VIỆN DƯỢC LIỆU

CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

(1987 - 2000)



NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT



☆ Trung tâm nghiên cứu
cây thuốc Hà Nội

☆ Nghiên cứu hoá học
tại Trung tâm Sâm và Dược liệu
Thành phố Hồ Chí Minh



VIỆN DƯỢC LIỆU

CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

(1987 - 2000)

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
HÀ NỘI - 2001

Chủ biên: **TS. Nguyễn Thượng Dong**

BAN BIÊN TẬP

ThS. Nguyễn Bá Hoạt	*Trưởng ban*
PGS. TSKH. Đỗ Trung Đàm	*Ủy viên*
PGS. Phạm Duy Mai	*Ủy viên*
TS. Phạm Văn Hiển	*Ủy viên*
DS. Nguyễn Ngọc Vợi	*Ủy viên thư ký*

MỤC LỤC

Trang

- ***Viện Dược liệu - 40 năm nghiên cứu và phát triển để phục vụ, chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân***
  TS. Nguyễn Thượng Dong 19
- ***40 năm xây dựng và trưởng thành công tác nghiên cứu trồng cây thuốc Viện Dược liệu***
  ThS. Nguyễn Bá Hoạt 28

ACTISÔ

- ***Kết quả nghiên cứu và xây dựng quy trình sản xuất hạt actisô ở Sa Pa trong 2 năm 1997-1999***
  Hoàng Thị Bình 36

BA GẠC

- ***Nghiên cứu loài ba gạc thân gỗ lớn mọc hoang ở Phú Yên***
  Nguyễn Viết Tựu, Trần Mỹ Tiên, Huỳnh Thị Xuân Giao 38
- ***Alcaloid trong vỏ rễ Rauvolfia verticillata* (Lour.) Baill.**
  Nguyễn Kim Cẩn 42
- ***Alcaloid cây ba gạc nhập nội Rauvolfia caffra* Sonder**
  Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Viết Thân, Phạm Thị Thanh Hiền 45
- ***Alcaloid trong vỏ rễ Rauvolfia cambodiana mọc ở Việt Nam***
  Nguyễn Kim Cẩn 48
- ***Alcaloid của vỏ rễ ba gạc lá nhỏ (Rauvolfia littoralis)***
  Nguyễn Kim Cẩn 51
- ***Sự tích luỹ alcaloid trong cây ba gạc Phú Thọ (Rauvolfia vomitoria* Afz.) và ảnh hưởng của nguyên tố coban đến hàm lượng alcaloid trong vỏ rễ của cây***
  Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Văn Thanh 54
- ***Nghiên cứu tiêu chuẩn hoá cao ba gạc (Rauvolfia canescens và Rauvolfia vomitoria)***
  Nguyễn Kim Cẩn, Đinh Thị Thuyết 58
- ***Góp phần nghiên cứu tác dụng dược lý cây ba gạc Rauwolfia vomitoria***
  Phạm Duy Mai, Quách Mai Loan, Phan Đức Nhuận, Hà Ngọc Tuyết 62
- ***Thử nghiệm điều trị lâm sàng bệnh tăng huyết áp bằng Rauvomin***
  Phạm Duy Mai, Trần Đỗ Trinh và cộng sự 67

BẠCH TRUẬT

- ***Điều tra đánh giá thành phần bệnh hại trên cây bạch truật tại Sa Pa - Lào Cai***
  Phan Thuý Hiền, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Xuân Trường.....71

BẠCH CHỈ

- ***Nghiên cứu bệnh hại bạch chỉ trồng ở Tam Đảo, nấm bệnh u loét và biện pháp phòng trừ***
  Ngô Quốc Luật.....76

CÀ GAI LEO

- ***Nghiên cứu thành phần hoá học cây cà gai leo (Solanum hainanense* Hance., *Solanaceae)***
  Nguyễn Bích Thu, Phạm Kim Mãn, Âu Văn Yên, Vũ Kim Thu, Lã Kim Oanh.....81
- ***Nghiên cứu tác dụng ức chế quá trình xơ của cà gai leo trên mô hình gây xơ gan thực nghiệm***
  Nguyễn Minh Khai, Nguyễn Bích Thu, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Phúc Cương.....84
- ***Nghiên cứu tác dụng chống viêm mãn và tác dụng giảm đau của nhóm glycoalcaloid chiết từ thân và lá cà gai leo (Solanum procumbens* Lour.*) Solanaceae***
  Âu Vân Yên, Nguyễn Thị Dung, Đoàn Thị Nhu, Phạm Kim Mãn.....86
- ***Nghiên cứu tác dụng trên colagenase của cà gai leo (Solanum hainanence* Hance., *Solanaceae)***
  Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Minh Khai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu.....89
- ***Nghiên cứu hoạt tính chống oxy hoá của cà gai leo (Solanum hainanense* Hance., *Solanaceae)***
  Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Minh Khai, Đỗ Thị Phương và cộng sự.....91
- ***Nghiên cứu phương pháp định lượng glycoalkaloid trong cà gai leo (Solanum hainanense* Hance.*) bằng phương pháp acid màu***
  Nguyễn Bích Thu, Phạm Kim Mãn.....93
- ***Nghiên cứu điều chế thuốc HAINA điều trị viêm gan B mạn hoạt động từ cà gai leo (Solanum hainanense* Hance., *Solanaceae)***
  Nguyễn Minh Khai, Phạm Kim Mãn, Nguyễn Bích Thu, Vũ Kim Thu, Phạm Thanh Trúc, Lã Kim Oanh, Nguyễn Văn Mùi, Trịnh Thị Xuân Hoà, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Đình Mão.....95
- ***Nghiên cứu nhân nhanh in vitro cây cà gai leo***
  Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Chinh, Tạ Như Thục Anh, Nguyễn Trần Hy, Đỗ Năng Vịnh.....99

CHÈ

- ***Định lượng cafein trong chè bằng phương pháp quang phổ tử ngoại***
  Nguyễn Kim Cẩn, Đào Xuân Thạnh 104
- ***Nghiên cứu phương pháp chiết xuất flavonoid từ cây chè dây (Ampelopsis cantiniensis* Planch)**
  Phạm Văn Thanh, Lê Tùng Châu, Lê Minh Phương, Đào Hồng Vân, Trương Vĩnh Phúc, Lã Kim Oanh 107
- ***Kết quả phân tích định tính và định lượng một số nhóm chất trong cây chè dắng (Ilex kaushue* S.Y.Hu)**
  Bùi Thị Bằng, Hoàng Thị Lệ, Nguyễn Thượng Dong, Nông Văn Hai, Nguyễn Minh Châu, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Văn Tài 111
- ***Nghiên cứu nhân giống chè xanh bằng phương pháp giâm cành***
  Phạm Anh Thắng, Lê Tùng Châu 116

CỎ NGỌT

- ***Phân lập steviosid và hàm lượng steviosid từ lá cỏ ngọt (Stevia rebaudiana* Bertoni) trồng ở Việt Nam**
  Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Hoàng Anh, Lê Nguyệt Nga 120
- ***Định lượng steviosid trong lá cỏ ngọt (Stevia rebaudiana* Bertoni)**
  Nguyễn Kim Cẩn, Lê Nguyệt Nga 125

CỦ MÀI, CỦ CỌC

- ***Tác dụng tăng trọng, hướng sinh dục và đồng hoá của củ mài và củ cọc ở chuột đực***
  Đỗ Trung Đàm, Vũ Thị Tâm 129
- ***Xác định liều độc của củ mài và củ cọc trên tim chuột lang***
  Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Thị Thanh 133
- ***So sánh củ mài và củ cọc về tác dụng tăng trọng và hướng sinh dục ở chuột cái***
  Đỗ Trung Đàm, Vũ Thị Tâm, Nguyễn Thị Thọ 136
- ***Tác dụng của củ mài và củ cọc trên độ acid của dịch dạ dày ở chuột cống trắng***
  Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Thị Thanh, Hà Ngọc Tuyết 139
- ***Nhân nhanh in vitro cây củ mài bằng đốt thân***
  Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Chinh 142

DIỆP HẠ CHÂU

- ***Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật nhân giống cây diệp hạ châu (Phyllanthus amarus* L.)**
  Trần Danh Việt, Nguyễn Văn Thuận, Đoàn Thị Thanh Nhàn, Phan Thị Sang. 146

- ***Nghiên cứu tác dụng dược lý của bột phyllanthin***
  Nguyễn Thượng Dong, Lê Minh Phương, Đỗ Trung Đàm, Quách Mai Loan, Nguyễn Kim Phượng, Lê Việt Dũng, Nguyễn Thị Dung, Phạm Văn Thanh, Nguyễn Thị Minh Khai, Phạm Thanh Kỳ, Trịnh Thị Điệp, Nguyễn Ngọc Chi 150
- ***Nghiên cứu hóa học về hai loài Phyllanthus***
  Nguyễn Thượng Dong, Phạm Thanh Kỳ, Phạm Văn Thanh, Nguyễn Ngọc Chi, Lã Kim Oanh, Lê Việt Dũng, Trương Vĩnh Phúc, Trịnh Thị Điệp 157

DƯƠNG CAM CÚC

- ***Kết quả nghiên cứu tuyển chọn giống dương cam cúc Đà Lạt***
  Phan Thuỳ Mỹ, Lê Thị Hạnh, Phạm Ngọc Toản 163

DIOSCOREA

- ***Chiết xuất diosgenin từ Dioscorea floribunda***
  Phạm Kim Mãn, Phạm Văn Thanh, Vũ Kim Thu, Lã Kim Oanh, Trương Vĩnh Phúc 166
- ***Triển khai sản xuất thử diosgenin trên quy mô bán công nghiệp***
  Phạm Kim Mãn, Vũ Kim Thu, Phạm Văn Thanh, Lã Kim Oanh, Trương Vĩnh Phúc, Lê Quang Toàn, Đặng Mậu Thiệu, Phạm Thị Quý, Nguyễn Văn Thắng, Nguyễn Văn Nghênh 170
- ***Áp dụng toán quy hoạch thực nghiệm, xác định điều kiện tối ưu cho công nghệ chiết xuất diosgenin từ Dioscorea floribunda***
  Phạm Kim Mãn, Phạm Trương Thị Thọ, Phạm Văn Thanh, Vũ Kim Thu 174
- ***Nghiên cứu trồng Dioscorea composita* Hemsl (DC) *và Dioscorea floribunda* Mart et Gal. (DF) *làm nguyên liệu chiết xuất diosgenin***
  Nguyễn Gia Chấn, Trần Hùng, Phạm Kim Mãn, Vũ Kim Thu, Hoàng Anh, Đỗ Viết Trang, Ngô Ngọc Khuyến, Bùi Thị Bằng, Đinh Thanh Thủy, Nguyễn Nhân Ất, Trần Thị Hiền, Nguyễn Quang Quế, Nguyễn Công Bột. 179
- ***Nghiên cứu nhân nhanh in vitro cây Dioscorea floribunda* Mart. et Gal. *bằng lát cắt đốt thân***
  Phạm Văn Hiển, Phạm Kim Mãn.....185
- ***Góp phần nghiên cứu bán tổng hợp hợp chất S- reichstein từ 16-DPA***
  Nguyễn Xuân Cường , Ngô Ngọc Khuyến, Nguyễn Văn Đàn 189
- ***Góp phần nghiên cứu bán tổng hợp chất triolone triacetate từ 16-DPA***
  Nguyễn Văn Đàn, Ngô Ngọc Khuyến.....193
- ***Bước đầu nghiên cứu bào chế thuốc tiêm kép tránh thai 17α hydroxyprogesteron***
  Phạm Thanh Trúc, Vũ Thị Đậu, Nguyễn Văn Doanh 197

- ***Kết quả bước đầu Nghiên cứu bán tổng hợp 16 - DPA từ hỗn hợp Diosgenin - pennogenin***
  Ngô Ngọc Khuyến, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Minh Quý 200
- ***Nghiên cứu bán tổng hợp thuốc ngừa thai 17α - hydroxyprogesteron từ 16 – DPA (16 Dehydropregnenolon acetat)***
  Ngô Ngọc Khuyến, Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Minh Quý 203

D. STROPHANTIN

- ***Cơ chế tác dụng của D. strophantin***
  Quách Mai Loan, Nguyễn Xuân Thắng 206
- ***D. strophantin làm biến đổi hàm lượng Ca^{++} và Mg^{++} cơ tim chuột lang***
  Quách Mai Loan, Hoàng Tích Huyền 211
- ***Định lượng mức độ hấp thu của D. strophantin qua đường tiêu hoá***
  Quách Mai Loan, Đỗ Trung Đàm 215
- ***Nghiên cứu sự hấp thu D. strophantin qua đường tiêu hoá***
  Quách Mai Loan, Đỗ Trung Đàm 219

ĐỊA HOÀNG

- ***Xác định bệnh virus hoa lá dốm vàng địa hoàng bằng hiển vi điện tử và nghiên cứu phương pháp nhân giống in vitro cây địa hoàng***
  Nguyễn Trần Hy, Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Chinh, Tạ Như Thục Anh, Nguyễn Văn Mẫn, Nguyễn Kim Giao 223
- ***Nghiên cứu biện pháp sản xuất giống địa hoàng có chất lượng cao***
  Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Tuấn, Bùi Thị Bằng, Hoàng Minh Tấn 228
- ***Nghiên cứu trồng địa hoàng bằng mầm***
  Nguyễn Thị Tuấn, Phạm Văn Hiển, Bùi Thị Bằng, Hoàng Minh Tấn 233

ĐINH LĂNG

- ***Hợp chất polyacetylen trong lá đinh lăng (Polyscias fruticosa* (L.) Harms., Araliaceae)**
  Trần Công Luận, Hồ Thị Tuyết Linh, Phạm Thị Xuân Thắm, Nguyễn Thành Nguyên, Nguyễn Thượng Dong 238
- ***Tác dụng dược lý của cao toàn phần chiết xuất từ rễ và lá đinh lăng (Polyscias fruticosa* L. Harms., Araliaceae)**
  Nguyễn Thị Thu Hương, Lương Kim Bích, Nguyễn Thới Nhâm 241

ĐỖ TRỌNG

- ***Nghiên cứu một số phương pháp nhân giống cây đỗ trọng ở Sa Pa***
  Ngô Quốc Luật, Đinh Văn My 245

ĐƠN CHÂU CHẤU

- ***Nghiên cứu về hóa họcvà dược lý cây đơn châu chấu (Aralia armata* Seem., Araliaceae)**
  Phạm Kim Mãn, Nguyễn Ninh Hải 249

ĐƯƠNG QUI

- ***Tác dụng của một số cây thuốc và nhóm chất lên phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào với hồng cầu cừu***
  Bùi Thị Bằng, Nguyễn Gia Chấn, Lê Nguyệt Nga, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu 252
- ***Hàm lượng, thành phần hoá học và tác dụng sinh học của tinh dầu lá đương quy (Angelica acutiloba* Kit.) *di thực từ Nhật Bản***
  Bùi Thị Bằng, Lê Tùng Châu, Lê Kim Loan, J. Casanova, A. Muselli, A. Bighelli, Phạm Văn Ý, Nguyễn Thị Dung, Vũ Văn Điển 257
- ***Tác dụng phục hồi miễn dịch của chế phẩm polysaccharid chiết xuất từ đương quy Nhật Bản (Angelica acutiloba* Kit.)**
  Nguyễn Gia Chấn, Phan Thị Phi Phi, Lê Minh Phương, Bùi Thị Bằng, Phan Thu Anh, Đỗ Hoà Bình 262
- ***Nghiên cứu thuốc kích thích miễn dịch từ rễ củ cây đương quy Nhật Bản (Angelica acutiloba* Kit.)**
  Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu, Nguyễn Văn Tài, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Kim Phượng 266
- ***Kết quả thử tác dụng kích thích miễn dịch của Angala trên lâm sàng***
  Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Bá Đức, Hoàng Văn Diện, Trần Minh Vịnh, Bùi Thị Bằng, Lê Minh Phương, Nguyễn Tuyết Mai, Trần Văn Công, Tô Anh Dũng, Hoàng Trọng Chính, Đỗ Văn Tú, Lê Văn Don và CTV. 271
- ***Nghiên cứu đa dạng hoá sản phẩm làm thuốc từ cây đương quy (Angelica acutiloba* Kit.) *di thực từ Nhật Bản***
  Bùi Thị Bằng, Lê Tùng Châu, Lê Kim Loan 277
- ***Tác dụng sinh học của đương quy (Angelica acutiloba* Kit.) *di thực từ Nhật Bản***
  Lê Tùng Châu, Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan, Nguyễn Minh Châu, Vũ Thị Tâm, Nguyễn Thị Dung (DLSH), Nguyễn Thị Dung (PTTC), Vũ Ngọc Lộ, Nguyễn Văn Tài, Đỗ Trung Đàm, Trần MinhVịnh, Lê Thị Thủy, Lê Văn Don, Cung Thị Tý 282
- ***Nghiên cứu chọn lọc giống đương quy thích hợp với điều kiện khí hậu miền Bắc Việt Nam***
  Phạm Văn Ý, Trần Văn Diễn, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Văn Mai, Đinh Văn My 288

- *Chế biến thử nghiệm đương quy sau thu hoạch theo phương pháp Nhật Bản*
  Lê Xuân Ái, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu 292
- *Trồng khảo nghiệm cây đương quy (Angelica acutiloba* Kitagawa*) tại 2 huyện Đồng Văn và Quản Bạ - Hà Giang*
  Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Văn Thuận, Phạm Đình Tuý, Lê Khúc Hạo, Đào Mạnh Hùng, Hoàng Quang Hùng 295
- *Nghiên cứu sơ chế và bảo quản rễ củ đương quy (Angelica acutiloba* Kit.*) di thực từ Nhật Bản*
  Phạm Văn Ý, Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan, Nguyễn Bá Hoạt 299

HÀ THỦ Ô

- *Đánh giá bước đầu vị thuốc hà thủ ô đỏ qua một số phương pháp chế biến*
  Lê Xuân Ái, Nguyễn Thị Dung 303

HOÀNG BÁ

- *Nghiên cứu chiết xuất becberin từ vỏ cây hoàng bá (Phellodendron amurense* Rupr*)*
  Phạm Văn Thanh, Nguyễn Tập, Ngô Văn Trại, Nguyễn Chiều 306

LÃO QUAN THẢO

- *Nghiên cứu bổ sung chi Geranium* L. *ở Việt Nam*
  Nguyễn Chiều, Mai Lê Hoa, Nguyễn Thượng Dong 309
- *Kết quả nghiên cứu thành phần hoá học loài Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo
  Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Gia Chấn, Mai Lệ Hoa 312
- *Kết quả nghiên cứu tác dụng sinh học loài Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo
  Mai Lệ Hoa, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Kim Dung, Nguyễn Minh Phương, Trần Văn Hanh, Trần Duy Kkang 320
- *Nghiên cứu phân lập và chọn lọc cây lão quan thảo (Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo)
  Phạm Văn Ý, Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Văn Mai, Nguyễn Thị Dung 327
- *Nghiên cứu trồng và chế biến lão quan thảo Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo
  Nguyễn Bá Hoạt, Đinh Văn My, Nguyễn Văn Mai, Phạm Văn Ý, Đàm Nhận và cộng sự 331

LINH CHI

- ***Thành phần loài trong họ nấm linh chi (Ganodermataceae) ở Việt Nam***
  Đàm Nhận, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Bá, Trịnh Tam Kiệt.....336
- ***Xây dựng tiêu chuẩn dược liệu linh chi ở Viện Dược liệu***
  Đàm Nhận, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Kim Bích, Nguyễn Thị Dung.....342
- ***Thăm dò khả năng đào thải phóng xạ Cs - 134 bằng cao nấm linh chi ở chuột nhắt trắng***
  Nguyễn Gia Chấn, Đàm Nhận, Lê Xuân Thám.....347
- ***Khả năng phân lập và nuôi cấy các loài nấm họ linh chi (Ganodermataceae)***
  Đàm Nhận.....351

MÃ ĐỀ

- ***Nghiên cứu kỹ thuật trồng mã đề***
  Nguyễn Thị Thư.....356
- ***Nghiên cứu thành phần bệnh hại trên cây mã đề (Plantago major L.) và biện pháp phòng trừ***
  Nguyễn Thị Tuấn.....360
- ***Điều tra thành phần sâu hại cây thuốc và nghiên cứu đặc tính sinh học của sâu đo - Corgatha dictaria (Walker) hại mã đề vụ Đông Xuân 1999 - 2000 tại Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội***
  Nguyễn Thị Nhung, Đặng Thị Dung, Ngô Quốc Luật.....365

MƯỚP ĐẮNG

- ***Nghiên cứu thuốc Morantin chữa bệnh đái tháo đường từ quả mướp đắng - Momordica charantia L.***
  Đoàn Thị Nhu, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Kim Phượng, Lê Minh Phương, Phạm Thanh Trúc, Đinh Thị Thuyết và cộng sự..371
- ***Một số kết quả nghiên cứu bước đầu về mặt thực vật của cây mướp đắng trồng ở Việt Nam***
  Phạm Văn Thanh, Nguyễn Tập.....375
- ***Nghiên cứu xác định nhóm hoạt chất có tác dụng gây hạ đường máu trên thỏ đái tháo đường thực nghiệm trong quả cây mướp đắng (Momordica charantia L.)***
  Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Kim Phượng, Lê Minh Phương, Vũ Kim Thu.....381
- ***Xác minh cấu trúc của aglycon G6 (TMND4) bằng phổ khối lượng (MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (N.M.R)***
  Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, Chu Đình Kính, Nguyễn Xuân Dũng.....389

- ***Nghiên cứu tác dụng hạ đường máu và độc tính của chế phẩm Morantin***
  Đoàn Thị Nhu, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Kim Phượng, Đinh Thị Thuyết, Phạm Thanh Trúc, Lê Minh Phương.....395
- ***Nghiên cứu phương pháp xác định hàm lượng glycosid theo chất G6 (Cucurbit – 5 ene – 3, 22, 23, 24, 25 pentol) trong sản phẩm chiết xuất làm thuốc chữa bệnh dái tháo đường từ quả mướp đắng***
  Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Bích Thu 400
- ***Nghiên cứu thành phần hoá học của cây mướp đắng (Momordica charantia L.)***
  Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, Đoàn thị Nhu, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Kim Phượng, Vũ Kim Thu, Lê Minh Phương.....406

NHÂN TRẦN

- ***Nghiên cứu ảnh hưởng của thời vụ, khoảng cách và phân bón đến năng suất dược liệu nhân trần***
  Nguyễn Thị Hoà, Nguyễn Bá Hoạt 413

NGŨ GIA BÌ

- ***Đánh giá tác dụng dược lý của vỏ thân và lá ngũ gia bì chân chim (Schefflera octophylla* Harm., Araliaceae)**
  Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thới Nhâm.....418

PANACRIN

- ***Nghiên cứu thuốc ức chế u panacrin dùng trong điều trị ung thư Nghiên cứu đánh giá tác dụng ức chế u của một số chế phẩm từ dược liệu và panacrin trên mô hình u báng thực nghiệm***
  Phạm Kim Mãn, Nguyễn Minh Khai, Nguyễn Bích Thu, Vũ Kim Thu, Trần Văn Yên, Nguyễn Thị Quỳ, Nguyễn Hiền Anh.....421
- ***Nghiên cứu thuốc ức chế u panacrin dùng trong điều trị ung thư Nghiên cứu tác dụng ức chế u và hạn chế di căn của một số chế phẩm từ dược liệu và panacrin trên mô hình u đùi thực nghiệm***
  Phạm Kim Mãn, Lê Thu Thủy, Trần Văn Hanh, Nguyễn Minh Thông, Nguyễn Thị Đức.....425
- ***Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của panacrin***
  Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Kim Phượng, Phạm Kim Mãn 428
- ***Nghiên cứu tác dụng của panacrin lên thời gian sống thêm của chuột mang u báng TG. 180***
  Phạm Kim Mãn, Nguyễn Minh Khai, Nguyễn Bích Thu, Vũ Kim Thu, Trần Công Yên, Nguyễn Hiền Anh 432

RAU RĂM

- ***Nghiên cứu tác dụng gây sẩy thai của cây rau răm (Polygonum odoratum* Lour., *Polygonaceae*)**
  Nguyễn Gia Chấn, Vũ Thị Tâm, Đỗ Xuân Lai, Phan Lệ Chi.....435

SÂM

- ***Khảo sát thành phần hoá học của rễ cây sâm bố chính (Hibiscus sagittifolius* Kurz. *Malvaceae) trồng ở Bạc Liêu***
  Trần Công Luận, Bùi Trần Minh Phương.....439
- ***Nghiên cứu đặc điểm sinh học và trồng bán tự nhiên sa nhân***
  Nguyễn Chiều, Nguyễn Tập, Ngô Trại.....442
- ***Những hoa tự bất thường của cây sâm Việt Nam Panax vietnamensis* Ha et Grushv., *(Araliaceae)***
  Phan Văn Đệ, Grushvitsky I.V., Skvortova N.T.....445
- ***Stress và lão hoá - Những triển vọng của sâm Việt Nam***
  Nguyễn Thị Thu Hương, Yobimoto kaori, Kinzo matsumoto, Ryoji kasai, Kazuo yamasaki, Hiroshi watanabe.....447
- ***Di thực cây nhân sâm và bạch quả***
  Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Thị Hoà, Đinh Văn My, Nguyễn Mạnh Hà và Đào mạnh Hùng.....450
- ***Nghiên cứu về dược liệu học và hoá học cây sâm Việt Nam Panax vietnamensis* Ha et Grushv. *(Araliaceae)***
  Nguyễn Thới Nhâm, Phan Văn Đệ, Trần Công Luận, Nguyễn Minh Đức, Shoji Shibata, Osamu Tanaka, Ryoji Kasai.....455
- ***Những đặc điểm hình thái - giải phẫu lá của cây sâm Việt Nam Panax vietnamensis (Araliaceae)***
  Phan Văn Đệ, Grushvitsky I.V., Skvortsova N.T.....461
- ***Tác dụng kích thích miễn dịch của sâm Việt Nam (Panax vietnamensis* Ha et Grushv. *Araliaceae)***
  Nguyễn Thị Thu Hương, Kinzo Matsumoto, Nguyễn Thới Nhâm, Hiroshi Watanabe.....464
- ***Tác dụng chống stress và chống trầm cảm của sâm Việt Nam (Panax vietnamensis* Ha et Grushv., *Araliaceae)***
  Nguyễn Thị Thu Hương, Kinzo Matsumoto, Nguyễn Thới Nhâm, Hiroshi Watanabe.....467

THANH CAO

- ***Hàm lượng artemisinin, các sesquytecpen và tinh dầu trong cây thanh cao trồng và mọc hoang ở Việt Nam***
  Bùi Thị Bằng, Nguyễn Gia Chấn, Herman J.W., Nesko Pras, Nguyễn Văn Bời, Phạm Văn Ý, Lugt C. B. Đỗ Đình Rãng 470
- ***Nghiên cứu chiết xuất đồng thời artemisinin và một số nhóm chất từ lá thanh cao (Artemisia annua L.)***
  Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Văn Bời, Đỗ Đình Rãng..... 475
- ***Nghiên cứu chiết xuất artemisinin từ dài hoa cây thanh cao (Artemisia annua L.)***
  Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Gia Chấn 480
- ***Bán định lượng và định lượng artemisinin trong lá thanh cao***
  Nguyễn Kim Cẩn, Lê Nguyệt Nga..... 482
- ***Nghiên cứu phương pháp định lượng artemisinin trong lá thanh cao (Artemisia annua L.)*** ***486***
  Bùi Thị Bằng..... 486
- ***Nghiên cứu xây dựng quy trình kỹ thuật trồng cây thanh cao lấy lá***
  Phạm Thị Lượt, Nguyễn Gia Chấn, Trần Toàn, Phạm Văn Ý, Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Tập..... 491
- ***Ảnh hưởng của nguyên tố vi lượng đến năng suất và chất lượng dược liệu thanh cao (Artemisia annua L.)***
  Phạm Văn Ý, Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Gia Chấn 498
- ***Nghiên cứu chọn lọc giống thanh cao cho năng suất lá và hàm lượng artemisinin cao***
  Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thị Thư, Phạm Văn Ý, Lê Khúc Hạo, Nguyễn Văn Ngót, Nguyễn Hữu Thấu..... 501
- ***Nghiên cứu bảo quản lá thanh cao làm nguyên liệu chiết xuất artemisinin***
  Nguyễn Gia Chấn, Lê Nguyên Hương 505
- ***Nghiên cứu quy trình công nghệ chiết xuất Artemisinin từ cây thanh cao (Artemisia annua L.)***
  Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Quang Hoan, Lã Kim Oanh, Trương Vĩnh Phúc, Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Xuân Cường và các cộng sự..... 510
- ***Chiết xuất Artemisinin quy mô công nghiệp***
  Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Quang Hoan, Lã Kim Oanh..... 513
- ***Sơ bộ nghiên cứu tác dụng dược lý của dịch chiết thanh cao và artemisinin thô***
  Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Thị Ninh Hải, Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Quang Hoan, Nguyễn Văn Sỹ, Đào Bội Hoàn 517

- *Góp phần nghiên cứu dạng bào chế viên artemisinin 0,25g*
  Phạm Thanh Trúc, Nguyễn Gia Chấn, Ngô Thu Hoà,
  Nguyễn Văn Doanh, Vũ Thị Đậu 521
- *Nghiên cứu bán tổng hợp β - dihydroartemisinin ethyl ether (Arteether)*
  Trần Mạnh Bình, Nguyễn Gia Chấn, Đặng Ngọc Bích 525
- *Nghiên cứu sự giải phóng hấp thu artesunat qua nghiên cứu sinh dược học in-vitro và in-vivo*
  Phạm Thanh Trúc, Nguyễn Minh Khai, Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Gia Chấn 529
- *Góp phần nghiên cứu sự giải phóng Artemisinin qua nghiên cứu sinh dược học (in - vitro)*
  Phạm Thanh Trúc, Ngô Thu Hoà, Nguyễn Gia Chấn, Hoàng Ân 532
- *Nghiên cứu sự hấp thu Artemisinin trong huyết tương thỏ qua một số dạng bào chế*
  Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Minh Khai, Phạm Thanh Trúc 535

TRÀM

- *Thành phần hóa học của tràm lá hẹp ở Việt Nam (Melaleuca alternifolia* Cheel)
  Nguyễn Văn Nghi và cộng sự 537
- *Kết quả nghiên cứu nhân giống vô tính tràm lá hẹp ở Việt Nam*
  Nguyễn Văn Nghi và cộng sự 542
- *Khả năng sinh trưởng và tích luỹ tinh dầu của cây tràm lá hẹp (Melaleuca alternifolia* Cheel*) ở Việt Nam*
  Nguyễn Văn Nghi và cộng sự 547

TRINH NỮ HOÀNG CUNG

- *Nghiên cứu nhân nhanh in vitro cây trinh nữ hoàng cung*
  Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Chinh, Tạ Như Thục Anh,
  Nguyễn Trần Hy, Đỗ Năng Vịnh 553

XOÀI

- *Sản xuất mangiferin từ lá xoài bằng giải pháp công nghệ sinh học*
  Nguyễn Viết Tựu, Nguyễn Thị Hạnh Trang 558
- *Góp phần nghiên cứu nguồn nguyên liệu lá xoài ở miền Bắc Việt Nam*
  Ngô Văn Trại 563

XUYÊN KHUNG

- *Một số biện pháp chống thối mầm xuyên khung trong bảo quản và thời vụ trồng thích hợp để sản xuất dược liệu ở Tam Đảo*
  Phạm Anh Thắng 566

- *Nghiên cứu ảnh hưởng của chất Giberenlin lên tỷ lệ nảy mầm của hạt xuyên tâm liên*
  Nguyễn Thị Thư 570

VÀNG ĐẮNG

- *Nghiên cứu bảo vệ, tái sinh cây vàng đắng và khả năng phát triển trồng cây hoàng bá, tạo thêm nguồn nguyên liệu berberin ở Việt Nam*
  Nguyễn Tập, Nguyễn Chiều, Ngô Văn Trại, Phạm Bích Thu, Phạm Văn Thanh, Đinh Thị Tuyết, Nguyễn Kim Cẩn, Đinh Văn My, Nguyễn Văn Mai, Hoàng Thị Bình, Nguyễn Châu Giang và cộng sự 573
- *Góp phần nghiên cứu bán tổng hợp tetrahydroberberin từ berberen clorua*
  Ngô Ngọc Khuyến, Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Minh Quý 577

BẢO TỒN NGUỒN GEN

- *10 năm hoạt động bảo tồn nguồn gen và giống cây thuốc*
  Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Gia Chấn, Lê Tùng Châu, Trần Khắc Bảo và cộng sự ... 580
- *Các giải pháp bảo tồn nguồn gen và giống cây thuốc*
  Trần Khắc Bảo 585
- *Kết quả bước đầu nghiên cứu bảo tồn ngoại vi (ex situ con.) một số cây thuốc quý hiếm bị de doạ tuyệt chủng tại trại thuốc Sa Pa và Tam đảo - Viện Dược liệu*
  Nguyễn Tập Đinh Văn My, Phạm Anh Thắng 590

TÀI NGUYÊN CÂY THUỐC

- *Bước đầu xây dựng bộ "Tài nguyên cây thuốc Việt Nam"*
  Đỗ Huy Bích và các cộng tác viên 593
- *Đánh giá hiện trạng nguồn dược liệu Việt Nam*
  Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Tập, Ngô Quốc Luật và cộng sự 596
- *Cây thuốc trong hệ thực vật Sa Pa - Phan Xi Pan*
  Đinh Văn My, Nguyễn Bá Hoạt, Ngô Văn Trại, Nguyễn Chiều, Nguyễn Tập và cộng sự 600
- *Kết quả điều tra cây thuốc ở vùng rừng Hương Sơn, tỉnh Hà Tĩnh*
  Nguyễn Tập, Ngô Văn Trại, Nguyễn Chiều, Lê Thanh Sơn, Phạm Thanh Huyền, Phan Kế Lộc 604
- *Đánh giá tiềm năng và quy hoạch phát triển dược liệu 4 huyện vùng cao núi đá tỉnh Hà Giang*
  Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Tập, Nguyễn Văn Thuận, Ngô Văn Trại, Lê Khúc Hạo, Nguyễn Chiều, Ngô Quốc Luật, Phạm Thanh Huyền, Trần Toàn, Lê Thanh Sơn, Nguyễn Thị Tuấn và cộng sự 608

GIỐNG CÂY THUỐC

- ***Công tác nhập nội giống cây làm thuốc của Viện Dược liệu trong 10 năm qua (1990 - 2000)***
  Nguyễn Bá Hoạt, Ngô Quốc Luật.....611
- ***Nghiên cứu di thực nhập nội các cây thuốc ở Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội từ 1992 - 1999***
  Nguyễn Thị Hoà, Nguyễn Bá Hoạt Bùi Thị Bằng, Nguyễn Văn Thuận.....613
- ***Tiêu chuẩn giống cho dương quy, bạch chỉ, ngưu tất và bạc hà***
  Nguyễn Văn Thuận, Lưu Đàm Cư, Nguyễn Văn Hoan, Phạm Văn Ý, Nguyễn Thị Thư, Lê Khúc Hạo, Trần Toàn, Trần Khắc Bảo, Nguyễn Thị Hoà, Nguyễn Đức Thịnh, Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Ngọc Chiêm, Đinh Văn My, Phạm Anh Thắng, Lã Đình Mới, Nguyễn Thị Phương Thảo, Nguyễn Thị Thủy, Trần Minh Hợi, Trương Anh Thư, Vũ Thị My, Hoàng Văn Định, Đào Mạnh Hùng, Đỗ Thị Tiêm, Phùng Tuyết Hồng, Nguyễn Thị Đạo.....616
- ***Đánh giá một số đặc điểm nông học của 6 giống sả trồng tại Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Ngọc Hồi (Thanh Trì - Hà Nội)***
  Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Văn Nghi, Đào Mạnh Hùng và CS. 622
- ***Chọn lọc phục tráng và quy trình kỹ thuật gieo trồng thích hợp cho cây ngưu tất trong điều kiện miền Bắc Việt Nam***
  Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Văn Thuận, Trần Toàn, Hoàng Văn Định, Đinh Văn My, Phạm Anh Thắng, Nguyễn Đức Thịnh. 626
- ***Ảnh hưởng của độ ẩm hạt đến tỷ lệ nảy mầm của một số giống cây thuốc bảo quản trong kho lạnh ngắn hạn***
  Phạm Văn Ý, Ngô Quốc Luật, Trần Khắc Bảo, Lê Tùng Châu 631

VÙNG NGUYÊN LIỆU

- ***Nghiên cứu xây dựng mô hình nông - lâm - cây dược liệu khai thác cải tạo đất dốc Sa Pa - Lao Cai***
  Nguyễn Bá Hoạt, Ngô Quốc Luật, Đinh Văn My, Nguyễn Văn Mai, Nguyễn Xuân Trường, Phan Thuý Hiền.....634
- ***Kết quả thực hiện dự án miền núi "Phát triển dược liệu và nấm hương" và ứng dụng phát triển vùng nguyên liệu ở Lao Cai và Hà Giang***
  Nguyễn Bá Hoạt, Đàm Nhận, Đinh Văn My, Phạm Văn Ý, Trịnh Văn Trường, Thân Đức Nhã, Hoàng Hữu Chát.....641

CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

- ***Nghiên cứu các biện pháp, chính sách hiện đại hóa ngành công nghiệp bào chế các thuốc làm từ cây thuốc***
  Nguyễn Gia Chấn, Phạm Thanh Trúc, Hoàng Thế Tân, Nguyễn Văn Phận, Nguyễn Xuân Hùng,Bùi Văn Đạm, Nguyễn Quang Cừ, Lê Minh Điểm.....645

- ***Nghiên cứu tác dụng hạ cholesterol máu của chế phẩm Bidentin bào chế từ rễ ngưu tất***
  Đoàn Thị Nhu, Phạm Kim Mãn, Phạm Văn Thanh, Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Quang Hoan, Đinh Thị Thuyết, Nguyễn Kim Bích, Hồ Đắc Trinh và cộng sự 651
- ***Nghiên cứu thuốc Dentonin điều trị viêm lợi và viêm quanh răng***
  Đoàn Thị Nhu, Phạm Văn Thanh, Nguyễn Ninh Hải, Phạm Thanh Trúc, Đinh Thị Thuyết và cộng sự 655
- ***Nghiên cứu hiện đại hóa dạng bào chế của bài thuốc cổ phương ngũ linh tán***
  Phạm Thanh Trúc, Nguyễn Thanh Bình, Trịnh Thị Điệp.....658
- ***Nghiên cứu tác dụng hạ huyết áp và hạ cholesterol huyết của chế phẩm "Ruvintat"***
  Dương Thị Mộng Ngọc, Nguyễn Thị Thu Hương, Đào Đại Cường, Trần Mỹ Tiên...663
- ***Nghiên cứu tác dụng dược lý của bài thuốc thấp khớp sasp-5221***
  Đỗ Trung Đàm, Hà Ngọc Tuyết.....668
- ***Nghiên cứu bào chế, xây dựng qui trình, tiêu chuẩn, thử độc tính và tác dụng dược lý thuốc chữa sỏi mật somatan***
  Nguyễn Văn Tường, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Thị Minh Khai, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Kim Phượng, Lê Minh Phương, Đinh Thị Thuyết, Nguyễn Kim Bích và cộng sự 672
- ***Nghiên cứu bán tổng hợp định hướng các dẫn xuất eugenol có tác dụng kháng nấm C. albicans***
  Phạm Trương Thị Thọ 677
- ***Nghiên cứu tiêu chuẩn hóa BuscopaN (Scopolamin n- butylbromi)***
  Nguyễn Kim Cẩn 681
- ***Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn indol-3-acetic acid (IAA)***
  Nguyễn Kim Cẩn 685

VIỆN DƯỢC LIỆU - 40 NĂM NGHIÊN CỨU VÀ PHÁT TRIỂN ĐỂ PHỤC VỤ, CHĂM SÓC VÀ BẢO VỆ SỨC KHỎE NHÂN DÂN

TS. Nguyễn Thượng Dong
VIỆN TRƯỞNG VIỆN DƯỢC LIỆU

I. MỐI QUAN HỆ GIỮA DƯỢC LIỆU VÀ SỨC KHỎE CON NGƯỜI

Dược liệu là nguồn tài nguyên thiên nhiên. Nó phát sinh và tồn tại không phụ thuộc vào ý muốn của con người. Trong thế giới bao la của thảm thực vật, từ xa xưa con người đã đúc kết được một số kinh nghiệm ban đầu sử dụng cây cỏ trong tự nhiên để điều trị bệnh cho chính mình và đồng loại.

Khi quan sát thế giới tự nhiên, loài người còn nhận thấy một số qui luật như mặt Trời, mặt Trăng phù hợp với sự thay đổi trạng thái sức khỏe con người, quy luật sinh tử, quy luật phát triển trong một vòng đời phải qua tất cả các giai đoạn từ sơ sinh, dậy thì, trưởng thành đến lão hóa, chu kỳ kinh nguyệt, chu kỳ mang thai vv.. Do đó, trong y học phương Đông người ta lấy điều "nguyệt kỵ" để khuyên vợ chồng không được gần nhau trong những ngày có kinh, khi mang thai và đang cho con bú.

Tùy mức độ phong phú của nguồn tài nguyên thiên nhiên và sự phát triển của từng bộ lạc hoặc từng dân tộc mà người ta có thói quen hay kinh nghiệm sử dụng cây cỏ để làm thuốc khác nhau. Từ đó, hình thành các nền y dược học dân tộc như hiện nay mà các nhà khoa học đang đi sâu nghiên cứu về thực vật học dân tộc và dược lý học dân tộc. Có nền y học dân tộc cổ truyền được một nước hoặc cả cộng đồng quốc tế coi như một nền y học chính thống; đó là nền Y học dân tộc phương đông.

Khoa học ngày càng phát triển, con người ngày càng đi sâu để khám phá thế giới tự nhiên. Lúc đầu các nhà khoa học nhận định rằng ***"sinh vật là nhà hóa học rất tuyệt vời"****, giỏi hơn cả các nhà hoá học trong việc tổng hợp các hợp chất tự nhiên. Qua hàng triệu năm, sinh vật đã tự tổng hợp các chất thiên nhiên để đáp ứng cho nhu cầu đặc biệt cho cuộc sống tồn tại của mình, như hirudin của con đỉa để chống đông máu. Về sau, chính hợp chất này đã được phân lập để điều trị các bệnh tắc nghẽn mạch máu. Tương tự như vậy, từ một loài dơi hút máu ở châu Mỹ, người ta đã phân lập được chất chữa bệnh tim. Chất này có tác dụng mở động mạch bị tắc*

nhanh gấp 2 lần so với các phương pháp điều trị thông thường và chỉ hạn chế trong vùng bị tắc. Nói chung, các hợp chất thiên nhiên là những chất có nguồn gốc biogen, ít có tác dụng nguy hiểm, trừ những chất độc nhất từ ếch Nam Mỹ, cá nóc, rắn, ô đầu, mã tiền v.v... ***Trong khi đó, các thuốc tổng hợp hóa học thường có hoạt tính cao, nhiều tác dụng phụ, đôi khi gây đột biến gen, quái thai hay các tổn thất nặng như điếc, tăng nguy cơ bị ung thư.v.v...***

Từ đó, loài người đã thành công trong việc tìm kiếm các thuốc ***vinblastin, vincristin*** *từ cây dừa cạn;* ***colchixin, colchamin*** *từ tỏi; các dẫn chất* ***taxol*** *trong thông đỏ để điều trị bệnh ung thư. Hiện nay, nhiều hãng dược phẩm đã sản xuất ra thuốc phòng chống ung thư từ sụn cá mập. Các chất chống lão hóa, chống oxy hóa có hiệu quả hiện nay là* ***betacaroten*** *có trong cà rốt, gấc, mướp đắng, táo đỏ, xoài vv..., hỗn hợp vitamin E trong dầu đậu tương, vitamin C trong nhiều loại hoa quả.* ***Berberin*** *điều trị ỉy, viêm đại tràng, thông mật.* ***Quinin*** *và* ***artemisinin*** *và các dẫn chất của chúng chữa sốt rét ác tính. Các thuốc tăng sinh cho nam giới từ bạch truật lê, dâm hương hoắc, ngài tầm đực, Avena sativa và Urtica diodica đang được sử dụng nhiều ở Mỹ - Tây Âu và Nhật Bản.* ***Nhóm thuốc steroid*** *đặc biệt được chú ý trong năm đầu của TK20 là cortison, hydrocortison, betamethason, dexamethason, betnesol.*

Từ nước tiểu của ngựa cái có mang, người ta đã tìm được hormon sinh dục nữ và gần đây chất ***phytoestrogen*** *từ đậu tương và sắn dây. Những chất này đã kéo dài tuổi thanh xuân của phụ nữ và nếu được sử dụng hàng ngày, chúng có thể hạn chế được ung thư vú, ung thư tử cung và duy trì kinh nguyệt đến tuổi 60.*

Ở nhiều nước, người ta đã sử dụng các tiền nội tiết tố ***dehydro epiandrosteron*** *và* ***pregnenolon*** *để chống lão hóa và kéo dài tuổi thọ. Các chất này được sản xuất từ diosgenin.* ***Melatonin*** *(nội tiết tố của tuyến tùng) và HG (nội tiết tố của tuyến yên) cũng là những sản phẩm chống lão hóa rất tốt. Hàm lượng melatonin trong máu tăng tạo ra giấc ngủ êm dịu không theo cơ chế ức chế của các thuốc ngủ thông thường như seduxen, lại ít độc nên hiện nay, thuốc này được bán rộng rãi trong siêu thị ở một số nước như Mỹ và Tây Âu.*

Dioxin, methyldigoxin *từ cây dương địa hoàng, D-strophantin từ hạt cây sừng dê là thuốc có tác dụng cường tim rất hiệu quả;* ***α-chimotripsin*** *từ mật bò, mật lợn;* ***papain*** *từ nhựa đu đủ và bromelin từ dứa là những enzym chống viêm nhiễm; insulin từ tuỵ lợn, bò điều trị bệnh đái đường;* ***L-tetra hydro palmatin*** *là thuốc an thần.*

Các sản phẩm từ sâm, *tam thất, đinh lăng đã được sử dụng từ lâu như một vị thuốc cứu thế. Chất mananozid R-2 được chiết tách từ sâm Việt Nam có tác dụng chống stress. Các nhà khoa học Việt Nam và Nhật Bản đã xác định được hàm lượng của chất này cao hơn nhiều so với sâm Triều Tiên, Trung Quốc và Nhật Bản.*

Trong những năm gần đây khi dược lý phân tử phát triển, khoa học lại chứng minh rằng ***một hợp chất có nguồn gốc thiên nhiên đã tồn tại nhiều năm trong tế bào sống (thực vật hoặc động vật) khi được phân lập và sử dụng để điều trị bệnh cho người, nghĩa là lại chuyển nó vào tế bào sống của con người, nó có khả năng dung nạp, thích nghi tốt và ít tác dụng phụ hơn các chất tổng hợp hóa học*** *(chưa từng là thành phần của một tế bào sống).*

Từ đó, nhiều Trung tâm, Tập đoàn và Công ty đã ra sức tìm kiếm các hợp chất thiên nhiên, tạo ra một môi trường phát triển thuận lợi cho dược liệu và các thuốc từ dược liệu.

II. NHU CẦU DƯỢC LIỆU TRONG NƯỚC VÀ THẾ GIỚI

Trong vài thập kỷ gần đây, các nước trên thế giới đã đẩy mạnh việc nghiên cứu các chế phẩm mới từ cây thuốc.

Ở Mỹ*, 25% các đơn thuốc được pha chế tại các cửa hàng dược gồm các chất chiết từ cây cỏ, 13% từ các loài vi sinh và 3% từ động vật với nhu cầu hàng tỷ USD /năm.*

Ở Trung Quốc, *có 940 xí nghiệp và xưởng sản xuất thuốc từ cây cỏ với 6266 mặt hàng. Năm 1995, tổng giá trị thuốc từ cây thuốc đạt 17,75 tỷ nhân dân tệ, tăng 212,6% so với năm 1990. Doanh thu các thuốc từ cây cỏ chiếm 33,1% thị trường thuốc năm 1995. Tổng giá trị xuất khẩu dược liệu và thuốc cổ truyền từ năm 1997 đạt 600 tr. USD. Hiện nay, Trung Quốc có chủ trương đầu tư mạnh cho công tác nghiên cứu dược liệu, đã tự túc được xấp xỉ 90% nhu cầu thuốc trong nước, trong đó thuốc sản xuất từ nguồn gốc thực vật chiếm phần lớn.*

Ở Ấn Độ*, năm 1996 người ta sản xuất khoảng 8-10 tỷ rupi thuốc từ cây cỏ và dự kiến năm 2000 sẽ tăng lên 40 tỷ.*

Trong 10 năm (1979-1988), doanh thu thuốc từ cây cỏ ở ***Nhật Bản*** *tăng 15 lần, trong khi đó thuốc tân dược chỉ tăng 2,6 lần.*

Ở Việt Nam, *trong vài thập kỷ gần đây, công tác nghiên cứu tài nguyên thực vật nói chung và tài nguyên cây thuốc nói riêng đã được đẩy mạnh. Đến nay, theo các tài liệu thu thập được, ở nước ta có khoảng 10650 loài thực vật, trong đó khoảng 3400 loài cây thuốc. Trong những năm qua, các xí nghiệp Nhà nước, liên doanh hoặc tư nhân đã sản xuất thuốc từ dược liệu ngày càng tăng cả về số lượng lẫn chất lượng như XNDFTƯ 26, NXDFTƯ3, XN Đông nam Dược quận 5 TP. HCM, Công ty Dược liệu TƯ1, Công ty Dược liệu TƯ2 và Công ty Dược và thiết bị y tế Đường sắt (Traphaco).*

Nhu cầu sử dụng dược liệu hiện nay ở nước ta cũng rất lớn. Theo đánh giá của Viện Dược liệu, năm 1998 khoảng 30.000 tấn cung cấp cho 145 bệnh viện YHCT, 242 khoa YHCT trong các bệnh viện đa khoa và khoảng 30.000 lương y đang hành

nghề trong cả nước. Ngoài ra, hàng năm, còn khoảng 20.000 tấn để phục vụ công nghiệp dược và xuất khẩu.

III. CÁC THỜI KỲ PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU Ở NƯỚC TA

Bước vào thời kỳ CNH, HĐH đất nước, 5 quan điểm đối với ngành y tế trong chủ trương chính sách của Nhà nước về chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân, trong đó có kết hợp đông tây y đã được khẳng định và dược liệu được coi là nền tảng của công tác dược, vì như bác sĩ Phạm Ngọc Thạch đã nói : ***"Nếu chúng ta chọn con đường mà các nước phát triển đang đi, tức là sản xuất thành phẩm từ hóa dược nguyên liệu (đối với nước ta vẫn chủ yếu phải nhập), thì suốt đời vẫn là học trò của họ và luôn luôn đi theo sau họ và ngành dược nước ta không bao giờ có thể độc lập và tự chủ. Nhưng nếu chúng ta đi vào con đường dược liệu, lấy dược liệu nước ta làm nguyên liệu, có những biện pháp chế biến một cách khoa học, ngày càng cải tiến, hiện đại hóa dạng bào chế, chúng ta sẽ có những sản phẩm độc đáo mà không phải nước nào cũng có và sẽ có vị trí xứng đáng trong ngành dược thế giới".***

Chiến lược phát triển ngành dược giai đoạn 2001-2010 đã xác định công tác trọng tâm của ngành bảo đảm cung cấp đến năm 2005 là 50% và vào năm 2010 là 70% nhu cầu thuốc thiết yếu cho sự nghiệp chăm sóc sức khỏe với những biện pháp:

- Hình thành mạng lưới các trung tâm dược liệu ở các vùng Trung Bộ, vùng dược liệu trung du, núi thấp phía bắc, vùng đồng bằng sông Hồng, vùng dược liệu duyên hải Nam Trung Bộ và vùng dược liệu Tây Nguyên.

- Khuyến khích các doanh nghiệp nâng cao năng lực nghiên cứu để tạo ra sản phẩm mới. Thu hút đầu tư nước ngoài vào các dự án sản xuất nguyên liệu làm thuốc, đặc biệt các dự án có công nghệ cao, công nghệ sinh học và hiện đại hóa sản xuất thuốc từ dược liệu.

Trong tổng số ***5659 mặt hàng*** *trong nước từ* ***346 hoạt chất****, thì* ***3392 số đăng ký thuốc*** *nước ngoài có* ***890 hoạt chất****. Chúng ta đang phấn đấu đến năm 2010 sẽ tăng số hoạt chất trong nước lên 1000. Để thực hiện được mục tiêu đó, dược liệu đóng góp một vai trò quan trọng.*

Nhưng tại sao một vấn đề quan trọng như vậy, từng là niềm tự hào của Ngành, lại có lúc phải kêu lên tiếng kêu cấp cứu? Theo một đồng chí lãnh đạo Ngành, có bốn nguyên nhân chính:

1) Từ khi mối quan hệ thương mại quốc tế được mở rộng, thuốc nước ngoài tràn vào Việt Nam ngày càng nhiều, tư tưởng chuộng thuốc ngoại, thuốc tây càng lộ rõ.

Trong khi đó, thuốc YHCT không được cải tiến nên ít được coi trọng và không được sử dụng như trước.

2) Trong hoàn cảnh thuốc từ dược liệu không được quan tâm đúng mức, các đơn vị chuyên về dược liệu không thể hoạt động có hiệu quả và lâm vào cảnh bế tắc. Cán bộ làm công tác dược liệu không còn vững tin vào chính mình, quay sang sản xuất và kinh doanh tân dược, làm cho công tác dược liệu gặp thêm nhiều khó khăn. Trong lúc đó, ở các nước phát triển, xu hướng chung là ngày càng hướng về cây thuốc.

3) Công tác quản lý và tổ chức chưa kịp thời chuyển đổi theo tình hình mới, nên chưa tháo gỡ được những khó khăn làm hạn chế hoạt động của các đơn vị làm dược liệu, nhằm mở đường cho dược liệu phát triển trong điều kiện của kinh tế thị trường. Trong khi đó, nhiều sản phẩm y học phương đông, có loại không có giá trị bao nhiêu lại nhập vào nước ta theo con đường bất hợp pháp, càng đẩy dược liệu Việt Nam vào thế bất lợi.

4) Hàm lượng khoa học trong một sản phẩm như dược liệu chưa cao, nhất là trong thuốc YHCT và dược liệu thô. Người dùng thuốc YHCT chưa biết trong một thang thuốc, viên hoàn hoặc tễ có bao nhiêu chất? Do đó, khi chúng ta muốn xuất thuốc từ dược liệu và dược liệu dạng nguyên liệu thì nhiều nước đã dùng khoa học kỹ thuật như một hàng rào pháp lý để ngăn cản hoặc hạn chế. Hiện nay, thế giới đã quan tâm đến khái niệm "dược liệu sạch", trong khi đó chúng ta còn chưa có giải pháp kỹ thuật để quản lý chất lượng tất cả các lô, mẻ dược liệu thu mua từ nhiều hộ nông dân, hộ kinh tế khác nhau. Tâm lý của người mua nhiều theo lô đều muốn hàng hóa của tất cả các lô phải như nhau, như hình thức và chất lượng của tất cả vỉ thuốc tân dược trong một lô sản xuất vậy.

Trong nhiều năm gần đây, được Bộ Y tế và Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường quan tâm, hoạt động khoa học kỹ thuật của Viện Dược liệu đã tập trung giải quyết những vấn đề bất cập nêu trên.

IV. VIỆN DƯỢC LIỆU VỚI SỰ NGHIỆP PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU Ở NƯỚC TA

Sau ngày giải phóng và tiếp quản Thủ đô, ngày 27-2-1955 Hồ Chủ Tịch đã gửi thư cho cán bộ ngành Y tế với nội dung sau: "Ông cha ta ngày trước có nhiều kinh nghiệm quí báu về cách chữa bệnh bằng thuốc ta, thuốc bắc. Để mở rộng phạm vi y học, các cô các chú cũng nên chú trọng nghiên cứu và phối hợp thuốc Đông và thuốc Tây". Ngày 13-4-1961, Bộ Y tế đã ra quyết định số 324BYT-QĐ thành lập Viện Dược liệu, với chức năng nghiên cứu và chỉ đạo công tác nuôi trồng dược liệu trong cả nước.

Những công trình NCKH của Viện Dược liệu trong giai đoạn 1961-1971 cho thấy, ở thời kỳ này việc nghiên cứu tạo ra thuốc được thực hiện bằng cả 2 hướng bán tổng hợp hóa học và chiết xuất từ dược liệu sẵn có ở Việt Nam. Đó là acid glutamic, camphosunfonat, gluconat canxi, sterat magiê, tanoform, bromoform, IAA, L-cystein chiết từ tóc, acid cholic từ mật lợn, phytin từ cám gạo, acid nicotinic từ thuốc lá, D-strophantin từ sừng dê, emberlin từ chua ngút, vinblastin từ dừa cạn, rutin từ hoa hòe và mạch ba góc, palmatin từ hoàng đằng, nunaxin từ núc nác, diosgenin, solasodin, rotundin từ bình vôi, sâm đại hành, dầu giun, gấc, cao ích mẫu, men bia, rong mơ để điều chế iodotamin, các loại tinh dầu như bạc hà, long não. Còn có những công trình nghiên cứu chế tạo các loại hóa chất thí nghiệm như silicagel, bảo quản dược liệu, điều tra xác định tài nguyên, trồng trọt.

Một số công trình nghiên cứu có hiệu quả đã được bàn giao cho các xí nghiệp để sản xuất thành mặt hàng như phytin, palmatin, rutin, holanin, santonin, abillin, iodotamin, D-strophantin, dầu xoa Thăng Long, các loại tinh dầu bạc hà, hương nhu, quế, menthol, viên mật lợn chữa ho gà, cao ích mẫu, dầu giun, xirô ho bromoform.v.v...

Việc nhập giống những cây thuốc có nguồn gốc từ phương Bắc ở những năm 60 như đương quy, bạch truật, bạch chỉ, vân mộc hương, đảng sâm v.v... là một thành công và đóng góp rất lớn của Viện và cũng là bước khởi đầu rất tốt cho công tác nghiên cứu trồng cây thuốc. Bước đầu, ta đã tự túc được một khối lượng lớn "thuốc Bắc" mà hàng năm vẫn phải nhập hàng chục tấn nguyên liệu từ Trung Quốc.

Từ 1972 đến 1986, Viện chuyển về từ cơ sở sơ tán và chuẩn bị cho kế hoạch xây dựng cơ sở nghiên cứu ở 3B Quang Trung. Sau giai đoạn vừa chiến đấu vừa nghiên cứu, là giai đoạn xây dựng, ổn định cơ sở vật chất và tổ chức các hoạt động NCKH. Trong giai đoạn này, nước ta có nhiều chuyển biến về lịch sử và kinh tế như thống nhất đất nước, chiến tranh biên giới, chuyển đổi từ cơ chế bao cấp sang cơ chế thị trường có điều tiết của Nhà nước. Đồng thời, chúng ta phải tập trung xây dựng công tác dược liệu ở phía Nam, bao gồm việc thành lập phân viện, các trạm nghiên cứu dược liệu và tổ chức điều tra tài nguyên cây thuốc. Như vậy, kể cả thời gian điều tra ở các tỉnh phía Bắc, công trình điều tra đã tiến hành hơn 20 năm và kết thúc vào năm 1985 với kết quả thu thập được 1863 loài cây thuốc thuộc 238 họ thực vật, 40 loại động vật làm thuốc và hơn 1000 bài thuốc lưu truyền trong dân gian (các số liệu tính đến cuối năm 2000 là khoảng 3400 loài thực vật làm thuốc). Viện Dược liệu đã chủ trì biên soạn 16 đầu sách bằng tiếng Việt, Pháp và Anh để phổ biến rộng rãi trong và ngoài nước. Về ý nghĩa khoa học, đó là cơ sở cho việc xây dựng các tập sách quốc gia về thực vật chí, dược liệu Việt Nam, cho việc lựa chọn các cây thuốc cần đi sâu nghiên cứu. Về ý nghĩa kinh tế, các kết quả cho phép xây dựng kế hoạch khai thác, bảo vệ và sử dụng hợp lý nguồn tài nguyên của đất nước.

Viện cũng đã di thực, thuần hóa và đưa vào sản xuất tại các địa phương hàng trăm loài cây thuốc góp phần đáng kể vào việc tạo nguồn thuốc trong nước và xuất khẩu. Đặc biệt đã tự túc được hơn 20 vị thuốc bắc quan trọng mà trước kia vẫn phải nhập nội.

Đi đôi với công tác nghiên cứu tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc, Viện đã tiến hành nghiên cứu toàn diện về các mặt hóa học, dược lý, bào chế, tiêu chuẩn và phối hợp với các bệnh viện thử nghiệm thuốc trên lâm sàng như thuốc raucaxin hạ huyết áp, abilin chữa viêm gan, nhuận gan, sâm đại hành tiêu viêm, giải độc, thuốc hạ cholesterol máu từ ngưu tất, thuốc kháng sinh kháng khuẩn xuyên tâm liên, viên chữa loét dạ dày nghệ truật, cao actiso chữa viêm gan lợi mật, thuốc nha chu viêm APD, các loại rượu bổ như tinh sâm, tam thất, sâm qui, ba kích, các thuốc nội tiết tố sinh dục như testosteron, progesteron từ diosgenin, chiết xuất menthol từ tinh dầu bạc hà, pepsin từ dạ dày, mangeferin từ lá xoài, eugenol và tinh dầu hương nhu, tinh dầu quế, xả, vương tùng, hoắc hương.

