

## NGHIÊN CỨU NHỮNG CÂY CHỨA BERBERIN TRÊN THẾ GIỚI VÀ TRONG NƯỚC

Nguyễn Kim Cẩn - Viện Dược liệu

Berberin thường có trong những cây thuộc chi *Berberis* [1-3]. Theo thực vật chí thế giới, chi này có gần 700 loài [4], còn theo tài liệu của Englers, chỉ có khoảng 500 loài [5].

Berberin đã được phát hiện trong khoảng 150 loài thuộc nhiều họ khác nhau [xem bảng].

Trong tất cả những loài chứa berberin đã biết, chỉ có những loài thuộc chi *Berberis* và *Mahonia*, họ Berberidaceae, là cho hàm lượng berberin cao hơn cả, có loài đạt 9-12% [6-9].

Trên thế giới, nhiều nước có những cây chứa berberin như Armenia có 16 loài thuộc 16 họ khác nhau [10]. Ở Việt Nam, có khoảng 15 loài thuộc 5 họ chứa berberin [11-24] đều tìm thấy ở dạng mọc hoang.

Trong thông báo này, chúng tôi giới thiệu kết quả nghiên cứu một số cây chứa berberin trên thế giới và ở nước ta, nhằm góp phần định hướng việc nghiên cứu tạo nguồn nguyên liệu sản xuất berberin phục vụ nhu cầu chữa bệnh trong nước và xuất khẩu.

Từ những số liệu công bố được ghi trong bảng, chúng ta thấy những cây có hàm lượng berberin từ 0,5% trở lên đều có thể là nguyên liệu sản xuất hoạt chất này. Những cây có hàm lượng cao hơn 1% có thể được thuần hoá, di thực và trồng trọt để chủ động nguyên liệu.

Thông thường, berberin có nhiều trong rễ (vỏ rễ), thân (vỏ thân), một số cây có cả trong lá [15-17], hạt [18]. Hàm lượng berberin thay đổi phụ thuộc vào nơi thu hái và thời kỳ sinh trưởng, phát triển của cây. Thu hái vào cuối vụ hoa hoặc quả, hàm lượng berberin cao nhất. Điều này có ý nghĩa lớn đối với việc xác định thời vụ thu hái của những cây trồng.

Sự phân bố hàm lượng berberin trong các bộ phận của cây rất khác nhau. Vỏ rễ chứa tới 19% đối với loài *B. aquifolium*, rễ phụ, rễ cấp hai chứa 6-7%; lõi rễ khoảng 1,5%; vỏ thân 0,5-1,5% và thân gỗ 0,1-0,15% [19]. Có rất nhiều cây mới chỉ nghiên cứu bước đầu định tính thành phần hoá học mà chưa nghiên cứu định lượng từng thành phần.

Sau ngày hoà bình lập lại ở miền bắc, những cây chứa berberin đã sớm được nghiên cứu. Các tác giả đã xác định một loài trong chi *Thalictrum* chứa 0,6% berberin và một loài trong chi *Coptis* chứa tới 6% [20]. Loài *Coptis teeta* thuộc họ Mao lương (Ranunculaceae) đã được đưa vào Dược điển Việt Nam II, tập 2 và có hàm lượng berberin trong nguyên liệu thân rễ không thấp hơn 4% [21].

Tiếp đó, Viện Dược liệu đã tiến hành điều tra cây thuốc ở các tỉnh phía nam và phát hiện cây vàng đắng (*Coscinium fenestratum* Colebr.) chứa berberin. Cây mọc tập trung ở cao nguyên An Khê (Gia Lai- Kon Tum), Vĩnh Thạnh (Nghĩa Bình), Đắc Nông (Đắk Lắk), Lộc Ninh (Sông Bé) và Trà My - Phước Sơn (Quảng Nam) [22]. Hàm lượng berberin trong thân cây không thấp. Dược điển Việt Nam qui định thân cây vàng đắng phải chứa ít nhất 1,5% berberin [23].

Việc nghiên cứu cơ bản các cây cho berberin ở Việt Nam ít được quan tâm, trừ việc khai thác sản xuất berberin làm thuốc [24-25]. Trong luận án tiến sĩ [26], Nguyễn Liêm đã khảo sát kỹ cây vàng đắng về hàm lượng alkaloid protoberberin trong các bộ phận khác nhau của cây. Kết quả là ở thân cây già có 2-3%, cành nhỏ 1-1,5%, lá và quả 0,1- 0,7%, vỏ thân trên 5% và phần thân gỗ 0,85%. Điều kiện bảo quản có ảnh hưởng lớn đến chất lượng nguyên liệu. Độ ẩm cao làm giảm nhanh hàm lượng alkaloid và có thể mất hết (từ 3% giảm xuống đến 0,13%) [26]. Giữ nguyên liệu *Berberis amurensis* trong kho tối sau 3 năm cho hàm lượng berberin từ 1,04 đến 1,73%, nhưng bảo quản trong kho với ánh sáng tự nhiên chỉ còn 0,76% [27].

Chúng tôi khảo sát sự thay đổi hàm lượng berberin trong cây hoàng bá (*Phellodendron amurense* Rupr.) trồng ở Sa Pa thấy rằng sau 4 năm, hàm lượng berberin đã đạt 3,05%-3,2%, cây 7 tuổi 3,2-3,5% và cây trên 30 năm tuổi 3,45-3,7%. Về mặt hàm lượng, có thể thu hoạch cây sau 4 năm trồng, nhưng về mặt chất lượng, cây càng lâu năm càng tốt.

(Xem tiếp trang 157)

clorid berberin (sản phẩm chính). Rửa tủa, đem sấy khô [theo sơ đồ quy trình I (cũ)] (hình 1).

Kiểm nghiệm sản phẩm quy trình I:

- Định tính: theo DĐVN - đúng berberin.

- Định lượng: theo DĐVN - hàm lượng berberin 80%-82%. Hàm ẩm: 8-10%.

- Lượng berberin thu được: 9,500 kg (80-82%).

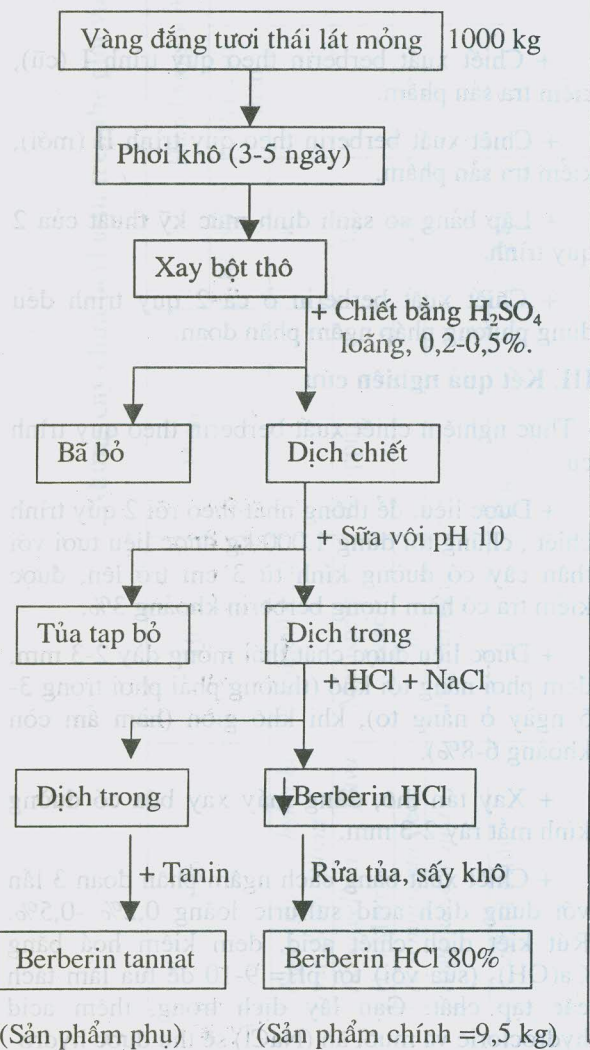
Nhận xét, phân tích quy trình I.

Dùng dược liệu vàng đắng khô để chiết xuất có nhược điểm:

- Tốn công phơi (mất 3-5 ngày).

- Lượng berberin bị giảm trong quá trình phơi.

Hình 1. Sơ đồ tóm tắt quy trình chiết xuất I (cũ).



- Cần sân phơi, nhà kho, nếu chiết xuất ở rừng núi, tại chỗ, thì không có sân phơi, bao bì đóng gói và nhà kho chứa dược liệu khô.

Dùng sữa vôi để kiểm hoá loại tạp chất, có nhược điểm:

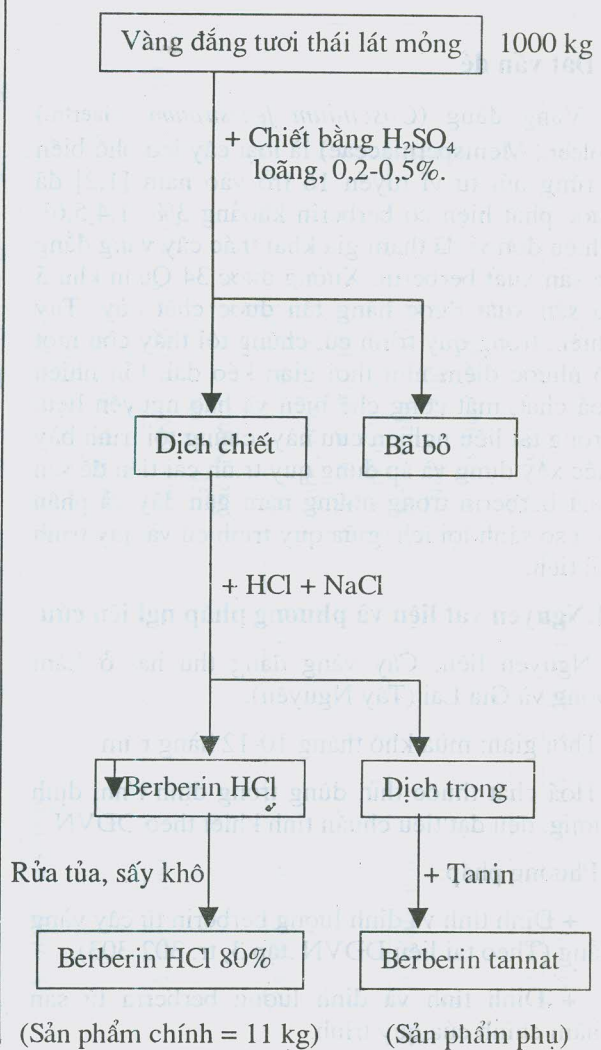
- Tốn vôi và acid để trung hoà vôi thừa trước khi kết tủa berberin.

- Tốn thêm công kiểm hoá, loại tạp, kéo dài thời gian chiết.

- Mất một phần berberin do tủa tạp chất kéo theo.

Lượng acid các loại bị tiêu tốn lớn, dịch nước ốt (sau kết tủa) nhiều, do vậy lượng berberin hư hao theo dịch thải dẫn đến hiệu quả kinh tế chưa cao.

Hình 2. Sơ đồ tóm tắt quy trình chiết xuất II (cải tiến).



- Thực nghiệm chiết xuất berberin theo quy trình II (cải tiến):

Từ những nhận xét và phân tích nhược điểm của quy trình cũ, chúng tôi có phương pháp giải quyết như sau:

+ Dùng ngay dược liệu tươi để chiết, như vậy không tốn công, thời gian phơi khô và xay bột dược liệu, không cần sản phơi, bao bì và nhà kho bảo quản.

+ Bỏ giai đoạn kiểm hoá tủa tạp chất, không phải dùng vôi trong quy trình chiết và tiết kiệm được lượng acid clohydric dùng để trung hoà nước vôi dư trước khi kết tủa berberin.

+ Giảm bớt số lần kết tủa để tránh lượng

berberin hao hụt theo nước ót.

+ Kiểm tra phát hiện lượng acid quá thừa trong dịch chiết để tiết kiệm  $H_2SO_4$ . Trên các cơ sở nêu trên, đã xây dựng lại định mức vật tư kỹ thuật cho quy trình II. (Tóm tắt bằng sơ đồ quy trình II, hình 2.)

- So sánh định mức vật tư kỹ thuật kinh tế giữa quy trình cũ và quy trình cải tiến.

Từ các nghiên cứu thăm dò, chiết xuất thử đến ứng dụng chiết xuất đại trà ở một số tỉnh Tây Nguyên (Lâm Đồng, Đắk Lắk, Gia Lai, Kon Tum), chúng tôi đã thu được kết quả tốt, thể hiện trong các bảng sau:

**Bảng 1.** So sánh định mức vật tư kỹ thuật kinh tế giữa quy trình cũ và quy trình cải tiến.

TT	Nguyên liệu, hoá chất, ngày công.	Đơn vị	Quy trình cũ	Quy trình cải tiến	Chênh lệch	Tiết kiệm được %
1	Cây vàng đắng tươi (phơi sấy khô còn lại)	kg	1.000	1.000		
2	Acid sulfuric 98%	„	14	7	7	50%
3	Acid clohydric 28%	„	19	12	7	31,8%
4	Vôi cục (CaO)	„	20	0	20	100%
5	Công lao động	công	10	5	5	50%
6	Berberin thu được (hàm lượng 80%)	kg	9,5	11	1,5	tăng 15,8%
7	Hiệu suất chiết	%	0,95%	1,1%		

Qua bảng 1, các vật tư, hoá chất tiêu thụ đều giảm, hiệu suất chiết berberin lại tăng ở quy trình II.

**Bảng 2.** So sánh định mức kỹ thuật kinh tế để thu được 1 kg berberin (hàm lượng 80%).

TT	Nguyên liệu, hoá chất, ngày công.	Đơn vị	Quy trình cũ	Quy trình cải tiến	Chênh lệch	Tiết kiệm được %
1	Cây vàng đắng tươi	kg	105	90,9	14,1	13%
2	Acid sulfuric 98%	„	1,47	0,63	0,84	57%
3	Acid clohydric 28%	„	2	1,09	0,91	45,5%
4	Vôi cục (CaO)	„	2,1	0	2,1	100%
5	Công lao động	công	1,05	0,45	0,6	57%

Qua bảng 2, định mức 1 kg sản phẩm berberin hàm lượng 80%, các vật tư, hoá chất tiêu thụ, ngày công chi phí, đều giảm ở quy trình II.

#### IV. Bàn luận

- Quy trình chiết xuất berberin cải tiến dễ áp dụng để sản xuất vì nó không dùng dược liệu khô và xay thành bột, do đó không cần sản phơi, máy

xay, bao bì, nhà kho...Đó là điều kiện rất thuận lợi cho việc chiết xuất berberin tại rừng núi nơi có cây vàng đắng.

- Thực hiện chiết xuất berberin theo quy trình cải tiến đã tiết kiệm được một lượng lớn hoá chất, vôi và các loại acid đậm đặc, giảm được công lao động do không phải kiểm hoá bằng vôi và tủa tạp.

- Quy trình chiết xuất berberin cải tiến đã cho hiệu suất chiết cao hơn quy trình cũ, có thể do berberin không bị hao hụt ở các khâu phối dược liệu và khâu kiểm hoá loại tạp trước khi kết tủa berberin

- Trong những năm qua, do áp dụng quy trình cải tiến với các ưu điểm nêu trên, Xí nghiệp 34 Quân khu V đã chiết xuất từ cây vàng đắng được hàng chục tấn hydroclorid berberin (hàm lượng 80%) để tinh chế, sản xuất thuốc phục vụ bộ đội và nhân dân.

Quy trình chiết xuất berberin cải tiến này có

thể áp dụng thay cho quy trình cũ và áp dụng cho việc chiết berberin từ các nguồn nguyên liệu dược liệu tươi có chứa berberin khác.

## V. Kết luận

Đã nghiên cứu chiết xuất berberin từ cây vàng đắng bằng một quy trình cải tiến (quy trình II). Quy trình này dùng dược liệu tươi để chiết, giảm bớt công (phoi, xay bột): 57%, giảm tiêu thụ vôi: 100%, acid clohydric: 31,8%, acid sulfuric: 50% và hiệu suất chiết berberin (hàm lượng 80%) tăng hơn 15,8%.

