

KHẢO SÁT VÀ ĐÁNH GIÁ TÌNH HÌNH SỬ DỤNG HÓA CHẤT BẢO VỆ THỰC VẬT TRONG VIỆC TRỒNG CÂY THUỐC Ở LÀNG NGHỀ TRUYỀN THỐNG NGHĨA TRẠI, TỈNH HUNG YÊN

Trần Việt Hùng, Trịnh Văn Quý - Viện Kiểm nghiệm – Bộ Y Tế,
Phạm Hồng Việt, Phạm Thanh Kỳ - Trường Đại học Dược Hà Nội
(Nhận bài ngày 26 tháng 5 năm 2004)

Summary

A survey on pesticides use in cultivation of medicinal plants one region of Hungyen province

An investigation of pesticides used for cultivation of medicinal plants in Nghiatrai village was reported. Basing on 162 questionnaires, 63 trade name pesticides used for cultivation of medicinal plants there were recorded and classified. Pesticides of most commonly use are insecticides with 45 trade names (71.4%). Fungicides was also used with 7 trade names. Plant growth regulators and herbicides were not considerably used. Most pesticides used are permitted in Vietnam except methamidophos and 2 restricted pesticides (endosulfan and zinc phosphide). In 45 insecticides (19 active compounds), there was 6.7 % of organochlorinated with 3 trade names containing endosulfan. Organophosphorous presented 28.9 % with 13 trade names (8 active compounds, 38.1%), pyrethroid presented 35.6 % with 16 trade names (6 active compounds, 28.6%). The rest insecticides include 1 microbial, 7 other classified and 2 unclassified. As they are used in cultivation, pesticide residues in herbal medicines should be determined in order to assure their quality.

Key words: hóa chất BVTV, hóa chất điều hòa sinh trưởng, hóa chất diệt cỏ, cơ clor, cơ phosphor, pyrethroid

I. Đặt vấn đề

Để có những đánh giá về tình hình sử dụng hóa chất bảo vệ thực vật (BVTV) trong việc trồng cây thuốc nhằm góp phần tăng cường công tác quản lý chất lượng dược liệu, chúng tôi đã tiến hành khảo sát tại thôn Nghĩa Trại, xã Tân Quang, một địa phương trồng cây thuốc có truyền thống thuộc tỉnh Hưng Yên.

Nằm cách Hà Nội 20 km về phía đông, với dân số khoảng 2000 người, Nghĩa Trại có khoảng 400 hộ nông dân, hơn 60 hecta diện tích trồng cây thuốc. Trồng cây thuốc ở đây đã có truyền thống từ lâu đời và hiện nay vẫn được duy trì trong đời sống kinh tế của người nông dân.

II. Phương pháp điều tra

Tiến hành điều tra tại gia đình và trên ruộng trồng đối với 50 % số hộ bằng cách phỏng vấn theo mẫu câu hỏi và ghi phiếu trực tiếp.

III. Kết quả khảo sát

3.1. Đối tượng điều tra

Đối tượng được phỏng vấn là người trực tiếp trồng cây thuốc. Tổng số 162 phiếu điều tra tương ứng với 162 hộ dân, trong đó 40 % số phiếu được ghi trên ruộng trồng và 60 % số phiếu được thực hiện tại gia đình và tiến hành quan sát kiểm tra nơi cất giữ thuốc BVTV đối với 50 % số hộ này. Nhìn chung, người nông dân ở Nghĩa Trại có dân trí khá cao (trong số những người được

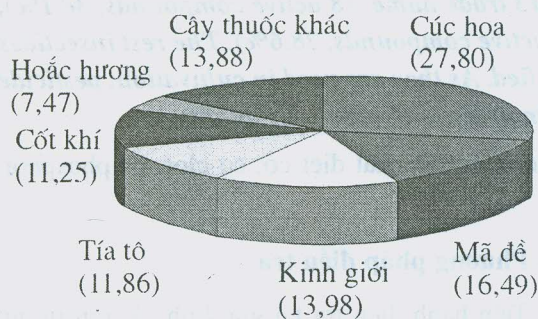
Bảng 1. Phân bố cây thuốc theo diện tích canh tác

Stt	Cây thuốc	Tỷ lệ %	Stt	Cây thuốc	Tỷ lệ %	Stt	Cây thuốc	Tỷ lệ %
1	Cúc hoa	27,80	8	Hoài sơn	3,12	15	Đinh lăng	0,14
2	Mã đề	16,49	9	Nam truật	1,63	16	Khương hoàng	0,14
3	Kinh giới	13,98	10	Địa liên	1,57	17	Ngải cứu	0,09
4	Tía tô	11,86	11	Hòe	1,36	18	Sâm Bố Chính	0,06
5	Cốt khí	11,25	12	Bạc hà	1,12	19	Sài đất	0,04
6	Hoắc hương	4,74	13	Bạch chỉ	0,34	Tổng số		100%
7	Nga truật	4,00	14	Mần tưới	0,27			

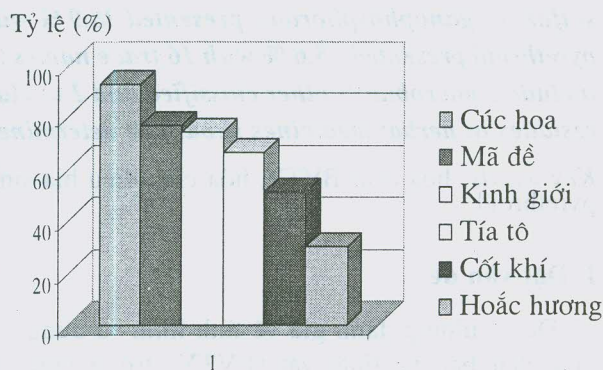
Bảng 2. Phân bố cây thuốc theo số hộ canh tác

Stt	Cây thuốc	Tỷ lệ %	Stt	Cây thuốc	Tỷ lệ %	Stt	Cây thuốc	Tỷ lệ %
1	Cúc hoa	92.59	3	Kinh giới	74.07	5	Cốt khí	51.23
2	Mã đề	77.16	4	Tía tô	66.67	6	Hoắc hương	30.25

Hình 1: Biểu đồ phân bố cây thuốc theo diện tích trồng



Hình 2: Biểu đồ phân bố cây thuốc theo số hộ trồng



phòng vẫn có 7 người có trình độ đại học, 4 người có trình độ cao đẳng và một người học trung cấp, không có người mù chữ) và hợp tác tích cực với nhóm nghiên cứu.

3.2. Những cây thuốc được trồng ở địa phương

Tổng số có 19 cây thuốc đang được trồng, trong đó có những cây chỉ được trồng ở một vài hộ như mần tưới, sâm Bố Chính, đinh lăng, sài đất, hòe, ngải cứu, đơn đỏ. Hộ trồng nhiều nhất là 12 cây, ít nhất là 1 cây. Tổng diện tích trồng của

162 hộ dân được phỏng vấn là 733,67 sào Bắc bộ (tương ứng với 11.005 thước hay 264.108 m²). Tỷ lệ % theo diện tích trồng của 19 cây thuốc và tỷ lệ % theo số hộ trồng của 6 cây thuốc quan trọng được trình bày trong bảng 1 và 2. Hình 1 và 2 biểu diễn sự phân bố tương ứng với bảng 1 và 2.

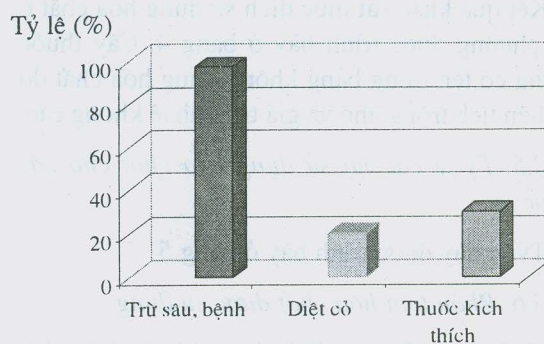
3.3. Sử dụng hóa chất trong trồng cây thuốc

Kết quả điều tra cho thấy hóa chất được sử dụng nhiều nhất là thuốc trừ sâu, bệnh. Bảng 3 và hình 3 cho thấy tỷ lệ số hộ dùng loại hóa chất này là cao nhất.

Bảng 3. Tỷ lệ số hộ dùng các loại hóa chất khác nhau

	Số hộ	Tỷ lệ %
Trừ sâu, bệnh	158	97,53
Diệt cỏ	33	20,37
Thuốc kích thích	49	30,25
Tổng số phiếu	162	

Hình 3. Biểu đồ tỷ lệ loại hóa chất được sử dụng



Bảng 4. Mục đích sử dụng hóa chất cho các cây thuốc khác nhau

Stt	Cây thuốc	Trừ côn trùng	Trừ bệnh	Kích thích	Stt	Cây thuốc	Trừ côn trùng	Trừ bệnh	Kích thích
1	Cúc hoa	+	+	+	8	Củ cọc	-	-	-
2	Mã đề	+	+	+	9	Nam truật	+	-	-
3	Kinh giới	+	-	-	10	Địa liên	+	-	-
4	Tía tô	+	-	-	11	Hòe	+	-	+
5	Cốt khí	+	-	-	12	Bạc hà	+	-	-
6	Hoắc hương	+	+	+	13	Bạch chỉ	+	-	-
7	Nga truật	-	-	-	<i>Ký hiệu: (+) có sử dụng, (-) không sử dụng</i>				

Bảng 5. Tỷ lệ (%) số hộ dùng hóa chất

St t	Cây thuốc	Số hộ trồng	Số hộ dùng thuốc	Tỷ lệ (%)	St t	Cây thuốc	Số hộ trồng	Số hộ dùng thuốc	Tỷ lệ (%)
1	Cúc hoa	150	145	96,67	7	Nam truật	15	7	46,67
2	Mã đề	125	123	98,40	8	Địa liên	11	3	27,27
3	Kinh giới	120	22	18,33	9	Hòe	2	1	50,00
4	Tía tô	108	38	35,19	10	Bạc hà	13	3	23,08
5	Cốt khí	83	8	9,64	11	Bạch chỉ	2	2	100,00
6	Hoắc hương	49	41	83,67					

3.4. Mục đích sử dụng hóa chất cho các cây thuốc khác nhau

Kết quả khảo sát mục đích sử dụng hóa chất ở địa phương được trình bày ở bảng 4. Cây thuốc không có tên trong bảng không dùng hóa chất do có diện tích trồng nhỏ và giá trị kinh tế không cao.

3.5. Tỷ lệ các hộ sử dụng hóa chất cho cây thuốc

Tỷ lệ này được trình bày ở bảng 5

3.6. Phân loại hóa chất được sử dụng

Chúng tôi đã xác định được 63 tên hóa chất BVTV được dùng trong việc trồng cây thuốc. Ngoài ra, theo kinh nghiệm dân gian, người ta còn dùng bồ hóng, rượu, vôi, tro, diêm sinh và xà phòng. Trong số đó, có 45 loại là thuốc diệt côn trùng (71,4%), 7 thuốc trừ bệnh (11,1%), 4 thuốc diệt cỏ (6,4%), 6 thuốc kích thích (9,5%) và 1 thuốc diệt chuột.

3.6.1. Hóa chất diệt côn trùng

Trong số 45 thuốc diệt côn trùng có 3 thuốc cơ clor (đều chứa endosulfan) chiếm 6,7%, 13 thuốc cơ phosphor (28,9%), 16 thuốc pyrethroid (35,6%), 4 thuốc nhóm carbamat (6,4%). Các thuốc còn lại (17,8%) gồm 7 thuốc thuộc nhóm khác, 2 thuốc chưa xác định hoạt chất, 1 thuốc trừ

sâu sinh học. Có 2 thuốc hỗn hợp, phối hợp hoạt chất nhóm cơ phosphor với nhau và phối hợp cơ phosphor và pyrethroid. 45 thuốc diệt côn trùng với tổng số 19 hoạt chất (không kể 2 thuốc chưa xác định hoạt chất và là thuốc sâu sinh học). Có 1 hoạt chất cơ clor; trong khi đó, có 8 hoạt chất cơ phosphor (38,1%), 6 hoạt chất pyrethroid (28,6%), 2 hoạt chất carbamat, 2 chất nhóm khác.

3.6.2. Hóa chất trừ nấm bệnh

Có 7 thuốc với 5 hoạt chất là carbendazim (2 thuốc), đồng sulfat (1 thuốc), mancozeb (2 thuốc), thiophanat-methyl (1 thuốc), zineb (1 thuốc).

3.6.3. Hóa chất điều hòa sinh trưởng

Không kể phân bón lá và phân vi sinh, có 6 thuốc với 6 hoạt chất gồm NAA, acid beta naph-toxy-acetic, acid gibberellic, acid alpha naphthyl acetic, boron ethanolamin và oligo-saccharid.

3.6.4. Hóa chất diệt cỏ

Có 4 thuốc diệt cỏ với 4 hoạt chất là alachlor (1 thuốc), bensulfurol methyl (1 thuốc), fluazifop-butyl (1 thuốc) và oxadiargyl (1 thuốc).

3.7. Vấn đề an toàn trong sử dụng hóa chất BVTV

100% số hộ nông dân đều để hóa chất đúng nơi quy định, xa chỗ ở và nguồn nước sinh hoạt. Phần

Bảng 6. Phân loại hóa chất thuốc diệt côn trùng theo hoạt chất

Stt	Hoạt chất (nhóm)	Số thuốc có chứa hoạt chất	Stt	Hoạt chất (nhóm)	Số thuốc có chứa hoạt chất
1	Acephat (OPP)	1	12	Fenvalerat (Pyr)	1
2	Alpha – Cypermethrin (Pyr)	5	13	Fipronil (khác)	1
3	Carbosulfan (Carb)	1	14	Lambda cyalothrin (Pyr)	1
4	Chưa xác định	2	15	Methamidophos (OPP)	1
5	Cypermethrin (Pyr)	9	16	Nereistoxin (khác)	6
6	Deltamethrin (Pyr)	1	17	Phenthoat (OPP)	1
7	Dimethoat (OPP)	2	18	Phosalon (OPP)	1
8	Endosulfan (OCP)	3	19	Profenofos (OPP)	1
9	Etofenprox (Pyr)	1	20	Triclorfon (OPP)	5
10	Fenithrothion (OPP)	1	21	Virus + B. thuringiensis	1
11	Fenobucarb (Carb)	3	Tổng số		48

Ghi chú: Carb = carbamat, OCP = cơ clor, OPP = cơ phosphor, khác = nhóm khác, Pyr = pyrethroid. Tổng số trên là 48 > 45 do có 7 hoạt chất nằm trong 4 thuốc hỗn hợp.

lớn người dân khi phun thuốc không đảm bảo an toàn trong bảo hộ lao động (70% thiếu 2 trong 3 thứ là áo mưa, găng tay và khẩu trang). Phần lớn bao bì sau khi sử dụng xong được vứt bỏ trên ruộng, nương, bờ ao mà không được thiêu hủy đúng cách. Đây là tình trạng chung đối với nông thôn Việt Nam.

3.8. Thuốc BVTV thuộc danh mục cấm và hạn chế sử dụng ở Việt Nam

Endosulfan, một hoạt chất thuộc danh mục hạn chế sử dụng với 3 tên thuốc thương mại là cyclo-dan, thasodant và thiodan đã được 68 hộ nông dân sử dụng. Một thuốc diệt chuột được tìm thấy ở hộ dân là kẽm phosphid (tên thương mại: Fokeba) cũng thuộc danh mục thuốc hạn chế sử dụng. Duy nhất một hộ nông dân sử dụng Monitor của Trung Quốc (không nhãn) có chứa methamidophos thuộc danh mục cấm sử dụng ở Việt Nam. Thực tế, chúng tôi không tìm thấy lọ hóa chất này ở các hộ dân.

IV. Đánh giá chung tình hình sử dụng hóa chất BVTV trong việc trồng cây thuốc ở Nghĩa Trai

Phần lớn các hộ đều dùng hóa chất BVTV, trong đó, chủ yếu là hóa chất trừ sâu bệnh (97,53%), sau đó là thuốc điều hòa sinh trưởng, ít dùng hóa chất diệt cỏ.

Cúc hoa. Dược liệu chủ đạo và truyền thống (27,8 % diện tích trồng, 92,6 % số được phỏng vấn trồng), 96,7 % số hộ trồng có sử dụng hóa chất BVTV gồm thuốc trừ sâu, bệnh và thuốc điều hòa sinh trưởng. Trong khu làm đất, 46,9% số hộ đã sử dụng Endosulfan, một hóa chất cơ clor thuộc danh mục hạn chế sử dụng ở Việt Nam.