Ngoài ra, Viện còn góp phần xây dựng và chỉ đạo 36 trạm nghiên cứu dược liệu tại các tỉnh, tạo nên các mạng lưới chuyên khoa, đẩy mạnh công tác dược liệu trong cả nước về các mặt điều tra tài nguyên, trồng trọt, bào chế, phát triển thuốc nam tại xã, tích cực thực hiện phong trào 5 dứt điểm của Ngành y tế, thực hiện phương châm "thầy tại chỗ, thuốc tại chỗ". Những thành tựu này của Viện đã được Nhà nước và Bộ Y tế đánh giá cao, được tặng thưởng huân chương Lao động hạng hai, GS.TS. Nguyễn Văn Đàn, nguyên Viện trưởng đã được phong tặng danh hiệu cao quý Anh hùng Lao động, GS. Đoàn Thị Nhu là đại biểu quốc hội khoá VII.

Từ năm 1981, Nhà nước ban hành nghị định 263/CP về việc kế hoạch hóa mọi hoạt động khoa học kỹ thuật theo kế hoạch 5 năm. Đến năm 1983, Hội đồng Bộ trưởng ra quyết định số 51-HĐBT về việc đẩy mạnh việc ứng dụng các tiến bộ kỹ thuật vào sản xuất. Viện Dược liệu được giao chủ trì chương trình NCKH cấp Nhà nước đầu tiên về nghiên cứu tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc (Mã số 62-01) cho kế hoạch 1981-1985, đồng thời mở rộng hợp tác với Viện Dược liệu Liên Xô (cũ). Tháng 11/1985 Hội đồng Bộ trưởng đã phê duyệt dự án VIE-80-032 do UNDP tài trợ cho Viện Dược liệu một xưởng pilot chiết xuất và bào chế thuốc. Dự án này đã cung cấp thiết bị cho công nghệ chiết xuất artemisinin, D-strophantin, rutin, bidentin, abilin, raucaxin và nhiều mặt hàng khác của Viện. Đây là bước ngoặt lớn cả về tư duy lẫn thực tiễn cho công tác nghiên cứu công nghệ nhiều năm về sau. Nhiều thế hệ sau này vẫn ghi nhận công lao đóng góp cho dự án của GS.TS. Nguyễn Văn Đàn, GS. Đoàn Thị Nhu, GS. Nguyễn Gia Chấn, PGS. Lê Tùng Châu và Cố vấn trưởng TS.C.K. Atal.

Từ 1986 đến 1995, Viện tập trung nghiên cứu tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc cho công nghiệp dược và YHCT từ các loài thuộc chi Discorea, thanh hao hoa vàng,

đương quy, lão quan thảo, vân mộc hương, mã đề, xuyên khung, ngưu tất, trạch tả, ba gạc, nhân trần, sài hồ, và tập đoàn sả cho tinh dầu. Đồng thời nghiên cứu các thuốc chữa sốt rét, thuốc chữa đái tháo đường morantin, thuốc chữa cao huyết áp (raucaxin), thuốc hạ cholesterol máu (bidentin), thuốc chữa sốt rét artemisinin. Viện còn sản xuất 1500kg artemisinin tinh khiết và 3.000.000 viên nang, viên nén artemisinin 0,25g trị giá trên 8 tỷ đồng để phục vụ chương trình phòng chống sốt rét. Hàng năm, 100 – 150 kg hạt giống thanh cao được sản xuất để phục vụ cho các địa phương trồng từ 200 – 300 ha cây thanh cao hoa vàng làm nguyên liệu chiết xuất. Công trình này đã được nhà nước xét tặng Giải thưởng Hồ Chí Minh vào năm 2000.

Ngoài ra, Viện còn nghiên cứu các mặt hàng xuất khẩu. Mỗi năm xuất từ 30 – 50 tấn dược liệu trị giá hàng tỷ đồng VN.

Để phát huy thành quả trong giai đoạn 1986 – 1995, từ năm 1996 đến nay, Viện đã gắn nghiên cứu cơ bản với sản xuất và nghiên cứu công nghệ, đưa hoạt động KHCN của Viện đến với các công ty, xí nghiệp và địa phương. Do đó, nhiều đề tài nghiên cứu của Viện đã xuất phát từ đơn đặt hàng của các xí nghiệp. Sau khi nghiệm thu và hoàn chỉnh hồ sơ khoa học, các đề tài đã được bàn giao cho các xí nghiệp XNDF TƯ25, XNDF TƯ3, XNDF Thanh Hóa, công ty Dược phẩm Hà Thành. Hiện nay, Viện đang nghiên cứu một số đơn đặt hàng của CTDL TƯI. Cũng trong giai đoạn này, Viện đã có quan hệ chặt chẽ với nhiều địa phương như Hà Giang, Lao Cai, Sơn La, Hòa Bình, Hải Dương, Thanh Hóa, Quảng Nam, Kontum, Lâm Đồng trong việc nghiên cứu tạo vùng nguyên liệu làm thuốc dưới nhiều mô hình khác nhau, nhất là trồng cây dược liệu xen canh dưới tán rừng, cải tạo đất dốc theo mô hình vườn gia đình, vườn rừng, vườn trang trại.

Viện đã bàn giao cho XNDF TW25 năm mặt hàng như thuốc viêm gan Haina, thuốc hạ cholesterol máu và cao huyết áp Ruventat, thuốc đái tháo đường Morantin, thuốc nhỏ mũi Ngũ sắc, thuốc tan sỏi thận Somatan. Bàn giao cho XNDFTƯ3 các thuốc hạ áp Bidentin, thuốc nhuận tràng; cho xí nghiệp Hà Thành thuốc viêm gan, lợi mật Abilin; cho XNDF Thanh Hóa thuốc tăng tuần hoàn máu Angelin, thuốc sỏi thận Sotinin và thuốc viêm gan Phylantin.

Nhiều mặt hàng đang tiếp tục được thử lâm sàng giai đoạn I, II, III như thuốc viêm lợi (Dentonin), thuốc trị lỵ và thương hàn (Geranin), thuốc hỗ trợ điều trị ung thư (Panacrin), thuốc điều hòa miễn dịch (Angala) và các loại thuốc bổ dưỡng như "Hữu quy hoàn", "Sâm linh bạch truật tán". Ngoài ra Viện đang chủ trì dự án P cấp Nhà nước sản xuất thử nghiệm Viên ngậm Sâm K5 và Chè Sâm tan. Đề án Bảo tồn nguồn gen và giống cây thuốc có 12 tổ chức thành viên, hình thành một mạng lưới trong toàn quốc. Dự án Bảo tồn các cây thuốc YHCT, trong đó có một phần rất quan

trọng là sưu tầm và bảo tồn kinh nghiệm sử dụng cây thuốc YHCT của các dân tộc ít người. Về bán tổng hợp hóa học, Viện đã nghiên cứu tổng hợp buscopan đạt tiêu chuẩn Dược điển Anh từ scopolamin, nhằm góp phần tự túc hoạt chất này không phải nhập nội.

Về tạo nguồn, Viện đã hình thành vùng trồng nguyên liệu chè xanh Nhật Bản làm thuốc tại Lào Cai; dương cam cúc tại Lâm Đồng; lão quan thảo xuất khẩu tại Hà Giang, Lào Cai và Hòa Bình; mã đề tại Hà Nội, Hải Dương; ba kích tại Thanh Hóa và Phú Thọ; thanh cao hoa vàng tại Thanh Hóa, Hà Nội và Tuyên Quang. Đồng thời, nghiên cứu mô hình đưa cây dược liệu vào cải tạo đất dốc tại Sa Pa.

Về giống cây thuốc, các giống thanh cao hoa vàng, ngưu tất, đương qui, bạc hà, sinh địa, trinh nữ hoàng cung và cà gai leo đã được nghiên cứu và phục tráng.

Hiện nay, Viện Dược liệu đang triển khai kế hoạch nghiên cứu khoa học giai đoạn 2001 – 2005 với chương trình "Nghiên cứu giải pháp đồng bộ nâng cao hiệu quả sử dụng nguồn tài nguyên dược liệu Việt Nam". Đây là một đề tài lớn, có sự phối hợp của gần 20 đơn vị là các trường đại học và các viện có liên quan.

Để xứng đáng với nhiệm vụ to lớn mà Đảng, Nhà nước và Bộ Y tế giao phó trên tinh thần mục tiêu, phương hướng và nhiệm vụ của nước ta trong thời kỳ công nghiệp hóa, hiện đại hoá mà Đại hội VIII của Đảng đã đề ra, bước vào giai đoạn mới, Viện Dược liệu sẽ phấn đấu hơn nữa, đẩy mạnh các hoạt động nghiên cứu khoa học, đưa kết quả nghiên cứu vào thực tế sản xuất, phục vụ tốt nhất cho sự nghiệp chăm sóc và bảo vệ sức khỏe của nhân dân.

V. KẾT LUẬN

Thay cho lời kết chúng tôi xin mượn ý của một cán bộ lão thành: "... ***Tôi quan niệm thành công của công tác dược liệu là từ cây thuốc đã có chiết xuất ở qui mô công nghiệp và đã tiêu thụ được sản phẩm, làm cơ sở để nâng lên mức cao hơn, và sản phẩm tạo ra được dùng để làm thuốc. Trồng được một cây, dù có bán được ra nước ngoài, nhưng không dùng để làm thuốc thì chưa phải là dược liệu. Làm sao trồng được một cây có tác dụng chữa bệnh, trước mắt có thể xuất khẩu, nhưng phấn đấu để chiết xuất được một phần ở trong nước, dù là một phần nhỏ để làm ra thành phẩm, đó chính là nội dung của công tác dược liệu. Thời gian qua, ta chọn cây thanh cao và cây dừa cạn là đúng hướng.... Đường lối phương châm là cực kỳ quan trọng. Nhưng một khi đã xác định, bước cơ bản là hành động, và kế hoạch triển khai, mà kết quả sẽ là điều chứng minh cho đường lối".***

40 NĂM XÂY DỰNG VÀ TRƯỞNG THÀNH CÔNG TÁC NGHIÊN CỨU TRỒNG CÂY THUỐC VIỆN DƯỢC LIỆU

ThS. Nguyễn Bá Hoạt
PHÓ VIỆN TRƯỞNG VIỆN DƯỢC LIỆU

Việt Nam nằm trong vùng nhiệt đới, kéo dài trên 17 vĩ độ bắc, khí hậu thay đổi từ nhiệt đới ẩm đến á nhiệt đới núi cao. Nước ta có trên 3/4 diện tích là vùng đồi núi với thảm thực vật đa dạng, tạo nên nguồn cây làm thuốc vô cùng phong phú. Trong lịch sử phát triển của mình, người Việt Nam đã nêu cao chân lý "Thuốc Nam chữa bệnh người Nam". Y tế phát triển, nhu cầu cây thuốc tạo nguyên liệu cho sản xuất thuốc và xuất khẩu ngày càng cao. Vừa mới giành chính quyền, Đảng, Nhà nước ta đã chủ trương phát triển đông y, bảo tồn vốn y học cổ truyền dân tộc. Vì vậy, việc thúc đẩy phát triển nhanh và không ngừng công tác nghiên cứu trồng cây thuốc là một yêu cầu cấp bách.

I. 25 NĂM KHỐI NGHIÊN CỨU TRỒNG CÂY THUỐC XÂY DỰNG VÀ PHÁT TRIỂN

Sau ngày giải phóng và tiếp quản Thủ đô (1954), Nhà nước đã chú trọng phát triển Y học cổ truyền Việt Nam. Ngày 17 tháng 6 năm 1957 Chính phủ ra nghị định số 238/TTg thành lập Viện nghiên cứu đông y (nay là Viện Y học cổ truyền Việt Nam). Cùng với việc xây dựng bộ máy tổ chức của Viện, ngày 1 tháng 10 năm 1957, Viện nghiên cứu Đông y đã thành lập vườn cây thuốc Văn Điển (nay là Trung tâm nghiên cứu Trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội) ở huyện Thanh Trì ngoại thành Hà Nội. Ngày 20/1/1959, thành lập Vườn cây thuốc Tam Đảo (nay là Trạm nghiên cứu Trồng cây thuốc Tam Đảo) đóng trên thị trấn Tam Đảo - Vĩnh Phúc ở độ cao gần 900m. Ngày 10 tháng 5 năm 1959, thành lập Vườn cây thuốc Sa Pa (nay là Trạm nghiên cứu Trồng cây thuốc Sa Pa) đóng trên thị trấn Sa Pa, tỉnh Lào Cai, ở độ cao gần 1600m. Chỉ sau 2 năm thành lập, Viện Đông y đã nhanh chóng xây dựng hệ thống nghiên cứu trồng cây thuốc nhằm chủ động tạo nguyên liệu làm thuốc. Các Vườn thuốc có chức năng nghiên cứu nhập nội các cây thuốc từ nước ngoài (chủ yếu là từ Trung Quốc) và thuần hoá (nhập nội) các cây thuốc mọc hoang vào trồng để chủ động tạo nguồn nguyên liệu sử dụng làm thuốc. Ngày 13/4/1961

Bộ Y tế đã ra Quyết định số 324 BYT/QĐ thành lập Viện Dược liệu đồng thời ngày 3/6/1961 Bộ Y tế ra Quyết định số 482 BYT/QĐ giao các Vườn thuốc thuộc Viện Đông y cho Viện Dược liệu quản lý. Hệ thống các Vườn thuốc được đổi tên thành Trại nghiên cứu Trồng cây thuốc có chức năng nghiên cứu nhập nội, thuần hoá; nghiên cứu xây dựng quy trình kỹ thuật trồng cây thuốc, kỹ thuật sản xuất giống cây thuốc và cây tinh dầu, kỹ thuật chế biến sau thu hoạch và bảo quản, sản xuất nguyên liệu ban đầu cho nghiên cứu cây thuốc và sản xuất thuốc thử nghiệm, chỉ đạo hệ thống các đơn vị địa phương về kỹ thuật trồng cây thuốc. Tách một số nội dung nghiên cứu và chỉ đạo cơ sở giao Phòng Trồng trọt thực hiện. Tổ chức các Bộ môn nghiên cứu chuyên sâu như: Nông hoá thổ nhưỡng, Bảo vệ thực vật, Nuôi cấy mô Tế bào thực vật, Giống, Kỹ thuật canh tác cây thuốc. Ngày 21/9/1978, Bộ Y tế ra Quyết định số 1112 BYT/QĐ thành lập Phân viện Dược liệu phía Nam trực thuộc Viện Dược liệu, Phòng Trồng trọt thuộc Phân viện do kỹ sư Nguyễn Thanh - Phó giám đốc Phân viện kiêm trưởng phòng có trách nhiệm nghiên cứu và chỉ đạo công tác trồng cây thuốc miền Nam.

Cuối 70 và đầu thập kỷ 80 Khối nghiên cứu trồng cây thuốc Viện Dược liệu phát triển mạnh mẽ, ngoài hệ thống 3 Trại trồng cây thuốc, còn có Phòng Trồng trọt thuộc Phân viện dược liệu. Biên chế hoạt động trong hệ thống này lên tới gần 80 người trong đó trên 30 cán bộ đại học gồm kỹ sư nông nghiệp, cử nhân sinh học, kỹ sư lâm nghiệp và dược sĩ chuyên ngành dược liệu. Tuy vậy, chưa có cán bộ có bằng cấp trên đại học. Về mặt tổ chức và nhân sự phát triển nhanh nhưng cơ sở vật chất hầu như chưa có thay đổi. Các trại trồng cây thuốc cơ sở nhà và đồng ruộng vẫn giữ nguyên cấu trúc và xây dựng từ giai đoạn Vườn cây thuốc thuộc Viện Đông y. Trại thuốc Văn Điển và Trại thuốc Sa Pa được đầu tư máy cày làm đất và một số công cụ cầm tay. Trại Sa Pa đầu tư hệ thống cấp nước và giàn trồng tam thất. Năm 1976, chuyển Phòng trồng trọt xuống Trại Văn Điển, xây dựng thêm ngôi nhà cấp bốn 6 gian và xây dựng 3 phòng thí nghiệm nông hoá thổ nhưỡng, bảo vệ thực vật, phân tích nhanh.

Hai nhữm năm xây dựng và phát triển (1961-1986), Khối nghiên cứu trồng cây thuốc Viện Dược liệu có đóng góp lớn cho sự nghiệp phát triển dược liệu. Trước hết, đã nghiên cứu nhập nội một khối lượng lớn cây thuốc vào Việt Nam. Hàng trăm loài đã được nghiên cứu đánh giá nhập nội, gần 70 loài được khẳng định có khả năng phát triển ở Việt Nam. Nhiều loài cây thuốc quan trọng được đầu tư nghiên cứu tiếp theo và đã đưa ra sản xuất: phục vụ Y học cổ truyền như bạch truật, đương quy, địa hoàng, bạch chỉ, huyền sâm, ngưu tất, vân mộc hương, tam thất, xuyên khung, cát cánh, trạch tả, đỗ trọng, hoàng bá, lộ đảng sâm, độc hoạt, hoàng cầm, đan sâm, hồ lô ba, bắc sa sâm, đại hoàng..v.v... phục vụ cho nghiên cứu thuốc mới, tinh dầu làm

thuốc có bạc hà, bạc hà Âu, 2 loài dương địa hoàng, actisô, cà Úc, cúc gai dài, 3 loài củ nêm, ngải biển... Thuần hoá đưa vào trồng nhiều loài cây thuốc, chủ động nguyên liệu cho sản xuất thuốc như: Hương nhu trắng, hy thiêm, hoài sơn, tục đoạn, ô đầu, sâm đại hành, hà thủ ô đỏ, dầu giun, dừa cạn, đảng sâm, kim ngân, xuyên tâm liên, sâm đại hành, ba kích, sa nhân, thảo quả, hoè..v.v... Phối hợp với địa phương giúp các Trạm Dược liệu nghiên cứu kỹ thuật trồng cây thuốc. Cùng với Trạm Dược liệu giúp các Trạm xá xã xây dựng vườn thuốc nam tại Trạm, vườn thuốc gia đình tại hộ nông dân, thực hiện phong trào 5 dứt điểm của Ngành y tế. Tổ chức mở rộng các vùng giữ giống cây thuốc, xây dựng các trạm nhân giống cây thuốc quý cho địa phương như: Ngọc Linh, Đắc Tô - Kon Tum; Mường Lóng, Kỳ Sơn - Nghệ An; Son Bá Mười, Bá Thước - Thanh Hoá; Thung Khe, Mai Châu - Hoà Bình... Thực hiện các chương trình nghiên cứu lớn của Viện như: Nghiên cứu kỹ thuật trồng và chưng cất tinh dầu giun, phát triển vùng nguyên liệu tạo tinh dầu giun cho nghiên cứu sản xuất thuốc trị giun sán giai đoạn 1961 - 1971. Nghiên cứu nhập nội, kỹ thuật trồng và chưng cất tinh dầu bạc hà, phát triển xây dựng vùng nguyên liệu tinh dầu trong nước và xuất khẩu giai đoạn 1971 - 1980. Nghiên cứu kỹ thuật trồng và xây dựng vùng nguyên liệu cho chương trình sản xuất thuốc Corticoit như các loài củ nêm (Dioscorea spp.), cà Úc, anh túc trong chương trình hợp tác Việt - Xô, nhằm tạo nguyên liệu diosgenin và solasodin của giai đoạn 1976-1986.

II. 15 NĂM ĐỔI MỚI - KHỐI NGHIÊN CỨU TRỒNG CÂY THUỐC PHÁT TRIỂN VÀ TRƯỞNG THÀNH

Bước vào thời kỳ đổi mới (1986-1990), Khối nghiên cứu trồng cây thuốc được củng cố nhằm đáp ứng nhu cầu phát triển mới. Phòng Trồng trọt sát nhập với Trại trồng cây thuốc Văn Điển (1987) chuẩn bị cho việc xây dựng Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội. Trạm biến thế và khu chế biến dược liệu được xây dựng tại Trại Văn Điển với dãy nhà mái bằng 12 gian trên 200m^2 nhà xưởng. Giai đoạn 2 của dự án DP/ViE/80/032 không được thực hiện nên không có thiết bị đầu tư cho khu chế biến này. Tuy vậy, đây cũng là một thay đổi đáng kể về mặt đầu tư cho các trại. Dự án xây dựng khu nghiên cứu trồng cây thuốc Viện Dược liệu đã đề nghị Bộ Y tế xem xét phê duyệt từ 1983 nhưng đến 1995 Viện mới được Bộ Y tế chính thức phê duyệt lại. Ngày 16/3/1996 Bộ Y tế phê duyệt dự án "Xây dựng cải tạo và mở rộng Trại nghiên cứu cây thuốc Văn Điển" với tổng mức vốn đầu tư 5 tỷ đồng Việt Nam. Dự án thực hiện từ 1996 đến 1999 hoàn thành nghiệm thu với tổng giá trị gần 5,8 tỷ đồng. Trại Văn Điển được đổi tên là Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc có cơ sở vật chất khang trang, bao gồm 2 bộ phận Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc và Phòng nghiên cứu nuôi cấy mô tế bào.

Năm 1994, Trại cây thuốc Sa Pa được đầu tư xây dựng nhà mái bằng thay thế nhà cấp 4 được xây dựng năm 1960. Xây dựng lò sấy dược liệu, tường rào bao quanh và đồng ruộng được cải tạo một bước. Năm 1996, nhà mái bằng Sa Pa được nâng cấp thành nhà 2 tầng. Năm 1999, cải tạo hệ thống đồng ruộng và cấp thoát nước, Trại Sa Pa đổi tên thành Trạm nghiên cứu cây thuốc Sa Pa.

Trại cây thuốc Tam Đảo năm 1995 được đầu tư xây dựng nhà mái bằng thay thế nhà cấp 4 cũ. năm 1997 cải tạo đồng ruộng, xây dựng kè đá, đường đi, tường rào và nhà kho, lò sấy dược liệu. Năm 2000 đầu tư nâng cấp nhà và cải tạo hệ thống cấp nước.

Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Đà Lạt được chuyển từ Tổng công ty Dược Việt Nam về Viện Dược liệu tháng 12/1996. Năm 1998, Viện đề nghị Bộ Y tế dự án cải tạo và nâng cấp Trung tâm Đà Lạt. Được Bộ Y tế phê duyệt, dự án thực hiện 2 năm 1999-2000 với tổng kinh phí 3,5 tỷ đồng. Nhà xưởng, tường rào, trạm biến thế, nhà lưới, nhà màn, hệ thống cấp nước cho trại Tà Nung và trại Cam Ly được xây dựng. Tăng cường thiết bị cho nghiên cứu nông nghiệp, xưởng chế biến và thiết bị văn phòng, nâng cấp một bước quan trọng cơ sở vật chất của Trung tâm.

Như vậy, trong 10 năm (1990-2000) cơ sở vật chất của các đơn vị trong hệ thống nghiên cứu trồng cây thuốc được đầu tư cải thiện một bước quan trọng.

Đội ngũ cán bộ kỹ thuật trong 10 năm qua đã được nâng lên về chất lượng. Đã đào tạo 2 tiến sĩ và 9 thạc sĩ. Như vậy, đội ngũ cán bộ kỹ thuật có trình độ đại học và trên đại học gần 30 người, có khả năng đáp ứng yêu cầu phát triển chuyên ngành trồng cây thuốc.

Hoạt động nghiên cứu khoa học trong thời kỳ đổi mới (1986-2000), Khối nghiên cứu trồng cây thuốc có những chuyển hướng kịp thời đáp ứng nhu cầu thị trường và yêu cầu nguyên liệu làm thuốc theo 3 hướng được đầu tư trọng điểm như nhau:

- Tham gia thực hiện các đề tài cấp Nhà nước, cấp Bộ, cấp Cơ sở với chất lượng ngày càng nâng cao, gắn kết quả nghiên cứu với triển khai vào thực tế sản xuất.

- Xây dựng các chương trình dự án đáp ứng nhu cầu Quốc gia, nhu cầu của cơ sở, trực tiếp thực hiện các nhiệm vụ chiến lược của Ngành.

- Tìm hiểu nhu cầu của các địa phương, gắn nghiên cứu với nhu cầu của cơ sở, thực hiện các dự án, các đề tài do địa phương đặt hàng, thực hiện bằng nguồn kinh phí cấp Tỉnh.

Trong những năm 1986-1990, Viện Dược liệu thực hiện đề tài cấp Nhà nước 64.C "Tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc". Khối nghiên cứu trồng cây thuốc đã tập trung thực hiện các đề tài nhánh:

- Nghiên cứu phát triển cây sả (Cymbopogon spp.) tạo tinh dầu làm thuốc và xuất khẩu. Đề tài đã tập hợp 11 giống sả của 3 nhóm tinh dầu citral, citronella và geraniol. Thực hiện nghiên cứu cơ bản: nhập nội, đánh giá giống, xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất giống và tinh dầu. Tổ chức khảo nghiệm sản xuất nhằm xây dựng vùng nguyên liệu ở Tân Kỳ - Nghệ An, Tam Đảo - Vĩnh Phúc.

- Nghiên cứu phát triển 3 loài củ nêm DD, DC và DF (Dioscorea spp.) tạo nguyên liệu cho sản xuất diosgenin: Nghiên cứu nhập nội, đánh giá giống đã chọn. Loài Dioscorea composita (DC) và loài Dioscorea floribunda (DF) phát triển vùng đồng bằng và trung du, loài Dioscorea dentoidea (DD) phát triển ở vùng cao Sa Pa. Tổ chức sản xuất khảo nghiệm DF trên đất đồi Chí Linh và đất bãi ven sông Tứ Kỳ tỉnh Hải Dương. Sản xuất khảo nghiệm DD trên đất dốc vùng cao Sa Pa - Lào Cai. Hoàn thiện quy trình sản xuất và luận chứng kinh tế cho xây dựng vùng nguyên liệu ổn định.

Năm 1988, Viện Dược liệu xây dựng đề cương dự án "Bảo tồn nguồn gen và giống cây thuốc, cây tinh dầu làm thuốc" được Bộ Khoa học công nghệ và môi trường chấp nhận, giao cho Viện làm cơ quan đầu mối. Cùng với công tác nhập nội và thuần hoá cây thuốc, các đơn vị trong hệ thống trồng cây thuốc có nội dung và điều kiện thực hiện nhiệm vụ thường xuyên của mình.

Tham gia chương trình cấp Nhà nước KY02 "Tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc" Trại nghiên cứu trồng cây thuốc Văn Điển đã nghiên cứu nhiều nội dung nhằm hoàn thiện phần nghiên cứu tạo nguồn nguyên liệu chất lượng cao, ổn định sản lượng cho đề tài sản xuất Artemisinin như nghiên cứu chọn lọc giống, sản xuất giống thanh cao; nghiên cứu quy trình kỹ thuật trồng, sâu bệnh hại, ảnh hưởng các yếu tố vi lượng đến hàm lượng hoạt chất và năng suất, xác định vùng trồng cho sản xuất dược liệu thanh cao. Lần đầu tiên công tác giống cây thuốc được chú trọng, đề tài nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn giống cây thuốc được thực hiện.

Đề tài cấp Bộ: Nghiên cứu xây dựng vùng trồng ba gạc tạo vùng nguyên liệu cho sản xuất thuốc tim mạch. Đề tài phối hợp với Trung tâm Lâm sinh Ba Vì sản xuất khảo nghiệm ba gạc trên đất lâm nghiệp xen canh cây rừng.

Viện Dược liệu đề nghị đề tài "Xây dựng quy trình kỹ thuật trồng cây thuốc thiết yếu phục vụ y học cổ truyền" được Bộ Y tế chấp nhận. Các trại nghiên cứu trồng cây thuốc Văn Điển, Tam Đảo, Sa Pa và các Trạm Dược liệu Hải Dương, Thanh Hoá cùng phối hợp thực hiện. 15 quy trình trồng cây thuốc đầu vị phục vụ y học cổ truyền được công bố đáp ứng nhu cầu trồng cây thuốc của nhân dân.

Viện Dược liệu xây dựng dự án "Phát triển dược liệu và nấm hương tạo nguồn thu cho đồng bào các dân tộc huyện Sa Pa - Lào Cai góp phần thay thế nguồn thu

từ cây thuốc phiện". Dự án đã xây dựng mô hình cây thuốc tham gia chuyển đổi cơ cấu cây trồng vùng cao vùng sâu, mở ra khả năng sản xuất nấm hương và dược liệu theo hướng sản xuất hàng hoá, không chỉ cho nhu cầu trong nước mà còn tham gia xuất khẩu. Lần đầu tiên xuất khẩu 31 tấn dược liệu được trồng và chế biến tại Sa Pa.

Phối hợp với Viện Rau quả thuộc Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn, Trại nghiên cứu trồng cây thuốc Sa Pa thực hiện đề tài "Chuyển giao giống gốc" cho một số hộ nông dân, giúp các hộ nông dân tiếp thu tiến bộ kỹ thuật sản xuất giống cây thuốc mới phục vụ nhu cầu trồng cây thuốc.

Lần đầu tiên, Khối trồng cây thuốc là thành viên chính thực hiện 2 chương trình hợp tác Quốc tế của Viện. Trại nghiên cứu cây thuốc Văn Điển thực hiện tốt chương trình hợp tác Việt Nam - Hà Lan nghiên cứu trồng thanh cao trong chương trình chống sốt rét. Ba Trại Văn Điển, Sa Pa, Tam Đảo thực hiện tôt chương trình hợp tác Viện Dược liệu Việt Nam và Công ty Honso Nhật Bản đánh giá nhập nội các cây thuốc phục vụ nhu cầu sản xuất dược liệu theo đơn đặt hàng của Công ty Honso. Kết quả đã có 4 mặt hàng sản xuất dược liệu xuất khẩu cho Công ty Honso Nhật Bản với sản lượng trên 50 tấn/năm.

Trong kế hoạch 1996 - 2000, Ngành y tế chỉ có một chương trình cấp Nhà nước "Chương trình bảo vệ và nâng cao sức khoẻ cộng đồng" mã số KHCN 11. Trong đó chỉ có 1 đề tài dược liệu KHCN 11-05 với 3 nội dung nghiên cứu: Nghiên cứu các biện pháp, chính sách hiện đại hoá công nghiệp bào chế các thuốc từ dược liệu; ứng dụng tiến bộ kỹ thuật xác minh giá trị một số cây thuốc điều trị một số bệnh phát sinh trong quá trình công nghiệp hoá hiện đại hoá; nghiên cứu xây dựng công tác giống cây thuốc Việt Nam trên cơ sở hoàn thiện kết quả nghiên cứu chọn tạo giống thanh cao. Trung tâm nghiên cứu Trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội thực hiện đề tài độc lập cấp Nhà nước "Nghiên cứu mô hình sản xuất tại chỗ và cung ứng một số thuốc từ dược liệu phục vụ đồng bào sống ở nông thôn và miền núi". Đề tài chọn Thanh Hoá là điểm xây dựng mô hình. Trung tâm Trồng cây thuốc Hà Nội đã nghiên cứu giống và quy trình kỹ thuật trồng các cây thuốc: cối xay, diệp hạ châu, cát cánh, hoài sơn, ý dĩ, trạch tả, đương quy, kim tiền thảo. Xây dựng vùng nguyên liệu cung ứng tại chỗ cho sản xuất các mặt hàng thuốc.

Phối hợp với Viện Nông hoá thổ nhưỡng Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn, Viện Dược liệu thực hiện nội dung trong chương trình cấp Nhà nước KHCN 08-07 "Xây dựng mô hình cây thuốc tham gia khai thác cải tạo đất dốc vùng cao Sa Pa - Lào Cai" chứng minh hiệu quả kinh tế cao, giá trị bảo vệ đất, chống xói mòn và giá trị xã hội của tập đoàn cây thuốc phát triển theo hướng nông - lâm - cây thuốc kết hợp.

Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tham gia chương trình công nghệ sinh học cấp Nhà nước KHCN 02-02 nghiên cứu nhân nhanh giống trinh nữ hoàng cung và cà gai leo bằng invitro. Đề tài đã đưa công nghệ nhân giống invitro áp dụng cho sản xuất thành công 2 giống cây thuốc, mở ra hướng ứng dụng rộng rãi công nghệ invitro cho cải tạo và sản xuất giống cây thuốc.

Cùng với việc chỉ đạo các đơn vị trong hệ thống bảo tồn nguồn gen và giống cây thuốc, Viện Dược liệu đề xuất đề án "Bảo tồn cây thuốc cổ truyền" được Bộ Y tế phê duyệt, triển khai trên 3 vùng sinh thái theo hướng bảo tồn on farm và insitu cây thuốc cổ truyền người H'Mông, Dao ở huyện Sa Pa - Lào Cai; bảo tồn và sử dụng bền vững cây thuốc đồng bào Dao, Ba Vì - Hà Tây; bảo tồn cây thuốc dân tộc Vân Kiều - Cà Tu tại vườn Quốc gia Bạch Mã, Thừa Thiên - Huế.

Trung tâm Trồng và chế biến cây thuốc Đà Lạt thực hiện đề tài cấp Bộ "Nghiên cứu kỹ thuật trồng và chọn giống dương cam cúc" ở Đà Lạt - Lâm Đồng.

Giai đoạn 1996-2000 khối nghiên cứu trồng cây thuốc đã gắn hoạt động nghiên cứu với nhu cầu cơ sở thực hiện các đề tài nghiên cứu theo đơn đặt hàng của địa phương. Trung tâm Trồng cây thuốc Hà Nội đã phối hợp với Sở KHCN và Môi trường Sơn La nghiên cứu phát triển trồng cây lão quan thảo, đương quy ở Mộc Châu Sơn La, phối hợp với Cục định canh định cư Hoà Bình phát triển trồng lão quan thảo trên 2 xã vùng cao đã trồng thuốc phiện trước đây là Hang Kia và Pà Cò huyện Mai Châu Hoà Bình, phối hợp với Sở KHCN - MT Hà Giang phát triển trồng đương quy và lão quan thảo vào 3 huyện vùng cao núi đá biên giới là Quản Bạ, Đồng Văn và Mèo Vạc Hà Giang. Trạm nghiên cứu Trồng cây thuốc Sa Pa thực hiện dự án điều tra dược liệu và quy hoạch phát triển cây thuốc tỉnh Lao Cai do Sở KHCN và MT đầu tư. Trạm cây thuốc Tam Đảo xây dựng mô hình trồng lão quan thảo xuất khẩu tại Bắc Hà - Lào Cai. Trung tâm Trồng và chế biến cây thuốc Đà Lạt thực hiện đề tài nghiên cứu trồng sâm Việt Nam (Panax vietnamensis) tại Lâm Đồng và đề tài Nghiên cứu trồng sản xuất trà Actiso do sở KHCN và MT Lâm Đồng đặt hàng.

Mười lăm năm đổi mới (1986-2000), hoạt động nghiên cứu gắn liền với sản xuất của Khối nghiên cứu trồng cây thuốc đã đạt được những kết quả đáng kể, đã hình thành hệ thống sản xuất hàng hoá cung ứng giống và dược liệu cho nhu cầu sử dụng trong nước và trực tiếp tham gia xuất khẩu. Sản lượng dược liệu xuất khẩu từ năm 1993 trở lại đây đạt vài chục tấn/năm, mở ra triển vọng mới và thúc đẩy công

III. KẾT LUẬN

40 năm xây dựng và trưởng thành của các đơn vị nghiên cứu trồng cây thuốc thuộc Viện Dược liệu đã thể hiện tư tưởng chỉ đạo và hướng đầu tư phát triển đúng của Ngành y tế. Sự nỗ lực vươn lên của các đơn vị nghiên cứu trồng cây thuốc tạo nên nền tảng cơ sở vững mạnh, đội ngũ cán bộ có trình độ chuyên sâu và giàu kinh nghiệm, các kết quả nghiên cứu đã có những đóng góp quan trọng cho công tác phát triển cây thuốc của nước nhà. Với bề dầy kinh nghiệm khối nghiên cứu trồng cây thuốc đã chuẩn bị hành trang bước vào cuộc chiến đấu mới đầy hứa hẹn.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ XÂY DỰNG QUY TRÌNH SẢN XUẤT HẠT ACTISÔ Ở SA PA TRONG 2 NĂM 1997-1999

Hoàng Thị Bình

I. ĐẶC ĐIỂM SINH LÝ - SINH THÁI CỦA CÂY ACTISÔ

Cây actisô thân thảo cao từ 1m - 1,2m. Có nhiều lá, cuống lá dài, lá có nhiều răng cưa, lá xẻ thuỳ sâu. Mép cuống lá và lá có nhiều gai. Hoa tự hình đầu, hoa có màu tím nhạt, khi nở hoa 1-2 ngày hoa có mùi thơm mát. Vì vậy có rất nhiều ong bướm và các côn trùng khác đến hút mật. Actisô là cây ưa ẩm, ưa ánh sáng, thích hợp với nhiệt độ trung bình 18-25^{0}C. Bộ phận sử dụng chính để làm thuốc lá lá, nhưng hiện nay người ta sử dụng toàn bộ củ rễ, thân, lá và hoa của actisô để làm chè uống hàng ngày. Actisô mấy năm gần đây là loại dược liệu đang được ưa chuộng sử dụng làm đồ uống hàng ngày trong nhân dân. Cây actisô có ý nghĩa lớn trong y học dân tộc, để hoa và lá bắc có thể dùng làm thực phẩm, thân và lá, rễ, củ chế biến làm thuốc, như nấu cao, chế xuất các tinh chất để chữa bệnh về gan mật và thận trong nhân dân.

Vì vậy, việc nhân giống nhanh actisô hiện nay chỉ có ở Sa Pa mới để giống bằng hạt được.

II. KẾT QUẢ

Trồng actisô để lấy hạt sau 2 năm thực hiện ở trại thuốc Sa Pa được xây dựng thành quy trình kỹ thuật như sau

1. Chọn đất trồng actisô

3. Mật độ trồng

Tùy thuộc vào loại đất, tốt, xấu khác nhau và liều lượng phân bón khác nhau. Nếu đất xấu, chế độ chăm sóc kém, có thể trồng dày hơn, mật độ 30x40cm. Đất tốt, đất thịt, đảm bảo độ ẩm thường xuyên trồng ở mật độ 50x50cm hoặc 50x60cm.

4. Kỹ thuật trồng actisô

Actisô nhân giống bằng 2 phương pháp: Nhân giống từ mầm cây, nhân giống bằng hạt.

Nhân giống bằng hạt có 3 cách: Gieo bầu, gieo ươm, gieo thẳng.

Trong 3 phương pháp gieo trên đây thì phương pháp gieo bầu hiệu quả cao hơn.

Có thể vận chuyển bầu đi xa, cây ít bị chết.

Chọn cây mập khoẻ, ít gai, lá to bản để làm giống. Trong 2 biện pháp chọn giống bằng hạt và mầm để trồng lấy hạt cho năm sau thì biện pháp chọn cấy từ mầm tốt hơn, vì cấy từ mầm dễ nhận biết là có gai nhiều hay ít, còn cây từ hạt khi trồng cây còn bé chọn giống khó phát hiện là nhiều gai hay ít gai.

Cây actisô trồng để lấy hạt không nên tỉa lá làm dược liệu, chỉ tỉa những lá già, lá thối để khỏi ảnh hưởng tới sự quang hợp trong lúc cây ra hoa và nuôi dưỡng hạt.

5. Liều lượng phân bón và kỹ thuật

Bón phân cho actisô trồng để lấy hạt nên bón lót là chính. Đất thịt, tốt, ẩm độ đảm bảo nên bón liều lượng như sau: Phân chuồng: 200 kg/sào; NPK: 30 kg/sào; đạm Urê: 25 kg/sào dùng để bón khi cây sắp ra hoa.

6. Thời vụ ra hoa của cây actisô

Bắt đầu từ 30/4 - 15/6 trong năm.

Khi cây ra hoa nên làm giàn che có mái hình tam giác, phủ bằng nilon trắng để tránh mưa lớn làm hoa ẩm và thối hạt.

Sau khi hoa nở 45 - 50 ngày quả bắt bắt đầu chín, lúc đó ta chọn những bông quả có màu nâu sẫm thu về để tách lấy hạt. Đem phơi, cất giữ để gieo trồng cho vụ sau. Năng suất hạt bình quân 1 cây tốt: 2-3 bông, 1 bông nếu đậu hạt và chắc có tới 100-150 hạt. 1 sào đất tốt có thể trồng 300 cây. Năng suất có thể đạt được 3-3,5kg hạt/sào. Số lượng hạt này có thể trồng cho 1,5ha - 2ha. Sản xuất lấy dược liệu.

Trên đây là toàn bộ kết quả nghiên cứu của 2 năm trồng actisô để lấy hạt và xây dựng quy trình để phục vụ cho việc sản xuất trong nông dân tại Sa Pa - Lào Cai.

NGHIÊN CỨU LOÀI BA GẠC THÂN GỖ LỚN MỌC HOANG Ở PHÚ YÊN

Nguyễn Viết Tựu,
Trần Mỹ Tiên, Huỳnh Thị Xuân Giao

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Hội thảo quốc gia về cây thuốc lần II tháng 8 / 1989 tại Tp Hồ Chí Minh, Ds. Phan Phúc Thích thông báo kết qủa nghiên cứu bước đầu cây phao lưới, sơ bộ xác định là *Rauvolfia chaudocensis* Pierre và một số kết qủa phân tích hóa học. Sau đó do chuyển đổi tổ chức, nhóm tác giả không còn tiếp tục đề tài này nữa.

Nhận thấy nguồn cây ba gạc này mọc hoang ở Phú Yên khá phong phú, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nó với hy vọng tạo thêm nguồn nguyên liệu làm thuốc chữa cao huyết áp.

II. NỘI DUNG VÀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Về thực vật

Chúng tôi đã khảo sát cây phao lưới tại 3 huyện trong tỉnh Phú Yên: Tuy An, Sông Hinh, Sơn Hòa.

Đây là cây thân gỗ, có thể cao đến 10m; đường kính thân có thể 50-60cm. Vỏ thân dày, có nhiều vết nứt dọc. Cành non màu xanh nhạt, tiết diện vuông. cành bánh tẻ có nhiều nốt sần. Toàn cây có nhựa mủ.

Lá thường mọc vòng 4, dài 10 - 20 cm, rộng 1-3cm. Gân lá lông chim, rất nhiều cặp gân phụ, phiến lá dải dài men theo cuống lá, mép nguyên, đầu lá vuốt nhọn, mặt trên lá màu xanh đậm, mặt dưới màu xanh nhạt. Cuống lá dài 0,4-1cm.

Hoa tự dạng xim tán. Trục hoa dài 1,5-3cm. Hoa nhỏ, màu trắng, dài 0,5-1cm, hoa mẫu 5. 5 lá đài màu lục nhạt cao khoảng 1mm. Tràng hoa gồm 5 cánh hoa dính lại ở phía dưới thành ống tràng, dài 1-4 mm, phình to ở giữa; họng ống tràng nhiều lông. chỉ nhị dính tràng ở chỗ phình, bao phấn nhọn dài 1mm có hai buồng hợp thành hình mũi tên. Bầu 2 lá noãn dính nhau gần toàn bộ, một nhụy, vòi nhụy dài khoảng 2,5mm, đầu nhụy dài 0,5mm, trên chia làm đôi. Đĩa mật tròn cao gần gấp 2 lần bầu, phía trên chia thành 5 thùy.

Quả hạch hình tròn, đường kính khoảng 1cm, non màu xanh, chín màu tím đen. Quả chứa 2 hạt, hạt có phôi nhũ.

Tại 3 huyện chúng tôi khảo sát thấy số lượng cá thể thưa nhưng gặp khắp nơi với những cây có độ tuổi khác nhau, chứng tỏ hằng năm cây này vẫn phát triển tự nhiên. Cây to có thể cao hơn 10m, đường kính thân 60cm, có thể cho 100kg vỏ khô.

So sánh với mô tả cây *Rauvolfia chaudocensis* của các tác giả trước thì cây phao lưới hoàn toàn trùng khớp.

Chúng tôi có tiến hành việc so sánh với mẫu lưu nhưng tiếc rằng tại bảo tàng thực vật TP. Hồ Chí Minh không có tiêu bản mẫu *R. chaudocensis*.

Chúng tôi có tham khảo ý kiến TS Võ Văn Chi, người đã từng điều tra dược liệu huyện Châu đốc tỉnh An Giang thì cũng nhận được sự xác nhận cây phao lưới là *Rauvolfia chaudocensis* Pierre ex Pitard.

2. Về hóa học

Đã tiến hành định tính alcaloid ở các bộ phận: vỏ rễ, vỏ thân, lá. Trong vỏ rễ và vỏ thân chứa ít nhất 15 alcaloid.

Đã tiến hành định lượng alcaloid toàn phần, kết qủa như sau:

Bộ phận	*Định tính alcaloid*	*Định lượng alcaloid %*
Vỏ rễ	+++	2,2819
Vỏ thân	+++	0,7715
Lá	+	0,0735
Cành	+	0,0648

Đã tiến hành chiết xuất 3 nhóm alcaloid: base yếu, trung bình, mạnh. Sau đây là tỷ lệ % so với alcaloid toàn phần.

Alcaloid base yếu	*Alcaloid base trung bình*	*Alcaloid base mạnh*
46,8%	14,62%	37,6%

Bằng sắc ký cột đã phân lập được Reserpin, kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng, điểm chảy, phổ hồng ngoại so sánh với reserpin chuẩn.

3. Về dược lý

Độc tính : Bột alcaloid toàn phần có LD50 là 158,7mg / kg tương đương LD50 của cao *R. canescens* do Viện Dược liệu nghiên cứu. Như vậy bột alcaloid toàn phần

cây phao lưỡi có độc tính cấp tương đối cao nên khi sử dụng cần chú ý đến liều lượng.

Tác dụng trên huyết áp: với liều 1/100 LD50 (1,587mg / kg) bột alcaloid toàn phần đã có tác dụng hạ huyết áp rõ và kéo dài, xuất hiện sau 10-15' sau khi tiêm thuốc. So sánh với cao *R. canescens* (liều có tác dụng hạ huyết áp là 5mg/kg) thì bột alcaloid toàn phần cây phao lưỡi có tác dụng hạ huyết áp mạnh hơn trong khi hai chất này có độc tính tương đương.

4. Chế phẩm

Đã nghiên cứu các phương pháp chiết xuất alcaloid toàn phần để chọn phương pháp có hiệu xuất cao, chất lượng ổn định, để sản xuất nguyên liệu bán thành phẩm cho việc nghiên cứu chế phẩm bào chế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Court WE Timmins P., 1976.*
Tính chất của một số alcaloid Rauvolfia khi sắc ký trên lớp mỏng silicagel, TTDH, số 10, 1976.

2. *Đỗ Lệ Nhiễu, Nguyễn Tập, Nguyễn Kim Cẩn, 1984.*
Bước đầu nghiên cứu cây ba gạc mọc hoang ở Miền nam Việt Nam. TBDL số 1984 (tr. 12).

3. *Lecomte H., Gagnepain F et all, 1907-1957.*
Flore generale de l'Indochine, 7 tomes et supplement. Mansson edite - Paris.

4. M.M. Iwu and Wecourt, Alkaloid of rauvolfia Monbasianastem Bark, Planta Medica, 1979, Vol 36, (p. 208-212).

5. *Nguyễn Kim Cẩn, Bùi Thị Bằng, 1978.*
Góp phần nghiên cứu phương pháp xác định hàm lượng alcaloid toàn phần trong cây ba gạc. TBDL, số 2, tập 10, 1978.

6. *Nguyễn Văn Đàn, Trịnh Gia Ân, Phạm Đình Sửu, Lê Châu Quỳnh, 1976.*
Nghiên cứu thành phần rễ cây ba gạc 4 lá (*Rauvolfia vomitoria* Afz), TBDL, số 3, 13/1976.

7. *Nguyễn Viết Tựu, Phạm Duy Hùng, Lê Kim Hương, Lê Thị Tuyết, 1981.*
Kết qủa bước đầu nghiên cứu cây ba gạc Ấn độ (*R. serpentina* Benth ex Kurz) mới phát hiện. TBDL, số 3,13/1981.

8. *Phạm Duy Mai, Trần Đỗ Trinh, NguyễnThị Nghĩa, Quách Mai Loan, 1980.*
Góp phần nghiên cứu cây ba gạc lá to. Công trình nghiên cứu khoa học Y Dược (tr. 127).

9. *Phạm Phúc Thích, 1989.*
Nguồn dược liệu và những dược liệu ở tỉnh Phú Khánh, báo cáo khoa học tại Hội thảo Quốc gia lần 2 về nghiên cứu cây thuốc, tháng 8-1989, (tr.71).

10. *Võ Văn Chi, 1991.*
Cây thuốc An Giang, UBKHKT An Giang (tr.24).

ALCALOID TRONG VỎ RỄ *Rauvolfia verticillata* (Lour.) Baill.

Nguyễn Kim Cẩn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rauvolfia verticillata (Lour.) Baill. (*R. chinensis*. Hemsl. Dissolaera verticillata Lour, Ophioxylon chinensis Hance, *R. rivularis Merr*) mọc ở miền Nam Trung Quốc và miền Bắc Việt Nam.

Ở Việt Nam, *Rauvolfia verticillata* (Lour.) mọc ở khắp các tỉnh miền Bắc như Cao Bằng, Lạng Sơn, Hà Nội, Hà Giang, Tuyên Quang, Hà Nam, Ninh Bình, Hà Tây, Hòa Bình, Thanh Hoá. Rễ *Rauvolfia verticillata* được nghiên cứu sử dụng làm thuốc hạ áp và được đưa vào Dược điển Việt Nam I - 1971.

Trong rễ của *Rauvolfia verticillata* chứa 0,63% alcaloid toàn phần [1,2] còn trong vỏ rễ hàm lượng alcaloid tới 3% [1]. Có một số công trình nghiên cứu về thành phần hoá học của *R. verticillata* [3,6]. Người ta đã phân lập được trên 10 alcaloid nhưng mới xác định được 5 alcaloid: Yohimbin, δ - Yohimbin, reserpin, ajmalin, serpentin và nhiều chất khác như sitosterol, triterpenoid, flavonoid glucosid, steroid, keton, alcohol....

Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thành phần alcaloid của vỏ rễ *Rauvolfia verticillata* thu ở Lạng Sơn vào tháng 4 năm 1987. Hàm lượng alcaloid toàn phần trong vỏ rễ là 2,95%; reserpin là 0,35%; ajmalin: 0,55%. Từ alcaloid toàn phần của vỏ rễ chúng tôi phân lập được 4 alcaloid: reserpin, ajmalicin, ajmalin và serpentin.

II. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

Phân đoạn chứa alcaloid bazơ yếu trong benzen rửa bằng dịch amoniac 1%. Từ dịch benzen phân lập được alcaloid R_{v1}. Kết tinh lại trong methanol làm khô có điểm chảy 248-250^{0}C; phổ tử ngoại có cực đại hấp thụ ở 227 và 282nm, cực tiểu 265nm trong ethanol. Phổ hồng ngoại có tần số cực đại ở 3360, 1700, 1270, 1230, 1200, 1130 và 760. R_{v1} đồng nhất với đặc điểm của ajmalicin [7]. Cũng từ phân đoạn bazơ yếu rửa cột với

$CHCl_3$ và Benzen nhận được R_{v2}. Kết tinh lại trong methanol có điểm chảy 263-265^{0}C. Phổ tử ngoại có $\lambda_{max}^{C_2H_5OH}$ (nm) = 224, 268, 295, λ_{min} = 247. Phổ hồng ngoại có tần số cực đại $\nu_{max}(cm^{-1})$ 3435, 1735, 1715, 1625, 1590, 1500, 1355, 1125, 770. R_{v2} có những đặc trưng của reserpin [8].

Từ phân đoạn chứa alcaloid bazơ trung bình tiến hành sắc ký cột rửa bằng benzen. Bốc hơi dung môi áp suất giảm được cắn màu vàng nhạt. Tinh chế bằng kết tinh lại được R_{v3}. có điểm chảy 158-160^{0}C, phổ tử ngoại và hồng ngoại trùng với ajmalin [9].

Phân đoạn chứa alcaloid bazơ mạnh thu được R_{v4}. Điểm chảy của R_{v4} với serpentin không giảm và có phổ tử ngoại và hồng ngoại trùng với serpentin [10].

Ngoài ra bằng sắc ký lớp mỏng từ 3 phân đoạn khác nhau chúng tôi phát hiện được những alcaloid khác nhưng chưa xác định được.

III. KẾT LUẬN

Từ vỏ rễ *R. verticillata* mọc hoang ở Lạng Sơn, chúng tôi đã phân lập và xác định được 4 alcaloid: reserpin, ajmalicin, ajmalin và serpentin. Hàm lượng alcaloid toàn phần trong vỏ rễ là 2,95%, reserpin 0,35%, ajmalin 0,55%. Trong thành phần alcaloid có mặt ajmalicin và serpentin. Hy vọng sẽ là nguồn nguyên liệu điều chế ajmalicin làm thuốc tuần hoàn não.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Văn Đàn.*
Kỷ yếu công trình nghiên cứu Dược liệu, 1961 - 1971, T_1, Tr. 10.

2. Kazutaka Yamaguchi and Hatsue Shoji, Bull., nat Hyg Labor, 1958, N7, 99-101, [C.A. 1959, V53, 17419h].

3. *Arthur H. R, 1956.*
"Chem and Ind." Price, 1956, 41, N3, p. 85.

4. *Lin C. C, 1958.*
Lo J. Y et all. La. KC Hsuch Tung Pao, 1958, p. 52 [C.A, 1961, 55, 24802].

5. *Arthur H. R, S. R. Johns, J. A. Lamberton, S. N. to Aust, 1967.*
"J. Chem.", 1967, 20, 2505-2508.

6. *Arthur H. R, S. N. Loo, 1966.*
"Phytochemmistry" 1966, V5, p. 977-983.

7. *Klohs M. W, Draper N. D, Keller F, Malesh W, Petracek J., 1954.*
"J. Amer. Chem. Soc.", 1954, 76, p. 1332.

8. *Neuss N, E. B. Harold and J. W., 1954.*
Forbes "J. Amer, Chem. Soc. " 1954, 76, p. 2463.

9. *Anet F. A. L, Chakravati P, Robinson S. R, Schlittler E., 1954.*
"J. Chem. Soc. ", 1954, p. 1242.

10. *Bader F, Schwarr H, 1952.*
"Helv. chim. Acta", 1952, V35, P. 1594-1598

ALCALOID CÂY BA GẠC NHẬP NỘI
Rauvolfia caffra Sonder

Nguyễn Kim Cẩn
Nguyễn Viết Thân[1], *Phạm Thị Thanh Hiền*[1]

Rauvolfia caffra là một trong những loài ba gạc thuộc phân lớp 6 có nguồn gốc Châu Phi và thường gặp ở Guinea, Congo, Rhodesia, Mozambique, Zaire, Uganda, Kenya, Tanzania, Zambia, Zimbabuae... [1-3].

Một số tác giả khi nghiên cứu tác dụng dược lý đã chứng minh nó có tác dụng an thần, hạ huyết áp, làm chậm nhịp tim. Có tác giả nói alcaloid tách được từ cây *R. caffra* có tác dụng chữa sốt rét, trị giun sán [2-3]. Theo kinh nghiệm dân gian vỏ rễ giã nát đắp vào chỗ sưng, đau khớp và dùng chống nhiễm khuẩn có hiệu quả. Dịch ép từ rễ trộn với mật ong đắp chữa gãy xương.

R. caffra được nhập vào Việt Nam năm 1981 và được trồng tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội thuộc Viện Dược liệu song chưa được nghiên cứu.

Giáo sư Vũ Văn Chuyên đã thẩm định và xác định tên khoa học cây ba gạc nhập nội đúng là *R. caffra* Sonder họ Apocynaceae.

Trong rễ của *R. caffra* có 0,8% alcaloid toàn phần, vỏ rễ chứa tới 3% còn vỏ thân là 1,2% [2]. Hàm lượng reserpin trong vỏ rễ từ 0,01-0,04% phụ thuộc các vùng thu hái khác nhau [6-8].

Những công trình nghiên cứu về thành phần hoá học của cây *Rauvolfia caffra* đã phân lập và xác định được khoảng 15 alcaloid và một số ít chất không phải alcaloid [4-10].

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu thành phần alcaloid trong các bộ phận khác nhau của cây *Rauvolfia caffra* nhập nội.

Kết quả định lượng alcaloid toàn phần trong các bộ phận của cây *R. caffra* cho thấy trong vỏ rễ có hàm lượng cao nhất (4,47%), vỏ thân 1,34%, trong hoa 1,09% và lá 1,08%, thấp nhất trong vỏ cành 0,39%. Chỉ có vỏ rễ chứa reserpin (0,18%) và tất cả các bộ phận đều có mặt ajmalin nhưng trong vỏ rễ cao nhất 0,38%.

[1] Trường Đại học Dược Hà Nội.

Từ cặn alcaloid toàn phần không tan trong acid HCl hoà trong acid CH_3COOH nóng, làm lạnh rồi lọc, loại mỡ bằng dung môi thích hợp rồi chiết bằng benzen khan. Thu hồi benzen ở áp suất giảm đến khô được alcaloid thô. Hoà trong CH_3OH kiềm hoá đến pH = 7 tinh chế qua cột Al_2O_3 kết hợp với kết tinh lại thu được chất màu trắng ngà, không mùi, vị đắng.

Nhận biết alcaloid tách được:

Bằng sắc ký lớp mỏng so với chuẩn reserpin và trộn với chuẩn cho sắc phổ có Rf tương đương với reserpin.

Trộn alcaloid với reserpin chuẩn đo điểm chảy thấy độ chảy của reserpin không hạ.

Phổ tử ngoại trong ethanol có 3 cực đại ở 220, 268 và 295nm.

Phổ hồng ngoại có những vân đặc trưng 1735, 1745cm (nhóm CH_3COO-), 1620, 1590, 1495 cm^{-1} (nhân thơm), 1110 cm^{-1} (liên kết đơn -C-O-).

Từ những kết quả phân tích sắc ký lớp mỏng, điểm chảy, phổ tử ngoại và phổ hồng ngoại, chúng tôi cho rằng alcaloid tách được là reserpin.

KẾT LUẬN

Lần đầu tiên nghiên cứu *R. caffra* trồng ở Việt Nam.

Hàm lượng alcaloid toàn phần, reserpin, ajmalin trong vỏ rễ là cao nhất. Các bộ phận khác của cây đều chứa alcaloid song hàm lượng khác nhau.

Đã phân lập được một alcaloid xác định là reserpin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Robert E., 1957.*
Woodson et all. Rauwofia: Botany, Pharmacognosy, chemistry, pharmacology.

2. Food and agriculture organization of the United Nations. Fao Forestry paper 67. Some medicinal forest plants of Africa and Latin America, Rome 1986 p. 179

3. *Walt J. M.*
Breyer - Brandwijk M. G., The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa E. S. Livingstone London p. 1455

4. *Keopfli J. B., 1932.*
" J. Am. Chem. Soc.". 1932, 54, N6, p. 2412-2418

5. *Khan M. A., 1972.*
Siddiqui S., "Experientia" , 28, N2, p. 127-1285

6. *Korzun B. P., 1957.*
A. F. St. Anedré and P. R. Ulshafer. "J. Am. Pharm. Ass Ed.", 46, N12, p. 770-773

7. *Khan M. A., A. M. Ahsan, 1970.*
"Tetrahedron Letters", N59, p. 5137

8. *Habib M. S., 1974.*
W. E. Court "Planta medica", 25, p. 261

9. *Khan N. H., 1964.*
M. A. Khan and S. Siddiqui "Pakistan J. Scient ind. Res", 8, 23-27

10. *Hibib M. S., 1973.*
W. E. Court "Phytochemistry". 12, N7, p. 1812.

ALCALOID TRONG VỎ RỄ *Rauvolfia cambodiana* MỌC Ở VIỆT NAM

Nguyễn Kim Cẩn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rauvolfia cambodiana tìm thấy ở một số nước vùng Đông Nam châu Á : Lào, Campuchia, Việt Nam [1], Thái Lan, Gia va [2-4]. Tên của Việt Nam ngày xưa là cây nhênh.

Trong rễ *R. cambodiana* thu ở Thái Lan chứa 1,4% alcaloid toàn phần [2], ở Nghĩa Bình, Quảng Đà, Phú Khánh, Lâm Đồng có 0,875% [5]. Trong vỏ rễ hàm lượng alcaloid chiếm từ 1,2-2% [5,6].

Năm 1957 người ta đã phân lập được reserpin 0,01% và isoreserpin từ dược liệu thu ở Thái Lan [2,3].

Tác giả khác công bố đã phân lập được 6 alcaloid là: aricine, isoreserpiline, reserpine, reserpiline, ajmalin và pelirin [4].

Từ rễ *R. cambodiana* ở các tỉnh phía Nam Việt Nam các tác giả xác định có reserpin, ajmalin và đã phân lập được chúng.

Chúng tôi đã nghiên cứu xác định hàm lượng alcaloid toàn phần trong vỏ rễ *R. cambodiana* mọc hoang ở Lâm Đồng là 4,1%, hàm lượng reserpin là 0,42% và ajmalin là 0,65% [7]. Từ alcaloid toàn phần chúng tôi phân lập được 11 alcaloid và kết quả nghiên cứu được ghi trong bảng (trang sau).

II. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

RC_1: Chưa đủ tư liệu để xác định là alcaloid nào.

RC_2: Có điểm chảy không bị giảm khi trộn với reserpin chuẩn, có đặc trưng phổ hồng ngoại, tử ngoại cũng như sắc ký lớp mỏng trùng với reserpin [4,8].

RC_3: Hiệu xuất thu được quá ít, song có điểm chảy, phổ tử ngoại, sắc phổ sắc ký lớp mỏng giống với isoreserpilin [3,4].

