

KẾT QUẢ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG DƯỢC LIỆU LƯU HÀNH TRÊN THỊ TRƯỜNG

Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Kim Bích, Nguyễn Thị Phương

Viện Dược liệu

(Nhận bài ngày 15 tháng 6 năm 2004)

Summary

Quality Assesment of Marketed Medicinal Materials

Seventy samples of medicinal materials have been collected from the market in Lan Ong (Hanoi), Ninh Hiệp (Gia Lam) and Lang Son. Quality of Vietnamese and Chinese samples has been assessed according to Vietnamese Pharmacopoeia III and Chinese Pharmacopoeia 2000, respectively. The results show that only 9/31 or 29,03% samples of Vietnamese and 17/39 or 43,59% samples of Chinese materials meet the requirements prescribed in Vietnamese Pharmacopoeia III or Chinese Pharmacopoeia 2000, respectively.

Key words: Quality Assesment, Medicinal Materials.

I. Đặt vấn đề

Hiện nay, nguyên liệu ban đầu để làm thuốc đã vượt ra ngoài tầm kiểm soát của chúng ta. Do đó, chất lượng dược liệu đang là vấn đề hết sức bức xúc và nóng bỏng đối với hệ Y Dược học cổ truyền nói riêng và cả ngành Y tế nói chung.... Việc nhập khẩu thuốc không được kiểm soát cũng như việc hành nghề trái phép của các tư thương trong lĩnh vực buôn bán dược liệu đã và đang gây nhiều khó khăn cho thị trường thuốc y học cổ truyền. Tình hình quản lý chất lượng dược liệu lâu nay bị buông lỏng đã trở nên rất nguy hiểm, vì hàng ngày hàng giờ thuốc được sản xuất từ dược liệu giả, dược liệu kém phẩm chất đang được lưu hành rộng rãi trên khắp thị trường và chính người bệnh đã phải gánh chịu hậu quả khôn lường.

Gần đây, các phương tiện thông tin đại chúng đã phản ánh sự lo ngại của dư luận xã hội về tính cấp bách của vấn đề chất lượng dược liệu [3]. Để góp phần làm sáng tỏ vấn đề này, chúng tôi đã tiến hành khảo sát chất lượng của dược liệu đang lưu hành trên thị trường ở miền Bắc.

Mục tiêu nghiên cứu của đề tài là đánh giá thực trạng chất lượng và mức độ ô nhiễm của dược liệu bởi một số kim loại nặng và chất bảo quản.

II- Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu:

Là những mẫu dược liệu mua tại các địa điểm kinh doanh dược liệu tập trung như phố Lãn Ông (Hà Nội), chợ Ninh Hiệp (Gia Lâm, Hà Nội), cửa khẩu Chi Ma (Lạng Sơn).

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- Khảo sát kho tàng, nơi lưu giữ dược liệu, phương pháp bảo quản dược liệu, sử lý dược liệu bị mốc mọt, tình hình mua và bán dược liệu. Quan sát tại chỗ và phỏng vấn các chủ cửa hàng.

- Lấy mẫu dược liệu tại 2 - 3 cửa hàng ở mỗi địa điểm nêu trên từ tháng 9 đến tháng 12 năm 2002.

- Tiến hành kiểm nghiệm chất lượng dược liệu tại Viện Dược liệu: Dược liệu nguồn gốc Việt Nam được kiểm nghiệm theo tiêu chuẩn Dược điển VN 3 [2]. Dược liệu nguồn gốc Trung Quốc được kiểm nghiệm theo Dược điển Trung Quốc 2000 [6].

III- Kết quả nghiên cứu

3.1. Tình hình lưu giữ, bảo quản và kinh doanh dược liệu trên thị trường:

Trước hết là tình trạng kho tàng lưu giữ và bảo quản dược liệu rất sơ sài, đơn giản. Dược liệu được đựng trong các bao tải gai hoặc bao tải dứa, để trên kệ, không có nhãn ghi nguồn gốc, ngày sản xuất và hạn sử dụng. Như vậy, dược liệu có thể được bán trong 1 - 2 tháng hoặc 1 - 2 năm. Các cửa hàng thường quay dược liệu để xông khói diêm sinh

ngay trong sân. Người mở bao tải lấy dược liệu luôn phải hít hơi khói lưu huỳnh. Nhiều loại dược liệu như hoài sơn, đương quy, tam thất, xuyên khung, nhân trần, bạch truật v.v.. bị mốc sau những ngày mưa, được xả nước, rửa sạch mốc, phơi khô và xông khói diêm sinh rồi lại bán cho khách.

Dược liệu được mua và bán theo cảm quan, thị hiếu... Cả người mua lẫn người bán đều không biết đến tiêu chuẩn chất lượng dược liệu, không có kiểm nghiệm chất lượng. Điều đó dẫn đến tình trạng một dược liệu cùng tên nhưng có thể bán với nhiều giá khác nhau. Ví dụ: Dược liệu tần giao: có thể mua với 3 giá khác nhau: 18.000 đ, 40.000-45.000 đ và 70.000 đ/kg; phòng phong: 19.000 - 20.000 đ/kg; 42.000 - 45.000 đ và 56.000 đ/kg v.v...

Giá dược liệu được tương ứng với chất lượng của nó. Nếu giá thấp thì dược liệu được trộn với các bộ phận khác của cây hoặc được làm ẩm bằng cách trải xuống đất và phun thêm nước.

3.2 Kết quả kiểm tra chất lượng dược liệu nguồn gốc Việt Nam (xem bảng 1)

Các chỉ tiêu kiểm tra gồm tính đúng, độ ẩm, tro toàn phần và hàm lượng hoạt chất.

- Tính đúng: 31/33 mẫu (chiếm 93,94% số mẫu đã kiểm tra) là dược liệu đúng (về mô tả đặc điểm vi phẫu và soi bột theo tiêu chuẩn ĐDVN 3).

- Độ ẩm: 14/31 mẫu (chiếm 45,16% số mẫu kiểm tra) đạt tiêu chuẩn ĐDVN 3.

- Hàm lượng hoạt chất: 5/18 mẫu (chiếm 27,78% số mẫu kiểm tra) đạt tiêu chuẩn ĐDVN 3.

- Tro toàn phần: 21/23 mẫu (chiếm 91,30% số mẫu kiểm tra) đạt tiêu chuẩn ĐDVN.

Xét cả 3 chỉ tiêu đã kiểm tra, có 9/31 mẫu (chiếm 29,03% số mẫu) đạt tiêu chuẩn ĐDVN 3. Kết quả này cho thấy tình trạng chất lượng dược liệu lưu hành trên thị trường đáng được báo động.

3.3 Kết quả kiểm tra chất lượng dược liệu nguồn gốc Trung Quốc (xem bảng 2)

- Độ ẩm: 6/11 mẫu (chiếm 54,54% số mẫu kiểm tra) đạt tiêu chuẩn ĐDTQ.

- Hàm lượng hoạt chất: 20/37 mẫu (chiếm 54,04% số mẫu kiểm tra) đạt tiêu chuẩn ĐDTQ.

- Tro toàn phần: 14/26 mẫu (chiếm 53,85% số mẫu kiểm tra) đạt tiêu chuẩn ĐDTQ.

Xét cả 3 chỉ tiêu, có 17/39 mẫu (chiếm 43,59% số mẫu) đạt tiêu chuẩn ĐDTQ 2000.

IV- Bàn luận

Sự nhầm lẫn, giả mạo dược liệu:

Những nguyên nhân chính của sự nhầm lẫn đã được một số tác giả ghi nhận [4, 7]:

- Do hình dạng của các dược liệu hoặc các vị thuốc rất giống nhau.

- Do chế biến làm thay đổi hình dạng dược liệu.

- Do thay thế tùy tiện các vị thuốc và các dược liệu.

- Do trùng tên gọi.

- Do chưa xác định dược tên khoa học hoặc nguồn gốc thực vật của dược liệu.

- Do cố ý giả mạo.

Theo thống kê của một số tác giả từ những năm 80, đã phát hiện 70 cây thuốc và vị thuốc có cùng tên gọi với các cây thuốc và vị thuốc khác, 50 dược liệu dễ bị nhầm lẫn [4].

Có nhiều dược liệu do cố ý giả mạo như tam thất bằng nga truật; hoài sơn bằng củ cộc, củ cái; địa cốt bì bằng hương gia bì; rễ đan sâm bằng các rễ cây khác nhuộm đỏ; sài hồ bằng rễ cúc tần ... [7].

Tính cấp bách của vấn đề chất lượng dược liệu

"Công tác dược liệu là một công tác lớn của ngành y tế, chiếm giữ một vị trí hết sức quan trọng trong việc cấu thành nền y học Việt Nam. Dược liệu của nước ta không những là cơ sở của nền y học cổ truyền dân tộc mà còn có một vị trí quan trọng trong nền y học hiện đại" - đó là lời mở đầu bài viết của BS. Phạm Hưng Củng - Vụ Trưởng Vụ y học cổ truyền tại hội nghị dược liệu toàn quốc lần thứ nhất tổ chức vào ngày 11-12 tháng 3 năm 2003 [1]. Dược liệu quan trọng vì nó là nguyên liệu sản xuất ra thuốc. Thuốc là sản phẩm liên quan đến sức khỏe của mọi người, mọi gia đình và toàn xã hội. Vì vậy, khi báo chí, công luận lên tiếng về các vấn đề bức xúc của dược liệu như chất lượng thấp, hiện tượng giả mạo, lạm dụng các hoá chất độc hại trong sơ chế, bảo quản và thương mại hoá dược liệu v.v... thì ngay lập tức được cả xã hội quan tâm. Hội thảo "Hãy cho dược liệu một cơ hội" do Diễn đàn các nhà báo môi trường Việt Nam, Hội dược liệu Việt Nam và Công ty Traphaco phối hợp tổ chức tại Hà Nội ngày 4/6/2002 đã đưa ra những bằng chứng về sự lo ngại của xã hội đối với an toàn và hiệu lực của dược liệu và thuốc đông dược [3].

Bảng 1: Kết quả kiểm tra chất lượng dược liệu theo Dược điển Việt Nam 3

Số TT	Tên dược liệu	Chỉ tiêu chất lượng (% so với khối lượng khô tuyệt đối của dược liệu)						Kết luận
		Độ ẩm		Hàm lượng hoạt chất		Tro toàn phần		
		Yêu cầu	Kết quả	Yêu cầu	Kết quả	Yêu cầu	Kết quả	
1	Bạc hà (<i>Herba Menthae arvensis</i>)	≤ 13	17,02	Tinh dầu ≥ 0,5	1,1	≤ 13	12,5	Không đạt
2	Bách bộ (<i>Radix Stemonae tuberosae</i>). 1	≤ 14	17,94	Ancaloid toàn phần ≥ 0,5	0,56	-	-	Không đạt
3	Bách bộ (<i>Radix Stemonae tuberosae</i>). 2	≤ 14	14,36	Ancaloid toàn phần ≥ 0,5	0,37	-	-	Không đạt
4	Bách chi (<i>Radix Angelicae dahuricae</i>)	≤ 13	20,19	-	-	≤ 6	5,2	Không đạt
5	Cúc hoa vàng (<i>Flos Chrysanthemi indici</i>)	≤ 13	9,92	-	-	≤ 9,4	9	Đạt
6	Đại hoàng (<i>Radix Rehmanniae glutinosae</i>)	≤ 12	12,23	Hydroxyanthracen ≥ 2,2	2,0	≤ 13	5,6	Không đạt
7	Đan sâm (<i>Radix Salviae miltiorrhizae</i>)	≤ 12	15,41	-	-	-	-	Không đạt
8	Hoài sơn (<i>Rhizoma Dioscoreae persimilis</i>). 1	≤ 12	27,82	-	-	≤ 2	-	Không đạt
9	Hoài sơn (<i>Rhizoma Dioscoreae persimilis</i>). 2	≤ 12	20,25	-	-	≤ 2	-	Không đạt
10	Hoàng cầm (<i>Radix Scutellariae</i>). 1	≤ 12	12,51	Flavonoid ≥ 4,0	1,6	≤ 6	4	Không đạt
11	Hoàng cầm (<i>Radix Scutellariae</i>). 2	≤ 12	10,45	Flavonoid ≥ 4,0	vết	≤ 6	4,3	Không đạt
12	Hoàng cầm (<i>Radix Scutellariae</i>). 3	≤ 12	9,38	Flavonoid ≥ 4,0	0,01	≤ 6	10	Không đạt
13	Huyền sâm (<i>Radix Scrophulariae</i>)	≤ 14	12,63	-	-	≤ 4	4	Đạt
14	Kim tiền thảo (<i>Herba Desmodii styracifolii</i>). 1	≤ 13	8,89	-	-	-	7,3	Đạt
15	Kim tiền thảo (<i>Herba Desmodii styracifolii</i>). 2	≤ 13	8	-	-	-	7	Đạt
16	Kim ngân hoa (<i>Flos Lonicerae</i>). 1	≤ 12	15,91	-	-	≤ 9	8,9	Không đạt
17	Kim ngân hoa (<i>Flos Lonicerae</i>). 2	≤ 12	8,66	-	-	≤ 9	8,8	Đạt
18	Mã tiền (<i>Semen Strychnii</i>)	≤ 12	11,8	Strychnin: ≥ 1,2	3,7	≤ 3,5	-	Đạt
19	Nghệ (<i>Rhizoma Curcumae longae</i>)	≤ 12	11,78	Tinh dầu ≥ 1,5; Chất chiết bằng cồn 90° ≥ 8	1,1 3,5	≤ 8	7,5	Không đạt
20	Nga truyệt (<i>Rhizoma Curcumae zedoariae</i>)	≤ 13	16,44	Tinh dầu ≥ 1	0,7	≤ 7	7	Không đạt
21	Ngưu tất (<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>). 1	≤ 15	34,51	-	-	≤ 9	8,9	Không đạt
22	Ngưu tất (<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>). 2	≤ 15	30,2	-	-	≤ 9	9	Không đạt
23	Tảo nhân (<i>Semen Ziziphi mauritanae</i>)	≤ 8	7,6	-	-	-	-	Đạt
24	Thạch xương bò (<i>Rhizoma Acori graminei macrospadici</i>)	≤ 12	12,13	Tinh dầu ≥ 1,5	1,1	-	-	Không đạt
25	Tiểu hồi (<i>Flos Foeniculi</i>). 1	≤ 13	10,01	Tinh dầu ≥ 1,5	2,5	≤ 10	10	Đạt
26	Tiểu hồi (<i>Flos Foeniculi</i>). 2	≤ 13	13,68	Tinh dầu ≥ 1,5	1,91	≤ 10	9,5	Không đạt
27	Tiểu hồi (<i>Flos Foeniculi</i>). 3	≤ 13	12,84	Tinh dầu ≥ 1,5	1,35	≤ 10	9,9	Không đạt
28	Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae Perenne</i>). 1	≤ 13	12,63	Herperidin ≥ 3	1,3	≤ 5	5,2	Không đạt
29	Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae Perenne</i>). 2	≤ 13	15,5	Herperidin ≥ 3	1,18	≤ 5	5	Không đạt
30	Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae Perenne</i>). 3	≤ 13	7,15	Herperidin ≥ 3	0,5	≤ 5	5	Không đạt
31	Viễn chí (<i>Radix Polygalae</i>)	≤ 14	12,67	-	-	≤ 6	6	Đạt

Ghi chú: Các số in đậm là kết quả đạt tiêu chuẩn ĐVN 3.

