

**BẢO TỒN NGUỒN GEN, GIỐNG VÀ KINH NGHIỆM SỬ DỤNG CÂY THUỐC
Y HỌC CỔ TRUYỀN**

Nguyễn Thượng Dong - Viện Dược liệu

Việt Nam có 10.386 loài thực vật trong đó 3.830 loài có khả năng sử dụng làm thuốc. Trung Quốc, nước có diện tích rộng gấp 29 lần nước ta, có khoảng 6.000 cây thuốc, Ấn Độ rộng gấp 10 lần có 7.500 loài cây thuốc. Khoảng 300 loài cây thuốc đang được khai thác, trồng và kinh doanh với khối lượng lớn. So sánh với các nước khác, Việt Nam xếp thứ 16 trong 25 quốc gia có đa dạng sinh học phong phú trên thế giới. Các tỉnh miền núi từ 500 đến 700 loài cây thuốc, trong khi đó các tỉnh đồng bằng thường từ 200 đến 300 loài. Cây thuốc thường tập trung ở vùng núi cao như Hoàng Liên Sơn, Sơn Hồ - Lai Châu, Ngọc Linh, Bát Đại Sơn vv... Tài nguyên dược liệu của nước ta tương đối phong phú, song đang có nguy cơ suy giảm vì vấn đề khai thác thường nhanh. Trong khi đó, công tác tái sinh và trồng cây thuốc chưa đủ khả năng bù đắp. Vì vậy, công tác bảo tồn nguồn gen, giống cây thuốc YHCT và kinh nghiệm sử dụng của 54 dân tộc anh em là rất cần thiết. Một đề án quốc gia đã được thiết lập bao gồm cả bảo tồn *in situ*, *ex situ* và *on-farm*.

Đến tháng 4/2001, Viện Dược liệu đã bảo tồn được 250 loài cây thuốc và đề nghị danh sách 800 loài cần được bảo tồn đến năm 2005, gồm 500 loài bảo tồn *ex situ* trong các vườn thực vật thuộc hệ thống bảo tồn toàn quốc và 600 loài bảo tồn *in situ* tại các vườn cây thuốc quốc gia như Bến En, Tam Đảo, Cát Bà, Nam Cát Tiên, Hoàng Liên Sơn và núi Ngọc Linh.

Nhờ có đề án bảo tồn mà 5 năm gần đây, cây Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*) từ chỗ có nguy cơ bị tuyệt chủng nay đã có tổng số cá thể là 270.000 cây.

Bên cạnh đó, Viện Dược liệu đã quan tâm đến công tác bảo tồn cây thuốc YHCT và kinh nghiệm sử dụng của các dân tộc anh em đang chung sống trên lãnh thổ Việt Nam như H'Mông, Dao ở Lào Cai, người Dao ở Ba Vì, người Cà Tu và Vân Kiều ở Bạch Mã- Thừa Thiên Huế.

Các cây thuốc như sì to (*Valeriana jatamansi* Jones), câu đằng (*Uncaria* spp.), viển chí (*Polygala japonica* Houtt.), thông thảo (*Tetrapanax papyriferus* (Hook.) K.Koch), hồi núi

(*Illicium griffithii* Hook. f. et Thoms.), hoàng tinh (*Polygonum kingianum* Coll. et. Hemsl.), bách hợp (*Lilium brownii* F.E. Brown var. *colchesteri* Wilson), thổ hoàng liên (*Thalictrum foliolosum* DC.), hoàng liên gai (*Berberis wallichiana* DC.), hoàng liên chân gà (*Coptis teeta* Wall.) đã được bảo tồn *in situ* và *on-farm* ở Lào Cai.

Một làng cây thuốc YHCT gồm 17 gia đình được xây dựng ở Bạch Mã (Thừa Thiên Huế) đã trồng 72 loài và bảo tồn 52 loài cây thuốc đang được dân tộc Vân Kiều và Cà Tu sử dụng để điều trị một số bệnh tại cộng đồng.

Công tác bảo tồn cây thuốc phải đi đôi với công tác khai thác và sử dụng. Năm 1994, Trần Công Khánh và cộng sự cho biết 29 tổ chức và cửa hàng, trong đó có các công ty thương mại, công ty dược phẩm, cửa hàng thuốc đông y và bệnh viện YHCT tại 4 thị trường lớn ở Việt Nam như Hà Nội (10 điểm), TP HCM (8 điểm), Đà Nẵng (10 điểm) và Hải Phòng (1 điểm), đã kinh doanh 205 loại dược liệu, trong đó, những loại với số lượng dưới 1 tấn chiếm 45%, từ 1 đến 5 tấn chiếm 30%, trên 10 tấn khoảng 10%. Tổng số dược liệu kinh doanh của các điểm trên là 500 tấn. Bên cạnh đó, 42 bệnh viện YHCT tỉnh và thành phố, 265 khoa YHCT thuộc các bệnh viện đa khoa và khoảng 8000 cơ sở khám chữa bệnh bằng YHCT của tập thể và tư nhân đã sử dụng mỗi năm hàng chục tấn nguyên liệu thô. Ngoài ra, còn bao nhiêu tấn dược liệu đang được khai thác từ nguồn nguyên liệu thiên nhiên để sản xuất thuốc thì còn chưa có số liệu thống kê đầy đủ.

Trong công nghiệp dược phẩm, theo thống kê từ năm 1995 đến 2000, có 310 cơ sở sản xuất dược phẩm, trong đó, 277 cơ sở (chiếm 89,35%) sản xuất thuốc từ dược liệu hoặc hoạt chất từ dược liệu như berberin, palmatin, artemisinin, 81 cơ sở (29,24%) sản xuất 5 - 40 loại thuốc; 183 cơ sở (66%) chỉ sản xuất thuốc YHCT.

Trong tổng số 5577 loại thuốc đang sản xuất và kinh doanh ở Việt Nam, có 1340 loại thuốc YHCT (24%), trong đó 1249 loại (96,56%) sản xuất từ cây thuốc và 46 loại (3,44%) từ nguyên liệu động vật. Nhu cầu toàn quốc cho công nghiệp dược

khoảng 20.000 tấn/năm, cho sản xuất thuốc YHCT sử dụng trong các cơ sở y học hiện đại khoảng 500 - 1.000 tấn/năm và 12.000 tấn/năm phục vụ xuất khẩu.

Do đó, chính sách "bảo tồn để sử dụng" đã và đang được quan tâm và phát triển. Hiện nay, hơn 100 km² rừng đặc dụng (rừng cấm) do ngành nông-lâm nghiệp quản lý đã được giao cho các cơ quan có liên quan đến công tác bảo tồn thiên nhiên để chuẩn bị xây dựng một hệ thống các khu bảo tồn của Việt Nam. Với hệ thống 15 vườn quốc gia và 70 khu bảo tồn thiên nhiên, gần 2 triệu ha rừng trong đó khoảng 1 triệu ha rừng nguyên sinh với nhiều tài nguyên phong phú đang được đặt vấn đề bảo vệ.

Để làm tốt công tác bảo tồn, trước hết, chúng ta phải lựa chọn những đối tượng theo thứ tự ưu tiên như những cây thuốc quý hiếm có nguy cơ bị tuyệt chủng, những cây thuốc trước đây có giá trị sử dụng và kinh tế cao nay đang giảm sút về số lượng. Sau đó, phân loại chúng theo các loại hình bảo tồn phù hợp như *in situ*, *ex situ*, *on-farm*, v.v... Nếu bảo tồn *ex situ*, cần lưu ý về số lượng tối thiểu, cần thiết và theo dõi khả năng sinh trưởng phát triển của chúng ở nơi bảo tồn. Cây thuốc được đưa về bảo tồn *ex situ* phải ra hoa, kết quả và tiếp tục được theo dõi về khả năng nhân trồng cũng như hàm lượng hoạt chất của chúng so với nơi xuất xứ. Bảo tồn bằng hạt cũng đang là vấn đề cần được đầu tư

với một hệ thống kho lạnh sâu, tốn kém nhiều tỷ đồng. Trong vòng vài thập kỷ trở lại đây, bảo tồn *ex situ* đang được thực hiện ở mức độ cao trên phạm vi quốc tế, thông qua các ngân hàng gen, do chính phủ và nhiều tổ chức như nhóm cổ vấn về nghiên cứu nông nghiệp quốc tế tài trợ...Việc thành lập một ngân hàng hạt ở vườn thực vật Hoàng gia Anh là một nỗ lực lớn, đã lưu giữ hơn 4 nghìn loài từ hơn 100 nước trên thế giới.

Bảo tồn *ex situ* là một giải pháp quan trọng phối hợp và bổ sung cho bảo tồn *in situ* và *on-farm*. Nó được thực hiện trong các vườn cây thuốc, vườn quốc gia và phòng nuôi cấy mô *in vitro*. Bước đầu, một số hạt giống như ngũ tặc, đương quy, thanh cao đã được thử nghiệm bảo quản trong kho lạnh ngắn hạn và đã kéo dài được thời gian sống và tỷ lệ nảy mầm cao hơn so với điều kiện bảo quản thủ công trong các hộ nông dân hiện nay.

Ở Việt Nam, bảo tồn đa dạng sinh học đang còn là một công tác mới mẻ. Trước đây, ít người nhận thấy sự bức xúc phải bảo tồn các loài cây cỏ chưa biết giá trị kinh tế. Song, với sự tiến bộ của khoa học di truyền và công nghệ sinh học, nhiều nhà khoa học ngày càng nhận ra rằng các cây hoang dại có thể đóng một vai trò quan trọng cho sự phát triển kinh tế trong tương lai và những thành công của thực vật học dân tộc càng khẳng định sự đóng góp của bảo tồn đa dạng sinh học.

Tài liệu tham khảo

- 1). Nguyễn Thượng Dong. Pharma-indochina II 10, 2001 trang 214; 2). Trần Công Khánh. Pharma-indochina II 10, 2001 trang 211; 3). Báo cáo đề án "Bảo tồn nguồn gen và giống cây thuốc" tài liệu nội bộ Viện Dược liệu; 4). Báo cáo Dự án "Bảo tồn cây thuốc Y HCT" tài liệu nội bộ Viện Dược liệu.

(Tiếp theo trang 165)

Tài liệu tham khảo

- 1). Bộ Y tế. Dược điển Việt nam II (3). NXB Y học Hà Nội, tr 122-123; 2). Bộ môn Dược liệu (1998), Bài giảng dược liệu, tr 126-142; 3). Hoàng Minh Chung, Phạm Xuân Sinh (2002), *Tạp chí Dược liệu* số 1, 2002, tập 7, tr 3-6; 4) Hoàng Minh Chung, Phạm Xuân Sinh (2002), *Tạp chí Dược liệu* số 4, 2002, tr 118-120; 5). Nguyễn Văn Đán, Nguyễn Việt Tựu (1985). "Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc", NXB Y học chi nhánh Thành phố Hồ Chí Minh, tr 42-56, 326 - 346; 6). Hui Cao, Xiao Tao Wang (1998). "Why must Chinese medicinal dried plants be processed", Chinese Herbal Medicine issue, p. 21 -24.

BUỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN SAPONIN CỦA ĐẢNG SÂM VIỆT NAM

Hoàng Minh Chung¹, Phạm Xuân Sinh² -

¹Trường Đại học Y Hà nội, ²Trường Đại học Dược Hà nội

(Nhận bài ngày 27 tháng 8 năm 2002)

Summary

Preliminary Studies on Saponin Composition of *Codonopsis javanica*

Thin layer chromatograms of crude and processed Dangshen are similar in daylight and different in ultraviolet light. The foaming index is 8 and 5.7, the haemolytic activity is 5,7 and 4,4 and the total saponin content is 3.12 ± 0.08 % and 1.49 ± 0.03 % for crude and processed Dangshen, respectively.

Key words: Codonopsis javanica, Saponin, Chromatography.

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, thuốc y học cổ truyền ngày càng đóng vai trò quan trọng trong công tác phòng, chữa bệnh và nâng cao sức khoẻ của nhân dân. Nhưng tác dụng của thuốc y học cổ truyền có phần phụ thuộc vào phương pháp chế biến. Thậm chí, người ta còn quan sát, theo dõi nguồn gốc, diễn biến của bệnh tật để chế biến thuốc nhằm đạt được hiệu quả điều trị tốt nhất [6].

Đảng sâm Việt Nam (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f.) là vị thuốc bổ khí đã được dùng từ lâu dưới dạng thuốc sống hoặc tẩm gừng để tăng tính ấm. Dược liệu có saponin, đường khử và các acid amin [3,4], trong đó, saponin là một trong những thành phần thường có trong các đơn thuốc bổ khí [2]. Vì vậy, bước đầu chúng tôi nghiên cứu so sánh định tính và định lượng saponin trong mẫu đảng sâm sống và chế.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu: Rễ đảng sâm được thu hái ở Sa Pa - Lào Cai.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Đã sử dụng một số phương pháp định tính, định lượng saponin và các phương pháp xác định chỉ số bọt và chỉ số phá huyết [2,5].

3. Kết quả nghiên cứu

3.1 Chuẩn bị nguyên liệu :

+ Mẫu sống: Rễ đảng sâm được rửa sạch, ủ mềm, thái phiến dày 1-2mm, sấy khô ở 60° - 65° C.

+ Mẫu chế: Theo các nghiên cứu trước đây của

chúng tôi, mẫu chế bằng phương pháp chung trong 2 giờ cho kết quả tốt. Do đó, chúng tôi dùng phương pháp chế này để nghiên cứu tiếp:

Rễ đảng sâm rửa sạch, ủ mềm, chung trong 2 giờ, thái phiến dày 1- 2mm, sấy khô ở 60° - 65° C.

3.2 Chiết saponin:

Bột dược liệu thô chiết bằng ether dầu hỏa trong bình Soxhlet để loại chất béo, chiết tiếp bằng cloroform, loại cloroform, rồi chiết kiệt bằng methanol. Cát thu hồi dung môi dưới áp suất giảm được cân, thêm nước vừa đủ để hoà tan cân, lắc với n-buthanol bão hoà nước đến khi lớp buthanol không còn màu, gộp dịch n-buthanol, rửa nhiều lần bằng nước. Cát thu hồi n-buthanol, cân được hoà tan trong methanol để làm các phản ứng định tính và sắc ký. Tiến hành song song 2 mẫu sống và chế.

3.4 Định tính saponin:

Dịch chiết methanol của 2 mẫu sống và chế đều có phản ứng dương tính với các phản ứng: Libermann - Burchart, Salkowski, Rosenthaler.

Phản ứng tạo bọt trong HCl 0,1 N bền hơn trong NaOH 0,1 N.

Sơ bộ thấy mẫu đảng sâm sống và chế đều có saponin triterpenoid.

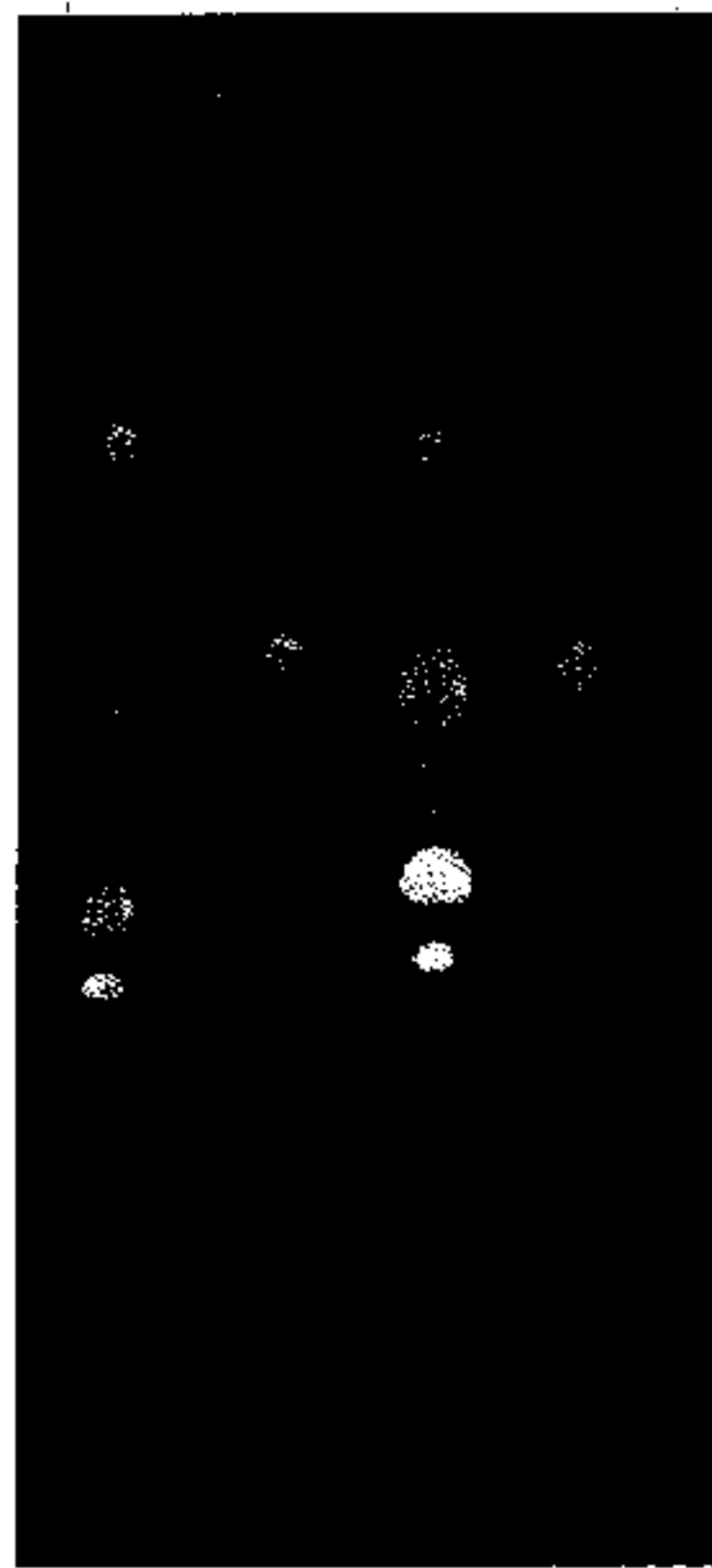
3.5 Sắc ký lớp mỏng:

Sắc ký lớp mỏng được tiến hành trên bản mỏng silica gel 60F₂₅₄ trắng sẵn của hãng Merk, đã được hoạt hoá ở 110°C trong 1 giờ.

Theo nghiên cứu trước đây của chúng tôi, với

hệ dung môi ethylacetat: acid acetic: nước (8:5:4) saponin cho 5 vết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thử triển khai với hệ methanol : cloroform (1:9) được kết quả sau:

+ Quan sát dưới ánh đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm thấy có sự khác nhau giữa mẫu sống và chế (ảnh 1)



s c s c

(s: Mẫu sống; c: Mẫu chế).

Ảnh 1. Sắc ký đồ saponin ở $\lambda = 366$ nm.

- Mẫu sống cho 6 vết với các giá trị Rf: 0,29; 0,36; 0,42; 0,45; 0,53; 0,77.

- Mẫu chế cho 2 vết với các giá trị Rf: 0,53 và 0,81.

+ Quan sát dưới ánh đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm thấy 8 vết có Rf: 0,14; 0,18; 0,23; 0,31; 0,40; 0,42; 0,69; 0,75 tương đối như nhau, tuy ở mẫu chế có 1 vết ở Rf = 0,42 đậm hơn hẳn vết ở mẫu sống. (ảnh 2)

+ Phun thuốc thử vanilin 1% trong EtOH thêm 1 giọt acid sulfuric đặc, sấy ở 110° C trong 10 phút, quan sát dưới ánh sáng thường được 9 vết với các giá trị Rf : 0,14; 0,21; 0,32; 0,39; 0,45; 0,51; 0,66; 0,71; 0,80, ở cả 2 mẫu sống và chế là như nhau. (ảnh 3).

3.6 Xác định chỉ số bột và chỉ số phá huyết:

3.6.1 Xác định chỉ số bột:

Theo nguyên tắc của (1.2.3) nhưng thực hiện với 25g bột dược liệu được kết quả: chỉ số bột của



s c

(s: Mẫu sống; c: Mẫu chế).

Ảnh 2. Sắc ký đồ saponin ở $\lambda = 254$ nm.



s c

(s: Mẫu sống; C: Mẫu chế).

Ảnh 3. Sắc ký đồ saponin hiện màu

mẫu sống là 8 và mẫu chế là 5,7.

3.6.2 Xác định chỉ số phá huyết:

Theo nguyên tắc của (1.2.3) nhưng thực hiện với 50g bột dược liệu trên máu thỏ được kết quả: Chỉ số phá huyết của mẫu sống là 5,7 và của mẫu

chế là 4,4.

3.7 Định lượng saponin:

Cân chính xác 5g bột dược liệu và xác định khối lượng khô tuyệt đối, loại tạp và chiết saponin như trên được cân saponin thô. Hoà tan cân bằng 20 ml ethanol, bốc hơi cách thuỷ đến khô rồi xác định hàm lượng cân khô tuyệt đối trên máy Sartorius MA-30, từ đó tính được hàm lượng saponin toàn phần trong mẫu: $X\% = a.100/b$.

Trong đó :

X%: Hàm lượng saponin thô toàn phần.

a: khối lượng cân khô saponin.

b: Khối lượng khô tuyệt đối của 5g dược liệu.

Tiến hành song song 2 mẫu đảng sâm sống và chế 10 lần được kết quả:

Hàm lượng saponin toàn phần ở mẫu sống là $3,12 \pm 0,08\%$ và $1,49 \pm 0,03\%$ ở mẫu chế.

4. Bàn luận

+Bằng hệ dung môi thích hợp, đã tách được 9 vết saponin của đảng sâm sống và chế có Rf tương đối như nhau khi phun màu. Như vậy bước đầu không thấy sự khác nhau giữa đảng sâm sống và chế. Khi quan sát ở bước sóng $\lambda = 366$ nm thấy các vết saponin phát quang rõ. Saponin của mẫu sống có 6 vết còn saponin của mẫu chế có 2 vết. Có thể dùng kết quả này để làm tiêu chí phân biệt giữa đảng sâm sống với đảng sâm chế. Còn ở bước sóng

$\lambda = 254$ nm, số vết ở mẫu sống và mẫu chế bằng nhau. Tuy nhiên, có 1 vết tại Rf = 0,42 ở mẫu chế đậm hơn nhiều so với mẫu sống. Phải chăng có sự thay đổi nào đó qua quá trình chế.

+ Hàm lượng saponin toàn phần của mẫu đảng sâm chế thấp hơn mẫu đảng sâm sống, có thể nó bị mất hoặc bị thuỷ phân thành genin. Tuy nhiên, nghiên cứu trước đây của chúng tôi cho thấy chuột uống dịch chiết đảng sâm chế có thời gian bơi dài hơn khi uống dịch chiết đảng sâm sống.

+ Mặc dù hàm lượng saponin không quá nhỏ, nhưng chỉ số bọt và chỉ số phá huyết của nó rất thấp. Điều này phù hợp vì các saponin gây phá huyết thường ở nhóm thuốc hành khí, hoạt huyết, thuốc ho và long đờm, còn các saponin ở nhóm thuốc bổ ít gây phá huyết hơn.

