

KHẢO SÁT ĐẶC ĐIỂM VI HỌC VÀ SƠ BỘ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA LÁ, THÂN VÀ RỄ CÂY CHÂN CHIM KHÔNG CUỐNG QUẢ (*SCHEFFLERA SP3*)

Võ Duy Huấn, Trần Công Luận – Trung tâm Sâm và Dược liệu TPHCM

Dương Hồng Tố Quyên – Trường Đại học Y Dược TPHCM

(Nhận bài ngày 10 tháng 9 năm 2003)

Summary

Preliminary Results of the Study on Botany and Chemical Composition of *Schefflera sp3*

During the screening of the genus Schefflera, an unidentified Schefflera species was found. This paper presents the results of the studies on botanical and anatomical characteristics of this plant. Preliminary studies on chemical composition of the leaf, stem and trunk were also done. Qualitative analysis of the chemical composition revealed that the leaf, stem and trunk contain saponins, phytosterols, reduced sugars, tannin, coumarins, organic acids and uronic compounds. The quantitative determination of fatty acids and trace elements were also made.

Key words: Schefflera sp3, Chemical Composition, Leaf, Stem and Trunk.

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, trên thế giới, do phát hiện ra nhiều tác dụng không mong muốn của những loại thuốc được sản xuất bằng con đường tổng hợp hóa học, nên người ta đã đặc biệt chú ý đến các cây thuốc và các loại thuốc có nguồn gốc thiên nhiên. Nhu cầu sử dụng dược liệu của thế giới ngày càng tăng. Ở nước ta, nhu cầu này rất lớn khoảng 50 ngàn tấn/năm, trong đó, thuốc y học cổ truyền chiếm 27% [1]. Các dược liệu có tác dụng bổ, tăng lực được chú ý hơn cả do đời sống ngày càng được nâng cao và nhu cầu về bảo vệ sức khỏe con người ngày càng được quan tâm. Nhân sâm, vị thuốc bổ đứng đầu còn gọi là thuốc trường sinh, đã được con người tín nhiệm từ lâu đời. Tuy nhiên, nhân sâm hiếm, khó trồng, thời gian thu hoạch lâu, giá thành cao, nên trong khoảng 20 năm gần đây, các nhà khoa học đã có xu hướng tìm kiếm những loài khác cùng họ Nhân sâm (Araliaceae) để thay thế.

Gần đây, Trung tâm Sâm và Dược liệu ở thành phố Hồ Chí Minh đã thực hiện chương trình nghiên cứu sàng lọc các cây thuốc thuộc họ

Nhân sâm có tác dụng chống stress, tăng lực với khoảng 30 loài thuộc 10 chi, trong đó chi *Schefflera* có nhiều loài nhất [2]. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu phân tích xác định các đặc điểm về thực vật và hoá học của cây chân chim không cuống quả (*Schefflera sp3*), một trong những loài *Schefflera* chưa được định danh trong chương trình nghiên cứu sàng lọc nói trên.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu:

Các bộ phận lá, thân và rễ của *Schefflera sp3* được thu hái ở vùng Suối Tre, thôn Pró, xã Kado, huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng, đem phơi khô và xay thành bột.

Nghiên cứu thực vật học: [3,4]

- Vi phẫu.

- Soi bột.

Nghiên cứu thành phần hoá học:

- Xác định sơ bộ hoá thực vật bằng phương pháp sàng lọc tổng quát dựa vào phản ứng của các

nhóm hợp chất [5,6].

- Xác định thành phần acid béo bằng phương pháp sắc ký khí đo trên máy HP 6890-Plus.

- Xác định các nguyên tố đa vi lượng bằng phương pháp định lượng gần đúng trên máy quang phổ cách tử DOC-8.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1 Về thực vật học

3.1.1 Mô tả:

Cây gỗ nhỏ, mọc dựa. Cành có nhiều nốt sần màu trắng. Lá kép chân vịt gồm 7-9 lá chét, hình bầu dục, dài 5-11 cm, rộng 1,5-4 cm, góc hình nêm, đầu có mũi nhọn và hơi cong, mép nguyên, mặt trên màu lục bóng, mặt dưới nhạt, có 5-6 cặp gân, gân chính nổi rõ ở mặt dưới; cuống lá kép dài 10-15 cm, cuống lá chét 1,5-2,5 cm. Cụm hoa mọc ở ngọn cành dài 2,5-5 cm, phân 4-6 nhánh ngắn. Quả không cuống thường mọc chụm 2-4, đôi khi riêng lẻ, hình cầu với đường kính 5x4 mm, khi chín màu cam rồi đỏ tím, có 5 cạnh.

3.1.2 Đặc điểm vi phẫu:

Lá:

- Tiết diện gân giữa lá lồi ở cả hai mặt.
- Lớp cutin dày bao bên ngoài lớp biểu bì.
- Biểu bì trên gồm một lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, biểu bì dưới mang khí khổng.
- Mô dày phiến đôi khi xen lẫn mô dày góc gồm 3-4 hàng tế bào xếp sát biểu bì.
- Mô mềm gân lá là mô mềm đạo.
- Gân giữa thường có 4 cụm libe-gỗ phân bố theo vòng tròn không liên tục theo vị trí gần như đối xứng.
- Nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai phân bố rải rác khắp phần gân giữa lá và phiến lá.
- Các ống tiết thường hiện diện trong mô mềm. Mỗi ống tiết có 5-7 tế bào, chứa chất tiết màu vàng.

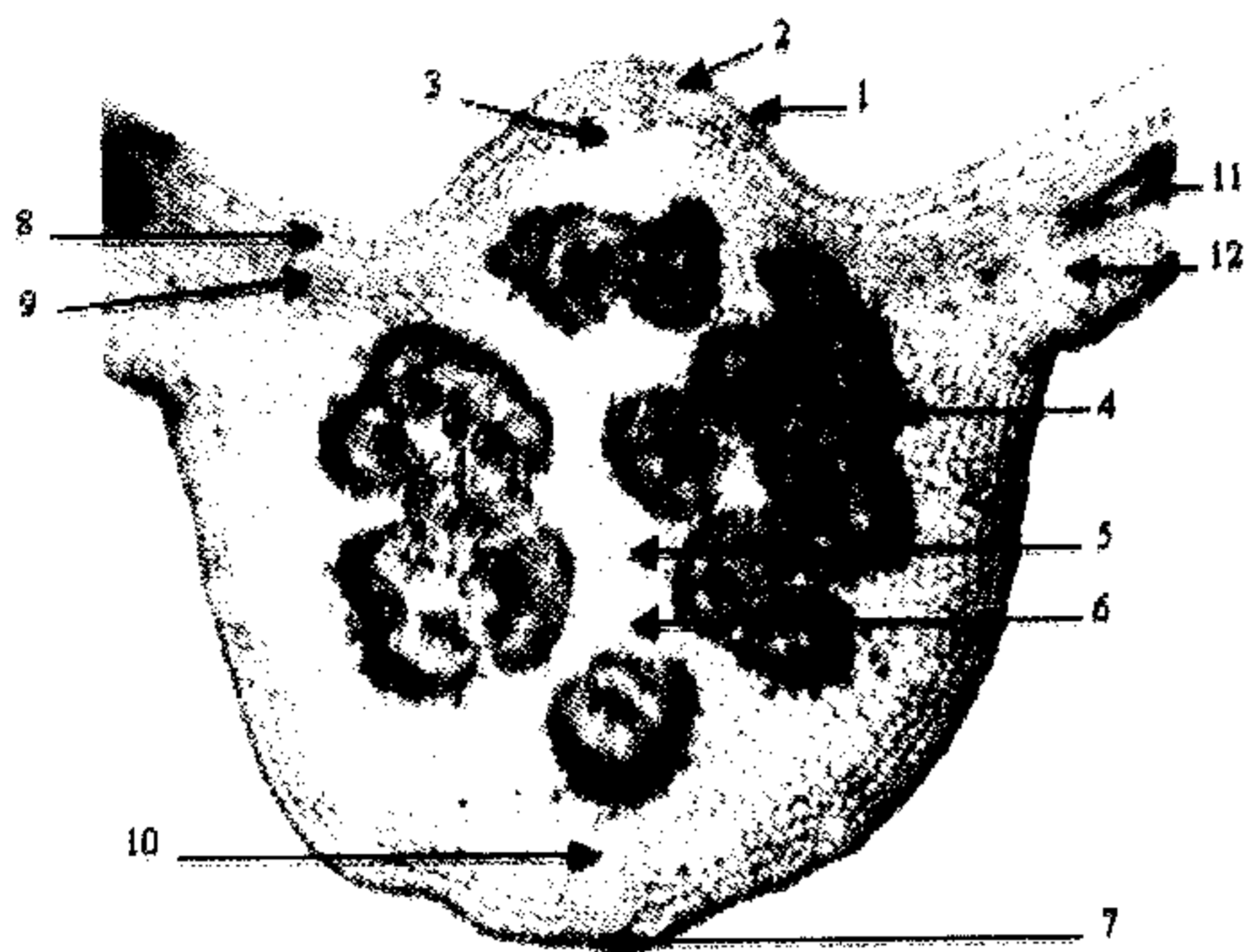


Hình 1. Cây chân chim không cuống quả

- Mô mềm tủy là mô mềm đặc, các tế bào kích thước nhỏ, có các ống tiết rải rác.
- Tiết diện tròn, phần vỏ chiếm 1/3 bán kính.

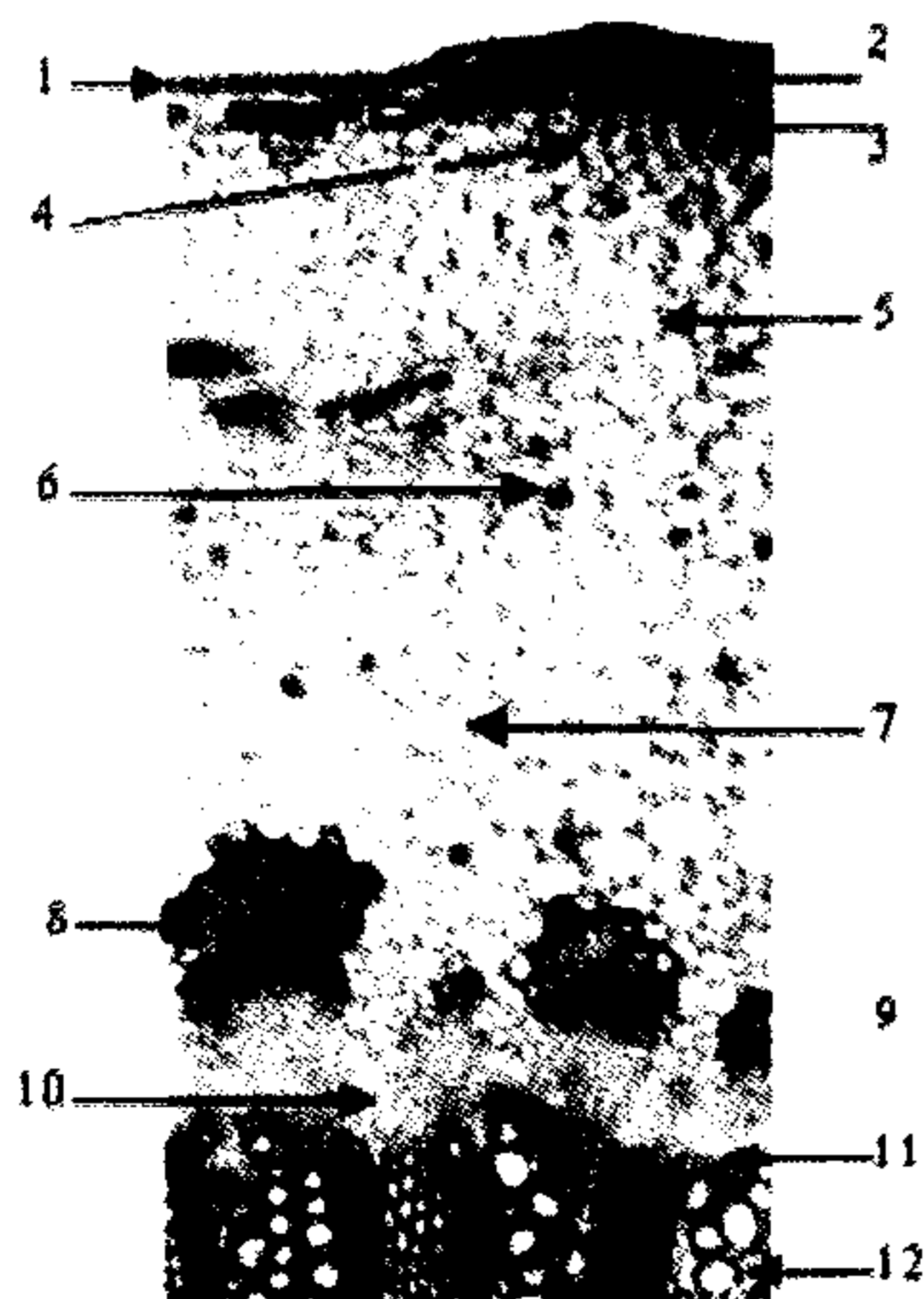
Thân:

- Lớp bần gồm 8-10 hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn thành dãy xuyên tâm.
- Tầng phát sinh bần-lục bì gồm 1 lớp tế bào. Bên dưới là các tế bào mô cứng xếp thành vòng gần như liên tục.
- Mô dày góc gồm 3-7 hàng tế bào, có các ống tiết xếp thành vòng không liên tục.
- Mô mềm vỏ là mô mềm đạo gồm nhiều tế bào tròn, màng mỏng, to nhỏ không đều, có các ống tiết nằm rải rác.
- Nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối phân bố khắp phần vỏ.
- Nhiều đám tế bào mô cứng lớn nhỏ xen kẽ nhau nằm ở ranh giới mô mềm vỏ và vùng libe, xếp thành vòng không liên tục. Tế bào mô cứng nhiều cạnh, màng dày.
- Vùng libe dày, các tế bào libe có kích thước nhỏ xếp thành dãy xuyên tâm.



Hình 2. Vi phẫu lá

1. Biểu bì trên
2. Mô dày phiến
3. Mô mềm đạo
4. Bó libe- gỗ
5. Mô mềm đặc
6. Ống tiết
7. Biểu bì dưới
8. Hạ bì
9. Mô giậu
10. Tinh thể calci oxalat
11. Bó libe-gỗ phụ
12. Mô khuyết



Hình 3. Vi phẫu thân

1. Bần
2. Tầng phát sinh bần -lục bì
3. Tế bào mô cứng
4. Mô dày góc
5. Mô mềm đạo
6. Tinh thể calci oxalat
7. Ống tiết
8. Đám mô cứng
9. Libe
10. Tia tủy
11. Tầng phát sinh libe - gỗ
12. Gỗ

- Tầng phát sinh libe-gỗ liên tục.

- Vùng gỗ gồm mạch gỗ hình tròn to xếp rải rác trong mô mềm gỗ. Trong mô mềm gỗ, có các

ống tiết xếp rải rác

- Tia tủy rộng 2-4 hàng tế bào kéo dài theo hướng xuyên tâm, các tia tủy hóa gỗ khi chạy

vào vùng gỗ.

- Mô mềm tủy là mô mềm đạo, chứa nhiều ống tiết, nhiều tinh thể calci oxalat hình khối và hình cầu gai.

Rễ:

- Tiết diện tròn, phần vỏ chiếm 2/3 bán kính.

- Lớp bần gồm trên 10 hàng tế bào hình chữ nhật xếp thành dãy xuyên tâm.

- Tầng phát sinh bần-lục bì gồm 1 lớp tế bào, bên dưới là các tế bào mô cứng xếp thành vòng không liên tục.

- Mô mềm vỏ là mô mềm đạo, rải rác có những

tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối. Các ống tiết xếp thành vòng không liên tục.

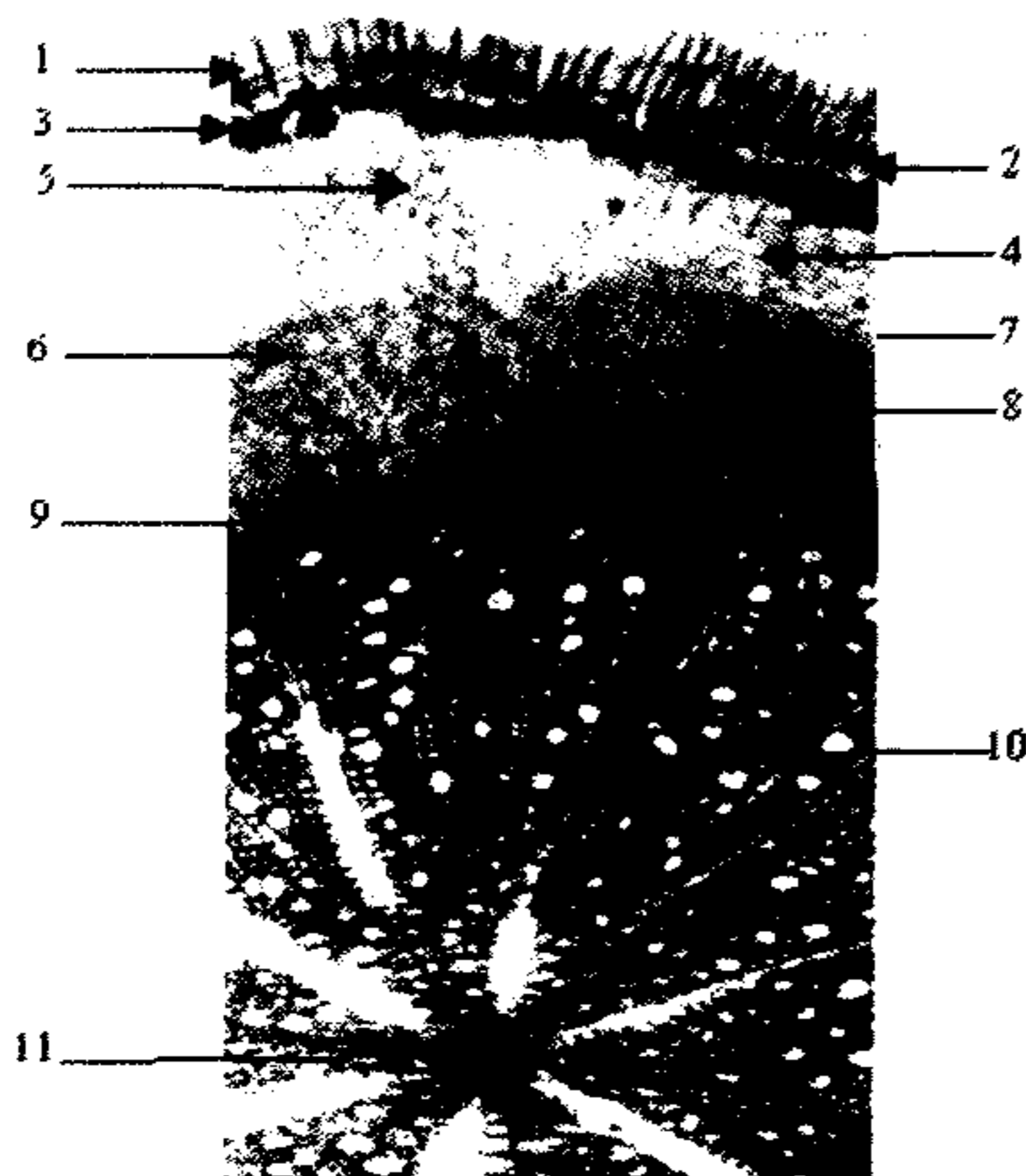
- Vùng libe dày bị các tia tủy cắt ra thành từng dãy dài gồm nhiều lớp tế bào xếp thành hình ngọn lửa. Có các ống tiết xếp rải rác trong vùng libe.