Bảng 2: Kết quả kiểm tra chất lượng dược liệu nhập khẩu theo Dược điển Trung Quốc 2000

Số TT	Tên dược liệu	Chỉ tiêu chất lượng (% so với khối lượng khô tuyệt đối của dược liệu)		Tro toàn phần		Kết luận
		Độ ẩm		Hàm lượng hoạt chất		
		Yêu cầu	Kết quả	Yêu cầu	Kết quả	
1	Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>). 1	≤ 12	8,1	Acid glycyrrhetic ≥ 6	0,1	Không đạt
2	Cam thảo (<i>R. Glycyrrhizae</i>). 2	≤ 12	8,1	Acid glycyrrhetic ≥ 6	0,36	Không đạt
3	Cát cánh (<i>Radix Platycodinis</i>). 1	-	-	Saponin toàn phần ≥ 6	4,54	Không đạt
4	Cát cánh (<i>Radix Platycodinis</i>). 2	-	-	Saponin toàn phần ≥ 6	4,99	Không đạt
5	Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis</i>). 1	-	21,05	Chất chiết bằng ethanol 45° ≥ 55	64	Đạt
6	Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis</i>). 2	-	40,7	Chất chiết bằng ethanol 45° ≥ 55	67	Đạt
7	Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis</i>). 3	-	34,96	Chất chiết bằng ethanol 45° ≥ 55	68,5	Đạt
8	Địa liên (<i>Radix Kaempferiae</i>). 1	-	12,72	Tinh dầu ≥ 4,5	0,68	Không đạt
9	Địa liên (<i>Radix Kaempferiae</i>). 2	-	14	Tinh dầu ≥ 4,5	0,9	Không đạt
10	Địa hoàng (<i>Radix Rehmanniae</i>). 1	-	14,27	Chất chiết bằng nước: ≥ 65	80,1	Đạt
11	Địa hoàng (<i>Radix Rehmanniae</i>). 2	-	11,67	Chất chiết bằng nước: ≥ 65	87,0	Đạt
12	Đỗ trọng (<i>Cortex Eucommiae</i>). 1	-	10,5	Chất chiết bằng ethanol 75° ≥ 11	18,29	Đạt
13	Đỗ trọng (<i>Cortex Eucommiae</i>). 2	-	10	Chất chiết bằng ethanol 75° ≥ 11	22,33	Đạt
14	Độc hoạt (<i>Radix Angelicae pubescentis</i>). 1	-	-	Chất chiết bằng ether ≥ 3	6,46	Đạt
15	Độc hoạt (<i>Radix Angelicae pubescentis</i>). 2	-	-	Chất chiết bằng ether ≥ 3	4,7	Đạt
16	Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>). 1	-	18,5	Chất chiết bằng cồn 70° ≥ 45	68,03	Đạt
17	Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>). 2	-	17,04	Chất chiết bằng cồn 70° ≥ 45	61,95	Đạt
18	Hoàng kỳ (<i>Radix Astragali</i>). 1	-	15,1	-Chất chiết bằng nước: ≥ 17	58	Không đạt
19	Hoàng kỳ (<i>Radix Astragali</i>). 2	-	13,5	-Chất chiết bằng nước: ≥ 17	56,7	Đạt
20	Hồng hoa (<i>Flos Carthami</i>). 1	≤ 13	9,2	Sắc tố vàng: D ₄₀₁ ≥ 0,40	0,285	Không đạt
21	Hồng hoa (<i>Flos Carthami</i>). 2	≤ 13	10	Sắc tố đỏ: D ₅₁₈ ≥ 0,20	0,195	Không đạt
22	Hồng hoa (<i>Flos Carthami</i>). 3	≤ 13	11	Sắc tố vàng: D ₄₀₁ ≥ 0,40	0,263	Không đạt
23	Ích trí nhân (<i>Fructus Alpiniae oxyphyllae</i>). 1	-	14,83	Sắc tố đỏ: D ₅₁₈ ≥ 0,20	0,26	Không đạt
24	Ích trí nhân (<i>Fructus Alpiniae oxyphyllae</i>). 2	-	17,92	Tinh dầu ≥ 1,0	1,16	Đạt
25	Liên kiều (<i>Fructus Forsythiae</i>). 1	-	15,74	Tinh dầu ≥ 1,0	0,97	Không đạt
26	Liên kiều (<i>Fructus Forsythiae</i>). 2	-	14,25	Chất chiết bằng ethanol 65°: ≥ 30	20,17	Không đạt
27	Liên kiều (<i>Fructus Forsythiae</i>). 3	-	11,14	Chất chiết bằng ethanol 65°: ≥ 30	20,99	Không đạt
28	Mạch môn (<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>)	≤ 18	18,29	Chất chiết bằng ethanol 65°: ≥ 30	26,2	Không đạt
				Chất chiết bằng nước ≥ 60	70,52	Không đạt

Bảng 2: Kết quả kiểm tra chất lượng dược liệu nhập khẩu theo Dược điển Trung Quốc 2000 (tiếp theo trang 104)

29	Mẫu đơn bì (<i>Cortex Paeoniae suffruticosa</i>). 1	≤ 13	15,02	Paeonol ≥ 1,2	1,35	≤ 5	3,25	Không đạt
30	Mẫu đơn bì (<i>Cortex Paeoniae suffruticosa</i>). 2	≤ 13	13,10	Paeonol ≥ 1,2	1,15	≤ 5	-	Không đạt
31	Ngưu tất (<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>). 1	-	-	-	-	≤ 9	6,5	Đạt
32	Ngưu tất (<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>). 2	-	-	-	-	≤ 9	6	Đạt
33	Sài hồ Bắc (<i>Radix Bupleuri</i>). 1	-	14,47	Chất chiết bằng ethanol ≥ 11	9	≤ 8	7,5	Không đạt
34	Sài hồ Bắc (<i>Radix Bupleuri</i>). 2	-	7,40	Chất chiết bằng ethanol ≥ 11	6,8	≤ 8	7	Không đạt
35	Thiên môn đông (<i>Radix Asparagi</i>)	≤ 16	5,62	Chất chiết bằng ethanol 50%: ≥ 80	80,52	-	-	Đạt
36	Thiên hồ (<i>Radix Peucedani</i>)	-	12,57	Chất chiết bằng cồn 50° ≥ 20	22,29	-	8	Đạt
37	Viễn trí (<i>Radix Polygalae</i>)	-	-	Chất chiết bằng ethanol 70° ≥ 20	18,5	≤ 6	5,8	Không đạt
38	Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici</i>). 1	≤ 10	16,26	Chất chiết bằng ethanol ≥ 9	25	-	5,7	Không đạt
39	Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici</i>). 2	≤ 10	17,0	Chất chiết bằng ethanol ≥ 9	25	-	4,9	Không đạt

Ghi chú: Các số in đậm là kết quả đạt tiêu chuẩn DDTQ 2000

Công tác tiêu chuẩn hoá dược liệu là một trong những nội dung quan trọng trong quản lý chất lượng dược liệu và thuốc. Trong những năm qua, để thực hiện quy chế sản xuất và đăng ký thuốc lưu hành trên thị trường đã có 1617 tiêu chuẩn thuốc đông dược và hàng ngàn tiêu chuẩn cơ sở về dược liệu đã được các cơ quan kiểm nghiệm Nhà nước thẩm định [5]. Bộ Y tế đã ban hành 276 tiêu chuẩn chất lượng dược liệu, 36 tiêu chuẩn chất lượng thuốc đông dược trong Dược điển Việt Nam 3. Nhưng đến nay, các nhà lãnh đạo cũng thừa nhận chất lượng dược liệu bị thả nổi, công tác quản lý chất lượng dược liệu ngày càng có nhiều khó khăn ...[1].

Vấn đề chất lượng dược liệu không còn là nhiệm vụ của một quốc gia mà đã trở thành nhiệm vụ của toàn thế giới. Năm 2001, với sáng kiến của WHO, các nước Tây Thái Bình Dương (Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Hồng Kông, Australia, Singapore và Việt Nam) đã thành lập diễn đàn hòa hợp về các thuốc thảo mộc (Forum for Harmonization of Herbal Medicines). Tại hội nghị tổ chức ở Tokyo - Nhật Bản vào tháng 5 năm 2002, các nước tham dự đã thống nhất định nghĩa những tiêu chí cơ bản của tiêu chuẩn chất lượng dược liệu là *Đúng, tốt và tinh khiết* [5].

V- Kết luận và đề nghị

5.1 Kết luận:

1. Kết quả khảo sát thị trường dược liệu tại một số địa điểm ở miền Bắc (Hà Nội, Ninh Hiệp) cho thấy dược liệu được lưu giữ, bảo quản và mua bán không đúng quy chế.
2. Đã kiểm tra chất lượng của 31 mẫu dược liệu Việt Nam, chỉ có 9/31 mẫu (chiếm 29,03%) đạt tiêu chuẩn ĐVN 3.
3. Đã kiểm tra chất lượng 39 mẫu dược liệu nhập từ Trung Quốc chỉ có 17/39 mẫu (chiếm 43,59%) đạt tiêu chuẩn DDTQ 2000, trong đó có hồng hoa có hàm lượng tro toàn phần rất cao: 46 – 50%.

5.2 Đề nghị:

- Bổ sung “hạn sử dụng” vào tiêu chuẩn dược liệu.
- Đề nghị Bộ Y tế thiết lập quy chế kiểm tra, thanh tra định kỳ chất lượng dược liệu lưu hành trên thị trường toàn quốc và giao cho Viện Dược liệu thực hiện chức năng này.

Lời cảm ơn: Đề tài xin cảm ơn ThS. Phạm Thanh Huyền và Chi đoàn Thanh niên đã cung cấp mẫu dược liệu mua tại cửa khẩu Chi Ma, Lạng Sơn.

- 1). Phạm Hưng Củng: Chính sách và công tác quản lý về dược liệu. Tài liệu Hội nghị dược liệu toàn quốc lần thứ nhất, Hà nội, tháng 3 năm 2003: 25 – 31; 2). Dược điển Việt Nam in lần thứ 3. Hà Nội, 2001; 3). Phạm Huy Hoàn: Ai quản lý đông dược ? Tài liệu Hội nghị dược liệu toàn quốc lần thứ nhất, Hà nội, tháng 3 năm 2003: 40 – 44; 4). Phạm Thị Kim, Đỗ Lệ Nhiều: Phân biệt và chống nhầm lẫn dược liệu. Nxb. Y học, 1981; 5). Trịnh Văn Lầu: Tình hình chất lượng dược liệu và thuốc đông dược trong những năm qua. Tài liệu Hội nghị dược liệu toàn quốc lần thứ nhất, Hà nội, tháng 3 năm 2003: 168 – 173; 6). Pharmacopoeia of the People's Republic of china 2000, vol. 1; 7). Than Nguyen Viet et al. Pharmaindochina II, Hanoi 2001, 279 – 283.

Tap chí Dược liệu, tập 9, số 4/2004 (trang 106-111)

NGHIÊN CỨU SÀNG LỌC CÂY THUỐC CÓ TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN

Nguyễn Thương Dong, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Duy Thuận, Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Kim Bích, Nguyễn Thị Dung, Trịnh Thị Diệp, Phạm Minh Hưng, Đỗ Thị Phương, Trần Hữu Thị, Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Quốc Thức – Viện Dược liệu

(Nhận bài ngày 28 tháng 6 năm 2004)

Summary

Screening for Hepatoprotective Medicinal Plants

Water extracts from ten medicinal plants traditionally used in the treatment of hepatitis (including virus hepatitis) have been tested on hepatoprotective effect using carbon tetrachloride - induced acute hepatotoxicity model. Silymarin at a dose equivalent to 10g seeds of Silybum marianum Gaertn. was used as reference. The results showed that:

- Oral administration of the water extracts of Hypericum patulum Thunb. Ex Murr (10g dried leaves) and silymarin significantly decreased the activity of GPT by 33,02% and 36,19%, respectively.*
- Water extracts of Polygonum aviculare L. and Morinda longissima Y Z. Ruan also decreased the GPT activity by 18,38 % and 20,74%, respectively, but not significantly.*
- Water extracts of Morinda longissima Y Z. Ruan, Hypericum patulum Thunb. Ex Murr., Polygonum aviculare L, Alisma plantago aquatica L. and silymarin resulted in significant decrease in concentration of serum bilirubin by 49.1%, 33.8%, 29.5%, 27.0% and 38.2%, respectively.*

Fractions of Plantago asiatica L., a well-known medicinal plant used in the treatment of virus hepatitis, have also been tested separately and in combination with silymarin on hepatoprotective effect. The results showed that combination of 0.25g fraction F2 from 50% ethanolic extract of Plantago asiatica L with 0,5g silymarin significantly decreased the GPT activity by 42,49 % and the concentration of serum bilirubin by 28,38%.

Key words: Alisma plantago aquatica L., Atractylodes macrocephala Koidz., Blumea lacera, Gardenia jasminoides Ellis., Hypericum japonicum, Hypericum patulum Thunb. ex Murr., Lasia spinosa (L.) Thwaites, Plantago asiatica, Polygonum aviculare L., Psychotria morindoides Hutch., Silybum marianum Gaertn., Herpatoprotection.

I - Mở đầu

Hiện nay, tỷ lệ người mắc bệnh viêm gan và đặc biệt là số người có phản ứng HBsAg (+) ngày một tăng. Thuốc tân dược dùng trong điều trị bệnh

viêm gan mãn thể hoạt động thường rất đắt và có nhiều phản ứng phụ. Thuốc điều trị bệnh này từ nguồn gốc thảo mộc đang được chú ý nghiên cứu. Số thuốc đưa vào sử dụng chưa nhiều nhưng bước đầu cho thấy có triển vọng tốt trong hỗ trợ điều trị

viêm gan mãn thể hoạt động. Theo kinh nghiệm dân gian, một số cây thuốc được dùng điều trị viêm gan, hoàng đàn, suy giảm chức năng gan, giải độc, như mã đề, dành dành, nọc sởi, ban tròn, trạch tả, nhó đông, cải trời, ráy gai, cúc gai [1, 2, 5]; trong đó, mã đề, dành dành, cải trời (hạ khô thảo nam) đã được Bộ Y tế xếp vào danh mục cây thuốc nam điều trị viêm gan siêu vi trùng [3].

Để góp phần chứng minh tác dụng điều trị viêm gan của một số cây thuốc nêu trên và chọn lọc cây thuốc có triển vọng làm thuốc hỗ trợ điều trị viêm gan, chúng tôi tiến hành nghiên cứu sàng lọc tìm cây thuốc có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình thực nghiệm gây viêm gan cấp bằng CCl_4 .

II- Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu: 10 cây thuốc được sử dụng trong dân gian để điều trị viêm gan hoặc viêm gan siêu vi trùng, hoặc đã có kết quả nghiên cứu của nước ngoài về tác dụng bảo vệ gan. Đó là:

- Ban tròn (*Hypericum patulum* Thunb. ex Murr.): Lá.
- Bạch truật (*Atractylodes macrocephala* Koidz.): Củ.
- Cải trời (*Blumea lacera*): Cả cây.
- Cúc gai di thực (*Silybum marianum* Gaertn.): Hạt.
- Dành dành (*Gardenia jasminoides* Ellis.): Quả chín.
- Mã đề (*Plantago asiatica* L.): Cả cây.
- Nhó đông (*Morinda longissima* Y. Z. Ruan): Rễ.
- Nọc sởi (*Hypericum japonicum*): Thân, cành mang lá, hoa.
- Rau đắng (*Polygonum aviculare* L.): Thân, cành mang lá, hoa.
- Ráy gai: (*Lasia spinosa* (L.) Thwaites): Thân rễ.

Cao nước toàn phần của các mẫu dược liệu trên được chuẩn bị theo phương pháp ghi trong ĐĐVN 3 với liều thử ~ 10 g dược liệu khô/kg chuột nhất trắng bằng đường uống.

Để đối chiếu và đưa cây cúc gai di thực vào sử dụng làm thuốc bảo vệ gan, chúng tôi đã tiến hành thử song song với chế phẩm silymarin (hỗn hợp flavonolignan) chiết xuất từ hạt cây cúc gai di thực tại Sa Pa (Lào Cai).

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

Gây viêm gan cấp: Áp dụng phương pháp kinh

diễn, gây tổn thương tế bào gan bằng CCl_4 [9].

Hoá chất: Kit định lượng GPT, bilirubin, l-alanin do hãng Human sản xuất. CCl_4 , dầu ô liu...

Động vật: Chuột nhắt trắng khoẻ mạnh không phân biệt đực cái, trọng lượng 20-22g do Viện Vệ sinh Dịch tễ cung cấp.

Tiến hành: Chuột thí nghiệm được chia làm 3 lô:

+ Lô đối chứng sinh lý: Cho uống nước cất và tiêm dầu ô liu.

+ Lô đối chứng bệnh lý: Tiêm dung dịch CCl_4 trong dầu ô liu theo tỷ lệ thích hợp.

+ Lô thử thuốc: Cho uống từ ngày 1 - 8 và tiêm CCl_4 như ở lô gây bệnh. Đến ngày thứ 8, sau khi cho uống thuốc 1,5 h, chuột được lấy máu để tách huyết thanh và tiến hành định lượng GPT và bilirubin.

Men GPT được định lượng bằng phương pháp dùng l-alanin.

Bilirubin được định lượng bằng phương pháp so màu, thực hiện trên máy định lượng sinh hoá bán tự động Scout.

Kết quả thí nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình cộng trừ sai số chuẩn ($M \pm SE$) và đánh giá thống kê giữa các lô bằng nghiệm pháp "t" của Student.

III - Kết quả và bàn luận

3.1. Tác dụng của dược liệu trên men gan GPT và bilirubin ở chuột gây viêm gan cấp bằng CCl_4 .

Các dược liệu mã đề, ban tròn, nọc sởi, dành dành, nhó đông, rau đắng dã và đang được sử dụng trong dân gian hoặc trong y học cổ truyền làm thuốc điều trị viêm gan siêu vi trùng, hoàng đàn, ngộ độc, suy giảm chức năng gan [1, 2, 4]. Ráy gai là thuốc trị phù thũng, suy gan. Trong thời kỳ kháng chiến chống Mỹ, bộ đội miền Đông Nam bộ đã dùng rộng rãi ráy gai để chữa viêm gan, vàng da, cơ thể suy nhược với kết quả tốt [1]. Mã đề, trạch tả, dành dành đã có tài liệu khoa học chứng minh là có tác dụng bảo vệ gan, giải độc tố của nấm *Amanita phalloides*, chống ô xy hoá [1, 6, 7, 8, 10]. Dành dành, cải trời, mã đề là 3 trong số 7 cây thuốc nam được xếp vào nhóm thuốc chữa viêm gan siêu vi trùng trong Danh mục thuốc thiết yếu y học cổ truyền ban hành kèm theo Quyết định số 2285/1999/QĐ-BYT ngày 28 tháng 7 năm 1999 của Bộ trưởng Bộ Y tế) [3].