RC_4: Có điểm chảy trùng với điểm chảy của rauvomitin, nhưng đặc trưng phổ tử ngoại và sắc phổ sắc ký lớp mỏng trùng với reserpilin [4,9,10]. Chưa thấy tài liệu nào nói về điểm chảy của reserpilin mà chỉ công bố điểm chảy của các muối của reserpilin. Chúng tôi cho rằng RC_4 là reserpilin.

Alcaloid trong vỏ rễ *R. cambodiana* mọc ở Lâm Đồng

Alcaloid	*Điểm chảy ^0C*	*Dạng chất*	*$\lambda_{max}(C_2H_5OH)$ nm*	*Phổ hồng ngoại ν_{max}(vazolin) cm^{-1}*	*Dự kiến*
RC_1	145	Tinh thể trắng	245, 285	1733, 1590, 1420, 1300, 1160, 1130, 1060, 970, 730	Chưa xác định
RC_2	260-262	Bột	224, 268, 295	3435, 1733, 1715, 1625, 1590, 1500, 1415, 1335, 1280, 1180, 1125, 1035	Reserpin
RC_3	210-215		216, 304		isoreserpin
RC_4	115-117		228, 304		reserpilin
RC_5	293-295	Bột trắng	225, 280	3130, 3050, 1730, 1710, 1630, 1590, 1530, 1350, 1300, 1170, 1080, 970, 850, 750	Chưa xác định
RC_6	115-120		221, 270	1715, 1625, 1590, 1505, 1415, 1333, 1275, 1130, 1030, 1005, 760	Chưa xác định
RC_7	130		232, 275, 334		pelirin
RC_8	158-160		248, 290	3370, 1615, 1425, 1300, 1240, 1220, 1120, 1100, 1059, 970, 770	ajmalin
RC_9			225, 290, 328		chưa xác định
RC_{10}			225, 280		chưa xác định
RC_{11}	183-185		220, 275	1730, 1625, 1570, 1500, 1305, 1220, 1150, 1120, 1050, 1005, 810, 740	perakin

RC_5: Có điểm chảy trùng với semperflorin phân lập được từ *R. semperflorin*. Tư liệu về phổ tử ngoại và hồng ngoại không có tài liệu so sánh. Chưa xác định được RC_5.

RC_6, RC_9 và RC_{10} chưa xác định được chúng là những alcaloid nào.

RC_7: Có điểm chảy, phổ tử ngoại tương tự với pelirin, chúng tôi cho rằng có nhiều khả năng là pelirin [4].

RC_8: Có những đặc điểm của ajmalin [4,10].

RC_{11}: Có điểm chảy tương tự với reseidin và perakin song phổ tử ngoại và hồng ngoại có đỉnh đặc trưng cho perakin.

III. KẾT LUẬN

Từ vỏ rễ *R. cambodiana* mọc hoang ở Lâm Đồng chúng tôi đã tách được 11 alcaloid, đã xác định và dự đoán được 6 alcaloid: reserpin, isoreserpin, reserpilin, pelirin, ajmalin và perakin.

Cần nghiên cứu sâu hơn để phát hiện những alcaloid quý đưa vào sử dụng chữa bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Pitard J., 1933.*
In Lecomte F_1. Gen. Indo-chine. Paris 3. 1117.

2. *D. A. A. Kidd, 1957.*
"Chem and Ind". N29. 1013.

3. *D. A. A. Kidd, 1958.*
"J. chem. Soc". p. 2432.

4. Warank Boonchuay and W. E. Court, "Planta medica" 1976, V29, N3, p. 201-207

5. *Ngô Văn Thu, Trần Hùng, Ông Văn Dũng, 1968.*
Công trình nghiên cứu y dược học, tr. 94.

6. *V. T. Sáu, N. T. Giang, L. T. Thu Hiền, N. Quân, 1981.*
Thông báo dược liệu. T13. N3. tr. 17.

7. *Nguyễn Kim Cẩn, I. G. Vhicolova, L. A. Vhicolaiva, 1989.*
"Tài nguyên thực vật", Liên Xô 1989, T25, N4, tr. 597

8. *N. Norbert, E. B. Harold, J. W. Forbes, 1954.*
"J. Amer. Chem. Soc.". V76, p. 2463

9. *M. W. Klohs, M. Draper, F. Keller and W. Malesh, 1954.*
"Chem and Ind". N41, p. 1264

10. *M. S. Habib and and W. E., 1974.*
"Planta medica". V25, Helt 4, p. 331-341

ALCALOID CỦA VỎ RỄ BA GẠC LÁ NHỎ (*Rauvolfia littoralis*)

Nguyễn Kim Cẩn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rauvolfia littoralis tìm được ở châu Mỹ do Rusby và có tên là *R. littoralis* Rusby [1]. Sau đấy Riley phát hiện ở Panama với tên gọi *R. multiflora* Riley [2]. Standl tìm thấy ở Chicago, Panama với tên gọi *R. macrocarpa* Standl. Ở châu Mỹ *R. littoralis* còn gặp ở Colombia, Ecuador. Người ta đã nghiên cứu thành phần alcaloid của nó với duy nhất một công trình và chỉ ra trong rễ *R. littoralis* chứa 0,03% reserpin. Trên sắc phổ sắc ký giấy phát hiện được vết của reserpin, rescinamin, deserpidin [3].

Ở Đông Dương, Pierre là người đầu tiên phát hiện được ở Phú Quốc (Việt Nam) sau đó Schral (Campuchia) với tên *R. littoralis* Pierre [4]. Trên lãnh thổ Campuchia Harmand tìm được ở Pursat, Evrard và Kompony Chàm. Ở Lào do Thorel phát hiện. Sau ngày miền Nam Việt Nam được giải phóng, đất nước thống nhất, trong những đợt điều tra dược liệu ở các tỉnh phía Nam các nhà thực vật của Viện Dược liệu đã tìm được loài ba gạc này *R. littoralis* Pierre ex Pitard (*R. indoshinensis* Pichon) [5].

Chúng tôi đã xác định hàm lượng alcaloid toàn phần trong rễ cây từ 3,5-3,8% và trong vỏ rễ chứa 0,17-0,18% reserpin, 0,5% serpentin [5-6].

Chúng tôi nghiên cứu thành phần alcaloid trong vỏ rễ *R. littoralis* Pierre mọc hoang ở Phú Khánh, đã phân lập được 6 alcaloid và xác định được 4 alcaloid: reserpin, alstonin, serpentin và serpentinin.

II. BÀN LUẬN KẾT QUẢ

Alcaloid toàn phần chiết từ vỏ rễ *R. littoralis* được chiết ở những pH khác nhau thu được 3 phân đoạn: alcaloid bazơ yếu (A), alcaloid bazơ trung bình (B), và alcaloid bazơ mạnh (C).

Từ phân đoạn A tiến hành sắc ký cột với Al_2O_3 và rửa cột lần lượt với ethylacetat, hỗn hợp ethylacetat với ethanol 9:1, 6:1, 4:1, 2:1, 1:1 và cuối cùng là ethanol. Hứng mỗi phân đoạn 15ml. Thu được 80 phân đoạn.

Phân đoạn 2-4 có một vết sắc phổ lớp mỏng trùng vết reserpin. Reserpin còn phân lập được từ cắn alcaloid toàn phần không tan trong acid HCl. Tổng số thu được 30mg (sau khi tinh chế bằng kết tinh lại). Hiệu suất 0,006% có điểm chảy 260-262^{0}C. Phổ tử ngoại có 3 cực đại hấp thụ ở 223, 268, 295nm và cực tiểu 247nm. Phổ hồng ngoại có các vân hấp thụ ở tần số 3435, 1735, 1715, 1625, 1590, 1500, 1425, 1355, 1280, 1235, 1125, 1005, 985, 770. Kết quả phân tích nguyên tố có C: 64,9%, H: 6,75% và N: 4,41%. Từ những kết quả nghiên cứu trên chúng tôi khẳng định đúng là reserpin [7].

Phân đoạn từ 21-33 tiến hành kết tinh lại thu được 200mg hiệu suất 0,04% có điểm chảy 260-265^{0}C. Phổ tử ngoại có 5 cực đại hấp thụ ở 225, 258, 292, 307 và 370nm.

Phổ hồng ngoại có những vân đặc trưng 1735, 1700 cm^{-1} (của nhóm CH_3COO-), 1625, 1530, 1500 cm^{-1} (nhân thơm) 1140 cm^{-1} (liên kết đơn -C-O-).

Kết quả phân tích nguyên tố C: 65,32%, H: 5,58%, N: 7,8%.

Những kết quả trên đây trùng với tài liệu công bố về serpentin [8-9].

Phân đoạn 46-51 sau khi kết tinh lại thu được 25mg. Hiệu suất xấp xỉ 0,006% có điểm chảy 205-210^{0}C. Thành phần các nguyên tố tìm thấy C: 72,11%, H: 5,8% và N: 7,93%. Phổ tử ngoại có các cực đại hấp thụ ở 252, 307 và 370 nm. Phổ hồng ngoại có những vân đặc trưng 3370 cm^{-1} (NH), 1700 cm^{-1} (nhóm CH_3COO-), 1625, 1570 và 1535cm^{-1} (nhân thơm), 1135, 1110cm^{-1} (liên kết đơn -C-O-).

Những đặc trưng về điểm chảy, thành phần nguyên tố, phổ tử ngoại và hồng ngoại đồng nhất với hợp chất alstonin [9,10].

Phân đoạn từ 67-71, kết tinh lại được 10 mg, hiệu suất 0,002% có điểm chảy 323-325^{0}C. Phổ tử ngoại có 3 cực đại hấp thụ ở 224, 257 và 307nm. Không chụp được phổ hồng ngoại và phân tích nguyên tố nhưng chúng tôi dự đoán có thể là mitoridin.

Phân đoạn 79-80 làm bay hơi hết dung môi thu được 2ml tồn tại ở dạng dầu ký hiệu là RL6. Phổ tử ngoại có cực đại hấp thụ ở 141nm. Phổ hồng ngoại có những đặc trưng ở ν_{max}(cm^{-1}): 3440, 2980, 2940, 1700, 1470, 1370, 1310, 1270, 1225, 1190, 1150, 1025, 960. Hiệu suất của RL6 1g (0,1%) rất có thể là một alcaloid mới.

Phân đoạn B: hỗn hợp alcaloid bazơ trung bình. Tiến hành sắc ký cột nhưng không thu được một phân đoạn tinh khiết nào. Bằng sắc ký lớp mỏng phát hiện được 3 vết cho phản ứng màu đỏ với $FeCl_3$ trong môi trường acid, chứng tỏ có 3 alcaloid nhóm indolin trong đó có một vết trùng với Rf của ajmalin chuẩn.

Phân đoạn C: bột màu vàng. Tiến hành phân lập bằng sắc ký điều chế thu được 100mg, hiệu suất 0,02% gọi là RL7 có điểm chảy 170-175^{0}C. Thành phần nguyên tố chứa 72,64% C, 5,63% H, 7,81% N. Phổ tử ngoại có các cực đại ở 253, 807 và 368nm. Phổ hồng ngoại có những vân đặc trưng phù hợp với phổ của

serpentin 3475cm^{-1} (nhóm NH), 1700cm^{-1} (nhóm CH_3COO-), 1625, 1580, 1530cm^{-1} (nhân thơm) 1120cm^{-1} (liên kết đơn -C-O-) [9,11].

III. KẾT LUẬN

Lần đầu tiên nghiên cứu thành phần alcaloid của vỏ rễ *R. littoralis* thu được ở Việt Nam.

Đã phân lập được 6 alcaloid trong đó đã xác định 4: reserpin, alstonin, serpentin và serpentinin.

Trong vỏ rễ *R. littoralis* chứa alcaloid toàn phần cao 3,8%, chứa 0,17% reserpin và đáng chú ý là chứa 0,5% serpentin. Ngoài ra có vết của ajmalin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Index kewensis 6, 1926, p. 172.

2. Index kewensis 8, 1933, p. 202.

3. *Korzun B. P., A. F. St. Andro, P.R. Ulshafer, 1957.*
"J. Amer. Pharm. Ass. Ed". V46. N12, p. 720-723.

4. *Pitard J., 1933.*
"In Lecomte Fl. Gén. L'indochine. ". Paris. 1933. 1115

5. *Đỗ Lệ Nhiễu, Nguyễn Tập, Nguyễn Kim Cẩn, 1984.*
"Tạp chí Dược học". N6. tr. 12.

6. *Nguyễn Kim Cẩn, I. G. Nhicolova, L.A. Nhicolaeva, 1989.*
"Tài nguyên thực vật". Liên Xô, T25. N4. tr.597.

7. *Norbert N., Boar. H. E., Forbes J. W., 1954.*
"J. Amer. Chem. Soc.". 1954. 76. p. 2463.

8. *Djerasu C., Fishman J., 1955.*
"Chem and Ind". N22. p. 627.

9. *Schlittler E., Huber H. J., Bader F., Zahud H., 1954.*
"Helv. Chim. Acta". 1954, 37, 1912.

10. *Schlittler E., Schwazz H., Bader F., 1952.*
"Helv. Chim. Acta.". 35, N34, p. 271-276.

11. *Habib M. S., W. E. Court, 1974.*
"Planta medica". V25, Heft, 4, p. 331.

SỰ TÍCH LUỸ ALCALOID TRONG CÂY BA GẠC PHÚ THỌ (*Rauvolfia vomitoria* Afz.) VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA NGUYÊN TỐ COBAN ĐẾN HÀM LƯỢNG ALCALOID TRONG VỎ RỄ CỦA CÂY

Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Văn Thanh

Ba gạc Phú Thọ (*R. vomitoria* Afz.) được phát hiện mọc hoang ở Phú Hộ-Phú Thọ vào năm 1965 [1] và trở thành đề tài hấp dẫn được nhiều người quan tâm nghiên cứu về trồng trọt, hoá học nhằm sử dụng làm thuốc [2-5].

Trong quá trình nghiên cứu trồng trọt chúng tôi đã nghiên cứu theo dõi sự tích luỹ hàm lượng alcaloid và ảnh hưởng của Co đến hàm lượng alcaloid trong vỏ rễ của cây.

Nguyên liệu để nghiên cứu là các mẫu lá, vỏ thân, vỏ rễ, lõi rễ thu trong các năm từ 1980 đến 1987 tại Trạm nghiên cứu Dược liệu tỉnh Vĩnh Phú và Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội của Viện Dược liệu.

Nguyên liệu được sơ chế một cách thống nhất là sấy đến khô ở 60^{0}C, tán thành bột, rây qua rây có kích thước mắt sàng 1mm (nguyên liệu là rễ cần rửa sạch đất nhưng không làm bong lớp vỏ bên ngoài rồi cạo vỏ riêng, lõi để riêng). Bột được bảo quản trong lọ màu nút kín.

Hàm lượng alcaloid toàn phần xác định theo phương pháp khối lượng [6], và hàm lượng reserpin, ajmalin xác định theo phương pháp tử ngoại và đo màu [7-8].

Kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả các bộ phận của cây đều chứa alcaloid. Lá bánh tẻ và lá non chứa tới 0,81%, lá già từ 0,3-0,4%; vỏ thân có từ 1,3-1,5%; vỏ rễ có hàm lượng cao nhất từ 3,28% (cây chưa phát triển mới 8 tháng tuổi) đến 5,94% (cây 3 năm tuổi lúc có nụ hoa). Lõi rễ có đường kính nhỏ hơn hoặc bằng 1mm cho hàm lượng khá cao (tới 2,5%).

Hàm lượng alcaloid toàn phần trong các bộ phận của cây rất khác nhau và thành phần alcaloid cũng khác nhau. Trong lá và vỏ thân không chứa reserpin và ajmalin. Chỉ có vỏ rễ chứa reserpin (từ 0,1-0,56%) và ajmalin (từ 1,59-2,85%).

Để xác định chính xác thời vụ thu hái nguyên liệu đạt hàm lượng alcaloid cao và có hiệu quả kinh tế nhất chúng tôi tiến hành khảo sát sự biến đổi hàm lượng

alcaloid trong vỏ rễ theo tuổi cây và theo sự sinh trưởng, phát triển của cây. Cây càng nhiều tuổi hàm lượng alcaloid càng cao (cây 12 tháng tuổi chưa phân cành 3,54%, 18 tháng tuổi 4,14%, 24 tháng tuổi 4,52%, 36 tháng tuổi 4,77%, 48 tháng tuổi 4,86%). Hàm lượng alcaloid thay đổi phụ thuộc vào thời kỳ sinh trưởng, phát triển của cây. Cùng thu một ngày đối với cây 18 tháng tuổi thì vỏ rễ cây chưa ra hoa là 4,76% cây có nụ hoa đạt tới 5,2%, nhưng ở cây có quả sắp chín hàm lượng alcaloid lại giảm xuống thấp hơn cả khi cây chưa ra hoa 4,23%. Khi cây ra nụ hoa thì hàm lượng hoạt chất cao nhất bất kể thời vụ nào trong năm và hàm lượng không thấp hơn 5% thậm chí sấp xỉ 7% khi thu vào tháng 6.

Cây đã phát triển cho hàm lượng hoạt chất cao hơn hẳn cây chưa phát triển. Trong điều kiện trồng trọt mà chúng tôi thực hiện thấy rằng cây 18 tháng tuổi mới ra hoa kết quả. Vấn đề đặt ra là làm sao rút ngắn được thời gian phát triển của cây nghĩa là rút ngắn được thời vụ gieo trồng. Chúng tôi đã thử nghiệm dùng nguyên tố Coban ở dạng phân vi lượng.

Theo tài liệu đã công bố [9] những cây thuốc chứa alcaloid và flavonoid tìm thấy lượng nguyên tố Coban nhiều nhất so với các nguyên tố khác. Chúng tôi cho rằng nếu tăng hàm lượng của nguyên tố Coban trong cây sẽ làm tăng hàm lượng của alcaloid trong ba gạc.

Chúng tôi dùng dung dịch $Co(NO_3)_2$ 0,05% trong acid HNO_3 0,05N để xử lý hạt ba gạc trước khi gieo và dùng dụng dịch humat Coban 1% trong nước ở môi trường kiềm để bón cho cây bằng phun trên lá hoặc tưới gốc.

Cây được bón Coban có quá trình sinh trưởng nhanh và sớm phát triển hơn cây đối chứng. Điều đó cũng có nghĩa là nguyên tố Coban thúc đẩy quá trình sinh tổng hợp alcaloid trong cây nhanh đạt tới hàm lượng cao.

Kết quả nghiên cứu được nêu trong bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1. **Ảnh hưởng của việc xử lý hạt ba gạc và bón cây bằng dung dịch muối Coban đến sự sinh trưởng phát triển của cây**

Ngày theo dõi	*Tuổi cây từ khi gieo (tháng)*	*Sự sinh trưởng, phát triển của cây*					
		Chiều cao cây (cm)		*Sự phân cành*		*Sự phát triển*	
		Đối chứng	*Dùng Co*	*Đối chứng*	*Dùng Co*	*Đối chứng*	*Dùng Co*
3.6.1986	1	1,5	3				
3.7.1986	2	3	6				
1.8.1986	3	12	21	chưa	cấp 1		
5.11.1986	6	20	36	chưa	cấp 2		
6.6.1987	12	40	70	chưa	cấp 3	chưa ra hoa	có hoa

Chúng tôi đã thí nghiệm bón dung dịch humat Coban 1 phần vạn cho cây có 3 năm tuổi của 2 loài ba gạc *R. vomitoria* Afz. và *R. canesens* bằng cách phun trên lá vào buổi sáng mỗi tháng 1 lần. Sau 5 lần phun chờ thời vụ thu hoạch thích hợp.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của nguyên tố Coban đến hàm lượng alcaloid trong vỏ rễ ba gạc**

Tên loài	*Biện pháp tiến hành*	*Ngày thu*	*Hàm lượng alcaloid toàn phần (%)*					
			Bón Coban			*Đối chứng*		
			Thành phần	*Reserpin*	*Ajmalin*	*Thành phần*	*Reserpin*	*Ajmalin*
R.vomitoria	Xử lý hạt kết hợp với phun lá	6/6/87	6,04	0,40	2,89	4,14	0,20	1,98
R.vomitoria	Phun lá	14/7/86	7,06	0,50	3,40	6,09	0,35	3,00
		10/4/87	6,62	0,45	3,19	5,72	0,30	2,75
R. canesens	Phun lá	26/4/86	8,31	0,15	1,75	5,28	0,10	1,11
		14/7/87	10,07	0,18	2,12	8,55	0,13	1,80

Từ bảng 2 cho thấy rõ ràng Coban đã làm tăng hàm lượng alcaloid trong vỏ rễ ba gạc. Cây 1 năm tuổi đã đạt hàm lượng alcaloid tới 6% trong rễ so với đối chứng tăng xấp xỉ 46%. Từ những kết quả nghiên cứu trên mở ra hướng sử dụng Coban trong trồng trọt ba gạc và những cây cho alcaloid khác.

KẾT LUẬN

1. Các bộ phận, lá, vỏ thân, rễ của *R. vomitoria* đều chứa alcaloid. Trong lá và vỏ thân không chứa reserpin và ajmalin.

2. Hàm lượng alcaloid trong vỏ rễ phụ thuộc vào tuổi cây đạt giá trị cao nhất vào thời kỳ đầu của sự phát triển (cây lúc có nụ hoa và hoa chớm nở).

3. Vỏ rễ những cây có nụ hoa vào các tháng 4, 5, 6 cho hàm lượng alcaloid cao nhất trong năm. Đây là thời vụ thu hoạch dược liệu thích hợp nhất.

4. Nguyên tố Coban có tác dụng kích thích quá trình sinh trưởng, rút ngắn thời gian phát triển của cây và làm tăng hàm lượng alcaloid trong vỏ rễ của cây từ 15-50% so với cây đối chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Huy Bích, Trịnh Gia Ân, Nguyễn Văn Đàn, Mai Nghị, Phạm Thị Kim, Nguyễn Nhi Hà, 1974.*
Tập san Dược học. Số 5, tr. 1.

2. *Trịnh Gia Ân, Nguyễn Văn Đàn, Phạm Đình Sửu, Lê Châu Quỳnh, 1975.*
Thông báo dược liệu. Tập 7, tr. 130.

3. *Nguyễn Văn Đàn, Trịnh Gia Ân, Phạm Đình Sửu, Lê Châu Quỳnh, 1976.*
Thông báo dược liệu. Tập 8, tr. 13.

4. *Tạ Quang Nhiệm, Nguyễn Kim Cẩn, Trần Toàn, 1983.*
Thông báo dược liệu. Tập 3, số 3+4, tr. 18.

5. *Nguyễn Kim Cẩn, Tạ Quang Nhiệm, Hà Thị Na, 1983.*
Thông báo dược liệu. Tập 3, số 3+4, tr.

6. *Nguyễn Kim Cẩn, Bùi Thị Bằng, 1978.*
Thông báo dược liệu. Tập 10, số 2, tr. 72.

7. *Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Văn Thanh, 1988.*
Thông báo dược liệu. Tập 20, số 4, tr. 6.

8. *Nguyen Kim Can, I. G. Nikolova, L. A. Nikolaeva, 1989.*
Raschichenue resursư. T. 25, Vưp. 4, 594-599.

9. *V. V. Kovanskii, N. I. Grinkevich, I. F. Gribopskaia, L. C. Dinkevich, A. N. Sandova, 1971.*
Raschichenue resursư. T. 7, Vưp. 4, 503.

NGHIÊN CỨU TIÊU CHUẨN HOÁ CAO BA GẠC (*Rauvolfia canescens* VÀ *Rauvolfia vomitoria*)

Nguyễn Kim Cẩn, Đinh Thị Thuyết

Ở Việt Nam, có hơn 10 loài ba gạc mọc hoang và nhập nội, song mới có 2 loài được tiêu chuẩn hoá về mặt nguyên liệu và được đưa vào Dược điển Việt Nam II. Đó là vỏ rễ và rễ *Rauvolfia canescens* và *Rauvolfia vomitoria*.

Để góp phần ổn định qui trình sản xuất thuốc chữa cao huyết áp từ ba gạc, chúng tôi nghiên cứu tiêu chuẩn cao ba gạc, dạng bán thành phẩm trước khi bào chế thành thuốc.

Cao ba gạc được điều chế từ vỏ rễ ba gạc Cu Ba (*R. canescens*) hoặc từ vỏ rễ ba gạc Phú Thọ (*R. vomitoria*). Vỏ rễ và rễ ba gạc phải đạt tiêu chuẩn qui định trong Dược điển, xay thành bột qua rây số 4.

Chiết vỏ rễ ba gạc bằng cồn 95^0 (đạt TCVN) vừa đủ theo phương pháp ngấm kiệt ngược dòng. Dịch chiết được thu hồi đến cao mềm rồi sấy khô áp suất giảm ở nhiệt độ 40-50^0 C.

I. KHẢO SÁT TÍNH CHẤT CỦA CAO

Cao khô có màu nâu đen đối với ba gạc Cu-Ba và đen ánh nâu đối với ba gạc Phú Thọ. Vị đắng, mùi thơm đặc trưng. Độ ẩm không cao hơn 10%, giòn có thể bẻ thành mảnh, dễ tán thành bột. Hoà tan trong cồn 95^0, lượng cắn khô thường cao hơn 80%.

II. NGHIÊN CỨU ĐỊNH TÍNH, ĐỊNH LƯỢNG ALCALOID

a) Chiết alcaloid toàn phần từ cao

Cân chính xác khoảng 1g cao nghiền với 2g $MgCO_3$ trong cối sứ. Chuyển định lượng cào bình nón nút mài có dung tích 500ml, thêm 3ml NH_4OH 25% và 3ml cồn 95^0, tiếp tục cho 200ml $CHCl_3$. Đậy nút, lắc 30 phút, để yên qua đêm trong tối. Hôm sau, lắc tiếp một giờ. Gạn lấy lớp $CHCl_3$. Thu hồi đến 100ml (dùng bình định mức 100 để xác định thể tích).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Huy Bích, Trịnh Gia Ân, Nguyễn Văn Đàn, Mai Nghị, Phạm Thị Kim, Nguyễn Nhi Hà, 1974.*
Tập san Dược học. Số 5, tr. 1.

2. *Trịnh Gia Ân, Nguyễn Văn Đàn, Phạm Đình Sửu, Lê Châu Quỳnh, 1975.*
Thông báo dược liệu. Tập 7, tr. 130.

3. *Nguyễn Văn Đàn, Trịnh Gia Ân, Phạm Đình Sửu, Lê Châu Quỳnh, 1976.*
Thông báo dược liệu. Tập 8, tr. 13.

4. *Tạ Quang Nhiệm, Nguyễn Kim Cẩn, Trần Toàn, 1983.*
Thông báo dược liệu. Tập 3, số 3+4, tr. 18.

5. *Nguyễn Kim Cẩn, Tạ Quang Nhiệm, Hà Thị Na, 1983.*
Thông báo dược liệu. Tập 3, số 3+4, tr.

6. *Nguyễn Kim Cẩn, Bùi Thị Bằng, 1978.*
Thông báo dược liệu. Tập 10, số 2, tr. 72.

7. *Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Văn Thanh, 1988.*
Thông báo dược liệu. Tập 20, số 4, tr. 6.

8. *Nguyen Kim Can, I. G. Nikolova, L. A. Nikolaeva, 1989.*
Raschichenue resursu. T. 25, Vup. 4, 594-599.

9. *V. V. Kovanskii, N. I. Grinkevich, I. F. Gribopskaia, L. C. Dinkevich, A. N. Sandova, 1971.*
Raschichenue resursu. T. 7, Vup. 4, 503.

- Lấy 0,3ml dung dịch alcaloid toàn phần pha loãng đến 1ml trong $CHCl_3$ bằng micropipet để định tính alcaloid đặc trưng.

- Dung dịch còn lại có thể dùng để tiến hành định lượng.

b) Nghiên cứu định tính alcaloid bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM)

• *Chuẩn bị kính sắc ký :*

Kính cỡ 5x15cm,phủ một lớp silicagenG (Merck hoặc tương đương) dày 0,25mm, làm khô trong không khí, rồi sấy ở 120^0 C trong 2 giờ trước khi dùng.

- Hệ dung môi khai triển :

- Hệ 1 : n-BuOH- CH_3COOH- H_2O (4-1-1)

- Hệ 2 : $CHCl_3$- CH_3OH- NH_4OH 25% (50-9-1)

Và chọn hệ 2 trong phương pháp SKLM alcaloid ba gạc.

- Chuẩn bị mẫu đối chiếu :

Pha các dung dịch mẫu chuẩn reserpin, ajmalin và serpentin có nồng độ 0,02% trong $CHCl_3$.

• *Tiến hành sắc ký :*

Đưa 0,01ml dung dịch alcaloid toàn phần đã chuẩn bị ở trên lên kính đã hoạt hoá; đồng thời đưa 0,01ml dung dịch các mẫu đối chiếu lên kính ở đường xuất phát song song với mẫu phân tích.

Tiến hành sắc ký từ dưới lên trong hệ dung môi 2 khoảng 10cm. Lấy kính làm khô, phát hiện vết bằng soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254nm và phun thuốc thử $FeCl_3/HNO_3$, hoặc $FeCl_3/HClO_4$.

Thuốc thử : 5g $FeCl_3$ pha trong 100ml HNO_3 50% hoặc trong 100ml $HClO_4$.

• *Đánh giá kết quả:*

Khi soi sắc phổ dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254nm. Với dịch chiết từ *R. canescens* có một vết phát quang màu tím lơ rõ cùng màu và cùng Rf với serpentin (0,40-0,45). Với dịch chiết từ *R.vomitoria* có 1 vết phát quang màu lục cùng màu và cùng Rf với reserpin (0,9).

Khi phun sắc phổ lớp mỏng bằng thuốc thử thấy xuất hiện các vết màu hồng rõ trong đó có một vết có màu và Rf trùng với ajmalin đối chiếu cho cả 2 loại cao. Rf của ajmalin bằng 0,80. Với dịch chiết từ cao *R.vomitoria* có thêm một vết màu đỏ hồng rõ nằm dưới vết ajmalin và có Rf trong khoảng 0,35-0,45. Còn với dịch chiết từ cao *R. canescens* có thêm 2vết đỏ rõ nằm dưới vết ajmalin với các giá trị Rf bằng 0,45 và 0,2-0,25.

Bằng SKLM có thể phân biệt được 2 loại cao ba gạc (*R.vomitoria* và *R. canescens*).

c) Định lượng alcaloid toàn phần

Dịch chiết alcaloid toàn phần từ cao ở mục a thu hồi dung môi đến còn 3-5ml, thêm 10ml H_3PO_4 3%, lắc đều rồi làm bay hơi hết $CHCl_3$. Để nguội lọc. Cắn trong bình và giấy lọc được rửa tiếp 4 lần nữa (10:10:5:5ml). Gộp tất cả dịch acid lại, kiềm hoá bằng NH_4OH 10% đến pH 9-10. Chiết với $CHCl_3$ 4 lần (25:20:15:10ml). Gạn lấy dịch $CHCl_3$. Lọc qua Na_2SO_4 khan vào một bình đã biết trước trọng lượng. Thu hồi $CHCl_3$ đến khô, Sấy cắn ở 80-90^0 C đến trọng lượng không đổi.

Hàm lượng alcaloid toàn phần trong cao được tính theo công thức:

$$X = \frac{a.100.100}{p.(100 - b)}$$

trong đó: a - Cắn sau khi sấy đến trọng lượng không đổi (g);

p - Lượng cân cao lấy thử (g);

b - Độ ẩm của cao (%).

Khảo sát hàm lượng alcaloid toàn phần trong cao chúng tôi thấy :

- Đối với cao ba gạc *R. canescens*, hàm lượng không thấp hơn 15%.
- Đối với cao *R.vomitoria*, hàm lượng không thấp hơn 20%

III. KẾT LUẬN

Từ những kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi đưa ra những tiêu chuẩn dưới đây qui định chất lượng cao ba gạc và cơ sở để phân biệt giữa cao ba gạc *R. canescens* và cao *R. vomitoria*.

- Độ ẩm không vượt quá 10%.

- Độ hoà tan và cắn khô : Hoà tan trong cồn 95^0, không có bã dược liệu và cắn khô không thấp hơn 90%.

- Định tính bằng SKLM:

Sắc phổ SKLM khi soi dưới đèn tử ngoại ở λ = 254 nm phải có vết phát quang màu tím lơ có Rf từ 0,35-0,45 (đối với cao *R. canescens*) và vết phát quang màu xanh lục với Rf ≈ 0,9 (đối với cao *R. vomitoria*).

Sắc phổ SKLM khi phun thuốc thử $FeCl_3$ phải có vết maù đỏ của ajmalin có Rf ≈ 0,80và 2 vết đỏ khác ở dưới ajmalin có Rf lần lượt 0,35-0,45 và 0,20-0,25 (đối với cao *R. canescens*). Còn với cao *R.vomitoria*, phải có vết màu đỏ của ajmalin có Rf ≈ 0,80 và một vết đỏ khác có Rf từ 0,35-0,45.

Hàm lượng alcaloid toàn phần của cao ba gạc *R. canescens* không thấp hơn 15 phần trăm.

Hàm lượng alcaloid toàn phần của cao *R.vomitoria* không được thấp hơn 20 phần trăm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Việt Nam II, 1994, Tập 3.

2. *Habib. M. S and W. E., 1974.*
Court. Planta medica. 25(4), 331

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CÂY BA GẠC *Rauwolfia vomitoria*

Phạm Duy Mai, Quách Mai Loan,
Phan Đức Nhuận, Hà Ngọc Tuyết

SUMMARY

Pharmacological study of Rauvolfia vomitoria

Pharmacological study of the extract from the roots of Rauwolfia vomitoria is achieved in mice, rats and cats. The results showed that the extract lowered significantly blood pressure in normal tension as well as in hypertensive animals. Its hypotensive potency is weaker than that of reserpine and is equal 1/3 of the later.

The extract also contracted the pupil and caused ptosis in treated animals. In mice, administered by mouth the extract has a LD_{50} = 977,2 mg/kg, which is comparable with that of Rauwolfia verticillata.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những chế phẩm từ ba gạc vẫn đang được dùng để điều trị bệnh tăng huyết áp và rối loạn nhịp tim. Ở nước ta đã phát hiện một số loài ba gạc, trong đó có loài ba gạc 4 lá. Loài này lần đầu tiên được Viện Dược liệu phát hiện ở Vĩnh Phúc và xác định tên khoa học là *Rauwolfia vomitoria* Afz là loại cây nhỡ có bộ rễ phát triển tạo nguồn nguyên liệu dồi dào. Về thành phần hoá học trong vỏ rễ có hàm lượng Reserpin khá cao, ngoài ra còn có các alcaloid khác như Rescinnamin, Reserpilin cũng có tác dụng hạ huyết áp. Tuy vậy cho tới nay vẫn chưa có một sản phẩm nào từ *R. vomitoria* được đưa vào sử dụng trong điều trị. Xuất phát từ tình hình trên chúng tôi nghiên cứu dạng cao toàn phần của *R. vomitoria* làm thuốc chống tăng huyết áp

Nội dung nghiên cứu chủ yếu là xác định độc tính và tác dụng hạ huyết áp của cao toàn phần nói trên.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu

Chế phẩm : Cao toàn phần chiết bằng cồn cao độ từ vỏ rễ và rễ nhỏ R. vonitoria dưới dạng cao mềm khi dùng pha trong acid ascorbic 1%.

Động vật thí nghiệm:

- Chuột nhắt trắng gồm cả 2 giống đực và cái, có trọng lượng 16 - 17g, do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp

- Chuột cống trắng nòi Sprague - Dawley, đực có trọng lượng 260 - 310g, huyết áp bình thường.

- Chuột cống trắng nòi Okamoto et Aoki, đực, 8 tuần lễ tuổi, có trọng lượng 120 - 180 g, huyết áp cao di truyền

- Mèo cả 2 giống đực, cái có trọng lượng 2,0 – 5,0kg, khoẻ mạnh mua ngoài thị trường.

2. Phương pháp thí nghiệm

- Xác định độc tính cấp: Thí nghiệm trên chuột nhắt trắng, thuốc được cho thẳng vào dạ dầy bằng một kim tiêm đầu tù. Sau khi dùng thuốc động vật thí nghiệm được theo dõi liên tục trong vòng 3 ngày. Kết quả tính toán theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon

- Tác dụng đối với huyết áp trên chuột cống trắng bình thường: Chuột thí nghiệm ở trạng thái tỉnh táo, không gây mê. Huyết áp chuột được theo dõi bằng phương pháp không chảy máu, sử dụng máy Narco Bio-system (USA) đo qua động mạch đuôi. Chuột được chia làm 3 lô: 1 lô dùng cao *R. vomitoria* với liều 20mg/kg, 1 lô dùng reserpin với liều 7,5mg/kg, 1 lô dùng acid ascorbic để đối chứng. Cả 3 lô đều dùng qua đường uống, huyết áp và nhịp tim được theo dõi trước khi dùng thuốc và sau khi dùng thuốc1,3,5 giờ

- Tác dụng hạ huyết áp trên chuột có huyết áp cao di truyền: Chuột cống trắng nòi Okamoto et Aoki dùng trong thí nghiệm này đều có huyết áp cao trên 160mmHg huyết áp và nhịp tim được theo dõi giống như thí nghiệm trên. Chuột được chia làm 3 lô, mỗi lô dùng cao *R. vomitoria* với liều khác nhau: 10,5mg, 16mg và 24mg/kg

- Tác dụng đối với huyết áp mèo trên thí nghiệm cấp tính: Mèo được gây mê bằng urethan với liều 1g/kg tiêm xoang bụng. Phẫu thuật bộc lộ 1 bên động mạch cổ, huyết áp được theo dõi trực tiếp bằng huyết áp kế thủy ngân. Cao *R. vomitoria* được dùng qua đường tĩnh mạch với các liều 2,5mg và 7mg/kg.

III. KẾT QUẢ

- Độc tính cấp: Từ kết quả thí nghiệm thu được cao *R. vomitoria* trên chuột nhắt trắng, bằng đường uống có LD_{50} = 977,2mg/kg. Kết quả này gần tương đương với số liệu công bố ở nước ngoài về một số loài ba gạc khác như Rauwolfia verticillata có LD_{50} = 820mg/kg.

- Tác dụng hạ huyết áp trên chuột cống trắng có huyết áp bình thường

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 1 và bảng 2.

***Bảng 1.* Tác dụng đối với huyết áp trên các lô thí nghiệm**

Lô thí nghiệm	*Huyết áp tối đa: mmHg (trị trung bình)*			
	Trước dùng thuốc	*Sau dùng thuốc 1h*	*Sau 3h*	*Sau 5h*
Đối chứng	144,8	145,8	146,8	144,5
R. vomitoria	144,5	132,1	126,5	125,0
Reserpin	141,8	125,6	124,7	123,0

***Bảng 2.* Tác dụng đối với tần số tim đập trên các lô thí nghiệm**

Lô thí nghiệm	*Tần số tim đập của chuột trong các lô thí nghiệm*			
	Trước dùng thuốc	*Sau dùng Thuốc 1h*	*Sau 3h*	*Sau 5h*
Đối chứng	394	394	406	402
R. vomitoria	398	414	402	404
Reserpin	396	406	406	380

Những kết quả thí nghiệm trên chứng tỏ cao toàn phần *R. vomitoria* với liều đã dùng trên chuột cống trắng có huyết áp bình thường có tác dụng hạ huyết áp rõ rệt và kéo dài trong nhiều giờ. Sau khi dùng thuốc 1 giờ huyết áp hạ 8,5% so với mức huyết áp ban đầu, sau 3 giờ là 12,4% và sau 5 giờ là 13,5%.

Sơ bộ so sánh với Reserpin thấy rằng cao *R. vomitoria* với liều 20mg/kg có tác dụng hạ huyết áp tương đương với liều 7,5mg/kg Reserpin. Đối với tần số tim đập với liều đã dùng cao *R. vomitoria* không có ảnh hưởng rõ rệt.

- Tác dụng hạ huyết áp trên chuột có huyết áp cao di truyền.

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Tác dụng hạ huyết áp trên chuột có huyết áp cao di truyền**

Liều dùng R. vomitoria mg/kg	*Huyết áp tối đa (trị trung bình) mmHg*			
	Trước dùng thuốc	*Sau dùng thuốc 1h*	*Sau 3h*	*Sau 5h*
Liều 10,5	186,3	171,0	151,6	156,3
Liều 16,0	174,6	166,3	148,5	143,6
Liều 24,0	163,3	141,0	139,2	146,4

Kết quả thí nghiệm chứng tỏ cao *R. vomitoria* trên chuột có huyết áp cao cũng thể hiện tác dụng hạ huyết áp rõ rệt và kéo dài.

- Tác dụng hạ huyết áp trên mèo gây mê.

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. **Tác dụng hạ huyết áp trên mèo gây mê**

Liều dùng R. vomitoria mg/kg	*Huyết áp ban đầu (mmHg)*	*Mức hạ huyết áp sau khi dùng thuốc % so với huyết áp ban đầu*					
		Sau 30ph	*60ph*	*90ph*	*120ph*	*150ph*	*180ph*
2,5	95	15,8	21	30	31	31	27
5,0	90	44	44	44	32	44	44
7,0	110	19	27	54	58	58	58

Thí nghiệm trên mèo gây mê, kết quả chứng tỏ cao *R. vomitoria* bằng đường tiêm tĩnh mạch với liều bé đã có tác dụng hạ huyết áp rõ rệt và kéo dài.

Như vậy trên các loài động vật khác nhau, có huyết áp bình thường cũng như có huyết áp cao, ở trạng thái gây mê cũng như tỉnh táo ba gạc *R. vomitoria* đều có tác dụng hạ huyết áp rõ rệt.

Ngoài ra qua theo rõi ảnh hưởng của thuốc đối với đồng tử và mi mắt mèo thí nghiệm thì thấy rằng cao *R. vomitoria* với liều bé (2mg/kg) đã có tác dụng thu nhỏ đồng tử, với liều lớn hơn(5 - 7mg/kg) thì xuất hiện tác dụng làm sa mi mắt

IV. KẾT LUẬN

1. Trên các loài động vật thí nghiệm với nhiều mô hình khác nhau cao *R. vomitoria* đều có tác dụng hạ huyết áp rõ rệt. Tác dụng này kéo dài trong những giờ sau khi dùng thuốc.

Sơ bộ so sánh với reserpin tác dụng hạ huyết áp của *R. vomitoria* bằng khoảng 1/3 tác dụng của reserpin. Ngoài ra thuốc còn có tác dụng gây thu nhỏ đồng tử và làm sa mi mắt động vật thí nghiệm

2. Về độc tính cấp, bằng đường uống trên chuột nhắt trắng cao *R. vomitoria* có LD_{50} = 977,2mg/kg tương đương với LD_{50} của loài ba gạc *R. verticillata* đã được sử dụng trên lâm sàng.

THỬ NGHIỆM ĐIỀU TRỊ LÂM SÀNG BỆNH TĂNG HUYẾT ÁP BẰNG *Rauvomin*

Phạm Duy Mai, Trần Đỗ Trịnh[1]
và cộng sự

SUMMARY

Clinical study on the anti-hypertensive effect of Rauvomin

Rauvomin, prepared from Rauvolfia, is employed experimentally for the treatment of hypertensive patients who are hospitalized. Results indicated that in clinical essai Rauvomin has a marked hypotensive effect especially in cases of mild and moderate hypertensive. Used in combination with Rauvomin, adverse reactions are rarely occurred.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tăng huyết áp là một bệnh nguy hiểm, gây tàn phế và chết người cao, bệnh đang có xu hướng ngày càng tăng. Việc tìm cách quản lý, khống chế, điều trị bệnh tăng huyết áp là rất quan trọng vì vậy tìm được một thứ thuốc, một phương pháp điều trị là rất quý trong điều kiện khó khăn chung. Phối hợp với Viện Dược liệu, Viện Tim mạch trung ương đã đưa vào thử lâm sàng một loại thuốc sản xuất được trong nước từ cây ba gạc *Rauwolfia vomitoria* đó là viên *Rauvomin*. Mục đích nghiên cứu của đề tài là rút ra kết luận về tác dụng hạ huyết áp của thuốc, xem xét các phản ứng phụ của nó trên trên người bệnh Việt Nam. Từ đó xem xét việc đưa thuốc vào quy trình điều trị bệnh tăng huyết áp rộng rãi trong nhân dân (chỉ định, liều lượng....)

---

[1] Viện Tim mạch

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Các bệnh nhân bị tăng huyết áp vào Viện Tim mạch Trung ương. Không có suy thận, suy tim, gan nặng...

2. Phương pháp

Áp dụng phương pháp mù kép. Các bệnh nhân được đưa vào 3 nhóm một cách ngẫu nhiên. Nhóm 1 dùng *Rauvomin* đơn thuần, nhóm 2 dùng *Rauvomin* phối hợp với Hypothiazid, nhóm 3 dùng thuốc vờ (placebo).

Liều lượng thuốc : *Rauvomin* : 4 viên/ngày Hypothiazid: 2 viên/ngày. Các bệnh nhân ở cả 3 nhóm đều được theo dõi như nhau trong 26 ngày.

- 5 ngày đầu: hoàn toàn không dùng thuốc hạ áp, theo dõi huyết áp nhịp tim và các triệu trứng khác hàng ngày, làm các xét nghiệm X quang, điện tâm đồ, soi đáy mắt, siêu âm, xét nghiệm protein niệu, creatinin niệu; sau 5 ngày xác định huyết áp chính thống là con số trung bình của 5 ngày đo được. Nếu huyết áp cao (theo quy định của Tổ chức Y tế thế giới: huyết áp tâm thu lớn hơn 140mmHg và huyết áp tâm trương lớn hơn 90mmHg) thì đưa vào dùng thuốc.

- Thuốc uống 21 ngày. Theo dõi huyết áp, nhịp tim, các triệu chứng khác, tác dụng phụ hàng ngày. Sau mỗi tuần điều trị làm lại các xét nghiệm như trước điều trị.

- Huyết áp sau điều trị là con số trung bình của huyết áp 5 ngày cuối. Số liệu được xử lý tính toán trên máy vi tính. Kết quả điều trị của mỗi bệnh nhân được tính bằng hiệu số giữa con số huyết áp trước điều trị và sau điều trị. Đánh giá hiệu qủa: so sánh giữ lô thử nghiệm và lô dùng thuốc vờ (placebo)bằng phương pháp T-Student

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1- Giới và tuổi bệnh nhân : Ở nhóm 1 chúng tôi đã thử nghiệm 17 bệnh nhân ở nhóm 2 là 19 bệnh nhân và ở nhóm 3 (placebo) là 19 bệnh nhân

Bệnh nhân phân bố theo giới và tuổi như sau : lô dùng *Rauvomin*: nam/nữ: 7/10; lô dùng *Rauvomin* phối hợp với Hypothiazid: nam/nữ: 13/6. Ở lô dùng *Rauvomin* bệnh nhân có tuổi cao nhất là 73, tuổi thấp nhất là 42, tuổi trung bình là 58, còn ở lô dùng *Rauvomin* phối hợp với Hypothiazid thì bệnh nhân có tuổi cao nhất là 74, thấp nhất là 43 và trung bình là 50. Kết quả điều trị được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Kết quả hạ áp trên các nhóm điều trị**

Nhóm điều trị	*Số bệnh nhân*	*Số H.A mmHg*	*Trước điều trị*	*Sau điều trị*	*Số H.A giảm được*
Rauvomin	17	tâm thu	176,6 ± 29,6	158,4 ± 48,2	18,8 ±18,6
		tâm trương	105,9 ± 13,8	91,2 ± 20,6	14,7 ± 12,3
		trung bình	129,4 ± 16,7	113,6 ± 29,4	15,8 ± 13,3
Rauvomin phối hợp với Hypothiazid	19	tâm thu	171,7 ± 36,6	142,2 ± 13,9	29,5 ± 14,9
		tâm trương	103,5 ± 9,6	84,5 ± 19,5	19,0 ± 10,3
		trung bình	126,2 ±18,4	103,7 ± 31,6	22,5 ± 11,7

Bảng 2. **So sánh kết quả giữa nhóm thử nghiệm với nhóm dùng thuốc vờ (placebo)**

Nhóm điều trị	*Số bệnh nhân*	*Giảm áp tâm thu*	*Giảm áp tâm trương*	*Giảm áp trung bình*
Thuốc vờ (placebo)	19	9,0 ± 15,5	4,6 ± 9,9	5,8 ± 10,7
Rauvomin	17	18,2 ± 18,6	14,7 ± 12,3	15,8 ± 13,3
Rauv. + Hypothiazid	19	29,5 ± 14,9	19,0 ± 10,3	22,5 ± 11,7
So sánh thuốc vờ/R		P>0,05	P<0,05	P<0,05
So sánh thuốc vờ /R+H		P<0,001	P<0,001	P<0,001

R : *Rauvomin*, H: Hypothiazid.

Như vậy kết quả điều trị trên lâm sàng chứng tỏ *Rauvomin* có tác dụng hạ huyết áp rõ rệt, huyết áp tâm thu giảm 18,2 mmHg, huyết áp tâm trương giảm 14,7 mmHg và huyết áp trung bình giảm 15,8%. Điều đáng chú ý là khi dùng *Rauvomin* phối hợp với Hypothiazid thì tác dụng hạ huyết áp càng thể hiện rõ rệt hơn, mức độ giảm của huyết áp tâm thu, tâm trương và trung bình đạt 29,5; 19,0 và 22,5 mmHg.

Để so sánh hiệu quả giảm áp ở 2 nhóm trên theo các mức độ ta có bảng 3.

Như vậy ở nhóm dùng *Rauvomin* đơn thuần, số bệnh nhân đạt hiệu quả điều trị trung bình trở lên chiếm tỷ lệ 70,6% trong khi đó nhóm dùng *Rauvomin* phối hợp với Hypothiazid thì tỷ lệ đó đạt 100%. Điều này nói lên tính ưu việt của việc sử dụng *Rauvomin* phối hợp với các thuốc khác trong điều trị.

Ngoài ra để xem xét kết quả giảm áp của *Rauvomin* đối với các gia đoạn của bệnh tăng huyết áp, ta có bảng 4.

Bảng 3. **So sánh hiệu quả giảm áp ở 2 nhóm dùng *Rauvomin* đơn thuần và dùng phối hợp với Hypothiazid**

Nhóm điều trị	*Mức độ*	*Xấu đi*	*Không hiệu quả*	*Kém*	*Trung bình*	*Tốt*	*Rất tốt*	*Đặc biệt tốt*	*Tổng số*
Rauvomin	số ca	1	0	4	4	1	7		17
	tỷ lệ %	5,9	0	23,5	23,5	5,9	41,2		
Rauvomin + hypothiazid	số ca	0	0	0	2	8	8	1	19
	tỷ lệ %	0	0	0	10,5	42,1	42,1	5,3	

Bảng 4. **Mức độ giảm áp của *Rauvomin* đối với các giai đoạn tăng huyết áp**

Các giai đoạn	*Số ca theo dõi*	*Mức giảm của huyết áp trung bình: mmHg*
Giai đoạn I	6	12,8 ± 9,8
Giai đoạn II	8	19,8 ± 13,4
Giai đoạn III	3	4,0 ± 3,6

Kết quả thí nghiệm cho thấy *Rauvomin* có tác dụng hạ áp tốt đối với giai đoạn I và II còn đối với giai đoạn III thuốc có tác dụng kém hơn.

Tác dụng phụ: Trong tổng số 36 bệnh nhân ở cả 2 nhóm dùng *Rauvomin* đơn thuần và dùng phối hợp với Hypothiazid chúng tôi không ghi nhận được bất cứ một ca nào có triệu trứng buồn nôn hoặc nôn mửa suốt quá trình điều trị. Chỉ có 1 bệnh nhân sau ngày đầu dùng thuốc có cảm giác choáng váng, sau đó buồn ngủ, ngày hôm sau đo huyết áp thì huyết áp bình thường, không có hiện tượng tụt huyết áp.

IV. KẾT LUẬN

1. *Rauvomin* có tác dụng hạ huyết áp rõ rệt, có xu hướng làm giảm huyết áp tâm trương tốt. Khi phối hợp với Hypothiazid tác dụng hạ áp tốt hơn và đều hơn ở các bệnh nhân

2. Đối với các giai đoạn I và II của bệnh tăng huyết áp thuốc có tác dụng tốt, còn ở giai đoạn III thì thuốc có tác dụng kém hơn

3. Thuốc ít có tác dụng phụ.

ĐIỀU TRA ĐÁNH GIÁ THÀNH PHẦN BỆNH HẠI TRÊN CÂY BẠCH TRUẬT TẠI SA PA - LÀO CAI

Phan Thuý Hiền, Ngô Quốc Luật,
Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Xuân Trường và cộng sự

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ nhiều năm nay, do có nhu cầu tiêu thụ lớn nên bạch truật (*Atractylodes macrocephala* Koidz.) đã trở thành cây hàng hóa và được trồng trên diện tích rộng ở một số địa phương trong đó có Sa Pa - Lào Cai. Với độ cao trên 1500m, khí hậu mát lạnh quanh năm, Sa Pa tỏ ra là nơi đặc biệt thích hợp với việc trồng bạch truật giống cung cấp hạt cho cả nước. Tuy vậy, trong quá trình trồng trọt, bạch truật bị rất nhiều sâu bệnh phá hại, trong đó bệnh là nguyên nhân chủ yếu gây mất ổn định năng suất và chất lượng giống hàng năm.

Để góp phần nâng cao năng suất và chất lượng sản phẩm hạt giống bạch truật, hạn chế những thiệt hại do dịch bệnh gây ra, chúng tôi tiến hành điều tra thành phần bệnh hại, làm cơ sở cho việc đề xuất các biện pháp phòng trừ hợp lý.

II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Thành phần bệnh hại bạch truật tại Sa Pa - Lào Cai năm 1999

Để xác định thành phần bệnh hại bạch truật trong điều kiện thời tiết năm 1999, chúng tôi đã điều tra theo dõi tại 2 điểm khác nhau ở Sa Pa. Kết quả là ở cả 2 điểm điều tra đều xuất hiện những loại bệnh như trong bảng 1.

2. Đặc điểm triệu chứng, nguyên nhân một số bệnh hại bạch truật

1) Bệnh lở cổ rễ: Bệnh do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra.

Bệnh thường phá hại ở giai đoạn cây còn nhỏ. Biểu hiện đặc trưng : rễ, cổ rễ và gốc thân sát mặt đất bị thâm đen, thối mục, cây bệnh héo chết, đổ gục trên ruộng. Lúc đầu vết bệnh chỉ là một chấm nhỏ màu đen ở gốc thân, cổ rễ, sau đó lan rộng ra rất nhanh bao bọc quanh cổ rễ. Bộ phận bị bệnh thối mục, có màu nâu đen ủng nước hoặc hơi khô, cổ rễ teo thắt lại. Trên vết bệnh ở cổ rễ thối nhũn hình thành một lớp nấm màu trắng xám. Nhổ cây lên thường bị đứt ở gốc thân và cổ rễ.

Bảng 1. **Thành phần bệnh hại bạch truật tại Sa Pa - Lào Cai năm 1999**

TT	*Bệnh*	*Nguyên nhân gây bệnh*	*Bộ phận bị hại*	*Mức độ hại*
1	Lở cổ rễ	***Rhizoctonia solani***	Gốc thân, Rễ	++
2	Héo vàng	***Fusarium solani***	Rễ, thân, lá, hoa, quả	+++
3	Đốm vòng	Alternaria alternata	Thân, lá	++
4	Đốm nâu	***Pestalozia*** sp.	Thân, lá	++
5	Đốm đen	***Curvularia*** sp.	Lá	+
6	Thối gốc mốc trắng	***Sclerotium rolfsii***	Rễ, thân	+++
7	Khô thân, lá	-	Thân, lá, hoa, quả	++++

Ghi chú: + : Bệnh rất ít (1 - 5%);
++ : Bệnh ít (6 - 10%);
+++ : Bệnh nhiều (11 - 30%);
++++ : Bệnh rất nhiều (> 30%).

2) Bệnh héo vàng: Bệnh do nấm *Fusarium solani* gây ra.

Bệnh thường xuất hiện chậm và kéo dài. Cây bạch truật mắc bệnh, lá bị héo khô, mất màu nhẵn bóng, dần dần ngả màu vàng nhưng không bị rụng. Thân cây khô đét, chuyển dần thành màu nâu nhạt.

Bệnh thường phát sinh phát triển trong điều kiện có độ ẩm và nhiệt độ tương đối cao. Bệnh nặng rễ thường bị đứt, kém phát triển, cắt ngang rễ củ thấy chuyển màu nâu nhạt, xung quanh thượng tầng có viền màu nâu đậm.

3) Bệnh đốm vòng: Bệnh do nấm Alternaria alternata gây ra.

Bệnh thường xuất hiện trước ở lá già, sau chuyển dần lên các lá trên. Vết bệnh trên lá biểu hiện triệu chứng rất điển hình, ban đầu là một chấm nhỏ màu vàng trong, sau lớn dần có hình tròn hay hình bầu dục màu nâu đen. Trên mặt vết bệnh có nhiêu vòng tròn đồng tâm. Giới hạn giữa vết bệnh và bộ phận mô khoẻ là một quầng vàng nhỏ. Khi bệnh nặng, nhiều vết bệnh nối liền nhau thành vết bệnh lớn không định hình. Bệnh có thể xuất hiện ở giữa lá, mép lá hoặc cuống lá. Mưa ẩm kéo dài vết bệnh thối nhũn, trời nắng to, vết bệnh khô vỡ nát. Trên thân, vết bệnh ban đầu cũng là một chấm nhỏ, màu vàng trong, sau lớn dần lên có hình bầu dục và hơi lõm, màu nâu sậm.

4) Bệnh đốm nâu: Bệnh do nấm *Pestalozia* sp. gây ra.

Vết bệnh lúc đầu chỉ là những chấm nâu nhỏ, sau đó to dần lên, ở giữa có màu nâu nhạt hơn so với mép. Vết bệnh khi đã phát triển thành thục, màu sắc có thể

nâu đậm hoặc nâu nhạt, nhu mô nứt rạn. Vết bệnh trên lá có hình tròn hoặc nhiều góc cạnh, trên thân thường không định hình. Nguồn bệnh chủ yếu tồn tại bằng sợi nấm và đĩa cành ở lá bệnh trên cây hoặc đã rơi rụng trên đất.

5) Bệnh đốm đen: Bệnh do nấm *Curvularia* sp. gây ra.

Bệnh xuất hiện chủ yếu trên lá với các dạng vết bệnh khác nhau, thường không định hình, màu nâu đen. Lúc đầu vết bệnh chỉ là 1 chấm nhỏ xanh trong giọt dầu sau đó lan dần ra xung quanh. Quan sát không thấy xuất hiện quầng vàng giữa mô bệnh và mô khoẻ.

6) Bệnh thối gốc mốc trắng: Bệnh do nấm *Sclerotium rolfsii* gây ra.

Lúc đầu, trên mặt đất xung quanh gốc cây thấy có những sợi nấm trắng giống như sợi chỉ, mọc chi chít, dần dần lan rộng ra xung quanh gốc cây. Lớp nấm này thậm chí có thể ăn sâu tới 10-15cm. Xung quanh cổ rễ ở phần tiếp giáp với mặt đất xuất hiện những hạch nấm nhỏ như hạt cải, màu trắng, dần dần ngả thành màu vàng nhạt, cuối cùng là màu nâu. Gốc cây có màu nâu đen. Lúc bệnh phát ra nghiêm trọng, củ thối nhũn, đất xung quanh biến thành màu nâu đen, lây lan rất nhanh.

7) Bệnh khô thân, lá: Chưa xác định được nguyên nhân gây bệnh.

Ban đầu bệnh có thể xuất hiện ở thân hoặc mép lá làm cho thân và mép lá có màu nâu đậm. Sau đó, bệnh lan dần tới tất cả các bộ phận trên mặt đất. Bệnh lây lan với tốc độ rất nhanh, đặc biệt vào những ngày trời mưa. Lá và thân bị bệnh nhanh chóng chuyển màu nâu đen và chết. Trời nắng, toàn bộ lá và thân khô, lá vỡ nát. Tuy nhiên, rễ củ vẫn còn nguyên, cây bị bệnh về sau vẫn có thể đâm chồi được.

3. Đánh giá sơ bộ mức độ phát triển của bệnh hại bạch truật tại Sa Pa

Qua quá trình quan sát, điều tra ở 2 điểm trồng bạch truật khác nhau về địa hình, chế độ chăm sóc, chúng tôi thấy mức độ hại của bệnh ở 2 điểm khác nhau rõ rệt. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

IV. KẾT LUẬN

- Trong điều kiện thời tiết năm 1999, trên cây bạch truật trồng tại Sa Pa - Lào Cai có 7 bệnh hại, trong đó có 6 bệnh do nấm, 1 bệnh chưa xác định được nguyên nhân do điều kiện thí nghiệm chưa cho phép.

- Ở giai đoạn cây còn nhỏ, bệnh ít xuất hiện, chủ yếu chỉ có bệnh lở cổ rễ do nấm *Rhizoctonia solani* gây ra.

