

ĐỘNG VẬT LÀM THUỐC Ở VIỆT NAM

Nguyễn Tập, Nguyễn Duy Thuận - Viện Dược liệu.

Nguyễn Xuân Đăng, Nguyễn Văn Sáng, Lê Xuân Huệ, Trương Văn Lễ,

Nguyễn Kiêm Sơn, Nguyễn Quảng Trường - Viện Sinh thái & Tài nguyên Sinh vật.

Nguyễn Huy Yết - Phân Viện Hải dương học Hải Phòng.

(Nhận bài ngày 6 tháng 10 năm 2004)

Summary

There are 408 species of animals used in medicine identified in Vietnam. Of them 393 species in the wild; 152 species including in the Red Data Book Vietnam – Animals (2000), in the IUCN Red List, in the appendix of Decree N^o48/2002/NĐ-CP of the Vietnam Government and in the appendix of CITES – Guide to Plants and Animals in Trade. This work is considered as a comprehensive report on the collection of Medicinal Animals in Vietnam at the present.

Key words: The Animals used in Medicine of Vietnam.

I- Mở đầu

Dược liệu tự nhiên gồm cây cỏ, động vật và khoáng vật [17]. Thuốc có nguồn gốc từ động vật được sử dụng chủ yếu trong y học cổ truyền, điển hình là ở Trung Quốc, hiện có 485 loài, cung cấp hàng ngàn vị thuốc khác nhau [31]. Ở Việt Nam, những vị thuốc quý, có nguồn gốc từ động vật cũng được đề cập trong các sách thuốc cổ của Tuệ Tĩnh [33] và Hải Thượng Lãn Ông [32]. Vài thập kỷ gần đây, Đỗ Tất Lợi, 1999 [11], Đỗ Huy Bích, 1995 [1], Hoàng Xuân Vinh, 1998 [23] và Võ Văn Chi, 1998 [3]... đã liệt kê và bổ sung thêm nhiều loài động vật khác được sử dụng. Một số nghiên cứu về độc tố, thành phần hóa học và khả năng ứng dụng của chúng trong y học của động vật biển cũng đã được công bố bởi Nguyễn Thanh Bình, 1991; Lâm Ngọc Trâm, 1993; Cao Phương Dung, 1995; Lê Xuân Tú, 1999 và Phạm Quốc Long, 1999 và 2000... [4, 5, 6, 10, 12, 13, 14, 18, 19, 20, 21, 22].

Song, có thể khẳng định; hiện nay chưa có công trình nào đi sâu điều tra cụ thể về thành phần loài động vật làm thuốc và những vấn đề có liên quan trong toàn bộ hệ động vật ở Việt Nam. Đó cũng là lý do dẫn đến một trong những nội

dung nghiên cứu chủ yếu của đề tài cấp Nhà nước KC.10.07 (2001 – 2005) do Viện Dược liệu chủ trì và được tiến hành cùng với sự phối hợp của một số nhà động vật học chuyên nghiệp ở Viện Sinh thái – Tài nguyên Sinh vật và Phân Viện Hải dương học Hải Phòng. Qua điều tra thu thập, thống kê tất cả những loài động vật (có xương sống cũng như không xương sống, ở đất liền và ngoài biển) có công dụng làm thuốc và những thông tin về phân bố, nơi sống, hiện trạng của chúng ở Việt Nam.

II- Kết quả

2.1. Thành phần loài động vật làm thuốc ở Việt Nam và phân bố

Tổng hợp kết quả điều tra, thu thập đến cuối năm 2003 cho thấy ở Việt Nam, có 408 loài động vật được dùng làm thuốc, thuộc 22 lớp, 6 ngành (xem cụ thể ở bảng sau). Trong đó:

- Nhóm động vật không xương sống có 94 loài thuộc 17 lớp, 5 ngành.

- Nhóm động vật có xương sống có 314 loài, 5 lớp và chỉ thuộc 1 ngành (động vật có dây sống).

- Tất cả 408 loài đều đã được xác định tên khoa học đến loài, sắp xếp theo từng ngành, lớp, bộ và họ động vật. Trong đó, từng loài đều có các thông tin cơ bản về tên khoa học, đồng danh, tên thông dụng và tên gọi khác theo tiếng địa phương, nơi sống, phân bố bộ phận dùng, công dụng, tình trạng bị đánh bắt, cấp phân hạng về tình trạng bị đe dọa trong Sách Đỏ Việt Nam – phần Động vật (2000), trong Danh lục Đỏ Thế giới của IUCN (2000), trong Danh mục của Nghị định số 48/2002/NĐ-CP của Chính phủ Việt Nam và danh mục CITES (1) thế giới (1994) [27, 28, 29, 30].

- Có 393 loài sống hoang dã trong tự nhiên, trong đó kể cả hơn 20 loài được bắt về nuôi nhốt, như hươu sao, gấu, ba ba, cá sấu, trăn, nhím, một số loài rắn và chim... Chỉ có 14 loài hoàn toàn là vật nuôi như chó, mèo, trâu, bò, lợn, gà, vịt, ngựa, dê, bò cày...

Xét về môi trường sống của 393 loài sống hoang dã thấy có 63 loài thuộc 16 lớp, 6 ngành sống ở môi trường nước biển mặn và nước lợ ở cửa sông; 330 loài thuộc 12 lớp, 4 ngành sống ở trong đất liền, thủy vực nước ngọt và đảo.

2.2. Bộ phận dùng và công dụng làm thuốc

Thông tin về bộ phận dùng và công dụng làm thuốc của động vật được thu thập từ các tài liệu đã công bố và qua điều tra phỏng vấn người dân các địa phương nơi khảo sát. Từ kinh nghiệm săn bắt và thực tế sử dụng của nhân dân, đã bổ sung thêm công dụng, mở rộng thành phần loài động vật được dùng làm thuốc. Ví dụ: vị thuốc “Xuyên sơn giáp” được lấy từ vảy của cả 2 loài tê tê (*Manis pentadactyla* và *M. javanica*); vị thuốc “Ngũ linh chi” trên thực tế được nhân dân thu thập từ phân của cả 4 loài sóc bay thuộc 3 chi khác nhau (*Belomys pearsoni*, *Hylomys alboniger*, *Petaurista elegans* và *P. petaurista*)... Thậm chí, ngay cả một số loài thú mới được khoa học xác định, nhưng từ lâu, người dân ở một số địa phương đã biết sử dụng làm thuốc như Sao la (*Pseudoryx nghetinhensis*) cho sừng chữa viêm xoang, tinh hoàn ngâm rượu uống có tác dụng tráng dương. Mang lớn (*Megamuntiacus vuquangensis*) cho thịt, nhưng, xương dùng bổ dưỡng, sừng cũng được nấu cao như sừng hươu, nai...

- Về bộ phận dùng làm thuốc: Nhìn chung,

đối với các loài động vật không có xương sống, có kích thước nhỏ, bộ phận dùng là cả con. Thuộc diện này, có số lượng rất ít các loài rắn, tắc kè, chim (bìm bịp)... Động vật có xương sống kích thước lớn có thể có một hay một vài bộ phận được sử dụng như xương, sừng, mai, da, mật, dạ dày, răng nanh, vuốt, thịt... hoặc các dư phẩm của chúng. Cách chế biến, bào chế thuốc động vật thường tùy theo loài hay bộ phận của chúng. Vì vậy, các vị thuốc từ động vật rất phong phú và đa dạng.

- Về công dụng làm thuốc: Trong y học cổ truyền, thuốc từ động vật đã được sử dụng rộng rãi để điều trị các chứng bệnh thông thường kể cả những bệnh khó. Trong thành phần của hệ động vật ở Việt Nam, nhiều loài động vật cung cấp các vị thuốc nổi tiếng như sừng tê giác, cao hổ cốt, nhung hươu – nai, mật gấu, xạ hương, cao ban long, cao khỉ, tắc kè, hải mã, mật kỳ đà và rắn độc...

Ngoài ra, tiềm năng làm thuốc từ các loài động vật không xương sống sống ở biển và còn trùng ở Việt Nam còn nhiều bí ẩn.

2.3. Vài nét về hiện trạng

Sự suy thoái của đa dạng sinh học ở Việt Nam hiện nay rất nghiêm trọng, nhất là giới động vật. Có thể nói, hầu hết các loài có giá trị kinh tế cao (trong đó có công dụng làm thuốc), đều nằm trong tình trạng có nguy cơ bị tuyệt chủng cao, như tê giác, hổ, bò xám, báo, hươu sao, gấu ngựa, cây hương... vì số cá thể còn sống sót của chúng trong tự nhiên rất ít.

Để có cơ sở đánh giá tổng quát về tình trạng bị đe dọa đối với các loài, chúng tôi tiến hành đối chiếu 393 loài động vật có công dụng làm thuốc kể trên với các tài liệu có tính bảo tồn như Sách Đỏ Việt Nam – phần Động vật (2000); Danh lục Đỏ toàn cầu của IUCN (2000); Danh sách các loài được quản lý trong Nghị định số 48 / 2002 / NĐ-CP của Chính phủ Việt Nam và trong CITES, và thấy trong số đó có:

- 152 loài có tên trong cả 4 tài liệu trên (chiếm tỷ lệ 38,67% so với 393 loài).

- 118 loài có tên trong Sách Đỏ Việt Nam – phần Động vật, 2000 (32,96% so với 358 loài

trong Sách Đỏ). Trong đó, theo khung phân hạng cũ của IUCN: thuộc cấp E: 35 loài; R: 17 loài; V: 50 loài và T: 16 loài (2).

- 71 loài có tên trong Danh lục Đỏ toàn cầu của IUCN, 2000. Trong đó, thuộc cấp CR: 11 loài; EN: 21 loài; VU: 24 loài; LR/nt: 12 loài và DD: 3 loài (3).

- 85 loài có tên trong Nghị định số 48/2002/NĐ-CP của Chính phủ Việt Nam. So với 107 loài và nhóm loài trong 2 Danh lục của Nghị định, chiếm 79,43%. Cụ thể nằm trong Danh lục

IB: 51 loài và IIB: 34 loài làm thuốc (4).

- 61 loài có tên trong Danh mục CITES – quản lý thương mại các loài Động – Thực vật bị nguy hiểm. Trong đó, nằm trong danh mục I: 25 loài; II: 34 loài và III: 2 loài (5).

Nhận xét chung:

- Về thành phần loài: Trong tổng số 408 loài động vật có công dụng làm thuốc, số loài tập trung nhiều nhất ở lớp Thú: 94 loài (23,03%), sau đến lớp Bò sát: 73 loài (17,89%), lớp Chim: 69 loài (16,91%) và lớp Cá: 65 loài (15,93%)...

Các ngành và lớp động vật có loài làm thuốc	Số loài làm thuốc					
	Trong các lớp	Sách Đỏ VN-ĐV (2000)	DL. Đỏ IUCN (2000)	Nghị định 48/2002/NĐ-CP	CITES	Có tên trong 3, 4, 5, 6
<i>I</i>	2	3	4	5	6	7
1- Ngành Ruột khoang – Coelenterata (4 loài làm thuốc)						
1. Lớp Sứa – Scyphozoa	2					
2. Lớp San hô - Anthozoa	2					
2- Ngành Giun đốt – Annelida (5 loài làm thuốc)						
3. Lớp Giun nhiều tơ - Polychaeta	1					
4. Lớp Giun ít tơ- Olygochacta	2					
5. Lớp Đũa – Hirudinea	1					
6. Lớp Sâu đất – Sipuneuloidea	1					
3- Ngành thân mềm – Mollusca (24 loài làm thuốc)						
7. Lớp Chân bụng – Gastropoda	9	1				1
8. Lớp Màng tấm – Lamellibranchia	13	3		1		3
9. Lớp Chân đầu – Cephalopoda	2					
4- Ngành Da gai – Echinodemata (4 loài làm thuốc)						
10. Lớp Sao biển – Asteroidea	1					
11. Lớp Hải miên – Holothuroidea	2					
12. Lớp Cầu gai – Echinoidea	1	1				1
5- Ngành chân đốt – Arthropoda (57 loài làm thuốc)						
13. Lớp Giáp cổ – Merostomata	1	1				1
14. Lớp Hình nhện – Arachnida	4					
15. Lớp Giáp xác – Crustacea	8	1				1
16. Lớp nhiều chân – Myriopoda	3					
17. Lớp Côn trùng –Insecta	41	2		1		2
6. Ngành Động vật có dây sống (xương sống) – Chordata (314 loài làm thuốc)						
18. Lớp Cá - Pisces	65	20		2		20
19. LớpẾch nhái – Amphibia	13	2	1	1		2
20. Lớp Bò sát – Reptilia	73	29	29	21	22	46
21. Lớp Chim – Aves	69	10	3	6	4	16
22. Lớp Thú – Mammalia	94	48	38	53	35	59
Tổng cộng	408	118	71	85	61	152

Nhóm động vật không có xương sống, chỉ có lớp Côn trùng có 41 loài làm thuốc (10,04%),... So với toàn bộ hệ động vật ở Việt Nam, số loài được dùng làm thuốc chỉ chiếm tỷ lệ thấp như lớp Thú: 41,96%; Bò sát: 28,29%; Chim: 8,33% và Côn trùng: 0,74%.

- Số loài có công dụng làm thuốc chiếm một tỷ lệ khá cao trong danh sách các loài động vật cần được bảo vệ trong Sách Đỏ Việt Nam [27], Nghị định của Chính phủ [29] và trong những tài liệu có tính toàn cầu [28, 30]. Tập trung nhiều nhất trong lớp Thú: 59 loài và Bò sát: 46 loài. Trong đó, những loài vốn cung cấp cho y học những vị thuốc quý hiếm đều ở tình trạng bị đe dọa tuyệt chủng cao ở Việt Nam hiện nay.

- Tuy nhiên, thực tế ở Việt Nam cho thấy chỉ có rất ít loài bị săn bắt với mục đích duy nhất để làm thuốc như tê giác, hổ, gấu, tắc kè, bìm bịp... Những loài khác bị suy giảm là do nạn săn bắt để đáp ứng cho nhu cầu ẩm thực phi lý mặc dầu các dư phẩm xương, gạc, mật, dạ dày, da... của chúng cũng được dùng để làm thuốc.

III- Kết luận và đề nghị

1. Đã xác định trong hệ động vật ở Việt Nam có 408 loài được dùng làm thuốc, thuộc 22 lớp và 6 ngành. Cùng với những thông tin đã thu thập được, đây là công trình điều tra nghiên cứu đầy đủ nhất về số loài động vật làm thuốc ở nước ta hiện nay.

2. Xét về tiềm năng và giá trị làm thuốc thì

động vật ở Việt Nam rất phong phú. Song, hiện còn một số nhóm thuộc động vật không có xương sống sống ở biển và côn trùng chưa được nghiên cứu nhiều.

3. Mặc dù vậy, trước tình hình suy thoái nghiêm trọng hiện nay, cách tốt nhất là hạn chế và không sử dụng động vật hoang dã để làm thuốc. Vì đã có nhiều loại thuốc khác có thể dùng thay thế và chỉ nên dùng làm thuốc từ nguồn vật nuôi sinh sản.

4. Bảo vệ động vật hoang dã nói chung, trong đó có các loài có giá trị làm thuốc nói riêng đang là vấn đề có tính quốc sách ở nước ta. Bên cạnh việc tăng cường công tác quản lý một cách triệt để, nhất thiết phải tuyên truyền rộng rãi chủ trương này trong mọi tầng lớp nhân dân.

Chú thích:

(1): CITES – Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora

(2): Cấp phân hạng cũ của IUCN: E- Đang bị nguy cấp; R- Hiếm; V- Sẽ bị nguy cấp và T- Bị đe dọa

(3): Cấp phân hạng của IUCN, 1994: CR- Cực kỳ bị nguy cấp; EN-Đang bị nguy cấp; VU- Sẽ bị nguy cấp; LR/nt- ít lo ngại và DD- Thiếu dẫn liệu đánh giá

(4): Nghị định 48/2002/NĐ-CP: Danh mục IB- Cấm tuyệt đối săn, sử dụng; IIB- Săn bắt, sử dụng hạn chế và phải có giấy phép

(5): CITES: Danh mục I- Cấm tuyệt đối thương mại; II-Thương mại có kiểm soát chặt chẽ và có giấy phép; III-Thương mại có giấy phép và xuất xứ

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích, 1995; Thuốc từ cây cỏ và động vật; NXB. Y học – Hà Nội, 648 trang; 2. Nguyễn Thanh Bình, Nguyễn Kim Chi & Nguyễn Tài Lương, 1999 ; Nghiên cứu tác dụng chống lão hóa của dịch chiết Hải sâm. Tuyển tập báo cáo KH, Hội nghị KHCN Biển lần thứ IV – Hà Nội, T.2 : 867 – 872; 3. Võ Văn Chi, 1998 ; Từ điển Động vật và Khoáng vật làm thuốc ở Việt Nam ; NXB. Y học – Hà Nội ; 436 trang; 4. Nguyễn Văn Cường, Nguyễn Kim Độ và msnk, 1999 ; Tách chiết và đánh giá các hoạt chất sinh học của Hải sâm (*Actinopyga mauritiana*) ; Tuyển tập báo cáo KH, Hội nghị KHCN Biển lần thứ IV – Hà Nội, T.2 : 873 – 877; 5. Cao Phương Dung, Lưu Thúy Hà, Nguyễn Quốc Khang, 1991 ; Kết quả bước đầu điều tra lectin Nhuyễn thể vùng biển Nha Trang ; Tạp chí Sinh học, số 10 : 37 – 39; 6.Cao Phương Dung, 1996 ; Kết quả chiết thô tecpenoid từ Hải miên biển Việt Nam ; Tạp chí Sinh học, số 18 (4) : 20 – 23; 7.Nguyễn Xuân Đăng, Nguyễn Văn Sáng, Lê Xuân Cảnh và mxnk, 2000 ; Nhận dạng động vật hoang dã bị buôn bán ; NXB. Nông nghiệp – Hà Nội, 94 trang; 8.Đặng Huy Huỳnh, Đào Văn Tiến, Cao Văn Sung, Đào Trọng ảnh, Hoàng Minh Khiên, 1994; Danh lục các loài thú (Mammalia) Việt Nam; NXB. KH&KT - Hà Nội; 168 trang; 9. Nguyễn Đăng Khôi, 1986 ; Rắn và công dụng ; NXB. KH&KT – Hà Nội; 47 trang; 10. Phạm Quốc Long, Hoàng Thanh Hương, Lê Mai Hương, 2000; Tiềm năng Y – Sinh học của hợp chất tự nhiên trong Sinh vật biển; Tuyển tập báo cáo KH Biển Đông 2000; trang: 527 – 537; 11. Đỗ Tất Lợi, 1999 ; Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam ; NXB.