Silymarin chiết xuất từ hạt cúc gai của nước ngoài đã được nhiều công trình khoa học chứng

minh có tác dụng bảo vệ gan, ức chế quá trình ức chế xơ hoá gan do rượu và đang được bán trên peroxy hoá lipid, giải độc, trung hoà các gốc tự thị trường làm thuốc bảo vệ gan [5,11].
do, kích thích sự tái tạo tế bào gan bị tổn thương,

Bảng 1: Tác dụng trên men gan GPT và bilirubin của một số dược liệu
(Trên mô hình gây viêm gan cấp bằng CCl₄)

Mẫu thử	Chỉ tiêu đánh giá	Lô đối chứng sinh lý	Lô gây bệnh (gây viêm gan cấp)	Lô thử thuốc	% tăng, giảm so với lô gây bệnh	P _{4,5}
1	2	3	4	5	6	7
❶ Ban tròn	GPT (u/l)	37,86±1,96 n = 10	115,92±8,05 n = 9	77,65±6,96 n = 9	▼ 33,02	<0,01
	Bilirubin (µmol / l)	2,15±0,15	2,69±0,24	1,78±0,14	↓ 33,83	<0,01
❷ Bạch truật	GPT (u/l)	41,12±1,65 n = 7	133,53±10,8 n = 9	150,71±14,55 n = 10	↑ 12,87	0,356
	Bilirubin (µmol / l)	1,98±0,09	2,85±0,31	3,38±0,52	↑ 31,64	0,401
❸ Cải trời	GPT (u/l)	44,84± 2,24 n = 7	114,67 ± 9,6 n = 10	144,78±20,26 n = 10	↑ 26,26	0,196
	Bilirubin (µmol / l)	2,01 ± 0,12	2,69±0,27	2,44±0,02	↓ 9,24	0,484
❹ Cúc gai (Silymarin)	GPT (u/l)	44,20±2,57 n = 9	139,05±15,54 n = 8	88,73±12,33 n = 7	↓ 36,19	0,027
	Bilirubin (µmol / l)	2,265±0,19	3,85±0,45	2,38±0,28	↓ 38,18	0,019
❺ Dành dành	GPT (u/l)	42,03 ± 3,10 n = 9	66,07 ± 8,91 n = 10	63,68±6,93	↓ 3,62	0,834
	Bilirubin (µmol / l)	1,36 ± 0,10	2,14 ± 0,39	3,28 ± 0,15	↑ 36,10	0,06
❻ Mã đề	GPT (u/l)	44,84± 2,24 n = 7	114,67 ± 9,6 n = 10	161,55±22,08 n = 10	↑ 40,88	0,067
	Bilirubin (µmol / l)	2,01 ± 0,12	2,69±0,27	3,40±0,35	↑ 26,39	0,008
❼ Nhớ đông	GPT (u/l)	43,27± 1,98 n = 10	74,85± 14,27 n = 10	59,33± 3,19 n = 10	↓ 20,74	0,302
	Bilirubin (µmol / l)	1,36± 0,19	2,18± 0,22	1,11± 0,09	↓ 49,08	0,0003
❽ Nọc sởi	GPT (u/l)	39,20±1,36 n = 17	115,09±8,39 n = 19	138,81±20,1 n = 16	↑ 20,61	0,289
	Bilirubin (µmol / l)	2,08±0,10	2,77±0,19	2,26±0,17	↓ 18,41	0,069
❾ Rau đắng	GPT (u/l)	42,03 ± 3,10 n = 9	66,07 ± 8,91 n = 10	53,93±4,83 n = 8	↓ 18,38	0,251
	Bilirubin (µmol / l)	1,36 ± 0,10	2,14 ± 0,39	1,71 ± 0,10	↓ 29,05	0,026
❿ Ráy gai	GPT (u/l)	44,84± 2,24 n = 7	114,67 ± 9,6 n = 10	121,61±15,34 n = 10	↑ 6,05	0,706
	Bilirubin (µmol / l)	2,01 ± 0,12	2,69±0,27	2,45± 0,20	↓ 8,92	0,472

Kết quả ở bảng 1 cho thấy:

+ Chỉ có cao nước của cây ban tròn và silymarin của hạt cúc gai di thực (với liều đã thử ~ 10 g dược liệu khô / kg chuột) có tác dụng giảm men gan có ý nghĩa thống kê. Ngoài ra, cao nước của rau đắng và nhô đông cũng có tác dụng giảm men gan tốt nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê.

+ Cao nước của 4 dược liệu có tác dụng giảm bilirubin có ý nghĩa là: cao nước ban tròn, nhô đông, rau đắng, trạch tả và silymarin từ cúc gai di thực.

+ Kết quả cũng cho thấy hạt cúc gai di thực tại Sa Pa có tác dụng giảm men gan và bilirubin tương tự như kết quả nghiên cứu của các tác giả nước ngoài và có triển vọng làm thuốc bảo vệ gan sản xuất ở trong nước.

+ Số dược liệu có tác dụng bảo vệ gan dưới dạng cao nước và theo đường uống chiếm tỷ lệ không nhiều: 2 / 11 dược liệu, chiếm 18,18% mặc dù các dược liệu này đang được dùng trong dân gian và trong y học cổ truyền làm thuốc trị bệnh gan. Các dược liệu mã đề, dành dành, cải trời không những không có tác dụng giảm men gan mà còn hiệp đồng với CCl₄ làm tăng men gan và bilirubin cao hơn so với lô đối chứng bệnh lý.

Gần đây, cây mã đề được nghiên cứu rất nhiều ở một số nước trên thế giới. Kết quả nghiên cứu của một số tác giả ở Hàn Quốc cho thấy mã đề có tác dụng bảo vệ gan, giải độc, chống ô xy hoá tương tự như tác dụng của silymarin chiết xuất từ hạt cúc gai. Aucubin chiết xuất từ cây *Aucuba japonica* đã được chứng minh có tác dụng giải độc của nấm Amanita với liều 200 mg/kg theo đường tiêm bắp, có tác dụng bảo vệ gan, chống ô xy hoá, lợi tiểu. Ức chế aucubin với β -glucosidase trong 30 phút sẽ có tác dụng ức chế sự nhân lên của ADN virus viêm gan B (HBV) *in vitro*. Phát hiện này đã được Chang I. M. và cs. (Hàn Quốc) đăng ký bản quyền phát minh sáng chế tại Mỹ năm 1999 [10].

Aucubin cũng có trong cây mã đề. Ngoài ra, trong mã đề còn có một số thành phần khác có tác dụng chống virus, như adenin, β - sitosterol. Như vậy, mã đề là dược liệu có tác dụng ức chế sự nhân lên của HBV [7]. Vấn đề đặt ra là nghiên cứu điều chế dược chế phẩm từ mã đề có tác dụng bảo vệ gan và ức chế sự nhân lên của HBV.

3.2. Tác dụng bảo vệ gan của một số chế phẩm từ mã đề và phối hợp mã đề với cúc gai di thực

Kết quả ở bảng 1 cho thấy cao nước từ mã đề với liều thử ~ 10 g dược liệu/kg chuột đã làm tăng đáng kể men gan GPT (40,88%) và bilirubin (26,39%) so với lô chuột đối chứng bệnh lý. Để tìm hiểu kỹ hơn về tác dụng của mã đề trên mô hình gây viêm gan cấp, chúng tôi đã tiến hành chiết xuất và phân đoạn định hướng theo tác dụng giảm men gan và giảm bilirubin để tìm phân đoạn có tác dụng bảo vệ gan.

Việc chiết xuất và phân đoạn dược tiến hành như sau:

- Chiết cao nước toàn phần. Cao được tách thành 2 phân đoạn:

- F1n là phần tan trong ethanol cao độ. Hiệu suất F1n đạt 37,70%/ dược liệu khô.

- F2n là phần không tan trong ethanol cao độ. Hiệu suất F1n đạt 12,91%/ dược liệu khô..

- Chiết cao ethanol 50%. Cao được tách thành 2 phân đoạn:

- F1c là phần tan trong ethanol cao độ. Hiệu suất F1c đạt 24,5% / dược liệu khô.

- F2c là phần không tan trong ethanol cao độ. Hiệu suất F2c đạt 5,5% / dược liệu khô.

- Chiết cao ethanol 80%.

Các chế phẩm thu được đem thử trên men gan GPT và bilirubin ở chuột gây viêm gan cấp bằng CCl₄. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2: Kết quả thử tác dụng bảo vệ gan của một số phân đoạn chiết xuất từ mã đề (Trên mô hình gây viêm gan cấp bằng CCl₄)

STT mẫu thử	Chỉ tiêu đánh giá	Lô gây bệnh	Lô thử thuốc	% tăng, giảm so với lô gây bệnh	P	Nhận xét
<i>Các chế phẩm từ mã đề</i>						
1	<i>Cao nước toàn phần (liều thử ~ 10 g / kg)</i>					
	GPT (U/L)	114,67 ± 9,6 n = 10	161,55 ± 22,08 n = 10	▲ 40,88	0,067	
	Bilirubin μ mol/l	2,69 ± 0,27	3,40 ± 0,35	▲ 26,39	0,008	

2	<i>Phân đoạn F1n (liều thử ~ 5 g/kg)</i>					
	GPT (U/L)	284,88±20,65 n = 16	271,62± 15,1 n = 19	↓ 4,66	> 0,05	
	Bilirubin $\mu\text{mol/l}$	3,33 ± 0, 26	3,14 ± 0,25	↓ 5,71	> 0,05	
3	<i>Cao côn 80% (liều thử ~ 5 g/kg)</i>					
	GPT (U/L)	284,88±20,65 n = 14	281,96 ±21,28 n = 16	↑ 1,78	> 0,05	
	Bilirubin $\mu\text{mol/l}$	1,33 ± 0,26	2,47 ± 0,17	↓ 25,83	< 0,05	Giảm bilirubin tốt
4	<i>Phân đoạn F1c (liều thử ~ 5 g/kg).</i>					
	GPT (U/L)	254,46 ±46,25 n = 16	215,8 3±21,42 n = 17	↓ 8,3	> 0,05	
	Bilirubin $\mu\text{mol/l}$	2,74 ± 0,17	2,35 ± 0,08	↓ 14,21	< 0,05	Giảm bilirubin tốt
5	<i>Phân đoạn F2c (liều thử ~ 5 g/kg).</i>					
	GPT (U/L)	139,05 ±15,54 n = 8	90,52 ± 7,78 n = 8	↓ 34,905	= 0,0144	Giảm men gan tốt
	Bilirubin $\mu\text{mol/l}$	3,85 ± 0,45	1,98 ± 0,13	↓ 48,57	= 0,0013	Giảm bilirubin tốt
<i>Phối hợp các gai với mã đề</i>						
<i>Silymarin + F1c (2 : 1)</i>						
	GPT (U/L)	254,46± 46,25 n = 16	224,73± 22,34 n = 19	↓ 11,7	0,26	
	Bilirubin $\mu\text{mol/l}$	2,74 ± 0,17	2,15 ± 0,11	↓ 21,54	0,006	Giảm bilirubin tốt
<i>Silymarin + F2c (2 : 1)</i>						
	GPT (U/L)	180,05±23,53 n = 12	102,68±9,26 n = 12	↓ 42,49	0,0057	Giảm men gan tốt
	Bilirubin $\mu\text{mol/l}$	3,03 ± 0,355	2,17 ± 0,0165	↓ 28,38	0,0333	Giảm bilirubin tốt

Kết quả ở bảng 2 cho thấy trong số các phân đoạn chiết xuất từ mã đề chỉ có phân đoạn F2c - phân không tan trong cồn cao độ tách từ cao côn 50% là có tác dụng giảm men gan GPT và bilirubin có ý nghĩa thống kê. So sánh với silymarin từ hạt cúc gai di thực thì chế phẩm F2c từ mã đề có tác dụng giảm men gan tương tự và tác dụng giảm bilirubin có phần tốt hơn silymarin. Vì vậy chế phẩm F2c được chọn để tiếp tục nghiên cứu làm thuốc hỗ trợ điều trị viêm gan.

Chế phẩm F1c và F2c được phối hợp với silymarin chiết xuất từ hạt cúc gai di thực để thử tác dụng trên men gan GPT và bilirubin với dự định tạo ra một thuốc hỗ trợ điều trị viêm gan mãn thể hoạt động kết hợp tác dụng của cả 2 dược liệu: Cúc gai có tác dụng bảo vệ gan, giải độc, ức chế xơ gan. Mã đề có tác dụng bảo vệ gan, giải độc và ức chế sự nhân lên của ADN của HBV. Kết quả thử tác dụng của 2 chế phẩm phối hợp cúc gai với mã đề được trình bày ở bảng 2 cho thấy chỉ có chế

phẩm phối hợp silymarin với F2c là có tác dụng giảm men gan GPT và bilirubin có ý nghĩa thống kê. Chế phẩm này có triển vọng làm thuốc điều trị viêm gan và đang được tiếp tục nghiên cứu trên mô hình gây viêm gan mạn tính và xơ gan thực nghiệm.

IV- Kết luận

1. Đã thử tác dụng của cao nước điều chế từ 10 dược liệu trên men gan GPT và bilirubin trên mô hình gây viêm gan cấp bằng CCl_4 so sánh với silymarin chiết xuất từ hạt cúc gai di thực. Cao nước của cây ban tròn, nhó đồng, rau đắng và silymarin từ hạt cúc gai di thực có tác dụng giảm men gan GPT và bilirubin có ý nghĩa thống kê.
2. Silymarin có tác dụng bảo vệ gan trên thực nghiệm gây viêm gan cấp bằng CCl_4 có triển vọng dùng làm thuốc bảo vệ gan sản xuất từ dược liệu trồng ở Việt Nam.

3. Đã chiết xuất và phân đoạn định hướng tìm phân đoạn có tác dụng giảm men gan GPT và bilirubin từ mã đề. Phân đoạn F2c có tác dụng giảm men gan GPT và bilirubin có ý nghĩa thống kê tương tự như silymarin từ hạt cúc gai.

4. Chế phẩm phối hợp silymarin với F2c của mã đề có tác dụng giảm men gan GPT và bilirubin có ý nghĩa thống kê, có triển vọng làm thuốc hỗ trợ điều trị viêm gan mãn thể hoạt động cần được tiếp tục nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo

- 1). Đỗ Huy Bích và các tác giả khác: Viện dược liệu: Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. 2004, Tập 1, 617 – 618; 2). Võ Văn Chí: Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB Y học, 1997, 291; 3). Danh mục thuốc thiết yếu YHCT. Tạp chí Dược học số 11, 1999: 17 – 21; 4). Đỗ tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB ; 5). Ferenci P. et al. (1989): Randomized controlled trial of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. J. Hepatol. 9 (1), 105 – 113; 6). Chang I. M., H, S, Yun. Plants with liver protective activities. Korean J. of Pharmacognosy, 9(3): 139 – 141; 7). Chang I. M. Natural products Research in Korea. N.S.U. Press, 1996: 314-315; 8). Chang I. M. et al. Aucubin: potential Antidote for alpha - amanitin poisoning. Clinical Toxicology, 1984, 22 (1): 75 – 85; 9). Turner R.A. (1965): Screening methods in Pharmacology. Voi. 1: Test for hepatotoxicity, 299-300; 10). United States Patent 5,929,038 (Chang I. M.): Pharmaceutical preparation which inhibit hepatitis B virus (HBV) replication. July 27, 1999; 11). United States Patent 6,309,678 (Kahol, et al.): Process for isolation of hepatoprotective agent silymarin from the seeds of the plant *Silybum marianum*. October 30, 2001.

Tạp chí Dược liệu, tập 9, số 4/2004 (trang 111-115)

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CAO QUẢ NHÀU LÊN CHỨC NĂNG GAN, THẬN CỦA ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nguyễn Trọng Thông, Phạm Thị Vân Anh, Vũ Thị Ngọc Thanh

Trường Đại học Y Hà

(Nhận bài ngày 25 tháng 3 năm 2004)

Summary

Influence of the Extract of *Morinda citrifolia* Fruits on Hepatic and Renal Functions in Experimental Rabbits

*Soft extract of *Morinda citrifolia* fruits (1ml is equivalent to 2g dried fruit) was used to evaluate the influence on hepatic and renal functions in rabbits. Our experimental results show that oral administration of the extract at both doses of 6g/kg and 12g/kg body weigh (corresponding to 10 and 20 times the clinical dose) daily in consecutive 30 days did not exhibit any effect on the hepatic and renal functions in comparison with the initial stage and the controls.*

*Key words: *Morinda citrifolia* fruit, hepatic and renal functions, rabbit.*

1. Đặt vấn đề

Cây nhàu (*Morinda citrifolia* L. Rubiaceae) là một cây sống lâu năm, mọc nhiều ở Việt Nam và các nước khác trên thế giới. Theo kinh nghiệm dân gian, quả nhàu ngâm với rượu để uống nhằm giảm đau xương, bồi bổ cơ thể [3]. Trong các công trình nghiên cứu trước, chúng tôi thấy quả nhàu có tác dụng chống viêm cấp, kích thích miễn dịch và không ảnh hưởng đến tình trạng chung và chức năng tạo máu ở súc vật thực nghiệm [1], [4], [5]. Để có cơ sở khoa học cho các nghiên cứu sâu hơn trên thực nghiệm và lâm sàng, chúng tôi tiến hành

nghiên cứu ảnh hưởng của cao quả nhàu lên chức năng gan, thận của thỏ.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Chất liệu và đối tượng nghiên cứu

- Cao mềm quả nhàu tỷ lệ 1/5 (1g cao mềm chứa 5g dược liệu khô), do Xí nghiệp Dược phẩm TW 25 cung cấp. Khi sử dụng, cao quả nhàu được pha loãng bằng nước cất đến tỷ lệ 1/2.