5. Kết luận

Bước đầu nghiên cứu về saponin chúng tôi đã xác định được chỉ số bọt, chỉ số phá huyết, hàm lượng saponin và sự khác nhau giữa sắc ký đồ của đảng sống và đảng sâm chế.

Nghiên cứu cho thấy trên sắc ký lớp mỏng có sự khác nhau giữa sắc ký đồ của đảng sâm sống và chế. Chỉ số bọt của mẫu sống là 8 và mẫu chế là 5,7. Chỉ số phá huyết của mẫu sống là 5,7 và mẫu chế là 4,4. Hàm lượng saponin của mẫu sống là $3,12 \pm 0,08\%$ và mẫu chế là $1,49 \pm 0,03\%$. Đây là những kết quả chưa được tìm thấy trong các tài liệu tham khảo. (Xem tiếp trang 162)

Tap chí Dược liệu, tập 7, số 6/2002 (trang 165-169)

FLAVANON TỪ ĐƠN LÁ ĐỎ

Vĩnh Định, Nguyễn Minh Đức, Trường Đại học Y Dược TP. HCM

Nguyễn Việt Tú, Trung tâm nghiên cứu Sâm và Dược liệu – Viện Dược liệu

(Nhận bài ngày 11 tháng 11 năm 2002)

Summary

Flavanons from *Excoecaria cochinchinensis*

A flavanoid active in in vitro tests was isolated from the aerial part of Excoecaria cochinchinensis Lour. var cochinchinensis. Its structure was elucidated as liquiritigenin [7,4'-dihydroxy(2S)(-) flavanon] on the basis of spectral analysis including UV, ¹H-NMR, EIMS.

Key words: Excoecaria cochinchinensis Lour., Flavanon, Liquiritigenin

Đặt vấn đề

Thực hiện công trình nghiên cứu về các hợp chất tự nhiên có tác dụng sinh học từ các cây thuộc chi *Macaranga* và *Excoecaria*, chúng tôi đã tách được từ cây đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour., họ Euphorbiaceae) một flavanon là liquiritigenin, một flavanoid chính trong rễ cây cam thảo (*Glycyrrhiza glabra* var. *typica*). Trước đây, chất này đã được chứng minh có hoạt tính sinh học *in vitro* qua thử nghiệm kháng ung thư trên tế bào CD-3, với tác dụng tăng cường sản sinh interleukin-6 (IK-6), một hoạt chất chính có trong kháng thể đơn dòng của tế bào đơn nhân phôi ở chuột [1].

Bài báo này trình bày kết quả chiết tách và xác định cấu trúc của liquiritigenin từ bộ phận trên mặt đất của cây đơn lá đỏ.

Nguyên liệu và thiết bị

1) *Nguyên liệu*: toàn thân trên mặt đất của cây đơn lá đỏ được mua tại cửa hàng dược liệu ở Quận 5, TP.HCM. Dược liệu được định danh dựa theo các tài liệu chuyên ngành về hình thái học và vi phẫu. Nguyên liệu tươi (60 kg) sau khi thu mua được phơi khô đến độ ẩm khoảng 10% (còn lại 16 kg).

2) *Thiết bị*: máy đo điểm chảy không hiệu chỉnh, máy quang phổ UV Shimadzu, máy phổ cộng hưởng từ ¹H-NMR Inova 400 MHz, máy khối phổ EIMS Finigan 70 eV (Viện Dược liệu Thượng Hải, Trung Quốc).

Phương pháp tiến hành và kết quả nghiên cứu

1) *Xác định thành phần hóa thực vật*:

Kết quả khảo sát thành phần hoá thực vật cho thấy thân đơn lá đỏ chứa hợp chất phenol, tanin, anthraglycosid, flavonoid, anthocyan, saponin, carotenoid, phytosterol, acid hữu cơ, uronic và đường khử.

2) *Chiết xuất phân đoạn và phân lập*:

Dược liệu được chiết xuất với cồn 90°, cất dưới áp suất giảm để loại bớt cồn, pha loãng dịch chiết với nước đến độ cồn khoảng 25°, để yên vài ngày ở nhiệt độ phòng, loại bỏ phần

lắng cặn. Sau khi loại cặn, dịch lọc được lãc lần lượt với các dung môi CHCl₃, EtOAc và n-BuOH. Cô giảm áp các phân đoạn để loại dung môi và thu được cao thô CHCl₃ (30g); cao thô EtOAc (400g).

Trên sắc ký lớp mỏng (SKLM) với silica gel G và hệ dung môi ether dầu hỏa – aceton (2:1), phát hiện bằng thuốc thử H₂SO₄ 10% / EtOH, cao CHCl₃ cho 4 vết chính trên sắc đồ SKLM.

Cao CHCl₃ được tách bằng phương pháp sắc ký cột (SKC) với chất hấp phụ là silica gel và hệ dung môi có tính phân cực tăng dần: ether dầu hỏa – aceton (10:1 → 2:1). Ở tỉ lệ ether dầu hỏa – aceton (3 :1), thu được 3 phân đoạn C9, C10 và C11. Phân đoạn C10 (1,5g) được tiếp tục SKC lặp lại qua silica gel với các hệ dung môi CHCl₃ – EtOAc (20:1), CHCl₃ – aceton (50:1), và CHCl₃ - MeOH (50:1), thu được 10 mg tinh thể DLD-C10.4 và 0,5g cặn A. Trên SKLM, cặn A thể hiện vết có Rf tương đương với Rf của DLD-C10.4 và một vài vết khác.

Tiếp tục SKC cặn A với hệ dung môi CHCl₃ – MeOH (100:1), đã thu được 0,1g bột trắng vô định hình, trên SKLM cho một vết có Rf và màu cam tương đương với vết chấm từ tinh thể DLD-C10.4.

Tinh chế DLD-C10.4 thu được từ cặn A bằng cách kết tinh với nhiều hệ dung môi khác nhau, cuối cùng chúng tôi thu được tổng cộng 46mg tinh thể DLD-C10.4.

3) *Khảo sát cấu trúc hợp chất DLD-C10.4*

DLD-C10.4 có dạng tinh thể hình kim, không màu, T_{nc}^o = 195 °C (phân hủy), dương tính với phản ứng cyanidin cho màu cam đến đỏ.

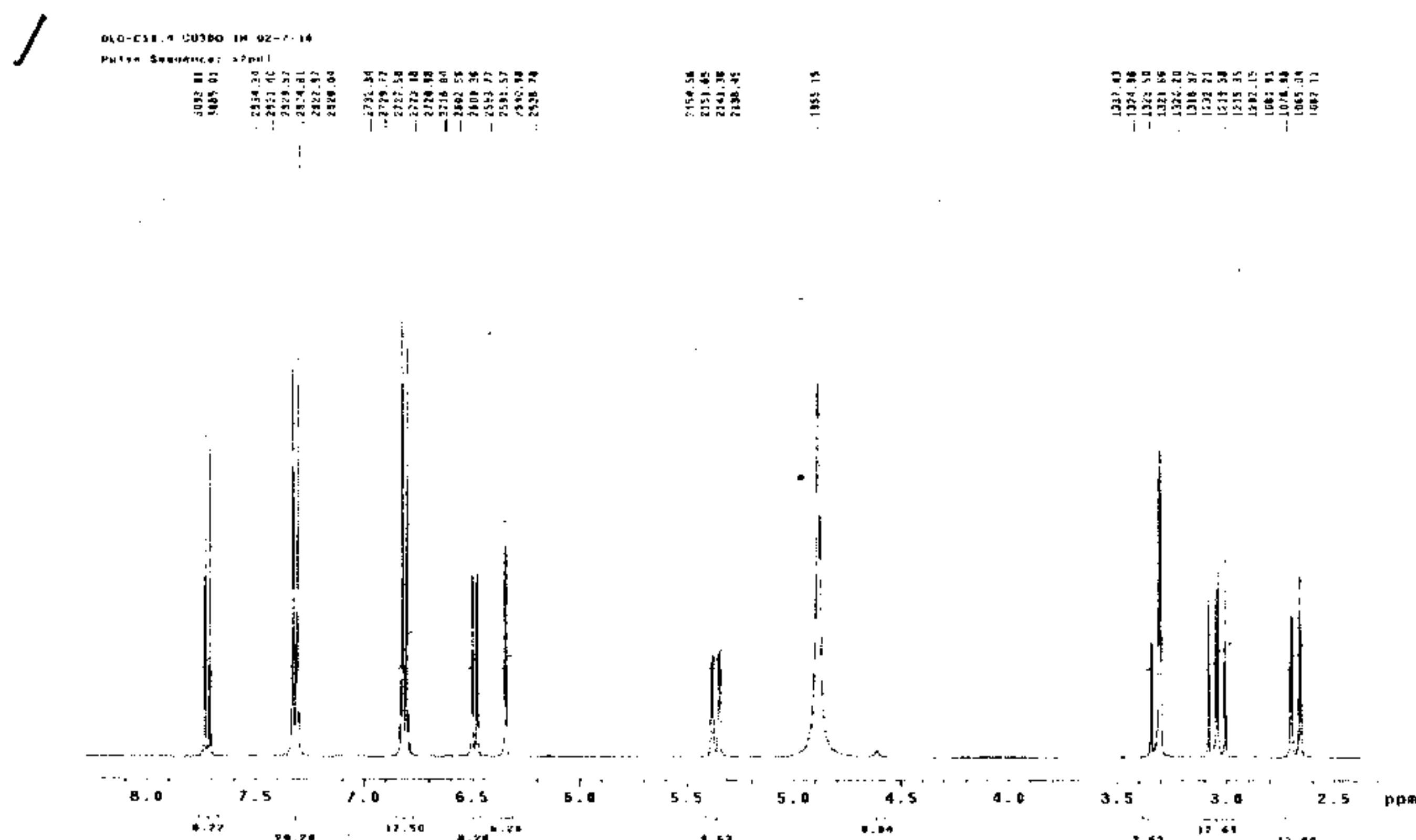
Dựa trên dữ liệu phổ ¹H -NMR của DLD-C10.4 (400MHz, CD₃OD) (Hình 1) và các tài liệu [2,3,4], đã xác định các tín hiệu proton như sau: δ = 7,72 (1H, d, J = 8,8 Hz, ¹H nhân thơm ghép spin ở vị trí *ortho*), δ = 7,32 (2H, ddd, J = 2,9; 8,5; 2,9 Hz, ¹H nhân thơm ghép spin ở vị trí *ortho* và *meta*), δ = 6,81 (2H, ddd, J = 2,6; 8,8; 2,9 Hz, ¹H nhân thơm ghép spin ở vị trí *ortho* và *meta*), δ = 6,50 (1H, dd, J = 2,2; 9,0 Hz, ¹H nhân

thơm ghép spin ở vị trí *ortho* và *meta*), $\delta = 6,35$ (1H, d, $J = 2,2$ Hz, ^1H nhân thơm ghép spin ở vị trí *meta*), $\delta = 5,36$ (1H, dd, $J = 2,9; 2,9$ Hz, ^1H của $-\text{CH}=\text{}$), $\delta = 3,05$ (1H, dd, $J = 12,9; 13,2$ Hz, ^1H của $-\text{CH}_2-$ ghép vicinal), $\delta = 2,66$ (1H, dd, $J = 2,9; 2,9$ Hz, ^1H của $-\text{CH}_2-$).

Như vậy, phổ $^1\text{H-NMR}$ của DLD-C10.4 cho thấy chất này có nhiều khả năng là hợp chất flavonoid có 10 proton cộng hưởng từ, có 2 nhân thơm, trong đó 1 nhân thơm đã thế ở vị trí *para*, thể hiện qua 2 đỉnh hấp thụ $\delta = 7,32$ ppm (có 2

proton) và $\delta = 6,81$ ppm (cũng có 2 proton) với hằng số ghép spin gần giống nhau là $J = 2,9; 8,5; 2,9$ Hz. Nhân thơm thứ hai có 3 proton ở vị trí *ortho* và *meta*.

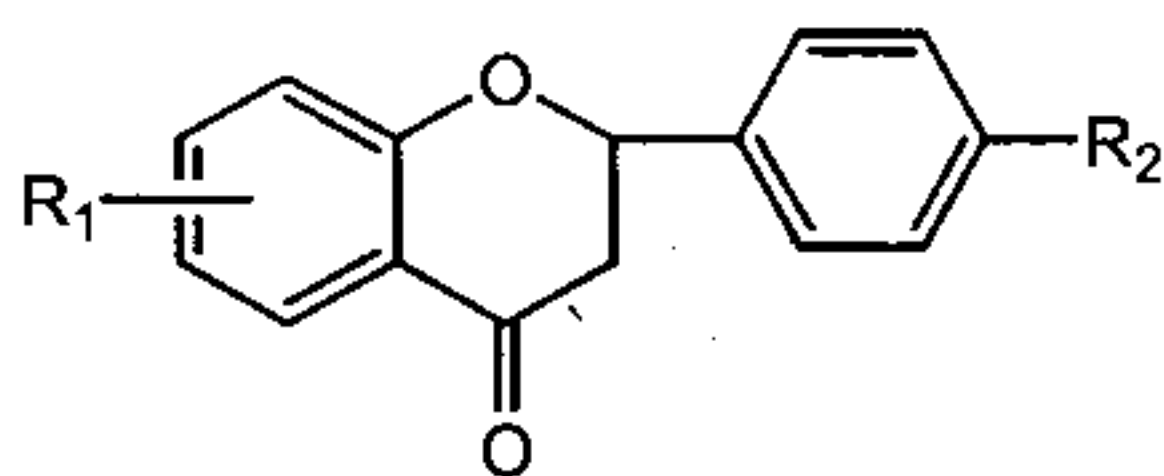
Các nghiên cứu cộng hưởng từ hạt nhân của flavonoid [2, 3, 4] cho thấy hợp chất flavon chỉ có 1 proton cộng hưởng ở vùng khoảng 5,25 ppm ($-\text{CH}=\text{}$, H-3), hợp chất chalcon có 2 proton cộng hưởng ở vùng khoảng 5,25 ppm ($-\text{CH}=\text{}$, H- α , H- β), còn hợp chất flavonol không có



Hình 1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) của DLD-C10.4

proton cộng hưởng ở vùng khoảng 5,25 ppm. Trên cơ sở này, chúng tôi nhận định DLD-C10.4 là một flavanon vì ngoài 1 proton $\delta = 5,36$ ppm còn có 2 proton $\delta = 3,05$ và $\delta = 2,66$ ppm cộng hưởng ở vùng của $-\text{CH}_2-$. Điều này cũng phù hợp với đặc điểm không màu của tinh thể và phản ứng màu cyanidin dương tính [5].

Như vậy, sơ bộ nhận định DLD-C10.4 có khung cấu trúc như sau:



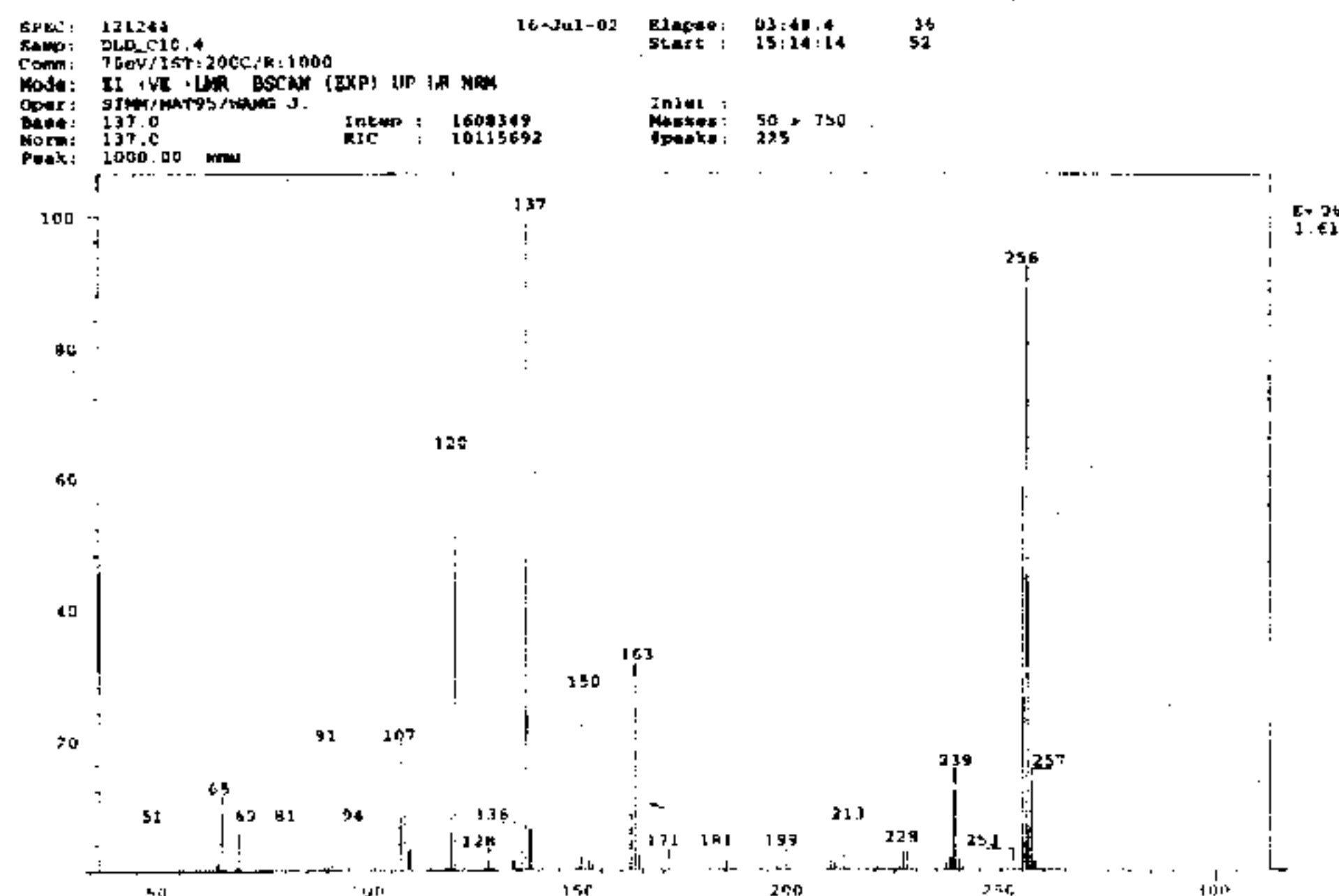
$$\text{P.T.L.} = \text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_2 + \text{R}_1 + \text{R}_2$$

Khối phổ EIMS 70 eV của DLD-C10.4 (Hình 2) cho thấy phân mảnh $\text{M}^+ = 256$ m/z và các phân mảnh đặc trưng là 255, 239, 163, 136, 120 m/z. Do đó, DLD-C10.4 có $\text{M} = 256$, và 2 nhóm $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{OH}$. Nhận định này hoàn toàn phù hợp với kiểu phân mảnh của flavanon [2,3] như hình 3:

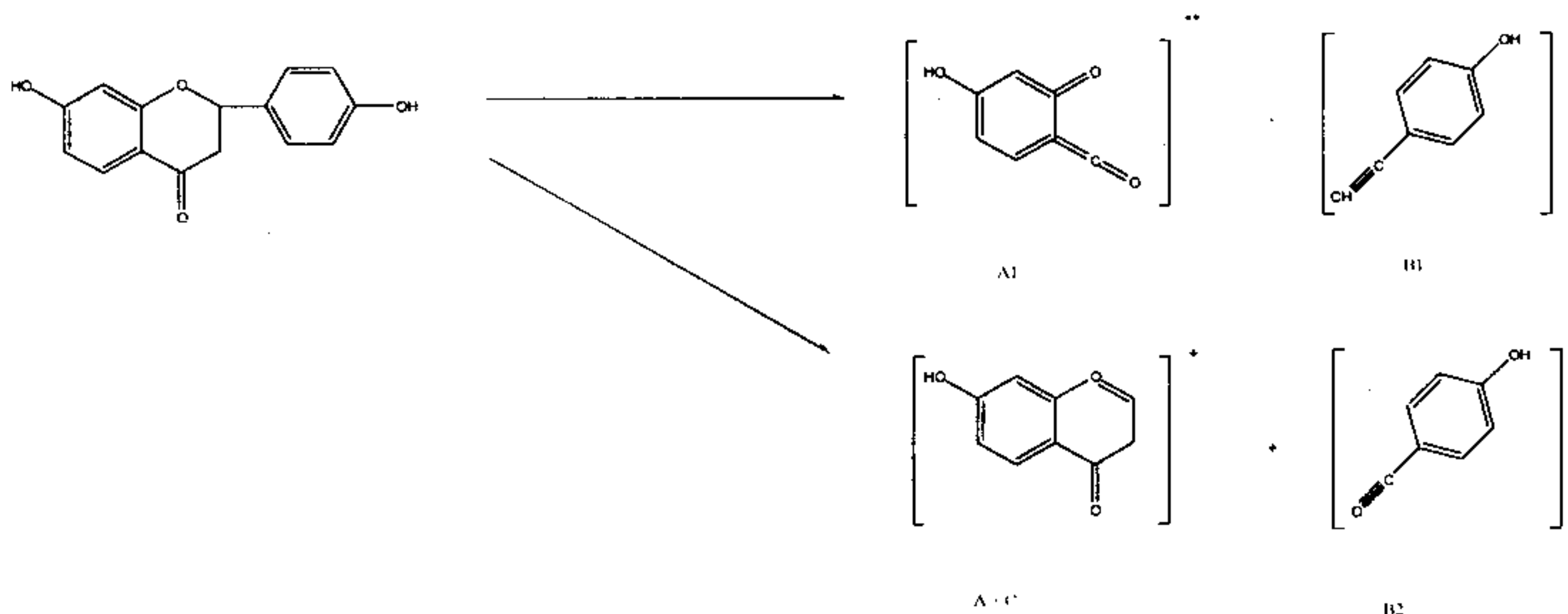
- Phân mảnh $[\text{M}^+ - 1]$ ($m/z = 255$) thường gặp đối với flavonoid nói chung.

- Các phân mảnh chính: $[\text{M}^+ - 17]$ ($m/z = 239$, mất 1 nhóm OH), $[\text{A}_1]^+$ ($m/z = 136$), $[\text{A}_1+1]^+$ ($m/z = 137$) – base peak, phân mảnh bền nhất có cường độ tương đối 100%, $[\text{B}_1+2\text{H}]^+$ ($m/z = 120$), và phân mảnh của vòng A-C ($m/z = 163$).