- Tầng phát sinh libe-gỗ không liên tục.

- Vùng gỗ khoảng 10-11 bó gỗ gồm nhiều mạch gỗ xếp lộn xộn trong mô gỗ.

- Tia tủy rộng gồm 2 lớp tế bào hình chữ nhật xếp thành dãy xuyên tâm, chạy qua vùng libe và vùng gỗ.

- Vùng tủy hóa gỗ gần như hoàn toàn.



Hình 4. Vi phẫu rễ

1. Lớp bần
2. Tầng phát sinh bần - lục bì
3. Tế bào mô cứng
4. Mô mềm vỏ
5. Ống tiết
6. Libe
7. Tia tủy
8. Tinh thể calci oxalat
9. Tầng phát sinh libe - gỗ
10. Gỗ
11. Vùng tủy hoá gỗ

3.1.3 Soi bột:

Lá:

- Bột màu xanh, mịn, không mùi, vị hơi chát.

- Lông che chở đa bào phân nhánh, đường kính 2-8 μm , dài khoảng 24 μm .

- Mảnh biểu bì dưới mang nhiều khí khổng với các tế bào hình đa giác, cách sắp xếp kiểu hỗn bào, kích thước khí khổng khoảng 5 μm .

- Mảnh biểu bì trên không mang khí khổng, các tế bào hình đa giác kích thước khá đều nhau, kích thước từ 10 đến 15 μm .

- Mạch xoắn với đường kính 8-10 μm .

- Mạch vạch đường kính 7-10 μm . Tinh thể calci oxalat hình cầu gai kích thước khoảng 7-9 μm .

- Tinh thể calci oxalat hình khối kích thước 6-9 μm .

- Mạch mạng với đường kính 15-25 μm .
- Tinh bột có tế hình xương cá khoảng 4-6 μm .

Thân:

- Bột màu trắng ngà, mịn, không mùi vị.
- Mảnh bản gồm nhiều tế bào hình đa giác, vách hơi dày, kích thước khoảng 10-15 μm .
- Tế bào mô cứng vách dày nhiều hình dạng xếp thành từng đám, kích thước mỗi tế bào thường 5-9 μm .
- Mạch mạng chiếm đa số, mạch vạch khá nhiều, mạch xoắn ít.
- Tinh thể calci oxalat hình khối nhiều hơn ở lá kích thước 9-20 μm , hình cầu gai to hơn ở lá 10-20 μm .
- Sợi kèm tinh thể calci oxalat hình khối kích thước khoảng 20-30 μm .

Rễ:

- Bột màu vàng nâu, mịn, không mùi vị.
- Mảnh bản gồm nhiều tế bào hình đa giác, vách hơi dày, kích thước khoảng 10-15 μm .
- Tinh thể calci oxalat hình cầu gai ít hơn ở bột

thân và lá, kích thước 7-10 μm .

- Tinh thể calci oxalat hình khối nhiều vô số so với bột thân và lá, kích thước 7-16 μm .

- Đám tế bào mô cứng chứa tinh thể calci oxalat hình khối rất nhiều, điển hình kích thước tế bào khoảng 12-30 μm .

- Mạch vạch ít hơn so với ở bột thân và lá, kích thước 5-8 μm .

- Mạch mạng khá nhiều, kích thước to hơn so với ở bột thân và lá, khoảng 12-38 μm .

- Sợi kèm tinh thể calci oxalat hình khối kích thước khoảng 20-30 μm .

3.2 Về hoá học

3.2.1 Sơ bộ phân tích thành phần hoá thực vật:

Kết quả cho thấy lá, thân và rễ cây chân chim không cuống quả chứa các thành phần saponin triterpen, phytosterol, đường khử, tanin, coumarin, acid hữu cơ và hợp chất uronic.

3.2.2 Xác định thành phần acid béo:

Thành phần và hàm lượng acid béo so với dược liệu khô tuyệt đối được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần acid béo của dược liệu.

Dược liệu	Số carbon của hợp chất	%	Tên acid béo
LÁ	C14	2,40	Acid myristic
	C15	45,82	Acid pentadecanoic
	C16 _{izo}	2,92	Acid palmitic
	C18	7,44	Acid stearic
	C18 ⁼	19,26	Acid oleic
	C18 ²⁼	18,26	Acid linoleic
	C18 ³⁼	3,89	Acid linolenic
THÂN	C14	1,01	Acid myristic
	C15	35,30	Acid pentadecanoic
	C17	1,65	Acid margaric
	C18	16,79	Acid stearic
	C18 ⁼	27,77	Acid oleic
	C18 ²⁼	17,49	Acid linoleic
RỄ	C15	45,82	Acid pentadecanoic
	C16 ⁼	1,92	Acid palmitoleic
	C17	4,23	Acid margaric

	C18	17,67	Acid stearic
	C18 ^e	18,12	Acid oleic
	C18 ^{2e}	12,25	Acid linoleic

3.2.2 *Xác định thành phần các nguyên tố khoáng:* với dược liệu khô tuyệt đối được thể hiện trong Thành phần và hàm lượng các nguyên tố so **bảng 2.**

Bảng 2. Thành phần các nguyên tố khoáng của dược liệu.

Mẫu	Hàm lượng khoáng (ppm) tính trên dược liệu khô kiệt		
	Lá	Thân	Rễ
Al	337,29	112,60	201,59
Si	225,79	56,30	40,327
Mg	6745,7	1126	2015,9
Ca	>11243	>2814,81	>10079,5
Ba	225,76	56,30	6,048
Fe	449,72	112,60	100,795
Mn	225,79	28,15	100,795
Ti	225,79	56,30	100,795
Ni	-	0,28	-
Cr	1,12	-	-
Mo	-	0,1126	-
Sn	-	0,28	-
Cu	2,2579	0,5630	2,0159
Pb	-	0,28	-
Ga	-	-	0,40327
Zr	4,4972	1,1260	2,0159
Na	67,457	28,15	6,048

4. Kết luận

- Đã mô tả được những điểm đặc trưng của các bộ phận lá, thân và rễ của cây chân chim không cứng quả. Quan sát và mô tả về hình dạng, kích thước của các thành phần đặc trưng trong bột dược liệu, nhằm phân biệt và góp phần tiêu chuẩn hóa nguyên liệu. Điểm đặc biệt chung của các bộ phận của cây là sự hiện diện của các ống tiết trong mô mềm, trong vùng libe. Có nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối. Lá có lông che chở đa bào hình ngọn nến phân nhánh. Thân và rễ có nhiều sợi kèm tinh thể calci oxalat hình khối, tia tủy hoá gỗ.

- Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hoá thực vật cho thấy lá, thân và rễ chứa các thành phần

saponin triterpen, phytosterol, đường khử, tanin, coumarin, acid hữu cơ và hợp chất uronic.

- Đã xác định thành phần acid béo trong lá, thân và rễ. Trong đó, thành phần acid béo chưa no gồm acid oleic, acid linoleic có hàm lượng cao ở cả 3 mẫu, acid linolenic chỉ có ở lá. Ngoài ra, acid pentadecanoic, một acid có số carbon lẻ (15C) chiếm tỷ lệ vượt trội trong cả 3 mẫu lá, thân và rễ.

- Đã xác định thành phần đa vi lượng của ba bộ phận cho thấy các bộ phận có thành phần tương tự nhau ngoại trừ nguyên tố Cr chỉ có ở lá, nguyên tố Ga chỉ có ở rễ, trong khi các nguyên tố Ni, Mo, Sn và Pb chỉ có ở thân.

Tài liệu tham khảo

1). Nguyễn Duy Thuận, Vài nét về thị trường dược liệu và triển vọng phát triển, Tài liệu hội nghị toàn quốc lần thứ 1, 2003, tr 256-257; 2) Trần Công Luận và cộng sự, Proceeding of Pharma Indochina II, 2001, Hanoi – Vietnam, tr 329-334.. 3). Giáo trình thực tập Dược liệu, Bộ môn Dược liệu, Trường Đại học Y Dược TPHCM, 2001, tr 3-15; 4). Võ Thị Bạch Tuyết, Giáo trình kiểm nghiệm Dược liệu, Bộ môn Dược liệu, Trường Đại học Y Dược TPHCM, 2003; 5). Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tự, Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc, NXB Y học Hà Nội, 1985; 6). Ngô Văn Thu, Bài giảng Dược liệu tập 1, 1981.

Tạp chí Dược liệu, tập 8, số 6/2003 (trang 167-170)

TÍNH ĐA HÌNH CỦA PHÂN TỬ RIBONUCLEASE TỪ NỌC RẮN HỔ MANG ĐEN. I - HAI DẠNG ĐỘNG HỌC^(*)

*Nguyễn Văn Thiết - Viện Công nghệ sinh học
(Nhận bài ngày 12 tháng 9 năm 2003)*

Summary

Polymorphism of Black Snake Venom RNase. I - Two Distinct Kinetical Forms

*Ribonuclease of Vietnam black cobra (*Naja naja*) venom has been characterized by kinetical method. This enzyme proves to consist of two distinct forms in agreement with the kinetical model $2p \rightleftharpoons P$, where p is probably a monomer and P is a dimer. These forms considerably differ in specific activity. At pH 2.60, i.e., the pH value near the optimum, the monomer form is active whereas the dimer is not. At pH 7.32, however, the monomer is almost inactive while the dimer is active.*

Key words: Cobra Venom, Ribonuclease, Multiple Molecular Forms, Kinetics.

Mở đầu

Trong một nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã xác định nọc rắn hổ mang đen Việt Nam (*Naja naja*) có hoạt tính ribonucleolytic rất cao và đạt cao nhất trong vùng acid, với pH tối ưu (pH_{opt}) là $2,53 \pm 0,30$ [9]. Về mặt này, RNase từ nọc rắn hổ mang đen Việt Nam có thể được xem là một RNase acid đích thực. Mặt khác, khối lượng phân tử (M_r) của nó được xác định theo phương pháp sắc kí cột (gel Sephadex G-75, 97 x 1,6 cm) là hơn 40 kDa [7, 8], cao hơn nhiều so với M_r của RNase từ nọc rắn hổ mang ấn Độ [4] và của các enzym khác trong phân họ RNase A [12]. Giá trị M_r cao cho thấy RNase nọc rắn hổ mang đen có thể có cấu trúc bậc IV - một trong những dấu hiệu quan trọng để một RNase có hoạt tính cytotoxin [1, 2, 5].

Như trên đã nêu, pH tối ưu nằm trong vùng acid là đặc điểm nổi bật nhất phân biệt enzym này với tất cả các enzym khác thuộc nhóm RNase nói

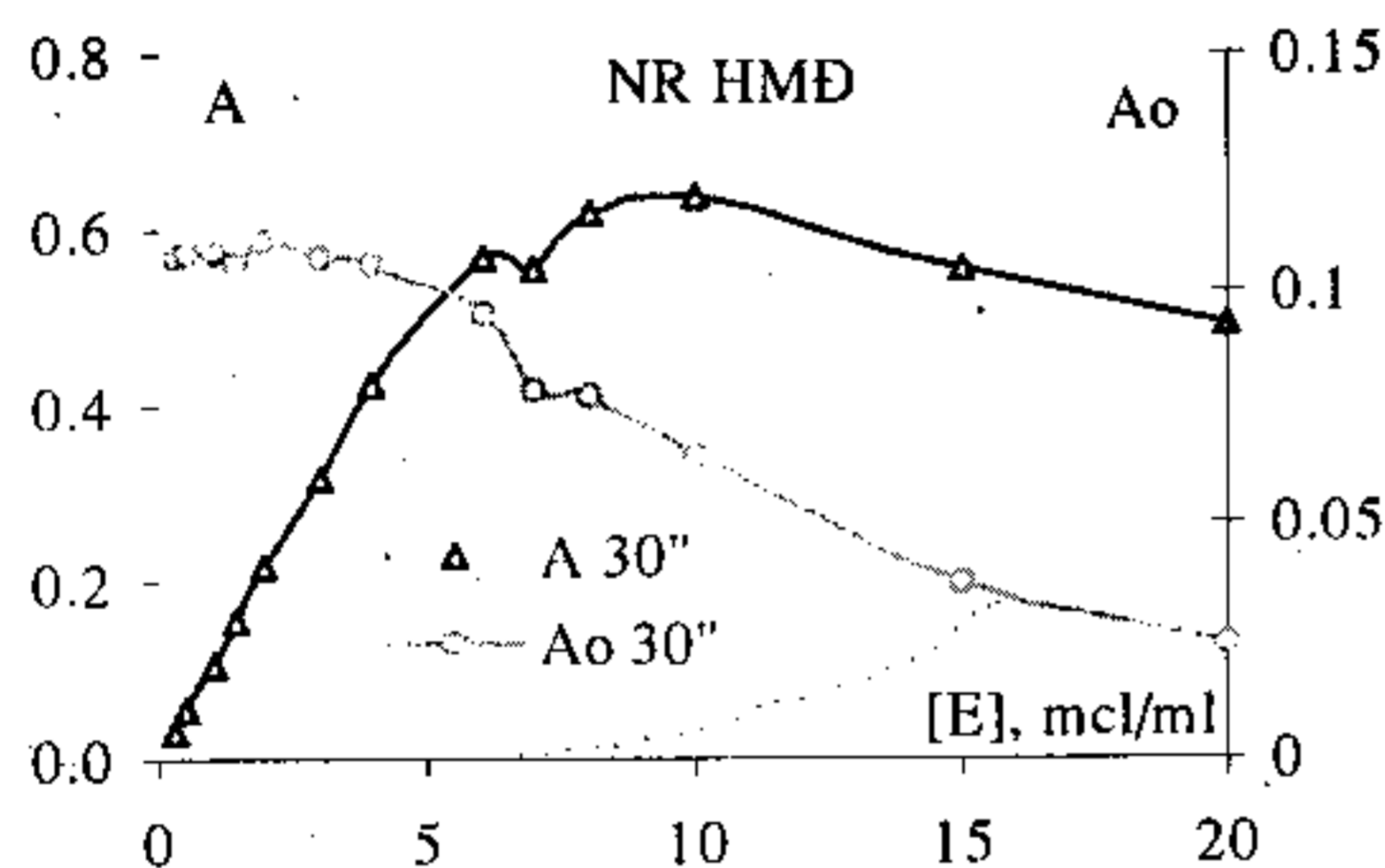
chung và phân họ RNase A nói riêng. Mặt khác, trong phản ứng thủy phân ARN, đường cong P - [S] biểu diễn mối phụ thuộc giữa lượng sản phẩm (P) được tạo thành (hay tốc độ ban đầu của phản ứng - v) và nồng độ ban đầu ([S]) của cơ chất trong vùng pH_{opt} và do cùng một lượng RNase xúc tác [10] hoặc với các nồng độ enzym khác nhau ở $pH \approx pH_{opt}$ [chưa công bố] đều có dạng sigma. Dưới góc độ cấu trúc, điều này có nghĩa là RNase nọc rắn hổ mang đen rất giống các enzym allosteric với cấu trúc bậc IV được xác định hoặc các enzym allosteric có khả năng tự liên hợp - phân li (enzym gồm nhiều oligomer khác nhau và có khả năng biến đổi qua lại) [3].

Trong trường hợp các enzym allosteric có khả năng phân li thành các tiểu đơn vị riêng biệt hay liên hợp tạo thành các hợp thể (hay cấu trúc) có kích thước lớn hơn, thì ngoài dạng sigma của đường cong P - [S], chúng còn có một quy luật động học

^(*) Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của Hội đồng Khoa học tự nhiên trong NCCB

không bình thường rất đặc trưng khác, đó là sự phụ thuộc không tuyến tính của tốc độ phản ứng (hay hoạt tính đặc trưng của enzym, bằng tốc độ của phản ứng chia cho nồng độ của enzym) vào nồng độ của chính enzym [3]. Phương pháp động học là công cụ rất đặc lực trong nghiên cứu cấu trúc và cơ chế xúc tác của enzym và đặc biệt hữu ích khi chưa tinh chế được enzym. Vì vậy, chúng tôi đã sử dụng phương pháp này để nghiên cứu cấu trúc của RNase trong nọc rắn hổ mang đen đông khô.

Mối phụ thuộc giữa hoạt tính đặc trưng và nồng độ của RNase được nghiên cứu với chế phẩm nọc rắn đông khô E_0 (10 mg nọc rắn đông khô/ml) cả trong vùng pH_{opt} (đệm Gly pH 2,6) và vùng pH sinh lí (đệm Tris-HCl pH 7,32).



Hình 1 cho thấy sự phụ thuộc $A_0 - [E]$ của RNase nọc rắn không tuyến tính. Khi nồng độ enzym tăng thì hoạt tính chung (A) của RNase cũng tăng, đạt giá trị cực đại, sau đó giảm dần. Đáng chú ý là ở dải nồng độ thấp, hoạt tính chung của RNase tỉ lệ tuyến tính với nồng độ enzym. Ngược lại, ở vùng nồng độ thấp, hoạt tính đặc trưng của RNase gần như không đổi (tương ứng với vùng tuyến tính trên đồ thị A - [E]), sau đó giảm và tiến dần tới một giá trị không đổi.