## Tài liệu tham khảo

1.) L.H. Lecomte, Flore générale de l' Indochine I. Masson et Cie, Editeurs Paris 1907-1912, 124-137. 2.) Phạm Hoàng Hộ, Cây cỏ miền nam, tập I. NXB Bộ giáo dục Trung tâm học liệu, 1970 tr. 245. 3.) Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc VN. NXB Khoa học và kỹ thuật 1977, tr. 214. 4.) Nguyễn Liêm, Góp phần nghiên cứu thực vật và hoá học cây vàng đắng. Luận án PTS 1983, Học viện QY. 5.) Bộ Y tế, Dược điển VN II. NXB Y học 1994, tr. 302-303. 6.) Nguyễn Liêm, Phạm Gia Khôi, Vũ Văn Chuyên. Phát hiện nguồn berberin ở một số cây thuốc nam. Thông báo Dược liệu 4- 1975 số 7 tr. 155-165. 7.) Nguyễn Liêm và cs. Chiết xuất berberin bằng áp lực nóng. Tạp chí Dược học số 3/1982 (tr.10-12).

*Tạp chí Dược liệu, tập 5, số 5/2000 (trang 134-138)*

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU HOÁ HỌC TRÊN 3 LOÀI *GERANIUM* HIỆN CÓ Ở VIỆT NAM

*Mai Lệ Hoa, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Thượng Đông - Viện Dược liệu*  
(Nhận bài ngày 27 tháng 9 năm 2000)

### Summary

#### Chemical Studies on Three Species of *Geranium* in Vietnam

*On the basis of qualitative comparison, three Geranium species: G. nepalense var. thunbergii (Sieb. et Zucc.) Kudo, G. nepalense Sweet, and G. sibiricum var. glabrius (Hara) Ohwi showed a similarity in chemical composition. They all contain phytosterols, carotenoids, flavonoids tannin and free sugars. From Geranium nepalense var. thunbergii (Sieb. et Zucc.) Kudo, quercetin, gallic acid and ethyl gallate were isolated and identified by spectroscopic method and physical data.*

*Key words: Geranium nepalense var. thunbergii (Sieb. et Zucc.) Kudo, Geranium nepalense Sweet, Geranium sibiricum var. glabrius (Hara) Ohwi, Tannin, Flavonoid, Acid gallic, Ethyl gallate, quercetin.*

### 1. Đặt vấn đề

Trong những thông báo trước, chúng tôi đã giới thiệu về một số tác dụng sinh học và đặc điểm thực vật học của 3 loài *Geranium* là *Geranium nepalense* Sweet, *G. nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo, và *G. sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi [1][2]. Loài *G. nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo nhập trồng từ Nhật Bản, là nguồn cây thuốc xuất khẩu có giá trị. Để có thể hiểu rõ về các hoạt chất

có tác dụng sinh học, chúng tôi tiến hành một số nghiên cứu về thành phần hoá học của các loài nêu trên.

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

#### 2.1. Nguyên liệu.

Phân trên mặt đất của 3 loài *Geranium* (như đã nêu) được thu hái vào các tháng trong năm, sấy khô ở < 60<sup>0</sup> C và xay nhỏ. Các mẫu cây đã được Nguyễn Chiêu xác định tên khoa học và đối chiếu

với các tiêu bản số 2225, 3307A và 3305C hiện đang lưu giữ tại phòng Tài nguyên - Viện Dược Liệu.

## 2.2. Phương pháp

- Khảo sát định tính thành phần hoá học theo phương pháp sàng lọc các hợp chất thiên nhiên [3].

- Định lượng thành phần hoá học bằng các phương pháp ghi trong Dược điển Việt Nam II, tập 3 [4].

- Chiết xuất phân đoạn bằng các dung môi có độ phân cực khác nhau.

- Phân lập bằng sắc ký cột silica gel và sephadex LH-20

- Nhận dạng các chất qua các dữ liệu: điểm nóng chảy, phổ UV, IR, MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR và DEPT.

## 3. Thực nghiệm và kết quả

### 3.1. Định tính

Bằng những phản ứng hoá học, kết quả định tính cho thấy thành phần hoá học của 3 loài *Geranium* hiện có ở Việt Nam tương đối giống nhau, bao gồm các hợp chất phytosterol, carotenoid, flavonoid, tanin và đường tự do.

### 3.2. Định lượng flavonoid toàn phần

Kết quả định lượng flavonoid toàn phần của 3 loài *Geranium* cho thấy hàm lượng flavonoid toàn phần của chúng tương đối thấp. Hàm lượng (%) trung bình của *G. nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo là 2,2±0,01; *G. nepalense* Sweet là 2,01±0,02; *G. sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi là 1,98±0,02.

### 3.3. Định lượng tanin

- Hàm lượng tanin trong dược liệu theo thời gian thu hái.

Kết quả định lượng được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Hàm lượng (%) tanin định lượng theo thời gian thu hái.

Thời điểm thu hái	Hàm lượng tanin (%)		
	<i>Geranium nepalense</i> Sweet	<i>G. nepalense</i> var. <i>thunbergii</i> (Sieb. et Zucc.) Kudo	<i>G. sibiricum</i> var. <i>glabrius</i> (Hara) Ohwi
4-1996	14,74±0,39	15,01±0,46	12,75±0,33
5-1996	15,59±0,48	16,22±0,38	14,58±0,47
6-1996	17,76±0,30	17,69±0,48	16,10±0,50
7-1996	18,16±0,59	17,9±0,32	15,86±0,42
8-1996	16,9±0,49	17,46±0,36	15,74±0,48
9-1996	15,80±0,32	16,23±0,48	14,73±0,37

Nhận xét: Kết quả định lượng tanin trong 3 loài *Geranium* cho thấy hàm lượng (%) tanin đạt cao nhất vào tháng 6, 7, 8 khi cây đang trong thời kỳ ra hoa và kết quả.

- Định lượng tanin trong quá trình bảo quản.

Nguyên liệu và điều kiện bảo quản:

Phân trên mặt đất của loài *G. nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo được thu hái vào tháng 7-1997, phơi sấy ở nhiệt độ dưới 60°C, độ ẩm 10 -12%, được xay nhỏ và bảo quản trong túi polyetylen hàn kín ở nhiệt độ phòng.

Hàm lượng tanin của dược liệu trong thời gian bảo quản được thể hiện ở bảng 2 (xem trang sau).

Nhận xét: Sau một thời gian bảo quản 4-6 tháng, bột dược liệu bị chuyển từ màu lục xám sang vàng nâu đến nâu. Hàm lượng (%) tanin giảm sút đáng kể theo thời gian bảo quản. Sau 8 tháng, hàm lượng giảm 30%, và sau 12 tháng có thể giảm gần một nửa.

### 3.4. Chiết xuất và tinh chế các polyphenol

200 gam dược liệu loài *G. nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo được chiết hồi lưu cách thủy với methanol 90%, thu hồi dung môi dưới áp suất giảm ở 50° C, cho 60 g cặn màu xanh đen, thêm khoảng 200ml nước vào lắc, để lắng, lọc loại tạp. Dịch nước được chiết lần lượt với ether petrol, diethyl ether, acetat ethyl, n-butanol.

**Bảng 2.** Hàm lượng tanin của *G. nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo trong thời kỳ bảo quản.

Thời gian bảo quản (tháng)	Hàm lượng tanin so với dược liệu khô (%)	Hàm lượng tanin so với ban đầu (%)	Hàm lượng tanin bị giảm (%)
0	17,90 ± 0,30	100	0
2	16,27 ± 0,58	90,8	9,2
4	15,28 ± 0,78	85,4	14,6
6	14,01 ± 0,57	78,3	21,7
8	12,64 ± 0,36	70,6	29,4
10	11,09 ± 0,37	62,0	38
12	9,85 ± 0,40	55,0	45

Pha acetat ethyl được cất loại dung môi, thu 1g cần màu vàng nâu. Dùng sắc ký cột silica gel 60, cỡ hạt 100-160 $\mu$ m để phân lập, rửa giải bằng hệ dung môi toluen : acetat ethyl: acid formic (5:6:1) thu được 3 phân đoạn. Phân đoạn I cho cần màu vàng đậm, trên SKLM cho 2 vết chính. Tinh chế lại trên cột sephadex LH- 20 bằng methanol 60% thu được 2 chất, kí hiệu là V<sub>1</sub> và V<sub>2</sub>. Phân đoạn II cho cần màu vàng nhạt, tinh chế lại trên cột silica gel cho tinh thể hình kim màu trắng ngà, kí hiệu là V<sub>3</sub>. Phân đoạn III cho cần màu xám nhạt, tinh chế lại trên cột silica gel cho tinh thể màu trắng đục, kí hiệu V<sub>5</sub>.

#### Kiểm tra độ tinh khiết

Sử dụng SKLM và SKG, khai triển với các hệ dung môi, thuốc thử hiện màu d.d. acid boric 10%: d.d. acid oxalic 10% (3:1) và d.d. FeCl<sub>3</sub> 5% để kiểm tra độ tinh khiết của V<sub>2</sub>, V<sub>3</sub>, và V<sub>5</sub>. Mỗi chất chỉ xuất hiện một vết trên SKLM và SKG.

#### Nhận dạng V<sub>2</sub>

V<sub>2</sub> có dạng tinh thể hình kim, màu vàng, tan tốt trong methanol, ethanol, diethyl ether, tan trong dung dịch kiềm và dung dịch acid, tan rất ít trong nước nóng, không tan trong nước lạnh, benzen và cloroform.

Nhiệt độ nóng chảy : Phân huỷ ở 314-316°C.

• Phổ tử ngoại (UV) : Có  $\lambda_{max}$  (MeOH) : 205, 256, 369 nm.

• Phổ hồng ngoại (FTIR): Đo dưới dạng viên nén KBr. Các nhóm chức của V<sub>2</sub> có các đỉnh hấp thụ cực đại:

Nhóm (-OH): 3408,9 cm<sup>-1</sup>.

Nhóm carbonyl liên hợp không tạo cầu hydro: 1669,4 cm<sup>-1</sup>.

Nhóm carbonyl liên hợp tạo cầu hydro: 1615,7

cm<sup>-1</sup>. Nhân thơm : 1521,6 cm<sup>-1</sup>.

• Phổ khối (MS):

Pic ion phân tử [M<sup>+</sup>] với cường độ lớn nhất ở m/z=302, các pic mảnh có m/z lần lượt là 285, 273, 257, 245, 228, 217, 200, 153, 137, 109, 81, 69, 55, 50.

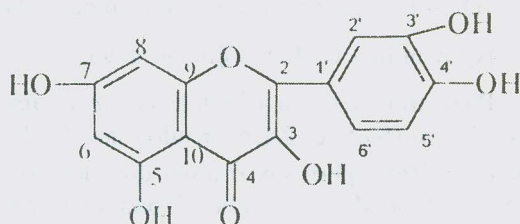
• Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

- <sup>1</sup>H-NMR: Phổ <sup>1</sup>H-NMR của V<sub>2</sub> cho tín hiệu của 5 proton với 4 dublet (d) và 1 dublet kép (dd). Tín hiệu proton của các nhóm -OH tại 9,33 ppm là một đỉnh tù tương ứng với 2 proton, tín hiệu tại 12,48 ppm tương ứng 1 proton,

- <sup>13</sup>C-NMR: Phổ <sup>13</sup>C-NMR và phổ DEPT cho tín hiệu của 15 nguyên tử carbon, trong đó có 5 nhóm -CH và 10 carbon bậc 4.

- Hằng số tương tác tính bằng Hz và dữ liệu phổ <sup>13</sup>C-NMR của quercetin được tham khảo theo tài liệu [5].

Kết quả phân tích phổ <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR được trình bày ở bảng 3.



Cấu trúc của V<sub>2</sub> quercetin.

**Bảng 3.** Số liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của  $\text{V}_2$   
(DMSO-D<sub>6</sub>,  $\delta$  (ppm), 200 MHz)

Vị trí carbon	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) $\text{V}_2$	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) $\text{V}_2$	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) Quercetin [5]
2		147,0	156,3
3		135,9	134,4
4		176,1	177,4
5	12,48 (OH, s)	161,0	161,2
6	6,19 (d; 1,8 Hz)	98,4	98,6
7		164,1	164,0
8	6,41(d; 1,8 Hz)	93,6	93,5
9		156,4	157,0
10		103,3	104,2
1'		122,2	121,0
2'	7,684 (d; 2 Hz)	115,3	115,4
3'	9,33 (OH, s)	145,3	145,1
4'	9,33(OH, s)	147,9	148,3
5'	6,89 (d; 8,5 Hz)	115,8	115,8
6'	7,54 (dd; 2 và 8,5Hz)	120,2	121,0

Kết luận: Từ các kết quả phân tích số liệu phổ UV, FTIR, MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT và so sánh với tài liệu [5], chúng tôi xác định chất  $\text{V}_2$  là một flavonol, có công thức hoá học là  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ , công thức cấu tạo là 3, 5, 7, 3', 4' penta - hydroxy flavonon, có tên là quercetin.

**Nhận dạng  $\text{V}_3$**

$\text{V}_3$  là những tinh thể hình kim, màu trắng ngà. tan tốt trong methanol, ethanol, khó tan trong nước lạnh, không tan trong benzen và cloroform.

Nhiệt độ nóng chảy : 153-155 $^{\circ}\text{C}$

• Phổ tử ngoại (UV)  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) : 217,5 và 273,9 nm.

• Phổ hồng ngoại (FTIR) được đo dưới dạng viên nén KBr có các đỉnh hấp thụ cực đại đặc trưng cho các nhóm chức

Nhóm (-OH): 3462,5  $\text{cm}^{-1}$  và 3308,0  $\text{cm}^{-1}$ . Nhóm

carbonyl ( $>\text{C}=\text{O}$ ): 1709,2  $\text{cm}^{-1}$

Nhân thơm : 3010; 1619,4 và 1534,4 $\text{cm}^{-1}$ .

• Phổ khối (MS): ) : Phổ khối có pic ion phân tử  $[\text{M}^+]$  ở  $m/z = 198$ . Ngoài ra có các pic với số khối  $m/z$  là: 183, 170, 153, 125, 79, 77, 50, 53.

• Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

-  $^1\text{H-NMR}$ : Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho tín hiệu của nhóm  $\text{C}_2\text{H}_5$  ở dạng este, một tín hiệu ở vùng thơm ứng với hai proton và hai tín hiệu ở vùng OH phenolic ứng với 3 proton.

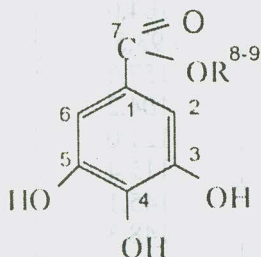
-  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT: Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cho 7 tín hiệu, trong đó có 2 tín hiệu mỗi tín hiệu ứng với 2 nguyên tử carbon, vậy  $\text{V}_3$  có tổng số 9 carbon.

Phổ DEPT cho 3 tín hiệu ứng với các nhóm  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ , và  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}-2$ ,  $\text{CH}-6$  trùng nhau. Kết quả phân tích phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của  $\text{V}_3$  thể hiện ở bảng 4.

**Bảng 4.** Số liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của  $\text{V}_3$  và  $\text{V}_5$  (200 MHz)

Vị trí carbon	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)		$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	
	$\text{V}_3$ (DMSO-D <sub>6</sub> )	$\text{V}_5$ (MEOD)	$\text{V}_3$ (DMSO-D <sub>6</sub> )	$\text{V}_5$ (MEOD)
1			119,8	121,9
2	6,94(s)	7,05(s)	108,7	110,8
3	9,20 (OH, s)		145,7	146,3
4	8,90 (OH, s)		138,5	139,5
5	9,20 (OH, s)		145,7	146,3
6	6,94(s)	7,05(s)	108,7	110,8
7			166,0	170,4
8	4,20 (q; 7,1Hz)		60,2	
9	1,27 (t; 7,1Hz)		14,5	

Kết luận: Từ các kết quả phân tích số liệu phổ UV, FTIR, MS,  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$ , chúng tôi xác định chất  $V_3$  là một este, có công thức hoá học là  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$ , công thức cấu tạo là ethyl 3, 4, 5 - tri - hydroxy benzoat có tên là ethyl gallat. Khối lượng phân tử = 198.



Cấu trúc của  $V_3$  ( $\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5$ ): ethyl gallat  
và  $V_5$  ( $\text{R}=\text{H}$ ): acid gallic

*Nhận dạng  $V_5$*

$V_5$  là một chất tinh thể hình kim, màu trắng đục, tan tốt trong methanol, ethanol, diethyl ether, tan trong nước nóng, tan rất ít trong nước lạnh.

Nhiệt độ nóng chảy:  $251-253^\circ\text{C}$

- Phổ tử ngoại (UV):  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) : 273,4 nm.
- Phổ hồng ngoại (FTIR) được đo dưới dạng viên nén KBr có các đỉnh hấp thụ cực đại đặc trưng cho các nhóm chức

Nhóm phenol, alcol (-OH):  $3432,8\text{ cm}^{-1}$  và  $3247,7\text{ cm}^{-1}$ .