Ngoài ra, trên phổ hấp thụ UV, dung dịch



Hình 2. Phổ khối EIMS 70 eV của DLD-C10.4



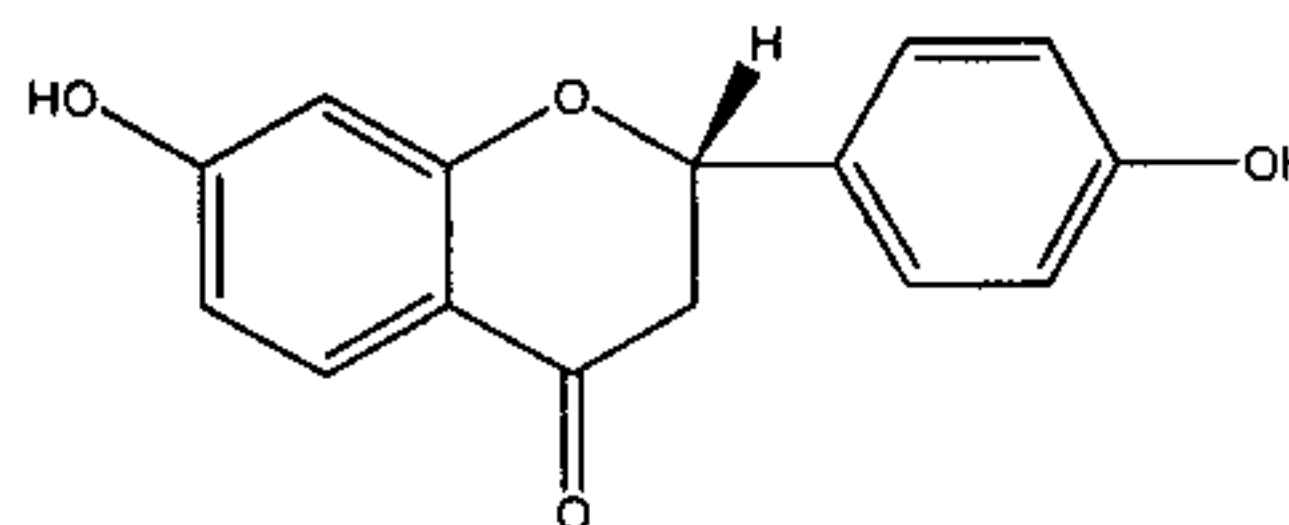
Hình 3. Sự phân mảnh của flavanon trong EIMS [2, 3, 7].

DLD-C10.4 trong MeOH có $\lambda_{\max} = 275$ nm. Trong khi phổ hấp thu UV chất này trong dung dịch NaOH 0,1 N / MeOH có $\lambda_{\max} = 335$ nm, nghĩa là có sự chuyển dịch bathochromic khoảng 60 nm. Dựa trên định luật Scott về dự đoán phổ hấp thu UV của hợp chất acetophenon [4], giá trị λ_{\max} dự đoán là 278 nm:

- Acetophenon 246 nm
- Nhóm thế p-OH vào nhân thơm + 25
- Nhóm thế O-alkyl vào nhân thơm ở vị trí ortho +7, trong khi nếu nhóm thế o-OH vào vòng A thì giá trị dự đoán là 260 nm. Như vậy vòng A có nhóm OH ở vị trí C-7.

So sánh với phổ $^1\text{H-NMR}$ của liquiritigenin từ

tài liệu [6] (bảng 1), phổ $^1\text{H-NMR}$ của DLD-C10.4 khá phù hợp. Trên cơ sở tất cả những dữ kiện trên có thể kết luận một cách chắc chắn DLD-C10.4 là liquiritigenin với công thức như sau:



Liquiritigenin (7, 4'-Dihydroxy-(2S)(-)-flavanon)
 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4 = 256$

Bảng 1. So sánh dữ liệu δ (ppm) $^1\text{H-NMR}$ của DLD-C10.4 và liquiritigenin (CD_3OD).

STT	Proton	DLD-C10.4	Liquiritigenin [6]
1	H-2	5,36	5,30
2	H-3 α	3,05	2,94
3	H-3 β	2,66	2,75
4	H-5	7,72	7,73
5	H-6	6,50	6,53
6	H-8	6,35	6,36
7	H-2', H-6'	7,32	7,33
8	H-3', H-5'	6,81	6,73

Theo tài liệu đã công bố [1], thử nghiệm *in vitro* cho thấy liquiritigenin có tác dụng tăng cường sản sinh interleukin-6 (IK-6) – một thành phần chính trong kháng thể đơn dòng của tế bào đơn nhân phối ở chuột – kháng lại tế bào CD3

Kết luận

Đơn lá đã được dùng trong một số bài thuốc có tác dụng chống dị ứng, chống viêm và kháng khuẩn [8]. Qua công trình nghiên cứu này, lần đầu tiên hoạt chất liquiritigenin được xác định có trong chi *Excoecaria* cũng như cây đơn

Ngoài ra, liquiritigenin đã được chứng minh có tác dụng kháng tế bào CD3 phụ thuộc theo liều *in vitro* trên tế bào phối của chuột [1], giúp mở rộng định hướng nghiên cứu và phạm vi sử dụng của cây đơn lá đỏ.

Một số hoạt tính sinh học khác của liquiritigenin đang được tiếp tục thử nghiệm.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Nobuhiro Ohtake, Rie Suzuki, et al., Modulation of lung local immune responses by oral administration of a herbal medicine Sho-saiko-to, *International Journal of Immunopharmacology*, 22, 410-430 (2000). [2] K.R. Markham, *Techniques of Flavonoid Identification*, Academic Press (1982). [3] J.B. Harborne, *Method in Plant Biochemistry, Vol. 1: Plant Phenolics*, Academic Press (1989). [4] E. Pretsch, J. Seibl, T. Clerc, Tables of spectral data for structural determination of organic compounds, Springer – Verlag, 1983. [5] Ngô Văn Thu, Bài giảng Dược liệu, Tập 1, Hà Nội 1988. [6] Handbook of Analytical Chemistry, Vol. 7, Analysis of NMR Spectrum, t.315, Chemical Industry Press (1999), Pekin, China, (Tiếng Hoa). [7] Chemical Abstract, 1993, vol. 118: 175922. [8] Phạm Xuân Sinh, Đào Thị Vui, Nguyễn Thái An, Góp phần nghiên cứu tác dụng sinh học của thuốc có Đơn lá đỏ, *Tạp chí Dược liệu*, 5(1), 20-23, (2000).

Tạp chí Dược liệu, tập 7, số 6/2002 (trang 169 - 173)

CHALCON VÀ RETROCHALCON TỪ ĐƠN LÁ ĐỎ

Nguyễn Minh Đức, Vinh Định - Trường Đại học Y Dược TP. HCM

Nguyễn Việt Túu - Trung tâm nghiên cứu Sâm và Dược liệu – Viện Dược liệu
(Nhận bài ngày 11 tháng 11 năm 2002)

Summary

Chalcon and Retrochalcon from *Excoecaria cochinchinensis*

A chalcon derivative, isoliquiritigenin, which was supposed to be a precursor of retrochalcon in the biosynthetic pathway of flavonoids and a retrochalcon, echinatin, were isolated from the aerial

part of *Excoecaria cochinchinensis* Lour. var *cochinchinensis*. The structure of the two compounds was elucidated on the basis of spectral analysis including $^1\text{H-NMR}$, EIMS and comparison with reference data.

Key words: *Excoecaria cochinchinensis* Lour., Chalcon, Isoliquiritigenin, Retrochalcon, Echinatin

Đặt vấn đề

Flavanon có mặt trong cây cùng với đồng phân của nó là chalcon. Hiện tượng sinh nguyên này thường thấy trong hầu hết các cây có flavonoid.

Tiếp theo việc phân lập và xác định liquiritigenin từ phần thân trên mặt đất của cây đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.) đã được công bố [1], chúng tôi đã tách được một đồng phân cấu tạo của nó dưới dạng chalcon, là tiền chất của retrochalcon, và một retrochalcon. Dựa vào kết quả phân tích phổ $^1\text{H-NMR}$ và EIMS kết hợp so sánh với số liệu đã công bố, hai chất này được xác định là isoliquiritigenin (2',4,4'- trihydroxychalcon) và echinatin (4,4'- dihydroxy,2-methoxy chalcon).

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập và xác định isoliquiritigenin và echinatin.

Nguyên liệu và thiết bị

Xem [1].

Phương pháp và kết quả nghiên cứu

1). Chiết xuất và phân lập các hợp chất:

Phân đoạn C9 (2,9 g) thu được từ tài liệu [1] được tiếp tục SKC trên silica gel với các hệ dung môi lần lượt là ether dầu hỏa – EtOAc (4:1), ether dầu hỏa – acetone (5:1 --> 2:1), CHCl_3 – MeOH (100:1), thu được 20mg tinh thể đặt tên là DLD-C9.2.

SKC phân đoạn C11 (2,2 g) theo tài liệu [1] trên silica gel với các hệ dung môi CHCl_3 – EtOAc (10:1), CHCl_3 – acetone (20:1 → 2:1), CHCl_3 – MeOH (50:1), thu được 15 mg tinh thể DLD-C11.2.

3) Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập:

DLD-C9.2 : tinh thể hình kim màu vàng sáng, $T_{\text{nc}}^{\circ} = 195 - 196^{\circ}\text{C}$ (phân hủy), tan trong MeOH, với kiềm cho màu vàng đậm → đỏ, với FeCl_3

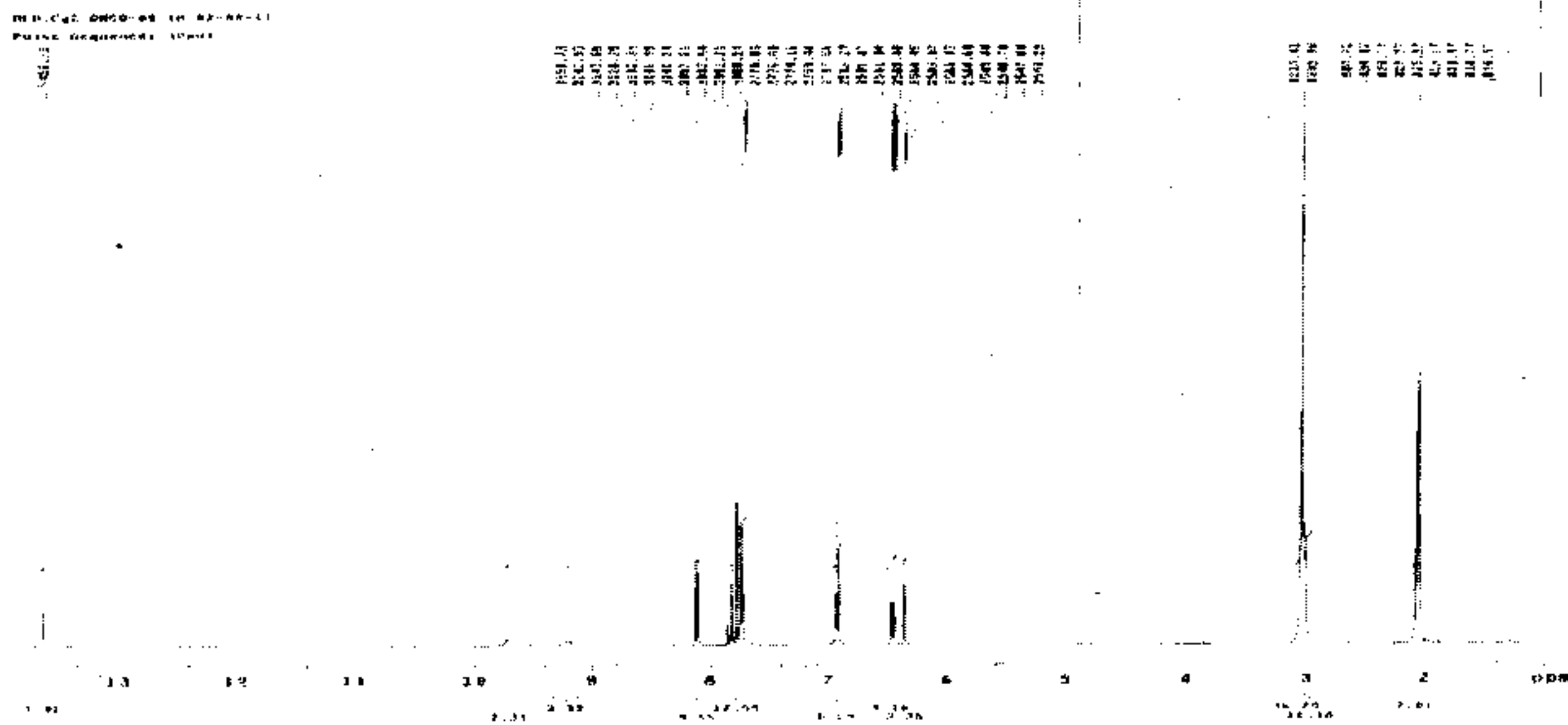
cho màu cam → đỏ → nâu, trên SKLM với thuốc thử H_2SO_4 cho vết màu cam đến đỏ.

DLD-C11.2: tinh thể hình kim màu vàng sáng, $T_{\text{nc}}^{\circ} = 205 - 206^{\circ}\text{C}$ (phân hủy), tan trong MeOH, với kiềm cho màu vàng đậm → đỏ, với FeCl_3 cho màu cam → đỏ → nâu, trên SKLM với thuốc thử H_2SO_4 cho vết màu cam → đỏ.

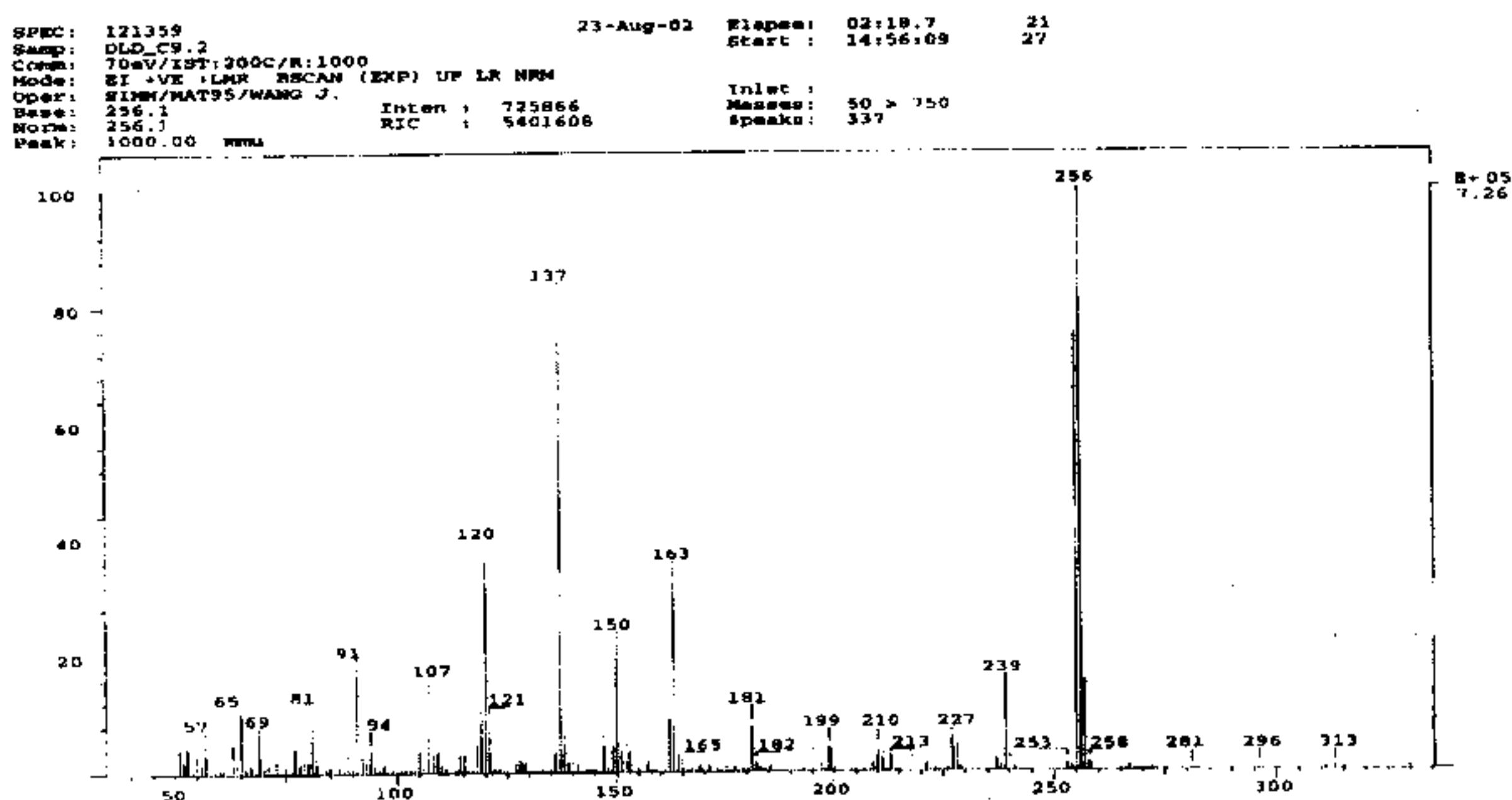
- DLD-C9.2 [$^1\text{H-NMR}$, 400MHz, DMCO-d_6 (dimethylceton- d_6)] (Hình 1) [2, 6, 7]: $\delta = 6,37$ (1H, d, $J = 2,5$ Hz), $\delta = 6,46$ (1H, dd, $J = 2,5; 9,0$ Hz), $\delta = 6,93$ (2H, d, $J = 8,5$; ^1H nhân thơm ghép spin ở vị trí *ortho*), $\delta = 7,73$ (2H, d, $J = 8,5$ Hz; ^1H nhân thơm ghép spin ở vị trí *ortho*), $\delta = 7,76$ (1H, d, $J = 15,4$ Hz, ^1H của $\text{R-CH} = \text{CH} - \text{R}$ ghép vicinal), $\delta = 7,84$ (1H, d, $J = 15,4$ Hz, ^1H của $\text{R-CH} = \text{CH} - \text{R}$ ghép vicinal), $\delta = 8,12$ (1H, d, $J = 8,8$ Hz; ^1H nhân thơm ghép spin ở vị trí *ortho*), $\delta = 9,22$ (1H, br. s, ^1H nhóm thế OH quan sát được trong dung môi DMCO-d_6), $\delta = 9,73$ (1H, br. s, ^1H nhóm thế OH quan sát được trong dung môi DMCO-d_6), $\delta = 13,63$ (1H, s, ^1H nhóm thế OH quan sát được trong dung môi DMCO-d_6). Như vậy DLD-C9.2 có 12 proton cộng hưởng từ, trong đó nhân thơm có 3 nhóm thế OH tự do và 2 cặp proton đối xứng trong cùng môi trường hoá học cùng ghép spin ở vị trí *ortho* thể hiện qua 2 đỉnh hấp thụ $\delta = 7,74$ ppm và $\delta = 6,93$ ppm với cùng hằng số ghép spin $J = 8,5$ Hz (hình 1).

DLD-C9.2 (E.I.M.S. 70 eV) (Hình 2) [6,7]: $[M^+] = 256$ m/z - base peak (100%), $[M^+ - 1] = 255$ m/z, và các phân mảnh đặc trưng 239(16%), 163 (30%), 137 (85%), 119 (7%), 120 (40%), 93 (7%), 91 (16%). Do đó DLD-C9.2 có PTL = 256 (hình 2).

DLD-C11.2 [$^1\text{H-NMR}$, 400MHz, DMSO-d_6 (dimethylsulfoxid- d_6)] (Hình 3) [2, 6, 7]: $\delta = 3,82$ (3H, s, ^1H của R-OCH_3), $\delta = 6,43$ (1H, d, $J = 8,5$ Hz), $\delta = 6,46$ (1H, s), $\delta = 6,86$ (2H, d, $J = 8,5$ Hz; ^1H nhân thơm ghép spin ở vị trí *ortho*), $\delta = 7,64$ (1H, d, $J = 15,7$ Hz; ^1H của $\text{R-CH} = \text{CH} - \text{R}$