Động thái $A_0 - [E]$ của RNase từ nọc rắn hổ mang đen trình bày ở hình 1 có thể được mô tả khá chính xác bằng mô hình động học kiểu $2p \rightleftharpoons P$ trong đó phân tử enzym (P) phân ly thành 2 nửa (p) như nhau. Các dạng p và P có hoạt tính đặc trưng (tương ứng là $A_{0,p}$ và $A_{0,P}$) khác nhau và khác không. Theo mô hình động học này trong trường hợp $A_{0,p} > A_{0,P}$, đường cong biểu diễn mối phụ thuộc $A_0 - [E]$ có dạng như các đường cong biểu diễn ở hình 1. Ngoài ra, nếu enzym có 2 dạng cấu hình (conformer) với các A_0 khác nhau cùng tồn tại ở trạng thái cân bằng, thì đường cong $A_0 - [E]$ cũng có dạng tương tự như các đường

Hoạt tính RNase được xác định theo phương pháp như đã mô tả trước đây [6]. Sự thay đổi giá trị OD_{260} của dịch phản ứng do thủy phân ARN được đo trực tiếp trên máy GeneQuant DNA/RNA calculator của hãng Pharmacia và UV-Visible Spectrophotometer UV-1601 của hãng Shimadzu.

Kết quả và thảo luận

Để tìm hiểu bản chất allosteric của RNase nọc rắn hổ mang đen, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu mối phụ thuộc giữa hoạt tính đặc trưng (A_0) và nồng độ của enzym ([E]) trong dịch phản ứng. Trước tiên là mối phụ thuộc $A_0 - [E]$ của RNase trong vùng pH tối ưu. Kết quả các thí nghiệm này được trình bày ở hình 1.

Hình 1 - Sự phụ thuộc của hoạt tính chung (A) và hoạt tính đặc trưng (A_0) của RNase trong chế phẩm nọc rắn hổ mang đen đông khô (E_0) vào nồng độ của enzym trong vùng pH tối ưu.

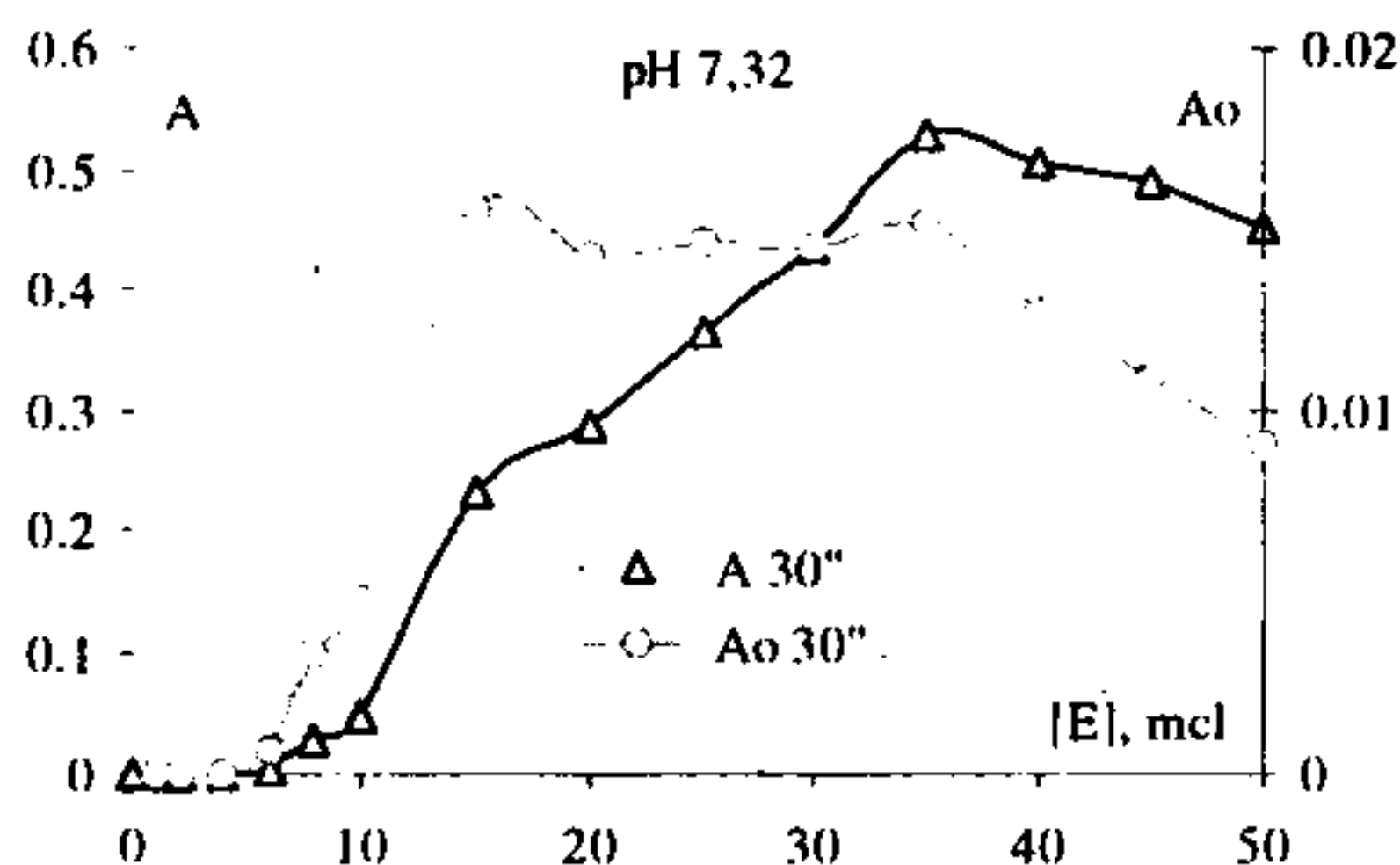
(Hoạt tính RNase đo trong 10 mM đệm Gly pH 2,6; tốc độ ban đầu của phản ứng được đo 30 giây sau khi bắt đầu phản ứng).

cong ở hình 1 [3].

Trong hơn 100 enzym thuộc phân họ RNase A, chỉ có một RNase duy nhất có cấu trúc bậc IV (RNase từ tinh dịch bò, BS-RNase) và là một dimer. Vì vậy, RNase nọc rắn hổ mang đen rất có thể có cấu trúc tương tự, dạng p của nó là một monomer và dạng P là một dimer.

Hoạt tính ribonucleolytic là yếu tố cần thiết để các RNase thể hiện tính chất sinh học. Hơn nữa, hoạt tính ribonucleolytic của các RNase có tác dụng chống ung thư (cytotoxin) hay chống virus thấp hơn nhiều so với các RNase không có những tác dụng này. Tuy có hoạt tính cao trong vùng acid, nhưng khi xâm nhập vào cơ thể thì RNase nọc rắn phải hoạt động trong vùng pH trung tính hoặc gần trung tính. Vì vậy, bước tiếp theo chúng tôi đã nghiên cứu mối phụ thuộc $A_0 - [E]$ của enzym này trong vùng pH sinh lí. Kết quả nghiên cứu trình bày ở hình 2.

Hình 2 cho thấy quy luật phụ thuộc $A_0 - [E]$ của RNase ở pH = 7,32 hoàn toàn ngược lại so với các kết quả nhận được trong vùng pH tối ưu: ở nồng độ



Hình 2 - Sự phụ thuộc của hoạt tính chung (A) và hoạt tính đặc trưng (A_0) của RNase trong chế phẩm nọc rắn hổ mang đen đông khô (E_0) vào nồng độ của enzym trong vùng pH sinh lí.

(Hoạt tính RNase đo trong 10 mM đệm Tris-HCl pH 7,32; tốc độ ban đầu của phản ứng được đo 30 giây sau khi bắt đầu phản ứng).

enzym thấp, hoạt tính chung của RNase rất thấp và hoạt tính đặc trưng gần bằng 0, còn ở nồng độ enzym cao, hoạt tính chung gần như tỉ lệ thuận với nồng độ enzym và hoạt tính đặc trưng không đổi. Tuy nhiên, khi nồng độ enzym quá cao thì hoạt tính đặc trưng của RNase bị giảm. Động thái mối phụ thuộc $A_0 - [E]$ của RNase trong vùng pH sinh lí được trình bày ở hình 2 vẫn có thể được mô tả rất chính xác bằng mô hình động học kiểu $2p \rightleftharpoons P$, giống như trong vùng pH tối ưu, nhưng ở pH = 7,32, dạng p hầu như không có hoạt tính và $A_{0,p} \gg A_{0,P}$. Điều này lí giải tại sao khi đo với một lượng nhỏ enzym ở pH trung tính, RNase của nọc rắn không có hoạt tính [chưa công bố].

So sánh hoạt tính đặc trưng của các dạng p và P ở các giá trị pH sinh lí và pH_{opt} cho thấy hoạt tính đặc trưng của dạng P khác nhau không nhiều

($A_{0,p} = 0,0148 \pm 0,0006$ đv $OD_{260}/30$ s ở pH = 7,32 và $A_{0,p} < 0,0250$ đv $OD_{260}/30$ s ở pH = 2,60 trong khoảng nồng độ $[E] = 15 \div 35 \mu l E_0/ml$ hỗn hợp phản ứng), và thấp hơn hoạt tính đặc trưng của dạng p ở pH_{opt} khoảng gần một bậc ($A_{0,p} = 0,1072 \pm 0,0015$ $OD_{260}/30$ s ở pH = 2,60 trong khoảng nồng độ $[E] = 0,3 \div 4,0 \mu l E_0/ml$ hỗn hợp phản ứng): Hoạt tính đặc trưng của dạng P (dimer) ở pH sinh lí bằng khoảng 15% giá trị tương ứng của dạng p trong vùng pH_{opt} . Hai khoảng nồng độ RNase này cách biệt nhau quá xa, nên các số liệu được so sánh chỉ nói lên tiềm năng xúc tác của các dạng enzym khác nhau ở 2 vùng pH sinh lí và tối ưu. Để so sánh trực tiếp hoạt tính của RNase nọc rắn hổ mang đen trong 2 vùng pH này, chúng ta phải xét hoạt tính enzym với cùng một lượng RNase như nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Hoạt tính RNase nọc rắn hổ mang đen trong vùng pH_{st} (sinh lí) và pH_{opt}

TT	$[E], \mu l/ml$	$A(pH_{opt})$	$A(pH_{st})$	% ($A_{pH_{st}}/A_{pH_{opt}}$)
1	6	0,5666	0,0036	0,6
2	8	0,6173	0,0262	4,2
3	10	0,6407	0,0471	7,4
4	15	0,5557	0,2329	41,9
5	20	0,4943	0,2825	57,2

Các số liệu ở bảng 1 (ở nồng độ $[E] < 5 \mu l/ml$ không đo được hoạt tính RNase nọc rắn trong vùng pH_{st}) cho thấy trong khoảng nồng độ enzym từ 6 đến 20 $\mu l/ml$, hoạt tính RNase ở pH_{st} là rất đáng kể so với hoạt tính của nó trong vùng pH_{opt} . Hoạt tính này đủ cho RNase nọc rắn hổ mang đen thể hiện các hoạt tính sinh học cần thiết trong vùng pH sinh lí.

Kết luận

Bằng phương pháp nghiên cứu động học của mối phụ thuộc giữa hoạt tính đặc trưng của enzym và nồng độ của chính enzym trong hỗn hợp phản ứng, chúng tôi đã phát hiện được RNase nọc rắn hổ mang đen có ít nhất 2 dạng phân tử khác nhau có khả năng biến đổi qua lại, với hoạt tính đặc trưng khác biệt nhau khoảng gần 1 bậc. Các dạng này có lẽ là những oligomer hoặc cấu hình khác nhau của RNase nọc rắn, tạm gọi là các dạng động học của RNase nọc rắn hổ mang đen.

Tài liệu tham khảo

- 1). Donato A.D., Cafaro V., D'Alessio G. 1994, *JBC*, 269(26), pp.17394-17396; 2). Kim J.S., Sousek J., Matousek J., Raines R.T. 1995, *JBC*, 270(18), 10525-10530; 3). Kurganov B.I. 1978, *Allosteric enzymes*, Moscow;
- 4). Mahalakshmi Y. V., Jagannadham M. V., Pandit M. W. 2000, *Life*, 49, 309-316; 5). Piccoli R., Di Gaetano S., De Lorenzo C., Grauso M., Monaco C., Spalletti-Cernia D., Laccetti P., Cinatl J., Matousek J., D'Alessio G., 1999, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 96 (14), 7768-7773.17; 6). Nguyễn Văn Thiết 2002, *Tlc Sinh học*, 24(3), 59-64; 7). Nguyễn Văn Thiết, Nguyễn Hoàng Tinh 2002, Nghiên cứu một số tính chất của ribonuclease từ nọc rắn hổ mang đen (*Naja naja*), Tuyển tập Báo cáo khoa học của Hội nghị Khoa học Hội Hoá sinh Y Dược Hà Nội và các tỉnh phía bắc, Đồ Sơn - Hải Phòng, 2-3/8/2002, tr.82-92; 8). Nguyễn Văn Thiết (2002), *Tlc Dược liệu*, 7(6), 181-185; 9). Nguyễn Văn Thiết, Ngô thị Hải Yến 2003, Một số tính chất đặc trưng của ribonuclease từ nọc rắn hổ mang đen Việt Nam (*Naja naja*). Báo cáo Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ 2 "Những vấn đề NCCB trong khoa học sự sống. NCCB trong Sinh học, Nông nghiệp, Y học", Huế, 25-26/7/2003. Nxb KH&KT, tr. 515-518; 10). Nguyễn Văn Thiết 2003, *Tlc Dược liệu*, 8(4), 118-122; 11). Vlassov A.V., 1998, *Biokhimiya*, 63(12), 1587 - 1599.

Tap chí Dược liệu, tập 8, số 6/2003 (trang 170-173)

MONOAMINE OXIDASE INHIBITORY EFFECT OF VIETNAMESE PLANTS

Nguyen Manh Cuong¹, Tran Van Sung¹, Nguyen Tien Dat², Young Ho Kim²

1. Institute of Chemistry, NCNST, 18 Hoang Quoc Viet Rd., Cau Giay, Hanoi, Vietnam

2. College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon, 305 764, Korea

(Received April 4, 2003)

Summary

*Methanol extracts prepared from twenty eight Vietnamese plants were screened for the inhibitory activity in vitro against mouse brain monoamine oxidase (MAO). Three plant extracts showed more than 50% inhibition on MAO activity at a concentration of 400 µg/ml. These active extracts were fractionated in different solvents and tested to determine the MAO inhibitory fractions. Among them, the ethyl acetate and butanol fractions of the methanol extract from the leaves of *Eurya ciliata* Merr. (Theaceae) inhibited 74.7 and 87.2 % monoamine oxidase activity, respectively, at the concentration of 400 µg/ml.*

Key words: MAO screening, Vietnamese plants, monoamine oxidase inhibitor, Eurya ciliata

1. Introduction

Monoamine oxidase (EC 1.4.3.4; MAO) is a FAD-containing enzyme located in the outer membrane of the mitochondria and catalyzes the oxidative deamination of a variety of biogenic monoamines such as dopamine, serotonin and noradrenaline [1, 2]. It exists as two isoenzymes, MAO-A and MAO-B, encoded by two different genes linked to the human X chromosome, with different specificities for substrates and sensitivities to inhibitors. Nowadays, the search for MAO inhibitors from natural products of either plant or microbial sources is of increasing interest due to their potential use in the treatment of various neurodegenerative disorders such as depression, Parkinson's and Alzheimer's diseases.

Preparation of plant material:

All of the plant materials were collected from Tamdao mountain, Vinh Phuc province in northern Vietnam and identified by Ngo Van Trai, National Institute of Materia Medica, Hanoi. Plant parts (leaves, roots, flowers, or stems) were dried in shade, ground and extracted with MeOH three times (eight hours each) and filtered. The filtrates were combined and evaporated *in vacuo*.

Fractionation:

In our collaborative search for new MAO inhibitors from Vietnamese plants, 28 samples of 25 species belonging to 21 families were screened on mouse brain *in vitro*. This paper reports the results of the screening.

II- Materials and Methods

Each methanol extract possessing MAO inhibition of more than 50 % was suspended in methanol/distilled water (1 : 1) and then extracted successively with dichloromethane, ethyl acetate and butanol (three times for each solvent) to give three solvent fractions. All fractions, including the water one, were evaporated *in vacuo*.

Chemicals and Instruments:

Kynuramine and zinc sulfate were purchased from Sigma Co. All other chemicals were of reagent grade. The fluorescence intensity of the reaction product, 4-hydroxyquinoline, was measured by a Hitachi Model-F300 fluorophotometer.

Enzyme preparation:

Mice (male, ICR, 25-30 g each) were purchased from Samyook Animal Center (Soowon, Korea). The animals were fed with laboratory chow and water *ad libitum* and killed by cervical dislocation. A crude mitochondrial fraction was prepared from mouse brain according to the method reported earlier [4].

Determination of MAO activity:

The MAO activity with kynuramine as an amine substrate was determined fluorometrically according to the method reported by Naoi *et al* [4] and Kraml *et al* [5] with slight modifications. Stock solutions of the test samples were prepared in DMSO at the concentration of 20 mg/ml.

Reaction mixture was composed of 73 μ l of 0.2M potassium phosphate buffer (pH 7.4), 5 μ l of enzyme, 2 μ l of test solution (20 mg/ml) and 20 μ l of 500 μ M kynuramine. After adding 20 μ l of 500 μ M kynuramine with shaking, the mixture was incubated in a water bath at 37 °C for 30 min. The reaction was stopped by adding 25 μ l of 10 % ZnSO₄ and 5 μ l of 1N NaOH aqueous solution. After being centrifuged at about 3000 g/min for 7

minutes, 140 μ l of 1N NaOH aqueous solution was added to 70 μ l of the supernatant to stabilize the fluorescence of 4-hydroxyquinoline. The fluorescence intensity of the reaction product, 4-hydroxyquinoline, formed from kynuramine by MAO, was measured at 380 nm (emission) with excitation at 315 nm in a fluorophotometer. Each sample was prepared in triplicate. As a blank test, the reaction was carried out without the substrate.