KH&KT – Hà Nội, xuất bản lần thứ 7; 1274 trang; 12. Đỗ Tuyết Nga, Nguyễn Kim Đức, Luru Thị Hà, 1994; Thành phần hóa học chủ yếu của loài cá ngựa (Hippocampus kuda) ở vùng biển Nha Trang – Khánh Hòa ; Tuyển tập NC biển, T.4; 13. Đỗ Tuyết Nga, Lâm Ngọc Trâm, Cao Phương Dung và msnk, 1999 ; Nghiên cứu bước đầu về độc tố paralytic shellfish poisons (PSP) trong một số loài Hai mảnh vỏ (Bivalvia) vùng biển Nha Trang và Phan Thiết ; Tuyển tập Báo cáo KH – Hội nghị KH – CN biển, lần thứ IV – Hà Nội, T.2 : 883 – 889; 14. Nguyễn Hữu Phụng, Nguyễn Nhật Thi và msnk, 1994 ; Danh mục cá biển Việt Nam ; NXB. KH&KT – Hà Nội, T.1. 116 trang; 15. Võ Quý, 1981 ; Chim Việt Nam – Hình thái và phân loại, T.I, NXB. KH&KT – Hà Nội, 394 trang; 16. Nguyễn Văn Sáng và Hồ Thu Cúc, 1996; Danh lục Bò sát và ếch nhái Việt Nam; NXB. KH&KT – Hà Nội, 264 trang; 17. Nguyễn Tập, 2003; Tổng quan về nguồn dược liệu Việt Nam; Tuyển tập báo cáo Hội nghị Dược liệu toàn quốc lần thứ nhất – Hà Nội; Bộ Y tế; trang 57 – 62; 18. Lâm Ngọc Trâm, Nguyễn Kim Đức và msnk, 1991; Thành phần phospholipid và acid béo của Cầu gai (Echinoidea) vùng biển Nha Trang – Khánh Hòa; Tạp chí Sinh học, số 15 (4): 15 – 18; 19. Lâm Ngọc Trâm, Nguyễn Kim Hùng và msnk, 1991; Thành phần phospholipid và acid béo của San hô mềm (Alcyonacea) vùng biển Khánh Hòa; Tuyển tập NC biển, T.3: 217 – 227; 20. Lâm Ngọc Trâm, Nguyễn Kim Hùng và nnk, 1991; Thành phần phospholipid acid béo của Hải sâm (Holothuroidea) vùng biển Nha Trang; Tạp chí Sinh học, số 10: 57 – 64; 21. Lâm Ngọc Trâm (chủ biên) và msnk, 1999; Các hợp chất tự nhiên trong sinh vật biển Việt Nam; NXB. KH&KT – Hà Nội, 194 trang; 22. Lê Xuân Tú, Lê Quang Huân, Vũ Văn Hạnh, 1999; Độc tố của một số loài động vật biển và ứng dụng trong y học; Tuyển tập các báo cáo khoa học, Hội nghị KHCN biển, lần thứ IV – Hà Nội, T.2: 878 – 882; 23. Hoàng Xuân Vinh, 1988; Đời sống động vật làm thuốc; NXB. KH&KT – Hà Nội, 129 trang; 24. Mai Đình Yên, 1993 ; Định loại các loài cá nước ngọt ở các tỉnh phía bắc ; NXB. KH&KT – Hà Nội, 339 trang; 25. Mai Đình Yên, Nguyễn Văn Trọng và msnk, 1983; Định loại các loài cá nước ngọt Nam Bộ; NXB. KH&KT – Hà Nội, 351 trang; 26. Nguyễn Huy Yết, 1994; Thành phần loài và phân bố của Cua biển trên các rạn san hô vùng đảo Cát Bà (Hải Phòng) ; Tài nguyên – Môi trường biển ; NXB. KH&KT – Hà Nội; T.2: 141 – 144; 27. Bộ KHCN & MT, 2000; Sách Đỏ Việt Nam – phần Động vật; NXB. KH&KT – Hà Nội, 408 trang; 28. CITES – Guide to Plants and Animals in Trade ; Published by Department of the Environment, 1994; 29. Hội đồng Chính phủ, 2002; Nghị định số 48/2002/NĐ-CP (22/4/2002) kèm theo đính chính Danh mục các loài động – thực vật hoang dã được quản lý, trong công văn số 3399/ VPCP-NN (21/6/2002); 30. IUCN, 2000; IUCN Red List of threatened species; Gland, Swit. & Cambridge; 31. Viện nghiên cứu Trung y, Học viện Trung y Trường Xuân và Viện Nghiên cứu Trung dược tỉnh Tứ Xuyên, 1983; Trung Quốc Dược dụng Động vật chí, T.2; NXB. KH&KT – Thiên Tân, 571 trang (tiếng Trung Quốc); 32. Viện Đông y, 1995; Hải Thượng Lãn Ông – Y tông tâm lĩnh; NXB. Y học – Hà Nội; T.1 : 579 trang, T.2 : 587 trang, T.3 : 611 trang, T.4 : 621 trang; 33. Viện Đông y, 1996 ; Tuệ Tĩnh – Nam Dược thần hiệu ; NXB. Y học – Hà Nội ; 375 trang.

Tạp chí Dược liệu, tập 9, số 6/2004 (trang 169 - 174)

NGHIÊN CỨU TRỒNG THỬ NGHIỆM CÂY CHÈ ĐẮNG TRÊN ĐỊA BÀN TỈNH SƠN LA

Vương Tiến Sinh, Cầm Khương, Cầm Khiêm - Trường trung học Nông Lâm Sơn La.

Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thượng Dong, Đinh Thị Mai Hương - Viện Dược Liệu (Bộ Y tế).

Hoàng Quốc Lâm - Công ty Chè đắng Cao Bằng.

Nguyễn Thị Nhâm - Trung tâm nghiên cứu ứng dụng, sản xuất Lâm - Nông nghiệp Quảng Ninh.

Trần Văn Quang - Trại trường Nà Sản, Sơn La.

và CTV

(Nhận bài ngày 18 tháng 9 năm 2004)

Summary

Bitter tea, which has a bitter – sweet taste, is listed as valuable chinese medicine as early as the Yuan, Ming and Qing Dynasties for its beneficial effectes to heart, brain and stomach. The recent studies on bitter tea discovered it's new effects, such as antifatigue, antineurasthenic, antioxidant, antihypertension, hepatoprotective as well as tranquil effect. It's a truly rare and precious tea. Price per 100 g of bitter tea leaves, collected in the Wuzhi Shan Moutains of Hainan Islands and prepared in form of spines, roles or balls, is US\$ 8.

In Vietnam bitter tea leaves collected in Caobang are highly evaluated and bring rather high income to producers: 10 -30 millions VND/ha/year. That is why Sonla People's Committee and Department of Science & Technology decided to introduce bitter tea to Sonla province.

The results showed that bitter tea introduced from Caobang to Sonla developed in high mountainous regions (at an altitude of 1000 m) better than in low mountainous regions (at an altitudes of 500 - 600 m). Quality of the leaves collected from two years old plants in Sonla is as good as quality of bitter tea leaves in Caobang. Total content of saponoides, flavonoides, polyssaccharides and carotenoids is rather high:10,0 – 12,49%; 4,15 – 4,74%; 6,3 – 6,65% and 6,0 – 11,0 mg% respectively. These results suggested that the climatic, ecological conditions and soil in Sonla are suitable for development of bitter tea plant.

Keywords: Ilex Kaushue S.Y.Hu; Saponin, flavonoid, polysaccharid, carotenoid.

I. Đặt vấn đề

Chè đắng (Ilex kaushue S.Y.HU) không chỉ là một loại cây rừng được dùng làm nước uống truyền thống mà còn là một cây thuốc quý [7, 8, 9, 10]. Kết quả nghiên cứu gần đây cho thấy lá chè đắng có nhiều tác dụng dược lý quan trọng như chống mệt mỏi và suy nhược thần kinh, thanh nhiệt, giải độc, chống ô xy hoá, bảo vệ tế bào gan khỏi các tác dụng độc hại của hoá chất, hạn chế sự tiến triển của xơ gan [2, 5], hạ cholesterol và ổn định huyết áp [4]. Uống nước chè đắng hàng ngày làm giảm nguy cơ bị nhiễm độc cho những người làm việc trong môi trường độc hại của vùng mỏ khai thác kim loại, than và luyện quặng ...[1].

Về mặt kinh tế, theo thống kê của Trường trung học Nông Lâm Sơn La, chè đắng là loại cây có nguồn lợi kinh tế nhiều triển vọng ở các khu vực miền núi. Chi phí trồng chè đắng khoảng 7 triệu đồng/ha và sau khi trồng 3 năm, có thể thu hái lá. Thời gian thu hái kéo dài từ 50 đến 60 năm mà không phải chăm sóc nhiều. Số tiền lãi bán lá chè đắng là 10 - 30 triệu đồng/ha/năm. Như vậy, chè đắng có thể trở thành cây trọng yếu, góp phần xoá đói giảm nghèo cho đồng bào vùng núi cao. Ủy ban nhân

dân và Sở Khoa học - Công nghệ tỉnh Sơn La đã duyệt cho Trường trung học Nông - Lâm tỉnh thực hiện đề tài: “Trồng thử nghiệm và ứng dụng công nghệ sinh học để nhân giống cây chè đắng trên địa bàn tỉnh Sơn La” với kết quả cụ thể như sau:

II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

1- Vật liệu nghiên cứu:

Lá cây chè đắng 2 năm tuổi được lấy giống từ Cao Bằng và trồng tại 2 loại địa hình vùng núi cao và vùng núi thấp thuộc tỉnh Sơn La.

2. Phương pháp nghiên cứu:

- Trồng thử nghiệm theo quy trình trồng cây chè đắng của Trung tâm nghiên cứu ứng dụng và sản xuất lâm nông nghiệp Quảng Ninh.

- Trồng và theo dõi sinh trưởng của cây tại các vườn thử nghiệm:

Giống cây ban đầu đạt tiêu chuẩn cây giống được trồng ở 2 loại địa hình. Mô hình 1 đặc trưng cho vùng núi thấp là Trại trường Nà Sản và Trung tâm nghiên cứu và sản xuất lâm nghiệp Tây Bắc. Mô hình 2 đặc trưng cho vùng núi cao là Cò Mạ và Tà Sùa. Mật độ trồng:

3.300 cây/ha (khoảng cách 1,5 m x 2 m).

Theo dõi tình hình sinh trưởng và phát triển của cây chè đấng trong từng giai đoạn khác nhau, từ khi trồng đến khi có thể thu hái sản phẩm trong thời gian là 2 năm.

- Đánh giá chất lượng lá chè đấng bằng phương pháp định tính một số nhóm chất trong lá chè đấng bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM): [6]

Lớp mỏng được tráng sẵn của hãng Merck sản xuất.

Các hệ dung môi được dùng:

Ethyl acetat : acid formic : nước (8 : 1 : 1) để định tính flavonoid.

N- butanol : ethanol : amoniac (7 : 2 : 5) để định tính saponin.

Benzen : ethyl acetat (95 : 5) để định tính carotenoid.

Các thuốc thử hiện màu gồm hỗn hợp acid boric 10% - acid oxalic 10% (3:1); hơi amoniac đối với flavonoid và dung dịch H₂SO₄ 10% / EtOH; vanilin / H₃PO₄ - MeOH (1:1) đối với saponin.

- Xác định hàm lượng một số nhóm chất theo Dược điển Việt Nam III (3) như đối với hàm lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp cân [6] và hàm lượng carotenoid bằng quang phổ tử ngoại [3].

III. Kết quả nghiên cứu

1- Kết quả trồng thử nghiệm:

Vườn thử nghiệm: Diện tích trồng thử nghiệm 2,0 ha. Các vườn thử nghiệm được thiết kế đúng yêu cầu kỹ thuật, có hàng rào bảo vệ tránh gia súc phá hoại. Riêng vườn thử nghiệm của Trại trường Nà Sản được thiết kế có hàng rào bằng cọc bê tông và lưới dây thép gai, có đường ống dẫn nước và bể chứa nước tưới. Kết quả trồng và kết quả theo dõi cụ thể như sau :

* Mô hình 1: Trồng vườn thử nghiệm đặc trưng cho vùng núi thấp, độ cao tuyệt đối trung bình 500 - 600 m tại Trại trường Nà Sản.

Điểm 1: Vườn thí nghiệm Nà Sản 1 (VTN NS 1): Vị trí sườn đồi tương đối bằng phẳng,

xung quanh có tường rào che chắn gió. Diện tích: 0,2 ha, mật độ: 3.300 cây/ha, khoảng cách trồng: 1,5 x 2,0 m. Áp dụng phương pháp xử lý thực bì, làm đất cày ải toàn diện. Đào hố kích thước 0,4 x 0,4 x 0,4m, chế độ chăm sóc tốt, có bón lót bằng phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh 3 kg + 0,2 kg NPK + 0,2 kg phân lân / hố. Tưới nước vào thời gian quá khô, theo định kỳ 1 tuần tưới một lần. Xới cỏ vun gốc theo định kỳ 2 tháng một lần. Phun thuốc phòng và trị bệnh rệp, sâu ăn lá theo định kỳ và những khi phát hiện mầm bệnh. Vườn có tường hàng rào che chắn gió tốt. Đất feralit phát triển trên sa thạch tầng trung bình, thấm nước kém, độ phì trung bình. Tỷ lệ cây sống tương đối cao, tính đến thời điểm theo dõi đạt tỷ lệ sống 95% nhờ có đủ điều kiện che nắng, tưới ẩm trong thời gian bị khô hanh.

Điểm 2: Vườn thí nghiệm Nà Sản 2 (VTN NS 2): Vị trí bãi bằng chân đồi. Diện tích: 1,0 ha, mật độ trồng: 3.300 cây/ha, khoảng cách trồng: 1,5 x 2m. Áp dụng phương pháp xử lý thực bì, làm đất cày ải toàn diện. Đào hố trồng kích thước: 0,4 x 0,4 x 0,4 m, chế độ chăm sóc tốt, có bón lót bằng phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh: 1Kg+ 0,2Kg phân lân /hố, xới cỏ vun gốc theo định kỳ. Phun thuốc phòng và trị bệnh rệp, sâu ăn lá theo định kỳ và những khi phát hiện mầm bệnh. Kết hợp trồng cây nông nghiệp xen canh giữa các hàng cây (Cây họ đậu, lạc). Đất feralit phát triển trên sa thạch tầng trung bình, đất tương đối bí, chặt, khó thấm và khó thoát nước, thuộc vùng đồi thấp thoáng gió. Tỷ lệ cây trồng còn sống tính đến thời điểm theo dõi đạt 75%. Tỷ lệ cây sống thấp hơn điểm trồng 1 là do thời tiết quá khô, nóng trong thời gian từ tháng 10 đến tháng 11 không mưa, không đủ độ ẩm. Địa hình thoáng, gió thổi mạnh nên lá non rất dễ bị héo, mặt khác cây mới trồng nên bộ rễ chưa phát triển đầy đủ, đất bí chặt nên thấm nước kém.

* So sánh kết quả theo dõi một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây tại 2 điểm trồng thử nghiệm ở Trại trường Nà Sản (xem bảng 1).

Kết quả theo dõi cho thấy trong điều kiện có tưới ẩm, có vành đai chắn gió tốt, chế độ chăm sóc, phòng sâu bệnh kịp thời, nhưng không che bóng trong giai đoạn đầu, tốc độ sinh trưởng ở

Bảng 1: Chỉ tiêu sinh trưởng của cây chè đấng tại Trại trường Nhà Sản

Thời gian sau khi trồng (tháng)	Đường kính gốc cây (mm)		Chiều cao cây (cm)	
	VTNNS 1	VTNNS 2	VTNNS 1	VTNNS 2
Mới trồng	3,5	3,5	20,2	20,2
3	3,7	4,2	20,9	20,5
6	6,8	6,0	43,5	28,0
9	9,3	6,5	57,9	35,4
12	11,0	6,8	66,9	45,0
15	13,2	7,6	105,4	54,5

Bảng 2: So sánh kết quả theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng của cây ở mô hình 2

Thời gian sau khi trồng (tháng)	Đường kính gốc cây (mm)		Chiều cao cây (cm)	
	Cò Ma	Tà Sùa	Cò Ma	Tà Sùa
Mới trồng	3.5	3.5	20.2	20.2
3	4.0	4.0	25.0	25.0
6	6.8	7.2	44.6	48.5
9	8.1	7.6	56.0	52.0
12	10.2	8.5	67.3	54.6
15	11.2	9.1	86.2	66.5

Bảng 3: Hàm lượng của một số nhóm chất trong lá chè đấng Sơn La và chè đấng Cao Bằng

Stt	Mẫu lá	Hàm lượng của các nhóm chất trong lá (% so với khối lượng khô tuyệt đối)				
		Flavonoid	Saponin	Carotenoid (mg%)	Polysaccharid	Chất chiết được trong nước
1	Cò Ma	4,74	10,36	11,0	6,65	33,27
2	Nà Sản	4,15	10,00	9,1	6,52	36,28
3	Tà Sùa	4,17	12,49	6,0	6,3	31,44
4	Cao Bằng	3,86	10,18	9,0	8,05	33,33

mức độ khá nhanh, đặc biệt là chỉ tiêu về chiều cao, và đường kính gốc. Đặc điểm hình thái như búp ngắn, tốc độ ra lá với chu kỳ ra búp khoảng 3 tuần /1 lá, lá nhỏ nhưng dày hơn trồng trong vườn giống gốc có điều kiện che nắng 50%.