Mã đề. Chiếm vai trò quan trọng thứ hai sau cúc hoa (16,5 % diện tích trồng và 77,2 % số hộ được phỏng vấn trồng). Hóa chất được dùng ở đây gồm các chất diệt côn trùng, trừ nấm bệnh và kích thích lá hạt. Riêng đối với mã đề, Carbendazim được sử dụng để trừ bệnh nấm trắng là phổ biến (100% số hộ dùng hóa chất phải dùng thuốc trừ nấm).

Tài liệu tham khảo

1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Danh mục thuốc bảo vệ thực vật được phép, hạn chế và cấm sử dụng ở Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp (2001); 2. Trần Quan Hùng. Thuốc bảo vệ thực vật. Nhà xuất bản Nông nghiệp (1999); 3. Phạm Văn Biên, Bùi Cách Tuyến, Nguyễn Mạnh Chinh. Cẩm nang thuốc bảo vệ thực vật. Nhà xuất bản Nông nghiệp (2000)

Hoắc hương. 83 % số hộ trồng có sử dụng hóa chất, gồm các chất diệt côn trùng, trừ nấm bệnh và kích thích lá.

Bạc hà, cốt khí, địa liền, kinh giới, nam truật và tía tô. Đối với các dược liệu này, tỷ lệ sử dụng hóa chất thấp hơn, giao động từ 9,7% (cốt khí) đến 46,7% (nam truật) chủ yếu chỉ sử dụng các chất diệt côn trùng trừ sâu bệnh, rệp, nhện đỏ...

Các cây thuốc còn lại không dùng hóa chất là nga truật và củ cộc. Điều này trái ngược với những thông tin đã đưa cách đây hai năm là người dân sử dụng thuốc sâu phun lên củ cộc (?).

Hầu hết các hóa chất đã thống kê nằm trong danh mục hóa chất BVTV cho phép sử dụng ở Việt Nam, riêng chỉ có một gia đình sử dụng Monitor của Trung Quốc có chứa methamidophos là thuốc cấm sử dụng và 2 hóa chất là Endosulfan và kẽm phosphid thuộc danh mục hạn chế sử dụng.

Các hộ nông dân sử dụng hóa chất đã để xa nơi ở, xa nguồn nước sinh hoạt nhưng khi dùng hóa chất chưa thực hiện đúng quy định an toàn trong bảo hộ lao động. Phần lớn bao bì chai lọ đựng thuốc sau khi sử dụng xong để lại trên ruộng, nương, bờ ao, không được thiêu hủy hoặc xử lý theo quy định.

V. Kết luận

Kết quả điều tra cho thấy nhiều hóa chất BVTV đã được dùng trong việc trồng cây trồng ở thôn Nghĩa Trai, vùng trồng dược liệu truyền thống thuộc tỉnh Hưng Yên. Các hóa chất sử dụng chủ yếu để diệt côn trùng và nấm bệnh. Hóa chất điều hòa sinh trưởng và diệt cỏ ít được sử dụng. Trừ methamidophos, tất cả các hóa chất này đều thuộc danh mục được phép sử dụng trong nông nghiệp ở Việt Nam. Trong số các hóa chất BVTV sử dụng, có Endosulfan là một hoạt chất thuộc danh mục hạn chế sử dụng và là chất gây rối loạn nội tiết. Để đảm bảo an toàn chất lượng dược liệu, chúng ta cần kiểm tra dư lượng các hóa chất BVTV trong dược liệu.

CÁC HỢP CHẤT STEROID VÀ FLAVONOID TỪ CÂY SẼN GAI Ở VIỆT NAM

Ngô Xuân Lương, Lê Văn Hạc, Trần Đình Thắng -Khoa Hoá, Trường Đại học Vinh
Nguyễn Xuân Dũng - Khoa Hoá, Trường ĐHKHTN, Đại học Quốc gia Hà Nội;

Email: thangdhv@hotmail.com

(Nhận bài ngày 26 tháng 5 năm 2004)

Summary

*β - Sitosterol, stigmaterol, β - sitosterol – 3 – O – β - glucopyranosid, vitexin and isovitexin were isolated from *Zanthoxylum alatum* Roxb. (Rutaceae), by column chromatography, flash chromatography and identified by spectroscopic methods (MS, ^1H , ^{13}C NMR and DEPT).*

Mở đầu

Cây sên gai (*Zanthoxylum alatum* Roxb., syn. *Z. armatum* DC.; *Z. bungeanum* Maxim.; *Z. bungei* Planch.; *Z. planspinium* Sieb. et Zucc.) thuộc họ Cam (Rutaceae) được sử dụng rộng rãi ở các nước Ấn Độ, Trung Quốc, Việt Nam... để làm thuốc bổ, lưu thông máu, ra mồ hôi, chữa thấp khớp, bệnh gan.

Một số hợp chất từ cây đã được phân lập như (+) – sesamin, fargesin, eudesmin, epiudesmin, pluviatid [1].

Gần đây, K K. Narendra và cộng sự [2] đã phân lập một amid mới cùng với hai lignan là asarinin và fargesin, α - và β - amyriins, lupeol và β -sitosterol - β - D-glucosid từ cây *Z. armatum* ở Ấn Độ. Đây là công bố đầu tiên về sự có mặt của trans – cinnamoylamid trong loài này.

Các công trình trước đây của chúng tôi [3, 4, 5, 6, 7] đã nghiên cứu thành phần hoá học của tinh dầu lá và quả cây sên gai. Trong công trình này, chúng tôi nghiên cứu phân lập và xác nhận một số hợp chất steroid và flavonoid từ cây sên gai mọc ở Thanh Hóa, Việt Nam.

Kết quả và thảo luận

Từ dịch chiết methanol của cây sên gai chiết lần lượt với n- hexan và ethylacetat thu được các cặn chiết tương ứng.

Tiến hành tách các cấu tử trong mẫu nghiên cứu bằng sắc ký cột nhanh, phân đoạn tan trong n - hexan thu được các chất 1, 2. Cặn ethylacetat được

tách trên sắc ký cột nhanh thu được 10 phân đoạn chính. Phân đoạn 1 thu được chất 3. Phân đoạn 10 tiếp tục phân tách bằng sắc ký cột trên silica gel thu được các chất 4, 5, 6.

Hợp chất 1 là tinh thể hình kim không màu, nóng chảy ở 135° – 136°C. Phổ EI – MS cho mảnh ion M^+ 414, ứng với công thức $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$. Trong các

phổ ^1H - NMR, ^{13}C - NMR chỉ ra sự có mặt của một nhóm hydroxy ($\delta\text{H}_{3\alpha}$ tại 3,53ppm, δC tại 71,70ppm) và một nối đôi (ứng với dao động của liên kết = C < và > C = C <; δH -6 tại 5,35 ppm, d, J=5Hz; δC -5 tại 140,70ppm, s và δC -6 tại 121,7ppm, d).

Độ chuyển dịch hoá học của các nguyên tử carbon, các dữ liệu về phổ EI-MS và NMR đều phù hợp với với β - sitosterol [8].

Hợp chất 2 là tinh thể hình kim không màu, nóng chảy ở 167° – 168°C. Phổ EI-MS và NMR hoàn toàn phù hợp với các tính chất phổ của stigmaterol [8].

Hợp chất 3 là chất rắn vô định hình, không màu, nóng chảy ở 282° - 283°C. Trong phổ EI-MS, quan sát thấy mảnh 396 ($\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Phổ ^{13}C -NMR cho thấy có 35 tín hiệu của nguyên tử carbon, trong đó có 7 nguyên tử carbon gắn với oxy (nằm trong vùng 61,2 đến 100,8 ppm), có 2 tín hiệu ở 140,56 và 121,33 ppm thuộc về một liên kết olefin. Phổ ^1H - NMR cũng cho thấy proton “anome” (H-1') của hexoza xuất hiện dưới dạng duplet tại 4,32ppm, có J=7,8Hz và δ C-1' tương

ứng là 100,8 ppm.

- Số liệu từ các phổ EI-MS, ^1H - và ^{13}C -NMR cho thấy có thể đây là cấu trúc của một hợp chất glucosid có công thức $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$. Đồng thời, sự có mặt của mảnh 396 m/z ($\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) trong phổ EI-MS cũng xác nhận một phân tử hexoza đã bị loại ra khỏi phân tử sitosterol glucosid.

Từ những số liệu trên và so sánh điểm nóng chảy của những sterol đã cho phép xác nhận hợp chất trên là β -sitosterol - 3-O- β -D - glucopyranosyl.

Hợp chất 4 là chất rắn vô định hình, màu vàng rom, nóng chảy ở $259^\circ - 260^\circ\text{C}$. Các phổ EI - MS, ^1H - và ^{13}C -NMR đều phù hợp với vitexin.

Hợp chất 5 là chất rắn vô định hình có màu vàng rom nhạt, nóng chảy ở nhiệt độ $158^\circ - 160^\circ\text{C}$. Các phổ EI - MS, ^1H - và ^{13}C -NMR của 5 và 6 hoàn toàn tương tự nhau, chỉ khác biệt ở các tín hiệu carbon -13 tại vị trí C-8 và C-6 giữa chúng, đặc biệt là độ dịch chuyển hoá học của proton "anome" ở 6-C - glucosid luôn cao hơn 8 - C - glucosid 0,1 ppm [8]. Như vậy, cấu trúc hoá học của hợp chất 6 là isovitexin.

Thực nghiệm

1. *Thiết bị*: Điểm chảy được xác định trên kính hiển vi Boetius. Phổ khối lượng EI - MS ghi trên máy MS - Engine 5989B - HP. Phổ ^1H và ^{13}C - NMR ghi trên máy Bruker - 200, Bruker - 500, chất chuẩn TMS, dung môi CH_2Cl_2 .

2. *Nguyên liệu thực vật*: Lá cây sền gai được thu hái ở xã Hợp Tiến, huyện Triệu Sơn, Thanh Hóa. Mẫu được PGS. TS. Vũ Xuân Phương (Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ quốc gia) giám định. Mẫu được phơi khô ở nhiệt độ phòng và xay nhỏ.

3. *Phân lập*: Bột lá (1200g) được ngâm chiết kiệt với methanol 95% ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết được loại bột dung môi, sau đó lãc lần lượt với n - hexan, ethylacetat, butanol. Cát thu hồi dung môi thu được các cặn dịch chiết tương ứng.

Cặn n - hexan (20g) được tách trên sắc ký cột nhanh, dung môi giải hấp là n - hexan/ethylacetat (90:10) thu được các chất (1), (2)

Cặn ethylacetat (20g) được tách trên sắc ký cột

nhanh, dung môi giải hấp là cloroform/ methanol (98:2) - (90 : 10) thu được 10 phân đoạn chính. Phân đoạn 1 thu được chất (3). Phân đoạn 10 tiếp tục phân tách bằng sắc ký cột trên silica gel, dung môi rửa giải là cloroform/ methanol (80:20) - (20 : 80) thu được các chất (4), (5).

1) β - Sitosterol:

EI-MS (m/z): 414(M^+ , $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$, 20), 413(41), 398 (28), 397(100), 395(32), 383 (11), 361 (11), 257 (3), 255 (6,3), 151 (5,6), 139 (11).

^1H - NMR (500MHz, CDCl_3): δ (ppm): 0,68(3H,s 18 - Me), 1,01 (3H, s 19 - Me)

^{13}C - NMR (125MHz, CDCl_3): δ (ppm): 140,78 (s, C - 5); 121,74 (d, C - 6); 71,84 (d, C - 3); 56,80 (d, C - 14); 56,10 (d, C-17); 50,17 (d, C - 9); 45,88 (d, C - 24); 42,33 (s, C-13); 42,29 (t, C-4); 39,80 (t, C - 12); 37,28 (t, C - 1); 36,53 (s, C - 10); 36,17 (d, C - 20); 33,98 (d, C - 8); 31,94 (t, C - 7); 31,69 (t, C - 2); 29,20 (d, C - 25); 28,26 (t, C - 16); 26,13 (t, C - 23); 24,32 (t, C - 15); 21,11 (t, C - 11); 19,83 (q, C - 26); 19,41 (q, C - 19); 19,06 (q, C - 27); 18,80 (q, C - 21); 11,99 (q, C - 29); 11,89 (q, C - 18); 23,13 (t, C - 28); 42,29 (t, C - 4).

2) Stigmasterol:

EI-MS (m/z): 412(M^+)

^1H - NMR (500MHz, CDCl_3): δ (ppm): 3,49(1H,m, H_{2a}); 5,03 (1H, dd, H_{23}); 5,04 (1H, dd, H_{22}); 5,35 (1H, dd, H_6).

^{13}C - NMR (125MHz, CDCl_3): δ (ppm): 36,69 (t, C-1); 29,5 (t, C-2); 71,80 (d, C-3); 42,31(t, C-4); 140,76 (s, C-5); 121,70 (d, C-6), 37,27 (t, C-7); 31,9 (d, C-8); 51,24(d, C-9); 36,56(s, C-10); 24,36 (t, C-11); 42,23 (t, C-12); 31,9 (s, C13); 56,88 (d, C-14); 23,39 (t, C15); 31,67 (t, C-16); 55,97(d, C-17); 12,05 (q, C-18); 18,98 (q-C19); 40,47(d-C-20); 21,07 (q, C-21); 138,30 (d, C-22), 129,3 (d, C-23); 50,18 (d, C-24); 31,9(t, C-25); 21,21 (q, C-26); 19,39 (d, C-27); 28,9 (q, C-28); 12,23(q, C-29).

3) β - sitosterol - 3 - O - β - D - glucopyranosid:

EI-MS (m/z): 396 [M^+ - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$] (9); 273 (2),

255 (9), 185 (5), 161(15), 145 (25), 133 (21), 105 (42), 91 (46), 81 (51), 69 (100).

^1H - NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ (ppm): 0,65 (3H,s 18 - Me), 0,93 (3H, s 19 - Me)

^{13}C -NMR (125MHz, DMSO- d_6): δ (ppm): 140,56 (s, C-5); 121,33 (d, C-6); 100,85 (d, C-1'); 77,07 (d, C - 3); 76,83 (d, C - 5'); 76,79 (C - 3); 73,56 (d, C - 2); 70,21 (d, C - 4); 61,19 (t, C - 6'); 56,28 (d, C-14); 55,52 (d, C - 17); 50,69 (d, C - 9); 49,71 (d, C - 24); 45, 24 (s, C -13), 38,39 (t , C - 4), 36,92 (t, C - 12); 36,31 (t, C - 1), 35,57 (s, C-10); 33,44 (d, C - 20); 31,52 (t, C - 22); 31,47 (d, C-8); 29,35 (t, C-16); 28,81 (t, C - 23); 27,90 (t, C - 2); 25,52 (t, C - 25); 23,96 (t, C - 15); 22,71 (t, C - 28); 21,04 (t, C-11); 20,69 (d, C- 27); 19,82 (q, C-19); 19,04 (q, C- 26); 12, 23 (q, C-29); 11,88 (q, C- 18).

4) Vitexin:

EI-MS (m/z): 433 [$\text{M}^+\text{+H}$] $^+$.

^1H - NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ (ppm): 13,17 (3H, s, 5 - OH); 10,82 (1H, s, 7 - OH); 10,34 (1H, s, 4' - OH); 8,02 (2H, d, J 8,13 Hz, H - 2', 6'); 6,89 (2H, J 8,13, H - 3', 5'); 6,77 (1H, s, H-3); 6,27 (1H, s, H - 4, 6); 4,97 (1H, d, J, H); 4,69 (d, H - 1'', J, 9,52 Hz).