- Hoá chất và máy xét nghiệm sinh hoá máu tự động Screenmaster của hãng Hospitex Diagnostic,

Italy.

- Thỏ chủng *Orytolagus Cuniculus*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 2 -2,5 kg do Trung tâm nghiên cứu dê và thỏ Sơn Tây cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thỏ được nuôi dưỡng với đầy đủ thức ăn, nước uống, được chia thành 3 lô:

Lô đối chứng: Cho uống dung môi (nước cất) 3ml/kg thể trọng.

Lô trị I: Cho uống cao quả nhàu, liều 6g/kg/ngày, gấp 10 lần liều dùng trên người.

Lô trị II: Cho uống cao quả nhàu, liều 12g/kg/ngày, gấp 20 lần liều dùng trên người.

Thỏ ở cả 3 lô được uống dung môi hoặc thuốc

thử vào 8 giờ sáng hàng ngày, liên tục trong 30 ngày và được theo dõi về chức năng gan, mật thông qua định lượng một số enzym và một số chất transaminase, AST (aspartat amino transferase), ALT (alanin amino transferase); bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp, cholesterol và albumin; chức năng thận bằng định lượng creatinin huyết thanh.

Kết quả nghiên cứu được xử lý thống kê theo t-test- Student và test trước- sau (Avant - Après).

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Nghiên cứu đánh giá chức năng gan để theo dõi ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan, một số enzym, các chất được tổng hợp và chuyển hoá chủ yếu ở gan đã được định lượng.

* Định lượng transaminase trong máu thỏ:

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến hoạt độ AST trong máu thỏ

Thời gian	AST (UI/l)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=10)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	50,9 ± 14,2	50,3 ± 17,9	48,7 ± 11,0	> 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	40,2 ± 6,5	40,7 ± 8,6	42,9 ± 9,7	> 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	38,0 ± 13,7	47,9 ± 7,6	41,8 ± 13,5	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả bảng 3.1 cho thấy sau 15 và 30 ngày đối chứng thay đổi không có ý nghĩa so với trước dùng thuốc, hoạt độ enzym AST ở 2 lô trị và lô dùng thuốc và so với nhau (p > 0,05).

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến hoạt độ ALT trong máu thỏ

Thời gian	ALT (UI/l)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=10)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	90,0 ± 18,0	81,2 ± 20,2	91,3 ± 29,3	> 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	86,0 ± 9,5	80,4 ± 14,0	86,1 ± 15,0	> 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	83,0 ± 22,0	76,1 ± 17,0	83,8 ± 13,4	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả bảng 3.2 cho thấy sau 15 và 30 ngày dùng thuốc, hoạt độ enzym ALT ở 2 lô trị và lô đối chứng thay đổi không có ý nghĩa so với trước dùng thuốc và so với nhau (p > 0,05).

* Định lượng albumin:

Gan là cơ quan tổng hợp albumin và một số globulin trong huyết thanh. Để đánh giá chức năng chuyển hoá protein của gan, albumin trong huyết thanh được định lượng.

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến hàm lượng albumin trong máu thỏ

Thời gian	Albumin (g/l)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=10)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	

Trước uống thuốc	53,9 ± 3,0	50,2 ± 5,2	48,5 ± 5,4	> 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	55,0 ± 3,8	50,3 ± 1,8	46,4 ± 4,4	> 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	51,0 ± 2,2	47,5 ± 6,8	50,3 ± 2,5	> 0,05
p (trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy sau 15 và 30 ngày dùng thuốc, hàm lượng albumin trong máu ở 2 lô trị và lô đối chứng thay đổi không có ý nghĩa so với trước dùng thuốc và so với nhau (p > 0,05).

* Định lượng cholesterol toàn phần:

Cholesterol là một thành phần tạo nên acid mật, được gan tổng hợp, ester hoá và thải trừ ra ngoài. Để đánh giá chức năng chuyển hoá lipid của gan, cholesterol toàn phần trong huyết thanh được định lượng.

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu thỏ

Thời gian	Cholesterol (μmol/l)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=10)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	1,4 ± 0,3	1,6 ± 0,3	1,6 ± 0,4	> 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,4	1,4 ± 0,3	> 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,3	> 0,05
p (trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.4 cho thấy sau 15 và 30 ngày dùng thuốc, hàm lượng cholesterol toàn phần trong máu ở cả 2 lô trị và lô đối chứng thay đổi không có ý nghĩa so với trước dùng thuốc và so với nhau (p > 0,05).

* Định lượng bilirubin toàn phần trong máu thỏ:

Để thăm dò chức năng tiết mật của gan, tiến hành định lượng bilirubin toàn phần và trực tiếp.

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến hàm lượng bilirubin toàn phần trong máu thỏ

Thời gian	Bilirubin toàn phần (μmol/l)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=10)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	13,1 ± 0,7	13,3 ± 0,9	13,7 ± 0,8	> 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	13,3 ± 1,0	13,9 ± 1,5	13,3 ± 0,9	> 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	15,0 ± 2,2	13,7 ± 1,3	14,3 ± 1,5	> 0,05
p (trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.5 cho thấy sau 15 và 30 ngày dùng thuốc, lượng bilirubin toàn phần trong máu ở cả 2 lô trị và lô đối chứng thay đổi không có

ý nghĩa so với trước dùng thuốc và so với nhau (p > 0,05).

* Định lượng bilirubin trực tiếp trong máu thỏ:

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến hàm lượng bilirubin trực tiếp trong máu thỏ

Thời gian	Bilirubin trực tiếp (μmol/l)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=10)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	3,4 ± 0,5	4,0 ± 1,3	4,0 ± 0,7	> 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	3,6 ± 0,7	3,7 ± 0,7	3,7 ± 0,7	> 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	3,8 ± 0,5	3,6 ± 0,5	3,8 ± 0,6	> 0,05
p (trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.6 cho thấy sau 15 và 30 ngày dùng thuốc, lượng bilirubin trực tiếp trong máu thỏ ở cả 2 lô trị và lô đối chứng thay đổi không có ý nghĩa so với trước dùng thuốc và so với nhau ($p > 0,05$).

3.2. Nghiên cứu đánh giá chức năng thận để theo dõi ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng lọc của cầu thận, creatinin trong huyết thanh thỏ đã được định lượng.

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến lượng creatinin trong máu thỏ

Thời gian	Creatinin (mg/dl)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=10)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	> 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	> 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	> 0,05
p (trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 3.7 cho thấy sau 15 và 30 ngày dùng thuốc, lượng creatinin trong máu thỏ ở cả 2 lô trị và lô đối chứng thay đổi không có ý nghĩa so với trước dùng thuốc và so với nhau ($p > 0,05$).

4. Bàn luận

4.1. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến chức năng gan:

Trong cơ thể, gan là cơ quan đảm nhận nhiều chức năng rất quan trọng. Khi thuốc được đưa vào cơ thể, nó có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc, việc nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết.

Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, người ta thường định lượng nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh. Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan [2]. Kết quả ở bảng 3.1 và 3.2 cho thấy nồng độ 2 enzym này không tăng trong huyết thanh ở cả hai thời điểm sau 15 và 30 ngày uống thuốc liên tục so với lô đối chứng và so với trước uống thuốc. Điều đó chứng tỏ thuốc không gây tổn thương tế bào gan của thỏ.

Chuyển hoá các chất nội sinh và ngoại sinh là một trong những chức năng quan trọng của gan. Gan có một hệ thống các enzym chuyển hoá rất phong phú cho quá trình tổng hợp và thoái hoá protein, lipid... [2].

Ở gan, các acid amin đã được tổng hợp thành albumin, một số globulin và một số yếu tố đông máu. Định lượng albumin trong máu sẽ đánh giá được một phần chức năng chuyển hoá protein của gan. Ngoài chuyển hoá protein, gan còn có chức năng chuyển hoá lipid. Cholesterol là một thành

phần của mật, được gan tổng hợp, ester hoá và thải ra ngoài. Vì vậy, có thể dùng xét nghiệm định lượng cholesterol để đánh giá chức năng chuyển hoá lipid của gan. Trong nghiên cứu, hàm lượng albumin và cholesterol trong máu của thỏ ở hai lô trị không thay đổi sau 15 và 30 ngày dùng thuốc so với trước dùng thuốc. Điều đó chứng tỏ khả năng chuyển hoá protein và lipid của gan không bị ảnh hưởng khi uống cao quả nhàu với liều 6 g/kg và 12 g/kg trong 30 ngày liên tục.

Một chức năng quan trọng nữa của gan là chức năng tiết mật. Gan tạo ra mật, bài tiết mật vào tá tràng, tham gia vào quá trình tiêu hoá. Xét nghiệm bilirubin trong máu để thăm dò chức năng bài tiết và chuyển hoá mật của gan thường chính xác nhất và dễ thực hiện [2]. Trong thí nghiệm, nồng độ bilirubin toàn phần và bilirubin trực tiếp ở cả hai lô thỏ trị thay đổi không có ý nghĩa so với trước dùng thuốc ở cả hai thời điểm sau 15 và 30 ngày uống thuốc liên tục. Điều đó cho thấy cao quả nhàu không ảnh hưởng đến chức năng bài tiết và chuyển hoá mật của gan.

4.2. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến chức năng thận:

Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Cầu thận và ống thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh [2]. Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể, thuốc có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận.

Việc đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến chức năng thận thường dùng xét nghiệm định lượng creatinin máu vì creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin máu tăng sớm hơn

ure. Creatinin máu là chỉ tiêu tin cậy và quan trọng hơn ure máu, nên hiện nay được dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận. Trong nghiên cứu của chúng tôi, creatinin trong máu thử sau 15 và 30 ngày uống cao quả nhàu ở hai liều 6 g/kg trọng lượng và 12 g/kg trọng lượng không có sự thay đổi so với trước dùng thuốc và so với lô đối chứng. Điều đó chứng tỏ cao quả nhàu không ảnh hưởng đến chức năng lọc của cầu thận.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả nước ngoài. Theo Wang MJ. và cộng sự (2002), quả nhàu rất ít độc; dùng liên tục trong hơn một tháng trên nhiều súc vật vẫn chưa phát hiện thấy độc tính [7]. Cũng theo Wang MJ. và cs. (2000), thành phần hoá học chính trong quả nhàu là anthraglycosid, trong đó chủ yếu là D. glucopyranosyl, D. gluco-pyranose và D. glucopyranosid [6] đều là những chất ít độc.

Tài liệu tham khảo

- 1). Phạm Thị Vân Anh, Nguyễn Trọng Thông, Vũ Thị Ngọc Thanh (2004), *Tạp chí Dược liệu*, số 1, tập 9, tr 24-28;
- 2). Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (2001), *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr 112-162;
- 3). Đỗ Tất Lợi (1999), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, tr 306-307;
- 4). Nguyễn Trọng Thông, Vũ Thị Ngọc Thanh, Phạm thị Vân Anh, Nguyễn Thế Siễn (2004), *Tạp chí Dược liệu*, số 1, tập 9, tr 28-31;
- 5). Nguyễn Trọng Thông, Phạm Thị Vân Anh, Vũ Thị Ngọc Thanh (2003), *Tạp chí Dược liệu*, số 6, tập 8, tr 176-179;
- 6). Wang MJ., Kikuzaki H., Jin Y. (2000), *Natural products*, Aug, pp. 1182-1184;
- 7). Wang MJ., West B., Jensen C. (2002), *Acta pharmacol sin*, Dec, pp. 1127-1141.

Tạp chí Dược liệu, tập 9, số 4/2004 (trang 115-119)

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA PHƯƠNG THUỐC NHỊ TRẦN THANG GIA GIẢM

Phạm Xuân Sinh, Nguyễn Mạnh Tuyển, Đào Thị Vui

Trường Đại học Dược Hà Nội

(Nhận bài ngày 25 tháng 3 năm 2004)

Summary

Studies on Biological Activities of Modified "Nhị trần thang" Prescription

*The "Nhị trần thang" prescription has been modified by combination with different medicinal herbs available in Viet nam for convenience of use. The new formulations have been tested on selected biological actions such as bronchodilatation, anti-tussiveness, and anti-sputum. The modified prescription with *Calotropis leaces* proved to be the most effective and was chosen for producing a new preparation which is named "Typhocihen Sirup". Typhocihen was shown to have good brochodilatation, anti-tussive and anti-sputum activities in experimental animals.*

Key words: Modified "Nhị trần thang", brochodilatation, anti-tussive and anti-sputum

I. Đặt vấn đề

Hen suyễn là một bệnh phổ biến ở Việt Nam và nhiều nước trên thế giới; nó làm giảm khả năng lao động và chất lượng cuộc sống. Hiện nay, nhiều thuốc tân dược được dùng phòng và trị hen suyễn. Song các thuốc này thường phải sử dụng lâu dài và có nhiều tác dụng phụ [2; 6]. Từ xa xưa, ông cha ta đã biết dùng cây cỏ để dự phòng và cắt cơn hen. Ngoài các vị thuốc riêng lẻ, y học cổ truyền có nhiều phương thuốc điều trị hen suyễn rất tốt. Phương thuốc nhị trần thang kinh điển (NTTKĐ)

gồm 4 vị thuốc là bán hạ (*Radix Typhonii trilobati*), trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*), bạch linh (*Poria cocos*), cam thảo (*Radix Glycyrrhizae glabrae*), có công năng ôn hoá hàn đàm, dùng trong trường hợp đờm thấp, ho nhiều đờm mà sinh nôn, tức ngực, hoa mắt, tâm hồi hộp [1; 3; 4; 9]. Phương thuốc này đã được gia giảm thành nhiều phương khác nhau gọi là các phương thuốc nhị trần thang gia giảm (NTTGG) tương ứng với mục đích trị bệnh khác nhau. Tuy nhiên các phương thuốc NTTGG trước đây đều lấy tác dụng

giảm ho, long đờm là chính, chưa chú trọng đến tác dụng giãn phế quản, trong khi đó lại có mối quan hệ mật thiết giữa ho, hen, đờm. Để tăng tác dụng giãn phế quản (bình suyễn), chống ho, long đờm cho phương thuốc, chúng tôi gia giảm thêm một số vị thuốc sẵn có ở Việt Nam đã được dùng để trị hen suyễn như cà độc dược (*Folium Daturae metel*), lá hen (*Folium Calotropis giganteae*), cóc mằn (*Herba Centipediae miniae*), tang bạch bì (*Cortex Mori radices*). Chúng tôi còn tiến hành nghiên cứu độc tính, tác dụng giãn phế quản,

chống ho, long đờm, các tác dụng khác) [1; 3; 4] của các vị thuốc, cùng phương thuốc và chế phẩm siro Typhocihen.

II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu:

- Các vị thuốc: Cà độc dược, lá hen, cóc mằn, tang bạch bì, trần bì, cam thảo, bán hạ được chế biến theo phương pháp cổ truyền [1; 3; 8].

- Phương thuốc NTTKĐ và 2 phương thuốc gia giảm có công thức như sau:

Công thức 1: NTTKĐ	Công thức 2: NTTGG _{CA}	Công thức 3: NTTGG _{LH}
Phương thuốc NTT kinh điển	Phương thuốc NTT gia giảm CA	Phương thuốc NTT gia giảm LH
Bán hạ (BH) Bạch linh Trần bì (TB) Cam thảo (CT)	Bán hạ Cà độc dược (CA) Trần bì Cóc mằn (CM) Cam thảo Tang bạch bì (TBB)	Bán hạ Lá hen (LH) Trần bì Cóc mằn Cam thảo Tang bạch bì

- Siro NTTGG_{LH}: Typhocihen.

- Các hoá chất, dung môi, súc vật đủ tiêu chuẩn thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- Thử độc tính cấp của các phương thuốc NTTGG_{LH}, NTTGG_{CA}, glycosid tim chiết từ phương NTTGG_{LH}, LH, CM theo phương pháp ghi trong Dược điển Liên Xô X.

- Thử độc tính bán trường diễn của NTTGG_{LH} trên chuột cống trắng theo phương pháp Behrens-Karher.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của các phương thuốc và vị thuốc đối với khí quản chuột lang cô lập theo phương pháp nghiên cứu dược lý của Trung thảo dược (Trung Quốc) [7].