Trong điều kiện không che bóng, thoáng gió, lá non của cây chè đấng dễ bị héo, đặc biệt là búp non, nên ảnh hưởng nhiều đến tốc độ sinh trưởng. Do cây mới được trồng trong giai đoạn đầu, rễ cây chưa ổn định, nên kết quả sinh trưởng còn ở mức thấp. Trong thời gian có mưa, cây sinh trưởng tốt nhưng chậm lại khi thời tiết khô hanh (tháng 10 - 11). Cây trồng trong điều kiện này có đặc điểm hình thái như thân to, chiều cao thấp, lá nhỏ nhưng rất dày có màu xanh sáng, ít bị bệnh rệp lá hơn trong điều kiện che bóng và tưới ẩm cao.

* Mô hình 2: Trồng vườn thử nghiệm đặc trưng cho vùng núi cao >1.000 m.

Điểm 1: Tại Cò Ma, huyện Thuận Châu. Địa điểm vườn ở chân núi đá vôi, địa hình tương đối bằng phẳng, có cây rừng lớn xung quanh che chắn gió tốt. Diện tích trồng: 0,5 ha, khoảng cách trồng: 1,5 x 2m. Áp dụng phương pháp xử lý thực bì toàn diện. Đào hố trồng 0,4 x 0,4 x 0,4m, chế độ chăm sóc tốt, có bón phân, xới cỏ vun gốc, phun thuốc phòng trị sâu bệnh theo định kỳ. Độ ẩm không khí tương đối cao, nhiều ngày có sương mù. Đất feralit phát triển trên đá vôi, tầng đất dày, độ phì còn tương đối tốt.

Điểm 2: Tại Tà Sùa, huyện Bắc Yên.

Diện tích trồng: 0,2 ha, khoảng cách trồng: 1,5 x 2m, có bón phân và chế độ chăm sóc tốt

như rầy cỏ, vun gốc, phun thuốc phòng trị sâu bệnh theo định kỳ. Đất feralit phát triển trên đá vôi, tầng đất trung bình, thấm nước tốt (xem bảng 2).

Kết quả theo dõi cho thấy trong điều kiện ở vùng núi cao, có độ ẩm không khí và độ ẩm đất cao, đất còn tính chất đất rừng, cây chè đấng sinh trưởng nhanh, chu kỳ ra búp đạt bình quân 2 lần/tháng, búp dài, lá to. Sau khi hệ rễ phát triển ổn định, cây sẽ có tốc độ sinh trưởng nhanh hơn. Qua đó, có thể thấy cây chè đấng trồng ở vùng cao, đất phát triển trên đá vôi, đất có độ xốp cao thoáng không bí chặt, tương đối phù hợp.

Tại điểm trồng thử nghiệm ở Tà Sùa, có điều kiện tương tự như Cò Mạ, tốc độ sinh trưởng đạt mức khá. Do đó, cây chè đấng có thể thích nghi tốt.

2- Kết quả kiểm tra chất lượng lá chè đấng trồng tại Sơn La so sánh với lá chè đấng thu hái tại Cao Bằng

* Định tính flavonoid: Cân 2 g bột lá chè đấng, chiết flavonoid bằng methanol 80% trên bếp cách thủy 1 giờ. Lọc, bốc hơi dung môi trên cách thủy đến cạn. Hoà cần trong 10 ml nước. Chiết flavonoid từ dịch nước bằng cách lắc với ethyl acetat (10ml x 3 lần). Bốc hơi ethyl acetat. Hoà cần trong 1 ml methanol. Chấm 10-15 μ l trên lớp mỏng ở các điểm a, b, c, d. Triển khai sắc ký lớp mỏng với các hệ dung môi ethyl acetat : acid formic: nước (8 : 1 : 1). Sau khi phun thuốc thử hiện màu (hỗn hợp acid boric 10% - acid oxalic 10%) trên sắc ký đồ của các mẫu chè đấng có 1 vết có màu sắc phát quang ở bước sóng 366 nm tương tự như màu sắc của mẫu rutin đối chiếu. Kết quả cho thấy các mẫu lá chè đấng thu hái tại Cao Bằng và ở 3 điểm thí nghiệm ở Sơn La có thành phần flavonoid như nhau.

* Định tính saponin: Cân 2 g bột lá chè đấng của mỗi loại: Cao Bằng, Cò Mạ, Nà Sản, Tà Sùa. Loại dầu béo bằng ether dầu. Chiết saponin bằng ethanol 80% trên cách thủy trong 30 phút. Lọc, bốc hơi dung môi. Hoà cần trong 10 ml nước. Lắc dịch nước lần lượt với ether diethyl, ethyl acetat và butanol bão hoà nước. Bốc hơi butanol. Hoà cần trong 1 ml

methanol. Chấm 10 -15 μ l tại các điểm a, b, c,d. Triển khai sắc ký lớp mỏng với các hệ dung môi n- butanol : ethanol : amoniac (7 : 2 : 5) . Sau khi phun thuốc thử hiện màu (H₂SO₄ 10%/ EtOH) trên sắc ký đồ của saponin từ các mẫu lá chè đấng: Cao Bằng, Cò Mạ, Nà Sản, Tà Sùa đều có 6 vết có màu sắc đặc trưng của saponin. Như vậy, saponin của lá chè đấng Cao Bằng và lá chè đấng trồng tại Sơn La như nhau.

*Định tính carotenoid: Cân 2 g bột lá chè đấng vào bình cầu, thêm vào 20 ml ethanol 96. Đun hồi lưu trên bếp cách thủy trong 30 phút. Lọc, bốc hơi dung môi. Hoà cần trong 1 ml methanol. Chấm 10 - 15 μ l trên lớp mỏng tại điểm a. Chấm 10 μ l dịch chiết carotenoid của dầu gấc tại điểm b làm đối chiếu. Triển khai sắc ký lớp mỏng bằng các hệ dung môi benzen : ethyl acetat (95 : 5). Sau khi triển khai, quan sát lớp mỏng ở ánh sáng thường. Các vết carotenoid thường có màu vàng. Kết quả trên sắc ký đồ của các mẫu lá chè đấng có 1 vết có màu vàng, tương tự như màu của các vết của dầu gấc, với giá trị R_f = 0,82. Như vậy, các mẫu lá chè đấng trồng tại Sơn la có carotenoid như mẫu lá chè đấng Cao Bằng.

3. Xác định hàm lượng một số nhóm chất:

Bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng chúng tôi đã xác định trong lá chè đấng trồng tại Sơn La có các nhóm chất như saponin triterpen, flavonoid và carotenoid tương tự như lá chè đấng Cao Bằng. Đây là những nhóm chất có nhiều tác dụng sinh học quan trọng và từ lâu đã thu hút sự chú ý của các nhà nghiên cứu. Để sơ bộ xác định thành phần chính có tác dụng sinh học của lá chè đấng, chúng tôi đã tiến hành xác định hàm lượng tổng số của các nhóm chất đã phát hiện trên đây. Ngoài ra, chè đấng đang được sử dụng làm nước uống bằng cách hãm với nước sôi nên chúng tôi đã xác định hàm lượng các chất chiết được trong nước của các mẫu lá chè đấng Sơn La và Cao Bằng. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Kết quả trên cho thấy hàm lượng saponin toàn phần của lá chè đấng trồng tại Sơn La là 10 - 12,49%, cao hơn hàm lượng saponin trong lá chè đấng tại vườn gốc của công ty Chè đấng Cao Bằng: 10,18%. Trong đó, mẫu lá chè đấng

trồng tại Tà Sùa có hàm lượng saponin cao nhất, đạt 12,49%.

Hàm lượng flavonoid toàn phần trong các mẫu lá chè đắng Sơn La (4,15 - 4,74) cao hơn hàm lượng flavonoid trong lá chè đắng Cao Bằng (3,86).

Hàm lượng chất chiết được trong nước của lá chè đắng Sơn La tương tự lá chè đắng Cao Bằng.

Hàm lượng của hai nhóm chất carotenoid toàn phần và polysaccharid toàn phần trong lá chè đắng Sơn La thấp hơn lá chè đắng Cao Bằng nhưng không đáng kể.

Tóm lại, chất lượng lá chè đắng trồng tại 3 địa điểm thí nghiệm ở Sơn La (Cò Ma, Nà Sản, Tà Sùa) tương đương chất lượng lá chè đắng thu hái tại vườn gốc của Công ty chè đắng Cao Bằng.

IV. Kết luận

1. Kết quả bước đầu theo dõi quá trình sinh trưởng của cây chè đắng trồng thử nghiệm trên 2 vùng sinh thái cho thấy cây chè đắng sinh trưởng tốt trong điều kiện đất còn tương đối tốt, tơi xốp, đặc biệt có độ ẩm cao. Vùng núi cao,

nhiều sương mù, đất còn tính chất đất rừng, hoặc nơi có điều kiện chủ động nguồn nước tưới, có điều kiện chăm sóc tốt, có đủ phân bón (phân hữu cơ vi sinh) rất phù hợp với cây chè đắng. Trong điều kiện thời tiết quá khô hanh, thoáng gió, đất bí chặt, không có điều kiện tưới ẩm thường xuyên, cây sinh trưởng chậm, tỷ lệ sống thấp, chu kỳ nảy chồi kéo dài.

2. Đã phân tích, định tính các thành phần flavonoid, saponin và carotenoid của các mẫu lá chè đắng trồng tại Sơn La so sánh với lá chè đắng trồng tại vườn giống gốc ở Cao Bằng thấy chúng có thành phần hoá học và hàm lượng như:

- Saponin: 10,00 - 12,49%

- Flavonoid: 4,15 - 4,74 %

- Polysaccharid: 6,30 - 6,52%

- Carotenoid (tính theo β - caroten): 6 - 11 mg%

- Hàm lượng các chất chiết được trong nước: 31,44 - 36,28%

3. Chất lượng của lá chè đắng trồng tại Sơn La cũng tốt và có thể sử dụng như lá chè đắng Cao Bằng

Tài liệu tham khảo

1. 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;
2. Bùi Thị Bằng, Nông Đình Hai 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. Tác dụng chống viêm gan và ức chế xơ gan của chế phẩm chiết xuất từ lá chè đắng (*Ilex Kaushue* S. Y. Hu) thu hái tại Cao Bằng. Tạp chí Dược liệu số 5: 2004;
3. Dược điển Việt Nam III: 2000;
4. Nông Thị Nga. Nghiên cứu tác dụng hạ huyết áp và thay đổi hàm lượng cholesterol máu của dịch chiết lá cây chè đắng tại bệnh viện điều dưỡng và phục hồi chức năng tỉnh Thái Nguyên. Luận văn Thạc sỹ Y học. Thái Nguyên, 2003;
5. 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;
6. Nguyễn Viết Tựu, Nguyễn Văn Đán. Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc. Nxb. Y học, Hà Nội, 1985;
7. Ming-An Ouang et al. tritecpenoid glycosides from *Ilex kudinchia*. *Phytochemistry* 43(2), 1996, 443-445;
8. Ming-An Ouang et al. Tritecpenes and tritecpenoid glycosides from the leaves of *Ilex kudinchia*. *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. Subhuti Dharmananda. Ku Ding cha. <http://www.itmonline.org/arts/kudingcha.htm> (6/11/03).

1,3- DIHYDROXY, 4- METHYL ETHYL ETHER ANTHRAQUINON - MỘT ANTHRANOID TRONG RỄ CÂY NHỚ ĐÔNG

Nguyễn Duy Thuần - Viện Dược liệu.

Phạm Minh Hưng - Viện thông tin Thư viện Y học Trung Ương.

(Nhận bài ngày 8 tháng 7 năm 2004)

*1,3- dihydroxy, 4- methyl ethyl ether anthraquinon -
an anthranoid isolated from roots of Nhodong
(Mirinda longissima Y.Z. Ruen, Rubiaceae)*

Summary

Nho dong (Morinda longissima Y.Z. Ruan, Rubiaceae) is a valuable medicinal plant. The primary studies on the chemical composition showed that the roots, stems and leaves contain anthranoids, coumarins, carotenoids, free reduced sugars and organic acids.

By developing the prepared column chromatography (absorption: silica gel (Merck), developing material: total anthranoid dry extract, solvent system: cloroform/ methanol= 9/1), We collected fractions (each fraction contains about 5 ml of eluted solution in the numbered tubes) from tube 6 to tube 18 with 2 spots of anthranoid and developed the prepared thin layer chromatography (absorption: silicagel GF 254 (Merck), solvent system: cloroform/ ethylacetat= 9/1). An anthranoid (CP4) has been isolated. Its structure was elucidated on the basis of the spectral analyses. These analyses showed CP4 was 1,3- dihydroxy, 4- methyl ethyl ether anthraquinon . This is the first time the CP4 was found in Nho dong.

Keywords: Nho dong, *Morinda longissima*, CP4.

I. Đặt vấn đề

Nhớ đông (*Morinda longissima* Y.Z. Ruan, Rubiaceae), là một cây thuốc quý, được đồng bào dân tộc Thái, tỉnh Sơn La dùng làm thuốc từ lâu để chữa các bệnh về gan, viêm đại tràng và phù thũng. Cây thuốc này cũng được Bệnh viện Y học cổ truyền tỉnh Sơn La áp dụng vào điều trị từ những năm 90. Những phân tích định tính cho thấy thân, lá và rễ cây nhớ đông đều chứa anthranoid, coumarin, carotenoid, đường khử tự do và acid hữu cơ [1].

Triển khai sắc ký cột điều chế (chất hấp phụ là silica gel (Merk), chất triển khai là cao khô anthranoid toàn phần rễ cây nhớ đông, hệ dung môi triển khai là cloroform/ methanol= 9/1). Gộp các phân đoạn (mỗi phân đoạn chứa khoảng 5 ml dịch rửa giải trong ống nghiệm có đánh số thứ tự) từ ống số 6 đến ống số 18, có 2 vết đậm anthranoid (thử trên

SKLM), tiến hành sắc ký lớp mỏng điều chế (chất hấp phụ là silica gel GF 254 (Merk), hệ dung môi triển khai: cloroform/ethylacetat: 9/1), chúng tôi đã phân lập được một chất với ký hiệu là CP4. Các kết quả phân tích phổ cho phép kết luận CP4 là một anthranoid (1,3- dihydroxy, 4- methyl ethyl ether anthraquinon), một hợp chất tự nhiên được phát hiện lần đầu tiên trong cây nhớ đông. [7], [8].

II. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

Cao khô toàn phần thu được từ dịch chiết methanol rễ cây nhớ đông, thu hái ở xã Chiềng An, thị xã Sơn La, tỉnh Sơn La.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

2.2.1. Điều chế cao khô toàn phần rễ cây nhớ đông theo các phương pháp ghi trong tài liệu[3].

2.2.2. Phân lập các chất bằng sắc ký lớp mỏng điều chế theo phương pháp ghi trong tài liệu [3].

2.2.3. Xác định và biện giải phổ tử ngoại (UV), phổ hồng ngoại (IR), phổ khối (MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) theo các phương pháp ghi trong các tài liệu [2], [4], [5], [6].

III. Kết quả và bàn luận

3.1. Điều chế cao khô toàn phần rễ cây nhỏ đồng:

Lấy 500 g bột rễ cho vào bình cầu 2 lít, làm ẩm dược liệu bằng methanol, chiết hồi lưu bằng methanol, mỗi lần 700 ml, trong 4 lần. Gộp các dịch chiết, lọc đến khi trong. Cát thu hồi dung môi thu được cao đặc, cho bay hơi dung môi dưới áp suất giảm, được cao khô toàn phần.

Cao khô nhỏ đồng có màu nâu đậm, thể chất toí, chiếm 6,7% về khối lượng tính theo dược liệu khô và cho phản ứng rõ với các thuốc thử của anthranoid.

3.2. Phân lập CP4.

Lấy 1 g cao khô anthranoid toàn phần rễ cây nhỏ đồng, triển khai sắc ký cột với chất hấp phụ là silica gel (Merk) và hệ dung môi triển khai là clo-roform - methanol (9:1), hứng dịch rửa giải trong các ống nghiệm có đánh số thứ tự, mỗi ống nghiệm chứa khoảng 5 ml dịch rửa giải được coi là một phân đoạn. Gộp các phân đoạn trong các ống nghiệm từ số 6 đến số 18, tiến hành sắc ký lớp mỏng điều chế với chất hấp phụ là silica gel (Merk) và hệ dung môi triển khai là clo-roform/ethylacetat (9/1). Sau khi phản hấp phụ và kết tinh lại trong methanol, chúng tôi thu được một chất kết tinh màu vàng cam, ký hiệu là CP4.

3.3. Nhận dạng CP4.

3.3.1. Một số tính chất:

Tinh thể hình kim màu vàng cam, tan trong clo-roform, methanol, rất ít tan trong nước.

Nhiệt độ nóng chảy: 193- 195° C.

Năng suất quay cực: $[\alpha]_D^{20} = 6,1^\circ$ (C% = 0,164)

Cho phản ứng rất rõ với các thuốc thử của anthranoid.

3.3.2. Phân tích phổ của CP4

* Phổ MS (do trên máy 5989 B MS, dung môi CHCl_3).

Cho các pic có các số khối như sau:

- Pic ion phân tử $[M]^+ = 298$ m.u, kết hợp với phổ NMR cho biết công thức cộng của phân tử của CP4 là $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$

Các pic của các mảnh vỡ: $[M - \text{C}_2\text{H}_6\text{O}]^+ = 252$ m.u; $[M - \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2]^+ = 224$ m.u; $[M - \text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2]^+ = 196$; $[\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_3]^+ = 168$ m.u; $[\text{C}_7\text{H}_3\text{O}_7]^+ = 139$ m.u và $[\text{C}_4\text{H}_5]^+ = 55$ m.u

* Phổ NMR (do trên máy Bruker, tần số 500 MHz, dung môi CHCl_3) kết quả được trình bày ở bảng 3.1.

Phổ ^1H - NMR có các pic có δ trong khoảng 7,247 - 8,234 chứng tỏ trong phân tử có cấu trúc vòng thơm, các pic ở trong khoảng 1,343 - 4,934 chứng tỏ phân tử có các nhóm CH_2 và CH_3 .