^{13}C - NMR (125MHz, DMSO- d_6): δ (ppm): 182,00 (s, C = O); 163,85 (s, C - 2); 162,45 (s, C - 7); 161,03 (s, C - 4'); 160, 29 (s, C - 5); 155,30 (s, C - 9); 128,86 (d, c - 2', 6'); 121,52 (s, C - 1'); 115,71 (d, C - 3', 5'); 104,51 (s, C - 8); 103,95 (s, C - 10); 102,35 (s, C - 3); 98,04 (d, C - 6); 81,74 (d, C - 5''); 78,57 (d, C - 3''); 73,28 (d, C - 1'');

Tài liệu tham khảo

1. V. H Deshpandes, R.K. Shatri (1977), Chemical investigation of three *Zanthoxylum* species, *Z. alatum*, *Z. oxyphyllum* and *Z. acconthopodium*, *Indian. J. Chemistry* **15**, 95 -96; 2.K. K. Narendra, Bikram Singh, Ram P. Sood (1999), A new amide from *Zanthoxylum armatum*, *Journal Natural Products*, **62**, 311-312; 3. I. Yasuda, K. Takeya, H. Itokawa (1982), *Shoyakugaku Zasshi*, **36**, 301 - 306; 4. B.Tirillin, A. Manunta and A.M.Stoppini (1991), Constituents of the essential oil of the fruits of *Zanthoxylum bungeanum*, *Planta Medica*, **57**, 90-91; 5. N. Jain, S.K. Srivastava, K.K. Aggarwal, S. Ramesh, Sushil Kumar (2001), Essential oil composition of *Zanthoxylum alatum* seeds from Norther India, *Flavour and Fragrance Journal*, **16**(6) 408 - 410; 6. Ngo Xuan Luong, Le Van Hac, Nguyen Xuan Dung (2004), Chemical composition of the leaf oil of *Zanthoxylum alatum* Roxb. from Vietnam *Journal of Essential Oil - Bearing Plant* (in preparation); 7. Ngo Xuan Luong, Le Van Hac, Tran Dinh Thang, Nguyen Xuan Dung, Volatile constituents of *Zanthoxylum alatum* Roxb. from Vietnam ASOMP XI (2003), **68**; 8. R.A. Khan., A.K. Singh, and P. R. Agawal (1997), Sitosterol sucroside from the suckers of *Mentha arvensis*. *Phytochemistry*, **45**(6) 1295-1296.

70,74 (d, C - 4''); 70,45 (d, C - 2''); 61,2 (t, C - 6'').

5) Isovitexin:

EI-MS (m/z): 433 [$\text{M}^+\text{+H}$] $^+$.

^1H - NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ (ppm): 13,5 (1H, s, 5 - OH); 7,92 (2H, d, J 8,7Hz, H - 2,6); 6,93 (2H, d, J 8,7Hz, H - 3,5); 6,52 (1H, s, H - 8); 6,77 (1H, s, H - 2); 4,60 (1H, d, J 9,8Hz, H - 1); 3,9 ppm - 4,16 (proton phân đường).

^{13}C - NMR (125MHz, DMSO- d_6): δ (ppm): 182,00 (s, C = O); 163,61 (s, C - 2); 163,34 (s, C - 7); 161,24 (s, C - 4'); 160,59 (s, C - 5); 156,30 (s, C - 9); 128,46 (d, c - 2', 6'); 121,14 (s, C - 1'); 116,06 (d, C - 3', 5'); 108,89 (s, C - 6); 103,49 (s, C - 10); 102,83 (s, C - 3); 93,72 (d, C - 8); 81,57 (d, C - 5''); 78,98 (d, C - 3''); 73,12 (d, C - 1''); 70,65 (d, C - 4''); 70,30 (d, C - 2''); 61,52 (t, C - 6'').

Kết luận

Bằng các phương pháp sắc ký, từ lá cây sên gai (*Zanthoxylum alatum* Roxb.) của Việt Nam, lần đầu tiên đã phân lập được các hợp chất β - sitosterol, stigmasterol, β - sitosterol - 3 - O - β - glucopyranozid, vitexin, isovitexin. Cấu trúc của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ EI - MS, ^1H -, ^{13}C - NMR và phổ DEPT.

Lời cảm ơn

Các tác giả chân thành cảm ơn PGS. TS Vũ Xuân Phương, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ quốc gia đã giám định mẫu thực vật.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CÂY NGŨ SẮC

Vũ Đức Chính, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Trần Văn Sung -
Viện Hóa học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Trương Vĩnh Phúc, Hồ Thị Xuyên - Viện Dược liệu - Bộ Y tế
(Nhận bài ngày 15 tháng 9 năm 2004)

Summary:

The chemical constituents of the NS product prepared from a water extract of A. conyzoides have been preliminary studied. It contain mainly oligo-/ poly-saccharides. The content of Ca, Mg, the total nitrogen amount and the ash procentage of this product have also been determined. Furthermore, the biological activities of n-hexan-, EtOAc-, BuOH- and H₂O-extracts of two plant samples collected in Bac Giang and Hung Yen provinces were tested. The result showed that their activities are different according to the collecting places.

Mở đầu

Cây ngũ sắc (*Ageratum conyzoides* L.) hay cây cứt lợn, thuộc họ Cúc (Asteraceae) là một loài thực vật nhiệt đới rất phổ biến ở Tây Phi, châu Á và Nam Mỹ. Cây ngũ sắc được sử dụng làm thuốc tẩy ruột, hạ sốt, chữa đau bụng, ung nhọt và đắp vết thương ở một số nơi trên thế giới [1]. Ở Việt Nam, cây ngũ sắc được dùng để điều trị các bệnh rong huyết ở phụ nữ sau khi sinh đẻ, chữa viêm mũi cấp và mãn [2]. Thành phần hoá học cũng như hoạt tính sinh học của cây đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu, đặc biệt là về thành phần tinh dầu. Hàm lượng tinh dầu thay đổi từ 0,11% đến 0,58% trong lá và từ 0,03% đến 0,18% trong rễ, tùy thuộc vào các thời điểm trong năm [1]. Thành phần chính của tinh dầu là 7-methoxy-2,2-dimethylchromen (precocen I). Hàm lượng của chất này thay đổi từ khoảng 30% trong tinh dầu cây ngũ sắc ở Việt Nam [1] đến 93% trong tinh dầu cây ngũ sắc ở Congo. Dẫn xuất 6,7-dimethoxy của precocen I được gọi là ageratochromen hay precocen II chiếm từ 0,7% đến 55% [1]. Các lớp chất phân lập được từ cây ngũ sắc rất đa dạng, bao gồm terpenoid, flavonoid, benzofuran, chromen và alcaloid. Cho đến nay, người ta đã xác định được 21 flavonoid chứa

nhiều nhóm thế có oxy ở các vị trí 3', 4', 5' ít gặp trong các hợp chất tự nhiên nhưng lại tìm thấy khá nhiều trong cây ngũ sắc [3, 4].

Cây ngũ sắc được nghiên cứu sâu về hoạt tính trừ sâu vì đây có thể là hoạt tính sinh học quan trọng nhất của cây. Tinh dầu cũng như các precocen có trong tinh dầu có hoạt tính kháng hormon tăng trưởng ở một số loài sâu bọ. Precocen I và II có hoạt tính ức chế hormon tăng trưởng của các loài côn trùng như *Sitophilus oryzae*, *Thlaspidia japonica*, *Leptocarsia chinensis* và *Dysdercus flavidus* [1]. Các thử nghiệm được tiến hành trên chuột về hoạt tính kháng viêm, giảm đau và hạ sốt cho các kết quả tốt mà không gây tác dụng phụ. Ở nước ta, đã có một số công trình nghiên cứu về hoạt chất cũng như hoạt tính của cây ngũ sắc. Viện Dược liệu đã nghiên cứu tác dụng chữa viêm mũi, viêm xoang dị ứng cấp và mãn của cây ngũ sắc và đã đưa ra chế phẩm thuốc nhỏ mũi với tác dụng tốt. Để góp phần làm sáng tỏ hoạt chất của cây ngũ sắc, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu sâu về hóa thực vật của cây này. Trong bài báo này, thành phần, hoạt tính sinh học của cây [5] đã được thông báo bước đầu.

Phần thực nghiệm

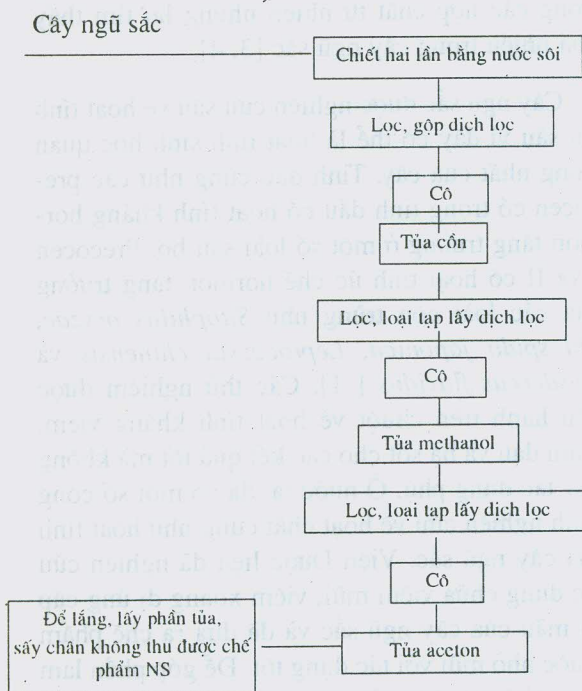
1. Quy trình chiết cây ngũ sắc thu ở các vùng

khác nhau:

Cây ngũ sắc (5 kg) thu hái ở Bắc Giang được sấy khô, xay nhỏ và chiết hai lần bằng nước sôi. Gộp dịch chiết lại và cô còn 8 lít thu được cặn dịch **BG nước đầu**. Dịch này được chiết lần lượt bằng n-hexan, ethylacetat và butanol. Cất loại dung môi, thu được các cặn tan trong n-hexan (721,3mg), EtOAc (4.1g) và butanol (15.4g). Dịch nước còn lại được ký hiệu là **BG nước cuối**. Cây ngũ sắc thu hái ở Hưng Yên cũng được chiết theo quy trình trên. Các dịch chiết thu được đem thử hoạt tính kháng khuẩn và nấm.

2. Quy trình chiết mẫu cây ngũ sắc và điều chế chế phẩm NS:

Cây ngũ sắc thu hái ở Hưng Yên vào tháng 9/2003 được chặt nhỏ, rửa sạch, sấy khô, và chiết hai lần bằng nước sôi. Cô dịch chiết và xử lý theo quy trình dưới đây để thu được chế phẩm NS.



3. Các phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập và xác định cấu trúc chất: Sắc ký trao đổi ion, sắc ký cột sử dụng silica gel và sephadex LH-20 của hãng Merck, sắc ký lớp mỏng sử dụng bản mỏng nhôm tráng sẵn

silicagel Merck 60F₂₅₄ độ dày 0,2mm. Sắc ký khí GC được đo trên máy SHIMADZU GC-9A tại Công ty tinh dầu - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các loại phổ được đo tại Viện Hóa học là phổ hồng ngoại FT-IR Nicolet IMPACT 410; phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton và carbon (¹H và ¹³C-NMR), Bruker Avance 500; phổ khối và chạm electron (EI-MS), Hewlett Packard 5989B MS Engine với năng lượng ion hóa 70 eV.

Phương pháp phân tích: Xác định nitơ tổng bằng phương pháp Kjendahl, các ion kim loại bằng quang phổ hấp thụ nguyên tử tại Viện Hóa học, hàm lượng carbohydrat tổng theo hướng dẫn của FDA tại Trung tâm kỹ thuật 1-Tổng cục đo lường chất lượng.

Dung môi và hoá chất: Các loại dung môi dùng để chạy cột, chiết tách và sắc ký lớp mỏng là ethanol 96°, cloroform, n-butanol, aceton, ether, methanol, n-hexan, ethylacetat, pyridin đều được cất lại hoặc tinh chế trước khi sử dụng. Các hoá chất acetylchlorur, NH₄Cl, natri carbonat, acid acetic, H₂SO₄ đều là loại tinh khiết.

Kết quả và thảo luận

1. Nghiên cứu thành phần hoá học của NS

a) Phân tích sơ bộ một số nguyên tố:

Chúng tôi đã xác định thành phần và hàm lượng một số ion kim loại, độ tro và nitơ tổng số của chế phẩm NS. Kết quả như sau:

Nitơ tổng = 1,2%

Ca = 0,5% (đã trừ đi lượng Ca có trong nước dùng chiết mẫu, 11,2mg/1 lít nước)

Mg = 4,6% (đã trừ đi lượng Mg có trong nước dùng chiết mẫu, 8,6mg/1 lít nước)

Tro = 27,3% (nung đến 500°C).

Kết quả này cho thấy chế phẩm NS có chứa một lượng khá lớn các chất vô cơ.

b) Phân tích bằng sắc ký lớp mỏng:

Kết quả phân tích sắc ký lớp mỏng cho thấy NS có chứa các chất rất phân cực. Chúng tôi đã thử tách nhiều lần NS bằng sắc ký cột trên sili-

ca gel với các điều kiện khác nhau nhưng không thu được chất sạch. Chúng tôi đã tiến hành thủy phân NS bằng acid và chiết sản phẩm thủy phân bằng cloroform và butanol thu được các dịch chiết tương ứng là 44,3mg và 2,38g. Trên sắc ký lớp mỏng, các dịch chiết này cho những vết mờ không rõ ràng. So với lượng NS ban đầu (5g), dịch CHCl_3 sau thủy phân chỉ chiếm dưới 1%, như vậy có thể thấy các sản phẩm thủy phân NS hầu như không tan trong CHCl_3 .

Sắc ký cột silica gel dịch chiết butanol, giải hấp với hệ dung môi $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}:\text{NH}_4\text{OH} = 12:10:1$ thu được chất I. Cấu trúc của chất I được xác định là acid levulinic [$\text{CH}_3\text{-C(O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$] nhờ các phương pháp phổ hồng ngoại (IR), phổ khối (MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^1H và $^{13}\text{C-NMR}$).

c) Phân tích bằng sắc ký trao đổi ion:

20 gam chế phẩm NS được hoà tan vào 700ml ethanol - nước (2:5). Hỗn hợp này được đưa lên cột đã nhồi nhựa trao đổi cation. Sau khi cho hết hỗn hợp NS vào cột, tiếp tục cho ethanol 96° vào rửa cột để đẩy những chất không có tính ion trong NS ra. Dịch rửa giải với ethanol 96° được loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 7,84 gam (ký hiệu là phần B). Các chất mang tính ion hấp thụ trong cột được giải hấp bằng dung dịch NH_4Cl 7% trong ethanol, cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 11,67 gam (ký hiệu là phần A).

Chúng tôi đã xác định độ tro và nitơ tổng số của phần A. Kết quả như sau:

Nitơ tổng = 1,14%

Tro = 29,44% (nung đến 500°C).

Độ tro cao (~ 30%) chứng tỏ thành phần vô cơ của chế phẩm NS nằm chủ yếu ở A. Đây là điều rất đáng quan tâm, vì phần A chiếm quá nửa sản phẩm NS. Chúng tôi đã thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và gây độc tế bào của phần A, phần B và chế phẩm NS. Kết quả được trình bày ở bảng 1. Phần B có hoạt tính đáng kể với hai loại vi sinh vật kiểm định là *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* và nấm mốc *Aspergillus niger*.

Sắc ký lớp mỏng phần B với hệ dung môi và thuốc thử đặc hiệu cho saccharid có so sánh với glucose và rhamnose cho thấy phần này chứa nhiều chất phân cực hơn các monosaccharid kể trên, do đó chúng tôi dự đoán phần B chứa chủ yếu các oligo- và polysaccharid. Điều này phù hợp với kết quả xác định hàm lượng carbohydrate tổng là 44,9% trong NS. Để xác định các đường đơn trong phần B chúng tôi đã tiến hành thủy phân phần B bằng cách đun hồi lưu với acid sunfuric 1M trong 8 giờ. Hỗn hợp đường đơn thu được sau khi thủy phân được acetyl hóa với acetyl clorur rồi so sánh với glucose peracetat và galactose peracetat bằng phương pháp sắc ký khí.

Phân tích sắc ký khí hỗn hợp monosaccharid đã acetyl hóa kết luận rằng acetyl glucose (thời gian lưu 4,3 phút) chiếm phần lớn trong hỗn hợp này, tiếp đến là acetyl galactose (thời gian lưu 4,7 phút). Điều đó có nghĩa là glucosơ và galactose là thành phần chính trong phần B. Hàm lượng:

Trên sắc ký đồ dung môi chiếm 5 pic đầu với hàm lượng tổng là 30,4%.

$$\text{Hàm lượng glucose peacetat} = \frac{25,2}{100 - 30,4} \times 100\% = 36,2\%.$$

$$\text{Hàm lượng galactose peacetat} = \frac{17,5}{100 - 30,4} \times 100\% = 25,1\%.$$

2. Kết quả thử hoạt tính sinh học của sản phẩm NS và các dịch chiết cây ngũ sắc

Chúng tôi đã tiến hành thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của sản phẩm NS, phần A và B. Các vi sinh vật kiểm định bao gồm:

+ Vi khuẩn Gram (-): *Escherichia coli* (E), *Pseudomonas aeruginosa* (P).

+ Vi khuẩn Gram (+): *Bacillus subtilis* (B), *Staphylococcus aureus* (S).

+ Nấm mốc: *Aspergillus niger* (A), *Fusarium oxysporum* (F).