Nhóm carboxyl (-COO):  $1703,0\text{ cm}^{-1}$ . Nhận thơm  $3059,7$  và  $1622,4\text{ cm}^{-1}$

- Phổ khối (MS): Pic ion phân tử  $[\text{M}^+]$  ở  $m/z = 170$  với cường độ rất mạnh, xấp xỉ 100%. Ngoài ra các

pic mảnh với số khối  $m/z$  là: 153, 135, 125, 79, 75, 53, 50.

#### • Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

-  $^1\text{H-NMR}$ : Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho một tín hiệu ở vùng thơm ứng với hai proton.

-  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT: Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cho 5 tín hiệu, trong đó có 2 tín hiệu, mỗi tín hiệu ứng với 2 nguyên tử carbon, qua đó nhận biết  $V_5$  có 7 carbon.

Phổ DEPT có một tín hiệu ứng với 2 CH

Kết quả phân tích phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của  $V_5$  được ghi trong bảng 4.

Kết luận: Dựa trên nhiệt độ nóng chảy, căn cứ vào kết quả phân tích các số liệu phổ đo được, chúng tôi khẳng định  $V_5$  là một acid polyphenolic có công thức hoá học:  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ , công thức cấu tạo là 3,4,5 - tri hydroxy benzoic acid, có tên là acid gallic, khối lượng phân tử: 170.

#### 4. Kết luận

- Đã sơ bộ định tính thành phần hoá học của 3 loài *Geranium* hiện có ở Việt Nam là các hợp chất phytosterol, flavonoid, tanin, đường tự do.
- Định lượng flavonoid toàn phần của 3 loài với hàm lượng đạt xấp xỉ 2% so với dược liệu khô.
- Định lượng tanin theo thời gian thu hái và trong thời kỳ bảo quản dược liệu.
- Phân lập và nhận dạng các chất qua các số liệu như điểm nóng chảy, phổ UV, FTIR, MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT.

Các chất thu được gồm  $V_2$  : Quercetin,  $V_3$ : Ethyl gallat,  $V_5$ : Acid gallic

*Lời cảm ơn:* Chúng tôi xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của PGS, TSKH. Trần Văn Sung và PGS, TS. Chu Đình Kính trong việc gán phổ của các chất nêu trên.

#### Tài liệu tham khảo

- 1.) Nguyễn Chiêu, Nguyễn Thượng Dong, Tạp chí dược liệu, 1(1), 1996, 13- 15; 2.) Mai Lệ Hoa, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Viết Thân, Tạp chí dược liệu, 5, (2), 2000, 33-38; 3.) Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu, Nghiên cứu hoá học cây thuốc, NXBKHKHT, 1983; 4.) Dược điển Việt Nam II, NXB Y học, Tập 3, 1991; 5.) P.K. Agrawal, Studies in Organic Chemistry 39, Carbon  $^{13}\text{C-NMR}$  of flavonoids, Elsevier, Amsterdam, 1989, 336.



## MỘT PHƯƠNG PHÁP MỚI CHIẾT XUẤT AJMALICIN TỪ RỄ DỪA CẠN

Trần Văn Thanh\*, Trần Nguyên Hữu\*, Lê Ngọc Phan\*, Phạm Ngọc Bùng\*\*

\*XN Dược phẩm TW2 \*\*Trường Đại học Dược Hà Nội.

(Nhận bài ngày 31 tháng 7 năm 2000)

### Summary

#### A New Extraction Method for Ajmalicine from *Catharanthus roseus*

*A novel method for extraction of ajmalicine from Catharanthus roseus roots has been set up. In this method, the total alkaloids were hydrogenated with sodium borohydride (NaBH<sub>4</sub>) in order to enrich ajmalicine content before isolation. The isolation of ajmalicine from the hydrogenated total alkaloids was more advantageous than the previous ones in safety and efficacy.*

*Key words: Catharanthus roseus, Ajmalicine Extraction, Enrichment, Hydrogenation.*

### I. Đặt vấn đề

Ajmalicin là một indol alcaloid được chiết xuất từ rễ dừa cạn (*Catharanthus roseus* G. Don., Apocynaceae), là thuốc điều trị thiếu năng tuần hoàn não và ngoại biên [1.8]. Các phương pháp chiết xuất ajmalicin đã biết chủ yếu gồm hai giai đoạn: chiết xuất alcaloid toàn phần rồi phân lập ajmalicin từ hỗn hợp đó bằng sắc ký cột [3-6]. Tuy vậy, cho đến nay chưa có phương pháp nào được áp dụng vào sản xuất ở điều kiện nước ta vì còn sử dụng nhiều dung môi hữu cơ độc hại là benzen và cloroform; hiệu suất chiết còn thấp [3]. Vì vậy, mục tiêu của đề tài là nghiên cứu tìm ra phương pháp mới chiết xuất và phân lập ajmalicin từ rễ cây dừa cạn nhằm góp phần khắc phục các hạn chế trên. Trong thông báo mới đây, chúng tôi đã đưa ra phương pháp chiết alcaloid toàn phần rễ dừa cạn bằng cồn acid. Phương pháp này tỏ ra ưu thế hơn phương pháp chiết bằng cồn kiềm về hiệu suất và tính an toàn [4]. Bài báo này đề cập đến giai đoạn tiếp theo là nghiên cứu khử hoá hỗn hợp alcaloid để làm giàu ajmalicin và phân lập alcaloid này ở dạng tinh khiết.

### II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

- Nguyên liệu

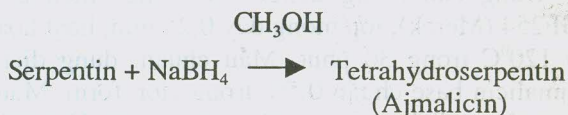
Rễ dừa cạn (11 tháng tuổi) trồng tại Tuy Hoà do Công ty Dược TW2 cung cấp vào tháng 2-1998.

Ajmalicin base chuẩn (Merck), serpentin chuẩn (Richter), NaBH<sub>4</sub>(PA) và các dung môi hoá chất khác đạt tiêu chuẩn P.A.

- Phương pháp nghiên cứu

- Khử hoá alcaloid toàn phần rễ dừa cạn

(Alc.TP) bằng NaBH<sub>4</sub> để chuyển toàn bộ serpentin trong đó thành ajmalicin. Phương trình phản ứng như sau:



Phương pháp này đã được một số tác giả áp dụng để định lượng ajmalicin toàn phần rễ dừa cạn [7].

- Định lượng ajmalicin trong hỗn hợp thô alcaloid rễ dừa cạn bằng quang phổ tử ngoại ở bước sóng 282 nm sau khi tách trên lớp mỏng [7].
- Phân lập ajmalicin từ alcaloid toàn phần đã khử hoá bằng các dung môi thích hợp.

### III. Thục nghiệm, kết quả và thảo luận

- Khử hoá hỗn hợp alcaloid rễ dừa cạn và định lượng ajmalicin

Hỗn hợp alcaloid rễ dừa cạn được chiết xuất bằng phương pháp đã công bố [4]. Với quy mô 5 kg rễ/mẻ thu được lượng cần thô alcaloid khoảng 40 g; trong các mẫu thu được hàm lượng alcaloid toàn phần (Alc.tp) từ 67-74% (phương pháp môi trường khan tính theo ajmalicin); ajmalicin: 13,65-19,52% (phương pháp quang phổ tử ngoại [7]). Khử hoá Alc.tp rễ dừa cạn để làm giàu ajmalicin được thực hiện như sau:

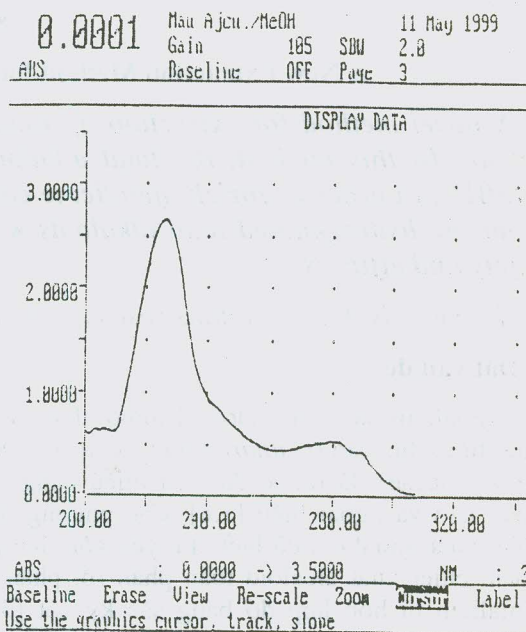
Cân chính xác 5g cần thô alcaloid, trộn với NaBH<sub>4</sub> theo tỷ lệ 1:1 so với Alc.tp, cho vào một bình cầu hai cổ mài dung tích 250 ml. Một cổ của bình được nối với một bình gạn có chứa 150 ml methanol, cổ kia nối với ống thông khí có chứa CaCl<sub>2</sub> khan. Bình cầu được giữ thẳng đứng nhờ

giá sắt và đặt vào xoong nước đá, phía dưới đặt một máy khuấy từ còn que khuấy được cho vào bình. Bình cầu được tránh ánh sáng. Cho methanol chảy từng giọt vào bình với vận tốc khoảng 1 ml/phút và bật máy khuấy từ. Cứ sau khoảng 20 phút, lấy mẫu để xác định điểm kết thúc phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng: tìm vết serpentin còn lại trong hỗn hợp phản ứng. Khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp được đặt vào tủ lạnh (5°C) khoảng 2 giờ. Lọc. Dịch lọc đem cô thu hồi dung môi dưới áp lực giảm ở 50°C còn khoảng 50 ml. Thêm 50 ml nước cất, chiết bằng acetat ethyl (20 ml, 6 lần). Rửa dịch chiết bằng nước cất tới pH7. Làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Cô dịch chiết trên máy cất quay ở 55-60°C dưới áp lực giảm và sấy khô trong chân không ở 50°C đến khối lượng không đổi thu được căn thô Alc.tp đã khử hoá (gọi tắt là Alc.H).

Định lượng ajmalicin trong hỗn hợp alcaloid trước và sau khi khử hoá [7]:

Dùng bản mỏng 20x20 cm tráng silica gel GF254 (Merck), lớp mỏng dày 0,25 mm, hoạt hoá ở 120°C trong 30 phút. Mẫu chuẩn: dung dịch ajmalicin base chuẩn 0,5% trong cloroform. Mẫu thử: dung dịch căn thô Alc.tp hoặc Alc.H 0,5% trong cloroform. Bản mỏng được chia đều thành 4 cột bằng nhau: hai cột đầu chấm 50 và 200 µl dung dịch chuẩn, cột thứ ba chấm 200µl dung dịch thử; cột thứ tư để nguyên làm mẫu trắng. Hệ dung môi triển khai: cloroform-methanol 97:3 (TT/TT). Đường chạy 15 cm. Bản mỏng đem soi dưới đèn UV ở bước sóng 254 nm để định vị vết ajmalicin theo chất chuẩn. Cạo nhanh thành phần silica gel có ajmalicin và mẫu trắng tương ứng. Phản hấp phụ bằng methanol, lọc vào bình định mức dung tích 25 ml, bổ sung methanol đến đủ vạch. Luôn để tránh ánh sáng. Đo mật độ quang

của mẫu chuẩn và mẫu thử ở bước sóng 282 nm, dùng mẫu trắng làm đối chứng. Dùng đường cong chuẩn và tính hàm lượng ajmalicin theo đồ thị. Phổ tử ngoại của ajmalicin tách từ mẫu thử trên lớp mỏng hoàn toàn tương tự với phổ của mẫu chuẩn (hình 1).



**Hình 1.** Phổ tử ngoại của ajmalicin tách từ hỗn hợp alcaloid rễ dừa cạn bằng sắc ký lớp mỏng (đo trên máy Secomam).

Khử hoá được thực hiện trên 6 mẫu căn thô alcaloid rễ dừa cạn, mỗi mẫu được thử lặp lại 3 lần lấy kết quả trung bình về lượng Alc.H. Kết quả xác định hàm lượng ajmalicin trong các mẫu alcaloid trước và sau khi khử hoá được ghi trong bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả làm giàu ajmalicin trong Alc.tp rễ dừa cạn bằng cách khử hoá

TT mẫu	Trước khi khử hoá			NaBH <sub>4</sub> (g)	Sau khi khử hoá	
	Căn Alc.tp (g)	HLAlc.tp (%)	HL ajmalicin (%)		Alc.H (g)	HL ajmalicin (%)
1	5,065	67,43	13,65	3,42	4,255	26,30
2	4,593	68,30	13,82	3,38	4,182	32,50
3	4,912	70,15	17,92	3,45	4,197	35,97
4	4,861	69,20	20,01	3,36	4,052	36,50
5	5,105	72,81	16,31	3,72	4,378	32,87
6	5,069	73,05	19,52	3,70	4,290	39,75

Ghi chú: HL- hàm lượng

Nhận xét: Sau khi khử hoá Alc.tp bằng  $\text{NaBH}_4$ , hàm lượng ajmalicin trong đó có thể tăng gấp đôi hàm lượng ban đầu. Trong các mẫu alcaloid toàn phần đã khử hoá, hàm lượng ajmalicin rất khác nhau từ 26,30 đến 39,75%.

Do thành phần của Alc.tp rễ dừa cạn rất phức tạp, trong quá trình khử hoá, ngoài serpentin, các alcaloid khác có nối đôi trong hỗn hợp cũng có thể phản ứng với  $\text{NaBH}_4$  để tạo các hợp chất hydro hoá. Để đảm bảo quy trình khử hoá ổn định cần xác định một số yếu tố thích hợp như tỷ lệ chất khử- Alc.tp, thời gian khuấy và nhiệt độ phản ứng.

- Ảnh hưởng của hàm lượng  $\text{NaBH}_4$  lên hiệu suất khử hoá.

Hiệu suất khử hoá được quy định là phần trăm ajmalicin tăng thêm sau khi khử hoá hỗn hợp Alc.tp với  $\text{NaBH}_4$ .

Để xác định tỷ lệ tối thiểu  $\text{NaBH}_4$ -Alc.tp, khử hoá được tiến hành với một mẫu căn thô alcaloid: Alc.tp:  $68,5 \pm 3,1\%$ ; ajmalicin  $19,5 \pm 0,6\%$ . Lượng  $\text{NaBH}_4$  được tính theo Alc.tp với tỷ lệ giảm dần từ 0,5/1 xuống 0,1/1. Thực nghiệm được tiến hành tương tự như trên. Mỗi lô thực hiện 3 lần lấy kết quả trung bình về Alc.H và hàm lượng ajmalicin. Tính hiệu suất khử hoá cho mỗi mẻ phản ứng (bảng 2).

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của tỷ lệ  $\text{NaBH}_4$ /Alc.tp lên hiệu suất khử hoá

Lô	Căn thô alcaloid (g)	Quy ra ajmalicin (g)	$\text{NaBH}_4$ /Alc.tp	Alc.H (g)	HL ajmalicin (%)	Hiệu suất (%)
1	5,00	9,75	0,50/1	4,241	39,65	72,43
2	5,00	9,75	0,30/1	4,250	39,55	72,40
3	5,07	9,89	0,25/1	4,273	39,93	72,39
4	5,03	9,80	0,20/1	4,261	39,66	72,40
5	5,10	9,94	0,15/1	4,390	37,33	64,87
6	5,05	9,85	0,10/1	4,292	35,22	53,40

Nhận xét: Khi giảm tỷ lệ  $\text{NaBH}_4$ - Alc.tp từ 0,5/1 xuống 0,2/1, hiệu suất khử hoá vẫn ở mức cao như khi dùng tỷ lệ 1/1 (lượng ajmalicin tăng thêm 72,4% so với ban đầu). Tuy vậy, nếu tiếp tục giảm tỷ lệ này thì hiệu suất khử hoá giảm đi rõ rệt. Do đó, có thể chọn tỷ lệ  $\text{NaBH}_4$ - Alc.tp thích hợp là 0,2/1 cho phản ứng khử hoá để làm giàu ajmalicin.

- Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian phản ứng

Cân chính xác 5,0 g căn thô alcaloid (hàm lượng ajmalicin  $19,0 \pm 0,3\%$ ) trộn lẫn với  $\text{NaBH}_4$  (tỷ lệ 1/5 so với Alc.tp), cho vào bình cầu và thực hiện phản ứng như trên ở các điều kiện khác nhau. Nhiệt độ phản ứng giảm dần từ  $25^\circ\text{C}$  xuống  $-5^\circ\text{C}$ , thời gian khuấy thay đổi ở các mức 30, 60, 120 phút theo từng lô thí nghiệm. Mỗi lô thực hiện ít nhất 3 mẻ phản ứng. Các kết quả trung bình được ghi ở bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ đến hiệu suất khử hoá

TT	Căn thô Alc.tp (g)	Nhiệt độ phản ứng ( $^\circ\text{C}$ )	Thời gian khuấy (phút)	Alc.H (g)	HL ajmalicin (%)	Hiệu suất (%)
1	5,00	25	30	4.450	29,84	36,16
2	5,00	25	60	4.420	28,68	30,00
3	5,00	5	30	4.185	37,68	61,73
4	5,00	5	60	4,217	38,92	68,33
5	5,00	5	120	4,305	39,04	72,37
6	5,00	0	30	4,251	38,58	68,30
7	5,00	0	60	4,309	39,48	74,48
8	5,00	0	120	4,313	39,44	74,47
9	5,00	-5	60	4,252	39,40	71,32
10	5,00	-5	120	4,268	39,19	71,33

Bảng 3 cho thấy khi nhiệt độ khử hoá giảm và thời gian khuấy tăng thì hiệu suất phản ứng tăng. Tuy nhiên, trong khoảng nhiệt độ dưới 0°C, hiệu suất hầu như không tăng khi giảm nhiệt độ và tăng thời gian khuấy. Điều này có thể giải thích là phản ứng khử hoá xảy ra rất chậm và càng kéo dài thời gian khuấy thì chất khử càng bị phân huỷ. Hiệu suất khử hoá đạt cao nhất (74,48%) ở nhiệt độ 0°C và thời gian khuấy 60 phút, nên có thể chọn các điều kiện này là thích hợp nhất.

Chiết xuất và khử hoá alcaloid toàn phần đã được thực hiện ở quy mô 20 kg rễ dừa cạn/mẻ. Giai đoạn tiếp theo là nghiên cứu phân lập ajmalicin tinh khiết từ hỗn hợp alcaloid toàn phần đã khử hoá.

#### - Nghiên cứu phân lập ajmalicin tinh khiết

Để lựa chọn phương pháp phân lập ajmalicin thích hợp nhất đã áp dụng 3 phương pháp khác nhau trong đó có hai phương pháp đã biết [6,9], có thể mô tả như sau:

- Phương pháp 1 (theo Kohlmunzer và Krupinska, 1960) [9]:

50 g căn Alc.tp đã khử hoá của rễ dừa cạn (Alc.H) được hoà tan trong methanol, lọc. Dịch lọc đem cô áp lực giảm ở 50°C. Hoà tan căn trong dung dịch acid acetic 15%, chiết với dicloethan. Dẫn các dịch chiết dicloethan (điểm sôi 53,5°C), kiểm hoá bằng dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tới pH9, sau đó rửa bằng nước cất tới pH7. Làm khan pha hữu cơ bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Cất thu hồi dung môi dưới áp lực giảm ở 50°C; sấy khô. Hoà tan căn trong benzen. Cô cạn rồi sấy khô. Kết tinh trong methanol thu được ajmalicin nguyên liệu.

- Phương pháp 2 (sắc ký cột theo Svoboda, 1963)[6]:

50 g Alc.H hoà tan trong cloroform (100 ml). Nạp 3 kg oxyd alumin Brockman II bằng phương pháp dung treo lên cột sắc ký dài 100 cm, Φ 10 cm. Sau khi cho cột chảy ổn định, và benzen chảy sát mặt cột, đổ từ từ dung dịch Alc.H trong cloroform lên mặt cột. Rửa giải bằng benzen, sau đó hỗn hợp benzen - cloroform với các tỷ lệ 9/1, 8/2, 7/3, 6/4 và 5/5 đồng thời hứng các phân đoạn (F = 500ml). Phát hiện ajmalicin trong các phân đoạn (Fx) bằng sắc ký lớp mỏng. Dẫn các F có ajmalicin (từ F<sub>1</sub> đến F<sub>25</sub>), cô cạn áp lực giảm ở 50°C. Kết tinh ajmalicin từ căn bằng methanol.

- Phương pháp 3 (do chúng tôi xây dựng) :

Hoà tan 50g Alc.H trong dung môi hữu cơ

thích hợp (khoảng 100ml). Để yên 2 giờ trong tủ lạnh, lọc, thu được một phần ajmalicin thô. Dịch lọc cô đặc, trộn lẫn với dung dịch acid tartric 3%. Lọc. Dùng dung dịch NH<sub>4</sub>OH đặc chỉnh pH = 9. Chiết hỗn hợp với acetat ethyl. Làm khan dịch chiết acetat ethyl bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Loại tạp. Lọc. Dịch lọc đem cô áp lực giảm ở 55 -60°C thu được ajmalicin thô. Dẫn các mẫu ajmalicin thô; kết tinh trong methanol thu được ajmalicin nguyên liệu.

Các mẫu ajmalicin thu được có điểm chảy 253 ÷ 257°C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> : -58,0 ÷ -63,0°C (dung dịch 0,5% trong cloroform); λ<sub>max</sub> : 227, 282, 292 nm; phổ IR hoàn toàn tương tự với phổ ajmalicin chuẩn; sắc ký khí chỉ cho một pic và phổ khối ứng với công thức cộng C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, M=352, độ phù hợp với phổ thư viện của ajmalicin là 98%; cho các phản ứng của ajmalicin; hàm lượng ajmalicin đạt từ 95,0 đến 98,5% (phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao [5]).

Ba phương pháp trên đã được áp dụng ở quy mô 50g Alc.H / mẻ, và được lặp lại 5 lần lấy số liệu trung bình. Bảng 4 đưa ra sự so sánh ba phương pháp phân lập ajmalicin từ cùng một mẫu Alc.tp đã khử hoá (50,0g; hàm lượng ajmalicin 32,87%).

Trong bảng 4, các phương pháp 1 và 2 đều phải sử dụng các dung môi hữu cơ độc hại là benzen và cloroform, hiệu suất phân lập ajmalicin chỉ đạt từ 51 đến 57,8%.

Phương pháp 3 do chúng tôi xây dựng khá đơn giản, không sử dụng các dung môi độc hại nói trên mà hiệu suất đạt trên 70%, cao hơn hẳn so với các phương pháp 1 và 2. Do đó có thể áp dụng phương pháp 3 để triển khai ở quy mô lớn hơn.

#### IV. Bàn luận và kết luận

Các hoạt chất có thể được chiết xuất từ dược liệu bằng nhiều phương pháp khác nhau. Tuy nhiên, những phương pháp sử dụng các dung môi độc hại chỉ có ý nghĩa ở quy mô phòng thí nghiệm. Chẳng hạn như một số phương pháp chiết ajmalicin từ dừa cạn, do sử dụng nhiều dung môi độc hại là benzen và cloroform nên vẫn chưa thể áp dụng vào sản xuất ở nước ta [4,6,9]. Việc nghiên cứu khử hoá alcaloid toàn phần rễ dừa cạn để làm giàu ajmalicin từ serpentin trong đó không những đã nâng gấp đôi hàm lượng ajmalicin mà còn tạo cơ sở thuận lợi để nghiên cứu tìm ra phương pháp mới phân lập ajmalicin từ hỗn hợp này, khắc phục được một số hạn chế của các

**Bảng 4.** So sánh kết quả phân lập ajmalicin theo ba phương pháp

TT	Các chỉ tiêu so sánh	Phương pháp 1	Phương pháp 2	Phương pháp 3
1	Alcaloid TP đã khử hoá (g)(chiết từ 6,1 kg bột rễ)	50,0	50,0	50,0
2	Hàm lượng ajmalicin (%)	32,87	32,87	32,87
3	Dung môi, hoá chất	Diclorethan, C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> , CH <sub>3</sub> OH	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> , CHCl <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> OH	Acetat ethyl, acid tartric, CH <sub>3</sub> OH
4	Thời gian phân lập (ngày)	2 ngày	4 ngày	2 ngày
5	Ajmalicin tinh khiết (g)	9,5 ± 0,23	8,4 ± 0,07	11,25 ± 0,05
6	HS phân lập từ Alc.H(%)	57,80 ± 0,63	51,10 ± 0,57	70,74 ± 0,54
7	HS chiết từ rễ (%)	0,156	0,138	0,184

Ghi chú : HS - hiệu suất

phương pháp trước đây. Phương pháp mới do chúng tôi xây dựng hoàn toàn không sử dụng dung môi hữu cơ độc hại, hiệu suất phân lập và tinh chế ajmalicin từ hỗn hợp đạt trên 70%; so với

được liệu khô đạt 0,184%. Phương pháp này đã được áp dụng ở quy mô pilot (chiết xuất 20kg rễ / mẻ) và cho những kết quả khả quan.

#### Tài liệu tham khảo

1).Tào Duy Cận , Thuốc và biệt dược , NXB KHKT 1994 , 1312. 2).Trần Nguyên Hữu , Phạm Thanh Kỳ , Bùi Lệ Mỹ và CS. Nghiên cứu chiết suất các alcaloid khác từ dừa cạn để tận dụng nguyên liệu, Báo cáo kết quả đề tài nghiên cứu cấp nhà nước KY0203 , Bộ Y tế ,12 - 1995. 3). Trần Văn Thanh, Nguyễn Văn Chiến, Nguyễn Việt Hùng, Dược học số 3 - 1996, 19 - 20. 4). Trần Văn Thanh, Phạm Ngọc Hùng, Trần Hữu Thị, Dược liệu tập 1, số 4/1999, 21-24. 5). Lê Ngọc Phan, Trần Văn Thanh, Thái Phan Quỳnh Như , Dược học số 9-1998, 21-24. 6). G.H. Svoboda, A.T. Oliver, and D.R.Bedwell, Loydia, Vol.26, No3, 141-153, (1963). 7). J.Gleyer, E.Lavergne de Cerval, E.Stanislas, Annales pharmaceutiques francaise, 37, No 5-6, 217-224, (1979). 8). The Martindale, 30<sup>th</sup>ed., 794, 802, 941. 9). S.Kohlmunzerr, J. Krupinska, Dissertationes pharmaceuticae, 1960, XII, 2, 85-92.

*Tap chí Dược liệu, tập 5, số 5/2000 (trang 143-146)*

## NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH KHÁNG HELICOBACTER PYLORI CỦA MỘT SỐ CHẾ PHẨM TỪ CÂY DẠ CẨM

*Lại Quang Long, Phạm Thanh Kỳ - Trường Đại học Dược Hà Nội  
Phan Quốc Hoàn, Nguyễn Kim Trung - Bệnh viện TWQĐ 108*

(Nhận bài ngày 22 tháng 8 năm 2000)

### Summary

#### Studies on the Anti-Helicobacter pylori Activities of *Hedyotis capitella*

*Extracts (2:1) of the herbal and the root of Hedyotis capitella Wall. ex G. Don var. mollis Pierre ex Pit. strongly inhibited the growth of in vitro Helicobacter pylori (HP). Solutions of the total alkaloids (1%) and KLD6 (2mg/ml), an alkaloid separated by silica gel column chromatography, have inhibitory effect on the growth of in vitro HP with the MIC of 100 µg and 80 µg, respectively.*

*Key words: Hedyotis capitella, Alkaloids, Inhibition, Helicobacter pylori.*

## I. Đặt vấn đề

Viêm loét dạ dày hành tá tràng (DDTT) là bệnh khá phổ biến hiện nay trên thế giới với tỷ lệ mắc bệnh từ 5 đến 10% dân số. Ở nước ta, tỷ lệ này là 5,6-7%. Đó là một bệnh mãn tính, có xu hướng tái phát, diễn biến nhiều năm, có thể có biến chứng [3]. Bệnh do nhiều nguyên nhân, nhưng hiện nay người ta thừa nhận phần lớn là do vi khuẩn *Helicobacter pylori* (HP) gây ra. Năm 1983, Warren J.R. và Marshall B.J. đã phân lập được vi khuẩn HP từ hang vị dạ dày của những bệnh nhân viêm dạ dày mạn tính [1]. HP cũng tiết ra một loại độc tố và độ độc của nó có thể trở nên mạnh mẽ bởi sự sản sinh amoniac do men urease làm trung gian [2,3]. HP urease được coi như vai trò chủ yếu trong sinh bệnh học bệnh viêm loét DDTT. Vì vậy, sự tiêu diệt tận gốc loại vi khuẩn này và ức chế HP urease là rất quan trọng trong điều trị những bệnh nhân mắc phải bệnh này. Dạ cẩm là một trong những vị thuốc được y học cổ truyền dùng để chữa bệnh viêm loét DDTT [4]. Nhưng đến nay, chưa có tác giả nào nghiên cứu về hoạt tính diệt HP của nó. Trong bài này, chúng tôi xin thông báo một số kết quả nghiên cứu về hoạt tính ức chế HP của các chế phẩm từ cây dạ cẩm (*Hedyotis capitellata* Wall. ex G.Don var. *mollis* Pierre ex Pit.)

## II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### - Nguyên liệu và chế phẩm thử:

+ Cây dạ cẩm thân xanh có lông, thu hái ở Hoàn Bồ - Quảng Ninh tháng 4/1999, đã được GS Vũ Văn Chuyên kiểm tra và xác định. Phần rễ và thân lá trên mặt đất được chế biến, chiết xuất và phân lập thành các chế phẩm thử sau:

Nước sắc thân lá và nước sắc rễ dược liệu 2:1 (ký hiệu NS1 và NS2, tính ra dược liệu khô là 2g/1ml).

Dung dịch alcaloid toàn phần 1%, (AN1).(10mg/1 ml)

Dung dịch alcaloid KLD6 tinh khiết (2 mg/1ml).

### + Môi trường và thiết bị nuôi cấy:

Môi trường thạch máu *Helicobacter* Agar BBL<sup>R</sup> Stacker plates của hãng Becton Dickenson (Germany), đường kính 9 cm.

Canh thang Trytone Soya broth dùng để bảo quản và vận chuyển các mảnh sinh thiết.

Tủ ấm CO<sub>2</sub>, (37°C), túi tạo khí Campy-Pak của

hãng BBL<sup>R</sup>, bình Jaz cấy kỵ khí.

Máy ly tâm 3000 vòng/phút, micropipet loại 20 µl, kính hiển vi CD50 OLYMPUS Nhật.

Các khoanh giấy đã tẩm sẵn kháng sinh chuẩn amoxicillin (30µg) và tetracyclin (30µg) của hãng BBL<sup>R</sup> còn hạn sử dụng.

Các khoanh giấy đường kính 7 mm đã tiệt trùng để tẩm chế phẩm thử.

Kit Pyloritek Test SERIM (USA) để chẩn đoán men urease hoạt động của HP trong mảnh sinh thiết của người mắc bệnh DDTT.

+ Vi khuẩn thử *Helicobacter pylori*: được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm sinh thiết bằng nội soi lấy từ hang vị dạ dày của bệnh nhân mắc bệnh viêm loét DDTT đang hoạt động và tại Bệnh viện Y học cổ truyền Việt Nam, thử Clotest cho dương tính và nuôi cấy tại khoa Vi sinh vật, Bệnh viện Trung ương quân đội 108.

### - Phương pháp nghiên cứu:

+ Thăm dò tác dụng kháng khuẩn của các chế phẩm với 2 loại vi khuẩn *Escherichia coli* và *Pseudomonas aeruginosa* theo tài liệu [5,6].

+ Thử sơ bộ khả năng ức chế HP của chế phẩm bằng phương pháp ức chế trực tiếp: Lấy 0,5 ml dung dịch mỗi chế phẩm lắng đều lên mặt đĩa môi trường đã được cấy HP; nuôi cấy ở 37°C trong tủ ẩm có 10% khí CO<sub>2</sub> hoặc trong túi Campy-Pak. Đánh giá kết quả sau 5 ngày nuôi cấy bằng cách so sánh với mẫu đối chứng không có chất thử [2,7,8].

+ Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các chế phẩm bằng kỹ thuật khuếch tán trên môi trường (phương pháp Kirby-Bauer): dùng micropipet hút lượng dung dịch chứa các chất định thử nhỏ lên các khoanh giấy có đường kính 7 mm đã được tiệt trùng ở 180°C, để bay khô dung môi:

Dung dịch AN1: có các nồng độ 200, 150, 100, 75, 50 µg;

Dung dịch KLD6: có các nồng độ 200, 160, 120, 80, 40 µg.