Phổ ^{13}C - NMR và ^{13}C - NMR, DEPT cho biết phân tử có 17 nguyên tử carbon, trong đó có 1 nhóm CH_3 , 2 nhóm CH_2 , 5 nhóm CH và 9 carbon bậc 4 (trong đó có 2 nhóm $>\text{C} = \text{O}$); Mặt khác, các phổ này còn cho biết trong cấu trúc của CP4 có chứa mảnh cấu trúc - $\text{CH}_2\text{-CH}_3$. Như vậy so với công thức cộng còn dư 2 O và 2 H. Thành phần này ứng với 2 nhóm OH.

* Phổ tương tác dị nhân HMQC và HMBC: Kết quả được trình bày ở bảng 3.2.

* Phần mềm mô phỏng phổ cộng hưởng từ hạt nhân ACD/NMR DB (Ver. 6.12):

Từ kết quả phân tích các phổ MS và NMR thực nghiệm, chúng tôi đã xây dựng cấu trúc dự báo của CP4 như hình được đưa ra dưới đây. Để kiểm tra độ tin cậy của cấu trúc này, chúng tôi đã sử dụng phần mềm mô phỏng ACD/NMR DB (Ver. 6.12) để tính các số liệu phổ ^1H - NMR và ^{13}C - NMR lý thuyết. Kết quả được trình bày ở bảng 3.3.

3.1.2. Sự so sánh, chỉnh lý từ kết quả mô phỏng và kết quả thực nghiệm để xác định cấu trúc:

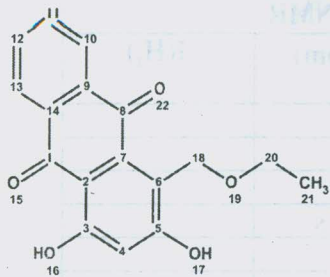
* Công thức phân tử của CP4 là $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$ (Cụm pic phân tử của phổ MS và phổ NMR).

Bảng 3.1: Số liệu phổ ^1H - NMR và ^{13}C - NMR

Stt	^{13}C - NMR			^1H - NMR		
	Ký hiệu (CH_n)	$\delta(\text{ppm})$	ghi chú	Ký hiệu (nH)	$\delta(\text{ppm})$	J(H ₂)
1	C(C-9)	182,096				
2	C(C-13)	114,621				
3	C(C-1)	109,509				
4	CH(C-2)	109,711		1H(CH)	7,247; s	
5	C(C-3)	161,763				
6	C(C-4)	164,099				
7	C(C-14)	133,895				
8	C(C-10)	186,756				
9	C(C-11)	133,490				
10	C(C-12)	133,451				
11	CH(C-8)	127,263		1H(CH)	8,234; dd	$J_{8,7}=7; J_{8,6}=5$
12	CH(C-7)	134,021	Vạch	1H(CH)	7,734; m	$J_{7,6}=J_{7,8}=7$
13	CH(C-6)	134,021	Chập	1H(CH)	7,753; m	$J_{6,7}=J_{6,5}=7$
14	CH(C-5)	126,629		1H(CH)	8,215; dd	$J_{5,6}=7; J_{5,7}=5$
15	$\text{CH}_2(\text{C-15})$	66,875		2H(CH_2)	4,934; s	
16	$\text{CH}_2(\text{C-16})$	67,568		2H(CH_2)	3,735; q	$J_{\text{CH}_3-\text{CH}_2}=7$
17	$\text{CH}_3(\text{C-17})$	14,919		3H(CH_3)	1,343; t	$J_{\text{CH}_3-\text{CH}_2}=7$
18				1H(OH)	9,605; s	
19				1H(OH)	13,22; s	

Bảng 3.2: Số liệu phổ HMQC và HMBC của CP4

Vị trí	HMQC	HMBC
1		$\text{C}_9-\text{H}_8(182,096\&8,234); \text{C}_9-\text{H}_2(192,096\&7,247)$
2		$\text{C}_{13}-\text{H}_2(114,621\&7,247); \text{C}_{13}-\text{H}_{15}(114,621\&4,934)$
3		$\text{C}_1-\text{H}_{18}(109,509\&9,605); \text{C}_1-\text{H}_2(109,509\&7,247)$
4	$\text{C}_2-\text{H}_2(109,711\&7,247)$	$\text{C}_2-\text{H}_{18}(109,711\&9,605); \text{C}_2-\text{H}_{15}(109,711\&4,934)$
5		$\text{C}_3-\text{H}_{18}(161,763\&9,605); \text{C}_3-\text{H}_{15}(161,763\&4,934)$
6		$\text{C}_4-\text{H}_2(164,009\&7,247); \text{C}_4-\text{H}_{15}(164,009\&4,934)$
7		$\text{C}_{14}-\text{H}_{15}(133,895\&4,934)$
8		$\text{C}_{10}-\text{H}_5(186,756\&8,215)$
9		$\text{C}_{11}-\text{H}_8(133,490\&8,234); \text{C}_{11}-\text{H}_5(133,490\&8,215); \text{C}_{11}-\text{H}_6(133,490\&7,753)$
10		$\text{C}_{12}-\text{H}_5(133,451\&8,215); \text{C}_{12}-\text{H}_8(133,451\&8,234); \text{C}_{12}-\text{H}_7(133,451\&7,734)$
11	$\text{C}_8-\text{H}_8(127,263\&8,234)$	$\text{C}_8-\text{H}_7(127,263\&7,734); \text{C}_8-\text{H}_6(127,263\&7,753)$
12	$\text{C}_7-\text{H}_7(134,021\&7,734)$	$\text{C}_7-\text{H}_5(134,021\&8,125); \text{C}_7-\text{H}_8(134,021\&8,234)$
13	$\text{C}_6-\text{H}_6(134,021\&7,753)$	$\text{C}_6-\text{H}_5(134,021\&8,125); \text{C}_6-\text{H}_8(134,021\&8,234)$
14	$\text{C}_5-\text{H}_5(126,629\&8,215)$	$\text{C}_5-\text{H}_7(126,629\&7,734); \text{C}_5-\text{H}_6(126,629\&7,753)$
15	$\text{C}_{15}-\text{H}_{15}(66,875\&4,934)$	$\text{C}_{15}-\text{H}_{16}(66,875\&3,735)$
16	$\text{C}_{16}-\text{H}_{16}(67,568\&3,735)$	$\text{C}_{16}-\text{H}_{15}(67,568\&4,934); \text{C}_{16}-\text{H}_{17}(67,568\&1,343)$
17	$\text{C}_{17}-\text{H}_{17}(14,919\&1,343)$	$\text{C}_{17}-\text{H}_{16}(14,919\&3,735)$



Carbon No	CHn	Chem Shifts	Conf. Limits
1	C	188.3	1.6
2	C	113.97	1.8
3	C	161.37	2.2
4	CH	108.63	2.7
5	C	169.66	4.8
6	C	113.46	4.3
7	C	131.14	2.9
8	C	182.94	0.4
9	C	137.63	...
10	CH	128.15	0.1
11	CH	133.95	0.1
12	CH	134.32	0.3
13	CH	126.78	0.6
14	C	133.41	1.2
18	CH ₂	65.29	2
20	CH ₂	67.15	1.5
21	CH ₃	14.6	0.5

Group	nH	Shift	Error
4	1	6.60	0.22
10	1	8.35	0.03
11	1	7.84	0.04
12	1	7.80	0.01
13	1	8.29	0.06
16	1	13.88	0.92
17	1	10.05	2.25
18	2	5.12	0.17
20	2	3.53	0.04
21	3	1.21	0.03

Bảng 3.4: Kết quả phổ IR của CP₄

Số liệu phổ IR (số sóng: cm ⁻¹)	
698,12 (Benzen thế 1 lần (δ C-H))	1399,37 (δ _s (CH ₃))
798,84 (Benzen thế meta (δ C-H))	1584,89 (V _{C=C} ; vòng thơm)
1028,56 (V _{as} (C-O - C))	1670,57 (V _{C=O} ; vòng 6 cạnh)
1096,95 (V _{as} (C-O - C))	2921,64 (V _{C-H} , nhân thơm)
1275,00 (V C-O)	3220,23 (OH phenol)

* Trong phân tử của CP₄ có:

- 1 nhóm CH₃ (C - 17).
- 2 nhóm CH₂ (C - 15 và C - 16).
- 5 nhóm CH (C - 2, C - 5, C - 6, C - 7 và C - 8).
- 2 nhóm OH phenol (đính vào C - 1 và C- 3).
- 2 nhóm > C = O (đính vào C - 9 và C - 10).
- Có một mảnh cấu trúc O - CH₂ - CH₃
- 9 carbon bậc 4 (C - 1, C - 3, C - 4, C - 9, C - 10, C - 11, C - 12, C - 13 và C - 14).

* Phổ UV (do trên máy GBC - 2855, trong methanol): Có các đỉnh hấp thụ cực đại ở λ_{max} = 244,9 nm; 279,8 nm; 313,5 nm và 418,1 nm.

* Phổ IR (trong KBr): Có các đỉnh hấp thụ cực đại ở các số sóng được trình bày ở bảng 3.4.

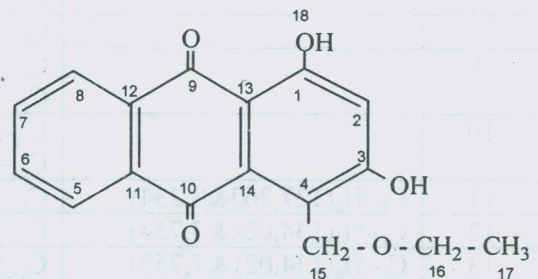
Các số liệu phổ UV và IR trên đây hoàn toàn

phù hợp với cấu trúc dự báo.

Từ những kết quả trên, chúng tôi khẳng định CP₄ có cấu trúc đúng như dự đoán với tên gọi theo danh pháp IUPAC là:

1,3- dihydroxy, 4 methyl ethyl ether anthraquinon

IV. Kết luận



Từ các phân đoạn 6 - 18 của sắc ký cột (chất hấp phụ là silica gel, hệ dung môi triển khai là clo- form: methanol (9/1), bằng sắc ký lớp mỏng điều

chế, chúng tôi đã thu được một chất ký hiệu là CP₄.

Các phân tích phổ UV, IR, MS, NMR, DEPT, HMQC và HMBC và phân mềm mô phỏng phổ cộng hưởng từ hạt nhân ACD/NMR (Ver.6.12) đã

cho biết CP₄ là một anthranoid có tên gọi theo danh pháp IUPAC là 1,3 - dihydroxy, 4- methyl ethyl ether anthraquinon. Đây là một chất tự nhiên, được phát hiện lần đầu tiên trong cây nhỏ đồng.

Tài liệu tham khảo

1. Ngô Văn Trại, Phạm Minh Hưng, Nguyễn Duy Thuần (2004), Nhó đồng (*Morinda longissima* Y.Z. Ruan, Rubiaceae) – Một loài cây thuốc mới của hệ thực vật Việt Nam, Tạp chí dược liệu, tập 9, số tháng 1/2004, trang 1 – 2; 2. Chu Đình Kính (1997), Các phương pháp phổ trong nghiên cứu hoá học, Bài giảng cho nghiên cứu sinh. Viện Hoá - Viện Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc Gia, Hà Nội; 3. Nguyễn Văn Đán, Nguyễn Viết Tựu (1985), Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc. Nhà Xuất bản Y học Hà Nội; 4. Trần Mạnh Bình (2000), Các phương pháp phân tích phổ – Biện giải phổ hồng ngoại, tử ngoại, khối phổ và phổ cộng hưởng từ hạt nhân các hợp chất hữu cơ. Tài liệu sau đại học, Trường đại học Dược Hà Nội; 5. Silverstein, Basslor (1981), Spectrometric identification of organic compounds. New York; 6. Kemeth B. Wiberg & Bernard J. Nist, W.A. Benlamin (1962), Interpretation of NMR Spectra. New York; 7. Martha Windholz, Susan Budavari et al (1983), The Merk index- An cyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, Tenth edition, Merk & Co., inc. Rahway. N.J.. USA; 8. Buckingham J., Macdonald F.M., Bradley H. M., et al (1994- 1998), Dictionary of Natural products, Vol I- XI, Chapman and Hall.

Tạp chí Dược liệu, tập 9, số 6/2004 (trang 179 - 182)

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU CÂY CỎ LÀO Ở NGHỆ AN VÀ HÀ TĨNH

*Lê Văn Học, Nguyễn Thị Thanh Hoài - Khoa Hoá ĐH Vinh
Nguyễn Xuân Dũng - Khoa Hoá ĐHKHTN, ĐHQG Hà Nội
(Nhận bài ngày 1 tháng 9 năm 2004)*

*Chemical composition of essential oil of *Eupatorium odoratum* L. from Nghean and Hatinh*

Summary

*The volatile oil of the aerial parts of *Eupatorium odoratum* (L.) from Nghean and Hatinh province has been studied by a combination of GC and GC/MS. More than 60 components were detected. About 40 ones have been indentified. The composition of two samples volatile oil are similar. The main components are geijerene, germacrene - D and a - pinene.*

1. Đặt vấn đề

Cỏ lào (*Eupatorium odoratum* L., *Chromolaena odorata* (L.) King & H.E, Robins.), thuộc họ Cúc (Asteraceae) còn gọi là cây cộng sản, bóp bóp, bù xích, yên bạch, chùm hôi, nhả nhạt, muồng mung phia, là một cây nhỏ, cao 1- 2 m, mọc thành bụi, phân nhiều cành nằm ngang. Thân tròn màu lục nhạt, có rãnh và lông nhỏ mịn. Lá mọc đối, hình gần tam giác, dài 6 – 9cm, rộng 2 – 4cm, gốc thuôn vát, đầu nhọn, mép có răng cưa to, vò ra có mùi hắc, hai mặt lá cùng màu có lông mịn, dày hơn ở mặt dưới, gân chính 3; cuống lá dài 1-

2cm. Cây phân bố ở nhiều vùng khác nhau trên thế giới nhất là các nước Đông Nam Á và Nam Á.

Ở Việt Nam, cỏ lào thường gặp ở nhiều nơi, bao gồm các tỉnh đồng bằng, trung du và vùng núi thấp. Cây ưa sáng, chịu được hạn và có thể sống được trên mọi loại đất, mọc tương đối tập trung trên những diện tích lớn ở đồi, nhất là đất nương rẫy đã bỏ hoang. Cỏ lào ra hoa kết quả nhiều, hàng năm. Với số lượng hạt giống nhiều, lại phát tán nhờ gió nên có khả năng chiếm lĩnh và mở rộng vùng phân bố cực nhanh [1].

Nhân dân ta thường dùng cỏ lào chữa tiêu chảy, kiết lỵ, đau nhức xương, ghẻ lở, phỏng và trị địa cần. Cỏ lào còn được dùng chữa bỏng và vết thương phân mêm.

Nhân dân các nước Campuchia, Haiti, Dominica, Bờ Biển Ngà, Nepal, Nigêria uống nước sắc lá cỏ lào để chữa ho, cảm lạnh, cúm, dùng lá để đắp chữa mụn nhọt và vết loét khó liền.

Về thành phần hóa học: Những hợp chất không bay hơi trong cỏ lào đã được phát hiện đều thuộc các nhóm chất flavonoid, terpenoid và alcaloid [2.3.4.5.6].

Tinh dầu cỏ lào đã được phân tích bằng GC/MS và thấy có 30 chất. Đó là các terpenoid, như trans-caryophylen (16,58%), d-cadinen (15,85%), α -copaen (11,58%), caryophylenoxid (9,63%), hợp chất chính của tinh dầu [7].

Theo tài liệu nước ngoài, tinh dầu cây cỏ lào ở Ấn Độ chứa các thành phần chính là α - pinen, limonen và cadinen; cỏ lào Nigeria: α - pinen (19,3%), cadinen (19,1%), (+) camphor (15,5%), limonen (10,2%), β -caryophylen (7,10%) và 1 đồng phân của cadinol (6,4%); cỏ lào Cameroon: α - pinen (14,3%) và muurolen (9,8%); cỏ lào Congo: p - cymen (22,2%) và thymyl acetat (15,8%); cỏ lào ở Shillong: caryophylen oxid (18,34%), caryophylen (10,17%), β - farnesen (8,02%).

Nguyễn Xuân Dũng và cộng sự [9], nghiên cứu thành phần hoá học tinh dầu cây cỏ lào ở Hà Nội cho thấy thành phần chính là geijeren (42,5%), β - cubeben (12,5%).

Nguyễn Thị Diễm Trang, Nguyễn Xuân Dũng và cộng sự đã phân lập từ lá cây này 3 flavonoid, odorantin; 2',4 - dihydroxy - 4',5',6' - trimethoxy chalcon và 4' - hydroxy-5, 6, 7 - trimethoxy flavanon [6].

Trong bài báo này, chúng tôi nêu những kết quả phân tích thành phần hoá học của tinh dầu cây cỏ lào ở Nghệ An và Hà Tĩnh nhằm góp thêm những dữ liệu mới về cây này

2. Thục nghiệm

2.1. Lấy mẫu: Phần trên mặt đất của cây cỏ lào được thu hái ở Vinh (Nghệ An) vào ngày

22/10/2003 (mẫu thứ nhất) và ở Nghi Xuân (Hà Tĩnh) vào ngày 1/11/2003 (mẫu thứ hai).

2.2. Tách tinh dầu

Tinh dầu cỏ lào được tách bằng phương pháp cất lôi cuốn hơi nước theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam I và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, rồi bảo quản ở 5°C, trước khi đem phân tích.

2.3. Xác định thành phần hoá học của tinh dầu:

Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí (GC) trên máy Hewlett – Packard 6890 Plus, cột HP – 5 (dài 30m; đường kính trong 0,25mm; lớp phim dày 0,39 mm). Khí mang: Nitơ. Detector: FID. Chương trình nhiệt độ: 600C (2 min) tăng 40C/min, cho đến 2000 (10 min). Nhiệt độ injector: 2700C. Nhiệt độ detector: 3000C và bằng phương pháp Sắc ký khí – Khối phổ liên hợp (GC/MS), trên máy Hewlett – Packard 6890 Plus, cột HP - 5MS (dài 30m; đường kính trong 0,25mm; lớp phim dày 0,39 mm), liên hợp với máy khối phổ HP 5973. Khí mang: He. Thư viện phổ: NIST (1998).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tinh dầu: Hàm lượng tinh dầu của mẫu ở Nghệ An là 0,28%, mẫu ở Hà Tĩnh là 0,25% (so với mẫu tươi). Tinh dầu có màu vàng, nhẹ hơn nước, có mùi đặc trưng.