- Nghiên cứu tác dụng chống ho bằng cách xông hơi amoniac.

- Nghiên cứu tác dụng long đờm theo phương pháp bài tiết dịch đỏ phenol trong khí quản chuột nhắt trắng hoặc thỏ.

- Đánh giá kết quả: Theo phương pháp thống kê dùng trong sinh - y học, độ tin cậy 95% [5].

III. Kết quả và bàn luận

3.1. Độc tính cấp và bán trường diễn:

- *Thử độc tính cấp*: Chuột nhắt trắng chủng Swiss trọng lượng 18-20g chia thành 6 lô, mỗi lô 10 con, các lô được uống thuốc tương ứng theo thứ tự: nước muối sinh lý, cao NTTGG_{CA}, NTTGG_{LH}, dịch chiết glycosid tim của NTTGG_{LH}, lá hen, cóc mằn. Cho chuột uống thuốc theo liều tăng dần từ cao 1:1 (3g/kg chuột) đến cao 5:1 (150g/kg chuột) là liều gấp 14.5 lần liều thường dùng cho người. Sau khi cho uống, theo dõi tình trạng chuột và số chuột chết trong vòng 72 giờ.

- *Kết quả*: Với các loại dịch thử từ cao 1:1 đến cao 4:1, không thấy có biểu hiện gì và không có con chuột nào chết trong vòng 72 giờ. Vì vậy, tiếp tục thử với cao 5:1 và các glycosid tim chiết từ NTTGG_{LH}, lá hen, cóc mằn tương đương với lượng glycosid tim có trong cao 5:1. Sau khi cho uống, theo dõi 72 giờ, chuột khoẻ mạnh bình thường. Như vậy, các mẫu thử không độc ở liều tương ứng, tuy nhiên ở lô 3, 5, 6, sau khi uống, chuột hoạt động chậm lại, lông hơi xù, rồi hồi phục sau 2 phút đến 2 giờ. Chưa xác định được LD₅₀ vì cao 5:1 là cao đặc nhất có thể đưa vào cơ thể chuột bằng bơm tiêm.

- *Thử độc tính bán trường diễn*: Động vật thí nghiệm là chuột cống trắng trọng lượng 110-125g. Trước khi cho chuột uống thuốc, cân trọng lượng từng con rồi chia ngẫu nhiên thành 2 lô: lô đối chứng uống dung dịch nước muối sinh lý và lô thử

ống cao lỏng 1:1 của NTTGG_{LH}. Cho chuột uống thuốc hàng ngày vào mỗi buổi sáng trước khi cho ăn, liều 7g/kgTT. Uống liên tục trong một tháng, sau đó cân trọng lượng, giết chuột lấy máu làm xét nghiệm các chỉ số sinh hoá: GOT, GPT, bilirubin, creatinin. Lấy gan làm tiêu bản giải phẫu bệnh.

- **Kết quả:** Chuột ở cả hai nhóm hoạt động bình thường, ăn uống tốt, phân khô, lông mượt. Cân nặng, các chỉ số hoá sinh của các lô khác nhau không có ý nghĩa thống kê ở $p > 0,05$ được trình bày trong bảng 1. Giải phẫu: phủ tạng bình thường, vi phẫu gan ở 2 lô không có khác biệt. Như vậy, dịch thử không gây độc cho chuột khi dùng lâu dài.

Bảng 1: Trọng lượng, một số chỉ số sinh hoá của chuột

Chỉ tiêu		Lô đối chứng	Lô thử	P đối chứng so với thử
Cân nặng (g)	Trước thí nghiệm	111,1 ± 7,98	110 ± 8,04	>0,05
	Sau thí nghiệm	118,9 ± 40	117,2 ± 62,9	>0,05
Sinh hoá	GOT	409,7 ± 125,1	404,9 ± 104,1	>0,05
	GPT	133,2 ± 47,3	130,2 ± 36,4	>0,05
	Bilirubin	20,2 ± 8,9	16,4 ± 4,6	>0,05
	Creatinin	70,7 ± 28,5	60,4 ± 27,6	>0,05

3.2. Tác dụng giãn khí quản chuột lang cô lập:

- **Nguyên tắc:** Khi khí quản co, lồng khí quản hẹp lại, cột nước trong mao quản tăng lên và ngược lại, khi khí quản giãn ra, lồng khí quản mở rộng, cột nước trong mao quản hạ thấp xuống. Sự dâng lên hay hạ thấp cột nước trong ống mao quản so với mức ban đầu sẽ đánh giá được thuốc có tác dụng gây co hay gây giãn khí quản.

- **Tiến hành:** Chuột lang khoẻ mạnh, trọng lượng 250-300 g. Giết chuột, mổ lấy khí quản, ngâm

ngay vào dung dịch Tyrode. Bóc tách hết lớp màng bám bên ngoài, rửa sạch máu rồi lắp vào dụng cụ thử. Bơm dung dịch Tyrode được pha màu bằng xanh methylen vào lồng khí quản lên mao quản, ổn định ở vị trí K tương ứng 0mm. Dịch thử được cho vào ống nuôi, trộn đều với dung dịch Tyrode, mỗi dịch thử thử trên 5 khí quản lấy kết quả trung bình.

- **Chú ý:** Chiều cao cột nước trong ống mao quản của dụng cụ thử so với vị trí K: dâng lên: (+), hạ xuống: (-)

Bảng 2 : Ảnh hưởng của các dịch thử lên hoạt động của khí quản chuột lang cô lập

Dịch thử	Chiều cao cột nước (mm) $\bar{x} \pm s$					
	Co thắt bởi acetylcholin 0,0025%			Giãn bởi adrenalin 0,005%		
	Acetylcholin	Dịch thử	Độ giãn khí quản (%)	Adrenalin	Dịch thử	Tổng
LH	(+)10,6 ± 3,3	(-)9,3 ± 2,44	88,2	(-)7,1 ± 0,5	(-)1,4 ± 0,4	(-)8,5 ± 0,2
CA	(+)13,8 ± 3,7	(-)12,5 ± 3,18	90,1	(-)7,3 ± 0,3	(-)2,0 ± 0,3	(-)9,3 ± 0,3
CM	(+) 8,2 ± 1,4	(-)6,3 ± 1,1	81,2	(-)7,3 ± 0,5	(-)1,0 ± 0,5	(-)8,3 ± 0,2
NTTKĐ	(+) 6,9 ± 0,4	0	0			
NTTGG _{LH}	(+) 7,3 ± 0,4	(-)6,8 ± 0,3	93,2	(-)6,9 ± 0,4	(-)2,8 ± 0,3	(-)9,7 ± 0,3
NTTGG _{CA}	(+)10,6 ± 0,5	(-)8,8 ± 0,4	83,2	(-)7,0 ± 0,4	(-)1,4 ± 0,2	(-)8,4 ± 0,6
A/NTTGG _{LH}	(+)8,0 ± 0,5	(-)4,9 ± 0,2	61,3			
F/NTTGG _{LH}	(+)8,8 ± 0,2	(-)0,8 ± 0,5	9,7			
S/NTTGG _{LH}	(+)7,4 ± 0,7	(-)0,45 ± 0,2	6,1			
Siro	(+)9,8 ± 0,6	(-)7,9 ± 0,4	80,6			

Nhận xét: Khí quản ở trạng thái bình thường hầu như không bị ảnh hưởng của các dịch thử. Khi khí quản bị co bởi dung dịch acetylcholin

0.0025%, các dịch thử LH, CA, CM, các phương NTTGG và siro đều có tác dụng giãn khí quản tốt, tốt nhất là NTTGG_{LH}, NTKĐ không có tác dụng.

Trong các thành phần hoá học, alcaloid của phương NTTGG_{LH} có tác dụng tốt nhất. Như vậy, tác dụng giãn khí quản của các phương thuốc chủ yếu do alcaloid toàn phần có trong đó. Khi khí quản giãn bởi dung dịch adrenalin 0.005%, các dịch thử đều có tác dụng hiệp đồng với adrenalin, làm tăng cường mức độ giãn nhưng yếu.

3.3. Tác dụng chống ho:

- *Nguyên tắc:* Hơi amoniac đặc có khả năng kích thích gây ho trên chuột nhắt trắng, Số tiếng ho của chuột thí nghiệm phản ánh tác dụng giảm ho của

dịch thử. Số tiếng ho càng ít thì tác dụng của thuốc càng mạnh.

- *Tiến hành:* Chia chuột nhắt trắng đủ tiêu chuẩn thí nghiệm thành 10 lô, mỗi lô 10 con, ở lô đối chứng chuột được uống nước cất, ở lô quy chiếu, uống dung dịch codein phosphat. Một giờ sau khi chuột uống thuốc, liều thử 16,67g/kg thể trọng (kgTT), cho vào bình xông hơi amoniac trong điều kiện hằng định về nhiệt độ trong thời gian 45 giây. Chuyển chuột vào bình để nghe và đếm số tiếng ho trong 5 phút đầu. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3: Kết quả thử tác dụng chống ho của các dịch thử

Mẫu thử	Số tiếng ho trung bình	P		
		P ₁	P ₂	P ₃
Đối chứng	34,5 ± 3,44		<0,05	
Quy chiếu	9,1 ± 1,52			
NTTKĐ	15,3 ± 1,02	<0,05	<0,05	
NTTGG _{CA}	12,6 ± 1,31	<0,05	<0,05	<0,05
NTTGG _{LH}	10,8 ± 1,46	<0,05	>0,05	<0,05
F/NTTGG _{CA}	8,9 ± 1,52	<0,05	>0,05	<0,05
F/NTTGG _{LH}	7,8 ± 1,25	<0,05	>0,05	<0,05
S/NTTGG _{LH}	22,5 ± 1,68	<0,05	<0,05	<0,05
A/NTTGG _{LH}	26,1 ± 2,01	<0,05	<0,05	<0,05
Siro	10,6 ± 1,21	<0,05	>0,05	<0,05

p₁ so với đối chứng, p₂ so với quy chiếu, p₃ so với NTKĐ.

Nhận xét: Các mẫu thử đều có tác dụng chống ho ở liều 16,67kgTT, flavonoid trong các thang có tác dụng giảm ho tốt nhất. Như vậy, tác dụng chống ho của các thang chủ yếu do flavonoid toàn phần. Các thang NTTGG, siro đều có tác dụng giảm ho tốt hơn NTKĐ.

3.4. Tác dụng long đờm :

- *Nguyên tắc:* Đánh giá khả năng bài tiết dịch phế quản của chuột nhắt trắng thông qua nồng độ của đỏ phenol sulfur phtalein. Nồng độ đỏ phenol của nhóm thử càng cao chứng tỏ tác dụng trừ đờm của

chất thử càng tốt.

- *Tiến hành:* Chia chuột nhắt trắng thành 11 lô, mỗi lô 10 con, ở lô đối chứng chuột được uống nước cất, và ở lô quy chiếu, uống dung dịch natri benzoat. Nửa giờ sau khi cho chuột uống thuốc liều 16,67kgTT, tiêm vào phúc mạc 0,5ml dung dịch đỏ phenol 0,6%. Một giờ sau, bộc lộ khí quản và rửa 3 lần bằng dung dịch NaHCO₃ 5%, gộp dịch rửa. Đo mật độ quang của dịch rửa bằng máy quang phổ UV mini 1240 Shimadzu, λ=559nm, dựa vào đường chuẩn tính nồng độ phenol.

Bảng 4: Kết quả so sánh tác dụng long đờm của các mẫu thử

Dịch thử	Nồng độ phenol (µg/ml)	P		
		P ₁	P ₂	P ₃
Đối chứng	0,19 ± 0,02			
Natri benzoat	0,60 ± 0,03	<0,05		
NTTKĐ	0,46 ± 0,08	<0,05	<0,05	
NTTGG _{LH}	0,68 ± 0,11	<0,05	>0,05	<0,05
NTTGG _{CA}	0,51 ± 0,09	<0,05	<0,05	<0,05
S/NTTGG _{CA}	0,42 ± 0,04	<0,05	<0,05	<0,05
S/NTTGG _{LH}	0,41 ± 0,03	<0,05	<0,05	<0,05

F/ NTTGG _{LH}	0,20 ± 0,01	>0,05	<0,05	<0,05
A/ NTTGG _{LH}	0,204 ± 0,38	>0,05	<0,05	<0,05
Siro	0,686 ± 0,27	<0,05	<0,05	<0,05

p_1 so với đối chứng, p_2 so với natri benzoat, p_3 so với NTTKĐ.

Nhận xét: Siro và dịch nước sắc (cao 1:1,5) của các thang NTTKĐ, NTTGG_{CA}, NTTGG_{LH}, đều có tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng ở liều 16,67g/kgTT. Siro và 2 thang NTTGG có tác dụng long đờm tốt hơn NTTKĐ. Saponin có tác dụng long đờm tốt nhất trong các thành phần hoá học. Cao nước thang NTTGG_{LH} và siro Typhocihen có tác dụng long đờm tốt nhất trong các mẫu thuốc đem thử.

3.5. Bàn luận

- NTTGG_{CA}, NTTGG_{LH} đều không gây độc tính cấp cho chuột nhắt trắng với liều 150g/kgTT. Chưa tính được LD₅₀.

- NTTGG_{LH} ở liều 7g/KgTT không làm thay đổi trọng lượng, các chỉ số sinh hoá của chuột. Sơ bộ thấy phương thuốc không ảnh hưởng đến gan, thận khi dùng lâu dài.

- Cả 2 thang NTTGG đều có tác dụng giãn phế quản, chống ho, long đờm tốt hơn NTTKĐ, trong đó NTTGG_{LH} tốt nhất; đồng thời, thang còn có ưu điểm không chứa cả độc dược là vị thuốc có chống

chỉ định cho trẻ dưới 15 tuổi và phụ nữ có thai. Do đó, chúng tôi đã điều chế siro Typhocihen từ phương NTTGG_{LH} và đã thử các tác dụng giãn phế quản, chống ho, long đờm thấy kết quả rất tốt.

- Việc gia thêm các vị thuốc có tác dụng giãn phế quản, chống ho, long đờm vào phương thuốc NTTKĐ đã làm tăng rõ rệt tác dụng này của phương thuốc.

Đề nghị tiếp tục nghiên cứu các tác dụng khác của NTTGG_{LH} và siro Typhocihen và tiêu chuẩn hoá chế phẩm Typhocihen để có thể đưa chế phẩm vào sản xuất phục vụ công tác điều trị.

IV. Kết luận

Đã tiến hành thử tác dụng sinh học, độc tính của phương thuốc NTTGG_{LH}, tác dụng giãn phế quản, chống ho, long đờm của các phương thuốc NTTGG_{CA}, NTTGG_{LH}, siro Typhocihen và một số vị thuốc (LH, CA, CM). Kết quả cho thấy phương NTTGG_{LH} không độc, có tác dụng giãn phế quản, chống ho, long đờm tốt. Chế phẩm siro Typhocihen được điều chế từ phương thuốc NTTGG_{LH} cũng có tác.

Tài liệu tham khảo

- 1). Bộ môn dược cổ truyền-Trường Đại học Dược Hà Nội(2002), *Dược học cổ truyền*, NXB Y học; 2). Bộ môn dược lý-Trường Đại học Dược Hà Nội(1999), *Dược lý học*, NXB Y học; 3). Bộ Y tế (2002). *Dược điển Việt Nam III*. NXB Y học; 4). Võ Văn Chi (1997), *Từ điển cây thuốc Việt Nam học*, NXB Y học; 2). Đào Hữu Hò-Chu Văn Mẫn(2001). *Giáo trình thống kê sinh học*. NXB Khoa học kỹ thuật.; 6). IRWIN J.Polk,MD. (Lê Thân dịch) (1998), *Cẩm nang về bệnh hen suyễn*, NXB Y học; 7). Trần Kỳ (1993), *Phương pháp nghiên cứu Dược lý Trung dược*, Nhân dân vệ sinh xuất bản xã, 647; 8). Phạm Xuân Sinh (1999), *Phương pháp chế biến thuốc cổ truyền*, NXB Y học; 9). Hoàng Duy Tân - Trần Văn Nhũ (1995), *Tuyển tập phương thang Đông Y*, NXB Đồng Nai, 867-870.

Tap chí Dược liệu, tập 9, số 4/2004 (trang 119-123)

CONSTITUENTS OF BUTANOL EXTRACT FROM ANGELICA SINENSIS RHIZOMES

Nguyen Thi Hoang Anh - Institute of Chemistry, Academy of Sciences and Technology

(Nhận bài ngày 22 tháng 2 năm 2004)

Summary

From a butanol extract of Angelica sinensis rhizomes, 10 compounds were isolated. Their structures were elucidated by MS and NMR spectroscopic methods as phenyl- β -D-glucopyranoside, benzyl-O- β -D-apiofuranosyl-(1-6)- β -D-glucopyranoside, 4-(1,2-dihydroxyethyl)phenol and sodium salt of 3-caffeoyl quinic acid in addition to 6 nitrogen-containing compounds.