Calculation of MAO activity

The MAO inhibitory rate was calculated using the following equation:

$$\text{Inhibitory rate (\%)} = [(A_{con} - A_{sam}) / (A_{con} - A_{bla})] \times 100$$

(*Acon*: fluorescence intensity of the control - without test sample). *Asam*: fluorescence intensity of the sample. *Abla*: fluorescence intensity of the blank sample - without sample and enzyme).

III- Results and Discussion

The results of the screening are summarized in Table 1. As shown in Table 1, the methanolic extracts of *Eurya ciliata* leaves, *Ampelopsis japonica* leaves and twigs and *Connarus semidecandrus* leaves at the concentration of 400 μ g/ml inhibited MAO activity by 72.8 %, 58.0 % and 62.4 %, respectively.

In order to get an idea as to what fraction is responsible for the activity, in terms of polarity, the MeOH extracts of the active plants were then fractionated to give four different solvent fractions: CH₂Cl₂, EtOAc, BuOH and H₂O, which were then subjected to the MAO assay.

Table 2 shows the inhibitory effects of the different fractions of the three active plants on MAO activities. These data confirm that the MeOH extract from the leaves of *Eurya ciliata* possessed significant inhibition of MAO activity.

Table 1. Inhibitory effects of Vietnamese plant extracts on mouse brain monoamine oxidase

Test ID	Plant Name and Authority	Family	Parts ^a Used	Inhibition (%)
E2-135A	<i>Eurya ciliata</i> Merr.	Theaceae	FR	21.7
M01	<i>Mussaenda erosa</i> Champ. ex Benth	Rubiaceae	LF	14.0
M02	<i>Ardicia conspersa</i> Walk.	Myrsinaceae	LT	-15.8
M03	<i>Eurya ciliata</i> Merr.	Theaceae	LF	72.8
M04	<i>Chloranthus glabra</i> (Thunb.) Nakai	Chloranthaceae	WP	41.5

M05	<i>Bousigonia mekongense</i> Pierre in Planch.	Apocynaceae	LT	36.8
M06	<i>Ampelopsis japonica</i> (Thunb.) Makino	Vitaceae	LT	58.0
M07	<i>Croton cascarilloides</i> Raeusch.	Euphorbiaceae	LT	20.5
M08	<i>Croton cascarilloides</i> Raeusch.	Euphorbiaceae	RT	14.3
M09	<i>Lasia spinosa</i> (L.) Thw.	Araceae	LF	11.9
M10	<i>Connarus semidecandrus</i> Jack.	Connaraceae	LF	62.4
M12	<i>Glochidion daltoni</i> (Muell.-Arg.) Kurz	Euphorbiaceae	LF	38.3
M13	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	Bombacaceae	FL	10.1
M14	<i>Brucea tonkinensis</i> (Lec.) Gagn.	Simaroubaceae	SD	29.2
M15	<i>Callicarpa longifolia</i> Lam.	Verbenaceae	WP	14.7
M18	<i>Strophoblachia fimbriicalyx</i> Boerl.	Euphorbiaceae	LF	6.6
M19	<i>Rubus cochinchinensis</i> Tratt.	Rosaceae	LF	34.4
M20	<i>Naravelia zeylanica</i> (L.) DC.	Ranunculaceae	LT	14.5
M21	<i>Glycosmis stenocarpa</i> (Drake) Tan.	Rutaceae	ST	20.9
M22	<i>Viburnum lutescens</i> Bl.	Verbenaceae	LF	-10.4
M23	<i>Gymnema reticulata</i> (Moon) Alst.	Asclepiadaceae	LF	-18.9
M24	<i>Phyllanthus reticulatus</i> Poir.	Euphorbiaceae	LF	14.6
M25	<i>Phyllanthus reticulatus</i> Poir.	Euphorbiaceae	ST	5.2
M26	<i>Brassaiopsis variabilis</i> Shang.	Araliaceae	AP	16.7
M27	<i>Gouania javanica</i> Miq.	Rhamnaceae	ST	41.6
M28	<i>Hydnocarpus macrocarpa</i> (Bedd.) Warb. subsp. <i>burmanica</i> Sleum.	Elacourtiaceae	LF	6.1
M29	<i>Elaeocarpus angustifolius</i> Bl.	Elaeocarpaceae	LF	24.1
M30	<i>Diospyros susarticulata</i> Lec.	Ebenaceae	LF	17.0

* Part used : AP (Aerial part), FL (Flower), FR (Fruit), LF (Leaf), LT (Leafy twig), RT (Root), SD (Seed), ST (Stem) and WP (whole plant).

Table 2. Inhibitory effects of the fractions on mouse brain monoamine oxidase

No.	Plant Name	Fraction	Inhibition (%)
1	<i>Connarus semidecandrus</i> Jack.	CH ₂ Cl ₂	-26.2
		EtOAc	51.5
		BuOH	56.4
		H ₂ O	65.9
2	<i>Eurya ciliata</i> Merr.	CH ₂ Cl ₂	55.2
		EtOAc	74.7
		BuOH	87.2
		H ₂ O	41.4
3	<i>Ampelopsis japonica</i> (Thunb.) Makino	CH ₂ Cl ₂	0.5
		EtOAc	65.6
		BuOH	22.3
		H ₂ O	16.0

Among the four fractions, BuOH fraction shows the strongest inhibitory effect of 87.2%, then comes the EtOAc fraction with 74.7% inhibition (74.7%) against monoamine oxidase. The less polar CH₂Cl₂ and the H₂O fractions show weaker effects on MAO activity.

The water fraction of the leaves of *Connarus semidecandrus* and the ethyl acetate fraction of the

leaves and twigs of *Ampelopsis japonica* also possess significant inhibitory effects on MAO activity of 65.9 and 65.6 %, respectively.

Ethnopharmacologically, some *Eurya* species such as *E. japonica* (Linh), *E. groffii* (Linh đôi) and *E. nitida* (Súm, Chè cầu) have been used in traditional medicine in treatments of oedematic and urinary diseases [6].

As our best knowledge, there have been no chemical and biological reports on *E. ciliata*, *C. semidecandrus*, and *A. japonica* so far. Isolation of compounds from *E. ciliata* to examine what kind of them is responsible for MAO inhibitory effect on mouse brain is being undertaken.

Acknowledgements: The authors are grateful to the Korean Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB) for fluorescence measurements. One of us (N.M. Cuong) is grateful to the Korean Science and Engineering Foundation for a postdoctoral scholarship.

References

- 1). Sang Seon Lee, Young Ho Kim, and Myung Koo Lee, *Arch. Pharm. Res.*, 22, (1999), 529-531; 2). Ramon Soto-Otero, Estefania Mendez-Alvarez, Alvaro Hermida-Ameijeiras, Ines Sanchez-Sellero, Angelines Cruz-Landeira, Manuel Lopez-Rivadulla Lamas, *Life Science*, 69, (2001), 879-889; 3). Nils Hauptmann; Jean Chen Shih, *Life Science*, 68, (2001), 1231-1241; 4). Naoi M., Takahashi T., Darrez H., Kabeya R., Taguchi E., *Neurochem. Int.* 15, (1989), 315-320; 5). Kraml M., *Biochem. Pharmacol.*, 14, (1965), 1684-1685; 6). Vo Van Chi, Dictionary of Vietnamese Medicinal Plants (Tu Dien Cay Thuoc Vietnam), (1996), Nha Xuat ban Y hoc, Hanoi.

Tap chí Dược liệu, tập 8, số 6/2003 (trang 173-176)

XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP GÂY PHÌ ĐẠI TUYẾN TIỀN LIỆT Ở CHUỘT CỐNG TRẮNG ĐỂ NGHIÊN CỨU CAO NÁNG HOA TRẮNG

*Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Bá Hoạt, Lê Minh Phương
Nguyễn Kim Phương, Đỗ Thị Phương
Viện Dược liệu*

(Nhận bài ngày 12 tháng 9 năm 2003)

Summary

Experimental Induction of Prostatic Hypertrophy in Rats for Study of Leaf Extract of *Crinum asiaticum* L.

*Prostatic hypertrophy was successfully induced by testosterone in rats. The method is reliable and can be used in screening for drugs capable of inhibition of prostatic hypertrophy. This model has proved the leaf extract of *Crinum asiaticum* L., a medicinal plant in Vietnamese traditional medicine, to be effective against the hypertrophy of prostate in rats.*

Key words: Experimental Method, Prostatic Hypertrophy, Testosterone, *Crinum asiaticum* L.

Đặt vấn đề

Androgen và cụ thể hơn là testosteron có tác dụng gây cảm ứng và làm tiến triển u tuyến tiền liệt. Từ lâu, người ta thấy rằng những người bị hoạn từ lúc còn bé không bao giờ bị ung thư tuyến tiền liệt. Năm 1786, Hunter John đã điều trị ung thư tuyến tiền liệt có kết quả bằng cách cắt bỏ tinh hoàn.

Năm 1941, Huggins đã đề xuất phương pháp điều trị ung thư tuyến tiền liệt bằng cách cắt bỏ tinh hoàn, hoặc dùng một hormon kháng androgen là estrogen. Công trình này đã đoạt giải thưởng Nobel năm 1966 [1]. Cắt bỏ cả 2 bên tinh hoàn làm cho nồng độ testosteron trong huyết tương

giảm từ 500 ng/100 ml xuống còn 50 ng/100 ml, tức là giảm 90%. Nồng độ testosteron thấp không đủ làm phát sinh và phát triển của ung thư tuyến tiền liệt. Vì thế, người ta cũng nghĩ đến phương pháp dùng thuốc kháng androgen để điều trị ung thư tuyến tiền liệt và cũng thu được kết quả như đã dùng diethylstilboestrol (một loại estrogen tổng hợp) hoặc polyestradiol. Liều dùng chỉ 1-2 mg/ngày. Dùng liều cao sẽ gây tai biến tim mạch, dễ dẫn đến tử vong. Cũng có thể dùng thuốc ức chế quá trình tổng hợp testosteron như aminoglutethimid, ketoconazol hoặc thuốc cạnh tranh với testosteron ở thụ thể như cyproteron acetat, nilutamid.

Trước khi Huggins nhận được giải thưởng Nobel, trong những năm 1959-1962, Dorfman [2,3] đã nghiên cứu và thấy sự phát triển phì đại tuyến tiền liệt phụ thuộc vào nồng độ testosterone ở chuột cống trắng.

Sau khi Huggins đoạt giải thưởng Nobel, Byar (1967-1969) đã kiểm tra lại kết quả điều trị ung thư tuyến tiền liệt bằng estrogen.

Cho đến nay, chúng tôi chưa thấy có tài liệu nào về phương pháp thực nghiệm gây phì đại tuyến tiền liệt. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu xây dựng phương pháp gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone ở chuột cống trắng, và thử tác dụng của cao chiết từ lá nang hoa trắng trên mô hình thực nghiệm này trong nghiên cứu về tác dụng kháng androgen và chống u của thuốc.

II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

1. Vật liệu nghiên cứu

- Cao nang hoa trắng: Dùng lá phơi khô của cây nang hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.), họ Thủy tiên (*Amaryllidaceae*), xay thành bột thô, chiết bằng ethanol 70%, rồi cô để được cao lỏng 1:1. Ngay trước khi dùng, cô cách thủy để loại bỏ hết cồn. Sau đó, thêm nước cất để được cao lỏng có tỷ lệ 15% (100ml dịch tương đương với 15 g dược liệu khô). Liều dùng tính quy ra dược liệu khô.

- Testosteron ống 1 mg/1ml trong dung dịch dầu. Ngay trước khi dùng, pha loãng với dầu ô liu theo tỷ lệ 1:1, sẽ được dung dịch 500 $\mu\text{g/ml}$.

- Chuột cống trắng đực còn non, khoẻ mạnh, cân nặng 80-100g.

2. Phương pháp nghiên cứu

Sau khi khảo sát và xây dựng được phương pháp nghiên cứu, đã áp dụng phương pháp thực nghiệm gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone ở chuột cống trắng và thử với viên nang nang hoa trắng như sau:

Chuột (tiêu chuẩn như đã nêu ở trên) được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm trước đó ít nhất 3 ngày, gồm 27 con, được chia làm 3 lô, mỗi lô 9 con.

1. Lô 1: Lô đối chứng sinh lý. Chuột được tiêm dưới da dầu ô liu hàng ngày, với thể tích bằng thể tích tiêm testosterone cho chuột để gây phì đại tuyến tiền liệt (0,2 ml/100g chuột), và uống nước cất với thể tích bằng thể tích cho chuột uống cao lỏng nang hoa trắng (2 ml/100g chuột).

2. Lô 2: Lô đối chứng bệnh lý. Gây phì đại tuyến tiền liệt bằng cách tiêm testosterone với liều 100 $\mu\text{g}/100\text{g}$ chuột (0,2 ml/100g dung dịch testosterone có nồng độ 500 $\mu\text{g/ml}$). Tiêm dưới da đùi trong 7 ngày liền. Đồng thời, cho uống nước cất hàng ngày, với thể tích bằng thể tích cho chuột uống cao lỏng nang hoa trắng (2ml/100g chuột).

3. Lô 3: Lô thử thuốc với cao nang hoa trắng. Cũng gây phì đại tuyến tiền liệt bằng cách tiêm dưới da đùi dung dịch testosterone như lô 2. Đồng thời cho uống cao lỏng nang hoa trắng 15%, liều 2 ml/100g chuột, tính ra liều theo dược liệu khô là 3 g/kg chuột. Dùng liền 7 ngày.

Đến ngày thứ 8, gây mê chuột, mổ bụng, bóc tách toàn bộ tuyến tiền liệt, rồi cân ngay bằng cân phân tích. Khối lượng tuyến tiền liệt của mỗi con chuột được quy về cho 100g chuột. Tính khối lượng trung bình tuyến tiền liệt cho mỗi lô ($M \pm SE$).

Đánh giá khả năng gây phì đại tuyến tiền liệt do testosterone bằng cách so sánh khối lượng tuyến tiền liệt ở lô gây bệnh so với lô đối chứng sinh lý.

Đánh giá tác dụng của cao nang hoa trắng bằng cách so sánh lô gây phì đại tuyến tiền liệt có dùng thuốc và lô gây phì đại không dùng thuốc.

Xử lý thống kê theo phương pháp "t" của Student.

III. Kết quả nghiên cứu

3.1. Xây dựng phương pháp gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone

Kết quả nghiên cứu xây dựng phương pháp gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone ở chuột cống trắng đã diễn ra như sau:

3.1.1. Nghiên cứu gây phì đại tuyến tiền liệt ở chuột nhất trắng

Chúng tôi đã chọn chuột nhất trắng để nghiên cứu vì dễ mua và giá lại rẻ. Trước hết, chúng tôi thử trên chuột nhất trắng đực gần trưởng thành (15-16g/con) để đỡ bị ảnh hưởng do testosterone nội sinh gây ra. Tuy nhiên, tuyến tiền liệt của chuột nhất trắng còn non quá nhỏ, không thể bóc tách được. Sau đó, chúng tôi đã dùng chuột nhất trắng trưởng thành, tuyến tiền liệt có lớn hơn, nhưng vẫn nhỏ, nên khó bóc tách để cân. Như vậy là không thành công.

3.1.2. Nghiên cứu gây phì đại tuyến tiền liệt ở chuột cống trắng

Trước hết, chúng tôi nghiên cứu trên chuột cống trắng trưởng thành có khối lượng tuyến tiền liệt khá và dễ bóc tách. Nhưng tuyến tiền liệt ở từng cá thể to nhỏ không đều, có lẽ do ảnh hưởng của sự tiết testosterone nội sinh ở các cá thể khác nhau. Sau đó, chúng tôi thử trên chuột cống trắng đực gần trưởng thành, cân nặng 80-100g. Những chuột này, tuy tuyến tiền liệt nhỏ hơn, nhưng vẫn bóc tách được, đặc biệt là trong thí nghiệm, chuột lại được nuôi thêm một số ngày nữa, nên khối lượng tuyến tiền liệt đã to thêm lên, nhất là ở lô có dùng testosterone. Trong thí nghiệm này, khối lượng tuyến tiền liệt ít phân tán hơn, có lẽ là do testosterone nội sinh chưa nhiều. Vì vậy, thí nghiệm đạt yêu cầu của một phương pháp thực nghiệm.

Để loại bỏ nhiều hơn nguyên nhân do testosterone nội sinh gây ra, chúng tôi đã thiết tinh hoàn của chuột cống trắng trước khi thí nghiệm. Tuy nhiên, kết quả thu được không tốt bằng phương pháp dùng chuột cống trắng non không thiết. Do đó, chúng tôi cũng không dùng phương pháp này, mặc dù có ít triển vọng.

3.1.3. Chính lý liều testosterone

Chúng tôi đã nghiên cứu thử testosterone với nhiều liều khác nhau 10 µg/100g/ngày; 20 µg; 50 µg; 100µg/100g/ngày tiêm dưới da đùi cho chuột và thấy rằng liều testosterone càng cao, khối lượng tuyến tiền liệt càng lớn. Nhưng nếu dùng liều quá cao, khối lượng tuyến tiền liệt sẽ quá to và thuốc khó có khả năng biểu hiện được tác dụng trong mô hình gây tăng tuyến tiền liệt quá to. Cuối cùng, chúng tôi thấy dùng liều testosterone 100 µg/100g chuột trong một ngày là thích hợp nhất.

3.1.4. Số ngày dùng testosterone

Liều dùng ghi ở trên là liều dùng cho một ngày. Chúng tôi đã thăm dò dùng liên tục từ 3 đến 10 ngày và thấy dùng 7 ngày là tối ưu.

3.2. Xây dựng phương pháp gây phì đại và thử với cao nắng hoa trắng

Kết quả nghiên cứu xây dựng phương pháp gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone ở chuột cống trắng để nghiên cứu cao nắng hoa trắng được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone và tác dụng của cao nắng hoa trắng

Lô	n	Liều testosterone µg/100g	Liều nắng hoa trắng g/kg	Khối lượng tuyến tiền liệt mg/100g	% so với lô 1	P
1. Đối chứng sinh lý	9	-	-	26,3±5,8	100	-
2. Đối chứng bệnh lý	9	100	-	74,3±6,5	282	P _{1,2} <0,001
3. Gây bệnh + thuốc	9	100	3	47,9±5,2	182	P _{2,3} <0,01

Qua bảng trên, ta thấy trong lô đối chứng sinh lý, khối lượng trung bình của tuyến tiền liệt là 26,3±5,8 mg/100g chuột, còn ở lô đối chứng bệnh lý, gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone, khối lượng này là 74,3±6,5 mg/100g, gấp gần 3 lần (tăng 182%) với P<0,001 so với lô đối chứng sinh lý. Trong lô gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone, có dùng cao nắng hoa trắng, khối lượng trung bình tuyến tiền liệt là 47,9±5,2 mg/100g. So với lô đối chứng gây bệnh, không dùng thuốc, khối lượng trung bình tuyến tiền liệt giảm 35,4% với p<0,01.