Hình 1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) của DLD-C9.2

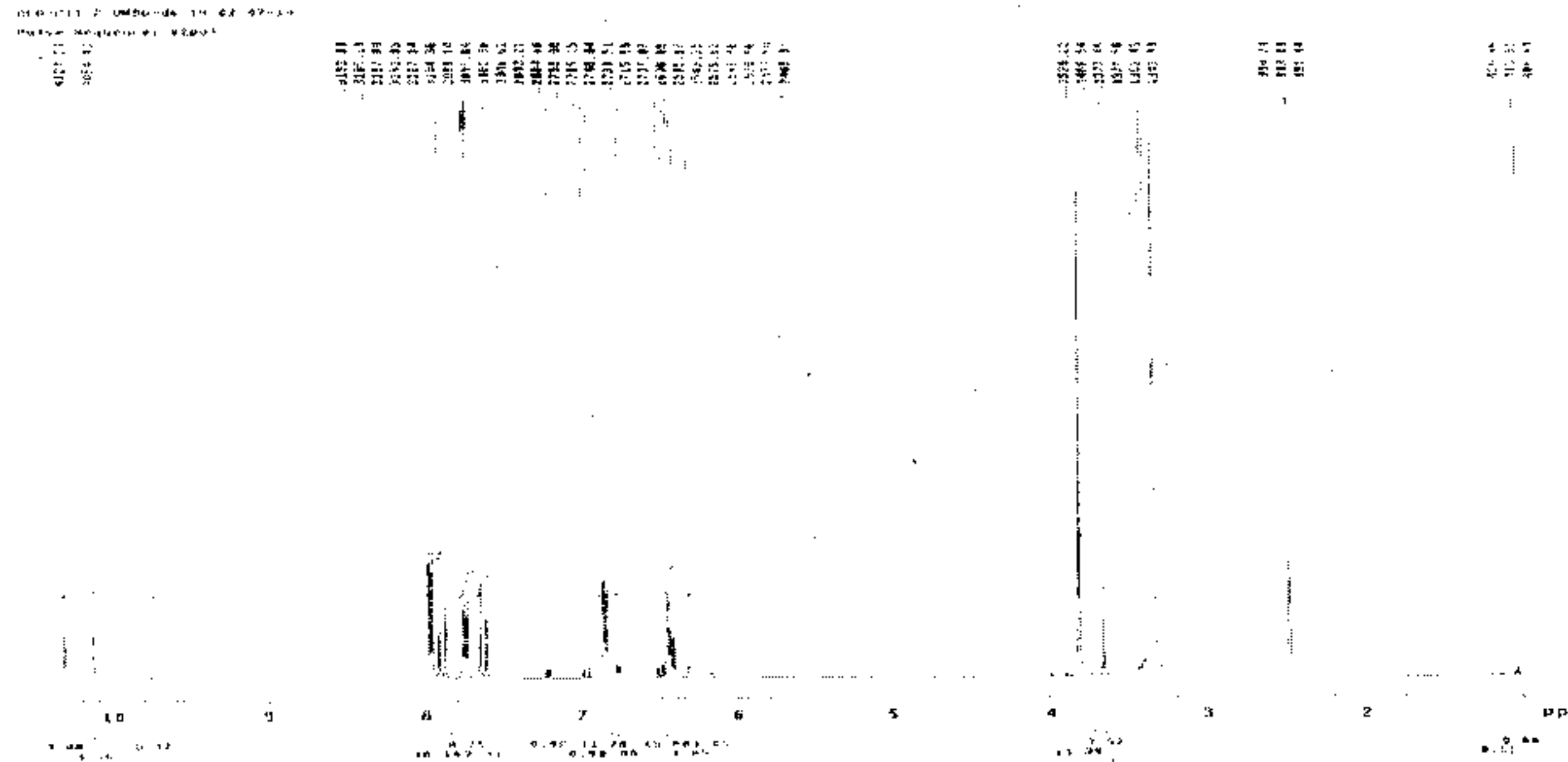


Hình 2. Phổ khối EIMS của DLD-C9.2

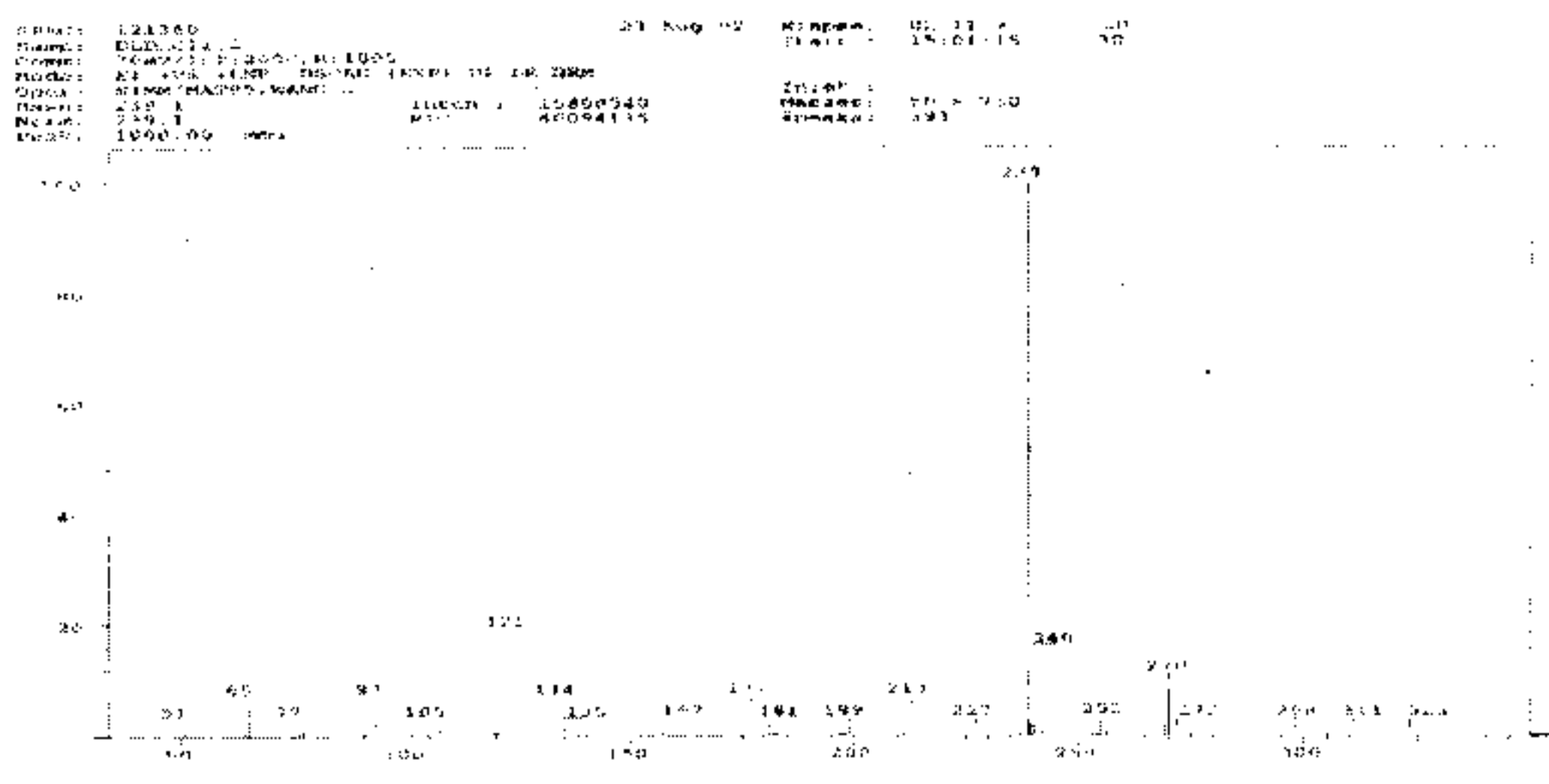
ghép vicinal), $\delta = 7,75$ (1H, d, $J = 8,5$ Hz), $\delta = 7,90$ (1H, d, $J = 15,7$ Hz; ^1H của $\text{R-CH}=\text{CH-R}$ ghép vicinal), $\delta = 7,97$ (2H, d, $J = 8,8$ Hz; ^1H nhân thơm ghép spin ở vị trí *ortho*), $\delta = 10,16$ (1H, s, ^1H nhóm thế OH quan sát được trong dung môi DMSO-d_6), $\delta = 10,32$ (1H, s, ^1H nhóm thế OH quan sát được trong dung môi DMSO-d_6). Như vậy DLD-C11.2 có 14 proton cộng hưởng từ, trong đó nhân thơm có 2 nhóm thế OH tự do, có 1 nhóm thế metoxy và 2 cặp proton đối xứng trong cùng môi trường hoá học cùng ghép spin ở vị trí *ortho* thể hiện qua 2 đỉnh hấp thu $\delta = 7,97$ ppm và $\delta = 6,86$ ppm với hằng số ghép spin gần giống nhau $J = 8,5$ và $8,8$ Hz. Điều chú

ý ở đây là 2 proton hấp thu ở $\delta = 7,97$ ppm về phía trường thấp so với các proton nhân thơm đã bị thế bởi oxy trong flavonoid (thường có $\delta \sim 7,76$ ppm). Do đó có thể nhóm thế có độ âm điện mạnh hơn nhóm $-\text{OH}$ hay $-\text{OR}$ (hình 3).

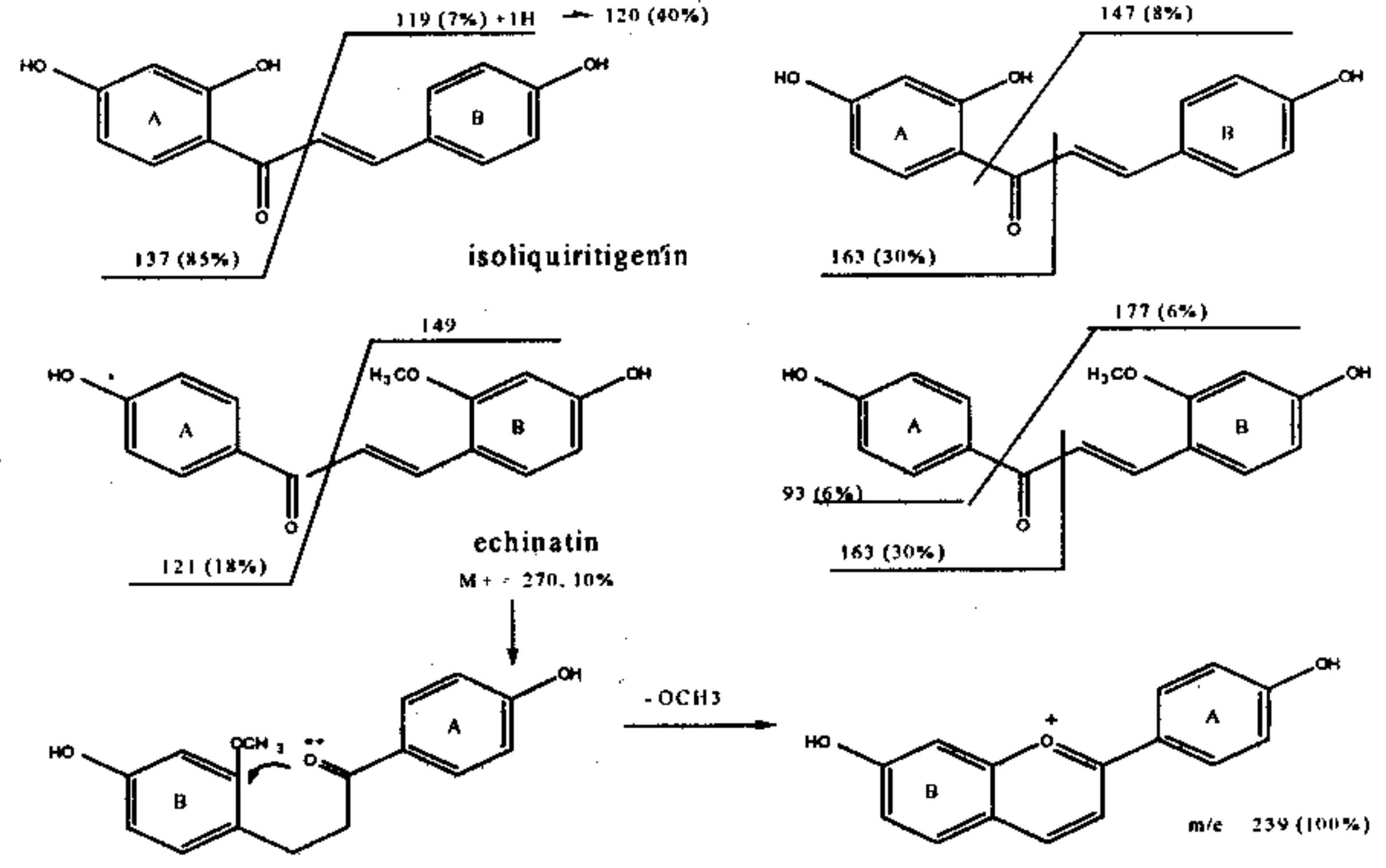
DLD-C11.2 (E.I.M.S. 70 eV) (hình 4) [5, 6, 7]: $\text{M}^+ = 270$ m/z (10%), 255 (4%), 239 (100% - base peak), 177 (6%), 149 (2%), 121 (18%), 93(6%). Do đó DLD-C11.2 có PTL = 270. Các phân mảnh này phù hợp với kiểu phân mảnh của chalcon (chỉ còn vòng A và B) (Sơ đồ 1).



Hình 3. Phổ ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, Dimethylcton-d₆) của DLD-C11.2



Hình 4. Phổ khối EIMS của DLD-C9.2



Sơ đồ 1- Kiểu phân mảnh trong phổ khối của các chalcon

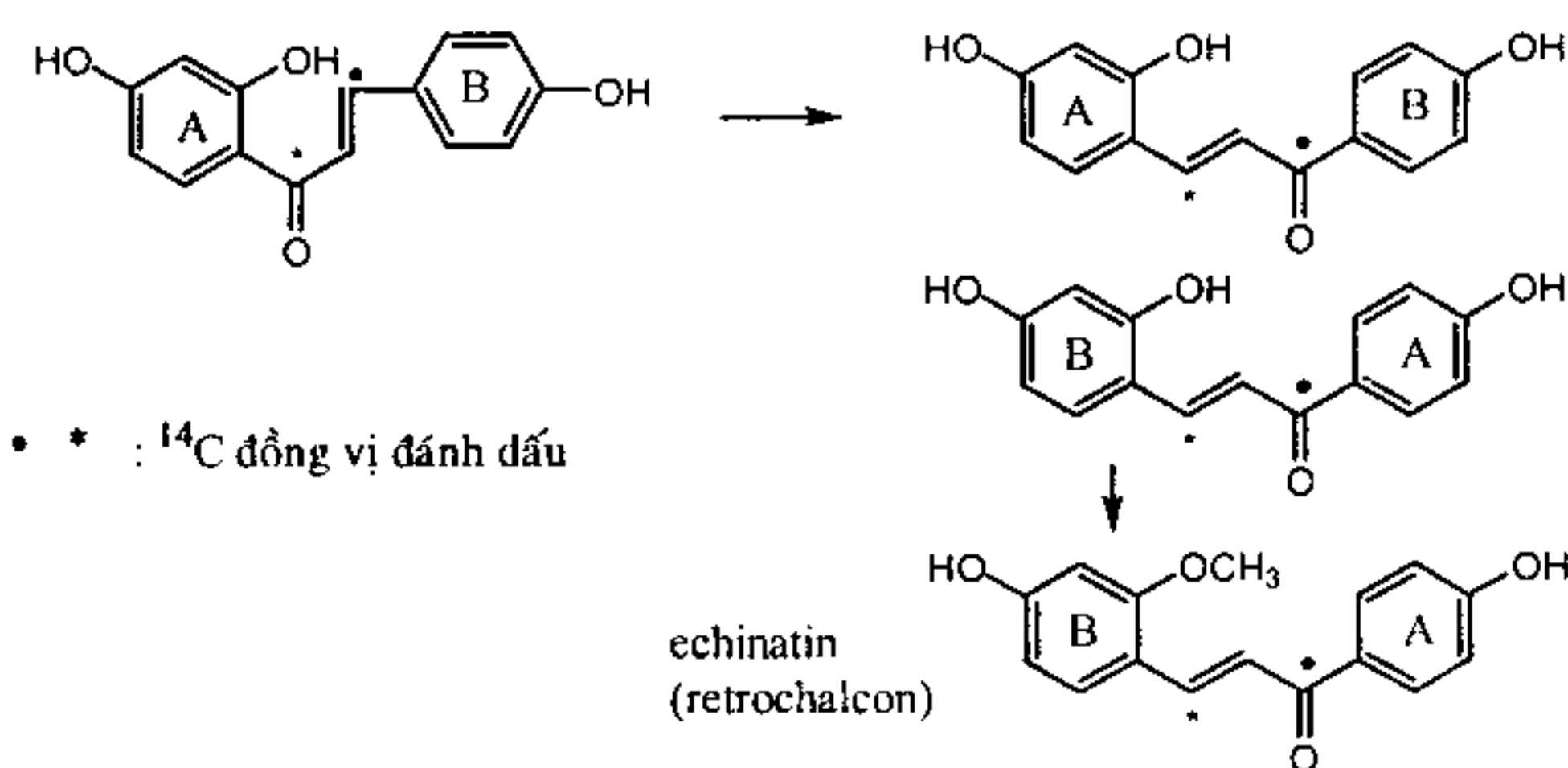
Như vậy, DLD-C9.2 là đồng phân của liquiritigenin (C₁₅H₁₂O₄), do tinh thể có màu vàng nên khả năng là 1 chalcon. DLD-C11.2 cũng có màu vàng sáng tương tự và PTL = 270

nên có thể là chalcon có nhóm thế metoxy (thay proton của DLD-C9.2 và isoliquiritigenin [3], H bằng CH₃) (8). Qua tham khảo tài liệu đã tìm của DLD-C11.2 và echinatin [4] (Bảng 1).
thấy sự giống nhau về chuyển dịch hóa học

Bảng 1- Các dữ liệu ¹H-NMR [δ (số H, độ bội, J)] của DLD-C9.2, isoliquiritigenin (Aceton-d₆) [3]; DLD-C11.2 và echinatin (DMSO- d₆) [4]

Proton	Isoliquiritigenin	DLD-C9.2	Proton	DLD-C11.2	Echinatin
OH-2'	13,65(1H,s)	13,63(1H,s)	OH-4	10,32(1H,s)	10,29(1H,s)
OH-4	9,28(1H,br.s)	9,73(1H,br.s)	OH-4'	10,16(1H,s)	10,08(1H,s)
OH-4'	9,28(1H,br.s)	9,22(1H,br.s)	H-2',6'	7,97(2H,d;8,8)	8,00(2H,d;8,7)
H-6'	8,04(1H,d,8)	8,12(1H,d;8,8)	H-β	7,90(1H,d;15,7)	7,95(1H,d;15,0)
H _β	7,82(1H,d,16)	7,84(1H,d;15,4)	H-6	7,75(1H,d;8,5)	7,75(1H,d;7,8)
H-2,6'	7,68(2H,d,8)	7,73(2H,d,8,5)	H-α	7,64(1H,d;15,7)	7,62(1H,d;15,0)
H _α	7,66(1H,d,16)	7,76(1H,d;15,4)	H-3',5'	6,86(2H,d;8,5)	6,93(2H,d;8,7)
H-3,5	6,87(2H,d,8)	6,93(2H,d;8,5)	H-3	6,46(1H,s)	6,49(1H,d;1,5)
H-5'	6,42(1H,dd;8,2,5)	6,46(1H,dd;9,2,5)	H-5	6,43(1H,d;8,5)	6,40(1H,dd;8,7,1,5)
H-3'	6,33(1H,d;2,5)	6,37(1H,d,2,5)	-OCH ₃	3,82(3H,s)	3,90(3H,s)

Echinatin là một tiền chất của các retrochalcon đã được sinh tổng hợp từ callus của *Glycyrrhiza echinata* cây mô [4], và sau đó được ly trích lần đầu tiên vào năm 1978 từ chi này [3]. Theo Shoji Shibata [5], isoliquiritigenin là tiền chất trong sinh nguyên tạo ra loại hợp chất retrochalcon như echinatin, vì có sự đảo ngược trong nhóm thế oxygen hoá (Sơ đồ 2).



Sơ đồ 2- Con đường sinh nguyên của retrochalcon

Kết luận

Lần đầu tiên, isoliquiritigenin (một chalcon) và echinatin (một retrochalcon) được phát hiện trong đơn lá đỏ đã góp phần làm sáng tỏ thành

phân hoá học, giúp cho việc tiêu chuẩn hóa và kiểm nghiệm dược liệu này.

Tác dụng sinh học của 2 hợp chất đã phân lập và xác định trên đang được chúng tôi tiến hành.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Vĩnh Định, Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Viết Tựu, Flavanon từ thân đơn lá đỏ, *Tạp chí Dược liệu*, tập 7, số 6 (2002), tr. 170-174; [2]. E. Pretsch, J. Seibl, T. Clerc, *Tables of spectral data for structural determination of organic compounds*, Springer – Verlag, 1983. [3]. Tamotsu Saitoh, Hiroshi Nogochi, Shoji Shibata, A new isoflavonone and the corresponding isoflavanone of Licorice root., *Chem. Pharm. Bull.* **26**(1), 146, 1978. [4]. Tsutomu Puruya, Kazuo, Matsumoto, Manabu Hikichi, Echinatin – a new chalcon from tissue culture of *Glycyrrhiza echinata*, *Tetrahedron letters* No. 27 (1971), 2567. [5]. Shoji Shibata, Tamotsu Saitoh, Flavonoid Compounds of Licorice root, *J. Indian Chem. Soc.*, vol LV, Nov. 1978, 1184-1191. [6]. K.R. Markham, *Techniques of flavonoid identification*. Academic Press (1982). [7]. J.B. Harborne, *Method in plant biochemistry – vol. 1: Plant phenolics*, Academic Press (1989). [8]. Ngô Văn Thu, Bài giảng Dược liệu – tập 1, Hà Nội 1988.

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU RE MỚI QUẢ ĐỆT Ở VIỆT NAM

Trần Huy Thái, Trần Minh Hợi, Lưu Đàm Cư - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật
Laurent Sevarac - Công ty Aromasia

(Nhận bài ngày 16 tháng 8 năm 2002)

Summary

Composition of the Essential Oil of *Neocinnamomum complanifractum* in Vietnam

Neocinnamomum complanifractum, a small tree, is a new and endemic species in Vietnam. It is distributed in Hoabinh and Laocai provinces.

The leaves yield 2,1% oil on air-dry basis. Forty-five constituents of the oil were identified by GC/MS. Major constituents were α -terpinene (45.0%) and eucalyptol (10.7%).

Key words: *Neocinnamomum complanifractum*, Distribution, Chemical Composition, α -Terpinene, Eucalyptol.

1. Mở đầu

Chi *Neocinnamomum* H. Liou. (Re mới) thuộc họ Lauraceae có 3 loài (theo Phạm Hoàng Hộ) thường là cây gỗ nhỏ. Lá của chúng được sử dụng chữa một số bệnh phong thấp, đau bụng [1,2]. Theo Nguyễn Thị Đào, hiện nay chi này có 5 loài, trong đó 2 loài mới của Việt Nam được bổ sung. Một trong hai loài đó là *Neocinnamomum complanifractum* S. Lec. et F. N. Wei - Re mới quả đẹt, đây là loài mới đặc hữu ở Việt Nam [3].

Hiện nay, chưa có công trình nào nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như về tinh dầu của các loài trong chi. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày một số kết quả về đặc điểm sinh học và thành phần hóa học của tinh dầu *Neocinnamomum complanifractum* S. Lec. et F. N. Wei thu được ở Mai Châu - Hòa Bình.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

- Đối tượng là lá của cây re mới quả đẹt thu ở Pà Cò - Mai Châu - Hòa Bình, tháng 12/1999.

- Hàm lượng tinh dầu được xác định bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước với thiết bị Clevenger trong thời gian là 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), thứ tự rửa giải trên cột tách không phân cực HP - 1, các chất được so sánh với thư viện phổ của máy, các thành phần chính còn được so sánh với chất chuẩn cùng với các điều kiện chuẩn tại

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 cột Stabilwax (60 m x 0,32mm, lớp phim dày 0,25 μm) với điều kiện 60°C (2 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 He [4].

+ Ngân hàng dữ liệu dùng cho việc nghiên cứu là

C:\DATABASE\SYNTH.LMR..L

C:\DATABASE\GENER.LMR.L

C:\DATABASE\WILNEY.6N.L

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Đặc điểm sinh học

Re mới quả đẹt là loài cây gỗ nhỏ cao khoảng 10 m. Lá đơn, mọc so le, hình trứng, dài 5 - 8 cm, rộng 3 - 5 cm, lá non có lông trên các gân, hai gân bên xuất phát gần sát góc chạy đến đầu lá; cuống dài 7 - 10 mm. Cụm hoa là chùm tụ tán mọc ở kẽ lá, có 1 - 4 hoa. Quả hình cầu, hơi đẹt. Mùa hoa: tháng 9 - 10; quả: tháng 11 - 12. Cây mọc hoang trong rừng ở độ cao khoảng 500 m, phân bố ở Pà Cò - Mai Châu (Hòa Bình), Lào Cai. Còn thấy ở Trung Quốc.

3.2. Thành phần hóa học của tinh dầu

Hàm lượng tinh dầu từ lá cây re mới quả dẹt đạt 2,1% theo nguyên liệu khô không khí. Tinh dầu là chất lỏng không màu, mùi thơm nhẹ, có tỷ trọng

nhẹ hơn nước. Bằng phương pháp sắc ký khí phân giải cao (HRGC) và sắc ký khí - khối phổ (GC/MS), chúng tôi đã xác định được 45 hợp chất được trình bày trong bảng sau:

Thành phần hóa học của tinh dầu re mới quả dẹt ở Mai Châu - Hòa Bình.