Các đĩa môi trường có chứa xấp xỉ 10<sup>8</sup> vi khuẩn, sau khi đặt các khoanh giấy tẩm các chất thử trên, được nuôi cấy ở 37°C trong tủ ẩm có 10% khí CO<sub>2</sub> (hoặc trong túi Campy-Pak). Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của các chế phẩm thử được xác định sau 5 ngày kể từ khi nuôi cấy.

Dùng các khoan giấy tẩm kháng sinh chuẩn amoxicillin 30  $\mu\text{g}$  làm đối chứng. Tất cả các thí nghiệm được làm 3 lần [2]. Quy định đường kính vòng ức chế của hãng BBL<sup>R</sup> đối với mẫu chuẩn đối chứng Amoxicillin (Amo C-30) có nồng độ 30  $\mu\text{g}$  như sau: đường kính >18 mm là có nhạy cảm (S), đường kính  $\approx$  14-17 mm là trung gian (I) và đường kính <13 mm là đề kháng (R).

### III. Kết quả

- *Thăm dò tác dụng kháng khuẩn đối với E. coli và P. aeruginosa:*

Trên môi trường thạch dinh dưỡng đã cấy các chủng vi khuẩn định thử, lấy 1 ml dung dịch chế phẩm lắng đều khắp mặt, nuôi cấy ở 37°C trong 18h. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả thử kháng khuẩn *E. coli* và *P. aeruginosa*

Vi sinh vật Mẫu thử	<i>E. coli</i> DT119814	<i>P. aeruginosa</i> VM201
NS1	+++	+++
NS2	++	++
AN1	+++	-

- *Thử sơ bộ khả năng ức chế HP của các chế phẩm:* Kết quả được ghi ở bảng 2

**Bảng 2.** Kết quả thử sơ bộ khả năng ức chế HP của các chế phẩm.

Mẫu thử	Lượng chất thử	Ức chế sự phát triển HP
NS1	0,5 ml	+++
NS2	0,5 ml	+++
AN1	5 mg	+++
KLD6	1 mg	+++
Đối chứng	0 mg	-

**Ghi chú:** (+++): ức chế hoàn toàn; (-): không ức chế.

- *Xác định nồng độ tối thiểu có khả năng ức chế vi khuẩn HP của AN1 và KLD6 phương pháp khuếch tán trên môi trường. Kết quả được trình bày ở bảng 3.*

**Bảng 3.** Kết quả đo đường kính trung bình vòng vô khuẩn thử (mm)

Nồng độ ( $\mu\text{g}$ )	200	150	100	75	50	30
AN1	24,5	24,0	23,5	12,5	10,5	

Nồng độ ( $\mu\text{g}$ )	200	160	120	80	40	30
KLD6	31,1	29,0	25,8	22,5	-	
Amoxicillin						27,7

### IV. Bàn luận

1. *Helicobacter pylori* là vi khuẩn Gram (-), cư trú trong niêm mạc dạ dày. Chúng có hệ thống men phân huỷ urê rất mạnh, làm tăng pH xung quanh, nên có thể sống được trong môi trường có pH acid, làm hỏng lớp nhầy che phủ niêm mạc, làm giảm khả năng tự bảo vệ của dạ dày. Như

vậy, HP chỉ sống được ở môi trường có pH từ 6 trở lên. Do đó chúng tôi đã chuẩn bị các chế phẩm có pH= 6-6,5 trong dung môi là nước để đảm bảo HP không bị ảnh hưởng của pH dung môi, ở pH này các hoạt chất trong các chế phẩm không bị phá huỷ.

Kết quả ở bảng 1 phù hợp với kết quả thử tác

dụng kháng khuẩn của một số chế phẩm từ cây dạ cẩm [6], đã cho thấy các chế phẩm NS1, NS2 và AN1 1% có tác dụng ức chế đối với *Escherichia coli* và *Pseudomonas aeruginosa* là 2 loại vi khuẩn Gram (-) điển hình có sức đề kháng cao.

2. Kết quả ở bảng 3 cho thấy các chế phẩm NS1, NS2, AN1KLD6 đều có tác dụng ức chế vi khuẩn HP. Với dung dịch alcaloid toàn phần 1% (AN1), vi khuẩn HP thể hiện sự nhạy cảm ở nồng độ chất thử tối thiểu là 100 µg (lấy theo tiêu chuẩn đường kính vòng vô khuẩn của kháng sinh đối chứng là amoxicillin 30 µg > 18 mm). Với KLD6 là một alcaloid tinh khiết được tách từ alcaloid toàn phần bằng sắc ký cột, vi khuẩn HP thể hiện sự nhạy cảm ở nồng độ chất thử tối thiểu là 80 µg (đường kính vòng ức chế vô khuẩn là 22,5 mm).

Kết quả thực nghiệm cho thấy bên cạnh những tác dụng sinh học khác, sự ức chế vi khuẩn HP của các chế phẩm của cây dạ cẩm có một ý nghĩa quan trọng trong sử dụng cây dạ cẩm vào điều trị bệnh viêm loét dạ dày theo kinh nghiệm của nhân dân.

## V. Kết luận

Các chế phẩm là nước sắc thân lá (2:1), nước sắc rễ (2:1), dung dịch alcaloid toàn phần 1%, dung dịch alcaloid KLD6 (2 mg/1 ml) của cây dạ cẩm có tác dụng ức chế vi khuẩn HP phân lập và nuôi cấy từ người mắc bệnh viêm loét DDTT trên *in vitro*.

Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) đối với HP của dung dịch alcaloid toàn phần 1% là 100 µg và của dung dịch KLD6 (2 mg/ml) là 80 µg trên *in vitro*.

## Tài liệu tham khảo

1. Warren J.R., Marshall B. J., Lancet, 1983, 1, 1273-1275.
2. Eun- Ah Bae, Myung Joo Han, Nam- Jae Kim, Dong- Hyun Kim, Anti Helicobacter pylori Activity of Herbal Medicines, Biol. Pharm. Bull. 1998, 21 (9) 990-992.
3. Tạ Long, Helicobacter pylori và bệnh loét tá tràng, Tạp chí Y học thực hành, 1996, 10, 37-40.
4. Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nxb Y học, 1999, 482-283.
5. Lại Quang Long, Chu Thị Lộc, Phạm Thanh Kỳ, Vũ Văn Điền. Nghiên cứu thăm dò hoạt tính kháng khuẩn của cây Dạ cẩm thân xanh có lông, Tạp chí Dược học, 1/2000, 11-12.
6. Trường Đại học Dược Hà Nội, tài liệu thực tập vi sinh kháng sinh- (inroneo), 1993, 7-23.
7. Imamura L., Tsuchya M., Inada A., Nakanishi T., Kobashi K., J.Trad. Med., 1995, 12, 129-136.
8. Kim D.H., Bae E.A., Jang I.S., Han M.J., arch. Pharm. Res., 1996, 19, 447-449.

*Tạp chí Dược liệu, tập 5, số 5/2000 (trang 146-149)*

## NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG GIẢM ĐAU CỦA CÂY CỎ MẬT

Lê Văn Công - Bệnh viện 198

Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Thị Dung - Viện Dược liệu

(Nhận bài ngày 12 tháng 7 năm 2000)

### Summary

#### Studies on Acute Toxicity and Analgesic Effect of *Eriochloa ramosa*

*Acute toxicity and analgesic effect of the soft extract from the aerial part of Eriochloa ramosa (Retz.) Hack have been studied. The results showed that*

1. *The extract has very low acute toxicity. No mouse was dead in an oral dose of 40g/kg corresponding to 500g of the dried aerial part of the plant.*
2. *It exhibited a moderate but long-lasting analgesic effect as shown by the acetic acid-induced writhing test.*

*Key words: Eriochloa ramosa (Retz.) Hack, Acute Toxicity, Analgesic Effect*

### I. Đặt vấn đề

Trong báo cáo trước đây (1), chúng tôi đã nghiên cứu về thực vật học và tác dụng hạ sốt của

cây cỏ mật. Trong công trình này, chúng tôi xin trình bày kết quả nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng giảm đau của cây.



## II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### A. Vật liệu nghiên cứu

1. Cao mềm của cây cỏ mặt *Eriochloa ramosa* (Retz.) Hack, họ Lúa (Poaceae).

2. Cách chiết cao mềm: Thu hái toàn cây cỏ mặt (bỏ rễ) vào tháng 6, rửa sạch, phơi khô, tán nhỏ, xay nghiền thành bột thô. Lấy 10 kg cho vào thùng dung tích 100 lít. Đổ vào 30 lít cồn 80°. Ngâm 40-48 giờ, chiết lấy dịch chiết 1. Đổ tiếp vào 15 lít cồn, ngâm lần thứ hai trong 24 giờ, chiết lấy dịch 2. Làm tiếp để được dịch chiết 3 và 4. Gộp các dịch chiết lại, lọc, cất dưới áp lực giảm 80-100 mmHg để thu hồi cồn. Sau đó, bốc hơi tiếp để loại bỏ nước cho đến thể chất cao mềm. Kết quả thu được 808 g cao, đạt tỷ lệ 8,08%.

Khi dùng cho động vật thí nghiệm, lấy cao mềm hoà vào nước cất đến đậm độ thích hợp. Liều dùng tính ra số gam cao mềm cho 1 kg động vật thí nghiệm. Có trường hợp tính qui ra được liệu khô.

3. Sơ bộ về thành phần hoá học: Kết quả nghiên cứu của Viện Hoá thuộc Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ quốc gia và phòng Phân tích tiêu chuẩn Viện Dược liệu cho thấy tỷ lệ tinh dầu ở cây tươi là 0,0012%- 0,02%, ở cây khô là 0,12-0,2% và ở cao mềm là 1,0%- 1,5%. Ngoài ra còn có flavonoid, peptid, acid amin, đường.

### B. Phương pháp nghiên cứu

1. Phương pháp xác định độc tính cấp: Tiến hành theo quyết định 371 BYT/QĐ của Bộ Y tế (2), qui định của Tổ chức Y tế thế giới khu vực Tây Thái

Bình Dương (3) và sách "Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc" (4).

### 2. Phương pháp nghiên cứu tác dụng giảm đau:

Dùng chuột nhắt trắng khoẻ mạnh có trọng lượng 19-23 g, gây đau bằng cách tiêm trong màng bụng dung dịch acid acetic 1% với liều lượng 0,1 ml/20 g chuột (50 mg/kg) (phương pháp của Koster [5] và Turner [6]).

Đau được biểu hiện bằng chuột choãi 2 chân ra sau, bụng sát xuống sàn, mình xoắn vặn. Mỗi lần như vậy được tính là một cơn quặn đau. Sau khi bắt đầu tiêm acid acetic để gây đau được 5 phút, đếm số cơn quặn đau trong khoảng thời gian 5 phút một. Cụ thể là từ 5 đến 10 phút, từ trên 10 phút đến 15 phút, rồi trên 15 phút đến 20 phút, từ trên 20 phút đến 25 phút, trên 25 phút đến 30 phút.

Thuốc được cho uống trước khi gây đau 30 phút. Lô chứng thay thuốc bằng cách cho uống nước với cùng thể tích.

Thí nghiệm được tiến hành trên 4 lô:

- Lô 1: Đối chứng
- Lô 2: Dùng analgin dung dịch 2%, liều 200 mg/kg
- Lô 3: Dùng cao mềm liều 1 g/kg
- Lô 4: Dùng cao mềm liều 0,5 g/kg.

## III. Kết quả nghiên cứu

1. Độc tính cấp: Đã thử với nhiều liều khác nhau với kết quả được ghi ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thử độc tính cấp của cây cỏ mặt

Lô	Số chuột thử nghiệm	Liều dùng (g/kg)		Số chuột chết
		Theo cao mềm	Theo dược liệu	
1	7	24	300	0
2	7	32	400	0
3	7	40	500	0

2. Tác dụng giảm đau: Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bằng acid acetic ở chuột nhắt trắng được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Tác dụng giảm đau của cao cỏ mật

Lô	Số chuột trong lô	Số trung bình các cơn đau				
		Từ trên 5-10 phút	Từ trên 10-15 phút	Từ trên 15-20 phút	Từ trên 20-25 phút	Từ trên 25-30 phút
Chứng	8	21,7 ± 0,7	21,6 ± 0,5	21,4 ± 0,7	17,7 ± 0,8	14,6 ± 0,7
Analgín 200mg/kg	6	5,7 ± 0,8*	5,5 ± 0,7*	5,5 ± 0,6*	4,5 ± 0,6*	3,2 ± 0,4*
Cao 1g/kg	8	10,0 ± 1,7*	10,1 ± 1,8*	6,9 ± 1,6*	1,6 ± 1,1*	0,6 ± 0,6*
Cao 0,5g/kg	8	11,1 ± 1,5*	13,0 ± 1,1*	8,5 ± 1,3*	5,5 ± 1,0*	1,8 ± 0,9*

\*P < 0,001

#### IV. Bàn luận

##### 1. Về độc tính cấp.

Đã cho chuột uống với nồng độ thuốc bình thường, liều 24 g cao cho 1 kg thân trọng chuột, tính ra dược liệu khô là 300 g/kg và nồng độ đậm đặc với liều 32 g cho 1 kg thân trọng, tính ra dược liệu khô là 400 g/kg, chuột vẫn không chết.

Ở liều 40 g cao cho 1kg thân trọng chuột, tính ra dược liệu khô là 500g/kg, chúng tôi đã phải cho chuột uống 2 lần trong ngày, vì không thể cho uống hết trong một lần, nhưng chuột vẫn không chết, cho nên không thể xác định được LD<sub>50</sub> (4).

Trong nhân dân, người ta thường dùng liều 10-20 g tính theo dược liệu khô cho một người lớn. Nếu người nặng 50 kg, liều dùng là 0,2-0,4 g/kg. Ở đây, đã thử với liều 500 g/kg, gấp 1250 lần liều dùng ở người, chuột vẫn không chết, chứng tỏ thuốc có độ an toàn cao.

##### 2. Về tác dụng giảm đau

a). Ở lô chứng, số cơn đau duy trì khá đều kể từ phút thứ 5 sau khi gây đau đến phút thứ 20. Sau đó, số cơn đau có thưa hơn, nhưng đến phút thứ 30, cơn đau vẫn còn xuất hiện (hình 1.)

b). Ở lô dùng analgín, số cơn đau giảm hẳn chỉ còn khoảng 25% so với lô chứng. Tác dụng giảm đau của analgín kéo dài đến phút thứ 30 và có ý nghĩa thống kê (P < 0,001) (hình 1).

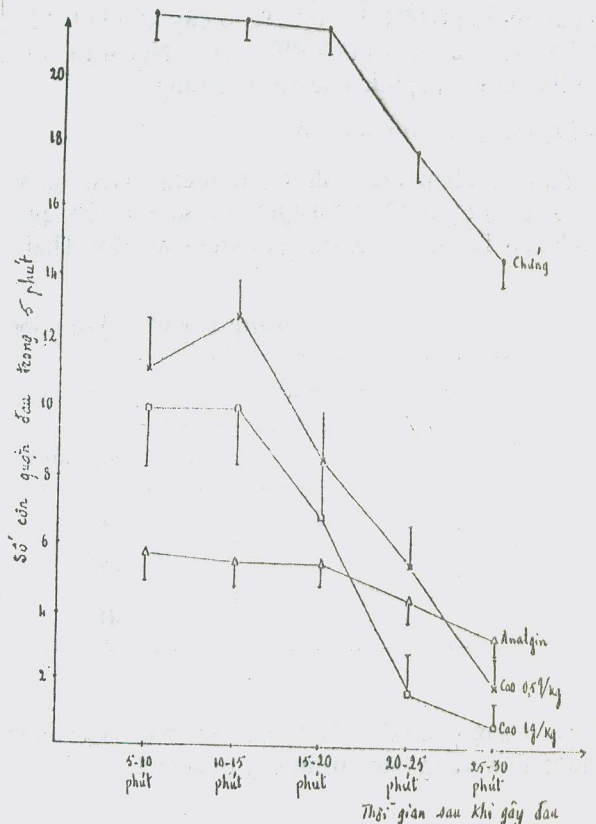
c). Ở lô dùng cao (hình 1), số cơn đau giảm khoảng 50% trong 20 phút đầu tiên và tác dụng giảm đau này có ý nghĩa thống kê (P < 0,001), trong đó, tác dụng giảm đau khi dùng liều 0,5 g/kg tuy có kém hơn chút ít, nhưng cũng xấp xỉ như khi dùng liều 1 g/kg. Đặc biệt trong 5 phút kể từ phút thứ 25 đến phút thứ 30 ở lô dùng liều 1 g/kg, có tới 7 trong số 8 con thử nghiệm, không xuất hiện một cơn đau nào.

