

NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

Tap chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 161-163)

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ ĐẾN THỜI GIAN VÀ TỶ LỆ MỌC MẦM CỦA MỘT SỐ LOẠI HẠT GIỐNG CÂY THUỐC DI THỰC

Phạm Văn Ý- Viện Dược liệu
(Nhận bài ngày 13 tháng 11 năm 2001)

Summary

Influence of Temperatures on Time and Germination Rates of Seeds of Some Introduced Medicinal Plants

Under Vietnamese conditions, seeds of *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Saussurea lappa* Clarke and *Geranium nepalense* Kudo germinate optimally at 25, 30 and 20°C, respectively. The maximal germination rates of *Silybum marianum* (63.3%), *Saussurea lappa* (91.1%) and *Geranium nepalense* (95.7%) were reached in 9, 3 and 6 days after treatment, respectively.

Key words: *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Saussurea lappa* Clarke, *Geranium nepalense* Kudo, Temperature, Germination Rate and Time.

1. Đặt vấn đề

Nhiệt độ là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự mọc mầm của hạt giống [4]. Mỗi loại cây trồng khác nhau có những yêu cầu nhiệt độ mọc mầm khác nhau. Người ta đã xác định được nhiệt độ tối thiểu để hạt mọc mầm của các loại rau mùa nóng là 15°C, cà rốt là 5°C, hành là 2°C [1].v.v... Tuy nhiên, việc xác định nhiệt độ tối ưu đối với tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây thuốc ở nước ta hầu như chưa được đề cập. Để tìm hiểu vấn đề này, bước đầu chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của một số cây thuốc di thực như vân mộc hương, cúc gai và lão quan thảo. Những cây thuốc này đã và đang có nhu cầu sử dụng ở trong nước, xuất khẩu và đang được nghiên cứu tạo thuốc mới để phòng và chữa bệnh hiểm nghèo.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu:

Hạt giống cúc gai (*Silybum marianum* (L.)

Gaertn.), vân mộc hương (*Saussurea lappa* Clarke) và lão quan thảo (*Geranium nepalense* Kudo) được thu ở trạm nghiên cứu cây thuốc Sa Pa.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

Sau khi thu hoạch, các loại hạt giống được phơi khô đạt độ ẩm 7%, sau đó được làm sạch, loại bỏ hạt lép, lủng và tạp chất, đựng trong lọ nút mài có thể tích 125ml, bảo quản trong kho lạnh.

- Hạt lão quan thảo được xử lý bằng H₂SO₄ đậm đặc trong 3 phút trước khi tiến hành thí nghiệm.

- Hạt được gieo trên giấy lọc bão hoà nước, trong hộp petri. Mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần gieo 100 hạt để trong tối hoàn toàn ở các nhiệt độ: 15°, 20°, 25°, 30° và 35°C.

- Tỷ lệ nảy mầm được theo dõi vào các thời điểm: 3, 6, 9 và 12 ngày.

- Kết quả thí nghiệm được xử lý theo "Phương pháp nghiên cứu thực vật" [2].

3. Kết quả nghiên cứu

Bảng 1. : Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây cúc gai.

Nhiệt độ (°C)	Tỷ lệ mọc mầm (%)			
	Sau 3 ngày	Sau 6 ngày	Sau 9 ngày	Sau 12 ngày
15	7,8 ± 1,9	43,7 ± 5,4	45,9 ± 5,6	45,9 ± 5,6
20	12,2 ± 1,9	56,6 ± 3,2	56,6 ± 3,2	56,6 ± 3,2
25	5,1 ± 6,5	61,0 ± 3,9	63,3 ± 3,3	63,3 ± 3,3
30	36,6 ± 6,6	44,4 ± 3,8	48,8 ± 5,1	48,8 ± 5,1
35	12,2 ± 3,8	12,2 ± 3,8	12,2 ± 3,8	12,2 ± 3,8

Bảng 2: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây vân mộc hương.

Nhiệt độ (°C)	Tỷ lệ mọc mầm (%)			
	Sau 3 ngày	Sau 6 ngày	Sau 9 ngày	Sau 12 ngày
15	0	0	0	0
20	0	35,5 ± 5,0	51,1 ± 2,9	66,6 ± 6,6
25	73,3 ± 3,7	83,3 ± 6,7	83,3 ± 6,7	83,3 ± 6,7
30	91,1 ± 1,9	91,1 ± 1,9	91,1 ± 1,9	91,1 ± 1,9
35	50,5 ± 0,9	76,4 ± 6,3	76,4 ± 6,3	76,4 ± 6,3

Bảng 3: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây lão quan thảo.

Nhiệt độ (°C)	Tỷ lệ mọc mầm (%)			
	Sau 3 ngày	Sau 6 ngày	Sau 9 ngày	Sau 12 ngày
15	17,7 ± 1,9	63,3 ± 5,7	86,8 ± 2,0	86,8 ± 2,0
20	64,4 ± 5,4	95,7 ± 3,7	95,7 ± 3,7	95,7 ± 3,7
25	28,4 ± 6,0	71,5 ± 5,2	80,1 ± 3,8	80,1 ± 3,8
30	0	53,5 ± 7,7	76,6 ± 9,8	76,6 ± 9,8
35	0	0	0	0

Kết quả nghiên cứu ở bảng 1,2,3 cho thấy:

Nhiệt độ có ảnh hưởng rõ rệt đến sự mọc mầm của các loại hạt giống. Hạt giống cúc gai bắt đầu mọc mầm sau 3 ngày và kết thúc sau 9 ngày ở hầu hết các ngưỡng nhiệt độ, nhiệt độ thấp 15°C hoặc cao 35°C làm giảm đáng kể tỷ lệ mọc mầm của hạt. Hạt có thể mọc mầm tốt trong khoảng nhiệt độ từ 20°C đến 30°C. Tuy nhiên, nhiệt độ tối ưu để hạt cúc gai mọc mầm là 25°C, ở mức nhiệt độ này chỉ sau 3 ngày tỷ lệ mọc mầm của hạt đã đạt 51,1%, trong khi đó ở 15°C là 7,8%, 20°C là 12,2%, 30°C là 36,6% và ở 35°C là 12,2%.

Hạt vân mộc hương không thể mọc mầm ở 15°C (sau 12 ngày theo dõi), tỷ lệ mọc mầm tăng dần từ 20 đến 30°C, sau đó giảm dần. Nhiệt độ tối ưu để hạt vân mộc hương mọc mầm là 30°C. Ở nhiệt độ này, chỉ sau 3 ngày hạt đã mọc xong hoàn toàn và đạt tỷ lệ cao nhất (91,1%); trong khi đó, ở 20°C hạt chưa mọc mầm, ở 25°C mọc 73,3% và ở 35°C mọc 50,5%.

Ngược lại với hạt vân mộc hương, tỷ lệ mọc mầm của hạt lão quan thảo giảm dần khi nhiệt độ tăng cao từ 25 đến 30°C và đặc biệt khi nhiệt độ lên đến 35°C thì hạt không thể mọc mầm được. Nhiệt độ tốt nhất để hạt mọc mầm là 20°C, ở nhiệt độ này sau 3 ngày tỷ lệ mọc mầm của hạt đạt 64,4% và kết thúc mọc mầm sau 6 ngày với tỷ lệ

cao nhất là 95,7%; trong khi đó tỷ lệ mọc mầm của hạt ở 15°C là 17,7%, ở 25°C là 28,4% và ở 30°C hạt chưa mọc mầm. Ở các ngưỡng nhiệt độ này thời gian mọc mầm kéo dài đến 9 ngày với tỷ lệ thấp hơn hẳn so với ngưỡng 20°C.

Rõ ràng là nhiệt độ đóng vai trò quan trọng trong quá trình mọc mầm của hạt. Nhận thức được vấn đề này, trong trồng trọt, cần chọn đúng thời vụ gieo trồng nhằm nâng cao tỷ lệ mọc mầm của hạt, tiết kiệm hạt giống và sức lao động.

4. Kết luận

- Hạt cúc gai có thể mọc tốt trong khoảng nhiệt độ từ 20 đến 30°C, nhưng nhiệt độ tối ưu để hạt mọc mầm là 25°C.

- Hạt vân mộc hương không có khả năng mọc mầm ở 15°C (sau 12 ngày theo dõi), nhưng nó có khả năng mọc mầm tốt trong khoảng nhiệt độ từ 20 đến 35°C. Tuy nhiên, nhiệt độ tối ưu để hạt giống vân mộc hương mọc mầm là 30°C.

- Cả hai cây thuốc cúc gai và vân mộc hương đều có thời gian mọc mầm ngắn. Ở khung nhiệt độ cho phép, hạt bắt đầu mọc mầm sau 3 ngày và kết thúc sau 9 ngày.

- Hạt lão quan thảo không thể mọc mầm được ở nhiệt độ 35°C nhưng lại mọc được ở 20°C.

Tài liệu tham khảo

1) Mai Phương Anh, Trần Văn Lại, Trần Khắc Thi - Rau và nghề trồng rau. NXB nông nghiệp, 1996; 2) R.M.Klein và D.T.Klein - Phương pháp nghiên cứu thực vật, Tập 1, NXB khoa học và kỹ thuật, 1979; 3) Vũ Văn Vu, Hoàng Đức Cự, Vũ Thanh Tâm, Trần Văn Lại - Sinh lý thực vật - Giáo trình cao học, NXB Nông nghiệp, 1993.

Tap chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 163-166)

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU CÂY SÂM CAU

Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Thị Phương Lan

Viện Dược liệu

(Nhận bài ngày 31 tháng 8 năm 2001)

Summary

Preliminary Study on *Curculigo orchoides*

Curculigo orchoides Gaertn, Hypoxydaceae, a traditional medicinal plant used by the ethnic minorities, has been investigated on botany, chemistry and biological activities.

Alcohol extract of the plant contained polyphenols, sterols, saponins and carotenoids. The polyphenol fraction gave seven R_f -values on TLC. The main genin, obtained by hydrolysis in ethanol 80% containing HCl 5%, filtration on Sephadex LH₂₀ and fractional crystallation, proved to be 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid by means of chemical analysis, UV and IR spectral data.

The total polyphenols showed a high antioxidative activity by the in vitro method of Blagodorov and tonic effect by Brekman's swim test in mice.

Key words: Curculigo, Polyphenols, Antioxydant, Tonic Effect.

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, cùng với việc điều tra nghiên cứu tài nguyên và bảo tồn cây thuốc dân tộc, nhiều cây thuốc dân gian đã được phát hiện và nghiên cứu ứng dụng trong việc bảo vệ sức khoẻ cộng đồng; trong đó sâm cau là loài cây được dùng làm thuốc bổ, chữa liệt dương và được đồng bào dân tộc Cao Lan (Tuyên Quang) trồng và sử dụng rộng rãi.

Sâm cau (*Curculigo orchoides* Gaertn.) thuộc họ Tỏi voi lùn (*Hypoxidaceae*) đã được đề cập trong các tài liệu ở trong nước và nước ngoài. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có tác giả nào trong nước nghiên cứu kỹ về cây này để làm thuốc.

Năm 1995, trong công trình tốt nghiệp đại học của mình, Nguyễn Thị Thu Hà đã nghiên cứu một loài sâm cau ở Lai Châu có tên khoa học là *Curculigo latifolia* Dryand. ex Ait. f. Cây còn được gọi là sâm cau lá rộng và được dùng để kích thích tiêu hoá, lợi tiểu.

Nhiều loài *Curculigo* cũng được dùng làm thuốc ở các nước Ấn Độ, Trung Quốc, Lào, Campuchia và các nước Châu Phi. Một số tác giả Nhật Bản, Ấn Độ, Trung Quốc đã nghiên cứu và phát hiện trong sâm cau có nhiều phenolglycosid

(Curculigosid), các hợp chất aliphatic ceton, saponin thuộc nhóm cycloartan và nhóm ursan; ngoài ra, còn có stigmasterol, cycloartenol.

Trong công trình này, chúng tôi nghiên cứu rễ cây sâm cau mọc hoang và được trồng ở Tuyên Quang với các nội dung:

- Sơ bộ về mặt hoá học.
- Tác dụng antioxidant và tăng lực.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây sâm cau ở huyện Sơn Dương - Tuyên Quang.

Mẫu cây để nghiên cứu về thực vật được thu hái vào tháng 6, 7, lúc cây ra hoa.

Dược liệu là thân rễ được thu hái vào tháng 10-12, lúc phần trên mặt đất bắt đầu lụi, rửa sạch, thái lát, sấy ở 60-70° C đến khô, rồi tán bột.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Về thực vật

Nghiên cứu về hình thái bằng phương pháp mô tả trực tiếp, quan sát dưới kính lúp [T²DL]; so sánh đối chiếu với khoá phân loại thực vật của Võ

Văn Chi [Võ Văn Chi - Từ điển cây thuốc Việt Nam - 1997 và khoá phân loại của H. Lecomte [Tập 6, 1906-1937].

Về hoá học

-Định tính các nhóm chất hữu cơ trong được liệu bằng thuốc thử hoá học đặc hiệu và sắc ký lớp mỏng [1,2,3,5].

-Bản mỏng tráng sẵn silica gel GF₂₅₄ (20 x 20 cm) của hãng Merck

-Sắc ký cột dùng chất hấp thụ là silica gel của Viện kiểm nghiệm và Sephadex LH20.

-Phổ tử ngoại (UV) đo trên máy UV-vis Spectrophotometer Cary 1E Varian (Australia) tại phòng thí nghiệm trung tâm - trường đại học dược Hà Nội.

-Phổ tử ngoại (IR) được đo trên máy NEXUS 870 (Nicolet) ở Viện dược liệu.

Về tác dụng sinh học

-Xác định hoạt động chống oxi hoá invitro bằng phương pháp Bladogorop [9].

- Thử tác dụng tăng lực bằng nghiệm pháp

chuột bơi kiệt sức của Brekhman (Swim test, cải tiến để áp dụng trên chuột nhắt trắng)

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Thẩm định tên khoa học

Sâm cau là một cây cỏ, cao 10-20 cm. Thân rễ hình trụ dài. Lá hẹp, dài 15-30 cm, rộng 1,5-3,5 cm, gốc thuôn, đầu nhọn. Hoa màu vàng mọc thành cụm 3-5 hoa trên một trụ ngắn nằm trong bẹ lá; lá dài 3, có lông dài ở lưng; cánh hoa 3, cùng dạng với lá đài, nhẵn; nhị 6, xếp thành hai dãy, chỉ nhị ngắn hơn bao phấn; bầu hình thoi, có lông xồm xoàm, kéo dài thành mỏ, đầu nhụy hình trái xoan, chia 3

So sánh với khoá phân loại thực vật và được sự giúp đỡ của các chuyên gia cây sâm cau có tên khoa học là *Curculigo orchoides* Gaertn. họ Tỏi voi lùn (*Hypoxidaceae*).

3.2. Nghiên cứu về thành phần hoá học

3.2.1. Định tính các nhóm chất chính trong dược liệu. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả định tính các hợp chất tự nhiên trong thân rễ sâm cau

Hợp chất	Các phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận
Phytosterol	Phản ứng với anhydric acetic và H ₂ SO ₄ đặc	+	Có
Glycosid tim	Phản ứng Liberman – Bouchardat Phản ứng Baljet Phản ứng Legal	- - -	Không có
Alcaloid	Phản ứng với thuốc thử Dragendorff Phản ứng với thuốc thử Mayer Phản ứng với thuốc thử Bouchardat	- - -	Không có
Tanin	Phản ứng với thuốc thử FeCl ₃ 5% Phản ứng với dung dịch gelatin 1%	++ -	Không có
Acid hữu cơ	Phản ứng với Na ₂ CO ₃	-	Không có
Đường khử	Phản ứng với thuốc thử Fehling	++	Có
Saponin	Quan sát hiện tượng tạo bọt Phản ứng Salkovski	+ +	Có
Chất béo	Vết dầu không để lại trên giấy lọc	-	Có
Caroten	Phản ứng với H ₂ SO ₄ đặc	+	Có
Acid amin	Phản ứng với thuốc thử Ninhydrin	-	Không có
Flavonoid	Phản ứng với kiềm Phản ứng với FeCl ₃ 5% Phản ứng Cyanidin	- ++ -	Không có
Coumarin	Phản ứng mở vòng lacton Phản ứng với thuốc thử Diazo Hiện tượng huỳnh quang tăng lên ở môi trường kiềm	- + -	Không có

Nhận xét: Trong thân rễ sâm cau, có saponin và polyphenol.

Bằng sắc ký lớp mỏng 1 chiều và 2 chiều trên bản mỏng silica gel (Merck), với các hệ dung môi: ethylacetat-acid formic-nước (10:2:3); cloroform-methanol-ethylacetat-(n-buthanol)-nước (4:4:8:1:2); cloroform-(n-buthanol)-methanol-nước (4:8:3:4); ethylacetat-methanol-nước (65:20:15). Thuốc thử hiện màu là vanilin 3%/acid acetic đặc. Kết quả: trong dịch chiết còn có ít nhất 7 vết đặc trưng cho glycosid.

3.2.2. Phân lập polyphenol

200g thân rễ sâm cau chiết với aceton 70% trong nước (3 x 500 ml). Cát loại dung môi dưới áp suất thấp. Dịch nước được lắc với n-hexan (3 x 200 ml) để loại tạp. Loại nước thu được 25 g cần khô. Tiến hành sắc ký trên cột Sephadex LH20 (60 x 3 cm) với MeOH / H₂O (theo tỉ lệ từ 0% đến 100%, với bước nhảy là 10%).

Các phân đoạn được kiểm tra bằng phản ứng với FeCl₃ 5% và sắc ký lớp mỏng. Phân đoạn tương ứng với tỉ lệ dung môi 30% thu được 1 vết. Sau khi xử lý lại bằng sắc ký cột nhiều lần thu được chất sạch ký hiệu là P₁. Vì điều kiện chưa cho phép, chúng tôi mới chỉ nhận dạng chất P₁ bằng phổ UV và phổ IR.

Phổ UV của P₁ đo trong ethanol cho các đỉnh hấp thụ cực đại ở 284nm, 258nm, 206nm và một vai ở 213nm.

Phổ IR của P₁ đo trong viên nén KBr cho các vân ở 3886,84; 2959,82; 2931,16; 1723,83; 1683,95; 1597,38; 1434,16; 1278,85 cm⁻¹. Đối chiếu với thư viện phổ cho thấy P₁ giống tới 75% chất 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid.

