxy crinamidin	0,104	0,073	0,064	0,043	0,035	0,221

Nhận xét:

- Hàm lượng alkaloid toàn phần chứa trong bầu hạ hoa héo cao vượt hẳn hơn các bộ phận khác.

- Hàm lượng alkaloid toàn phần chứa trong hoa búp nhiều hơn hoa nở, điều này có thể giải thích là khi hoa nở, alkaloid toàn phần đã di chuyển sang các bộ phận khác có thể là đi vào bầu hạ.

- Hàm lượng alkaloid toàn phần ở trục phát hoa cũng chiếm một tỷ lệ tương đối so với hoa. Do đó, khi chiết xuất alkaloid cũng có thể chiết bộ phận này. Như vậy khi hoa đã héo, có thể chiết xuất alkaloid ở bầu hạ và trục phát hoa.

*Hàm lượng alkaloid toàn phần trong cao:

Vì lá của TNHC rất dễ úng hư nếu bảo quản không kỹ hoặc bảo quản quá lâu, cho nên phải

xác định hàm lượng alkaloid toàn phần trong cao.

Hàm lượng alkaloid toàn phần trong 100 g cao *C. latifolium* L. quy về 6-hydroxy crinamidin $Y\% = 54,11 \times K = 54,11 \times 0,3435 = 18,587\% \pm 3,33\%$.

Kết luận

Đã khảo sát sự biến đổi alkaloid trong lá thay đổi theo tháng, theo mùa nhằm hỗ trợ cho các nhà nghiên cứu thu thập nguyên liệu để chiết alkaloid.

Khảo sát sự tập trung alkaloid trong các bộ phận (trụ rễ và thân hành) khi cây chưa nở hoa cũng như lúc đã nở hoa nhằm giúp cho người dùng hiểu biết nhiều hơn về loại cây này.

Khảo sát hàm lượng alkaloid toàn phần trong cao (chiết từ lá của cây trinh nữ hoàng cung).

Tài liệu tham khảo

1). Đặng Văn Hoà. Định lượng base hữu cơ bằng phương pháp acid màu, trang 1-18, 1998; 2). Koybayashi S., T. Tokunoto, M. Kihara, Y. Imakuma. *Chem. Pharm. Bull.* 32 (8) 3015-3022, 1984; 3). S. Ghosal, Kulwant S. Saini Sushma Razdan. *Phytochemistry*, 24 (10) 2141- 2156, 1985.

Tài liệu tham khảo (Tiếp theo trang 58)

1). Nguyễn Văn Đán, Nguyễn Viết Tự: Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc. NXB Y học 1985; 2). Đỗ Tất Lợi: Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB KHKT 1995; 3). Trường Đại học Dược Hà Nội- Bộ môn Dược liệu : Bài giảng dược liệu tập I. NXB Y học 1982; 4). A.T.Khalil, H. Abd El- fattah and E.S. Mánoun. *Planta Medica* 57 (1991), 190-1; 5). Eskander E.F; Won Jun H. C.A vol 124 No. 23, 1996 307158a; 6). Naomi Ishihara; Toshio Miyase and Akira ueno. *Chem Pharm. Bull* 35 (9). 318, 1987; 7). Park hee Juhn, Lee Myung Sun, Lee Eun, Choi moo Young, Cha bae Chum, Jung won Tae, Young han Suk. C.A..vol 123 (1995) 65634n.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA CÂY BA CHẠC (*EVODIA LEPTA* (SPRENG) MERR.)

Nguyễn Minh Phương, Trần Văn Sung
Viện hoá học, TT. Khoa học tự nhiên và Công nghệ quốc gia
(Nhận bài ngày 20 tháng 11 năm 1999)

Summary

Contribution to the Study on Chemical Composition of *Evodia lepta*

Four 2,2-dimethyl-2H-1-benzopyrans, i.e., evodionol methyl ether, evodion, isoevodionol and evodionol have been isolated from *Evodia lepta* leaves. Structures of these compounds were established by spectroscopic methods.

Key words: evodionol methyl ether, evodion, isoevodionol, evodionol, *Evodia lepta* Leaves, Spectroscopic Methods.

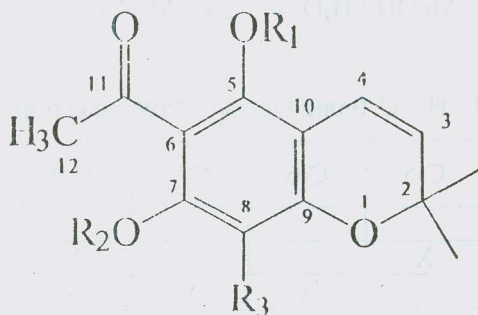
Mở đầu

Cây ba chạc (*Evodia lepta* (Spreng) Merr.), với tên đồng nghĩa là *Euodia lepta* hoặc *Melicope ptelefolia* (Champ. ex Benth.) Hartley [1], thuộc họ Cam quít, phân bố rộng rãi ở khắp nước ta, trên các đồi cây bụi, ở rừng núi và đồng bằng. Ngoài ra còn thấy ở Trung Quốc và Philippin [2].

Lá ba chạc được dùng để chữa ghẻ, mụn nhọt, lở ngứa. Rễ và vỏ chữa phong thấp, nhức xương. Còn được dùng để trị huyết áp cao, đau đầu mất ngủ [3]. Ở Trung Quốc, lá ba chạc được dùng trị bệnh cúm truyền nhiễm, viêm não. Rễ trị thấp khớp, đau lưng, ngộ độc lá ngón [2]. Về thành phần hoá học, cho đến nay, một số alcaloid khung quinolin, furoquinolin và một số benzopyran đã được tách ra từ ba chạc [4-7]. Cây mọc ở Sa Pa -

Lào Cai, đã được nghiên cứu năm 1996. Nhóm nghiên cứu của chúng tôi phối hợp với nhóm của GS. G. Adam (CHLB Đức) đã tách ra một dãy các hợp chất 2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran [7], benzopyran dimer, tetralon và bisquinolinon alcaloid [8,9]. Nhằm tìm hiểu thêm về thành phần hoá học của cây này, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu lá cây ba chạc. Mẫu được thu mua tại Hà Nội và theo cử nhân Hà Tuế - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh học, Trung tâm KHTN & CNQG - về phân loại thực vật: mẫu này trùng với mẫu cây ba chạc thu hái ở Sa Pa.

Chúng tôi đã tách thêm bốn benzopyran (1,2,3,4), trong đó có ba hợp chất (1,3,4) là không thấy có trong cây ba chạc mọc ở Sa Pa. Chúng tôi xin thông báo về việc chiết tách và xác định cấu trúc bốn hợp chất đó.



Chất	R ₁	R ₂	R ₃
1. Evodionol methyl ether	CH ₃	CH ₃	H
2. Evodion	CH ₃	CH ₃	OCH ₃
3. isoevodionol	H	CH ₃	H
4. Evodiol	CH ₃	H	H

Phần thực nghiệm

Điểm chảy: không hiệu chỉnh, EIMS: 70eV. Sắc ký cột: silicagel 60, 230 - 400 mesh (Merck). SKLM: bản mỏng silicagel để nhôm 60 F₂₅₄ (Merck), soi đèn UV, $\lambda = 245$ nm, thuốc hiện: vanilin-H₂SO₄.

Mẫu thực vật:

Lá cây ba chạc mua ở chợ tại Hà Nội, được cử nhân Hà Tuế, công tác tại Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh học, trung tâm KHTN & CNQG, xác định.

Chiết tách:

Lá khô (500 g) được ngâm chiết 4 lần bằng n-hexan, EtOAc và MeOH ở nhiệt độ phòng. Dung môi được loại dưới áp suất thấp, cho 7,6 g cặn dịch n-hexan, 20,4 g cặn dịch EtOAc và 30,5 g cặn dịch MeOH. 20,4 g cặn dịch EtOAc được tách bằng SKC silicagel 60 (100 g, 70 - 200 mesh), hệ dung môi rửa giải n-hexan : EtOAc, với nồng độ EtOAc tăng dần, tách ra thành 94 phân đoạn, mỗi phân đoạn 50 ml. Phân đoạn 3 và 4, rửa giải bằng hệ dung môi n-hexan : EtOAc = 96 : 4, (420 mg) sau khi kết tinh phân đoạn và rửa chất màu thu được 23 mg hợp chất 1, phân đoạn 44 - 76, rửa giải bằng hệ dung môi n-hexan : EtOAc = 9 : 1, (1,02 g) được tách tinh lại bằng một cột silicagel (70 g) với hệ dung môi rửa giải n-hexan: CHCl₃ : MeOH = 98 : 2 : 0,09 thu được 205 mg hợp chất 4, ở dạng dầu. Phân đoạn 33 - 35, vẫn rửa giải bằng hệ dung môi n-hexan : EtOAc = 9 : 1, (425 mg) tách lại bằng cột silicagel (50 g) dung môi rửa giải là n-hexan : CHCl₃ : EtOAc = 1 : 9 : 0,1, thu được 114 mg hỗn hợp của 3 và một số tạp chất. Hỗn hợp này được tiếp tục tách bằng SKC ngược pha RP₁₈, hệ dung môi MeOH : H₂O =

97 : 3, thu được 25 mg hợp chất 3.

8,8 g cặn dịch chiết n-hexan tách SKC silicagel 60 (Merck), (100 g), hệ dung môi rửa là n-hexan : EtOAc, với nồng độ EtOAc tăng dần, thu được 169 phân đoạn. Phân đoạn 30 - 72 của dịch n-hexan và phân đoạn 11 - 28 của dịch EtOAc (tổng cộng 700 mg) được tiếp tục tách trên cột silicagel 60 (Merck) (60 g), giải hấp bằng 2% EtOAc trong n-hexan cho 23,3 mg hợp chất 2.

Evodionol methyl ether (1):

Tinh thể màu vàng, điểm nóng chảy 66° - 68°C (n-hexan), Rf 0,38 (n-hexan : CHCl₃ : EtOAc = 1 : 9 : 0,2). IR ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 2972, 1696, 1608, 1367, 1105. MS m/z (cường độ tương đối) 263 [M-H]⁺ (100).

Evodion (2):

Dạng dầu. RF 0,19 (n-hexan : CHCl₃ : MeOH = 98 : 2 : 0,09). IR ν_{\max} KBr 2985, 2838, 1702, 1615, 1380, 1290, 975. MS m/z (c.d.t.d.) 292 [M]⁺ (22), 277 [M-Me]⁺ (100), 263 [M-Me-CH₂]⁺ (18), 43 [Me-CO]⁺ (22).

Isoevodionol (3):

Tinh thể màu vàng, đ.n.c. 132° - 133°C (n-hexan), Rf 0,47 (n-hexan : EtOAc = 94 : 6), IR ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 2972, 1622, 1427, 1273, 1118, 890. MS m/z (c.d.t.d.): 248 [M]⁺ (22), 233 [M-Me]⁺ (100), 215 [M-Me-H₂O]⁺ (27).

Evodionol (4):

Tinh thể màu vàng, đ.n.c. 80° - 81°C (n-hexan), Rf 0,37 (n-hexan : EtOAc : 94 : 6). IR ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 2979, 1615, 1467, 1360, 1279, 830. MS m/z (c.d.t.d.): 248 [M]⁺ (18), 233 [M-Me]⁺ (100), 215 [M-Me-H₂O]⁺ (5), 203 [M-MeCO-2H]⁺ (13).