Tap chí Dược liệu, tập 9, số 4/2004

Introduction

Umbelliferous medicinal plants play an important role in various traditional medical systems. In Chinese traditional medicine, *Angelica sinensis* is one of the major constituents in such prescriptions as "Tang-kuei-shao-yao-san" and "Szu-wu-lang" and has been empirically used as an homeostatic remedy for women's disorders as well as an analgesic, sedative and anti-inflammatory agent [1]. In Vietnamese folk medicine, it is used for the treatment of constipation and pain [2].

Many studies have been conducted on the chemical composition and pharmacological activities of this species since 1924 [3, 4]. It was reported to have similar chemical composition to that of *Levisticum officinale* Koch, a well known medicinal plant and called "European Danggui" in Europe [5]. Recently, it has been revealed that both water and alcohol extracts of the plant have effects on the contractility of smooth muscles of the uterus and trachea [6].

This paper presents the chemical constituents isolated by us from a butanol extract of *Angelica sinensis*. Chromatographic separation of this butanol extract yielded 10 compounds, including phenyl- β -D-glucopyranoside (1), benzyl-O- β -D-apiofuranosyl-(1-6)- β -D-glucopyranoside (2), 4-(1,2-dihydroxyethyl) phenol (3), sodium salt of 3-caffeoyl quinic acid (4) and 6 nitrogen-containing compounds: 5-oxo-proline (5), 5-oxo-prolin-ethyl-ester (6), nicotinamide (7), tryptophane (8), perlolidine (9), 1,2,3,4-tetrahydro-1-methyl- β -carboline-3-carboxylic acid (10).

Results and Discussions

The negative ESI-MS spectrum of compound 1 showed a molecular ion peak at m/z 255 [M-H]⁻. Its ¹H-NMR spectrum contained the signals of monosubstituted aromatic ring [7.27 *dd* (7.3, 8.7), 7.08 *dd* (1.1, 8.7), 6.99 *t* (7.3)] and the signals of a glucose unit [4.90 *d* (7.0), 3.89 *dd* (1.2, 12.0), 3.69 *dd* (4.9, 12.0) and 3.35 - 3.50 *m*]. The ¹³C-NMR spectrum showed 10 signals.

Among them, 6 signals could be assigned to the glucose moiety. The other signals resonanced at δ_C 117.7, 123.3, 130.4 and 159.2, containing a quaternary carbon and three methine carbons, which corresponded to a monosubstituted aromatic ring. This spectroscopic analysis suggested that

compound 1 has a structure of phenyl-O- β -D-glucopyranoside. This suggestion was confirmed by comparison with the spectral data in the literature [7].

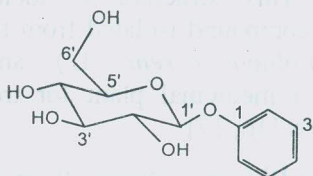
The molecular ion peak of compound 2 was observed at m/z 401 [M-H]⁻ in the negative ESI-MS spectrum. The NMR spectrum of this compound was very close to that of compound 1. In addition to the signals of a monosubstituted aromatic ring and a glucose unit, in the NMR spectrum of compound 2, there appeared signals of a furanose unit and an oxygenated methylene group at δ_C 71.7, δ_H 3.99 *d* (9.6), 3.77 *d* (9.6). Comparison of the NMR data with those of icariside D₁ in the literature [8] indicated that compound 2 contained β -D-apiofuranosyl-(1-6)- β -D-glucopyranose moiety. Consequently, the structure of compound 2 was elucidated as benzyl-O- β -D-apio-D-furanosyl-(1-6)- β -D-glucopyranoside. This compound had previously been isolated from *Epimedium grandiflorum* and called icariside F₂ [9].

The EI-MS spectrum of compound 3 indicated a molecular ion peak at m/z 154 [M]⁺ and a base peak at m/z 123 [M-CH₂OH]⁺. Its ¹H-NMR spectrum contained two signals with double intensity of p-disubstituted aromatic ring [δ 7.17 *d* (8.5), 6.74 *d* (8.5)], a hydroxylated methine and methylene signals at δ_H 4.58 *t* (6.2) and δ_H 3.57 *d* (6.2), respectively. Two quaternary carbons at δ_C 157.8, 123.8 and two methine carbons at δ_C 128.5, 115.8 with double intensity confirmed the presence of p-disubstituted aromatic ring. Furthermore, the hydroxylated methylene and methine carbons were also observed in the ¹³C-NMR spectrum. The above spectroscopic analysis led to the conclusion that compound 3 is 4-(1,2-dihydroxyethyl) phenol. This conclusion was supported by published reference data [10].

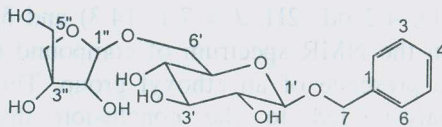
Compound 4 showed a molecular ion peak at m/z 399 [M+Na]⁺ in the positive ESI-MS spectrum. Its ¹H-NMR spectrum indicated the signals of caffeoyl moiety in the aromatic zone. Additionally, three oxygenated methine protons at δ_H 5.37 *m*, 4.12 *d* (3.1), 3.68 *dd* (3.1, 9.9) and two methylene groups at δ_H 1.97 *m*, 2.12 *m* were also present. The ¹³C-NMR spectrum contained 16 carbons, including two carbonyl groups at δ_C 180.8, 168.9; three quaternary and four methine carbons in the range from 115.4 to 149.4 ppm of caffeoyl moiety;

four oxygenated carbons at δ_C 77.8, 75.0, 73.0, 72.6 and two methylene groups at δ_C 40.7, 39.0. In comparison of these spectroscopic data with those of synthesized 3-caffeoyl quinic acid (chlorogenic

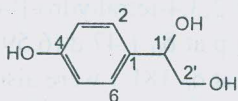
acid) [11] indicated that compound 4 was sodium salt of 3-caffeoyl quinic acid, because the chemical shifts of carboxyl signal were large ($\Delta\delta$ 3.8) and its molecule has 22 mass units more.



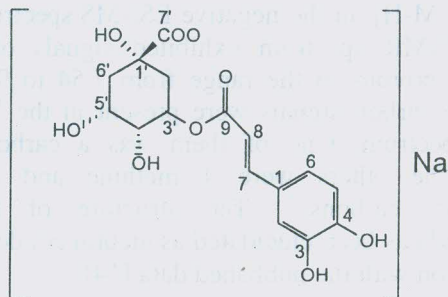
1: Phenyl- β -D-glucopyranoside



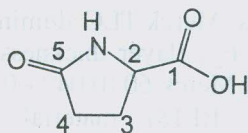
2: Benzyl-O- β -D-apiofuranosyl-(1-6)- β -D-glucopyranoside



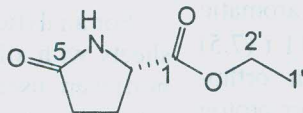
3: 4-(1,2-dihydroxyethyl)phenol



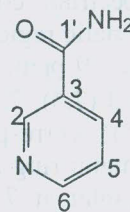
4: Sodium salt of 3-caffeoylquinic acid



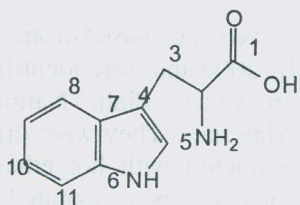
5: 5-oxo-proline



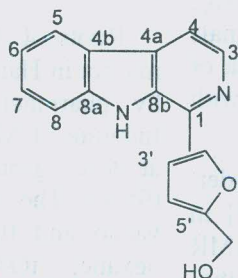
6: 5-oxo-prolin-ethylester



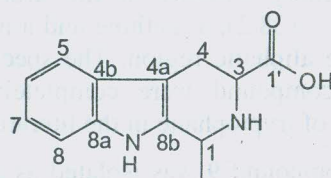
7: Nicotinamide



8: Tryptophane



9: Perloidine



10: 1,2,3,4-tetrahydro-1-methyl- β -carboline-3-carboxylic acid

Compound 5 showed a molecular ion peak at m/z 128 $[M-H]^-$ in the negative ESI-MS spectrum, indicating the presence of one nitrogen atom in its molecule. The 1H -NMR spectrum contained 5 proton signals, including a proton at δ_H 4.22 dd (4.8, 8.8) and 4 protons resonanced in the range from 2.1 to 2.6 ppm. There are only 5 carbons in

the ^{13}C -NMR spectrum. Two of them are carbonyl groups (δ_C 180.9, 176.3). In addition, the signals of one methine and two methylene groups appeared at δ_C 57.3 and 30.6, 26.2, respectively. These spectral data are in good agreement with those of 5-oxo-proline published in literature [12].

The molecular ion peak of compound 6 at m/z

157 [M]⁺ was demonstrated in the EI-MS spectrum. The base peak at *m/z* 84 [M-C₂H₅COO]⁺ suggested that its molecule possesses an ethyl ester group. The NMR data of compound **6** were very similar to those of compound **5**. Besides the signals of 5-oxo-proline moiety as in **5**, the signals at δ_{H} 1.28 t (3H, *J* = 7.1), 4.2 dd (2H, *J* = 7.1, 14.3) and δ_{C} 14.5, 62.5 in the NMR spectrum of compound **6** revealed the presence of an ethoxyl group. This spectral analysis led to the conclusion that compound **6** is an ethyl ester of 5-oxo-proline [13].

Compound **7** showed a molecular ion peak at *m/z* 121 [M-H]⁻ in the negative ESI-MS spectrum. The ¹H-NMR spectrum exhibited signals of 4 aromatic protons in the range from 7.54 to 9.02 ppm. Six carbon signals were present in the ¹³C-NMR spectrum. One of them was a carbonyl group. The others were 4 methine and one quaternary carbons. The structure of this compound has been elucidated as nicotin amide by comparison with the published data [14].

Compound **8** showed a molecular ion peak at *m/z* 203 [M-H]⁻ in its negative ESI-MS spectrum. The ¹H-NMR spectrum contained signals of 5 protons in the aromatic region and 3 protons in the range from 3.1 to 3.9 ppm. Four of the aromatic protons [δ_{H} 7.69 d (7.5), 7.36d (7.5), 7.11 t (7.5) and 7.03 t (7.5)] corresponded to an ortho-disubstituted aromatic ring and another proton appeared as a singlet at 7.2ppm. The ¹³C-NMR spectrum revealed 11 carbons, including one carbonyl (δ_{C} 174.3), 5 methine together with 3 quaternary carbons in the aromatic range (δ_{C} : 109.4 - 138.2), a methine and a methylene signals in the aliphatic region. The spectroscopic data of this compound were completely identical with those of tryptophane in the literature [15].

Compound **9** was isolated as a yellow powder, having a molecular ion peak at *m/z* 263 [M-H]⁻ in its negative ESI-MS spectrum. The ¹H-NMR spectrum showed four protons of an ortho-disubstituted aromatic ring [8.18 d (7.9), 7.7 d (7.9), 7.59 t (7.9), 7.29 t (7.9)] and two olefinic protons at δ_{H} 8.29 d (5.3), 8.01 d (5.3) of an unsaturated heterocyclic ring. Eight carbon signals including 6 protonated and two quaternary carbons corresponded to above-mentioned protons were observed in the ¹³C-NMR. This analysis suggested that compound **9** contained a β -carboline skeleton. Furthermore, the typical signals of an 5-hydroxymethyl-2-furyl at δ_{H} 4.89 (2H, s), 6.59 d

(1H, 3.2) and 7.22 d (1H, 3.2); δ_{C} 57.5, 110.9 and 111.0 were also present in its ¹H- and ¹³C-NMR spectrum. Consequently, structure of compound **9** was concluded to be 1-(5-hydroxymethyl-2-furyl)- β -carboline. This structure is identical with perlolidin, a compound isolated from the perennial rye-grass (*Lolium perenn* L.) and *Lolium chuanxiong*, a medicinal plant for treatment of angina pectoris [16, 17].

Compound **10** gave a molecular ion peak at *m/z* 229 [M-H]⁻ in the negative ESI-MS spectrum. Comparison of its NMR spectral data with those of compound **9** suggested that compound **10** has the structure of 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline. Besides the signals of 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline moiety, a methyl group at δ_{H} 1.47 d (6.59), δ_{C} 20.1 and a carboxyl group at δ_{C} 181.1 were also present. Finally, the structure **10** was elucidated to be 1,2,3,4-tetrahydro-1-methyl- β -carboline-3-carboxylic acid, when compared with the published data [17].

Experimental

Instruments and chemicals: NMR: Varian Unity 300; MS: AMD 402.

For analytical purposes: Merck TLC aluminium sheets with silica gel 60 F₂₅₄ (layer thickness 0.2 mm) were used. Silica gel Merck 60 (0.040 - 0.063 mm), reversed phase (RP18) material and Sephadex LH20 were used for column chromatography.

Extraction and isolation:

Roots of *A. sinensis* were purchased from the market in Hanoi, in July, 2000 and were identified by pharmacist Nguyen Chien Binh, National Institute of Medicinal Materials. They were dried at 40°C, ground and extracted with hot ethanol (95%). The organic solvent was evaporated in vacuo and the aq. soln was extracted with *n*-hexane, EtOAc and *n*-BuOH, successively. The solvents were evaporated in vacuo to give *n*-hexane, EtOAc and *n*-BuOH extracts.

The butanol extract was chromatographed over silica gel, eluted with CHCl₃ and increasing amounts of MeOH to yield 380 fractions.

Fractions 124 - 223 were obtained with 10% MeOH. These fractions were rechromatographed over a Sephadex LH-20 column eluted with MeOH, followed by using a RP-18 column, eluted with MeOH : H₂O (4 : 1) to give compounds **3**, **7**

and 9. Compound 3: EI-MS (70eV) m/z (rel. int.): 154[M]⁺ (8.6), 123[M-CH₂OH]⁺ (100), 107 (11.5), 95 (32.3), 77 (33.5). Compound 7: positive ESI-MS: m/z 145 [M+Na]⁺, negative ESI-MS: m/z 121 [M-H]⁻. Compound 9: positive ESI-MS: m/z 287 [M+Na]⁺, negative ESI-MS: m/z 263 [M-H]⁻.

With 15% MeOH, fractions 353 - 356 were separated and further purified by using a Sephadex LH-20 column with MeOH as eluate yielded 5 fractions. The first fraction was rechromatographed on a Sephadex LH-20 column, eluted with MeOH, followed by preparative TLC to furnish compound 5, negative ESI-MS: m/z 128 [M-H]⁻, positive ESI-MS: m/z 152 [M+Na]⁺. The second fraction was put on a RP-18 column, eluted with MeOH : H₂O (4 : 1) yielding compound 1, positive ESI-MS m/z 279 [M+Na]⁺. The third fraction was chromatographed on RP-18 column with the solvent system MeOH : H₂O = 4 : 1 to give compound 6, EI-MS (70eV, rel. int.): m/z 157 [M]⁺ (6.7%), 84 [M-C₂H₅COO]⁺ (100%), 56 (10%).

The fraction containing compound 2 was separated by eluting with 18% MeOH. This

fraction was subjected on a Sephadex LH-20 column washing with MeOH, followed by a RP-18 column, eluting with MeOH : H₂O (2 : 1) to yield 5mg of compound 2, positive ESI-MS m/z 425 [M+Na]⁺.

With 20% MeOH, fractions 360, 364 and 366 were separated. Fraction 360 was further purified over a Sephadex LH-20 column, eluting with MeOH to give compound 4, positive ESI-MS m/z 399 [M+Na]⁺. Fraction 364 was purified by using a silica gel column, eluting with CHCl₃ : MeOH = 75 : 25 to yield compound 8, positive ESI-MS: m/z 227 [M+Na]⁺, negative ESI-MS: m/z 203 [M-H]⁻. Fraction 366 was rechromatographed over a Sephadex LH-20, eluting with MeOH, followed by a RP-18 column using MeOH : H₂O = 3 : 5 as eluate furnishing compound 10, positive ESI-MS: m/z 253 [M+Na]⁺, negative ESI-MS: m/z 459 [M-H]⁻.

Acknowledgement- We wish to thank the BMBF, Germany for financial support, Dr. A. Porzel and Dr. J. Schmidt, IPB Halle/S. for NMR and MS measurements.