3.3. Nghiên cứu hoạt chất chống oxy hoá trên invitro và tác dụng tăng lực của dịch chiết polyphenol toàn phần

3.3.1. Hoạt tính chống oxy hoá của polyphenol toàn phần.

Nguyên tắc: Tiến hành peroxy hoá acid béo chưa no (Tween 80) ở nhiệt độ và thời gian nhất định để tạo MDA (malonyldialdehyd). MDA phản ứng với acid thiobarbitric tạo ra hợp chất màu hồng. Đo cường độ màu biết được lượng MDA nhiều hay ít. Nếu mẫu thử có chất chống oxy hoá thì lượng MDA thấp hơn so với mẫu đối chứng không có chất chống oxy hoá. Hoạt độ chống oxy hoá được tính bằng giá trị (%) MDA bị ức chế ở mẫu thử so với mẫu đối chứng và được tính bằng công thức:

Hoạt độ chống oxy hoá % (Hd%)

$$Hd\% = \frac{D_c - D_T}{D_c} \times 100\%$$

D_c: Mật độ của mẫu đối chứng

D_T: Mật độ của nước thử

Kết quả được nêu ở bảng 2.

Bảng 2. Tác dụng chống oxy hoá của polyphenol chiết từ thân rễ sâm cau.

STT	MDA. 10 ⁻⁵ M của các mẫu thử sau phản ứng			
	2%	4%	5%	Đối chứng
1	0,061	0,062	0,060	0,151
2	0,090	0,049	0,050	0,174
3	0,063	0,047	0,060	0,175
4	0,065	0,057	0,047	0,137
5	0,079	0,058	0,049	0,134
6	0,079	0,058	0,055	0,133
Giá trị thực	0,073 ±0.012	0,055 ±0.006	0,054 ±0.006	0,151 ±0.020
Hd %	51.28	63.25	64.10	

Nhận xét: Thân rễ sâm cau có tác dụng chống oxy hoá tương đối cao, polyphenol 5%/nước có tác dụng chống oxy hoá 64,1% trong điều kiện thí nghiệm.

3.3.1. Tác dụng tăng lực của polyphenol toàn phần (dung dịch 10%)

Chuột cống trắng có khối lượng 50-70 g khoẻ mạnh, không phân biệt đực - cái, được mang vào đười gia trọng bằng 10% thể trọng. Cho bơi từng con trong thùng nước hình trụ dung tích 20 lít, chiều cao cột nước 35 cm, nhiệt độ 32 ± 1° C.

Xác định thời gian bơi lần thứ nhất: Mỗi chuột

được uống nước muối sinh lý (dung dịch NaCl 9 ‰) 1ml/100g chuột. Sau khi cho uống 1 giờ, cho chuột bơi và xác định thời gian bơi lần thứ nhất. Thời gian bơi tính từ khi chuột được thả vào thùng nước, bơi đến khi chìm khỏi mặt nước 2 giây và không trôi lên được nữa. Vớt chuột ra lau khô.

Xác định thời gian bơi lần thứ hai của chuột: phân bố ngẫu nhiên chuột đã bơi lần thứ nhất vào 3 lô. Lô 1 (đối chứng) cho uống nước muối sinh lý liều 1ml/100g. Lô 2, lô 3 cho uống dung dịch poly-

phenol toàn phần của sâm cau với liều khác nhau. Mỗi chuột uống 3 ngày, mỗi ngày 1 lần. Ngày thứ 3, sau khi cho uống 1 giờ thì cho chuột bơi. Xác định thời gian bơi lần thứ hai của 3 lô và so sánh thống kê giữa lô thử với lô đối chứng.

Đánh giá tác dụng tăng lực bằng cách tính toán tỉ lệ % thời gian bơi lần thứ hai so với lần thứ nhất rồi so sánh đánh giá thống kê tỉ lệ giữa các lô với nhau. Kết quả ở bảng 3.

Bảng 3. So sánh thời gian bơi của lô thuốc so với lô đối chứng

Lô chuột	Tỷ lệ bơi % (lần thứ hai/ lần thứ nhất)	Thời gian bơi so với đối chứng (%)	Độ tin cậy P
Lô đối chứng	251.3±86.9	100	
Lô thử liều (0,115g/kg)	260.4±125,5	103.6	> 0,05
Lô thử liều (0,229g/kg)	378,2±145,3	150.5	< 0,05

Nhận xét:

- Với liều 0,115g /kg chuột, thời gian bơi của mẫu thử so với mẫu đối chứng không tăng nhiều và không có ý nghĩa thống kê.

- Với liều 0,229g/kg chuột, thời gian bơi của mẫu thử so với mẫu đối chứng sau khi uống thuốc và trước khi uống thuốc tăng lên rõ rệt với mức ý nghĩa $\alpha=0,05$ (độ tin cậy $P<0,05$)

4. Kết luận

Bước đầu nghiên cứu cây sâm cau, chúng tôi đã thu được những kết quả sau:

- Bằng các thuốc thử đặc hiệu và sắc ký lớp mỏng, đã chứng minh trong cây có sterol, polyphenol, saponin, đường khử và caroten.

- Đã chiết polyphenol toàn phần từ thân rễ của cây bằng sắc ký lớp mỏng và phát hiện ít nhất có 7 vết. Bằng sắc ký cột đã phân lập và sơ bộ nhận dạng chúng bằng phổ UV và IR.

- Đã chứng minh polyphenol toàn phần có tác dụng chống oxy hoá cao và tác dụng tăng lực.

Tài liệu tham khảo

- 1). Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Việt Tựu. Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc, NXB Y học thành phố Hồ Chí Minh, 1985; 2). Bài giảng Dược liệu, 1998; Võ Văn Chi, Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB Y học, 1997, 1028; 3). H. Lecomte, Flore general de L'Indochine, Tome 6, 683-685; 4). Kubo Michinori, Namba K., Nagamoto N. Nagao T., A new phenolic glycosid, curculicoside from rhizomes of *C. orchioides*, *Planta med.*, 47(1),1983, 52-5; 5). Mirsa Triguna N., Singh R., Curculigol, a cycloartane triterpene alcohol from *C. orchioides*, *Phytochemistry*, 29(3),1990, 929-31; 6). Xu J. P., Xu R. S., Phenylglycoides from *C. orchioides*, *Yaoxue Xuebao*, 27(5),1992, 353-7. 7). Brekhman, I.I. Man and Biologically Active Substances, The effects of drugs, Diet and Pollution on Health, Pergamon Prees Ltd., Oxford, 1980.

Tap chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 166-170)

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU VỀ THỰC VẬT VÀ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CÂY CẦN SEN RỪNG

*Vũ Thế Đông - Bệnh viện Y học cổ truyền Tây Ninh
Nguyễn Việt Tựu, Nguyễn Minh Đức, Vũ Thị Bạch Tuyết, Trần Thị Vy Cẩm
Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh
(Nhận bài ngày 2 tháng 4 năm 2001)*

Summary

Preliminary Results of the Study on Botany and Chemical Composition of *Crataeva adansonii*

A medicinal plant known in Vietnamese as “can sen rung” has been identified to be Crataeva adansonii DC. (Capparaceae). Phytochemical studies revealed that the stem bark contains saponins (3.09%), alkaloids (2.6%), phytosterols, essential oil, organic acids, reduced sugars and uronic compounds.

Key words: Crataeva adansonii DC., Botany, Chemical Composition.

I. Đặt vấn đề

Cần sen rừng là cây thuốc mọc tự nhiên, có tính năng hoạt huyết, giải độc, an thần. Vỏ cây đã được các tổ chức trị y học cổ truyền và người dân tỉnh Tây Ninh và Campuchia dùng từ lâu để trị vết thương bầm tím, rắn độc hoặc côn trùng cắn. Vỏ rễ chữa bế kinh, kinh nguyệt không đều. Hoa được sử dụng điều trị tâm trạng hồi hộp, tim đập mạnh.... Tuy nhiên, việc sử dụng cây cần sen rừng làm thuốc mới chỉ dựa vào kinh nghiệm nhân dân. Do đó, mục đích của đề tài này là nghiên cứu thực vật học và thành phần hoá học một số bộ phận của cây để xác định tên khoa học và bước đầu góp phần tiêu chuẩn hoá một dược liệu có giá trị chữa bệnh.

II. Phương pháp nghiên cứu

1. Điều tra, khảo sát thực địa

Từ tháng 6 năm 1992 đến tháng 10 năm 1993, chúng tôi đã tiến hành điều tra khảo sát thực địa cây cần sen rừng mọc ở một số nơi trong tỉnh Tây Ninh, đem giống về trồng ở Bệnh viện y học cổ truyền Tây Ninh và thu thập, tổng hợp kết quả chữa bệnh của cây này từ năm 1984 đến nay.

2. Nghiên cứu thực vật và hoá học

2.1. Nghiên cứu thực vật

2.1.1. Điều tra khảo sát nơi phân bố và trồng trọt để thu thập tư liệu về đặc điểm sinh thái, sinh trưởng của cây qua từng thời điểm. Làm tiêu bản, vi phẫu thực vật, bột dược liệu.

2.1.2. Tổng hợp đặc điểm và đối chiếu với các tài liệu phân loại thực vật để xác định cụ thể tên khoa học.

2.2. Nghiên cứu thành phần hoá học

2.2.1. Do số lượng hoa và vỏ rễ thu được có hạn, nên việc nghiên cứu được tiến hành trên vỏ cây, bao gồm vỏ thân thu hái cách mặt đất 1m; vỏ cành có đường kính trên 10cm. Các vỏ được phơi, sấy khô, rồi xay bột mịn qua rây số 24.

2.2.2. Xác định sơ bộ hoá thực vật bằng phương

pháp sàng lọc tổng quát dựa vào phản ứng của các nhóm hợp chất.

2.2.3. Định lượng saponin bằng phương pháp cân.

2.2.4. Định lượng alkaloid bằng phương pháp cân.

III. Kết quả nghiên cứu

1. Đặc điểm thực vật học

1.1. Tên địa phương: Cần sen rừng, mì mọt.

1.2. Mô tả:

Cây gỗ, sống nhiều năm, cao 5-10m, phân cành nhiều, có tán rộng; vỏ thân xù xì màu vàng nhạt; vỏ cành non xanh lục đậm có lông bì rải rác. Lá kép có ba lá chét hình trái xoan nhọn, dài 18-20 cm, rộng 8-10 cm, lá chét bên không đối xứng, cuống phụ dài 6-7 mm, phiến mỏng, không lông, mặt trên nhẵn bóng màu lục sẫm, mặt dưới nhạt, khi khô có màu vàng nâu; gân chính và 5-6 cặp gân phụ nổi rõ ở mặt dưới, mép lá nguyên; cuống lá dài 18-20 cm.



Hình 1. Toàn cây cần sen rừng

Hoa mọc thành ngù ở kẽ lá và ở ngọn, nở trước khi cây có lá hay cùng với lá non, cuống hoa dài 2-2,5 cm; 4 lá đài dày; 4 cánh hoa mỏng không bằng nhau màu trắng xen vàng nhạt; 15-18 nhị dài 1-1,5 cm màu tím dính nhau ở gốc, bao phấn màu vàng dài 0,5-1 mm. Cây trên 5 tuổi mới có hoa.

cm; cuống tròn, dài 10-12 cm, có khớp; vỏ quả ngoài mỏng, cứng, nhẵn; vỏ quả giữa dày 0,3- 0,5 cm, xốp; vỏ quả trong dày 1,5- 2 cm màu trắng, dẻo, chứa 3- 4 hạt to hình thận, màu vàng nâu và 2-3 hạt lép, khi chín màu đỏ tím nâu. Mùa hoa, quả vào tháng 8- 11.

Quả nang hình cầu hoặc trái xoan, cao 2,5-3



Hình 2. Lá, hoa, quả cây cần sen rừng

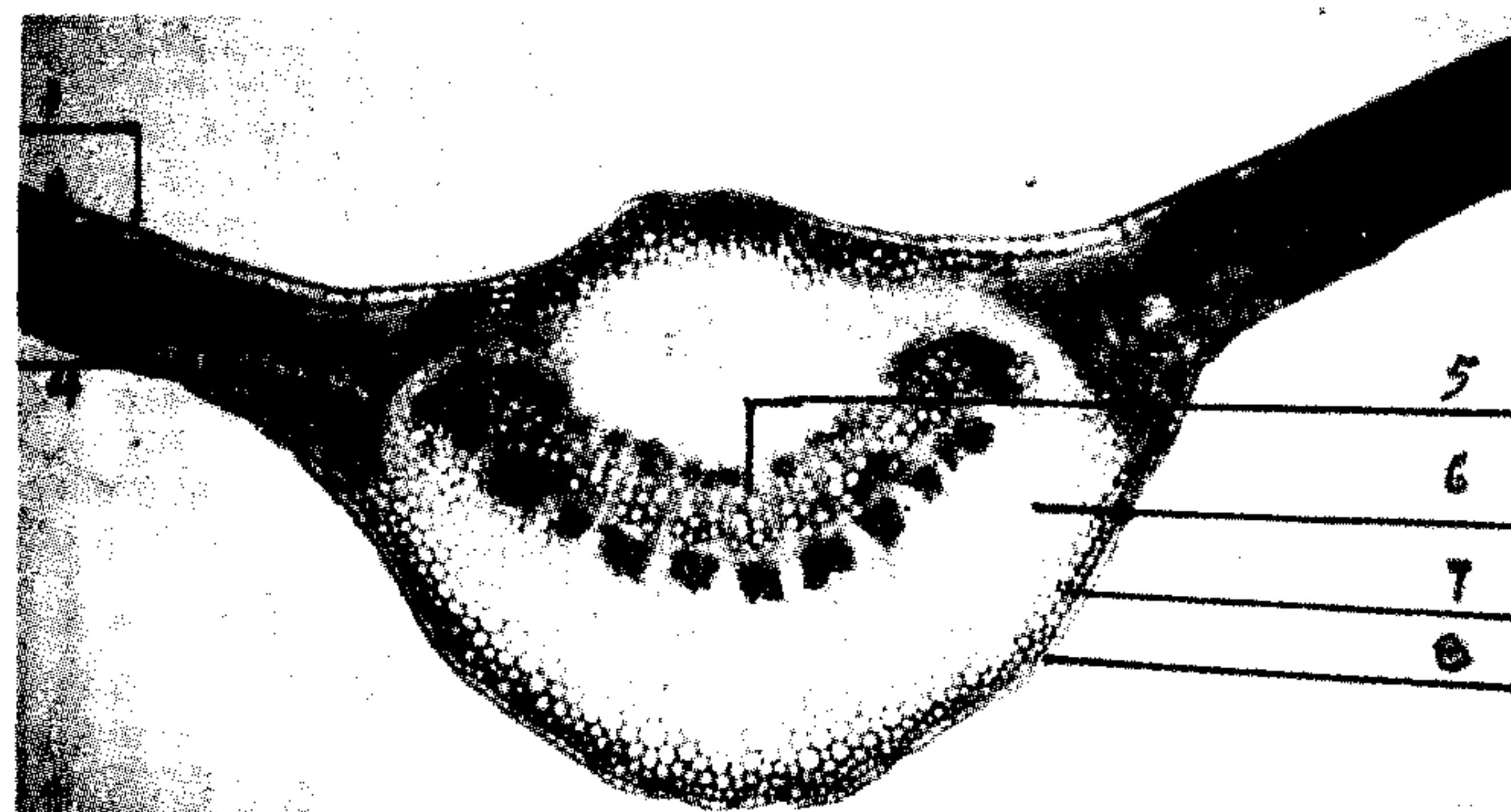
1.3. Đặc điểm vi phẫu

1.3.1. Cấu tạo giải phẫu lá:

- Tiết diện gân giữa lồi ở hai mặt; nhất là mặt dưới.
- Biểu bì gồm một lớp tế bào có cutin răng cưa rõ ở vùng gân giữa.
- Tương ứng với vùng lồi ở giữa có mô dày góc,

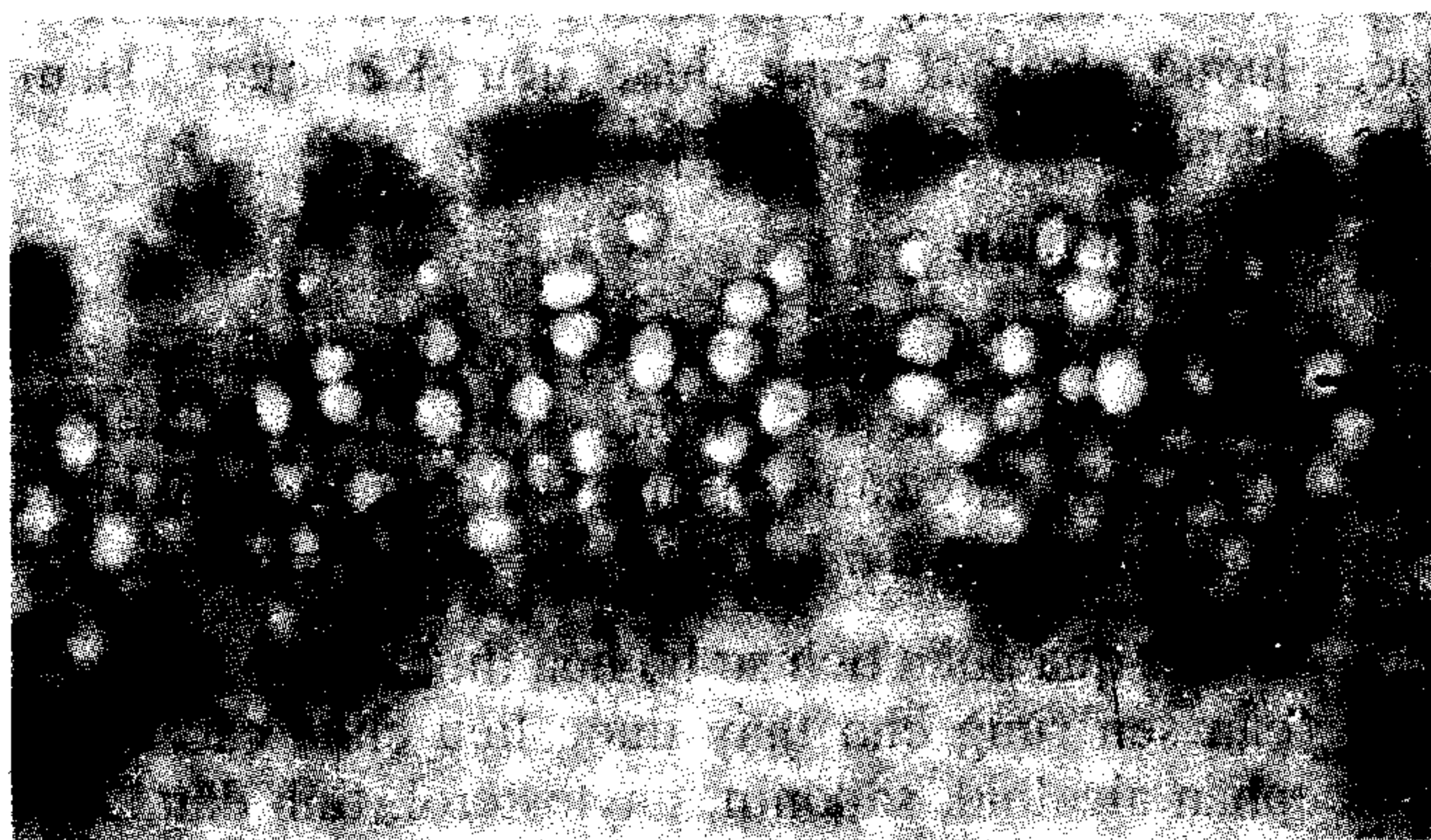
ngay sát lớp biểu bì gồm 2-5 lớp tế bào.