Bảng 1. ¹H-¹³C tương tác xa (HMBC) của hợp chất 1

	C-2	C-3	C-5	C-6	C-7	C-9	C-10	C-11	2-Me ₂
H-3	X						X		X
H-4	X		X			X			
H-8				X	X	X	X		
H-12				X				X	
5-OMe			X						
7-OMe					X				
2-Me ₂	X	X							

Bảng 2. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất 1 so với 2, tài liệu [7] đo trong CDCl_3

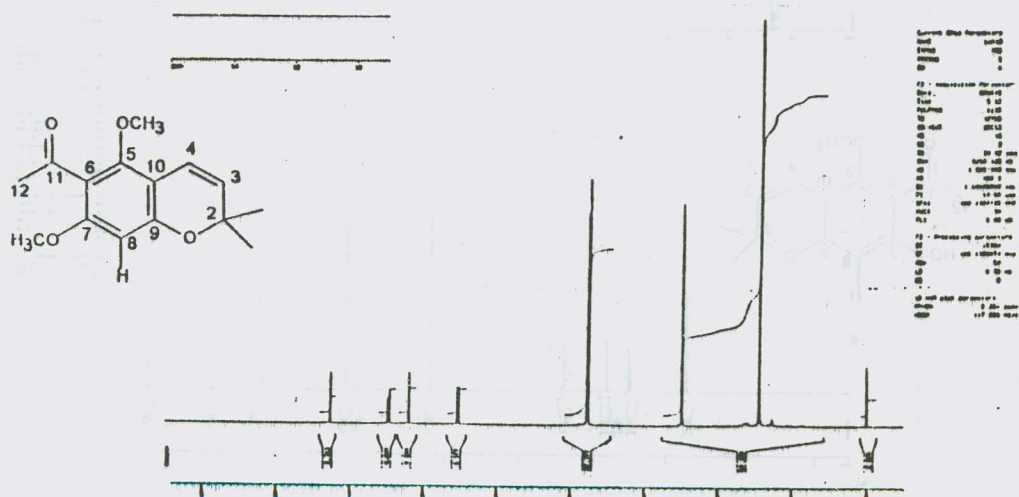
	1 ^a	2 ^b
2	77,05	76,8
3	127,8	129,3
4	116,7	116,5
5	154,5	148,4
6	118,4	122,8
7	157,6	150,4
8	96,2	138,1
9	156,1	148,4
10	108,2	111,9
11	202,1	201,3
12	32,5	32,6
2-Me ₂	28,07	27,6
	28,07	27,6
5-OMe	63,7	63,7
7-OMe	55,8	61,9
8-OMe		61,0

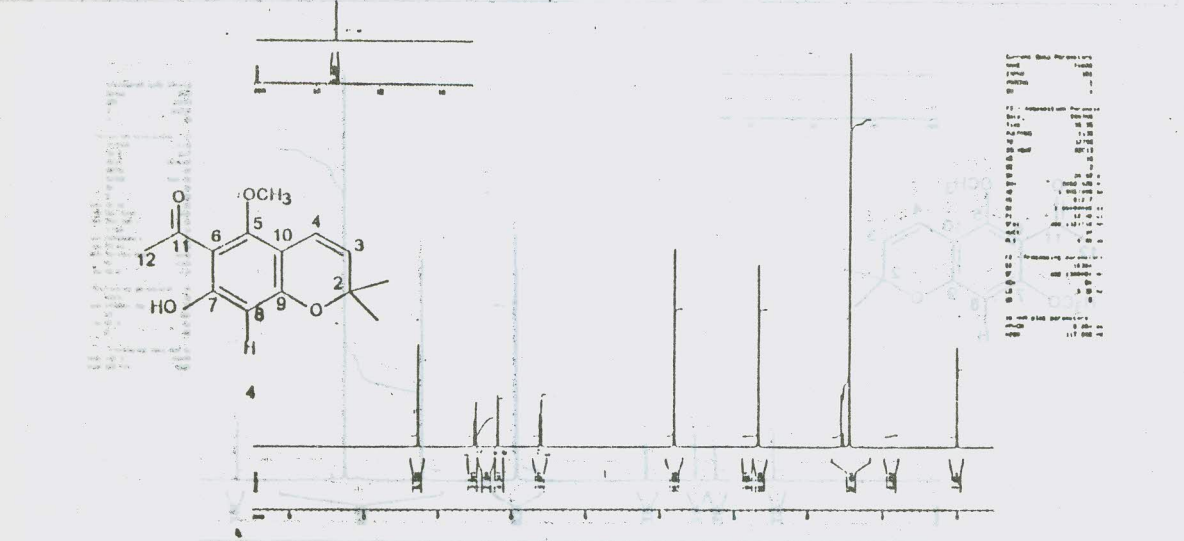
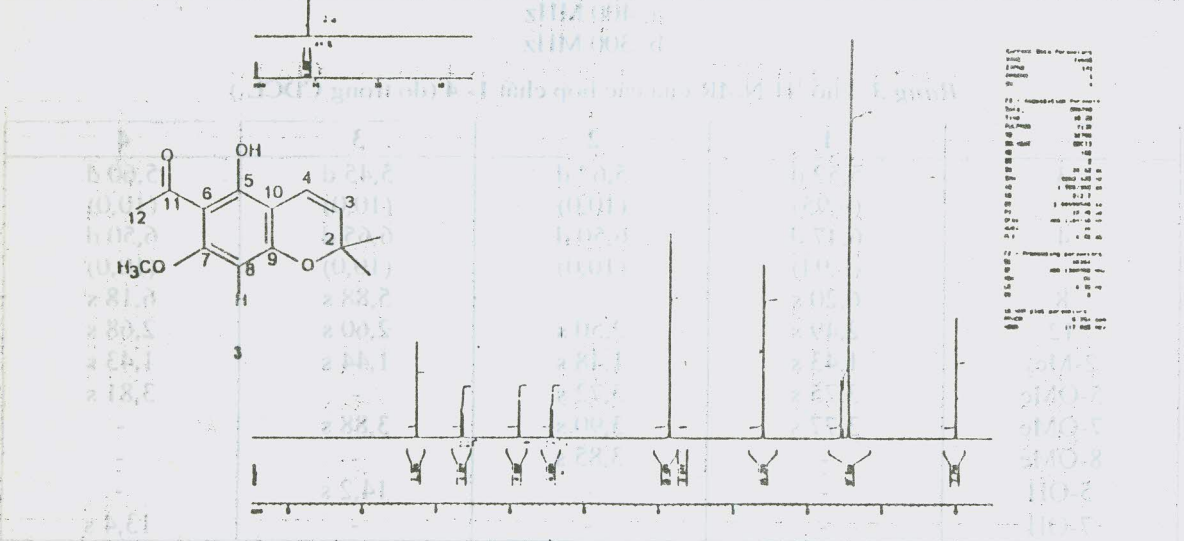
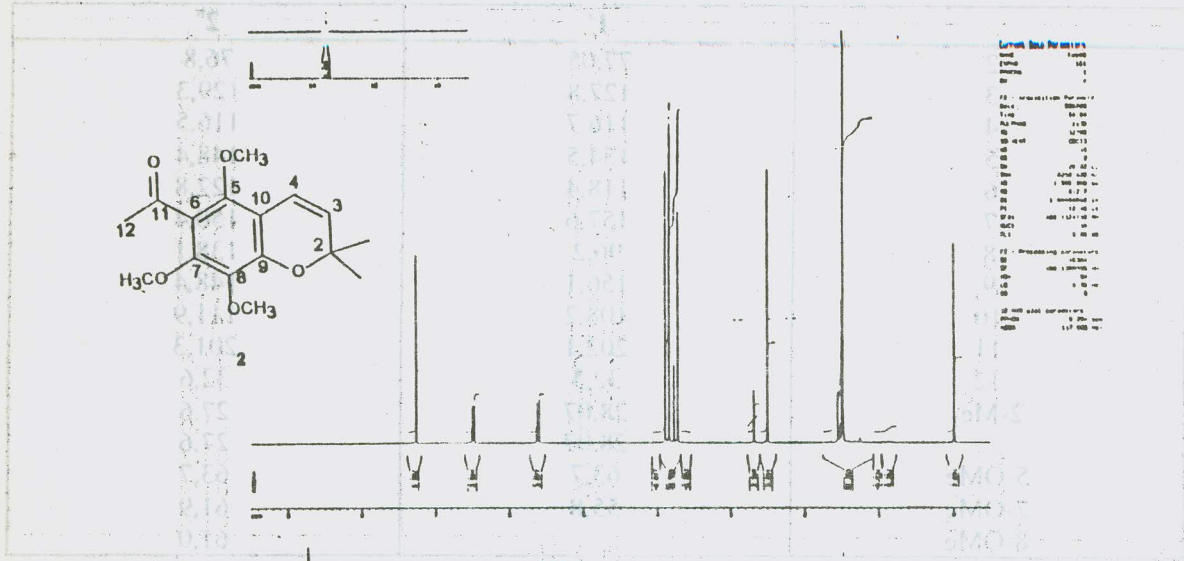
a: 400 MHz

b: 300 MHz

Bảng 3. Phổ ^1H -NMR của các hợp chất 1- 4 (đo trong CDCl_3)

	1	2	3	4
3	5,52 d (9,95)	5,62 d (10,0)	5,45 d (10,0)	5,60 d (10,0)
4	6,47 d (9,94)	6,50 d (10,0)	6,65 d (10,0)	6,50 d (10,0)
8	6,20 s	-	5,88 s	6,18 s
12	2,49 s	2,50 s	2,60 s	2,68 s
2-Me ₂	1,43 s	1,48 s	1,44 s	1,43 s
5-OMe	3,75 s	3,72 s	-	3,81 s
7-OMe	3,77 s	3,90 s	3,88 s	-
8-OMe	-	3,85 s	-	-
5-OH	-	-	14,2 s	-
7-OH	-	-	-	13,4 s





Kết quả và thảo luận

Dịch chiết n-hexan và EtOAc của lá ba chạc, sau khi tách bằng sắc ký cột (SKC) với hệ dung môi n-hexan : EtOAc, với nồng độ EtOAc tăng dần, cho 4 chất **1,2,3,4**, thuộc lớp chất 2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran.

Chất **1** được tách ra dưới dạng tinh thể màu vàng. Khối phổ phân giải cao cho công thức phân tử là $C_{13}H_{18}O_4$, hàm lượng ít nhất trong 4 chất (0,005%). Phổ hồng ngoại cho thấy phân tử có một nhóm carbonyl liên hợp tại $\nu_{\max}KBr$ (cm^{-1}) 1696, vòng benzen (1608) và 1 nhóm *gem*-dimethyl (1367).

Phổ 1H - và ^{13}C -NMR cho các tín hiệu điển hình của các chất thuộc lớp 2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran: một nhóm *gem*-dimethyl ở δ_H (ppm) 1,43 và δ_C ở 28,07, một carbon bậc bốn (C-2) ở 77,05, hai dublet có hằng số tương tác ($J=10$ Hz) tại 5,52 (H-3) và 6,47 (H-4) và carbon tương ứng tại 127,8 (C-3) và 116,7 (C-4). Phổ H-H COSY cho thấy tương tác giữa 2 proton H-3 và H-4 qua 3 liên kết. Tín hiệu tại δ_H 6,2 được gán cho H-8 với carbon tương ứng tại δ_C 96,2 (C-8). Trong vòng benzen, carbon số 6 được thế bởi nhóm acetyl với δ_C tại 202,1 (C-11) và δ_C 32,5 (C-12), với δ_H tương ứng là 2,49 (H-12).

Ở δ_H 3,75 và 3,77 cho thấy tín hiệu của 2 nhóm OCH_3 , ở vị trí 5 và 7 với δ_C tương ứng tại 63,7 (5-OMe) và 55,8 (7-OMe). Các carbon bậc bốn ở vị trí 6,9 và 10 được xác định bằng tương tác xa CH trong phổ HMBC (bảng 1).

So sánh phổ ^{13}C -NMR của chất **1** với evodion trong tài liệu [7] cho thấy phần lớn các tín hiệu trùng hợp với nhau (bảng 2). Duy chỉ có một sự khác biệt tại vị trí số 8, nơi chất **1** không mang nhóm thế OCH_3 .

Lời cảm ơn: Các tác giả xin chân thành cảm ơn TS. B. Fugmann, hãng Bayer AG, CHLB Đức, đã giúp đỡ trong việc đo phổ.

Tài liệu tham khảo

- 1.) Editorial Committee of the flora of Taiwan, Flora of Taiwan, 2nd Ed., Taipei, Taiwan, (1993), Vol. 3, p.521.
- 2.) Võ Văn Chi, Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB Y học, Hà nội, 1996, tr. 39.
- 3.) Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà nội, 1991, tr. 346.
- 4.) Goh, S.H., Chung, V.C. and Iones, D., *Bulletin of the Singapore National Institute of Chemistry*, 1989, 17, p. 21.
- 5.) Gunawardana, Y.A.G.P., Cordell, G.A., Ruangrungrsi, N., Chomya, S. and Tantivatana, P., *Journal of the Science Society of Thailand*, 1987, 13, 107-112.
- 6.) McCormick, J.L., McKee, T.C., Cardellina II, J.H. and Boyd, M.R., *Journal of Natural Products*, 1996, 59, p. 469.
- 7.) Kamperdick, C., Vân, N.H., Sung, T.V. and Adam, G., *Phytochemistry*, 1997, Vol. 45, No. 5, p. 1049-56.
- 8.) Kamperdick, C., Vân, N.H., Sung, T.V. and Adam, G., *Phytochemistry*, 1998, 48 p. 1055.
- 9.) Kamperdick, C., Vân, N.H., Sung, T.V. and Adam, G., *Phytochemistry*, 1999, 50, p. 177-81.
- 10.) Allan, R.D., Correll, R.L., and Well, R.J., *Tetrahedron Letter*, 1969, 53, 4673.
- 11.) Lahay F., Stick R.V., *Aust. Journal Chemistry*, 1973, 26, 2291-5.