References

- 1). K. Terasawa, A. Imadaya, H. Tosa, T. Mitsuma, K. Torizuka, K. Takeda, M. Mikage, M. Hattori and T. Namba, *Fitoterapia*, Volume LVI, 201-208, (1985);
- 2). Do Tat Loi, Glossary of Vietnamese Medicinal Plants. Medicinal Publication, Hanoi, Vietnam, p. 55, (1999);
- 3). Y. Zhongzhu, Z. Lingyun, X. Lina, *Acta Pharm. Sinica*, 15, 321 (1980);
- 4). S. Tanada, Y. Ikeshiro, M. Tabata, M. Konoshima, *Arzneim. Forsch. / Drug Res.* 27, 2039 (1977);
- 5). S. Zschocke, J-H Liu, H. Stuppner and R. Bauer, *Phytochemical analysis*, 9, 283-290, (1998);
- 6). P-M. Hon, C-M. Lee, T. F. Choang, K-Y. Chui, H. N. C. Wong, *Phytochemistry*, 29, 1189 - 1191 (1990);
- 7). R. Roscher, P. Steffen, M. Herderich, W. Schwab and P. Schreier, *J. Agric. Food Chem.* 44, 1626 - 1629 (1996);
- 8). Masaru Kobayashi, Miyuki Fujita and Hiroshi Mitsuhasshi, *Chem. Pharm. Bull.* 35(4), 1427-1433 (1987);
- 9). T. Miyase, *Chem. Pharm. Bull.* 36, 2475 (1988);
- 10). M. Taniguchi, *Phytochemistry*, 42, 843 - 846 (1996);
- 11). M. Sefkow, A. Kelling, U. Schilde, *Eur. J. Org. Chem.* 2735 - 2742 (2001);
- 12). F. Benz, *Helv. Chim. Acta*, 57, 2459, (1974);
- 13). B. Rigo, *J. Het. Chem.* 25, 49 (1988);
- 14). N. Yamashita, K. Sakata, H. Ina and K. Ina, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 3351 - 3352 (1989);
- 15). Hans-Otto Kalinowski, *¹³C-NMR Spektroskopie*, Georg Thieme Verlag Stuttgart. New York, 209 (1984);
- 16). Shin-ichi Nakatsuka, Bai-nian Feng, Toshio Goto and Kiyoshi Kihara, *Tetrahedron Letters*, 27 (29), 3399 (1986);
- 17). F. Bracher, D. Hildebrand, *Liebigs. Ann. Chem.* 1315 (1992).

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA BÀI THUỐC " NHỊ NHÂN HOÀ VỊ" CHỮA VIÊM LOÉT DẠ DÀY - TÁ TRÀNG (Thông báo số 2)

Phùng Hoà Bình, Đỗ Thị Ngọc Hoà, Trần Thị Hồng Linh

Trường Đại học Dược Hà Nội

(Nhận bài ngày 22 tháng 2 năm 2004)

Summary

Studies on the Effects of the *Nhi nhan hoa vi* Prescription for Gastroduodenitis

Total extract of the prescription has been shown to reduce pain by 46 and 66% at oral doses of 16 and 32g plant material per kg body weight in rats, respectively, using Koster and Tuner methods. The same doses given subcutaneously resulted in 81 and 94% pain reduction, respectively.

At a dose of 16 g / kg, the extract reduced natural movement of the rats by 72% and prolonged their sleep when combined with phenobarbital.

On both isolated and in situ rabbit intestines, the extract did not show any significant effect on peristalsis.

Key words: *Nhi nhan hoa vi*, Pain Reduction.

I. Đặt vấn đề

Trong số báo trước [1], chúng tôi đã thông báo kết quả nghiên cứu bước đầu thăm dò tác dụng của bài thuốc "Nhị nhân hòa vị" cho thấy bài thuốc có tác dụng giảm tổn thương, giảm tỷ lệ loét dạ dày chuột thí nghiệm, nhưng không làm giảm lượng dịch mật và độ acid. Cơ chế tác dụng có thể liên quan đến sự tăng tiết dịch mật để tạo ra NaHCO_3 là yếu tố bảo vệ, chống lại tác động của acid. Việc nghiên cứu tiếp tục một số tác dụng dược lý của bài thuốc này nhằm tìm hiểu sâu hơn tác dụng của bài thuốc.

II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Bài thuốc "Nhị nhân hòa vị" được bào chế dưới dạng cao lỏng (1:1) bằng cách sắc để thử tác dụng.

1. Thử tác dụng giảm đau: theo phương pháp Koster và Tuner [2,3].

- Súc vật thí nghiệm là chuột nhắt trắng cả 2 giống, trọng lượng 20 - 24 g / con.

- Gây đau nội tạng bằng tiêm màng bụng chuột dung dịch acetic acid. Phản ứng của chuột là các cơn đau quặn. Đếm số lần đau quặn trong mỗi khoảng thời gian 5 phút.

- Đánh giá: So sánh số lần đau quặn trung bình của lô thử thuốc với lô đối chứng trong mỗi khoảng thời gian 5 phút. Tỷ lệ làm giảm cơn đau quặn $I(\%)$ được tính theo công thức :

$$I(\%) = \frac{N_c - N_t}{N_c} \times 100$$

N_t là số cơn đau quặn trung bình của lô thử thuốc. N_c là số cơn đau quặn trung bình của lô đối chứng.

2. Thử tác dụng an thần.

2.1. Thử tác dụng trên hoạt động tự nhiên (phương pháp "lồng rung").

- Súc vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng cả 2 giống, trọng lượng 20 - 24 g / con.

- Chuột hoạt động sẽ làm lồng rung theo. Ghi rung động này bằng máy ghi trên giấy kẻ ô kích thước 10 mm x 5 mm.

- Chỉ tiêu quan sát dựa trên biên độ rung động được ghi trên giấy, tính điểm theo thang điểm sau:

+ Rung động có biên độ < 5mm được tính điểm 0.

+ Rung động có biên độ 5-15mm được tính điểm 1.

+ Rung động có biên độ 15-30mm được tính điểm 2.

+ Rung động có biên độ ≥ 30 mm được tính điểm 3

- Phương pháp đánh giá: So sánh số điểm trung bình ghi trong 1 phút giữa lô thử thuốc với lô đối chứng. Tỷ lệ làm giảm hoạt động tự nhiên của chuột $G(\%)$ được tính theo công thức :

$$G(\%) = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100$$

Dc là số điểm trung bình của lô đối chứng. Dt là số điểm trung bình của lô thử thuốc.

2.2. Thử tác dụng hiệp đồng với Thiopental.

- Phương pháp: Gây ngủ chuột nhất trắng bằng thiopental theo đường tiêm tĩnh mạch.

Theo dõi thời gian ngủ của chuột. Đánh giá tác dụng của lô thử thuốc bằng phép so sánh giữa lô thử thuốc với lô đối chứng (Test - T) ở ngưỡng 95 (%). Thuốc có tác dụng hiệp đồng càng mạnh khi thời gian ngủ càng dài.

3. Thử tác dụng trên cơ trơn.

3.1. Tác dụng trên ruột tại chỗ (theo phương pháp Nicolaev).

Bộc lộ hồi tràng thỏ, nuôi trong dung dịch Tyrode. Tiêm bắp thỏ dịch thuốc thử liều 10 ml / kg TT (kilogam thân trọng) - tương đương 10 g được liệu. Theo dõi tình trạng ruột thỏ về tần số co (số lượng cơn co trong 1 đơn vị thời gian), biên độ co (cường độ cơn co) khi không dùng thuốc và khi dùng thuốc. Hình ảnh được ghi lại trên máy ghi.

Đánh giá: Nhận xét trên cơ sở tần số và biên độ hoạt động của ruột.

3.2. Tác dụng trên ruột cô lập (theo phương pháp Magnus).

Bộc lộ và tách rời một đoạn hồi tràng thỏ, nuôi trong dung dịch Tyrode, sau đó lần lượt thêm dịch chiết ở liều 50, 100, 200 μ l, ghi nhu động ruột bằng máy ghi ở các thời điểm khác nhau trong điều kiện thử khác nhau: nhu động ruột bình thường, kích thích bằng bari clorid và thuốc.

Đánh giá: Nhận xét trên cơ sở tần số và biên độ co bóp của ruột.

III. Kết quả nghiên cứu

1. Thử tác dụng giảm đau:

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô $n = 10$ chuột.

Lô thử thuốc: Dịch chiết toàn phần của bài thuốc "nhị nhân hoà vị" (tỷ lệ 1 : 1) thử theo đường uống ở 2 liều: 16ml và 32 ml / kg TT chuột ; thử theo đường tiêm dưới da liều 16 ml / kg TT. Lô đối chứng: Cho chuột uống dung dịch NaCl 0,9% liều 16 ml, 32 ml theo đường uống và liều 16 ml theo đường tiêm dưới da.

Để chuột yên tĩnh trong 30 phút. Tiêm màng bụng acetic acid 0,60%, liều 0,1 ml / 20 TT chuột.

Đếm số lần quận đau trong mỗi khoảng thời gian 5 phút kể từ phút thứ 6 đến phút thứ 25. Kết quả thử nghiệm được ghi ở bảng 1,2.

Bảng 1. Tác dụng giảm cơn đau quận trên chuột của dịch chiết " Nhị nhân hoà vị "

Số TT	Mẫu thử	Đường thử	Liều (ml/kg)	Số cơn đau quận trung bình trong khoảng thời gian (phút)				
				5-10	10-15	15-20	20-25	5-25
1	Đối chứng	uống	16	21,3 ± 4,8	21,0 ± 4,9	17,5 ± 8,3	12,4 ± 3,6	72,2 ± 20,0
2	Thuốc	uống	16	10,7 ± 6,5	11,3 ± 6,4	8,0 ± 5,2	5,4 ± 1,9	35,4 ± 17,7
3	Đối chứng	uống	32	22,2 ± 4,7	20,2 ± 2,5	17,6 ± 5,2	14,4 ± 6,2	47,4 ± 14,5
4	Thuốc	uống	32	10,6 ± 6,4	8,4 ± 5,4	6,2 ± 4,4	4,9 ± 2,9	31,1 ± 17,2
5	Đối chứng	tiêm	16	20,4 ± 7,9	19,5 ± 5,3	17,5 ± 4,5	14,2 ± 4,7	71,6 ± 13,5
6	Thuốc	tiêm	16	1,3 ± 2,7	2,2 ± 3,7	1,9 ± 3,4	2,7 ± 7,8	8,1 ± 15,1

Bảng 2. Tỷ lệ làm giảm cơn đau quận trên chuột của dịch chiết "Nhị nhân hoà vị"

Số TT	Đường thử	Liều (ml/kg)	Tỷ lệ (%) giảm cơn đau quận theo thời gian (phút)					Giá trị P (5 - 25')
			5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	5 - 25	
1	Uống	16	49,77	46,19	54,29	56,45	50,97	< 0,05
2	Uống	32	52,25	58,42	64,77	65,97	59,54	< 0,001
3	Tiêm	16	93,63	88,72	89,14	80,98	88,69	< 0,001

2. Thử tác dụng an thần.

2.1. Thử tác dụng trên hoạt động tự nhiên theo phương pháp "lồng rung".

Chia ngẫu nhiên chuột thành 2 lô, mỗi lô 15 con. Lô thử thuốc: Cho chuột uống dịch chiết toàn phần, liều 16 ml / kg TT.

- Lô đối chứng: Cho chuột uống dd NaCl 0,9%, liều 16 ml / kg TT chuột.

Để chuột yên tĩnh 25 phút. Lần lượt cho chuột vào lồng rung (nối với hệ thống máy ghi).

Sau 3 phút, ghi hoạt động của chuột trong 2 phút. Kết quả thực nghiệm được ghi ở bảng 3.

Bảng 3. Tác dụng làm giảm hoạt động tự nhiên của dịch chiết nhị "Nhân hoà vị"

Chỉ tiêu theo dõi	Lô đối chứng	Lô thử thuốc	Giá trị P
Hoạt động của chuột (số điểm trung bình / 1 phút)	65,0 ± 17,0	18,4 ± 12,0	< 0,001
Tỷ lệ hoạt động (%)	100	28,3	

2.2. Thử tác dụng hiệp đồng với Thiopental.

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 2 lô, mỗi lô n = 10 chuột.

- Lô thử thuốc: Cho chuột uống dịch chiết toàn phần (1:1), liều 16 ml / kg TT chuột.

- Lô đối chứng: Cho chuột uống dd NaCl 0,9 %, liều 16 ml / kg TT.

Để chuột yên tĩnh trong 30 phút. Tiêm Thiopental, liều 40 mg / kg TT chuột vào tĩnh mạch đuôi chuột. Theo dõi thời gian ngủ của chuột. Kết quả thực nghiệm được ghi ở bảng 4.

Bảng 4. Tác dụng kéo dài giấc ngủ Thiopental của dịch chiết "Nhị nhân hoà vị"

Chỉ tiêu theo dõi	Lô đối chứng	Lô thử thuốc	Giá trị P
Thời gian ngủ trung bình	12,9 ± 5,3	28,7 ± 15,0	< 0,05
Tỷ lệ thời gian ngủ (%)	100	222,48	

3. Thử tác dụng trên cơ trơn.

3.1. Tác dụng trên ruột tại chỗ.

Thỏ cả hai giống đực cái, trọng lượng 1,7 – 2,5 kg / con. Gây mê thỏ bằng cloral hydrat 7%, liều 10 ml / kg theo đường tiêm bắp. Mở bụng, xác định đoạn hồi tràng. Thắt 2 nút chỉ cách nhau 1,5 cm, một nút cố định đáy ống nuôi, một đầu nối với máy ghi dao động. Nuôi đoạn hồi tràng bằng dd Tyrode. Để yên 30 phút, ghi hoạt động.

- Tiêm bắp dịch chiết "Nhị nhân hòa vị", liều

yên 30 phút. Ghi hoạt động của hồi tràng.

Kết quả: Ở liều thử, tần số và biên độ nhu động của ruột tại chỗ khác nhau không rõ rệt.

3.2. Tác dụng trên ruột cô lập.

Thỏ cả hai giống đực cái, trọng lượng 1,7 – 2,5 kg / con. Gây mê thỏ bằng cloral hydrat 7%, liều 10 ml / kg theo đường tiêm bắp. Mở bụng, xác định và tách rời đoạn hồi tràng dài 1,5 cm, một đầu cố định đáy ống nuôi, một đầu nối với máy ghi dao động. Nuôi đoạn hồi tràng bằng dd Tyrode. Để yên

10 ml / kg thỏ (tương đương 10 g dược liệu.). Để

30 phút, ghi hoạt động.

- Nhỏ trực tiếp dd "Nhị nhân hoà vị", liều 10 ml / kg TT thỏ (tương đương 10 g dược liệu) vào ống nuôi 3 lần với liều: 50, 100, 200 μ l. Để yên 30 phút. Ghi hoạt động của hồi tràng.

- Rửa ruột bằng dd Tyrode, nhỏ vào ống nuôi dd bari clorid, liều 50 μ l. Ghi nhu động ruột.

Nhỏ dịch chiết "Nhị nhân hoà vị" vào ống nuôi liều 50, 100, 200 μ l. Ghi nhu động ruột.

Kết quả: Ở cả 3 liều thử, tần số và biên độ nhu động ruột thỏ cô lập khác nhau không đáng kể.

Bàn luận và kết luận

Ở liều thử, dịch chiết phương thuốc "Nhị nhân hoà vị" có tác dụng:

1. An thần ở cả 2 mô hình thí nghiệm. Thuốc vừa có tác dụng giảm hưng phấn chuột thí nghiệm vừa kéo dài giấc ngủ của Thiopental rõ rệt ($P < 0,05$).

2. Giảm đau nội tạng ở tỷ lệ cao. Trong mỗi khoảng thời gian 5 phút, thuốc đều làm giảm các cơn đau quận; sau khoảng thời gian 25 phút, thuốc hạ tỷ lệ đau rõ rệt so với lô đối chứng.

Bằng đường uống, ở liều 16 g / kg TT chuột, số cơn đau giảm 50,97 (%). Liều 32 g / kgTT, thuốc làm giảm cơn đau mạnh hơn: 59,54 (%).

Bằng đường tiêm, cùng liều 16 g / kg TT, tác dụng giảm đau là 88,69 (%), mạnh hơn so với đường uống.

3. Làm thay đổi không đáng kể nhu động ruột thỏ cô lập và tại chỗ.

Theo thông báo trước, dịch chiết toàn phần của "Nhị nhân hoà vị" làm giảm rõ rệt tỷ lệ tổn thương (loét) dạ dày chuột thí nghiệm, đồng thời tăng tiết dịch mật 188,69%, nhưng làm thay đổi không đáng kể lượng dịch vị và hàm lượng acid dịch vị.

Như vậy, thuốc không những không cản trở chức năng tiêu hoá mà còn kích thích tiêu hoá do tăng tiết dịch mật, điều hoà chức năng gan, được dùng để điều trị bệnh đau dạ dày thể can khí phạm vị (chức năng gan không điều hoà gây ảnh hưởng đến chức năng dạ dày) của y học cổ truyền. Với cơ chế này, chúng tôi hy vọng rằng, phương thuốc "Nhị nhân hoà vị" không chỉ được ứng dụng để điều trị dạ dày đã bị tổn thương mà còn có thể sử dụng trong dự phòng.

Tài liệu tham khảo

1). Phùng Hoà Bình - Lê Minh Phương. Thâm dò tác dụng của bài thuốc "nhị nhân hoà vị" chữa viêm loét dạ dày - tá tràng. *Tạp chí Dược liệu* số 3 / 2004, tập 9, trang 82; 2). Koster R,M Anderson, E,J. DeBeer. Acetic acid fod Analgenic Screening - Fed. Proc 1959, 18,412; 3). Tuner R.A. Screening. Methods in pharmacology. Academic Press. New York and London, 1965.P114.