- Bó libe gỗ của gân giữa có hình cung rộng, gỗ ở mặt trên và libe ở mặt dưới.
- Phân triển lá có mô giậu ở sát biểu bì trên, kế đến là mô khuyết ở phần dưới. Trong vùng mô khuyết thường thấy các bó libe - gỗ của gân phụ bị cắt ngang. Ít thấy bị cắt dọc.

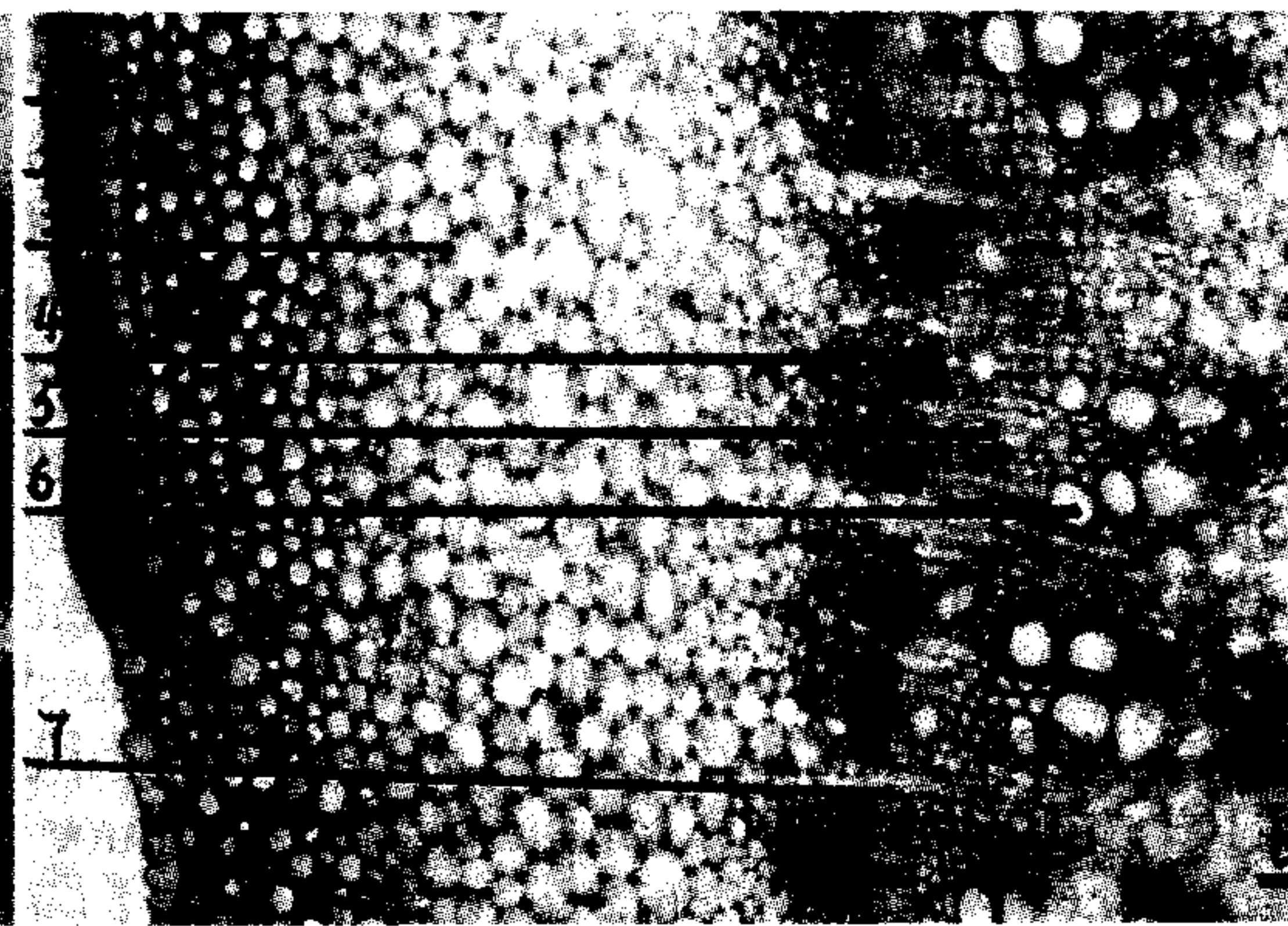


Hình 3. Tiết diện gân chính và phiến lá

1. Biểu bì trên; 2. Vùng mô giậu; 3. Bó libe - gỗ gân phụ; 4. Mô khuyết; 5. Cung libe - gỗ gân chính; 6. Mô mềm (đạo); 7. Mô dày góc; 8. Biểu bì dưới



Hình 4. Cung libe - gỗ của gân chính



Hình 5. Vi phẫu một phần tiết diện cành non

1. Cung gỗ; 2. Cung libe

1.3.2. Cấu tạo giải phẫu cành

- Tiết diện thân tròn hoặc hơi tròn.
- Lớp ngoài cùng là biểu bì (chậm hoá bản).
- Mô dây góc ngay dưới biểu bì, gồm 6-10 lớp tế bào.
- Mô mềm vỏ là lớp tế bào hơi tròn, xếp lộn xộn với những khoảng gian bào (đạo) nhỏ.
- Libe cấp 1 tụ thành từng đám gồm các tế bào nhỏ, xếp lộn xộn, màu hồng sẫm.
- Libe cấp 2 gồm các tế bào xuyên tâm và đồng tâm màu hồng, nhạt hơn libe cấp 1.
- Gỗ phân biệt
- Gỗ cấp 2 gồm nhiều mạch to và mô mềm gỗ xếp theo dãy xuyên tâm.
- Gỗ cấp 1 gồm các mạch to ở phía ngoài, nhỏ ở phía trong, đôi khi lẫn vào gỗ cấp 2 khó phân biệt.
- Thỉnh thoảng các tia tuỷ đi từ vùng tuỷ đến vùng vỏ, chia cắt libe và gỗ thành từng cụm khá đặc trưng.
- Mô mềm tuỷ là các tế bào hơi tròn, to hơn tế bào mô mềm vỏ, màng còn cellulose.

1.3.3. Bột vỏ thân

Bột màu vàng nhạt, không mùi vị, nhuyển, không có xơ, vò trong tay có cảm giác hơi nhám. Thành phần dưới kính hiển vi gồm:

- Đám tế bào của lớp bản màu nâu, gồm các tế bào hình chữ nhật hoặc hơi đa giác, màng dày, không có ống trao đổi.

1. Biểu bì; 2. Mô dây góc; 3. Mô mềm; 4. Libe cấp 1 5. Libe cấp 2; 6. Gỗ cấp 2; 7. Tia tuỷ; 8. Mô mềm tuỷ

- Mô mềm gồm các đám tế bào đa giác màng mỏng, trong suốt.
- Rất nhiều các tế bào mô cứng đa dạng; hình tam giác, hình chữ nhật, hình đa giác rời nhau hoặc dính thành từng đám, màng dày hoặc rất dày, có ống trao đổi rõ.

2. Phân bố, sinh thái

Cây mọc hoang rải rác ở rừng Tây Ninh, thành quần thể giáp biên giới Campuchia, ưa khí hậu mát ẩm, thích nghi với đất thịt nhiều mùn; tái sinh bằng hạt hoặc rễ phụ.

3. Thành phần hoá học

Kết quả phân tích sơ bộ hoá thực vật cho thấy vỏ thân cây cần sen rừng chứa các thành phần alkaloid, saponin, phytosterol, tinh dầu, acid hữu cơ, đường khử và hợp chất uronic.

- Hàm lượng saponin

Cân 25 g bột dược liệu, chiết bằng phương pháp đun hồi lưu với methanol (150 ml x 3 x 2 giờ). Dịch methanol đem bốc hơi đến cạn sệt. Hoà cần vào một ít methanol rồi nhỏ giọt từ từ vào một cốc có mỡ chứa khoảng 100 ml ether, vừa nhỏ vừa khuấy đều. Saponin sẽ cho tủa trắng bông và nhanh chóng lắng thành một lớp màu nâu dưới đáy cốc. Gạn, lọc qua giấy lọc để lớp ether - methanol ở trên, thu lấy cần. Đem sấy nhẹ cần đến khi khô hẳn. Cân và tính hiệu suất. Kết quả: hàm lượng saponin trung bình là 3,09% (lần 1: 3,07; lần 2: 3,05; lần 3: 3,1).

5. Hàm lượng alkaloid

Cân 30 g dược liệu, cho vào bình nón 250 ml có

lập sinh hàn hồi lưu, chiết bằng 150 ml hỗn hợp cồn-CHCl₃ (1:3) có thêm 2% NH₄OH đậm đặc, đun cách thủy 30 phút. Gạn lấy dịch chiết và lọc qua bông. Thêm 80 ml hỗn hợp cồn-CHCl₃-ammoniac trên và chiết tiếp 20 phút nữa. Gạn và lọc dịch chiết. Thêm 80 ml hỗn hợp cồn-CHCl₃ (1:3) và 2 ml NaOH 2N, đem cách thủy 20 phút, rồi gạn, lọc. Nếu dịch chiết chưa hết alcaloid (thử bằng thuốc thử Mayer) thì tiếp tục chiết thêm cho hết. Gộp các dịch chiết lại, kiểm hoá bằng dung dịch NH₄OH đậm đặc đến pH 10 và chiết lại bằng CHCl₃ (40, 40, 20 ml) rồi thêm vào dịch nước trên 2 ml NaOH 0,2N và chiết tiếp bằng 20 ml CHCl₃ nữa. Gộp các dịch CHCl₃ lại và rửa bằng nước cất. Dịch CHCl₃ được làm khan bằng Na₂SO₄ và chuyển vào một chén kết tinh. Rửa lớp Na₂SO₄ bằng 5 ml CHCl₃ và gộp chúng vào phần trên rồi bốc hơi cách thủy cho đến cạn, đem sấy cần ở

100°C đến trọng lượng không đổi. Cạn và tính hàm lượng alcaloid trong được liệu. Kết quả: Hàm lượng alcaloid trung bình là 2,6%

IV. Kết luận

1. Kết quả khảo sát thực vật học đối chiếu với các tư liệu thực vật [1-5] trong đó đặc biệt là tài liệu [1] và [2], cây cần sen rừng Tây Ninh có tên khoa học là *Crataeva adansonii* DC. - Capparaaceae.
2. Kết quả phân tích sơ bộ hoá thực vật vỏ thân cây cần sen rừng cho thấy được liệu chứa các thành phần alcaloid, saponin, phytosterol, tinh dầu, acid hữu cơ, đường khử và hợp chất uronic.
3. Kết quả định lượng cho thấy vỏ thân cây cần sen rừng chứa 3,09% saponin và 2,6% alcaloid. Việc nghiên cứu các hợp chất có tác dụng sinh học đang được tiến hành.

Tài liệu tham khảo

- 1). Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ miền Nam Việt Nam. Quyển 1. In lần 2. Bộ Giáo dục Trung tâm sản xuất học liệu Sài Gòn 1970-1972, tr.532. 2). Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam, q.1, NXB trẻ 1999, tr.599. 3). Võ Văn Chi. từ điển cây thuốc Việt nam. In lần 1. NXB Y học 1997, tr.728-729. 4). Alfred Petelot. Les plantes médicinales du Cambodge, du Laos et du Vietnam. Archives des Recherches agronomiques et pastorales du Vietnam. Saïgon. 1952-1954, p. 70-71. 5). Võ Văn Chi. Dương Đức Tiên. Phân loại thực vật học. NXB Đại học và Trung học chuyên nghiệp Hà Nội. 1978. 6). Bộ Y tế. Dược điển Việt Nam. Tập 1 in lần 2. NXB Y học, 1991, tr. 682, 685, 689, 735, 736, 806. 7). Nguyễn Văn Đàn, nguyên Việt tuu, Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc, in lần 1, NXB Y học chi nhánh thành phố Hồ Chí Minh, 1985. tr. 12, 24, 50, 52, 77, 87, 103, 133, 162, 198, 326, 376.

Tạp chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 170-173)

NGHIÊN CỨU VỀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU BA CHÀC Ở VIỆT NAM

Trần Duy Thái – Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Nguyễn Xuân Phương – Trung tâm GD & PT sắc ký Việt Nam

(Nhận bài ngày 2 tháng 4 năm 2001)

Summary

Studies on Chemical Composition of Leaf and Fruit Oil of *Euodia lepta* in Vietnam

Euodia lepta is a small tree, 4 - 5m high; leaflets lanceolate, trifoliolate; flowers white; fruit blue, seed black; distributed widely in the midland hill areas of North Vietnam, mostly in Vinh Phuc, Hoa Binh and Lang Son provinces.

Air-dried leaves and fruit yield 0.18% oil. Seventy-one constituents have been identified from the oil by GC/MS. Major constituents were acid phosphinic bis (2-methylphenyl) 11.55%; α -pinen 11.40%; 6 methyl-2,4 diert-butyl-phenol 10.25%; 12,13-dihydrobenzo (a,f) quinolizin 9.80%; trans ocimen 5.65%; dehydroaromadendron 5.55%; zieron 4.10%; trans nerolidol 3.80%; and aromadendren 2.90%.

Key words: *Euodia lepta*, Chemical Composition, Leaf and Fruit Oil.

1. Mở đầu

Điều tra nguồn thực vật có tinh dầu trên cơ sở nghiên cứu đặc điểm sinh học và hóa học của những loài cây mọc hoang dại nhằm đề xuất những khả năng khai thác tự nhiên cũng như gây trồng phát triển phục vụ cho nhu cầu sản xuất trong nước và xuất khẩu là hướng nghiên cứu đang được nhiều nhà khoa học quan tâm. Chi *Euodia* Forst thuộc họ Cam (Rutaceae) có 9 loài ở Việt Nam (theo Phạm Hoàng Hộ), trong đó, một số loài chứa tinh dầu. Những nghiên cứu về sinh học và hóa học của các loài trong chi hầu như chỉ ở mức độ thông báo về hàm lượng tinh dầu và giá trị làm thuốc của một số loài.

Cây ba chạc (*Euodia lepta* (Spreng.) Merr.) phân bố tự nhiên rộng rãi và có trữ lượng khá lớn ở nhiều vùng, đặc biệt là vùng đồi trung du. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả về một số đặc điểm sinh học và thành phần hóa học của tinh dầu trong lá và quả cây ba chạc.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu là cành mang lá và quả của cây ba chạc được thu hái ở vùng đồi Ngọc Thanh - Mê Linh - Vĩnh Phúc, vào tháng 5 năm 2000.

Tinh dầu thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước, có hồi lưu, với thời gian 5 giờ.

Phân tích định tính và định lượng một số thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp sắc ký phân giải cao (HRGC) và sắc ký khí - khối phổ (GC/MS) ở công ty Aromasia (Cộng hòa Pháp) và Trung tâm Giáo dục và Phát triển Sắc ký Việt Nam với điều kiện chạy như sau:

+ Tinh dầu được làm khan bằng Na_2SO_4 , để trong tủ lạnh ở nhiệt độ $< 5^\circ\text{C}$, trước khi đem phân tích HRGC: sử dụng cả hai loại cột sắc ký không phân cực (HP-1) và phân cực Carbowax-20M với điều kiện 60°C (1 min) tăng nhiệt độ $4^\circ/\text{min}$ cho đến 220°C , giữ nhiệt độ này trong 20 min.

+ Thiết bị: GC model HP 5890 Series II Plus HP 6890 và GC/MS model HP 5890 Series II/ HP 5871 MSD. Khí mang N_2 và H_2 .

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Đặc điểm sinh học

Ba chạc còn được gọi là dâu dẫu, bí bái, là loại cây nhỏ cao 2 - 5 m, cành màu đỏ xám. Lá kép gồm 3 lá chét nguyên, hình trái xoan hơi dài, có tuyến nhỏ không rõ ở mặt dưới; cuống lá có lông. Cụm hoa mọc ở kẽ lá, ngắn hơn lá; lá đài hình trái xoan; cánh hoa 4 - 5 màu trắng, trắng xanh và xanh vàng; nhị 4. Quả khi chín màu đỏ, có 1 - 4 mảnh vỏ, nhẵn; hạt hình cầu màu đen bóng.

Mùa hoa: tháng 4 - 5, mùa quả: tháng 7 - 8.

Lá được dùng để chữa vết thương và ghẻ, thân và rễ là thuốc bổ.

3.2. Thành phần hóa học của tinh dầu

Hàm lượng tinh dầu trong cành mang lá là 0,18%; quả 0,14% và lá 0,23% (theo nguyên liệu khô không khí).

Các kết quả phân tích về thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ cho thấy có 82 thành phần, trong đó những hợp chất có hàm lượng từ 0,1% trở lên là 71 thành phần.