Trên cơ sở phân tích và so sánh các số liệu phổ như trên cho thấy cấu trúc của chất **1** là evodionol methyl ether.

Hợp chất **2** ($C_{16}H_{20}O_5$, $[M]^+m/z$ 292) là chất chính trong cây này (hàm lượng 0,02%), ở dạng dầu. Trong phổ 1H -NMR, proton aromat H-8 với δ_H 6,2 biến mất, thay thế vào đó xuất hiện tín hiệu ở δ_H 3,85 của một nhóm OMe. Tất cả các tín hiệu còn lại trong phổ 1H -NMR, phổ MS, H-H COSY và IR đều trùng với hợp chất **1**. So sánh với tài liệu [7] thì thấy hợp chất **2** có các tín hiệu trùng khớp và được xác định là evodion (bảng 3). Chất này cũng được tìm thấy trong cây ba chạc mọc ở Sa Pa [7].

Hợp chất **3** ($C_{14}H_{16}O_4$, $[M]^+m/z$ 248) là tinh thể màu vàng nhạt. Khối phổ va chạm electron có mảnh m/z 215 $[M-Me-H_2O]^+$ (27), cho thấy trong phân tử có một nhóm OH. Điều đó cũng được thể hiện trong phổ 1H -NMR, tại δ_H 14,2 ppm có một tín hiệu của proton OH. So sánh các phổ MS, 1H -NMR, H-H COSY và IR với hợp chất **1**, cho thấy chất **3** cũng có các tín hiệu đặc trưng của lớp chất benzopyran (bảng 3). So sánh với tài liệu [10], chất **3** được xác định là isoevodionol.

Hợp chất **4** có công thức phân tử là $C_{14}H_{16}O_4$, $[M]^+m/z$ 248. Số khối giống nhau giữa hợp chất **3** và **4** cho thấy hai hợp chất này là đồng phân của nhau. Trong phổ 1H -NMR, proton H-8 trong hợp chất **3** với δ_H 5,88 vẫn có trong hợp chất **4**, nhưng dịch chuyển về trường thấp δ_H 6,18. Tại δ_H 13,4 vẫn có một tín hiệu của OH. Vì vị trí số 6 của vòng benzen luôn luôn có nhóm thế acetyl, do đó hai nhóm OH và OMe đã đổi vị trí cho nhau. So sánh các số liệu phổ của chất **4** (bảng 3) với tài liệu [11], cho phép kết luận hợp chất **4** là evodionol.

TÁC DỤNG CỦA ANGALA ĐỐI VỚI TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI Ở BỆNH NHÂN HOÁ TRỊ LIỆU VÀ GIẢM TIỂU CẦU NGUYÊN PHÁT

Trần Minh Vinh (1), Nguyễn Gia Chấn (2),
Bùi Thị Bằng (2), Lê Kim Loan (2)

(1) - Trung tâm nghiên cứu phòng chống ung thư.

(2) - Viện Dược liệu.

(Nhận bài ngày 4 tháng 10 năm 1999)

Summary

Effect of Angala on Peripheral Blood Cells in Chemotherapy-treated Tumorous and Primary Platelet Deficient Patients

Angala, a drug made of pectic polysaccharides isolated from the root of Angelica acutiloba Kit., has been tested for its effect on peripheral blood cells in tumorous and primary platelet deficient patients. The results showed that:

- *Combination of Angala (a daily dose of 1000 mg x 28 days) with chemotherapy obviously limited the reduction of blood cells in tumorous patients.*

- *Angala (a daily dose of 1000 mg x 60 days) given to platelet deficient patients after corticosteroid treatment increased the number of platelets up to $121.87 \times 10^9/l$ and decreased the bleeding time from 8.51 min. to 3.28 min (the normal level).*

These results suggest that Angala could be a perspective adjuvant in the treatment of tumorous and primary platelet deficient patients.

Key words: *Angelica acutiloba Kit., Pectic Polysaccharides, Tumorous and Platelet Deficient Adjuvant*

Đặt vấn đề

Từ lâu, y học cổ truyền đã coi đương quy là một vị thuốc bổ huyết và hoạt huyết [1]. Angala là một thuốc mới được làm từ pectic polysaccharid toàn phần chiết xuất từ rễ củ cây đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kitagawa). Theo "Trung Quốc dược khoa đại học", tiêm polysaccharid chiết từ đương quy Trung Quốc vào màng bụng chuột nhất làm tăng sinh huyết trong tuỷ xương [2,3]. Polysaccharid chiết xuất từ rễ củ đương quy Nhật Bản có tác dụng kéo dài thời gian sống của chuột mang tế bào cổ trưởng Ehrlich, tăng cường miễn dịch, kích thích sản xuất interferon [4,5,6]. Theo Phan Thị Phi Phi và đồng nghiệp, tiêm cyclophosphamid cho chuột làm nghèo các dòng tế bào ở tuỷ xương nhưng nếu được điều trị bằng Angala thì thấy tuỷ xương gần bình thường, đặc biệt chỉ số phân chia của phiếu mẫu tiểu cầu tăng [7,8].

Hiện nay, miễn dịch trị liệu đã trở thành phương pháp hỗ trợ dùng rộng rãi trong điều trị ung thư. Sự phối hợp nhiều loại thuốc trong phác đồ điều trị đã có thể cải thiện một cách có ý nghĩa các cơ

hội điều trị khỏi cho nhiều loại bệnh nhân ung thư, nhưng lại gặp phải những tác dụng phụ, nhất là gây suy giảm quá trình tạo máu - là một trong những yếu tố chính hạn chế khả năng thực hiện phác đồ hoá trị liệu. Để khắc phục tình trạng giảm sản tuỷ, người ta tiến hành truyền tuỷ, truyền tế bào mầm máu ngoại vi, hoặc dùng các cytokin để kích thích cụm bạch cầu hạt (G-CSF hoặc GM-CSF) nhưng giá thành khá đắt. Nếu ngoài tác dụng kích thích miễn dịch, Angala còn có khả năng hạn chế giảm sản tế bào máu thì sẽ là một loại thuốc ưu việt trong điều kiện kinh tế còn hạn chế [9,10,11].

Vì vậy chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu tác dụng của Angala đối với tế bào máu ở bệnh nhân hoá trị liệu và giảm tiểu cầu nguyên phát.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là những bệnh nhân Hodgkin, non-hodgkin, ung thư đại tràng đã mổ, ung thư phổi, sarcom lách - có chỉ định dùng đa hoá trị liệu từng đợt liều cao cách nhau 2 tuần. 40 bệnh nhân được chia làm 2 nhóm. Nhóm 1: 20

bệnh nhân dùng hoá trị liệu. Nhóm 2: 20 bệnh nhân dùng hoá trị liệu kết hợp dùng 2 viên Angala 0,5 g/ngày chia 2 lần. Chỉ tiêu theo dõi gồm số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu, công thức bạch cầu, tiểu cầu.

Thời gian theo dõi xét nghiệm:

Ngày thứ 0: trước hoá trị liệu.

Ngày thứ 7, 14: sau hoá trị liệu đợt I

a) Hồng cầu: tính theo số lượng $\times 10^{12}/l$

Nhóm	Số lượng hồng cầu ($\times 10^{12}/l$) ở các thời điểm theo dõi (ngày)				
	0	7	14	21	28
Nhóm 1	3,67 \pm 0,52	3,12 \pm 0,89	3,30 \pm 0,70	3,08 \pm 0,80	3,12 \pm 0,90
Nhóm 2	3,57 \pm 0,68	3,09 \pm 0,96	3,37 \pm 0,66	3,25 \pm 0,65	3,30 \pm 0,87
P(1,2)		0.099	0.268	0.631	0.60

Nhận xét:

Sau dùng thuốc hoá chất vào ngày thứ 28: hồng cầu giảm 15% ở nhóm 1 (không dùng Angala); số

b) Huyết sắc tố: tính theo g/l

Nhóm	Huyết sắc tố (g/l) ở các thời điểm theo dõi (ngày)				
	0	7	14	21	28
Nhóm 1	129,43 \pm 10,03	107,20 \pm 9,83	114,42 \pm 10,11	101,35 \pm 8,35	104,72 \pm 9,18
Nhóm 2	131,43 \pm 10,03	107,20 \pm 11,10	117,49 \pm 12,10	105,40 \pm 9,65	128,78 \pm 10,74
P(1,2)					P<0,001

Nhận xét: Sau hoá trị liệu đợt I vào ngày thứ 7, huyết sắc tố giảm ở cả hai nhóm không khác nhau; bắt đầu giảm từ ngày thứ 14, vào ngày thứ 28 số lượng huyết sắc tố ở nhóm 1 giảm rõ rệt

c) Bạch cầu: tính theo số lượng $\times 10^9/l$

Nhóm		Số lượng các loại bạch cầu ($\times 10^9/l$) ở các thời điểm theo dõi (ngày)				
		0	7	14	21	28
Bạch cầu	Nhóm 1	5,72 1,18	4,21 1,12	4,70 1,21	3,72 1,31	3,92 1,32
	Nhóm 2	5,69 1,32	4,49 1,18	5,03 1,62	4,01 1,35	5,00 1,12
	P		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
N	Nhóm 1	3,80 1,06	2,10 0,96	2,58 1,01	2,04 0,92	2,18 1,08
	Nhóm 2	3,73 0,92	2,41 0,83	2,99 0,91	2,34 0,78	2,91 0,72
	P		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
L	Nhóm 1	1,36 0,48	1,62 0,64	1,70 0,58	1,36 0,52	1,76 0,59
	Nhóm 2	1,52 0,66	1,36 0,71	1,42 0,52	1,25 0,41	1,68 0,42
	P		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Ngày thứ 21, 28: sau hoá trị liệu đợt II

Để thăm dò tác dụng hạn chế sự giảm sản tế bào máu của Angala 11 bệnh nhân giảm tiểu cầu nguyên phát được điều trị bằng Angala với liều 2 viên 0,5 g/ngày, chia 2 lần. Chỉ tiêu theo dõi gồm số lượng tiểu cầu và thời gian máu chảy.

Kết quả

3.1. Tác dụng của Angala đối với tế bào máu ngoại vi ở bệnh nhân hoá trị liệu.

lượng hồng cầu giảm ít hơn ở nhóm 2: 7,57% nhưng theo P thì giữa nhóm 1 và 2 khác nhau không có ý nghĩa (P>0,05).

hơn nhóm 2 (dùng Angala) (P<0,001). So với số lượng ban đầu (ngày 0), nhóm 1 giảm 19,09%, nhóm 2 chỉ giảm 2,02%.

Nhận xét:

Sau đợt I hoá trị liệu, số lượng bạch cầu, bạch cầu đa nhân (N) đều giảm so với số liệu ban đầu song không khác nhau có ý nghĩa. Sau đợt II hoá trị liệu vào ngày thứ 28, bạch cầu ở nhóm 2 giảm

16,2%, ít hơn so với nhóm 1 (giảm 31,47%). Bạch cầu hạt ở nhóm 2 giảm 22% ít hơn so với nhóm 1 giảm 42,64%. Sự khác nhau giữa hai nhóm có ý nghĩa $P < 0,05$. Bạch cầu lympho giữa hai nhóm khác nhau không có ý nghĩa $P > 0,05$.

d) Tiểu cầu: Số lượng $\times 10^9/l$

Nhóm	Số lượng tiểu cầu ($\times 10^9/l$) ở các thời điểm theo dõi (ngày)				
	0	7	14	21	28
Nhóm 1	246 \pm 58	202 \pm 69	218 \pm 74	135 \pm 81	102 \pm 78
Nhóm 2	262 \pm 66	238,5 \pm 42	231,6 \pm 48	183,33 \pm 57	196 \pm 69
P(1,2)		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Nhận xét:

Sau đợt I hoá trị liệu, số lượng tiểu cầu giảm giữa hai nhóm khác nhau rõ rệt. Sau đợt II hoá trị liệu vào ngày thứ 28, số lượng tiểu cầu ở nhóm 2 giảm 25,5% ít hơn nhóm 1 giảm 58,54%.