***Bảng 2.* Mức độ phát triển của bệnh hại bạch truật ở Sa Pa năm 1999**

TT	Ngày điều tra / Bệnh	*Lần 1 (9/4)*				*Lần 2 (12/6)*				*Lần 3 (15/7)*				*Lần 4 (18/8)*			
		Điểm 1		*Điểm 2*		*Điểm 1*		*Điểm 2*		*Điểm 1*		*Điểm 2*		*Điểm 1*		*Điểm 2*	
		TLB (%)	*CSB (%)*	*TLB (%)*	*CSB (%)*	*TLB (%)*	*CSB (%)*	*TLB (%)*	*CSB (%)*	*TLB (%)*	*CSB (%)*	*TLB (%)*	*CSB (%)*	*TLB (%)*	*CSB (%)*	*TLB (%)*	*CSB (%)*
1	Lở cổ rễ	6,67		5,56		10,0		7,78		2,23		-		-		-	
2	Héo vàng	-		-		23,33		7,78		25,56		12,23		18,89		10,0	
3	Đốm vòng	-	-	-	-	27,63	9,83	12,12	5,25	29,19	10,13	13,75	6,14	19,68	9,52	7,98	3,55
4	Đốm nâu	-	-	-	-	38,55	11,28	18,64	6,91	44,15	13,08	19,55	7,62	35,11	10,34	14,74	5,63
5	Đốm đen	-	-	-	-	18,64	6,70	-	-	20,08	7,52	9,83	3,30	16,67	5,06	9,20	3,75
6	Thối gốc mốc trắng	-		-		1,11		2,22		18,89		14,44		17,78		16,67	
7	Khô thân, lá	-	-	-	-	51,46	30,92	23,92	11,81	65,78	45,24	24,85	12,21	61,27	39,08	19,24	9,65

Điểm 1: Địa hình dưới thung lũng, đất đã canh tác nhiều năm, chăm sóc kém, làm cỏ không thường xuyên.

Điểm 2: Địa hình đất đồi, mới khai phá, chăm sóc tốt, làm cỏ thường xuyên.

- Các bệnh héo vàng, khô thân, lá gây hại khá nghiêm trọng. Bệnh thối gốc mốc trắng ở giai đoạn cây trưởng thành cũng xuất hiện khá phổ biến.

- Đất đai và chế độ chăm sóc có ảnh hưởng lớn đến sự phát triển của bệnh. Chăm sóc không tốt, làm cỏ không thường xuyên, cây phát triển kém làm giảm khả năng chống chịu, tạo điều kiện thuận lợi cho nấm bệnh xâm nhập dễ dàng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Clare B., 1974.*
Kenaga, Principles of Phytopathology, Balt Publishers.

2. *Onkar D. Dhingra, Ph.D., James B. Sinclair, Ph.D., 1995.*
Basic Plant Pathology Methods, Lewis Publishers.

3. *Viện Bảo vệ thực vật, 1997.*
Phương pháp nghiên cứu Bảo vệ thực vật. NXB Nông nghiệp.

4. Giáo trình Bệnh cây nông nghiệp. NXB Nông nghiệp, 1998.

NGHIÊN CỨU BỆNH HẠI BẠCH CHỈ TRỒNG Ở TAM ĐẢO, NẤM BỆNH U LOÉT VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Ngô Quốc Luật

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây bạch chỉ - *Angelica dahurica* Benth. et Hook. f. ex. Franch - et Sav. được nhập từ Trung Quốc vào Việt Nam năm 1958. Viện Dược liệu đã di thực thuần hoá và phát triển trồng ở nhiều nơi như Sa Pa, Tam Đảo, Hà Nội... Qua nhiều năm nghiên cứu và phát triển trồng trọt ở Việt Nam, cây bạch chỉ đã bị một số nấm bệnh gây hại, đặc biệt nguy hiểm đối với cây bạch chỉ trồng lấy hạt giống ở Tam Đảo, đã có những năm thất thu hạt giống, làm thiệt hại hàng triệu đồng do nấm bệnh gây ra. Đứng trước đòi hỏi thực tế chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu, tìm hiểu một số bệnh hại mới xuất hiện mà các tài liệu trong và ngoài nước chưa thấy đề cập tới.

II. PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu thí nghiệm

- Dùng cây bạch chỉ có nguồn gốc từ Trung Quốc được nhập vào Việt Nam năm 1958, hiện nay được trồng phổ biến ở nước ta.

- Cây bạch chỉ một và hai năm tuổi trồng lấy hạt giống ở Tam Đảo. Cây 2 tháng tuổi trở lên dùng để lây bệnh nhân tạo và nghiên cứu cơ bản trong nhà lưới.

- Các loại dụng cụ nghiên cứu trong phòng thí nghiệm, nhà lưới và các hoá chất cần thiết khác.

- Các loại thuốc dùng cho thí nghiệm phòng trừ nấm bệnh u loét: Boóc đô 1%; TMTD 85%; Zineb 80%; Kitazin 50%; Hinozan 50%; Đối chứng phun nước lã.

2. Điểm nghiên cứu

Trại nghiên cứu cây thuốc Tam Đảo - Vĩnh Phúc; Bộ môn Bệnh cây - Viện Bảo vệ thực vật (BVTV); Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội.

3. Phương pháp thí nghiệm

- Điều tra thành phần bệnh hại theo phương pháp của Cục trồng trọt và BVTV-1987.

- Phân bệnh hại theo thang 5 cấp.

- Khảo nghiệm hiệu lực thuốc được bố trí theo phương pháp tuần tự, 3 lần nhắc lại (cách ly).

- Đánh giá hiệu quả của thuốc hoá học với bệnh theo công thức Henderson - Tilton.

- Đánh giá tác dụng của thuốc trừ bệnh theo thang 4 cấp của IOBC/WPRS - HASSAN - 1984.

- Xử lý số liệu theo phương pháp R.M.KLLIN và D.T.KLLIN. Tính toán phân tích phương sai một nhân tố trên chương trình máy tính Microsoft Excel.

- Giám định phân lập bệnh hại theo phương pháp của Viện BVTV.

III. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu thành phần bệnh hại trên cây bạch chỉ trồng lấy hạt giống ở Tam Đảo - Vĩnh Phúc :

Kết quả điều tra thành phần bệnh hại trên cây bạch chỉ được thể hiện ở bảng sau:

TT	*Thành phần bệnh hại (Tên Việt Nam)*	*Tên khoa học*	*Mức độ hại*	*Ghi chú*
1	Tuyến trùng	*Meloidogyne* sp.	+++	(-) Chưa giám định được nguồn bệnh.
2	Bệnh đốm trắng	(-)	+	+ Tác hại ít nghiêm trọng.
3	Bệnh đốm đen	(-)	+	+++ Tác hại khá nghiêm trọng.
4	Bệnh lụi đen hoa	(-)	+++	+++++ Tác hại rất nghiêm trọng.
5	Bệnh u loét	*Plasmodiophora* sp.	+++++	

Theo số liệu bảng trên,chúng tôi đã điều tra phát hiện được 5 thành phần bệnh hại, trong đó bệnh số (1) và (4) tác hại khá nghiêm trọng. Riêng bệnh u loét (5) tác hại nguy hiểm nhất đối với bạch chỉ trồng lấy hạt giống ở Tam Đảo, bệnh làm cho hạt biến dạng, nếu bị nặng cây sẽ chết hoàn toàn. Với tính chất đặc biệt nghiêm trọng của bệnh u loét, để có thể ngăn chặn một phần tác hại của nó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu bệnh hại này.

2. Nghiên cứu bệnh u loét hại bạch chỉ

1) Triệu chứng bệnh

Bệnh phá hại trên thân cây, bẹ lá, cuống lá, gân lá, cuống hoa và hạt. Ban đầu vết bệnh nhỏ bằng hạt tấm màu trắng ngà, hình thoi sau chuyển sang màu nâu đậm, lớn dần lên và nứt loét ra. Nhiều vết nứt của bệnh liên tiếp gần nhau sẽ tạo nên chuỗi kéo dài, làm các bộ phận bị hại của cây biến dạng (kể cả hạt giống).

2) Giám định, phân lập vi sinh vật gây bệnh

Ký sinh gây bệnh là một loại nấm không sợi, thuộc nấm hạ đẳng *Plasmodiophora* sp. Họ Archimycetes. Bộ Plasmodiophorales. Khi phân lập nấm cho thấy bào tử từ khi cấy chỉ tồn tại được trên môi trường lòng trắng trứng và dịch cây bạch chỉ với thời gian lâu nhất là hai tuần.

3) Nghiên cứu diễn biến bệnh u loét bạch chỉ trên cây 1 và 2 năm tuổi

Bệnh u loét bắt đầu phát sinh vào tháng 2 kéo dài đến tháng 8 hàng năm, rộ nhất vào các tháng 3 - 4 và 5. Cây bạch chỉ 2 năm tuổi bị nhiễm bệnh sớm hơn, cao hơn so với cây 1 năm tuổi. Mức độ tác hại của cây bạch chỉ 1 năm và 2 năm tuổi có khác nhau.. Trong cùng thời điểm tháng 4, cây 1 năm tuổi có chỉ số bệnh (CSB) là 8,4%, còn cây 2 năm tuổi bị rất nặng có CSB là 83,3% cao gấp nhiều lần. Sự phát sinh phát triển của nấm bệnh phụ thuộc chặt chẽ vào yếu tố thời tiết (ngày mù trời cao, ẩm độ cao và nhiệt độ thấp) ngoài ra còn phụ thuộc vào môi trường đất đai bị nhiễm bệnh. Những yếu tố này rất phù hợp với điều kiện sinh thái của nấm gây bệnh *Plasmodiophora* sp. Là loại nấm hạ đẳng phát triển mạnh trong điều kiện môi trường ẩm độ cao.

3. Nghiên cứu phòng trừ bệnh u loét bằng thuốc hoá học

Chúng tôi đã thử nghiệm 5 loại thuốc hoá học để phun cho cây bạch chỉ 1 và 2 năm tuổi. Gồm 6 công thức : Boóc đô 1%; TMTD 85% pha 0,3%; Zineb 80% pha 0,3%; Kitazin 50% pha 0,2%; Hinozan 50% pha 0,2%; Đối chứng phun nước lã. Thời gian phun thuốc khi thấy bệnh xuất hiện (từ 5/2 đến 8/6). Định kỳ phun 7-10 ngày/lần.Kết quả nghiên cứu thử nghiệm cho thấy: So sánh các công thức phun thuốc với đối chứng cả cây 1 và 2 năm tuổi thì thấy Boócđô 1% có hiệu lực nhất, thuốc TMTD 0,3% cũng có tác dụng, còn các loại thuốc khác chỉ có mẫn cảm không có hiệu lực đối với bệnh.

- Đối với cây bạch chỉ 1 năm tuổi : Lần điều tra có tỷ lệ bệnh cao nhất với công thức đối chứng (không phun thuốc) tỷ lệ bệnh là 76% và chỉ số bệnh là 46,6%.

Trong lúc đó công thức phun Boócđô 1% có tỷ lệ bệnh thấp hơn nhiều so với đối chứng - TLB chỉ có 28,6% và CSB là 10,3%.

- Đối với cây 2 năm tuổi: Công thức phun Boóc đô 1% đã thu được hạt giống,bình quân 25g hạt/cây (bạch chỉ bình thường không bị bệnh đạt 44g hạt/cây) chất lượng hạt tốt. Công thức phun TMTD 0,3% cũng thu được ít hạt giống, nhưng hạt bị lép nhiều. Các công thức phun thuốc khác không thu được hạt. Riêng công thức đối chứng cây bị chết hoàn toàn.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Trên cây bạch chỉ trồng ở Tam Đảo xuất hiện nhiều bệnh hại nguy hiểm, có nguy cơ đe doạ đến vấn đề sản xuất hạt giống hàng năm. Đặc biệt là bệnh u loét do nấm hạ đẳng *Plasmodiophora* sp. gây ra.

2. Nấm bệnh u loét bạch chỉ ở Tam Đảo thường xuất hiện từ tháng 2 đến tháng 8 và rộ nhất vào tháng 5 hàng năm.

3. Phòng trừ bệnh u loét trên cây bạch chỉ 1 và 2 năm tuổi với thuốc Boóc đô 1% là có hiệu lực cao nhất, sau Boóc đô 1% là thuốc TMTD 0,3%. Còn các loại thuốc khác chỉ có mẫn cảm, không có hiệu lực.

4. Cần nghiên cứu cải thiện giống bạch chỉ chống chịu bệnh hại, nghiên cứu cải thiện môi trường đất đai trồng trọt và dịch chuyển thời vụ gieo trồng,tránh giai đoạn bệnh rộ. Có thể áp dụng biện pháp phun phòng trừ bệnh u loét bằng thuốc Boóc đô 1% rẻ tiền ít độc hại để ngăn ngừa và hạn chế bệnh có hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Ngô Quốc Luật, 1996.*
Nghiên cứu khả năng cho năng suất và chất lượng dược liệu, hạt giống và ảnh hưởng của nấm bệnh u loét bạch chỉ (Luận án Thạc sĩ khoa học Nông nghiệp).

2. Sổ tay công tác giống cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1985.

3. Sổ tay phòng thí nghiệm nấm và vi khuẩn. NXB Nông - Lâm nghiệp Bucaret, 1961.

4. *Cục BVTV, 1987.*
Phương pháp điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng NXB Nông nghiệp.

5. *Đường Hồng Dật, 1976.*
Sổ tay bệnh hại cây trồng. NXB Nông nghiệp.

6. *Viện BVTV, 1961.*

Điều tra cơ bản bệnh hại cây trồng.

7. *Trần Quang Hùng, 1995.*

Thuốc BVTV. NXB Nông nghiệp.

8. *Nguyễn Văn Tiểu, 1961.*

Sơ kết tình hình trồng bạch chỉ Tam Đảo. Báo cáo KHKT - VDL.

9. Trung khảo dược liệu (Tập II). NXB nhân dân Giang Tô ấn hành 1976.

10. Trung Quốc thực vật chí T. 55 (3). NXB khoa học - Bắc Kinh, 1992.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CÂY CÀ GAI LEO (*Solanum hainanense* Hance., Solanaceae)

Nguyễn Bích Thu, Phạm Kim Mãn,
Âu Văn Yên, Vũ Kim Thu, Lã Kim Oanh

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cà gai leo là cây thuốc được sử dụng rộng rãi trong dân gian làm thuốc chống viêm, chữa phong thấp, đau nhức răng, dị ứng. Xuất phát từ yêu cầu của đề tài "Nghiên cứu cà gai leo làm thuốc chống viêm và ức chế xơ gan", chúng tôi nghiên cứu thành phần hoá học cây cà gai leo để chiết xuất bộ phận hoạt chất, xây dựng tiêu chuẩn dược liệu cà gai leo làm nguyên liệu cho thuốc Haina chữa viêm gan và ức chế xơ gan.

II. TÓM TẮT NHỮNG KẾT QUẢ CHÍNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

1. Chúng tôi đã phân tích sơ bộ thành phần hoá học của thân, lá, rễ các mẫu cà gai leo thu hái ở các địa phương khác nhau: Thanh Hoá, Đông Anh, Đại Yên, Sóc Sơn (Hà Nội), Thái Bình, Hà Tây, Hoà Bình. Bằng phương pháp chiết xuất và phân tích sắc ký, kết quả cho thấy:

- Trong thân lá và rễ cà gai leo đều chứa các nhóm chất sterol, flavonoid, cumarin, alcaloid, glycoalcaloid, saponin, acid amin.

- Sơ bộ trên sắc ký lớp mỏng và sắc ký giấy cho thấy có các chất có màu sắc và Rf tương tự β-sitosterol, acid cafeic, acid clorogenic, solasonin, các đường glucose, rhamnose chuẩn.

- Theo kết quả nghiên cứu dược lý, nhóm glycoalcaloid là thành phần chính có tác dụng chống viêm và ức chế xơ gan, vì vậy, chúng tôi chọn phương pháp định tính glycoalcaloid để xây dựng tiêu chuẩn dược liệu cà gai leo, bán thành phẩm và các chế phẩm thuốc từ cà gai leo.

2. Xây dựng phương pháp định lượng glycoalcaloid trong cà gai leo bằng phương pháp định lượng acid bazơ và phương pháp đo màu.

3. Xây dựng qui trình chiết xuất cao Haina I.

4. Nghiên cứu xây dựng qui trình chiết xuất bột Haina II.

III. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

1. Đã phân tích thành phần hoá học và thấy cà gai leo có alcaloid, glycoalcaloid, saponin, flavonoid, acid amin và sterol trong đó nhóm glycoalcaloid có tỷ lệ nhiều hơn cả.

2. Đã xây dựng qui trình chiết bộ phận hoạt chất toàn phần sản phẩm dùng để chế tạo viên HAINA I và qui trình chiết bộ phận hoạt chất chính là glycoalcaloid sản phẩm dùng để bào chế viên nang HAINA II.

Sản phẩm bột HAINA II thu được là bột khô, có chứa hàm lượng glycoalcaloid (hoạt chất chính có tác dụng chống viêm và xơ gan) gấp 70 lần so với dược liệu và gấp 6 lần so với cao HAINA I (chiết trên cùng một loại dược liệu).

3. Đã xây dựng và chỉnh lý 2 phương pháp định lượng glycoalcaloid (phương pháp acid - bazơ và phương pháp đo màu) áp dụng vào việc định lượng hoạt chất trong dược liệu, bán thành phẩm và thành phẩm, xây dựng tiêu chuẩn thuốc và theo dõi thời gian bảo quản của thuốc. Phương pháp định lượng glycoalcaloid toàn phần trong dược liệu và các chế phẩm của cà gai leo) bằng bromotymol xanh có độ đúng, độ lặp lại cao và có khoảng tuyến tính thích hợp cho việc áp dụng với các dược liệu chi *Solanum* và các dạng chế phẩm có hàm lượng glycoalkaloid toàn phần thấp (dưới 1%). Lượng mẫu sử dụng ít và thời gian xử lý mẫu nhanh.

4. Việc nghiên cứu chiết xuất bán thành phẩm HAINA II đã đáp ứng yêu cầu của đề tài là cải tiến một bước dạng bào chế trên cơ sở tạo được sản phẩm tập trung hoạt chất, loại bỏ được những tạp chất gây chảy nhão để dễ dàng bào chế thuốc dưới dạng viên nang thay cho HAINA I viên nén bao phim.

Trong thí nghiệm điều trị bệnh nhân chỉ cần uống 2 viên HAINA II/ ngày (chứa 7,5 mg hoạt chất/ 1 viên) thay cho 6 viên HAINA I/ ngày (mỗi viên chứa 0,25g cao toàn phần).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Minh Khai, 1990.*
Luận án PTS.

2. *Đoàn Thị Nhu, Đỗ Kim Chi, 1972.*
Thông báo dược liệu, số 15, 32-48.

3. *Viện Dược liệu, 1980.*

Phương pháp định lượng solasodin trong *Solanum* của Viện VILL (Nga), tài liệu đánh máy của Viện Dược liệu.

4. *E. Balcar, M. Zalecka, 1962.*

Biul. Inst. Roslin Leczniczyh 8, 90-97.

5. *J. Birnerm, J. Pharm, 1969.*

Sci., 58, 258.

6. *R. Carle, E. Reinhard, 1980.*

Planta Medica 38, 381 - 383.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ỨC CHẾ QUÁ TRÌNH XƠ CỦA CÀ GAI LEO TRÊN MÔ HÌNH GÂY XƠ GAN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Minh Khai, Nguyễn Bích Thu,
Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu,
Nguyễn Phúc Cương[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xơ là kết quả của quá trình tăng tổng hợp và tích tụ collagen ở tổ chức. Các bệnh về xơ như xơ gan, xơ phổi, xơ động mạch là những bệnh nan giải vì khó có khả năng hồi phục chức năng của các tổ chức đã bị xơ hoá.Vấn đề này khiến người ta nghĩ đến hướng tìm cách ngăn chặn sự tiến triển của quá trình xơ hoá bằng những chất tác dụng lên chuyển hoá collagen. Dựa trên những hiểu biết về cơ chế sinh tổng hợp collage, nhiều công trình nghiên cứu theo hướng này đã đạt được một số kết quả nhất định.

Các kết quả nghiên cứu trước kia đã chứng minh dịch chiết toàn phần của cà gai leo có tác dụng làm giảm hàm lượng collagen ở một số tổ chức của chuột nhắt bình thường (1). Trên mô hình gây xơ gan thực nghiệm, nó ngăn chặn sự tiến triển của xơ gan cả về số lượng và chất lượng, làm giảm lượng collagen, giảm mức độ liên kết ngang và giảm mức độ xơ về tổ chức học.(1).

Trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu cà gai leo làm thuốc chống viêm và ức chế xơ gan, chúng tôi đã chiết glycoalcaloid từ cà gai leo nhằm mục đích tìm hiểu tác dụng của chúng trên quá trình xơ gan.

II. NHỮNG KẾT QUẢ CHÍNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

- Thí nghiệm được tiến hành trên chuột cống trắng chia thành 3 lô và gây xơ theo phương pháp của Maros và cộng sự (3). Định lượng colagen theo phương pháp của Nèuman-Logan (4).

- Gây xơ được 4 tuần (giai đoạn sớm của sự tiến triển xơ), sau đó cho 2 lô uống thuốc, mỗi lô uống một dạng chiết toàn phần và dạng chiết glycoalcaloid. Hàng

[1] Bệnh viện Hữu nghị Việt - Đức.

ngày chuột uống 2 dịch chiết trên tương đương với liều 6g cà gai leo/kg thể trọng và gây xơ tiếp tục 8 tuần rồi giết chết chuột làm các thí nghiệm.

- Kết quả của hai dạng chiết toàn phần và glycoalcaloid trên mô hình xơ gan tỉ lệ % colagen giảm so với đối chứng sau 12 tuần gây xơ theo thứ tự là 27,0% và 27,6% ($P < 0,05$).

- Ảnh hưởng của 2 dạng chiết cà gai leo trên gan về mặt tổ chức học.

Hai dạng chiết đều có tác dụng trên mô hình xơ gan có ý nghĩa về hàm lượng colagen và về hình thái tổ chức học thì mức độ xơ giảm rõ rệt. Vậy hoạt chất có tác dụng chính là thuộc nhóm chất chứa glycoalcaloid.

III. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

Chuyển hoá colagen là một quá trình phức tạp, Galligani và cộng sự đã chứng minh quá trình xơ gan thực nghiệm có hai giai đoạn, giai đoạn sớm phục hồi được và giai đoạn muộn không phục hồi được. Nếu tác nhân gây xơ được loại bỏ ở giai đoạn sớm thì tổ chức xơ có thể được tiêu đi hoàn toàn, còn ở giai đoạn muộn mặc dù đã loại bỏ tác nhân gây xơ nhưng tổn thương ở tổ chức gan là không thuận nghịch.

Kết quả nghiên cứu trên giúp chúng tôi giải thích cơ chế tác dụng của thuốc. Hai dạng chiết đều có tác dụng ngăn chặn sự phát triển của xơ gần giống nhau. Tác dụng này có thể hướng vào hoạt chất chính có tác dụng là glycoalcaloid. Khả năng làm chậm sinh tổng hợp colagen và ngăn chặn sự tiến triển của xơ gan có lẽ giống cơ chế ức chế sinh tổng hợp protein của các steroid.

Tóm lại, glycoalcaloid chiết từ cà gai leo có tác dụng ngăn chặn sự phát triển của xơ trên mô hình xơ gan thực nghiệm. Kết quả thể hiện trên các chỉ tiêu hoá sinh và tổ chức học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Minh Khai, 1990.*
Luận án PTS Y Dược, Hà Nội.

2. *Galligani L., 1979.*
Biomedicin, 7, 31.

3. *Maros T., 1971.*
Arzneimittel-forschung drug research 21(2), 257- 261.

4. *Neu Man R.E. and Logan M.A., 1949.*
Arch Biochem., 24, 289.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM MÃN VÀ TÁC DỤNG GIẢM ĐAU CỦA NHÓM GLYCOALCALOID CHIẾT TỪ THÂN VÀ LÁ CÀ GAI LEO (*Solanum procumbens* Lour.) Solanaceae

Âu Vân Yên, Nguyễn Thị Dung,
Đoàn Thị Nhu, Phạm Kim Mãn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thấp khớp là một bệnh khá phổ biến, do nhiều tác nhân gây ra và cũng đã có nhiều loại thuốc dùng để điều trị. Theo y học cổ truyền, có nhiều bài thuốc chữa thấp khớp có kết hợp nhiều dược liệu trong đó có cà gai leo. Cà gai leo có tác dụng trừ phong thấp, tiêu độc, trừ ho, cầm máu, giảm đau. Đoàn Thị Nhu và cộng sự (1,2) đã chứng minh cà gai leo có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù thực nghiệm bằng carragenin, chống viêm mãn trên mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng amian trên chuột cống trắng, đồng thời gây thu teo tuyến ức trên chuột cống non. Ngoài ra, còn có những công trình nghiên cứu khác (3,4,5,6,7) chứng minh cà gai leo có tác dụng chống viêm, giảm đau, giảm sự phát triển của quá trình xơ trong xơ gan thực nghiệm trên chuột.

Trong thông báo số 1 (8), chúng tôi đã xác định sự có mặt của nhóm glycoalcaloid trong dược liệu và để làm sáng tỏ hoạt tính sinh học của cây cà gai leo ở nhóm chất nào chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu tác dụng chống viêm mãn và giảm đau của nhóm glycoalcaloid chiết từ cây cà gai leo.

II. PHƯƠNG PHÁP

1. Tác dụng giảm đau của nhóm glycoalcaloid

Tác dụng giảm đau được tiến hành trên mô hình gây đau bằng acid acetic 0,6% tiêm phúc mạc ở chuột sẽ xuất hiện những cơn quặn đau biểu hiện như quặn bụng, sát bụng xuống sàn. Đếm số cơn quặn đau trong 5 phút một và so sánh kết quả giữa lô đối chứng và lô thử thuốc. Chuột được chia thành 3 lô: 1 lô đối chứng và 2 lô thuốc với liều khác nhau. Thuốc được tiến dưới da với kết quả được trình bày ở bảng 1.

***Bảng 1.* Tác dụng giảm đau của glycoalcaloid**

TT	*Tên thuốc*	*Liều dùng*	*Số lượng chuột*	*Số lần chuột quặn đau*	*Tỷ lệ giảm đau (%)*	*P*
1	Chứng	Tiêm nước muối sinh lý	6	50,3 ± 2,5		
2	Glycoalcaloid cà gai leo	2mg/kg (tương ứng 15g/kg DL.)	6	27 ± 1,6	46,3	< 0,05
3	Glycoalcaloid cà gai leo	4mg/kg (tương ứng 30g/kg DL.)	6	26,8 ± 3	46,7	< 0,05

Qua các kết quả thí nghiệm trên, ta thấy glycoalcaloid của cà gai leo có tác dụng giảm đau khá mạnh. Với liều 2mg/kg chuột nhắt có tác dụng giảm đau rõ rệt. Song khi tăng liều gấp đôi (4mg/kg) tác dụng giảm đau tăng không đáng kể.

2. Tác dụng chống viêm mãn

Thí nghiệm được tiến hành trên mô hình thực nghiệm gây u hạt trên chuột cống trắng. Chuột cống trắng nặng 120-140g. Viên amian 30mg vê tròn, tiệt trùng ở $t^0 = 160^0$ trong 2 giờ. Dụng cụ mổ được tiệt trùng và trong khi thí nghiệm được ngâm trong cồn bảo đảm tiệt trùng tốt.

Chuột được mổ và cấy dưới da vùng lưng viên amian và chia thành các lô chứng và thuốc.

Hàng ngày cho thuốc bằng đường tiêm trong 5 ngày. Chiều ngày thứ 5 giết chuột, bóc tách u hạt, cân tươi.

So sánh kết quả giữa lô đối chứng và lô thử thuốc.

Trong thí nghiệm này so sánh tác dụng giữa lô glycoalcaloid và cao cồn 40^0 để xác định glycoalcaloid chính là hoạt chất có tác dụng chính của cà gai leo. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

***Bảng 2.* Tác dụng chống viêm mãn của glycoalcaloid cà gai leo và so sánh kết quả với tác dụng của cao cồn 40^0**

TT	*Các lô thí nghiệm*	*Liều qui ra DL (g/kg)*	*Số chuột trong 1 lô*	*Trọng lượng TB u hạt (mg)*	*Tỷ lệ giảm u hạt (%)*	*P*
1	Đối chứng (NaCl 0,9%)		18	215 ± 18		
2	Cao cồn 40^0 cà gai leo	15	05	126 ± 9	42,2	< 0,05
3	Glycoalcaloid cà gai leo	15	18	131 ± 18	39,0	< 0,05

Kết quả ở bảng trên cho thấy glycoalcaloid có tác dụng chống viêm mãn tương đương với tác dụng chống viêm mãn của cao cồn toàn phần 40^0. Như vậy, glycoalcaloid là hoạt chất chính của cà gai leo.

III. KẾT LUẬN

1. Tác dụng chống viêm mãn trên chuột cống trắng của cà gai leo chủ yếu là do tác dụng của glycoalcaloid.

2. Tác dụng giảm đau của nhóm glycoalcaloid tương đối mạnh. Với liều 15g dược liệu / 1kg chuột (liều tương đương tính từ glycoalcaloid ra g dược liệu) trên mô hình gây đau bằng acid acetic 0,6%.

3. Qua các kết quả thí nghiệm trên, có thể khẳng định glycoalcaloid chính là hoạt chất của cà gai leo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đoàn Thị Nhu, Trần Xuân Phi, Đỗ Ngọc Quyên, 1974.*
Bước đầu nghiên cứu tác dụng bảo vệ của rễ cà gai leo chống độc lực của nọc rắn. Viện Dược liệu.

2. *Đoàn Thị Nhu, Đỗ Kim Chi, 1978.*
Thông báo dược liệu Viện dược liệu, 1978 (số 3) 107-115.

3. *Đỗ Huy Bích, Bùi Xuân Chương, 1980.*
Sổ tay cây thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 79.

4. *Nguyễn Xuân Huyên, Đặng Hùng Sơn, Đỗ Nguyệt, Trần Thuý, Vương Anh Dũng, Phạm Duy Nhạc, Trần Thị Luật và cộng sự, 1986.*
Công trình nghiên cứu khoa học 1972-1986. Viện Dược liệu, NXB Y học, Hà Nội, 159-160.

5. *Nguyễn Minh Khai, Đặng Hạnh Phước, Lê Thị Vinh, Nguyễn Phúc Cương, 1986.*
Công trình nghiên cứu khoa học y dược 1985. NXB Y học, Hà Nội, 158.

6. *Nguyễn Minh Khai, Nguyễn Bích Thu, Phạm Kim Mãn, Nguyễn Phúc Cương, 1994.*
Tạp chí Dược liệu, tập 26, số 2, 45-46.

7. *Lê Khánh Trai, Nguyễn Tuấn Khanh, Nguyễn Văn Thái, 1983.*
Công trình nghiên cứu khoa học y dược 1983. NXB Y học, Hà Nội, 159.

8. *Đỗ Viết Trung, Đinh Thị Thuyết, Lê Mi, Nguyễn Hoàng Anh, Nguyễn Văn Bàn, Nguyễn Đình Chúc.*
Công trình nghiên cứu khoa học 1972-1986. Viện Dược liệu. NXB Y học.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG TRÊN COLAGENASE CỦA CÀ GAI LEO (*Solanum hainanence* Hance., Solanaceae)

Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Minh Khai,
Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Colagenase là một enzym có tác dụng đặc hiệu trên colagen. Trong quá trình viêm như viêm khớp, răng lợi, làm thoái hoá tổ chức colagen có sự tham gia của enzym này (1). Trong trường hợp bệnh lý như xơ gan, xơ phổi...có sự tăng tích tụ colagen ở các tổ chức, quá trình này rất cần sự phân giải colagen, giảm quá trình tăng tổng hợp colagen, giảm mức độ xơ...

Những chất có tác dụng lên colagenase đồng thời cũng có ảnh hưởng đến quá trình rối loạn bệnh lý colagen.

Cà gai leo có tác dụng chống viêm, có khả năng ức chế sinh tổng hợp colagen. Việc nghiên cứu tác dụng của cà gai leo lên colagenase phần nào làm sáng tỏ hơn tác dụng của thuốc đối với bệnh viêm xơ gan.

II. NHỮNG KẾT QUẢ CHÍNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

- Nghiên cứu tác dụng của một số dạng chiết từ cà gai leo lên colagenase tinh khiết. Xác định hàm lượng colagenase theo phương pháp của Berman (2),(3).

-Kết quả cả hai dạng chiết toàn phần và glycoalcaloid đều ức chế colagenase, ở nồng độ pha tỉ lệ 1/2 ức chế được 40%; ở nồng độ pha loãng (1/10- 1/ 12) có sự hoạt hoá enzym này.

-Các phân đoạn chiết từ cà gai leo n-hexan, cloroform, etylacetat, butanol và nước đều có tác dụng nhưng phân đoạn chiết bằng butanol có tác dụng chất ức chế enzym mạnh nhất. Theo kết quả phân tích hoá học thì phân đoạn butanol chứa phần lớn nhóm hoạt chất glycoalcaloid.

III. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

Cà gai leo tác dụng trên colagenase rõ rệt. Tác dụng này chứng tỏ thuốc có vai trò trong chuyển hoá colagen. Tác dụng ức chế colagenase góp một phần quan trọng trong điều trị của cà gai leo đối với các bệnh như viêm khớp, viêm răng lợi...(những tổ chức chứa nhiều colagen, khi bị viêm colagenase sẽ được hoạt hoá làm phân hủy tổ chức bệnh lý này).

Cà gai leo có tác dụng chống viêm, đồng thời có khả năng ức chế sự tiến triển của xơ. Tác dụng ngăn chặn sự tiến triển của xơ có thể do thuốc vừa có tác dụng ức chế sinh tổng hợp colagen lại vừa có vai trò kích hoạt colagenase làm hoạt hoá enzym này phân giải colagen làm giảm xơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *P. Bornstein, 1980.*
Disorders of colagen metabolism, 3rd edition, London.

2. *M. B. Berman, 1973.*
Tissue collagenase, simplified, semiquantitative enzyme assay, Analytical Biochemistry, 54, 522-34.

3. *Nguyễn Minh Khai, 1991.*
Luận án phó tiến sĩ Dược học,Trường Đại học Dược Hà Nội.

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HOÁ CỦA CÀ GAI LEO (*Solanum hainanense* Hance., Solanaceae)

Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Minh Khai, Đỗ Thị Phương và cộng sự

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, vấn đề gốc tự do và các chứng bệnh gây ra do quá trình peroxi hóa lipid gia tăng như lão hoá, viêm hoại tử tế bào, ung thư... được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm.

Cà gai leo đã được nghiên cứu và chứng minh có tác dụng chống viêm, ức chế sự phát triển xơ gan... Chúng tôi khảo sát tác dụng chống oxi hoá của cà gai leo nhằm giải thích phần nào cơ chế tác dụng chống viêm, bảo vệ gan của cà gai leo.

II. NHỮNG KẾT QUẢ CHÍNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

- Xác định hoạt tính chống oxy hoá (HTCO) *in vitro* của dịch chiết toàn phần, và dịch chiết glycoalkaloid toàn phần của cà gai leo theo phương pháp của Blagodarov.

- Xác định HTCO *in vivo* của hai chế phẩm HAINA I và HAINA II theo phương pháp Shibayama 1989, Yoshika và cộng sự 1991.

III. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

1. Kết quả khảo sát sơ bộ của dịch chiết cà gai leo trên *in vitro*:

-Dịch chiết toàn phần có HTCO mạnh ở hầu hết các nồng độ, trong đó nồng độ 1/10; 1/16 và 1/20 có tác dụng mạnh hơn theo thứ tự là 71,6 ; 72, 69; 69,11%.

-Dịch chiết glycoalcaloid có HTCO mạnh nhất ở nồng độ 1/1 (29,0 %), các nồng độ khác chưa thấy tác dụng rõ rệt.

2. HTCO *in vivo* của 2 chế phẩm HAINA I và HAINA II:

Kết quả cho thấy HAINA I, HAINA II đều tác dụng chống oxy hoá có ý nghĩa tương ứng là 47,5% và 38,1%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đàm Trung Bảo, Nguyễn Quang Thường, 1995.*

Một số kết quả của phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa trong nghiên cứu thuốc, Báo cáo nghiệm thu đề tài cấp bộ, Bộ ytế, trường Đại học Dược Hà Nội.

2. *Trần Vân Hiền, Tạ Thị Phòng và CS., 1997.*

Tác dụng bảo vệ gan của flavonoid chiết từ vỏ đậu xanh, Tạp chí Dược liệu, tập 2, số 4/1997.

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG GLYCOALKALOID TRONG CÀ GAI LEO (*Solanum hainanense* Hance.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ACID MÀU

Nguyễn Bích Thu, Phạm Kim Mãn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phương pháp định lượng các bazơ hữu cơ bằng acid màu đã được nghiên cứu và áp dụng nhiều trên thế giới và ở Việt Nam (1, 2,4,5,7).

Glycoalcaloid là thành phần chính trong chi *Solanum* được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm: chiết tách, định tính, định lượng... Cho tới nay, nhiều phương pháp định lượng solasodin và glycoalcaloid đã được công bố (4, 5, 6, 7, 8). Chúng tôi giới thiệu phương pháp định lượng trực tiếp glycoalcaloid toàn phần trong cây cà gai leo (*Solanum hainanense* Hance.) bằng bromothymol xanh.

II. NHỮNG ĐIỂM CHÍNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

- Khảo sát các yếu tố pH đệm, dung môi chiết, nồng độ acid màu BTX, thời gian phản ứng và số lần chiết ảnh hưởng đến phương pháp định lượng solasodin chuẩn.

-Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến phương pháp định lượng glycalkaloid trong dược liệu cà gai leo.

-Xác định độ lặp lại của phương pháp:

-Xác định độ đúng của phương pháp: Dùng phương pháp cho thêm.

-So sánh kết quả định lượng glycoalcaloid trong một số mẫu cà gai leo bằng phương pháp acid màu và phương pháp acid bazơ.

III. BIỆN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

1. Áp dụng phương pháp định lượng bazơ hữu cơ bằng acid màu, chúng tôi đã xây dựng phương pháp định lượng glycoalcaloid toàn phần trong dược liệu cà gai leo (*Solanum hainanense* Hance., Solanaceae) bằng bromothymol xanh.

2. Phương pháp có độ đúng, độ lặp lại cao và có khoảng tuyến tính thích hợp cho việc áp dụng với các dược liệu chi *Solanum* và các dạng chế phẩm có hàm lượng glycoalcaloid toàn phần thấp (dưới 1%). Lượng mẫu sử dụng ít và thời gian xử lý mẫu nhanh. Chỉ cần 2g dược liệu/mẫu và sau 4h là có kết quả. Còn phương pháp acid - bazơ cần 10g dược liệu/mẫu và mất 2 ngày.

3. Có thể áp dụng phương pháp này trong việc xây dựng tiêu chuẩn dược liệu cà gai leo và các bán thành phẩm, thành phẩm của nó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Kim Cẩn và cộng sự, 1988.*
Thông báo dược liệu số 4(20), 6-12.

2. *Đặng Văn Hoà, 1998.*
Định lượng bazơ hữu cơ bằng phương pháp acid màu, 1-18.

3. *Viện Dược liệu, 1980.*
Phương pháp định lượng solasodin trong *Solanum* của Viện VILL (Nga), tài liệu đánh máy của Viện Dược liệu.

4. *E. Balcar, M. Zalecka, 1962.*
Biul.Inst.Roslin Leczniczyh 8, 90-97.

5. *J. Birnerm, 1969.*
J.Pharm. Sci.,58, 258.

6. R. Carle, E. Reinhard, Planta Medica 38, 1980, 381 - 383.

7. *S. M.Khazagy, S.W. Amin, R. Hassamin, 1972.*
Planta Medica 21, 139 - 141.

8. *J.E. Lancaster, J. D. Mann, 1975.*
N.Z.J. Agric. Res.18, 139 - 144.

NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ THUỐC HAINA ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN B MẠN HOẠT ĐỘNG TỪ CÀ GAI LEO (*Solanum hainanense* Hance., Solanaceae)

Nguyễn Minh Khai, Phạm Kim Mãn,
Nguyễn Bích Thu, Vũ Kim Thu,
Phạm Thanh Trúc, Lã Kim Oanh
Nguyễn Văn Mùi[1], Trịnh Thị Xuân Hoà[1],
Nguyễn Anh Tuấn[1], Nguyễn Đình Mão[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cà gai leo là cây thuốc được nhân dân sử dụng chống viêm, chữa bệnh phong thấp, đau nhức răng, dị ứng, rắn cắn... Chúng tôi đã nghiên cứu, chứng minh cà gai leo có tác dụng chống viêm, ngăn chặn sự tiến triển xơ gan. Chúng tôi cũng nghiên cứu chiết tách dạng cao toàn phần và bộ phận hoạt chất chính glycoalcaloid của cà gai leo và chứng minh cả hai đều có tác dụng chống viêm, ức chế xơ gan và tác dụng chống oxi hoá [1,2,3].

Để tạo một sản phẩm Haina đạt tiêu chuẩn và ổn định, chúng tôi đã nghiên cứu quy trình chiết xuất bán thành phẩm và quy trình bào chế Haina. Các sản phẩm trên đã được xây dựng tiêu chuẩn cơ sở. Thuốc Haina đã được nghiên cứu trên bệnh nhân viêm gan B mạn hoạt động (VGBMHĐ).

II. TÓM TẮT NHỮNG KẾT QUẢ CHÍNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

1. Nghiên cứu đều chế thuốc Haina I

I) Nghiên cứu quy trình chiết xuất bán thành phẩm Haina

- Xây dựng quy trình chiết cao toàn phần: chế tạo được sản phẩm cao khô đạt tiêu chuẩn cơ sở có hàm lượng glycoalcaloid toàn phần trong chế phẩm khan tính theo solasodin không thấp hơn 1% (sản phẩm cao khô này để bào chế viên nén bao phim Haina I).

---

[1] Học viện Quân y 103.

- Xây dựng quy trình chiết bộ phận hoạt chất chính là glycoalcaloid, tạo được bột khô. Bột này có hàm lượng glycoalcaloid gấp 6 lần so với cao toàn phần (sản phẩm này để bào chế viên nang Haina II).

2) Quy trình sản xuất thuốc Haina I, Haina II

- Điều chế được sản phẩm Haina I dạng bao phim đạt tiêu chuẩn cơ sở có hàm lượng glycoalcaloid toàn phần trong mỗi viên từ 2,125mg đến 2,875mg.

- Điều chế được sản phẩm Haina II dạng viên nang có hàm lượng glycoalcaloid toàn phần trong mỗi viên là 7,5mg.

3) Xây dựng tiêu chuẩn

Đã xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của dược liệu cà gai leo, bán thành phẩm, thuốc Haina I và theo dõi tuổi thọ của thuốc.

2. Thử tác dụng lâm sàng trên bệnh nhân viêm gan B mạn hoạt động (VGBMHĐ) [4,5,6]

1) Đánh giá tác dụng của HAINA I

- Thuốc được điều trị trên hai nhóm nghiên cứu (60 bệnh nhân viêm gan B mạn hoạt động) không có sự khác nhau có ý nghĩa (P >0,05) về giới, tuổi và cân nặng.

- Điều trị thuốc HAINA I (0,25gam/viên) với liều uống 6 viên/ngày, trong 2 tháng ở 60 bệnh nhân viêm gan B mạn hoạt động được chia thành hai nhóm: nhóm I uống viên Haina, nhóm II uống viên placebo (nhóm chứng). Haina so sánh với chứng có tác dụng giảm nhanh các triệu trứng lâm sàng (mệt mỏi, đau tức hạ sườn phải, nước tiểu vàng, da-niêm mạc vàng, gan to...) (P < 0,05); transaminase và bilirubin về bình thường nhanh hơn (P < 0,05) ; tổn thương GPBL giảm rõ rệt ở khoảng cửa (P < 0,01). Trên hình ảnh siêu cấu trúc gan cũng thấy sự hồi phục rõ rệt của các bào quan, nhân và màng tế bào gan (P < 0,01). Những biến đổi về các Marker của virut viêm gan B là rõ rệt : 23,3% bệnh nhân mất HBsAg và 44% bệnh nhân xuất hiện anti-HBe. So với nhóm chứng những biến đổi này có ý nghĩa thống kê với P < 0,05.

2) Sơ bộ đánh giá tác dụng của thuốc HAINA II

Điều trị bằng thuốc HAINA II với liều 2 viên/ngày x 60 ngày trên 5 bệnh nhân.

Kết quả theo dõi các chỉ tiêu lâm sàng, sinh hoá, marker, mô bệnh học (như đối với bệnh nhân được dùng HAINA I) và thấy hiệu quả điều trị tương tự HAINA I.

Biến đổi của các marker HBV chưa thấy có thay đổi rõ rệt sau điều trị. Tuy vậy, cần nghiên cứu với số lượng bệnh nhân lớn hơn.

3) Theo dõi tác dụng phụ của thuốc

Không thấy có tác dụng ngoại ý của thuốc trên lâm sàng và xét nghiệm.

III. THẢO LUẬN VÀ KẾT LUẬN

1. Điều trị thuốc HAINA I (0,25gam/viên) với liều uống 6 viên/ngày, trong 2 tháng ở bệnh nhân VGBMHĐ có tác dụng giảm nhanh các triệu trứng lâm sàng, transaminase và bilirubin về bình thường nhanh hơn, tổn thương GPBL giảm rõ rệt ở khoảng cửa, hồi phục rõ rệt của các bào quan, nhân và màng tế bào gan, những biến đổi về các Marker của virut viêm gan B là rõ rệt.

Kết quả điều trị ở nhóm Haina là tốt rõ rệt, đa số bệnh nhân đạt mức rất tốt và tốt (66,7%). Ngược lại ở nhóm chứng (placebo) 30 bệnh nhân thì hầu hết ở mức độ đạt trung bình và kém (93,3%).

2. Thuốc HAINA 2 có tác dụng điều trị gần giống HAINA I, nhưng cần phải được nghiên cứu với số lượng lớn hơn.

3. Thuốc không gây tác dụng ngoại ý nào trên lâm sàng và xét nghiệm.

Kết quả nghiên cứu mô hình gây xơ gan ở giai đoạn sớm cho uống thuốc cà gai leo đã ngăn chặn sự tiến triển của xơ gan ở giai đoạn sớm này cả về mặt số lượng, chất lượng và tổn thương tế bào gan. Điều này phù hợp với những công trình nghiên cứu sinh tổng hợp colagen của Galligani và cộng sự [7]: xơ giai đoạn sớm có thể phục hồi được, còn trái lại ở giai đoạn muộn thì xơ là không thuận nghịch. Vì vậy, chúng tôi hướng cà gai leo vào điều trị bệnh VGMHĐ là giai đoạn sớm của quá trình tiến tới xơ gan, và đã chứng minh được sự hạn chế tiến triển của xơ gan bệnh lý này trên bệnh nhân VGBMHĐ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Minh Khai, Nguyễn Bích Thu, Phạm Kim Mãn, Nguyễn Phúc Cương, 1996.* Etude de l'action anti-cirrhotique des glycoalkaloides extraits du *Solanum hainanence* Hance., Solanaceae sur la cirrhose experimentale, Revue pharmaceutique Numéro 1-1996.

2. *Âu Văn Yên, Nguyễn Thị Dung, Đoàn Thị Nhu, Phạm Kim Mãn, 1998.* Nghiên cứu tác dụng chống viêm và tác dụng giảm đau của nhóm glycoalcaloid chiết từ thân và lá cà gai leo, Tạp chí dược liệu tập 3. Số 2 - 1998.

3. *Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Minh Khai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, 2000.* Nghiên cứu tác dụng trên colagenase của cà gai leo (*Solanum hainanense* Hance., Solanaceae), Tạp chí dược liệu, tập 5, số 5/2000.

4. *De Groote J., et al, 1968.* Proceedings of the third meeting of European association for study of the liver. Modena Italy and lancel, 2, 626.

5. *Dienstag J.L., Iselbacher K., 1994.* Chronichepatitis, Harrisons, vol 2, 13th edition.

6. *Hoofnagle J.H., DiBisceglie A.M., 1997.* The treatment of chronic hepatitis B, Hepatitis World, June, 2-1997,2

7. *Galligani L., 1979.* Biomedicin, vol.7, 31.

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *in vitro* CÂY CÀ GAI LEO

Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Chinh,
Tạ Như Thục Anh, Nguyễn Trần Hy,
Đỗ Năng Vịnh[1]

I. MỞ ĐẦU

Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour., Solanaceae, syn: *Solanum hainanense* Hance) là một cây thuốc dân gian của Việt Nam, có tác dụng chữa các bệnh về gan (Nguyễn Minh Khai et al, 1.996), chống ung thư (Phạm Kim Mãn et al, 1998), chống siêu vi trùng viêm gan B và phòng ngừa nhiễm độc TNT (Nguyễn Phúc Thái, 1997; Trịnh Thị Xuân Hoà, 1998)

Từ trước tới nay, cà gai leo mới chỉ được khai thác từ nguồn hoang dại. Muốn đưa cà gai leo vào trồng trọt trước hết phải xây dựng được quy trình nhân giống thích hợp.

Hiện tại, cà gai leo tuy có thể nhân giống bằng hạt hoặc bằng cành, nhưng cả hai phương pháp này đều cho hệ số nhân thấp và phụ thuộc mùa vụ (cây có rất ít quả; quả nhỏ, ít hạt). Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành đề tài "Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* cây cà gai leo".

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Giống cà gai leo đưa vào nuôi cấy do đề tài cấp nhà nước KHCN 11-05-02-03 (Viện Dược liệu chủ trì) cung cấp. Thân non cà gai leo được rửa sạch, khử trùng bề mặt bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 8 phút, tráng lại nhiều lần bằng nước cất vô trùng và cắt thành các lát cắt đốt thân dài 1-1,5 cm, chứa một mắt ngủ ở nách lá. Các lát cắt này được nuôi cấy trong môi trường MS_2 (Murashige & Skoog, 1962, có cải tiến) được bổ sung các chất điều hoà sinh trưởng ở những nồng độ khác nhau, chỉnh pH tới 5,8 và hấp dưới áp suất 0,8 kg/cm^2 trong 40 phút. Phòng nuôi được giữ ở nhiệt độ 25°C ± 2, cường độ ánh sáng: 2000 lux, độ ẩm 70% và thời gian chiếu sáng: 14 giờ sáng/10 giờ tối.

---

[1] Viện Di truyền nông nghiệp.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng đến phát sinh hình thái của đốt thân cà gai leo *in vivo*

Lát cắt đốt thân lấy từ cây *in vivo* cấy vào môi trường MS_2 có bổ sung benzylaminopurin (BAP) và acid indolbutyric (IBA) ở các nồng độ khác nhau tái sinh mạnh nhất trên môi trường MS_2 + 0,5 mg/l IBA. Tuy nhiên, mỗi lát cắt chỉ mọc ra 1 mầm, mầm sinh trưởng chậm, số rễ ít, ngắn. Sau 2 tháng nuôi cấy, cây con (tuy có đủ các bộ phận) không dài quá 3 cm.

Có thể nghiên cứu thay đổi, bổ sung các thành phần của môi trường hoặc chọn bộ phận thích hợp từ cây *in vitro* sơ cấp nuôi cấy tiếp để khắc phục hiện tượng này. Chúng tôi đã chọn giải pháp thứ hai vì có tính khả thi hơn.

2. Sự phát sinh hình thái của lát cắt rễ và lát cắt đốt thân cây *in vitro* sơ cấp

Lát cắt rễ và lát cắt đốt thân của cây *in vitro* sơ cấp được cấy trong môi trường MS_2 + 0,5 ng/l IBA. Rễ cà gai leo nuôi liên tục ngay từ khi mới cấy trong điều kiện chiếu sáng phát triển rất chậm, vì vậy, chúng đã được nuôi trong tối hoàn toàn và sau 20 ngày mới chuyển ra nuôi trong điều kiện chiếu sáng tiêu chuẩn. Sau khi chuyển ra ánh sáng, mô sẹo của lát cắt rễ bắt đầu chuyển sang màu xanh và hình thành cụm chồi.

Các cụm chồi này tuy phát triển khá hơn so với cây tái sinh từ lát cắt đốt thân, nhưng vẫn còn chậm. Sau 2 tháng nuôi cấy, chiều cao không vượt quá 3,5 cm, tốc độ sinh trưởng có chiều hướng dừng lại. Các mầm này được tách khỏi cụm chồi và cấy truyền sang môi trường mới. Kết quả: mầm phát triển rất nhanh thành những cây con hoàn chỉnh, cao 10-12 cm sau 2 tháng.

Những cây con này hoàn toàn có thể chuyển ra khỏi ống nghiệm để trồng trong bầu đất. Trong khi cây con tái sinh từ lát cắt đốt thân của cây *in vitro* sơ cấp chỉ cao trên dưới 3 cm.

Như vậy, thông qua con đường tái sinh rễ của cây *in vitro* sơ cấp có thể thu được cây con với chất lượng cao hơn so với cây con tái sinh từ lát cắt đốt thân. Tuy nhiên, việc sử dụng đốt thân tiện lợi hơn nhiều vì đơn giản được khâu tách mầm từ cụm chồi và cấy truyền. Liệu có thể sử dụng đốt thân của 2 loại cây con *in vitro* thứ cấp này (một loại có nguồn gốc từ thân và một loại có nguồn gốc từ rễ *in vitro* sơ cấp) để tiếp tục nhân hay vẫn phải thông qua nuôi cấy rễ? Để trả lời câu hỏi này, chúng tôi đã tiếp tục tiến hành thí nghiệm sau đây.

3. Sự phát sinh hình thái của lát cắt đốt thân của cây *in vitro* thứ cấp có nguồn gốc từ thân và từ rễ của cây *in vitro* sơ cấp

Lát cắt đốt thân của 2 loại cây *in vitro* nói trên được cấy trong môi trường BM+0,5 mg/l IBA. Kết quả cho thấy:

Cả 2 loại đốt thân đều dễ dàng tái sinh thành cây con hoàn chỉnh (có đủ thân, rễ, lá).

Sinh trưởng của cây con tam cấp có nguồn gốc từ thân sơ cấp đã được cải thiện nhưng vẫn chậm hơn nhiều so với cây con tái sinh từ rễ (chỉ cao khoảng 4 cm sau 60 ngày).

Cây con tam cấp có nguồn gốc từ rễ vẫn duy trì được khả năng sinh trưởng nhanh như cây con thứ cấp (cao 11-13 cm sau 60 ngày).

Khả năng tái sinh trực tiếp của lát cắt đốt thân từ cây *in vivo* dần dần được nâng cao qua một số lần cấy truyền liên tục. Nhưng kết hợp với con đường tái sinh gián tiếp hạn chế (thông qua mô sẹo) có thể nhanh chóng cải thiện được khả năng này. Cây con thu được sau 1 lần kết hợp đạt đến 11-13 cm, có 4-5 lá thật trong vòng 2 tháng và có thể sử dụng chúng để tiếp tục nhân theo con đường tái sinh trực tiếp bình thường. Như vậy, nếu tính từ đây thì trung bình, mỗi năm có thể thu được ít nhất 4^6 cây con *in vitro* từ 1 lát cắt ban đầu.

4. Nghiên cứu chuyển cây con từ ống nghiệm ra bầu

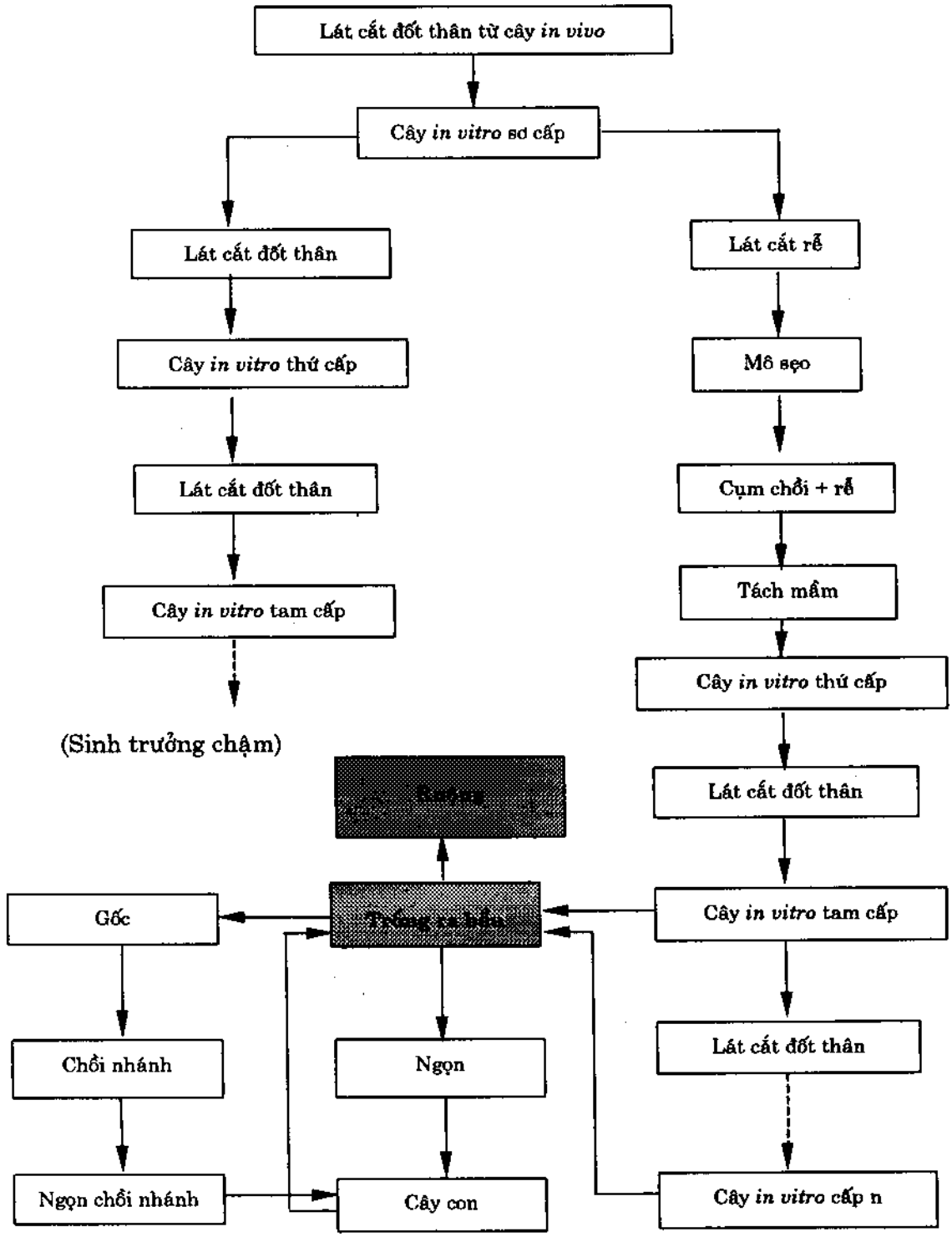
Cây con sau khi lấy ra khỏi ống nghiệm được rửa sạch khỏi môi trường dinh dưỡng, cắt bỏ lá dưới gốc rồi cấy vào bầu đất và đặt vào buồng phun mù với chế độ phun 15 phút trong 2 giờ. Sau 10 ngày, 100% số cây con đã ra rễ mới, có thể thích nghi với môi trường và được trồng ra điều kiện tự nhiên.

5. Nghiên cứu nhân nhanh sau ống nghiệm bằng phương pháp giâm cành

Ngọn chứa 2-3 đốt của cây *in vitro* sau khi đã trồng trong bầu 15-20 ngày được cắt, giâm trong cát ẩm và đặt trong buồng phun mù như đã nói ở trên. Chỉ sau 7 ngày, cả lô không xử lý và lô xử lý với dung dịch 1 mg/ml IBA bằng cách "nhúng nhanh" đều ra rễ. Tuy nhiên, xử lý bằng IBA cho kết quả tốt hơn: rễ ra nhiều, dài và mập hơn so với không xử lý.

Phần gốc cây còn lại tiếp tục ra chồi mới và lại có thể sử dụng những chồi này để giâm tiếp.

Toàn bộ quy trình nhân nhanh cà gai leo trình bày trên đây có thể được tóm tắt trong sơ đồ sau đây:



IV. KẾT LUẬN

Môi trường MS_2 + 0,5 mg/l IBA là môi trường phù hợp cho cả quá trình phát sinh hình thái cũng như sinh trưởng phát triển của đốt thân, lát cắt rễ, mô sẹo và cây con *in vitro*.

- Cà gai leo tái sinh chậm nếu chỉ dùng phương pháp tái sinh trực tiếp liên tục, mà phải qua một bước tái sinh cụm chồi từ mô sẹo sơ cấp của rễ *in vitro*.

- Cây con có thể được huấn luyện trước khi trồng ra ruộng bằng cách nuôi trong bầu đất đặt trong điều kiện phun mù với chế độ 15 phút/2 giờ trong vòng 10 ngày.

- Cây sau *in vitro* dễ dàng có thể nhân giống tiếp bằng phương pháp ngắt ngọn/ chồi và xử lý nhanh trong dung dịch 1mg/ml IBA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Minh Khai et al., 1996.*
Revue Pharmaceutique, 1, 1-3, 1996.

2. *Phạm Kim Mãn et al., 1998.*
Tạp chí Dược liệu, số 4, 1998.

3. *Murashige, T., Skoog, F. Physiol, 1962.*
Plant. 15, 473-497.

4. *Narayanaswamy, S. 1977.*
In Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Cultures. Eds. J. Reinert and Y.S.P Bajaj. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 179-245.

5. *Nguyễn Phúc Thái, 1997.*
Luận án tiến sỹ y học.

6. *Trịnh Thị Xuân Hoà, 1998.*
Luận án tiến sỹ y học.

ĐỊNH LƯỢNG CAFEIN TRONG CHÈ BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ TỬ NGOẠI

Nguyễn Kim Cẩn, Đào Xuân Thạnh

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phương pháp định lượng cafein không nhiều. Trong Dược điển Liên Xô người ta định lượng cafein bằng phương pháp chuẩn độ acid-bazơ dùng tím tinh thể làm chỉ thị. Dược điển Mỹ dùng phương pháp chuẩn độ điện thế. Dược điển Rumania định lượng bằng phương pháp chuẩn độ iod. Rất ít phương pháp nói về định lượng cafein trong nguyên liệu. Các nhà nông hoá đề nghị dùng phương pháp khối lượng là phương pháp chính thức định lượng cafein trong chè và cà phê.