Bảng 1. Thành phần hóa học của tinh dầu ba chạc cất từ cành mang lá và quả ở Việt Nam

Số TT	Hợp chất	Hàm lượng (%)
1	ethanol	0,20
2	2- propanon	0,15
3	α- pinen	11,40
4	camphen	0,10
5	β - pinen	1,20
6	myrcen	0,50
7	p- cymen	0,40
8	eucalyptol	0,30
9	limonen	0,50
10	cis ocimen	0,90
11	trans ocimen	5,65
12	3- methyl- 4,5,6,7- tetrahydroindan- 1	0,20
13	linalol	1,00

14	cis ocimen epoxy	0,25
15	α - terpineol	0,25
16	2- cyclopenten- 1- one, 4- hydroxy- 3- m	0,20
17	3- hexyn- 2- ol, 5- methyl	0,30
18	3- hydroxypiridin- N- oxid	0,10
19	α - cyclopenten-1- 4 hydroxy	0,20
20	α - copaen	0,40
21	ate amyryl	1,25
22	aromadendren	3,00
23	β - caryophyllen	2,80
24	4,4- dimethyl- 3- (3- methyl- 3- buten- 1)	0,15
25	ate- guayil	0,10
26	α - humulen	1,30
27	1,4 dimethyl 2,3a,4,5,6 hexahydro	0,30
28	d- germacren	0,40
29	β - cubeben	0,10
30	γ - gurjunen	1,90
31	β - elemen	0,10
32	verdoracin	0,20
33	δ - cadinen	0,50
34	boronol	0,10
35	trans nerolidol	3,80
36	ate vetiveryl	0,40
37	zieron	4,10
38	spathulenol	1,20
39	oxyd caryophyllen	0,90
40	valerenol	0,70
41	veridiflorol	0,10
42	β - eudesmol	0,30
43	6- amino-1H- indzole- 5 carboxylic	0,30
44	5 (1H)- azulenon 2,4,6,7,8,8a- hexa	0,10
45	12- oxabicyclo (9.1.0) dodeca- 3.7 die	0,30
46	2,4- dicyclohexyl- 1- buten- 3- yne	0,10
47	(3S,4R,5S,6R,7S)- aristol- 9 en- 3ol	0,60
48	α - cedren	0,10
49	β - asaron	0,20
50	(1S,3R)- 4(S)(a)- ethyladamatan	1,00
51	β - cedren	0,40
52	6- metyl- 6 hepten- 4- yn-3- ol	0,30
53	α -copeen	0,20
54	dehydro aromadendran	5,50
55	6- methyl- 2.4 di- tert- butyl- phenol	10,10
56	aristolon	2,20
57	7- (1- methyl- ethenyl)- 1- hydroxy- 1,4	0,10
58	2,3- dihydro- 5,5- dimethyl- 5H- benzo	0,10
59	geranyllinalol	0,40
60	ethanol 1- (7- hydroxy 5- methoxy 2)	0,60
61	isoeugenyl methyl ether	1,30
62	2,3,5,8- tetrahydroxy- 6- methylanphyl	0,20
63	acid phosphinic, bis (2- methylphenyl)	11,55
64	12,13 - dihydrobenzo (a.f) quinolizin	9,80

65	methyl ether of enecalol	0,60
66	3,4- diphenyl- 2,5- dimethyl- 2,4- hexa	0,10
67	2- acetoxy- α - (trifluoromethyl)	0,30
68	vulgarin	0,70
69	3- oxo- isocostic acid	0,40
70	6- acetyl- 8 methoxy- 2.2 dimethyl- 2H	3,30
71	phytol	0,20

Như vậy, các hợp chất thuộc nhóm mono-terpenoid chiếm trên 20% trọng lượng tinh dầu. Các hợp chất thuộc nhóm sesquiterpenoid chiếm 75% trọng lượng tinh dầu.

Trong nhóm monoterpenoid, thành phần chính là các hợp chất α - pinen 11,40%; trans ocimen 5,65%; trong nhóm sesquiterpenoid thì thành phần chính là các hợp chất: acid phosphinic bis (2-methylphenyl) 11,55%; 6- methyl- 2,4 ditert-butyl- phenol 10,25%; 12,13 dihydrobenzo (a,f) quinodizin 9,80%; dehydro aromadendran 5,55%; zieron 4,40%; trans nerolidol 3,80%; aromadendren 2,90%; β - caryophyllen 2,80%;

Kết luận

- Tinh dầu tập trung chủ yếu trong lá của cây ba

chạc là 0,23%, cành mang lá 0,18% và quả 0,14% (theo nguyên liệu khô không khí)

- Trên 71 hợp chất cơ bản trong tinh dầu từ cành mang lá và quả của cây được xác định, trong đó, các hợp chất monoterpenoid chiếm trên 20%; các hợp chất sesquiterpenoid chiếm 75%.

- Thành phần hóa học chính của tinh dầu gồm acid phosphinic bis (2- methylphenyl) 11,55%; α - pinen 11,40%; 6 methyl- 2,4 ditert- butyl- phenol 10,25%; 12,13- dihydrobenzo (a,f) quinolizin 9,80%; trans ocimen 5,65%; dehydro aromadendran 5,55%; zieron 4,10%; trans nerolidol 3,80%; aromadendren 2,90%;

Tài liệu tham khảo

1). Võ Văn Chi, Vũ Văn Chuyên và nnk. Cây cỏ thường thấy ở Việt Nam. Tập 4. 1971. NXB Khoa học Kỹ thuật. HN; 2). Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. 1997. NXB Y học; 3). Nguyễn Xuân Dũng. Nghiên cứu thành phần hóa học góp phần phân loại bằng hóa học một số cây thuốc và cây tinh dầu ở Việt Nam. 1996. Luận án TS.KH Hóa học; 4). Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam. Quyển 2 - Tập 1. 1992. NXB Montreal; 5). Đỗ Tất Lợi. Tinh dầu Việt Nam. 1985. NXB Y học TP. Hồ Chí Minh; 6). Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. 1995. NXB Khoa học Kỹ thuật; 7). Z.P.A. Oyen and Nguyen Xuan Dung. Plant resources of South-East Asia. No 19. Essential oil plant. 1999. Backhuys Publishers, Leiden; 8). Brian M. Lawrence. Progress in essential oils. 1995-1997. Published by allured publishing corporation.

Tạp chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 173-176)

HOẠT TÍNH ỨC CHẾ CHUYỂN DẠNG LYMPHO BÀO CỦA (\pm)-CATECHIN CHIẾT TÁCH TỪ LÁ CHAY

Trịnh Phương Liên, Ngô Quốc Anh, Trần Văn Sung
Viện Hoá học, Trung tâm KHTN và CNQG
(Nhận bài ngày 6 tháng 4 năm 2001)

Summary

Lymphocytic Transformation Effect of (\pm)-catechin Extracted from Leaves of *Artocarpus tonkinensis*

*Both ethyl acetate extract of the leaves of *Artocarpus tonkinensis* and its (\pm)-catechine showed significant inhibition on blast-transformation of lymphocytes in in vitro bioassay. The structure of this compound has been elucidated by spectroscopic methods compared with the data from literature.*

Key words: *Artocarpus tonkinensis*, Leaves, Ethyl Acetate Extract, (\pm)-catechine, Lymphocytic Transformation Effect.

I-Đặt vấn đề

Hiện nay, có những thuốc đã và đang được sử dụng rộng rãi để điều trị một số bệnh nan y do tình trạng đáp ứng quá mức của hệ miễn dịch (thấp khớp, suy tuỷ vô căn, nhược cơ, lupus ban đỏ...) như các corticoid, azathioprin, cyclosporin A... Tuy vậy, các thuốc này còn có nhiều tác dụng phụ như diệt tế bào máu, tế bào tuỷ xương, gây rối loạn chuyển hoá và nội tiết... Việc tìm kiếm các chất ức chế miễn dịch mới đang được đẩy mạnh, đặc biệt là các chất ức chế miễn dịch có nguồn gốc thảo dược vì chúng có hiệu quả và tương đối an toàn trong sử dụng.

Cây chay (*Artocarpus tonkinensis* A. Chev.) thuộc họ Dâu tằm (Moraceae), mọc hoang và được trồng phổ biến ở các tỉnh trung du và miền núi phía bắc. Trong dân gian, cây chay được dùng điều trị các bệnh đau lưng, mỏi gối, tê thấp, đặc biệt là bệnh liệt. Vỏ chay nhai với trấu không làm chắc răng [1].

Từ 1994, GS. Phan Chúc Lâm, Viện quân y 108 đã chẩn đoán hồi cứu và chữa khỏi các trường hợp liệt bằng lá cây chay, mà nguyên nhân có thể do bị nhược cơ (*Myasthenia gravis*: MG), một bệnh tự miễn dịch phải điều trị bằng các thuốc ức chế miễn dịch như prednisolon, azathioprin... Các nghiên cứu sau đó cũng theo hướng ức chế miễn dịch của dịch chiết lá chay như nuôi cấy limpho hỗn hợp (mixed lymphocyte reaction) hoặc ghép da dị gen trên chuột và dùng chất đối chứng là cyclosporin A. Kết quả đã chứng minh hoạt tính ức chế miễn dịch tương đối mạnh của dịch chiết

lá chay. Gần đây, Trần Văn Hiền và cộng sự cũng nêu tác dụng ức chế chuyển dạng lympho bào của dịch chiết flavonoid tổng thu được từ lá cây chay [2]. Trong bài này, chúng tôi thông báo việc phân lập, tinh chế, xác định cấu trúc và hoạt tính ức chế chuyển dạng lympho bào của (\pm)-catechin từ lá chay.

II-Kết quả thảo luận

Lá chay được sắc bằng nước. Dịch sắc cô khô có kí hiệu là F1, được chiết lần lượt bằng etylacetat và *n*-butanol và thu được dịch chiết F2 và F3 tương ứng. Dịch nước còn lại sau khi đã chiết bằng các dung môi được kí hiệu là F4. Cả 4 dịch chiết được thử tác dụng trên đáp ứng chuyển dạng lympho bào. Trong phương pháp thử nghiệm này, tế bào lympho được lấy từ máu ngoại vi của người bình thường [2]. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Theo kết quả, chỉ có F2 ức chế chuyển dạng được hơn 50% lympho bào ở độ pha loãng 1/4 hay nồng độ 312 μ g/ml. Từ kết quả thử hoạt tính trên, chúng tôi đã quyết định tiếp tục nghiên cứu thành phần hoá học dịch chiết etylacetat.

Kiểm tra dịch chiết EtOAc trên bản mỏng phân tích thấy có một vệt chính có cùng màu và R_f với (\pm)-catechin, một flavanoid mà trước đó chúng tôi đã tìm thấy từ dịch chiết EtOAc của vỏ thân cây này [3]. Chất này đã được tách ra bằng sắc ký cột, hệ dung môi $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 8:2, và đo phổ IR. Phổ IR của chất thu được hoàn toàn trùng với (\pm)-catechin.

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính chuyển dạng lympho bào của các dịch chiết

Độ pha loãng	Nồng độ (μ g/ml)							
	1 (1:1) 1250	2 (1:2) 625	3 (1:4) 312	4 (1:8) 156	5 (1:16) 78	6 (1:32) 39	7 (1:64) 19	8 (1:128) 9
F1	56.4	57.8	36.9	17.2	1.9	1.5	0	0
F2	99.6	95.5	63.3	41.4	13.7	10.3	8.3	0.6
F3	91.4	48.9	30.2	18.7	10.3	6.6	5.6	4.6
F4	84.1	41.6	37.5	34.6	14.2	12.5	12.5	2.3

Xác định cấu trúc (\pm)-catechin: Phổ hồng ngoại cho đỉnh đặc trưng của nhóm hydroxyl ở $\nu = 3446 \text{ cm}^{-1}$. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton $^1\text{H-NMR}$ cho 2 vùng tín hiệu ở trường thấp ở δ 6.7-6.9 ppm (3H) và δ 5.8-6.1 ppm (2H). Các hằng số

tương tác spin của hệ spin thứ nhất ($J = 1.92 \text{ Hz}$, $J = 7.9 \text{ Hz}$ và $J = 7.9/1.92 \text{ Hz}$) gợi ý rằng hệ spin này là một vòng thơm bị thế ở 3 vị trí, 2 trong số 3 proton còn lại phải ở vị trí ortho với nhau, còn proton thứ 3 ở vị trí meta với một trong hai proton kia. Còn ở

hệ spin thứ hai, hằng số tương tác spin-spin ($J=2.2$ Hz) gợi ý đây cũng là một vòng thơm bị thế ở 4 vị trí, 2 proton còn lại ở vị trí meta với nhau. Ngoài ra, ở vùng trường cao còn tìm thấy các tín hiệu tương ứng với 4 proton nữa, trong đó hai tín hiệu ở δ 4.56 ppm và δ 3.97 ppm đặc trưng cho proton đứng cạnh oxy. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và APT cho 15 tín hiệu, 8 nhóm CH_2 và carbon bậc 4, 7 nhóm CH_3 và CH . Tín hiệu ở $\delta=82.7$ ppm (CH) và $\delta=68.3$ ppm (CH) đặc trưng cho carbon C-2 và C-3 trong khung flavonoid [4]. Các thông tin thu được từ phổ $^1\text{H-}$ và $^{13}\text{C-NMR}$, kết hợp với trọng lượng

phân tử thu được từ phổ khối MS ($[\text{M}]^+$ 290) cho phép chúng tôi dự đoán chất này thuộc khung flavonoid có chứa 5 nhóm thế hydroxyl. So sánh với dữ liệu trong tư liệu [5] có thể kết luận chất này là (\pm)-catechin.

Như vậy, hợp chất chính có trong dịch chiết EtOAc là (\pm)-catechin (1).

Chúng tôi đã tiếp tục thử hoạt tính ức chế chuyển dạng lympho bào của (\pm)-catechin với kết quả ở bảng 2.

Bảng 2. Độ ức chế chuyển dạng lympho bào *in vitro* của (\pm)-catechin ở các nồng độ khác nhau

Độ pha loãng	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)							
	1 (1:1) 750	2 (1:2) 375	3 (1:4) 187.5	4 (1:8) 93.75	5 (1:16) 46.87	6 (1:32) 23.44	7 (1:64) 11.72	8 (1:128) 5.86
(\pm)-catechin	99.5	81.8	46.3	39.3	20.1	23.6	10.2	11.5

Kết quả cho thấy ở nồng độ 187 $\mu\text{g/ml}$ hay ở độ pha loãng 1/4, (\pm)-catechin có khả năng ức chế chuyển dạng của khoảng 50% các lympho bào và ở nồng độ 750 $\mu\text{g/ml}$, ức chế gần như hoàn toàn.

Như vậy, (\pm)-catechin có thể là một trong những chất gây ra tác dụng ức chế chuyển dạng lympho bào của dịch chiết etylacetat (F2). Việc nghiên cứu chiết tách và thử hoạt tính các thành phần khác trong dịch chiết EtOAc cũng như các dịch chiết khác đang được tiếp tục.

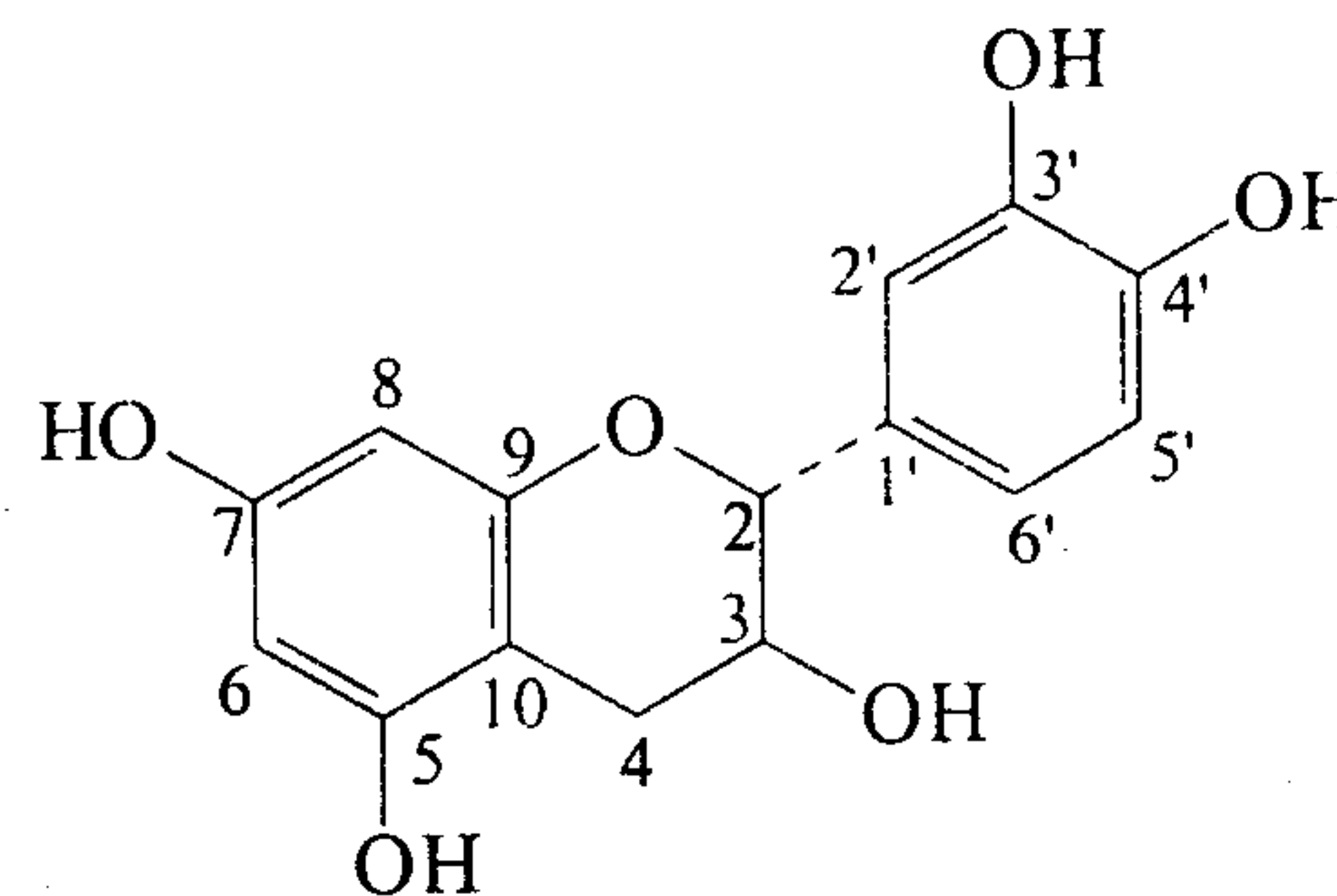
III-Thực nghiệm

Phổ $^1\text{H-}$, $^{13}\text{C-NMR}$ được đo trên máy GEMINI 300 MHz cho ^1H và 75.5 MHz cho ^{13}C . Sắc ký bản mỏng phân tích được tiến hành trên bản mỏng silica gel Merck 60 F₂₄₅ tráng sẵn trên nhôm, độ dày 0.2 mm. Sắc ký cột dùng silica gel Merck, cỡ hạt 0.040- 0.063 mm.