3.2: Tác dụng của Angala ở bệnh nhân giảm tiểu cầu nguyên phát (Wherlhoff)

Cả 11 bệnh nhân gồm 9 nữ và 2 nam đều đã được điều trị từ 1 đến 2 năm bằng prednisolon, solu-

medron, trong đó có 2 trường hợp đã cắt lách, 3 trường hợp đã dùng vincristin và 1 trường hợp đã điều trị ở Pháp bằng globulin liều cao.

Các phương pháp điều trị nói trên có làm cho tiểu cầu tăng lên, song chỉ 15 -30 ngày sau lại giảm, có trường hợp chỉ còn 7 - 10 $\times 10^9/l$, đồng thời có tác dụng phụ như mệt mỏi, giữ nước, do corticoid gây nên.

Kết quả dùng Angala xem bảng:

Chỉ tiêu theo dõi	Trước Angala	Sau điều trị	
		Ngày thứ 30	Ngày thứ 60
Tiểu cầu $\times 10^9/l$	30,62 \pm 15,80	95,90 \pm 25,18	121,87 \pm 51,60
Thời gian máu chảy (phút)	8'51" \pm 2,2	4'45" \pm 1,31	3'28" \pm 0,45
P		<0,001	<0,001

Nhận xét:

So với trước điều trị, kết quả đạt được ở ngày thứ 30 và 60, số lượng tiểu cầu tăng lên rõ rệt với $P < 0,001$.

Kết luận

Với liều 2 viên(1000 mg) / ngày), Angala có tác dụng:

- Hạn chế sự suy giảm số lượng tế bào hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu ở 20 bệnh nhân ung thư có dùng hoá trị liệu.

- Tăng số lượng tiểu cầu lên trên giới hạn nguy hiểm và đưa thời gian chảy máu trở về bình thường (3-4 phút) ở 11 bệnh nhân giảm tiểu cầu nguyên phát.

Tài liệu tham khảo

- 1). Vũ Ngọc Lộ. *Tạp chí Dược liệu*, số 2, tập 4, 1999, tr.33-34; 2). Mei Qibing, Tao Jingyi, Zhang Huidi, Duan Zhixing, Chen Yaoguo. *Zhongguo Yaoli Xuebao*, 9(3), 1988; 279-282. Theo Chemical Abstracts, vol.109, 3105t, 1988, 282; 3). Ma Lanfang, Mao Xinmin, Li Xingwang, Zhao Huaishun. *Zhonghua Xueyexue Zazhu*, 9(3), 1988, 148-149. Theo Chemical Abstracts, vol. 109, 183305q, 1988, 12; 4). Yamada H., Komiyama K., Kiyohara H., Cyong J.C., Hirakawa Y., Ohtsuka Y. *Planta Medica*, 56(2), 1990, 182-186; 5). Yamada A., Kiyohara H., Cho M., Ohtuka Y., Komiyama H. *Wakan Iyaku Gokkai*. 2(1), 1985, 266-267. Theo Chemical Abstracts vol. 104, 28515m, 1986, 218523; 6). Kumazawa Y., Mizunol K., Otsuka Y. *Immunology*, 47(1), 1982, 75-83; 7). Nguyễn Gia Chấn, Lê Minh Phương, Bùi Thị Bằng, Phan Thị Phi Phi, Phạm Thu Anh, Đỗ Hoà Bình. *Tạp chí Dược Liệu*, T.3, số 2, 1998, 49-52; 8). Nguyễn Gia Chấn, Lê Minh Phương, Bùi Thị Bằng, Phan Thị Phi Phi, Phạm Thu Anh, Đỗ Hoà Bình. *Tạp chí Dược Liệu*, T.3, số 3, 1998, 72-75; 9). Trần Văn Kỳ. Những bài thuốc đông y phòng trị biến

chúng do xạ trị và hoá trị. Đông Y trị ung thư, Nxb. tp. HCM, 1994, 36-42; 10). Robert Berkov M.D. Thuốc chống ung thư, sổ tay chẩn đoán và điều trị, Nxb Y học, 1999, 274-286; 11). Seckhardt. Điều trị hoá chất. Ung thư học lâm sàng. Nxb. Y học, 204-205; 12). Robert Berkow M.D. Bàn về xuất huyết giảm tiểu cầu miễn dịch tự phát. Sổ tay chẩn đoán và điều trị, Nxb. Y học, 1999, 147-148.

Tap chí Dược liệu, tập 5, số 2/2000 (trang 51 - 55)

ẢNH HƯỞNG CỦA ARTOCA LÊN ĐÁP ỨNG CHUYỂN DẠNG LYMPHO BÀO

*Trần Văn Hiến - Viện Y học cổ truyền
Vũ Tân Trào - Viện Vệ sinh dịch tễ học
Nguyễn Thái Hồng - Học viện Quân y
(Nhận bài ngày 3 tháng 12 năm 1999)*

Summary

Influences of Artoca on in vitro Blast-transformation of Lymphocytes

Artoca, a preparation made of flavonoids extracted from Artocapus tonkinensis leaves, significantly inhibited in vitro blast-transformation of lymphocytes isolated from systemic lupus erythematosus (SLE) patients in concentrations from 150 µg/ml to 3000 µg/ml. At the concentration of 150 µg/ml, the inhibition was 53.1% in corticoid-treated, 34.3% in non-treated patients and 27% in healthy volunteers. Increasing the concentration to 300 µg/ml, the inhibition reached as high as 93.8% in the treated patients whereas remained low (66.2%) in the non-treated and healthy volunteers. At 750 µg/ml, the inhibition was nearly complete (98%) in all the three groups.

This study has provided scientific evidence for the application of Artoca as an immunosuppressive agent for the treatment of SLE.

Key words: *Artocapus tonkinensis*, Flavonoids, Artoca, Lymphocytes, Blast-transformation, Inhibition.

Đặt vấn đề

Các bệnh tự miễn trong đó có bệnh lupus ban đỏ hệ thống (systemic lupus erythematosus - SLE) có biểu hiện lâm sàng đa dạng, có tổn thương bệnh lý ở nhiều cơ quan. Do cơ chế bệnh sinh phức tạp nên việc điều trị các bệnh tự miễn còn gặp nhiều khó khăn. Tuy nhiên, ngày nay với sự tiến bộ của ngành miễn dịch học và dược học, các thuốc tổng hợp có tác dụng ức chế miễn dịch như các dẫn xuất corticoid đã được ứng dụng trong điều trị. Các loại thuốc này giúp khống chế những đợt tiến triển của bệnh, ngăn ngừa biến chứng và kéo dài tuổi thọ cho bệnh nhân. Tuy vậy, các thuốc này khi dùng kéo dài thường gây tác dụng phụ, nhiều trường hợp phải dùng thuốc do bệnh nhân không chịu đựng được thuốc. Do đó, việc tìm kiếm các thuốc từ nguồn tự nhiên để điều trị hoặc cải thiện tình trạng của các bệnh tự miễn là một yêu cầu thiết thực. Để đảm bảo cho việc sử dụng sản phẩm thuốc từ tự nhiên một cách có hiệu quả và đảm bảo an toàn cao, cần có các nghiên cứu khoa học.

Bài báo này sẽ trình bày tác dụng ức chế đáp ứng

chuyển dạng lympho bào của flavonoid lá chay, nhằm đóng góp các chứng cứ khoa học cho việc ứng dụng điều trị lupus ban đỏ hệ thống, một trong các loại bệnh tự miễn có gặp ở nước ta.

Dịch chiết toàn phần (chế phẩm DY1) lá chay được GS. Phan Trúc Lâm dùng để điều trị có kết quả các trường hợp nhược cơ. Nguyễn Thị Vinh Hà và cộng sự cũng đã chứng minh tác dụng ức chế miễn dịch của chế phẩm DY1 trên chuột nhắt trắng. Học viện Quân y và Viện y học cổ truyền đã thử nghiệm tác dụng lên hệ thống miễn dịch của flavonoid lá chay qua các thử nghiệm chống thải bỏ mảnh ghép và ức chế phản ứng tạo quầng dung huyết của tế bào tạo kháng thể. Nghiên cứu mới này nhằm đánh giá trực tiếp ảnh hưởng của flavonoid lá chay lên đáp ứng miễn dịch của các tế bào của bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống.

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Flavonoid lá chay được chiết xuất tại labo thực nghiệm, Viện YHCT và được XNTW24 bào chế ở dạng viên nang 50 mg có tên là Artoca.

Để thử nghiệm tác dụng của thuốc trên đáp ứng chuyển dạng lympho bào, đã chuẩn bị dung dịch flavonoid (là thành phần tan trong nước của viên Artoca) nói trên trong PBS với các nồng độ khác nhau để đảm bảo nồng độ cuối cùng trong phản ứng là 3, 30, 150, 300, 750, 3000 µg/ml.

Phương pháp.

- Chọn ngẫu nhiên bệnh nhân đang nằm điều trị tại khoa dị ứng-miễn dịch lâm sàng, bệnh viện Bạch Mai đã được chẩn đoán là SLE. Lấy máu tĩnh mạch lúc 8 giờ sáng bằng ống hút chân không có chứa chất chống đông heparin.

- Tế bào lympho được tách từ máu ngoại vi bằng phương pháp ly tâm gradien tỷ trọng trên dung dịch Ficoll-Hypaque (d = 1,077). (Pharmacia Fine Chemical). Sau đó tế bào được rửa theo quy trình thường quy của labo miễn dịch tế bào, Viện VSDT. Huyền dịch tế bào trong môi trường DMEM (Sigma) có 10% huyết thanh người có nhóm máu AB được đưa vào nuôi cấy trên các giếng của phiến nuôi cấy 96 giếng đáy hình chữ U với số lượng tế bào là 5 đến 7×10^4 tế bào/giếng.

- Chất kích thích chuyển dạng không đặc hiệu PHA (Phytohemagglutinin) và dung dịch Artoca các nồng độ khác nhau được đưa vào môi trường nuôi cấy.

Đặt các phiến nuôi cấy vào trong tủ ấm 37°C trong khí quyển ẩm chứa 5% CO₂, trong 72 giờ. Sau 72 giờ, cho vào các giếng nuôi cấy 0,15 µl H³-Thymidin (chất đánh dấu phóng xạ) và tiếp tục nuôi cấy thêm 18 giờ. Tế bào từ các mẫu được thu bằng máy gạt tế bào "Titertek". Hoạt tính phóng xạ được xác định trên máy đo phóng xạ nhấp nháy lỏng "Packard".

Mức độ đáp ứng chuyển dạng của tế bào lympho được xác định bằng mức độ hấp thu phóng xạ của ADN gắn H³-thymidin và được tính bằng số xung/phút (counts per minute - cpm). Hệ số chuyển dạng SI (stimulation index) cũng được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của PHA và các dung dịch Artoca lên đáp ứng chuyển dạng lympho bào, và được tính theo công thức:

$$SI = \frac{\text{cpmnuoicấycóPHA(hoặcPHA + Artoca)}}{\text{cpmnuoicấykhoàngcóPHA}}$$

Khi SI ≥ 2, tế bào được đánh giá là có đáp ứng với chất kích thích gây chuyển dạng lympho bào.

Để đánh giá khả năng ức chế của Artoca lên phản ứng này, tỷ lệ ức chế được tính theo công thức:

$$I = 100 - \frac{\text{cpmnuoicấycóPHA + Artoca}}{\text{cpmnuoicấycóPHA}} \times 100\%$$

Kết quả

Bảng 1. Đáp ứng chuyển dạng lympho bào đối với chất kích thích phân bào PHA của các đối tượng nghiên cứu (n = 30).

Mẫu nuôi cấy	Nhóm bệnh nhân lupus chưa điều trị	Nhóm bệnh nhân lupus đang điều trị	Nhóm đối chứng
Không có PHA	322,42 ± 120,81	85,00 ± 5,12	226,75 ± 41,00
Có PHA	24151,75 ± 4347,08	5492 ± 2510,68	25579,00 ± 4205,05
Chỉ số chuyển dạng SI	75	64,62	113

Như vậy, tế bào lympho của máu ngoại vi bệnh nhân lupus trước điều trị và đang điều trị đều có đáp ứng chuyển dạng dưới tác dụng kích thích

phân bào của PHA, tuy mức độ đáp ứng là thấp hơn so với lympho máu ngoại vi người bình thường (75 và 64,62 so với 113).