IV. Bàn luận

4.1. Về mô hình gây phì đại tuyến tiền liệt đã xây dựng

Trong lô đối chứng sinh lý, khối lượng trung bình của tuyến tiền liệt là 26,3 mg/100g chuột,

còn ở lô đối chứng bệnh lý, gây phì đại bằng testosterone, khối lượng này là 74,3 mg/100g, tăng 182% (gấp gần 3 lần), với P<0,001. Sự khác nhau là rất có ý nghĩa, chứng tỏ mô hình gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone đã xây dựng là đáng tin cậy.

4.2. Tác dụng của cao nắng hoa trắng

Trong khi ở lô đối chứng bệnh lý, khối lượng trung bình của tuyến tiền liệt là 74,3 mg/100g chuột, thì lô dùng thêm cao lỏng nắng hoa trắng, với liều tính ra được liệu khô là 3 g/kg, khối lượng này chỉ là 47,9 mg/100g, giảm 35,4% so với lô đối chứng bệnh lý, với P<0,01. Điều đó chứng tỏ cao nắng hoa trắng có tác dụng ức chế sự phì đại của tuyến tiền liệt, kháng androgen và có khả năng được ứng dụng để điều trị chứng phì đại và u tuyến tiền liệt.

V. Kết luận

Đã xây dựng được phương pháp thực nghiệm gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosterone ở chuột cống trắng. Mô hình này đáng tin cậy và có thể

được dùng để nghiên cứu các thuốc ức chế sự phát triển của tuyến tiền liệt. Cao chiết từ lá cây năng hoa trắng, một cây thuốc trong y học cổ truyền Việt Nam [4], có tác dụng ức chế tốt sự phì đại của tuyến tiền liệt ở chuột cống trắng.

Tài liệu tham khảo

- 1). Nguyễn Bửu Triều, Ung thư tuyến tiền liệt, trong Bách khoa thư bệnh học, tập 1, trang 303, NXB Trung tâm biên soạn Từ điển Bách khoa Việt nam, 1991; 2). Dorfman R.I., Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1962, tập 111, t. 441; 3). Dorfman R.I., Methods in hormone research, tập 2, t. 288, NXB Academic Press, New york, 1962; 4). Võ Văn Chi, Từ điển cây thuốc Việt Nam, t. 803, NXB Y học, 1999.

Tap chí Dược liệu, tập 8, số 6/2003 (trang 176-179)

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CAO QUẢ NHÀU TRÊN THỂ TRẠNG VÀ HỆ THỐNG TẠO MÁU Ở ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

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

Trường Đại học Y Hà Nội

(Nhận bài ngày 24 tháng 10 năm 2003)

Summary

Studies on Effects of *Morinda citrifolia* Fruit Extract on Constitution and Hematogenesis in Rats

Semi-dried extract of Morinda citrifolia fruit (1ml contains 2g fresh fruit) was used to evaluate it's influence on general status, body weight and hematogenesis in experimental rabbits.

The results show that the extract in daily oral doses of 6g/kg and 12g/kg body weight (corresponding to 10 and 20 times of the clinical dose, respectively) in a 30-day course have not influenced the general status, the body weight and the blood forming function.

Key words: Morinda citrifolia Fruit, Hematogenesis, Body Weight, Rabbit.

1. Đặt vấn đề

Cây nhàu (*Morinda citrifolia* L. - Rubiaceae) mọc nhiều ở các tỉnh miền Trung, miền Nam Việt Nam và nhiều nước khác trên thế giới. Theo kinh nghiệm dân gian, nước sắc rễ cây tươi hoặc sao cháy cạnh có tác dụng hạ huyết áp, giảm đau gân xương, chống nhiễm khuẩn, bồi bổ cơ thể...[2]. Một số tác giả Đào Văn Phan và cộng sự(1981), Phan Thị Phi Phi và cộng sự (1996) đã chứng minh nước sắc rễ nhàu ở dạng sao hoặc không sao có tác dụng an thần, giảm đau, hạ huyết áp, kích thích miễn dịch [3,4]. Tuy nhiên, nguồn rễ nhàu để làm thuốc có giới hạn, trên thực tế nhân dân ở miền Nam Việt Nam và nhiều nước khác trên thế giới vẫn dùng quả nhàu ngâm với rượu để uống nhằm

giảm đau xương, bồi bổ cơ thể. Do đó, để có cơ sở khoa học cho việc đánh giá tác dụng của quả nhàu, chúng tôi tiến hành nghiên cứu sự ảnh hưởng của cao quả nhàu trên thể trạng và hệ thống tạo máu.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Chất liệu và đối tượng nghiên cứu

- Cao mềm quả nhàu với tỷ lệ 1/5 do Xí nghiệp Dược phẩm trung ương 25 cung cấp, được chiết xuất bằng ethanol, sau đó cho bay hơi hoàn toàn (1g cao mềm tương đương 5g dược liệu khô). Khi sử dụng, cao được pha loãng bằng nước cất đến tỷ lệ 1/2.

- Hoá chất và máy huyết học tự động ABC (Animal Blood Counter) của Ugo-Basile, Italy.

- Đối tượng: Thỏ cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 2,0 - 2,5 kg, do Trung tâm nghiên cứu Dê và Thỏ Sơn Tây cung cấp. Thỏ được nuôi dưỡng đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm bộ môn Dược lý, trường đại học Y Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Thỏ được chia thành 3 lô.

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

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

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

Thỏ ở cả 3 lô được uống dung môi hoặc thuốc thử vào 8 giờ sáng, liên tục trong 30 ngày và được

theo dõi tình trạng chung, trọng lượng cơ thể và các chỉ số đánh giá chức phận tạo máu vào 3 thời điểm trước và sau uống thuốc 15 ngày và 30 ngày: số lượng hồng cầu, số lượng tiểu cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, hematocrit, huyết sắc tố, thể tích trung bình hồng cầu.

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

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Tình trạng chung

Trong suốt thời gian uống thuốc, ở tất cả các lô thỏ vẫn được ăn uống bình thường, lông mượt, phân không thay đổi.

3.2. Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến thể trọng của thỏ

Bảng 1: Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến thể trọng của thỏ

Thời gian	Cân nặng (kg)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=6)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,3	2,2 ± 0,3	p > 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	2,2 ± 0,2	2,2 ± 0,2	2,3 ± 0,2	p > 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	2,2 ± 0,2	2,2 ± 0,3	2,3 ± 0,2	p > 0,05
p (test trước- sau)	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	

Kết quả ở bảng 1 cho thấy thỏ ở cả hai lô trị và lô đối chứng đều tăng trọng lượng cơ thể nhưng không có sự khác biệt so với trước dùng thuốc và giữa các lô với nhau (p>0,05).

3.3 Ảnh hưởng của cao quả nhàu lên một số chỉ số huyết học trong máu thỏ

Bảng 2: Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến số lượng hồng cầu của thỏ

Thời gian	Số lượng hồng cầu (triệu/mm ³)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=6)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	5,2 ± 0,3	5,3 ± 0,3	5,3 ± 0,2	p > 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	5,4 ± 0,6	5,4 ± 0,5	5,4 ± 0,3	p > 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	5,0 ± 0,4	5,1 ± 0,6	5,2 ± 0,6	p > 0,05
p (test trước- sau)	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	

Kết quả ở bảng 2 cho thấy cao quả nhàu với liều 6g/kg và 12g/kg dùng liên tục trong 30 ngày, không làm ảnh hưởng đến số lượng hồng cầu của

thỏ so với trước uống thuốc và so với lô đối chứng (p>0,05).

Bảng 3: Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến thể tích trung bình hồng cầu của thỏ

Thời gian	MCV (fm ³)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=6)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	63,6 ± 2,9	63,5 ± 2,6	65,3 ± 3,7	p > 0,05

Sau uống thuốc 15 ngày	63,3 ± 3,0	62,8 ± 1,3	63,3 ± 2,8	p > 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	63,9 ± 4,3	63,9 ± 4,0	63,4 ± 5,3	p > 0,05
p (test trước- sau)	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	

Kết quả ở bảng 3 cho thấy thỏ ở cả hai lô trị dùng câu thay đổi không có ý nghĩa so với trước uống thuốc 15 ngày và 30 ngày liên tục, thể tích dùng thuốc và so với lô đối chứng (p>0,05).

Bảng 4: Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến huyết sắc tố của thỏ

Thời gian	Huyết sắc tố (g/dl)			p (so với đối chứng)
	Lô đối chứng (n=6)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	11,2 ± 0,7	11,9 ± 0,7	11,3 ± 0,7	p > 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	10,8 ± 1,3	11,9 ± 0,9	11,6 ± 0,7	p > 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	11,0 ± 1,0	11,5 ± 0,9	11,7 ± 1,2	p > 0,05
p (test trước- sau)	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	

Kết quả ở bảng 4 cho thấy sau 15 ngày và 30 ngày uống thuốc liên tục, huyết sắc tố ở hai lô trị không thay đổi so với trước dùng thuốc và so với lô đối chứng (p>0,05).

Bảng 5: Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến số lượng bạch cầu của thỏ

Thời gian	Số lượng bạch cầu (nghìn/mm ³)			p (so với đối chứng)
	Lô chứng đối (n=6)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	14,3 ± 3,5	14,1 ± 2,3	14,2 ± 1,9	p > 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	15,0 ± 2,0	16,9 ± 2,2	16,9 ± 3,6	p > 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	13,2 ± 3,0	14,9 ± 2,7	15,5 ± 4,5	p > 0,05
p (test trước- sau)	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	

Bảng 6: Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến công thức bạch cầu của thỏ

Thời gian	Thành phần	Công thức bạch cầu (%)			p (so với đối chứng)
		Lô chứng đối (n=6)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	Lympho	75,6 ± 7,9	81,3 ± 22,4	75,0 ± 10	p > 0,05
	Trung tính	23,0 ± 8,1	22,0 ± 11,5	25,0 ± 9,8	
Sau uống thuốc 15 ngày	Lympho	73,1 ± 14,1	81,6 ± 9,3	81,1 ± 6,8	p > 0,05
	Trung tính	26,9 ± 14,1	18,3 ± 9,1	18,4 ± 6,6	
Sau uống thuốc 30 ngày	Lympho	66,9 ± 10,2	76,0 ± 10,8	75,6 ± 14,3	p > 0,05
	Trung tính	33,1 ± 10,2	23,9 ± 10,7	24,4 ± 10,7	
p (test trước- sau)		p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	

Kết quả ở bảng 6 cho thấy tỷ lệ bạch cầu liên tục so với trước khi dùng thuốc và so với đối lympho và đa nhân trung tính thay đổi không có ý nghĩa ở 2 lô thỏ dùng thuốc 15 ngày và 30 ngày (p>0,05).

Bảng 7: Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến số lượng tiểu cầu của thỏ

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (nghìn/mm ³)			p (so với đối chứng)
	Lô chứng đối (n=6)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	

Trước uống thuốc	353,5 ± 5,2	353 ± 124,2	354 ± 105	p > 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	357,1 ± 80,5	372,6 ± 109,1	328,5 ± 115,6	p > 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	406 ± 90,1	377,7 ± 36,6	324 ± 111,3	p > 0,05
p (test trước- sau)	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	

Kết quả ở bảng 7 cho thấy sau 15 ngày và 30 ngày uống thuốc liên tục, số lượng tiểu cầu thay đổi không có ý nghĩa ở hai lô thử trị so với trước khi dùng thuốc và so với lô đối chứng (p>0,05).

Bảng 8: Ảnh hưởng của cao quả nhàu đến hematocrit của thỏ

Thời gian	Hematocrit (%)			p (so với đối chứng)
	Lô chứng đối (n=6)	Lô trị 1 (n=10)	Lô trị 2 (n=10)	
Trước uống thuốc	32,4 ± 1,9	34,4 ± 1,7	34,8 ± 2,2	p > 0,05
Sau uống thuốc 15 ngày	33,8 ± 3,6	33,4 ± 2,2	34,4 ± 2,5	p > 0,05
Sau uống thuốc 30 ngày	32,9 ± 3,2	32,4 ± 2,8	32,8 ± 2,8	p > 0,05
p (test trước- sau)	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	

Kết quả ở bảng 8 cho thấy hematocrit thay đổi không có ý nghĩa ở hai lô trị dùng thuốc 15 ngày và 30 ngày liên so với trước khi dùng thuốc và so với lô đối chứng (p>0,05).

4. Bàn luận

4.1. Về tình trạng chung và trọng lượng cơ thể

Từ những kết quả nghiên cứu đạt được qua thực nghiệm, chúng tôi thấy sau 30 ngày uống thuốc và uống dung môi liên tục, thỏ ở các lô vẫn ăn uống, hoạt động bình thường, lông mượt, phân không thay đổi và trọng lượng thỏ ở hai lô trị không giảm cân so với lô đối chứng và so với trước khi dùng thuốc. Điều này cho thấy thuốc không ảnh hưởng đến sự phát triển của thỏ.

4.2. Về ảnh hưởng trên cơ quan tạo máu

Số lượng và chất lượng tế bào máu phản ánh tình trạng của cơ quan tạo máu nên mỗi khi có tác nhân ảnh hưởng đến cơ quan đó sẽ tạo nên sự thay đổi về số lượng và chất lượng tế bào máu [1]. Vì vậy, nếu thuốc có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết các thành phần của máu sẽ thay đổi.

Kết quả ở các bảng 2 - 8 cho thấy các chỉ số như số lượng hồng cầu, số lượng tiểu cầu, số lượng

bach cầu, công thức bạch cầu, huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, đều không có sự thay đổi ở hai lô dùng thuốc liên tục 15 ngày và 30 ngày so với lô đối chứng và so với trước khi dùng thuốc.

Điều này cho thấy cao quả nhàu ở liều 6g/kg và 12g/kg cao gấp 10 và 20 lần liều dùng trên lâm sàng, dùng liên tục 30 ngày không ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả của Đào Văn Phan, Nguyễn Trọng Thông, dùng cao rượu rễ nhàu liều 8g/kg liên tục trong 30 ngày trên thỏ, không làm thay đổi các chỉ số số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, huyết sắc tố so với trước dùng thuốc [3].

Theo Wang MJ. và cộng sự (2002), quả nhàu rất ít độc, dùng liên tục trong hơn một tháng trên nhiều súc vật vẫn chưa phát hiện được độc tính [6]. Cũng theo các tác giả trên (2000), thành phần hoá học chính của quả nhàu là anthraglycosid, trong đó chủ yếu là D-glucopyranosyl, D-glucopyranose và D-gluco-pyranosid [5] đều là những chất ít độc. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trong và ngoài nước.

Tài liệu tham khảo

- 1). Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (2001), Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng, Nhà xuất bản Y học, tr 112-162; 2). Đỗ Tất Lợi (1999), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, tr 306-307; 3). Nguyễn Trọng Thông (1981), Tác dụng dược lý của cao rượu rễ Nhàu, Luận văn tốt nghiệp Bác sỹ nội trú, Trường Đại học Y Hà Nội; 4). Phạm Huy Quyến (1996), Tác dụng kích thích miễn dịch của dịch chiết toàn phần rễ Nhàu trên súc vật thực nghiệm, Luận án Tiến sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội; 5). Wang MJ., Kikuzaki H., Jin Y. (2000), *Natural Products*, Aug, 1182-1184; 6). Wang MJ., West B., Jensen C. (2002), *Acta Pharmacol Sin*, Dec, 1127-1141.

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM VÀ GIẢM ĐAU TRÊN THỰC NGHIỆM CỦA CÁC DẠNG BÀO CHẾ KHÁC NHAU TỪ CỒN XOA BÓP

Đào Thị Vui, Nguyễn Hoàng Anh, Phạm Ngọc Hùng
Trường ĐH Dược Hà nội

(Nhận bài ngày 23 tháng 10 năm 2003)

Summary

Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Different Formulations Made from a Massage Tincture

In order to improve efficacy, safety and convenience of a massage tincture, a traditional anti-inflammatory and analgesic prescription, various formulations have been made from it and their effects have been evaluated experimentally using the tincture and diclofenac gel 2%, a patent medicine of the kind, as reference preparations. The results show that fomulations of 5% propylene glycol and emulgel are more effective in anti-inflammation and analgesia than the tincture itself.

Key words: Massage Tincture, Formulations, Anti-inflammation, Analgesia.

Cồn xoa bóp là một chế phẩm có nguồn gốc dược liệu đã được sử dụng trên lâm sàng với mục đích giảm đau, chống viêm và là một chuyên luận trong Dược điển Việt Nam III [1]. Với mục đích hiện đại hóa các thuốc cổ truyền, tăng cường hiệu lực điều trị, đảm bảo an toàn và thuận tiện cho người sử dụng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu chuyển cồn xoa bóp từ dạng dịch chiết cồn sang một số dạng bào chế khác. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau và chống viêm của các dạng bào chế đó trên mô hình thực nghiệm gây viêm bằng carragenin và bằng chấn thương thực nghiệm, có so sánh đối chiếu với tác dụng của cồn xoa bóp và diclofenac gel 2%.

1. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

1.1. Thuốc nghiên cứu

Dịch chiết cồn xoa bóp với thành phần của 11

dược liệu theo công thức I của Dược điển Việt Nam III gồm mã tiền, huyết giác, ô đầu, long não, đại hồi, một dược, địa liên, nhũ hương, đinh hương, quế, gừng, được chiết 2 lần bằng phương pháp ngâm lạnh trong 5 ngày với ethanol 90°. Dịch chiết cồn xoa bóp đậm đặc do Công ty Dược phẩm TW III Hải phòng cung cấp, đạt tiêu chuẩn qui định trong Dược điển Việt Nam III.