+ Nấm men: *Candida albicans* (C), *Sacharomyces cerevisiae* (S).

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của NS, phần A và B

Stt	Ký hiệu mẫu	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: µg/ml)							
		Vi khuẩn Gr(-)		Vi khuẩn Gr(+)		Nấm mốc		Nấm men	
		E	P	B	S	A	F	C	S
1	NS	(-)	100	50	(-)	200	200	(-)	(-)
2	Phần A	(-)	200	(-)	(-)	(-)	200	(-)	(-)
3	Phần B	(-)	50	50	(-)	50	(-)	(-)	(-)

Bảng 2. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào của NS, phần A, B

Stt	Ký hiệu mẫu	Dòng tế bào Cell survival (%)		Kết luận
		Hep-2	FL	
1	DMSO	100,0±0,0	100,0±0,0	
2	Chứng (+)	2,25±0,15	2,01±0,55	
3	NS	99,9±1,8	74,9±2,3	Âm tính
4	Phần A	101,8±2,3	95,5±1,2	Âm tính
5	Phần B	108,1±0,1	107,7±1,7	Âm tính

FL: Tế bào ung thư màng tử cung

Hep-2: Tế bào ung thư gan người

Bảng 3. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các dịch chiết cây ngũ sắc thu hái ở Hưng Yên và Bắc Giang.

Stt	Ký hiệu mẫu	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: µg/ml)							
		Vi khuẩn Gr(-)		Vi khuẩn Gr(+)		Nấm mốc		Nấm men	
		E	P	B	S	A	F	C	S
1	BG nước đầu	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2	HY nước đầu	(-)	(-)	(-)	50	(-)	(-)	(-)	(-)
3	BG EtOAc	(-)	(-)	(-)	50	200	(-)	(-)	(-)
4	HY EtOAc	100	(-)	100	50	(-)	(-)	(-)	(-)
5	BG BuOH	(-)	(-)	(-)	(-)	200	(-)	(-)	(-)
6	HY BuOH	(-)	(-)	(-)	100	(-)	(-)	(-)	(-)
7	BG nước cuối	200	(-)	(-)	(-)	200	(-)	(-)	(-)
8	HY nước cuối	(-)	(-)	(-)	50	(-)	(-)	(-)	(-)

Nhận xét:

- Mẫu NS có hoạt tính đáng kể đối với vi khuẩn *B.subtillis*, *P.aeruginosa*, và có hoạt tính với nấm mốc *Asp.niger* và *F.oxysporum*.

- Phần B có hoạt tính đáng kể đối với vi khuẩn *P.aeruginosa*, *B.subtillis*, và nấm mốc *Asp.niger*.

- Phần A có tác dụng ức chế đối với vi khuẩn *P.aeruginosa* và nấm mốc.

F.oxysporum.

Có thể thấy rằng hoạt tính kháng vi khuẩn Gr(-), *P.aeruginosa* (P) của sản phẩm NS là do cả phần A và B đóng góp, trong đó phần B có hoạt tính mạnh hơn. Hoạt tính kháng vi khuẩn Gr(+), *B.subtillis* (B) của NS là do phần B quyết định. Hoạt tính kháng nấm mốc *Asp.niger* (A) của NS là do phần B đóng góp; trong khi hoạt tính kháng nấm *F.oxysporum* (F) của NS là do phần A quyết định.

Kết quả thử hoạt tính độc tế bào của các mẫu trên được nêu ở bảng 2.

Kết quả này cho thấy các mẫu trên không gây độc tế bào. Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu hoạt tính sinh học của cây ngũ sắc thu ở Hưng Yên và Bắc Giang. Các mẫu được thu cùng một thời điểm. Kết quả được nêu ở bảng 3.

Kết quả này cho thấy hoạt tính phụ thuộc nhiều vào vùng thu hái mẫu:

- Dịch nước đầu cây ngũ sắc ở Bắc Giang âm tính với cả 8 loại vi sinh vật kiểm định, còn dịch nước đầu cây ngũ sắc ở Hưng Yên lại có hoạt tính đáng kể đối với *S. aureus*.

- Dịch chiết ethyl acetat cây ngũ sắc ở Bắc Giang có hoạt tính đáng kể đối với *S.aureus* và ức chế đối với *Asp.niger*, còn dịch chiết ethyl acetat cây ngũ sắc ở Hưng Yên lại có tác dụng ức chế đối với *E.coli* và *B.subtillis*.

- Dịch chiết butanol cây ngũ sắc ở Bắc Giang chỉ có tác dụng ức chế đối với *Asp.niger*, còn dịch chiết butanol cây ngũ sắc ở Hưng Yên lại có tác dụng ức chế đối với *S.aureus*.

- Dịch nước cuối cây ngũ sắc ở Bắc Giang có tác dụng ức chế đối với *E.coli* và *Asp.niger*, còn dịch nước cuối cây ngũ sắc ở Hưng Yên lại có hoạt tính đáng kể đối với *S.aureus*.

Cấu trúc và hoạt tính sinh học của các chất trong cây ngũ sắc ở các vùng khác nhau đang được tiếp tục nghiên cứu.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Ban chủ nhiệm Dự án thuốc nhỏ mũi ngũ sắc, Viện Dược liệu đã hợp tác trong khi thực hiện công việc nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Adewole L. Ohunade, *Fitoterapia*, 73, 1 - 16, (2002);
2. Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt nam (Glossary of Vietnamese Medicinal Plants). Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, Việt Nam, 56 (1999);
3. Gonzalez A.G., Aguiar Z.E., Grillo T.A., *Phytochemistry*, 30, 1269, (1991);
4. Quijano L., Calderson J.S., Gomez G.F., *Phytochemistry*, 21, 2965, (1982);
5. Vũ Đức Chính, 2004 "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học cây ngũ sắc", Luận văn thạc sĩ, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, tháng 9 năm 2004;
6. Đỗ Huy Bích và cs. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 375 (I), 2004.

Tap chí Dược liệu, tập 10, số 5/2004 (trang 145-151)

TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM GAN VÀ ỨC CHẾ XƠ GAN CỦA CHẾ PHẨM CHIẾT XUẤT TỪ LÁ CHÈ ĐẮNG THU HÁI Ở CAO BẰNG

Bùi Thị Bằng, Nguyễn chiến Bình, Nguyễn Thượng Đông, Nguyễn Kim Phương, Đinh Thị Mai Hương, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Trang Thuý, Nguyễn Thị Chinh, Lê Minh Phương và CTV - Viện Dược liệu

Nông Đình Hai - Sở Khoa học Công nghệ Cao Bằng

(Nhận bài ngày 10 tháng 8 năm 2004)

The studies on antihepatitis and anticirrhotic effect of an product from bitter tea (Ilex Kaushue S. Y. Hu) collected in Cao Bang.

Bitter tea was described in the Bencao Gangmu Shiyi (1765) as Ku Ding Cha. Considerable health benefit is attributed to Bitter tea. In traditional Chinese medicine terms, it is used to disperse wind-heat, clear the head and the eyes, resolve toxin.. It is said to calm fidgets and alleviate thirst.. It is recommended for counteracting overheating during the summer, alleviating the effects of consuming alcohol or smoking cigarettes and resolving other hot-type conditions.

The total saponin fraction (SF) from bitter tea's leaves collected in Cao Bang has been tested in vivo on antihepatitis, antiinflammatory, anticirrhotic and choleric effects as well as antioxidant activity by oral administration. The results showed that:

1. SF decreased significantly chronic hepatitis and the increase in activity of GPT induced by carbon tetrachloride: 25,03% (P < 0,01).

2. In the model of hepatic cirrhosis, SF decreased significantly the increase in content of hepatic collagen (30,6% : P < 0,05), diminished histologically the cirrhosis and necrosis of liver cells.

3. SF decreased significantly the carbon tetrachloride - induced increase in malonyl dialdehyde content (24,34% : P < 0,05). These results suggested that bitter tea's SF hepatoprotective effect is based on the antioxidant mechanism, namely on inhibition of lipid peroxidation in hepatic cells.

4. SF possesses strong acute and chronic antiinflammatory effects, decreasing significantly 32,49% of carrageenin - induced oedema and 30,62% of weight amiant.- induced granuloma..

5. SF exhibited light choleric effect, increasing 24,41% of the bile flow in comparison with controlled - group.

I. Đặt vấn đề

Theo y học cổ truyền Trung Quốc, lá chè đắng (CĐ - Ilex kaushue S.Y.Hu) được sử dụng để giải độc, trị đau đầu, viêm mũi, viêm phế quản, làm giảm khát nước đặc biệt đối với những bệnh gây sốt và tiêu chảy nặng, làm sáng mắt. CĐ còn có tác dụng kích thích tiêu hoá, kích thích thần kinh và tăng cường trí nhớ.

Năm 1997, Viện nghiên cứu phát triển các bài thuốc dân gian Nam Ninh đã được thành lập và bắt đầu nghiên cứu về cây CĐ và các sản phẩm từ cây ở tỉnh Quảng Tây, một tỉnh trồng nhiều CĐ nhất ở Trung Quốc (1360 ha). Lá CĐ đã được nghiên cứu phối hợp với mướp đắng, hoa cúc, dành dành, cỏ tranh, lá dâu và các dược liệu khác làm thuốc thanh nhiệt, thuốc giải độc do rượu và thuốc lá [12].

Kinh nghiệm sử dụng lá CĐ làm thuốc giải độc do rượu và thuốc lá trên đây đã gợi ý cho chúng tôi nghĩ đến tác dụng bảo vệ tế bào gan

của các hoạt chất trong lá CĐ. Chúng ta đã biết rượu và thuốc lá là các yếu tố độc hại đối với tế bào gan. Những người nghiện rượu và thuốc lá có nguy cơ bị viêm gan mạn tính và xơ gan. Tác dụng giải độc của CĐ đối với rượu và thuốc lá có thể tương tự như tác dụng của sylimarin - hoạt chất của hạt cúc gai (*Sylibum marianum* L.). Đó là tác dụng ức chế quá trình peroxyd hoá lipid, bảo vệ màng tế bào gan, ngăn cản sự hấp thu các chất độc hại vào tế bào, trung hoà các gốc tự do, chống viêm cấp tính và mạn tính. Như vậy, CĐ có thể có tác dụng hạn chế sự phát triển của các yếu tố dẫn đến xơ gan.

Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành thử tác dụng chống ô xy hoá, ức chế tạo collagen và giảm men gan GPT trên mô hình gây xơ gan thực nghiệm. Ngoài ra, chúng tôi còn thử tác dụng chống viêm cấp và mạn, tác dụng lợi mật của CĐ. Đó là những tác dụng có liên quan đến tác dụng chống viêm gan và xơ gan.

II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu nghiên cứu: Lá CĐ thu hái ở Cao Bằng do Sở Khoa học – Công nghệ Cao Bằng và Công ty chè CĐ Cao Bằng cung cấp đã được dùng để chiết xuất sản phẩm saponin toàn phần (SF) dùng làm vật liệu nghiên cứu cho đề tài.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

2.2.1. Phương pháp gây viêm gan mạn, thử tác dụng chống ô xy hóa và ức chế xơ gan:

Mô hình gây viêm gan mạn, stress ô xy hoá và xơ gan bằng CCl_4 theo phương pháp của Maros và cộng sự [6, 13]. Cách tiến hành như sau:

Chuột nhắt trắng được chia làm 5 lô:

+ Lô 1: Đối chứng sinh lý.

+ Lô 2: Đối chứng gây bệnh.

+ Lô 3: Thử thuốc nghiên cứu : Chế phẩm SF chiết xuất từ lá CĐ Cao Bằng.

+ Lô 4: Mẫu thuốc đối chứng: Chế phẩm Cugama chứa 66,66% sylimarin chiết xuất từ hạt cóc gai .

Tháng thứ nhất: - Chuột của các lô thử thuốc và lô gây bệnh được gây viêm gan mạn, stress ô xy hoá và xơ gan bằng cách tiêm dưới da, tuần tiêm 2 lần hỗn hợp CCl_4 và dầu oliu.

- Chuột của lô đối chứng sinh lý được tiêm dầu oliu cùng thể tích, cùng số lần với lô đối chứng bệnh lý và lô thử thuốc.

Tháng thứ 2 và 3: Các lô chuột vẫn được tiêm hỗn hợp CCl_4 và dầu oliu như tháng thứ nhất, đồng thời ở các lô thử thuốc, cho chuột uống thuốc với các liều như sau:

+ Chế phẩm SF: 1,8 g - 15 g được liệu/ kg/ ngày.

+ Chế phẩm Cugama: 0,75 g - 15 g được liệu/kg/ngày.

Hết 2 tháng uống thuốc, tiến hành các công việc sau để đánh giá:

a) Tác dụng của thuốc trên men gan GPT và bilirubin: Lấy máu chuột để định lượng men GPT và bilirubin/ huyết thanh . Thực hiện trên máy định lượng sinh hoá bán tự động- Scout.

b) Tác dụng ức chế xơ gan:

Lấy gan chuột để xác định hàm lượng collagen gan bằng phương pháp Neuman- Logan:

Thuỷ phân gan để giải phóng ra hydroxyprolin (Hyp.). Hyp. được tạo phức có màu bằng thuốc thử Paradimethylaminobenzaldehyd, đo mật độ quang ở bước sóng 557 nm. So sánh với đồ thị chuẩn Hyp. từ đó tính ra hàm lượng collagen gan (1mMol Hyp. = 1 mg collagen).

c) Tác dụng chống ô xy hóa:

Lấy gan chuột để xác định hàm lượng MDA (Malonyl dialdehyd) theo phương pháp Shibayama 1989, Yoshika và CS. 1991.

Chiết MDA từ gan. Tạo phức màu hồng của MDA với acid thiobarbituric và đo mật độ quang ở bước sóng 532 nm. Hàm lượng MDA ở trong mẫu tỷ lệ thuận với mật độ quang của mẫu. Lượng MDA ở mẫu thử giảm đi so với đối chứng gây bệnh sẽ cho ta biết khả năng ức chế quá trình peroxyd hóa lipid của chất thử và được gọi là hoạt tính chống oxy hóa (HTCO).

d) Làm tiêu bản tổ chức học của gan: Tiến hành xét nghiệm mô bệnh học gan đại thể và vi thể so sánh chuột ở lô thử thuốc với lô đối chứng, đối chứng gây bệnh và lô thuốc đối chiếu.

2.2.2. Phương pháp gây viêm mạn tính

Áp dụng phương pháp gây u hạt thực nghiệm của Ducrot Julon và cs [5]. Tác nhân gây u hạt là amian. Thuốc đối chứng là prednisolon (liều 5 mg/kg chuột).

Chế phẩm SF: Liều thử ~ 15g được liệu/kg. Đường dùng: đường uống. Chỉ tiêu đánh giá là trọng lượng khối u.

2.2.3. Phương pháp gây viêm cấp tính

Áp dụng phương pháp gây viêm cấp trên chuột cống trắng bằng dung dịch carragenin/dung dịch NaCl 9‰. Chế phẩm SF: Liều thử ~ 15g được liệu/kg. Đường dùng: đường uống. Chỉ tiêu đánh giá là độ phù bàn chân chuột.

2.2.4. Phương pháp thử tác dụng lợi mật

Thử tác dụng lợi mật trên chuột nhắt trắng theo phương pháp của Rudi [10, 11]. Lượng mật sinh tăng (%) so với lô đối chứng được tính theo công thức:

$$L\% = [(m_1 - m_c) : m_c] \times 100$$

Trong đó: m_1 = Lượng mật sinh ở lô thử thuốc (mg)

m_c = Lượng mật sinh ở lô đối chứng (mg)

III - Kết quả nghiên cứu

3.1. Tác dụng của chế phẩm SF chiết xuất từ lá CD lên hoạt độ của men gan GPT và bilirubin (xem bảng 1)

Nhận xét: Chế phẩm SF chiết xuất từ lá CD Cao Bằng có tác dụng giảm 28,03% hoạt độ của men gan GPT so với lô chuột bệnh lý không được điều trị. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, mức giảm hoạt độ của men gan của chế phẩm SF thấp hơn chế phẩm Cugama từ hạt cúc gai và mã đề.

3.2. Tác dụng ức chế collagen gan của SF (xem bảng 2)

Nhận xét: Chế phẩm SF từ CD làm giảm 30,6% hàm lượng collagen trong gan so với đối chứng bệnh lý (mức giảm nhiều hơn so với chế phẩm Cugama). Sự khác nhau giữa lô dùng thuốc và lô đối chứng bệnh lý có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

3.3. Tác dụng chống oxy hoá của SF (xem bảng 3)

Nhận xét: Chế phẩm SF từ CD có tác dụng làm giảm 24,34% lượng MDA so với mẫu đối chứng bệnh lý. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

kê ($P < 0,05$). Tác dụng này của CD yếu hơn chế phẩm Cugama.