#### V. Kết luận

Đã nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng giảm đau của cao mềm cây cỏ mật với kết quả như sau:

1. Về độc tính cấp, đã cho chuột nhất trắng uống liều 40 g cao cho 1 kg thân trọng, tính ra dược liệu khô là 500 g/kg, gấp 1250 lần liều dùng tính theo 1 kg thân trọng ở người, chuột vẫn không chết. Do đó, không thể xác định được LD<sub>50</sub> và chúng tỏ thuốc có độ an toàn cao.

2. Về tác dụng giảm đau, trên mô hình gây đau bằng cách tiêm acid acetic vào phúc mạc ở chuột nhất trắng, cao mềm cây cỏ mật có tác dụng giảm đau rõ rệt. Tuy tác dụng giảm đau kém analgín, nhưng kéo dài khá lâu.



Hình 1. Diễn biến số cơn quặn đau tính 5 phút một

1.) Lê Văn Công, Nguyễn Dương Hùng, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Thị Dung, Tạp chí Dược liệu số 3/1999, tr.87-90. 2.) Bộ Y tế, Hướng dẫn cách xác định độc tính của thuốc, ban hành kèm theo quyết định 371 BYT/QĐ ngày 12-3-1999 của Bộ trưởng Bộ Y tế. 3.) Tổ chức Y tế thế giới- Khu vực Tây Thái Bình Dương. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines, Manila, Philippines, 1993. 4.) Đỗ Trung Đàm, Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, NXB Y học, 1996. 5.) Koster R., M. Anderson, E.J.De Beer, Acetic acid for analgesic screening, Fed.Proc.Biol., 18, 412, 1959. 6.) Turner R.A., Screening.

Tạp chí Dược liệu, tập 5, số 5/2000 (trang 149-152)

## NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA CÀ GAI LEO (*SOLANUM HAINANENSE HANCE*) TRÊN COLAGENASE

Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Minh Khai  
Phạm Kim Mân, Đoàn Thị Nhu  
Viện Dược liệu

(Nhận bài ngày 14 tháng 7 năm 2000)

### Summary

#### Effects of *Solanum hainanense* Hance on Collagenase

All the total extract, glycoalkaloid, n-hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water fractions of *Solanum hainanense* Hance have inhibitory effect on collagenase activity. Of these, glycoalkaloids proved to be the major inflammatory substances.

Key words: *Solanum hainanense* Hance, Glycoalkaloids, Inflammatory Effect, Collagenase

### 1. Đặt vấn đề

Colagenase là một enzym có tác dụng đặc hiệu trên collagen. Trong các trường hợp bệnh lý như xơ gan, xơ phổi...có sự tăng tích tụ collagen ở các tổ chức này.

Quá trình thoái hoá tổ chức collagen có sự tham gia của collagenase. Bình thường collagenase ở dạng không hoạt động. Khi có các tác nhân tác động như corticosteroid, bỏng, viêm loét...hoạt động của collagenase mới thể hiện rõ [3]. Vì vậy, những chất có tác dụng ức chế lên collagenase đồng thời cũng có tác dụng trên quá trình rối loạn bệnh lý collagen.

Cà gai leo (*Solanum hainanense* Hance, Solanaceae) được nhân dân dùng làm thuốc chữa các bệnh đau răng, rần cắn, dị ứng... Theo kết quả nghiên cứu dược lý của Viện Dược liệu, cà gai leo có tác dụng chống viêm, làm thu teo tuyến ức... Nguyễn Minh Khai trong luận án phó tiến sĩ dược học đã kết luận cà gai leo có tác dụng ức chế sinh tổng hợp collagen ở một số tổ chức mô liên kết ở chuột nhắt. Tác giả cũng nghiên cứu tác dụng chống viêm của dịch chiết toàn phần của cà

gai leo trên collagenase tinh khiết [1].

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

2.1. Nguyên tắc: "Hoạt độ collagenase được biểu thị bằng độ dài cột gel bị tiêu (mm) sau một thời gian" theo phương pháp của Berman có điều chỉnh [1].

#### 2.2. Nguyên liệu và phương pháp:

2.2.1. Chuẩn bị các chế phẩm thử: Dược liệu cà gai leo được thu hái ở Sóc Sơn, làm khô tự nhiên và xay nhỏ.

- Chuẩn bị dịch chiết toàn phần của cà gai leo: 10 g bột dược liệu cà gai leo chiết nguội với cồn 40° Gộp dịch chiết, thu hồi cồn. Cẩn hoà trong 10 ml cồn 40° thu được dịch chiết toàn phần của cà gai leo với tỉ lệ 1:1.

- Chuẩn bị các dịch chiết phân đoạn của cà gai leo: Từ dịch chiết toàn phần, cô cho bay hơi hết cồn và lần lượt lắc với n-hexan, cloroform, acetat ethyl, butanol và nước. Cô các dịch chiết và hoà loãng bằng cồn 40° thu được các phân đoạn n-hexan, cloroform, acetat ethyl, butanol và nước theo tỉ lệ 1:1.

- Chuẩn bị dịch chiết glycoalbumin toàn phần: Lấy 10 g bột dược liệu chiết sinh hàn ngược với cồn 80° trong 6 giờ. Cô dung dịch cồn. Cẩn hoà trong acid sulfuric 4%. Lắc dung dịch acid với cloroform để loại tạp. Kiểm hoá dịch chiết bằng amoniac đặc tới pH 10. Để lắng qua đêm. Lọc và rửa cẩn nhiều lần với dung dịch amoniac 1% thu được glycoalbumin toàn phần. Chiết cẩn bằng cồn 80° Thu hồi cồn và hoà loãng cẩn với cồn 40° để được dịch chiết glycoalbumin toàn phần theo tỉ lệ 1:1.

### 2.2.2. Điều chế cột gel:

-Điều chế dung dịch collagen: Cắt, rút gân một đuôi chuột cống trắng. Rửa nhiều lần bằng dung dịch clorid natri 1M. Rửa lại nhiều lần bằng nước cất(3 lần). Sau đó, cứ 600 mg gân được ngâm trong 50ml dung dịch acid acetic 0,2M và để trương nở qua đêm. Đồng thể hoá hỗn dịch thu được dung dịch collagen. Thêm clorid natri vào dung dịch trên để đạt nồng độ 1M.

Ly tâm lấy tủa collagen. Cẩn rồi hoà tủa trong acid acetic 0,05M theo tỉ lệ 1g tủa/6ml acid acetic 0.05M.

Sau khi thẩm tích, thêm clorid natri vào để đạt nồng độ 0,4M. Điều chỉnh đến pH 7,5-8 bằng dung dịch tris 2M, thu được dung dịch collagen trong suốt.

- Điều chế cột gel: Dùng các ống mao quản

đường kính 2mm, dài 15cm. Hút dịch collagen tới chiều cao 2/3 ống. Nút đáy bằng nút cao su và bịt đầu còn lại bằng giấy nến. Các ống này được đặt thẳng đứng trong tủ ấm 37° C và để qua đêm. Collagen đông đặc thành gel. Khi có tác dụng của collagenase, phần cột gel bị tiêu sẽ hoá lỏng.

-Xác định hoạt độ collagenase: Lấy cột gel ra khỏi tủ ấm và đánh dấu chiều cao cột gel(tức là xác định điểm mốc của quá trình tiêu gel).

Pha loãng dung dịch collagenase 0,2mg/ml thành dung dịch collagenase 0,1 mg/ml bằng dung dịch đệm tris -HCl 0,05M (pH 7,9).

### 2.3. Tiến hành thử:

-Ống chứng: Dùng ống mao quản cho dung dịch collagenase 0,1 mg/ml lên bề mặt cột collagen chứng. Chiều cao dung dịch enzym khoảng 1 cm.

-Ống thử: Dung dịch thử bao gồm dung dịch collagenase 0,2 mg/ml và dịch chiết dược liệu, pha theo tỉ lệ 1:1 cho các ống thử và cho dung dịch hỗn hợp dung dịch collagenase và dịch chiết dược liệu vào cột collagen tương tự như trên.

Để tất cả các cột gel vào tủ ấm 37° C/ 24 giờ.

## 3. Kết quả và bàn luận:

### 3.1. Tác dụng của dạng chiết toàn phần cà gai leo

**Bảng 1.** Tác dụng của dịch chiết toàn phần của cà gai leo trên collagenase (phương pháp Berman) Hàm lượng collagen 1,16%. Thời gian tiêu gel 24 giờ.

Tên chế phẩm	Độ pha loãng	Tiêu gel (mm)	Tỷ lệ enzym %		
			Hoạt động	Ức chế	Hoạt hoá
Cà gai leo (chiết toàn phần Tỷ lệ 1 : 1)	1 : 2	6	60	40	
	1 : 4	10	100	0	
	1 : 6	11	110	-	10
	1 : 10	13	130	-	30
	1 : 20	10	100	-	0
	1 : 100	10	100	-	-
Tris — HCl 0,05 M		0	0	0	0
Collagenase 0,1 mg/ml		10	100	0	0

### 3.2. Tác dụng của dạng chiết glycoalbumin:

**Bảng 2.** Tác dụng của cà gai leo dạng chiết glycoalcaloid trên collagenase (phương pháp Berman).  
Hàm lượng collagen 1,16%. Thời gian tiêu gel 24 giờ

Tên chế phẩm	Độ pha loãng	Tiêu gel (mm)	Tỷ lệ enzym %		
			Hoạt động	Ức chế	Hoạt hoá
Dịch chiết (Glycoalcaloid cà gai leo)	1 : 2	6	60	40	0
	1 : 4	9	90	10	0
	1 : 6	10	100	0	0
	1 : 10	10	100	0	0
	1 : 12	13	130	0	30
	1 : 20	10	100	0	0
Tris — HCl 0,05 M		0	0	0	0
Collagenase 0,1 mg/ml		10	100	0	0

### 3.3. Tác dụng của các phân đoạn chiết từ cà gai leo:

**Bảng 3.** Tác dụng của một số phân đoạn chiết từ cà gai leo trên collagenase  
Enzym: 0,1 mg/ml. Hàm lượng collagen 1,16%. Thời gian tiêu gel: 24 h

Dung dịch chiết để thử	Độ pha loãng	Tiêu gel (mm)	Tỷ lệ enzym %		
			Hoạt động	Ức chế	Hoạt hoá
Hexan	1 : 2	0	0	100	
	1 : 4	0	0	100	
	1 : 6	0	0	100	
	1 : 8	7	70	30	
	1 : 10	8	80	20	
	1 : 12	10	100	0	
Cloroform	1 : 2	0	0	100	
	1 : 4	0	0	100	
	1 : 6	0	0	100	
	1 : 8	4	40	60	
	1 : 10	7	70	30	
	1 : 12	10	100	0	
Acetat ethyl	1 : 2	0	0	100	
	1 : 4	0	0	100	
	1 : 6	0	0	100	
	1 : 8	7	70	30	
	1 : 10	9	90	10	
	1 : 12	10	100	0	
Butanol	1 : 2	0	0	100	
	1 : 4	0	0	100	
	1 : 6	0	0	100	
	1 : 8	0	0	100	
	1 : 10	7	70	30	
	1 : 12	8	80	20	
	1 : 14	9	90	10	
H <sub>2</sub> O	1 : 2	4	40	60	
	1 : 4	5	50	50	
	1 : 6	8	80	20	
	1 : 8	10	100	0	

	1 : 10	10	100	0	
Collagenase 0,1 mg/ml		10	100	0	
Tris - HCl 0,05		0	0	0	

Nhận xét: Bảng 1, 2, 3 cho thấy cả hai dạng chiết toàn phần và glycoalcaloid đều có tác dụng ức chế collagenase. Riêng cao toàn phần, tỷ lệ 1/6 và 1/10 có tác dụng hoạt hoá và dạng chiết glycoalcaloid ở tỷ lệ 1/12 cũng có tác dụng hoạt hoá.

Các phân đoạn chiết tách chủ yếu tác dụng rõ ở phân đoạn n-hexan, cloroform, acetat ethyl, butanol. Trong đó dịch chiết phần acetat ethyl và butanol có tác dụng mạnh hơn cả. Theo kết quả nghiên cứu, thành phần hoá học chủ yếu của phân đoạn này là nhóm polyphenol và glycoalcaloid.

Những kết quả trên thể hiện tính phong phú của thuốc cà gai leo trong điều trị bệnh, đặc biệt những bệnh có liên quan đến rối loạn chuyển hoá collagen.

#### Tài liệu tham khảo

1). Nguyễn Minh Khai, *Luận án phó tiến sĩ Dược học*, Trường Đại học Dược Hà Nội, 1991; 2). M. B. Berman. *Analytical Biochemistry*, 54, 1973, 522-34; 3). P. Bornstein. Disorders of collagen metabolism, 3<sup>rd</sup> edition, London, 1980.

*Tap chí Dược liệu, tập 5, số 5/2000 (trang 152-155)*

## KHẢ NĂNG ỨC CHẾ PHẢN ỨNG PEROXY HOÁ LIPID CỦA FLAVONOID CHIẾT TỪ LÁ CHAY (*ARTOCARPUS TONKINENSIS* A. CHEV.)

Nguyễn Đăng Dũng<sup>(1)</sup>, Trần Lưu Vân Hiến<sup>(2)</sup>,  
Vũ Dương Quý<sup>(1)</sup>, Nguyễn Văn Trinh<sup>(1)</sup>

(1) Học viện Quân y, (2) Viện y học cổ truyền Việt Nam

(Nhận bài ngày 4 tháng 7 năm 2000)

### Summary

#### Inhibition of Lipid Peroxidation by Flavonoids Extracted from Leaves of *Artocarpus tonkinensis*

*Lipid peroxidation damages biological membranes leading to malfunctions. This study aimed to determine the inhibitory effect of flavonoids extracted from leaves of Artocarpus tonkinensis A. Chev. on lipid peroxidation. Oxidative stress was caused in rat kidney and liver cell suspensions by a mixture of ascorbic acid and FeCl<sub>2</sub>. The lipid peroxidation was monitored by measuring the MDA created in the reaction milieu.*

*The result showed that the flavonoids inhibited lipid peroxidation in a concentration-dependent manner. This result may promote the use of the flavonoids as natural antioxidants in therapeutics.*

*Key words: Artocarpus tonkinensis A. Chev., Flavonoids, Lipid Peroxidation, Inhibition*

## Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, nhiều tác giả đã quan tâm và có những nghiên cứu về gốc tự do (free radicals) và những ảnh hưởng của chúng đối với cơ thể sống. Hoạt động của các gốc tự do dẫn đến một chuỗi phản ứng oxy hoá - khử, trong đó sản phẩm của phản ứng đầu lại thúc đẩy phản ứng tiếp theo, kết quả là làm biến đổi chức năng của nhiều phân tử sinh học. Một trong những ảnh hưởng có hại của các gốc tự do đối với cơ thể sống là gây ra phản ứng peroxy hoá lipid của các màng sinh học, dẫn đến tổn thương màng và làm rối loạn chức năng màng. Các nghiên cứu của nhiều tác giả cho thấy một số flavonoid nguồn gốc thiên nhiên là những chất chống oxy hoá, do đó, có thể hạn chế được phản ứng peroxy hoá lipid màng [5].

Mặt khác, khi nghiên cứu về cây chay (*Artocarpus tonkinensis* A.Chev.), một số tác giả đã chiết xuất được các flavonoid tổng số chiết từ lá cây chay có tác dụng kéo dài thời gian sống dư của mảnh ghép da trên động vật thực nghiệm [4]. Ngoài ra, dịch chiết toàn phần của rễ và lá chay có tác dụng ức chế miễn dịch.

Trên cơ sở đó, chúng tôi đặt vấn đề khảo sát tác dụng chống peroxy hoá lipid của flavonoid chiết từ lá chay nhằm tạo cơ sở cho những nghiên cứu ứng dụng lá chay cho một số bệnh có liên quan đến tổn thương oxy hoá.

## Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### Vật liệu

- Flavonoid tổng số chiết từ lá chay do Phòng Đông y thực nghiệm - Viện Y học cổ truyền Việt Nam cung cấp.

- Dịch nghiên cứu đồng thể gan, thận chuột cống trắng: giết chuột, lấy tổ chức gan và thận (sau khi đã bóc tách bao thận), 50 mg mỗi loại, nghiền riêng biệt từng loại trong cối sứ với dung dịch KCl 1,2% vừa đủ 20 ml ở nhiệt độ nước đá đang tan.