Các dạng bào chế khác nhau của cồn xoa bóp được tiến hành dưới dạng dung dịch (CT1, CT2, CT3) bằng phương pháp hòa tan, dạng nhũ dịch (CT4, CT5) và dạng emulgel (CT6) bằng phương pháp nhũ hóa trực tiếp từ dịch chiết cồn xoa bóp. Các tá dược sử dụng đều đạt tiêu chuẩn của ĐĐVN III, BP98 hoặc USP 23. Thành phần công thức các chế phẩm dạng dung dịch, nhũ dịch và emulgel được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Công thức các chế phẩm của cồn xoa bóp

Thành phần	Khối lượng (g)					
	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	CT6
Tween 80	1			3	3	3
Propylen glycol (PG)			5	4	4	12
Dimethyl sulfoxid (DMSO)		1		1	1	
Dầu thầu dầu				3		
Dầu đậu nành					3	
Isopropyl myristat (IPM)				1	1	
Span 80				0,5	0,5	1

Dầu parafin						10.
Vaselin						12
Alcol cetylic						10
Carbopol						2
Dịch chiết côn xoa bóp đậm đặc gấp 2 lần công thức được điển	50	50	50	50	50	50
Ethanol 75°	49	49	45	37,5	37,5	

1.2. Thuốc so sánh: Diclofenac (Voltarene gel 2%)

1.3. Phương pháp nghiên cứu

1.3.1. Tác dụng chống viêm

Tác dụng chống viêm của dịch chiết côn xoa bóp (CXB), các công thức chuyển dạng bào chế (CT1 – CT6) và của Voltarene được đánh giá trên hai mô hình:

- Mô hình gây phù bằng carragenin theo Winter (1962) [6]. Phản ứng viêm được hình thành bằng tiêm dung dịch carragenin 1% vào gan bàn chân phải của chuột.

- Mô hình gây chấn thương thực nghiệm theo Riesterer (1970) có cải tiến [5]. Phản ứng viêm được hình thành sau khi thả một quả nặng 100 g rơi tự do từ độ cao 50 cm dọc theo ống nhựa đã được đặt sát bàn chân phải của chuột.

1.3.2. Tác dụng giảm đau

Tác dụng giảm đau được tiến hành theo phương pháp của Randall - Selitto [2,3, 4] trên máy đo đau bằng cách ép chân của Ugo-Basile(Italia). Thứ tự các bước như sau:

- Xác định ngưỡng đau cơ sở trung bình : Đo ngưỡng đau cơ sở 3 lần (2 lần cách nhau 1 giờ vào ngày trước ngày thí nghiệm) và 1 lần vào ngày thí nghiệm khi chưa dùng thuốc, rồi lấy giá trị trung bình.

- Tiêm tác nhân làm tăng độ đau là carragenin 1%, 0,1 ml vào lòng bàn chân phải sau cho mỗi chuột.

- Bôi thuốc 3 lần vào các thời điểm 1 giờ trước khi tiêm carragenin, ngay sau khi tiêm khi tiêm carragenin và 1 giờ sau khi tiêm carragenin.

- Kiểm tra lại ngưỡng đau của chuột sau khi tiêm carragenin 3 giờ.

1.4. Tính toán kết quả

Kết quả được xử lý theo phương pháp thống kê trong y, sinh học.

- Tác dụng chống viêm được xác định bằng độ phù và phần trăm ức chế phù ở lô thử so với lô đối chứng.

$$I\% = \frac{V_c - V_t}{V_c} \times 100$$

Trong đó, V_c là trung bình độ tăng thể tích chân ở lô chứng, V_t là trung bình độ tăng thể tích chân ở lô thử.

- Tác dụng giảm đau được xác định bằng phần trăm độ giảm ngưỡng đau so với ngưỡng đau cơ sở và phần trăm tăng ngưỡng đau của lô thử so với lô đối chứng.

Phần trăm tăng ngưỡng đau ở lô thử so với đối chứng được tính theo công thức

$$T\% = \frac{\%ND \text{ đối chứng} - \%ND \text{ thử}}{\%ND \text{ đối chứng}}$$

Trong đó, % ND (ngưỡng đau) đối chứng là phần trăm độ giảm ngưỡng đau trung bình ở lô đối chứng, %ND thử là phần trăm độ giảm ngưỡng đau trung bình ở lô thử.

2. Kết quả và bàn luận

2.1. Tác dụng chống viêm

2.1.1. Mô hình gây viêm bằng carragenin

Tác dụng chống viêm của côn xoa bóp và các thuốc chuyển dạng bào chế của nó được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các công thức bào chế từ côn xoa bóp đến độ phù chân chuột gây bởi carragenin

Nhóm thuốc	Độ phù chân chuột	% ức chế phù so với đối chứng	P
Nhóm đối chứng (côn 75°) n=7	0,89 ± 0,024		
Côn xoa bóp n=7	0,754 ± 0,040	15,41	<0,001*

CT1 (Tween 5%) n=7	0,721± 0,039	19,09	<0,05*; >0,05**
CT2 (DMSO 1%) n=7	0,821±0,047	7,88	>0,05*; >0,05**
CT3 (PG5%) n=7	0.604±0,029	32,23	<0,001*; <0,01**
CT4 (nhũ tương dầu thầu dầu) n=7	0,686±0,040	23,10	<0,001*; >0,05**
CT5 (nhũ tương dầu đậu nành) n=7	0,707±0,055	20,69	<0,01*; >0,05**
CT6 (emulgel) n=7	0,675±0,036	24,30	<0,001*; >0,05**
Voltarene n=7	0,333±0,047	62,67	<0,001*; <0,001**

(*) P so với chứng; (**) P so với cồn xoa bóp.

2.1.2. Mô hình gây chấn thương thực nghiệm

Bảng 3 : Ảnh hưởng của các công thức bào chế từ cồn xoa bóp đến độ phù chân chuột gây bởi chấn thương thực nghiệm

Nhóm thuốc	Độ phù chân chuột	% ức chế phù so với đối chứng	P
Nhóm đối chứng (cồn 75 ⁰)	0,32 ± 0,030		
Cồn xoa bóp	0,16 ± 0,029	50,0	<0,001*
CT1(Tween 5%)	0,189 ± 0,034	41,07	<0,01*; >0,05**
CT2(DMSO 1%)	0,226 ± 0,025	29,46	<0,05*; >0,05**
CT3 (PG5%)	0,843 ± 0,019	73,66	<0,001*; <0,05**
CT4 (nhũ tương dầu thầu dầu)	0,163 ± 0,039	49,11	<0,01*; >0,05**
CT5 (nhũ tương dầu đậu nành)	0,224 ± 0,028	29,91	<0,05*; >0,05**
CT6 (emulgel)	0,072 ± 0,038	77,60	<0,001*; <0,05**
Voltarene	0,041 ± 0,03	87,05	<0,001*; < 0,01**

(*) P so với chứng; (**) P so với cồn xoa bóp.

Bàn luận :

Kết quả thu được cho thấy ở cả 2 mô hình, các công thức bào chế đều có tác dụng gây phù và chống viêm rõ rệt. Có sự tương ứng về hiệu quả chống viêm của các công thức bào chế giữa 2 mô hình:

Mô hình carragenin: Tác dụng của voltagen > PG 5% > emulgel > nhũ dịch dầu thầu dầu

Mô hình chấn thương thực nghiệm: Tác dụng của voltagen > emulgel > PG5% > nhũ dịch dầu thầu dầu. Giữa PG5% và emulgel cho kết quả chống viêm tương đương nhau (P>0,05). Tuy nhiên,

mô hình gây phù bằng chấn thương thực nghiệm có ưu điểm hơn là nó tạo độ phù ổn định và mức độ phù vừa phải (25%) tránh được mức độ phù quá mạnh, đôi khi không hồi phục của carragenin. Hơn nữa, mô hình này gần với thực tế hơn (vì thuốc cồn xoa bóp chủ yếu dùng để giảm đau chống viêm, sưng do chấn thương).

2.2. Tác dụng giảm đau

Từ kết quả thu được ở phần nghiên cứu tác dụng chống viêm, chúng tôi chọn 2 công thức đại diện cho 2 dạng bào chế có tác dụng tốt nhất là PG5% và emulgel để tiếp tục nghiên cứu tác dụng giảm đau. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4: Tác dụng giảm đau của các công thức bào chế từ cồn xoa bóp

Lô	Ngưỡng đau giảm so với ban đầu	% tăng ngưỡng đau so với đối chứng	P
Đối chứng (cồn 75 ⁰) n=8	50,49±15,63		
Cồn xoa bóp n=9	20,63± 6,41	59,15	<0,001*
PG 5% n=8	12,41± 2,95	75,43	<0,001*; <0,01
Emulgel n=9	11,18± 3,24	77,86	<0,001*; <0,001**
Voltarene n=8	(-)55,33±17,08	209,59	< 0,001*; < 0,001**

(-) Tăng ngưỡng đau so với ban đầu. * P so với đối chứng; **P so với cồn xoa bóp.

Thông thường, một thuốc được coi là có tác dụng giảm đau khi nó làm tăng ngưỡng đau so với ngưỡng đau ban đầu hoặc làm tăng ngưỡng đau so với lô đối chứng. Côn xoa bóp và các chế phẩm từ nó tuy làm giảm ngưỡng đau so với ban đầu nhưng đều làm tăng ngưỡng đau so với lô đối chứng. Như vậy, các thuốc này đều có tác dụng giảm đau, nhưng tác dụng giảm đau của nó yếu hơn tác dụng gây tăng đau của carragenin.

Các công thức chuyển dạng bào chế PG5% và emulgel có tác dụng giảm đau mạnh hơn côn xoa bóp ($P < 0,01$).

Riêng voltarene không làm giảm ngưỡng đau mà còn có tác dụng tăng ngưỡng đau so với ngưỡng đau cơ sở ban đầu. Điều này chứng tỏ tác dụng giảm đau của voltarene mạnh hơn tác dụng gây đau của carragenin.

3. Kết luận

Chúng tôi đã áp dụng thành công 2 mô hình

gây viêm thực nghiệm và mô hình giảm đau để đánh giá hiệu lực chống viêm, giảm đau tại chỗ của các công thức bào chế cải tiến từ côn xoa bóp như mô hình gây phù bằng carragenin 1%, mô hình gây phù chấn thương thực nghiệm và mô hình giảm đau bằng ép chân chuột. Các mô hình này thích hợp cho việc nghiên cứu các chế phẩm đông được có nhiều thành phần phức tạp, khó đánh giá sinh khả dụng *in vitro*.

– Trong 2 mô hình gây viêm, mô hình chấn thương thực nghiệm cho kết quả tốt hơn về hiệu lực điều trị và phù hợp với tác dụng điều trị của thuốc.

– Đã tìm được 2 công thức thuốc có hiệu lực chống viêm và giảm đau mạnh hơn chế phẩm côn xoa bóp thường dùng là emulgel và PG 5%. Chúng tôi dự kiến dùng các công thức bào chế này đồng thời cải tiến đồ bao gói thuận tiện cho người sử dụng để thay thế cho dạng côn xoa bóp cổ truyền.

Tài liệu tham khảo

1). Dược điển Việt Nam III (2002). Chuyên luận côn xoa bóp, tr 516; 2). Đỗ Trung Đàm. Xác định ngưỡng đau bằng máy đo đau để nghiên cứu thuốc giảm đau. Tạp chí dược học 1997, số 8, tr 18-21; 3). Porzio. S et al. Efficacy of a new topical gel- spray formulation of ketoprofen lysine salt in the rat: percutaneous permeation *in vitro* and *in vivo* and pharmacological activity. Pharmacol. Res 1998; 37(1): 41- 47; 4). Randall L.O. Selitto. JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue, Arch. Int. Pharmacody. 1957; 111, 409- 419; 5). Riesterer L and Jaques R. The influence of anti-inflammatory drugs on the development of an experimental traumatic paw edema in the rat. Pharmacology 1970; 3: 243 – 251; 6). Winter CA, Risley EA and Nuss GW. Carrageenin-induced edema in high paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med 1962; 111: 544 – 547.

Tạp chí Dược liệu, tập 8, số 6/2003 (trang 183-186)

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA *MACROTERMES ANADELEI* VÀ *POLYRACHIS DIVES* LÊN QUÁ TRÌNH HỌC VÀ NHỚ

Nguyễn Thị Vân Thái

Bệnh Viện Y học cổ truyền trung ương

(Nhận bài ngày 28 tháng 5 năm 2003)

Summary

Effects of *Macrotermes anadelei* and *Polyrachis dives* on Process of Learning and Memorization

Water extracts of Macrotermes anadelei and Polyrachis dives were shown to improve memorization power of experimental rats in one trial learning avoidance test, and mice in Morris Water Maze.

Key word: Macrotermes anadelei, Polyrachis dives, Learning, Memorization.

I. Đặt vấn đề

Từ xa xưa, côn trùng đã được sử dụng nhiều trong văn hoá ẩm thực và trong y học cổ truyền. Tác dụng kiện lực, tráng dương của kiến gai đen (hắc mã nghi) và của mối (bạch nghi nê) đã được ghi nhận trong Nam dược thần hiệu và Lĩnh nam bản thảo [9,10]. Để góp phần chứng minh cơ sở khoa học của kinh nghiệm dân gian sử dụng côn trùng và sinh phẩm của chúng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tác dụng tăng cường trí nhớ của kiến (*Polyrachis dives*) và mối (*Macrotermes anadelei*) trên động vật thí nghiệm.

II. Dược liệu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Dược liệu

- Kiến, mối được nghiên cứu trong nước theo tỷ lệ 1:1 (1gam trong 1ml). Chuột được điều trị liên tục trong 21 ngày với liều 10g/kg (0,2ml/chuột nhất/ngày-1ml/chuột cống/ngày).

2.2. Động vật thí nghiệm

+ Chuột cống trắng trưởng thành (13 tuần), có trọng lượng trung bình 100 - 110 g, phát triển sinh lý bình thường, không phân biệt đực cái.

+ Chuột nhắt trắng (7 tuần tuổi) phát triển sinh lý bình thường, không phân biệt đực, cái, có trọng lượng trung bình từ 18 đến 20 gam.

Động vật thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô : 3 lô được uống các dịch nghiên cứu, trứng kiến với liều 10g/kg, *Ginkgo biloba* (40mg/kg) và 1 lô đối chứng uống cùng một thể tích nước 0,2ml/chuột nhắt; 1ml/chuột cống.

- Chuột thí nghiệm được nuôi dưỡng trong điều kiện đầy đủ thức ăn, nước uống và chiếu sáng chu kỳ 12h sáng / 12h tối.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

*Tránh thụ động một lần (one trial learning avoidance test) đã được nhiều tác giả [4, 5, 11, 12] sử dụng trong nghiên cứu đánh giá tác dụng của thuốc thử lên quá trình học và nhớ. Tác dụng tăng cường trí nhớ của thuốc nghiên cứu được đánh giá bằng mức chênh lệch (%) của thời gian lưu lại buồng sáng hay còn gọi là thời gian đập tắt phản xạ "sợ tối" so với lô đối chứng.

*Thời gian tiềm tàng (TGTT) phản xạ tìm phao cứu hộ theo mô hình chuột bơi Morris [7] được sử dụng để đánh giá quá trình học và nhớ của động vật thí nghiệm. Tác dụng của thuốc nghiên cứu lên quá trình học và nhớ được tính bằng tỷ lệ % thời

gian tìm thấy phao cứu hộ của động vật thí nghiệm so với thời điểm xuất phát. Đánh giá tác dụng tăng cường trí nhớ của thuốc thử bằng cách so sánh sự rút ngắn tỷ lệ (%) thời gian tiềm tàng của phản xạ tránh stress bơi nước giữa các lô nghiên cứu và đối chứng. Theo dõi chuột bơi trong 9 ngày liên tiếp.

- Test huấn luyện được tiến hành theo các bước như sau:

+ Tránh thụ động: Đặt từng chuột vào buồng được chiếu sáng bằng bóng điện 100W. Theo thói quen tự nhiên, chuột chui ngay qua lỗ nhỏ sang buồng tối (đã cài đặt sẵn dòng điện 0,8mA), bị điện giật và ngay lập tức phải quay trở lại buồng sáng cùng với sự ghi nhớ mối nguy hiểm (shock điện) tại buồng tối. Các test kiểm tra trí nhớ của chuột được tiến hành vào các thời điểm: 1, 3, 7, 14, 21 ngày sau test huấn luyện. Test kiểm tra được tiến hành tương tự test huấn luyện chỉ khác là buồng tối không có kích thích điện. Và chuột sẽ lưu lại buồng sáng vì nhớ mối nguy hiểm trong buồng tối. Test kiểm tra kết thúc khi chuột chạy sang buồng tối hoặc lưu lại buồng sáng trên 200 giây. Chỉ số nghiên cứu là thời gian chuột lưu lại buồng sáng (TGLLBS) của các lô thí nghiệm.

+ "Bể bơi" là chậu nhựa có đường kính 70 cm, với mực nước sâu 13 cm có nhiệt độ ổn định (25°C) trong suốt thời gian thí nghiệm. Bể bơi được kẻ sẵn đường phân chia thành 4 phần bằng nhau và phao cứu hộ (platform) được đặt tại một góc cố định cao hơn mặt nước 1 cm. Thả chuột vào bể bơi từ 4 điểm xuất phát khác nhau. Thời gian tiềm tàng (giây) để hình thành, củng cố phản xạ được tính từ thời điểm xuất phát cho tới khi chuột bơi tới phao cứu hộ để tránh việc bơi nước. Thời gian bơi tối đa của mỗi chuột trong 1 lần thí nghiệm là 60 giây, mỗi lần bơi cách nhau 5 phút.

- Các số liệu kết quả thí nghiệm được xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học.

- Công việc nghiên cứu được tiến hành tại bệnh viện Y học cổ truyền trung ương.

III. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

3.1. Thí nghiệm tránh thụ động một lần

Kết quả kiểm tra sau 24 giờ (sau test huấn luyện) cho thấy thời gian lưu lại buồng sáng của các lô nghiên cứu trong khoảng 187-195 (sec.), lô đối chứng thấp hơn (159 sec.).