3.4. Tổ chức học tế bào gan

* **Đại thể:** Nhìn đại thể các lô thí nghiệm cho thấy:

+ Lô đối chứng sinh lý: Gan mịn, mật gan nhẵn bóng màu nâu đỏ

+ Lô đối chứng bệnh lý: Toàn bộ gan đều bị xơ, có nhiều hạt nhỏ nổi lên mặt gan, gan to, xốp, mật độ chắc.

+ Các lô thuốc: Mật gan rõ, gan vẫn bị tổn thương nhưng có nhiều con tình trạng gan được cải thiện hơn, mật độ tương đối mềm, gan to, màu vàng sẫm.

* **Vi thể:**

+ Lô đối chứng sinh lý: Tất cả các mẫu gan đều có cấu trúc bình thường, cấu trúc bè gan nguyên vẹn, khoảng cửa rõ, tế bào gan bình thường.

+ Lô đối chứng bệnh lý: Nhiều chỗ cấu trúc bè gan bị phá vỡ hoàn toàn, tế bào gan bị hoại tử, thoái hoá, giữa các bè gan xuất hiện những vạch xơ, tăng sinh nhiều mạch máu.

+ Lô thử chế phẩm S từ CD: Gan tuy vẫn bị tổn thương nhưng có nhiều chỗ cấu trúc bè gan còn nguyên vẹn. Đặc biệt tăng sinh rất nhiều mạch máu.

+ Lô thử chế phẩm Cugama: Gan vẫn còn bị tổn thương, tuy nhiên mức độ nhẹ hơn so với đối

Bảng 1: Hoạt độ của men gan GPT và hàm lượng bilirubin/ huyết thanh ở các lô chuột thí nghiệm

Mẫu thuốc	Chỉ tiêu đánh giá	Lô chuột thí nghiệm			% giảm so với lô gây bệnh	$P_{2,3}$
		Đối chứng sinh lý (1)	Đối chứng bệnh lý (2)	Thử thuốc (3)		
Chế phẩm SF từ CD	GPT (U/lit)	49,69 ± 2,18	78,63 ± 5,89	56,59 ± 2,35	28,03	<0,01
	Bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	1,497 ± 0,16	1,830 ± 0,11	1,628 ± 0,09	11,96	<0,25
Cugama*	GPT (U/lit)	49,69 ± 2,18	78,63 ± 5,89	53,29 ± 1,67	32,23	<0,001
	Bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	1,50 ± 0,16	1,83 ± 0,11	1,66 ± 3,52	9,29	<0,25

* Cugama: hỗn hợp sylimarin từ hạt cúc gai và chế phẩm F2 từ mã đề đã được chứng minh có tác dụng bảo vệ gan.

Bảng 2: Hàm lượng collagen gan (mg/ 100 g gan tươi)

Stt	Lô chuột	Hàm lượng collagen	% giảm collagen so với đối chứng bệnh lý	P
1	Đối chứng sinh lý (1)	132,5 ± 3,02	-	-
2	Đối chứng bệnh lý (2)	195,3 ± 15,1	-	-
3	Chế phẩm SF từ CĐ (3)	135,5 ± 4,5	30,6	< 0,05
4	Chế phẩm Cugama (3)	149,9 ± 9,1	23,2	< 0,05

Bảng 3: Tác dụng chống ôxy hoá của SF

ST T	Lô chuột	D (mật độ quang)	HTCO (% giảm so với chứng bệnh lý)	P
1	Đối chứng sinh lý	0,441 ± 0,013	-	-
2	Đối chứng bệnh lý	0,690 ± 0, 014	-	-
3	Chế phẩm SF (3)	0,522 ± 0,016	24,34	< 0,05
4	Chế phẩm Cugama (3)	0,499 ± 0,017	27,68	< 0,05

Bảng 4: Trọng lượng khối u (mg)

Lô chuột	Chứng (n=8)	Prednisolon (n=6)	Mẫu SF (n=8)
Chỉ tiêu so sánh			
Trọng lượng khối u (mg)	223,59±15,72	160,91±17,84	155,12±12,60
Tỷ lệ % giảm khối u		28,03	30,62
P		P<0,05	P < 0,05

Bảng 5: Tác dụng của SF trên độ phù của bàn chân chuột

Lô chuột	Lô đối chứng (n = 8) (1)	Lô thử SF ~ 15 g được liệu/kg (n = 9) (2)	Lô thử SF ~ 20 g được liệu/kg (n = 8) (3)
Chỉ tiêu			
Độ phù trung bình	83,43 ± 8,72	50,94 ± 3,73	52,80 ± 6,13
Tỷ lệ ức chế phù so với lô đối chứng (%)	-	32,49	30,63
P		P _{1,2} < 0,05	P _{1,3} < 0,05

Bảng 6: Tác dụng lợi mật của SF

Thông số	Lô đối chứng sinh lý (1)	Chế phẩm SF (2)
Khối lượng mật trung bình (mg)	10,35 ± 0,58	12,98 ± 1,29
Tác dụng lợi mật (% so với chứng)	-	25,41
P _{1,2}		> 0,05

chứng bệnh lý. Xen kẽ những bè gan bị phá huỷ là những bè gan tương đối nguyên vẹn, xơ cũng có nhưng ít hơn.

3.5. Tác dụng chống viêm mạn tính của chế phẩm SF từ CĐ (xem bảng 4)

Nhận xét: Chế phẩm SF có tác dụng chống viêm mạn rõ rệt trên mô hình gây viêm mạn thực nghiệm, làm giảm có ý nghĩa thống kê 30,62% trọng lượng khối u so với đối chứng. Mức độ giảm nhiều hơn liều 5 mg/kg của prednisolon.

3.6. Tác dụng chống viêm cấp của chế phẩm S từ CĐ (xem bảng 5)

Nhận xét: Chế phẩm FS có tác dụng chống viêm cấp rõ rệt, làm giảm có ý nghĩa thống kê độ phù bần chân chuột so với lô đối chứng.

3.7. Tác dụng lợi mật của chế phẩm SF từ CĐ (xem bảng 6)

Nhận xét: Chế phẩm SF có tác dụng lợi mật, làm tăng tiết mật 25,41% khối lượng mật so với lô đối chứng nhưng sự khác nhau chưa có ý nghĩa thống kê.

Bàn luận: Bệnh viêm gan mạn hoạt động thường dẫn đến xơ gan, rất khó chữa trị. Tuy nhiên, sự tiến triển của quá trình viêm gan và xơ hoá gan thì có khả năng hạn chế bằng các thuốc ít độc hại như các thuốc thảo mộc. Vì vậy, xu hướng hiện nay là tìm kiếm các loại thảo mộc có tác dụng hạn chế hoặc loại bỏ các nguy cơ dẫn đến xơ gan như chống viêm, ức chế tạo collagen...

Trong lá cây chè đắng mọc ở Quảng Đông, Trung Quốc, người ta đã phát hiện nhiều thành phần hóa học thuộc nhóm triterpen và saponin triterpen [7, 9, 10]. Các nhà nghiên cứu Trung Quốc đã chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 2 lacton triterpen và 10 saponin triterpen từ lá cây.

Ở Việt Nam, Nguyễn Tiến Bản và Nguyễn Khắc Khôi đã xác định tên khoa học của cây CĐ mọc ở vùng núi đá vôi thuộc tỉnh Cao Bằng và một số địa phương khác là *Ilex kaushue* S.Y. Hu [1]. Tên Việt Nam: chè đắng, ché khôm, khổ đĩnh trà.

Thành phần hóa học của cây CĐ ở Việt Nam đã được nghiên cứu sơ bộ trong khuôn khổ Hợp

đồng giữa Viện Dược liệu và Sở KH - CN tỉnh Cao Bằng. Đã định tính và xác định hàm lượng các nhóm chất sau đây trong lá CĐ:

- Saponin toàn phần: 5,1 - 5,5%

- Flavonoid toàn phần: 0,5 - 0,6 %

- Polysaccharid toàn phần: 2,8 - 3,4%

- Carotenoid (tính theo β - caroten) : 5,0 - 5,8 mg%

Trong số các nhóm chất trên, các nhóm chất có khả năng có tác dụng trung hoà các gốc tự do, chống peroxyd hoá màng tế bào và bảo vệ tế bào gan là saponin, flavonoid và carotenoid. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành chiết xuất một sản phẩm từ chè CĐ - ký hiệu là sản phẩm S có 3 nhóm chất nêu trên làm vật liệu nghiên cứu. Trong sản phẩm S, hàm lượng saponin là 30 - 35%, flavonoid: 7 - 10%.

Kết quả nghiên cứu trên đây cho thấy chế phẩm SF chiết xuất từ lá CĐ Cao Bằng có thể là một trong số các thuốc dược thảo có khả năng giải độc, bảo vệ tế bào gan thông qua cơ chế chống peroxyd hóa lipid và ức chế tạo collagen gan. Hơn nữa, chế phẩm SF có tác dụng chống viêm cấp và mạn tính khá tốt cũng góp phần hạn chế quá trình viêm gan do các tác nhân độc hại gây ra khi xâm nhập vào gan.

Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nông Thanh Sơn và cs. về tác dụng bảo vệ gan, chống nhiễm độc 2,4D của dịch chiết lá CĐ Cao Bằng trên động vật thực nghiệm [3]. Kết quả thu được đã chứng minh cơ chế tác dụng giải độc của lá CĐ đã và đang được dùng trong nhân dân cũng như tác dụng giảm hoạt tính của men gan GPT ở những người dân sống xung quanh vùng khai thác thiếc Sơn Dương đã được uống dịch chiết lá CĐ trong 1 tháng [2].

Kết quả thực nghiệm thu được đã chứng minh giả thiết nghiên cứu của đề tài về tác dụng giải độc, bảo vệ tế bào gan, chống viêm gan mạn và ức chế xơ gan của CĐ.

IV. Kết luận

1. Lần đầu tiên chế phẩm Saponin toàn phần (SF) chiết xuất lá CĐ thu hái ở Cao Bằng đã được thử tác dụng chống xơ gan và chống ô xy hoá trên mô hình gây xơ gan thực nghiệm. Kết

quả cho thấy SF có tác dụng bảo vệ gan, thể hiện trên tác dụng giảm độ tăng của hoạt tính men gan PGT (28,03%), bilirubin (11,96%) và giảm hàm lượng collagen (30,6%) ở gan chuột bị gây tổn thương gan và gây xơ gan bằng CCl₄. Sự khác biệt giữa lô điều trị và lô đối chứng ở tất cả các chỉ tiêu đều có ý nghĩa thống kê. Tác dụng bảo vệ gan và ức chế tạo collagen của SF từ CĐ tương đương tác dụng của chế phẩm Cugama từ cúc gai và mã đề.

2. Chế phẩm SF có tác dụng chống ô xy hoá khá mạnh, làm giảm 24,34 % hàm lượng MDA ở gan chuột gây stress ô xy hoá bằng CCl₄, với

$P < 0,05$.

3. Chế phẩm SF có tác dụng lợi mật, làm tăng tiết mật 25,41% khối lượng mật so với lô đối chứng.

4. Chế phẩm SF có tác dụng chống viêm mạn rõ rệt trên mô hình gây viêm mạn thực nghiệm, làm giảm có ý nghĩa thống kê 30,62% trọng lượng khối u so với đối chứng.

5. Chế phẩm FS có tác dụng chống viêm cấp rõ rệt, làm giảm có ý nghĩa thống kê 32,49% độ phù bàn chân chuột so với lô đối chứng.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Tiến Bàn, Nguyễn Khắc Khôi. Tên khoa học của cây chè đắng ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, t.21, số 1, 1999, 1-3; 2. Hoàng Hải Bằng và CTV. Nghiên cứu tác dụng của dịch chiết là chè đắng đối với một số chỉ số sinh học của dân cư sống xung quanh vùng khai thác thiếc Sơn Dương. Nội san khoa học công nghệ Y Dược miền núi, số 2, 2003: 27 –32; 3. Nông Thanh Sơn và CTV. Nghiên cứu tác dụng của dịch chiết là chè đắng đối với nhiễm độc 2,4 D trên động vật thực nghiệm. Nội san Khoa học - Công nghệ Y Dược miền núi, số 2, 2001: 18 – 36; 4. Bladagarov C.T XUM- APn, 299, 1987; 5. Ducrot, Zulou L. et al. Ann. Pharm. Fr. 1963, 21, 703 – 717; 6. Maros, T, Lakatos. On the anticirrhotic effect of certain Biologycall active short- chain thiamino-acids-*arzneimittel forsch*, 21 (2), 257, 1971; 7. Ming-An Ouang et al. tritecpenoid glycosides from *Ilex kudincha*. *Phytochemistry* 43(2), 1996, 443-445; 8. Ming-An Ouang et al. Tritecpenes and tritecpenoid glycosides from the leaves of *Ilex kudincha*. *Phytochemistry*, 41(3), 1996, 871-877; 9. Ming-An Ouang et al. Tritecpenoid saponins from the leaves of *Ilex latifolia*. *Phytochemistry* 45(1), 1997, 1501-1505; 10. Pesson M. J. Sall, C. Auffret (1965): Screening methods in Pharmacology by Robert A. Turner, 229 – 230; 11. Rudi R. V. Pharm. and Toxicology, 1977, 4, 11-16; 12. Subhuti Dharmananda. *Ku Ding cha*. <http://www.itmonline.org/arts/kudingcha.htm> (6/11/03); 13. Turner R. A. (1965): Screening methods in Pharmacology. Vol. 1, Test for hepatotoxicity, 299 – 300.

Tạp chí Dược liệu, tập 10, số 5/2004 (trang 151-156)

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA CHẾ PHẨM CHIẾT XUẤT TỪ MÃ ĐỀ

*Trịnh Thị Diệp, Nguyễn Thượng Đông, Bùi Thị Bằng,
Nguyễn Kim Phượng, Đỗ Thị Phương -
Viện dược liệu*

(Nhận bài ngày 17 tháng 5 năm 2004)

Summary

*Study on hepatoprotective effect of an extract from *Plantago asiatica* L.*

*Extract from the herb of *Plantago asiatica* L. have been proved to posses hepatoprotective activity, antioxydant activity and inhibitory action on formation of liver cirrhosis.*

Key words: *Plantago asiatica* L., hepatoprotective, anti-cirrhotic

1. Đặt vấn đề

Cây mã đề được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền Việt Nam làm thuốc thông tiểu, chữa ho lâu ngày, viêm phế quản, tả lỵ, đau mắt đỏ [1]. Trong danh mục thuốc thiết yếu ban hành kèm theo Quyết định số 2285/1999/QĐ-BYT ngày 28/7/1999 của Bộ trưởng Bộ Y tế, cây mã đề được xếp vào nhóm thuốc chữa viêm gan siêu vi trùng.

Những kết quả nghiên cứu gần đây của các nước đã phát hiện nhiều tác dụng của mã đề như chống viêm, giảm đau, kháng khuẩn, chống virus, điều hoà miễn dịch, chống oxy hóa, chống u và đặc biệt là ức chế sự phát triển của virus viêm gan B [2].

Như vậy, mã đề có thể là vị thuốc điều trị viêm gan virus. Để tìm hiểu tác dụng của cây trên gan, chúng tôi đã tiến hành thử tác dụng của một số chế phẩm chiết xuất từ mã đề. Trong bài này, chúng tôi thông báo kết quả thử tác dụng của những chế phẩm này trên mô hình thực nghiệm điều trị viêm gan mạn hoạt động.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu:

- Đối tượng nghiên cứu: Cây mã đề *Plantago asiatica* L., thu hái vào tháng 6/2003 tại Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội.

- Điều chế chế phẩm từ mã đề: Toàn cây mã đề, bỏ rễ, phơi khô tự nhiên, xay thành bột thô, chiết bằng cồn 50°. Từ cao cồn này, tách ra 2 phân đoạn: F1 là cao khô, màu đen, rất dễ hút ẩm và chảy nhão và F2 có dạng bột khô màu xám đen với hiệu suất chiết xuất tương ứng là 24-25% và 5,4-5,6% so với dược liệu khô. Chế phẩm F1 được dùng để thử với liều tương đương 5g dược liệu khô/kg chuột.

- Động vật thí nghiệm: Chuột cống trắng và chuột nhắt trắng trưởng thành có trọng lượng phù hợp, khoẻ mạnh, do tổ chăn nuôi Học viện Quân y cung cấp.