### Phương pháp

Nguyên lý kỹ thuật: Xác định sự peroxy hoá lipid theo phương pháp do Jadwiga Robak và cs mô tả 1988, dựa trên nguyên lý xác định hàm lượng dialdehyd malonic (MDA), một sản phẩm được tạo ra trong quá trình peroxy hoá lipid; sản phẩm này có thể phản ứng với acid thiobarbituric để tạo thành phức hợp trimethin có màu hồng và

có đỉnh hấp phụ cực đại ở bước sóng 530-532 nm.

Tiến hành kỹ thuật:

- Lấy 2 ml dịch nghiền đồng thể cho vào các ống nghiệm riêng biệt, thêm vào mỗi ống nghiệm 0,2 ml acid ascorbic 2,6 nM và 0,2 ml muối Mohr  $4.10^{-5}M$ . Hỗn dịch phản ứng được ủ trong bể nước  $37^{\circ}C$  trong 30 phút.

- Thêm vào mỗi ống 1ml acid trichloroacetic 40%. Ly tâm các ống ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút.

- Hút lấy 2 ml dịch nổi ở mỗi ống, cho vào các ống nghiệm mới và thêm vào mỗi ống nghiệm mới này 1 ml acid thiobarbituric 0,8%. Đun sôi cách thuỷ các ống nghiệm trong 20 phút. Làm lạnh các ống nghiệm tới nhiệt độ phòng.

- Đo độ hấp phụ quang học của các mẫu tại bước sóng 532 nm trên máy đo quang Spekol 11-Khoa Hoá sinh- Viện Quân y 103.

- Ống so sánh được chuẩn bị gồm 2 ml KCl 1,2% , 1 ml acid trichloroacetic 40% và 1 ml acid thiobarbituric 0,8% , được đun sôi và làm lạnh cùng điều kiện như các ống thử.

Lượng MDA được tính theo công thức:

$$X \text{ ( nmol )} = \frac{E \times 3 \times 3,4}{0,156 \times 2} = E \times 32,69$$

trong đó:

E : độ hấp phụ quang học của mẫu (OD)

3 : thể tích mẫu khi đo quang

3,4 : thể tích toàn phần của mẫu phân tích

2 : thể tích dịch nổi để xác định MDA

0,156 : độ hấp phụ quang học của dung dịch MDA 1nM được đo bằng buồng đo quang có độ dày 1cm tại bước sóng 532 nm.

## Kết quả và bàn luận

Thí nghiệm xác định khả năng ức chế phản ứng peroxy hoá lipid của flavonoid lá chay được tiến hành trên 6 mẫu dịch nghiền đồng thể tế bào gan và 6 mẫu dịch nghiền đồng thể tế bào thận từ 6 chuột cống trắng khác nhau, mỗi mẫu dịch nghiền đồng thể tế bào được thí nghiệm với 4 nồng độ flavonoid khác nhau.

Kết quả được trình bày ở các bảng và đồ thị sau:

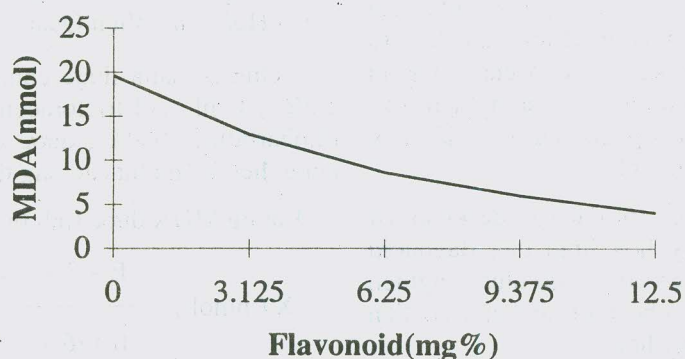
**Bảng 1.** Khả năng ức chế phản ứng peroxy hoá lipid của flavonoid lá chay trong dịch nghiền đồng thể tế bào gan chuột cống trắng.

Nhóm	Flavonoid 0 mg%	Flavonoid 3,125 mg%	Flavonoid 6,25 mg%	Flavonoid 9,375 mg%	Flavonoid 12,5 mg%
$X_{Op} \pm SEM$	0.599±0.057	0.395±0.077	0.263±0.066	0.183±0.051	0.124±0.022
MDA (nmol)	19.58	12.91	8.60	5.98	4.05
Tỷ lệ %	100	65.93	43.92	30.54	20.68

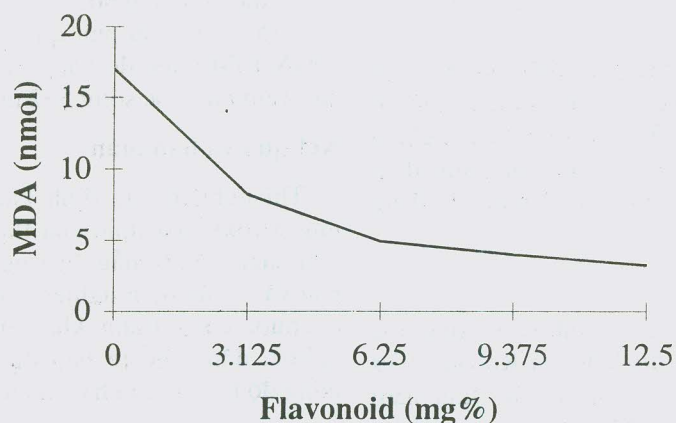
**Bảng 2 :** Khả năng ức chế phản ứng peroxy hoá lipid của flavonoid lá chay trong dịch nghiền đồng thể tế bào thận chuột cống trắng.

Nhóm	Flavonoid 0 mg%	Flavonoid 3,125 mg%	Flavonoid 6,25 mg%	Flavonoid 9,375 mg%	Flavonoid 12,5 mg%
$X_{Op} \pm SEM$	0.520±0.039	0.252±0.027	0.151±0.009	0.122±0.007	0.099±0.008
MDA (nmol)	17.00	8.24	4.94	3.99	3.24
Tỷ lệ %	100	48.47	29.06	23.47	19.06

*Đồ thị tương quan giữa nồng độ flavonoid trong hỗn hợp phản ứng và lượng MDA hình thành*



Tương quan giữa nồng độ flavonoid và lượng MDA hình thành (dịch nghiền đồng thể tế bào gan chuột cống trắng);  $r = -0,97$



Tương quan giữa nồng độ flavonoid và lượng MDA hình thành (dịch nghiền đồng thể tế bào thận chuột cống trắng) ;  $r = -0,89$



Kết quả nghiên cứu ở cả 2 bảng cho thấy flavonoid chiết xuất từ lá chay có tác dụng ức chế phản ứng peroxy hoá lipid màng tế bào gan và thận chuột thực nghiệm trong dịch nghiền đồng thể. Khi tăng nồng độ flavonoid trong hỗn hợp phản ứng thì mức độ peroxy hoá lipid giảm rõ rệt. Ở nồng độ flavonoid 12,5mg%, lượng MDA tạo thành trong hỗn hợp phản ứng chỉ còn 20,68% (đối với dịch nghiền đồng thể tế bào gan) và 19,06% (đối với dịch nghiền đồng thể tế bào thận) so với mẫu đối chứng. Nồng độ ức chế 50% của flavonoid lá chay đối với dịch đồng thể tế bào gan là IC 50= 5,49 mg% và đối với dịch đồng thể tế bào thận là IC 50 = 3,03 mg % ở các điều kiện đã nghiên cứu.

Các flavonoid có đặc tính là khi vào cơ thể, chúng có thể tạo thành các gốc tự do ít hoạt động hơn các gốc tự do hình thành trong các quá trình bệnh lý. Sự tham gia của flavonoid trong phản ứng gốc tự do dẫn đến sự đứt chuỗi phản ứng gốc. Nói cách khác, nguyên nhân cơ bản của sự ức chế là việc thay thế gốc tự do hoạt động bằng gốc tự do của flavonoid ít hoạt động hơn, không có khả năng tiếp tục phản ứng chuỗi. Nhờ cơ chế này, flavonoid có thể có tác dụng ổn định màng tế bào và do đó duy trì chức năng sinh học của màng tế bào trong các trường hợp màng tế bào có nguy cơ bị tổn thương do các tác nhân oxy hoá.

Theo Mai Văn Điển (1996), flavonoid tổng số

#### Tài liệu tham khảo

- 1). Lê Xuân Hải và cs. *Tác dụng kéo dài thời gian sống dư mảnh ghép da dị gen chuột nhắt trắng thực nghiệm của flavonoid chiết từ lá chay (Artocarpus tonkinensis A.Chev.)*. Tóm tắt báo cáo khoa học Hội nghị Miễn dịch học, Hà nội 1995; 2). Mai Văn Điển. *Tác dụng trên một số chỉ tiêu miễn dịch chuột nhắt trắng bị chiếu xạ liều 7Gy và hiệu quả bảo vệ phóng xạ của flavonoid chiết xuất từ vỏ đậu xanh (Vigna aureus - Roxb)*. Luận án phó tiến sỹ khoa học y dược, Hà nội 1996,111-120; 3).Trần Lưu Văn Hiến. *Tính chất lý hoá và sinh học của bioflavonoid chiết xuất từ cây Kim ngân (Lonicera dasystyla R.)*. Luận án phó tiến sỹ khoa học y dược, Hà nội 1992,11-13; 4). Trần Lưu Văn Hiến, Mai Văn Điển, Phạm Mạnh Hùng, Ngô Văn Thông. *Hoạt tính sinh học của một số flavonoid chiết xuất từ cây thuốc nam*. Tóm tắt báo cáo Hội nghị khoa học về cây con thuốc, Hà nội 1995; 5).Harborn J.B. *The flavonoids (advance in research since 1986)*. Chapman and Hall, 1994, 619-645; 6). Trinh Phuong Lien, Ripperger H., Porzel A., Tran Van Sung, Adam G. *Constituents of Artocarpus tonkinensis*. Pharmazie 1998, Vol. 53, No. 5, 353

chiết xuất từ vỏ đậu xanh cũng có tác dụng chống peroxy hoá lipid màng tế bào gan chuột trong dịch nghiền đồng thể; ở nồng độ flavonoid 176mg%, lượng MDA được tạo thành chỉ còn 22,3% so với mẫu đối chứng. Ngoài ra, flavonoid chiết từ vỏ đậu xanh có tác dụng bảo vệ phóng xạ trên động vật thực nghiệm, tác dụng bảo vệ này có thể do khả năng của các flavonoid này ức chế phản ứng peroxy hoá lipid các màng sinh học, trong đó có màng tế bào.

So sánh khả năng ức chế phản ứng peroxy hoá lipid của flavonoid chiết từ lá chay và của flavonoid chiết từ vỏ đậu xanh, chúng tôi thấy khả năng này của flavonoid chiết từ lá chay cao hơn rõ rệt. Với kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi có cơ sở khoa học để tiến hành những nghiên cứu tiếp theo về tác dụng của flavonoid lá chay để bảo quản mô thận trong điều kiện mô này chịu stress oxy hoá.

#### Kết luận

Flavonoid tổng số chiết xuất từ lá chay (*Artocarpus tonkinensis* A.Chev.) có tác dụng ức chế phản ứng peroxy hoá lipid màng tế bào gan và thận chuột cống trắng trong dịch nghiền đồng thể, làm giảm đáng kể lượng MDA hình thành do tác nhân gây oxy hoá trong hỗn hợp phản ứng. Tác dụng ức chế này tỷ lệ với nồng độ flavonoid trong phản ứng in vitro.

## DA ĐỘNG VẬT LÀM THUỐC

*Hỏi:* Có người nói da của một số động vật có tác dụng chữa bệnh rất tốt. Xin cho biết có đúng như vậy không?

*Đáp:* Cùng với những bộ phận khác như xương, thịt, mật, tiết..., da của một số động vật (hoang dã hoặc nuôi dưỡng) cũng được dùng làm thuốc trong y học và kinh nghiệm dân gian. Y học hiện đại chỉ dùng gelatin chế từ da để làm thuốc cầm máu, chữa tiêu chảy, loét dạ dày và ruột. Có khi còn phối hợp với tanin làm thành sản phẩm gelatin để dùng có hiệu quả hơn.

Y học cổ truyền và kinh nghiệm dân gian lại dùng da nguyên được chế biến dưới nhiều dạng như cao đặc, đốt thành than, sao hoặc nướng giòn.

- *Da trâu* (ngưu bì), cạo bỏ hết lông, thịt, gân màng, cắt thành từng miếng, phơi hay sấy khô. Dược liệu có màu tro đen, mặt trong màu trắng xám, chất cứng chắc, vị mặn, mùi tanh. Tuệ Tĩnh (Nam dược thần hiệu) đã dùng da trâu ngâm nước cho mềm, cắt nhỏ (40 g) trộn với nửa chén nước cốt gừng, nấu nhỏ lửa thành cao đặc, phết lên giấy, rồi dán vào chỗ đau, chữa phong thấp, chân tay đau nhức. Cao da trâu (4 g) phối hợp với sợi bông (4 g, đốt thành tro) uống chữa thổ huyết, băng huyết, đái ra máu. Cao da trâu với vỏ hầu (nung đỏ), lộc nhung và tang phiêu tiêu (tổ bộ ngựa cây dâu, sao rượ), liều lượng mỗi thứ bằng nhau, tán nhỏ, trộn đều, luyện với hồ nếp làm viên bằng hạt ngô đồng. Mỗi ngày dùng 50 viên chia làm hai lần, uống với nước muối pha ít rượu vào lúc đói chữa đái són. Cao da trâu (20 g), tằm gửi cây dâu (50 g), lá ngải cứu (12 g) thái nhỏ, phơi khô, sắc với 400 ml nước còn 100 ml, uống làm hai lần trong ngày, chữa động thai.

Theo kinh nghiệm dân gian, da trâu phối hợp với chân gà, phơi khô, đốt thành than, tán nhỏ, rắc lên vết thương để cầm máu. Sở dĩ như vậy, vì chất calci, gelatin, keratin có trong hai dược liệu cùng với calci có sẵn trong máu đã làm tăng nhanh phản ứng đông máu. Hơn nữa, bột than da trâu và chân gà, khi rắc lên vết thương, làm cho máu được tiếp xúc với bề mặt khô và nhấp nên làm vỡ nhanh các tiểu cầu làm cho máu chóng đông và cầm lại ngay. Cao da trâu (10 g), muối nổi (8 g), cao ích mẫu (3 g), trộn đều, uống với nước sôi để nguội, chữa rong kinh, máu ra nhiều như bị băng huyết. Để chữa chảy máu dạ dày, người ta lấy bột than da trâu (10 g) trộn với máu lợn (10 ml) uống với nước mía. Cao da trâu đôi khi được làm

*Nguyễn Thuận Minh (Hà Bắc)*

giả cao ban long, chú ý tránh nhầm lẫn.

- *Da nhím* (thích vị bì), sau khi lột, rắc vôi bột ở mặt trong cho đều, để nơi thoáng gió cho khô. Da nhím có mép cong, mặt ngoài màu xám, vàng xám hoặc nâu xám, có gai cứng chi chít, dài ngắn không đều, ở phần bụng phủ lông mềm; mặt trong màu trắng xám hoặc màu nâu, có mùi tanh đặc biệt. Khi dùng, ngâm da vào nước cho mềm, nhỏ bỏ hết gai, cạo sạch lông, thịt và mỡ. Để ráo nước, cắt thành từng miếng nhỏ, phơi khô, rồi sao nóng với bột hoạt thạch cho đến khi dược liệu có màu vàng. Lấy ra, chải cho hết bột hoạt thạch, cạo lần nữa cho sạch lông.

Dược liệu có vị đắng, tính bình, có tác dụng mát huyết, làm se, cầm máu, giảm đau. Liều dùng hàng ngày là 6-16 g dưới dạng nước sắc hay thuốc bột. Nếu đem da nhím đốt cháy, tán nhỏ, uống với ít rượu có tác dụng chữa kiết lỵ, uống với nước chữa trúng độc. Da nhím phối hợp với mai ba ba, tổ ong, xác rắn, móng giò lợn, lượng mỗi thứ bằng nhau, đốt thành tro, trộn đều. Mỗi ngày uống 8 g với nước ấm chữa trĩ (Nam dược thần hiệu). Cũng với công dụng trên, da nhím và da con trâu trắng (bạch ngưu bì) đốt thành than, chỉ xác và hoa hòe sao vàng, tán nhỏ, rây bột mịn. Trộn chung với lượng bằng nhau. Mỗi lần uống 12 g. Kết hợp lấy nước sắc lá kinh giới rửa sạch. Phụ nữ có thai không được dùng.