3.2. Thành phần hoá học của tinh dầu (xem bảng ở trang sau).

Bảng này cho thấy tinh dầu cỏ lào ở Nghệ An và Hà Tĩnh chứa hơn 60 hợp chất, trong đó có 37 - 39 hợp chất đã được xác định. Thành phần chính là geijeren, germacren-D và α - pinen.

4. Kết luận

4.1. Đã tách được tinh dầu cỏ lào bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước. Hàm lượng của mẫu thu hái ở Nghệ An là 0,27% và của mẫu ở Hà Tĩnh là 0,25%.

4.2. Xác định thành phần hoá học tinh dầu cỏ lào bằng phương pháp sắc ký khí và sắc ký khí – khối phổ liên hợp cho thấy tinh dầu là một hỗn hợp gồm hơn 60 hợp chất, trong đó mẫu ở Nghệ An có 39 hợp chất đã được xác định, mẫu ở Hà Tĩnh có 37 hợp chất đã được xác định. Thành phần chính

Bảng: Thành phần hoá của tinh dầu cây cỏ lào ở Nghệ An và Hà Tĩnh

Stt	Hợp chất	Hàm lượng % các hợp chất		Stt	Hợp chất	Hàm lượng % các hợp chất	
		Mẫu ở Nghệ An	Mẫu ở Hà Tĩnh			Mẫu ở Nghệ An	Mẫu ở Hà Tĩnh
1	α - thujen	0,1	0,1	34	α - humulen	2,1	2,0
2	α - pinen	11,0	11,1	35	α - cadinen	0,2	0,2
3	camphen	0,1	-	36	α - amorphen	0,3	0,4
4	sabinen	1,1	1,1	37	germacren - D	20,5	16,8
5	β - pinen	5,1	5,3	38	epi bicyclosesquiphel andren	0,5	0,6
6	β - myrcen	1,3	1,2	39	bixiclogermacren	2,3	2,2
7	α - terpinen	0,1	0,1	40	α - muurolen	0,4	0,5
8	limonen	0,8	0,7		(chưa xác định)	0,5	0,4
9	chưa xác định	0,1	-	41	(Z,E) - α - farnesen	0,2	0,1
10	(Z)- β - oximen	0,5	0,3	42	γ - cadinen	0,3	0,5
11	(E)- β - oximen	2,7	2,1		(chưa xác định)	0,1	-
12	γ - terpinen	0,1	0,1	43	δ - cadinen	3,7	4,0
13	α - terpinolen	0,1	-	44	cadinen - 1,4-dien	0,1	0,1
14	chưa xác định	0,1	0,1	45	elemol	0,4	0,8
15	chưa xác định	0,1	0,1	46	germacren - B	0,4	0,4
16	chưa xác định	-	vết	47	chưa xác định	0,2	0,7
17	chưa xác định	0,5	0,6	48	junipen	0,2	0,1
18	chưa xác định	6,5	6,8	49	aromadendren	0,2	0,2
19	chưa xác định	-	0,1	50	epicurzenon	0,2	6,8
20	chưa xác định	0,1	0,1	51	chưa xác định	-	0,3
21	chưa xác định	0,6	0,7	52	epiglobulol	0,1	0,1
22	geijeren	20,7	15,5	53	chưa xác định	0,1	0,1
23	δ - elemen	0,2	0,2	54	β - malien	0,1	0,3
24	α - copaen	2,1	2,0	55	α - cadinol	0,3	0,4
25	chưa xác định	0,1	0,2	56	chưa xác định	0,1	0,2
26	β - boubonen	0,1	0,1	57	τ - cadinol hoặc τ - muurolol	0,4	0,7
27	β - cubeben	0,2	0,1	58	chưa xác định	-	0,1
28	β - elemen	0,5	0,6	59	chưa xác định	-	0,1
29	chưa xác định	0,1	0,2	60	germacron	0,1	1,2
30	β - caryophylen	9,1	7,3	61	chưa xác định	-	0,6
31	chưa xác định	0,5	0,7	62	chưa xác định	-	0,2
32	chưa xác định	0,1	0,2	63	chưa xác định	-	0,2
33	α - cubeben	0,3	0,2	64	chưa xác định	vết	vết
				65	các chất khác	11,1	2,6

của tinh dầu là geijeren (20,7%), germacren-D (20,5%), α - pinen (11%) ở mẫu Nghệ An, và geijeren (15,5%), germacren-D 16,8%), α -pinen (11,1%) ở mẫu Hà Tĩnh.

4.3. Các thành phần chính trong tinh dầu cỏ lào ở Nghệ An và Hà Tĩnh tương đối giống nhau, tuy

vậy hàm lượng % ở mẫu Nghệ An lớn hơn mẫu ở Hà Tĩnh. Sự khác nhau này có thể là do điều kiện đất đai và khí hậu ở hai vùng lấy mẫu. So với thành phần chính của tinh dầu cỏ lào ở Hà Nội [9] và các mẫu ở [7,8] đã nêu ở phần đặt vấn đề thì mẫu ở Nghệ An và Hà Tĩnh có thể là một chemotype mới.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích và những người khác, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật (2004);
2. Bose K., Chakrabarti P., Chakravarti S., Dutta S. P. et al., Flavonoid constituents of *Eupatorium odoratum*, *Phytochemistry*, 12(3) (1973) 667-668;
3. Sunil K., Talapatra, Durga S. Bhar and Bani Talapatra, Flavonoid and terpenoid constituents of *Eupatorium odoratum*, *Phytochemistry*, 13(1) (1974) 284-285;
4. Eckhard Wollenweber et al., *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(5) (1996) 479-480;
5. Andreas Biller, Michael Bopprö, Ludger Witte et al., *Phytochemistry*, 35(3) (1994) 615-619;
6. Nguyen Thi Diem Trang, Nguyen Xuan Dung, Le Viet Ngoc Phuong, *J. Chem. (Vietnam)*, 2 (1993) 79 – 80;
7. Ling B., Zhang M., Kong C., Pang X., Liang G. Chemical composition of volatile oil from *Chromolaena odorata* and its effect on plant, fungi and insect growth. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*.14(5)(2003)744-6;
8. Chowdhury A.R., *J. Essent. Oil. Bearing Plants.*, 5 (2002) 14 –18;
9. Nguyen Xuan Dung, Le Kim Bien et al., *J. Essent. Oil Res.(USA)*, 4 (1992) 309 – 310

Tap chí Dược liệu, tập 9, số 6/2004 (trang 182 - 184)

GÁN LẠI PHỔ ^{13}C -NMR CỦA CHRYSOERIOL PHÂN LẬP TỪ LÁ CÂY LINH LÔNG

Nguyễn Mạnh Cường, Nguyễn Ngọc Tuấn -

Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phan Văn Diệu, Văn Ngọc Hương -

Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Địa chỉ liên hệ: ĐT: 7564488, nmcuong@ich.ncst.ac.vn

(Nhận bài ngày 7 tháng 4 năm 2004)

Isolation and ^{13}C -NMR reassignment of Chrysoeriol from *Eurya ciliata* LEAVES

Summary

*Chrysoeriol (1), a flavonoid was isolated from the leaves of *Eurya ciliata* Merr. The ^{13}C -NMR reassignment of chrysoeriol is based on the analysis of 2D-NMR experiments.*

Key words: Eurya ciliata, chrysoeriol, ^{13}C -NMR reassignment.

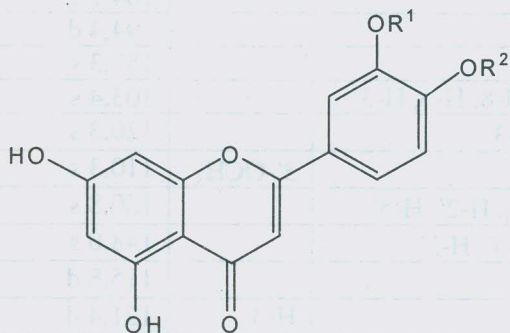
I - Mở đầu

Ở Việt Nam, chi *Eurya* thuộc họ Chè (Theaceae) có 18 loài, trong đó có loài *E. japonica* (Linh, chân trà Nhật) mà lá được dùng nấu nước uống thay trà, lá *E. groffii* (Linh đồi, sơn trà nhọn) có tác dụng tiêu thũng, giảm đau và lá *E. nitida* (Súm, chè cầu) là thuốc thanh nhiệt, lợi tiểu [2].

Đặc biệt, loài *Eurya ciliata* Merr. (Linh lông) có hoạt tính kháng enzym oxy hoá monoamin (MAO – monoamin oxidase) khá mạnh dưới dạng dịch chiết methanol của lá và các dịch chiết phân bố trong các dung môi có độ phân cực khác nhau đã được phát hiện và công bố trước đây [3]. Nhằm xác định bản chất của hoạt chất, việc nghiên cứu thành phần hóa học của phân đoạn có hoạt tính

đang được thực hiện. Trong bài báo này, chúng tôi thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc của chrysoeriol, một flavonoid từ phân đoạn chiết cloroform của lá cây linh lăng. Cấu trúc hoá học và dữ kiện phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của chrysoeriol được xác định và gán lại dựa trên sự phối hợp các phương pháp phổ IR, MS, NMR một chiều và hai chiều (HSQC, HMBC, NOESY).

II – Kết quả và thảo luận



Hình 1: Chrysoeriol (1) : $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = \text{H}$

Flavonoid (1), được tách và tinh chế từ phân đoạn phân bố trong CHCl_3 của dịch chiết MeOH, là một chất rắn màu vàng. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy chất 1 có 16 tín hiệu carbon. Phổ DEPT-90, DEPT-135 cho thấy chất 1 có sáu carbon methyl thơm, một nhóm methoxy và chín carbon bậc bốn ở vùng trường thấp δ 100-180. Phổ $^1\text{H-NMR}$ cho tín hiệu của 12 proton, trong đó xác định có 3 nhóm OH, theo dữ liệu phổ tương quan 2 chiều trực tiếp C-H (HSQC). Vị trí các proton thơm H-3, H-6, H-8 và nhóm hydroxy 5-OH, và 7-OH được xác định dựa trên việc nghiên cứu phổ $^1\text{H-}$, $^{13}\text{C-NMR}$, phổ hai chiều tương quan C-H trực tiếp (HSQC), tương quan C-H qua nhiều liên kết (HMBC). Các dữ kiện phổ NMR cho phép dự đoán chất 1 là một flavonoid (bảng 1). Phổ khối EI-MS của chất 1 cho pic phân tử m/z 300, ứng với công thức phân tử $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$, và phù hợp với dự đoán trên.

Điểm quan trọng trong việc xác định cấu trúc của hợp chất 1 là xác định vị trí của nhóm methoxy ở trong vòng B. Độ chuyển dịch hoá học của carbon C-3 ở δ 103,2 (trong khoảng δ 102 - 108) cho thấy chất 1 tương tự như một số các flavonoid khác không có nhóm thế methoxy hoặc hydroxy ở vị trí C-2' hoặc C-6' [4]. Khi có nhóm thế -OMe hoặc

-OH ở C-3' và C-4', độ chuyển dịch hoá học của carbon C-2' dao động trong khoảng δ 113,0 – 113,8 và của carbon C-6' dao động trong khoảng δ 118,0 – 122,8, như trong trường hợp của luteolin ($\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$) và diosmetin ($\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{Me}$); trong khi đó ở chrysoeriol và luteolin-3', 4'-dimethyl ether ($\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{Me}$), carbon C-2' dao động trong khoảng δ 109,5 – 110,2 và C-6' dao động ở δ 120,1 – 120,4 [4]. Phổ NOESY của chất 1 cho thấy proton của nhóm methoxy có tương tác với proton ở δ 7,56 (H-2'), mà proton này lại có tương tác với carbon C-2, C-6', C-3', C-4' trong phổ HMBC. Trong khi đó, proton ở δ 7,57 (H-6'), trong phổ HMBC lại có tương tác qua nhiều liên kết C-H với carbon ở δ 150,7 (C-4'). Hơn nữa, proton H-6' có pic đường chéo tương tác với H-3 trong phổ NOESY. Các dữ kiện trên cho phép khẳng định nhóm methoxy ở vị trí C-3' và nhóm -OH (δ 9,95) ở C-4'. Như vậy, flavonoid 1 được xác định là chrysoeriol. Độ chuyển dịch hóa học của carbon C-3' (thế methoxy), C-4' (thế hydroxy) và của carbon C-1', C-6' trong vòng B của 1 đã được gán lại so với tư liệu đã công bố trước đây [4, 5].

Chrysoeriol cũng đã được phát hiện trong lá của loài *Eurya japonica* và *E. emarginata* [6], các cây họ Cúc (Asteraceae) như *Artemisia argyi* [5] và *Artemisia vulgaris* [7], và cây *Coronopus didymus* (họ Brassicaceae) [8]. Chrysoeriol có hoạt tính mạnh chống gây đột biến gen (antimutagen) trong thí nghiệm được thử trên gan chuột [5]. Hoạt tính chống oxy hoá mạnh của chrysoeriol đã được nghiên cứu và công bố, bao gồm khả năng kháng peroxid hoá lipid, phản ứng với các gốc tự do hydroxyl và peroxy [8].

Nhiều flavonoid đã được biết như là các chất chống oxy hoá mạnh và ngăn chặn sự tạo thành các gốc tự do. Chúng có vai trò quan trọng trong việc phòng và chống nhiều loại bệnh liên quan tới quá trình trên như ngăn ngừa bệnh ung thư, tim mạch, bệnh thần kinh, quá trình lão hoá. Việc phát hiện chrysoeriol, một flavonoid có tác dụng chống gây đột biến gen và chống oxy hoá mạnh, từ phân đoạn có hoạt tính của lá cây linh lăng, cho thấy chất này có thể là một trong các thành phần có hoạt tính kháng enzyme MAO. Việc nghiên cứu hoạt tính kháng enzyme MAO và các tác dụng dược lý khác của chrysoeriol cần được tiếp tục và khẳng định.

Bảng 1. Dữ kiện phổ cộng hưởng từ của Chrysoeriol (1) (500 MHz, DMSO)

Vị trí	^1H (δ)	^{13}C (δ)	HMBC	NOESY	Chrysoeriol ^{13}C (δ) [5]
2		163,6 s	H-3, H-2', H-6'		163,5 s
3	6.90 s	103,2 d		H-6'	103,6 d
4		181,8 s	H-3, H-8		181,8 s
5	12.96 s (OH)	161,4 s	H-6, 5-OH		161,6 s
6	6.20 d 2 Hz	98,8 d	H-8, 5-OH		98,9 d
7	10.8 br s (OH)	164,1 s	H-8, H-6		164,7 s
8	6.51 d 2 Hz	94,0 d	H-6		94,4 d
9		157,3 s	H-8		157,3 s
10		103,7 s	5-OH, H-8, H-6, H-3		103,4 s
1'		121,5 s	H-5', H-3		120,3 s
2'	7.56 m	110,2 s	H-6'	3'-OCH ₃	110,3 s
3'		148,0 s	3'-OCH ₃ , H-2', H-5'		150,8 s
4'	9.95 br s (OH)	150,7 s	H-6', H-5', H-2'		148,0 s
5'	6.94 d 9 Hz	115,7 d			115,8 d
6'	7.57 m	120,3 d	H-2'	H-3	121,4 d
3'-OCH ₃	3.89 s	55,9 q		H-2'	55,9 q

III - Thực nghiệm

Phổ ^1H -, ^{13}C -NMR, DEPT, HSQC, HMBC, NOESY được đo trên máy Bruker AVANCE 500. Tetrametylsilan (TMS) (cho ^1H) hoặc tín hiệu dung môi (cho ^{13}C) được dùng làm nội chuẩn. Phổ khối đo trên máy 5989B MS (Hewlett Packard).

Lá cây linh lăng được thu hái ở Tam Đảo – Vinh Phúc vào tháng 2/2001 và mẫu tiêu bản được lưu tại Viện Dược liệu. Tên khoa học của cây được cử nhân Ngô Văn Trại (Viện Dược liệu – Bộ Y tế) xác định.

Lá cây được phơi khô và nghiền thành bột. Bột lá khô (1,4 kg) được chiết nguội với methanol (3 lần x 8 giờ). Dịch chiết methanol cho bay bớt dung môi dưới áp suất giảm còn khoảng 300ml, thêm nước và chiết phân đoạn lần lượt bằng n – hexan, cloroform, butanol. Gộp các dịch chiết (3 lần chiết mỗi dung môi), cất quay loại dung môi thu được

12 g cặn n-hexan (cặn B), 6 g cặn CHCl₃ (cặn C) và cặn butanol. Phần cặn CHCl₃ (3 g) được chạy sắc ký cột trên silica gel thường Merck (80-120 mesh, 150 g) với dung môi rửa giải là hỗn hợp CHCl₃/MeOH. Phân đoạn rửa giải bằng hỗn hợp CHCl₃/MeOH (95:5 – 90:10, v/v) có kết tinh vàng. Lọc rửa chất rắn và kết tinh lại trong hỗn hợp hexan/ethyl acetat thu được chất rắn màu vàng (1). (35 mg, 0,005%).

Chrysoeriol (1), 5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavon, MW: 300,267; MF: C₁₆H₁₂O₆, yellow crystal; m.p. 298°C. IR n (KBr, cm⁻¹): 3350, 3085, 1651, 1625, 1563, 1509, 1171, 1030, 833, 726. EI-MS: 300 (100%) [M]⁺, 285 [M - 15]⁺, 272, 257, 242, 229, 153, 133, 114, 105, 96, 83, 69, 55. ^1H , ^{13}C -NMR (DMSO): xem bảng 1.

Lời cảm ơn: Công trình này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của Hội đồng khoa học tự nhiên (Đề tài số 510304).