Thí nghiệm thử hoạt tính được thực hiện tại Phòng miễn dịch, Khoa miễn dịch và sinh học phân tử, Viện vệ sinh dịch tễ trung ương.

Xử lý mẫu thực vật và phương pháp chiết tách

Mẫu cây chay được thu hái ở Hà Nội vào tháng 10/2000. Tên cây do cử nhân Ngô Văn Trại xác định và tiêu bản được lưu tại Phòng tài nguyên, Viện dược liệu, Hà Nội. Mẫu lá được phơi và sấy khô ở nhiệt độ phòng, rồi xay nhỏ. Lấy 100 g bột nguyên liệu khô và chiết với nước ở nhiệt độ



1: (\pm)-catechin

phòng. Nước được cất loại dưới áp suất giảm. Dem cặn chiết lần lượt bằng các dung môi EtOAc, *n*-buthanol. Dịch chiết EtOAc được đưa lên sắc ký cột silica gel, hệ dung môi $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 8:2 thu được (\pm)-catechin gần sạch. Sau đó, kết tinh trong hỗn hợp $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ thu được tinh thể hình kim.

(\pm)-Catechin: Hàm lượng 0.05% (so với nguyên liệu khô), tinh thể trắng, đ. n. c. 210-212° C, ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), $R_f = 0.21$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 85:15), IR ^{KBr} cm^{-1} : 3446 (-OH), 2933, 1714, 1458, 1393, 1155, 1116, 1033, 687, 652. EIMS (70 eV) m/z (rel. int.): 290 $[\text{M}]^+$ (90), 244 (38), 152 (50), 139(100), 123 (32). $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ (ppm): 6.90 (1H, d, $J=1.92$ Hz, H-2'), 6.80 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-5'), 6.78 (1H, dd, $J=7.9/1.92$ Hz, H-6'), 6.02 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 5.87 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-

8), 4.56 (1H, d, J= 7.42 Hz, H-2), 3.97 (1H, m, H-3), 2.90 (2H, m, H₂-4). ¹³C-NMR (acetone-d₆) δ (ppm): 82.7 (C-2), 68.3 (C-3), 28.8 (C-4), 157.2 (C-5), 96.1 (C-6), 157.7 (C-7), 95.4 (C-8), 156.9 (C-9), 100.6 (C-10), 132.2 (C-1'), 115.2 (C-2'), 145.7 (C-3', C-4'), 115.7 (C-5'), 120.0 (C-6').

Thử hoạt tính

Tế bào lympho được tách từ máu ngoại vi bằng phương pháp ly tâm gradien tỷ trọng trên dung dịch Ficoll-Hypaque (d= 1.077). Sau đó, tế bào được rửa theo qui trình thường quy của labo miễn dịch tế bào, Viện vệ sinh dịch tễ.

Chất kích thích chuyển dạng không đặc hiệu PHA (Phytohemagglutinin) và dung dịch các dịch chiết lá chay ở các nồng độ khác nhau được đưa vào môi trường nuôi cấy. Đặt các phiến nuôi cấy

vào tủ ấm 37°C trong khí quyển ẩm chứa 5% CO₂, trong 72 giờ. Sau đó, cho vào các giếng nuôi cấy 0.15 ml H³-thymidin (chất đánh dấu phóng xạ) và tiếp tục nuôi cấy thêm 18 giờ. Tế bào từ các mẫu được thu bằng máy gạt tế bào "Titertek". Hoạt tính phóng xạ được xác định trên máy đo phóng xạ nhấp nháy lỏng "Packard". Mức độ đáp ứng chuyển dạng của tế bào lympho được xác định bằng mức độ hấp phụ phóng xạ của ADN gắn H³-thymidin và được tính bằng số xung/phút. Khả năng ức chế của dịch chiết lá chay lên chuyển dạng lympho bào được tính theo công thức:

$$I = \frac{100 - \text{cpmnuôi cấy có PHA} + \text{dịch chiết}}{\text{cpmnuôi cấy có PHA}} \times 100\%$$

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn TS. Vũ Tân Trào, Viện vệ sinh dịch tễ về việc thử hoạt tính, TS. A. Porzel và TS. J. Schmidt, Halle, CHLB Đức, đã đo phổ NMR và MS, CN. Ngô Văn Trai, Viện dược liệu, đã xác định mẫu cây.

Tài liệu tham khảo

- 1). Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 597 (1991); 2). Trần Văn Hiến, Vũ Tân Trào, Nguyễn Thái Hồng. *Tap chí Dược học*, 5(2), 51-55 (2000); 3). Trịnh Phương Liên, H. Ripperger, A. Porzel, Trần Văn Sung, G. Adam. *Pharmazie*, 53(5), 353 (1998); 4). S. Morimoto, G. I. Nonaka, R. F. Chen, I. Nishioka. *Chem. Pharm. Bull.*, 36(1), 39-47 (1998); 6). E. Kiehlmann, A. S. Tracey. *Magn. Reson. Chem.*, 26, 204 (1998).

Tap chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 176-178)

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM VÀ GIẢM ĐAU CỦA HẠT GẮC TRÊN THỰC NGHIỆM

Lê Minh Hà¹, Hoàng Thanh Hương¹, Nguyễn Bích Luyện²,
Lê Mai Hương¹, Phạm Đình Ty¹

¹Viện Hoá Học các Hợp chất Thiên nhiên-Trung tâm KHTN và CNQG

²Học Viện Quân Y- 103

(Nhận bài ngày 14 tháng 9 năm 2001)

Summary

Anti-inflammatory and Analgesic Effects of *Momordica cochinchinensis* Seeds

Momordica cochinchinensis is used in traditional medicine as an antitoxic, antifungal and anti-superinfectious remedy to cure some infectious diseases. Biological experiments showed that the ethylacetate extract of the seed in a dose of 5g/kg had acute anti-inflammatory and analgesic effects in mice and rats.

Key words: *Momordica cochinchinensis*, Acute Anti-inflammation, Analgesic Effect.

1. Đặt vấn đề

Gác (*Momordica cochinchinensis* Spreng.) là loại cây sắn có ở nước ta, được sử dụng từ lâu trong dân gian làm thuốc chữa bệnh. Trên cơ sở

khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật của các chiết phẩm cây gác [1] và kinh nghiệm dân gian trong việc sử dụng nhân hạt gác để điều trị các bệnh lý về viêm đau nhất là tấy sưng đỏ do va đập [2], chúng tôi đã lựa chọn dịch chiết etylacetat của

nhân hạt gấc để nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên động vật thực nghiệm và góp phần làm rõ tác dụng cũng như nâng cao giá trị sử dụng của hạt gấc.

II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Nguyên liệu

-Hạt gấc được thu hái vào tháng 12 năm 1997 ở Hà Bắc, sấy khô ở 40°C, tách bỏ vỏ hạt, lấy nhân nghiền nhỏ và ngâm chiết ở nhiệt độ phòng 4 lần với etylacetat, loại kiệt dung môi dưới áp suất giảm thu được chiết phẩm M₀N ở dạng cao mềm, màu vàng nâu.

-Động vật thí nghiệm là chuột cống trắng, trọng lượng trung bình 130-150g, chuột nhắt trắng trọng lượng trung bình 20-22g, khoẻ mạnh, không phân biệt đực, cái. Cả hai loại chuột được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Nghiên cứu tác dụng ức chế phù viêm

Áp dụng mô hình gây phù viêm chân chuột bằng dịch treo kaolin 5% trên chuột cống trắng theo phương pháp của Piccini và cộng sự [3]. Chuột được chia thành 2 nhóm. Ở nhóm 1 (nhóm đối chứng sinh học), cho chuột uống nước muối sinh lý và ở nhóm 2 (nhóm dùng thuốc nghiên cứu), cho uống M₀N liều 5g/kg thể trọng chuột/ngày. Sau 3 ngày dùng thuốc liên tục, gây phù viêm cấp bằng cách tiêm dịch treo kaolin dạng nhũ dịch 5% vào dưới da gan bàn chân chuột. Dùng dụng cụ chuyên dụng, đo thể tích chân chuột ngay sau khi tiêm kaolin. Đây là thể tích V₀ (thể tích chân chuột ban đầu). Tiếp tục sử dụng thuốc ngay sau khi tiêm kaolin. Sau khi điều trị, thể tích chân chuột được đo ở các thời điểm: 1, 3, 5, 7, 9, 24 và 48 giờ sau khi gây phù viêm cấp.

Mức độ ức chế phù viêm cấp chân chuột được tính bằng mức giảm thể tích chân chuột khi dùng thuốc đó so sánh với nhóm đối chứng, được xác

định bằng công thức:

$$I (\%) = \frac{\Delta V_c - \Delta V_l}{\Delta V_c} \times 100$$

I (%) : tỷ lệ phần trăm ức chế phù viêm cấp chân chuột cống của một thuốc.

ΔV_c : mức tăng thể tích chân chuột so với giá trị lúc đầu của lô đối chứng.

ΔV_l : mức tăng thể tích chân chuột so với giá trị ban đầu của lô dùng thuốc.

- Nghiên cứu tác dụng giảm đau

Theo mô hình gây đau quận của Vander Wenden C, Witkin LB, Anderson K.W [4], chuột nhắt trắng được chia thành 2 nhóm: nhóm đối chứng sinh học (cho uống nước muối sinh lý) và nhóm dùng thuốc nghiên cứu (cho uống M₀N, liều 5g/kg thể trọng chuột /ngày). Sau 3 ngày dùng thuốc liên tục, gây đau quận chuột nhắt trắng bằng cách tiêm acid acetic 0,6% vào phúc mạc chuột, liều 1ml/100g thể trọng chuột. Theo dõi, đếm số cơn đau quận trong thời gian 20 phút đầu ngay sau khi tiêm acid acetic. Tác dụng giảm đau được tính theo công thức:

$$\% \text{ giảm đau} = \frac{X_c - X_t}{X_c} \times 100$$

X_c: số cơn đau quận trung bình ở lô đối chứng trong thời gian 20 phút

X_t: số cơn đau quận trung bình ở lô dùng thuốc trong thời gian 20 phút

Số liệu thu được đều được xử lý thống kê theo phương pháp thống kê y-sinh-dược.

III. Kết quả và bàn luận

1. Tác dụng ức chế phù viêm chân chuột của M₀N

Hiệu quả tác dụng của M₀N, liều 5g/kg thể trọng chuột, trên mô hình gây phù viêm cấp được thể hiện ở bảng 1 và 2.

Bảng 1. Thể tích phù viêm chân chuột ở các thời điểm sau gây viêm

Nhóm nghiên cứu	Thể tích ban đầu	Thể tích chân chuột ở các thời điểm sau gây viêm*						
		1giờ	3giờ	5giờ	7giờ	9giờ	24giờ	48giờ
NMSL (n=15)	5,41 ±0,32	6,89 ±0,35	8,35 ±0,31	9,33 ±0,38	9,55 ±0,39	10,11 ±0,33	7,79 ±0,33	6,95 ±0,54
M ₀ N (n=15)	5,41 ±0,42	6,51 ±0,32	7,61 ±0,38	8,23 ±0,58	8,43 ±0,53	8,84 ±0,52	7,17 ±0,43	6,64 ±0,53

* Đơn vị đo thể tích chân chuột là đơn vị tính của dụng cụ đo thể tích

Nhận xét: Kết quả ở bảng 1 cho thấy ở mỗi thời điểm, sau điều trị mức độ phù ở các nhóm dùng M₀N đều thấp hơn so với nhóm đối chứng. Áp dụng

công thức tính tỷ lệ % ức chế phù viêm cấp chân chuột (I%) đã nêu ở phần phương pháp nghiên cứu. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Mức độ ức chế phù viêm cấp chân chuột ở các nhóm nghiên cứu

Thời điểm sau gây viêm	Mức độ ức chế phù viêm ở các thời điểm sau điều trị			
	Nhóm đối chứng (n=15) ΔVc	Nhóm M ₀ N (n=15)		
		ΔVt	ΔVc - ΔVt	I%
Sau 1giờ	1,48	0,90	0,58	38,5
Sau 3giờ	2,94	2,20	0,74	25,1
Sau 5giờ	3,92	2,82	1,10	28,0
Sau 7giờ	4,11	3,02	1,09	26,5
Sau 9giờ	4,69	3,43	1,26	26,8
Sau 24giờ	2,51	1,76	0,75	29,9
Sau 48giờ	1,54	1,23	0,31	20,1
X ± SD				27,8± 3,22

Nhận xét: Kết quả ở bảng 2 cho thấy tác dụng ức chế phù viêm cấp chân chuột cống của M₀N với liều 5g/kg thể trọng chuột là 27,8%. Như vậy chế phẩm M₀N với mức liều nghiên cứu có tác dụng ức chế phù viêm cấp rõ.

2. Tác dụng giảm đau của M₀N

Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của M₀N, liều 5g/kg thể trọng chuột, trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic ở chuột nhắt trắng được trình bày trên bảng 3.

Bảng 3. Tác dụng giảm đau quận của M₀N

Nhóm nghiên cứu	n	Liều thuốc (g/kg ttc)	Đường dùng thuốc	Số cơn đau* trung bình	Tỷ lệ giảm đau(%)	p
NMSL	20	-	Uống	53±8	-	-
M ₀ N	20	5g		35±6	33,96	P ₁₋₂ < 0,05

Nhận xét: Kết quả trình bày ở bảng 3 cho thấy trên mô hình gây đau quận, M₀N có tác dụng làm giảm rõ rệt số cơn đau và ức chế 33,96% số cơn đau quận.

III. Kết luận

Từ kết quả thực nghiệm chúng tôi sơ bộ rút ra kết luận

1- Dịch chiết etylacetat nhân hạt gấc (M₀N) với mức liều nghiên cứu 5g/kg thể trọng chuột có tác

dụng ức chế các triệu chứng của viêm cấp thực nghiệm.

2- Trên mô hình ức chế phù viêm cấp, M₀N có hiệu lực ức chế 27,8% độ phù viêm chân chuột. Trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic, M₀N có tác dụng giảm đau quận (làm giảm 33,96% số cơn đau). Kết quả này đã góp phần làm sáng tỏ tác dụng chống viêm đau, tê thấp, sưng tấy do va đập của nhân hạt gấc mà từ lâu đã được sử dụng trong dân gian.

Tài liệu tham khảo

- 1). Lê Minh Hà, Lê Mai Hương, Hoàng Thanh Hương, Phạm Đình Ty. Tuyển tập các công trình Khoa học-Viện Hoá học các Hợp chất Tự nhiên, 1998-2000, tr. 44-48; 2). Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, 1999; 3). Piccni F., Marazzi- Umberti E., Lugaresi C. *Arch. Internat. Pharmacodyn*, 1961, Vol.16, pp.132; 4). Anderson K W. *Arch. Internat. Pharmacodyn*, 1964, Vol.152, pp.379; 5). Van der Wenden C., Margolin S. *Arch. Fed. Proc*, 1956, Vol.15, pp.494

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ HOÁ HỌC VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA PHƯƠNG THUỐC CHỮA ĐAU DẠ DÀY - TÁ TRÀNG (Thông báo số 1)

Vũ Văn Điền, Nguyễn Thuỳ Dương - Đại học Dược Hà Nội

Nguyễn Trần Giáng Hương - Đại học y Hà Nội

(Nhận bài ngày 16 tháng 7 năm 2001)

Summary

Chemical Composition and Biological Effects of a Traditional Prescription for Gastroduodenitis (Study No. 1)

Decoction (2:1) of a traditional prescription composed of Rhizoma Cyperi, Rhizoma Curcumae longae, Radix Saussurea lappae, Fructus Aurantii immaturii, Rhizoma Atractylodis macrocephalae, Radix Astragali, Radix Glycyrrhizae, Herba Passiflorae and Radix Paeoniae lactiflorae was shown to contain alkaloids, saponosides, flavonoids and cardiac glycosides. The decoction given orally had analgesic and sedative effects without toxicity.

Key words: Gastroduodenitis, Traditional Prescription, Analgesic and Sedative Effects.

Đặt vấn đề

Viêm loét dạ dày - tá tràng là một bệnh khá phổ biến trên thế giới và ở Việt Nam. Tỷ lệ mắc bệnh chiếm 3-4% dân số, có nơi đến 10%[4]. Thuốc điều trị có nhiều loại khác nhau, mỗi loại có những ưu điểm và nhược điểm khác nhau, song chưa có loại nào thật đặc hiệu và hoàn hảo.

Trong y học cổ truyền, có rất nhiều vị thuốc và phương thuốc để chữa bệnh này. Tuỳ theo từng trường hợp bệnh cụ thể mà lựa chọn những vị thuốc thích hợp để xây dựng phương thuốc, hoặc chọn phương thuốc cổ phương và vị thuốc thích hợp để gia giảm điều trị. Qua thực tế khám chữa bệnh, chúng tôi đã sơ bộ tổng kết được phương thuốc mà qua thử nghiệm trên số đông bệnh nhân đều có kết quả tốt. Từ đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu về hoá học và tác dụng sinh học để góp phần chứng minh tác dụng của phương thuốc này. Trong bài báo này, xin thông báo một số kết quả nghiên cứu đã đạt được.

II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Nguyên liệu và súc vật nghiên cứu

Phương thuốc gồm các vị bạch truật bắc 16g, lạc tiên 14g, uất kim 14g, chỉ thực 10g, hoàng kỳ bắc 14g, cam thảo bắc 10g, bạch thược bắc 10g, mộc hương bắc 10g và hương phụ 12g. Các vị được mua ở phố Lãn Ông Hà Nội ở dạng thuốc sống đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam II và được chế biến theo phương pháp cổ truyền bằng cách sắc rời cô thành nước sắc 2:1 (NS1) và nước sắc 4:1 (NS2) để nghiên cứu.

Chuột nhắt trắng Swiss khoẻ mạnh bình thường gồm cả đực và cái, trọng lượng 18-22g, đủ tiêu chuẩn thí nghiệm mua tại viện vệ sinh dịch tễ Hà Nội.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Về hoá học

- Định tính một số nhóm chất chính trong nước sắc phương thuốc:

Dùng các phản ứng định tính với các thuốc thử đặc hiệu của từng nhóm chất để thử theo các tài liệu [1,3,6].