- Các hoá chất và thuốc thử đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng cho phân tích.

- Kit định lượng GPT và bilirubin huyết thanh do hãng Human cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- Tác dụng bảo vệ gan được thử trên mô hình gây tổn thương tế bào gan bằng carbon tetrachlorid [3].

Mô tả phương pháp:

Thí nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng có trọng lượng 20 - 22g và được chia thành 3 lô:

1 - Lô đối chứng bệnh lý: Tiêm phúc mạc dung dịch 10% CCl_4 trong dầu oliu 2 lần vào ngày thứ 1 và thứ 5 của thí nghiệm với liều 0,2ml CCl_4 /20g chuột.

2 - Lô đối chứng sinh lý: Tiêm dầu oliu cùng thể tích, cùng số lần như lô đối chứng bệnh lý.

3 - Lô thử thuốc: Gây bệnh như ở lô đối chứng bệnh lý, đồng thời cho uống chế phẩm chiết xuất từ mã đề với liều quy ra dược liệu khô là 5g dược liệu/kg thể trọng/ngày trong 8 ngày liên tục.

Ngày thứ 8, sau khi cho uống thuốc 1,5 giờ, lấy máu chuột để định lượng enzym GPT và bilirubin/ huyết thanh.

Tác dụng bảo vệ gan của thuốc được biểu thị bằng % giảm độ tăng hàm lượng enzym GPT và bilirubin huyết thanh của lô chuột gây bệnh được điều trị bằng thuốc so với lô đối chứng bệnh lý.

- Tác dụng ức chế quá trình tạo collagen gan gây xơ gan và tác dụng chống oxy hoá được thử trên mô hình gây xơ gan theo phương pháp của Maros và cộng sự [4].

Mô tả phương pháp:

Chuột cống trắng trưởng thành trọng lượng 90-100g được chia làm 3 lô:

1 - Lô đối chứng bệnh lý:

- Tháng thứ nhất: Tiêm dưới da hoặc phúc mạc mỗi tuần 2 lần dung dịch 40% CCl_4 trong dầu oliu với liều 0,12ml CCl_4 /100g chuột.

- Tháng thứ 2 và thứ 3: Tiêm dung dịch 40% CCl_4 trong dầu oliu mỗi tuần 2 lần như tháng thứ nhất với liều 0,40ml CCl_4 /100g chuột.

2 - Lô đối chứng sinh lý: Tiêm dầu oliu cùng thể tích, cùng số lần như ở lô đối chứng bệnh lý.

3 - Lô thử thuốc: Gây bệnh như ở lô đối chứng bệnh lý, từ tháng thứ hai, cho uống chế phẩm chiết xuất từ mã đề với liều quy ra được liệu khô là 5g được liệu/kg thể trọng/ngày.

Sau 3 tháng:

+ Lấy máu chuột để định lượng enzym GPT và bilirubin/ huyết thanh. Thực hiện trên máy định lượng sinh hoá bán tự động- Scout.

+ Lấy gan chuột làm các xét nghiệm sau:

a. Định lượng hàm lượng collagen gan bằng phương pháp Neuman và Logan [4].

Nguyên tắc của phương pháp: Thủy phân collagen gan bằng HCl 6N để giải phóng ra hydroxyprolin. Hydroxyprolin tạo dẫn chất có màu với thuốc thử paradimethylaminobenzaldehyd có đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng 557 nm. Kết quả đo quang được so sánh với đồ thị chuẩn hydroxyprolin, từ đó suy ra hàm lượng collagen gan.

Kết quả tác dụng ức chế quá trình tạo collagen gây xơ gan được biểu thị bằng tỷ lệ % độ giảm hàm lượng collagen gan của lô chuột gây bệnh được điều trị bằng thuốc so với lô chuột gây bệnh không được điều trị. Công thức tính như sau:

$$Y\% = \frac{X_b - X_t}{X_b} \times 100$$

Trong đó:

Y% : Tỷ lệ % độ giảm hàm lượng collagen gan của lô chuột gây bệnh được điều trị bằng thuốc so với lô chuột gây bệnh không được điều trị.

X_b : Hàm lượng collagen gan của lô chuột gây bệnh không được điều trị.

X_t : Hàm lượng collagen gan của lô chuột gây bệnh được điều trị bằng thuốc.

b. Định lượng malonyldialdehyd (MDA) theo phương pháp Shibayama (1989), Yoshika và cộng sự (1991).

Nguyên tắc của phương pháp:

MDA là sản phẩm được tạo ra do quá trình peroxy hoá lipid màng tế bào, có thể xác định bằng cách cho phản ứng với acid thiobarbituric tạo phức trimethin màu hồng bền vững, có đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng 532 nm. Lượng

MDA ở mẫu thử giảm đi so với đối chứng gây bệnh cho ta biết khả năng ức chế quá trình peroxy hoá lipid của chất thử (được gọi là hoạt tính chống oxy hoá). Công thức tính như sau:

$$HTCO (\%) = \frac{D_b - D_t}{D_b} \times 100$$

Trong đó:

D_b : Mật độ quang đo ở lô chuột gây bệnh không được điều trị.

D_t : Mật độ quang đo ở lô chuột gây bệnh được điều trị bằng thuốc.

c. Giải phẫu bệnh lý gan chuột thực nghiệm.

Đại thể: Quan sát, đánh giá bằng mắt thường

Vi thể: Gan tươi được cố định trong dung dịch formol 10%. Cắt tiêu bản dày 2-3mm, nhuộm bằng phương pháp HE, Van Gieson để xem các tổn thương vi thể gan.

- Các số liệu được xử lý thống kê theo nghiệm pháp Student, sử dụng công cụ Data analysis của Microsoft Excel.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Tác dụng bảo vệ gan của chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề trên mô hình gây tổn thương gan bằng CCl₄ ở chuột nhắt trắng.

Hàm lượng GPT huyết thanh của các lô chuột thí nghiệm (xem bảng 1).

Hàm lượng bilirubin huyết thanh của các lô chuột thí nghiệm (xem bảng 2).

Nhận xét: Mô hình gây tổn thương gan đã làm tăng hàm lượng enzym GPT và bilirubin huyết thanh của chuột, tương ứng là 509,6% và 81,87% so với đối chứng sinh lý. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao.

Chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề, cho chuột cống trắng đã gây độc bằng CCl₄, uống với liều quy ra được liệu khô 5g/kg thể trọng/ngày trong 8 ngày liên tục, đã làm giảm độ tăng hàm lượng enzym GPT và bilirubin huyết thanh chuột so với đối chứng bệnh lý tương ứng là 91,7% và 25,8%. Tuy nhiên, chỉ có độ giảm hàm lượng bilirubin huyết thanh là có ý nghĩa thống kê.

3.2. Tác dụng ức chế quá trình tạo collagen gan và tác dụng chống oxy hoá của chế phẩm

F1 chiết xuất từ mã đề

3.2.1. Tác dụng ức chế quá trình tạo collagen gan của chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề (xem bảng 3).

Nhận xét: Mô hình gây bệnh đã làm tăng hàm lượng collagen gan lên 59,6% so với đối chứng sinh lý. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao.

Chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề, cho chuột cống trắng đã gây bệnh bằng CCl₄, uống hàng ngày với liều quy ra dược liệu khô 5g/kg thể trọng trong 2 tháng, đã làm giảm hàm lượng collagen gan so với lô chuột gây bệnh không được điều trị là 26,6%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao.

3.2.2. Tác dụng chống oxy hóa của chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề (xem bảng 4).

Nhận xét: Mô hình gây bệnh đã làm tăng hàm lượng MDA gan lên 62,1% so với đối chứng sinh lý. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao.

Chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề, cho chuột cống trắng đã gây bệnh bằng CCl₄, uống với liều quy ra dược liệu khô 5g/kg thể trọng/ngày trong 2 tháng, đã thể hiện hoạt tính chống oxy hoá, làm giảm hàm lượng MDA trong gan chuột so với lô chuột đối chứng bệnh lý là 21,2%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao.

3.2.3. Tác dụng của chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề trên enzym GPT và bilirubin huyết thanh của chuột gây xơ thực nghiệm (xem bảng 5).

Nhận xét: Mô hình gây bệnh đã làm tăng hàm lượng enzym GPT và bilirubin huyết thanh của chuột lên tương ứng là 140,9% và 26,6% so với đối chứng sinh lý. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao.

Chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề, cho chuột cống trắng đã gây bệnh bằng CCl₄, uống với liều quy ra dược liệu khô 5g/kg thể trọng/ngày trong 2 tháng, đã làm giảm hàm lượng enzym GPT và bilirubin huyết thanh chuột so với lô

Bảng 1. Hàm lượng GPT huyết thanh của các lô chuột thí nghiệm.

Stt	Lô chuột	Số chuột	GPT (U/l)	Độ tăng hàm lượng GPT so với đối chứng sinh lý (%)	% giảm độ tăng so với đối chứng bệnh lý
1	Đối chứng sinh lý	15	41,8 ± 16,4		
2	Đối chứng bệnh lý	16	254,5 ± 20,6	509,6 P _{1,2} < 0,001	
3	Chế phẩm F1/mã đề	17	215,8 ± 18,0	417,9	91,7 P _{2,3} = 0,21

Bảng 2. Hàm lượng bilirubin huyết thanh của các lô chuột thí nghiệm.

Stt	Lô thí nghiệm	Số chuột	Bilirubin (µmol/l)	Độ tăng hàm lượng bilirubin so với đối chứng sinh lý (%)	% giảm độ tăng so với đối chứng bệnh lý
1	Đối chứng sinh lý	15	1,51 ± 0,06		
2	Đối chứng bệnh lý	16	2,74 ± 0,17	81,87 P _{1,2} < 0,001	
3	Chế phẩm F1/mã đề	17	2,35 ± 0,08	56,06	25,8 P _{2,3} = 0,05

Bảng 3. Tác dụng ức chế tạo collagen gan của chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề

Stt	Lô chuột	Số chuột	Hàm lượng collagen gan (mg/100g gan tươi)	Độ giảm hàm lượng collagen gan so với đối chứng bệnh lý (%)	Độ tăng hàm lượng collagen gan so với đối chứng sinh lý (%)
1	Đối chứng sinh lý	15	102,2±4,63		
2	Đối chứng bệnh lý	18	163,1±7,85		59,6 (P _{1,2} < 0,001)
3	Lô thử thuốc F1/mã đề	18	119,73±5,22	26,6 (P _{2,3} < 0,001)	

Bảng 4. Tác dụng chống oxy hoá của chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề

Stt	Lô	Số chuột	D (mật độ quang)	HTCO (%)	P
1	Đối chứng sinh lý	15	0,446 ± 0,011		
2	Đối chứng bệnh lý	18	0,723 ± 0,026		P _{1,2} < 0,001
3	Lô thử thuốc F1/mã đề	18	0,570 ± 0,026	21,2	P _{2,3} < 0,001

Bảng 5. Tác dụng của chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề trên enzym GPT và bilirubin huyết thanh của chuột gây xơ gan thực nghiệm.

Stt	Lô chuột	Số chuột	Tác dụng trên GPT huyết thanh		Tác dụng trên bilirubin huyết thanh	
			GPT (U/L)	Độ giảm so với đối chứng bệnh lý (%)	Bilirubin (μMol/L)	Độ giảm so với đối chứng bệnh lý (%)
1	Đối chứng sinh lý	15	55,90 ±3,25		1,657 ±0,084	
2	Đối chứng bệnh lý	18	134,64 ±9,99	(P _{1,2} < 0,001)	2,097 ±0,099	(P _{1,2} < 0,001)
3	Lô thử thuốc F1/mã đề	18	97,59 ±7,6	27,5 (P _{2,3} < 0,01)	1,690 ±0,096	19,4 (P _{2,3} < 0,01)

chuột gây bệnh không được điều trị tương ứng là 27,5% và 19,4%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

3.2.4. Tổ chức học tế bào gan:

Đại thể:

- Lô đối chứng sinh lý: Gan mềm, bề mặt gan nhẵn bóng, mặt cắt mịn thuận nhất, màu

nâu đỏ.

- Lô đối chứng bệnh lý: Gan to, xốp, mật độ cứng, chắc, có nhiều hạt nhỏ nổi lên mặt gan, màu vàng nâu ở toàn bộ số chuột.

- Lô thử thuốc F1/mã đề: Gan vẫn bị xốp, màu vàng nâu. Nhưng ở một số chuột tình trạng gan được cải thiện hơn, tương đối mềm, màu

nâu đỏ.

Vi thể:

- Lô đối chứng sinh lý: Tất cả các mẫu gan đều có cấu trúc bình thường, bề gan nguyên vẹn, khoảng cửa không có xâm nhập viêm, không có tăng sinh liên kết xơ.

- Lô đối chứng bệnh lý: Nhiều chỗ cấu trúc bề gan bị phá vỡ. Tế bào gan thoái hoá mỡ diện rộng (80-90%). Một số tế bào thoái hóa nhân đông, nhân lớn. Một số chuột có tăng sinh liên kết xơ.

- Lô thử thuốc F1/mã đề: Gan vẫn còn bị tổn thương nhưng ở mức độ nhẹ hơn so với lô đối chứng bệnh lý. Nhiều chỗ gan vẫn bị thoái hóa mỡ, cấu trúc bề gan bị phá hủy. Có tế bào gan tái tạo 2 nhân. Một số chuột vẫn có tăng sinh liên kết xơ.

Nhận xét: Qua quan sát tổ chức tế bào gan chuột thực nghiệm đại thể và vi thể, thấy chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề có tác dụng bảo vệ gan, cải thiện tổn thương gan. Tuy nhiên tác dụng còn phụ thuộc từng cá thể.

4. Bàn luận

Bệnh viêm gan mạn hoạt động thường dẫn đến xơ gan, rất khó điều trị. Sự tiến triển của xơ gan có thể bị chặn lại bằng việc loại bỏ được nguyên nhân gây bệnh. Ví dụ như diệt virus gây viêm gan hoặc ức chế quá trình xơ hoá gan. Các kết quả thu được ở trên cho thấy chế phẩm F1 có tác dụng chống oxy hóa và ức chế tạo

colagen gan rất rõ rệt với độ tin cậy cao (99,9%), đồng thời, chức năng gan cũng được cải thiện rõ. Như vậy, thuốc rất có triển vọng để ứng dụng điều trị viêm gan mạn hoạt động. Kết quả nghiên cứu sơ bộ về thành phần hoá học của chế phẩm này cũng cho thấy nó có chứa nhóm iridoid glycosid (trong đó có aucubin), polyphenol. Điều này phù hợp với các tài liệu nước ngoài về tác dụng chống oxy hoá, bảo vệ gan của aucubin [2]. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên một chế phẩm từ mã đề được công bố về tác dụng ức chế xơ hoá gan trên mô hình gây viêm gan dài ngày.

5. Kết luận

- Chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề, trên mô hình gây tổn thương gan bằng CCl_4 có tác dụng bảo vệ gan, làm giảm % độ tăng enzym gan GPT và bilirubin huyết thanh tương ứng là 91,7% và 25,8% so với đối chứng bệnh lý.

- Chế phẩm F1 chiết xuất từ mã đề, trên mô hình gây xơ gan thực nghiệm có tác dụng:

+ Bảo vệ chức năng gan, làm giảm enzym gan GPT và bilirubin huyết thanh tương ứng là 27,5% và 19,4% so với đối chứng bệnh lý.

+ Chống oxy hoá, làm giảm hàm lượng MDA gan 21,2% so với đối chứng bệnh lý.

+ Ức chế quá trình xơ hoá gan, làm giảm hàm lượng collagen gan 26,5% so với đối chứng bệnh lý.

Tài liệu tham khảo

1).Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, 1998, 215-217; 2).Chang I.M., Liver-protective activities of aucubin derived from traditional oriental medicine. Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol., 102(2), 1998, 189-204; 3).Turner R.A., Screening methods in Pharmacology, Vol.1, Test for hepatotoxicity, 1965, 299-300; 4)Maros T., Lacatos. C., On the anticirrhotic effect of certain biologically active short-chain thioaminoacids. Arzneimittelforschung, 21(2), 1971, 257.