Bảng 2. Tác dụng của Artoca ở các nồng độ khác nhau lên đáp ứng chuyển dạng lympho bào *in vitro* ở nhóm bệnh nhân lupus ban đỏ chưa điều trị (n = 12).

Mẫu nuôi cấy	Mức độ chuyển dạng ($\bar{X} \pm SE$)	SI	P
PHA	24151,75 ± 4347,08	75	
PHA và Artoca 3 µg/ml	24054,92 ± 4613,13	74	>0,05
PHA và Artoca 30 µg/ml	23773,33 ± 4209,12	73	>0,05
PHA và Artoca 150 µg/ml	15878,75 ± 4084,55	49	<0,01

(tiếp theo bảng 2)

PHA và Artoca 300 µg/ml	8014,58 ± 3818,36	24	<0,01
PHA và Artoca 750 µg/ml	323,43 ± 28,55	1	<0,01
PHA và Artoca 3000 µg/ml	320,67 ± 23,09	1	<0,01

Bảng 3. Tác dụng của Artoca ở các nồng độ khác nhau lên đáp ứng chuyển dạng lympho bào *in vitro* ở nhóm bệnh nhân lupus ban đỏ đang điều trị corticoid (n = 6)

Mẫu nuôi cấy	Mức độ chuyển dạng ($\bar{X} \pm SE$)	SI	P
PHA	5492,83 ± 2510,68	64	
PHA và Artoca 3µg/ml	4682,33 ± 2289,85	55	>0,05
PHA và Artoca 30µg/ml	5955,33 ± 3069,85	70	>0,05
PHA và Artoca 150µg/ml	2574,00 ± 1750,88	30	<0,01
PHA và Artoca 300µg/ml	304,66 ± 162,35	3	<0,01
PHA và Artoca 750µg/ml	85,83±18,48	1	<0,01
PHA và Artoca 3000µg/ml	88,50±16,24	1	<0,01

Bảng 4. Tác dụng của Artoca ở các nồng độ khác nhau lên đáp ứng chuyển dạng lympho bào *in vitro* ở nhóm đối chứng (người bình thường).

Mẫu nuôi cấy	Mức độ chuyển dạng ($\bar{X} \pm SE$)	SI	P
PHA	25579,00 ± 4205,05	113	
PHA và Artoca 3 µg/ml	24740,92 ± 4038,74	109	>0,05
PHA và Artoca 30 µg/ml	25579,58 ± 3722,21	113	>0,05
PHA và Artoca 150 µg/ml	18564,42 ± 4536,69	82	<0,01
PHA và Artoca 300 µg/ml	8648,42 ± 2537,61	38	<0,01
PHA và Artoca 750 µg/ml	271,92 ± 133,02	1	<0,01
PHA và Artoca 3000 µg/ml	284,25 ± 32,02	1	<0,01

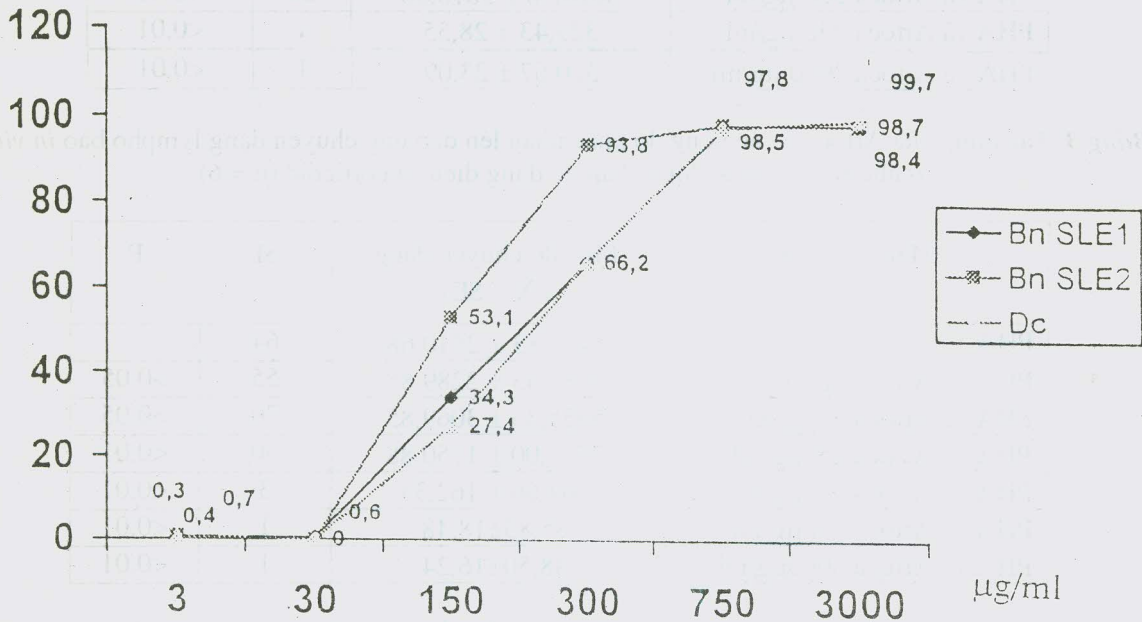
Qua các bảng 2,3,4, ta thấy rằng sự đáp ứng chuyển dạng lympho bào giảm có ý nghĩa thống kê dưới tác dụng của Artoca bắt đầu ở nồng độ Artoca là 150 µg/ml và sự đáp ứng này giảm dần với sự tăng nồng độ Artoca trong môi trường nuôi cấy (từ 150 µg/ml đến 750 µg/ml). Khi tăng tiếp nồng độ tới 3000 µg/ml thì không thấy sự giảm có ý nghĩa thống kê khi so sánh với mẫu Artoca 750 µg/ml.

Bảng 5. Mức độ ức chế chuyển dạng lympho bào *in vitro* của Artoca với các nồng độ khác nhau, so sánh trên các nhóm nghiên cứu.

Nhóm nghiên cứu	PHA	Tỷ lệ % ức chế khi nuôi cấy với PHA và Artoca ở các nồng độ (µg/ml)					
		3	30	150	300	750	3000
Bệnh nhân SLE chưa điều trị	0	0,4	0,6	34,3	66,2	98,7	98,7
Bệnh nhân SLE đang điều trị	0	0,7	0	53,1	93,8	98,5	98,4
Đối chứng	0	0,3	0	27,4	66,2	97,8	99,7

Kết quả ở bảng 5 có thể biểu diễn trên biểu đồ như sau:

% ức chế



Biểu đồ 1. Mức độ ức chế chuyển dạng lympho bào phân lập từ máu ngoại vi bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống do các nồng độ khác nhau của Artoca. Bn SLE1: Bệnh nhân SLE chưa điều trị. Bn SLE2: Bệnh nhân SLE đang điều trị. Dc: đối chứng

Qua bảng 5 và biểu đồ 1 ta thấy tác dụng ức chế của Artoca (từ nồng độ 150 µg/ml) đối với đáp ứng chuyển dạng của tế bào lympho bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống đang điều trị corticoid rõ rệt hơn khả năng ức chế của hai nhóm còn lại và không có sự sai khác đáng kể giữa đáp ứng của tế bào lympho bệnh nhân chưa điều trị với đối chứng. Cơ chế tác dụng của Artoca dẫn đến ức chế đáp ứng lại kích thích phân bào do PHA có thể rất phức tạp mà những kết quả thu được chỉ mới giúp chúng ta có một số nhận xét như trên.

Bàn luận và kết luận

Tế bào lympho của bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống có đáp ứng chuyển dạng dưới tác dụng kích thích của PHA. Tuy nhiên mức độ đáp ứng có thấp hơn so với nhóm đối chứng (với SI là 75 và 64,62 so với 113 trong nhóm đối chứng người khoẻ mạnh bình thường).

Trong cùng điều kiện nuôi cấy sự chuyển dạng của tế bào lympho bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống đang điều trị corticoid thấp hơn so với hai nhóm kia (không có PHA) và mức độ chuyển dạng dưới tác dụng kích thích của PHA thì thấp rất có ý nghĩa so với hai nhóm bệnh nhân chưa điều trị và đối chứng với số xung là $5492 \pm 2510,68$ so với các giá trị $24151,75 \pm 4347,68$ và

$25579,00 \pm 4205,05$ của hai nhóm tương ứng.

Artoca từ nồng độ 150 µg/ml trở lên có tác dụng ức chế sự chuyển dạng một cách có ý nghĩa. Tác dụng này thể hiện ở cả ba nhóm nghiên cứu. Đáng chú ý là tác dụng của Artoca đối với lympho bào nhóm bệnh nhân có đáp ứng thấp (nhóm đang điều trị corticoid) lại thể hiện rõ ràng hơn

Ngay ở nồng độ có tác dụng đầu tiên là 150 µg/ml, tỷ lệ ức chế đã đạt đến 53,1% và ở nồng độ 300µg/ml đạt đến 93,8%, trong khi ở hai nhóm còn lại ở nồng độ 300 µg/ml chỉ đạt đến 66,2%.

Hiện tượng này khá lý thú đòi hỏi các nghiên cứu sâu thêm nữa để làm sáng tỏ thêm cơ chế tác dụng của thuốc. Điều này có liên quan nào đó đến tác dụng điều hoà của thuốc tự nhiên nói chung, thuốc thường ít thể hiện tác dụng trên các đối tượng bình thường, trong khi đó thường có tác dụng mạnh trong các điều kiện bệnh lý.

Các kết quả thu được góp phần xác định tác dụng ức chế miễn dịch của chế phẩm flavonoid từ lá chay, góp phần xây dựng các chứng cứ khoa học và phát triển một chế phẩm mới từ nguồn dược liệu trong nước dùng để điều trị các bệnh tự miễn dịch đòi hỏi các thuốc có tác dụng ức chế miễn dịch, chống viêm.

- 1). A. G. Panosian, E. Gabrielian. *Phytomedicine*, 3(1), 19 - 28, 1996; 2). G. B. Harborne. Flavonoids. *Advances in Research since 1986*; 624 - 634, 1992; 3). M. M. Nores, M. C. Courreges. *J. Ethnopharmacology*, 55(2), 99 - 106, 1997; 4). Zheng Z., Liu D. *Chin. J. Biotechnol.* 14(2), 93 -97, 1998.

Tap chí Dược liệu, tập 5, số 2/2000 (trang 55 -59)

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ HOÁ HỌC VÀ DƯỢC LÝ CÂY BỒ CÔNG ANH VIỆT NAM (*LACTUCA INDICA L.*)

Vũ Văn Điền, Hoàng Kim Huyền, Nguyễn Thị Hải Yến

Đại học Dược Hà Nội

(Nhận bài ngày 27 tháng 7 năm 1999)

Summary

Chemical and Pharmacological Studies on *Lactuca indica L.*

Leaves of Lactuca indica L. growing in Vietnam contain flavonoids, saponosides, tannin, coumarins, sterols and sesquiterpenes.

Decoction of the leaves (2:1) has no toxic effect by oral administration. Both of the decoction and total flavonoid fraction release pain and inhibit inflammation. The decoction is better in reducing pain whereas the flavonoids show stronger anti-inflammatory effect.

Key words: Lactuca indica L., Flavonoids, Decoction, Pain Releasing and Anti-inflammatory Effects

Đặt vấn đề

Bồ công anh (*Lactuca indica L.*) là cây thuốc rất sẵn, mọc hoang ở khắp mọi nơi ở nước ta. Từ lâu, nhân dân ta đã dùng bồ công anh để chữa mụn nhọt, mẩn ngứa, viêm tuyến vú, tắc tia sữa, các bệnh về gan, mật, đau dạ dày, v.v. [2,6,5]. Tài liệu nghiên cứu về cây này còn ít. Để góp phần cung cấp thêm thông tin giúp cho việc sử dụng an toàn, hợp lý, hiệu quả hơn và từng bước chứng minh công dụng mà nhân dân ta đã sử dụng, chúng tôi xin thông báo một số kết quả nghiên cứu đã đạt được.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Nguyên liệu

- Lá cây bồ công anh (BCA) được thu hái tháng 10/1997 khi cây sắp ra hoa tại khu vực Hà Nội, rửa sạch, phơi khô bảo quản để nghiên cứu.