Tài liệu tham khảo

1. Phạm Hoàng Hộ, Cây cỏ Việt Nam, Tập 1, NXB Trẻ (1999);
2. Võ Văn Chi, Từ điển cây thuốc Việt Nam, tr. 670, 671, 1072, NXB Y học, (1999);
3. Nguyễn Mạnh Cường, Trần Văn Sung, Nguyễn Tiến Đạt, Young Ho Kim, Tạp chí Dược liệu, 8(6), tr. 170-173 (2003);
4. Agrawal P. K., Carbon-13 NMR of flavonoids, p. 134-135, Elsevier: New York, (1989);
5. Nakasugi T., Nakashima M., Komai K., J. Agric. Food. Chem., 48(8), p. 3256-3266, (2000);
6. Naokaa M., Mineo S., Munehisa, A., Mitsuko K., Yoshihiro K., Yakugaku Zasshi, 94(7), 872-74 (1974);
7. Lee S. J., Chung H. Y., Maier C., Wood A. R., Dixon R. A., Mabry T. J., J. Agric. Food Chem., 46, 3325-3329 (1998);
8. Mishra B., Priyadarsini I., Kumar S., Unnikrishnan M.K., Mohan H., Bioorg. Med. Chem., 11, 2677-2685 (2003).

THE BIOLOGICAL SUBSTANCE EXTRACTED FROM CAMELLIA (SP.) GROWING IN VIETNAM

Pham Trung Thi Tho - Institute of Materia Medica,

Nguyen Thi Anh Dao, Dinh Ngoc Thuc - Hanoi Pedagogical University

(Received March 14 2004)

Summary

Dutra tree is one of the Camellia (sp.) belong to the Family Theaceaceae, It is a wild plant and cultivated in many provinces in the North of Vietnam [1]. The fruit of the tree contains some biological activities: antistress, antioxidant [2], reducing local tissue damage and systemic toxicities caused by the venoins[3] and anticancer[4].

Keywords: flavonoid, camellia (sp.), theaceaceae, antistress, antioxidant, anticancer.

I. TRODUCTION

The Dutra tree is cultivated in many provinces in the North of Vietnam for preventing soil from erosion and for green covering the bald hills. The area of tree spreads more than ten thousands hectares (ha). Its flowering period is from August to November. One Dutra tree at the age of about 6-10 years can give 20-40kg of seeds per year. The fruit of this tree contains 1-3 seeds and is often picked up when fully riped. Each 100kg of Dutra seeds can give 30 kg of kernels. The Kernel contains briefly fatty oil, sterol, tanin, flavonoids and saponins.

Flavonoids are an important postulated to be one of the constituents responsible for the beneficial effects (of fruit and vegetable on health) including heart deseases and cancers.

At pharmacological levels, various naturally occuring flavonoids have been shown to be cancer protective in a variety of animals. Besides flavonoid derivatives such as flavopyridol are being considered/used as chemotherapy drugs in clinical.

The aim of this report is to propose the suitable process for extracting the flavonoids from the Dutra fruit kernels and determining its structure.

2. EXPERIMENTAL

1-Materials: The fruit of Dutra tree were collected in November 2002 in Nghe an province and identified by Pharm.Do Huy Bich (Inst. of Materia Medica)

2- Study method:

Solvent extraction technique for flavonol separation was conducted on shoxlet and rotatest model Buechi-laborata 4001.

TLC was carried out on precoated TLC sheets of Silica gel 60F-254. The spots were detected by spraying with vanilin/H₂SO₄ then heating on hot plate. Preparative TLC scale is 20x20cm.

Chromatography was conducted on SiO₂ (Merck) with particle size 60-100mm, column of 3.5mm in diameter, 90cm in height.

Melting point was measured on Gallenkamp.

Structure was identified by chemical and physical methods : IR spectra was taken on IMPAC-410 (KBr pellet). NMR, HMBC, HMQC spectra were taken on Brucker Advance-500 MHz.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Extraction : 150g waste oil cake of the seeds of Camellia(sp) were crushed and extracted with n-hexan under reflux (8-10h). After the removal of the solvent n-hexan, the residue was continued to be extracted with CHCl₃ under reflux (8-10h).

After separating the solvent from the CHCl_3 solution under reduced pressure, 8.18g the shine brown powder was obtained. This product was chromatographed on a silicagel column eluted with $n\text{-C}_6\text{H}_4 - \text{CHCl}_3$ (5:1) ; $n\text{-C}_6\text{H}_4 - \text{EtOAc}$ (19:1) ; $\text{CHCl}_3 - \text{EtOAc}$ (9:1) ; $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH}$ (9:1) ; $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH}$ (4:1). On the basic of TLC, the combined similar fraction was evaporated to obtain a pure product, which was purified and precipitated with acetone to yield 0.135g (equivalent 1.66%). On the TLC, it shows an orange - yellow spot with reagent vanilin/ H_2SO_4 , $R_f = 0.54$ in $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (3:1) , melting point 276-278oC, soluble in EtOH, MeOH, EtOAc, alkaline solvents, slight soluble in water. This product denoted by symbol KF.

Determination of KF

The IR spectrum (KBr) showed absorption bands at 3393.3 (nO-H) ; 2965.04 (nC-H) ; 1727 ((n=O) ; 1660.25 (nC=C) ; 1616.57 , 1461.31 (nC=C circle) ; 1262.38 (nC-O=) ; 1078.06 (dC-O-) ; 1019.55 (nc-H);

UV (MeOH) λ_{max} (log e) 208; 223 ; 267 ; 324 ; 368 nm .

UV spectra shown the colour group $>\text{C}=\text{C}<$; $>\text{C}=\text{O}$ characterized flavonol and transitional step

from n - p* and p - p*.

The mass spectrum of KF showed positive ion (m/z 286) respectively the molecular formula $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, and fragment ions peaks with mass number m/z : 258, 241, 229, 213, 184 , 153, 136, 121, 105, 93, 69.

Spectrum DEPT-90 of KF showed 4 signals of tertiary carbons, in which there are two doublets, spectra confirmed that the molecule contained six groups of $>\text{CH}-$.

Spectrum DEPT-135 showed that in the molecule of KF there are not signals of primary groups $-\text{CH}_3$ and dinary groups such as $-\text{CH}_2-$.

The combination of ^{13}C DP with DEPT-90 and DEPT -135 showed that in the molecule of KF contained 9 quaternary carbons.

HMQC - the spectrum confirmed the direct correlation between hydro located at carbon, it showed 4 signals of correlation C-H, respectively C8-H; C6-H; C3' , C5'-H and C2'.C6'-H.

HMBC - the spectrum confirmed the indirect correlation between δ^- and δ^+ hydro located at carbon. The spectrum showed signals respectively C-4-O-H and C6-O-H and C10-O-H. The group $-\text{OH}$ located at C5 having the acidic acid, besides, some

Table 1: Data of ^1H -NMR and ^{13}C - NMR for KF

Position of C	^1H -NMR δ_{H} , ppm $J(\text{H}_2)$	^1H -NMR δ_{H} , ppm $J(\text{H}_2)$ [5]	^{13}C - NMR δ_{H} , ppm (multiple)
2	-	-	147.07 s
3	-	-	110.51 s
4-	-	-	165.04 s
5	12.16 (-OH, s)	12.52 (-OH, s)	157.83 s
6	6.27 d $J=2.0$	6.20 d $J=2.0$	99.21 d
7	-	-	162.37 s
8	6.53 d $J=1.9$	6.45 d $J=2$	94.53 d
9	-	-	160.22 s
10	-	-	104.19 s
1'	-	-	123.36 s
2'	8.15 d $J=8.9$	8.06 d $J=8.9$	130.49 d
3'	7.01 d $J=8.9$	6.94 d $J=8.9$	116.37 d
4'	-	-	147.08 s
5'	7.01 d $J=8.9$	6.94 d $J=8.9$	116.37 d
6'	8.15 d $J=8.9$	8.06 d $J=8.9$	130.49 d

signals appeared respectively C4 - C5 - O - H ; C7 - O - H ; C9 - C8 - H ; C6' - C5' - H ; C2' - C3' - H ; C3' - C2' - H ; C5' - C6' - H ; C10 - C5 - O - H ; C8 - C7 - O - H ; C7 - C8 - H.

Thus, on the basis of the above spectra data, compound KF was characterized as 3, 4', 5, 7-

tetrahydroxy flavone. The IUPAC's name is 3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one.

This Project was financially supported by National Fundamental Research Program on Natural Sciences.

References

1. Pham Truong Thi Tho, Le Minh Phuong, Dinh Thi Thuyet, Nguyen Kim Bich, Nguyen Thi Anh Dao, Dinh Ngoc Thuc, Pham Quang Huy, Tran Thi Thu Ha, Le Quynh Hoa, Nguyen Thanh Thuy, "Chemistry and biological activity of saponin extracted from the seeds of Dutra trees growing in Vietnam", Proceedings of 8th EuroAsia conference and 10th Asian chemical Congress on chemical sciences (EuAs C2S-8), October 21-24, 2003, Hanoi, Vietnam;
2. Lee KG, Shibamoto T, Takeoka GR, Lee Se, Kim JH, Park BS, J. Agric. Food Chem., 51 (24) (2003) 7203-7207;
3. Yingprasertchai S, Bunyasrisavat S, Ratanabonangkoon K, Toxicol., 42 (6) (2003) 635-46;
4. Hung-H-, "Inhibition of estrogen receptor alpha expression and function in MCF-7 cells by flavonol", J. Cell Physiol, 198 (2) (2004) 197-208;
5. Harbone J. B., The Flavonoids Advances in Research since, 1986 - 1994 Chapman and Hall.

Tap chí Dược liệu, tập 9, số 6/2004 (trang 187 - 191)

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ ĐẾN THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA VỊ THUỐC THẢO QUYẾT MINH

*Phùng Hòa Bình, Nguyễn Thị Hương - Trường Đại học Dược Hà Nội
(Nhận bài ngày 18 tháng 10 năm 2004)*

Summary

The colour of seeds Cassiae changed a little under 120°C for 10, 20, 30 min. The colour of seeds Cassiae is dark yellow at 150-160°C similar to that of yellow roasted sample. The colour of seeds Cassiae is dark brown or black at 200-220°C (similar to black roasted sample). The content of total anthranoid of seeds Cassiae torae is greatly changed when drying is at other temperature. The content of anthranoid in crude samples is 0,198% and the one in dried samples at 150° C for 20 min; 160° C for 20 min are 0,181%, 0,184% respectively (similar to yellow roasted sample - 0,186%). The content of anthranoid in dried samples at 220, 220°C / 20, 30 min are 0,096%; 0,093% respectively (similar to black roasted sample - 0,094%)

These results may be basis for standardizing roasted methods in traditional medicine.

Keywords: Seeds Cassiae, anthranoid

I. Đặt vấn đề

Thảo quyết minh là vị thuốc được dùng trong y học cổ truyền với tác dụng thanh nhiệt, nhuận tràng, thông tiểu [1,2,3]. Thành phần hoá học chính là nhóm chất anthranoid. Trước khi sử

dụng, tùy theo mục đích trị bệnh, người ta chế biến dược liệu theo các phương pháp khác nhau như sao qua, sao vàng, sao cháy. Một số tác giả đã nghiên cứu phương pháp chế biến thảo quyết minh [2] nhưng chưa xây dựng được tiêu chuẩn về nhiệt độ cho việc sao chế.

Chúng tôi thực hiện đề tài này với mục đích tìm hiểu mối liên hệ giữa phương pháp sao cổ truyền với mức nhiệt độ sấy cho sản phẩm tương đương. Từ đó, xây dựng tiêu chuẩn chế biến nhằm góp phần ổn định chế phẩm tạo ra.

II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Nguyên liệu:

Hạt thảo quyết minh(Semen Cassiae torae) được mua ở Công ty Dược liệu trung ương 1.

2. Phương pháp nghiên cứu:

- Xác định mức nhiệt độ cho dược liệu có màu tương đương chế phẩm sao của y học cổ truyền:

Sấy thảo quyết minh ở các mức nhiệt độ: 100, 120, 140, 150, 160, 200, 210, 220°C trong khoảng thời gian khác nhau: 10, 20, 30 phút. Đánh giá sự đổi màu cho sản phẩm tương đương phương pháp sao của y dược học cổ truyền:

+ Màu lục tối tương tự màu của vị thuốc sống tương đương sản phẩm sao qua.

+ Bên ngoài màu vàng tối, bên trong màu vị thuốc sống tương đương sản phẩm sao vàng .

+ Bên ngoài màu nâu đen hoặc đen, bên trong màu nâu, mùi thơm cháy tương đương sản phẩm sao cháy.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt đến anthranoid, chọn mẫu sấy tương đương sản phẩm sao vàng, sao cháy.

+ Định tính so sánh dịch chiết anthranoid bằng sắc ký lớp mỏng.

+ Định lượng anthranoid bằng phương pháp đo quang[3]

III. Kết quả nghiên cứu

1. Xác định mức nhiệt độ cho sản phẩm tương đương chế phẩm sao của y học cổ truyền.

- Sấy thảo quyết minh sống trong tủ sấy Memmert ở nhiệt độ khác nhau trong khoảng thời gian khác nhau, kết quả sự chuyển màu của dược liệu được trình bày ở bảng 1.

Nhận xét: Mẫu sấy ở nhiệt độ 150°C / 20 phút hoặc 160°C / 10 phút cho màu tương đương sản phẩm sao vàng.

Mẫu sấy ở 200°C/ 30 phút, 210°C / 20,30 phút hoặc 220°C / 20 phút cho màu tương đương sản phẩm sao cháy.

Mẫu sấy ở nhiệt độ thấp hơn 120°C không làm đổi màu vị thuốc, tương đương sản phẩm sao qua.

2. Định tính anthranoid bằng phản ứng hóa học:

- Mẫu nghiên cứu gồm chế phẩm sấy ở 100°, 150°, 160°, 200°, 220°C, sản phẩm sao qua, sao vàng, sao cháy, sống.

Chiết xuất anthranoid, ở dạng tự do: Lấy khoảng 0.5 g bột các mẫu nghiên cứu, thêm 10 ml nước cất, đun cách thủy 10 phút. Lọc nóng, để nguội, thêm 10 ml cloroform, lắc, để tách thành 2 lớp. Gạn lấy lớp cloroform. Định tính bằng phản ứng Bortraeger. Chiết anthranoid toàn phần: tương tự dạng tự do, nhưng thêm H₂SO₄ 10% trước khi đun cách thủy.

Bột các mẫu nghiên cứu được thực hiện phản ứng vi thăng hoa.

Kết quả được trình bày ở bảng 2, 3.

Bảng 1. Màu các sản phẩm sấy ở các mức nhiệt độ khác nhau.

Nhiệt độ sấy (°C)	Mẫu sấy ở thời gian khác nhau (phút)		
	10	20	30
100	Lục tối	Lục tối	Lục tối
120	Lục tối	Lục tối	Lục tối
140	Lục nhạt	Lục nhạt	Vàng
150	Vàng(+)	Vàng(++)	Vàng(+++)
160	Vàng(++)	Vàng(+++)	Vàng nâu.
200	Nâu	Nâu đen(+)	Nâu đen(++)
210	Nâu	Nâu đen(++)	Đen
220	Nâu đen(++)	Đen(+)	Đen(++)

Bảng 2. Kết quả định tính anthranoid trong các mẫu nghiên cứu bằng phản ứng hoá học.

Mẫu nghiên cứu (1)	Phản ứng với NaOH		Phản ứng vi thăng hoa	
	Anthranoid tự do (2)	Anthranoid toàn phần (3)	Anthranoid tự do (4)	Anthranoid toàn phần (5)
100°C / 30'	+++	+++	+++	+++
150°C / 20'	+++	+++	+++	+++
150°C / 30'	+++	+++	+++	+++
160°C / 10'	+++	+++	+++	+++
160°C / 20'	+++	+++	+++	+++
160°C / 30'	+++	+++	+++	+++
200°C / 10'	++	++	+	+
200°C / 20'	++	++	-	-
200°C / 30'	++	++	-	-
220°C / 10'	++	++	-	-
220°C / 20'	+	+	-	-
220°C / 30'	+	+	-	-
Sống	+++	+++	+++	+++
Sao qua	+++	+++	+++	+++
Sao vàng	+++	+++	+++	+++
Sao cháy	+	+	-	-

3. Phân tích so sánh thành phần anthranoid bằng sắc ký lớp mỏng:

Mẫu nghiên cứu: Thảo quyết minh sống(S), sao vàng(SV), sao cháy(SC), mẫu sấy ở nhiệt độ khác nhau: M1(150°C/ 20'), M2(150°C / 30'), M3 (160°C / 10'), M4(160°C / 20'), M5 (220°C / 20'), M6 (220°C / 30').

Chiết xuất anthranoid:

Anthranoid tự do: 1 gam bột mẫu nghiên cứu, thêm 30 ml nước (anthranoid toàn phần thì thêm 1 ml HCl đặc), đun cách thủy 15 phút. Để nguội, lọc lấy dịch. Thêm 25 ml ether ethylic, lắc đều, thu dịch ether ethylic, làm khan bằng Na₂SO₄ khan. Bay hơi cách thủy đến đậm đặc, được dịch A. Dùng dịch này chấm sắc ký.

Chất hấp phụ: Silica gel GF 254 (Merck).

Dung môi: Toluen – ethylacetat – acid formic (5 – 4 – 1).

Hiện màu: hơi amoniac.

Kết quả phân tích được ghi ở bảng 3 và 4; hình 1 và 2.

4. Định lượng anthranoid toàn phần trong các mẫu nghiên cứu:

Mẫu nghiên cứu: + xác định độ ẩm bằng máy

Precica HA 60.

+ khối lượng các mẫu sao và sấy được quy theo khối lượng mẫu sống.

Chiết xuất: Cân chính xác khoảng a (1- 3,5) g bột mẫu nghiên cứu, thêm 30 ml nước, đun cách thủy 15 phút. Để nguội, thêm 0,1 g NaHCO₃, lắc đều trong 2 phút, lọc. Lấy 10 ml dịch lọc cho vào bình cầu 100 ml, thêm 20 ml dd FeCl₃ 5%. Đun hồi lưu cách thủy trong 20 phút, thêm 2 ml HCl đặc, đun tiếp 20 phút. Để nguội, chiết bằng ether ethylic 3 lần, mỗi lần 25 ml. Gộp 3 dịch chiết, rửa bằng nước cất 2 lần (mỗi lần 15 ml), Lọc vào bình định mức 100 ml, được dịch B.