NGHIÊN CỨU SƠ BỘ THÀNH PHẦN CÁC NHÓM CHẤT HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG AN THẦN CỦA CÂY TRINH NỮ

Nguyễn Thị Xuân Thủy- Viện Dược liệu, Đào Thị Vui - ĐH Dược HN

Summary

Chemical Composition and Sedative Effect of *Mimosa pudica*

Leaves of *Mimosa pudica* Linn. collected in Hung Yen province in May have been shown to contain tannin, flavonoids, phytosterols, alkaloids and saponins. Water and alcohol extracts of the leaves have sedative and hypnotic effects in mice.

Key words: *Mimosa pudica* Linn., sedative, hypnotic.

Mở đầu

Cây trinh nữ (*Mimosa pudica* L.) thuộc họ Mimosaceae, có tên khác là cây xấu hổ, mọc hoang khắp nơi ở nước ta. Cây còn phân bố ở Nam Mỹ, Đông Nam Á như Brunei, Indonesia, Malaysia, Thái Lan, Philippin.

Thành phần hóa học của trinh nữ gồm crocetin, mimosin (N-3-alanyl-3-hydroxy-4-pyridon), C-glycosid flavon sinh tố, khoáng chất, nhất là selen.

Theo kinh nghiệm dân gian của Việt Nam cũng như các nước Đông Nam Á khác, cây trinh nữ được dùng làm thuốc an thần cho người mất ngủ và trẻ em hay quấy khóc đêm. Cách dùng: Lấy toàn cây tươi bọc lại đặt dưới gối lúc ngủ hoặc sắc uống với liều 12g cây khô một ngày. Ngoài ra, rễ cây trinh nữ là thuốc chữa thấp khớp, cao huyết áp, rối

loạn kinh nguyệt. Trong y học cổ truyền, dược liệu trinh nữ có tính hàn, hơi độc, có tác dụng an thần. Do có mimosin, nên nếu dùng dài ngày sẽ có hiện tượng rụng tóc. Cần sao vàng để hạn chế độc tính. [1,2,3]

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

1. Đối tượng nghiên cứu: Dược liệu được lấy từ tỉnh Hưng Yên vào tháng 5.

2. Phương pháp nghiên cứu: Tác dụng an thần được đánh giá theo phương pháp theo dõi các hoạt động tự nhiên của chuột sau khi uống thuốc và tác dụng hiệp đồng với thuốc ngủ Hexobarbital.

Kết quả

1. Hiệu suất cao khô chiết từ cao còn 80% và cao nước.

Số thí nghiệm	Cao thu được (%) Dung môi cồn 80°	Cao thu được (%) Dung môi nước
1	14%	14,5%
2	13,8%	15%
3	13,5%	14,2%
Trung bình	13,7%	15,52%

Nhận xét: Cao thu được từ dung môi nước có hiệu suất cao hơn.

Cao thu được từ dung môi nước có độ quán hơn, không bị bết và chảy nước, thuận tiện cho

việc giập viên hoặc đóng nang.

2. Kết quả định tính các nhóm hoạt chất có trong cây trinh nữ: Dùng cao cồn 80%

Hợp chất	Các phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận
Phytosterol	Phản ứng với Anhydric acetic và H ₂ SO ₄ đặc	+	Có

Glycosid tim	Phản ứng Liberman – Bouchardat Phản ứng Baljet Phản ứng Legal	- - -	Không có
Alcaloid	Phản ứng Bouchardat Phản ứng Munier Phản ứng Mayer	+ + +	Có
Tanin	Phản ứng với thuốc thử FeCl ₃ 5% Phản ứng với dung dịch gelatin 1%	+++ +++	Có nhiều
Acid hữu cơ	Phản ứng với Na ₂ CO ₃	+	Có
Đường khử	Phản ứng với thuốc thử Fehling	+	Có
Chất béo	Vết dầu không để lại trên giấy lọc	-	Không
Caroten	Phản ứng với H ₂ SO ₄ đặc	-	Không
Flavonoid	Phản ứng với kiềm Phản ứng với FeCl ₃ 5% Phản ứng với Cyanidin	+++ +++ +++	Có nhiều
Saponin	Quan sát hiện tượng tạo bọt Phản ứng Salkovski	+ +	Có

3. Nghiên cứu tác dụng an thần

3.1. Ảnh hưởng của dịch chiết cây trinh nữ đến hoạt động tự nhiên của chuột

Tiến hành: Chuột nhắt trắng chủng Swiss, trọng lượng 20-22g do Viện Vệ sinh dịch tễ Hà Nội cung cấp. Chuột được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm trước khi thử thuốc 3 ngày. Chiều tối hôm trước khi thử, cho chuột nhịn ăn, 9h sáng hôm sau cho chuột uống thuốc. Chuột được chia thành 3 lô, mỗi lô 8 con:

Lô đối chứng: Cho uống nước muối sinh lý.

Lô thử 1: Cho uống cao cồn 3.6 g/kg chuột (liều gấp 15 lần liều dùng cho người).

Lô thử 2: Cho uống cao nước 3.6 g/kg chuột.

(Liều uống của mỗi con tương đương với 0.4ml dung dịch / 20g thân trọng).

Ghi hoạt động tự nhiên của chuột trong 5 phút (trên máy Activity cage 7431 của hãng Ugo Basil) ở các thời điểm trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc 1, 2, 3, 4, 5 giờ. Lấy kết quả của hoạt động theo chiều nằm ngang, trung bình của từng lô, sau đó xử lý thống kê. Kết quả:

	STT	Lô chứng	Lô thử 1	Lô thử 2
Bình thường	TB	424.5 ± 71.2	445 ± 72.1	439.375 ± 56.9
Sau 1h	TB P	375.3 ± 52.2 >0.05	337.4 ± 60.6 <0.05	381.8 ± 75.2 >0.05
Sau 2h	TB P	365.4 ± 74.3 >0.05	275.3 ± 63.2 <0.01	299.5 ± 40.2 <0.01
Sau 3h	TB P	344.9 ± 63.2 >0.05	270.3 ± 46.2 <0.01	281.3 ± 55.1 <0.01
Sau 4h	TB P	344.9 ± 63.2 >0.05	270.3 ± 46.2 <0.01	254.6 ± 78.5 <0.01
Sau 5h	TB P	339 ± 67.4 >0.05	248.6 ± 34.7 <0.01	258.5 ± 85.2 <0.01

Nhận xét: So sánh kết quả thu được giữa trước và sau khi dùng các chế phẩm thấy cả dịch chiết nước và dịch chiết cồn của cây trinh nữ đều làm giảm hoạt động tự nhiên của chuột có ý nghĩa thống kê.

Tuy nhiên, dịch chiết cồn thể hiện tác dụng nhanh hơn dịch chiết nước (thể hiện ở chỗ dịch chiết cồn sau khi uống 1 giờ đã có tác dụng (P < 0.05), còn dịch chiết nước phải sau 2 giờ mới có tác dụng).

3.2. Ảnh hưởng của dịch chiết cây trinh nữ đến thời gian ngủ của Hexobarbital

hexobarbital 0.5% với liều 75mg/kg chuột (0.3ml/20g chuột).

Tiến hành: Loại chuột, cách chia lô và liều thử giống như ở mục 3.1. Sau khi uống thuốc được 60 phút, mỗi chuột được tiêm màng bụng dung dịch

Theo dõi thời gian tiềm phục và thời gian ngủ của chuột ở các lô. Kết quả:

	STT	Lô đối chứng		Lô thử 1		Lô thử 2	
		T1 (phút)	T2 (phút)	T1 (phút)	T2 (phút)	T1 (phút)	T2 (phút)
Thời gian ngủ của hexo-barbital	1	2.5	25	2.3	51.6	3.5	32.5
	2	2.3	30	3.3	53.3	3.5	30.3
	3	3.6	28.3	2.3	53.0	3.7	30.2
	4	2.6	24.5	3.0	46.2	2.3	33.6
	5	3.3	29.3	2.4	47.5	2.8	37.5
	6	3.5	31.5	3.1	53.1	2.0	38.0
	7	2.2	33	3.0	48.1	3.0	35.0
	8	2	32.2	2.1	44.6	2.6	34.0
	9	2.4	26.9	2.5	42.1	2.5	30.3
	10	2	34.7	2.0	41.5	2.6	38.5
	TB	2.6 ± 0.4	29.5 ± 2.4	2.6 ± 0.33	48.1 ± 3.2	2.86 ± 0.41	33.9 ± 2.31
				P > 0.05	P < 0.01 P _{thử1/thử2} < 0.01	P > 0.05	P < 0.01

* Nhận xét: So sánh kết quả thu được giữa lô thử và lô đối chứng thấy:

- Dịch chiết trinh nữ không ảnh hưởng đến thời gian tiềm phục của hexobarbital trên chuột.
- Dịch chiết cây trinh nữ kéo dài thời gian ngủ của hexobarbital có ý nghĩa thống kê (P < 0.01)
- Dịch chiết cồn có tác dụng mạnh hơn dịch chiết nước có ý nghĩa (P < 0.01)

Tóm lại, dịch chiết nước và dịch chiết cồn của cây trinh nữ với liều tương đương 3,6g dược liệu khô / kg thân trọng có tác dụng làm giảm hoạt động tự nhiên và kéo dài thời gian ngủ của chuột

nhất gây ra bởi hexobarbital. Như vậy, cả dịch chiết nước và dịch chiết cồn đều có tác dụng an thần.

Kết luận

Đã xác định được thành phần các nhóm chất của cây trinh nữ là tanin, flavonoid, phytosteorol, alcaloid, saponin.

Cả 2 loại dịch chiết cồn và dịch chiết nước đều có tác dụng an thần gây ngủ, nhưng cồn có tác dụng nhanh và mạnh hơn.

Kết quả của hai phương pháp đều cho kết luận là dịch chiết cây trinh nữ có tác dụng an thần, gây ngủ rất tốt.

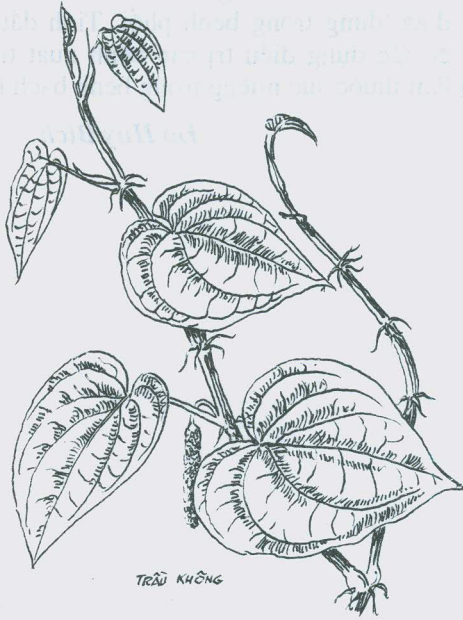
Tài liệu tham khảo:

- 1). Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Khoa học kỹ thuật 1986, trang 790; 2). Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB Y học 1997; 3). Plant resources of South – East Asia 12 Medical and Poisonous plants 1, Leiden 1999, p.349-353.

LÁ TRẦU KHÔNG - VỊ THUỐC ĐA DỤNG

Hỏi: Xin cho biết dược tính và công dụng làm thuốc của lá trầu không.

Nguyễn Thu Hương (Hà Nội)



Đáp: Cây trầu không được trồng phổ biến trong cả nước, nhất là ở nông thôn. Ở miền Nam, có những thôn toàn vườn trầu. Lá trầu không cùng với quả cau, rễ quạch và vôi tôi đã tạo nên miếng trầu độc đáo theo tập tục cổ truyền đã có từ lâu ở nước ta. Nhai trầu làm cho răng lợi thêm chắc và phòng tránh được những bệnh về miệng.

Lá trầu không được dùng làm thuốc phổ biến trong kho tàng kinh nghiệm dân gian. Dược liệu có vị cay, nóng, mùi thơm hắc, tính ấm, có tác dụng giảm đau, chống lạnh, tiêu viêm, sát khuẩn, giải độc. Lá trầu không (5-10g) nhai nuốt chữa đau bụng lạnh, đầy hơi, nôn mửa. Lá trầu không (10g) và gừng sống (4g) ép lấy nước, thêm ít mật ong, uống chữa ho. Lá trầu không (30g) phối hợp với lá chàm mèo (50g), rau răm (20g), dùng tươi, rửa sạch, giã nát, thêm nước, gạn uống chữa ho ra máu. Lá hoặc rễ trầu không (10g), rễ cau (10g), thái nhỏ, sắc với 400 ml nước còn 100 ml, uống làm hai lần trong ngày, chữa đái nhất. Dùng liên vài ngày cho đến khi khỏi. Cơ chế tác dụng của thuốc là lá và rễ trầu không chứa các chất có tính kháng khuẩn và tiêu viêm mạnh, rễ cau có nhiều muối vô cơ, nhất là kali, có tác dụng lợi tiểu rõ rệt.

Phụ nữ có thai không được dùng. Kinh nghiệm này còn có ở nhân dân Lào và nhân dân ở một số nước Đông Nam Á khác.

Dùng ngoài, lá trầu không giã nát, hoà với ít rượu, bôi chữa bỏng nguy cấp (Nam dược thân hiệu). Nước ép lá trầu nhỏ vào tai chữa đau tai. Hàng ngày, súc miệng bằng nước có pha dịch ép lá trầu không có thể phòng được viêm họng và có tác dụng trợ lực tốt cho các thuốc trị bệnh bạch hầu. Lá trầu không giã nát, bọc bằng lá ráy đâm thủng nhiều lỗ, hơ nóng, đắp chữa sưng tấy. Lá trầu không, hoa dâm bụt, lá thồm lôm (mỗi thứ 50g) giã đắp chữa mụn nhọt. Trầu không (3-5 lá), hạt cau (1 hạt) phơi khô, tán bột mịn, rắc làm thuốc cầm máu. Trầu không (10 lá) giã nát, xát vào chỗ đau cho trầy hết vảy, rồi đắp hỗn hợp hạt thảo quyết minh và quả khế chua giã nhuyễn, băng lại trị hắc lao. Nước sắc lá trầu không, cô thành cao đặc, dùng bôi chữa bệnh nha chu viêm (paradentose), chàm mặt, lở loét.

Nhân dân miền Nam có kinh nghiệm dùng lá trầu không vò nát, trộn với ít dầu hoả, rồi xát vào ngực, hai bên sườn, lòng bàn tay, bàn chân như kiểu đánh gió để chữa cảm, sốt nóng, đau nhức, tê mỏi. Để chữa rắn độc cắn, họ đã pha sẵn thuốc dùng cấp thời như sau: Lá trầu không (40g), gừng (40g), quế chi (20g), phèn chua (20g), vôi (20g). Quế, phèn và vôi tán bột mịn; trầu không, gừng để tươi, giã ép lấy nước cốt, trộn với thuốc bột trên và luyện với hồ làm thành viên 10g, phơi khô. Khi bị rắn cắn, uống ngay 1 viên và nghiền 1 viên với nước cho đặc, rồi bôi vào vết cắn. Ngày làm 2-3 lần.

Nhân dân miền núi phía Bắc lại dùng trầu không chữa rắn cắn theo cách sau: Lấy lá trầu không nấu nước, rửa sạch vết cắn; cành lá cây dống xanh (50g) giã nát, thêm nước, gạn uống; vỏ cây nóng (30g) cạo bỏ lớp vỏ ngoài, rửa sạch, giã nhỏ, đắp xung quanh vết thương. Ngày làm một lần.

Trong những năm kháng chiến chống Mỹ, nhiều đơn vị y tế ở chiến trường miền Nam đã

dùng nước trầu không – phèn chua để rửa vết thương đạt kết quả tốt. Cách làm như sau: Lá trầu không tươi (40g) rửa sạch đun với 2 lít nước để sôi trong 15 phút. Để nguội, gạn lấy nước trong, cho phèn phi (8g) vào, đánh tan, lọc. Nước này được dùng thay thuốc tím và thuốc đỏ.

Lá trầu không phơi khô, tán thành bột, lấy 1 kg ngâm nhỏ giọt với 4 lít nước ấm, rồi cô thành cao đặc. Sau đó, pha chế cao trầu không với vaselin thành thuốc mỡ 1%. Bệnh viện Saint Paul Hà Nội đã dùng thuốc mỡ này để chữa bỏng, nhất là bỏng độ hai, đạt kết quả rất tốt. Thuốc không gây xót và không có phản ứng phụ. Người ta còn dùng bã trầu, rêu tường và mề gà, phơi khô giòn, đốt thành

tro, hoà với rượu, bôi chữa cam tẩu mã.

Tinh dầu chiết từ lá trầu không với hàm lượng 0,6-1,8% có hoạt tính ức chế đối với nhiều chủng vi khuẩn như tụ cầu khuẩn, phế cầu khuẩn, liên cầu khuẩn, trực khuẩn coli, trực khuẩn lỵ, phẩy khuẩn tả...và có tác dụng kháng các nấm *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*...

Theo tài liệu nước ngoài, ở Ấn Độ, lá trầu không được dùng trong bệnh phổi. Tinh dầu trầu không có tác dụng điều trị các bệnh xuất tiết hô hấp và làm thuốc súc miệng trong bệnh bạch hầu.

Đỗ Huy Bích