Bảng 1: Thời gian (giây) dập tắt phản xạ “sợ tối” của chuột cống trắng

Sau test huấn luyện	Kiến (giây)	Mối (giây)	<i>G. biloba</i> (giây)	Đối chứng (giây)	P
24h.(1)	187.65 ± 12.42 100%	189.23 ± 10.91 100%	195.05 ± 4.87 100%	159.78 ± 18.27 100%	
72h.(2) (2)/(1).%	180.14 ± 19.82 95.99%	185.65 ± 13.25 98.11%	192.50 ± 7.42 98.69%	146.57 ± 21.41 91.73 %	a-b-c >0,05
1t.(3) (3)/(1).%	159.83 ± 24.71 85.17%*	163.33 ± 23.51 86.31% *	175.50 ± 28.43 89.97%*	114.33 ± 12.82 71.55%**	a-d <0,05
2t.(4) (4)/(1).%	100.65 ± 26.58 53.84%**	124.16 ± 19.34 65.61%**	142.50 ± 27.51 73.06%**	76.19 ± 13.17 47.68%**	b-d <0,05
3t.(5) (5)/(1).%	81.82 ± 13.89 43.60%**	89.35 ± 15.64 47.22%**	98.7 ± 19.82 50.60%**	38.25 ± 5.68 23.94%**	a-b-c>0,05

Ghi chú: p[(5), (4), (3), (2)-(1)] *<0.05 ; **<0.001

Thời gian lưu lại buồng sáng giảm dần sau test huấn luyện: tại thời điểm 3 ngày thời gian lưu lại buồng sáng (TGLLBS) của chuột thí nghiệm giảm chưa đạt ý nghĩa thống kê. Bảy ngày (1t.) sau test huấn luyện TGLLBS hay còn gọi là thời gian dập tắt phản xạ “sợ tối” của chuột thí nghiệm giảm đáng kể ở tất cả các lô nghiên cứu (85%-89%), giảm nhiều nhất ở lô đối chứng còn 71.55% (P<0.001). Sự khác biệt của tốc độ dập tắt phản xạ giữa các lô nghiên cứu có thể nhận thấy ở ngày thứ 14(2t.) sau test huấn luyện: Lô chuột thí nghiệm được uống dịch nghiền toàn phần kiến giảm còn 53.84% thấp hơn so với mối (65.61%) và *G. biloba* (73.06%), song cao hơn lô đối chứng uống nước (47.68%). Sự chênh lệch này thể hiện rõ hơn sau 3 tuần (3t.) kể từ khi thực hiện test huấn luyện.

So với thời điểm 24 giờ sau test huấn luyện, TGLLBS của lô đối chứng giảm còn 23.94%, lô *G. biloba* giảm còn một nửa (50.60%). Thời gian lưu

lại buồng sáng của lô chuột uống kiến giảm còn 43.60% và lô chuột được nhận dịch nghiền mối 47.22% với P<0.001, kém không đáng kể so với *G. biloba* (xem bảng và biểu đồ).

Như vậy, dịch nghiền toàn phần kiến, mối thể hiện rõ tác dụng tăng cường trí nhớ trên chuột thí nghiệm thử test một lần gây phản xạ “sợ tối” thụ động. Tại các thời điểm kiểm tra trí nhớ (1, 3, 7, 14, 21 ngày sau test huấn luyện) cho thấy tác dụng tăng cường trí nhớ của kiến, mối tương đương với *G. biloba* [4]; [5]; [11]; [12].

3.2. Thí nghiệm học bơi “Mê cung Morris”

Tác dụng tăng cường trí nhớ của thuốc thử được đánh giá bằng mức rút ngắn hơn thời gian tìm thấy phao cứu hộ của lô chuột thử thuốc so với lô đối chứng thông qua tỷ lệ (%) của tỷ số giữa TGTT tại thời điểm nghiên cứu so với ngưỡng xuất phát (100%). Kết quả được trình bày như sau:

Bảng 1: Thời gian bơi tới phao cứu hộ tại các thời điểm nghiên cứu so với ngưỡng xuất phát (%)

Lô thí nghiệm	Kiến (a)	Mối (b)	<i>G. biloba</i> (c)	Đối chứng (d)	P
Trước thí nghiệm	40,54 ± 5,92 100%	39,33 ± 6,14 100%	41,79 ± 9,08 100%	40,25 ± 8,78 100%	
Ngày thứ 1	49.48*	51.74*	43.02*	73.63	a-d < 0,05
Ngày thứ 2	37.35*	29.14*	30.58*	57.36	b-d < 0,05
Ngày thứ 3	27.15*	27.02*	19.48*	51.77	c-d < 0,05
Ngày thứ 4	18.96**	15.58**	18.86**	45.66	a-b-c >0,05
Ngày thứ 5	16.36**	11.13**	13.17**	34.98	a-b-c >0,05
Ngày thứ 6	10.53**	10.29**	7.96**	28.67	a-b-c >0,05
Ngày thứ 7	8.11**	6.99**	6.86**	24.74	a-b-c >0,05
Ngày thứ 8	7.01**	6.30**	6.01**	18.10	a-b-c >0,05
Ngày thứ 9	6.89**	5.12**	4.61**	14.31	a-b-c >0,05
Sau thí nghiệm	25.67	16.98	14.57	27.03	

Ghi chú: P (2);(3);(4)/(1)<0.05*, <0.001**

Thời gian bơi đến phao cứu hộ trong khoảng 30 – 50 giây ở thời điểm ban đầu, sau 9 ngày thí nghiệm rút ngắn còn 5-7 giây ở lô đối chứng và vẫn còn cao hơn các lô điều trị thuốc nghiên cứu (1,5-3 giây). Tỷ lệ rút ngắn thời gian các lô thí nghiệm: Lô kiến đạt 6,89% thấp hơn lô đối chứng (14,31%), song còn cao so với lô *G. biloba* (4,16%) và mối (5,12%). Thời gian tiềm tàng của tất cả các lô nghiên cứu đều tăng ở thời điểm sau khi ngừng thí nghiệm 72 giờ (xem bảng). Kết quả kiểm tra trí nhớ sau khi ngừng thí nghiệm cho thấy tốc độ đập tắt phản xạ của lô điều trị *G. biloba*, mối chậm hơn so với lô đối chứng và lô được uống dịch nghiền kiến. Kết quả thí nghiệm của chúng tôi phù hợp với quan điểm cho rằng phản xạ càng bền vững, càng khó đập tắt (Kogan, 1960). Song thí nghiệm cần được nhắc lại và chính kết quả thí nghiệm này là gợi ý cho nghiên cứu tiếp theo về sự kết hợp giữa kiến và mối. Theo y học cổ truyền, kiến có vị mặn, cay và hơi độc, có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, tiêu thũng, được dùng trong điều trị rắn cắn, mụn nhọt sưng đau... Trùng kiến hơi độc nhưng được dùng để bổ khí lực làm cho sống lâu trẻ đẹp [8], [9]. Hiện nay, ở một số nước, đã sử dụng trứng kiến trong điều trị chứng suy giảm sinh dục của nam giới. Ngoài ra, kiến còn có thể kết hợp với một số rau quả khác làm món ăn bổ dưỡng và chữa bệnh như: kiến đen xào mướp đắng hoặc ngâm dầu trị chứng viêm khớp phong tê thấp, tăng cường cơ năng, kéo dài tuổi thọ, chữa viêm gan mạn tính [3]... Kiến và mối có giá trị dinh dưỡng cao: Albumin 40-67%, 28 loại acid gốc amin tự do và có 8 loại acid amin không thay thế rất cần thiết cho cơ thể [1], [2]. Kết quả xác định thành phần hoá học [8] cho thấy: trong 1kg trứng

kiến chứa 235.72mg Zn và 1052.64mg Fe, còn trong 1 kg mối có 190.60mg Zn và 1490.80mg Fe,...). Với tổng số 46.89g% (trứng kiến) và 46,81g% (mối) hàm lượng acid amin toàn phần là những yếu tố giúp cho chúng ta càng hiểu thêm lý do tại sao từ xa xưa ông cha ta đã sử dụng côn trùng và sinh phẩm của chúng trong ẩm thực và trong y học.

Kết luận

1. Ở liều 10g/kg, dịch nghiền toàn phần trứng kiến thể hiện rõ tác dụng tăng cường trí nhớ trên động vật thí nghiệm, gây tăng có ý nghĩa thống kê thời gian đập tắt phản xạ “sợ tối” so với lô đối chứng uống nước. Sau test huấn luyện 21 ngày, thời gian lưu lại bóng sáng của lô chuột được uống dịch nghiền *Macrotermes anadelei* giảm còn 47.22%, ở lô chuột uống hỗn dịch *Polyrachis dives* là 43.60%, thấp hơn không đáng kể so với *G. biloba* (50.60%).

2. Kết quả thí nghiệm bơi Morris trên chuột nhắt trắng cho thấy rõ tác dụng thúc đẩy quá trình học và nhớ của dịch nghiền toàn phần *Macrotermes anadelei* và *Polyrachis dives* ở liều 10 g/kg. Ở lần bơi thứ 9, so với thời điểm xuất phát, thời gian bơi đến phao cứu hộ của lô chuột được uống dịch nghiền kiến giảm xuống còn 6.89%, ở lô chuột uống mối còn 5.12%, xấp xỉ lô chuột uống *G. biloba* (4.61%) trong khi ở lô chuột đối chứng là 14.31%.

Lời cảm ơn: Xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của chương trình “Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống”.

Tài liệu tham khảo

- 1). Võ Văn Chi, Từ điển Động vật và khoáng vật làm thuốc ở Việt Nam, NXB Y học, 1997; 2). Đỗ Tất Lợi, Cây thuốc, vị thuốc Việt Nam, NXB Y học, 2000; 3). Đỗ Hiệp, Chữa bệnh bằng thức ăn dân gian. Thức ăn đen chữa bệnh. Nhà xuất bản thanh niên-1998; 4). Trần Lưu Văn Hiến, Nguyễn Thị Vân Thái, Trịnh Hữu Hằng, Tạp chí nghiên cứu y dược học cổ truyền, số 6, 2001, tr.33-36; 5). Ngô ứng Long, Nguyễn Khắc Viện, Tạp chí dược học 1995, Số 1, tr.17-20; 6). Nguyễn Thị Vân Thái, Tạp chí sinh lý học Việt Nam, 2001, 5(2), 52-59; 7). Nguyễn Thị Vân Thái. Mô hình chuột bơi Morris (MWM) trong nghiên cứu tác dụng tăng cường trí nhớ của thuốc y học cổ truyền. Kỷ yếu công trình NCKH năm 2001-2002, Bộ Y Tế, Viện Y học cổ truyền Việt Nam, Hà Nội, tr.709-713; 8). Nguyễn Thị Vân Thái. Xác định hàm lượng aminoacid, hormon sinh dục và nguyên tố vi lượng trong cơ thể côn trùng. Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống. NXB Khoa học và kỹ thuật. Hà Nội, 2003. tr. 509-510 ; 9). Nguyễn Bá, Tính Nam dược thân hiệu, Viện nghiên cứu đông y 1987; 10). Lê hữu Trác, Lĩnh nam bản thảo, Viện nghiên cứu đông y, 1987; 11). Trần Yên, Tác dụng tăng cường trí nhớ của cao rễ đinh lăng trên động vật sau scopolamin và sau shock điện. Hội nghị khoa học Học viện quân y, 1992, tr.35-40; 12). H. Ohta, H. Watanabe, K. Matsumoto, 1993, *Phytotherapy*, 7, 42-52.

KIỂM NGHIỆM VỊ THUỐC HOÀNG TINH BẰNG PHƯƠNG PHÁP HIỂN VI

Nguyễn Việt Thân - Trường đại học Dược Hà Nội
Nguyễn Thị Chung - Công ty dược liệu Trung ương I
(Nhận bài ngày 14 tháng 2 năm 2003)

1. Đặt vấn đề

Vị thuốc hoàng tinh ở nước ta hiện nay được thu hái từ loài hoàng tinh hoa đỏ (*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.) và hoàng tinh nhiều hoa (*Polygonatum cyrtonema* Hua.), họ Thiên môn (*Asparagaceae*).

Các loài hoàng tinh mọc hoang ở những rừng ẩm miền Bắc và một số vùng núi miền Trung. Dược liệu là thân rễ đã chế biến, có màu đen, mềm, dễ bị biến dạng, nhầm lẫn với thực địa và bị giả mạo. Để góp phần tránh những khiếm khuyết đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu về mặt hình thái và xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm vị hoàng tinh bằng phương pháp hiển vi.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Các loài hoàng tinh thu hái ở huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai và huyện Tủa Chùa, tỉnh Lai Châu.

2.2. Phương tiện và phương pháp nghiên cứu

Trong quá trình nghiên cứu sử dụng kính hiển vi chụp ảnh Paralux. Đặc điểm bột thân rễ được chụp qua kính hiển vi bằng camera kỹ thuật số, các kết quả được xử lý bằng phần mềm Corel photopaint-10.

3. Thực nghiệm và kết quả nghiên cứu

3.1. Đặc điểm thực vật cây hoàng tinh

Polygonatum kingianum Coll. et Hemsl. - Hoàng tinh hoa đỏ, hoàng tinh lá mọc vòng, củ com nếp. Cây cỏ, sống lâu năm, cao 1 - 1,2m. Thân rễ mập, màu trắng ngà, chia đốt. Lá hẹp, không cuống, mọc vòng 5-10 lá, đầu lá có mũi nhọn dài, quăn lại. Hoa màu đỏ, mọc rủ xuống ở kẽ lá, mỗi cuống mang 2 hoa. Quả mọng, hình trái xoan, màu xanh tím (ảnh 1).

Polygonatum cyrtonema Hua. - Hoàng tinh

nhiều hoa, hoàng tinh lá mọc cách, hoàng tinh dạng gừng. Cây cỏ, sống lâu năm. Thân rễ mập, mọc ngang, chia thành những đốt trên có sẹo to, lõm sâu. Thân đứng, nhẵn, cao khoảng 1m. Lá không cuống, mọc so le, hình trứng hoặc trái xoan. Hoa trắng, hình chuông, mọc ở kẽ lá. Quả mọng, hình cầu, khi chín màu tím đen (ảnh 2).

Thân rễ hoàng tinh có thể được chế biến theo nhiều cách khác nhau:

- Thân rễ cắt bỏ rễ con, rửa sạch ủ mềm, thái phiến dày, phơi hoặc sấy khô, được gọi là hoàng tinh.

- Thân rễ rửa sạch, trộn với rượu, cho vào thùng đậy nắp, đun cách thủy để dược liệu hút hết rượu, lấy ra cắt lát dày, phơi khô, là tửu hoàng tinh.

- Thân rễ rửa sạch thêm nước, đun cạn, đem phơi; làm như vậy nhiều lần đến khi rễ mềm, mặt ngoài và trong có màu đen, là thực hoàng tinh (ảnh 3).

3.2. Đặc điểm bột dược liệu

Dược liệu hoàng tinh có độ ẩm cao, khi nghiền nát tạo thành khối vón, lên kính trong nước, soi dưới kính hiển vi thấy những mảnh biểu bì dày (1), mảnh mô mềm thành mỏng (2) có thể mang những tế bào lớn chứa bó tinh thể calci oxalat hình kim, mảnh mạch xoắn riêng lẻ hay kết với nhau thành đám (3), nhiều tinh thể calci oxalat hình kim dài 0,1-0,2mm xếp thành bó hay rải rác (4) (ảnh 4). Bột của loài hoàng tinh hoa đỏ và hoàng tinh nhiều hoa đều có các đặc điểm này.

4. Ghi chú

4.1. Tên gọi của các loài hoàng tinh ở một số tài liệu chưa thống nhất:

- Dược điển Việt Nam xuất bản lần thứ ba quy định vị thuốc hoàng tinh (*Rhizoma Polygonati*) là thân rễ phơi hay sấy khô của cây diên hoàng tinh (*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.),

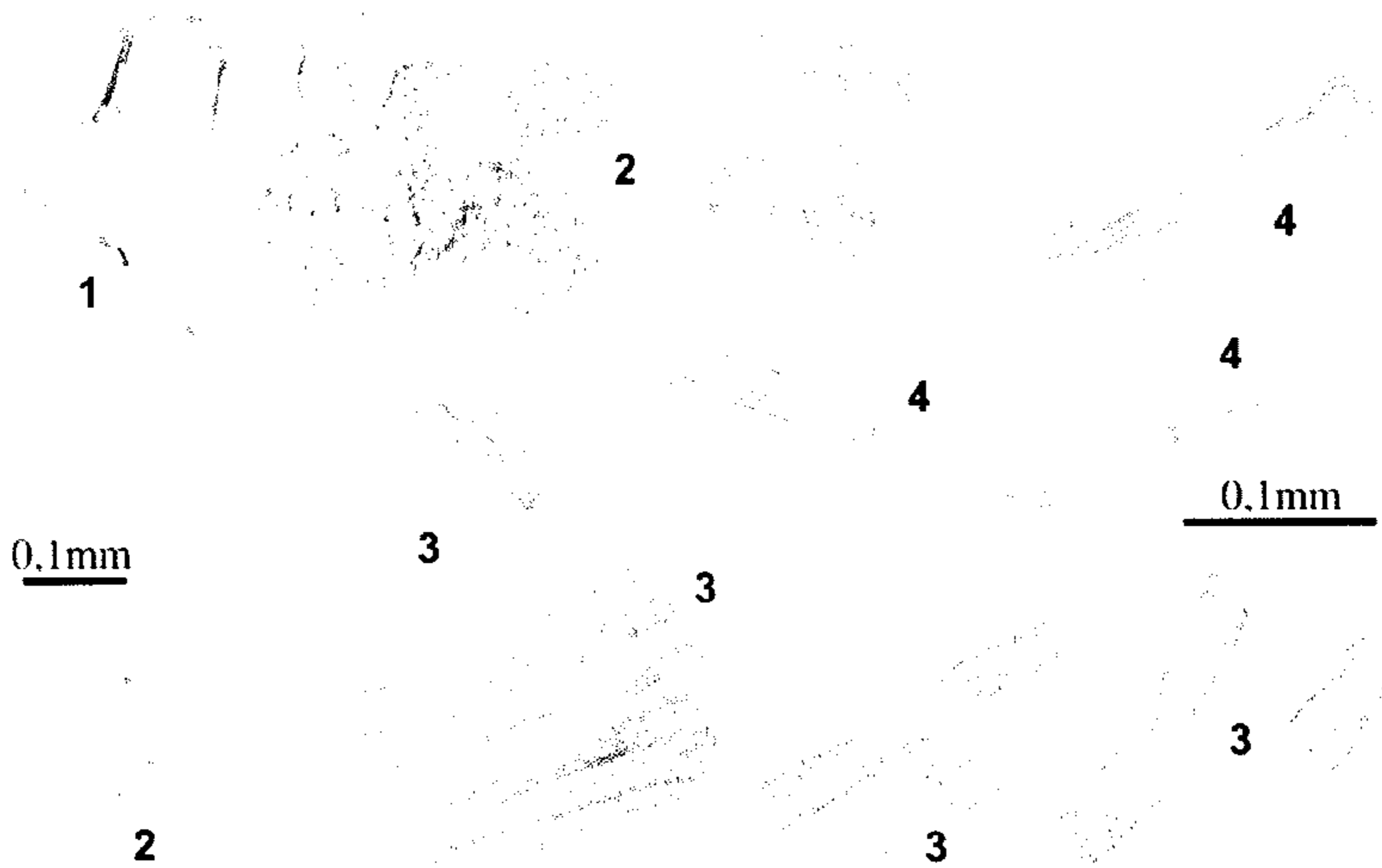


Ảnh 2. Cây hoàng tinh *Polygonatum cyrtonema*



Ảnh 3. Vị thuốc hoàng tinh (thực hoàng tinh)

◀ Ảnh 1. Cây hoàng tinh *Polygonatum kingianum*



Ảnh 4. Một số đặc điểm của bột hoàng tinh
1. Mảnh biểu bì, 2. Mảnh mô mềm, 3. Mảnh mạch, 4. Tinh thể calci oxalat

cây hoàng tinh (*Polygonatum sibiricum* Red.), cây hoàng tinh nhiều hoa (*Polygonatum cyrtoneura* Hua.). Dựa vào hình dạng của thân rễ, người ta còn phân biệt đại hoàng tinh, hoàng tinh đầu gà, hoàng tinh dạng gừng [1].