NGHIÊN CỨU TIÊU CHUẨN HÓA CAO KHÔ PANACRIN, NGUYÊN LIỆU BÀO CHẾ THUỐC PANACRIN ỨC CHẾ KHỐI U DỪNG TRONG HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Bích Thu, Phạm Kim Mãn - Viện Dược liệu
(Nhận bài ngày 30 tháng 6 năm 2004)

Summary

The extracts of Panacrin from Folium Carica papayer, Folium Crinum latifolium and Radix Panax notoginseng. The extracts of Panacrin have been standardized qualitatively by chromatogram and qualitatively by total content of extract in ethanol 50 % should be more than 80 %.
Key words : Panacrin extracts, standardization, chromatogram

1. Đặt vấn đề

Cao khô Panacrin được điều chế từ lá đu đủ tươi (*Carica papaya* L.), bột củ tam thất (*Panax notoginseng* Burk.), lá khô trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium* L.), là nguyên liệu để bào chế thuốc Panacrin ức chế khối u dùng trong hỗ trợ điều trị ung thư.

Để góp phần ổn định quy trình sản xuất Panacrin, chúng tôi nghiên cứu tiêu chuẩn hóa cao khô Panacrin, dạng bán thành phẩm trước khi bào chế thành thuốc.

Những nguyên liệu dùng để điều chế cao Panacrin phải đạt tiêu chuẩn quy định theo tiêu chuẩn cơ sở (lá đu đủ tươi, lá trinh nữ hoàng cung), và Dược Điển Việt Nam III (tam thất củ). Nguyên liệu được trộn theo tỉ lệ nhất định, chiết bằng ethanol 50%, cô áp suất giảm đến cao mềm, sấy chân không đến khô.

2. Khảo sát tính chất của cao

Cao khô có màu đen, ánh nâu, mùi thơm đặc biệt, vị đắng, hơi dính tay. Độ ẩm không cao hơn 10%. Hòa tan cao trong ethanol 50%, lượng cặn khô không thấp hơn 80%. Tro toàn phần không cao hơn 9%.

3. Nghiên cứu xác định sự có mặt của những nguyên liệu trong cao

a. Nghiên cứu định tính saponin của tam thất

- Phản ứng tạo bọt:

Lấy khoảng 250 mg cao, thêm vào 15ml ethanol 70% hoặc methanol 80%. Đun hồi lưu trên cách thủy 10 phút. Để nguội, lọc. Lấy 1ml dịch lọc pha loãng với nước thành 10ml, lắc mạnh trong 15 giây. Có bọt bền.

- Phản ứng tạo màu:

Dịch chiết để thử phản ứng tạo bọt đem cô cách thủy trong bát sứ đến khô. Nhỏ 1-2 giọt acid acetic băng và 1-2 giọt acid sulfuric đậm đặc sẽ xuất hiện màu đỏ, màu đỏ sẫm dần.

- Sắc ký lớp mỏng:

+ Bản mỏng SiO_2G hoạt hóa 105°C 1 giờ trước khi dùng.

+ Dung môi khai triển: CHCl_3 : DA : CH_3OH : H_2O (15 : 40 : 22 : 10). Lắc, gạn lấy lớp dưới.

+ Dung dịch thử: Lấy khoảng 250 mg cao, thêm 15 ml cồn 70%. Đun hồi lưu trên cách thủy sôi 10 phút. Để nguội, lọc. Cô dịch lọc đến gần khô. Hòa tan cặn bằng 10 ml nước. Thêm 10 ml n-BuOH bão hòa nước, lắc 10 phút để tách lớp (khoảng 2 giờ). Gạn lấy lớp n-BuOH. Rửa dịch n-BuOH bằng 30 ml bão hòa n-BuOH. Gạn lấy lớp n-BuOH, cô cách thủy đến cạn. Hòa tan cặn trong 1ml CH_3OH . Chấm 10 μl ở điểm a trên bản sắc ký.

+ Dung dịch đối chiếu: Lấy 1g bột tam thất, tiến hành như với dung dịch thử. Chấm 10 μl ở điểm b.

+ Tiến hành sắc ký từ dưới lên với hệ dung

môi đã chuẩn bị một khoảng từ 12 đến 14 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch thuốc thử H_2SO_4 10% trong C_2H_5OH . Sấy ở $120^\circ C$ cho đến khi xuất hiện rõ vết. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có màu sắc và có giá trị R_f giống các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

b. Nghiên cứu định tính alkaloid của lá đu đủ và trình nữ hoàng cung bằng SKLM.

- Bản mỏng SiO_2G hoạt hóa $105^\circ C$ 1 giờ trước khi dùng.

- Dung môi khai triển: $CHCl_3$: CH_3OH : NH_4OH 25% (50 : 9 : 1).

- Hiện vết bằng thuốc thử Munier.

- Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,25g cao Panacrin nghiền với 15 ml acid phosphoric 3% (TT), lọc. Rửa cối và giấy lọc bằng 5 ml acid trên. Gộp dịch lọc acid, kiểm hóa bằng amoni- ac 10% đến pH 10-11. Chiết dung dịch đã kiểm hóa bằng chloroform lần lượt 5ml, 10ml, 15 ml. Gạn lấy lớp chloroform, lọc qua natri sulfat khan. Dịch lọc cô đến khô. Hòa tan cần thu được bằng 1 ml hỗn hợp dung môi $CHCl_3$: CH_3OH (9 : 1). Chấm trên sắc ký 10 μl ở điểm a.

- Dung dịch đối chiếu : Lấy 3g lá đu đủ tươi (độ ẩm không dưới 70%) và 0,025g lá khô trình nữ hoàng cung (độ ẩm không cao hơn 10%). Thêm 3 ml amoniac đậm đặc. Chiết hồi lưu với 15 ml ethanol trong 1 giờ. Gạn dịch chiết, tráng bình và được liệu bằng 5 ml ethanol. Gộp dịch chiết lại, cô cần đến khô. Hòa cần bằng 10 ml acid phosphoric 3%. Lọc, tráng bình và giấy lọc bằng 10 ml acid phosphoric. Gộp dịch lọc acid lại và kiểm hóa bằng amoniac 10% đến pH 10-11. Chiết với chloroform lần lượt 15 ml, 10 ml, 5 ml. Gạn lấy lớp chloroform lọc qua natri sulfat khan. Cô đến cần khô. Hòa cần bằng 1 ml hỗn hợp dung môi $CHCl_3$: CH_3OH (9 : 1). Chấm 10 μl ở điểm b.

- Tiến hành sắc ký từ dưới lên khoảng 10 - 12

cm. Lấy kính để khô trong không khí. Phun thuốc thử Munier. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu giống nhau.

4. Định lượng các chất trong cao bằng ethanol 50%.

Cao Panacrin là sản phẩm chiết hỗn hợp nguyên liệu với ethanol 50%. Do vậy, chúng tôi tiến hành đánh giá chất lượng sản phẩm thông qua chất chiết được trong cao bằng ethanol 50%.

Cân chính xác khoảng 2,5 g cao, thêm 100 ml ethanol 50%. Cân. Lắp sinh hàn ngược đặt trên cách thủy sôi, thỉnh thoảng lắc cho tan hết. Để nguội, cân bỏ xung thêm ethanol 50% đến khối lượng ban đầu. Lắc đều, lọc lấy 50 ml vào bình đã biết khối lượng. Cô đến cần khô. Sấy ở $100^\circ C$ - $105^\circ C$ đến khối lượng không đổi. Hàm lượng các chất chiết được trong cao tính theo công thức:

$$X = \frac{a * 20000}{b * (100 - C)}$$

a : Khối lượng cần cân được.

b : Khối lượng cao đem thử.

c : Độ ẩm cao (%).

Hàm lượng các chất chiết được trong cao bằng ethanol 50 % không được thấp hơn 80 %.

5. Kết luận

Từ những khảo sát trên, chúng tôi quy định những tiêu chuẩn chất lượng của cao Panacrin làm cơ sở kiểm tra trong quá trình sản xuất bào chế được ổn định.

- Độ ẩm không quá 10 %.

- Tro toàn phần không quá 9 %.

- Chất tan trong ethanol 50 % không được thấp hơn 80 %.

- Cao phải có phản ứng dương tính của saponin tam thất và alkaloid của đu đủ và trình nữ hoàng cung theo quy định.

Tài liệu tham khảo :

1. Dược điển Việt Nam III. 2002. 462. PL 129, PL 142; 2. Võ Thị Bạch Huệ và CTV. Tạp chí Dược Học 1998 N6,12; 3. Võ Thị Bạch Huệ và CTV. Tạp chí Dược Học 1999 N4,9.

THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA TINH DẦU XUYÊN TIÊU Ở VIỆT NAM

Trần Huy Thái - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật
Nguyễn Kim Sơn - Viện Hóa học các Hợp chất tự nhiên
(Nhận bài ngày 26 tháng 2 năm 2004)

Summary

The chemical composition of zanthoxylum nitidum essential oil in vietnam.

Tran Huy Thai- Institute of Ecology and Bioresources

Nguyen Kim Son- Natural institute of product chemistry.

Zanthoxylum nitidum is a climbing or shrub, leaves alternate imparipinnate, leaflets opposite. Inflorescences unisexual. Seed black. This tree distributes in provinces such as: Lao cai, Hoabinh, Vinhphuc, Phutho, Caobang, Lángon, Nghean, Hatinh, Quangtri, Thua thien hue, Lamdong...The yield of essential oil from fruits was 0.35 percent by air-dry material. The essential oil was analysed by GC/MS. 27 constituents have been identified in which main constituents of Zanthoxylum nitidum essential oil were linalool L.(72,17%) and sabinen (11,24%).

Key words: Zanthoxylum nitidum, linalool L.(72,17%) , sabinen (11,24%).

1. Mở đầu

Chi Sên hay muông trướng, hoàng mộc (*Zanthoxylum* L.) có 20 loài ở các nước Đông Nam Á [8]. Ở Việt Nam, có 11 loài, trong đó nhiều loài chứa tinh dầu trong một số bộ phận của cây và thường được sử dụng làm thuốc [1,2,3]. Đã có một số công trình nghiên cứu về thành phần hoá học của tinh dầu một số loài trong chi như muông trướng (*Z. avicenniae*) và sên hôi (*Z.rhetsa*) [6,7]. Loài xuyên tiêu hay hoàng mộc, cây sung (*Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.) là cây bụi leo, phân bố ở Trung Quốc, Đài Loan, Triều Tiên, Việt Nam, Lào, Campuchia... Trong dân gian, người ta thường dùng lá, quả và rễ của xuyên tiêu để chữa một số bệnh như đầy hơi, thấp khớp, rắn cắn và quả còn được làm gia vị thay hạt tiêu [2,3]. Theo tài liệu "Từ điển cây thuốc Việt Nam", thành phần hoá học từ tinh dầu của cây này gồm các hợp chất: limonen (44%), geraniol (12%), linalol (6,8%) [2]. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày một số kết quả về tinh dầu và thành phần hoá học của tinh dầu từ quả của cây xuyên tiêu thu ở Mê Linh, Vĩnh Phúc.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là quả cây xuyên tiêu thu ở Ngọc Thanh, Mê Linh, Vĩnh Phúc vào tháng 4 năm 2003. Tiêu bản mẫu và việc giám định tên khoa học được thực hiện tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Hàm lượng tinh dầu được xác định bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước có hồi lưu trong thiết bị Clevenger; định tính và định lượng các thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp sắc ký khí- khối phổ (GC/MS) [6]. Tinh dầu được làm khan bằng Na_2SO_4 , để trong tủ lạnh ở nhiệt độ $< 5^\circ \text{C}$, + Thiết bị: GC-MSD: Sắc ký khí HP 6890 ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5973. Cột HP-5MS có kích thước 0,25 mm x 30m x 0,25mm và HP-1 có kích thước 0,25 mm x 30m x 0,32mm. Chương trình nhiệt độ với điều kiện 60°C (2 min) tăng nhiệt độ $4^\circ/\text{min}$ cho đến 220°C , sau đó lại tăng nhiệt độ $20^\circ/\text{min}$ cho đến 260°C . Khí mang He. Tra thư viện khối phổ: NIST 98.

3. Kết quả và thảo luận

3.1 Mô tả cây và phân bố.

Cây xuyên tiêu, hay hoàng mộc, cây sung (*Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.) là loại cây nhỏ leo, có gai, mọc thành bụi cao 1-3 m có thể đến

Bảng1: Thành phần hoá học của tinh dầu từ quả Xuyên tiêu (*Zanthoxylum nitidum*) thu tại Mê Linh, Vĩnh Phúc.

Stt	Hợp chất	Tỷ lệ (%)
1	Cis-3-hexenol	0,11
2	2-hexen-1-ol	0,20
3	α -thujen	0,08
4	α -pinen	0,54
5	Sabinen	11,24
6	β -pinen	0,49
7	β -myrcen	0,79
8	Octanal	0,17
9	α -terpinolen	0,24
10	Benzen 1-methyl -2- (1-methylolthyl)	0,41
11	β -phellerben	3,65
12	1,8 cineol	0,27
13	Cis-linalool ozid	0,18
14	Linalool L.	72,17
15	P-meth-2-en-1-ol	0,29
16	Citronellal	0,22
17	α -citronellol	0,11
18	Terpinen -4-ol	4,12
19	Methyl salicylat	0,28
20	Decanal	0,42
21	6-octen -1-ol, 3,7dimethyl	0,24
22	Piperiton	0,21
23	β -caryphyllen	0,21
24	1,6.10 dodecatrien-3-ol - 3,7,11-Trimethyl	0,14
25	Trans asaron	0,27
26	Naphthalen, decahydro 4a-methyl-1-methyl	0,20
27	Benzyl benzoat	0,11

10m. Lá kép lông chim lẻ, mọc so le dài 10-25 cm, có 2-3 đôi lá chét mọc đối, gốc tròn đầu nhọn, mép khía răng. Hoa mọc thành chùm. Quả có 1-5 ô đính quanh trục, mỗi ô 1 hạt. Mùa hoa vào tháng 3-4, mùa quả: tháng 5-6. Cây mọc phổ biến ở ven rừng, núi đất và núi đá thuộc các tỉnh như Lào Cai, Hoà Bình, Vĩnh Phúc, Phú Thọ, Cao Bằng, Lạng Sơn,

Tài liệu tham khảo chính:

1) Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam. Nhà xuất bản. Montréal 1992; quyển 2; tập1; trang 512; 2) Võ Văn Chi. Cây thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản. KH&KT 1990; trang1355-1356; 3) Nguyễn Tiến Bán. Danh lục thực vật Việt Nam. Tập 2. Nhà xuất bản. Nông nghiệp 2003; trang 985; 4) Trần Huy Thái, Trần Minh Hợi, Nguyễn Quang Hưng, Đỗ Thị Minh. Nguồn thực vật có tinh dầu tại vùng trung du Vĩnh phúc. vấn đề khai thác và sử dụng bền vững. Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong Khoa học sự sống. Huế 7/2003. Nhà xuất bản KH&KT. trang 725-729.; 5) Lê Đình Mỗi, Trần Huy Thái: Chi Hoàng mộc (*Zanthoxylum* L.). Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam. Tập 2. Nhà xuất bản. Nông nghiệp 2002; trang 141-158; 6) Nguyễn Quang Hưng, Trần Huy Thái, Trần Minh Hợi, Lưu Đàm Cư, Nguyễn Xuân Dũng, Laurent Severac: Thành phần hoá học của tinh dầu Muồng trưởng ở Việt Nam. Tạp chí Dược liệu; số 2/2002; tập 7; trang 44-46; 7) Trần Huy Thái, Trần Minh Hợi, Vũ Thị My, Nguyễn Quang Hưng. Thành phần hoá học của tinh dầu Sên hôi (*Zanthoxylum rhetsa*) ở Việt Nam. Tạp chí Dược học. Sẽ đăng trong quý 2 năm 2004; 8) J.L.C.H van Valkenburg and N. Bunyapraphatsara. Plant Resources of South- East Asia. Backhuys Publishers, Leiden 2001; p.594-599.

Ngệ An, Hà Tĩnh, Quảng Trị, Thừa Thiên - Huế, Lâm Đồng...

3.2. Hàm lượng và thành phần hoá học của tinh dầu.

Hàm lượng tinh dầu từ quả xuyên tiêu đạt 0,35% theo nguyên liệu khô không khí. Tinh dầu là chất lỏng màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước và có mùi thơm nhẹ. Bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ GC/MS, chúng tôi đã xác định được 27 hợp chất trong tinh dầu. Thành phần hoá học của tinh dầu xuyên tiêu được trình bày ở bảng 1.

Như vậy, 27 hợp chất trong tinh dầu xuyên tiêu đã được xác định. Thành phần hoá học chính của tinh dầu quả xuyên tiêu gồm các hợp chất: linalool L (72,17%) và sabinen (11,24%).

Trong khi đó, thành phần hoá học chính của tinh dầu lá muồng trưởng là các hợp chất: α -pinen (7,5%), 1-octanol (10,3%), linalool (13,0%), caryophyllen oxyd (7,6%), 12-ocabicyclo (9.1.0) dodeca-3,7-dien (9,4%) [6].