- Phân tích các nhóm chất đã được phát hiện bằng sắc kí lớp mỏng (SKLM):

Dùng các bản mỏng tráng sẵn silica gel GF254 để phân tích từng nhóm chất, có đối chiếu với nhóm chất tương ứng có trong từng vị thuốc của phương thuốc.

2.2. Thử tác dụng sinh học

2.2.1. Thử độc tính cấp:

Theo phương pháp của Litchfield-Wilconxon [8], cho chuột uống chế phẩm thử với liều tăng dần đến liều tối đa có thể cho chuột uống được. Theo dõi chuột trong vòng 72 giờ. Nếu chuột có biểu hiện ngộ độc hoặc chết thì chế phẩm có độc tính cấp, cần tìm LD50.

2.2.2. Thử tác dụng giảm đau

2.2.2.1. Phương pháp "Mâm nóng" (hot plate) [5]

Sau khi cho chuột uống chế phẩm thử, đặt chuột trên mâm nóng đã ổn định nhiệt độ 56°C, theo dõi thời gian chuột phản ứng với nhiệt độ. So sánh thời gian chịu nhiệt giữa lô thử và lô đối chứng.

2.2.2.2. Phương pháp gây đau bằng acid acetic (phương pháp Koster [7])

Cho chuột uống chế phẩm thử, sau đó gây đau bằng acid acetic, đếm số lần quặn đau. So sánh sự giảm số lần quặn đau giữa lô thử và lô đối chứng.

2.2.3 Thử tác dụng ảnh hưởng của phương thuốc đến giấc ngủ của hexobarbital.

Cho chuột uống chế phẩm thử, sau đó cho uống thuốc ngủ hexobarbital với liều gây ngủ nhẹ, theo dõi thời gian ngủ của chuột.

2.3. Phương pháp xử lý các số liệu thực nghiệm.

Dùng phương pháp Student-Fisher test t [2] với

sự trợ giúp của Anova Exel 97

- Kết quả được biểu thị bằng giá trị trung bình \pm SE

- So sánh hai mẫu có phương sai khác nhau, được xác suất sai lầm (P_{st}), so sánh P_{st} với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ hoặc 0,01.

III. Kết quả nghiên cứu

1. Về hoá học

1.1. Định tính một số nhóm chất chính trong nước sắc phương thuốc

Dùng NSI để định tính, chọn dung môi và phương pháp chiết thích hợp cho từng nhóm chất, dùng các thuốc thử đặc hiệu của chúng để định tính xác định từng nhóm chất. Kết quả được ghi ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả định tính nước sắc phương thuốc.

TT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Sơ bộ đánh giá
1	Alcaloid	Phản ứng (PƯ) với thuốc thử Mayer PƯ với thuốc thử Dragendorff PƯ với thuốc thử Buchardat	++ ++ ++	Có alcaloid
2	Saponosid	Quan sát hiện tượng tạo bọt PƯ Liberman-Buchard PƯ Salkowski PƯ Rosenthaler	+++ ++ ++ ++	Có saponin
3	Glycosid tim	PƯ Liberman PƯ Baljet PƯ Legal PƯ Keller-Kiliani	++ ++ ++ ++	Có glycosid tim
4	Flavonoid	PƯ Cyanidin PƯ với kiềm PƯ với FeCl ₃ PƯ diazo hoá	+++ ++ ++ ++	Có flavonoid

Ghi chú: (+) phản ứng hơi rõ; (++) phản ứng rõ; (+++) phản ứng rất rõ

* Nhận xét: Qua các phản ứng định tính, xác định từng nhóm chất, sơ bộ nhận định trong nước sắc phương thuốc có alcaloid, saponin, flavonoid, glycosid tim.

1.2. Phân tích các nhóm chất đã được phát hiện bằng SKLM

Sau khi phát hiện nước sắc có các nhóm chất trên, chúng tôi tiến hành phân tích thành phần trên SKLM các nhóm chất đó, có so sánh với những vị thuốc có nhóm chất tương ứng trong phương thuốc và triển khai trên nhiều hệ dung môi khác nhau,

chọn hệ tách tốt nhất để ghi lại kết quả.

1.2.1. Alcaloid

Ở đây mới chỉ đối chiếu được hai vị hương phụ, lạc tiên và triển khai với hệ dung môi Toluene-Aceton-Methanol-Amoniac (45:45:7:5) hiện màu bằng soi UV ở bước sóng 366nm.

Alcaloid trong nước sắc phương thuốc cho 8 vết, trong đó 4 vết có giá trị R_f, màu sắc tương đương 4 vết của hương phụ, 3 vết có R_f, màu sắc tương đương 3 vết của lạc tiên.

1.2.2.Saponosid

Ở đây mới chỉ đối chiếu được với saponosid trong cam thảo, triển khai với hệ dung môi n-butanol bão hoà nước, hiện màu bằng thuốc thử Salkowski hơi nóng 110° C trong 10 phút.

Kết quả: Saponosid trong nước sắc phương thuốc cho 5 vết, trong đó 4 vết có giá trị Rf và màu sắc tương đương 4 vết saponosid trong cam thảo.

1.2.3. Glycosid tim

Chúng tôi mới đối chiếu được với glycosid tim trong hương phụ, triển khai trên hệ dung môi Cloroform - Methanol (92:8), soi UV ở bước sóng 254 nm để hiện màu.

Kết quả: Trên SKLM, nước sắc phương thuốc cho 6 vết, đều có giá trị Rf và màu sắc tương đương với 6 vết của hương phụ.

1.2.4 Flavonoid

Ở đây mới chỉ đối chiếu được với flavonoid trong cam thảo, flavonoid được triển khai trên hệ dung môi Methanol - Cloroform (1:9), hiện màu bằng soi UV ở bước sóng 366nm.

Kết quả: Trong nước sắc phương thuốc

Flavonoid cho 9 vết, trong đó 7 vết có giá trị Rf và màu sắc tương đương với 7 vết Flavonoid của cam thảo.

2. Thử tác dụng sinh học

2.1. Thử độc tính cấp diện

Dùng những lọ 10 chuột nhất trắng, cho uống chế phẩm thử với liều tăng dần từ 80g/Kg đến 160g/Kg là liều tối đa có thể cho chuột uống được. Theo dõi chuột trong vòng 72 giờ ở điều kiện nuôi dưỡng bình thường, không chuột nào có biểu hiện ngộ độc và không chuột nào chết.

Với liều 160g/Kg chuột, lớn gấp 73 lần liều điều trị bình thường (2,2g/Kg), thực tế không bao giờ dùng tới liều như vậy, thuốc không gây độc cho chuột nhất trắng. Như vậy, có thể nhận định rằng thuốc không thể hiện độc tính cấp qua đường uống.

2.2 Thử tác dụng giảm đau

2.2.1 Phương pháp "mâm nóng"

Cho chuột uống chế phẩm thử trong 3 ngày liên, mỗi ngày cho uống vào giờ nhất định (9 giờ sáng). Ngày thứ 3, sau khi uống chế phẩm thử 60 phút, đặt chuột lên mâm nóng của máy đo. Theo dõi thời gian phản ứng với nhiệt độ của từng chuột. Kết quả được ghi ở bảng 2.

Bảng 2. Thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột

Lô thí nghiệm	Số chuột	Liều dùng (g/kg)	Thời gian phản ứng trung bình của chuột	P	% Tăng thời gian chịu nhiệt
Lô đối chứng	7	0,09	11,27±3,74		100
Lô dùng aspirin	7	0,05	18,33±7,38	<0,01	163
Lô dùng NS1	7	40	22,27±9,51	<0,01	197
Lô dùng NS2	7	80	22,22±6,30	<0,01	197

* Nhận xét: Chế phẩm thử NS1 và NS2 đều làm cho chuột giảm phản ứng với nhiệt độ rất rõ rệt, kéo dài thời gian phản ứng 197% so với lô đối chứng (p<0,01) và tác dụng mạnh hơn aspirin.

2.2.2. Phương pháp gây đau bằng acid acetic:

Cho chuột uống chế phẩm thử như mục (2.2.1). Ngày thứ ba sau khi cho chuột uống 60 phút, tiêm dung dịch acid acetic 1% với liều 0,25ml/20g chuột vào màng bụng, đếm số lần quần đau của từng chuột trong vòng 25 phút và tính kết quả trung bình. Kết quả được ghi ở bảng 3.

Bảng 3. Số lần quần đau trung bình của chuột

Thời điểm	Lô	Số chuột	Liều dùng (g/kg)	Số lần quần đau trung bình	Tỷ lệ giảm số lần quần đau (%)	P
0-5 phút	Đối chứng	8	0,09	7,38± 3,35	100	
		8	0,05	1,63± 2,18	78	<0,05
	NS1	8	40	5,88± 2,38	20	>0,05
		8	80	1,88 ±1,5	75	<0,05

6-10 phút	Đối chứng	8	0,09	18,38± 2,82	100	
	aspirin	8	0,05	11,13± 5,05	39	<0,05
	NS1	8	40	10,75± 6,93	41	<0,05
	NS2	8	80	7,88± 5,16	57	<0,05
10-15 phút	Đối chứng	8	0,09	17,88± 2,66	100	
	aspirin	8	0,05	11,88± 4,41	44	<0,05
	NS1	8	40	10,13± 4,76	43	<0,05
	NS2	8	80	6,13± 1,92	66	<0,05
15-20 phút	Đối chứng	8	0,09	15,13± 3,67	100	
	aspirin	8	0,05	11,88± 3,26	21	>0,05
	NS1	8	40	7,5± 3,34	50	<0,05
	NS2	8	80	4,0± 5,20	74	<0,05
20-25 phút	Đối chứng	8	0,09	12,38± 2,45	100	
	aspirin	8	0,05	9,63± 3,46	22	>0,05
	NS1	8	40	6,63± 4,42	46	<0,05
	NS2	8	80	3,25± 1,60	74	<0,05

* Nhận xét: trong 5 phút đầu, NS1 chưa thể hiện tác dụng, NS2 tác dụng giảm đau mạnh (75%) tương đương aspirin (78%). Từ phút thứ 6-20, NS1, NS2 vẫn có tác dụng giảm đau rõ rệt (43-74%), còn aspirin giảm dần (39%). Từ phút 21-25, NS1, NS2 vẫn còn tác dụng giảm đau tốt, đặc biệt NS2 ở mức 74% chứng tỏ liều càng cao tác dụng càng kéo dài, còn aspirin không có tác dụng nữa.

2.3. Tác dụng ảnh hưởng của phương thuốc đến giấc ngủ của hexobarbital:

Cho chuột uống chế phẩm thử như mục (2.2.1). Ngày thứ ba sau khi uống chế phẩm thử 60 phút, tiêm màng bụng chuột liều gây ngủ nhẹ của hexobarbital-100mg/kg-0,1ml/10g chuột. Theo dõi thời gian ngủ của từng chuột ở mỗi lô (phút). Kết quả được ghi ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của phương thuốc đến thời gian ngủ của chuột do hexobarbital

Lô	Số chuột	Liều dùng (g/kg)	Thời gian ngủ trung bình	Tỷ lệ tăng thời gian ngủ (%)	P
Lô đối chứng	8	0,09	69.92±9.98	100	
Lô dùng NS1	8	40	104.31±27.51	149	<0,05
Lô dùng NS2	8	80	92.8±21.04	132	<0,05

* Nhận xét : Cả hai chế phẩm NS1, NS2 đều kéo dài giấc ngủ do hexobarbital từ 132-149% so với nhóm đối chứng (p<0,05). Như vậy chế phẩm thử có tác dụng hiệp đồng với thuốc ngủ hexobarbital.

III. Kết luận và thảo luận

- Trong nước sắc phương thuốc có các nhóm chất alcaloid, saponosid, glycosid tim, flavonoid tương ứng với các nhóm chất chứa trong từng vị thuốc cấu thành phương thuốc.

- Trên sắc kí lớp mỏng thành phần của các nhóm chất trong nước sắc phương thuốc phần lớn giống thành phần của nhóm chất đó trong vị thuốc

cấu thành phương thuốc.

- Nước sắc 2:1 của phương thuốc có tác dụng giảm đau do tác nhân gây đau là nhiệt và acid acetic và tác dụng tăng khi liều thử tăng, tác dụng hiệp đồng với thuốc ngủ hexobarbital và không độc qua đường uống với liều 160g/kg thể trọng.

- Công năng của phương thuốc là bổ khí, kiện tỳ, kích thích tiêu hoá, hành khí chỉ thống, phương hương hoá thấp và an thần, chữa những trường hợp đau dạ dày mạn tính kéo dài, người gầy yếu xanh xao, ăn uống kém hay đau bụng mệt mỗi ngủ kém. Phương thuốc cấu tạo gồm các vị thuốc vừa công vừa bổ để chữa bệnh viêm loét dạ dày tá tràng cho cộng đồng và có thể tùy theo từng trường hợp bệnh

cụ thể mà gia giảm cho thích hợp.

Đau dạ dày là một bệnh khá phức tạp, có nhiều triệu chứng. Đau là một triệu chứng quan trọng, làm cho bệnh nhân không ăn, không ngủ được. Nếu ăn ngủ kém kéo dài sẽ làm cho sức khỏe suy giảm và bệnh tăng lên. Phương thuốc nêu trên có tác dụng giảm đau, an thần, giúp cho người bệnh ăn ngủ được, sức khỏe và sức đề kháng tăng lên để chống lại bệnh, làm bệnh mau khỏi. Nhưng chữa đau mới chỉ là chữa triệu chứng mà chưa chữa nguyên nhân, cần tiếp tục thử những tác dụng gần

với nguyên nhân gây bệnh như chống tiết acid dịch vị, kháng *Helicobacter pylori*, chống viêm, chống loét v.v để có những đánh giá đầy đủ về phương thuốc này.

Trên SKLM của nước sắc phương thuốc, có những vết không trùng với vết có trong vị thuốc, có thể vết đó có trong vị thuốc khác trong đơn thuốc mà chúng tôi chưa có điều kiện đưa vào đối chiếu được hoặc trong quá trình sắc các chất bị phân hủy tạo thành.

Tài liệu tham khảo

1). Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Việt Tựu. Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc. NXB Y học 1985; 2). Lê Khánh Trai, Hoàng Hữu Như. Một số ứng dụng xác suất thống kê trong y sinh học. NXBKHK 1979; 3). Trường Đại học dược. Bài giảng dược liệu T1,T2, NXB Y học 1980-1982; 4). Trường Đại học dược Hà Nội. Bài giảng dược lâm sàng II, Trung tâm thông tin, Trường đại học Dược Hà Nội. 1997; 5). Eddy, N.B and Leim Back, O. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1953, 107, 385-393; 6). Kim, Jin Sook; Chung Sook. *CA* 1997. Vol127.No 16.217869r; 7). Koster,R, Anderson, M and Debege, E, J. *Fed. Proc. Biol.* 1959, 18, 142; 8). Litchfield, J, T; J.R and Wilconxon, R. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999.

Tap chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 183-186)

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GIẢM ĐAU VÀ TĂNG LỰC CỦA CAO TRẦN TRÊN THỰC NGHIỆM

Võ Trường Kha, Nguyễn Văn Thái**, Nguyễn Nhược Kim, Trần Thuý**

** Đại học Y Hà Nội; ** Viện Y học cổ truyền Việt Nam*

(Nhận bài ngày 26 tháng 2 năm 2001)

Summary

Experimental Analgesic and Tonic Effects of Python Extract

Total extract of Python spp. has been shown effective in pain reduction in rats in hot plate test and strengthening fitness in mice in swim test. The preparation also increased memory in rats.

Key words: Python spp., Extract, Analgesic, Tonic Effects.

I. Đặt vấn đề

Trần - *Python molorus* L. (trần đất) và *Python reticulatus* Schneider (trần mắc võng), thuộc họ Trần (Boidae) [1;7] là động vật có thể nuôi cho sinh sản nhanh và hiệu quả kinh tế cao. Từ xưa, nhân dân đã dùng các bộ phận lấy từ trần làm dược phẩm như thịt trần để bổ dưỡng, xương trần làm cao chữa đau nhức xương, đau cột sống; mỡ trần làm chóng lành vết thương, chữa mụn nhọt, vết bỏng và làm đẹp da phụ nữ; mật trần chữa bệnh gan, sốt xuất huyết, đau tê xương khớp, đau bụng; máu trần chữa suy nhược, thiếu máu, hoa mắt,

chóng mặt [1;3;4;7].

Cao trần là một dược phẩm của y học cổ truyền, có nhiều tác dụng phổ biến. Những công trình nghiên cứu về cao trần còn quá ít, ngoài một số công trình của Hoa Kỳ, Trung Quốc nghiên cứu về thành phần hoá học của máu và mật trần [10;11]. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài này nhằm bước đầu đánh giá tác dụng giảm đau và tăng lực của cao trần và ảnh hưởng của nó lên trí nhớ của động vật thực nghiệm.

II. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

1. Đối tượng nghiên cứu:

- Chuột cống trắng 7 tuần tuổi, có trọng lượng 100 ± 10 gam;
- Chuột nhắt trắng khoẻ mạnh 7 tuần tuổi, có trọng lượng 20 ± 2 g.

Động vật thí nghiệm do Viện vệ sinh dịch tễ cung cấp, được nuôi một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm trong điều kiện chu kỳ sáng/tối 12 giờ, với chế độ ăn uống và chăm sóc đầy đủ.

2. Phương pháp nghiên cứu:

2.1. Tác dụng giảm đau của cao trần trên chuột cống trắng:

a) Tác dụng giảm đau bằng phương pháp mâm nóng (Hot- Plate test)

Chuột cống được chia ngẫu nhiên làm 2 nhóm: một nhóm cho uống cao trần (100mg/kg), một nhóm cho uống nước cất (2 ml/con). Chuột được uống thuốc trước thí nghiệm 30 phút. Đặt mỗi chuột lên đĩa kim loại và duy trì ở nhiệt độ $55 \pm 0,5^\circ\text{C}$, xác định thời gian (t giây) chuột biểu hiện đau bằng cách cắn, kêu hoặc giật nảy.

b) Tác dụng giảm đau cơ học (Randall- Selito)

Chuột cống được chia ngẫu nhiên làm 2 nhóm: một nhóm cho uống cao trần (100 mg/kg); một nhóm cho uống nước cất (2 ml/con). Chuột được uống thuốc trước thí nghiệm 30 phút. Dùng máy đo ngưỡng đau Analgesimeter (Ugobasile 7360.I.R. bulb: 8V- 50w) xác định áp lực gây đau ở mu bàn chân bên phải chuột (biểu hiện bằng số vạch chia trên máy Analgesimeter; chuột biểu hiện đau bằng phản kháng: cắn, kêu hoặc giật chân, quẫy đuôi). Ghi lại số vạch trên máy Analgesimeter ở các thời điểm trước thí nghiệm (w0), sau 30 (w30), 60 (w60), 90 (w90) phút uống thuốc.