Số TT	Cấu tử	Hàm lượng (%)	Cơ sở dữ liệu để so sánh
1	hexen-3-cis-ol-1	0,2	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
2	α -pinen	3,4	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
3	β -pinen	3,0	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
4	myrcen	0,3	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
5	eucalyptol	10,7	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
6	Z-ocimen	2,4	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
7	E-ocimen	2,3	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
8	linalol	1,7	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
9	citronellyl format	0,4	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
10	γ-terpenyl acetat	4,2	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
11	amyril acetat	0,5	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
12	β -elemen	3,6	C:\DATABASE\GENER. LMR.L
13	β -caryophyllen	0,4	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
14	germacren-B	1,4	C:\DATABASE\GENER. LMR.L
15	aromadendren	0,3	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
16	3,7-guaiadien	0,9	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
17	terpinolen	0,6	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
18	D-germacren	0,5	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
19	α-terpinen	45,0	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
20	benzenamis, 5-methoxy-2-methyl	0,7	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
21	chưa xác định	0,8	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
22	1-isopropyl-5-methylbicyclo [3.2.2]	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
23	(+) spathulenol	3,5	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
24	2,5-dimethyl-3-vinyl-hexa-1,4-dien	0,5	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
25	viridiflorol	0,5	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
26	γ -gurjunen	1,1	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
27	δ -cadinen	0,2	C:\DATABASE\SYNTHLMR.L
28	1-cyclohexylhept-1-yne	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
29	β -costol	1,7	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
30	4,8,8-trimethylspiro (2.6) non-4,6-a	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
31	T-muurolol	0,4	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
32	3,4-dimethoxy benzenea ceton nitril	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
33	1, ethyl-3-methyl-benzen	0,4	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
34	(-) spathulenol	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
35	2H-indol-2-ol, 1,3-dihydro-1,3,3	0,3	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
36	α -dimethyl benzenemethanol	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
37	9,10-dehydro-isolongifolen	0,3	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
38	2-methyl-1-phenyl-1-buthanol	0,5	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
39	5-cyano-1,2,3,4,5,-pentamethyl-1,3	0,8	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
40	6-(3'-isopropenyl-1'-cyclopropen-1)	0,5	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
41	7-hydroxy-3,7 dimethyl-octanoic acid	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
42	1,2-cyclononadien	0,4	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
43	(1E,4R,4aR,5S,6R,8aR)-5,6-epoxy-4	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L

44	4-chloro-2-fluoro-5-nitro, toluen	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
45	3,4-epoxy-6-methyl-6	0,1	C:\DATABASE\WILEY 6N..L
46	(E)-2-methyl-4-(2',6',6'-trimethyl)	0,2	C:\DATABASE\WILEY 6N..L

Kết luận

- Hàm lượng tinh dầu đạt 2,1% từ lá theo nguyên liệu khô không khí.
- 45 hợp chất trong tinh dầu đã được xác định,

nhóm monoterpen chiếm 65%, nhóm sesquiterpen và những chất khác chiếm 25%.

- Thành phần chính của tinh dầu gồm các hợp chất α -terpinen (45,0%), eucalyptol (10,7%) và γ -terpenyl acetat (4,2%).

Tài liệu tham khảo

- 1). Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam. Quyển I - Tập I. Nxb Moontresal. 1993. Trang 437 - 438; 2). Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. Nxb Y học. 1997. Trang 980 - 981; 3). Nguyễn Kim Đào. Họ Long não ở Việt Nam. Xuất bản năm 2001; 4). Nguyen Xuan Dung, Pham Van Khiem, Tran Minh Hoi, Ninh Khac Ban, P. A. Leclercq, A. Musselli, A. Bighelli, J. Casanova. The composition of the seed oil of *Hibiscus abelmoschus* L. growing in Vietnam. 1999. J. Essential. Oil Res.(USA). P. 447-452.

Tạp chí Dược liệu, tập 7, số 6/2002 (trang 176 - 181)

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA THUỐC LÀO ĐỐI VỚI MỘT SỐ NGOẠI KÝ SINH TRÙNG THÚ Y VÀ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ THỬ NGHIỆM TRÊN CHÓ

Bùi Thị Tho - Đại học Nông nghiệp I

(Nhận bài ngày 24 tháng 10 năm 2002)

Summary

Effects of *Nicotiana rustica* Extract on Animal Ectoparasites and Results of Trials on Dogs

*In order to make use of traditional experiences in animal healthcare, the author has studied the way to extract *Nicotiana rustica* and its effects on animal ectoparasites. The results indicate that the material is best extracted in NaOH 5% for 36 hrs. The extract kills earthworms at concentrations $\geq 0.2\%$, ticks at concentrations $\geq 1.0\%$ and maggots and gnatworms at concentrations $> 2\%$.*

*Key words: *Nicotiana rustica*, Effect, Ectoparasites, Maggots, Gnatworms.*

1. Đặt vấn đề

Ngoại ký sinh trùng gây bệnh cho động vật nuôi không chỉ ảnh hưởng đến số lượng, chất lượng của sản phẩm, mà còn là kho dự trữ mầm bệnh sống, một nguyên nhân gây ra các bệnh truyền nhiễm cho người và súc vật [3,4,5,10].

Trong công tác phòng trị bệnh ngoại ký sinh trùng thú y, người ta sử dụng nhiều loại hoá dược. Các thuốc này tuy có hiệu lực cao, song lại gây độc hại cho vật chủ [2,8,9,12]. Ngoài việc gây hiện tượng kháng thuốc, chúng còn tồn đọng trong sản phẩm chăn nuôi, làm ảnh hưởng đến sức khoẻ người tiêu dùng, gây ô nhiễm môi trường.

Từ xa xưa, ông cha ta đã biết sử dụng thuốc Lào

trong sản xuất nông nghiệp để phòng và trị bệnh do côn trùng gây ra, trong đó có bệnh ngoại ký sinh trùng thú y. Nhưng hiệu quả chưa thống nhất, còn có sự khác nhau giữa các địa phương [1,5,11]. Việc ứng dụng thuốc Lào mới chỉ dừng lại ở mức độ kinh nghiệm và đôi khi còn gây hại cho người sử dụng. Do đó, cần phải nâng cao hiệu quả kinh tế, bảo đảm cơ sở khoa học và an toàn cho việc sử dụng.

2. Nguyên liệu và phương pháp thí nghiệm

2.1. Nguyên liệu.

+ Dược liệu: Thuốc Lào khô được ngâm chiết, pha loãng theo yêu cầu của từng nội dung thí nghiệm.

+ Động vật thí nghiệm gồm các loại:

- Giòi, bọ gậy, giun đất là kho lưu trữ mầm bệnh di động sống. Các loại ngoại ký sinh trùng thú y như ve chó, ve bò.

- Các động vật nuôi: chó bị ghẻ và ve ký sinh.

2.2. Phương pháp thí nghiệm.

Thí nghiệm trực tiếp trên tất cả các loại động vật bằng cách cho tiếp xúc với dịch chiết thuốc lào và theo dõi hiệu lực của nồng độ thuốc trên từng đối tượng thí nghiệm.

3. Kết quả - thảo luận

1) Xác định môi trường chiết xuất thích hợp

Thuốc lào khô được làm ẩm bằng các dung dịch NaOH 5%, HCl 5%, CH₃COOH 5% và cồn 40^o (rượu). Sau 1 giờ, thêm nước ngâm tiếp 24 giờ. Thu dịch chiết, pha loãng 1% để kiểm tra độc tính với 5 nhóm động vật thí nghiệm nêu trên. Ở lô đối chứng, sử dụng dung môi chiết xuất tương đương nồng độ. Kết quả kiểm tra độc tính của dịch chiết 1% trong các môi trường chiết xuất đối với động vật thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Kết quả cho thấy dịch chiết thuốc lào khô 1% sau 24 giờ trong tất cả các môi trường chiết xuất đều có tác dụng đối với động vật thí nghiệm, tuy độc tính có khác nhau. Điều này được thể hiện bằng thời gian gây chết 50% và 100% động vật thí nghiệm.

So sánh 4 loại môi trường dùng để làm ẩm thuốc lào kể trên, dịch chiết thuốc lào khô được làm ẩm bằng NaOH 5% tốt nhất vì thời gian gây chết động vật thí nghiệm ngắn nhất. Sau đó, đến dịch chiết được làm ẩm bằng cồn, HCL 5% và cuối cùng là CH₃OOH 5%.

Trong 5 nhóm động vật thí nghiệm, dòi ít mẫn cảm nhất. Ngay cả trong môi trường kiềm, sau 360 phút cũng chỉ có 50% số giòi thí nghiệm bị chết. Ngược lại, ve ký sinh lại rất mẫn cảm với dịch chiết thuốc lào. Trong 4 công thức thí nghiệm, cả ve chó, ve bò đều bị chết 100% từ 70 - 350 phút. Đồng thời, chúng tôi cũng quan sát, theo dõi những biểu hiện của các động vật thí nghiệm khi tiếp xúc với dịch thuốc. Đầu tiên chúng tăng vận động ==> rối loạn vận động ==> yếu dần rồi chết. Khi chết, màu sắc của xác bị biến đổi. Kết quả trên cho thấy với thuốc lào được làm ẩm bằng kiềm một giờ trước khi ngâm là môi trường chiết xuất tốt nhất. Chúng tôi đã chọn cách này để tiếp tục nghiên cứu những thí nghiệm sau.

2) Xác định thời gian ngâm chiết thuốc lào khô

thích hợp trong môi trường kiềm

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 2. Trong bảng này, ta thấy cùng dịch chiết thuốc lào 1% trong môi trường kiềm, song thu dịch thuốc ở các thời điểm khác nhau đã thể hiện độc tính khác nhau đối với các động vật thí nghiệm. Thí nghiệm đã cho thấy độc tính của dịch chiết thuốc lào trong môi trường kiềm đối với mọi động vật thí nghiệm đều tăng 12 - 36 giờ, độc tính tương đối ổn định 24 - 48 giờ, nhưng cao nhất ở thời điểm 36 giờ. Chỉ có dịch chiết lúc 36 giờ mới có khả năng giết chết 100% giòi thí nghiệm. Sau đó, độc tính giảm dần đến 72 giờ, ví dụ dịch chiết ở 12 giờ diệt 100% ve chó sau 80 phút; 24 giờ: 70 phút; 36 giờ: 65 phút; 48 giờ: 80 phút; 60 giờ: 100 phút và 72 giờ: 115 phút.

Do đó, đối với thuốc lào khô trong môi trường kiềm, tốt nhất thu ở thời điểm 36 giờ sau khi ngâm. Không nên thu muộn, hiệu quả sẽ bị giảm.

3) Kết quả kiểm tra độc tính của các nồng độ dịch chiết thuốc lào khô sau khi ngâm 36 giờ.

Cũng bằng phương pháp chiết xuất như trên, thu dịch chiết thuốc lào pha loãng ở các nồng độ 0,25%, 0,5%, 1%, 1,5% và 2%. Kết quả thu được trình bày ở bảng 3. Qua bảng này, chúng ta thấy nồng độ dịch chiết thuốc càng cao thì độc tính càng tăng.

Nồng độ 0,2% độc tính yếu: sau 360 phút theo dõi, chỉ có 20% bọ gậy, 30% ve chó và 20% ve bò bị chết.

Nồng độ 0,5% đã diệt được 40% ve bò, 50% ve chó sau 360 giờ theo dõi.

Ở nồng độ 1%, 60% giòi thí nghiệm bị diệt, còn các động vật thí nghiệm khác đều chết 100% từ 65 đến 105 phút.

Do đó, chỉ cần nồng độ trên $\geq 1,0\%$ thuốc lào khi dùng để trị ngoại ký sinh trùng, $\geq 0,2\%$ diệt giun đất và $>2\%$ đối với giòi và bọ gậy.

Để có cơ sở khoa học và đảm bảo an toàn cho điều trị thử nghiệm, chúng tôi tiếp tục xác định liều LD₅₀ và LD₁₀₀ của dịch chiết thuốc lào khô. Kết quả LD₅₀ của thuốc lào là 0,41% trên ve chó, 0,50% trên ve bò. Còn LD₁₀₀ của cả 2 loại ve ký sinh là 0,90%.

Sau khi xác định được LD₅₀ và LD₁₀₀ của dịch chiết thuốc lào, chúng tôi sử dụng liều gây chết 50% và 100% để thử diệt ve và ghẻ trên cơ thể chó.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra độc tính của dịch chiết thuốc lào khô 1% sau khi ngâm 24h trong 4 loại môi trường

Môi trường chiết xuất	Thời gian chết 50% động vật thí nghiệm					Thời gian chết 100 % động vật thí nghiệm				
	Bọ gậy (n = 20)	Giun đất (n = 10)	Dòi (n = 20)	Ve chó (n = 10)	Ve bò (n = 10)	Bọ gậy (n = 20)	Giun đất (n = 10)	Dòi (n = 20)	Ve chó (n = 10)	Ve bò (n = 10)
Cồn	90	125	K°	60	125	120	195	K°	105	165
Acid clohydric	135	140	360	100	150	210	230	K°	170	195
Kiểm	60	60	360	45	80	105	90	K°	70	195
Acid axetic	155	270	K°	260	200	250	360	K°	350	220
Đối chứng	Động vật thí nghiệm không chết trong suốt thời gian thí nghiệm									

Ghi chú: K°: Không chết

Bảng 2. Kết quả kiểm tra độc tính của thuốc lào 1% trong môi trường xút ở 6 thời điểm chiết xuất khác nhau

Thời gian chiết xuất	Thời gian chết 50% động vật thí nghiệm					Thời gian chết 100 % động vật thí nghiệm				
	Bọ gậy (n = 20)	Giun đất (n = 10)	Dòi (n = 20)	Ve chó (n = 10)	Ve bò (n = 10)	Bọ gậy (n = 20)	Giun đất (n = 10)	Dòi (n = 20)	Ve chó (n = 10)	Ve bò (n = 10)
12 ^h	75	65	360	50	85	120	130	-	80	110
24 ^h	60	60	360	45	80	105	90	-	70	105
36 ^h	55	60	330	45	80	100	75	360	65	90
48 ^h	55	65	360	50	80	110	90	-	80	105
60 ^h	65	80	360	55	85	125	110	-	100	125
72 ^h	95	85	(*4)	65	105	135	130	-	115	145
Đối chứng	Động vật thí nghiệm không chết trong suốt thời gian thí nghiệm									

Ghi chú: (*n) x 10 = tỷ lệ ĐVTN chết trong thí nghiệm

Bảng 3. Xác định nồng độ dịch thích hợp của dịch chiết thuốc lao khô với động vật thí nghiệm

Nồng độ dịch chiết (%)	Thời gian chết 50% động vật thí nghiệm					Thời gian chết 100% động vật thí nghiệm				
	Bọ gậy (n - 20)	Giun đất (n = 10)	Dòi (n = 20)	Ve chó (n = 10)	Ve bò (n = 10)	Bọ gậy (n - 20)	Giun đất (n = 10)	Dòi (n = 20)	Ve chó (n = 10)	Ve bò (n = 10)
0,2	(*2)	95	K ⁰	(*3)	(*2)	-	135	K ⁰	-	-
0,5	65	80	(*2)	360	(*4)	220	105	-	-	-
1	55	60	330	45	70	105	75	(*6)	65	90
1,5	35	45	300	30	75	85	65	(*7)	60	85
2	20	30	265	25	60	65	50	(*8)	50	80
Đối chứng	Động vật thí nghiệm không chết trong suốt thời gian thí nghiệm									

Ghi chú: (*n) x 10 = tỷ lệ ĐVTN chết trong thí nghiệm

4) Điều trị thử nghiệm trên động vật nuôi

Để kiểm tra hiệu lực điều trị của dịch chiết thuốc lao khô, chúng tôi dùng liều LD₅₀ và LD₁₀₀ phun thử nghiệm diệt ve ký sinh trên chó:

Chọn 6 chó có ve ký sinh chia làm 2 lô, điều trị thử nghiệm bằng dịch chiết thuốc lao khô. Chuẩn bị dịch chiết thuốc lao theo nồng độ yêu cầu trong bình sịt (theo phương pháp Spray). Lượng thuốc sịt vừa đủ làm ẩm lông chó. Không phun quá nhiều thuốc sẽ chảy gây lãng phí. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Qua điều trị ve chó bằng dịch chiết thuốc lao trong môi trường kiểm chúng tôi thấy:

+ Với nồng độ 0,4% (LD₅₀) dịch chiết thuốc lao sau khi phun lần thứ nhất, số ve chết là 51,45%, phun lại lần thứ hai 100% số ve ký sinh bị diệt.

+ Ở nồng độ 0,9% (LD₁₀₀), chỉ cần phun một lần đã diệt được 100% số ve ký sinh. Theo dõi những chó được điều trị ve thấy vẫn ăn uống, hoạt động bình thường, không có biểu hiện khác thường. Điều đó chứng tỏ thuốc an toàn đối với chó. Kết quả điều trị thử nghiệm đã mở ra triển vọng là có thể dùng dịch chiết thuốc lao để điều trị ve chó có hiệu quả và an toàn.

Kết quả điều trị ghẻ chó

Bên cạnh ve, ghẻ cũng là bệnh tương đối phổ biến của súc vật nuôi. Dựa vào kết quả nghiên cứu của đề tài và những kinh nghiệm trị ghẻ trong dân gian, chúng tôi đã sử dụng 3 công thức trị ghẻ sau để điều trị thực nghiệm trên chó bị ghẻ thuộc trung tâm nghiên cứu chó nghiệp vụ.

Công thức 1: Thuốc lao 5% được làm ẩm bằng HCl 5% rồi ngâm trong nước, thu sau 36 giờ.

Công thức 2: Thuốc lao 5% được làm ẩm bằng CH₃COOH 5% cũng ngâm trong nước và thu dịch chiết sau 36 giờ, thêm 5% dầu luy.

Công thức 3: Thuốc lao 5% được làm ẩm bằng NaOH 5%, ngâm trong nước và thu dịch chiết sau 36 giờ.

Công thức 1 và 3 được bôi ngày 2 lần. Công thức 2 ngày chỉ 1 lần. Kết quả được ghi ở bảng 5.

Qua kết quả điều trị thử nghiệm, chúng tôi thấy ở công thức 1 và 2, dùng dịch chiết thuốc lao 5% ngâm trong 2 loại môi trường acid acetic và kiềm trị ghẻ cho 6 chó khỏi 4 con, đạt tỉ lệ 66,6%. Nhưng khi kết hợp thêm dầu luy để điều trị ở công thức 2, tỉ lệ chữa khỏi đã tăng đến 80% và thời gian chữa khỏi cũng rút ngắn

Bảng 4. Kết quả thử diệt ve chó bằng dịch chiết thuốc lào trong môi trường kiểm

Số TT	Kết quả thí nghiệm					
	Nồng độ thuốc 0,4%			Nồng độ thuốc 0,9%		
	Mật độ ve (con/m ²)		Tỷ lệ chết (%)	Mật độ ve (con/m ²)		Tỷ lệ chết (%)
	Trước khi phun	Sau khi phun		Trước khi phun	Sau khi phun	
1	1,06	0,51	51,94	1,13	0,13	88,89
2	0,97	0,47	51,55	1,09	0,09	91,43
3	1,16	0,57	50,36	0,916	0,06	93,1
T.bình			51,45			91,1

chỉ còn 4 - 5 ngày so với 5 - 7 ngày ở công thức 1. Như vậy, dùng dầu luyt kết hợp với dịch chiết thuốc lào, hiệu quả tăng lên, số lần bôi thuốc trong ngày giảm, chỉ còn một lần. Song thuốc có nhược điểm là gây bần lông và da cho chó.

4. Kết luận

1. Về môi trường chiết xuất: Trước khi sử dụng thuốc lào khô để trị côn trùng cũng như ký sinh trùng thú y, nên làm ẩm bằng NaOH 5% rồi ngâm trong nước.

2. Về thời gian chiết xuất: Thuốc lào nên thu dịch chiết ở 36 giờ sau khi ngâm, ngoài thời gian trên tác dụng của thuốc đều bị giảm.

Bảng 5. Kết quả điều trị ghẻ chó bằng dịch chiết thuốc lào

Công thức	Số chó điều trị	Số chó khỏi	Tỷ lệ khỏi (%)	Thời gian khỏi (ngày)
1	6	4	66,6	5 - 7
2	5	4	80	4 - 5
3	6	4	66,6	4,5 - 6

3. Sử dụng dịch chiết thuốc lào ở nồng độ 0,4% trong môi trường kiểm phun lần thứ nhất diệt 51,4% ve, phun lần thứ hai sạch ve. Ở nồng độ 0,9%, phun lần đầu đã diệt 91,1% ve. Chó an toàn sau điều trị.

Tài liệu tham khảo

- 1). Phạm Khắc Hiếu, Bùi Thị Tho. 1994. Đông dược thú y. Nxb Nông nghiệp;
- 2). Phạm Khắc Hiếu, Lê Thị Ngọc Diệp. 1997. Dược lý Thú y. Nxb Nông nghiệp;
- 3). Phạm Văn Khuê, Phan Lục. 1996. Ký sinh trùng thú y, Nxb Nông nghiệp;
- 4). Nguyễn Vinh Phước. 1978. Bệnh truyền nhiễm gia súc, Nxb Nông nghiệp;
- 5). Hồ Khắc Tín. 1992. Giáo trình Côn Trùng Nông Nghiệp, trường đại học Nông nghiệp I Hà Nội;
- 6). Trịnh Văn Thịnh, Phan Trọng Cung. 1982. Ký sinh trùng thú y. Nxb Nông nghiệp;
- 7). Nguyễn Như Viên. 1975, Giáo trình thực tập Dược lý thú y, trường Đại học Nông nghiệp I Hà nội;
- 8). Athur D.R, 1960, Ticks, a monograph of the Ixodidae Vol IV at the University Pres Cambridge;
- 9). Brander G.C., Pugh D.M., Bywater R.J., Jenkins W.W.L., 1991. Veterinary applied pharmacology and therapeutics 5th edition Balliere Tindall-London-Philadelphia-Toronto-Sydney-Tokyo;
- 10). Kaufmann.J., 1996, Parasitic infections of domestic animals, Birkhauser Verlag Basel-Boston-Berlin;
- 11). Pan.W. Upson P.V.M., 1993, Handbook of clinical Veterinary pharmacology 4th Printed in the United States of America;
- 12). Zhao Lien and Etal. 1999. Manufacture of nontoxic insecticides from medicinal plants for agricultural use. Faming Zhuanli Shenging Gonkai shuominghu sep

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH RIBONUCLEOLYTIC CỦA NỌC RẮN HỔ MANG

Nguyễn Văn Thiết - Viện Công nghệ sinh học
(Nhận bài ngày 16 tháng 10 năm 2002)

Summary

Studies on Ribonucleolytic Activity of the Cobra Venom

Studies on ribonucleolytic activity of cobra (Naja naja) venom have revealed that the enzyme ribonuclease (RNase) is very thermostable: boiling for 5 min does not damage, but considerably increases its activity. Most active pH ranges from 1.5 to 4.0, the optimum being 3.1 in glycine and 2.63 in glycine-citrate-phosphate-tris-HCl (1 : 1 : 1 : 1) buffers. The enzyme with a molecular weight of about 40 kD is more active in glycine than in the mixed buffer. Ionic strength strongly affects the activity of the enzyme: maximal activity results from a concentration of 10 mM of ions in both glycine and mixed buffers. Mg²⁺ is not required for activation of the enzyme.