Còn thành phần hoá học của tinh dầu quả sên hôi là benzen,1-methoxy-4(1-propenyl) (48,96%), benzaldehyd-4-methoxy (11,47%), 1-butanon,1-(4-hydroxyphenyl) (6,07%) và benzenemethanol, α -ethyl-4-methoxy (5,16%) [7].

4. Kết luận

- Hàm lượng tinh dầu quả xuyên tiêu đạt 0,35% theo nguyên liệu khô không khí.

- Đã xác định 27 hợp chất trong tinh dầu quả xuyên tiêu, trong đó, thành phần chính của tinh dầu là hợp chất linalool L (72,17%) và sabinen (11,24%).

TÁC DỤNG CHỮA BỆNH CỦA TINH DẦU

Đỗ Huy Bích

Tinh dầu được mệnh danh là “vàng nước”, được chiết từ cây cỏ và động vật và được sử dụng từ lâu làm hương liệu, mỹ phẩm, thực phẩm và dược phẩm. Sau đây là một số tinh dầu vừa có tác dụng làm thuốc tốt, vừa là mặt hàng có giá trị xuất khẩu cao.

- **Tinh dầu bạch đàn** là một thành phần của các thuốc diệt khuẩn và tẩy uế. Nếu các chế phẩm này có thêm một lượng nhỏ tinh dầu bạch đàn chanh sẽ trở nên dễ chịu hơn. Vài giọt tinh dầu bạch đàn cùng với ít menthol trong cốc nước sôi, rồi xông hít để chữa viêm mũi, viêm họng, viêm phế quản. Tinh dầu bạch đàn dùng bôi và xoa ngoài như tinh dầu trầm trong bệnh cảm mạo, đau nhức, tê thấp, ho tức ngực; pha với dầu lạc trung tính với tỷ lệ 5, 10 hay 20% làm thuốc nhỏ mũi chống cúm.

Tinh dầu bạch đàn xanh (khuynh diệp) có trong thành phần của dầu Cừ Long cùng với tinh dầu hương nhu và bạc hà, trong cao Sao vàng với tinh dầu long não, đinh hương và menthol. Tinh dầu bạch đàn xanh tinh chế được dùng chế thuốc tiêm hoặc pha sirô chữa ho.

Tinh dầu bạch đàn chanh cùng với đường và tá dược làm kẹo ngậm chống viêm họng, chứng hôi miệng.

Theo tài liệu nước ngoài, tinh dầu bạch đàn xanh được dùng làm thuốc giảm sốt, tẩy giun và kháng khuẩn. Tinh dầu bạch đàn lá nhỏ có tác dụng gây tê nhẹ, sát khuẩn (dùng ngoài); kích thích, giảm ho (dùng trong).

- **Tinh dầu trầm** có tỷ lệ 2,5 phần nghìn trong lá trầm, thể trong suốt, không màu hoặc vàng nhạt, mùi đặc biệt mạnh như long não. Hương thơm lá trầm tiết ra (chính là tinh dầu bốc hơi) làm cho không khí môi trường vùng ngập mặn

trở nên trong lành, nên đi trong rừng trầm ta cảm thấy nhẹ nhàng, sáng khoái. Tinh dầu cất từ lá trầm dùng xoa bóp ngoài cho nóng chữa đau khớp, chân tay nhức mỏi. Tinh dầu trầm pha trong dầu thầu dầu với tỷ lệ 5-10% dùng nhỏ mũi để sát khuẩn chống cúm. Xí nghiệp liên hợp dược tỉnh Thừa Thiên - Huế đã dùng tinh dầu trầm phối hợp với tinh dầu bạc hà và đường bào chế dạng kẹo ngậm lấy tên là Diệp hà để chữa ho, viêm họng, khản tiếng rất tốt.

Từ năm 1981, Học viện quân y đã dùng tinh dầu trầm nguyên chất và tinh dầu trầm 20% pha trong dầu lạc và riêng hoạt chất cineol để chữa bỏng. Kết quả là da bỏng hoại tử se lại, giảm nề, hiện tượng nhiễm khuẩn mù bị hạn chế, quá trình tái tạo tổ chức tế bào phát triển mạnh, vết thương chóng lành và lên sẹo tốt hơn.

- **Tinh dầu sả** được dùng uống dưới dạng giọt, mỗi lần 3-6 giọt pha trong sirô và nước thành nhũ tương có tác dụng chữa đầy bụng, đau bụng, thông trung tiện và chống nôn. Ở một số nước châu Âu, nước sả có đường là một loại đồ uống giải khát được nhiều người ưa thích.

Tinh dầu sả phối hợp với nhiều loại tinh dầu khác dùng xoa bóp làm giảm đau xương, đau mình, chữa tê thấp. Bôi trên da hay phun trong nhà, dầu sả có tác dụng đuổi muỗi và các loại côn trùng khác như đỉn, ruồi vàng, bọ chét.

- **Tinh dầu giun** là thành phần được dùng làm thuốc của cây dâu giun, đạt tỷ lệ 0,35% (cắt từ cả cây), 0,65-1% (cắt từ hạt). Tinh dầu giun có mùi hắc, vị nóng đắng, màu vàng nhạt, chứa 50-60% ascaridol là hoạt chất quyết định phẩm chất và tác dụng trị giun.

Tinh dầu giun đặc trị tẩy giun đũa, không có tác dụng trên giun kim và sán. Người lớn: mỗi

ngày uống 30-50 giọt tinh dầu chia làm 2-3 lần vào buổi sáng lúc đói. Hai giờ sau, uống một liều thuốc tẩy muối magiê sulfat hoặc natri sulfat. Hoặc pha trong 30ml dầu thầu dầu, uống làm một lần. Vì rất khó uống, nên thuốc được đóng trong viên nang gelatin, mỗi viên chứa 15 giọt tinh dầu giun. Ngày uống 3 viên, sau đó cũng dùng thuốc tẩy muối. Trẻ em dưới 10 tuổi không được dùng tinh dầu giun.

Viên Sốt rét, Ký sinh trùng và Côn trùng đã dùng tinh dầu giun để tẩy giun mổ và giun móc thấy kết quả tốt. Dạng dùng là viên nang gelatin chứa 0,15-0,30ml tinh dầu. Ngày uống một liều vào buổi sáng lúc đói, chia làm 3 lần cách nhau 15 phút, mỗi lần 1 viên. Sau đó, dùng 30g thuốc tẩy. Tỷ lệ ra giun đạt 94,5%, sạch trứng đạt 55,6%. So sánh với Didaken (thuốc giun tổng hợp), tinh dầu giun có tác dụng tốt hơn. Thuốc có độc, dùng phải thận trọng, khó uống, có thể thấy chóng mặt, nằm nghỉ là khỏi. Người cao tuổi, người bị viêm loét đường tiêu hóa, bệnh gan thận, người tạng nhỏ yếu, phụ nữ có thai, đang cho con bú hoặc đang có kinh nguyệt không được dùng.

- **Tinh dầu chanh** thu được bằng phương pháp cất kéo hơi nước, thường có mùi hôi, phải xử lý mới sử dụng được. Trái lại, tinh dầu ép từ vỏ quả chanh tươi có màu vàng nhạt, mùi thơm đặc trưng của chanh (do chất citral và citronellal tạo thành). Tinh dầu chanh chứa d-limonen, d-pinen, camphen, linalol, terpinen, terpineol, phellandren, citral, citronellal. Hàm lượng citral phải chiếm ít nhất 3% mới bảo đảm là tinh dầu được dùng. Tinh dầu này kích thích nhẹ đường tiêu hóa, tăng cường nhu động ruột, đẩy mạnh sự phân tiết dịch tiêu hóa, giúp bài hơi và có tác dụng khử đờm.

Công nghiệp dược phẩm dùng rộng rãi tinh dầu chanh làm chất thơm cho các dạng thuốc phiến, thuốc bột hay thuốc ngậm. Ngành thực phẩm dùng tinh dầu chanh để sản xuất rượu mùi, bánh kẹo. Một số loại xà phòng thơm, dầu gội đầu, kem đánh răng đều chứa tinh dầu chanh.

Theo tài liệu nước ngoài, các nhà khoa học Nhật Bản chuyên nghiên cứu tác dụng của hương liệu đến hiệu quả công tác, thấy rằng tinh dầu chanh có tác dụng kích thích thần kinh, gây hưng phấn, sáng khoái. Mùi thơm của tinh dầu chanh làm giảm tỷ lệ sai sót trong đánh máy chữ đến 54%. Hỗn hợp của tinh dầu chanh và tinh dầu bạc hà được phun dưới dạng hơi trong văn phòng làm việc, ở hội trường hợp làm cho con người làm việc tập trung hơn. Theo phương pháp chữa bệnh độc đáo của y học truyền thống Ấn Độ gọi là Ayurveda, dung dịch chế từ tinh dầu chanh (1 phần) với nước (10 phần) dùng xoa bóp lên da hoặc dùng tinh dầu chanh làm chất phụ gia cho vào bồn nước tắm để chữa chứng hay hoảng hốt, sợ hãi, những cơn ác mộng, chứng trầm uất.

- **Tinh dầu thông** cất từ nhựa thông được dùng để chữa ghẻ lở. Tác dụng này chủ yếu do tính chất sát khuẩn, làm săn da, sạch mủ của tinh dầu thông. Không riêng gì ghẻ lở, tinh dầu thông còn có hiệu quả với nhiều bệnh ngoài da khác (những người khai thác nhựa thông thường ít bị bệnh ngoài da do ảnh hưởng của hơi tinh dầu bốc lên từ nhựa).

Tinh dầu thông chỉ được bôi một lớp thật mỏng để tránh bị kích ứng mạnh gây phỏng da, mưng loét. Có thể dùng thẳng nhựa thông vì tính chất kích ứng của nhựa kém hơn 4 lần so với tinh dầu. Tinh dầu thông còn có tác dụng chữa ngộ độc phosphor; phối hợp với cồn long não, methyl salicylat làm thuốc xoa bóp trị đau nhức.

SÁCH VÀ TẠP CHÍ NGOẠI VĂN MỚI ĐƯỢC NHẬP DO TRUNG TÂM THÔNG TIN – THƯ VIỆN VIỆN DƯỢC LIỆU

A. Tạp chí: năm 2004

- 1 - *Planta medica*
- 2 - *Journal of Chinese materia medica*
- 3 - *Chinese traditional and herbal drugs*
- 4 - *Indian Drug*
- 5 - *Journal of ethnopharmacology*
- 6 - *Fitotherapia*
- 7 - *Phytochemical Analysis*
- 8 - *Phytotherapy Research*
- 9 - *Journal of Tropical Medicinal Plants*
- 10 - *Journal of Natural Products*
- 11 - *Phytochemistry*

B. Sách

- 1 - WHO monographs on selected medicinal plants. Switzerland.: World Health Organization, 1999. 357tr. 24cm. Vol II
- 2 - *Handbook Medicinal Herbs* / Duke, Bogenschutz – Godwin, duCellier, Duke. USA.: CRC Press, 2002. 870tr. 26cm
- 3 - *Major Herbs of Ayurveda* / Williamson, Dabur Research Foundation, Dabur Ayurved Limited. UK.: Churchill Livingstone, 2002. 360tr. 25cm
- 4 - *The pharmacology of Chinese herbs* / Kee Chang Huang. USA.: CRC Press, 1999. 512 tr. 26cm.
- 5 - *Handbook of laboratory Animal Science*/ Jann Hau and Gerald L. Van Hoosier. USA.: CRC Press, 2003. 26 cm. 2T
TI : *Essential Principles and Practices.* 2003. 556tr
TII: *Animal Models.* 2003. 269tr
- 6 - *The Psychopharmacology of Herbal medicine: Plant Drugs That Alter Mind, Brain, and Behavior*/ Marcello Spinella. UK.: The Mit Press, 2001. 578tr. 23cm.

7 - *Essentials of pathophysiology for pharmacy* / Martin M. Zdanowicz. USA.: CRC Press, 2003. 228tr. 24cm. (CRC Press pharmacy education series)

8 - *Pharmacopoeia and Related Literature in Britain and America, 1618 – 1847* / David L. Cowen. {USA}.: Ashgate variorum, 2001. 296tr. 23cm (Variorum Collected Studies Series)

9 - *Tyler's herbs of choice: The therapeutic use of phytomedicinals* / James E. Robbers, Varro E. Tyler. Haworth herbal Press, 1999. 287 tr. 23 cm.

10 - *A pompeian herbal: Ancient and Modern Medicinal plants* / Wilhelmina Feemster Jashemski; plant portraits by Victoria I and Lillian Nicholson Meyer; photographs by Stanley A. Jashemski and other. University of Texas press, Austin, 1999. 107 tr. 25 cm.

11 - *Herbal therapy, medicinal plants, and natural products : An IPA compilation* / American society of health. System pharmacists, 1999. 167 tr. 29 cm.

12 - *The cross name Index to Medicinal plants* / Anthony R. Torkelson. CRC Press. 4T. 29 cm.

Vol.IV : *Plants in Indian Medicine A-Z*. 1999. 555 tr.

13 - *Herbalism: The healing power of plants* / Frank J. Lipp. London, 2000. 184 tr. 29 cm.

14 - *Biotechnology in agriculture and forestry 43: medicinal and aromatic plants XI*/ Y.P.S. Bajaj. Springer –Verlag Berlin Heidelberg New York, 1999. 420 tr. 24 cm

15 - *Dictionary of Natural Products*. UK.: Chapman & Hall, 1994. 30cm. 11 T

16 - *Advances in Chemical Physics, Volume 116*

17 - *Advances in Phytochemistry*

- 18 - Biological Monitoring: An Introduction
- 19 - Brain Evolution and Cognition
- 20 - Capillary Electrophoresis Methods for Pharmaceutical Analysis
- 21 - Cellular Aspects of HIV Infection
- 22 - Chemistry and the Living Organism, 6E, Study Guide
- 23 - Chemistry, SMV: CHEM Synchronized Multiple Visualizations of Chemistry Version 1.0: The Study of
- 24 - Extremophiles: Microbial Life in Extreme Environments
- 25 - General Chemistry, Study Guide: Principles and Structure
- 26 - General, Organic and Biochemistry with Student Study Guide/Solutions Manual
- 27 - Handbook for Estimating Physiochemical Properties of Organic Compounds
- 28 - How to Find Chemical Information: A Guide for Practicing Chemists, Educators and Students
- 29 - Image and Enterprise: The Photography of Adolphe Braun
- 30 - Laboratory Manual Selected Experiments Chem I 412 Tyler Community College
- 31 - Making The Antidepressant Decision, Revised Edition
- 32 - Organic Reactions
- 33 - Organic Reactions, Volume 58
- 34 - Patty's Toxicology Volume 3
- 35 - Patty's Toxicology, Cumulative Index, Volume 9
- 36 - Patty's Toxicology, Glycols and Glycol Ethers/Synthetic Polymers/Organic Sulfur Compounds/Organic
- 37 - Patty's Toxicology, Hydrocarbons / Organic Nitrogen Compounds - Vol.4
- 38 - Patty's Toxicology, Ketones / Alcohols / Esters / Epoxy Compounds/Organic Peroxides
- 39 - Patty's Toxicology, Tox Issues Related to Metals/Neurotoxicology and Radiation/Metals and
- 40 - Pharmacological Management of Neurological and Psychiatric Disorders
- 41 - Polymeric Multicomponent Materials: An Introduction
- 42 - Principles of Molecular Mechanics
- 43 - Sustainable Aquaculture
- 44 - The Biology of Mind: Origins and Structures of Mind, Brain, and Consciousness
- 45 - The Neurobiology of Taste and Smell, 2nd Edition
- 46 - The Psychopharmacology Sourcebook
- 47 - The Systematic Identification of Organic Compounds, 7E, Solutions Manual
- 48 - Biology 5ED
- 49 - General, Organic and Biochemistry with Student Study Guide/Solutions
- 50 - Improving Quality Through Planned Experimentation
- 51 - Introduction to Molecular Biology
- 52 - Life Science Animations
- 53 - Microbiology: A Human Perspective with Microbes In Motion 3 & OLC p
- 54 - Patterns and Experiments In Developmental Biology

Đơn vị, cá nhân nào quan tâm, xin liên hệ

Nguyễn Phương Thanh

Trung tâm Thông tin – Thư viện

Viện Dược Liệu – 3B Quang Trung - Hà Nội

ĐT : 9349758

hoặc E-mail : tttv-imm@hn.vnn.vn