Phản ứng tạo màu: 10 ml dịch B, bay hơi đến khô, hòa tan cần này bằng 10 ml dd Mg(CH₃COO)₂ 1 % trong methanol, được dung dịch mang màu C.

Xác định cực đại hấp thụ: đo mật độ quang của 3 mẫu: thảo quyết minh sống, sao vàng, sao cháy. Cực đại hấp thụ của anthranoid ở bước sóng λ = 507 nm.

Đo mật độ quang các mẫu nghiên cứu ở bước sóng λ = 507 nm, mẫu trắng là methanol.

$$X(\%) = \frac{Dx \cdot 0.64}{m}$$

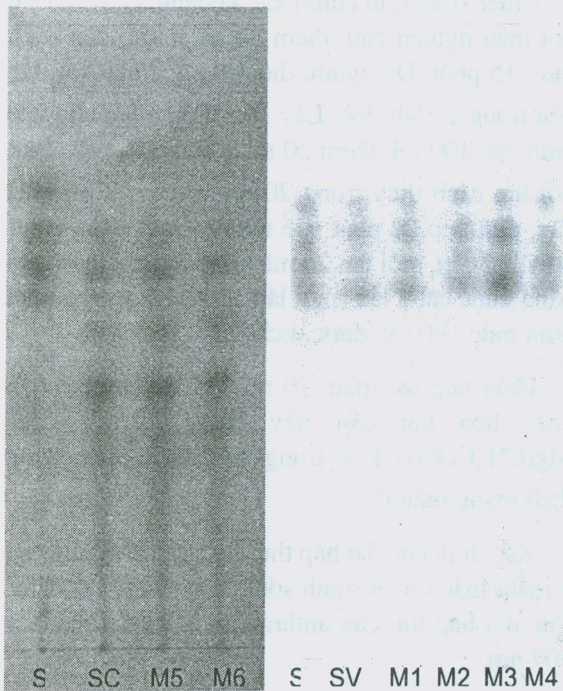
Bảng 3. Kết quả định tính anthranoid toàn phần ở các mẫu nghiên cứu bằng sắc ký lớp mỏng.

TT vết	Hệ số 100. Rf trên sắc ký đồ								
	S	SV	M1	M2	M3	M4	SC	M5	M6
7	76	76	76	76	76	76			
6	68	68	68	68	68	69	69	69	69
5	61	61	61	61	61	61	61	61	61
4	58	58	58	58	58	59	59	59	59
3							47	47	47
2	45	45	45	45	45	45	44	44	44
1							30	30	30

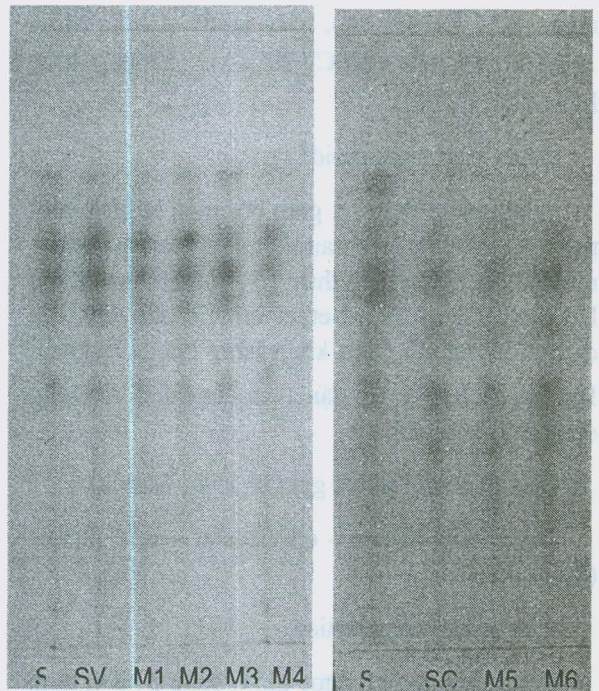
Bảng 4. Kết quả định tính anthranoid tự do ở các mẫu nghiên cứu bằng sắc ký lớp mỏng.

TT vết	Hệ số 100. Rf trên sắc ký đồ								
	S	SV	M1	M2	M3	M4	SC	M5	M6
6	75	75	75	75	75	75			
5	64	65	65	65	65	64	64	63	65
4	59	59	59	59	59	59	57	57	58
3	56	56	56	56	56	56	54	54	54
2							51	51	52
1							41	41	41

Hình 1. Sắc ký đồ định tính anthranoid tự do trong các mẫu nghiên cứu.



Hình 2. Sắc ký đồ định tính anthranoid toàn phần trong các mẫu nghiên cứu.



Bảng 5. Hàm lượng (%) anthranoid toàn phần trong các mẫu nghiên cứu.

Mẫu nghiên cứu	a (g)	Độ ẩm (%)	m (g)	Dx	X(%)
Sống	1,179	14,5	1.008	0,312	0,198
Sao vàng	1,980	10,1	1,780	0,516	0,186
M1 (150 ^o C/ 20')	1,963	10,5	1,757	0,497	0,181
M2 (150 ^o C/ 30')	1,949	9,7	1,760	0,473	0,172
M3 (160 ^o C / 10')	1,942	9,9	1,750	0,503	0,184
M4 (160 ^o C / 20')	1,951	10,3	1,750	0,459	0,168
SC (sao cháy)	3,235	7,2	3,002	0,441	0,094
M5 (220 ^o C / 20')	3,235	7,5	3,076	0,461	0,096
M6 (220 ^o C / 30')	3,234	7,1	3,004	0,438	0,093

Trong đó: *D* là mật độ quang.

m(g) là khối lượng mẫu nghiên cứu khô tuyệt đối.

Kết quả định lượng được trình bày ở bảng 5.

IV. Bàn luận và kết luận

1. Xác định mức nhiệt độ sấy cho sản phẩm tương đương sản phẩm sao qua, sao vàng, sao cháy thấy thảo quyết minh sống có màu lục tối, khi sao ở mức 140^o – 160^oC, màu chuyển dần sang lục nhạt và vàng nhạt, vàng. Ở mức 200^o – 220^oC, vị thuốc chuyển sang màu nâu, nâu đen và đen. So sánh với mẫu sao vàng sản phẩm có màu tương đương mẫu sấy ở 150^oC / 20 phút, 160^oC / 10 phút; mẫu sao cháy có màu tương đương mẫu sấy ở nhiệt độ 200^oC / 30 phút, 210^oC / 20, 30 phút, 220^oC / 20 phút.

2. Thành phần anthranoid: Các mẫu sấy, sao đều cho phản ứng dương tính với thuốc thử nhóm anthranoid; điều đó chứng tỏ ở mức nhiệt độ 220^oC (cho sản phẩm sao cháy), anthranoid vẫn tồn tại trong vị thuốc.

Kết quả phân tích anthranoid bằng sắc ký lớp mỏng cả dạng tự do và toàn phần cho thấy khi sấy ở nhiệt độ dưới 160^oC, tất cả các mẫu đều có 5 vết với R_f tương tự nhau (tương tự mẫu sao vàng, sống). Sấy ở 220^oC, các mẫu có 6 vết với R_f tương tự nhau (tương đương mẫu sao cháy).

3. Kết quả định lượng anthranoid toàn phần

cho thấy:

Hàm lượng giảm nhẹ ở mức nhiệt độ dưới 160^oC, giảm mạnh ở mức nhiệt trên 200^oC. Sự giảm anthranoid là phù hợp với lý thuyết (anthranoid bị thăng hoa ở nhiệt độ cao).

Các mẫu sấy ở 150 – 160^oC có hàm lượng anthranoid tương đương mẫu sao vàng. Mẫu sấy ở 220^oC có hàm lượng anthranoid tương đương mẫu sao cháy.

Điều đó chứng tỏ, tuy ở mức nhiệt độ khác nhau, nhưng thành phần và hàm lượng anthranoid có quy luật biến đổi theo trật tự nhất định, chất và lượng tương đương nhau trong 3 mức nhiệt độ: ở mức dưới 120^oC (tương đương sao qua) sự thay đổi không đáng kể; ở khoảng 140^o – 160^oC (tương đương sao vàng): thay đổi ít; ở khoảng 200^o – 220^oC (tương đương sao cháy): thay đổi mạnh. Y dược học cổ truyền phân chia phương pháp sao trực tiếp thành 3 loại là hợp lý.

Kết luận: Hạt thảo quyết minh được sử dụng rộng rãi trong y dược học cổ truyền để trị nhiều chứng bệnh khác nhau. Bằng các phương pháp chế biến khác nhau, thành phần và hàm lượng anthranoid khác nhau. Sự biến đổi đó có mối liên hệ thống nhất giữa phương pháp sao cổ truyền với mức nhiệt độ tương đương. Vì vậy, có thể dựa trên kết quả thực nghiệm để xây dựng tiêu chuẩn về nhiệt độ cho các phương pháp sao và thành phần hóa học cho sản phẩm sao qua, sao vàng, sao cháy của vị thuốc thảo quyết minh.

Tài liệu tham khảo

1) Trường Đại học Dược Hà Nội (2000). Dược học cổ truyền. NXB Y học, trang 227, 442; 2) Đỗ Huy Bích và những người khác (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập II, NXB Khoa học và kỹ thuật, trang 840 – 842; 3) Bộ Y tế (2000). Dược Điển Việt Nam III, NXB Y học, trang 353, 470.

CỤM CÔNG TRÌNH “NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT ARTEMISININ TỪ CÂY THANH HAO HOA VÀNG VIỆT NAM VÀ CHUYỂN HOÁ THÀNH CÁC DẪN CHẤT CÓ HOẠT TÍNH MẠNH HƠN ĐỂ CHỮA SỐT RÉT KHÁNG THUỐC” ĐƯỢC PHONG TẶNG GIẢI THƯỞNG HỒ CHÍ MINH

Nguyễn Gia Chấn

(Nhận bài ngày 29 tháng 11 năm 2004)

Ngày 1 tháng 9 năm 2000, Chủ tịch nước CHXHCN Việt Nam Trần Đức Lương đã ký quyết định số 392 KT/CTN phong tặng Giải thưởng Hồ Chí Minh cho 21 công trình và cụm công trình khoa học - công nghệ, trong đó có cụm công trình “Nghiên cứu chiết xuất Artemisinin từ cây Thanh hao hoa vàng Việt Nam (THHV) và chuyển hoá thành các dẫn chất có hoạt tính mạnh hơn để chữa sốt rét kháng thuốc” (*) của các nhóm tác giả thuộc Trung tâm kiểm nghiệm và nghiên cứu dược thuộc Cục Quân y, Bộ Quốc phòng, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng và Côn trùng, Viện Dược liệu, Dự án phát triển sản xuất artemisinin và dẫn chất (Bộ Y tế), Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật, Viện Hoá học các hợp chất tự nhiên, Công ty Dược liệu TƯ 1, Trường đại học Dược Hà Nội, Viện Kiểm nghiệm, Viện Y học lâm sàng các bệnh nhiệt đới, Viện Công nghiệp dược, Viện Hoá học công nghiệp, Bệnh viện Chợ Rẫy, Bệnh viện TƯ quân đội 108, Phân viện sốt rét TP. Hồ Chí Minh, Phân viện sốt rét Quy Nhơn. Cụm công trình đã đạt được những kết quả đặc biệt xuất sắc, có giá trị cao về khoa học-công nghệ, góp phần quan trọng vào sự nghiệp phát triển khoa học-công nghệ và chăm sóc sức khoẻ nhân dân và quân đội trong công cuộc xây dựng chủ nghĩa xã hội và bảo vệ tổ quốc.

Quá trình nghiên cứu và ứng dụng thành công Artemisinin (Art) làm thuốc chữa sốt rét kháng thuốc đạt hiệu quả cao ở Việt Nam của cụm công trình này có thể chia làm 2 giai đoạn lớn sau đây:

Giai đoạn 1 (1983 - 1991) là giai đoạn tìm ra

thuốc, xác định các đặc điểm về tính an toàn và tính hiệu quả trong sử dụng, thăm dò khả năng gieo trồng cây THHV và sản xuất Artemisinin quy mô lớn ở Việt Nam.

- Năm 1982, qua một số thông tin khoa học và y học nước ngoài, Trung tâm sinh thái và tài nguyên sinh vật (nay là Viện STTNSV thuộc Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam) được biết năm 1972 Trung Quốc đã chiết xuất được từ loài *Artemisia annua* (Thanh hao hoa vàng) chất Qinghaoshu (Thanh hao tố-Artemisinin) và năm 1979, đã đưa vào sử dụng điều trị sốt rét có hiệu quả cao. Năm 1983, Trung tâm đã tiến hành điều tra và xác minh được sự có mặt và phân bố của cây THHV ở nước ta và đã thông báo cho Viện nghiên cứu y học quân sự để hợp tác nghiên cứu. Trong các năm 1985-1988, cây đã được gieo trồng thử tại vùng ngoại thành Hà Nội trên diện tích nhỏ để thăm dò khả năng thuần hoá và đã cho thu hoạch lá cũng như việc xác định hoạt chất của cây hoang dại và cây trồng. Sơ bộ xác định quy trình gieo trồng có thể nhân rộng được ở nhiều vùng khác nhau và hoạt chất của hai dạng cây tương tự nhau.

- Năm 1984, Trung tâm kiểm nghiệm và nghiên cứu dược quân đội (TTKNNCD) - Cục quân y đã chiết xuất được Art từ cây THHV. Những năm sau đó, Cục quân y đã tổ chức sản xuất được một khối lượng thuốc Art phục vụ quân đội và một số đơn vị làm nghĩa vụ quốc tế.

- Năm 1985, Trung tâm hoá học các hợp chất tự nhiên (nay là Viện HHCTN thuộc Viện KH&CN Việt Nam) cũng đã chiết xuất được Art và phối hợp với Viện SRKSTCT nghiên cứu

thăm dò hoạt tính chữa sốt rét.

- Năm 1986, Viện SRKSTCT đã tiến hành nghiên cứu tác dụng *in vitro* và *in vivo* (trên chuột) của Art. Sau khi sơ bộ thấy có kết quả rất tốt với chủng *Plasmodium falciparum* kháng và nhạy nuôi cấy trong phòng thí nghiệm và chủng *P. berghei* (trên chuột), Viện đã tiến hành thử thuốc trên lâm sàng (1987-1990) trong khuôn khổ đề tài 64B-02 thuộc chương trình cấp nhà nước 64B với sự cộng tác của Viện HHCTN, Viện STTNSV, Viện Dược liệu, Công ty DLTU 1 để có đủ thuốc và kịp thời thử nghiệm trên tiền lâm sàng và lâm sàng, phối hợp với Trường ĐH Dược HN nghiên cứu viên đạn Art đặt hậu môn để chữa sốt rét ác tính và sốt rét trẻ em. Đề tài đã thử được trên 11 người tình nguyện khoẻ mạnh để đánh giá tính an toàn của thuốc, điều trị và theo dõi phản ứng phụ trên 632 bệnh nhân sốt rét tại 16 địa điểm ở cả ba miền (với sự cộng tác của hai Phân viện SR Tp. HCM và Quy Nhơn) để đánh giá tính hiệu lực và tính an toàn của thuốc. Kết quả cho thấy Art có hiệu lực cao với *P. falciparum* kháng và nhạy và cả với *P. vivax*; thuốc rất ít phản ứng phụ so với các thuốc SR khác. Các xét nghiệm sinh hoá huyết học không có gì thay đổi đặc biệt, cắt sốt và cắt KST nhanh, sau 24 giờ đã làm giảm 90% KST SR trong máu và chỉ sau 2-3 ngày là hết sốt và hết KST, có thể chữa được cả SR ác tính thay thế Quinin.

- Từ 1987 - 1990, Viện Dược liệu đã tiến hành đề tài "Nghiên cứu trồng cây THHV và chiết xuất Art làm thuốc chữa sốt rét", mã số 64C-03-08 thuộc chương trình KH-CN cấp nhà nước 64C. Đề tài đã nghiên cứu về sinh thái cây THHV, vẽ bản đồ và sơ bộ đánh giá trữ lượng, xác định sự khác nhau giữa loài *Artemisia annua* và loài *Artemisia carvifolia* được dùng trong y học cổ truyền chữa sốt trẻ em, nhưng không chứa Art, nghiên cứu xây dựng quy trình kỹ thuật trồng cây THHV, đạt năng suất 1,5 tấn lá khô/ha, hàm lượng hoạt chất đạt 0,7-0,8%, đã xác định hàm lượng Art trong lá cao nhất là lúc cây sắp ra nụ, khác với công bố của nước ngoài là lúc cây ra hoa (ở VN, lúc cây ra hoa, hàm lượng giảm). Đã nghiên cứu chiết xuất Art quy mô pilot được 12,500kg giao cho chương trình phòng chống sốt rét quốc gia (PCSRQG). Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu, đã xây dựng các

tiêu chuẩn Art dược dụng, viên nén Art 0,25g, lá THHV nguyên liệu, góp phần xây dựng các chuyên luận cho Dược điển VN.

Tại hội thảo quốc gia lần thứ hai về ký sinh trùng sốt rét kháng thuốc và Art, ngày 24-28/10/1989 có đông đủ các thành viên đã tham gia nghiên cứu về Art, các đại biểu đã thống nhất nhận định là các tư liệu khách quan đã được tích lũy một cách toàn diện, có thể đề nghị Bộ Y tế cho phép sản xuất và sử dụng Art trong chương trình PCSRQG.

Đầu năm 1991, Bộ Y tế đã có quyết định đưa Art vào danh mục các thuốc sốt rét được sản xuất và sử dụng. Ngày 3/6/1991, Bộ đã ban hành văn bản hướng dẫn thi hành quyết định này, mở ra giai đoạn phát triển và sử dụng rộng rãi Art trong chương trình PCSRQG.