2.2. Tác dụng tăng lực của cao trần trên chuột nhắt trắng

Chia chuột thành 2 lô ngẫu nhiên (lô 1 và lô 2), một lô uống nước cất (1 ml); một lô uống cao trần (100 mg/kg).

Tiến hành thí nghiệm, ghi thời gian chuột bơi trước khi dùng thuốc (t1), sau khi dùng thuốc (t2) và tính thời gian $\Delta t = (t2 - t1)$ (phút) cho mỗi chuột.

Hệ số tăng lực (HSTL) được tính theo công thức:

$$\text{HSTL} = \frac{t2(\text{tri})/t1(\text{tri})}{t2(\text{nước})/t1(\text{nước})}$$

HSTL ≥ 1 là thuốc có tác dụng tăng lực; HSTL < 1 là thuốc không có tác dụng tăng lực.

2.3. Tác dụng của cao trần trên phản xạ tránh thụ động có điều kiện.

Chuột cống trưởng thành (đực và cái riêng biệt) được chia ngẫu nhiên thành 2 lô: ở lô đối chứng cho uống 2 ml nước cất/ngày, ở lô dùng thuốc cho uống dung dịch cao trần 100 mg/kg ngày, uống một lần khi đói lúc 8 giờ sáng hàng ngày, liên tục 21 ngày. Một giờ sau liều cuối cùng, làm test huấn luyện cho từng chuột. Test kiểm tra đập tắt trí nhớ thực hiện sau test huấn luyện 1, 3, 7, 14 và 21 ngày.

Tính thời gian lưu lại buồng sáng T (giây) và tỷ lệ % chuột có trí nhớ dương tính (lưu lại buồng sáng ≥ 60 giây) cho từng nhóm ở các thời điểm làm test kiểm tra.

Các số liệu thu được xử lý theo thuật toán thống kê T- Test. Thí nghiệm được thực hiện tại Viện y học cổ truyền Việt Nam, ở nhiệt độ phòng ($26 \pm 1^\circ\text{C}$), áp suất $760 \pm 5\text{mmHg}$, độ ẩm $80 \pm 5\%$.

III. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

1. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau.

Bảng I. Thời gian (giây) chuột phản ứng với nhiệt của các lô nghiên cứu

Lô thí nghiệm		Thời gian chuột phản ứng với nhiệt (giây)		
		t0	t30	t60
Lô đối chứng (n=18)	X \pm SE	5,51 \pm 1,10	6,25 \pm 1,32	8,09 \pm 2,17
	Xs/Xt (%)		113,43	146,82
			P>0,05	P>0,05
Lô dùng thuốc (n=18)	X \pm SE	4,31 \pm 0,64	7,02 \pm 1,29	13,93 \pm 2,71
	Xs/Xt (%)		162,87	322,20
			P<0,05	P<0,001
X dùng thuốc / X đối chứng (%)			112,32	172,19
			P>0,05	P<0,001

a) Thử tác dụng giảm đau bằng phương pháp mê thuốc tăng dần theo thời điểm quan sát và so với lô nóng. đối chứng khác biệt sau 60 phút ($P < 0,001$)

Thời gian chuột phản ứng với nhiệt của lô dùng b) Thử tác dụng giảm đau cơ học

Bảng 2. Số vạch đo được (trên máy Analgesimeter) của các lô ở thời điểm điều trị nghiên cứu

Lô thí nghiệm	Số vạch đo được trên máy Analgesimeter			
	W0	W30	W60	W90
Lô đối chứng (n= 50)	10,5 ± 2,5	11,7 ± 3,7	10,7 ± 3,0	9,32 ± 2,4
Lô dùng thuốc (n= 50)	10,8 ± 2,4	12,1 ± 2,9	14,6 ± 3,4	13,0 ± 3,2
W dùng thuốc /W đối chứng (%)		103,22	136,45	139,48
		$P > 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$

Ngưỡng đau của chuột ở lô dùng thuốc tăng dần theo thời điểm quan sát và tăng hơn so với lô đối chứng rõ rệt sau 60; 90 phút ($P < 0,05$).

2. Kết quả nghiên cứu tác dụng tăng lực của cao trần trên chuột nhắt trắng:

Bảng 3. Thời gian (phút) chuột bơi được trong nước trước (t_1) và sau (t_2) thí nghiệm, Δt , HSTL và tỷ lệ đôi chuột có HSTL dương tính.

Chỉ tiêu	Lô thí nghiệm		
	Lô đối chứng (n=15)	Lô dùng thuốc (n= 15)	P
t_1 (phút)	6,90 ± 2,51	5,67 ± 2,47	$P > 0,05$
t_2 (phút)	5,53 ± 1,91	8,96 ± 1,82	$P < 0,05$
Δt (phút)	-1,36 ± 1,02	2,60 ± 1,09	$P < 0,05$
HSTL dương tính	14 (93,33%)		
HSTL âm tính	1 (6,67%)		
HSTL chung	1,923 ± 0,333		

Thời gian chuột bơi được (t_2), Δt và tỷ lệ % chuột có HSTL dương tính của lô dùng thuốc cao hơn hẳn so với lô đối chứng. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). HSTL là 1,923 ± 0,333,

trong đó, 14 đôi (93,33%) có HSTL dương tính.

3. Kết quả nghiên cứu tác dụng của cao trần trên phản xạ tránh thụ động có điều kiện ở chuột cống.

Bảng 4. Thời gian lưu lại buồng sáng T (giây) và tỷ lệ % chuột có trí nhớ (+) ở chuột cống trắng (lưu lại buồng sáng ≥ 60 giây).

Thời điểm	Nhóm nghiên cứu						P
	Nhóm đực (n = 10)		Nhóm cái (n = 10)		Nhóm đối chứng (n = 10)		
	T(giây)	%	T(giây)	%	T(giây)	%	
Sau 1 ngày	170,3 ± 4	100	196 ± 24,0	100	156,0 ± 28,6	80	$P > 0,05$
3 ngày	168,3 ± 22,4	90	183 ± 47,7	90	132,2 ± 26,2	70	$P > 0,05$
7 ngày	155,5 ± 24,8	80	180 ± 56,57	90	126,1 ± 30,3	70	$P > 0,05$
14 ngày	128,3 ± 29,9	60	138,7 ± 28,5	60	125,4 ± 30,5	60	$P > 0,05$
21 ngày	101,6 ± 31,7	60	79,5 ± 30,5	50	106 ± 30,7	60	$P > 0,05$

Thời gian lưu lại buồng sáng (giây) và tỷ lệ chuột có trí nhớ (+) giảm dần theo các thời điểm

kiểm tra; ở lô đối chứng có xu hướng giảm nhanh hơn so với lô dùng thuốc; trong đó ở lô chuột cái

uống cao có xu hướng giảm chậm hơn. Song sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

IV. Kết luận

1. Thời gian (giây) làm chuột phản ứng trong Hot-plate test ở nhóm dùng thuốc tăng cao hơn nhóm chứng sau 60; 90 phút uống thuốc ($P < 0,05$) và ngưỡng đau (biểu hiện bằng số vạch đo được trên máy Analgesimeter) của chuột trong phòng thí nghiệm Randall-Selitto (cơ học) ở nhóm dùng thuốc tăng cao hơn nhóm đối chứng sau 60 phút dùng thuốc ($P < 0,001$).

2. Hệ số tăng lực trong thí nghiệm chuột bơi ở nhóm chuột nhất trắng uống dung dịch cao trần là $1,923 \pm 0,333$ và số đôi chuột có HSTL (+) là 14/15 (93,33%).

3. Thời gian lưu lại buồng sáng T (giây) và tỷ lệ % chuột có trí nhớ dương tính ở các nhóm chuột cống trắng thí nghiệm giảm dần theo thời điểm nghiên cứu. Trong đó, ở nhóm đối chứng thời gian T và tỷ lệ % này giảm nhanh hơn so với nhóm dùng thuốc.

Tài liệu tham khảo

1). Đỗ Huy Bích. Thuốc từ cây cỏ và động vật. NXB Y học 1995, tr.613; 2). Đặng Hạnh Khôi- Trần Thị Minh Hồng. Nghiên cứu về cao động vật. Tóm tắt công trình nghiên cứu khoa học y dược 1978-1985, tr.230. 3). Ngô ứng Long- Nguyễn Khắc Viện. Tạp chí dược học 1995, 1, tr.17-20. 4). Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXBKHK 1986, tr.1008. 5). Nguyễn Tài Lương và cộng sự. Hải sâm: nguồn thực phẩm giàu chất sinh học- thuốc bổ, thuốc chữa bệnh. Nghiên cứu hoạt chất sinh học từ động vật và ứng dụng trong sản xuất đời sống. Báo cáo đề tài cấp trung tâm 1996-1997, tr.9-15, 34-50. 6). Lê Thị Toàn- Dương Bình Di- Đỗ Trung Đàm- Vũ Thị Tám. Tạp chí dược học 1994, 2, tr.14-15. 7). Đặng Hồng Vân- Phan Quốc Kinh. Góp phần nghiên cứu về thành phần và tác dụng chống viêm của mật trần Python Sp.- Việt Nam. Tóm tắt những công trình nghiên cứu khoa học y dược 1978- 1985, tr. 231-232. 8). Trần Yên. Tác dụng tăng cường trí nhớ của cao rễ đinh lăng trên động vật sau spocolamin và sau shock điện. Hội nghị khoa học Học viện quân y 1992, tr.35-40. 9). Brekkman II. Eleutherococcus senticosus, the new medicinal herb of the Araliaceae family Pro international pharmacological meeting, Prague 1965, vol 7, page 97-102. 10). Colon- JM; Lance- VA. Gen. Comp. Endocrinol. 1994, 94(2), 272-278; 11). You- YT; Lin- JO; Ji- LF. Yao- Hsuch- pao 1992, 27 (9), 674-678.

Tạp chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 186-189)

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ANTIOXYDANT CỦA HAI DẠNG THUỐC CỐM TRÀ LINH CHI VÀ CỐM TRÀ LINH CHI PHỐI HỢP VỚI SÂM TRÊN NÃO CHUỘT CHỊU STRESS LẮC RUNG

Nguyễn Minh Khai, Phạm Thanh Trúc, Đỗ Thị Phương
Viện Dược liệu

(Nhận bài ngày 8 tháng 3 năm 2001)

Summary

Studies on Anti-oxidative Effect of *Garnoderma* and *Garnoderma-Panax ginseng* Tea on Mouse Brain Stressed by Shaking

*Either *Garnoderma* or *Garnoderma-Panax ginseng* tea at a dose of 200mg/kg reduced significantly the MDA content in the brain of mice suffered from shaking. This shows that both preparations possess anti-oxidative effect.*

*Key words: *Garnoderma*, *Garnoderma-Panax*, Tea, Anti-oxidative Effect.*

I. Đặt vấn đề

Khi cơ thể bị các stress như quá nóng, quá ồn, quá căng thẳng, quá đau đớn..., gốc oxy tự do tăng

lên. Lúc này, các chất chống oxy hoá bị giảm, dẫn tới quá trình peroxy hoá lipid (Pol) tăng theo.

Khi bị stress, Pol tăng lên ở não hay toàn cơ thể,

đó là ảnh hưởng của stress. Chất ức chế được Pol được coi như có khả năng làm cơ thể thích nghi với ngoại cảnh.

Các stress làm ảnh hưởng đến sức khoẻ, sinh ra các bệnh như suy nhược thần kinh, sợ hãi, lo lắng, chóng già.

Linh chi và linh chi-sâm là những dạng thuốc có tác dụng trường sinh, ích khí, định thần, tăng sức đề kháng, hướng não.

Qua nghiên cứu này, chúng tôi muốn đánh giá tác dụng của hai dạng thuốc trên não chuột bị stress.

II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Nguyên liệu

+ Hoá chất: Acid thiobarbituric, Tris. HCl và acid trichloroacetic tinh khiết dùng trong phân tích.

+ Mẫu thử: Cơm trả linh chi và linh chi-sâm của phòng bảo chế Viện được liệu cung cấp.

+ Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng khoẻ mạnh, trọng lượng từ 20-22 g/con, nhập của Viện vệ sinh dịch tễ.

2. Phương pháp

- Phương pháp gây stress lắc rung bằng cách nhốt chuột vào lồng, đặt lên máy lắc rung tần số 150 lần/phút. Biên độ giao động là 3 cm. Thời gian chịu stress lắc rung tính theo phút.

- Phương pháp xác định quá trình peroxy hoá ở não chuột theo phương pháp IU.A. Vladimirov và A.I. Atrakov. (1972).

Nguyên tắc: Lấy não chuột bị lắc rung sau một thời gian nhất định và đồng thể trong đệm Tris (pH=7,4), rồi ủ ở nhiệt độ 37°C, kết tủa bằng acid trichloroacetic 30%. Ly tâm lấy dịch trong cho

phản ứng với acid thiobarbituric để phát hiện hàm lượng malonyldialdehyde (MDA) là sản phẩm cuối cùng của quá trình Pol. Đo màu ở $\lambda=532$ nm. Biết được hàm lượng MDA ở các mẫu đo, từ đó có thể suy ra được quá trình Pol ở não chuột thay đổi như thế nào và so sánh với đối chứng.

Ở Việt Nam, phương pháp này đã được tác giả Nguyễn Quang Thường nghiên cứu và áp dụng thử nghiệm.

- Từ những kết quả khảo sát trên, với trang thiết bị của cơ sở, chúng tôi đã chọn thời gian lắc rung là 30 phút; đó là thời gian thích hợp để so sánh giữa lô chịu stress lắc rung và lô đối chứng không gây stress. Chúng tôi thấy hàm lượng MDA ở não chuột bị stress tăng rõ rệt so với đối chứng với $P<0,001$.

Phương pháp được áp dụng để nghiên cứu thuốc, đánh giá tác dụng của thuốc với chuột bị stress lắc rung.

Cách tiến hành

Chuột được chia thành nhiều lô khác nhau:

Lô 1: Giữ ở điều kiện bình thường để làm đối chứng.

Lô 2: Gây stress lắc rung 30 phút (đối chứng)

Lô 3: Cho chuột uống thuốc linh chi hoặc linh chi-sâm hoà trong nước với các liều khác nhau và gây stress lắc rung 30 phút.

Chuột được cắt đầu lấy não, xác định MDA ở não theo phương pháp đã nêu để đánh giá hoạt tính chống oxy hoá (HTCO) của thuốc.

III. Kết quả nghiên cứu

- Nghiên cứu ảnh hưởng của liều lượng linh chi đến khả năng chịu stress lắc rung

Bảng 1. Ảnh hưởng của liều lượng linh chi đến khả năng chịu stress lắc rung

STT	E (Mật độ quang) biểu thị nồng độ MDA				
	Đối chứng bình thường	Đối chứng gây stress	Linh chi 50mg/kg	Linh chi 200mg/kg	Linh chi 300mg/kg
1	0,349	0,605	0,557	0,420	0,291
2	0,366	0,638	0,449	0,359	0,209
3	0,332	0,643	0,453	0,411	0,255
TB	0,349	0,629	0,486	0,397	0,252
HTCO%			22,7	36,9	59,9

Nhận xét: Với liều 50-300 mg cho 1 kg thể trọng, HTCO đều tăng, thể hiện rõ nhất từ liều 200 mg/kg trở lên. - Nghiên cứu ảnh hưởng của liều lượng linh chi - sâm đến khả năng chịu stress lắc rung.

Bảng 2. Ảnh hưởng liều lượng của thuốc linh chi- sâm tới khả năng chịu stress lắc rung

STT	E (Mật độ quang) biểu thị nồng độ MDA				
	Đối chứng bình thường	Đối chứng gây stress	Linh chi-sâm 50mg/kg	Linh chi-sâm 200mg/kg	Linh chi-sâm 300mg/kg
1	0,366	0,638	0,528	0,486	0,256
2	0,349	0,643	0,541	0,394	0,379
3	0,332	0,605	0,639	0,459	0,314
TB	0,349	0,629	0,569	0,446	0,316
HTCO%			9,5	29,1	49,8

Nhận xét: Liều thuốc linh chi - sâm có HTCO thể hiện rõ rệt từ liều 200 mg/kg thể trọng trở lên. thuốc với liều trung bình 200 mg/kg thể trọng là liều suy ra từ liều có tác dụng trên người.

Dựa vào kết quả khảo sát sơ bộ với các liều lượng của 2 thuốc trên đến khả năng chịu stress lắc rung, chúng tôi tiến hành xác định HTCO của 2 - Nghiên cứu hoạt tính antioxydant của linh chi và linh chi - sâm trên não chuột.

Bảng 3. Hoạt tính antioxydant của hai thuốc linh chi và linh chi- sâm trên não chuột gây stress lắc rung 30 phút.

SIT	E (Mật độ quang) biểu thị nồng độ MDA			
	Đối chứng (1) bình thường	Đối chứng (2) gây stress	Linh chi (3) 200mg/kg	Linh chi-sâm(4) 200mg/kg
1	0,323	0,605	0,372	0,487
2	0,393	0,602	0,341	0,395
3	0,310	0,652	0,340	0,457
4	0,404	0,638	0,359	0,459
5	0,288	0,573	0,342	0,410
6	0,377	0,682	0,411	0,385
7	0,381	0,616	0,449	0,476
8	0,322	0,687	0,481	0,421
9	0,281	0,643	0,382	0,498
10	0,284	0,658	0,505	0,481
11	0,362	0,615	0,374	0,480
12	0,452	0,643	0,420	0,394
TB	0,348 ± 0,016	0,634 ± 0,010	0,401 ± 0,015	0,445 ± 0,012
HTCO%			37,60	29,80
P		P ₁₋₂ <0,001	P ₂₋₃ <0,001	P ₂₋₄ <0,001

Nhận xét: So sánh giữa 2 lô stress lắc rung với lô đối chứng không bị stress, chúng tôi thấy hàm lượng MDA ở não chuột bị lắc rung đã tăng lên gấp 1,8 lần so với đối chứng. Hai thuốc linh chi và linh chi- sâm đều có tác dụng chống oxy hoá.