Nhược điểm chính của phương pháp khối lượng là tốn thời gian đồng thời phải dùng một lượng mẫu lớn.

Trong báo cáo này chúng tôi giới thiệu kết quả khảo sát và xây dựng phương pháp định lượng cafein trong chè bằng phương pháp quang phổ tử ngoại với hy vọng phương pháp này được ứng dụng không cần phải sử dụng đến chất chuẩn.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ HOÁ CHẤT

1. Nguyên liệu chè : chè đen, chè Thái Nguyên, chè Lipton.
2. Cafein chuẩn : có điểm chảy chuẩn 237° C.
3. Thiết bị : Máy quang phổ tử ngoại - khả kiến Cary 1E.

III. PHƯƠNG PHÁP VÀ KẾT QUẢ

1. Xác định giá trị $E_{1cm}^{1\%}$ của cafein và hệ số hấp thụ phân tử của cafein.

Pha dung dịch cafein chuẩn trong ethanol có nồng độ 0,001% để khảo sát $E^{1\%}_{1cm}$ ở cực đại hấp thụ của cafein là 272nm. Dùng ethanol làm dung dịch so sánh và tìm được giá trị $E^{1\%}$ thực nghiệm của cafein là 528. Tương ứng với giá trị $E^{1\%} = 528$ ta có hệ số hấp thụ phân tử thực nghiệm $\varepsilon = 10243$.

Giá trị $E^{1\%}$ và giá trị ε thực nghiệm mà chúng tôi tìm được phù hợp với những giá trị $E^{1\%}$ và ε đã công bố trong atlat phổ hấp thụ là $E^{1\%} = 515$ và $\varepsilon = 10000$.

Dựa vào nồng độ của cafein chuẩn, giá trị $E^{1\%}$ và hệ số hấp thụ phân tử của cafein ε chúng tôi đã xây dựng phương pháp định lượng cafein bằng phương pháp quang phổ tử ngoại với cách tính khác nhau thuận tiện không cần dùng đến chất chuẩn khi ứng dụng nó.

2. Định lượng cafein trong chè bằng phương pháp quang phổ tử ngoại

a) Dung dịch cafein chuẩn có nồng độ 0,001% trong ethanol.

b) Chuẩn bị dung dịch phân tích và phương pháp phân tích

Cafein tan trong nước, đặc biệt là nước nóng và nước sôi (1g cafein tan trong 1,5 ml nước sôi). Chúng tôi chiết cafein trong chè bằng nước đun sôi có mặt oxyd magie với ý đồ loại tạp và tạo môi trường. Dịch nước được acid hoá để tiếp tục loại tạp. Cuối cùng cafein được chuyển về dạng bazơ để xác định.

Hàm lượng cafein trong trường hợp tính theo nồng độ dung dịch chuẩn được tính theo công thức [1].

$$X = \frac{Dx.Cc.V.100.100.100}{Dc.a.V1(100-b).1000} = \frac{Dx.Cc.V.1000}{Dc.a.V1.(100-b)} \qquad [1]$$

Khi biết giá trị $E^{1\%}$ của cafein ở bước sóng 272 nm thì hàm lượng cafein trong nguyên liệu được tính theo công thức [2].

$$X = \frac{Dx.V.10.100}{528.a.V1(100-b)} = \frac{Dx.V.1000}{528.a.V1(100-b)} \qquad [2]$$

Hàm lượng của cafein trong mẫu cũng có thể tính theo hệ số hấp phụ phân tử ε của cafein theo công thức [3]

$$X = \frac{Dx.V.194.100}{10243.a.V1(100-b)} \qquad [3]$$

ở đây : Dx : Mật độ quang của dung dịch phân tích đã pha loãng.

Dc : Mật độ quang của dung dịch cafein chuẩn.

Cc : Nồng độ % của dung dịch cafein chuẩn.

V : Thể tích ban đầu của dung dịch phân tích (dung dịch A ml).

V_1 : Thể tích dung dịch lấy để pha loãng (ml).

a : Lượng cân nguyên liệu (g).

b : Độ ẩm nguyên liệu (%).

528 : Giá trị $E^{1\%}$ của cafein tìm được bằng thực nghiệm.

10243 : Hệ số hấp thụ phân tử thực nghiệm của cafein.

3. Kết quả áp dụng định lượng các mẫu chè

Chúng tôi áp dụng phương pháp trên để định lượng cafein trong các mẫu chè đen, chè Thái Nguyên và chè Lipton trong đó vận dụng các cách tính khác nhau đối với một mẫu để khẳng định phương pháp định lượng không cần đến cafein chuẩn.

Kết quả định lượng được ghi trong bảng :

Mẫu	*Hàm lượng cafein (%)*					*Đặc trưng toán học (n = 6)*
	Tính theo cafein chuẩn	*Tính theo $E^{1\%}$*		*Tính theo ε*		
		Tài liệu 515	*Thực nghiệm 528*	*Tài liệu 10000*	*Thực nghiệm 10243*	
Chè đen	2,92	2,98	2,92	2,98	2,92	$\bar{X}$ = 2,96
Chè Thái Nguyên	3,05	3,13	3,05	3,13	3,05	$S_{\bar{X}}$ =0,0087 $\varepsilon_{0,95}$=0,0214
Chè Lipton	2,77	2,84	2,77	2,84	2,77	$\varepsilon_{\%}$=0,72%

Từ kết quả ghi trong bảng cho thấy kết quả tính theo mẫu chuẩn (công thức 1); theo $E^{1\%}$ (công thức 2) hay theo ε (công thức 3) cho một giá tri và tương đương khi so với kết quả tính theo $E^{1\%}$ và ε đã công bố trong tài liệu.

Kết quả mở ra một hướng mới trong nghiên cứu phương pháp phân tích định lượng các chất bằng phương pháp quang phổ tử ngoại khi biết $E^{1\%}$ hay ε của chất đó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gasudarstvenaya Pharmacopoeia SSSR X Moscow. 1968,p.198

2. USP.1995,23,I. p.242.

3. Pharmacopoeia Rumania VIII.A. 1965.p.192

4 Official methods of analysis of the assocition of official agricultural chemistr. Eighth Edition, 1955, p.238-240.

5. *Dr. L. Lang, 1965.*
Absorption Spectra in the UV-VIS Region. Akadémiai Kiadó, Budapest. V.5. p. 363.

6. The Merck Index. tenth edition. 1983, p. 225.

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP CHIẾT XUẤT FLAVONOID TỪ CÂY CHÈ DÂY (*Ampelopsis cantiniensis* Planch)

Phạm Văn Thanh, Lê Tùng Châu,
Lê Minh Phương, Đào Hồng Vân,
Trương Vĩnh Phúc, Lã Kim Oanh

SUMMARY

Flavonoid is extracted from leaves, branches of Ampelopsis cantonensis Planch with alcohol solvent. Productivity of this method is 9 – 10% (In comparison with dried materia medica). Extracted Product with contain of flavonoid 85 – 90%, Thin chromatography with two main stains. The product is convenient for processing hard capsule or tablet.

Key-words: *Ampelopsis cantonensis Planch, flavanoid, extract, alcohol.*

*
* *

I. MỘT SỐ NÉT VỀ CÂY CHÈ DÂY

Cây chè dây có nhiều ở các tỉnh miền núi như: Lao Cai, Cao Bằng, Quảng Ninh, Ninh Bình, Bảo Lộc, Biên Hoà, Đồng Nai...

Cây chè dây thuộc loại dây leo có tua cuốn, tua cuốn chia 2, 3 nhánh mọc đối diện với lá. Lá kép lông chim, mọc so le, gồm 3 – 11 lá chét hình trứng, mặt dưới có những đốm sần trắng. Hoa mọc thành cụm hình sim hai ngả, mọc đối diện với lá. Hoa mẫu 5, nhỏ có cuống ngắn, cánh hoa rời nhau, đài có 5 cánh dính liền nhau. Nhị hoa nhỏ có bao phấn 2 ô, bao phấn hướng vào trong, chỉ nhị đính lưng. Nhụy hoa có bầu trên 2 lá noãn. Quả mọng, chín có màu đỏ. Hạt có vỏ cứng màu nâu đen.

Trong lá và cành chè dây có flavonoid, tanin, đường, acid hữu cơ, phytosterol và nhiều nguyên tố vi lượng như: Mn, Mg, Ca, S, Al, Cu, Fe, Ag, Ti. Đặc biệt hàm lượng flavonoid rất cao, khoảng 18%, tanin khoảng 13%.

Trong nước đã có một số công trình nghiên cứu về chè dây. Theo Phạm Thanh Kỳ và Phùng Thị Vinh, thành phần chính của flavonoid là myricetin và dihydromyricetin. Flavonoid của chè dây có tác dụng làm giảm acid của dịch vị, giảm đau, ức chế sự phát triển của một số vi khuẩn, làm giảm các ổ loét. Flavonoid còn có hoạt tính chống ôxi hoá cao và có khả năng giải độc theo cơ chế gốc tự do.

Chè dây không độc, một số Bệnh viện Y học dân tộc đã dùng chè dây để điều trị đau dạ dày có kết quả. Theo Vũ Nam và Hoàng Bảo Châu, chè dây có tác dụng điều trị bệnh nhân bị viêm loét dạ dày hành tá tràng có hiệu quả tốt. Nhân dân ở nhiều vùng đã dùng nước sắc hoặc nước hãm của chè dây làm nước uống hàng ngày.

II. NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT

Để có thể tạo ra các dạng bào chế bền, đẹp, có hiệu quả điều trị cao, mang tính chất của một dược phẩm hiện đại, đồng thời góp phần tạo ra thuốc từ nguồn dược liệu phong phú của đất nước phục vụ người bệnh. Viện Dược liệu đã tiến hành nghiên cứu phương pháp chiết xuất flavonoid từ lá, cành cây chè dây. Việc chiết xuất flavonoid có thể tiến hành theo nhiều phương pháp. Tuy nhiên phương pháp đã được xây dựng và giới thiệu trong bài này có ưu điểm là sản phẩm sạch, cách làm đơn giản, không tốn kém lắm.

1. Mô tả phương pháp

• Xử lý dược liệu: Lá, cành chè dây thu hái về cắt thành đoạn ngắn 0,5 – 1cm rồi phơi hay sấy khô.

• Chiết xuất: Nguyên liệu khô được chiết với cồn theo tỷ lệ 1 dược liệu 10 dung môi. Chiết 2 lần, dịch chiết được thu hồi dung môi đến đậm đặc.

• Tinh chế:

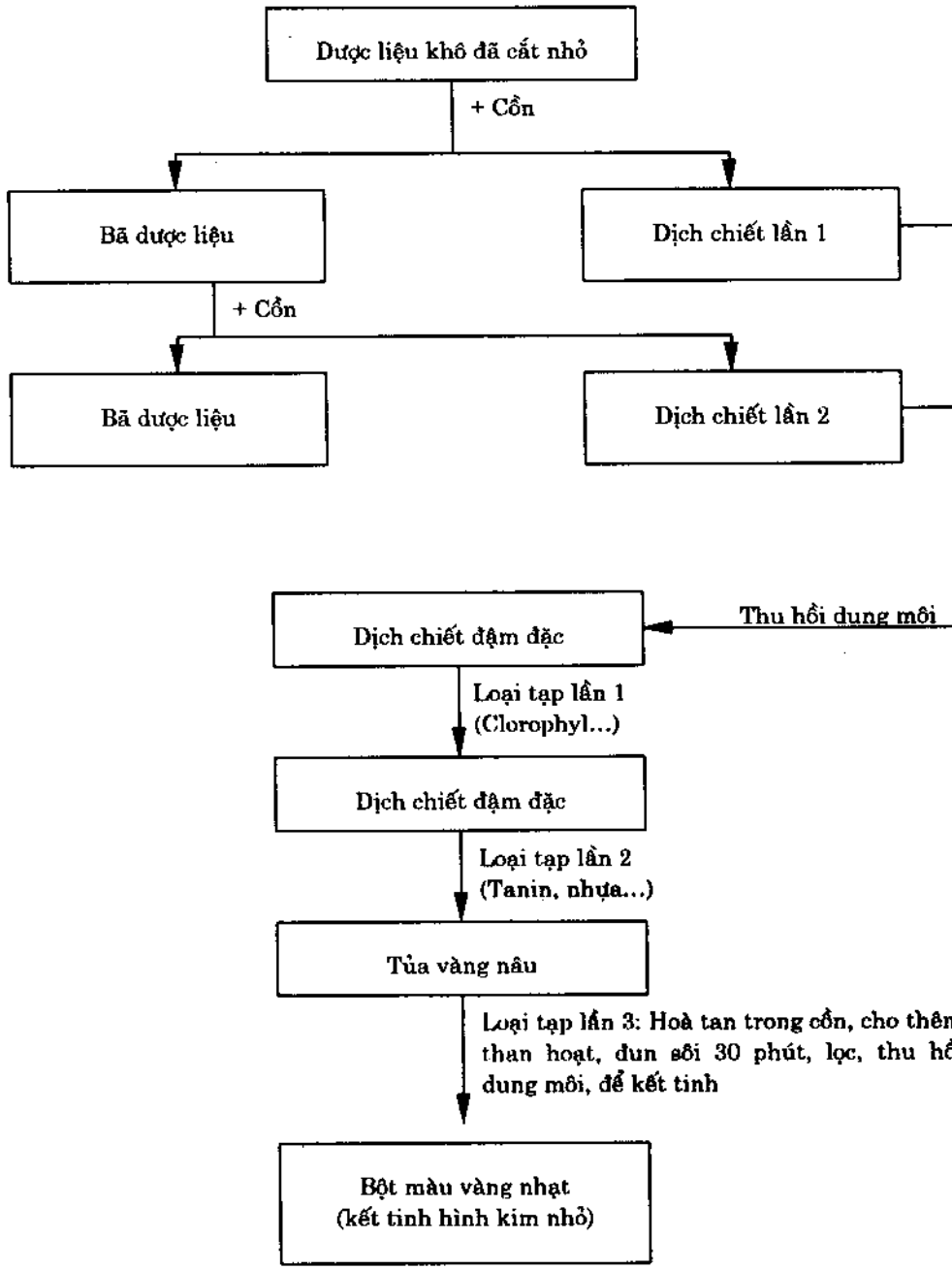
- Dịch chiết đậm đặc được loại clorophyl... (loại tạp lần 1)

- Dịch chiết đậm đặc được loại tạp tiếp lần 2: sử dụng phương pháp hoà tan kết tủa để loại nhựa, tanin...

- Tủa màu vàng nâu được loại tạp lần 3: hoà tan trong cồn nóng thêm than hoạt đun sôi 30 phút lọc, thu hồi dung môi để kết tinh, lọc, sấy ở 70-80°C đến khô, đóng gói bảo quản.

2. Sơ đồ chiết xuất

Sơ đồ chiết xuất Flavonoid từ lá, cành chè dây



III. KẾT QUẢ VÀ NHẬN XÉT

Sản phẩm chiết xuất là bột có màu vàng nhạt (nếu soi kính lúp là những tinh thể hình kim nhỏ).

- Sau khi nghiên cứu ở phòng thí nghiệm, quy trình đã được sản xuất thử tại xưởng pilot với số dược liệu khoảng 200kg đạt kết quả tốt. Hoàn toàn có thể sử dụng để sản xuất ở quy mô lớn.

- Sản phẩm có chất lượng tốt đạt 85 – 90% flavonoid.

- Hiệu xuất chiết của quy trình đạt 9 – 10% (so với dược liệu đã trừ độ ẩm).

- Sản phẩm flavonoid khô, ổn định theo thời gian (trong điều kiện bảo quản bình thường). Rất thuận lợi để bào chế thành thuốc nang cứng hay viên nén.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Văn Bàn, 1996.*
Phân tích sàng lọc hoá thực vật.

2. *Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu, 1985.*
Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc.

3. *Phạm Thanh Kỳ, 1993.*
Tạp chí dược học số 2 và 6 tr 10 và 14.

4. *Trịnh Văn Bảo, Phạm Thanh Kỳ, Phùng Thị Vinh, 1994.*
Tạp chí di truyền học và ứng dụng số 3, tr 28.

5. *Phạm Thanh Kỳ, Phùng Thị Vinh, 1994.*
Flavonoid trong cây chè dây (Tạp chí dược học số 6) tr 10.

6. *Phạm Hoàng Hộ, 1992.*
Cây cỏ Việt Nam, Motreal, tr 591.

7. *Đỗ Huy Bích, Bùi Xuân Chương, 1971.*
Danh mục cây thuốc Việt Nam, NXB Y học, tr 76.

KẾT QUẢ PHÂN TÍCH ĐỊNH TÍNH VÀ ĐỊNH LƯỢNG MỘT SỐ NHÓM CHẤT TRONG CÂY CHÈ ĐẮNG (*Ilex kaushue* S.Y.Hu)

Bùi Thị Bằng, Hoàng Thị Lệ[1],
Nguyễn Thượng Dong,Nông Văn Hải[2],
Nguyễn Minh Châu, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Văn Tài,

SUMMARY

Ilex kaushue S.Y.Hu is widely used as a traditional beverage, known as Kudingcha, in the Northern provinces of Viet Nam. It is also used in folk medicine as a tonic and a stimulant to the central nervous system as well as remedy for sore throat and for the relief of hypertension.

Four the following substances groups have been found and quantitatively determined in the dried leaves of Ilex kaushue S.Y.Hu, collected in Cao Bang: triterpenoid saponin (5,1 - 5,5%), flavonoid (0,5 - 0,6%), pectic polysaccharid (2,8 - 3,4%), carotenoid (calculated on β-caroten: 5,0 - 5,8mg%).

*

* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lá cây chè đắng (Ilex kudincha C. J. Tseng) đang được dùng rộng rãi như một loại nước uống truyền thống ở các tỉnh phía Nam Trung Quốc. Ngoài ra lá chè đắng còn được sử dụng trong dân gian làm thuốc chữa viêm họng, sút cân; kích thích hệ thần kinh trung ương; hạ huyết áp; thuốc tăng lực và kéo dài tuổi thọ [1,2]. Ở Việt Nam cây chè đắng phân bố ở Lào Cai, Cao Bằng, Hoà Bình, Ninh Bình có tên khoa học là *Ilex kaushue* S.Y.Hu [3]. Lá chè đắng có triển vọng trở thành mặt hàng xuất

(1) Trung Tâm TN và Chuyển giao KH-CN Cao Bằng.
(2) Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường Cao Bằng.

khẩu, đem lại nguồn thu nhập cho các dân tộc ít người sống trên các vùng cao. Vì vậy việc nghiên cứu thành phần hoá học cây chè đắng sẽ góp phần vào việc xác minh cơ sở khoa học của việc sử dụng chè đắng làm thuốc chữa bệnh và tăng cường sức khoẻ đồng thời tạo cơ sở cho việc nghiên cứu các dạng sản phẩm mới từ lá chè đắng.

Đề tài được tiến hành trong khuôn khổ của Hợp đồng Nghiên cứu khoa học giữa Viện Dược liệu và Trung tâm Thực nghiệm và Chuyển giao KHCN Cao Bằng.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu

Lá cây chè đắng (*Ilex kaushue* S.Y. Hu) thu hái tại Hà Lạng, Cao Bằng.

2. Phương pháp

Phương pháp định tính: Các nhóm chất trong lá chè đắng được định tính bằng các phản ứng hoá học đặc trưng và bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM) [4].

Phương pháp định lượng:

- Hàm lượng toàn phần của saponin, flavonoid và polysaccharid được xác định bằng phương pháp cân [4].

- Hàm lượng carotenoid toàn phần được xác định bằng phương pháp quang phổ tử ngoại [5].

III. KẾT QUẢ

1. Định tính các nhóm chất trong lá chè đắng

Định tính bằng phản ứng hoá học được trình bày ở bảng 1.

2. Định tính các nhóm chất bằng phương pháp SKLM

Các nhóm chất trình bày ở bảng 1 đã được định tính bằng SKLM. Kết quả cho thấy trong lá chè đắng có các nhóm chất sau: Saponin, flavonoid, acid hữu cơ và carotenoid. Trong đó saponin là nhóm chất có hàm lượng cao.

• *Định tính saponin:* Saponin được chiết từ lá chè đắng bằng dung dịch ethanol 80% và loại tạp bằng butanol bão hoà nước. SKLM được triển khai với 4 hệ dung môi khác nhau. Mẫu đối chiếu là saponin nhân sâm và ngưu tất.Thuốc hiện màu là dung dịch H_2SO_4 10%/ethanol. Trên sắc ký đồ có từ 5 đến 6 vết có màu sắc tương tự như các vết của saponin nhân sâm và ngưu tất (bảng 2).

Bảng 1. **Kết quả định tính các nhóm chất bằng phản ứng hoá học**

TT	*Nhóm chất*	*Phản ứng*	*Kết quả*	*Nhận xét*
1	Alcaloid	Tạo tủa với các thuốc thử:		Không có alcaloid
		TT Mayer	(-)	
		TT Dragendorff	(-)	
		TT Bouchardt	(-)	
		TT acid picric	(-)	
2	Glycosid tim	Phản ứng Liebermann	+	Không có glycoside tim
		Phản ứng Baljet	(-)	
		Phản ứng Legal	(-)	
3	Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	++	Có flavonoid
		Phản ứng với kiềm	+++	
		Phản ứng với dung dịch $FeCl_3$	++	
		Phản ứng với $AlCl_3$/cồn	++	
4	Coumarin	Phản ứng mở đóng vòng lacton	+	Có coumarin
		Phản ứng diazo hóa	+	
5	Antra-glycosid	Phản ứng Borntraeger	(-)	Không có antra - glycoside
		Phản ứng với NaOH	(-)	
		Phản ứng với NH_4OH	(-)	
6	Saponin	Hiện tượng tạo bọt	+++	Có saponin
		Hiện tượng phá huyết	++	
7	Acid amin	Phản ứng với ninhydrin 3%	+	Có acid amin
8	Acid hữu cơ	Phản ứng với Na_2CO_3 tinh thể	+	Có acid hữu cơ
9	Tanin	Phản ứng với dung dịch $FeCl_3$	++	Có tanin
		Phản ứng với dung dịch gelatin	+	
10	Polysaccharid	TT xanh methylen 0,15% /EtOH	+	Có polysaccharid

Ghi chú: (-): Phản ứng âm tính; + : Phản ứng dương tính;
++ : Phản ứng rõ; +++: Phản ứng rất rõ

***Bảng 2.* Kết quả định tính saponin chè đắng bằng SKLM**

TT	*Giá trị Rf*		*Màu sắc của vết*
	Hệ dung môi số 1	*Hệ dung môi số 2*	
1	0,99	0,94	Tím đỏ
2	0,72	0,67	Tím
3	**0,54**	0,63	Tím
4	0,36	0,60	Tím
5	0,33	**0,56**	Tím
6		0,52	Tím

(1): Butanol-ethanol-amoniac(7:2:5); (2): Cloroform-methanol-nước (30:18:1).

• Thủy phân saponin của chè đắng bằng acid clohydric 10% và triển khai SKLM của genin với 5 hệ dung môi khác nhau cho thấy sắc ký đồ của genin chè đắng có 6 - 7 vết có màu sắc tương tự như màu sắc của genin ngưu tất (bảng 3).

***Bảng 3.* Kết quả định tính genin chè đắng bằng SKLM**

TT	*Giá trị Rf*			*Màu sắc của vết*
	3	*4*	*5*	
1	0,80	0,80	0,77	Tím đỏ
2	0,47	0,65	0,46	Tím
3	0,36	0,54	0,42	Tím
4	0,20	0,37	0,33	Tím
5	0,15	0,28	0,23	tím
6	0,11	0,24	0,17	Tím
7			0,12	Tím

(3): Benzen-ethyl acetat (95:5); (4):cyclohexan-cloroform-ethyl acetat (20:5:8);
(5): Ete dầu-ete diethyl-acid acetic (85:15:1)

Kết quả trên đây cho thấy trong lá chè đắng có ít nhất là 6 saponin tương ứng với 6 genin khi thủy phân. Kết quả thử phản ứng tạo bọt của saponin trong môi trường acid và môi trường kiềm cho thấy saponin trong lá chè đắng là saponin tritecpen.

3. Xác định hàm lượng toàn phần của các nhóm chất trong lá chè đắng

Hàm lượng toàn phần (% so với khối lượng khô tuyệt đối của lá chè đắng) của 4 nhóm chất: saponin: 5,1-5,5%; polysaccharid: 2,8-3,4%; flavonoid: 0,5-0,6%; carotenoid (tính theo β-caroten): 5,0-5,8 mg%.

IV- KẾT LUẬN

1. Bằng các phản ứng hoá học và phương pháp SKLM đã định tính được 5 nhóm chất trong lá chè đắng: saponin tritecpen, flavonoid, acid hữu cơ, polysaccharid và carotenoid.

2. Hàm lượng toàn phần của 4 nhóm chất (% so với khối lượng khô truyệt đối của lá chè đắng) :

- Saponin : 5,1 - 5,5%
- Flavonoid : 0,5 - 0,6 %
- Polysaccharid : 2,8 - 3,4%
- Carotenoid (tính theo β-caroten): 5,0 - 5,8 mg%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Ming-An Quang et al., 1996.*
Phytochemistry 43(2), 443-445.

2. *Ming-an Quang et al., 1996.*
Phytochemistry, 41(3), 871-877.

3. *Nguyễn Tiến Bân, Nguyễn Khắc Khôi, 1999.*
Tên khoa học của cây chè đắng ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, t.21, số 1, 1-3.

4. *Nguyễn Viết Tựu, Nguyễn Văn Đàn, 1985.*
Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc. NXB. Y học, Hà Nội.

5. Dược điển Việt Nam II. tập 3, 1994.

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CHÈ XANH BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÂM CÀNH

Phạm Anh Thắng, Lê Tùng Châu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lá "Chè xanh" (Greentea) (*Hydrangea macrophylla* Seringe var *thunbergii* Makino, Saxifragaceae) có vị ngọt, dùng cho người bị bệnh đái đường và làm cho thuốc ngọt, dễ uống (1). Gần đây nhóm nghiên cứu ở Trường Đại học Dược Kyoto (Nhật Bản) đã xác định được nhiều thành phần có tác dụng chống dị ứng và kháng khuẩn (2). "Chè xanh" cũng là thành phẩm chính của viên nhân đơn.

Cây "Chè xanh" được nhập vào Việt Nam từ năm 1992 dưới dạng hom cành. Theo quy trình nhân giống bạn cung cấp, việc triển khai nhân giống "Chè xanh" ở Sa Pa, Tam Đảo và Mộc Châu đều không thành công vì tỷ lệ ra rễ thấp, thời gian ra rễ lâu và đặc biệt số lượng rễ ít, cây bị chết nhiều (hơn 85%). Do đó, chúng tôi đã nghiên cứu kỹ thuật nhân giống phù hợp với điều kiện ở nước ta, nhằm nâng cao tỷ tệ sống và chất lượng cây giống để đưa vào sản xuất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu

- Hom "Chè xanh" nhập nội ngày 14 tháng 1 năm 1993 có chiều dài trung bình là 40cm. Trên hom có 6 đến 7 mắt mầm, không có lá.

- Thí nghiệm thời vụ nhân được tiến hành bằng hom lấy từ cây trồng ngày 14 tháng 12 năm 1994 ở trại thuốc Tam Đảo.

2. Phương pháp

Thí nghiệm được tiến hành ở trại thuốc Tam Đảo. Mỗi thí nghiệm nhắc lại 3 lần, 30 hom/ ô cho một lần nhắc lại. Riêng thí nghiệm thời vụ giâm, số hom dùng cho 1 lần nhắc lại là 20 hom. Hom được giâm dưới dàn che. Kết quả thí nghệm được xử lý thống kê theo Phạm Chí Thành (3).

III. KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

1. Ảnh hưởng của kích cỡ hom giâm đến tỷ lệ ra rễ và chất lượng bộ rễ

- Hom được giâm trên nền cát. Số liệu thu được trình bày ở bảng 1 cho thấy:

- Hom có chứa 1 hoặc 2 mắt là tốt nhất. Tỷ lệ ra rễ cao, đạt 92,2-93%, các chỉ tiêu về chất lượng như số rễ/ hom, trọng lượng tươi của bộ rễ đều hơn hẳn những hom dài. Hom để nguyên theo quy trình của bạn cung cấp cho kết quả kém nhất.

- Chiều dài của rễ không khác biệt nhau giữa các công thức (F tính< F 05).

- Quan sát trên những hom dài thấy chồi xuất hiện và sinh trưởng khá dài trước khi ra rễ, sau một thời gian chồi bị chết và hom bị thối.

***Bảng 1.* Ảnh hưởng của kích cỡ hom giâm đến tỷ lệ ra rễ và chất lượng bộ rễ**

Công tác	*Tỷ lệ ra rễ (%) sau khi giâm*		*Chất lượng bộ rễ (theo dõi 60 ngày sau khi giâm)*		
	30 ngày	*60 ngày*	*Số rễ/hom*	*Chiều dài rễ (cm)*	*Trọng lượng bộ rễ tươi (g)*
1	56,6	93,3	27	5,1	21,0
2	41,1	92,2	26	6,1	23,0
3	33,3	79,9	16	6,5	16,0
4	20,0	61,0	12	6,7	13,0
5	13,3	19,9	8	6,9	10,3
6	7,7	15,5	5	7,1	9,0
7	3,3	14,4	4	7,3	10,0
do5	12,7	10,5	11,7	-	1,6
F tính	116,8	205,4	297,0	1,5	103,7
F05	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
m%	4,5	3,3	3,9		3,7

2. Ảnh hưởng của vị trí hom giâm lấy trên hom mẹ đến sự ra rễ và chất lượng bộ rễ

Qua số liệu ở bảng 2 chúng tôi nhận thấy:

- Tỷ lệ ra rễ, số rễ/ hom và trọng lượng bộ rễ có sự khác biệt rõ rệt giữa các công thức. Hom giữa cho tỷ lệ ra rễ cao nhất, đạt 96,6%. Số rễ/hom và trọng lượng bộ rễ

của hom giữa so với hom ngọn không có sự sai khác nhưng đều cao hơn hẳn sơ với hom gốc.

- Chiều dài rễ không khác nhau giữa các công thức (F tính < F 05).

***Bảng 2.* Ảnh hưởng của vị trí hom giâm lấy trên hom mẹ đến sự ra rễ và chất lượng bộ rễ**

Công thức	*Tỷ lệ ra rễ (%) sau khi giâm 60 ngày*	*Chất lượng bộ rễ (theo dõi 60 ngày sau khi giâm)*		
		Số rễ/hom	*Chiều dài rễ (cm)*	*Trọng lượng bộ rễ tươi (g)*
Hom gốc	80,0	16,0	5,2	20,6
Hom giữa	96,6	29,0	5,8	30,0
Hom ngọn	90,0	27,0	5,5	26,6
do5	6,3	1,8	-	8,4
m%	1,8	2,1	-	2,3
F tính	21	196,7	2,7	55,9
F05	5,1	5,1	5,1	5,1

3. Ảnh hưởng của giá thể làm nền giâm đến tỷ lệ ra rễ và chất lượng bộ rễ

- Qua thí nghiệm chúng tôi thấy nền giâm là cát sông mịn cho tỷ lệ ra rễ cao hơn đất mùn núi và đất mặt vườn từ 15 đến 20%, thời gian ra rễ nhanh hơn 5 đến 7 ngày, chất lượng bộ rễ tốt hơn.

- Trên nền giâm bằng đất mùn núi và đất mặt vườn, số hom thối cao hơn trên nền cát từ 25 đến 30%. Có thể trong đất mùn núi có chưa nhiều vi sinh vật gây bệnh, đặc biệt là nấm và vi khuẩn. Lúc đầu bề mặt hom vở dần dẫm lại, sau 3-4 ngày xuất hiện những vệt thâm dài, sau 15-20 ngày hom bị thối nhũn và suất hiện nấm trắng trên bề mặt.

4. Ảnh hưởng của giá thể làm bầu đến chất lượng cây giống

Để nâng cao tỷ lệ sống và sự phát triển của cây giống, việc đưa hom giâm đã ra rễ vào bầu là cần thiết. Để xác định được chất liệu làm bầu cho phù hợp, chúng tôi đã dùng phân chuồng mục có bổ sung supe (5%) trộn với đất theo tỷ lệ khác nhau. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Ảnh hưởng của giá thể làm bầu đến chất lượng cây giống**
(theo dõi 60 ngày sau khi trồng vào bầu)

Công thức	*Chiều cao cây (cm)*	*Trọng lượng của bộ rễ tươi (g)*
Phân chuồng mục + đất (1:2)	7,3	39
Phân chuồng mục + đất (1:1)	9,3	49,6
Phân chuồng mục + đất (2:1)	12	58,3
d05	1,5	2,1

Số liệu bảng 3 cho thấy:

Công thức phân chuồng + đất (2:1) cho chất lượng cây giống tốt nhất. Chiều cao cây đạt 12cm. Trọng lượng bộ rễ đạt 58,3 g. Thành phần giá thể làm bầu này đảm bảo độ thoát khí, đủ dinh dưỡng, giữ ẩm tốt nên bộ rễ phát triển thuận lợi

5. Nghiên cứu thời vụ giâm cành

Bảng 4. **Ảnh hưởng của thời vụ giâm hom đến thời gian ra rễ, tỷ lệ ra rễ và chất lượng bộ rễ**

Ngày tháng giâm	*Thời gian ra rễ (ngày)*			*Tỷ lệ ra rễ (%)*			*Số rễ / hom*		
	Hom gốc	*Hom giữa*	*Hom ngọn*	*Hom gốc*	*Hom giữa*	*Hom ngọn*	*Hom gốc*	*Hom giữa*	*Hom ngọn*
15/5	18-21	14-15	7-10	90	97	98	16,5	23,6	35,4
15/6	18-19	14-16	7-10	93	97	96	17,8	24,0	33,8
15/7	18-18	14-15	7-8	92	90	92	16,0	23,2	36,8
15/8	30-35	25-27	20-22	90	94	95	22	26,5	34,9
15/9	30-35	25-26	20-25	85	94	93	20,5	29,4	20,5
15/10	30-60	30-45	30-60	87	90	91	18,8	33,6	22,4
15/11	60-70	60-65	70-80	53	70	66	16,8	17,7	15,6
15/12	90-100	70-80	100-110	36	55	47	15,0	19,3	14,3

Hom được giâm trên nền cát sông mịn. Số liệu được trình bày ở bảng 4 cho thấy:

Về thời gian ra rễ:

- Các tháng mùa hè đến đầu mùa thời gian ra rễ nhanh và tập trung hơn so với các tháng giữa thu đến đông.
- Lấy hom ngọn giâm vào mùa hè thời gian ra rễ nhanh nhất (7-10 ngày).
- Hom gốc và hom giữa ra rễ chậm hơn (14-25 ngày).

PHÂN LẬP STEVIOSID VÀ HÀM LƯỢNG STEVIOSID TỪ LÁ CỎ NGỌT (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TRỒNG Ở VIỆT NAM

Nguyễn Kim Cẩn,
Nguyễn Hoàng Anh, Lê Nguyệt Nga

Trên thế giới, người ta đã thu được 184 mẫu lá cỏ ngọt (*Stevia*), mô tả 110 loài, phân loại 121 loài thuộc họ Cúc. Cỏ ngọt mọc ở các nước Trung Mỹ, Arhentina, Mexico, Paraguay, Uruguay, Ecuador, Bolivi, Braxin, nhưng chỉ có 18 loài chứa chất ngọt. Năm 1919, thu được *Stevia rebaudiana* Bertoni ở Paraguay là loài chứa hàm lượng chất ngọt cao nhất (xem bảng 1).

Bảng 1. **Các loài *Stevia* có chứa chất ngọt [1]**

TT	*Tên loài*	*Địa điểm và năm thu*	*Độ ngọt*
1	*S. caracasana* D. C	Guatemala, 1974	+
2	*S. lemmonii* Hieron var. *hispidula* Grashoff	Mexico-Palmer, 1906 Mexico-Genti, 1935	(+)
3	*S. micradenia* Robins	Mexico-Pringle, 1893	(+)
4	*S. lelsonii* Robins	Mexico, 1941	+
5	*S. oligocephala* D. C	Braxin, 1907	++
6	*S. origanoides* HBK	Mexico, 1888,1892,1937	(+)
7	*S. ovalis* Robins	Mexico, 1893,1908	+
8	*S. perfoliata* Cronq	Mexico, 1974	++
9	*S. phlebophylla* A. Gray	Mexico, 1889	(+)
10	*S. pilosa* Lag	Mexico, 1947,1961	(+)
11	*S. porphyrea* Mc Vaugh	Mexico, 1896,1959	(+)
12	*S. puberula* Hook	Peru, 1925	(+)
13	*S. quitensis* HBK	Ecuador	(+)
14	*S. rebaudiana* Bertoni	Paraguay, 1919	++++++
15	*S. reticulata* Grashoff	Mexico, 1893	+
16	*S. vaga* Griseb	Arhentina, 1925,1969	+
17	*S. viscida* HBK	Mexico, 1935;Guatemala1971	(+)
18	*S. wageneri* Hieron	Venezuela	+

+ ngọt ít; (+) ngọt có vị đắng; ++ ngọt nhiều.

Dân Paraquay từ lâu đã biết trồng và sử dụng phổ biến chất ngọt từ *Stevia rebaudiana* làm đồ uống. Vào thập kỷ đầu của thế kỷ 20, người ta mới phân lập được glucosid ngọt [2-3] và tới năm 1931 thì xác định được thành phần chính của glucosid ngọt là steviosid [4-5]. Ngoài steviosid người ta còn phân lập được những glucosid ngọt khác như steviolbiosid, rebaudiosid A, B, C, D, E, dulcosid A [6-10] và những diterpen cùng các dẫn xuất 6-0-acetat-, 7-10-acetat của chúng không ngọt.

Stevia rebaudiana được nhập nội vào Nhật Bản, Trung Quốc, Thái Lan, Indonesia. Gần đây, Việt Nam đã trồng thử nghiệm nhằm tạo nguyên liệu sử dụng trong nước và xuất khẩu. Steviosid từ cỏ ngọt không độc hại cho người lại dùng chữa bệnh béo phì, đái tháo đường, có độ ngọt gấp 300 đường mía.

Thông báo này giới thiệu kết quả phân lập steviosid từ lá cỏ ngọt trồng ở Việt Nam, nhận dạng steviosid phân lập được và khảo sát hàm lượng steviosid chiết từ những nguyên liệu thu hái ở các vùng trồng khác nhau.

I. PHẦN THỰC NGHIỆM

Lá cỏ ngọt (*Stevia rebaudiana*) khô thu ở Văn Điển(HàNội), Lâm Đồng, Thái Nguyên.

- Thiết bị: Máy quang phổ tử ngoại Shimazu UV160A. Máy quang phổ hồng ngoại Unicam LTD Cambridge England. Máy đo điểm chảy Franz Kistner Nachf KG Dresden HMK.Boetius. Máy đo năng suất quay cực Carlzeiss Jena.

II. PHÂN LẬP STEVIOSID

Phương pháp chiết steviosid không nhiều,có 2 cách chính : chiết bằng nước hoặc bằng dung môi hữu cơ phân cực. Có tác giả đề nghị chiết liên tiếp với những dung môi có độ phân cực tăng dần, có người dùng hỗn hợp dung môi hữu cơ với nước, có người xử lý nhiệt hoặc chiết bằng máy soxhlet. Có tác giả chiết bằng ngấm kiệt ở nhiệt độ phòng.

Để phân lập steviosid, chúng tôi đã vận dụng tổ hợp cách chiết của nhiều tác giả phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm.

Lá cỏ ngọt khô trong không khí nghiền vụn, ngâm với hỗn hợp alcol-H_2O (4:1) ở nhiệt độ phòng qua đêm, theo tỷ lệ dược liệu : dung môi là 1:20. Lọc, bã dược liệu chiết tiếp 3 lần nữa ở nhiệt độ 80^0 C.Dịch chiết của 4 lần gộp lại thu hồi áp suất giảm đến cắn khô. Hoà cắn bằng nước nóng gấp 20 lần so với dược liệu đem chiết. Loại mỡ khỏi dung dịch nước ngọt bằng dung môi t hích hợp. Nước ngọt đã loại mỡ,

đuổi hết dung môi,nước ngọt chiết với n-BuOH 6 lần (mỗi lần dùng một lượng dung môi gấp 5 lần lượng dược liệu đem chiết). Dịch n-BuOH chứa steviosid được rửa bằng nước bão hoà n-BuOH để loại đường tự do. Cô dịch n-BuOH đến khô rồi đem kết tinh bằng CH_3OH để lạnh qua đêm. Lọc được tinh thể steviosid. Kết tinh lại bằng CH_3OH hoặc hỗn hợp dioxan methanol được steviosid tinh khiết.

III NHẬN DẠNG STEVIOSID

1. Nhận dạng bằng SKLM

Chuẩn bị dung dịch steviosid chuẩn(Pháp) và dung dịch phân tích (chất ngọt sau khi tinh chế và kết tinh lại). Mỗi loại cân 0,01g pha trong CH_3OH vào các bình định mức 10ml.

- Bản mỏng sắc ký tráng sẵn của hãng Merck hoặc Silufol UV 254.

- Dung môi khai triển :$CHCl_3$-CH_3OH-H_2O (30-10-1) hoặc (15-10-2)

Khi dùng muối pha và bão hoà hơi dung môi trong bình trước khi triển khai.

- Thuốc thử:(1) acid H_2SO_4 đặc và(2) vanilin 1% trong H_3PO_4.pha sẵn dung dịch vanilin 2% trong CH_3OH, trước khi dùng trộn lẫn với acid H_3PO_4 tỷ lệ (V/V) 1:1

- Tiến hành sắc ký : Tại điểm a: chấm 10µl dung dịch steviosid chuẩn. Tại điểm b chấm 10µl dung dịch phân tích. Tại điểm c chấm 10µl dung dịch chuẩn và 10µl dung dịch phân tích.

Triển khai sắc ký từ dưới lên khoảng 10cm, làm khô dung môi rồi phun 1 trong 2 thuốc thử trên, sấy đến hiện vết. Sắc phổ đều cho một vết có Rf và màu sắc giống nhau chứng tỏ chất ngọt phân lập được là steviosid.

2. Nhận dạng bằng các hằng số vật lý

- Điểm chảy: 200-202^0 C. Theo tài liệu steviosid có điểm chảy dao động từ 196-198^{0}C, 198-202^{0}C, và 202-204^{0}C tùy thuộc ở dung môi tinh chế.

- Năng suất quay cực $[\alpha]_D$ = -39,06 (C:5,7- H_2O), $[\alpha]_D$ tài liệu là -39,3 (C: 5,7-H_2O).

3. Nhận dạng bằng phổ tử ngoại và phổ hồng ngoại

Chúng tôi đã tiến hành ghi phổ UV và phổ IR của chất ngọt phân lập được so với steviosid chuẩn ở cùng điều kiện. Phổ hai chất hoàn toàn trùng khít và có cực đại hấp thụ ở bước sóng 210 nm ±1.

Phổ IR của 2 chất hoàn toàn trùng khít và có các vân đặc trưng ở số sóng γ_{max} (cm^{-1}): 3450, 2940, 1735, 1725, 1650, 1450, 1175, 1075, 890.

Theo phương pháp phân lập steviosid trong lá cỏ ngọt thu ở các địa phương khác nhau và cho hàm lượng ghi trong bảng 2.

Bảng 2. **Hàm lượng steviosid trong lá cỏ ngọt thu ở vùng trồng khác nhau**

Ký hiệu mẫu	*Địa điểm thu*	*Năm thu*	*Hàm lượng steviosid (%)*
N_1	Văn Điển	1992	2,56
N_3	Văn Điển	1992	1,36
VX_1	Văn Điển	1993	2,64
VX_2	Văn Điển	1993	3,42
BT_1	Thành phố Thái Nguyên	1993	5,78
LĐ	Lâm Đồng	1992	4,89

Kết quả ở bảng 2 cho thấy mẫu thu ở Thái Nguyên và Lâm Đồng cho hàm lượng steviosid cao nhất, mẫu N_3 thu ở Văn Điển có hàm lượng steviosid thấp nhất(1,36 %). Vấn đề đặt ra là cần nghiên cứu vùng trồng, thời vụ thu hái và cách chăm bón để có hàm lượng steviosid cao nhất.

IV. KẾT LUẬN

Đã phân lập được steviosid từ lá cỏ ngọt trồng ở Việt Nam. Đã tiến hành nhận dạng steviosid bằng SKLM, các phương pháp vật lý và hoá lý.

Đã chiết steviosid từ các mẫu lá thu ở những vùng trồng khác nhau. Kết quả phân lập và chiết suất steviosid giúp ta định lượng steviosid từ lá cỏ ngọt và hỗn hợp chất ngọt phục vụ cho công tác nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *D.D. Soejarto, A. D. Kinghorn, N.R. Farnsworth, 1982.*
J. of Natural Products. V.45, N.5, p 590.

2. *P. Rasenack, 1908.*
Arb.Kaiserl Gesundh. 28,420 [C.A.3,688,1908]

3. *K. Dieterich, 1908.*
Pharm. Zẻnt. 50,435,458.[C.A.3,2485,1909]

4. *M. Bridel, R. Lavicille, 1931.*
Bull. soc. Chim. Biol. 13,781.[C.A.26,498,1932]

5. *E. Mosettig, U. Berliner, et all, 1963.*
J. Amer.Chem.Soc. 85,2305.

6. *H. Kohda, et all, 1976.*
Phytochemistry. 15, 981.

7. *B. Harry Wood, et all, 1955.*
J of organic chemitry. V.20,p875.

8. *A. D. Kinghorn et all, 1982.*
J.of chromatography. V.237,p478.

9. *M. Kobayashi et all, 1977.*
Phytochemistry. 16, 1405.

10. *I. Sakamoto, K. Yamáaki, O. Tanaca, 1977.*
Chem.Pharma.Bull. 25,844.

ĐỊNH LƯỢNG STEVIOSID TRONG LÁ CỎ NGỌT (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Nguyễn Kim Cẩn, Lê Nguyệt Nga

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở nước ta, trong những năm gần đây, cây cỏ ngọt đã được trồng thử nghiệm ở nhiều nơi với diện tích đáng kể và tạo ra nguồn nguyên liệu có giá trị sử dụng trong nước và xuất khẩu. Để mở rộng việc trồng cỏ ngọt có hiệu quả, cần phải chọn được giống tốt, tìm được vùng đất đai khí hậu thích hợp. Muốn vậy phải có phương pháp phân tích đảm bảo độ tin cậy, dễ thực hiện, phù hợp với điều kiện về trang thiết bị của phòng thí nghiệm.

Phân tích định lượng steviosid không những giúp các nhà trồng trọt đánh giá chất lượng các loài, nghiên cứu xác định vùng trồng mà còn theo dõi được động thái tích luỹ steviosid trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây. Nhờ đó xác định được chính xác thời vụ thu hái, đồng thời xác định được những yếu tố phân bón làm tăng năng xuất lá và hàm lượng steviosid. Nghiên cứu phương pháp phân tích trở thành nhu cầu cấp thiết.

Chúng tôi đã thông báo về kết quả nghiên cứu phân lập steviosid trong lá cỏ ngọt [1]. Trong công trình này, chúng tôi giới thiệu kết quả nghiên cứu phương pháp phân tích steviosid trong lá cỏ ngọt.

Nguyên liệu: lá cỏ ngọt khô thu ở Văn Điển (Hà Nội), Lâm Đồng, Thái Nguyên.

Thiết bị :

- Tấm sắc ký bản mỏng: Kính có kích thước 5x12cm giải một lớp silicagenG (Merck hoặc tương đương) dày 0,25mm để khô trong không khí, hoạt hoá ở 120^{0}C 2 giờ trước khi dùng
- Máy quang phổ tử ngoại - khả kiến Cary 1 E.
- Steviosid chuẩn.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Theo tài liệu đã có một số công trình nghiên cứu về phương pháp định lượng steviosid như phương pháp sắc ký khí [2-3], phương pháp thủy phân lên men [3],

phương pháp chuyển hoá thành isosteviol [3-5] hoặc thành steviolbiosid [5], phương pháp đo quang nhờ 2,4-dinitrophenylhydrazil [7].

Chúng tôi xây dựng những phương pháp đơn giản và xác định trực tiếp steviosid.

1. Phương pháp bán định lượng steviosid trong lá cỏ ngọt bằng SKLM

a) Chuẩn bị dung dịch phân tích

Cân chính xác 1g bột lá cỏ ngọt (độ chính xác 0,01g), chiết bằng máy soxhlet 6 giờ với methanol. Cô thu hồi dung môi đến khô. Hoà tan cắn bằng 10ml methanol trong bình định mức.

b) Chuẩn bị dung dịch chuẩn

Cân chính xác 0,01g steviosid chuẩn (điểm chảy 200-202°C, $[\alpha]_D$ = 39,06 (C = 5,7; H_2O), $\lambda_{max}^{CH_3OH}$ (nm) = 210 pha trong bình định mức 10ml với CH_3OH.

c) Phương pháp

- Dùng micropipet lần lượt đưa lên kính sắc ký ở các điểm 1,3,5...10µl, 30 µl, 50µl...dung dịch steviosid chuẩn, ở các điểm 2, 4 đưa l0µl dung dịch phân tích.

Tiến hành sắc ký từ dưới lên một khoảng 10cm, trong hệ dung môi mới pha $CHCl_3$ - CH_3OH - H_2O (30-10-1) hoặc (30-20-4). Lấy kính để khô ngoài không khí, phun thuốc thử vanilin trong acid phosphoric [trộn dung dịch 1% vanilin trong CH_3OH với dung dịch H_3PO_4 trước khi phun theo tỷ lệ 1:1 (v/v)], sấy ở 110° C đến hiện màu rõ.

So sánh cường độ màu và diện tích vết steviosid trong mẫu phân tích với các vết mẫu chuẩn.

Nếu vết steviosid trong mẫu phân tích có cường độ màu và diện tích trùng với vết steviosid chuẩn chấm 30µl thì hàm lượng trong mẫu là 3% và nếu trùng với vết steviosid chuẩn chấm 50µl thì hàm lượng trong mẫu phân tích là 5%... Ngược lại, nếu vết steviosid trong mâũ phân tích không trùng với một vết nào trong thang chuẩn thì tiến hành sắc ký lại với thang chuẩn khác phù hợp hơn.

2. Định lượng steviosid trong lá cỏ ngọt bằng phương pháp cân

Cân chính xác khoảng 10g bột lá cỏ ngọt khô cho vào bình nón nút mài dung tích 250ml, thêm 200ml hỗn hợp C_2H_5OH: H_2O 4:1 (cồn 80°) hoặc CH_3OH - H_2O (4-1) ngâm qua đêm. Lọc, bã dược liệu chiết 3 lần nữa ở nhiệt độ 60-80° C (200ml x 3). Dịch lọc gộp lại thu hồi dung môi áp suất giảm đến cắn khô. Hoà tan

cắn bằng 200ml nước, đun nóng nhẹ cho tan hết trên bếp cách thủy. Lọc dung dịch vào phễu tách dung tích 500ml. Loại mỡ và clorophin bằng lắc với ethylacetat (100ml x 7). Đuổi hết ethylacetat khỏi dung dịch rồi chiết steviosid bằng n-BuOH (50ml x 6). Gộp dịch n-BuOH lại, rửa bằng 100ml nước bão hoà n-BuOH để loại đường tự do còn sót. Thu hồi n-BuOH dưới áp suất giảm đến khô được steviosid thô. Làm kết tinh trong CH_3OH để qua đêm ở 5^0 C (tủ lạnh), gạn hết dung môi, rửa bằng một lượng nhỏ CH_3OH lạnh. Làm khô trong bình hút ẩm sau đó sấy đến trọng lượng không đổi ở 105^0 C. Cân. Hàm lượng steviosid tính theo công thức :

$$X = \frac{a.100.100}{p.(100 - b)}$$

trong đó: x = Hàm lượng steviosid (%);

a = Lượng steviosid thu được (g);

p = Lượng cân mẫu lá cỏ ngọt (g);

b = Độ ẩm của lá cỏ ngọt (%).

Chúng tôi đã sử dụng phương pháp để xác định hàm lượng lá cỏ ngọt thu hái ở Viện Khoa học nông nghiệp (Văn Điển), Trường Đại học Sư phạm Việt Bắc (Thái Nguyên) và ở Lâm Đồng. Kết quả xác định được ghi trong bảng sau :

Hàm lượng steviosid trong lá cỏ ngọt xác định bằng SKLM và phương pháp cân.

Nơi thu mẫu	*Hàm lượng steviosid (%)*	
	Phương pháp SKLM	*Phương pháp cân*
Văn Điển	≈ 1,5	1,66
Thái Nguyên	> 5	6,1
Lâm Đồng	4,5	4,78

Phương pháp bán định lượng steviosid bằng SKLM có thể áp dụng phục vụ cho công tác nghiên cứu trồng trọt cỏ ngọt, theo dõi động thái tích luỹ steviosid một cách kịp thời, nhanh chóng và đơn giản. Còn phương pháp cân cũng đơn giản giúp ta xác định chính xác hơn hàm lượng của steviosid và rất sát với mục đích nghiên cứu chính xác steviosid, đồng thời giúp ta tạo ra chất chuẩn steviosid để nghiên cứu những phương pháp định lượng khác.

III. KẾT LUẬN

- Đã xây dựng phương pháp bán định lượng và định lượng steviosid trong lá cỏ ngọt. Phương pháp đơn giản có thể áp dụng trong phòng thí nghiệm thông thường.

- Phương pháp cân có thể giúp ta điều chế steviosid chuẩn làm cơ sở cho việc nghiên cứu phương pháp định lượng khác một cách chủ động.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Hoàng Anh, Lê Nguyệt Nga, 1997.*
Tạp chí Dược liệu. Tập 2, số 1, tr. 11.

2. *H. Mitsuhasahi, J. Ueno, T. Sumita, 1975.*
Yakugaku Zasshi. V. 95, N. 1, p. 127-130.

3. *I. Sukamoto, H. Kohda, K. Murakami, et al, 1975.*
Yakugaku Zasshi. V. 95, N. 12, tr. 1507-1511.

4. *E. Mosettig, U. Berliner, F. Dulder, H. Lichiti, P. Quit, J. A. Waters. J. Amer, 1963.*
Chem. Soc. 85, 2305.

5. *E. Mosettig, and W. R. Nes, 1995.*
J. of Organic Chemistry. V. 6, p. 884.

6. *M. S. Ahmed, R. H. Dobberstein and N. R. Farensworth, 1980.*
J. of Chromatography. V. 192, N. 2, p. 387-393.

7. Nông nghiệp nhiệt đới. 1974, 17, 151-158.

TÁC DỤNG TĂNG TRỌNG, HƯỚNG SINH DỤC VÀ ĐỒNG HOÁ CỦA CỦ MÀI VÀ CỦ CỌC Ở CHUỘT ĐỰC

Đỗ Trung Đàm, Vũ Thị Tâm

SUMMARY

The effect on weight gain, as well as the gonadotropic effect and anabolic effect of the tuber from Dioscorea persimilis Prain et Burkill (I) and Dioscorea glabra Roxb (II) were studied in immature male rats. The results show that I and II have the anabolic effect, increasing the weight of anus elerator muscle, but I is stronger than II. On the gonadotropic effect, both I and II increased statistically significantly the weight of prostate, but only I increased significantly the weight of testicle and seminal vesicle. Both I and II failed to influence the weight gain of experimental rat.

*
* *

Nghiên cứu liều gây độc của củ mài *Dioscorea glabra* Roxb trên tim chuột lang đã được tiến hành bằng cách tiêm truyền tĩnh mạch liên tục của củ mài củ cọc cho đến khi xuất hiện các thay đổi trên điện tim và ngừng tim

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu: củ mài và củ cọc đã gọt vỏ, phơi sấy khô do Công ty Dược liệu Trung ương I cung cấp.

2. Dạng thuốc nghiên cứu : cao cồn 1:1 chiết bằng cồn 70P.100. Trước khi dùng đun cách thủy để đuổi hết cồn đi. Sau đó, thêm nước cất để được lỷ lệ 1:1 như lúc ban đầu (1g dược liệu khô được 1ml). Lọc rồi cho thuốc vào bơm truyền

3. Động vật thí nghiệm: chuột lang có trọng lượng 300-500g không phân biệt đực cái.

4. Phương pháp : chuột lang không gây mê, buộc lên bàn để cố định chuột theo tư thế nằm ngửa. Ghi điện tim bình thường lúc ban đầu bằng máy điện tim Biokomb do Hungải sản xuất với 5 bút ghi. Đã ghi các đạo trình D1, D2, D3, aVR và aVF. Đánh giá điện tim chủ yếu dựa vào D2.

Sau khi chuột ổn định, truyền thuốc vào tĩnh mạch cảnh ngoài bằng bơm truyền tự động Braun-Unita của Đức với tốc độ 0,1ml/100g/phút cho đến khi ngừng tim.

Xác định lượng thuốc gây các biểu hiện độc trên tim qua 4 thời điểm: QRS giãn rộng, biên độ sóng R giảm, loạn nhịp tim và ngừng tim để so sánh xem củ mài và củ cọc, loại nào độc với tim hơn

II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Tác dụng tăng trọng của củ mài và củ cọc được trình bày ở bảng 1.

***Bảng 1.* Tác dụng tăng trọng ở chuột cống trắng đực non**

Lô	*Số chuột thử*	*Thể trọng chuột (% so với ban đầu)*					*P*
		Ban đầu	*Tuần 1*	*Tuần 2*	*Tuần 3*	*Tuần 4*	
Chứng	9	100	128	175	209	243 ± 13	-
Củ mài	11	100	144	168	203	223 ± 8	>0,4
Củ cọc	11	100	129	157	189	212 ± 8	>0,1

Thể trọng chuột ở 2 lô thuốc hơi thấp hơn lô chứng nhưng sự khác nhau không có ý nghĩa thống kê. Ta coi như sự tăng trọng ở 2 lô thuốc cũng tương tự như lô chứng.

Tác dụng trên tinh hoàn chuột cống trắng đực non của củ mài và củ cọc được trình bày ở bảng 2.

***Bảng 2.* Tác dụng trên tinh hoàn chuột cống trắng đực non**

Lô	*Số chuột thử*	*Trọng lượng tinh hoàn (mg/kg)*	*Tinh hoàn tăng (%)*	*P*
Chứng	9	387 ± 54	-	
Củ mài	10	777 ± 73	100,8	<0,001
Củ cọc	10	443 ± 63	14,5	>0,5

Trọng lượng tinh hoàn giữa các cá thể khác nhau tương đối lớn. Dựa vào kết qủa trên, củ mài làm tăng trọng lượng tinh hoàn có ý nghĩa thống kê.

Tác dụng trên tuyến tiền liệt chuột cống đực non của củ mài và củ cọc được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Tác dụng trên tuyến tiền liệt của chuột cống trắng đực non**

Lô	*Số chuột thử*	*Trọng lượng tiền liệt(mg/kg)*	*Tuyến tiền liệt tăng (%)*	*P*
Chứng	9	14 ± 2	-	-
Củ mài	11	72 ± 5	414,3	< 0,001
Củ cọc	11	48 ± 9	242,8	< 0,002

Củ mài và củ cọc đều làm tăng trọng lượng tuyến tiền liệt có ý nghĩa thống kê, trong đó củ mài làm tăng mạnh hơn so với củ cọc.

Tác dụng trên túi tinh chuột cống đực non của củ mài và củ cọc được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. **Tác dụng trên túi tinh chuột cống trắng đực non**

Lô	*Số chuột thử*	*Trọng lượng túi tinh mg/kg)*	*Túi tinh tăng (%)*	*P*
Chứng	9	10,9 ± 1,3	-	-
Củ mài	11	51,4 ± 9,6	371,5	<0,001
Củ cọc	11	11,1 ± 1,3	1,8	>0,9

Trọng lượng túi tinh giữa các cá thể khác nhau tương đối lớn. Qua bảng 4, củ cọc không có ảnh hưởng đến trọng lượng túi tinh, còn củ mài làm tăng trọng lượng túi tinh rất lớn và sự tăng này có ý nghĩa thống kê.

Tác dụng đồng hóa trên cơ nâng hậu môn chuột cống đực non của củ mài và củ cọc được trình bày ở bảng 5

Bảng 5 cho thấy cả củ mài và củ cọc đều làm tăng trọng lượng cơ nâng hậu môn so với lô chứng một cách có ý nghĩa. Củ mài làm tăng nhiều hơn củ cọc.

Bảng 5. **Tác dụng đồng hoá trên cơ nâng hậu môn chuột cống trắng đực non**

Lô	*Số chuột thử*	*Trọng lượng cơ nâng (mg/kg)*	*Cơ nâng hậu môn tăng (%)*	*P*
Chứng	9	190 ± 16	-	-
Củ mài	11	897 ± 161	372	< 0,001
Củ cọc	10	290 ± 46	53	< 0,05

Chúng ta biết rằng việc tăng trọng lượng cơ nâng hậu môn chứng tỏ thuốc có tác dụng tăng đồng hoá. Nhưng thể trọng của lô dùng củ mài và củ cọc lại không tăng hơn so với lô chứng. Phải chăng việc tăng trọng lượng cơ nâng hậu môn xảy ra trước khi tăng thể trọng và để tăng thể trọng phải theo dõi trong một thời gian lâu hơn.