Key words: Naja naja, Venom, Ribonucleolytic Activity, Ribonuclease.

I/ Đặt vấn đề

Hàng năm, các cơ sở nuôi rắn ở nước ta đã sản xuất được một lượng nọc rắn đáng kể và hầu như đều xuất bán sang Trung Quốc. Ngay cả loài rắn rất quý và độc như rắn hổ mang chúa (*Ophophagus hannah*) người Trung Quốc mua của ta với giá rất đắt để lấy nọc, sau đó bán phần thịt rắn với giá rẻ cho các nhà hàng. Chúng ta đều biết người Trung Quốc mua nọc rắn của ta để làm thuốc chữa bệnh, nhưng không rõ chữa bệnh gì.

Nọc rắn ở nước ta hầu như chưa được nghiên cứu về mặt sinh hoá học. Vì vậy, tiến hành nghiên cứu điều tra các chất có hoạt tính sinh học từ nọc rắn nhằm tạo cơ sở khoa học cho khai thác, sử dụng nguồn dược liệu quý này là một vấn đề có ý nghĩa cơ bản và thực tiễn rất thiết thực. Trong công trình này, chúng tôi sẽ trình bày một số kết quả nghiên cứu hoạt tính ribonucleolytic (phân huỷ ARN) của nọc rắn hổ mang đen, nhằm tìm kiếm các loại ribonuclease (RNase) từ các nguồn tài nguyên sinh học nhiệt đới có hoạt tính cytotoxin dùng để làm thuốc chống ung thư, tiến tới khai thác nguồn dược liệu quý này ở nước ta.

II/ Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Chế phẩm nọc rắn hổ mang đen đông khô được mua ở làng nghề nuôi rắn xã Vĩnh Sơn huyện Vĩnh Tường tỉnh Vĩnh Phúc được sử dụng làm nguồn enzym RNase.

2. Chế phẩm ARN dùng làm cơ chất cho RNase được tách chiết và tinh chế từ lá non của một số cây (nhãn, vải, hoa lan...) theo quy trình tách chiết

và tinh chế ADN mà chúng tôi đã công bố trước đây [7], với một số biến đổi nhằm nâng cao hàm lượng ARN trong chế phẩm acid nucleic tổng số, cho phép nhận các chế phẩm acid nucleic tổng số có độ tinh sạch cao, chứa đến 95% ARN và thích hợp làm cơ chất cho RNase, hoặc mua của hãng Sigma (ARN tổng số của nấm men).

3. Phương pháp xác định hoạt tính RNase cũng giống như phương pháp xác định hoạt tính của deoxyribonuclease (DNase) mà chúng tôi đã sử dụng trước đây [8], dựa trên nguyên lý của hiệu ứng hyperchrom, tức tăng hấp thụ ở vùng cực tím (260 nm) khi acid nucleic bị thuỷ phân.

Một đơn vị (đv) RNase là lượng enzym xúc tác phản ứng thuỷ phân ARN tổng số trong những điều kiện tiêu chuẩn xác định và làm tăng mật độ quang học của dịch phản ứng (OD₂₆₀) lên 0,01 đv OD sau thời gian phản ứng là một phút. Hoạt tính RNase được đo trực tiếp trên máy quang phổ Diode Array SP 8452 Hewlett Packard hoặc trên máy GeneQuant RNA/DNA Calculator theo tăng OD₂₆₀ sau một phút kể từ khi bắt đầu phản ứng.

4. Sắc kí lọc gel (sàng lọc phân tử) được tiến hành trên cột (1,6 x 93 cm) với Sephadex G-75.

5. Protein được xác định theo phương pháp Lowry hoặc phương pháp quang phổ ở 280 nm.

6. Hoá chất các loại cần thiết cho thí nghiệm đều có độ sạch phân tích cao.

III/ Kết quả và thảo luận

Trong nọc rắn có nhiều loại enzym khác nhau

như phospholipase, protease, phosphomonoesterase, phosphodiesterase (PDE), nuclease... Trong số các enzym này có lẽ nuclease là nhóm được nghiên cứu ít nhất, ngoại trừ enzym có tên gọi là "PDE nọc rắn" là enzym đã được biết đến từ lâu cùng với phospholipase. PDE nọc rắn là enzym xúc tác thủy phân tất cả các liên kết *a* (liên kết giữa 3'-OH và acid phosphoric trong acid nucleic) trong cả ADN và ARN, cắt tuần tự mạch polynucleotid từ đầu 3', tạo thành các nucleotid-5'-phosphat; cần nhóm 3'-OH tự do cho hoạt tính xúc tác [3]. Như vậy theo hệ thống phân loại nuclease, PDE nọc rắn thực chất là 3'-exonuclease hỗn tạp. Tuy nhiên, theo kết quả nghiên cứu của các nhà khoa học Liên Xô cũ trong nọc rắn ngoài enzym thủy phân acid nucleic theo cơ chế PDE như enzym PDE nọc rắn nêu trên, còn có các enzym bản chất nuclease thủy phân ARN không theo cơ chế PDE (tức là các RNase). Hơn nữa, các RNase trong nọc của các loài rắn cũng rất khác nhau về bản chất protein, và trong nọc độc của một loài rắn có thể có nhiều loại RNase khác nhau [1].

Từ trước đến nay, RNase trong nọc của các loài rắn ở nước ta còn chưa được nghiên cứu, do đó hoạt tính RNase được trình bày trong công trình này là hoạt tính chung, chưa rõ thuộc về một hay nhiều loại RNase khác nhau có mặt trong nọc rắn hổ mang ở nước ta, và được gọi chung là hoạt tính ribonucleolytic.

1. *Nghiên cứu độ bền nhiệt của hoạt tính ribonucleolytic trong nọc rắn hổ mang đen.* Để khảo sát độ bền nhiệt của hoạt tính ribonucleolytic trong nọc rắn hổ mang, nọc rắn đông khô được hòa tan trong nước hay dung dịch đệm với pH trung tính, đun cách thủy ở các nhiệt độ khác nhau trong một khoảng thời gian như nhau (5 phút) và đun sôi cách thủy trong các khoảng thời gian khác nhau (từ 5 đến 30 phút), sau đó làm lạnh trong nước đá đang tan và li tâm 10000 vòng/phút trong 10 phút để loại cặn và xác định hoạt tính ribonucleolytic trong các dịch li tâm nhận được. Các kết quả của thí nghiệm này được tóm tắt trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xác định mối phụ thuộc hoạt tính ribonucleolytic (A, OD₂₆₀) trong nọc rắn hổ mang đen vào nhiệt độ

1. Đun cách thủy 5' ở các nhiệt độ khác nhau			2. Đun sôi cách thủy trong các khoảng thời gian khác nhau		
T (°C)	A, OD ₂₆₀	%	T, min	A, OD ₂₆₀	%
25	33,2	94,3	0	18,9	100
41	34,9	99,1	2	14,6	77,5
49	35,2	100	5	18,2	96,3
59	26,2	74,4	10	23,6	125,1
70	28,9	82,1	15	25,9	137,1
80	27,7	78,7	20	25,5	135,2
90	29,6	84,1	25	26,1	138,3
100	37,6	106,8	30	29,3	155,5

Các kết quả thu được cho thấy hoạt tính ribonucleolytic trong nọc rắn hổ mang đen rất bền nhiệt. Theo tính bền với nhiệt, RNase trong nọc rắn hổ mang đen của nước ta rất gần với các enzym trong siêu họ RNase A [10], nhưng lại rất khác biệt với RNase trong nọc của loài rắn hổ mang *Naja oxiana* ở vùng Trung Á của Liên Xô cũ (mất hoạt tính hoàn toàn ở 70°C [9]) và vùng Guntur của Ấn Độ (có hoạt tính cao nhất ở 40°C [4]).

2. Ảnh hưởng của pH lên hoạt tính ribonucleolytic của nọc rắn hổ mang đen.

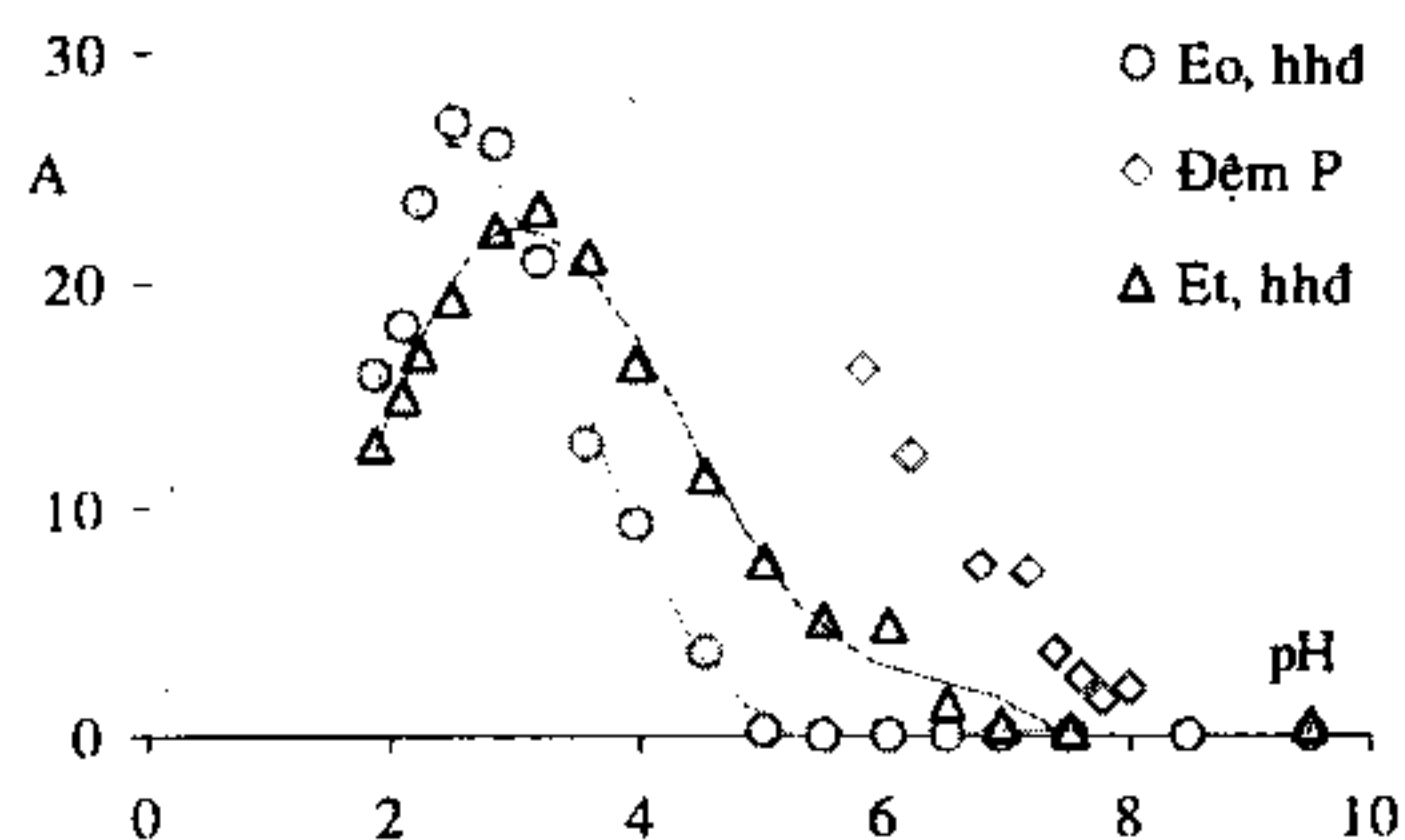
Ảnh hưởng này đã được nghiên cứu trong các đệm phosphat (pH 5,8 - 8,0), glycin (pH 0,99 - 4,02) và trong đệm hỗn hợp glycin - citrat - phosphat - tris -HCl (tỉ lệ mol 1 : 1 : 1 : 1, pH 0,99-

9,5). Kết quả các thí nghiệm này được trình bày ở hình 1.

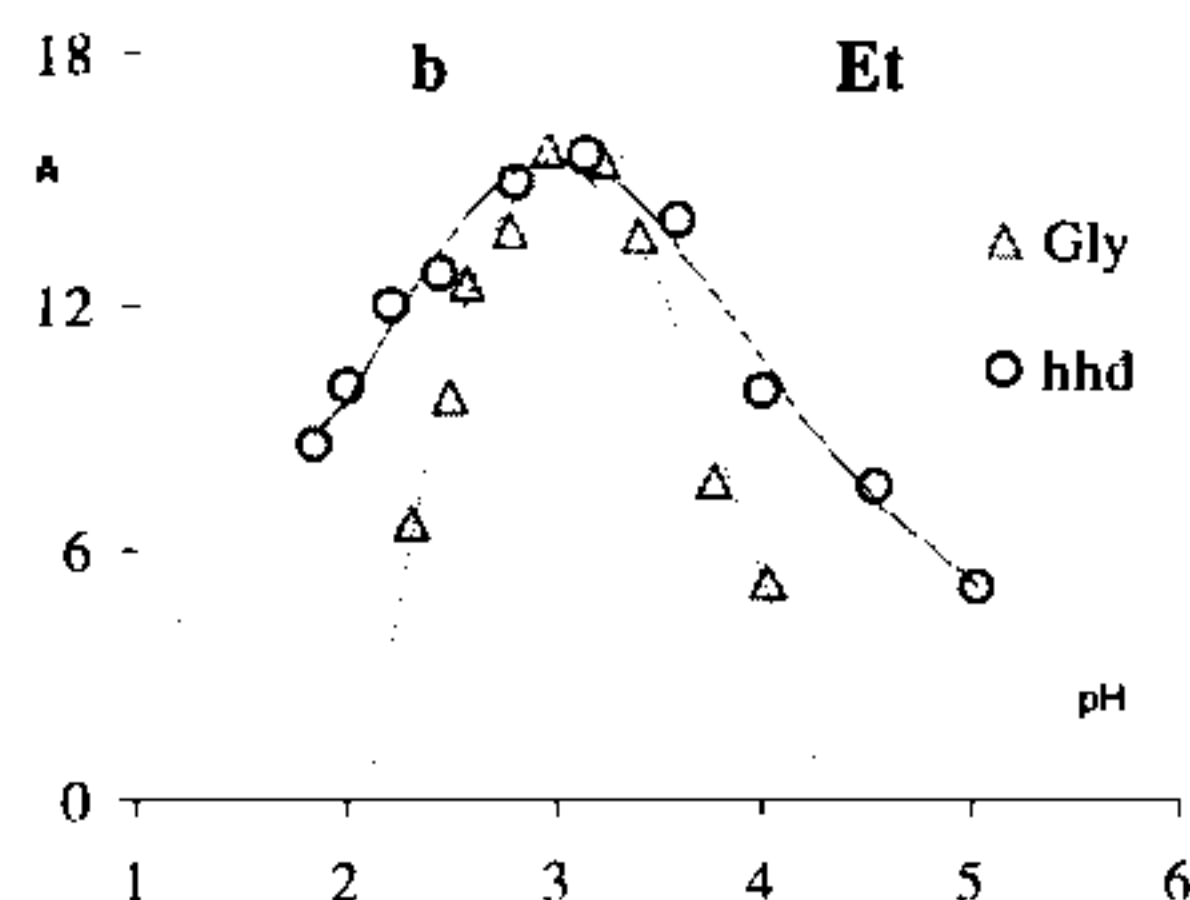
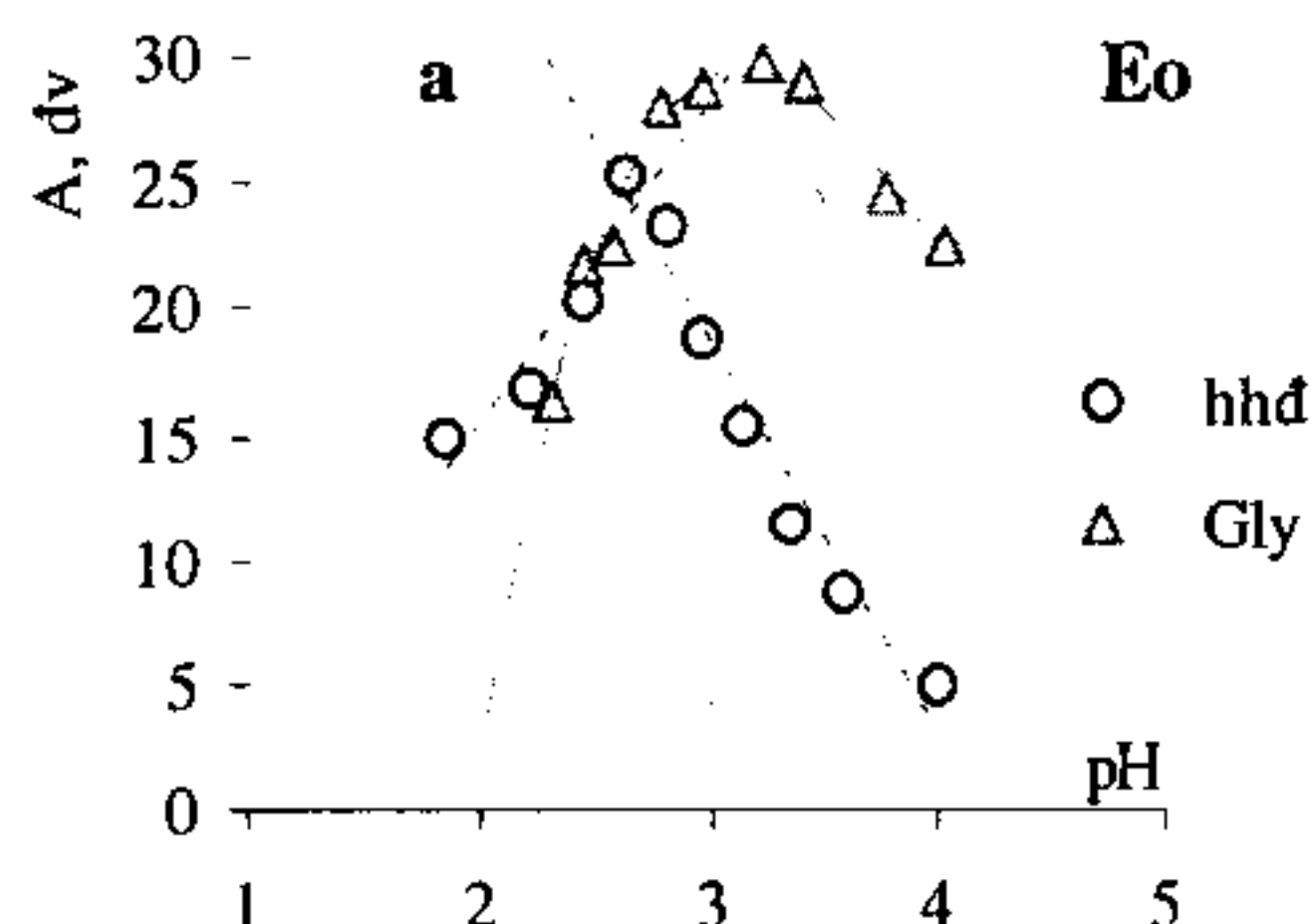
Hình này cho thấy RNase trong nọc rắn hổ mang đen có hoạt tính ribonucleolytic cao trong môi trường acid, độ pH từ 1,5 đến 4,0 cả trong đệm glycin và đệm hỗn hợp, còn trong đệm phosphat hoạt tính giảm liên tục khi pH tăng từ 5,8 đến 8,0.

Do hoạt tính ribonucleolytic nọc rắn cao trong vùng acid, nên các thí nghiệm xác định pH tối ưu chỉ tiến hành trong vùng acid của đệm glycin (Gly) và đệm hỗn hợp. Kết quả được trình bày ở hình 2.

Các kết quả thu được cho thấy nọc rắn thô có pH tối ưu là 3,1 trong đệm Gly và 2,63 trong đệm hỗn hợp (hình 2 a) và nọc rắn sau khi xử lý nhiệt có pH tối ưu là 3,1 trong cả 2 loại đệm (hình 2 b).



Hình 1. Mối phụ thuộc hoạt tính ribonucleolytic trong nọc rắn hổ mang vào pH. Phản ứng tiến hành trong đệm hỗn hợp (hhd) và đệm phosphat (đệm P), với chế phẩm nọc rắn đông khô thô (Eo) và sau khi xử lý nhiệt - đun sôi cách thủy 5-10 phút (Et).



Hình 2. Xác định pH tối ưu của hoạt tính ribonucleolytic trong chế phẩm nọc rắn thô (Eo) và nọc rắn được đun sôi cách thủy 5 phút (Et). Đường cong A - pH được biểu diễn ở dạng hình chuông úp ngược hoặc hai đoạn thẳng giao nhau tại giá trị pH tối ưu tương ứng.

Nếu theo tính bên với nhiệt, RNase trong nọc rắn hổ mang đen của nước ta giống với các RNase thuộc siêu họ RNase A, nhưng theo mối phụ thuộc của hoạt tính enzyme vào pH, enzyme này lại khác với tất cả các RNase đã được biết từ trước tới nay: tuyệt đại đa số các RNase, kể cả RNase trong nọc rắn của Ấn Độ [5] và vùng Trung Á của Liên Xô cũ [1], đều có pH tối ưu trong khoảng pH từ 6 đến 8, chủ yếu có $pH_{opt} > 7$. Có lẽ RNase từ nọc rắn hổ mang đen của nước ta là *enzym duy nhất thuộc nhóm nuclease có pH tối ưu gần 3*. Đây

là đặc điểm nổi bật nhất của enzyme này, cho phép kết luận rằng RNase từ nọc rắn hổ mang đen của nước ta là một tip RNase mới.