- Theo một số tài liệu Trung Quốc, loài *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl. được gọi là đại hoàng tinh, loài *Polygonatum sibiricum* Red. là hoàng tinh đầu gà, loài *Polygonatum cyrtoneura* Hua. là hoàng tinh dạng gừng [4].

4.2. Ở Trung Quốc, thân rễ lấy từ nhiều loài trong chi *Polygonatum* cũng được gọi là hoàng tinh.

Polygonatum cirrhifolium (Wall.) Royle - Quyển điệp hoàng tinh.

Polygonatum hookeri Baker - Đơn hoa hoàng tinh.

Polygonatum involucreatum Maxim. - Nhị bao

hoàng tinh.

Polygonatum megaphyllum P.Y.Li. - Đại bao hoàng tinh.

Polygonatum oppositifolium (Wall.) Royle - Đối điệp hoàng tinh.

Polygonatum punctatum Royle ex Kunth - Điểm hoa hoàng tinh.

Polygonatum zanlanscianense Pamp. - Hồ Bắc hoàng tinh.

Các loài *Polygonatum cirrhifolium* (Wall.) Royle; *Polygonatum zanlanscianense* Pamp. thường được dùng để giả mạo, thay thế hoàng tinh [3].

4.3. Không nhầm hoàng tinh với củ dong vắn được luộc, bán để ăn.

Tài liệu tham khảo

1). Dược điển Việt Nam Lần xuất bản thứ ba - NXB Y học 2002 tr. 376-377; 2). Đỗ Tất Lợi - Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam NXB Y học 2001. tr. 841-843; 3). Trung Quốc cao đẳng thực vật đồ giám Tập V - NXB Khoa học 1976. tr. 504-509; 4). Trung Quốc trung dược tài chân nguy kiểm biệt đồ sách. NXB Khoa học kỹ thuật Quảng Đông 2-1995. Tập 2 tr. 233-235.

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU QUÝT RỪNG THU Ở MÊ LINH, VĨNH PHÚC

*Trần Huy Thái, Trần Minh Hoi,
Nguyễn Quang Hưng, Vũ Thị My, Nguyễn Thị Hiền*
Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật
(Nhận bài ngày 18 tháng 8 năm 2003)

1. Mở đầu

Chi quýt rừng (*Atalantia Correa*) thuộc họ Cam (Rutaceae), có 8 loài theo Phạm Hoàng Hộ [1]. Loài quýt rừng (*Atalantia roxburghiana* Hook. f.) phân bố ở một số tỉnh miền Trung, miền Bắc Việt Nam và ở bán đảo Malaysia, Ấn Độ.. Quả và lá của loài này được dùng chữa một số bệnh như ho, viêm đường hô hấp, rễ nấu nước uống dùng cho phụ nữ sau khi sinh [2]. Tuy vậy, đến nay chưa có công trình nào ở trong nước nghiên cứu về thành phần hoá học cũng như tinh dầu của cây. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày về thành phần hoá học của tinh dầu thu từ lá và quả cây quýt rừng thu ở Ngọc Thanh, Mê Linh, Vĩnh Phúc.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng là loài quýt rừng (như đã nêu) thu hái vào tháng 3/2003. Tiêu bản được xác định và lưu giữ ở Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Hàm lượng tinh dầu được xác định bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước có hồi lưu trong thiết bị Clevenger. Định tính và định lượng các thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp sắc ký khí-khối phổ (GC/MS) [4,5]. Tinh dầu được làm khan bằng Na_2SO_4 , để trong tủ lạnh ở nhiệt độ $< 5^\circ\text{C}$. Thiết bị: GC-MSD: Sắc ký khí HP 6890 ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5973. Cột HP-5MS có kích thước $0,25\mu\text{m} \times 30\text{m} \times 0,25\text{mm}$ và HP-1 có kích thước $0,25\mu\text{m} \times 30\text{m} \times 0,32\text{mm}$. Chương trình nhiệt độ với điều kiện 60°C (2 min) tăng nhiệt độ $4^\circ/\text{min}$ cho đến 220°C , sau đó lại tăng nhiệt độ $20^\circ/\text{min}$ cho đến 260°C . Khí mang He. Các hợp chất của tinh dầu được tra cứu trong thư viện khối phổ: NIST 98.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Đặc điểm sinh học

Quýt rừng là cây gỗ nhỏ cao đến 10m, có ít gai hay không gai. Lá hình bầu dục, dài 9-15cm, rộng 3,5-5cm, nhẵn, có mũi nhọn ở đầu, gân nổi rõ ở cả hai mặt, có tuyến trong mờ. Hoa mọc thành chùm dài 4cm. Quả hình cầu giống như quả quýt, đường kính 1-2,5 cm. Mùa hoa: tháng 4, mùa quả: tháng 6-8. Cây thường gặp ở các đồi trọc, bìa rừng ở các

tỉnh Bắc và Trung bộ như Vĩnh Phúc, Phú Thọ, Hoà Bình, Ninh Bình, Hà Tĩnh....

3.2. Đặc điểm hoá học

Hàm lượng tinh dầu từ lá và quả quýt rừng theo nguyên liệu khô không khí đạt 0,09%. Tinh dầu là chất lỏng màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước, có mùi thơm hắc. Bằng phương pháp sắc kí khí - khối phổ, chúng tôi đã xác định được 30 hợp chất có trong tinh dầu (bảng 1).

Bảng 1: Thành phần hoá học của tinh dầu từ lá và quả quýt rừng thu ở Mê Linh, Vĩnh Phúc

Số TT	Hợp chất	Tỷ lệ %	Số TT	Hợp chất	Tỷ lệ %
1	cis-3 hexenol	0,20	16	1.3, 8-para-menthatrien	0,23
2	1-hexanol	0,27	17	terpinen 4-ol	0,52
3	thujen	2,10	18	safrol	0,46
4	α -pinen	4,12	19	β -caryophylen	1,11
5	sabinen	0,54	20	α -humulen	0,24
6	β -pinen	4,59	21	germacren D	2,30
7	myrcen	1,68	22	bicyclo germacren	2,0
8	α -terpinen	1,68	23	α -farnesen	0,47
9	para cymen	13,37	24	δ -cadinen	0,20
10	limonen	4,58	25	d-nerolidol	0,66
11	cis-ocimen	0,15	26	spathalenol	2,03
12	trans- β -ocimen	4,38	27	caryophyllen oxit	0,37
13	γ-terpinen	40,63	28	β -cubelen	0,51
14	terpinolen	2,36	29	cyclotrisiloxane,hexamethyl	0,01
15	linalool	2,58	30	isopathulenol	0,23

Kết luận:

- Hàm lượng tinh dầu từ lá và quả của loài quýt rừng (*Atalantia roxburghiana* Hook. f.) đạt 0,09% theo nguyên liệu khô không khí.

- 30 hợp chất trong tinh dầu đã được xác định, thành phần chính trong tinh dầu gồm các hợp chất như para-cymen (13,37%), γ -terpinen (40,63%), limonen (4,58%), β -pinen (4,59%).

Tài liệu tham khảo

1). Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam. Tập 1, Quyển 2. Trang 535-538. Montréal 1992; 2). Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. Nxb. Y học 1997. Trang 920; 3). Trần Đình Lý. 1900 loài cây có ích ở Việt Nam. Trang 204. Nxb. Thế giới. 1993; 4). Trần Huy Thái, Trần Minh Hợi, Nguyễn Quang Hưng, Đỗ Thị Minh. Nguồn thực vật chứa tinh dầu tại vùng trung du Vĩnh Phúc, vấn đề khai thác và sử dụng bền vững. Những vấn đề nghiên cứu trong khoa học sự sống. Nxb. KHKT 2003. Trang 625-728; 5). Trần Huy Thái. Nguồn thực vật có tinh dầu tại Ngọc Thanh, Mê Linh, Vĩnh Phúc. Tạp chí Dược học. Số 8/2001. Trang 8-10.

CÂY NHÂN TRẦN

Hỏi: Nghe nói cây nhân trần chữa được nhiều bệnh, đặc biệt là viêm gan. Xin cho biết có đúng như vậy không?

Nguyễn Phú Vinh (Phú Thọ)



Đáp: Nhân trần (*Adenosma glutinosum* (L.) Druce, *A. caeruleum* R. Br.), thuộc họ Hoa mõ chó (Scrophulariaceae), tên khác là chè nội, chè cát, hoắc hương núi, tuyến hương, mao xạ hương, là một cây thảo, cao 40- 70 cm, có khi đến 1 m. Thân tròn cứng, có lông, màu tím. Lá mọc đối, hình trái xoan, dài 4- 6 cm, rộng 2- 3 cm, gốc tròn, đầu tù hoặc hơi nhọn, mép khía răng gần tròn, hai mặt đều có lông, vò ra có mùi thơm; cuống lá dài 0,5- 1,2 cm. Cụm hoa mọc ở kẽ lá và đầu cành thành chùy dạng bông dài đến 30 cm; hoa màu lam tím; đài hình chuông xẻ 5 thùy, có lông, thùy ngoài rộng, thùy trong hẹp; tràng hoa có hai môi, môi trên nguyên, hình tam giác, môi dưới chia 3 thùy sâu, đều nhau; nhị 4. Quả nang, hình trứng, có nhiều hạt nhỏ màu vàng. Mùa hoa: tháng 4- 6; mùa quả: tháng 7- 9.

Cây mọc tự nhiên ở đồi núi, bờ ruộng, bãi trống vùng trung du và miền núi thấp với trữ lượng khá phong phú. Có nhiều ở Phú Thọ, Bắc Giang, Thái Nguyên, Lạng Sơn, Tuyên Quang, Hoà Bình. Càng vào phía Nam, cây càng phân bố ít dần. Nhân trần có khả năng tái sinh mạnh bằng hạt.

Từ lâu, cả cây nhân trần (chỉ dùng ở dạng khô) được dùng làm thuốc với nhiều công dụng tốt.

Thành phần hoá học của cây gồm chủ yếu là tinh dầu với hàm lượng 1% trong toàn cây, 1,86% trong lá, saponin triterpenic, flavonoid, coumarin và các acid nhân thơm là acid clorogenic, neoclorogenic và cafeic (Những hoạt chất này có tác dụng chữa viêm gan). Dược liệu nhân trần có vị đắng, the, mùi thơm, tính mát, không độc, có tác dụng thanh nhiệt, lợi thấp, thông tiểu tiện, làm ra mồ hôi.

Tuệ Tĩnh (Nam dược thần hiệu) đã dùng nhân trần (30 g) phối hợp với dành dành (24 quả), thạch cao (4- 6 g, nung) sắc uống để chữa hoàng đản. Hoặc nhân trần và hành trắng (lượng bằng nhau), sắc uống trị cảm nắng, sốt nóng, nhức đầu.

Trong dân gian, nhân trần được dùng làm thuốc kích thích tiêu hoá, làm ăn ngon, chữa kém ăn, đầy bụng, khó tiêu. Cách dùng như sau: Nhân trần (20g), kim tiền thảo (10 g), cam thảo nam (10 g). Các vị dùng cả cây, trừ rễ, rửa sạch, cắt ngắn, phơi khô, sắc với 400 ml nước còn 100 ml, uống làm hai lần trong ngày sau mỗi bữa ăn. Hoặc nhân trần (20 g), ké hoa vàng (20 g), thân và rễ mộc thông (20 g), rễ móc điều (20 g), sao vàng, sắc uống (Phụ nữ có thai không được dùng). Hiện nay, dạng "chè nhân trần" đang được lưu hành và sử dụng rộng rãi trên thị trường đông dược.

Phụ nữ sau khi đẻ đã dùng nhân trần (8 g) sắc với mần tưới (20 g), mạch môn (20 g), ngải cứu (10 g), rễ quạ (4 g), vỏ bưởi đào khô (4 g), uống làm 2- 3 lần trong ngày để tránh bị hậu sản. Dùng 7- 10 ngày. Để điều hoà kinh nguyệt, họ lấy nhân trần (12 g), phối hợp với ích mẫu (12 g), lá đuôi lươn (10 g), bạch đồng nữ (10 g), rễ gắm (8 g), nghệ đen (8 g), sắc hoặc nấu thành cao lỏng, uống trong ngày.

Nhân dân ở vùng đồng bằng sông Cửu Long lại dùng nhân trần phối hợp với hoa cúc vạn thọ, rau cần trời, củ tầm sét, thái lái tía, rễ bạch đồng nữ và tinh tre mỡ (lượng mỗi thứ 10 g), sắc uống trị hen suyễn.

Đặc biệt, một tác dụng quý của nhân trần đã được công nhận, đó là tác dụng chữa viêm gan do virus theo những phương thức sau:

- Nhân trần (16 g), lá vọng cách (16 g), lá cối xay (12 g), thái nhỏ, phơi khô, sắc uống.

- Nhân trần (16 g), quả dành dành (chi tử 12 g), nghệ vàng (8 g), sắc uống.

- Nhân trần (3 g), vỏ núc nác (3 g), nghệ vàng (3g), rau má (4g), sài hồ nam (2g), dành dành (2 g), nhọ nồi (2 g), hậu phác nam (2g). Các vị nhân trần, vỏ núc nác, sài hồ, nhọ nồi, rau má nấu thành cao lỏng. Các dược liệu khác phơi khô, tán nhỏ, rây bột mịn. Trộn cao với bột làm thành viên. Ngày uống 10 g chia làm hai lần.

- Nhân trần và vỏ quả bưởi (bỏ phần cùi trắng) lượng bằng nhau, thái nhỏ, phơi khô, tán bột, mỗi lần uống 6 g. Ngày 3 lần (Tài liệu nước ngoài).

Y học hiện đại cũng dùng nhân trần để chữa viêm gan do virus dưới dạng sirô, mỗi ngày 100 ml chia làm hai lần.

Ở miền Nam, có cây nhân trần tía (*Adenosma bracteosum* Bonati) cùng họ, với tên khác là nhân trần cái, nhân trần Tây Ninh. Toàn cây cũng có tính dầu thơm mạnh. Nhân dân và các cơ sở y tế ở Nam bộ thường thu hái nhân trần tía về phơi khô, rồi sắc, nấu nước xông, nấu cao lỏng hoặc làm trà thuốc để dùng như nhân trần. Trong những năm gần đây, nhân trần tía cũng được ứng dụng chữa viêm gan virus và xơ gan cổ trướng. Bệnh viện Chợ Quán (thành phố Hồ Chí Minh) đã dùng nhân trần tía chữa cho hơn 4000 trường hợp viêm gan virus có kết quả tốt. Bệnh viện y học dân tộc tỉnh Tây Ninh lại dùng nhân trần tía chữa xơ gan cổ trướng cho gần 100 bệnh nhân, thấy khỏi 24%, khá tốt 46,6%.

Cách trồng nhân trần: Do nhu cầu tiêu dùng cao, nên nhân trần đã được trồng vào tháng 3- 4 và

tháng 10- 12. Đất trồng cần cao ráo, thoát nước, tơi xốp, ẩm mát như đất ruộng, đất chân dôi bằng phẳng, đất gần suối, đất thung lũng. Luống trồng cao 15- 20 cm, rộng 90- 120 cm. Khi cây con trong vườn ươm cao khoảng 20 cm, đánh trồng vào luống, với khoảng cách các hàng là 20- 25 cm, cây cách cây 15- 20 cm. Cứ 2- 3 ngày tưới một lần. Chú ý làm cỏ, vun gốc, bón thúc bằng nước phân, nước giải và đạm pha loãng. Khi cây bắt đầu có nụ hoa thì thu hoạch. Sản lượng bình quân một sào (Bắc bộ) là 40- 60 kg thân lá khô.

Ghi chú:

- Trong y học dân gian, người ta còn dùng cây bồ bồ (*Adenosma indianum* (Lour.) Merr.) để thay thế nhân trần. Trước đây, các công ty dược liệu thường thu mua bồ bồ với tên nhân trần. Để phân biệt, có thể dựa vào cây khô, nếu cụm hoa hình cầu là bồ bồ, còn cụm hoa nhân trần thường dài và rụng hoa.

- Tránh nhầm với cây nhân trần bắc (nhân trần cao, nhân trần Trung Quốc - *Artemisia capillaris* Thunb., họ Cúc - Asteraceae) có lá xẻ thùy hình sợi.

- Theo tài liệu nước ngoài, ở Trung Quốc, người ta dùng nhân trần trong những trường hợp sau:

Chữa viêm gan: Nhân trần và mã đề, mỗi thứ 100 g (hoặc hạt mã đề, 20 g) giã nhỏ, sắc nước uống, có thể thêm ít đường trắng. Ngày 3- 4 lần. Hoặc nhân trần (30 g) nấu với thịt hến (100- 150 g) thành canh, ăn cả cái lẫn nước làm một lần trong ngày.

Chữa viêm túi mật: Nhân trần (30 g), râu ngô (30g) hoặc nhân trần, kim tiền thảo, rau đắng (mỗi thứ 30 g), sắc đặc, thêm đường, uống nóng.

Đỗ Huy Bích