III. KẾT LUẬN

Nghiên cứu tác dụng của củ mài và củ cọc trên các tác dụng tăng trọng, tác dụng hướng sinh dục nam và tác dụng đồng hoá ở chuột cống trắng đực còn non cho thấy:

Cả củ mài và củ cọc đều có tác dụng đồng hoá làm tăng trọng lượng của cơ nâng hậu môn, nhưng tác dụng của củ mài mạnh hơn củ cọc.

Về tác dụng hướng sinh dục nam, cả củ mài và củ cọc đều làm tăng có ý nghĩa trọng lượng tuyến tiền liệt. Nhưng chỉ có củ mài mới làm tăng trọng lượng tinh hoàn và túi tinh một cách có ý nghĩa. Còn củ cọc thì không có 2 tác dụng đó.

Cả củ mài và củ cọc đều không có ảnh hưởng trên sự tăng thể trọng của chuột thí nghiệm

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Burn, 1952.*

Biological standardisation, Second edition, NXB Oxford University Press.

2. *Hebborn P., 1971.*

Androgenic and anabolic agents, trong Screening methods in Pharmacology, NXB. Academic Press New York and London. tr. 75-83.

XÁC ĐỊNH LIỀU ĐỘC CỦA CỦ MÀI VÀ CỦ CỌC TRÊN TIM CHUỘT LANG

Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Thị Thanh

SUMMARY

The toxic doses induced by the intravenous infusion of the extract from Dioscorea persimilis Prain et Burkill (I) and Dioscorea glabra Roxb (II) in the heart of guinea pig were determined. The results show that the doses of dried extract from I and II, which produced the stretch of QRS complex, the reduction of R amplitude, the cardiac arrhythmias and the cardiac arrest were similar. It is also paid attention that the content of dried extract from tuber of II (2,90%) is higher than that of I (2,35%).

*
* *

Nghiên cứu liều gây độc của củ mài *Dioscorea persimilis* Prain et Burkill và củ cọc *Dioscorea glabra* Roxb trên tim chuột lang đã được tiến hành bằng cách tiêm truyền tĩnh mạch liên tục cao củ mài và cao củ cọc cho đến khi xuất hiện các thay đổi trên điện tim và ngừng tim.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu: củ mài và củ cọc đã gọt vỏ, phơi sấy khô do Công ty Dược liệu Trung ương I cung cấp.

Dạng thuốc nghiên cứu: cao cồn 1:1 chiết bằng cồn 70p.100. Trước khi dùng đun cách thủy để đuổi hết cồn đi. Sau đó, thêm nước cất để được tỉ lệ 1:1 như lúc ban đầu (1g dược liệu khô được 1ml). Lọc, rồi cho thuốc vào bơm truyền.

Động vật thí nghiệm: chuột lang có trọng lượng 300-500g không phân biệt đực cái.

Phương pháp: chuột lang không gây mê, buộc lên bàn để cố định chuột theo tư thế nằm ngửa. Ghi điện tim bình thường lúc ban đầu bằng máy điện tim

BIOKOMB do Hungari sản xuất với 5 bút ghi. Đã ghi các đạo trình D1, D2, D3, aVR và aVF. Đánh giá điện tim chủ yếu dựa vào D2.

Sau khi chuột ổn định, truyền thuốc vào tĩnh mạch cảnh ngoài bằng bơm truyền tự động BRAUN-UNITA của Đức với tốc độ 0,1ml/100g/phút cho đến khi ngừng tim.

Xác định lượng thuốc gây các biểu hiện độc trên tim qua 4 thời điểm: QRS giãn rộng, biên độ sóng R giảm, loạn nhịp tim và ngừng tim để so sánh xem củ mài và củ cọc, loại nào độc với tim hơn.

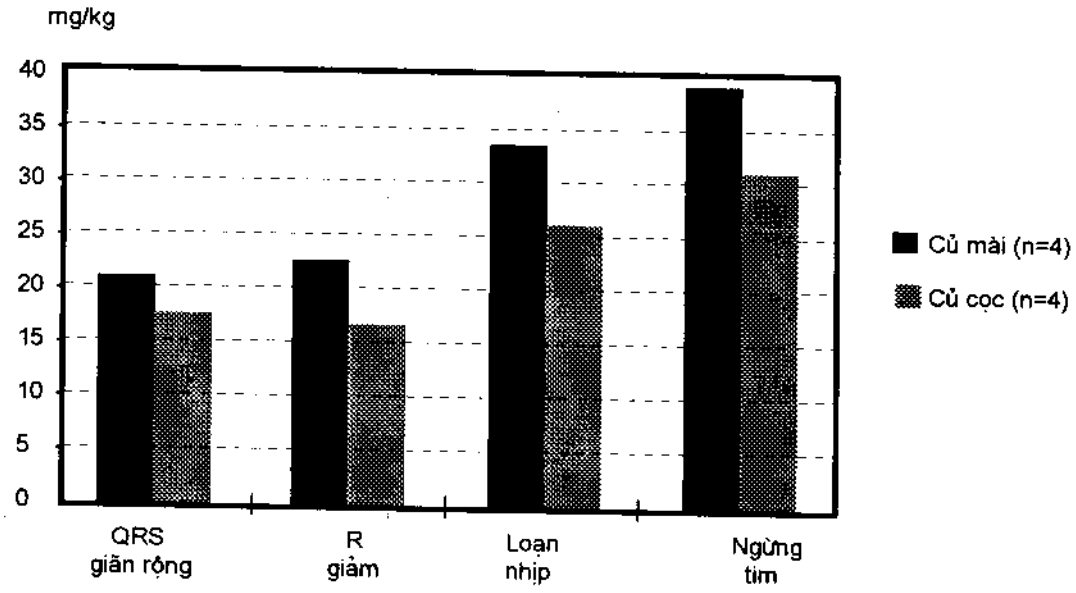
II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Khi truyền liên tục như trên, diễn biến điện tim nói chung theo thứ tự sau:

Trước hết điện tim không có gì thay đổi trong một thời gian khá dài, chứng tỏ thuốc có độc tính thấp đối với tim.

Tiếp tục truyền thuốc thì đến một lúc nào đó, phức hợp QRS giãn rộng, kèm theo biên độ sóng R giảm. Tiếp theo đó là loạn nhịp tim và ngừng tim.

Các liều làm bắt đầu xuất hiện phức hợp QRS giãn rộng, bắt đầu làm biên độ sóng R giảm (≥ 20%); bắt đầu gây loạn nhịp tim và ngừng tim được trình bày ở hình vẽ sau



Liều gây độc của thuốc trên tim

Như vậy, nếu tính liều theo g dược liệu khô cho 1 kg thể trọng thì củ cọc độc hơn củ mài vì liều gây cùng các biến đổi độc trên điện tim và ngừng tim của củ cọc nhỏ hơn củ mài (khoảng trên 20%).

Do hàm lượng chất tan trong cồn khi chiết bằng cồn 70p100 của củ cọc là 2,90% cao hơn củ mài (2,35%) là 23,4%. Cho nên nếu biểu thị theo khối lượng cặn khô chiết ra được bằng cồn 70p100 thì liều độc của củ mài và củ cọc tương tự nhau (xem bảng).

Liều gây nên các thay đổi đặc trưng trên điện tim (tính theo chất chiết khô)

Mẫu thuốc nghiên cứu	*Liều (g/kg) tính theo chất chiết khô gây nên*			
	QRS giãn rộng	*Biên độ R giảm*	*Loạn nhịp tim*	*Ngừng tim*
Củ mài	0,505	0,514	0,759	0,899
Củ cọc	0,536	0,471	0,761	0,887

Bảng trên cho thấy chất gây độc cho tim ở liều cao của củ mài và củ cọc chính là các chất chiết tan trong cồn.

III. KẾT LUẬN

Củ mài và củ cọc ít gây độc trên tim. Phải dùng liều rất lớn (khoảng 20g/kg) mới có thay đổi nhỏ trên điện tim (QRS giãn rộng).

Nếu tính liều theo gam dược liệu khô cho 1 kg thể trọng thì củ cọc độc hơn củ mài.

Nếu tính theo khối lượng chất chiết khô bằng cồn 70p100, thì liều gây ra các biểu hiện độc trên tim như phức hợp QRS giãn rộng, biên độ sóng R giảm, loạn nhịp tim và ngừng tim đều xấp xỉ nhau. Điều đó chứng tỏ chất gây độc cho tim ở liều cao của củ mài và củ cọc, chính là các chất chiết tan trong cồn 70p100.

SO SÁNH CỦ MÀI VÀ CỦ CỌC VỀ TÁC DỤNG TĂNG TRỌNG VÀ HƯỚNG SINH DỤC Ở CHUỘT CÁI

Đỗ Trung Đàm
Vũ Thị Tâm, Nguyễn Thị Thọ

SUMMARY

The effect on weight gain and the gonadotropic effect of the tuber from Dioscorea persimilis Prain et Burkill (I) and Dioscorea glabra Roxb (II) were studied in immature female rats. The results show that I and II failed to increase the weight gain in comparison with control. I and II increased the uterine weight, but only I increased it significantly. Both I and II increased the ovarian weight but no statistic significance.

*
* *

Do yêu cầu của điều trị và sản xuất thuốc, Bộ Y tế có yêu cầu nghiên cứu so sánh tác dụng của củ mài *Dioscorea persimilis* Prain et Burkill và củ cọc *Dioscorea glabra* Roxb. Trong công trình này, chúng tôi xin trình bày kết quả nghiên cứu, so sánh củ mài và củ cọc về tác dụng tăng trọng và hướng sinh dục ở chuột cống trắng cái còn non. Dược liệu nghiên cứu do Công ty Dược liệu Trung ương I cung cấp.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu: củ mài và củ cọc đã gọt vỏ, phơi sấy khô.

Trước khi cho chuột ăn, phải sấy khô rồi tán thành bột mịn. Ở lô chuột đối chứng dùng gạo tẻ, sấy khô rồi tán thành bột mịn như mẫu thuốc.

Động vật thí nghiệm: dùng chuột cống trắng cái, còn non 45-60g.

Phương pháp: tiến hành theo phương pháp BURN(1).

Tiến hành: Hàng sáng cho chuột ăn với liều 20g/kg (trung bình 1g cho một con chuột 50g) vào 9 giờ sáng, một lô cho ăn bột củ mài, một lô cho ăn bột củ cọc, còn lô chứng cho ăn bột gạo tẻ. Từ 11 giờ cho chuột ăn uống như bình thường. Cho chuột ăn như vậy trong 28 ngày.

Sau mỗi tuần, cân lại trọng lượng chuột và liều thuốc được dùng theo trọng lượng mới này.

Hết 4 tuần cân lại trọng lượng chuột lần cuối cùng, rồi giết chuột, bóc tách tử cung, buồng trứng rồi cân tươi ngay.

Coi trọng lượng lúc ban đầu của mỗi chuột là 100%. Trọng lượng chuột sau từng tuần được tính theo phần trăm so với trọng lượng lúc ban đầu.

Ý nghĩa thống kê sinh học của sự khác nhau giữa số trung bình trọng lượng chuột ở các lô được tính sau tuần thứ tư tức là lúc kết thúc thí nghiệm.

Trong lượng tử cung và buồng trứng được tính theo mg/100g trọng lượng chuột và sự khác nhau giữa lô chứng và lô thuốc được tính theo nghiệm pháp "t" của Student.

II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Tác dụng của củ mài và củ cọc trên sự tăng trọng của chuột được trình bày ở bảng 1.

Qua bảng 1 thấy rằng củ mài và củ cọc không có ảnh hưởng có ý nghĩa đến sự tăng trọng của chuột cống cái non so với lô chứng.

***Bảng 1.* Tác dụng của củ mài củ cọc trên sự tăng trọng của chuột cống trắng cái non**

Lô	*Số chuột thử*	*Thể trọng chuột (% so với ban đầu)*					*P*
		Ban đầu	*Tuần 1*	*Tuần 2*	*Tuần 3*	*Tuần 4*	
Đối chứng	10	100	130	159	175	200 ± 11	-
Củ mài	14	100	124	141	171	187 ± 9	>0,3
Củ cọc	13	100	122	151	188	212 ± 12	>0,4

Tác dụng của củ mài và củ cọc trên trọng lượng tử cung của chuột cống cái non được trình bày ở bảng 2

***Bảng 2.* Tác dụng của củ mài củ cọc trên trọng lượng tử cung của chuột cống trắng cái non**

Lô	*Số chuột thử*	*Trọng lượng tử cung (mg/100g)*	*Tử cung tăng (%)*	*P*
Chứng	10	51 ± 4	-	
Củ mài	14	85 ± 9	66,7	<0,01
Củ cọc	13	59 ± 4	15,7	>0,1

Bảng 2 cho thấy củ mài và củ cọc đều làm tăng trọng lượng tử cung so với lô chứng. Nhưng củ mài làm tăng nhiều hơn và có ý nghĩa thống kê, còn củ cọc làm tăng ít và không có ý nghĩa thống kê.

Tác dụng của củ mài và củ cọc trên trọng lượng buồng trứng chuột cống cái non được trình bày ở bảng 3.

***Bảng 3.* Tác dụng của củ mài củ cọc trên trọng lượng buồng trứng của chuột cống trắng cái non**

Lô	*Số chuột thử*	*Trọng lượng buồng trứng (mg/100g)*	*Buồng trứng tăng (%)*	*P*
Chứng	10	4,0 ± 0,6	-	-
Củ mài	14	4,7 ± 0,3	17,5	>0,3
Củ cọc	13	5,1 ± 0,4	27,5	>0,1

Bảng 3 cho thấy củ mài và củ cọc có làm tăng trọng lượng buồng trứng, nhưng không có ý nghĩa thống kê sinh học.

III. KẾT LUẬN

Nghiên cứu tác dụng tăng trọng và tác dụng hướng sinh dục của củ mài và củ cọc ở chuột cống trắng cái còn non cho thấy:

Củ mài và củ cọc không làm tăng thể trọng chuột so với lô chứng.

Củ mài và củ cọc làm tăng trọng lượng tử cung nhưng chỉ có củ mài mới làm tăng có ý nghĩa thống kê.

Củ mài và củ cọc làm tăng trọng lượng buồng trứng nhưng không có ý nghĩa thống kê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Burn, 1952.*

Biological standardisation, Second edition, NXB Oxford University Press.

TÁC DỤNG CỦA CỦ MÀI VÀ CỦ CỌC TRÊN ĐỘ ACID CỦA DỊCH DẠ DÀY Ở CHUỘT CỐNG TRẮNG

Đỗ Trung Đàm,
Nguyễn Thị Thanh, Hà Ngọc Tuyết

SUMMARY

The effect of the extract from Dioscorea persimilis Prain et Burkill (I) and Dioscorea glabra Roxb (II) on the acidity of gastric juice was studied through the gastric perfusion in rats. The results show that I and II increased the acidity of gastric juice (pH was decreased about 0,5). Both I and II decreased similarly the pH degree.

*
* *

Tác dụng của củ mài *Dioscorea persimilis* Prain et Burkill và củ cọc *Dioscorea glabra* Roxb trên độ acid của dịch dạ dày đã được nghiên cứu theo phương pháp GHOSH và SCHILD ở chuột cống trắng.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu: củ mài và củ cọc đã gọt vỏ, phơi sấy khô do Công ty Dược liệu Trung ương I cung cấp.

2. Dạng thuốc nghiên cứu: cao cồn 1: 1 chiết bằng cồn 70 độ. Trước khi dùng đun cách thủy để đuổi hết cồn đi, sau đó thêm nước cất để được tỉ lệ 1: 1 như lúc ban đầu. Liều dùng là 2g/kg tính theo dược liệu khô, bằng cách tiêm thuốc vào tĩnh mạch cảnh.

3. Động vật thí nghiệm: dùng chuột cống trắng, thể trọng 130-180g.

4. Phương pháp: Theo phương pháp GHOSH và SCHILD. Cho chuột nhịn đói 24 giờ. Gây mê bằng chloralhydrat. Luồn một ống polyêtylen vào thực quản. Bộc lộ tĩnh mạch cảnh để tiêm thuốc sau này. Mổ bụng. Luồn 1 ống thủy tinh vào chỗ tá tràng lên phía dạ dày. Đầu kia của ống thủy tinh nối với một ống cao su để chảy ra

ngoài. Bộc lộ dạ dày. Rạch mặt ngoài dạ dày. Bỏ hết thức ăn trong dạ dày. Dùng bông tẩm nước muối sinh lý, loại hết và lau phía trong dạ dáy. Sau đó, khâu vết mổ lại. Đóng bụng chuột lại bằng 2-3 mũi khâu, rồi sưởi ấm chuột để giữ thân nhiệt ở 30-37°C.

5. Truyền dung dịch NaOH 0,00025N chỗ vào là ống polyetylen ở thực quản chỗ ra là ống thoát từ tá tràng. Tốc độ truyền là 1ml/phút. Giữ dịch truyền ở 37°C. Dịch chảy ra được đo pH và lưu lượng vào những thời điểm nhất định.

Bình thường, khi ổn định, pH của dịch chảy ra là 6,0-6,5. Nếu pH ngoài giới hạn trên, phải điều chỉnh dung dịch.

Sau khi dùng thuốc, theo dõi số ml dịch truyền chảy ra trong 1 phút và đo pH vào các thời điểm 1 phút, 3 phút,5 phút,10 phút, 15 phút và 30 phút. Sau đó dùng thêm một liều tích lũy thứ hai. Lại theo dõi như trên.

II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu được trình bày trên bảng 1 và 2.

Bảng 1. **Tác dụng của củ mài trên pH dịch vị chuột cống trắng**

Chuột số		*Sau 1 phút*	*Sau 3 phút*	*Sau 5 phút*	*Sau 10 phút*	*Sau 15 phút*	*Sau 20 phút*
1	6,2	5,4	5,4	5,6	5,8	6,0	6,2
2	6,4	5,8	5,8	6,0	6,2	6,4	6,2
3	6,4	5,6	5,8	5,8	6,2	6,2	6,4
4	6,0	5,6	5,6	5,8	6,0	6,0	6,0
5	6,2	5,8	5,8	6,0	6,0	6,2	6,2
	6,24	5,64	5,68	5,84	6,04	6,16	6,20
	±0,07	±0,08	±0,08	±0,07	±0,07	±0,07	±0,10

Trên mô hình này, những chất kích thích sự tiết dịch vị như histamin, acetylcholin làm tăng độ acid (pH giảm). Ngược lại, những chất ức chế sẽ làm giảm độ acid (pH tăng). Qua thí nghiệm, có thể thấy:

1. Sau khi dùng thuốc được 1 phút, cả củ mài và củ cọc đều làm giảm pH (tăng độ acid) sau đó pH lại tăng lên. Sau 15 phút, một số trường hợp pH trở lại trị số ban đầu (6,0-6,5), nhưng đa số vẫn còn thấp hơn.

Bảng 2. **Tác dụng của củ cọc trên pH dịch vị chuột cống trắng**

Chuột số		*Sau 1 phút*	*Sau 3 phút*	*Sau 5 phút*	*Sau 10 phút*	*Sau 15 phút*	*Sau 20 phút*
1	6,2	5,4	5,6	5,6	6,0	6,0	6,2
2	6,0	5,6	5,6	5,8	5,8	6,0	6,0
3	6,4	5,8	5,6	6,2	6,2	6,4	6,4
4	6,0	5,2	5,4	5,8	5,8	6,0	6,0
5	6,4	5,8	5,8	5,8	6,0	6,2	6,2
	6,20	5,56	5,60	5,84	5,96	6,12	6,16
	±0,09	±0,11	±0,06	±0,10	±0,07	±0,08	±0,07

2. Dùng thuốc lắp lại một lần nữa, pH lại giảm ở tất cả các mẫu thử. Mức giảm từ 0,2 đến 0,6 độ pH. Mặc dù dùng thuốc theo phương pháp tích lũy nhưng mức giảm khi dùng lắp lại thường ít hơn khi dùng lần đầu. Sau đó pH lại tăng lên và thường đến phút thứ 25 thí pH trở lại giá trị ban đầu.

3. Ở đây, chúng tôi thấy có một sự trùng hợp giữa sự giảm độ acid và thể tích dịch truyền tiết ra. Ngay sau khi dùng thuốc, pH giảm đi, đồng thời với thể tích dịch truyền thoát ra giảm đi trên dưới 20%. Theo chúng tôi, đó là do thuốc có tác dụng làm giãn cơ dạ dày, cho nên tuy thể tích dịch truyền vào không đổi, nhưng dịch thoát ra lại giảm đi.

Thông thường dịch thoát ra giảm đi từ khi dùng thuốc đến phút thứ 3, thứ 4. Từ phút thư 5 dịch thoát ra tăng hơn bình thường để bù cho giai đoạn giảm, rồi tới phút thứ 10, dịch thoát ra lại tương đối hằng định.

III. KẾT LUẬN

1. Cả củ mài và củ cọc đều làm tăng độ acid của dịch dạ dày (làm giảm pH của dịch dạ dày khoảng 0,5 độ pH).

2. Mức độ làm tăng độ acid dịch dạ dày của củ mài và củ cọc tương tự nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Ghosh, Schild, 1965.*
Gastric perfusion in the rat, trong "screening methods in Pharmacology", chủ biên TURNER, tập I, trang 222, NXB Academic Press, New York and London, 1965.

NHÂN NHANH *in vitro* CÂY CỦ MÀI BẰNG ĐỐT THÂN

Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Chinh

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kỹ thuật nhân giống củ mài (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk.) ở nước ta cũng như ở nước ngoài hầu như chưa được nghiên cứu. Trong sản xuất (ở quy mô vẫn còn hạn chế), nhân dân thường sử dụng kinh nghiệm cắt lát rễ củ đối với các loài *Dioscorea* khác để nhân giống củ mài. Theo cách này, rễ củ được cắt thành các lát nặng 50-70 g, chấm mặt cắt vào tro bếp, ủ trong cát ẩm cho đến khi nảy mầm rồi đem trồng. Phương pháp này có nhược điểm là hệ số nhân giống thấp và tốn một lượng củ khá lớn (2-3 tấn/ha), đáng lẽ có thể dùng làm thuốc.

Củ mài cũng có khả năng nhân giống bằng hạt, nhưng rất dễ dẫn đến tình trạng phân ly về mặt di truyền. Hơn nữa, khả năng kết hạt của củ mài cũng bị giới hạn bởi đặc tính đơn tính khác gốc của nó.

Những lý do trên đây đã dẫn chúng tôi tới việc "Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* cây củ mài bằng đốt thân".

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đốt thân củ mài được rửa sạch, khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 10 phút và cấy vào môi trường dinh dưỡng.

Môi trường cơ bản (BM) là môi trường MS [1] có cải tiến. Các chất điều hoà sinh trưởng (ĐHST) được cung cấp ở những tổ hợp khác nhau. Độ pH của tất cả các môi trường được điều chỉnh đến 5,8 và thêm 7 g/l thạch, sau đó hấp tiệt trùng ở 0,8 kg/cm^2 trong 40 phút. Mỗi công thức thí nghiệm bao gồm 20-25 lát cắt. Điều kiện phòng nuôi: nhiệt độ 25-27^{0}C, độ ẩm không khí 70%, chu kỳ quang 14 giờ sáng và 10 giờ tối, cường độ chiếu sáng 2000 lux.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Nghiên cứu tái sinh chồi

Ở giai đoạn đầu của quá trình nhân giống *in vitro*, mục tiêu quan trọng nhất là phát động được mầm ngủ hình thành chồi hoặc cụm chồi và kích thích chúng sinh trưởng nhanh.

Việc tái sinh chồi trước hết phụ thuộc vào cân bằng hormon: tỷ lệ cytokinin/auxin cao sẽ kích thích sự hình thành chồi, vì vậy chúng tôi đã sử dụng BAP, một cytokinin điển hình để thực hiện mục tiêu này.

Đốt thân có chứa 1 kẽ lá lấy từ cây củ mài trồng ngoài đồng, sau khi khử trùng, được cấy vào các môi trường bao gồm môi trường cơ bản (BM) và BAP ở các nồng độ: 0,0; 0,1; 0,2 và 0,5 mg/l.

Kết quả cho thấy BAP là điều kiện cần và đủ để phát động chồi, nồng độ BAP thích hợp nhất là 0,2 mg/l. Mỗi kẽ lá thường chỉ hình thành 1 chồi, rất ít trường hợp có 2 chồi.

Trong tất cả các môi trường nói trên, lát cắt củ mài đều thải ra một số chất độc làm cho môi trường biến màu (hiện tượng browning), kìm hãm sự sinh trưởng của chồi. Sau 1 tháng nuôi cấy, chồi cao nhất cũng chỉ đạt 2-3 cm. Để chồi sinh trưởng nhanh hơn, chúng tôi đã bổ sung vào môi trường (BM+0,2 mg/l BAP) các chất NAA (ở nồng độ 0,1; 0,2 và 0,5 mg/l) hoặc GA3 (ở nồng độ 0,1; 0,2 và 0,5 mg/l). Nhưng cả 2 chất này cũng không giúp chồi sinh trưởng vượt qua sự kìm hãm của các độc tố.

Như vậy, rất cần phải khắc phục hiện tượng biến màu. Chúng tôi đã giải quyết vấn đề này bằng các thí nghiệm sau đây:

Sử dụng môi trường lỏng.

Xác định thời điểm lấy mẫu.

Bổ sung vitamin C (ở các nồng độ 25; 50 và 100 mg/l).

Bổ sung than hoạt (ở các nồng độ 0,5; 1,0 và 1,5 g/l).

Kết quả của những thí nghiệm này cho thấy:

Môi trường lỏng không cải thiện được tốc độ sinh trưởng của chồi. Trong môi trường lỏng, các chất độc (do mẫu thải ra) dễ khuếch tán, làm cho nồng độ chất độc ở khu vực gần mẫu giảm nhanh. Có thể đối với củ mài, lượng độc tố thải ra quá nhiều, bão hoà trong môi trường nên tác dụng của khuếch tán không còn ý nghĩa.

Thời điểm lấy mẫu thích hợp nhất là vào tháng 6, tháng 7, nhưng vẫn không loại trừ được hoàn toàn hiện tượng biến màu.

Vitamin C (một chất chống oxy hoá) có tác dụng hạn chế được độ biến màu, nhưng phải dùng ở nồng độ khá cao. Để ổn định độ pH của môi trường cần phải bổ sung KOH, làm cho nồng độ K^+ tăng lên, phá vỡ sự cân bằng về muối khoáng của môi trường và vì vậy, triệt tiêu tác dụng của vitamin C.

Như vậy, không thể ngăn ngừa sự thải độc tố (bằng việc chọn thời điểm lấy mẫu) hoặc hạn chế các độc tố phát huy tác dụng (bằng môi trường lỏng hoặc vitamin C). Cuối cùng, chúng tôi đã dùng than hoạt để hấp phụ. Bổ sung 0,5 g/l

than hoạt vào môi trường đã hấp phụ hết các chất độc, làm cho môi trường trong tạo điều kiện cho chồi sinh trưởng tốt hơn. Sau 1 tháng, chồi dã cao 3-5 cm và sau 2 tháng đạt 7-10 cm, có 4-5 lá thật.

2. Nhân nhanh *in vitro* bằng vi giâm cành

Ở giai đoạn cấy khởi động, trong môi trường BM+0,2 mg/BAP+ 0,5 g/l than hoạt, từ mỗi đốt thân hầu như chỉ hình thành 1 chồi mới và ra rễ rất kém. Để tiếp tục nhân nhanh, chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật vi giâm cành (tạo cây con hoàn chỉnh). Lát cắt có nguồn gốc *in vitro*. Chúng tôi đã nghiên cứu phản ứng của củ mài *in vitro* với 2 nhóm chất chính:

a) Tác dụng của các chất ĐHST

Đốt thân từ cây *in vitro* được cấy chuyền sang các môi trường chứa BAP và NAA với các nồng độ sau đây:

BAP(mg/l)	NAA(mg/l)
0,2	0
0,2	1,0
0,5	1,0
1,0	1,0
2,0	1,0

Kết quả là ở môi trường BM + 1 mg/l BAP + 1 mg/l NA + 0,5g/l than hoạt, củ mài phát sinh hình thái và sinh trưởng tốt nhất. Sau khi cấy truyền 5-7 ngày, kẽ lá bắt đầu phình to và xuất hiện 2-3 chồi. Các chồi này rất mập và sinh trưởng khá nhanh, sau 1 tháng đã dài 6-8 cm, mỗi chồi có 3-5 lá thật và ra nhiều rễ.

b) Tác dụng của nồng độ muối khoáng

Mỗi cây có nhu cầu dinh dưỡng khoáng khác nhau. Nhằm kích thích củ mài sinh trưởng nhanh hơn nữa, chúng tôi đã thử nghiệm 3 nồng độ khoáng là MS, 1/2 MS và 1/4 MS. Kết quả cho thấy môi trường có chứa 1/2 M là môi trường thích hợp nhất đối với củ mài. Trong môi trường này, cây không những sinh trưởng nhanh hơn mà còn có sức sống khoẻ hơn, bộ rễ cũng phát triển tốt hơn cả về số lượng lẫn chất lượng. Sau 2 tháng nuôi trong bình tam giác, cây đã mọc kín bình, 100% số cây ra rễ; mỗi bình cho ít nhất 20 lát cắt để nhân giống tiếp.

Hiện nay, môi trường này (1/2 MS+1 mg/l BAP+ 1 mg/l NA + 0,5 g/l than hoạt) đang được sử dụng để nhân nhanh củ mài. Việc huấn luyện và trồng củ mài *in vitro* ra đồng ruộng đã được thực hiện thành công theo phương pháp đã công bố.

4. Hệ số nhân giống

Ở giai đoạn 1, từ một lát cắt ban đầu có thể tạo ra 4 lát cắt sau 2 tháng. Các lát cắt này có thể dùng để nhân nhanh 4 đợt liên tiếp trong 8 tháng tiếp theo. Hai tháng còn lại trong năm dùng vào việc tạo ra cây con để trồng ra ruộng. Như vậy, từ một lát cắt ban đầu, có thể tạo ra $4x20^5$ cây con hoàn chỉnh trong 1 năm. Trong thực tế, chỉ cần đạt số cây bằng 50% lý thuyết thì hệ số nhân của phương pháp này đã vượt xa phương pháp nhân thông thường.

Trong suốt quá trình nuôi cấy *in vitro*, cây củ mài không trải qua giai đoạn mô sẹo nào nên chúng hoàn toàn đồng nhất về mặt di truyền.

IV.KẾT LUẬN

Ở giai đoạn cấy khởi động, điều kiện cần và đủ để tái sinh chồi củ mài là BAP, nồng độ thích hợp nhất là 0,2 mg/l.

Để loại trừ hiện tượng browning, giúp cây sinh trưởng nhanh, cần phải bổ sung than hoạt với liều 0,5 g/l vào môi trường để hấp phụ các độc tố do mẫu thải ra.

Ở giai đoạn nhân nhanh và tạo cây hoàn chỉnh, môi trường 1/2 MS+ 1 mg/l BAP+ 1 mg/l NA + 0,5 g/l than hoạt cho kết quả tốt nhất. Cây con sinh trưởng nhanh, có đầy đủ thân rễ lá,sau 2 tháng nuôi trong ống nghiệm có thể chuyển ra trồng ngoài đồng ruộng.

Phương pháp này có hệ số nhân cao ($4x20^5$/năm), đảm bảo được độ đồng nhất và ổn định về mặt di truyền.

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Ban chủ nhiệm đề tài KC 08-13 thuộc chương trình CNSH cấp Nhà nước giai đoạn 1991-1995 đã tạo điều kiện về kinh phí và PGS.TS Bùi Thị Bằng (Viện Dược liệu) đã giúp đỡ để thực hiện công trình nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Murashige, T. 1962.
Skoog F. Physiol. Plant. 15, 473-497.

2. *Phạm Văn Hiển, Phạm Kim Mãn, 1996.*
Tạp chí Dược liệu 1 (2), 45-48.

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ BIỆN PHÁP KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG CÂY DIỆP HẠ CHÂU (*Phyllanthus amarus* L.)

Trần Danh Việt, Nguyễn Văn Thuận,
Đoàn Thị Thanh Nhàn, Phan Thị Sang.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây diệp hạ châu (chó đẻ răng cưa, cam kiềm, cỏ trân châu, rút đất) *Phyllanthus amarus* L., Euphorbiaceae. Diệp hạ châu được sử dụng trong đông y như một vị thuốc lợi tiểu, tiêu độc, sát trùng, cầm máu, thông huyết, điều kinh, bổ gan, tăng cường thị lực, hạ sốt, ngoài ra hạ diệp châu còn có tác dụng diệt khuẩn, diệt nấm [1] đặc biệt gần đây nhiều nhà khoa học đã nghiên cứu cây diệp hạ châu làm thuốc điều trị các bệnh về gan. [2].

Do nhu cầu sử dụng cây diệp hạ châu ngày càng lớn nên trữ lượng cây diệp hạ châu trong tự nhiên ngày càng trở nên khan hiếm vì thế việc nghiên cứu quy trình trồng trọt cây diệp hạ châu nhằm ổn định số lượng và nâng cao chất lượng dược liệu là rất cần thiết.

Trong khuôn khổ bài viết này chúng tôi xin đề cập đến vấn đề "Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật nhân giống cây diệp hạ châu".

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Hạt giống dùng làm vật liệu nghiên cứu phương pháp nhân giống hữu tính và các cành giâm dùng làm nguyên liệu nghiên cứu các biện pháp nhân giống vô tính đều được thu từ cây diệp hạ châu 1 năm tuổi.

Nhân giống hữu tính:

- Hạt tươi thu xong gieo ngay.
- Hạt phơi khô bảo quản sau 30 ngày gieo.
- Hạt thu phơi khô đem xử lý bằng dung dịch acid humic ở 3 nồng độ:

0,004%

0.008%

0.012%

Nhân giống vô tính : (bằng hom giâm)

- Hom ngọn
- Hom ở giữa cây
- Hom cắt ở phần gốc

Chiều dài hom 7cm (Có 2-3 mắt đốt)

Tất cả các hom đều dâm trên nền cát.

Hạt được theo dõi tỷ lệ nảy mầm trên đĩa petri ở điều kiện nhiệt độ bình thường.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Để có được thời điểm thu hạt ưu việt nhất chúng tôi đã chọn phương pháp 2 lần bình quân - khi hạt ở phần giữa cây chín và số hạt ở các cuống lá chín đến phần giữa.

Sau đây là kết quả so sánh về tỷ lệ nảy mầm của hạt diệp hạ châu.

Bảng 1. **Kết quả so sánh tỷ lệ nảy mầm của diệp hạ châu**

Công thức thí nghiệm	*Tỷ lệ mọc của hạt sau khi gieo (%)*				
	5 ngày	*10 ngày*	*15 ngày*	*20 ngày*	*25 ngày*
Hạt thu xong gieo ngay	51,06	68,58	75,64	79,98	80,20
Hạt thu phơi khô bảo quản 30 ngày	41,44	54,08	62,90	67,56	69,14

Qua bảng 1 ta thấy: Hạt diệp hạ châu sau khi thu xong gieo ngay (gieo tươi) ở trên nền đất, nền cát và cả trong đĩa petri đều có tỷ lệ nảy mầm cao hơn hạt thu xong phơi khô bảo quản trong 30 ngày ở tất cả các thời điểm theo dõi. Sau 25 ngày tỷ lệ đó cao hơn là 12% - một tỷ lệ đáng kể.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của các nồng độ acid humic (AH) lên tỷ lệ nảy mầm của hạt giống Diệp hạ châu**

Công thức thí nghiệm nồng độ AH	*Tỷ lệ nảy mầm của hạt Diệp hạ châu (%)*					
	2 ngày	*3 ngày*	*4 ngày*	*5 ngày*	*6 ngày*	*7 ngày*
0,004%		5,6	41,3	61,3	64,0	65,3
0,008%		7,7	53,7	67,0	71,7	72,7
0,012%		8,2	59,3	73,7	80,0	82,8
Đối chứng		3,7	32,3	49,7	56,7	58,3

Qua bảng 2 ta thấy AH có tác dụng rất rõ lên tỷ lệ nảy mầm của hạt diệp hạ châu ở tất cả 3 nồng độ từ 0.004% đến 0.008% và tỷ lệ nảy mầm ở các thời điểm cao nhất khi nồng độ AH là 0,012%.

Như đã trình bày ở trên, hạt diệp hạ châu rất khó thu hái để làm giống ở quy mô lớn nên ngoài phương thức sinh sản hữu tính chúng tôi còn nghiên cứu phương pháp nhân giống vô tính đối với diệp hạ châu bằng hình thức giâm cành.

***Bảng 3.* Ảnh hưởng của vị trí hom đến tỷ lệ tạo mô sẹo, ra rễ và tỷ lệ sống của cây diệp hạ châu (%)**

Công thức	*Thời gian*							
	Sau 5 ngày		*Sau 10 ngày*		*Sau 20 ngày*		*Sau 30 ngày*	
	Tạo mô sẹo (%)	*Cây sống (%)*	*Tạo mô sẹo (%)*	*Cây sống (%)*	*Tạo rễ (%)*	*Cây sống (%)*	*Tạo rễ (%)*	*Cây sống (%)*
Hom ngọn	8	100	50	85	63	68	63	63
Hom giữa	13	100	65	92	82	83	82	82
Hom gốc	10	100	53	88	67	70	68	68

Sau 30 ngày giâm hom cây diệp hạ châu trên nền cát tưới đủ ẩm trong điều kiện nhà màn, hom giâm diệp hạ châu đã cho rễ dài 4 - 8,5cm, mỗi hom có trung bình 11,8 rễ, thân lá đã bắt đầu phát triển trở lại.

Rõ ràng các hom giữa của cây diệp hạ châu ở điều kiện bình thường, không dùng chất điều hoà sinh trưởng cũng cho tỷ lệ hom giâm sống đến 82% sau 30 ngày giâm. Tỷ lệ cành giâm sống cao nhất so với 2 vị trí hom giâm còn lại là hom ở phần ngọn và phần gốc.

IV. KẾT LUẬN

Cây diệp hạ châu nhân giống hữu tính: Dùng hạt tươi thu hái xong gieo ngay hoặc có thể xử lý ngâm hạt vào dung dịch acid humic trong 12 giờ cho tỷ lệ nảy mầm trên 80%. Nhân giống vô tính: giâm các đoạn hom giữa thân hoặc giữa cành với đoạn cắt 5-7cm trên nền cát, tưới đủ ẩm cho cây giống trên 80%.

Tuy nhiên ở hình thức hữu tính phơi khô hạt bảo quản ở kho đặc dụng đưa dùng dần mặc dù tỷ lệ nảy mầm thấp (gần 70%) nhưng có ý nghĩa trong sản xuất dược liệu đại trà.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi, 1989.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam.

2. Tạp chí Y học thực hành 6-1996.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA BỘT PHYLLANTHIN

Nguyễn Thượng Dong, Lê Minh Phương, Đỗ Trung Đàm, Quách Mai Loan, Nguyễn Kim Phượng, Lê Việt Dũng, Nguyễn Thị Dung, Phạm Văn Thanh, Nguyễn Thị Minh Khai, Phạm Thanh Kỳ[1], Trịnh Thị Điệp, Nguyễn Ngọc Chi

SUMMARY

Extract from Phyllanthus amarus Schum atthonn has been proved to possess not onlydiuretic effect but also protective activity against hapatitis, fibrosis and free radicals. It has been shown to be very safe for use.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Diệp hạ châu đắng (DHCĐ) có tên khoa học là *Phyllanthus amarus* Schum. Họ thầu dầu Euphorbiaceae. Đây là loài cây mọc hoang phổ biến ở nước ta và nhiều nước trên thế giới. Đã từ lâu, cây diệp hạ châu đắng được sử dụng để chữa đinh râu, mụn nhọt, lở loét, rắn cắn.. và đặc biệt dùng làm thuốc chữa viên gan có hiệu quả. Tác dụng này đã và đang thu hút sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học. Để nâng cao giá trị sử dụng của cây thuốc, chúng tôi xin giới thiệu một số kết quả nghiên cứu về dược lý của loài cây này.

II. CÁC KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ DƯỢC LÝ

1. Tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây nhiễm độc bằng CCl_4

a) Tác dụng bảo vệ gan của cao diệp hạ châu đắng trên Bilirubin (đơn vị tính µmol/l) :

Lô	*n*	*Trước khi tiêm CCl_4*	*3 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*7 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*15 ngày sau khi tiêm CCl_4*
Chứng CCl_4	11	2,13 ± 0,08 100%	3,78 ± 0,34 177,5% P<0,01	3,06 ± 0,27 143,7% P<0,01	2,35 ± 0,26 118,8% P>0,05

[1] Đại Học Dược Hà Nội

CCl_4 + thuốc * (2)	10	2,11± 0,13- 100%	2,50 ± 0,13 118,5 P<0,05	2,25 ± 0,12 106,6% P>0,05	2,16 ± 0,09 102,4% P>0,05
P so sánh giữa (1) và (2)		P>0,05	P<0,01	P<0,02	P>0,05

* Liều 0,65g cao khô/1kg thỏ/ngày, tương đương với liều 7g cây diệp hạ châu đắng khô/1kg thỏ/ngày.

b) Tác dụng của cao diệp hạ châu đắng trên GOT (đơn vị U/l)

Lô	*n*	*Trước khi tiêm CCl_4*	*3 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*7 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*15 ngày sau khi tiêm CCl_4*
Chứng CCl_4 (1)	11	50,0 ± 4,5 100%	210,6 ± 20,7 421,2% P<0,001	150,6 ± 26,5 301,2% P<0,002	90,2 ± 9,0 84,4% P>0,002
CCl_4 + thuốc * (2)	10	52,4± 3,2 100%	83,7± 9,9 159,7% P<0,01	77,8 ± 5,3 148,5% P<0,001	69,8± 5,5 133,2% P<0,02
P so sánh giữa (1) và (2)		P>0,05	P<0,01	P<0,02	P<0,05

c) Tác dụng của cao diệp hạ châu đắng trên GPT (đơn vị U/l)

Lô	*n*	*Trước khi tiêm CCl_4*	*3 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*7 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*15 ngày sau khi tiêm CCl_4*
Chứng CCl_4 (1)	11	117,7 ± 6,3 100%	582,2 ± 69,9 429,9% P<0,001	454,8 ± 39,4 386,4% P<0,001	535,5 ± 34,2 300,3% P<0,001
CCl_4 + thuốc * (2)	10	107,4± 113, 100%	198,7± 31,1 185,0% P<0,01	198,7 ± 24,6 185,0% P<0,01	189,6± 19,2 176,5% P<0,002
P so sánh giữa (1) và (2)		P>0,05	P<0,001	P<0,001	P<0,001

d) Tác dụng của cao diệp hạ châu đắng trên trọng lương thỏ (đơn vị kg)

Lô	*n*	*Trước khi tiêm CCl_4*	*3 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*7 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*15 ngày sau khi tiêm CCl_4*
Chứng CCl_4 (1)	11	2,13 ± 0,04 100%	2,00 ± 0,05 93,9%	2,00 ± 0,05 93,9%	2,00± 0,05 93,9%
CCl_4 + thuốc * (2)	10	207,4± 0,04 100%	2,05± 0,05 99,0%	2,07 ± 0,07 100%	2,07± 0,05 100%

e) Tác dụng của cao diệp hạ châu đắng trên protein toàn phần (đơn vị g/dl))

Lô	*n*	*Trước khi tiêm CCl_4*	*3 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*7 ngày sau khi tiêm CCl_4*	*15 ngày sau khi tiêm CCl_4*
Chứng CCl_4 (1)	11	7,22% ± 0,10 100%	7,03 ± 0,20 97,4% P>0,05	6,69 ± 13 92,4% P<0,05	6,97± 0,14 96,5% P>0,05
CCl_4 + thuốc * (2)	10	6,88± 0,09 100%	6,75± 0,10 98,1% P>0,05	6,77 ± 0,05 98,4% P>0,05	7,07± 0,18 102,8% P>0,05
P so sánh giữa (1) và (2)		P>0,005	P>0,05	P>0,05	P>0,05

f) Tổ chức học

	Lô chứng CCL_4	*Lô dùng thuốc*
Đại thể	Gan mất độ cứng, chắc, màu tím đậm, mặt cắt không thuần nhất	Mật độ gan trung bình, không có xuất huyết, mặt cắt thuần nhất
Vi thể	Toàn bộ các bè gan bị phá hủy, mất ranh giới giữa các bè gan. Tế bào gan bị sưng to, nhiều chỗ tế bào gan bị mất nhân - xuất hiện nhiều huyết quản mới. Thể hiện xung huyết rõ, có những khoảng cửa bị xung huyết chứa đầy hồng cầu - chưa xơ	Cấu trúc gan bình thường - vẫn giữ nguyên cấu trúc của bè gan nguyên vẹn. Ranh giới giữa các bè gan rõ rệt, khoảng cửa rõ với hình ảnh động mạch và ống mật chủ không thấy biểu hiện xung huyết.

Như vậy khi cho thỏ uống cao khô của cây diệp hạ châu đắng với liều 0,65g/1kg/ngày và kéo dài trong 18 ngày thì thấy có tác dụng bảo vệ gan trên thỏ đã bị gây tổn thương gan bằng CCl_4. Ở lô dùng thuốc các chỉ số men gan GOT, GPT và Bilibrubin không tăng, trọng lượng thỏ và chỉ số protein toàn phần ít bị ảnh hưởng, điều này trái ngược hẳn với lô chứng : các chỉ số men gan GOT, GPT và Bilirubin đều tăng, trọng lượng thỏ hơi giảm, còn protein toàn phần giảm có ý nghĩa thống kê ở ngày thứ 7.

2. Tác dụng chống viêm cấp của diệp hạ châu đắng

Tác dụng chống viêm cấp của DHCĐ (cho chuột uống thuốc)

TT	*Liều lượng (gdl khô/kg)*	*Tỷ lệ ức chế phù (%)*	*Xác suất*
1	30	14,2%	P>0,2
2	50	31%	P<0,01

Tác dụng chống viêm cấp của DHCĐ (cho thuốc bằng đường tiêm dưới da)

TT	*Liều lượng (gdl khô/kg)*	*Tỷ lệ ức chế phù (%)*	*Xác suất*
1	10	35,7%	P<0,05
2	15	50,5%	P<0,01
3	25	58%	P<0,05

Như vậy, bột cao khô chiết xuất từ cây chó đẻ răng cưa có tác dụng chống viêm cấp tốt khi cho thuốc bằng đường tiêm và uống. Qua bảng, cũng có thể thấy nếu cho bằng đường tiêm thuốc có tác dụng chống viêm mạnh hơn cho bằng đường uống.

3. Tác dụng chống xơ gan và antioxydant

1) Tác dụng chống xơ gan

a) Hàm lượng collagen gan (mg / 100g gan tươi)

TT	*Lô bình thường n = 8*	*Lô II (xơ chứng) n = 8*	*Lô III (xơ + thuốc) n = 8*	*P*
1	145,9	177,6	157,4	$P_{I\,II}$<0,001
2	138,2	179,5	183,4	
3	135,4	247,7	169,0	$P_{II\,III}$ < 0,05
4	150,7	241,9	163,2	
5	168,9	182,4	150,7	
6	148,8	244,8	158,4	
7	149,8	202,6	175,7	
8	142,1	178,6	176,6	
x ±δ	147,8 ± 3,6	207,4 ± 11,5	167,0 ± 4,0	

b) Nhận định về mặt giải phẫu bệnh gan

	Lô I bình thường n = 8	*Lô II (xơ chứng) n = 8*	*Lô II (xơ thuốc) n = 8*
Đại thể	Mặt gan nhẵn bóng, màu đỏ	Có nhiều hạt nhro nổi lên mặt gan, gan to xốp, màu vàng nhợt nhạt	Mặt gan rỗ nhẹ, mặt gan mịn hơn lô II, gan to, màu vàng xẫm
Vi thể	Tất cả các mẫu gan đều có cấu trúc bình thường	Gan có thoái hóa mỡ rộng, tế bào gan phồng to, thoái hóa hốc, thoái hóa nước, nhân to nhỏ không đều, nhiều nhân to sáng. Thoái hóa nhiều quanh tĩnh mạch trung tâm thùy. Có xơ nhẹ (3 mẫu), xơ vữa (3 mẫ), xơ nặng (2 mẫu)	Thoái hóa như lô II, nhưng nhìn chung mức độ tổn thương nhẹ hơn, đa phần xơ nhẹ hoặc không xơ, có xơ vừa mẫu ; xơ nhẹ (4 mẫu) ; không xơ (3 mẫu)

2) Tác dụng anti- oxidant

Hoạt tính chống oxy hóa của Phyllantin :

STT	*E (mật độ quang) Biểu thị hàm lượng MDA*			*P*
	Lô I (bình thường)	*Lô II (xơ chứng) n = 8*	*Lô II (xơ thuốc) n = 8*	
1	0,268	0,416	0,399	$P_{I\,II}$ <0,001
2	0,292	0,391	0,392	
3	0,227	0,391	0,311	$P_{II\,III}$ < 0,01
4	0,265	0,551	0,291	
5	0,269	0,516	0,309	
6	0,276	0,564	0,255	
7	0,279	0,552	0,460	
8	0,290	0,382	0,259	
x ±δ	0,271 ± 0,007	0,467 ± 0,028	0,328 ± 0,002	
			29,76	
HTCO %				

Các kết quả trên đã chứng minh Phyllantin với liều tương ứng 10g dược liệu /kg/ngày uống liên tục 8 tuần có tác dụng bảo vệ gan tốt trên mô hình gây xơ gan thực nghiệm 12 tuần. Thuốc đã làm giảm hàm lượng collagen gan có ý nghĩa P<0,005. Mức độ tổn thương và xơ trên giải phẫu bệnh lý có dùng thuốc nhẹ hơn so với lô chứng.

Về tác dụng antioxidant : Thuốc dã làm giảm peroxy hóa (MDA) có ý nghĩa P<0,01 và hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của thuốc là 29,76%.

4. Tác dụng lợi tiểu

	Trọng lượng (kg)	*Thể tích nước tiểu trong 6 giờ/ 100g chuột (ml)*	*Số mmol Na^+ trong 6 giờ /100g chuột*	*Số mmol Ka^+ trong 6 giờ /100g chuột*
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Chứng n = 10	165, 0± 2,8	3,11 ± 0,46	0,44 ± 0,09	0,08 ± 0,01

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Chuẩn n = 10	164, 0± 3,0	7,40 ± 0,51 tăng 137,9% P<0,001	0,97 ± 0,12 tăng 120,4% P<0,01	0,13 ± 0,01 tăng 62,5% P<0,01
Thuốc liều 10g/kg n = 10	172,0 ± 3,0	4,38 ± 0,46 tăng 40,8% P>0,05	0,56 ± 0,09 tăng 27,3% P>0,005	0,15 ± 0,01 tăng 87,55% P<0,001
Thuốc liều 20g/kg n = 10	167,0 ± 2,1	5,56 ± 0,57 tăng 78,8% P<0,01	0,76 ± 0,10 tăng 72,7% P<0,05	0,17 ± 0,02 tăng 112,5% P<0,001

Như vậy, cao chó đẻ răng cưa có tác dụng lợi tiểu khá rõ rệt đặc biệt tính theo dược liệu khô là 20g/kg chuột.

5. Độc tính

1) Độc tính cấp

Với liều 500g/kg dược liệu khô cho 1kg chuột (khoảng 1g bột cho 1kg chuột) trong 1 tuần, chuột đều khỏe mạnh và không có con nào chết trong cả lô 10 con. Không tìm được LD50. Điều này cho thấy, cao Diệp hạ châu dắng có độ độc rất thấp do đó an toàn cao trong việc dùng làm thuốc điều trị cho bệnh nhân.

2) Độc tính bán trường diễn

Cao diệp hạ châu đắng khi cho thỏ uống với liều tính theo dược liệu khô 10g/kg/ngày trong 30 ngày liền không biểu hiện nhiễm độc về mặt sinh hóa, huyết học và tổ chức học.

III. KẾT LUẬN

Chế phẩm cao khô do Viện Dược liệu chiết từ cây diệp hạ châu đắng không chỉ tác dụng lợi tiểu mà còn có tác dụng rất tốt trong việc bảo vệ gan, chống viêm gan, xơ gan chống các gốc tự do và đặc biệt có độ an toàn rất cao khi sử dụng. Chúng tôi mong rằng chế phẩm này sẽ góp phần vào nguồn thuốc phòng và điều trị căn bệnh thế kỷ : viêm gan virus.

Kết quả thử độc tính bán trường diễn của cao diệp hạ châu đắng

	LÔ THỎ CHỨNG N = 6			*LÔ THỎ UỐNG THUỐC N = 6*		
	Trước khi uống	*Trong khi uống*	*Sau khi uống*	*Trước khi uống*	*Trong khi uống*	*Sau khi uống*
Cân nặng Đơn vị : kg	2,1 ± 0,09	2,08 ± 0,07 t = 0,08 P>0,05	2,15 ± 0,05 t = 0,50 P>0,05	2,17 ± 0,05	1,99 ± 0,08 t = 1,80 P>0,05	1,98 ± 0,09 t = 2,90 P>0,05
Bạch cầu Đv : 1000/mm^3	7,67 ± 0,38	7,96 ± 0,41 t = 0,52 P>0,05	6,86 ± 0,56 t = 1,19 P>0,05	7,32 ± 0,69	7,42 ± 0,50 t = 0,12 P>0,05	7,26 ± 0,32 t = 0,08 P>0,05
Hồng cầu Đv : triệu/mm^3	4,63 ± 0,14	4,67 ± 0,08 t = 0,09 P>0,05	4,36 ± 0,16 t = 1,23 P>0,05	4,49 ± 0,19	4,37± 0,13 t = 0,55 P>0,05	4,52 ± 0,14 t = 0,12 P>0,05
Hemoglobin Đv : g/l	96,45 ± 6,50	96,51 ± 3,64 t = 0,01 P>0,05	94,63 ± 2,46 t = 0,26 P>0,05	101.04 ± 4,92	100,93 ± 1,63 t = 0,02 P>0,05	95,66 ± 2,32 t = 0,99 P>0,05
Urê Đv : µmol/ml	40,22 ± 4,54	38,87 ± 2,83 t = 0,25 P>0,05	42,58± 2,02 t = 0,47 P>0,05	39,93 ± 2,00	40,53 ± 2,28 t = 0,02 P>0,05	42,39 ± 1,74 t = 0,93 P>0,05
Crreatimin Đv : mg/dl	2,19 ± 0,06	2,09 ± 0,07 t = 1.00 P>0,05	1,99 ± 0,06 t = 2,00 P>0,05	2,1 ± 0,09	2,01 ± 0,04 t = 0,90 P>0,05	2,01 ± 0,05 t = 0,09 P>0,05
Protêin tp Đv : g/dl	7,03 ± 0,28	6,99± 0,08 t = 0,13 P>0,05	6,98 ± 0,14 t = 0,16 P>0,05	7,02 ± 0,29	6,92 ± 0,13 t = 0,32 P>0,05	6,86 ± 0,22 t = 0,44 P>0,05
GOT ĐV : UI/I	50,62 ± 6,43	50,67 ± 6,11 t = 0,01 P>0,05	46,53 ± 7,28 t = 0,42 P>0,05	43,18 ± 2,90	46,94 ± 3,21 t = 0,87 P>0,05	5,40 ± 6,69 t = 0,09 P>0,05
GPT Đv : UI/I	88,90 ± 12,25	100,47± 13,20 t = 0,64 P>0,05	95,13 ± 7,36 t = 044 P>0,05	87,48 ± 4,78	100,04 ± 5,45 t = 1,73 P>0,05	95,43 ± 5,77 t = 1,13 P>0,05

NGHIÊN CỨU HÓA HỌC VỀ HAI LOÀI *Phyllanthus*

Nguyễn Thượng Dong, Phạm Thanh Kỳ[1], *Phạm Văn Thanh, Nguyễn Ngọc Chi, Lã Kim Oanh, Lê Việt Dũng, Trương Vĩnh Phúc, Trịnh Thị Điệp*

SUMMARY

Chemical studies have shown that both Phyllanthus amarus Schum and P. urinaria L contain tanins, flavonoids free sugars, organic acid and carotenoids, of which tanin contents were relatively high (P. urinarria 9,11%, P. amarus 7,78%). The difference between the two species is that P. amarus also contains alcaloids.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, bệnh viêm gan chiếm một tỷ lệ khá cao và việc tìm kiếm thuốc chữa là vấn đề quan tâm của Ngành y tế nước ta và thế giới. Một số cây trong chi *Phyllanthus* đã từng được sử dụng trong y học cổ truyền của các dân tộc để chữa bệnh vàng da cũng trở thành đối tượng nghiên cứu sử dụng ngày càng tăng. Để góp phần vào việc nghiên cứu đó, bài này giới thiệu một số kết quả nghiên cứu sơ bộ của chúng tôi về hóa học của hai loài *Phyllanthus* amrus Schum. và *Phyllanthus urinaria* L.

II. KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM

1. Định tính các nhóm chất chính trong dược liệu

TT	*Nhóm chất*	*Phản ứng định tính*	*CĐRC*		*DHCĐ*	
			KQ	*KL*	*KQ*	*KL*
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
1	Flavonoid	- Phản ứng Cyanidin	++		+	
		- Phản ứng với dd $FeCl_3$ 5%	+++	Có flavonoid	+++	Có flavonoid
		- Phản ứng với kiềm	++			
		- Sắc ký lớp mỏng	+++		++	

[1] Đại Học Dược Hà Nội.

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
2	Alcaloid	- Phản ứng với TT Mayer	-	Không có alcaloid	+	Có alcaloid
		- Phản ứng với TT Dragendorff	-		++	
		- Phản ứng với TT Bouchardart	+++		++	
3	Coumarin	- Phản ứng mở đóng vòng lacton	-	Không có coumarin	-	Không có coumarin
		- Phản ứng diazo	-		-	
4	Anthraglycosid	- Phản ứng Bortraeger	-	Không có anthraglycosid	-	Không có anthraglycosid
		- Phản ứng vi thăng hoa	-		-	
5	Tanin	- Phản ứng với dd gelatin 1 %	+++	Có cả 2 loại tanin	+++	Có cả 2 loại tanin
		- Phản ứng với dd phèn sắt amoni	+++		+++	
		- Phản ứng Styasny :				
		Loại tanin pyrogalic	+++		+++	
		Loại tanin catechic	+++		+++	
6	Glycosid tim	- Phản ứng legal	-	Không có glycosid tim	-	Không có glycosid tim
		- Phản ứng Baljet	-		-	
		-Phản ứng Xanthydrol	-		-	
7	Steroid	- Phản ứng Salkopski	-	Không có steroid	-	Không có steroid
		- Phản ứng Lebermann	-		-	
8	Đường khử	Phản ứng với TT Fehling	++	Có đường khử	++	Có đường khử
9	Acid hữu cơ	Phản ứng với dd Na_2CO_3	+	Có Acid hữu cơ	+	Có acid hữu cơ
10	Chất béo	Phản ứng hơ trên giấy lọc	-	Không có chất béo	-	Không có chất béo
11	Caroten	- Phản ứng theo tài liệu [2]	-	Không có	-	Không có

2. Định lượng các thành phần chính trong dược liệu

1) Định lượng flavonoid toàn phần

Kết quả định lượng flavonoid toàn phần của *P. urinaria* L (CĐRC) và *P. amarus* Schum (DHCĐ)

Lần	*Khối lượng dược liệu (g)*	*Độ ẩm (%)*	*Khối lượng flavonoid (g)*	*Hàm lượng Flavonoid (%)*
1	17,2616	13,82	0,1732	1,16
2	18,7549	13,82	0,1764	1,09
3	17,6526	13,82	0,1853	1,21
4	18,2534	13,82	0,1821	1,15
5	19,7860	13,82	0,1934	1,13
Trung bình *P. urinaria*			1,15 ± 0,06	
1	34,8702	9,82	0,3036	0,96
2	37,5069	9,82	0,3321	0,98
3	32,0690	9,82	0,3045	1,05
Trung bình *P. amarus*			1,00± 0,12	

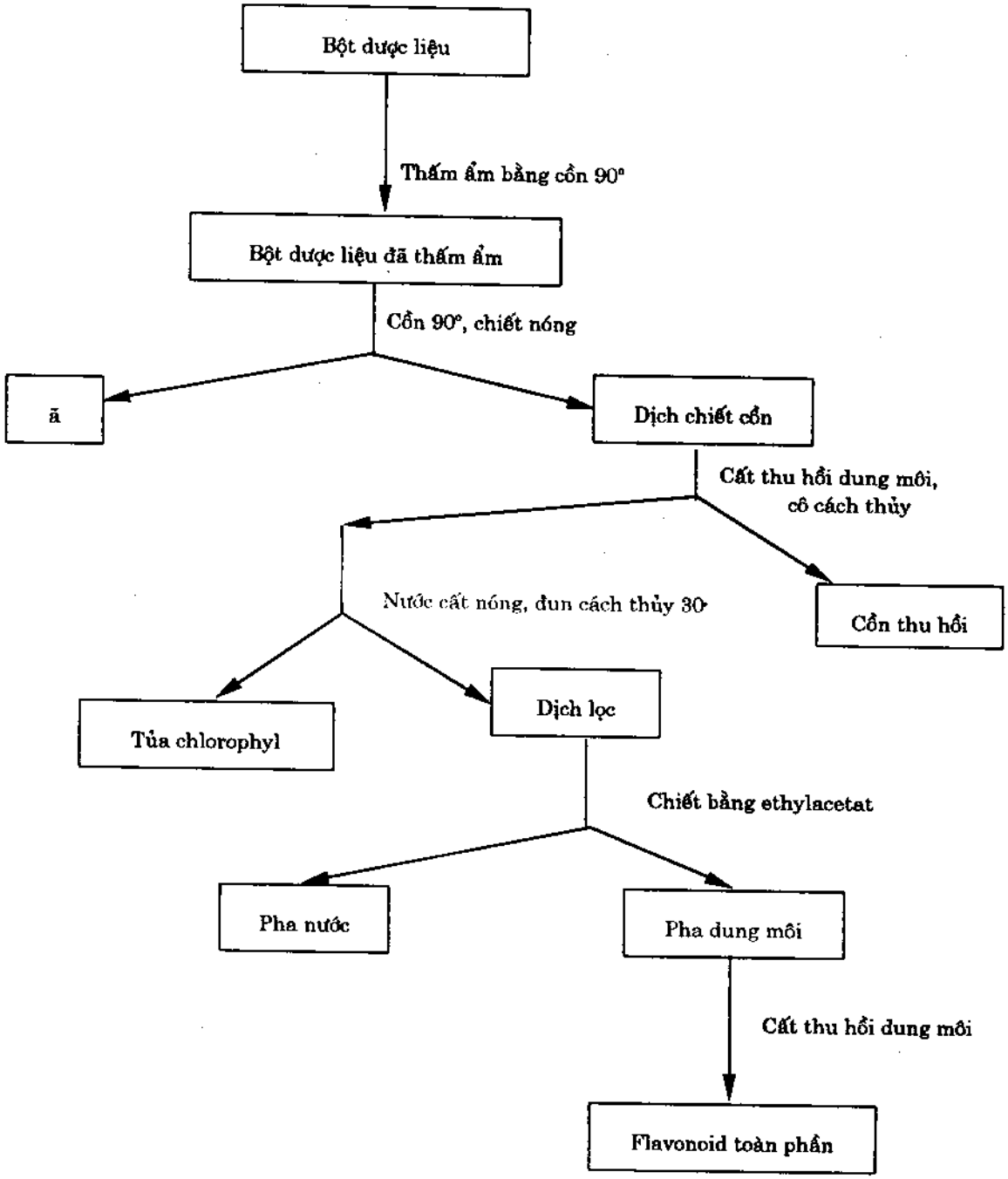
2) Định lượng tanin

Kết quả định lượng tanin của *P. urinaria* L (CĐRC) và *P. amarus* Schum (DHCĐ)

Mẫu	*Số*	*Khối lượng*	*Độ ẩm*	*Số ml*	*Hàm lượng*	*Trung bình*
P. urinaria	1	2,0773	11%	5,6	9,12%	9,11%
	2	2,0273	11%	5,6	9,33%	
	3	2,1022	11%	5,55	8,89%	
P. amarus	1	2,0992	9%	5,1	7,73%	7,78%
	2	2,2235	9%	5,15	7,78%	
	3	2,0708	9%	5,1	7,83%	

3. Chiết xuất flavonoid phần

Việc chiết xuất được tiến hành theo qui trình dưới đây:



4. Phân lập chất

Tách các chất bằng SK cột đối với flavonoid toàn phần của cây *Phyllanthus urinaria* L. thu được 3 chất : HQ (bột), DUNG1 (bột), DUNG4 (kết tinh).