3. Mối phụ thuộc hoạt tính ribonucleolytic trong nọc rắn hổ mang đen vào lực ion

Đã tiến hành nghiên cứu mối phụ thuộc của hoạt tính ribonucleolytic trong nọc rắn vào nồng độ đệm (Gly và đệm hỗn hợp), các muối $(NH_4)_2SO_4$, NaCl, $MgSO_4$ và EDTA. Kết quả được tóm tắt trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu mối phụ thuộc của hoạt tính ribonucleolytic trong nọc rắn vào lực ion

Hỗn hợp đệm		Đệm Gly		NaCl		$(NH_4)_2SO_4$		EDTA	
mM	A, đv	mM	A, đv	mM	A, đv	mM	A, đv	mM	A, đv
4	13,26	5	25,3	0	22,98	0	18,83	0	17,3
10	22,80	10	29,4	2,5	22,14	5,8	14,02	0,5	19,5
20	20,37	20	28,2	5	21,29	14,5	12,01	1	21,6
30	18,76	30	27,0	7,5	21,18	29,1	7,09	2	19,4
40	15,66	40	26,5	10	19,40	43,6	6,17	4	17,6
50	14,42	60	23,5	25	13,81	58,1	2,06	5	17,4
60	11,95	80	18,3	50	8,54	72,6	0	7,5	10,9
80	9,48	100	15,0	75	7,92	75	0	10	7,7
100	2,39			100	6,51	100	0	25	2,8

Các kết quả thu được cho thấy hoạt tính ribonucleolytic trong nọc rắn phụ thuộc mạnh vào lực ion: hoạt tính enzym giảm nhanh khi nồng độ các muối và đệm tăng, enzym mất hoàn toàn hoạt tính khi nồng độ ammonium sulfat cao hơn 70 mM. Enzym thể hiện hoạt tính cao nhất khi nồng độ đệm là 10 mM. Ion Mg^{2+} ở nồng độ nhỏ hơn 2 mM hầu như không ảnh hưởng lên hoạt tính, còn ở nồng độ 4 mM lại ức chế 50% hoạt tính của RNase trong nọc rắn hổ mang đen của Việt Nam. Theo ảnh hưởng của Mg^{2+} , RNase trong nọc rắn hổ mang đen của Việt Nam khác với enzym này từ nọc các loài rắn khác: Mg^{2+} ở nồng độ 10 mM làm tăng hoạt tính RNase trong nọc rắn hổ mang (*Naja oxiana*) ở vùng Trung Á của Liên Xô cũ lên đến 10 lần [1] và ở nồng độ 0,5 ÷ 2,5 mM cần cho thể hiện hoạt tính tối ưu của RNase trong nọc rắn hổ mang (*Naja naja*) Ấn Độ [5]. EDTA ở nồng độ thấp thậm chí còn làm tăng hoạt tính ribonucleolytic, điều này càng khẳng định RNase trong nọc rắn hổ mang của nước ta không cần ion Mg^{2+} cho hoạt động xúc tác.

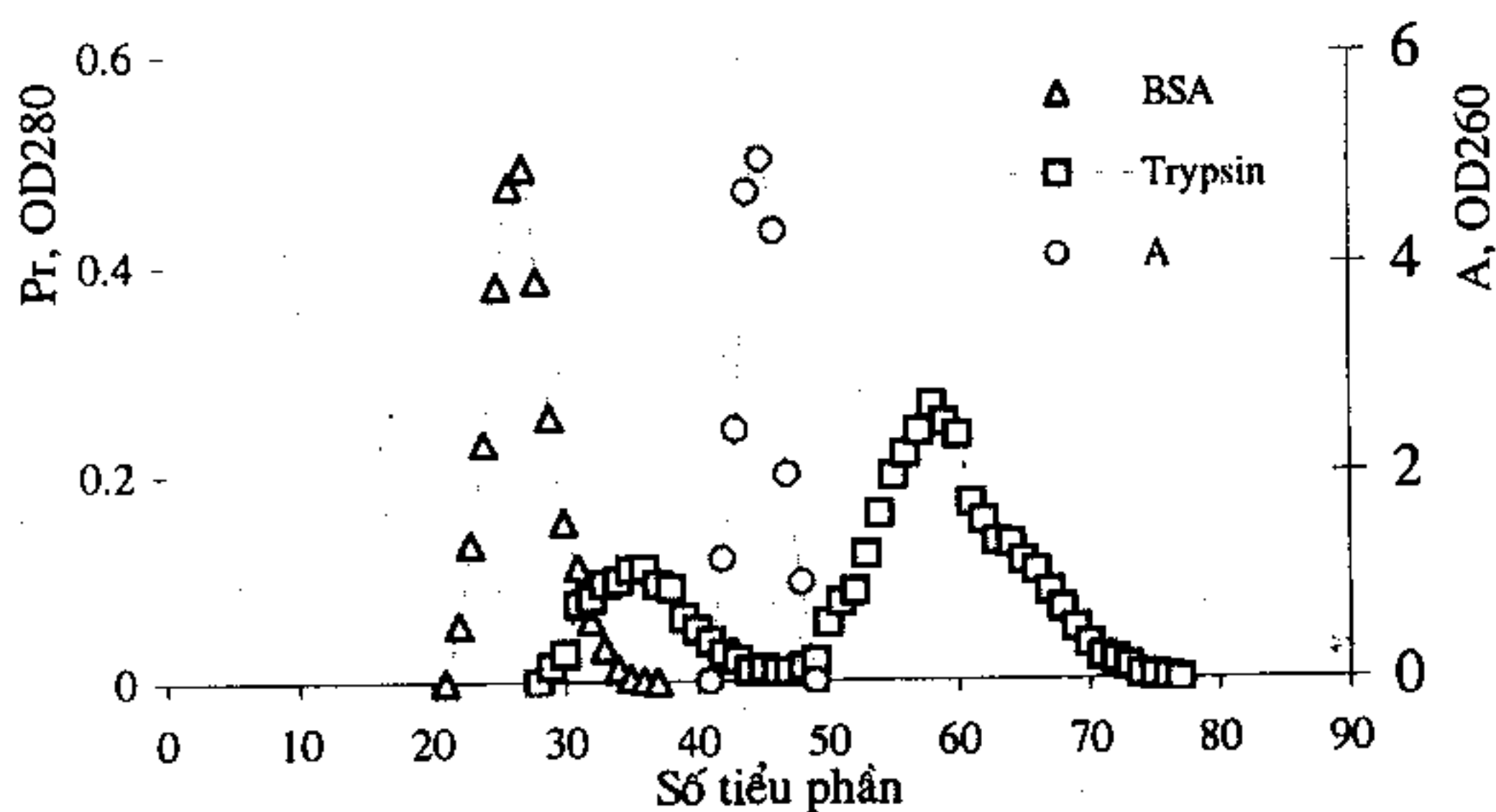
4. Xác định khối lượng phân tử của RNase nọc rắn hổ mang đen bằng phương pháp sắc kí sàng lọc phân tử

Những kết quả trình bày trong các phần trên cho thấy một mặt RNase nọc rắn hổ mang đen Việt Nam giống với các enzym thuộc siêu họ RNase A, nhưng lại khác với các enzym họ hàng trong nọc rắn hổ mang ở vùng Trung Á của Liên Xô cũ và Ấn Độ về tính bền với nhiệt; mặt khác enzym này lại khác với tất cả các enzym thuộc nhóm RNase đã được biết đến cho tới nay về pH tối ưu rất acid ($pH_{opt} = 3,1$ trong đệm Gly và 2,63 trong hỗn hợp đệm). Những tính chất đặc biệt này chắc chắn sẽ phản ánh những khác biệt sâu sắc

trong cấu trúc của enzym này so với các enzym thuộc siêu họ RNase A. Chính điều này thúc đẩy chúng tôi xác định kích thước phân tử của enzym trong nọc rắn của Việt Nam, với hy vọng tìm được loại RNase mới có cấu trúc bậc IV và có hoạt tính cytotoxin, giống như enzym từ tinh dịch bò [6] và từ các tế bào trứng của một loài ếch châu Phi có hoạt tính chống ung thư và được gọi là *onconase* [2]. Để đạt được mục đích này, chúng tôi chọn phương pháp sắc kí sàng lọc phân tử trên cột (1,6 x 93 cm) với chất mang là Sephadex G-75, vì phương pháp này cho phép xác định phân tử lượng (Mr) của enzym trong chế phẩm chưa được làm sạch và các enzym thuộc nhóm RNase thường có kích thước phân tử bé (nhỏ hơn 100 kDa) và chất mang này cho phép xác định phân tử lượng của các protein trong khoảng từ 3-5 đến 70-80 kDa. Trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng 2 protein là albumin huyết thanh bò (BSA, 67 kDa) và trypsin (24 kDa) để so sánh với kích thước của RNase trong nọc rắn hổ mang Việt Nam. Sắc kí tiến hành trong 20 mM đệm phosphat pH 7,3, chứa 25 mM NaCl, mỗi tiểu phân thu 3 ml, vận tốc chảy qua cột khoảng 1 ml/phút.

Các kết quả các thí nghiệm sắc kí trên cột với Sephadex G-75 được trình bày trên hình 3 và tóm tắt trong bảng 3.

BSA ra khỏi cột dưới dạng một đỉnh sắc gọn và đối xứng, chế phẩm trypsin cho 2 đỉnh protein: đỉnh chính ra muộn, là monomer trypsin (24 kDa) và đỉnh phụ ra sớm hơn đỉnh chính, nhưng muộn hơn đỉnh BSA, là dimer trypsin (48 kDa). Kết quả xác định RNase cho thấy hoạt tính enzym này của nọc rắn tập trung trong các tiểu phân 42 ÷ 48, với thể tích ra khỏi cột là 135 ml.



Hình 3. Sắc kí đồ trên G-75 của ribonuclease trong nọc rắn thô (25 mg nọc rắn đông khô hoà trong 0,5 ml đệm, --o-- hoạt tính RNase, A), albumin huyết thanh bò (16 mg, --□--) và trypsin (16 mg).

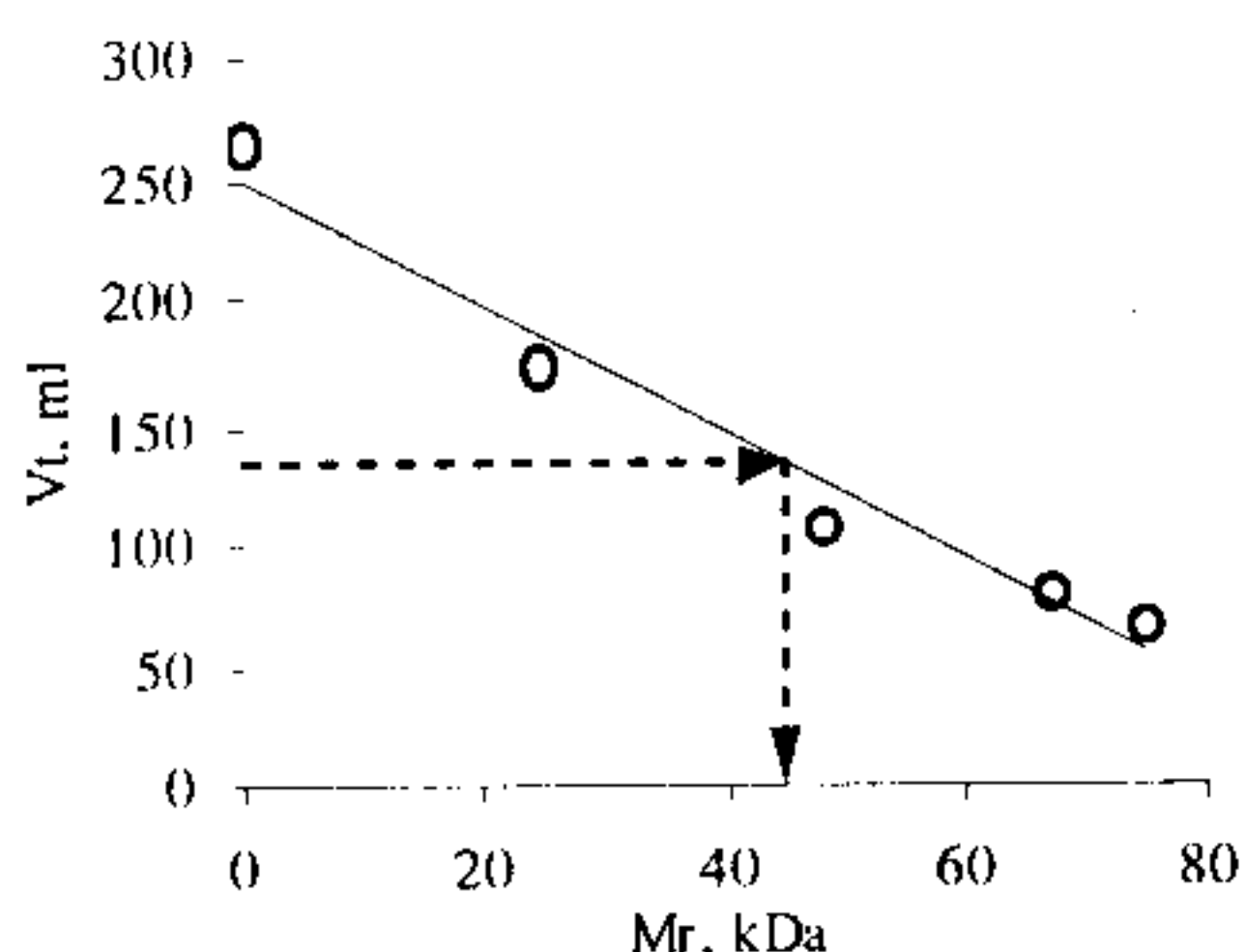
Bảng 3.- Kết quả sắc kí sàng lọc phân tử chế phẩm nọc rắn Eo trên cột với Sephadex G-75

Protein	Phân tử lượng, Mr	Thể tích ra (Vt)
- BSA	67000	80 ml
- Trypsin		
+ Đỉnh chính (monomer)	24000	174 ml
+ Đỉnh phụ (dimer)	48000	106 ml
- Dextran xanh (Vo)	2000000	65 ml
- Bromphenol xanh ($V_{t_{max}}$)	-	266 ml
- Nọc rắn (chế phẩm Eo)		
+ Đỉnh RNase	> 40000	135 ml

Kết quả tính toán (hình 4) cho thấy RNase trong nọc rắn hổ mang đen có Mr khá lớn (so với các enzym trong siêu họ RNase A): khoảng trên 40 kDa. Theo kết quả của các tác giả Ấn Độ, RNase

trong nọc rắn hổ mang có $14 < Mr < 20$ kDa [4].

Từ các kết quả thu được trên đây, có thể đưa ra kết luận sau:



Hình 4 - Đồ thị chuẩn xác định khối lượng phân tử của RNase trong nọc rắn hổ mang (xây dựng theo số liệu của bảng 3)

IV. Kết luận

RNase từ nọc rắn hổ mang đen Việt Nam là một tip RNase mới với pH tối ưu rất acid (2,63 trong đệm hỗn hợp và 3,1 trong đệm Gly). Đây là đặc điểm nổi bật nhất phân biệt RNase trong nọc rắn hổ mang đen ở nước ta với tất cả các RNase đã được biết cho đến nay. Enzym này khác với RNase từ nọc rắn hổ mang vùng Trung Á của Liên Xô cũ và Ấn Độ cả về kích thước phân tử, độ bền nhiệt và tính chất ảnh hưởng của ion Mg^{2+} lên hoạt tính.

Tuy nhiên nó lại giống với các enzym thuộc siêu họ RNase A về tính bền nhiệt.

Những khác biệt về cấu trúc và tính chất của RNase từ nọc rắn hổ mang đen Việt Nam ảnh hưởng như thế nào đến các tính chất sinh học của enzym này, sẽ là mối quan tâm chính của chúng tôi trong các nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra RNase mới với hoạt tính cytotoxin và chống ung thư từ nguồn động vật nhiệt đới phong phú của nước ta.

Tài liệu tham khảo

- 1). Babkina G. I., Vasilenko S. K. *Biokhimiya*, 1964, v. 29 (2), p. 268-272; 2). Bretscher L.E., Abel R.L., Raines R.T, 2000. *J. Biol. Chem.*, Vol. 275, Issue 14 p. 9893 - 9896; 3). Lehninger A. L. *Biochemistry* (2nd edition). Worth Publishers, Inc., 1977, p. 323-324; 4). Mahalakshmi Y. V., Jagannadham M. V., Pandit M. W. *Life*, 2000, v. 49, p. 309-316; 5). Mahalakshmi Y. V., Pandit M. W. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, v. 445, p. 747748; 6). Piccoli R., De Lorenzo C., Melck D., D'Alessio G., 1993: Relationship between the 2-mode quaternary structure of bovine seminal ribonuclease and its allosteric/ and antitumor actions. In Abstr. 3 rd Int. Meet. Ribonucleases: Chem. Biol. Biotechnol.. GP sri Publiche Relazioni. Napels, Italy, p. 11; 7). Nguyễn Văn Thiết, Lê Thị Lan Oanh, 1998: Phương pháp tách chiết và tinh chế ADN từ lá vại và lá nhãn. Kỷ yếu Viện CNSH - Annual Report 1997. Nxb KH&KT, Hà Nội 1998, tr. 259 - 266; 8). Nguyễn Văn Thiết, Trần Thị Thơm, Trần Đình Toại, 1995. T/c Sinh học, t. 17, số 3, tr. 59 - 42; 9). Vasilenko S. K., Babkina G. I. *Biokhimiya*, 1965, v. 30 (4), p. 705-712; 10). Vlassov A.V., 1998: Human Ribonucleases. *Biokhimiya*, v. 63. (12), p. 1587 - 1599.

CEIBA PENTANDRA – A MEDICINAL PLANT WITH POTENTIAL USE AS AN ANTITUMOR REMEDY

Nguyen Hai Nam,¹ Nguyen Tien Vung² and Tran Cong Khanh³

¹Department of Biomedical Sciences, College of Pharmacy, University of Rhode Island, RI, 02881, USA; ²National Institute of Drug Quality Control, 48-Hai Ba Trung, Hanoi, Vietnam;

³Hanoi College of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong Street, Hanoi, Vietnam

(Received Oct. 22, 2000)

Summary

Ceiba pentandra belonging to *Bombacaceae* grows very commonly in Vietnam. The buthanol fraction made from its methanol extract was found to exert a strong antiangiogenic activity at 100 µg/mL, a non-cytotoxic concentration. It also exhibited a significant antibacterial and antioxidant activity. The results suggest the potential use of *Ceiba pentandra* for treatment of cancer and angiogenesis-related diseases.

Key words: *Ceiba pentandra*, Natural product, Antiangiogenic, Antibacterial, Antioxidant.

Introduction

Ceiba pentandra (L.) Gaertn. (*Bombacaceae*) grows very commonly in Vietnam. According to Menaut (1) the bark is considered to be diuretic, astringent, antifebrile and used in Cambodia for gonorrhoea and diarrhoea. The young stems are prescribed in fever, nausea and drunkenness. The root is also considered to be a febrifuge.

As well established, angiogenesis – the formation of new blood vessels from endothelial cells is a prerequisite for solid tumors to grow beyond the size of 1 mm³ (2) and therefore, inhibition of angiogenesis has been considered one of potential approaches for cancer therapies nowadays (3).

In continuity of our search for potential anticancer agents from medicinal plants we found that the methanol extract of *C. pentandra* exhibited a strong antiangiogenic activity (4). This report describes further results from the investigation of biological activities of *C. pentandra* with potential use as an anticancer remedy.

Botanical Characteristics

A tall, deciduous, 12-15 m high tree. Trunk cylindrical, bark green, prickly or smooth. Branches spreading horizontally. Leaflets 5-8, lanceolate, 6-12 cm long, cuspidate. Flowers white, numerous, about 3 cm long, appearing with the young leaves. Capsule oblong, fusiform, 12-15 cm long. Seed numerous, black, embedded in white silky hairs.

Distributed in Vietnam, especially in the South, Cambodia and Laos. Also found in Southern China, the Philippines, Malaysia, India and Senegal.

Biological Activity

Experimentals

Reagents and instruments: Unless otherwise stated, chemicals and solvents were reagent grade and obtained from commercial sources. Solvents were distilled before use. RPMI 1640 medium, Dulbecco's modified Eagles medium (DMEM), medium 199 (M-199), fetal bovine serum (FBS), penicilline, streptomycine, dimethylsulfoxide (DMSO), sulforhodamine B (SRB), phosphate buffer saline (PBS), trysine-EDTA solution (100 mL), tris (hydroxymethyl) aminomethane (tris-base), albumin and other reagents used for cell culture and assays were purchased from GIBCO Co., Ltd. (Grand Island, NY). Optical density was read using ELISA reader (Spectrals Max 250, USA). Photos of the *in vitro* angiogenesis assay were taken using a camera incorporated with a phase contrast microscope (Olympus) and total length was measured using an Adobe Photoshop TM software.

Plant material: *Ceiba pentandra* (stem bark) was collected in October 1998 in Hanoi and identified by Professor Tran Cong Khanh, Hanoi College of Pharmacy, Vietnam. A voucher specimen (CP-98-30) has been deposited at the College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon, Korea.

Preparation of the extract: 100 g dried plant materials were extracted with methanol (3 times x 200 mL) under reflux. The combined methanol extracts were concentrated in vacuo to give a residue (4.5 g). This residue was suspended in water and partitioned with ethyl acetate (EA, 100 ml x 3 times) and then with butanol (100 ml x 3 times). The organic extracts were concentrated to give EA (0.9 g; 0.9% from a crude drug) and BuOH fractions (1.5 g, 1.5 % from a crude drug), respectively, hereafter referred to as CP-EA, CP-BU. The water layer was concentrated to give water fraction (CP-WA, 2.0 g). For assay, fractions were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) or ethanol at the initial concentration of 100 mg/mL and serially diluted into concentrations of 30, 10, 3, and 1mg/mL. The insoluble was filtered off. The filtrates were stored at 4 °C and used as stock solution.

Cells and cultures: Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were purchased from Sanko Junyaku Co. Ltd., Tokyo, Japan. Cells were grown in M-199 supplemented with L-glutamine (0.2 mM/mL), penicilline/streptomycine (50 units/mL), amphotericine (5 units/mL), heparine (5 units/mL), 200 µg/mL endothelial cell growth supplement (ECGS, Collaborative Research, Inc., Bedford, MA) and 20 % bovine calf serum (BCS, Hyclone, Logan, UT. Lot # 21511098) on 150-mm tissue culture dishes (Nunc, Intermed, Denmark). All cells were preserved frozen between passages 3 and 4. Biological experiments were carried out with cells between passages 5-14. B16F10 murine melanoma cells were obtained from a Cancer cell Bank at Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB) and cultured in DMEM supplemented with 10 % FBS and L-glutamine (0.2

mM/mL).

In vitro cytotoxicity assay: Cytotoxicity assay was carried out using SRB's method (5) with slight modification as described previously (6).

In vitro angiogenesis assay: *In vitro* angiogenesis assay was performed as reported in literature (7). The total length of tube structures was measured using Adobe Photoshop TM softwave. The total capillary length per well was given as the average value of the data from four fields. The inhibition percentage was calculated following an equation:

$$\text{Inhibition percentage} = \frac{\text{LC} - \text{LS}}{\text{LC}} \times 100$$

Where LC is the average total length from three control (vehicle-treated) wells; LS is the average total length from three sample-treated wells.

Antimicrobial assay: The effect of CP-BU on the growth of six microbial strains was determined by the agar dilution method as described previously (8). The MIC was defined as the lowest concentration of the sample which inhibits visible growth of microbial cells.

Radical scavenging assay: A radical scavenging effect was measured using DPPH's method as reported by Blois previously (9).

Results and Discussions

Cytotoxicity of fractions was evaluated *in vitro* against B16F10 murine melanoma using SRB's method at five doses: 100, 30, 10, 3, and 1 µg/mL. Cell growth percentages (%), expressed as the mean ± SE, are shown in Table 1.

Table 1. Cell growth percentages of B16-F10 treated with fractions from *C. pentandra*.