- Súc vật thí nghiệm: chuột nhắt trắng Swiss, chuột cống trắng cả đực và cái khoẻ mạnh bình thường đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

- Chế phẩm thử: nước sắc 2:1, 4:1 và dung dịch flavonoid toàn phần 2,5%(w/v)

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Xác định các nhóm chất thường có trong dược liệu:

Dùng các phản ứng định tính với các thuốc thử đặc hiệu của từng nhóm chất theo các phương pháp thông thường ghi trong các tài liệu [1,3,4,7].

2.2. Định lượng một số nhóm chất và phân tích bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM).

Định lượng sesquiterpen và flavonoid bằng phương pháp cân, phân tích thành phần trên SKLM với silicagen Viện Kiểm nghiệm, khai triển trên các hệ dung môi thích hợp của từng nhóm chất.

2.3. Thử độc tính cấp theo dược điển Liên Xô X.

2.4. Thử tác dụng giảm đau: Theo phương pháp của Koster với tác nhân gây đau là acid acetic, số chuột 6 con/lô thí nghiệm.

2.5. Thử tác dụng chống viêm: Theo phương pháp của Thomas và West, tác nhân gây viêm là dextran.

Kết quả nghiên cứu

1. Định tính các nhóm chất thường có trong dược liệu:

Mỗi nhóm chất dùng 10 g bột dược liệu, chiết. Dùng cặn làm các phản ứng định tính, kết quả theo phương pháp riêng với dung môi thích hợp. được tóm tắt ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả định tính sơ bộ thành phần hoá học của lá BCA

Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận
Alcaloid	Phản ứng với TT Mayer Phản ứng với TT Dragendorff Phản ứng với TT Bouchardat	- - -	Không có alcaloid
Saponosid	Quan sát hiện tượng tạo bọt Phản ứng Liebermann-Burchard Phản ứng Salkowski Phản ứng Rosenthaler Phản ứng sơ bộ xác định loại saponin	++ ++ ++ +	Có saponosid thuộc nhóm steroid
Glycosid tim	Phản ứng Liebermann Phản ứng Legal Phản ứng Keller-kiliani	- - -	Không có glycosid tim
Anthraglycosid	Phản ứng Borntrager	-	Không có anthraglycosid
Flavonoid	Phản ứng với hơi amoniac Phản ứng cyanidin Phản ứng với FeCl ₃ Phản ứng diazo hoá	+++ +++ +++ ++	Có flavonoid
Coumarin	Phản ứng đóng mở vòng lacton Phản ứng diazo hoá	++ +	Có coumarin
Tanin	Phản ứng với dung dịch gelatin 2% Phản ứng với dung dịch FeCl ₃ 5% Phản ứng với dd Pb(CH ₃ COO) ₂ 10%	+ ++ ++	Có sanin
Sesquiterpen lacton	Phản ứng đóng mở vòng lacton Phản ứng với hydroxymat feric Phản ứng với Liebermann-Burchard	++ ++ ++	Có sesquiterpen lacton
Sterol	Phản ứng Lieberman-Burchard Phản ứng Carr-Price	++ ++	Có sterol

Ghi chú: (-) Phản ứng âm tính; (+) Phản ứng hơi rõ; (++) Phản ứng rõ; (+++) Phản ứng rất rõ

Qua các phản ứng định tính xác định trong lá BCA có: flavonoid, saponoid, sterol, tanin, coumarin, sesquiterpen lacton.

2. Định lượng một số nhóm chất và phân tích bằng SKLM

2.1. Sesquiterpen lacton

- Định lượng: Cân 20 g bột dược liệu, chiết bằng cồn 90°, thu hồi dung môi, loại tạp bằng ether, dầu hoá và acetat chì 10%, dịch lọc đem lãc với cloroform nhiều lần để chiết hết sesquiterpen, gộp dịch chiết lại, làm khan bằng Na₂SO₄ khan, bốc

hơi, dung môi, sấy, cặn ở 80°C đến trọng lượng không đổi, cân tính hàm lượng theo dược liệu khô tuyệt đối. Làm 3 lần lấy kết quả trung bình. Kết quả hàm lượng sesquiterpen lacton toàn phần là 0,17% [2,3,7].

- Phân tích trên SKLM

Dùng cặn trên hoà tan vào 1 ml cloroform để chấm sắc ký. Dùng bản mỏng tráng bằng silicagen Viện Kiểm nghiệm. Dung môi khai triển: Cloroform-methanol (99 : 1) hiện màu bằng hơi iod. Kết quả được ghi ở bảng 2.

Bảng 2. Giá trị Rf, màu sắc, đậm độ của các vết sesquiterpen

TT vết	Rf x 100	Màu	Đậm độ
1	18	Hồng nhạt	++
2	33	Nâu nhạt	++
3	53	Hồng đậm	+++
4	89	Vàng nhạt	+

Với hệ dung môi trên sesquiterpen, lá BCA cho 4 vết đậm và một vết nhạt.

2.2. Flavonoid

- Định lượng: Cân 20 g bột dược liệu, loại tạp bằng ether dầu hoả, bã để khô dung môi, chiết flavonoid bằng cồn 70^o đến hết flavonoid. cất thu hồi dung môi, còn dịch chiết nước, loại tanin bằng dung dịch gelatin 1% đến kết tủa. Lắc hỗn hợp dịch chiết và tủa với ethylacetat đến hết flavonoid, thu hồi dung môi còn cạn; sấy cạn ở 80^oC đến trọng lượng không đổi, đem cân tính

hàm lượng. Làm 3 lần lấy kết quả trung bình [1,3,4]. Kết quả hàm lượng flavonoid tính theo dược liệu khô tuyệt đối là 1,22%.

- Phân tích trên SKLM

Hoà cạn vào 1 ml cồn 90^o để chấm sắc ký. Chuẩn bị bản mỏng như mục (2 : 1).

Khai triển trên hệ dung môi ethylacetat-methanol-nước (100 : 17 : 13). Hiện màu bằng hơi amoniac đặc và soi dưới ánh sáng đèn tử ngoại có bước sóng 366 nm. Kết quả ghi ở bảng 3.

Bảng 3. Giá trị Rf, màu sắc, đậm độ của các vết flavonoid

TT vết	Rf x 100	Màu	Đậm độ
1	8	Da cam	+++
2	12	Vàng nhạt	+
3	25	Vàng	++
4	46	Vàng	++
5	65	Vàng	+++
6	91	Vàng cam nhạt	+

Qua SKLM flavonoid toàn phần cho 6 vết trong đó vết 1 và 5 là thành phần chủ yếu.

3. Thử độc tính cấp

Dùng 10 chuột nhắt trắng, cho chuột nhin đói 12 giờ trước khi thí nghiệm: cho chuột uống nước sắc 4 : 1 với liều tối đa có thể cho uống được tương đương 200 g dược liệu/kg chuột, liều gấp 333 lần liều Dược điển Việt Nam quy định, mà thực tế không bao giờ dùng với liều lớn như vậy. Theo dõi chuột trong 72 giờ ở điều kiện nuôi bình thường, nhiệt độ phòng 23-25^oC, không có chuột nào biểu hiện độc và chết. Như vậy nước sắc BCA không độc qua đường uống.

4. Thử tác dụng giảm đau

Cho chuột nhắt nhin đói 12 giờ trước khi thí nghiệm. Cho chuột uống chế phẩm thử trong 3 ngày liên tục. Ngày thứ 3 sau khi cho chuột uống chế phẩm thử 1 giờ, gây đau bằng dung dịch acid acetic 0,6%. Tiêm vào phúc mạc với liều 0,2 ml / 20 g chuột. Sau khi tiêm 10 phút, đếm số lần quặn đau trong 3 phút. Tính tỷ lệ phần trăm giảm số lần quặn đau trung bình so với lô chứng và so sánh mức độ giảm đau giữa các lô thông qua test. Kết quả ghi ở bảng 4,5.

Bảng 4: Tỷ lệ (%) giảm số lần quặn đau của lô thử

Lô thí nghiệm	Liều (g/kg)	Số lần quặn đau trung bình	Tỷ lệ % giảm số lần quặn đau	P
Chứng		16,3 ± 4,29		
Aspirin	0,01	6,8 ± 2,52	58,3	<0,05
Nước sắc	50,00	7,8 ± 1,92	52,2	<0,05
Flavonoid	0,63	10,0 ± 3,62	38,7	<0,05

Bảng 5: So sánh mức độ giảm đau giữa các lô thí nghiệm

Lô so sánh	Số lần quần đau trung bình		P
Aspirin-nước sắc	6,8 ± 2,52	7,8 ± 1,92	>0,05
Aspirin-flavonoid	6,8 ± 2,52	10,0 ± 3,62	<0,05
Nước sắc-flavonoid	7.8 ± 1.92	10,0 ± 3,62	<0,05

Qua bảng ta thấy nước sắc và flavonoid toàn phần đều có tác dụng giảm đau, trong đó nước sắc tác dụng tương đương aspirin và mạnh hơn flavonoid toàn phần với xác suất 95%.

5. Thử tác dụng chống viêm

- Dùng chuột cống trắng. Các lô thử cho uống chế phẩm nước sắc lá BCA 2:1 với liều 2 g dược liệu/100g chuột, flavonoid toàn phần dung dịch 2,5% với liều 0,025g/100g chuột.

- Hai ngày đầu cho lô chứng, lô uống nước sắc, lô uống flavonoid uống chế phẩm mỗi ngày một lần vào lúc 9 giờ sáng trước khi cho ăn. Ngày thứ 3 trước khi gây viêm 1 giờ cho chuột cả 4 lô uống chế phẩm và đo thể tích chân phải sau từng chuột (V_0). Sau đó gây phù chân chuột bằng cách tiêm dưới da gan bàn chân phải sau 0,1 ml dung dịch dextran 6%. Sau khi tiêm 1 giờ đo thể tích chân chuột (V_t), theo dõi liên tục trong 6 giờ. Tỷ lệ phù chân chuột được tính theo công thức:

$$V\% = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

Trong đó: $V\%$: tỷ lệ phù chân chuột; V_0 : thể tích chân chuột trước khi gây viêm; V_t : thể tích chân chuột sau khi gây viêm ở thời điểm t.

Từ tỷ lệ phù chân chuột, tính tỷ lệ ức chế phù so với lô chứng theo công thức:

$$Z\% = \frac{\bar{V}_c \bar{V}_t}{\bar{V}_c} \times 100$$

Trong đó: \bar{V}_c : tỷ lệ phù trung bình lô chứng; \bar{V}_t : tỷ lệ phù trung bình lô thử ở thời điểm t; $Z\%$: tỷ lệ phần trăm ức chế phù.

Kết quả được ghi ở bảng 6

So với lô chứng, các lô thử đều có tác dụng chống viêm bắt đầu từ giờ thứ 2 kể từ khi uống chế phẩm ở xác suất 95%

Bảng 6. Tỷ lệ ức chế phù chân chuột sau từng giờ theo dõi ($Z\%$)

Số giờ theo dõi	Lô chứng	Lô đối chiếu			Lô nước sắc			Lô flavonoid		
	$\bar{V}_c \pm t.S \bar{V}_t$	$\bar{V}_t \pm t.S \bar{V}_t$	Z%	P	$\bar{V}_t \pm t.S \bar{V}_t$	Z%	P	$\bar{V}_t \pm t.S \bar{V}_t$	Z%	P
1	70,0±5,3	71,9±12,9	-2,7	>0,05	67,3±7,3	3,8	>0,05	63,5±4,1	2,1	>0,05
2	79,0±6,6	63,7±13,2	19	<0,05	62,2±6,8	21	<0,05	63,6±4,9	20	<0,05
3	86,1±6,7	60,5±11,8	30	<0,05	58,3±6,4	33	<0,05	59,5±4,3	31	<0,05
4	83,4±5,1	52,3±11,8	37	<0,05	54,9±5,3	34	<0,05	55,9±4,5	33	<0,05
5	79,8±5,1	49,2±9,8	38	<0,05	50,1±3,6	37	<0,05	54,3±6,5	33	<0,05
6	74,8±4,2	42,7±8,2	43	<0,05	45,4±1,5	39	<0,05	50,3±4,6	33	<0,05

Kết luận

- Thành phần hoá học lá BCA gồm có flavonoid, sesquiterpen lacton, coumarin, tanin saponosid, sterol.
- Hàm lượng flavonoid toàn phần là 1,22%, sesquiterpen lacton là 0,17%
- Trên SKLM sesquiterpen lacton cho 4 vết, flavonoid cho 6 vết.