Chất HQ :

- Chất HQ thu được ở dạng bột không màu.

- SKLM với chất hấp phụ là silicagen G (Merck) khai triển trong hệ dung môi $CHCl_3$: AcOH : Aceton (15 : 5 : 2) có Rf = 0,6.

- Phổ UV đo trong MeOH cho λ max : 203nm.

- Phổ IR đo dưới dạng viên nén KBr cho các đỉnh hấp thụ mạnh ở 3500, 2925, 2851, 1736, 1635, 1470, 1390, 1098 ...cm^{-1}.

Chất dung 1 :

Chất dung 1 thu được ở dạng bột màu nâu xẫm.

- SKLM với chất hấp phụ là silicagen G (Merck) khai triển trong hệ dung môi CHCl3 : AcOH : Aceton [15 : 5 : 2] có Rf = 0,36.

- Phổ UV đo trong MeOH cho λ_{max} : 221, 304nm.

- Phổ IR đo dưới dạng viên nén KBr cho các đỉnh hấp thụ mạnh ở 3422, 2925, 1729, 1622, 1387, 1125 ...cm^{-1}.

Chất dung 4 :

CHẤT DUNG 4 thu được ở dạng tinh thể hình kim, có màu vàng nhạt, có điểm chảy F = 205-207°C.

- SKLM với chất hấp phụ là silicagen G (Merck) khai triển trong hệ dung môi $CHCl_3$: AcOH : Aceton [15 : 5 : 2] có Rf = 0,31.

- Phổ UV đo trong MeOH cho λ_{max} : 214, 263nm.

- Phổ IR đo dưới dạng viên nén KBr cho các đỉnh hấp thụ mạnh ở 3800, 2925, 2851, 1736, 1629, 1541, 1226 ...cm^{-1}.

- Phổ khối lượng (MS) cho các pic phân mảnh 71, 83, 113 141, 187 210, 259, 279..m/z. Pic $[M]^+$: 279m/z.

III. KẾT LUẬN

- Kết quả định tính các nhóm chất trong hai loài cho thấy chúng đều có tanin flavonoid, đường khử, acid hữu cơ, caroten, trong đó tanin và flavonoid là thành phần chính, nhưng ở loài *P. amarus* còn có alcaloid, sự khác biệt này cũng có thể giúp cho việc phân biệt 2 loài qua phản ứng định tính.

- Hàm lượng tanin khá cao (*P. urinaria*: 9,11%, *P. amarus*: 7,78) đã phần nào lý giải tính sát trùng, giải độc và chống viêm điều này có liên quan đến tác dụng chữa viêm gan do tác dụng ức chế enzym polimerase DNA nội sinh của virus viêm gan B [30].

- Từ loài *P. urinaria* chúng tôi đã phân lập được 3 chất : HQ, DUNG1, DUNG4 căn cứ vào các phổ thu được dự kiến chúng có thể là những polyphenol, trong đó DUNG4 có thể có cấu trúc flavonon. Để xác định được cấu trúc hóa học, các chất này cần được tiếp tục nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN GIỐNG DƯƠNG CAM CÚC ĐÀ LẠT

Phan Thuỳ Mỹ,
Lê Thị Hạnh, Phạm Ngọc Toản

Dương cam cúc là cây dược liệu quý, có nhu cầu lớn trên thị trường trong nước và trên thế giới. Từ những năm 1980, cây dương cam cúc đã được đưa vào Việt Nam và trồng tại Đà Lạt. Qua 20 năm canh tác, giống đã dần bị thoái hoá, chất lượng giống không đều đã hạn chế nhiều đến năng suất và chất lượng của sản phẩm. Để góp phần khắc phục tình trạng này, trong thời gian qua Trung tâm Trồng chế biến cây thuốc Đà Lạt đã tiến hành nghiên cứu nhằm tuyển chọn lại giống dương cam cúc có năng suất và hàm lượng tinh dầu cao.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu

- Giống cây được chọn sơ bộ từ khu vực sản xuất đại trà trong năm 1998 và gieo trồng chọn lọc trong năm 1999-2000.

2. Phương pháp

- Thí nghiệm được tiến hành tại Trại Dược liệu Cam Ly - Đà Lạt. Bố trí qua các thời vụ khác nhau theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh lặp lại 3 lần, 4 công thức và 1 đối chứng. Diện tích thí nghiệm 1000m^2. Diện tích ô = 32m^2. Nền phân bón chung: phân chuồng 40 cm^3; NPK = 250-150-200(kg/ha).

- Dùng phương pháp tuyển chọn giống hỗn hợp trên cơ sở 4 tốt, kết hợp với biện pháp kỹ thuật canh tác là khoảng cách trồng (5 khoảng cách: M_1 = 25x20cm; M_2 = 25x25cm; M_3 = 30x30cm; M_4 = 35x30cm và M_5 = 25x30cm đối chứng là giống được lấy ngẫu nhiên từ ruộng sản xuất đại trà được trồng với khoảng cách M_5)

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Qua hai vụ tuyển chọn, bước đầu chúng tôi đã thu được một số kết quả như sau:

Sự phụ thuộc của các yếu tố cấu thành năng suất, hàm lượng tinh dầu và năng suất của dương cam cúc gieo trồng

Công thức	*Mật độ*	*Số bông/cây*	*Trọng lượng bông / cây (gr)*	*Hàm lượng tinh dầu ml/100gr*	*Năng suất (tạ/ha)*
1	25x20	177	4.28	0.50	5.73
2	25x25	281	5.38	0.55	6.11
3	30x30	261	5.52	0.62	5.60
4	35x30	241	5.92	0.56	5.45
5	25x30	190	5.23	0.53	5.40
cv (%)					6.2
lsdo. 05					0.2

a) Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất

Qua bảng số liệu cho thấy nhìn chung, giống qua tuyển chọn được trồng ở các khoảng cách khác nhau đều cho năng suất khác nhau và đều cao hơn đối chứng. Năng suất cao nhất là khoảng cách 25x25 cm (6.11 tạ/ha).

Số bông/cây; trọng lượng bông/cây ở các khoảng cách cũng khác nhau. Ở khoảng cách 25x25cm và 30x30cm cho năng suất cao nhất, khoảng 5,6 - 6,11 tạ/ha.

b) Hàm lượng tinh dầu

- Kết quả bảng trên cho thấy hàm lượng tinh dầu ở các công thức đều cao hơn đối chứng. Điều này chứng tỏ việc chọn giống dương cam cúc bằng phương pháp hỗn hợp thực sự đã có hiệu quả. Trước đây hàm lượng tinh dầu của dương cam cúc sản xuất đại trà chỉ đạt từ 0,3-0,53ml/100gr bông khô, đến nay qua hai vụ chọn giống hàm lượng tinh dầu đã đạt từ 0,5-0,62 ml/100gr bông khô (đối chứng là 0,53ml/100gr bông khô).

- Khoảng cách trồng cũng ảnh hưởng nhiều tới hàm lượng tinh dầu, ở đây chúng tôi nhận thấy khoảng cách dày thì lượng dầu thấp và ngược lại. Ở khoảng cách 25x20 cm hàm lượng tinh dầu thấp hơn cả đối chứng. Cây trồng ở khoảng cách 30x30cm là thích hợp nhất.

- Thời vụ: Qua các nghiên cứu sơ bộ cho thấy hàm lượng tinh dầu trong mùa nắng thường cao hơn trong mùa mưa. Hiện nay, chúng tôi đang tiến hành bố trí thí nghiệm để có số liệu cụ thể.

III. KẾT LUẬN

Từ những kết quả thu được qua hai vụ tuyển chọn giống chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

- Quá trình tuyển chọn bằng phương pháp hỗn hợp kết hợp với biện pháp kỹ thuật canh tác bước đầu đã thu được giống có năng suất và hàm lượng tinh dầu cao hơn so với giống được lấy từ trong sản xuất đại trà.

- Cây dương cam cúc gieo trồng ở khoảng cách 25x25cm hoặc 30x30cm là thích hợp nhất, cho năng suất và hàm lượng tinh dầu cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Phạm Chí Thành, 1998.*
Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng. NXB Nông nghiệp.

2. *Vũ Văn Chi, 1998.*
Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học.

3. *Chu Văn Mẫn, 1999.*
Thống kê sinh học. NXB Giáo dục, Hà Nội.

4. Phân tích đất và cây trồng, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1993.

5. *Nguyễn Tiến Bân, Nguyễn Như Khanh dịch, 1979.*
Tập 1,2 - Phương pháp nghiên cứu thực vật, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

6. *Trần Đình Long, 1997.*
Chọn giống cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

CHIẾT XUẤT DIOSGENIN TỪ *Dioscorea floribunda*

Phạm Kim Mãn, Phạm Văn Thanh,
Vũ Kim Thu, Lã Kim Oanh, Trương Vĩnh Phúc

SUMMARY

Dioscorea floribunda is imported from India to Vietnam in 1982. This is one source of material with rather high diosgenin contain, less impurities. Diosgenin extracted method has some following steps as regulated:

- Materia medica is treated into craw powder (size: 1 □ 2mm)

- This materia medica is fermented in liquid environment.

- It is extracted by solvent which is industrial petrol.

- It is refined by crystallizing many times.

Diosgenin cotain of the product is 95% after refining and extracted productivity is about 2%.

Key-words: *Dioscorea floribunda, ferment, extract, industrial petrol.*

*
* *

Để phục vụ công nghệ chiết xuất diosgenin, ngoài việc nghiên cứu nguồn nguyên liệu hoang dại trong nước từ những năm 1980 Viện Dược liệu đã có kế hoạch nhập giống, những giống quan trọng từ nước ngoài về nghiên cứu di thực và trồng trọt. Loài *Dioscorea floribunda* do chúng tôi mang giống từ Ấn Độ về từ năm 1982.

Loài *Dioscorea floribunda* tỉ lệ phát triển sinh khối tốt, hàm lượng tạp chất pennogenin trong sản phẩm tương đối thấp, cây trồng 2 năm đã có thể thu hoạch để chiết xuất.

Nguyên liệu dùng để nghiên cứu chiết xuất trong đề tài này có nguồn gốc từ loài *Dioscorea floribunda* di thực ở Hải Dương (Trạm nghiên cứu Dược liệu và Trạm trồng cây Cầu xe) đem trồng tại Lạc Thủy, Kim Bôi (Hoà Bình) và Trạm Dược liệu Hải Hưng.

Việc nghiên cứu chiết xuất diosgenin từ dược liệu đã có nhiều tác giả nghiên cứu có thể tóm lược theo 3 phương pháp chính sau đây:

- Chiết xuất các glycosid trong dược liệu bằng cồn sau đó thủy phân bằng acid.

- Dùng acid thủy phân toàn bộ dược liệu, sau đó chiết xuất sapogenin bằng dung môi hydrocacbon.

- Lên men nguyên liệu kết hợp thủy phân acid.

Trong trường hợp sau đây chúng tôi sử dụng phương pháp lên men và thủy phân acid.

1. Chuẩn bị nguyên liệu

Nguyên liệu là củ *Dioscorea floribunda* trồng 2 năm, thái thành lát mỏng, phơi khô ngoài nắng hay sấy ở 60° đến khô rồi xay nhỏ bằng máy xay (cỡ hạt khoảng 1 – 2mm).

2. Ủ men trong môi trường lỏng

Bột dược liệu được ngâm vào nước trong dụng cụ bằng nhựa hoặc tráng men với 5 – 6 lần nước 40°, trong quá trình trộn dược liệu với nước nhiệt độ sẽ hạ xuống 36 - 37°C, cho vào thiết bị ủ men giữ nhiệt độ ổn định 38°C ± 0,5°C (bằng hệ thống gia nhiệt có rơle tự động duy trì nhiệt trong thời gian 72 giờ). Thỉnh thoảng khuấy để trộn đều và làm đồng đều nhiệt trong khối phản ứng sinh học.

3. Thủy phân bằng acid vô cơ

Bột dược liệu sau khi đã ủ men, chuyển sang nồi thủy phân (bằng vật liệu chịu acid) cho thêm HCL 10% lượng gấp 7 – 8 lần dược liệu.

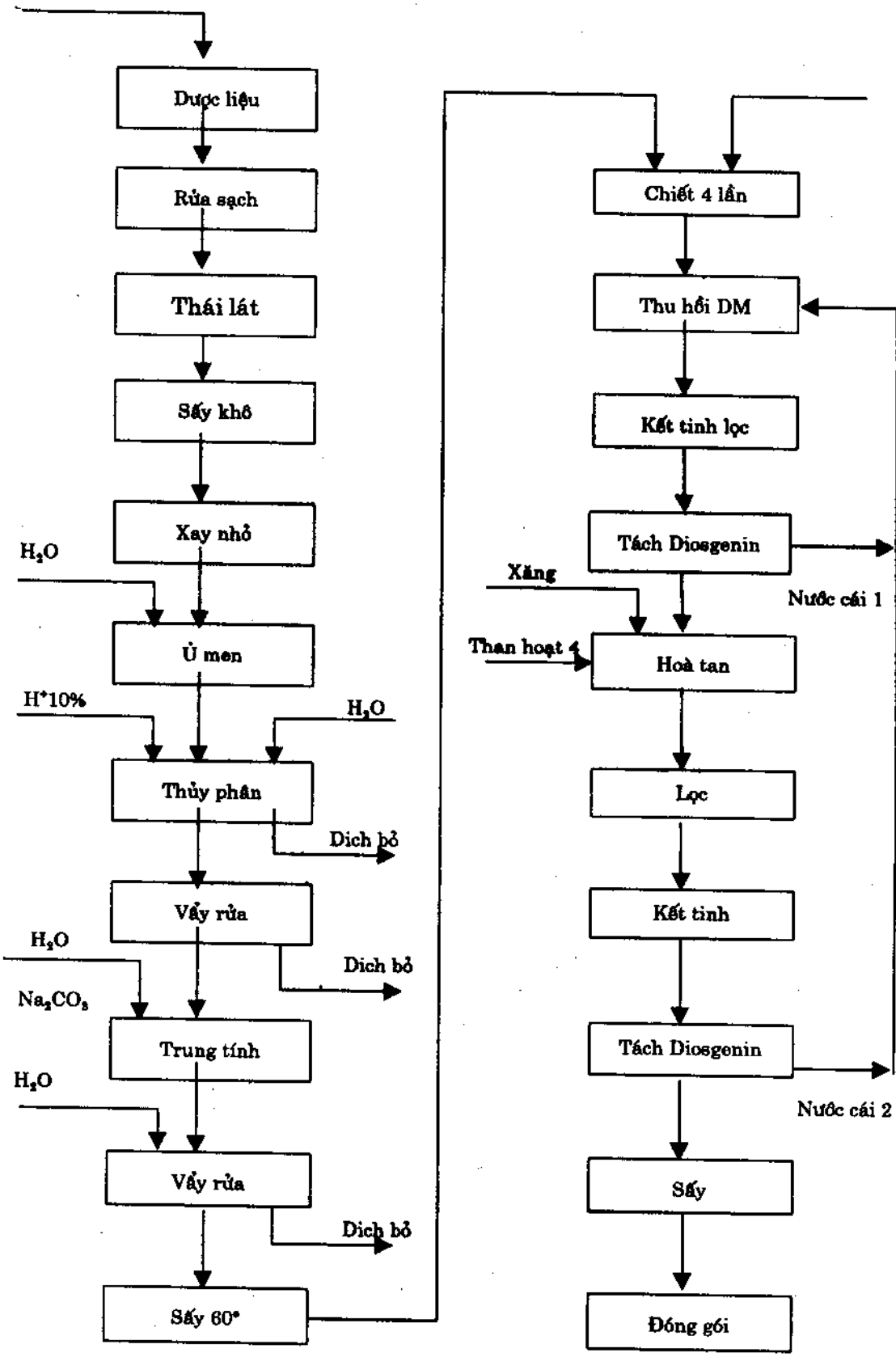
Đun sôi bằng hơi nước dưới áp xuất 0,6atm trong thời gian 4 – 5 giờ.

Dùng van điều chỉnh hơi nước để giữ nhiệt độ thích hợp, giai đoạn đầu chú ý không để tạo quá nhiều bọt gây trào dịch ra ngoài thiết bị.

4. Ly tâm, rửa sản phẩm thủy phân

Tháo hỗn hợp vào máy ly tâm (vật liệu chống acid) vẩy để tách riêng dịch acid. Phần dịch được xử lý và thu hồi dùng lại cho mẻ sau. Phần bột rửa bằng dung dịch kiềm (soda hoặc Na_2CO_3) rồi bằng nước đến phản ứng trung tính. Tãi mỏng bột vào các khay, sấy khô ở nhiệt độ 60°C đạt độ ẩm 5%.

Sơ đồ các giai đoạn công nghệ chiết xuất diosgenin



5. Chiết xuất diosgenin bằng dung môi

Sản phẩm thủy phân đã sấy khô ở trên cho vào máy chiết đa năng đun hồi lưu với xăng công nghệ, tỉ lệ lượng dung môi (xăng) trên sản phẩm thủy phân là 15/1, làm như vậy 4 lần, mỗi lần 4 giờ.

Dịch chiết tập trung lại thu hồi dung môi còn 1/10. Để kết tinh, lọc lấy kết tinh diosgenin thô, rửa kết tinh bằng xăng sạch. Hàm lượng diosgenin trong sản phẩm thô khoảng 90 – 92%.

6. Tinh chế diosgenin

Phương pháp dùng than hoạt:

- Trường hợp sản phẩm chưa đạt yêu cầu về hàm lượng diosgenin (95%) hoặc các sản phẩm thu được ở các giai đoạn kết tinh sau (kết tinh từ nước cái lần thứ 2 hoặc lần thứ 3) thì phải tinh chế lại.

- Hoà tan sản phẩm vào xăng nhẹ hoặc n hexan, trong thiết bị có sinh hàn hồi lưu, cho thêm than hoạt, đun sôi tiếp trong 30 phút, lọc loại than hoạt, thu hồi dung môi để kết tinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *TM. Jefferies R. hardman, 1972.*
Planta medica 22 (1) 78.

2. *R. Hardman, 1972.*
BFM Mỹ 3620 – 913 (CA – 76.449355).

3. *R. Hardman and C.N Wood, 1971.*
Phytochemistry, 10, 757 – 763.

4. *R. Hardman K. Brain, 1971.*
Phytochemistry, 11, 591 – 523.

5. *Phạm Kim Mãn, Nguyễn Văn Đàn, Vũ Kim Thu, Nguyễn Thượng Dong, Đào Hồng Vân, 1985.*
Bằng tác giả sáng chế về kỹ thuật chiết xuất diosgenin loại dược liệu chứa saponin furostan số 022.

TRIỂN KHAI SẢN XUẤT THỬ DIOSGENIN TRÊN QUY MÔ BÁN CÔNG NGHIỆP

Phạm Kim Mãn, Vũ Kim Thu,
Phạm Văn Thanh, Lã Kim Oanh, Trương Vĩnh Phúc,
Lê Quang Toàn[1], Đặng Mậu Thiệu[1], Phạm Thị Quý[1],
Nguyễn Văn Thắng[1], Nguyễn Văn Nghénh[2]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mục tiêu của đề tài cấp nhà nước KY02 -11 là nghiên cứu xây dựng công nghệ chiết xuất diosgenin làm nguyên liệu chế tạo các thuốc steroid. Dựa vào các kết quả nghiên cứu cơ bản về kỹ thuật chiết xuất diosgenin từ các loại nguyên liệu khác nhau ở trong nước. Đề tài đã chuyển sang giai đoạn nghiên cứu sản xuất thử ở quy mô bán công nghiệp. Dựa vào các điều kiện về địa điểm và trang thiết bị việc sản xuất được tiến hành tại : Mỹ Đình (Trung tâm Hóa Dược) và xưởng Pilot của Viện Dược liệu.

II. SƠ ĐỒ CÁC GIAI ĐOẠN SẢN XUẤT (xem trang sau)

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tại Mỹ đình : (Trung tâm Hóa Dược) giải quyết 2 công đoạn :

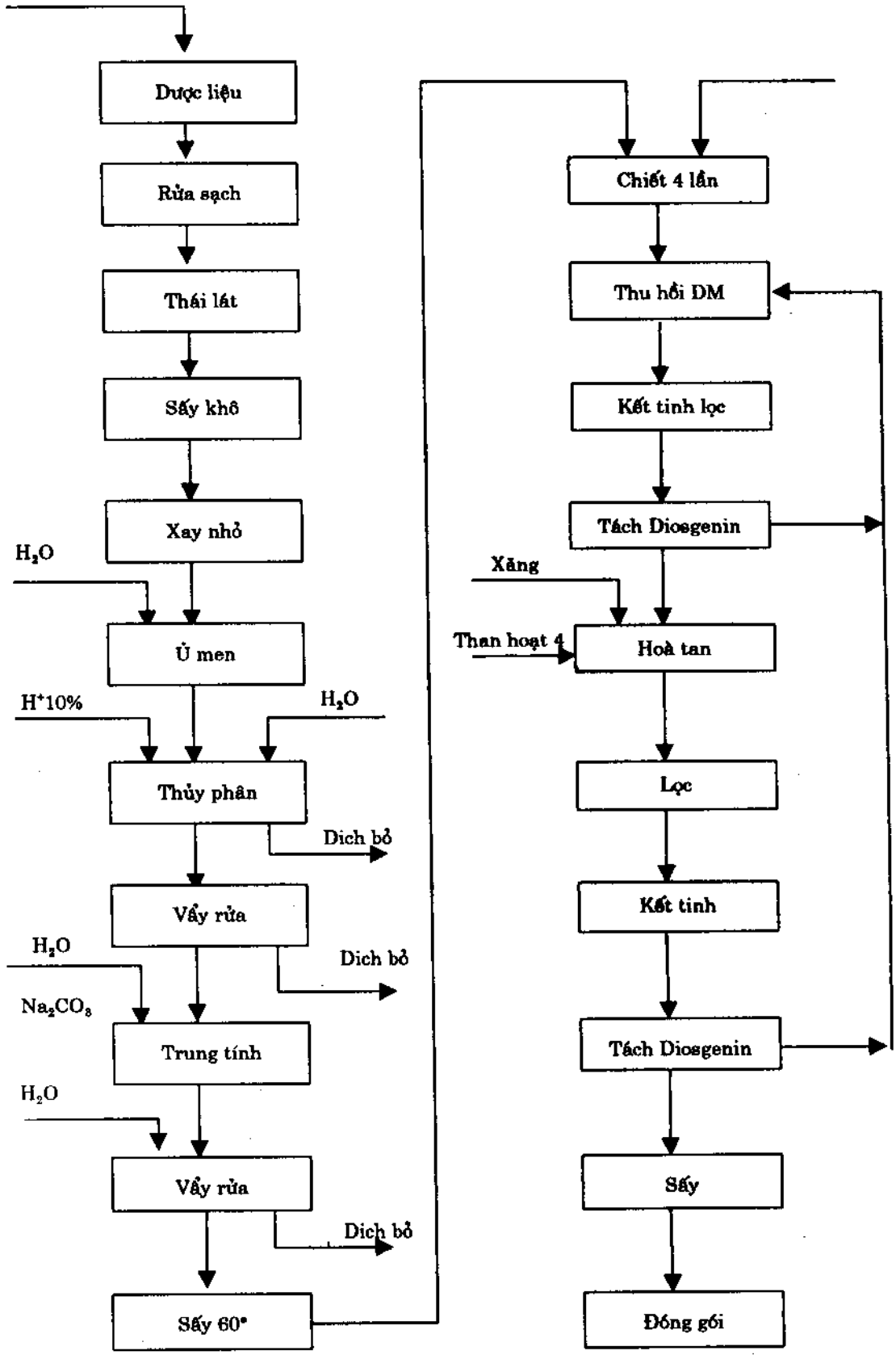
- Làm giàu nguyên liệu
- Thủy phân tạo sản phẩm trung gian có hàm lượng diosgenin cao

Tại Mỹ Đình phải lắp đặt hệ thống thiết bị gồm nồi ủ men, hệ thống thủy phân, bộ ly tâm lọc rửa, bộ sấy chân không trên cơ sở một số máy móc có sẵn của Trung tâm Hoá Dược.

Đến nay, dây chuyền đã lắp đặt hoàn chỉnh thành "một đơn vị" công nghệ chiết xuất diosgenin với 10 tấn nguyên liệu/năm. Trên cơ sở này khi sản xuất lớn sẽ nhân thành nhiều đơn vị. (unit) tùy theo yêu cầu của sản xuất.

[1] Trung tâm Hóa Dược,
[2] Xí nghiệp hóa Dược.

Sơ đồ các giai đoạn công nghệ sản xuất diosgenin



a) Lắp đặt thiết bị

Hệ thống A thực hiện quá trình lên men trong một thiết bị (nồi lên men).

Hệ thống B thực hiện quá trình lên men trong buồng điều chỉnh nhiệt độ.

Hệ thống B tuy thủ công hơn nhưng hoàn toàn phù hợp, khả thi hiệu quả trong điều kiện hiện có của nước ta.

b) Công đoạn biến đổi furostan thành spirostan bằng enzim

Số liệu trung bình 54 mẻ thực nghiệm mỗi mẻ 24kg nguyên liệu.

- Nhiệt độ phản ứng của enzim : 38 ± 0,5.
- Thời gian phản ứng : 68-72 giờ.
- Tỷ lệ nguyên liệu /môi trường : 12kg nguyên liệu đã xay /70 lít dung dịch.
- pH = 6,5

Ở điều kiện phản ứng trên đây, việc lên men xảy ra có hiệu quả. Toàn bộ saponin vòng mở được chuyển hết thành dạng spirostan vòng đóng.

c) Công đoạn thủy phân hóa học

Các thông số tối ưu :

- Acid vô cơ : dùng H2SO4 98% thuận lợi hơn HCL đậm đặc vì ở nhiệt độ phản ứng hơi nước không mang theo acid độc hại và ăn mòn nhà xưởng.
- Nồng độ acid 10% (v/v) H_2SO_4.
- Tỷ lệ nguyên liệu /acid : 1/7 (nguyên liệu làm giàu/dung dịch acid).
- Nhiệt độ thủy phân : 4-6 giờ.

Kết quả kiểm tra thủy phân hoàn toàn.

d) Xử lý sản phẩm thủy phân

- Trung hòa dung dịch bão hòa soda
- Rửa bằng nước nhiều lần mỗi lần dùng 5 lần soda, đến pH trung tính, sấy 60-65°C đến độ ẩm 5%. Dóng gói 10kg trong túi PE và có bao dứa, bảo quản nơi khô ráo.
- Hiệu suất trung bình = 1/3 (3kg dược liệu khô thu được 1kg sản phẩm).

2. Tại xưởng chiết xuất Viện Dược liệu

Tiến hành 2 công đoạn :

- Chiết xuất diosgenin thô từ sản phẩm đã thủy phân.
- Tinh chế diosgenin.

a) Máy móc thiết bị

Sử dụng giây chuyền chiết xuất do UNDP tài trợ gồm :

- Máy chiết đa năng (vừa chiết xuất vừa thu hồi dung môi).
- Máy lọc hút chân không.
- Máy sấy chân không.

b) Chiết xuất diosgenin thô

- Dung môi xăng công nghệ.
- Tỷ lệ dung môi : nguyên liệu : 15 : 1.
- Thời gian chiết 1 lần : 1giờ 30 phút.
- Số lần chiết : 4 lần.
- Hiệu suất trung bình 5-6% tính theo sản phẩm đã thủy phân.
- Chất lượng sản phẩm : 90-92% diosgenin.

c) Tinh chế diosgenin

- Theo phương pháp dùng than hoạt.
- Dung môi xăng công nghệ, hoặc n hexan (dùng cho loại kết tinh từ nước mẹ).
- Sản phẩm cuối cùng đạt ≥95% (phân tích bằng sắc ký lỏng cao áp).

IV. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu thực hiện thành công chiết xuất diosgenin ở quy mô bán công nghệ.

- Thiết bị ủ men (tự thiết kế).

1 đơn vị với công suất 10 tấn nguyên liệu /năm.

- Thiết bị thủy phân (tự thiết kế).
- Dây chuyền chiết xuất và tinh chế (sử dụng trang thiết bị sẵn có của Viện Dược liệu).

Đã chiết thử trên 6 tấn nguyên liệu củ DF (do Viện Dược liệu trồng) cho việc ổn định các thông số trong quy mô sản xuất công nghệ.

Sản phẩm diosgenin chiết được hàm lượng ≥ 95%.

ÁP DỤNG TOÁN QUY HOẠCH THỰC NGHIỆM, XÁC ĐỊNH ĐIỀU KIỆN TỐI ƯU CHO CÔNG NGHỆ CHIẾT XUẤT DIOSGENIN TỪ *Dioscorea floribunda*

Phạm Kim Mãn, Phạm Trương Thị Thọ
Phạm Văn Thanh, Vũ Kim Thu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dựa vào những kết quả nghiên cứu cơ bản về kỹ thuật chiết xuất diosgenin từ các nguyên liệu khác nhau. Áp dụng toán quy hoạch thực nghiệm để xác định các thông số tối ưu cho việc xây dựng quy trình công nghệ chiết xuất diosgenin từ *Dioscorea floribunda* (dự kiến sẽ là nguồn nguyên liệu chủ yếu cho công nghệ sản xuất sau này).

II. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

Đã xây dựng toán ma trận trên 5 yếu tố : nồng độ acid, lượng dung dịch acid, thời gian thủy phân, lượng môi trường ủ men, thời gian ủ men.

1. Xác định các thông số tối ưu theo quy hoạch thực nghiệm

a) Nhân tố

X_1 : Nồng độ acid gốc 8% bước 2%

X_2 : Lượng dung dịch acid gốc 0,8lít bước 0,2 lít

X_3 : Thời gian thủy phân gốc 3h bước 1h

X_4 : Lượng nước ủ : gốc 0,5 lít bước 0,1 lít

X_5 : Thời gian ủ gốc 48h bước 24h

b) Ma trận quy hoạch 2 ($^{5-1}$)

Thí nghiệm	X_1	X_2	X_3	X_4	$X_5 = X_1X_2X_3X_4$
1	+	+	+	+	+
2	-	+	+	+	-
3	+	-	+	+	-
4	-	-	+	+	+
5	+	+	-	+	-
6	-	+	-	+	+
7	+	-	-	+	+
8	-	-	-	+	-
9	+	+	+	-	-
10	-	+	+	-	+
11	+	-	+	-	+
12	-	-	+	-	-
13	+	+	-	-	+
14	-	+	-	-	+
15	+	-	-	-	-
16	-	-	-	-	+

c) Xác định phương trình hồi quy cho quy hoạch thí nghiệm 2 ($^{5-1}$)

• *Mô hình toán*

$$Y = B_0X0 + B_1X1 + B_2X2 + B_3X3 + B_4X4 + B_5X5\ B_{12}X1X2 + B_{13}X1X3 + B_{14}X1X1 + B_{23}X2X3 + B_{34}X3X4 + B_{123}X1X2X3 + B_{124}X1X2X4 + B_{134}X1X3X4 + B_{234}X2X3X4$$

trong đó : Y : Hàm lượng diosgenin, g;

B_i, B_{ij}, B_{ijk} : Các hệ số hồi quy tương ứng của tương tác lớn, tương tác đôi và tương tác ba của các nhân tố X_i, X_iX_j, và $X_iX_jX_k$

• *Xác định hệ số hồi quy*

Giải hệ 16 phương trình đại số tuyến tính thu được từ phương trình hồi quy biểu thị bằng mô hình toán nêu trên theo ngôn ngữ ma trận, được :

$$B = (X^T X)^{-1} X^T Y$$

Trong đó: B : Ma trận cột của các hệ số hồi quy cần tìm;

T : Ma trận quy hoạch các nhân tố của mô hình toán;

X : Ma trận cột của các kết quả thí nghiệm;

$X^T X$: Ma trận ngịch đảo của ma trận tích XTX.

Viết ma trận B dưới dạng ma trận chuyển vị B^T và ma trận Y dưới dạn Y^T với :

Y^T = (2;0,87;3,235;242;0,81;0,51;1,17;1,88;2,04;1,08;0,08;1,38;0,36;0,75;0,37)

Được : B^T = (1,3597; 0,3234; 0,2284; 0,4559; 0,2522; 0,0166; 0,1028; 0,1997
0,1316; 00897; 0,336; 0,00634; 0,0628; 0,0628; 0,0946; 0,0421)

• *Mô hình tuyến tính của quy hoạch thí nghiệm chiết thức xuất diosgenin*

$$Y = 1,3597X_o + 0,3234X_1 + 0,2284X_2 + 0,4559X_3 + 0,2522X_4 + 0,0116X_5$$

• *Kiểm tra tính hợp lý của mô hình tuyến tính thu được theo chuẩn F*

$$F(1/0) = 0,987 < F(0, 05, 10, 15) = 2,54$$

Vậy mô hình tuyến tính tìm được là hợp lý

d) Chuyển dịch thí nghiệm theo mô hình tuyến tính

$$gradY = (0,3234, 0,2284, 0,4559, 0,2522, 0,0016)$$

TT	Trị số mã hóa của nhân tố					Y_k	Y_m
	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5		
Bước 1	0,3234	0,2284	0,4559	0,2522	0,0166		
2 bước	1,2930	0,0910	0,0910	0,0500	0,7900	4,4936	2,55
3 bước	1,9400	0,1360	1,3670	0,0750	1,1880	6,0449	3,01
4 bước	2,5860	0,1820	1,8220	0,1000	1,5800	7,6286	3,24
6 bước	3,8960	0,2720	2,7340	0,1500	2,3760	10,3596	3,30
9 bước	5,8200	0,4080	4,1010	0,2250	3,5640	14,8596	3,38
						$Y_m = 3,38$	

e) Giá trị các nhân tố

Sau khi chuyển dịch thí nghiệm theo mô hình tuyến tính, qua 9 bước chuyển dịch theo gradient với các giá trị mã hóa của các nhân tố X_1, X_2, X_3, X_4, X_5.

Từ đó chúng ta tính ra giá trị thực của mỗi nhân tố ở các bước.

Để đạt được hiệu suất trên 90% so với định lượng chúng tôi chọn các trị số ở bước nhẩy thứ ba để xem xét

$$X_1 = 10\%, X_2 = 0,82, X_3 = 4,8, X_4 = 0,5, X_5 = 76,9.$$

Ở bước nhảy 4,6 và 9 hiệu suất có cao hơn một ít nhưng nồng độ acid quá cao (13,1%, 15,92%, 19,64%) sản phẩm có thể tạo thành diosgenindien.

2. Kiểm tra bằng thực nghiệm các kết quả tính toán

a) Theo dõi sự dóng vòng furostan thành spirostan trong quá trình ủ men

- Sau 24h vẫn còn các vết saponin furostan
- Sau 48h còn một ít saponin vòng F mở
- Sau 72h toàn bộ các saponin furostan đã chuyển thành spirostan

b) Kiểm tra sự tạo thành dien theo nồng độ acid

- Với acid 8% chưa xuất hiện vết dien
- Với acid 10% chưa xuất hiện vết dien
- Với acid 12% có vết dien xuất hiện

c) Kiểm tra sự có mặt của saponin sau thủy phân với nồng độ acid 10% thủy phân sau 4h không còn saponin

III. KẾT LUẬN

Các điều kiện tối ưu cho kỹ thuật chiết xuất diosgenin từ *Dioscorea floribunda* là : Nồng độ acid 10%, lượng dung dịch 0,82lít. Thời gian thủy phân 4h30, lượng nước ủ men 0,5 lit. Thời gian ủ men 72h

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *L.V.asolker, Y.R. Chadra, 1979.*
Diosgenin and other steroid Drug precursors. NewDehi.

2. *Phạm Kim Mãn, Nguyễn Văn Đàn và cộng sự, 1995.*
Nghiên cứu diosgenin từ Dược liệu Việt Nam (báo cáo tại hội nghị nghiên cứu các cây thuốc khối sev).

3. *Douglas C., 1976.*

Montgromery, Design and analysis of experiment. John wiley & sons. NewYork- London- Sydney. Toronto.

4. *Box G.E.P. Wilson K.B, 1951.*

On the Experiment Attainment, N°1, 13.

5. *Phạm Trương Thị Thọ, Trần Hữu Thị, 1984.*

Quy hoạch thực nghiệm toán chiết xuất solasodin từ quả cây cà trái vàng. Tạp chí hoá học, N1, trang 23.

NGHIÊN CỨU TRỒNG *Dioscorea composita* Hemsl (DC) VÀ *Dioscorea floribunda* Mart et Gal. (DF) LÀM NGUYÊN LIỆU CHIẾT XUẤT DIOSGENIN(*)

Nguyễn Gia Chấn, Trần Hùng,
Phạm Kim Mãn, Vũ Kim Thu, Hoàng Anh,
Đỗ Viết Trang, Ngô Ngọc Khuyến, Bùi Thị Bằng,
Đinh Thanh Thủy(1), Nguyễn Nhân Ất(1), Trần Thị Hiền(1),
Nguyễn Quang Quế(1), Nguyễn Công Bột(1).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Diosgenin là nguyên liệu đầu chế các thuốc hormon steroid quan trọng trong y học, đặc biệt là thuốc tránh thai. Nhiều năm qua, Viện Dược liệu đã nghiên cứu nhiều loài cây để tạo nguồn nguyên liệu chiết xuất diosgenin. Trong đó có các loài *Dioscorea*. Nhưng hầu hết các cây trồng đó hàm lượng hoạt chất thấp, trữ lượng ít và không kinh tế. Từ năm 1980-1985 Viện Dược liệu tiếp tục nghiên cứu nhập nội 2 loài DC và DF. Hai loài này đã được trồng và đã trở thành nguồn nguyên liệu chủ yếu sản xuất diosgenin ở Mêhicô và Ấn Độ. Qua nghiên cứu thăm dò nhiều vùng ở Việt Nam, DC, DF tỏ ra sống thích hợp vùng nóng ẩm. Sản lượng sinh khối khá. Hàm lượng hoạt chất cao, nhưng lại có tạp chất pennogenin, nhất là DC cho nên vấn đề đặt ra cần nghiên cứu trên quy mô lớn, tập trung hơn nhằm mục đích xác định vùng trồng thích hợp, điều kiện chăm sóc và chọn lọc giống cho hàm lượng diosgenin cao và tạp chất pennogenin thấp để cung cấp nguyên liệu cho công nghiệp sản xuất diosgenin.

II. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC

Theo Luis A. Gonzalez Leija, năm 1949, Russel Marker đã tìm ra loài *Dioscorea composita* Hemsl, *D. floribunda* Mart & Gal và 1 số loài khác. Các loài này đã được Trung tâm Elpalma (Mêhicô) nghiên cứu trồng. Ở Mêhicô, DC trồng ở vĩ độ $18^0$32B, nhiệt độ 21-28^0C, lượng mưa 2000-3000^{mm}/năm. DC ưa sống khí hậu

(*) Đề tài cấp Nhà nước mã số 64C-03-04 thuộc chương trình KHKT 64C- 1986-1990. Đã được nghiệm thu chính thức ngày 8/6/1991.
(1) Trạm Dược liệu Hải Hưng.

nóng ẩm mưa nhiều, có thể sống trên nhiều loại đất, nhưng thích hợp đất đỏ hoặc đất đen. Tùy khí hậu, đất đai và điều kiện chăm sóc, hàm lượng diosgenin của DC thay đổi 0-13%, của DF 0,2-4%. DC trồng bằng hạt và hom củ. Ở Ấn độ, DF chủ yếu trồng bằng hom củ. Mỗi ha trồng 30.000 - 60.000 cây. Sau 2 năm thu hoạch.

Ở Việt Nam năm 1980 nhập loài DC từ Mêhicô, 1982 nhập DF của Ấn Độ. Bước đầu nghiên cứu, DC, DF sống thích hợp vùng trung du và đồng bằng Bắc Bộ. Hai loài đều có sinh khối khá. Hàm lượng diosgenin của DC: 2,5 - 3%, tạp chất pennogenin 0 - 3,5%, của DF: 3,5 - 4% và tạp chất vết - 5%. Năm thứ 2, DC có hoa quả và hạt.

Qua nghiên cứu thăm dò, sinh khối/cây của DC lớn hơn DF nhưng chất lượng cần được nghiên cứu tiếp tục.

III. PHƯƠNG PHÁP

Công trình nghiên cứu được tiến hành tại nông trường và lâm trường Chí Linh Hải Dương đại diện vùng Trung du. Vùng đồng bằng trồng tại Cầu Xe, Tứ Lộc Hải Dương là vùng đất rộng ven kênh đào Bắc - Hưng - Hải. Các vùng trên có thể sản xuất lớn hàng trăm ha. Diện tích nghiên cứu 500 - 1000m^2. DC, DF còn được nghiên cứu tại Trại thuốc Văn Điển (Viện Dược liệu) và Trạm nghiên cứu Dược liệu Hải Hưng. Trong quá trình nghiên cứu đều theo dõi thời tiết khí hậu và tính chất lý hoá của đất đai. Nghiên cứu mật độ trồng với các công thức 40.000 - 60.000 - 80.000 và 90.000 cây/ha. Dùng tro bếp, vôi bột, $CuSO_4$ 1% và Benlat 0,1% để xử lý hom giống. Chọn lọc giống theo phương pháp cá thể, đã tiến hành khảo sát 400 cá thể cây DC. Thời vụ ươm giống từ tháng 2-8. Tuổi cây ươm từ 1-3 năm. So sánh tỉ lệ mọc giữa các đoạn hom từ đầu gốc đến chóp củ rễ.

IV. KẾT QUẢ

1. Vùng trồng

DC, DF trồng thích hợp vùng trung du và đồng bằng Bắc Bộ. Nhiệt độ trung bình năm 21-23°C, lượng mưa 1500 - 2000 mm. Độ pH: 6,5 - 8 đều trồng tốt. Độ chua phèn không ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng. Đất có độ phì nhiêu cao năng suất sinh khối cao rõ rệt. DC đạt 24 - 26 tấn/ha củ tươi. DF: 25 tấn/ha. Vùng Cầu Xe - Hải Dương, DC cho sinh khối cao, hàm lượng diosgenin khá (2,3%) đặc biệt tạp chất pennogenin giảm thấp (0,08%).

Năng suất và chất lượng DC, DF trồng một số vùng trung du và đồng bằng Bắc Bộ

Nơi trồng	*Ngày thu hoạch*	*Tuổi cây (tháng)*	*Năng suất củ tươi (tấn/ha)*	*Diosgenin (%)*	*Pennogenin (%)*
Dioscorea composita					
Nông trường Chí Linh	13/8/1987	36	24,3	2,6	0,20
Lâm trường Chí Linh	10/8/1987	36	14,0	3,9	0,80
Cầu Xe, Tứ Lộc, Hải Dương	13/4/1990	30	26,1	2,3	0,08
Dioscorea floribunda					
Lâm trường Chí Linh	17/4/1990	30	12,0	2,9	Vết
Trạm NCDL Hải Hưng	13/4/1990	24	25,8	3,3	Vết

2. Kỹ thuật trồng

Thời vụ nhân giống thích hợp tháng 2-3. Tỷ lệ mọc cao 90%. DF trồng mật độ 60.000 cây/ha. DC 40.000 cây/ha. Năng suất cao tới 40 tấn/ha củ tươi. Bón đầy đủ NPK năng suất cao nhất sau đến bón phối hợp NP và bón riêng rẽ P, K. Hàm lượng diosgenin không chênh lệch rõ giữa các công thức bón N, P, K, nhưng so với đối chứng tạp chất pennogenin có chiều hướng giảm. DC, DF nói chung khoẻ, khả năng thích ứng rộng, sâu bệnh hại ít. Chỉ thấy có rệp phát sinh tháng 9-10, chủ yếu hại nụ hoa. Mùa khô tháng 11 - 12, DC có bệnh đốm lá, nhưng mùa xuân hè mưa ẩm bệnh giảm. Nếu mưa kéo dài có bệnh héo lá DF. Có thể dùng Boocđo 1% ($CuSO_4$ + vôi) hoặc Zinep 0,2% phòng trừ.

DC, DF là loại cây leo. Tùy địa phương có nguyên liệu thích hợp làm giàn. Thường làm giàn hình mái nhà. Có thể làm giàn bằng cột xi măng và dây thép. Tuy vốn ban đầu lớn nhưng hiệu quả lâu dài.

3. Nhân và chọn lọc giống

.DC, DF nhân giống hữu tính và vô tính. Ở Việt Nam DF cũng ra hoa và quả. Đã trồng DF từ hạt. Hàm lượng diosgenin tương tự như trồng bằng hom củ (3,3 - 3,4%) tạp chất pennogenin vết. DC, DF ra hoa tháng 9 - 10, chín tháng 4 - 5 năm sau. Hoa nhiều, tỷ lệ kết quả khoảng 60%. DF tỷ lệ kết quả thấp hơn. Chất lượng hạt giống tùy tuổi cây. Cây 2 năm tỷ lệ mọc 24%, 3 năm 50%. Gieo ngay tỷ lệ mọc cao hơn. Tuổi cây giống 7-8 tháng. Tiêu chuẩn củ giống 7-10g. Một ha thu 5 kg hạt. Một kg hạt giống trồng được 1 ha.

Trong sản xuất còn nhân giống bằng hom củ. Tỷ lệ nhân DF cao hơn DC. Ươm giống vào tháng 2 - 3, tỷ lệ mọc cao. Cây 1 năm mọc sớm và tỷ lệ mọc cao hơn cây 2-3 năm. Đầu gốc và chóp củ tỷ lệ mọc cũng cao hơn những đoạn hom giữa củ. Xử lý hom bằng tro bếp, benlat 0,1% tỷ lệ mọc 70-80%.

Để chọn giống DC có hàm lượng diosgenin cao và tạp chất pennogenin thấp, đã tiến hành khảo sát từng cá thể cây. Nhiều cá thể cây DC có hàm lượng diosgenin 2-2,3% và tạp chất pennogenin khá thấp (0,02-0,2%).

Nghiên cứu chiết xuất diosgenin và bán tổng hợp DPA từ DC và DF.

Mục đích : khảo sát ở qui mô pilot việc chiết xuất diosgenin từ DC, DF trồng, thăm dò khả năng sử dụng diosgenin có lẫn pennogenin làm nguyên liệu đầu bán tổng hợp DPA.

Kết quả : **(1) Chiết diosgenin (5 kg dược liệu/mẻ)**

Nguyên liệu	*Hiệu xuất chiết (%)*	*Diosgenin (%)*	*Pennogenin (%)*
DF (Trạm DL Hải Hưng)	2,6	97	5
DC1 (Chí Linh)	1,8	62	30-40
DC2 (Cầu Xe)	2,5	72	20-30

(2) Bán tổng hợp DPA từ diosgenin có lẫn pennogenin

Nguyên liệu	*Pennogenin (%)*	*Hiệu suất DPA (%)*
Diosgenin DF	5	40-45
Diosgenin 95%		40-45
Diosgenin DC1	30-40	18
Diosgenin DC2	20-30	24

Nhận xét:

- Kết quả chiết xuất các mẻ 5kg cho thấy DF cho diosgenin có tạp chất pennogenin thấp (<5%) đạt yêu cầu dùng làm nguyên liệu bán tổng hợp các dẫn chất steroid. Lượng tạp chất pennogenin càng cao, hiệu suất DPA càng thấp.

- Sapogenin của DC vẫn còn nhiều pennogenin (30-40%). Điều này không phù hợp với việc phân tích chọn lọc cá thể của khâu trồng trọt. Các cán bộ nghiên cứu về trồng trọt đề nghị được khảo sát thêm để có sự khẳng định là không do khâu xử lý và chế biến.

V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

DC, DF là cây dài ngày lại là cây nhập nội lấy hoạt chất cho nên nghiên cứu phải đòi hỏi nhiều thời gian mới nghiên cứu thành công được. Tuy vậy, từ những cứ liệu nghiên cứu chúng tôi sơ bộ kết luận và đề nghị như sau:

1. Kết luận

- DC, DF trồng thích hợp 2 vùng trung du và đồng bằng Bắc Bộ. Chúng đều dễ trồng, khả năng thích ứng rộng. Năng suất sinh khối cao 25-26 tấn/ha củ tươi, ở vùng đất đồi sâu màu và đất ven sông.

- Hàm lượng diosgenin của DC 2,5 - 3%, nói chung tạp chất pennogenin còn cao, nhưng qua khảo sát giống bước đầu cho thấy nhiều cá thể cây có tạp chất pennogenin thấp. DF có hàm lượng diosgenin khá hơn DC (3,5-4%) và tạp chất pennogenin thấp hơn ở mọi vùng trồng.

- Kỹ thuật trồng đã được sơ bộ xác định, có thể đảm bảo trồng DC, DF cho năng suất cao về sinh khối và hàm lượng sapogenin.

2. Đề nghị

- Đưa DF ra sản xuất với qui mô lớn. Tiếp tục nghiên cứu tuyển chọn giống DC hàm lượng diosgenin cao và tạp chất pennogenin thấp. Nghiên cứu trồng DC dưới vĩ độ 18^0B.

- Cần quy hoạch vườn giống và bảo tồn quỹ gen DC, DF và 1 số loài dioscorea khác.

- Tiếp tục nghiên cứu triển khai để có căn cứ khoa học và kinh tế chắc chắn góp phần xây dựng vùng trồng tập trung để tạo nguồn nguyên liệu vững chắc cho công nghiệp steroit của nước ta.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Báo cáo nghiệm thu đề tài cấp Nhà nước 64C.03.04 (1986-1990).

2. *Trần Hùng, Phạm Văn Hiển, Đinh Văn My và cộng tác viên, 1985.* Bước đầu di thực một số loài *Dioscorea* ở Việt Nam. Báo cáo Hội nghị y học và cây thuốc nhiệt đới.

3. *Nguyễn Bá Hoạt, Mai Văn Nghị, Đàm Nhận, 1986.* Kết quả nghiên cứu họ Taccaceae và loài râu hùm ở Việt Nam. Thông báo dược liệu số 3, T.18, tr.5 - 10.

4. *Luis A. Gonzalez Leija.*

Algunas investigaciones sobre la domesticacion del barbasco tr.48-64.

5. *U.U.Cerasimenco, E.Tropova, 1968.*

Di thực nhập nội cây dioscorea deltoidea Wall. ở ngoại ô Matscova. Những cây thuốc, sự trồng trọt, T.13. Vilr Matscova (tiếng Nga).

6. *Viana A.M, G.M Felippe, 1988.*

Root formation in cutting of *Dioscorea composita* J.agri.camb. 140, 151-154.

7. *Gupta. S, S.N. Sobti & C.K.Atal, 1979.*

Tuber dormancy in *Dioscorea composita* Hemsl: Effect of growth regulators. Indian, J.Exp.biol. Vol.17, June 1979.

8. *Trần Văn Hùng, Nguyễn Nhân Ất, Nguyễn Văn Thấu, Phạm Thị Lượt, Nguyễn Quang Quế, Phạm Văn Ý, 1986.*

Kết quả bước đầu di thực cây *Dioscorea composita* Hemsl. Ở Việt Nam. Thông báo dược liệu, số 3, T.10, tr. 11-17.

9. *Đỗ Viết Trang, Nguyễn Hoàng Anh, 1986.*

Phân tích các cây có diosgenin bằng sắc ký khí. Thông báo dược liệu số 3, T.18, tr. 25-28.

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *in vitro* CÂY *Dioscorea floribunda* Mart. et Gal. BẰNG LÁT CẮT ĐỐT THÂN

Phạm Văn Hiển, Phạm Kim Mãn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dioscorea floribunda là một trong những cây cho diosgenin quan trọng nhất được nhập vào Việt Nam năm 1982. Để trở thành nguồn nguyên liệu cho công nghiệp, *D. floribunda* cần phải được trồng trên quy mô lớn, có năng suất và chất lượng ổn định. Phương pháp nhân giống hữu tính có thể thỏa mãn được yêu cầu về số lượng cây giống, nhưng lại làm cho hàm lượng diosgenin biến động do hiện tượng phân ly, hơn nữa, cây trồng từ hạt sinh trưởng chậm, lâu cho thu hoạch và năng suất thấp (Bammi and Randhava, 1975). Phương pháp nhân vô tính (cổ điển) đáp ứng được yêu cầu ổn định chất lượng, nhưng hệ số nhân giống lại quá thấp. Từ một cây chỉ nhân được 8-10 cây sau một năm nếu dùng củ, và chỉ được 1-2 cây nếu dùng cuống củ. Củ *D. floribunda* chính là bộ phận dùng để chiết diosgenin. Nếu dùng củ để nhân giống thì mỗi hecta cần 3 tấn củ. Số củ này tương đương với 7,5-8 kg diosgenin. *D. floribunda* cũng có thể nhân giống bằng giâm cành hoặc chiết cành, nhưng phải có hệ thống nhà kính, phun sương, tỷ lệ thành công không cao và cây cũng chậm cho thu hoạch (Chacko and Randhava, 1977). Hạn chế chung của các phương pháp nhân giống vô tính nói trên là hệ số nhân giống quá thấp, không thể sử dụng để nhân nhanh giống mới. Vì vậy, chúng tôi đã nghiên cứu xây dựng quy trình nhân *D. floribunda* (DF) bằng phương pháp *in vitro* nhằm đáp ứng cả hai nhu cầu: có hệ số nhân cao và ổn định được chất lượng của dược liệu.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Lát cắt đốt thân của cành non lấy từ cây trồng ngoài đồng được rửa sạch, khử trùng bề mặt bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 5 phút, tráng kỹ 3 lần bằng nước cất vô trùng và cấy vào môi trường dinh dưỡng. Môi trường cơ bản (BM) là môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có cải tiến, mỗi công thức thí nghiệm được cấy 20 lát cắt. Phòng nuôi được duy trì ở nhiệt độ 25-27^{0}C, độ ẩm không khí 70%, cường độ chiếu sáng khoảng 2000 lux với chu kỳ chiếu sáng là 14 giờ/ngày.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tạo cây con trong ống nghiệm

Các đốt thân được cấy trong các môi trường:

- BM+ 0,1 mg/l NAA
- BM+ 0,2 mg/l NAA
- BM+ 0,1 mg/l NAA+ 2 mg/l Kinetin
- BM+ 2 mg/l Kinetin

Trong tất cả các môi trường nói trên đều có thể thu được cây con hoàn chỉnh. Tuy nhiên, môi trường số một (BM+0,1 mg/l NAA) đã được chọn để sử dụng vì có thể tiết kiệm được hoá chất. Hơn nữa, nồng độ cao của chất điều tiết sinh trưởng (ĐTST) thường không có lợi cho cây nếu thời gian nuôi kéo dài.

Trong môi trường BM+ 0,1 mg/l NAA sau 10-15 ngày, chỗ kẽ lá bắt đầu phình to, mọc rễ, và xuất hiện một hoặc nhiều chồi. Sau 4 tháng, cây này có thể chuyển ra ruộng để trồng sau khi huấn luyện hoặc cấy chuyền sang bình tam giác (250 ml) để tiếp tục nuôi làm bình giống. Trong bình, cây phát triển nhanh tạo thành cây đa chồi và củ siêu bi.

2. Nhân nhanh trong ống nghiệm

Đốt thân từ các bình giống *in vitro* nói trên được cấy sang các môi trường:

BM+ 0,1 mg/l NAA
BM+ 0,2 mg/l NAA
BM+ 0,5 mg/l NAA
BM+ 1 mg/l NAA
BM+ 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l Kinetin.

Kết quả cho thấy: ở môi trường BM + 0,5 mg/l NAA, cây phát triển mạnh nhất. Sau khi cấy chuyền 3 - 5 ngày, 100% số lát cắt bắt đầu hình thành chồi mới từ kẽ lá và sau 15 ngày cây bắt đầu ra rễ. Ở các môi trường khác, tỷ lệ hình thành cây con thấp hơn 20-25%. Những đốt thân già ở gần gốc thường không hình thành chồi. Như vậy, để tạo thành cây con hoàn chỉnh, DF chỉ cần thêm auxin (NAA) ngoại sinh. Điều này chứng tỏ hàm lượng xytokinin nội sinh trong mô DF khá cao.

3. Trồng cây ra ruộng

Sau khi nuôi 45 ngày, cây con có đủ thân, rễ, lá và đủ điều kiện để chuyển trồng ra ruộng. Cách chuyển như sau: cây con lấy ra khỏi môi trường thạch và được

nuôi trong môi trường dinh dưỡng khoáng theo MS nhưng có nồng độ bằng 1/2 nồng độ ban đầu (1/2MS). Sau 10-15 ngày, cây bắt đầu ra rễ mới và được chuyển ra bầu polyethylen chứa đất và phân chuồng hoai mục (tỷ lệ 1:1), nuôi trong bóng râm. Sau đó 15 ngày, chúng được trồng ra ruộng. Phương pháp này đảm bảo 100% số cây sống.

Cây *in vitro* trồng ở ruộng sau 15-20 ngày đã cho củ nặng 2-3 g. Trong suốt quá trình sinh trưởng, không nhận thấy bất cứ một dấu hiệu sai khác gì giữa cây *in vitro* và cây *in vivo*. Tuy nhiên, để thu được năng suất ngang nhau, cây *in vitro* cần có thời gian sinh trưởng dài hơn cây *in vivo* khoảng 6-7 tháng.

3. Hệ số nhân giống

Trong 4 tháng đầu, mỗi lát cắt cấy trong ống nghiệm có thể nhân ra thành 10 bình giống. Mỗi bình giống cung cấp ít nhất 20 lát cắt đốt thân trong vòng 2 tháng. Các củ siêu bi ở phần gốc cây giống có thể cấy truyền để thu các lứa tiếp theo. Như vậy, nếu chỉ khai thác đốt thân từ các bình giống sơ cấp này thì trong năm đầu, từ một lát cắt, có thể thu được 800 cây và 10 bình giống. Tuy nhiên, các đốt thân khai thác từ bình giống sơ cấp cũng có thể cấy liên tục trong bình tam giác để tạo thành các cây giống thứ cấp, tam cấp,...Theo cách này, từ một lát cắt ban đầu, có thể nhân nhanh thành 16.10^5 cây trong năm đầu tiên.

Toàn bộ quy trình không thông qua giai đoạn mô sẹo nên cây con là những cây đồng nhất về di truyền và hoàn toàn giống cây mẹ (Chaturvedi and Sinha, 1979). Quy trình này không những cho phép nhân nhanh cây con đồng thời có thể sử dụng để lưu giữ nguồn gen cây DF.

IV. KẾT LUẬN

1. Đã xây dựng được quy trình nhân nhanh *in vitro* cây *Dioscorea floribunda* bao gồm 3 giai đoạn chính: cấy khởi động, nhân nhanh trong ống nghiệm và huấn luyện trồng ra ruộng.

2. Sử dụng môi trường BM+ 0,1 mg/l NAA cho giai đoạn cấy khởi động và BM+ 0,5 mg/l NAA cho giai đoạn nhân nhanh để đồng thời tạo được cây hoàn chỉnh có cả rễ, thân, lá từ lát cắt đốt thân.