Concentration	¹ Cell Growth Percentage			
	CP-EA	CP-BU	CP-WA	² ADR
100	-0.1 ± 0.2	96.0 ± 1.8	53.7 ± 5.8	-14.0 ± 1.9
30	66.6 ± 2.2	100.7 ± 1.0	86.0 ± 2.5	-12.4 ± 0.9
10	99.8 ± 1.3	102.3 ± 1.8	95.8 ± 2.8	4.7 ± 1.9
3	100.8 ± 2.4	102.4 ± 0.5	96.6 ± 2.9	25.7 ± 2.7
1	102.0 ± 0.4	104.1 ± 1.1	99.1 ± 1.7	58.8 ± 3.5
³ GI ₅₀	49.42	> 100	> 100	0.04

¹Results are averages of a triplicate experiment. ²ADR, adriamycine, a known anticancer agent used as a positive control. ³ The concentration (µg/mL) that causes 50% reduction in cell growth.

CP-BU was found to be non-cytotoxic toward both the tested range. Meanwhile, CP-EA and CP-WA B16F10 cells up to 100 µg/mL, the highest dose in could be considered non-cytotoxic at a lower dose

of 10 µg/mL with cell growth percentages of 99.8 and 95.8 %, respectively. Therefore, to examine whether these fractions have a selective antiangiogenic activity, *in vitro* angiogenesis assay

was conducted at these non-cytotoxic concentrations.

The result of this assay was tabulated in table 2.

Table 2. *In vitro* Antiangiogenic Activity of Fractions

Concentration	¹ Antiangiogenic Activity of Fractions		
	CP-EA	CP-BU	CP-WA
100	² NT	97.89 ± 5.87	NT
30	NT	75.68 ± 3.59	NT
10	ND	49.24 ± 1.37	ND
⁴ GI ₅₀	-	11.29	-

expressed as inhibition percentage (%), calculated as described in the text. ² NT, not tested. ³ ND not detected. ⁴ A concentration (µg/mL) that inhibits the tube formation by 50%.

Among three fractions, only CP-BU showed a strong inhibitory activity on the tube formation induced by HUVEC at 100 µg/mL (Figure 1). When further tested at two lower doses; CP-BU inhibited the formation of capillary network in a

dose-dependent manner with GI₅₀ value of 11.29 µg/mL which is considered very strong for plant crude extracts. This result suggests the possibility that CP-BU may be potential for the treatment of cancers and angiogenesis-related diseases.

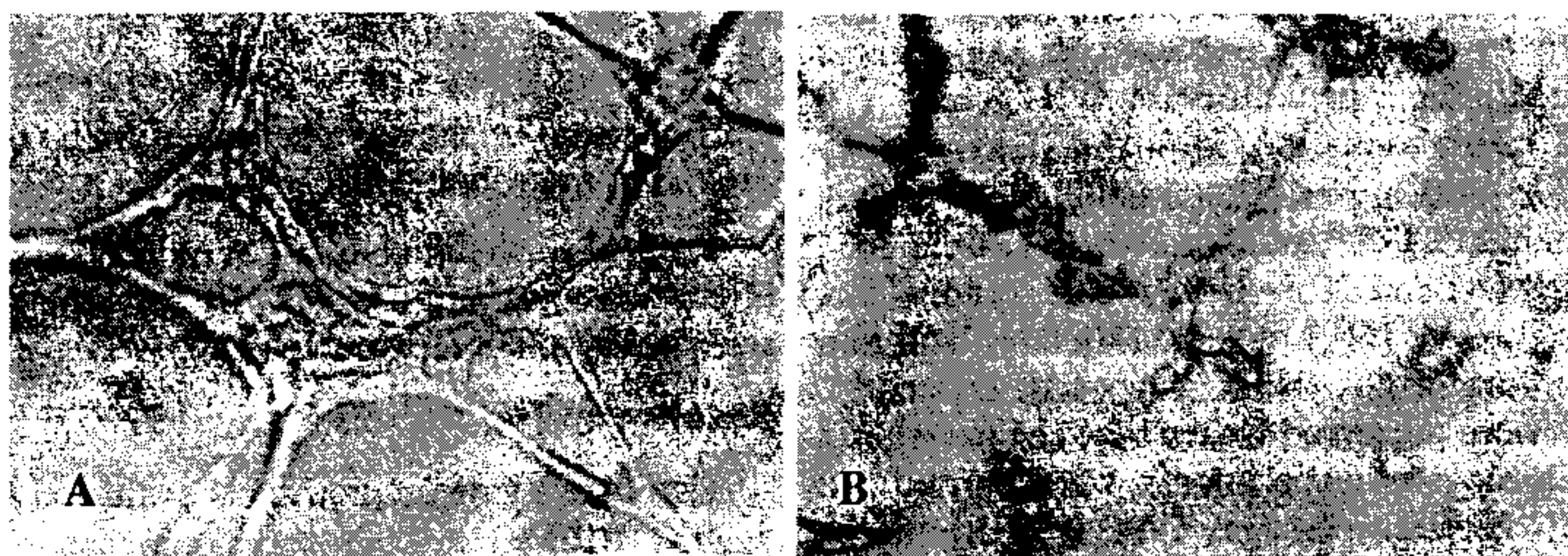


Figure 1. Antiangiogenic activity of CP-BU at a non-cytotoxic concentration (100 µg/mL). *In vitro* antiangiogenic activity of CP-BU. HUVEC cells, when layered on matrigel, formed a vessel-like network (A). The formation of this vessel-like network was almost inhibited (B) in the presence of CP-BU at 100 µg/ml.

It is common for many cancer patients that the immune system is often impaired leading to complication of multiple infections. Thus, antimicrobial properties should be one additional advantage of antitumor agents. From this view, we have evaluated CP-BU for antimicrobial activity. A panel of six microbial strains including *E. coli*

(EC), *S. typhimurium* ATCC 19585 (ST), *S. aureus* (SA), *C. albicans* B311 (CB), *H. pylori* ATCC 43504 (HP), *A. fumigatus* W73355 (AF) was employed. The antimicrobial activity of CP-BU at 10 mg/ mL (the concentration often used to screen extracts for antimicrobial activity) was presented in table 3.

Table 3. Antimicrobial activity of CP-BU at 10 mg/ mL

M. strain	EC	ST	SA	CB	HP	AF
Activity*	+++	+++	+	+	-	+++
MIC**	2.1	1.5	>10	>10	>10	1.7

* Activities were denoted as follows: +++, strong (microbial cell growth was inhibited by more than 70 %); ++, moderate (70 ~ 40 %), +, slight (40 ~ 10 %); -, little or no activity (10 ~ 0 %). ** The MIC was defined as the lowest concentration (mg/ mL) of CP-BU that inhibits visible growth of microbial cells.

It was found that CP-BU exerted a strong inhibitory activity against *E. coli*, *S. typhimurium* ATCC 19585 and *A. fumigatus* W73355, but showed no or little activity on *S. aureus* (SA), *C. albicans* B311 and *H. pylori* ATCC 43504.

Next, reactive oxygen species (ROS) in the forms of superoxide, hydrogen peroxide and hydroxyl radical are by-products of normal metabolism and attack biological molecules, leading to destabilization and disintegration of cell membranes, many-age-related diseases, susceptibility to cancer (10). Therefore, antioxidants are drawing interests as cancer preventive agents. This encouraged us to further investigate a possible antioxidant activity of CP-BU. And, interestingly, CP-BU was found to show

a significant radical scavenging effect when evaluated in DPPH radical scavenging assay with EC50 value of 5.31 μ g/mL, stronger than that (9.5 μ g/mL) of BHA, which was used as a positive control.

Conclusions

This investigation clearly showed that CP-BU, the buthanol fraction made from the methanol extract of *Ceiba pentandra* possesses a strong antiangiogenic activity *in vitro*. This activity, coupled with its potent antimicrobial activity against several microbial strains and strong radical scavenging effects suggests the potential use of the plant for the treatment and prevention of cancer. Further in-depth studies on biological activity and phytochemistry of CP-BU are being carried out.

References

- 1). Menaut, B. (1929), *Matiere Medicale Cambodgienne. Les drogues usuelles. Bull. Econ. Indochine*; 2). Folkman, J. (1990) *J. Natl. Cancer Inst.* 82, 4-6; 3). Gastl, G., Hermann, T., Steurer, M., Zmijia, J., Gunsilius, E., Unger, C., Kraft, A. (1997) *Oncology* 54, 177-184; 4). Nam N. H., Kim H. M., and Ahn B. Z. (2000) *Phytotherapy*. In preparation; 5). Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monk, A., MacMahon, J., Vistica, D., Warren, J., Bokesch, H., Kenny, S., Boyd, M. R. (1990) *J. Natl. Cancer Inst.* 82, 1107-1112; 6). Nam N. H., Huong H. T. T., Kim H. M., and Ahn B. Z. (2000) *Kor. J. Pharmacognosy* 31, 77-81; 7). Nam N. H., Lee C. W., Kim H. M., and Ahn B. Z. (2000) *Planta Med.* In press; 8). Park J. B., Lee C. K., Park H. J. (1997) *Arch. Pharm. Res.* 20, 275-279; 9). Blois M. S. (1958) *Nature* 181, 1199-1200; 10). Yen G. C., Chen Y. Y. (1995) *J. Agri. Food Chem.* 43, 27-32.

(Tiếp theo trang 192)

Trong tài liệu này, các tác giả đã phân lập được 2 glucid cùng với một số glucid khác đã biết từ dịch chiết methanol của quả cây giần sàng (*Cnidium monnieri*). Hai glucid được nhận dạng theo thứ tự là glycerol-2-O- α -L-fucopyranosid và D-quinovitol (6-deoxy-D-glucitol).

Theo các tài liệu trước đây, cây giần sàng chứa 1 hemiterpenoid là (2S, 3R)-2-methylbutan-1, 2, 3, 4-tetrol, 7 polyol monoterpenoid là các (3,7-dimethyloct-3(10)-en-1,2,6,7-tetrol, các 3,7-dimethyloctan-1,2,6,7-tetrol), các 3,7-dimethyloct-3(10)-en-1,2,6,7-8-pentol và trans-p-menthan-1 β , 2, 8,9-tetrol, 5 monoterpenoid glucosid và 5 glucosid có nhân.

MỘT FLAVONOL MỚI TỪ CÂY VỐI

A.K.Timbola và cs.

Fitoterapia, 2002, 73(2), 174-175

Theo y học cổ truyền, quả vối rừng (*Eugenia jambolana*) được dùng làm thuốc sần da, giúp tiêu hoá, lợi tiểu, trị tiểu đường. Lá chứa triterpenoid và tinh dầu; quả chứa anthocyan và tinh dầu; hoa chứa acid oleanolic.

Trong công trình này, các tác giả đã phân lập được một flavonol mới và nhận dạng là myricetin 3-O-(4"-acetyl)- α -L-rhamnopyranosid.

N.V.

CÁT CÁNH

Hỏi: Xin cho biết giá trị chữa bệnh của cây cát cánh.

Đinh Văn Thăng (Quảng Nam- Đà Nẵng)



Đáp: Cát cánh (*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A.DC., *P. glaucum* (Thunb.) Nak.) thuộc họ hoa chuông (Campanulaceae), tên khác là bạch dược, kết cánh, cánh thảo, tên nước ngoài là balloon flower, bell-flower, là một cây thảo, sống lâu năm. Rễ củ đôi khi phân nhánh, vỏ ngoài màu vàng nhạt. Thân đứng, nhẵn, cao 50- 80cm. Lá mọc đối hoặc mọc vòng 3- 4 cái, gần như không cuống, hình trứng, dài 3- 6cm, rộng 1- 2,5cm, gốc tròn, đầu nhọn, mép khía răng, lá phía gần ngọn nhỏ, có khi mọc so le. Hoa hình chuông mọc riêng lẻ hoặc thành bông thưa ở kẽ lá gần ngọn; đài hoa chia 5 thùy, hình chuông, màu lục; tràng hợp hình phễu, 5 cánh màu tím hoặc trắng.

Quả nang, hình trứng bao bọc trong đài tồn tại, chứa nhiều hạt nhỏ, hình bầu dục, màu đen nâu.

Mùa hoa: tháng 5- 7; mùa quả: tháng 8-9.

Cây mọc hoang ở một số vùng ôn đới ẩm thuộc Liên Xô cũ, Trung Quốc, Triều Tiên, được nhập trồng vào nước ta khoảng hơn 20 năm trước đây. Cây ưa khí hậu ẩm mát, bước đầu được trồng thử nghiệm ở Sapa, Bắc Hà (Lào Cai), rồi Tam Đảo (Vĩnh Phúc), cuối cùng là một số nơi thuộc đồng bằng Bắc Bộ. Ở đây, cây vẫn sinh trưởng và phát triển tốt.

Trồng cát cánh bằng hạt vào tháng 2-3 ở miền núi cao lạnh và tháng 9-10 ở trung du và đồng bằng. Trồng được 2 năm thì thu hoạch (ở vùng núi) còn ở đồng bằng và trung du, cây trồng một năm đã cho dược liệu.

Bộ phận dùng làm thuốc của cát cánh là rễ, thu hoạch vào mùa thu đông, lúc cây tàn lụi, cắt bỏ thân, rễ con, rửa sạch, cạo bỏ lớp vỏ ngoài, phơi hoặc sấy khô. Dược liệu có hình trụ, trên to dưới nhỏ, dài 5- 13cm, đường kính 1- 2cm, mặt ngoài màu trắng ngà, có những nếp nhăn dọc, những vết sẹo của rễ con, mặt cắt hơi nháp, có vân vòng màu nâu nhạt. Loại có mặt ngoài màu vàng xám, mặt cắt xốp rỗng không nên dùng. Thành phần hoá học của rễ cát cánh là 3 acid platycogenic A, B, C, platycodigenin và acid polygalacic. Khi dùng, cắt phiến mỏng, không phải chế biến. Để lâu, rễ cát cánh dễ bị mốc, mọc, có thể xông diêm sinh để bảo quản.

Trong y học cổ truyền, cát cánh có vị ngọt, sau đắng, hơi cay, tính bình, có tác dụng tiêu đờm, thông khí phế, chủ trị các chứng ho, viêm họng, khản tiếng, hen suyễn, tức ngực, khó thở, kiết lỵ, nhọt ở phổi. Hải Thượng Lãn Ông (Bách gia trân tàng) đã dùng cát cánh phối hợp với bạc hà, mộc thông, bướm bạc, kha tử (mỗi thứ 6 g) thái nhỏ, sắc với 200ml nước còn 50ml, uống trong ngày chữa ho, mất tiếng. Hoặc cát cánh, trần bì, bán hạ chế, mạch môn, ngư tất, ngũ vị tử, tiên hồ, ma hoàng (mỗi vị 6g) sắc uống chữa ho có đờm.

Để chữa viêm họng, viêm amidan, lấy cát cánh (2g), cam thảo (2g) trộn lẫn, nhai ngậm, nuốt nước dần dần. Làm vài lần trong ngày. Dùng ngoài, cát cánh và hồi hương (lượng bằng nhau) phơi khô, tán nhỏ, rây bột mịn, chấm vào chỗ đau chữa cam răng, miệng hôi.

Bệnh viện Đồng Muối (Hải Hậu - Nam Định) lại có bài thuốc chữa ho, ho gà gồm cát cánh, vỏ rễ dâu, củ sả, bách bộ, ô mai, trần bì, hạnh nhân, kinh giới, cam thảo, bạc hà (mỗi thứ 50g) sắc với nước cho thật đặc, thêm đường, nấu thành sirô. Ngày uống hai lần, mỗi lần 1-5 thìa con.

Theo tài liệu nước ngoài, cát cánh cũng được dùng làm thuốc chữa ho, tiêu đờm, viêm phế quản ở Ấn Độ, Nhật Bản, Triều Tiên.

Đỗ Huy Bích

CÁC DẪN CHẤT SESQUITERPEN MỚI THUỘC NHÓM ALLOAROMADENDRAN, CADINEN VÀ CYCLOCAMPHAN VÀ CÁC BIBENZYL TỪ CÂY THẠCH HỘC

Qinghua Ye và cs.

Planta Medica 2002, 68 (8), 223- 229

Thạch hộc (*Dendrobium nobile*) là vị thuốc y học cổ truyền được dùng làm thuốc bổ. Dịch chiết thạch hộc có tác dụng kích thích miễn dịch và sesquiterpen glycosid có tác dụng điều hoà miễn dịch.

Trong công trình này, các tác giả đã phân lập được 5 sesquiterpen glycosid mới là dendrosid B, dendrosid C, dendronobilosid C, dendronobilosid D, dendronobilosid E, một sesquiterpen mới là dendroban A, 2 chất bibenzyl mới là 4,5- dihydroxy- 3,3'- dimethoxybibenzyl và 4- hydroxy- 3,3', 5-trimethoxybibenzyl và 7 chất đã biết là dendrosid A, dendronobilosid A, dendronobilosid B, dendrobin, 10 β , 12, 14- trihydroxyalloaromadendran, 4,5- dihydroxy- 3,7- dimethoxydihydrophenanthren và acid protocatechic.

CÁC HOẠT CHẤT TỪ HẠT CÂY SÂU ĐÀU RỪNG

Bao - Ning Su và cs.

Planta Medica 2002, 68 (8), 730- 733

Hạt sâu đầu rừng (*Brucea javanica*) được dùng trong y học cổ truyền làm thuốc chữa ỉa, sốt rét, trị mụn cơm và chai chân, chai tay. Đã có 50 hợp chất thuộc nhóm quassinoid được phân lập từ hạt sâu đầu rừng.

Trong công trình này, các tác giả đã phân lập được từ hạt sâu đầu rừng một chất mới thuộc nhóm quassinoid là yadanzolid S và 9 chất đã biết là flazin, brucein D, yadanzolid B, bruceosid A, yadanzolid S, yadanzigan, glycerol 1,3-bisoleat, acid azelaic, acid (\pm)-8-hydroxyhexadecanoic và vanillin.

Các chất phân lập đều được khảo sát về sự biệt hoá tế bào tiền ung thư bạch cầu HL- 60 ở người và ức chế các cyclooxygenase- 1 và -2 và các tổn thương ở cơ quan tuyến vú chuột nhắt do 7, 12-dimethylbenzaanthracen.

Chất brucein D có hoạt tính có ý nghĩa (>40%) trong thử nghiệm biệt hoá tế bào HL- 60. Chất glycerol 1,3- bisoleat (IC₅₀ 20,6 μ M) ức chế có ý nghĩa (IC₅₀< 50 μ M) đối với cyclooxygenase - 2. Tất cả các chất phân lập được đều không có tác dụng với cyclooxygenase-1 (IC₅₀>50 μ M).

ỨC CHẾ SỰ OXY HOÁ LIPOPROTEIN CÓ TỶ TRỌNG THẤP BẰNG CÁC CHẤT THUỘC NHÓM TETRAHYDROFURAN TỪ LIÊN KIỀU VÀ HẬU PHÁC

Chen Chien- Chik và cs.

Planta Medica 1999, 65(8), 709- 711 (CA 132: 54.654)

Các tác giả đã xác định các chất chống oxy hoá lấy từ quả cây liên kiều (*Forsythia suspensa*) và dạ hợp (*Magnolia coco*). Trong số các chất thuộc nhóm lignan tetrahydrofuran có hoạt tính sinh học, các chất pinoselinol, philygenin và syringaresinol có tác dụng mạnh hơn probucol, các chất sesamin và fargesin lại tác dụng yếu hơn do không có các hợp chất phenol.

BACOPASID I VÀ BACOPASID II- 2 PSEUDOJUBOGENIN GLYCOSID TỪ CÂY SAM TRẮNG

Chakravarty A.k. và cs.
Phytochemistry 2001, 58 (4), 553- 556

Sam trắng (*Bacopa monnieri*) là cây thuốc y học cổ truyền Ấn Độ được dùng làm thuốc bổ thần kinh. Các nghiên cứu dược lý đã chứng minh hoạt tính là do saponin.

Trong công trình này, các tác giả đã phân lập từ phân đoạn glycosid của dịch chiết methanol 2 saponin và gọi là các bacopasid I và II. Các chất này được nhận dạng là 3-O- α - L- arabinofuranosyl- (1 \rightarrow 2)- (6- O- sulphonyl- β -D- glycopyranosyl- (1 \rightarrow 3)- α - L- arabinopyranosyl pseudojuubogenin và 3- O- α - L- arabinofuranosyl- (1 \rightarrow 2)- β - glucopyranosyl- (1 \rightarrow 3)- β - D- glucopyranosyl pseudojубogenin bằng phổ 2D- NMR và các phổ khác.

CÁC GERMACREN TỪ RỄ TƯƠI CÂY MỘC HƯƠNG

De Kraker J. W. và cs.
Phytochemistry 2001, 58 (3), 481- 487
(Medicinal and aromatic plants abstracts) 2002, 24 (2), 243

Các tác giả đã phân lập được từ rễ tươi của cây mộc hương (*Saussurea lappa*) 4 chất thuộc nhóm germacren, các hoạt chất đã được chứng minh là các chất trung gian trong sinh tổng hợp sesquiterpen lacton. Cấu trúc của chất (+)- germacren A, germa^{cr}-1 (10), 4, 11 (13)- trien- 12- al, germacra- 1 (10), 4, 11 (13)- trien- 12- al và acid germacra - 1(10), 4, 11 (13)- trien- 12- oic được nhận dạng bằng các phân tích quang phổ và chuyển hoá hoá học. Việc phân huỷ nhiệt các hợp chất này cho các chất (-)- β -elemen, (-)- elema- 1, 3, 11 (13- trien- 12- ol), (-)- elema- 1, 3, 11(13)- trien- 12- al và acid elema- 1, 3, 11(13)- trien- 12- oic và một ít các diastereomer của chúng. Việc đóng vòng bằng acid của các germacren lần lượt cho selinen, costol, costal và acid costic.

FLAVONOL GLYCOSID TỪ THÂN CÂY HỒ LÔ BA

Han Y, và cs.
Phytochemistry 2001, 58(4), 577- 580.

Hồ lô ba (*Trigonella foenum- graecum*) là cây thuốc và cây thực phẩm được trồng phổ biến ở châu Á, châu Phi và các nước Địa Trung Hải. Từ trước đến nay, nhiều công trình đề cập đến thành phần hoá học của hạt, còn thành phần các bộ phận khác của cây thì có ít công trình đề cập đến.

Các tác giả đã phân lập được dịch chiết thân cây hồ lô ba 2 chất kaempferol glycosid là kaempferol- 3- O- β - D- glucosyl (1 \rightarrow 2)- β - D- galactosid 7- O- β - D- glucosid và kaempferol- 3- O- β - D- glucosyl (1 \rightarrow 2)- (6"- O- acetyl)- β - D- galactosid 7- O- β - D- glucosid) và quercetin glycosid (quercetin- 3- O- β - D- glucosyl(1 \rightarrow 2)- β - D- galactosid 7- O- β - D- glucosid) cùng với chất kaempferol glycosid đã biết là lilyn (kaempferol- 3- O- β - D- glucosyl(1 \rightarrow 2)- β - D- galactosid).

Cấu trúc của các chất nói trên được nhận dạng bằng các phân tích hoá học và quang phổ.

GLUCID CỦA QUẢ CÂY GIẤN SÀNG

Kitajima J. và cs.
Phytochemistry 2001, 58 (4), 641-644

(Xem tiếp trang 189)