- Nước sắc lá BCA không độc qua đường uống.
- Nước sắc và flavonoid toàn phần đều có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bằng acid acetic, trong đó nước sắc có tác dụng mạnh hơn.
- Nước sắc và flavonoid đều có tác dụng chống viêm bắt đầu từ giờ thứ 2 kể từ khi uống chế phẩm, flavonoid tác dụng chống viêm mạnh hơn. (Xem tiếp trang 42).

HỘI NGHỊ QUỐC TẾ

"Cấu trúc và chức năng của các hợp chất có hoạt tính sinh học và một số vấn đề về y học dân tộc Mông Cổ"

Nguyễn Xuân Dũng

Hội nghị được tổ chức tại Ulan Bator, thủ đô Mông Cổ từ 10 đến 14 tháng 8 năm 1999 do các cơ quan sau đây đăng cai:

- Viện Hoá học và Hoá kỹ thuật Ulan Bator, Mông Cổ.
 - Tổng công ty Khoa học công nghệ và sản xuất thuốc y học cổ truyền, Ulan Bator.
 - Viện hàn lâm Khoa học Mông Cổ.
- 20 báo cáo đã được đọc tại hội nghị toàn thể, 13 báo cáo treo tường.

Chủ trì hội nghị:

- | | |
|--------------------------------|----------|
| *Viện sĩ, TS. D. Badgaa | Mông Cổ |
| *GS.TS.L.J. Greene | Brazil |
| *GS.TS.H. Wiedenfeld | CHLB Đức |
| *Viện sĩ, TS. Nguyễn Xuân Dũng | Việt Nam |

Các lĩnh vực được trình bày tại hội nghị gồm:

Cây thuốc của Mông Cổ, sưu tầm, lập danh mục, nghiên cứu về thực vật, hoá học, dược lý, lâm sàng và ứng dụng.

• 367 cây thuốc, 91 loại khoáng, 40 sản phẩm từ động vật đã được dùng làm thuốc, tạo ra 498 loại nguyên liệu đầu để sản xuất 4000 loại thuốc dân tộc, trong đó có 90 loại cây hay được dùng nhất là: *Acorus calamus* L., *Odontites rubra* (Baumg.) Opiz., *Dianthus versicolor* Fisch. ex Link, *Aconitum turczanivovii* Worosh., *A. baicalense* Turcz. ex Rapaics, *A. kusnezoffi* Reichenb., *Gentiana* L., *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Hippophae rhamnoides* L., *Hemerocallis lilioasphodelus* L., *Sophora alopecuroides* L.

Trong số đó loại dùng nhiều nhất cho 288 đơn thuốc, ít nhất cho 10 đơn thuốc.

Nguyên liệu động vật tạo ra 45 sản phẩm.

Khoáng chất dùng cho 14 sản phẩm

• Trên 50 cây thuốc của Mông Cổ đã được nghiên cứu về mặt hoá học. Các tác giả đã tách được 450 chất trong số đó có hơn 100 chất mới thuộc các lớp chất alkaloid, coumarin, flavonoid và lignan.

• Các nghiên cứu về dược lý học các sản phẩm từ các cây *Artemisia sphaerocephala* Kruck, *A. santolinifolia* Turcz. ex Bess., *Ledum palustres*, các chế phẩm của *Astragalus mongolicus*, *Saussurea saliaefolia*, *Brachantermum gobicum*,

Plantago major, *Plantago asiatica*, *Bergemia grassifolium*, các cây thuộc họ Gentianaceae.

• Các nghiên cứu về tinh dầu và các hoạt chất sinh học khác được trình bày trong nhiều báo cáo của nhóm GS.TS.S. Shatar thuộc các cây:

Brachantermum gobicum

Chrysanthemum zawadskii Herb.

Ribes nigrum L.

Rhodiol rosea L.

Acorus calamus L.

Achillea asiatica Serg., *Achillea parmicoides* Maxim.

Artemisia frigida Willd., *A. gmelinii* Web., *A.*

scoparia Waldst, *A. sieversiana* Willd.

Glycyrrhiza uralensis Fisch.

Larix sibirica Ldb., *L. dahurica* Turcz.

Pinus sylvestris L., *P. sibirica* Du Tour,

Rhododendron adamsii Rend.

Valeriana officinalis L., và các cây khác.

Các báo cáo mỗi nước ngoài gồm:

• Dược liệu học Viên, khoa học dân tộc có tính chất thời sự cao (TS. Sabina Glasl-Viên, Áo)

• Mối liên quan giữa cấu trúc- độc tính của alkaloid pyrolizin (GS.TS.H. Wiedenfeld-Đức)

• Danh mục các cây thuốc dùng trong y học Tibetan (TS. Ch. Kletter, Viên, áo)

• Phát triển các loại sản phẩm thủy phân protein cho dinh dưỡng (GS.TS.L.J. Greene, Brazil)

• Peroxi hoá bằng men và không men trong sức khoẻ và bệnh (GS.TS. H. Kuhn, Berlin, Đức)

• Các dẫn xuất sesquiterpenoid từ cây *Ferula feruloides* (GS.TS.K.Kojima, Japan)

• Đa dạng sinh học và đa dạng cấu trúc hoá học của các cây thuốc và cây tinh dầu (VS.TS. Nguyễn Xuân Dũng, Việt Nam)

Hội nghị cũng đã thảo luận các vấn đề:

• Lập danh mục và tiêu chuẩn hoá các cây thuốc

• Kết hợp như thế nào giữa y dược học dân tộc và y dược học hiện đại

• Sản xuất thuốc từ nguyên liệu thực, động vật và khoáng chất.

Các báo cáo sẽ đăng trong Proceedings của Hội nghị

DÂM DƯƠNG HOẮC

Hỏi: Xin cho biết dược tính và công dụng của cây dâm dương hoắc.

Phạm Quang Sơn
(Lào Cai)



Đáp: Dâm dương hoắc là một cây thuốc bắc mà hàng năm ta vẫn phải nhập. Dược liệu là thân lá, bỏ rễ, phơi khô, được lấy từ 3 loài: Dâm dương hoắc lá hình mũi tên (*Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.), dâm dương hoắc lá to (*Epimedium macranthum* Morr. et Decne) và dâm dương hoắc lá nhỏ (*Epimedium brevicornu* Maxim.) thuộc họ Hoàng liên gai (Berberidaceae). Trong đó, loài lá hình mũi tên được dùng nhiều hơn.

Đó là một cây thảo, sống lâu năm, cao 30 - 40 cm. Thân rễ cứng, có nhiều rễ con. Lá kép, 1 - 3 cái, mọc từ gốc, gồm 3 lá chét hình mác dạng trứng, dài 4 - 9 cm, đầu thuôn nhọn sắc, gốc hình tim có hai tai lệch nhau, mép có lông nhỏ; cuống lá mảnh, dài khoảng 15 cm. Cụm hoa mọc ở ngọn thân thành dạng ngù hay thùy tròn trên cuống dài 7,5 cm; hoa gồm 8 lá đài xếp thành hai vòng, lá đài ở vòng ngoài nhỏ, mặt ngoài có đốm tím, lá đài ở vòng trong màu trắng, giống như cánh hoa; cánh hoa màu trắng; 4 nhị. Quả hạch hình trứng, có nhiều hạt.

Trong thân và lá dâm dương hoắc, người ta phát hiện được chất saponosid và alcaloid.

Theo các tài liệu cổ, dược liệu dâm dương hoắc có vị cay, đắng, tính ấm, có tác dụng bổ can thận, kích thích sinh dục, mạnh gân xương, trợ dương, ích tinh, trừ thấp, chuyên trị bệnh liệt dương, lưng gối đau mỏi, chân tay tê bại. Liều dùng hàng ngày là 4 - 12 g, ngâm rượu hoặc sắc uống. Dùng sống hoặc chế biến như sau: Mỡ dê (250 g) thái nhỏ, đun chảy, vớt bỏ tóp, cho dâm dương hoắc (1 kg) đã thái nhỏ vào, đảo đều cho dược liệu thấm hết mỡ. Để nguội mà dùng.

Để chữa liệt dương, có thể dùng những bài thuốc sau:

- Dâm dương hoắc (12 g), ba kích (16 g), sa sâm (16 g), thỏ ty tử (12 g), nhục thung dung (12 g), câu kỷ (12 g), đỗ trọng bắc (8 g), đương quy (8 g), cam thảo (6 g), táo tàu (3 quả). Tất cả thái nhỏ, phơi khô ngâm với 1 lít rượu 35 - 40° (càng lâu càng tốt), uống trong vòng một tuần lễ. Hoặc sắc với nước uống trong 3 ngày.

- Dâm dương hoắc (60 g), con ngài tằm (100 g), kim anh (50 g), ba kích (50 g), thực địa (40 g), sơn thù (30 g), ngưu tất (30 g), khởi tử (20 g), lá hẹ (20 g), đường kính (40 g). Tất cả thái nhỏ, phơi khô, ngâm với 2 lít cồn 40°. Ngày uống 3 lần, mỗi lần 30 ml trước hai bữa ăn chính và khi đi ngủ.

- Dâm dương hoắc (60 g), phục linh (30 g), đại táo (9 quả). Ba thứ hấp chín, phơi khô, làm như vậy 3 lần. Sau đó, thái nhỏ các dược liệu, ngâm với hai bát rượu trắng và 100 g mật ong. Đậy kín (tốt nhất là dùng lọ rộng miệng, có nút mài). Để một tháng. Rồi lấy ra uống mỗi ngày 2 - 3 chén nhỏ. Dùng liền 3 tháng. Nếu sắc uống thì dùng lượng dược liệu ít hơn (Bài thuốc của Trung Quốc)

Đỗ Huy Bích

CÁC FLAVONOID GLUCOSID TỪ CÂY KINH GIỚI NÚI (*ELSHOLTZIA BLANDA* (BENTH.) BENTH.)

Zhang Weiling

China Journal of Chinese Materia Medica, 1999, 24 (2), 96-98.

Tác giả đã dùng các phương pháp phân tích hoá học và quang phổ để khảo sát thành phần hoá học của cụm hoa cây kinh giới núi (*Elsholtzia blanda*) mọc ở vùng Tây Nam tỉnh Vân Nam. Từ dịch chiết nước, tác giả đã phân lập được 4 flavonoid glucosid và nhận dạng là isoastragalín, luteolin-7-glucosid, luteolin-3'-glucosid, luteolin-7-galactosid. Các chất nói trên được phát hiện có trong cây này lần đầu tiên.

N.V.

THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA CÂY BẠCH TẬT LÊ (*TRIBULUS TERRESTRIS* L.)

Cai Lifeng và cs.

Acta Pharmaceutica Sinica, 1999, 34 (10), 759-761.

Các tác giả đã phân lập các hoạt chất của quả cây bạch tật lê (*Tribulus terrestris*) bằng sắc ký cột silicagel và sắc ký lỏng cao áp. Hai saponin furostan đã được phân lập và nhận dạng các phân tích quang phổ là 26-0- β -D-glucopyranosyl (25R,S)-5 α -furostan-12-on-20 (22)-en-3 β , 26-diol-3-0- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranosid và 26-0- β -D-glucopyranosyl-(25R)-5 α -furostan-12-on-3 β , 22 α , 26-triol-3-0- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)-D-galactopyranosid. Các chất này đều là các chất mới.

N.V.

CÁC THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA CÂY HẠ KHÔ THẢO (*PRUNELLA VULGARIS* L.)

Wang Zhuju và cs.

Acta Pharmaceutica Sinica, 1999, 34 (9), 679-681.

Các tác giả đã phân lập các thành phần hoá học của cây hạ khô thảo (*Prunella vulgaris*) bằng nhiều phương pháp sắc ký và nhận dạng bằng các phương pháp phân tích quang phổ là 3 β , 16 α ; 24-trihydroxyoleana-12-en-28-oic acid-3-0-(6'-butyryl)- β -D-glucopyranosid (I), acid ursolic (II), acid 2 α , 3 α -di-hydroxyurs-12-en-28-oic (III), quercetin (IV), quercetin-3-0- β -D-galactosid (V) và ethyl cafeat. Chất I là chất mới với tên là vulgarsaponin B, chất III được phát hiện lần đầu tiên có trong cây hạ khô thảo, còn các chất V và VI được phát hiện lần đầu tiên có trong chi *Prunella*.

N.V.