IV. Kết luận

- Hai dạng thuốc linh chi và linh chi-sâm với liều

200 mg/kg thể trọng có tác dụng antioxydant, biểu hiện ở hàm lượng MDA giảm ở não chuột bị stress lắc rung có ý nghĩa thống kê (P<0,001).

- Hai dạng thuốc này đã bảo vệ cơ thể bị stress có vai trò quan trọng trong sự thoái hoá não, hoạt tính chống stress cũng như hoạt tính chống lão hoá.

Tài liệu tham khảo

1). Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB. Y học 1999, tr. 804 và 831. 2). Nguyễn Quang Trường- Nghiên cứu quá trình peroxy hoá ở não chuột khi bị lắc rung; tr. 291-296. Hội nghị KHCN dược Trường Đại học Dược Hà Nội 12/1998. 3). I.U.A.Vladimirov, A.I.antrakov, pereokixxnoe okixlenhie lipidov vo biolochemkix membranax- Nauka- 1972.

Tap chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001 (trang 189-190)

PHƯƠNG PHÁP TẠO CHẾ PHẨM MORANTIN VÀ KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU VỀ TÁC DỤNG CỦA MORANTIN TRÊN BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG KHÔNG PHỤ THUỘC INSULIN (TIẾP THEO)

Phạm Văn Thanh và cộng sự

Bảng 4. Đường máu qua các tháng điều trị duy trì bằng Morantin so với mức đường máu của tuần thứ 4 (sau đợt điều trị tích cực 4 tuần).

Tháng	Lượng đường máu (m mol/l) n=20	Tỷ lệ giảm so với mức đường máu cuối 4 tuần điều trị tích cực	P
0	7,36 ± 0,28		
1	6,8 ± 0,38	7,6%	P > 0,05
2	6,53 ± 0,37	11,2%	P > 0,05
3	5,8 ± 0,10	21,0%	P > 0,05

Qua 3 tháng điều trị duy trì, kết quả vẫn giữ được đường máu ở mức thấp, (sự khác biệt không có ý nghĩa so với mức đường máu của tuần điều trị thứ 4 khi ra viện).

Các kết quả nghiên cứu về mức độ an toàn khi sử dụng Morantin, qua nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan, thận và các tế bào máu ngoại vi được trình bày ở các bảng 5 và 6.

3.2.4. Đánh giá độ an toàn khi sử dụng Morantin:

Bảng 5. Kết quả các xét nghiệm có liên quan với chức năng gan thận.

Xét nghiệm	Đơn vị	Chức năng gan thận		P
		Trước điều trị	Sau điều trị	
SGOT (n=15)	U/l	27,93 ± 2,04	26,9 ± 2,17	P > 0,05
SGPT (n=15)	U/l	29 ± 2,3	29,6 ± 2,3	P > 0,05
Urê (n=17)	m mol/l	6,24 ± 0,03	5,78 ± 0,03	P > 0,05
Creatinin (n=14)	μ mol/l	87,29 ± 4,26	84,28 ± 4,66	P > 0,05

Nhận xét: Các xét nghiệm về chức năng gan thận không thấy sự thay đổi có ý nghĩa nào.

Bảng 6. Kết quả các xét nghiệm tế bào máu ngoại vi

Xét nghiệm	Xét nghiệm máu ngoại vi		P
	Trước điều trị n=9	Sau điều trị n=6	
Hồng cầu	4,02 ± 0,27	4,03 ± 0,08	P > 0,05
Huyết sắc tố	130 ± 4,4	128 ± 1,44	P > 0,05
Bạch cầu	6000 ± 506,65	5360 ± 456,55	P > 0,05
Bạch cầu đa nhân ưa eosin (E) (%)	2,22 ± 0,34	3 ± 0,36	P > 0,05

Bạch cầu lympho (L) (%)	41,22 ± 8,6	41,66 ± 3,5	P > 0,05
Bạch cầu đơn nhân (M) (%)	56,88 ± 2,85	56,80 ± 3,65	P > 0,05

Nhận xét: Các thành phần của máu như hồng cầu, bạch cầu, huyết sắc tố và công thức bạch cầu đều không có sự thay đổi nào có ý nghĩa.

4. Nhận xét và kết luận

- Đã xây dựng được quy trình chiết xuất nhóm hoạt chất glycosid có thể triển khai trong sản xuất.

- Đã tạo được viên nang Morantin thuận tiện trong sử dụng.

Kết quả thử nghiệm lâm sàng ban đầu cho thấy: Chế phẩm Morantin có hiệu quả trong điều trị bệnh ĐTĐ tít 2. Sau một tháng điều trị tích cực đường máu của người bệnh nói chung trở về mức

bình thường.

- Các tháng tiếp sau điều trị duy trì với liều thấp bằng 1/2 liều điều trị tích cực, mức đường máu của người bệnh vẫn giữ được ở mức bình thường.

- So sánh tác dụng của Morantin với Maninil (một thuốc điều trị ĐTĐ nhập của nước ngoài thuộc nhóm sulfonylure thế hệ 2) thấy rằng tác dụng hạ đường máu không có sự khác biệt có ý nghĩa.

- Qua đánh giá bằng các xét nghiệm có liên quan đến chức năng gan, thận, các xét nghiệm về tế bào máu ngoại vi thấy rằng các chức năng, gan thận và các tế bào máu vẫn ổn định bình thường, chứng tỏ thuốc Morantin có độ an toàn cao.

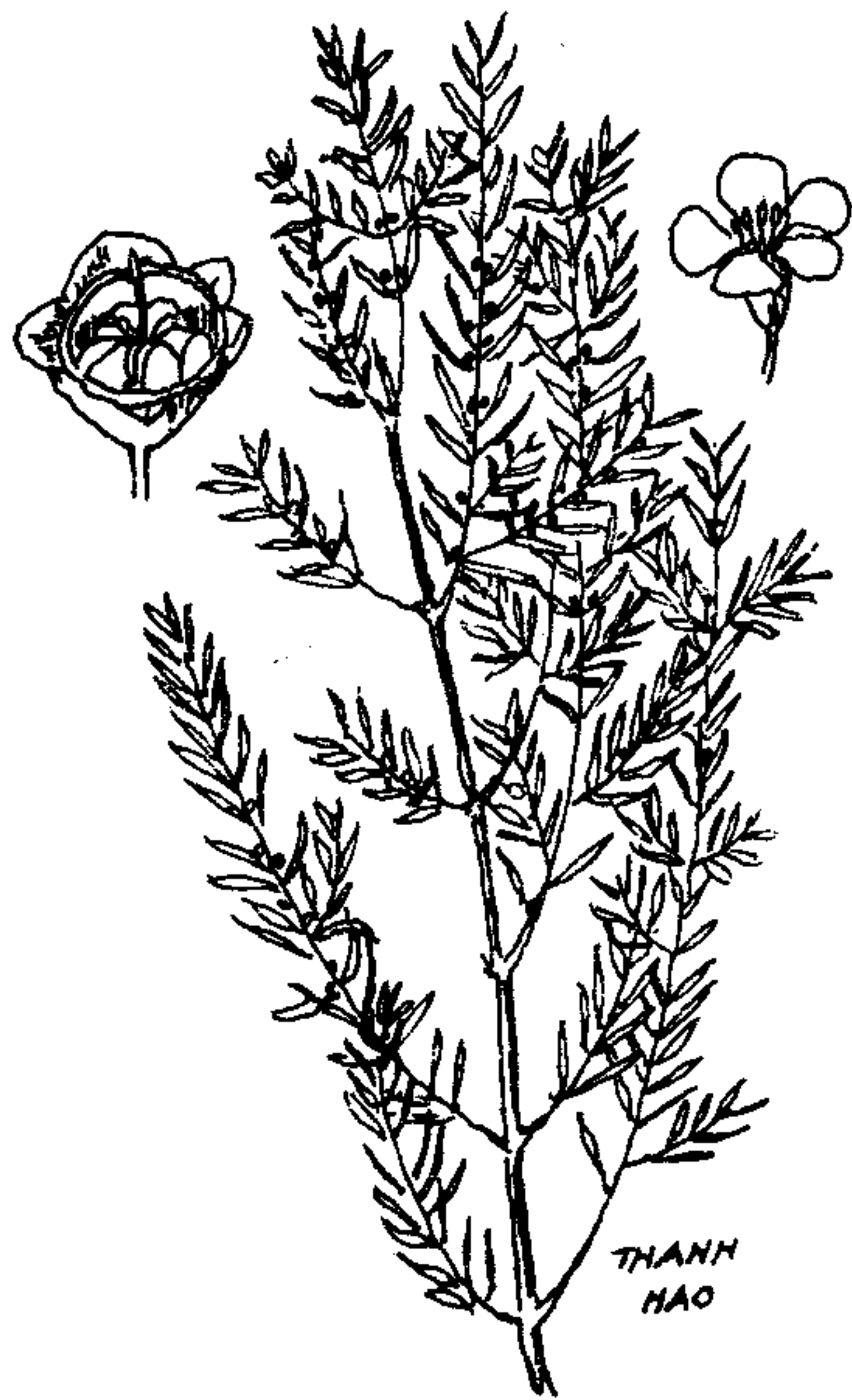
Tài liệu tham khảo

- 1). Vũ Đình Vinh, Đặng Hanh Phúc, Đỗ Đình Hồ (1974), *Kỹ thuật y sinh hoá*, Trường đại học Quân y, NXB QĐND Tr 222- 407; 2). Akhtar M.S., Akhtar M.A., Yaqub M. (1981). *Planta Medica*, 42, 205- 212; 3). Loubatieres L, Trong Laurence D.R, Bacharach A.L, (1965) "Evaluation of drug activities": *Pharmacometrics*, Academic Press, London and New York, Vol 2, 789- 800; 4). Nityanand S, Trong : Dhawan and C.S (1984) *The use of pharmacological techniques for the evaluation of natural products*, UNESCO, Lucknow publishing house, India, 61- 68; 5). Đỗ Thị Minh Thìn (1996), *Nghiên cứu điều trị đái tháo đường không phụ thuộc insulin bằng chế phẩm từ quả mướp đắng và sinh địa*, Luận án phó tiến sỹ khoa học y dược- Học viện Quân y; 6). Fatope, Majekodunmi O.; Takeda, Yoshio; Yamashito, Hiroyasu; Okabe, Hikaru; Yamauchi, Tatsuo. (1990). *J. Nat. Prod.*, 53 (6), 1491 - 7 (C. A. 114: 118498m); 7). Nunziatina De Tommasi; Francesco De Simone; Vincenzo De Feo and Cosimo Pizza (1991). *Planta Medica*, 5, 201; 8). Yasuda Mayumi, Iwamoto Masayo, Okabe Hikaru, Yamauchi Tatsuo. (1984). *Chem. Pharm. Bull*, 32(5) , 2044 - 7. (C.A. 101 : 107352x); 9). Wolfgang Sucrow. (1965). *Tetrahedron Letters*, 26 , 2217 - 21.

THANH HAO CÂY TINH DẦU CÓ GIÁ TRỊ

Hỏi: Xin cho biết tác dụng chữa bệnh của cây thanh hao?

Mai Văn Định (Vĩnh Phú)



Đáp: Ngày trước, cùng với cao xoa Con Hồ và dầu Nhị Thiên Đường, dầu chổi Con Chim đã sớm chiếm lĩnh thị trường đông được với tác dụng chữa bệnh được nhân dân rất ưa chuộng. Dầu chổi gây đỏ da, làm nóng và tiêu tan đau nhức, tê mỏi. Dầu được pha chế từ tinh dầu thanh hao (700 ml) trộn với tinh dầu trầm (200 ml), dầu lạc (100 ml). Đóng lọ 30 ml. Dùng ngoài để xoa bóp, không được uống.

Cây thanh hao (*Baeckea frutescens* L.) thuộc họ Sim (Myrtaceae), tên khác là chổi xuể, chổi rành, chổi trện (vùng khu 4) là một cây nhỏ, mọc thành bụi, cao khoảng 1 m, có khi hơn. Thân phân cành nhiều, có tán lá sum sê, vỏ ngoài màu nâu. Lá nhỏ, mọc đối, không cuống, phiến rất hẹp, nhẵn bóng và dễ rụng, chỉ có một gân. Hoa nhỏ màu trắng, mọc riêng lẻ ở kẽ lá; lá bắc rất nhỏ, rụng sớm; nụ hoa hình chóp ngược; đài gồm 4-5 thùy hình tam giác, hơi nhọn đầu; cánh hoa tròn rời nhau; nhị 8-10; bầu dính hoàn toàn vào ống đài, có 3 ô chứa rất nhiều noãn. Quả nang mở theo đường rách ngang, hạt có cánh. Toàn cây có

mùi thơm và vị nóng. Mùa hoa quả vào tháng 4-6.

Thanh hao là loại cây khá quen thuộc với nhân dân vùng đồng bằng, trung du bắc bộ và trung bộ. Cây thường được thu hái về, phơi khô, rũ hết lá dùng làm chổi quét. Ở nhiều vùng, người ta đã chế thuốc trừ sâu, bệnh cho cây trồng từ cây thanh hao bằng phương pháp cụ thể sau: Lấy cành lá phơi khô, băm nhỏ, đun với nước trong 3 giờ đến sôi. Lọc, bỏ bã. Khi dùng, pha thêm với 5 phần nước, rồi phun.

Vùng phân bố tự nhiên của thanh hao từ độ cao vài chục mét trở xuống ở vùng đồi trọc dài nắng, đồi cây bụi thấp khô cần ở trung du và ven biển. Những tỉnh có nhiều thanh hao là Hà Bắc, Quảng Ninh, Bắc Thái, Vĩnh Phú, Thanh Hoá, Nghệ An, Thừa Thiên - Huế, Quảng Nam- Đà Nẵng, Phú Yên. Đặc biệt ở tỉnh Thừa Thiên- Huế, thanh hao mọc lẫn với cây trầm (trầm gió, chè đồng, chè cay- *Melaleuca leucadendra* L.) thành rừng rộng tới hàng chục hecta và trở thành những cây đặc sản lớn có tinh dầu ở vùng này.

Từ hàng chục năm nay, nhiều địa phương đã khai thác cây thanh hao để cất tinh dầu dùng làm thuốc ở trong nước và xuất khẩu. Khối lượng khai thác này còn nhỏ so với trữ lượng tự nhiên của cây. Hơn nữa, việc khai thác thường xuyên đã trở thành một nhân tố quan trọng, có tác dụng kích thích khả năng tái sinh của cây nhằm tạo ra nhiều cành, lá cho thu hoạch liên tục hàng năm.

Tinh dầu cất từ lá thanh hao với hàm lượng 1-3% (ở cây tươi là 0,5- 0,7%), là một chất lỏng trong, màu vàng, mùi thơm hắc, vị tê cay. Thành phần chủ yếu của tinh dầu gồm α -pinen, α -thuyon, cineol, limonen, ylangen, hợp chất monoterpen, các sesquiterpen. Tinh dầu thanh hao có tính kháng khuẩn và kháng nấm cao, đặc biệt là đối với khuẩn *Staphylococcus aureus*.

Theo kinh nghiệm dân gian, cành lá thanh hao để tươi, nấu với nhiều loại lá thơm khác như sả, lá chanh, lá bưởi, bạc hà, hương nhu...đến sôi, rồi xông cho ra mồ hôi để chữa cảm, cúm, sốt, nhức đầu, sổ mũi, sỏi.

Cả cây thanh hao phơi khô đốt dưới gấm chông tre, người bệnh nằm trên xông khói lại chữa đau bụng, cảm lạnh. Lá thanh hao phối hợp với lá khế, lá long não, lá thông, dùng tươi nấu nước tắm chữa lở loét. Lá phơi khô, tán nhỏ, có tác dụng trừ nhậy.

Đặc biệt, hoa thanh hao là vị thuốc chuyên được dùng cho phụ nữ. Hoa được thu hái vào tháng 4-6, dùng tươi hay phơi khô. Nước sắc của hoa với liều 8-30 g có tác dụng điều kinh. Phụ nữ sau khi đẻ uống nước sắc này để ăn ngon cơm, dễ tiêu, chóng đói, sạch huyết hôi. Hoa thanh hao (30 g) phối hợp với lá móng tay (30 g), nghệ đen (20 g), ngải cứu (10 g), phơi khô, sắc với 400 ml nước còn 100 ml, uống làm hai lần trong ngày, chữa bế kinh, chậm thấy kinh.

Dùng ngoài, hoa thanh hao ngâm rượu với củ địa liền và bột long não, dùng xoa bóp cho phụ nữ sau khi đẻ bị đau nhức khắp người, chân tay tê mỏi.

Ngoài tác dụng trên, hoa thanh hao còn được dùng chữa phù thũng toàn thân, chân tay lạnh, tê bại, phân nhão theo cách sau:

- Thuốc uống: Hoa thanh hao (80 g), ô long vĩ (bồ hóng, 40 g), mẫu lệ chế (40 g), vỏ quả bưởi đào

(80g), lưu hoàng (40 g), phèn phi (40g), phèn đen (40g), thảo quả (8g), đại hồi (8g), đinh hương (8g), quế chi(8g), hồ tiêu sọ (6g). Bồ hóng dùng loại bám trên bếp củi, rây kỹ, cho vào nước (tỷ lệ 1 kg dược liệu trong 30 lít nước), khuấy đều, vớt bỏ bọt. Để lắng; gạn bỏ lớp nước trong ở trên, chắt lấy 3/4 cạn, còn 1/4 cạn ở đáy bỏ đi. Phơi hoặc sấy khô. Các dược liệu khác phơi khô, tán nhỏ, rây bột mịn, trộn với bồ hóng, rồi luyện với hồ làm viên bằng hạt đỗ xanh, phơi khô. Người lớn, mỗi lần uống 30- 40 viên; trẻ em trên 10 tuổi, mỗi lần uống 10-20 viên. Ngày hai lần. Uống lúc đói, dùng nước sắc râu ngô làm thang, kiêng ăn mặn. (Kinh nghiệm của tỉnh hội y học dân tộc Nghệ An).

- Thuốc xông: Hoa thanh hao (50 g), lá duối (50 g), ngải cứu (50 g), bồ kết (7 quả), lá mít dai (50 g), gừng tươi (7 lát). Tất cả phơi khô, giã nhỏ, rắc lên than hồng, rồi xông cho ra mồ hôi.

Chú ý: Phụ nữ có thai không được dùng hoa thanh hao dưới dạng thuốc uống.

Đỗ Huy Bích