- *Da rắn lột* hay *xác rắn lột* (xà thoát). Dược liệu là tấm màng da hơi trong, nhăn nhúm có khi bị rách, mặt lưng màu xám bạc óng ánh, có vảy mỏng, mặt bụng màu trắng sữa hoặc hơi vàng, thể nhẹ, chất hơi dẻo, trơn nhẵn, bóp nhẹ có tiếng lạo xạo, mùi hơi tanh, vị nhạt hơi mặn. Dùng sống hoặc phun rượu cho ướt đều, ủ cho ngấm, rồi sao nhẹ cho khô.

Xác rắn lột được dùng từ lâu trong y học cổ truyền. Tuệ Tĩnh (Nam dược thần hiệu) đã dùng xác rắn lột cho vào ống tre, đốt lấy khói xông vào cổ họng để chữa viêm họng. Hải Thượng Lãn Ông lại dùng xác rắn lột cắt nhỏ, sao, tán bột, tẩm với rượu cho thành bánh, đắp chữa nhọt cứng sần, không có mủ. Theo kinh nghiệm dân gian, xác rắn lột đốt thành tro, rắc chữa chốc mép, đắp vào rốn trẻ nhỏ để chữa ứ đọng, trộn với mỡ trăn và

phèn phi lại chữa tổ đũa. Để chữa mụn nhọt, đầu vú bị nứt nẻ ở phụ nữ, lấy xác rắn lột (100 g) phối hợp với củ ráy dai (100 g), nghệ vàng (100 g), dầu vừng (100 g). Củ ráy và nghệ vàng để tươi, thái mỏng, cho vào dầu vừng rán khô, sau bỏ bã. Xác rắn lột đốt tền tính, tán nhỏ, rây bột mịn rồi cho vào dầu thuốc, trộn đều. Bôi hàng ngày (kinh nghiệm của cụ Nguyễn Như Khuê ở Thái Nguyên- Bắc Thái). Đông bào Thượng ở Tây Nguyên dùng xác rắn lột nấu nước uống chữa da bị khô, ngứa ngứa, hay bong vảy.

- **Da lừa** được chế biến như sau (theo Trung dược chí). Ngâm da vào nước trong 2-3 ngày cho mềm. Lấy ra, cạo sạch lông, cắt miếng nhỏ. Rửa lại cho sạch, rồi xếp vào nồi, đổ ngập nước, đun 3 ngày, 3 đêm. Chắt nước cốt, thêm nước mới, đun tiếp, làm như vậy 3-5 lần để lấy hết chất keo trong da. Gộp các nước chắt lại, lọc. Thêm ít phèn chua, khuấy đều để loại tạp chất lắng xuống dưới. Gạn nước trong, cô đặc. Trước khi gạn được khoảng hai giờ, thêm đường và rượu với tỷ lệ 0,9 kg đường và 400 ml rượu cho 60 kg da lừa. Và nửa giờ trước khi được cao, lại thêm 100 g dầu đậu tương để khỏi dính. Sau cùng, đổ ra, để nguội, cắt thành từng miếng. Sản phẩm được gọi là a giao hay keo da lừa. Thành phần chính của a giao là collagen, khi thủy phân cho các acid amin như arginin, lysin, histidin, cystin, glycin....Do đó, a giao là một vị thuốc bổ và cầm máu được

dùng trong trường hợp cơ thể suy nhược, gầy yếu, ho ra máu, băng huyết, kiết lỵ ra máu. Còn có tác dụng an thai. Ngày dùng 6-12 g. Dùng sống hoặc sao với bồ hoàng hoặc bột vỏ sò mới dùng, A giao (10 g), sinh địa (5 g), hoàng liên (3 g), can khương (2g). Các dược liệu (trừ a giao) sắc lấy nước, lọc, bỏ bã. Thêm a giao đã thái nhỏ vào. Uống làm hai lần trong ngày. Chữa kiết lỵ ra máu (bài thuốc kinh nghiệm của Trung Quốc).

- **Da trăn** đem nướng giòn, tán bột; mai mực cạo thành bột; nhọ nồi (lấy ở nồi đồng hoặc nồi đất); chu sa phi, tán bột. Các vị với lượng bằng nhau, trộn đều. Lấy tấm bông tẩm thuốc, bôi nhiều lần trong ngày, chữa lở miệng, loét mũi.

Ngoài ra, theo tài liệu nước ngoài, da ở nách và bẹn con tê giác cạo sạch lông, bỏ màng và mỡ, đem phơi nắng (ban ngày) và sấy lửa (ban đêm) đủ 100 ngày. Tẩm rượu một tháng, rồi phơi hoặc sấy khô. Khi dùng, ngâm da vào nước tro trong 7 ngày đêm, lấy ra, rửa sạch, hấp cách thủy cho chín nhừ, rồi thái mỏng, ăn hàng ngày. Thuốc tăng cường sức chống đỡ của cơ thể để phòng ngừa bệnh tật. Da lợn tươi (đã tiết khuẩn) lại được các bác sỹ ở Trường Đại học Tổng hợp Hồng Kông dùng như một lớp áo bọc để che phủ tạm thời các vết bỏng làm cho da của người bị bỏng tự phát triển và phục hồi trở lại.

**Đỗ Huy Bích**

## NGHIÊN CỨU NHỮNG CÂY CHỨA BERBERIN TRÊN THẾ GIỚI VÀ TRONG NƯỚC (tiếp theo trang 129)

Cây vàng đắng của Việt Nam chứa ít nhất 5 alcaloid trong đó 3 chất là berberin, palmatin và jatrorrhizin [26].

Ở Việt Nam, việc bảo vệ tái sinh chưa được coi trọng và chưa có biện pháp hiệu quả, hơn nữa, nạn phá rừng đã làm cho nhiều loài cây chứa berberin với hàm lượng cao trở thành hiếm và quý, được đưa vào Sách đỏ Việt Nam như hoàng liên gai (*Berberis julianae* Schneid.), hoàng liên ba gai (*B. wallichiana* DC.), hoàng liên Trung Quốc

(*Coptis chinensis* Franch.), hoàng liên chân gà (*C. quinquesecta* W.T.Wang), vàng đắng (*Coscinium fenestratum* Colebr.), hoàng liên ô rô (*M. bealei* Carr.), hoàng liên Nhật (*M. japonica* (Thunb.) DC.), mã hồ (*M. nepalensis* DC.) và thổ hoàng liên (*Thalictrum foliolosum* DC.) [28]. Để có nguồn nguyên liệu ổn định, cần có biện pháp bảo vệ tái sinh tự nhiên, kết hợp với nghiên cứu trồng trọt, di thực những loài quý cho hàm lượng berberin cao. (Xem tiếp trang 130).

## KHẢO SÁT DƯỢC LIỆU MÓNG LỘN NHÀ

*Chen Jianwei và cs.*

*China J. of Chinese Materia Medica, 1998, 23 (6), 330.*

Công trình đề cập đến nhận dạng các đặc điểm vi học và lý hoá của dược liệu và xác định các acid amin và các nguyên tố vô cơ của móng lợn nhà. Hàm lượng protein trong móng lợn là 80,65%. Móng lợn chứa 7 acid amin cần và 9 acid amin khác. Các nguyên tố vô cơ chính là Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Fe, và Zn.

N.V.

## CÁC DẪN CHẤT CỦA ACID ELLAGIC TỪ LÁ CÂY GIOI (*EUGENIA JAMBOS L.*)

*Ajit Kumar Chakravarty và cs.*

*Indian Journal of Chemistry, 1998, 373 (12), 1316-1318.*

Từ dịch chiết methanol từ lá cây gioi (*Eugenia jambos L.*), các tác giả đã phân lập và nhận dạng là 3,(3'),4'- tri-O-methylellagic, acid-4-0- $\beta$ -D-glucopyranosid (I) và 3,3',4'-tri-O-methylellagic bằng các phân tích hoá học và phổ 2D-NMR. Chất (I) được công bố lần đầu tiên.

N.V.

## STEROID TỪ RỄ TRÚC ĐÀO (*NERIUM OLEANDER L.*)

*M. Mostoqul Huq và cs.*

*(J. Nat. Product, 1999, 62 (7), 1065-1067.*

Nhiều bộ phận của cây trúc đào (*Nerium oleander L.*) do có nhiều tính chất kháng khuẩn, kháng ung thư, chống độc và cường tim. Trúc đào chứa nhiều glycosid tim, triterpen và nhiều chất mạch hở. Trong công trình này, các tác giả đã phân lập và nhận dạng bằng các phân tích phổ hai chất cardenolid mới là 3 $\beta$ - hydroxy-5 $\alpha$ - carda-14(15), 20(22)-dienolid ( $\beta$ -anhydroepidigitoxigenin) và 3 $\beta$ --0-(D-digitalosyl)-21-hydroxy-5 $\beta$ -carda-8, 14, 16, 20(22)-tetraenolid (neriumogenin-A-3 $\beta$ -D-digitalosid và 2 chất đã biết là proceragenin và neridienon A).

N.V.

## TÁC DỤNG BẢO VỆ NÃO CỦA VÀI HỢP CHẤT TỪ DƯỢC LIỆU CỔ TRUYỀN TRUNG HOA

*Ma Liyan và cs.*

*China Journal of Chinese Materia Medica, 1999, 24(4), 256.*

Để khảo sát tác dụng bảo vệ não của một số hợp chất phân lập từ cây cỏ dùng trong y học cổ truyền Trung Hoa, các tác giả đã dùng máy phân tích động học vi tuần hoàn bằng laser và noron não nuôi cấy của chuột cống. Các flavonoid của sắn dây (*Pueraria lobata*), saponin của tam thất (*Panax notoginseng*), oxymatrin, anisomadin và berberin đã được chứng minh là có thể làm giãn các vi mạch và làm tăng lưu lượng máu ở não của màng não chuột nhắt đã được gây mê. Các flavonoid của sắn dây, saponin của tam thất, oxymatrin và anisomadin làm tăng lưu lượng máu, oxymatrin cũng như anisomadin làm tăng khối lượng hồng cầu trong các hoạt động ở tần số cao. Các saponin của tam thất có thể bảo vệ các noron não đã được nuôi cấy của chuột cống khỏi độc tính thần kinh do glutamat. Từ đó, thấy rằng flavonoid của sắn dây, saponin của tam thất, oxymatrin, anisomadin và berberin có một số tác dụng bảo vệ não, nhưng khác nhau về cơ chế.

N.V.

# VIETNAMESE MEDICINAL PLANTS

## CINNAMOMUM CASSIA BLUME - LAURACEAE

Vietnamese names: Quế, quế đơn, quế bì, nhục quế, quế Trung Quốc, ngọc quế (Tày), kía (Dao).

English names: Chinese cassia, Chinese cinnamon, cassia bark.

### Description

Evergreen big tree, reaching a height of 10-20 m. All parts glabrous. Leaves alternate, rigidly coriaceous, oblong-lanceolate to lanceolate, 12-25 cm long, 4-8 cm wide base rounded, apex acute or slightly obtuse, strongly 3-nerved, shining dark green above pale glaucous beneath; petiole 1.5-2 cm long.

Inflorescence in axillary and terminal cymose panicle, 7-15 cm long, stamens 6, pubescent; ovary one-celled.

Globular drupe ovoid or oval-shaped, 1.2-1.3 cm long, surrounded at the base by the enlarged campanulate perianth-receptacle.

Bark and leaves are aromatic when crushed.

Flowering period: April-July.

Fruiting period: October-December.

### Distribution and Ecology

*C. cassia* Blume has become famous for its drug value since long in Vietnam. The plant originates in the primary tropical jungles, at altitudes below 800 m and has been introduced since time immemorial. Today, it is concentrated in Quang Ninh, Yen Bai, Thanh Hoa, Nghe An, Quang Nam, Quang Ngai provinces. The plant is light-demanding but shade-enduring when young. It is often cultivated in mountainous areas where the temperature varies from but shade-enduring 22 to 23°C, with an average annual rain fall of 1,600 mm or more. The plant prefers moist and fertile soils with pH ranging between 4.5-5.6. Flowering and fruiting begin in the 4-5<sup>th</sup> year.

### Cultivation

*C. cassia* can be grown by layering or from offshoots but normally from seeds. Best quality seeds are obtained from 15 to 20-year-old plants. Only intact big and thick ripen fruits from branches 1 m below the top should be used for seed. Seeds should be as soon as possible after



collecting or may be stored in 5-10% moist sand for not longer than 15 days. To get a uniform stand, the seeds can be put in water and only heavy, sunken seeds are used.

The seeds are sown 2 cm deep on well-prepared nursery beds of 20 cm high with a spacing of 20x20 cm and mulched with straw or cut grass and watered daily. Germination starts 15 days and finishes 45 days after sowing. The mulching is removed and a shading frame is set up. In autumn, seedlings attain a height of 25-30 cm and can be lifted to a second nursery where they are planted at a spacing of 40x40 cm. After another one year, they can reach a height of 1-1.5 m and be transplanted in final places, often in forests. Seedlings can be transplanted with or without soil retaining at the base, both methods give 90% survival. In the latter case, the main roots are cut back and the remaining rootstock is dipped in a fertilizer solution overnight before

planting. Wild growing seedlings can also be used with good results.

Offshoots growing from horizontal roots after harvest can be dug up along with some soil and planted. This method of propagation is slow but the plants can be harvested sooner, after 6-7 years of planting.

The plant can also be propagated by air-layering in August-September and planted the next February. This method is chiefly used on family-scale cultivation.

The plant should be grown in soils of forest origin, preferably weathered soils with a 40-50 cm thick and humus, moist and well drained top layer. The slope of the field should not exceed 37°. In damp soils, the plant grows high but the bark is of low quality. Sun-exposed and wind-hidden hill-slopes are most preferred.

#### Part used

The dried stem bark, branch bark, leaf and twig.

The barks are collected in April-May and in September-October from 5- of more year-old trees.

#### Chemical Composition

Cinnamon bark contains up to 4% volatile oil (usually ca. 1%) consisting of polymeric 5,7,3', 4'-tetrahydroxyflavan-3, 4-diol units; tannin, catechins; proanthocyanidiol; resins, mucilage; gum; sugars; cinnzelamin; cinnzelanol and coumarins etc.

The bark oil contains cinnamaldehyde (usually 60-75%), eugenol acetate, cinnamyl acetate, cinnamyl alcohol, methyl eugenol, benzaldehyde, cuminaldehyde, benzyl benzoate, linalool, pinene, phellandrene, cymene, caryophyllene, safrole etc.

The leaf oil contains eugenol, cinnamaldehyde, cinnamyl acetate, benzaldehyde, humulene, isocaryophyllene,  $\alpha$ -ylangene, coniferaldehyde, methyl cinnamate, ethyl cinnamate.

The Cinnamon growing in Yen Bai province yields 80-95% cinnamaldehyde in the bark oil and 50-80% in the leaf oil.

Harvest for bark should be carried out in March and August in these months the bark oil reaches the maximum.

#### Pharmacological Actions

*C. cassia* oil inhibits the growth of various bacteria including *Mycobacterium tuberculosis* and *Vibrio cholerae*.

Its counteracts *Entamoeba moshkowskii* and is also effective against viruses.

The essential oil and the total extract of the bark exert multiple pharmacological actions such as antipyretic, sedative antispasmodic, anti-inflammatory, antiallergic and peripheral vasodilatative.

#### Characters, Savours and Therapeutic Actions

*C. cassia* has a sweet and pungent taste, aromatic smell and very hot character. It tonifies fire, resuscitates "yang", warms kidney and spleen, unchokes blood vessels and removes stasis.

#### Therapeutic Uses

*C. cassia* is a medicine of first-aid for diseases such as limb coldness, slow and weak pulse, coma, food poisoning and cerebral haemorrhage. It is used to treat dyspepsia, diarrhoea, dysentery, oedema, amenorrhoea, snake-bite and cancer. The daily oral dose is 1-4 g, in the form of an infusion or pills, powder, or juice obtained by grinding with water.

In China, *C. cassia* is employed as an ingredient of composite recipes to treat cold, gastralgia, abdominal pain, dysmenorrhoea, slow-healing furunculosis, rheumatism, arthritis, palpitation, phlegmy cough, malaria, wounds in soft parts.

In India and some other Asian countries, the plant is used as carminative, anti-vomitive, expectorant and in treating hepatic diseases, flatulence, bronchitis, leprosy and tuberculosis, usually in composite recipes.

*Contra-indications:* Yin weakness, yang excess and pregnancy.

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

Edited by *Phạm Văn Hiến*