SAXIFRAGIN TỪ CAM THẢO BẮC (*GLYCYRRHIZA URALENSIS* FISCH.)

Pan Yan

China Journal of Chinese Materia Medica 1999, 24 (5), 295.

Tác giả đã chiết tách flavonoid từ cam thảo bắc (*Glycyrrhiza uralensis*) bằng ethanol 30 $^{\circ}$ và nhận dạng bằng các phân tích hoá - lý và quang phổ và nhận dạng là saxifragin. Chất này được phân lập lần đầu tiên từ cam thảo bắc.

N.V.

THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA NGUU TẮT (*ACHYRANTHES BIDENTATA* BLUME)

Chao Zhimao và cs.

Chinese Pharmaceutical Journal, 1999, 34 (9), 587.

Các tác giả đã chiết tách một số chất bằng butanol từ cao nước rễ cây nguu tắt (*Achyranthes bidentata*), tinh chế bằng sắc ký cột silicagel. Bằng IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H-HCOSY}$, DEPT, bằng phân tích hoá học có đối chiếu với các mẫu chuẩn, các tác giả đã nhận dạng là β -sitosterol, acid

succinic, n-butyl- β - D-fructopyranosid, allantoin và mg phosphat. Ba chất sau cùng được công bố lần đầu tiên có trong chi *Achyranthes*.

N.V.

THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA QUẢ TRÁM TRẮNG (*CANARIUM ALBUM* RAEUSCH)

Wei Hong và cs.

China Journal of Chinese Materia Medica, 1997, 24(7), 421.

Các tác giả đã phân lập từ quả trám trắng (*Canarium album*) một số chất bằng phương pháp sắc ký và nhận dạng bằng các phương pháp phân tích quang phổ là scoparon, scopoletin, (E)-3, 3'-dihydroxy-4, 4'-dimethoxystilben và acid gallic. Các chất nói trên trừ acid gallic được công bố lần đầu tiên có trong cây này.

N.V.

CẤU TRÚC TINH THỂ CỦA (-)- MENTHOL

P. Bombicz; J. Buchmann; P. Luger; N.X. Dung and C.B. Nam

Zeitschrift fuer Kristallographie, 214, 420-423, 1999

Trong quá trình xây dựng bản đồ phân bố và tìm nguồn gen mới của các cây thuộc chi *Mentha*, Chu Bá Nam đã phát hiện một cây *Mentha arvensis* L. mọc hoang ở Việt Nam có hàm lượng menthol cao hơn 70%. Để kiểm tra cấu trúc tinh thể của menthol chứa trong cây này nhóm tác giả P. Bombicz; J. Buchmann; P. Luger; Nguyễn Xuân Dũng và Chu Bá Nam đã sử dụng kỹ thuật phân tích tia X và tìm thấy (-)-menthol chứa trong cây.

Nhóm hydroxyl [(OH) (1R)] và nhóm methyl [(CH₃) (5R)], isopropyl [(-CH-(CH₃)₂) (1S)], đối với vòng cyclohexan, vòng này có cấu hình dạng ghế bành.

Điều lý thú là 3 phân tử (-)-menthol liên kết thành mạng qua cầu liên kết hydro. Như vậy trong thực tế (-)-menthol không tồn tại ở dạng đơn phân tử mà ở dạng trimer. Chỉ có (-)-menthol mới có hoạt tính sinh học lý thú và được sử dụng trong thực tế.

Nguyễn Xuân Dũng

NGHIÊN CỨU VỀ THỰC VẬT, THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA MỘT SỐ LOÀI CURCUMA Ở VIỆT NAM

Phạm Xuân Trường

Luận án Tiến sĩ Dược học

Tác giả đã nghiên cứu 7 loài nghệ của miền bắc Việt Nam là *Curcuma trichosantha* Gagn., *C. harmandii* Gagn., *C. cochinchinensis* Gagn., *C. elata* Gagn., *Curcuma sp1*, *Curcuma sp2* và *Curcuma sp3*. Các kết quả thu được như sau:

Về thực vật

Đã thu thập được mẫu cây của 7 loài *Curcuma*, mô tả hình thái thực vật, đặc điểm vi phẫu và đặc điểm bột thân, rễ, lá.

Về hoá học

Trong thân rễ của 7 loài *Curcuma* nghiên cứu đều có tinh dầu, chất màu, tanin, chất béo, đường khử và acid hữu cơ. Đã xác định hàm lượng tinh dầu, hằng số vật lý, chỉ số hoá học của tinh dầu trong các bộ phận của cả 7 loài trước và sau khi ra hoa.

- Hơn 30 cấu tử dễ bay hơi của *Curcuma trichosantha* Gagn. đã được xác nhận trong lá và thân rễ, trong đó thành phần chủ yếu là curdion (47,4% và 34,9%). (Xem tiếp trang 64).

VIETNAMESE MEDICINAL PLANTS

SOLANUM PROCUMBENS LOUR. - SOLANACEAE

Synonym: *Solanum hainanense* Hance

Vietnamese names: Cà gai leo, cà gai dây, cà vạnh, cà quỳnh, cà lù, gai cườm, chẻ nam (Tây), b'rongoon (Ba Na).

Description

Perennial procumbent prickly shrub, about 1m or more in height. Stems woody at the base, glabrous, branches numerous, the younger ones widely trailing, stellate-hairy and prickly. Leaves alternate, ovate or oblong, base rounded or cuneate, apex truncate, irregularly lobed, 3-4 cm long, 1.5-2 cm wide, dark green and prickly on the upper face, glaucous and stellate-hairy on the lower, petiole prickly.

Inflorescence in axillary cyme of 2-5 flowers, rarely 7-9, pale violet, calyx and corolla together divided into 4 lobes; stamens 4, filaments swollen at the base, ovary glabrous.

Berry globose, glabrous, long-pedicelled, yellow then red when ripe, 5-7 mm in diameter, seeds numerous, reniform, yellow.

Flowering period: April- June.

Fruiting period: July- September.

Distribution and Ecology

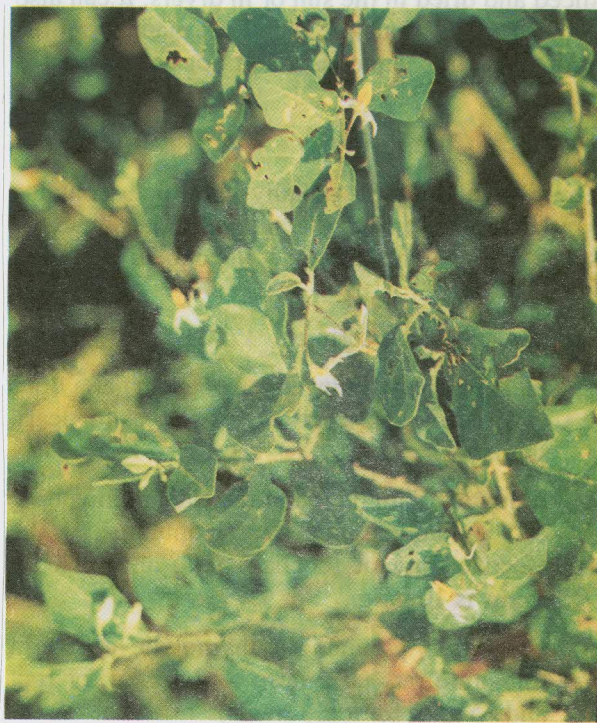
The plant is widely distributed in the plains and midlands, especially in Hai Phong, Thai Binh, Nam Định, Ninh Binh, Thanh Hoa, Nghe An, Ha Tinh etc. It rarely occurs in mountainous regions at the altitude above 1,000m.

Being a hygrophilous, heliophilous and slightly shade-enduring plant, it grows wild around villages, along roadsides and in uncultivated lands together with other shrubs. It is also drought-tolerant and does well in different soils with the pH ranging from 4 to 7. The plant grows actively in spring and summer.

Cultivation

The plant has been put in small-scale cultivation in few recent years.

The crop is normally raised from seeds, which are sown in nursery from February to March. Germination of the seeds finishes within 10 days. Transplantation of seedlings is done at a spacing of 30x30 cm when they attain a height of 10 cm.



Solanum procumbens Lour. - Solanaceae

Previously, the field is laid out into beds of size 20 cm high, 70 to 80 cm wide and supplied with farmyard manure as ground application.

It can also be raised from cuttings. To do so, cuttings of 25 to 30 cm long, selected from mature stems are placed and buried up to two thirds of the length, the earth is lightly pressed, and watered. Planting in February or March gives better results. After emergence, the crops must be thinned, intercultured and weeded. Later on, weeding-cum-hoeing is continued at a month interval. Harvesting is initiated when the plants reach the full size. After-care is needed following each harvest.

Recently, a micropropagation procedure has been set up for cloning of elite parent plants.

S. procumbens is a tough plant and rarely attacked by insects or fungi. However, it may be destroyed by *Agrotis ypsilon* and *Heliothis armigera* in the post-emergence period. These insects can be controlled by common insecticides.

Preliminary processing of the herb is done by drying. The ratio of fresh to dry product is around 6:1.

Parts Used

Roots and leafy branches collected all the year round are used. The herb is thoroughly washed, sliced and dried in the sun or in dryers. It can also be used fresh. Usual preparations made from the herb are the aqueous, soft or concentrated extracts.

Chemical Composition

The whole plant, especially the root, contains saponins, steroids and the alkaloid solasodine and solasodinone. In addition, flavonoids are also present.

Pharmacological Actions

- 1) Inhibits kaolin-induced paw oedema at a dose of 13.5 g/kg for root and 22.5 g/kg for leafy stems.
- 2) Inhibits inflammation in the subchronic phase of amianthus-induced granuloma. The effective dose of root is 5 g/kg and of leafy stems is 10 g/kg.
- 3) Exhibits a pronounced thymolytic action in immature rats (at a dose of 7.5 g/kg for root and 15 g/kg for leafy stems).

- 4) The haemolytic index of the root, determined by the method of Brunel is 13. The plant is non-toxic in acute and subchronic toxicity experiments.
- 5) Biological quantitative studies revealed that the anti-inflammatory activity of 1g of dried root corresponds to 2.5 mg of hydrocortisone and 1g of leafy stems is equivalent to 1.3 mg of hydrocortisone.
- 6) Increases the survival ratio of mice against Cobra venom.
- 7) Prolongs the edurance time and delays the appearance of dyspnoeic symptoms in the study on bronchial anti-spasmodic ability.
- 8) Delays cirrhotic development and reduces hepatic collagen in rats.

Therapeutic Uses.

The plant is used to treat snakebites, rheumatism, osteodynia, cough, whooping-cough, allergy and cirrhosis.

(Adapted from "Selected Medicinal Plants in Vietnam", Institute of Materia Medica, Science and Technology Publishing House, Hanoi, 1999)

(Tiếp theo trang 62)

- Hơn 45 chất đã được tìm thấy trong thân rễ to và con, trong rễ lá, bẹ lá và hoa của *Curcuma harmandii* Gagn.

- Hơn 50 cấu tử đã được tìm thấy trong tinh dầu lá, rễ và thân rễ của *Curcuma cochinchinensis* Gagn.

- Hơn 30 thành phần dễ bay hơi của *Curcuma sp1*, trên 25 chất dễ bay hơi đã tìm thấy trong *Curcuma sp2* và *sp3*, trong đó curzerenon, germacron và curdion là các thành phần chính.

Về tác dụng sinh học

Đã thử độc tính cấp của nước sắc thân rễ 7 loài *Curcuma*, thấy chế phẩm thử rất ít độc, có phạm vi an toàn rộng.

Tinh dầu và dịch ép thân rễ có hoạt lực và hoạt phổ kháng khuẩn tương tự như nhau trên 5 chủng vi khuẩn. Dịch chiết cồn của thân rễ hai loài *Curcuma harmandii* và *Curcuma trichosantha* đều có tác dụng hạ cholesterol máu. Cao lỏng (2:1) thân rễ *Curcuma harmandii* và *Curcuma trichosantha* làm giảm viêm cấp và có tác dụng kích thích tế bào gan tăng tiết mật trên chuột cống trắng. Cao lỏng này có tác dụng kéo dài thời gian chảy máu, trên nghiệm pháp gây chảy máu bằng cắt đuôi chuột.

Những kết quả trên đóng góp vào việc nghiên cứu một số loài trong 14 loài *Curcuma* đã phát hiện ở Việt Nam nhằm đề xuất hướng sử dụng chúng.