Giai đoạn 2 (1991 - 1999) là giai đoạn triển khai và phát triển sản xuất Art trong nước, sử dụng Art trong chương trình PCSRQG; nghiên cứu nâng cao năng suất và chất lượng trong công nghệ trồng cây THHV, công nghệ chiết xuất Art và bán tổng hợp các dẫn chất của Art, tăng cường hiệu lực các dạng bào chế Art và dẫn chất.

Năm 1991, mức sản xuất của các đơn vị cho chương trình PCSRQG chỉ đạt 125,5 kg Art. Trước nhu cầu cấp bách về thuốc, để chặn đứng vụ dịch bùng nổ vào năm 1990-1991 và đáp ứng nhu cầu của chương trình PCSRQG, Bộ Y tế đã đặt chỉ tiêu phấn đấu là năm 1992, phải sản xuất được 400 kg Art (tương đương 1.600.000 viên), và đến năm 1995 là 2.500 kg (tương đương 10 triệu viên). Đây là một chỉ tiêu phấn đấu rất cao được đặt ra lúc đó.

- Tháng 3/1992, Bộ Y tế thành lập "Dự án phát triển sản xuất Art và dẫn chất" để chỉ đạo việc phát triển sản xuất trong các cơ sở trong và ngoài ngành y tế, đề xuất với nhà nước các chính sách đối với dược liệu và thuốc Art.

Các cơ sở đã sôi nổi đáp ứng nhu cầu của ngành y tế về thuốc sốt rét Art, một mặt đẩy nhanh tiến độ triển khai các đề tài nghiên cứu, mặt khác ra sức cải tiến quy trình công nghệ nâng cao năng suất, chất lượng công nghệ chiết xuất Art. Kết quả là chỉ sau một năm, các cơ sở chính tham gia sản xuất lúc đó gồm Viện

HHCTN, Viện Dược liệu, Cty DLTU1, Cty Dược huyện Bình Lục đã cung cấp cho Chương trình PCSRQG một khối lượng Art tăng gấp 10 lần năm 1991 (từ 125,5 kg lên 1.256,7 kg)

Về mặt nghiên cứu khoa học phục vụ sản xuất, các cơ sở đã tiến hành các công trình sau :

-Đề tài cấp nhà nước “Nghiên cứu nâng cao hiệu quả trồng cây THHV và công nghệ chiết xuất Art”, mã số KY02-01 thuộc chương trình KY02 (1991-1995) do Viện Dược liệu chủ trì, có sự hợp tác của Cty DLTU1, Trường ĐH Dược HN, Viện Công nghiệp Dược và Viện Hóa học công nghiệp. Đề tài đã triển khai nghiên cứu về 7 vấn đề : công nghệ trồng và chọn giống THHV, Kỹ thuật bảo quản lá TH nguyên liệu trong các kho lớn, cải tiến công nghệ chiết xuất Art quy mô công nghiệp, xây dựng quy trình bán tổng hợp các dẫn chất Artemether, Artesunat, Arteether, ứng dụng sinh dược học cải tiến nâng cao chất lượng các dạng bào chế viên Art và Artesunat, cải tiến phương pháp kiểm nghiệm và sản xuất chất chuẩn. Kết quả là đã xác định vùng trồng THHV thích hợp nhất là từ khu IV cũ trở lên vùng núi phía Bắc, do đó đã chấm dứt việc trồng và chiết xuất Art ở phía Nam vì không có hiệu quả kinh tế; năng suất lá khô từ 1.500 tấn/ha tăng lên bình quân 3 tấn/ha, hàm lượng Art trong lá thường đạt 0,8-0,9% trong khi Dược điển chỉ 0,7%; hoàn thiện quy trình công nghệ trồng THHV lấy lá và quy trình lấy hạt; chọn được giống THHV chất lượng cao ổn định cho năng suất 3 tấn lá khô/ha, hàm lượng hoạt chất #1%; cải tiến công nghệ chiết Art, nâng hiệu suất bình quân từ 0,22% lên 0,3%, sản phẩm đạt tiêu chuẩn ĐDVN; xây dựng quy trình bán tổng hợp Artesunat, Artemether, Arteether quy mô pilot; nâng cao tuổi thọ và độ giải phóng hoạt chất của viên Art, viên Artesunat; nghiên cứu được phương pháp định lượng Art nhanh để phục vụ việc thu mua nguyên liệu lá TH bảo đảm chất lượng. Sau khi nghiệm thu (tháng 12/1995), đề tài vẫn được tiếp tục triển khai vào sản xuất. hàng năm cung cấp khoảng 150kg hạt giống TH (mỗi ha cần 0,5kg hạt giống), tổ chức trồng 150-200 ha/năm, sản xuất 700-1000 kg Art/năm, hàng triệu viên Art 0,25g và Artesunat. Từ sau năm 1993, việc sản xuất Art đã vượt quá nhu cầu trong nước nhiều lần, nên nhiều cơ sở đã ngừng

sản xuất, riêng Viện Dược liệu và Cty DLTU1 (thuộc đề tài KY02-01) vẫn tiếp tục cải tiến công nghệ, sản xuất và tiếp thị để xuất khẩu. Tính đến 1999, hai cơ sở đã cung cấp cho công tác phòng chống sốt rét quốc gia và xuất khẩu được trên 7.000kg Art, 2.000kg Artesunat, 160kg Artemether, 11.500.000 viên Art, 14.000.000 viên Artesunat với tổng trị giá khoảng trên 89 tỷ đồng.

- Dự án hợp tác Việt Nam -Hà Lan (1991-1995) “Nghiên cứu sản xuất và ứng dụng Art ở VN” nhằm nâng cao chất lượng nghiên cứu khoa học trong nước, tạo cơ sở khoa học đáp ứng yêu cầu quốc tế trong đánh giá thuốc mới để có thể đưa sản phẩm này của VN ra thị trường thuốc quốc tế. Dự án được thực hiện bởi Viện Dược liệu, Viện HHCTN, Cty Dược Bình Lục, Viện Kiểm nghiệm, Viện Y học lâm sàng các bệnh nhiệt đới và Bệnh viện Chợ Rẫy. Điều phối viên của dự án về phía Hà Lan là ThS. Peter de Goeje, về phía Việt Nam là GS.TS. Nguyễn Gia Chấn. Với sự cộng tác của các chuyên gia Hà Lan, các đơn vị trên đã hoàn thành những nghiên cứu sâu về công nghệ trồng THHV, chiết suất Art và nghiên cứu dược động học của Art. Kết quả của dự án là đã góp phần bổ sung cho các đề tài nghiên cứu trong nước về phương pháp nghiên cứu hiện đại và hoàn chỉnh các quy trình công nghệ về trồng trọt và chiết xuất cũng như tạo được những tư liệu khoa học để có thể đăng ký thuốc ở nước ngoài. Kết quả này đã được biên soạn và xuất bản bằng tiếng Anh và tiếng Việt.

- Ngoài ra, Viện HHCTN đã thực hiện chương trình nghiên cứu triển khai 1991-1992 “Thuốc chữa bệnh sốt rét từ Thanh hao”; Trường ĐH Dược và Cty DLTU 1 đã thực hiện các đề tài về nghiên cứu bán tổng hợp Artesunat và Artemether.

Về mặt nghiên cứu khoa học phục vụ việc ứng dụng Art và dẫn chất của nó trong điều trị bệnh sốt rét kháng thuốc, các cơ sở đã tiến hành các đề tài sau:

- Đề tài cấp nhà nước KY01-08 thuộc chương trình KY01(1991-1995) do Viện SRKSTCT chủ trì, có sự phối hợp thực hiện của Phân viện SR Tp. HCM và Phân viện SR Quy Nhơn. Đề tài đã nghiên cứu bổ sung và nâng cao về những thử

nghiệm tiền lâm sàng của thuốc Art và Artesunat của VN so với thuốc của Trung Quốc, nghiên cứu dược động học trên người tình nguyện khỏe mạnh và trên bệnh nhân SR người lớn và trẻ em với các dạng bào chế khác nhau để tìm hiểu đặc tính hấp thu và thải trừ và các chỉ số dược động học của thuốc ở các nồng độ khác nhau. Các thông số này đã góp phần xác định liều lượng và liệu trình điều trị thích hợp đối với Art và Artesunat của VN (phối hợp với trường đại học Upsala của Thụy điển). Phân nghiên cứu lâm sàng nhằm nâng cao hiệu lực của Art trong điều trị SR và giảm tỷ lệ tái phát gần mà vẫn bảo đảm an toàn cho bệnh nhân. Từ 1991 đến 1998 đã điều trị cho 1467 bệnh nhân của những địa phương khác nhau (Nam Bộ, Lâm Đồng, miền Trung và Tây Nguyên) với 18 phác đồ khác nhau, trong đó có 9 phác đồ dùng Art đơn thuần và 9 phác đồ phối hợp Art với các thuốc SR khác. Kết quả cho thấy các phác đồ dùng Art đơn thuần dù có tăng liều hoặc kéo dài liệu trình dùng thuốc vẫn còn tỷ lệ tái phát gần rất cao (9,1% - 36,6%). Trong các phác đồ phối hợp thuốc, phác đồ phối hợp Art + Mefloquin x 3 ngày có thể giảm tỷ lệ tái phát gần xuống còn 5,6%, thậm chí 0%. Phác đồ kết hợp Art + Proguanil cũng cho tỷ lệ tái phát thấp (3,7%) nhưng phải kéo dài 5 ngày và số bệnh nhân chưa nhiều. Những kết quả trên đã được thông báo hàng năm và được đưa vào các văn bản hướng dẫn chuyên môn của Bộ Y tế.

- Đề tài cấp nhà nước “Lâm sàng, điều trị và dịch tễ học sốt rét ác tính, sốt rét kháng thuốc ở VN”, mã số KY01-01 thuộc chương trình KY01 (1991-1995) và đề tài “Góp phần nghiên cứu thuốc SR Dihydroartemisinin hỗn hợp (hay CV8) trong điều trị SR kháng thuốc ở VN” do Bệnh viện Chợ Rẫy tiến hành cũng đã góp thêm những tư liệu khoa học cho việc điều trị SR kháng thuốc bằng thuốc Art và dẫn chất của nó nhằm nâng cao hiệu quả và giảm tái phát.

Ngoài ra, bệnh viện TƯ quân đội 108 cũng tiến hành công trình nghiên cứu các phác đồ điều trị SR kháng thuốc bằng Art và Artesunat, dùng đơn độc hoặc phối hợp với các thuốc SR khác, trên bệnh nhân SR trong quân đội. Kết quả nghiên cứu đã được áp dụng trong các đơn vị quân y, góp phần hạ tỷ lệ SR trong quân đội, đặc

biệt ở Tây Nguyên, từ hai chữ số xuống còn một chữ số.

Nhìn chung, qua cả hai giai đoạn, số lượng Artemisinin đã sản xuất được là:

Năm	Khối lượng (Kg)
1989 – 1990	136,5
1991	125,5
1992	1.447,7
1993	8.000,0

Năm 1993, số lượng Art thu mua được đã đủ dùng cho nhiều năm nên hầu hết các cơ sở sản xuất đã ngừng hoạt động, chỉ còn Viện Dược liệu và CTY DLTU 1 tiếp tục sản xuất và tiếp thị để xuất khẩu.

Tổng số Artemisinin, Artesunat, Artemether nguyên liệu sản xuất được tính đến 1999 là Artemisinin 10.000 kg, Artesunat 3.000 kg, Artemether 160 kg; Tổng cộng trị giá khoảng trên 6.000.000 USD.

Đó là chưa kể số thuốc Art mà Cục Quân y (Bộ Quốc phòng) sản xuất được để cung cấp cho quân đội và làm nghĩa vụ quốc tế.

Tổng số thuốc đã được sử dụng trong chương trình PCSRQG từ 1991 đến 1999 là : 43.500.000 viên Artemisinin 0,25g, 19.100.000 viên Artesunat 0,05g, 1.631.000 lọ thuốc tiêm Artesunat 60mg.

Về giá trị khoa học, cụm công trình có tính mới và tính sáng tạo:

1. Thành công của cụm công trình khẳng định tiềm năng to lớn của nước ta về nghiên cứu, ứng dụng dược liệu làm thuốc và tiềm năng đó được phát huy qua hoạt động của các đề tài cấp nhà nước 64 B-02, 64 C-03-08, KY01-02, KY02-01, Dự án phát triển sản xuất Art và dẫn chất, Dự án Việt Nam-Hà Lan về sản xuất và ứng dụng Art ở VN và một số đề tài cấp Bộ đã tạo nên những sáng tạo Việt Nam trong khoa học và công nghệ về nghiên cứu sản xuất và ứng dụng Art và dẫn chất từ cây THHV.

2. Là mô hình đầu tiên ở nước ta đáp ứng được những yêu cầu quốc tế về nghiên cứu một loại thuốc mới từ dược liệu trong đó có một số nội dung, lĩnh vực nghiên cứu khoa học mới lần

dầu tiên được triển khai ở nước ta như nghiên cứu dược động học, sinh dược học, nghiên cứu hậu thị trường của thuốc... Những kết quả của công trình sẽ là cơ sở giúp Việt Nam có thể đăng ký sản phẩm của mình với nước ngoài.

3. Việt Nam là nước thứ hai trên thế giới thành công trong chương trình PCSR có sự đóng góp quan trọng của các thuốc chống SR là Art và dẫn chất Artesunat được chiết xuất từ cây THHV mọc ở Việt Nam.

4. Đề tài này đã tạo môi trường nghiên cứu khoa học thuận lợi cho nhiều luận án của nghiên cứu sinh (7 luận án Tiến sĩ và 2 luận án Thạc sĩ) và hàng loạt các công bố khoa học trên các tạp chí, hội nghị trong nước và thế giới. Đồng thời thúc đẩy hợp tác quốc tế trong NCKH của các nhà khoa học Việt Nam và quốc tế (Bungari, Thụy Điển, Hà Lan, TCYTTG...).

Về giá trị công nghệ, khả năng áp dụng và hiệu quả công trình:

1. Đã có được những công nghệ thích hợp, sáng tạo cho phép đưa việc sản xuất các thuốc sốt rét trên cơ sở Art được chiết xuất từ THHV lên quy mô công nghiệp: công nghệ chọn giống, nhân giống, công nghệ trồng cây THHV có hàm lượng Art và năng suất cao; công nghệ chiết xuất Art và bán tổng hợp các dẫn chất.

	Năm 1991	Năm 1998
Số bệnh nhân bị SR	1.091.251	383.117
Số ca sốt rét ác tính	31.741	1.447
Số ca tử vong do SR	4.646	183
Số vụ dịch SR	144 vụ dịch lớn	4 vụ dịch nhỏ

2. Với khối lượng thuốc Art và dẫn chất cung cấp cho chương trình phòng chống SR bằng công nghệ Việt Nam, cụm công trình đã góp phần đáng kể chặn đứng và đẩy lùi được dịch bệnh sốt rét trên phạm vi cả nước. Cụ thể:

Việc nghiên cứu sử dụng Art và Artesunat do Việt Nam sản xuất đã góp phần quan trọng thực hiện xuất sắc 3 mục tiêu của chương trình PCSR ở Việt Nam là giảm chết 96%, giảm dịch 92%, giảm mắc sốt rét 65%, trong đó sốt rét ác tính giảm 95%, đã chặn đứng và đẩy lùi được dịch bệnh sốt rét trên toàn quốc ở một bệnh liên quan nhiều đến vùng sâu, vùng xa nước ta. Kết quả

trên được Tổ chức Y tế thế giới đánh giá cao và coi Việt Nam là một trong những nước thành công nhất trong chiến lược chống sốt rét toàn cầu trong những năm vừa qua.

3. Về mặt kinh tế, các sản phẩm Art, Artesunat, Artemether chẳng những đã giúp nước ta tiết kiệm được nguồn ngoại tệ nhập khẩu thuốc mà còn trở thành nguồn xuất khẩu đáng kể trị giá hàng triệu USD/năm. Kết quả đó đã khẳng định Việt Nam nói chung, ngành y tế nói riêng có thể tự túc thuốc SR từ Art và dẫn chất cho nhu cầu trong nước và xuất khẩu.

4. Về mặt xã hội, việc đẩy lùi bệnh sốt rét trong những năm gần đây để góp phần đáng kể vào thành tích của sự nghiệp bảo vệ sức khỏe nhân dân, cải thiện đời sống đồng bào các dân tộc, thực hiện chính sách dân tộc của Đảng, Chính phủ, góp phần bảo vệ sức khỏe bộ đội, công an phục vụ quốc phòng và hợp tác quốc tế (với Lào, Campuchia ...), giúp tạo công ăn việc làm cho người lao động.

Thành công này là kết quả của sự lãnh đạo khoa học kỹ thuật của Đảng, Chính phủ, sự quản lý của các Bộ ngành, sự hợp tác XHCN của hàng trăm nhà khoa học thuộc các chuyên ngành khác nhau (dược, y, sinh học, hoá học...) của các viện nghiên cứu, bệnh viện, trường đại học, doanh nghiệp.

Ghi chú: (*) Cụm công trình được phong tặng Giải thưởng HCM gồm 4 công trình:

1- “Nghiên cứu Artemisinin, một hoạt chất chiết xuất từ cây THHV mọc ở VN, phục vụ công tác phòng và chữa sốt rét cho bộ đội” do Trung tâm kiểm nghiệm và nghiên cứu dược quân đội chủ trì. Chủ nhiệm: PGS.TS. Đinh Huỳnh Kiệt.

2- “Nghiên cứu ứng dụng thuốc Artemisinin và dẫn chất trong điều trị bệnh sốt rét ở VN” do Viện Sốt rét Ký sinh trùng và Côn trùng chủ trì. Chủ nhiệm: GS. Vũ Thị Phan.

3- “Nghiên cứu nâng cao hiệu quả trồng cây THHV và công nghệ chiết xuất Artemisinin” do Viện Dược liệu chủ trì. Chủ nhiệm: GS.TS. Nguyễn Gia Chấn.

4- “Phát huy cao độ nội lực trong việc đẩy nhanh quá trình nghiên cứu và sản xuất thuốc chữa bệnh sốt rét làm từ Artemisinin và dẫn chất” do Dự án phát triển sản xuất Artemisinin và dẫn chất Bộ Y tế chủ trì. Chủ nhiệm: GS. Phạm Song.