3. Môi trường dinh dưỡng khoáng 1/2 MS trong ống nghiệm rất phù hợp cho việc thích nghi hoá cây *in vitro*, đảm bảo tỷ lệ sống cao sau xử lý và trong vườn ươm.

4. Cây *in vitro* sinh trưởng, phát triển và cho củ bình thường trong điều kiện đồng ruộng. Từ một lát cắt ban đầu có thể nhân nhanh thành 16.10^5 cây trong vòng một năm.

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Ths. Nguyễn Trần Hy, CN. Nguyễn Thị Chinh và CN. Tạ Như Thục Anh đã giúp đỡ trong quá trình thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Bammi, R.K. and Randhawa, 1975.*
GS. *Dioscorea* Improvement Project - Status Report. Indian Institute of Horticultural Research, Bangalore.

2. *Chacko, E.K. and Randhawa, 1977.*
GS. Indian J. of Hortic., 34(I), 72-74.

3. *Chaturvedi, H.C. and Sinha, 1979.*
M. Ext. Bull. No.6 NBRI, Lucknow, India.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU BÁN TỔNG HỢP HỢP CHẤT S- reichstein TỪ 16-DPA

Nguyễn Xuân Cường, *Ngô Ngọc Khuyến*, *Nguyễn Văn Đàn*

I. MỞ ĐẦU

Để tổng hợp hydrocortison người ta có thể đi từ các chất ban đầu khác nhau. Lần đầu tiên các nhà khoa học của phòng thí nghiệm Merck (1) đã tổng hợp từ 20-cyan - Δ^{17}- pregnen-21-ol-3, 11 dion. Có thể đi từ 11- epicortisol chuyển thành hydrocortison (2). Hoặc người ta đi từ pregnen 3α-11α, 17α triol 20-on (3), hoặc từ 11α- hydroxyprogesteron (4). Nhưng quan tâm hơn cả là đi từ cortesolon (tức là hợp chất S-reichstein) để tổng hợp hydrocortison (5), (6), (7), (8). Dựa vào tài liệu và điều kiện Việt Nam, chúng tôi thấy có thể tổng hợp hydrocortison từ hợp chất S-reichstein, vì chất này có thể bán tổng hợp từ 16-DPA (9). 16-DPA được Viện Dược liệu bán tổng hợp từ diosgenin là nguồn nguyên liệu chúng ta có thể chiết được từ các loài *Dioscorea*, mía dò, tacca.v.v... Vì vậy chúng tôi trước hết nghiên cứu bán tổng hợp hợp chất S-reichstein để làm nguyên liệu bán tổng hợp hydrocortison sau này.

II. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

Các chất bán tổng hợp trung gian và hợp chất S-reichstein được so sánh với dẫn chất (Tiệp Khắc, Thuỵ Điển) bằng các phương pháp:

- Đo điểm chảy bằng máy Boeteus của Đức.
- Đo phổ hồng ngoại bằng máy UR-20 Jenar (Đức) trong KBr.
- Sắc ký lớp mỏng hệ dung môi:
  + Dicloethan/etanol (97: 3)
  + Benzen/ethylacetat (9 : 1)

Hiện mẫu bằng H_2SO_4 đặc hoặc cerisulfat trong H_2SO_4 loãng, sấy sắc ký đồ ở 100^0C trong 10-15 phút.

1. Tổng hợp DPA epoxid [2]

20g DPA hoà trong metanol, làm lạnh và cho từ dung dịch 4N KOH, sau đ 40ml H_2O_2 (30%) vào, khuấy đều cho phản ứng, xong, lọc, rửa với metanol lạnh sau với nước đến với trung tính, sấy ở 60°C thu được 18g DPA epoxid.IR (KBr,cm^{-1} 1700cm^{-1} (C = O) ; 3600cm^{-1} (OH), SKLM giống chất chuẩn.

2. Tổng hợp bromhydrin [3]

4g DPA hoà trong aceton, nhỏ từ BHr vào, đun hồi lưu hỗn hợp ở 65°C. Sau kh phản ứng xong để nguội và đổ vào 100ml nước đến trung tính, sấy ở 60 - 80°C, thu được 4,5g bromhydrin, SKLM giống với chất chuẩn.

IR (KBr, cm^{-1}) 1700 cm^{-1} (C = O)

3600 cm-1

3. Tổng hợp Bromhydrinfomiat (BHF) [4]

4,9g Bromhydrin hoà trong acid fomic (85%) khuấy đều, lọc rửa với acid fomi và sấy khô với KOH trong chân không thu được 5g (4).

Điểm chảy 187-189^{0}C (tài liệu 189^{0}C)

IR (KBr,cm^{-1}) 1700cm^{-1} (C = O)

3600cm^{-1} (OH)

SKLM giống như chất chuẩn

4. Chuyển BHF thành Δ5-pregnen - 3β, 17α-diol [5]

25g BHF hoà tan trong 50ml ethylacetat và 1g paladium cacbonat (5%) cho vào máy hydro hoá, theo dõi phản ứng cho đến khi kết thúc. Thu hồi dung môi, lọ tinh thể kết tinh được 2g (5). Chất tạo thành giống như chất chuẩn trên SKLM:

IR (KBr, cm^{-1}) 1700 cm^{-1} (OH)

5. Brom hoá Δ^5-pregnen - 3β, 17α-diol, 20-one, 3-formiat (6) và iod hoá tiếp thành dẫn xuất iod ở C-21 [7]

5g diolformiat hoà trong CH_2Cl_2 khuấy và nhỏ giọt từ từ dung dịch 1,34m brom trong 38ml CH_2Cl_2. Phản ứng xảy ra giải phóng KBr, lúc đầu tan hết, sau đục dần. Rửa hỗn hợp với natri bicarbonat (3lần) và với nước, làm khan với natri sulfat Lọc loại Na_2SO_4 và cho 9,7g NaCl trong 25ml MeOH vào. Để yên 48 giờ nhiệt độ phòng. Sau rửa dung dịch với natri thiosulfat (3 lần) và với nước, làm khan với Na_2SO_4, lọc, thu hồi loại dung môi ở áp suất giảm đến khô. Sản phẩm được làm ngay cho giai đoạn tiếp theo.

6. Tổng hợp Δ5-pregnen - 3β, 17α-triol, 20-one 3-formial-21- acetat [8]

Dung dịch 5g hợp chất iodo (7) thô trong 70ml aceton khan, đun hồi lưu trên bếp cách thủy với 13g kali acetat khan trong 20 giờ.

Sau khi phản ứng xong, cất loại bỏ dung môi ở áp suất giảm đến khô, hoà loãng với nước và lọc tủa, rửa với nước nóng, sấy ở 40°C thu được 5g sản phẩm thô. Tinh chế trong metalnol được 3g sản phẩm sạch. Hợp chất tổng hợp ra có các hằng số hoá lý giống như chất chuẩn.

7. Este hoá [8] thành trieste [9]

Hoà 4g dieste (8) trong 8ml anhydrid acetic và 130mg acid P - toluensulfonic. Khuấy 45 phút ở 80°C trong môi trường khan. Dung dịch thu được để ở tủ lạnh, lọc tủa, rửa với anhydrid acetic, sau với nước, sấy khô ở 60°C, thu được 3,5g trieste. Điểm chảy 199-203°C (tài liệu 203°C). Các hàng số hoá lý chất tổng hợp ra giống như chất chuẩn.

8. Oxy hoá (phản ứng opprnauer) hợp chất trieste [9] thành S-reichstein diacetat [10]

2g trieste hoà trong 60ml toluen khan và 20ml cyclohexanon, cất loại bỏ 10ml toluen. Cho từ từ dung dịch của 2,1g Al-iso propylat trong 10ml toluen khan. Đun hỗn hợp 45 phút, làm lạnh bằng nước đá và cho thêm nước vào dung dịch phản ứng. Cất loại dung môi bằng cất kéo hơn nước. Để nguội, cho thêm nước và lọc qua kieselgur. Sấy khô, chiết tủa với $CHCl_3$ bằng Soxhlet. Cất bỏ dung môi, thu được sản phẩm thô, tinh chế trong metanol được 1,3g. Chất S-diacetat tạo ra hằng số vật lý giống như chất chuẩn IR (KBr, cm-1) 1600cm^{-1}(C = 0), điểm chảy 212-217°C (chất chuẩn 216°C).

9. Thủy phân S-diacetat thành hợp chất S-rechstein [10]

Nhỏ giọt từ từ dung dịch 0,2g KOH trong 1,3ml metanol vào dung dịch 1,3g diacetat (9) trong 10ml MeOH. Khuấy đều trong 80phút ở môi trường nitơ. Sau cho 0,25 acid acetat băng vào cất loại dung môi ở áp suất giảm, hoà cặn với nước lạnh. Lọc và sấy ở 60°C thu được 1g S-reichstein. Điểm chảy 211-212°C (tài liệu 213°C)

IR (KBr, cm^{-1}) 1700cm^{-1} (C = O)

3600 cm^{-1} (OH)

SKLM và các hằng số hoá lý khác giống như chất chuẩn.

III. KẾT LUẬN

Từ 16 - DPA (Viện Dược liệu) chúng tôi đã tổng hợp được hợp chất S-reichstein qua 9 giai đoạn biến.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *NL. Wendler và CS, 1958.*
Amer. chem. Soc 72,5793.

2. *W.S. Alen và CS, 1954.*
J. Amer. chem. Soc 76,6116.

3. *H.L. Hezoy và CS, 1952.*
J. Amer. chem. Soc 74,4470.

4. *O.Maucera và CS, 1953.*
J. Amer. chem. Soc 75,1286.

5. *J.Fried và CS, 1955.*
Recent Prog. Hormone 11,149.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU BÁN TỔNG HỢP CHẤT triolone triacetate TỪ 16-DPA

Nguyễn Văn Đàn, Ngô Ngọc Khuyến

I. MỞ ĐẦU

Để tổng hợp hydrocortison người ta có thể đi từ các chất ban đầu khác nhau. Lần đầu tiên các nhà khoa học của phòng thí nghiệm Merck đã tổng hợp từ 20 - cyan Δ17 - pregnen - 21 - ol - 3, 11. dion (1). Có thể đi từ 11-epicortisol (2). Hoặc người ta đi từ pregnan - 3α-11α, 17α triol-20 on (3), hoặc từ 11α - hydroxyprogesteron (4). Nhưng quan tâm hơn cả là đi từ cortesolon (tức là hợp chất S-reichstein) (5,6,7,8) và gần đây các tác giả Ấn Độ đi từ hợp chất triolone triacetate (9) để tổng hợp hydrocortison. Dựa vào tài liệu và điều kiện Việt Nam, chúng tôi thấy có thể tổng hợp hydrocortison từ hợp chất triolone triacetate (T.T.A), vì chất này có thể bán tổng hợp từ 16 - DPA (10). 16 - DPA đã được Viện Dược liệu bán tổng hợp từ diosgenin là nguyên liệu chúng ta có thể chiết xuất từ các loài diosgenin, mía dò, tacca... Vì vậy trước hết chúng tôi nghiên cứu bán tổng hợp hợp chất T.T.A để làm nguyên liệu bán tổng hợp hydrocortison sau này.

II. KẾT QUẢ

Quá trình bán tổng hợp T.T.A đã được các tác giả Ấn Độ mô tả [9]

III. PHẦN THỰC NGHIỆM

Tất cả các chất trung gian và thành phẩm bán tổng hợp ra đều được so sánh với chất đối chiếu (Tiệp Khắc - Ấn Độ).

Sắc ký lớp mỏng (SKLM) hệ dung môi:

Benzen - etylacetat (9:1)

Benzen - Aceton (9:1)

Hiện màu bằng ceriamoni sulphat.

1. Bán tổng hợp DP epoxy (2)

Trong bình cầu 5 lít cho 16-DPA (100g), metanol (2,5lít) + đá bọt. Đun sôi hồi lưu cho tan. Để ở nhiệt độ phòng còn hơi nóng (A). Để đồng thời dung dịch NaOH 4 (166ml) và H_2O_2 (400ml) vào dung dịch (A), có tủa trắng. Làm lạnh dung dịch dưới vòi nước (B). Để tủ lạnh một đêm, sau đổ toàn bộ một lần dung dịch (B) vào khoảng 10 lít nước + nước đá, khuấy đều, để ở nhiệt độ phòng 2 giờ, lọc lấy tủa. Rửa tủa bằng nước đến khi nước rửa có pH trung tính. Tủa để khô ở nhiệt độ phòng.

Kết quả: Trọng lượng 90g

SKLM: có cùng Rf với chất đối chiếu.

2. Bán tổng hợp epoxy acetat (3)

Trong bình cầu 1 lít cho epoxy (90g), pyridin (200ml). Đậy bình bằng một ống $CaCl_2$. Đun nóng cách thủy cho tan, lọc dung dịch qua bông (A). Rót từ từ vào dung dịch (A) anhydrid acetic (90ml). Đậy nút, để ở nhiệt độ phòng một ngày một đêm, thỉnh thoảng lắc (B). Rót nhanh dung dịch (B) vào khoảng 2,5 - 3 lít nước + nước đá, có khuấy, có tủa trắng. Để ở nhiệt độ phòng 4 giờ. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng nước đến khi nước rửa có pH7. Lọc hút thật khô, sau để khô tiếp ở nhiệt độ phòng.

Kết quả: Trọng lượng 90g.

SKLM: có cùng Rf với chất đối chiếu.

3. Bromohydrin acetat (4)

Trong bình trụ 2 lít cho epoxy acetat (95g), acid axetic (900ml), khuấy đều (A). Làm lạnh (A) bằng đá + nước đá. Nhỏ giọt với tốc độ bình thường hết dung dịch gồm HBr (80ml) + acid acetic (190ml) (B). Giữ cho nhiệt độ dung dịch ở 15^0C. Khuấy tiếp 3 giờ được (C), Rót dung dịch (C) vào khoảng 2 lít đá + nước đá, có tủa trắng. Để ở phòng một đêm. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng nước đến khi nước rửa có pH7. Để khô ở nhiệt độ phòng.

Kết quả: Trọng lượng 90g.

SKLM: có cùng Rf với chất đối chiếu.

4. Hydrogen hoá (5)

Trong bình cầu 10 lít hoà tan nóng nhẹ cách thủy bromohydrin acetat (300g) trong ethanol (5 lít). Để nguội bớt, thêm $Pd/CaCO_3$ 5% (90g). Lắp bình cầu vào hệ thống máy hydrogen hoá. Phản ứng kết thúc, dung dịch được làm nóng, lọc nóng, thu hồi ethanol đến khi bột kết tinh trắng xuất kiện. Để ở nhiệt độ phòng một đêm. Lọc lấy bột kết tinh.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU BÁN TỔNG HỢP CHẤT triolone triacetate TỪ 16-DPA

Nguyễn Văn Đàn, Ngô Ngọc Khuyến

I. MỞ ĐẦU

Để tổng hợp hydrocortison người ta có thể đi từ các chất ban đầu khác nhau. Lần đầu tiên các nhà khoa học của phòng thí nghiệm Merck đã tổng hợp từ 20 - cyan Δ17 - pregnen - 21 - ol - 3, 11. dion (1). Có thể đi từ 11-epicortisol (2). Hoặc người ta đi từ pregnan - 3α-11α, 17α triol-20 on (3), hoặc từ 11α - hydroxyprogesteron (4). Nhưng quan tâm hơn cả là đi từ cortesolon (tức là hợp chất S-reichstein) (5,6,7,8) và gần đây các tác giả Ấn Độ đi từ hợp chất triolone triacetate (9) để tổng hợp hydrocortison. Dựa vào tài liệu và điều kiện Việt Nam, chúng tôi thấy có thể tổng hợp hydrocortison từ hợp chất triolone triacetate (T.T.A), vì chất này có thể bán tổng hợp từ 16 - DPA (10). 16 - DPA đã được Viện Dược liệu bán tổng hợp từ diosgenin là nguyên liệu chúng ta có thể chiết xuất từ các loài diosgenin, mía dò, tacca... Vì vậy trước hết chúng tôi nghiên cứu bán tổng hợp hợp chất T.T.A để làm nguyên liệu bán tổng hợp hydrocortison sau này.

II. KẾT QUẢ

Quá trình bán tổng hợp T.T.A đã được các tác giả Ấn Độ mô tả [9]

III. PHẦN THỰC NGHIỆM

Tất cả các chất trung gian và thành phẩm bán tổng hợp ra đều được so sánh với chất đối chiếu (Tiệp Khắc - Ấn Độ).

Sắc ký lớp mỏng (SKLM) hệ dung môi:

Benzen - etylacetat (9:1)

Benzen - Aceton (9:1)

Hiện màu bằng ceriamoni sulphat.

Kết quả: Trọng lượng 240g;

SKLM: có cùng Rf với chất đối chiếu.

5. Phản ứng gắn brom và gắn iod (6)

Trong bình cầu 2 lít, hoà tan sản phẩm hydrogen hoá (50g) trong CH_2Cl_2 (1lít). Chưng cất thường bớt đi 50ml CH_2Cl_2 (A). Hoà tan brom (20ml) trong CH_2Cl_2 (300ml) (B). Đặt (A) ở máy khuấy từ bình cầu nối với ống 3 nhánh: Một nhánh lắp ống sinh hàn đầu sinh hàn có ống $CaCl_2$ không cho nước chảy, một nhánh lắp bình brom và một nhánh đậy nút. Dung dịch (B) cho vào bình brom. Giỏ (B) vào (A) với tốc độ vừa phải, vừa giỏ vừa khuấy. Khuấy hỗn hợp trên khoảng một giờ, được dung dịch da cam (C). Rửa (C) 2 lần bằng dung dịch natri bicarbonat 10% (500ml x 2), sau rửa bằng natri sulphat, sau đặt ở tủ lạnh 2 tiếng, lọc, cất thu hồi CH_2Cl_2 chân không, được bột kết tinh xốp màu vàng (D). Cho (D) vào bình cầu, thêm aceton (1,5 lít), đậy miệng bình cầu bằng một ống $CaCl_2$, hoà tan nóng cách thủy. Đặt bình cầu ở máy khuấy từ, cho bột Na I vào dung dịch (40g x 3), có khuấy liên tục. Khuấy tiếp ở nhiệt phòng 1 giờ 30 phút, sau để ở nhiệt độ phòng qua đêm (E). Trong bình trụ 10 lít cho khoảng 5 - 6 lít nước + nước đá + dung dịch natri thiosulphat (100g trong nước vừa đủ tan) (F). Đổ nhanh (E) vào (F) vừa đổ vừa khuấy, có tủa vàng chanh, để ở nhiệt độ phòng một đêm. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng nước đến pH7. Để khô ở nhiệt độ phòng.

Kết quả: Trọng lượng 50g.

SKLM: có cùng Rf với chất đối chiếu.

6. Phản ứng acetoxy hoá (7)

Trong bình cầu 2 lít cho sản phẩm gắn iod (50g) và aceton (1lít), đun sôi hồi lưu, đầu sinh hàn lắp ống $CaCl_2$ (A). Thêm vào dung dịch (A) CH_3COOK nung chảy (100g). Đun sôi hồi lưu (A) 20 tiếng. Thu hồi aceton còn 1/3 thể tích, có tủa khi dung dịch đậm đặc (B). Rót (B) vào khoảng 2 lít nước + nước đá, có khuấy, có tủa vàng rơm. Để ở phòng 2 tiếng, lọc lấy tủa, rửa tủa nhiều lần bằng nước, hút kiệt nước, để khô ở nhiệt độ phòng.

Kết quả: Trọng lượng 50g.

SKLM: có cùng Rf với chất đối chiếu.

7. Acetyl hoá (S)

Trong bình cầu 500ml cho sản phẩm acetoxy hoá (50g), anhydrid acetic (200ml), acid p-toluensulphonic (0,5g), lắc đều. Đun sôi hồi lửa 1 giờ, đầu ống sinh hàn có ống $CaCl_2$ (A). Trong bình hình trụ cho sẵn khoảng 2 lít nước + nước đá (B).

Đổ (A) vào (B) được nhựa màu đen. Để ở phòng qua đêm, nhựa rắn lại. Nghiền nhỏ trong nước, lọc và rửa tủa trắng nước đến khi nước rửa có pH7. Lọc hết nước, để khô ở nhiệt độ phòng một đêm. Tinh chế trong hỗn hợp aceton -methanol, sản phẩm T.T.A có màu vàng nhạt hoặc màu trắng.

Kết quả: Trọng lượng 45g.

SKLM: sản phẩm có cùng Rf với mẫu đối chiếu.

IV. KẾT LUẬN

Từ 16 - DPA chúng tôi đã bán tổng hợp được hợp chất triolone triacetat qua 8 giai đoạn biến đổi hoá học. Đây là hợp chất để bán tổng hợp hydrocortison bằng giai đoạn chuyển hoá vi sinh. Hợp chất triolone triacetat bán tổng hợp này đã được so sánh với chất đối chiếu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *N.L. Wendler và Amer, 1958.*
Chem. Soc. 72, 5793.

2. *W.S. Alan và CS.*
J. Amer. Chem. Soc. 76

3. *H. L herzoy và CS, 1952.*
J. Amer. Chem. Soc. 74, 4470.

4. *H. O Mudeera và CS, 1953.*
J. Amer. Chem. Soc. 75, 1286.

5. *H. J. Fried và CS, 1955.*
Reccent Prog. Hermone Res. 11, 149.

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ THUỐC TIÊM KÉP TRÁNH THAI 17 α HYDROXYPROGESTERON

Phạm Thanh Trúc,
Vũ Thị Đậu, Nguyễn Văn Doanh

Từ hoạt chất tổng hợp 17 α hydroxyprogesteron (H.O.P), người ta có thể nghiên cứu nhiều dạng bào chế khác nhau nhằm mục đích điều trị khác nhau. Dưới tên biệt dược như Primolut (Đức), Hormofort (Hungari), Delatulin (Mỹ)...thành phần chỉ có H.O.P. Những thuốc này có tác dụng như progesteron. Còn dưới tên thuốc tiêm kép H.O.P (Trung Quốc), thành phần gồm H.O.P và oestradiol 17β valerat được dùng làm thuốc tiêm tránh thai.

Hiện trong nước chưa có một cơ sở nào nghiên cứu và sản xuất thuốc tiêm tránh thai H.O.P. Trên cơ sở hoạt chất H.O.P nhận được từ phần nghiên cứu bán tổng hợp của đề tài KY 02-12. Chúng tôi nghiên cứu bào chế thuốc tiêm kép tránh thai H.O.P. Trọng tâm phần này chúng tôi nghiên cứu về độ hoà tan của H.O.P trong các dung môi dầu thực vật, về chất trợ tan và trên cơ sở đó xây dựng công thức cho dạng bào chế này.

I. THỰC NGHIỆM

1. Khảo sát độ hoà tan

Khảo sát độ hòa tan của H.O.P dạng base và dạng caproat trong các dung môi dầu thực vật: dầu thầu dầu, dầu lạc, dầu olive, dầu vừng.

Lấy chế phẩm tán nhỏ, cân 0,5 gam với độ chính xác 0,01g cho vào lượng dung môi dự định, đã được làm nóng ở nhiệt độ 50^{0}C, lắc đến khi tan hoàn toàn. Quan sát bằng mắt thường sau 30 phút.

2. Khảo sát chất trợ tan

Cân 0,250g H.O.P caproat (đã được nghiền nhỏ), cho vào ống nghiệm 5ml, chứa sẵn 1ml dung môi dầu, đã được làm nóng ở nhiệt độ 50^{0}C, khuấy kỹ, cho thêm benzyl benzoat lần lượt ở các mức 0,1ml; 0,2ml; 0,3ml, khuấy kỹ trong vòng 10 phút, quan sát bằng mắt thường trong vòng 30 phút.

H.O.P caproat (g)	*Benzyl benzoat (ml)*	*Nhận xét*
0,250	0,1	Hơi tan
0,250	0,2	Tan được
0.250	0,3	Tan

3. Xây dựng công thức bào chế

Thành phần	*Công thức cho ống tiêm 1ml*		
	1	*2*	*3*
H.O.P caproat	0,250g	0,250g	0,250g
Oestradiol 17β valerat	0,005g	0,005g	0,005g
Alcol benzylic	0,02ml	0,02ml	0,02ml
Benzyl benzoat	0,3ml	0,4ml	0,5ml
Dầu pha tiêm vđ	1ml	1ml	1ml

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Độ hoà tan của H.O.P base và H.O.P caproat trong các dầu thực vật

- H.O.P base gần như không tan trong các dung môi dầu thực vật. Để hoà tan 1g H.O.P cần 2400 ml dầu thầu dầu hay 2800 ml dầu lạc, hay dầu vừng, hay dầu olive.

- H.O.P caproat dễ tan hơn nhiều trong các dung môi trên (gấp 50-60 lần). Để hoà tan 1g cần 40 ml dầu thầu dầu hay 60 ml dầu lạc, hay 40 ml dầu vừng, hay dầu olive.

- Độ hoà tan của H.O.P base và caproat trong dầu thầu dầu cao hơn trong các dầu lạc, dầu olive, dầu vừng...

2. Nồng độ chất trợ tan

Thông thường nếu hàm lượng H.O.P caproat cần dùng trong điều trị là 0,250g cho một lần tiêm, thì dung môi cần đủ để hoà tan từ 10 - 14 ml. Vậy nếu muốn sử dụng 1 ml dung môi, thì chất trợ tan benzyl benzoat cần thiết phải dùng tối thiểu là 0,3 ml cho cả bốn loại dung môi khảo sát.

3. Chọn lựa công thức pha chế

Trong ba công thức nêu ra, ở công thức 2, 3 dung dịch tiêm đỡ sánh hơn công thức 1, nhưng lượng benzyl benzoat trong công thức chiếm 40-50% v/v, điều này có thể không có lợi cho sản xuất, chính vì vậy mà chúng tôi chọn công thức 1.

IV. KẾT LUẬN

H.O.P dạng base là một chất khó tan trong các dung môi dầu thực vật. Vì vậy việc tổng hợp H.O.P dạng caproat là cần thiết để sử dụng trong pha chế thuốc tiêm. Việc tìm và xác định nồng độ thích hợp chất trợ tan benzyl benzoat đã giúp ta có thể xây dựng một công thức thuốc tiêm kép tránh thai ổn định, có giá trị, đáp ứng nhu cầu cấp thiết của công tác kế hoạch hoá gia đình theo chủ trương của Ngành, của nhà nước.

Công trình cần được nghiên cứu hoàn thiện hơn để mau chóng đưa đề tài vào sản xuất công nghiệp phục vụ cho nhu cầu trong nước và là tiền đề cho xuất khẩu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Remington's Pharmaceutical Sciences 18th Edition Mack Publishing Company- 1991.

2. Dược điển Trung Quốc 1963 và 1988.

3. *Vidal 1991.*

4. The Merck Index 10th Edition Merck & Co.Jne - USA.

5. *Phạm Thiệp, Vũ Ngọc Thuý, 1994.*
Tra cứu thuốc biệt dược. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU BÁN TỔNG HỢP 16 - DPA TỪ HỖN HỢP DIOSGENIN - PENNOGENIN

Ngô Ngọc Khuyến,
Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Minh Quý

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Căn cứ vào tính đa dạng của khí hậu, đất đai Việt Nam, mấy năm qua Viện Dược liệu đã nghiên cứu di thực một số loài *Dioscorea* với mục đích tìm hiểu đặc tính sinh học và hoạt chất của chúng góp phần nghiên cứu tạo nguồn nguyên liệu sản xuất Steroid. Ba loài *Dioscorea deltoidea* Wall, *D. composita* Hemsl. bà *D. floribunda* là các cây có nhiều giá trị kinh tế (1).

Việc khảo sát hoá học một số cây cho diosgenin ở nước ta gồm các cây mọc hoang dại và các cây đang nghiên cứu di thực và trồng trọt thuộc các họ *Dioscorea*ceae, Zingiberaceae, Taccaceae... Về trạng thái saponin trong nguyên liệu, hàm lượng diosgenin và các tạp chất kèm theo cũng được nghiên cứu. Ở *Dioscorea composita* trồng ở Việt Nam saponin tồn tại trong củ dưới hai dạng furostan và spirostan. Sapogenin thu được gồm diosgenin và pennogenin. Hàm lượng pennogenin trong sản phẩm thay đổi từ vết đến 35%. Ở *Dioscorea floribunda* saponin tồn tại trong cây dưới hai dạng spirostan và furostan. Saponin chủ yếu là diosgenin; ngoài ra còn có pennogenin từ 1 - 5%. Các loài *Dioscorea composita* và *Dioscorea floribunda* trồng ở các vùng khác nhau cho sản phẩm còn lẫn pennogenin. (2)

Điều cần phải chú ý là hầu hết các mẫu *Dioscorea composita* 580 đã phân tích đều có pennogenin. Phân tích các chế phẩm diosgenin chiết ra hoặc xử lý ủ men trước khi chiết từ dược liệu *Dioscorea composita* 580 đều thấy có pennogenin. Về chế phẩm chiết từ *Dioscorea floribunda* Mart. Et. Gal. đều thấy có pennogenin. Như vậy một số loài *Dioscorea* ngoài diosgenin còn có lẫn một tỷ lệ khá pennogenin (3). Nếu giải quyết được tạp chất pennogenin, *Dioscorea composita* sẽ trở thành nguồn nguyên liệu lớn trong sản xuất steroid ở Việt Nam.

Nhằm giải quyết tạp chất này có tác giả đã cố gắng nghiên cứu chuyển hoá pennogenin thành diosgenin bằng hoá học và vi sinh trong quá trình chiết xuất nhưng không đạt được kết quả mong muốn.

Mấy năm gần đây việc nghiên cứu và điều chế 16-DPA làm nguyên liệu cho tổng hợp các hormon steroid và những dẫn xuất steroid khác từ diosgenin (có hàm lượng trên 90%) đã có kết quả (4).

Trên cơ sở đó chúng tôi đặt vấn đề mở rộng nghiên cứu bán tổng hợp 16-DPA từ hỗn hợp diosgenin- pennogenin (tên gọi pennogenin chúng tôi ghi ở đây là theo công bố của các tác giả đã trích dẫn ở trên) hy vọng góp phần tạo nguồn nguyên liệu cho sản xuất steroid.

II. THỰC NGHIỆM

Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là hỗn hợp diosgenin - pennogenin chiết xuất từ *Dioscorea composita* và *Dioscorea floribunda* (chưa biết tỷ lệ thành phần hỗn hợp). Bột silicagel Merck và silicagel VDL dùng cho sắc ký lớp mỏng. Xác định điểm chảy bằng kính hiển vi Boetius.

Quá trình nghiên cứu được tiến hành qua những giai đoạn sau:

1. Axetyl hoá

Hỗn hợp diosgenin - pennogenin được axetyl hoá với anhydrid axetic và pyridin hydroclorua tinh thể ở nhiệt độ sôi. Anhydrid axetic dư thừa sau phản ứng được loại bỏ bằng nước.

2. Oxy hoá

Sản phẩm axetyl hoá được oxy hoá với kali bichromat trong môi trường acid - nước: Phản ứng thực hiện ở lạnh. Dùng khí SO_2 loại bỏ chất oxy hoá dư thừa.

3. Thủy phân và tủa 16 - DPA

Dung dịch sau khi oxy hoá được thủy phân bằng acid ở nóng. Để nguội dung dịch, kết tủa bằng hỗn hợp nước đá + nước. Lọc rửa tủa bằng nước đến trung tính. Để khô ở phòng thí nghiệm, tinh chế trong metanol được 16-DPA tinh khiết. Hiệu suất sơ bộ 25- 27% tính theo hỗn hợp diosgenin - pennogenin (hiệu suất 16-DPA điều chế từ diosgenin có hàm lượng trên 90% là 30 - 40%). Điểm chảy 170 - 172°C (tiêu chuẩn Merck: 170 - 172°C ± 2, tiêu chuẩn Tiệp Khắc: 168 - 172°C, tiêu chuẩn Aldrich Chemical company cho quang phổ hồng ngoại: 166 - 169°C). Sắc ký lớp mỏng silicagel Merck và silicagel VDL, hệ dung môi benzen - ethylaxetat (95 : 5) hiện màu bằng Ceri sulfat trong H_2SO_4 đặc 16 - DPA bán tổng hợp và 16 - DPA mẫu chuẩn Tiệp Khắc có cùng Rf.

III. THẢO LUẬN VÀ KẾT LUẬN

Qua thực nghiệm cho thấy việc bán tổng hợp 16 - DPA từ hỗn hợp diosgenin - pennogenin đã đạt được kết quả bước đầu. Sản phẩm điều chế được là một loại bột màu vàng nhạt ổn định, có điểm chảy xác định 170 - 172°C. Kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng trên sắc ký đồ, vết 16-DPA xuất hiện rõ ràng có cùng Rf với 16-DPA mẫu chuẩn (Tiệp Khắc). Vết diosgenin và pennogenin không còn thấy xuất hiện trên sắc ký đồ kể cả khi kiểm tra sản phẩm 16 - DPA ở dạng thô chưa tinh chế. Điều chú ý là hiệu suất ở đây chỉ bằng khoảng 1/2 so với 16 - DPA điều chế từ diosgenin có hàm lượng trên 90%. Do đó việc sử dụng hỗn hợp diosgenin - pennogenin với tỷ lệ bao nhiêu là thích hợp để điều chế được 16 - DPA kinh tế nhất là công việc cần được tiếp tục xem xét và phải có khảo sát thực tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Trần Hùng, Phạm Văn Hiển, Đinh Văn My và cộng sự.*
Công trình nghiên cứu khoa học Viện Dược liệu 1972 - 1986, Nhà xuất bản Y học, trang 93- 94.

2. *Phạm Kim Mãn, Nguyễn Văn Đàn, Đào Hồng Vân.*
"Sách đã dẫn", trang 95 - 98.

3. *Đỗ Viết Trang, Nguyễn Hoàng Anh.*
"Sách đã dẫn", trang 113 - 114.

4. *Ngô Ngọc Khuyến, Nguyễn Văn Đàn, Vũ Quang Hưng, Nguyễn Minh Quý.*
"Sách đã dẫn", trang 105.

NGHIÊN CỨU BÁN TỔNG HỢP THUỐC NGỪA THAI 17α - HYDROXYPROGESTERON TỪ 16 – DPA (16 Dehydropregnenolon acetat)

(Mã số KY 0212 (01) - Viện Dược liệu)

Ngô Ngọc Khuyến
Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Minh Quý

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thuốc 17 α - hydroxyprogesteron (Caproat) là hoạt chất dùng làm thuốc ngừa thai có tác dụng tương đối dài, do ức chế rụng trứng, khi ngừng dùng thuốc lại có thể sinh đẻ bình thường.

Chúng tôi nghiên cứu bán tổng hợp 17α - hydroxyprogesteron từ nguyên liệu ban đầu là 16 - DPA, điều chế từ diosgenin, cả hai chất này đều được sản xuất ở Việt Nam.

II. KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM

1. Epoxy hoá 16-DPA (I) thành 16 - DP epoxy (II)

Trong Erlenmeyer cho 16 - DPA (10g). $CHCl_3$ (20ml), lắc đều thành nhũ dịch. Sau đó làm lạnh bằng nước đá + nước. Khuấy 10-15 phút thêm KOH 4N (20ml) và H_2O_2 (20ml) khuấy tiếp 1 giờ. Hỗn hợp để yên 24 giờ có tủa. Đặt bình vào hỗn hợp nước đá + nước. Lọc lấy kết tủa, rửa tủa bằng $CHCl_3$. Lọc tiếp cho khô. Hiệu suất 81% tính theo (I).

Kiểm tra sắc ký lớp mỏng (SKLM) đúng với mẫu chuẩn hệ dung môi: C_6H_6 - aceton (9:1). Phát hiện: phun thuốc thử ceri ammoni sulfat.

2. Bromyl hoá và formyl hoá (bromhydrin formiat) (III)

Trong Erlenmeyer cho epoxyd (8,8g), acid formic 85% (57ml) lắc đều, khuấy đều ở máy khuấy từ, nhỏ giọt hết HBr (8,8ml) khuấy tiếp 2 giờ ở nhiệt độ bình thường. Sau hoà loãng với nước. Lọc, rửa tủa bằng nước đến trung tính. Lọc khô. Hiệu suất 85% tính theo (II).

Kiểm tra SKLM so với mẫu chuẩn: đạt, hệ dung môi: $CHCl_3$ - MeOH (48:2) phun H_2SO_4 đặc, soi UV 254 và 366mm (màu hồng).

3. Diolformiat (IV)

Trong bình cầu cho bromohydrin formiat (5g), acid acetic (3ml) metanol (360ml) Ni raney (25g), đun hồi lưu 5 giờ. Lọc lấy dung dịch. Thu hồi dung môi ở áp suất giảm. Cắn tinh chế trong metanol. Hiệu suất 55% tính theo (III).

Kiểm tra SKLM đúng với mẫu chuẩn. Hệ dung môi: C_6H_6 - ethylacetat (95:5) phun thuốc thử ceri ammoni sulffat.

4. Diolformiat 17α acetat (V)

Trong bình cầu cho (IV) 7g, acid p - toluensulfonic (0,17g) anhydrid acetic (28ml) đun sôi hồi lưu có khuấy 1 giờ, sau để ở nhiệt độ phòng 1 giờ, rồi để ở tủ lạnh. Lọc, rửa tinh thể bằng Ac_20 hiệu suất 72% tính theo (IV).

Kiểm tra SKLM đúng với mẫu chuẩn. Hệ dung môi: CH_2Cl_2- $CHCl_3$ (45:5); Soi UV366mm sau khi phun H_2SO_4 có màu tím.

5. 17α - acetoxy progesteron (VI)

Trong bình cầu cho (V) 7,1 g, cyclohexanon (71ml) và toluen khan (195ml) (A), hỗn hợp chưng cất bớt đi 35ml. Nhỏ giọt dung dịch gồm 8g Al - isopropylat trong 40 ml toluen khan vào (A), tiếp tục đun hồi lưu. Chưng cất chậm hỗn hợp trong 45 phút, để lạnh hoà loãng với nước đá, có tủa. Cất kéo hơi nước thu được dịch cô đặc, làm lạnh sẽ có tủa nhiều. Lọc qua lớp Kieselghur (30g) được tủa, sấy khô. Tủa chiết bằng aceton (500ml). Thu hồi dung môi ở áp suất giảm, được tủa vàng. Kết tinh trong metanol. Lọc, sấy. Hiệu suất 51% tính theo (V).

Kiểm tra SKLM đúng với mẫu chuẩn. Hệ dung môi: CH_2Cl_2 - MeOH (49:1); Phun H_2SO_4 đặc: màu nâu - soi UV254 mm màu tím.

6. 17α - hydroxyprogesteron. (VII)

Trong bình cầu cho (VI) 1,90g, etanol (44ml) lắc đều, sau cho tiếp một dung dịch gồm 0,3g KOH trong 2ml etanol. Đun hồi lưu có khuấy trong 2 giờ. Thêm vào dung dịch CH_3COOH đặc (0,37 ml) có ngay tủa. Hoà loãng với nước đá + nước, để lắng 30 phút. Lọc lấy tủa, rửa bằng nước. Lọc khô. Tinh chế trong ethylacetat. Hiệu suất 84% tính theo (VI)

Kiểm tra SKLM đúng với mẫu chuẩn: đạt. Hệ dung môi CH_2CL_2 - MeOH (49:1). Phun H_2SO_4 đặc: màu nâu - soi UV 254 mm: màu tím.

7. 17 α - hydroxyprogesteron caproat (VIII)

Trong bình cầu hoà tan (VII) 16g trong benzen khan (100ml) cho thêm vào anhydrid caproic (20ml) và acid p - toluensulphonic (0,3g). Đun hồi lưu hỗn hợp 10giờ. Rót hỗn hợp vào nước đá + nước, lớp benzen được rửa với dung dịch Na bicarbonat 10% và nước, làm khô bằng Na sulfat khan. Thu hồi dung môi ở áp suất, cắn kết tinh trong metanol. Lọc làm khô được 17α - hydroxyprogesteron caproat. Hiệu suất 60% tính theo (VII).

Nhiệt độ nóng chảy: 120 - 121°C. Năng suất quay cực: (α) D20+56,2° (C = 1 CHCL3). Phổ tử ngoại và phổ hồng ngoại (KBr) giống phổ chuẩn. Sản phẩm đạt hàm lượng 99,15%.

Kết quả: Mẫu kiểm nghiệm đạt yêu cầu chất lượng theo Dược điển Trung Quốc 1988 và Dược điển Tiệp Khắc 1987.

III. KẾT LUẬN

1. Đã tổng hợp được 17α - hydroxyprogesteron caproat từ nguyên liệu ban đầu là 16-DPA sản xuất ở Việt Nam.

2. 17α - hydroxyprogesteron caproat là tinh thể đạt hàm lượng 99,15% và đạt tiêu chuẩn Dược điển Trung Quốc 1988 và Dược điển Tiệp Khắc 1987.

3. Ngoài ra nhóm đã nghiên cứu tác dụng dược lý của 17α - hydroxyprogesteron (caproat) tổng hợp được nhận thấy:

a. Thuốc có tác dụng co bóp tử cung, tăng biên độ và trương lực.

b. Có tác dụng chống làm tổ

c. Có tác dụng tăng trọng lượng tử cung và buồng trứng

4. Đã nghiên cứu bào chế thành thuốc tiêm kép 17α - hydroxyprogesteron caproat + estradiol valerat để tiếp tục thử tác dụng ngừa thai.

Thuốc tiêm có công thức như sau:

Thành phần	
H.O.P caproat	0,250g
Oestradiol 17β valerat	0,005g
Alcol benzylic	0,02ml
Benzyl benzoat	0,3ml
Dầu pha tiêm vđ	1ml

CƠ CHẾ TÁC DỤNG CỦA D. strophantin

Quách Mai Loan - Nguyễn Xuân Thắng

D. strophantin là một glycozit tim được chiết xuất từ nguồn dược liệu Việt Nam (từ cây *Strophanthus divaricatus* (Lour) Hooker Arn). Năm 1967 Giáo sư Đoàn Thị Nhu đã nghiên cứu tác dụng dược lí của cây *Strophanthus divaricatus* và Dược sĩ Trịnh Gia Ân đã chiết xuất từ dược liệu được một dạng tinh thể đặt tên là D. strophantin. Hiện nay D. strophantin đã được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam trong điều trị suy tim dưới dạng sử dụng là ống tiêm Divarin 0,25mg.

Để phục vụ cho việc mở rộng phạm vi sử dụng của thuốc ở các dạng bào chế khác (thuốc viên và thuốc nước). Chúng tôi nghiên cứu cơ chế tác dụng của D. strophatin mục đích làm cơ sở vững chắc cho thầy thuốc mở rộng diện sử dụng trong điều trị suy tim.

Phần I: Tác dụng của D. strophatin lên hệ enzim thủy phân liên kết phốt phát.

Phần II: Khả năng sử dụng canxi nội tế bào khi sử dụng D. strophatin.

I. PHẦN THỰC NGHIỆM

1. Chế biến màng tế bào cơ tim và màng tế bào não

Sau khi giết chuột cống trắng, lấy tim, rửa tim bằng dung dịch đường - tris lạnh (tris HCl 100mM + sacaroza 250mM) có pH = 7,4 để loại sạch máu. Cắt cơ tim thành những mảnh vụn cho vào dụng cụ đồng thể hoá nghiền nát trong dung dịch đường - Tris ở môi trường lạnh, cho đến khi thu được một dịch nghiền đồng nhất. Lọc loại hạt to và xơ. Sau đó li tâm lạnh dịch nghiền 10 phút với tốc độ 3.000 vòng phút. Gạn bỏ phần nước trong (rửa cặn hai lần bằng dung dịch đường-tris). Lấy cặn đem đồng thể hoá với dụng dịch tris HCl 100mM, pH = 7,4 Hỗn dịch nghiền màng tim dùng để định lượng protein và là nguồn ATPase để thử tác dụng của D. strophantin. Có thể bảo quản dịch nghiền ở -20^{0}C trong 5 ngày.

Chế biến màng tế bào não : Lấy não chuột và tiến hành các bước như trên. Cuối cùng ta thu được dịch nghiền màng tế bào não dùng để thử tác dụng của D. strophantin.

2. Tác dụng của D. strophantin lên Na - K- ATPaza màng tế bào : là ATPaza màng tế bào

Hoạt độ của men ATPaza được xác định theo phương pháp Palatini. Nguyên tắc của phản ứng dựa trên lượng photpho vô cơ sinh ra theo phương pháp Fiske và Subaron kỹ thuật Vandan - Cavary

a) Na^+ - K^+ - ATPaza:

Hoạt độ men được đo trong môi trường gồm 60mM NaCl, 10mM KCl, 50mM Tris HCl (pH = 7,4), 1mM ATP. Đem ủ ở nhiệt độ 37°C trong 15 phút với hàm lượng protein-enzim trung bình từ 0,15 - 1,00 mg. Kết thúc phản ứng men bằng 0,25 ml acid tricloaxetic 20%. Lắc đều ly tâm, hút 0,5 ml dịch trong cho thêm 0,5 ml thuốc thử sunfonolybdic, lắc đều, để yên trong 5 phút. Sau đó cho thêm 0,25 ml dung dịch thuốc thử sunfonic và 1,5 ml nước cất lắc đều, để yên trong bóng tối 15 phút. Đem đo mật độ quang học ở quang phổ kế với bước sóng 660nm.

Hoạt độ men được xác định với sự có mặt và vắng mặt của các glycozit tim ở các nồng độ khác nhau.

Khi protein màng tế bào não = 0,825 mg

protein màng tế bào tim = 0,310 mg

***Bảng 1.* D. strophantin thể hiện tác dụng ức chế men ATPaza**

TT	*Chất thử*	*Nồng độ (m)*	*K^+ - Na^+ - ATPaza màng não*		*Tỷ lệ ức chế %*
			µM pi gp/mgP/h	*Tỷ lệ % hoạt độ*	
1	Không thuốc		1,10 ± 0,03	100	0
	Thử thuốc	10^{-6}-10^{-3}			
2	Uabain	10^{-3}	0,71 ± 0,02	64,4	35,6
3	Digitoxin	10^{-3}	0,73 ± 0,04	66,1	33,9
4	D. strophantin	10^{-3}	0,57 ± 0,02	50,4	49,6
			K^+ - Na^+ - ATPaza màng tim		
1	Không thuốc		1,10 ± 0,03	100	0
	Thử thuốc	10^{-6}-10^{-3}			
2	Uabain	10^{-3}	1,08 ± 0,06	55,0	45,0
3	Digitoxin	10^{-3}	1,21 ± 0,10	60,8	39,2
4	D. strophantin	10^{-3}	0,96 ± 0,11	48,0	52,0

Qua bảng 1: -D Strophantin thể hiện ức chế men ATPaza hơn cả

- Nồng độ các glycozit tim (thuốc thử) giảm dần từ 10^{-4} M đến 10^{-6} M thì mức độ ức chế men cũng giảm dần

b) Tạo ATPaza dạng hoà tan

Lấy dịch nghiền màng tim hoặc màng não (đã được chế biến ở trên).

Cho thêm vào dịch nghiền dung dịch triton X-100 (5%). Cứ 4 phần dịch nghiền trộn đều với một phần dung dịch triton X-100 trong dụng cụ đồng thể, để thời gian trộn đều tiếp xúc 30 phút ở -4°C. Rồi đem ly tâm lạnh với tốc độ 3500 vòng/phút trong 10 phút. Gạn lấy nước trong ta được dịch men ATPaza dạng hoà tan để thử.

***Bảng 2.* D. strophatin tác dụng lên ATPaza màng tế bào hoà tan**

TT	*Chất thử*	*Nồng độ M*	*µMpi gp/mgP/h*	*Tỉ lệ %*	*Tỷ lệ % ức chế*
1	Không thuốc		1,526 ± 0,066	100	
2	Uabain	10^{-3}	0,896 ± 0,03	58,71	41,29
		10^{-4}	1,028 ± 0.03	67,42	32,58
		10^{-5}	1,195 ± 0,06	77,21	22,79
3	Digitoxin	10^{-3}	0,929 ± 0,06	60,79	39,21
		10^{-4}	1,095 ± 0,03	71,77	28,23
		10^{-5}	1,261 ± 0,06	82,57	17,43
4	*D. strophantin*	10^{-3}	0,730 ± 0,06	47,71	52,29
		10^{-4}	0,962 ± 0,03	63,06	36,94
		10^{-5}	1,161 ± 0,03	76,10	23,90

D. strophantin có tác dụng lên K^+ - Na^+ - ATPaza màng hoà tan. Nó thể hiện tác dụng mạnh hơn Uabain và Digitoxin.

D. strophantin (ức chế 52,29%) > Uabain (ức chế 41,29%) > Digitoxin (ức chế 39,2%) ở nồng độ thuốc 10^{-3}M.

Với nồng độ thuốc thấp hơn (10^{-4}, 10^{-5}) vẫn thể hiện tác dụng ức chế nhưng mức độ có giảm dần theo nồng độ

c) Ca - ATPaza. Hoạt độ men đó trong môi trường gồm 0,4 - $CaCl_2$,50mM tris HCl (pH = 7,4) 1mM ATP

Đem ủ ở 37°C trong 15 phút. còn các bước sau tiến hành giống như xác định hoạt độ của Na^+ - K^+ - ATPaza. Đo mật độ quang học trên quang phổ kế với bước sóng 660nm.

Bảng 3. **Tác dụng của D. strophantin lên Ca - ATPaza màng tế bào**

TT	*Chất thử*	*Nồng độ (M)*	*K-Na-ATPaza màng não*		*Tỷ lệ ức chế %*	*K-Na-ATPaza màng tế bào tim*		*Tỷ lệ ức chế %*
			µM Pi gp/mgP/h	*Tỷ lệ*		*µM Pi gp/mgP/h*	*Tỷ lệ*	
1	Không thuốc		3,747	100	0	3,984	100	0
2	D. strophantin	10^{-3}	2,794	74,6	25,4	3,170	79	21
		10^{-4}	3,100	82,8	17,2	3,412	85,6	14,4
		10^{-5}	3,230	86,4	13,6	3,525	88,4	11,6
3	Uabain	10^{-3}	2,833	75,6	24,4	3,252	81,6	18,4
		10^{-4}	3,230	86,7	13,3	3,494	87,6	12,4
		10^{-5}	3,435	91,7	8,3	3,659	91,8	8,2
	Protein		0,156 mg			0,188 mg		

Mức độ ức chế Ca^{++} - ATPaza của D. strophantin và Uabain tương đương nhau. Với nồng độ 10^{-3} M Ca^{++} - ATPaza trên màng tim D. strophantin ức chế 21% còn Uabain ức chế 18,4% trên màng não D. strophantin ức chế 25,4% còn Uabain ức chế 24,4%.

3. Sự liên kết lên màng tế bào của D. strophantin

Tiến hành ủ thuốc với hỗn dịch màng tế bào thời gian 10 phút ở nhiệt độ 40°C. Sau đó ly tâm lấy cặn màng. Rửa 2 lần bằng dung dịch đệm tris HCl (250ml, pH=7,4). Ly tâm tiếp lấy cặn (cặn là nguồn ATPaza đã kết hợp với thuốc thử) và tiến hành xác định hoạt độ men

Bảng 4

TT	*Chất thử*	*Nồng độ M*	*µM Pi gp/mgP/h*	*Tỷ lệ %*	*Tỷ lệ % ức chế*
1	Không thuốc	10^{-4}	0,900009	100	
2	Uabain	10^{-4}	0,7700007	84,65	15,35
3	Digitoxin	10^{-4}	0,788 0,006	86,57	13,43
4	D. strophantin	10^{-4}	0,613 0,002	67,33	32,67

D. strophantin thể hiện sự liên kết lớn nhất. Phần liên kết ức chế 32,6% hoạt độ men, uabain và digitoxin liên kết yếu hơn.

II. KẾT LUẬN

Qua kết quả nghiên cứu trên D. strophantin (trong thí nghiệm invitro) cho thấy : hệ enzym thủy phân liên kết phốtphát chịu ảnh hưởng do sự có mặt của D. strophantin và các glycozit tim khác.

1. Tác dụng ức chế ATPaza màng tế bào của D. strophantin có phần mạnh hơn Uabain và Digitoxin là những glycozit tim đã được nhiều tác giả nghiên cứu kỹ về tác dụng ức chế men vận chuyển Na^+, K^+.

2. Khả năng gắn liền màng tế bào D. strophantin gắn vào vị trí ức chế bởi natri, kali mạnh hơn Uabain và Digitoxin

3. D. strophantin và các glycozit tim khác ức chế rõ rệt ATPaza dạng hoà tan bởi 1% triton X - 100. Điều này có thể cho rằng sự tác dụng này lên vị trí ức chế và hoạt động của ATPaza không thông qua nhiều đơn vị khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Trịnh Gia Ân, Phan Đình Sửu, Nguyễn Văn Đàn, 1967.*
"Nghiên cứu hóa học cây *Strophanthus divaricatus*.". Tạp chí y học Việt Nam. Số 3 & 4, trang 64.

2. *Đoàn Thị Nhu, Lê Hà Lệ Xuân, 1971.*
"Tác dụng dược lý của D. strophantin". Kỷ yếu công trình nghiên cứu Viện Dược liệu - Bộ Y tế, trang 227.

3. *Đỗ Đình Địch, 1972.*
D. strophantin chữa suy tim ở bệnh viện Bạch Mai. Kỷ yếu công trình Viện Dược liệu - Bộ Y tế.

D. strophantin LÀM BIẾN ĐỔI HÀM LƯỢNG Ca^{++} VÀ Mg^{++} CƠ TIM CHUỘT LANG

Quách Mai Loan, Hoàng Tích Huyền

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ 1967 ở Việt Nam (1) phát hiện cây *Strophanthus divaricatus* (Lour) Hook. et Arn chiết được glycozid tinh thể trắng là D. strophantin (1-2).

D. strophantin đã được nghiên cứu và dùng có kết quả trên lâm sàng (3). Để góp phần vào đề tài này chúng tôi thấy cần đi sâu nghiên cứu thêm về ảnh hưởng của D. strophantin lên biến đổi hàm lượng canxi và magie ở cơ tim. Hai nguyên tố canxi và magie trong cơ tim đóng vai trò rất tích cực trong việc cắt nghĩa cơ chế tác dụng và độc tính của mọi glycozid trợ tim.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- D. strophantin là bột kết tinh trắng của Viện Dược liệu sản xuất đạt tiêu chuẩn Bộ Y tế Việt Nam. Mẫu thử có hoạt tính sinh học 1 gam D. strophantin chứa 4.828 đơn vị mèo (1 đơn vị mèo tương đương 0,2073 mg D. strophantin/kgcân nặng mèo)

- Canxi và magie được định lượng từ mảnh cơ tim đã rửa sạch máu trong dung dịch NaCl 0,9%. Sấy khô ở 110°C trong 24 giờ, cho vào lò nung tiếp 48 giờ ở nhiệt độ 600°C. Hòa tan cắn trong dung dịch HNO_3 1%.

Định lượng Ca^{++} và Mg^{++} theo phương pháp đo quang phổ hấp phụ nguyên tử.

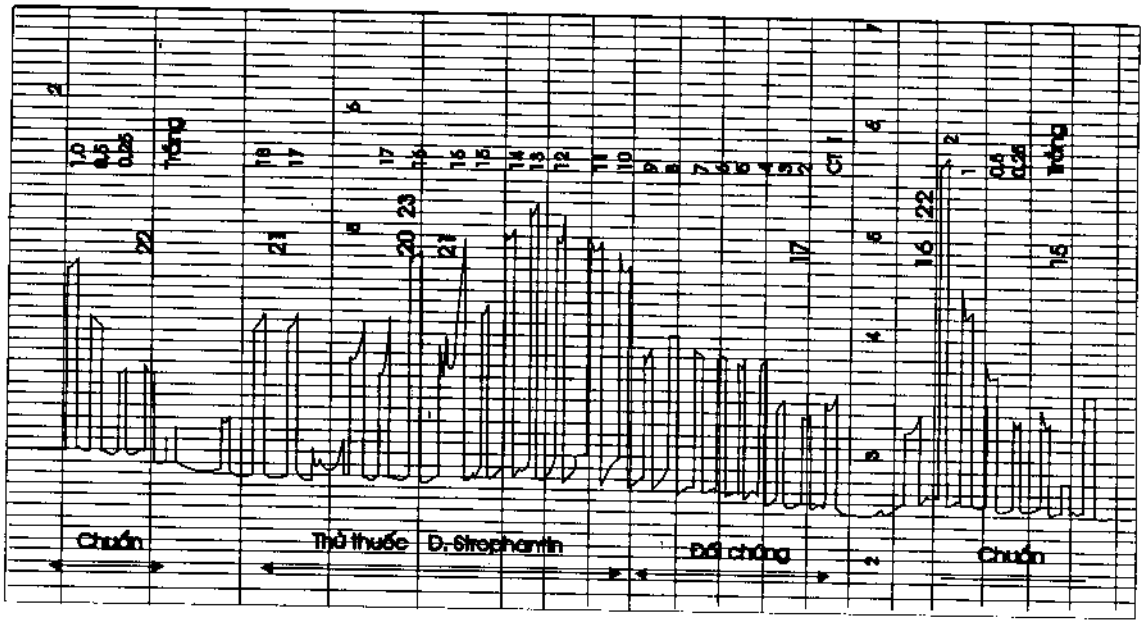
Tiến hành thí nghiệm.

Chuột lang cân nặng 300-450g chia đều 2 nhóm.

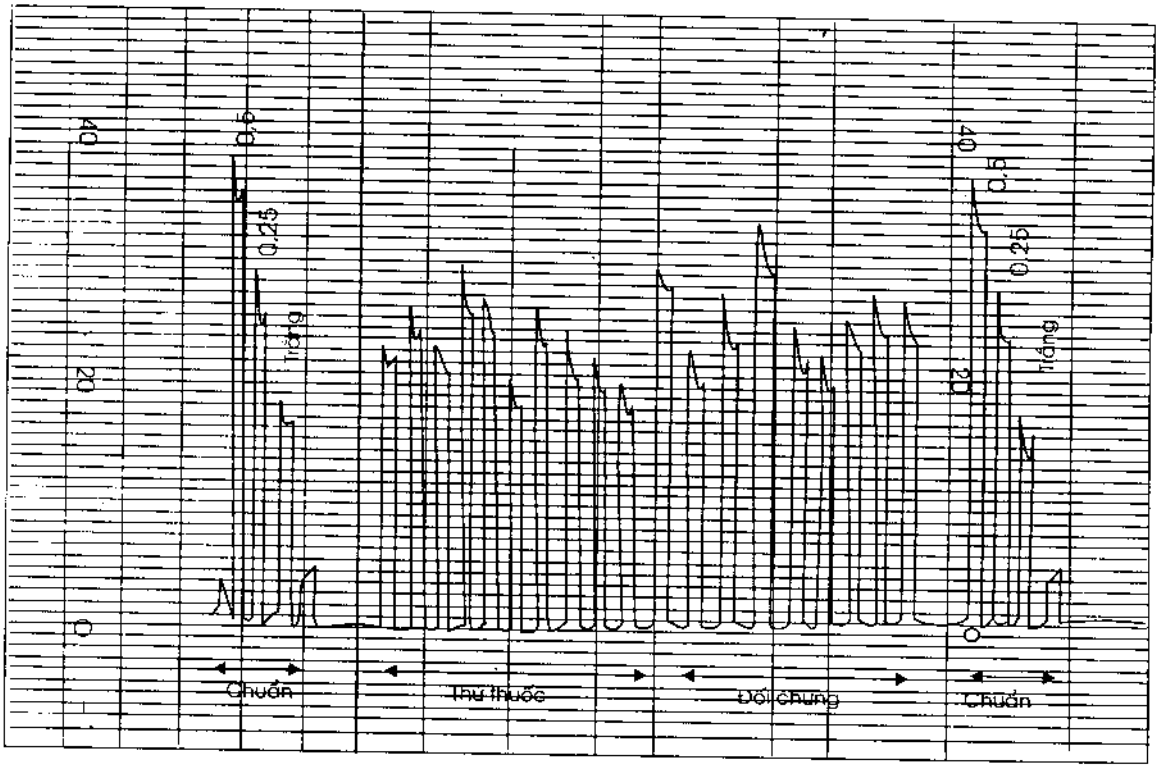
- Nhóm đối chứng gây mê bằng Urethan không dùng D. strophantin.

- Nhóm thử thuốc : gây mê nhẹ, truyền D. strophantin với nồng độ $7,5x10^{-5}$ gam/l vào tĩnh mạch cổ đến khi tim chuột ngừng đập. Lấy mảnh cơ tim (0,4g cho mỗi tim) rửa trong NaCl 0,9% lạnh, tiến hành đo như trên.

Hàm lượng Ca^{++} và Mg^{++} tính theo micro gam/gam cơ tim tươi. Mẫu thử tính kg theo dung dịch chuẩn - thống kê theo test t của student.



Hình 1. Pic cường độ vạch phổ Ca^{++} trong cơ tim chuột lang



Hình 2. Pic cường độ vạch phổ Mg^{++} trong cơ tim chuột lang

III. KẾT QUẢ

Khả năng sử dụng canxi nội tế bào khi sử dụng D. strophantin.

Bảng 1. **Hàm lượng canxi trong cơ tim chuột lang**

Lô thử	*Số lượng mẫu thử*	*Hàm lượng Ca^{++} tính theo (microgam/gam cơ tim)*	*P*
Chứng	9	9,65 ± 0,7	
D. strophantin	9	20,4 ± 1,6	< 0,001

Như vậy hàm lượng Ca^{++} tăng rõ trong cơ tim sau khi truyền D. strophantin (P< 0,001).

Bảng 2. **Hàm lượng magie trong cơ tim chuột lang**

Lô thử	*Số lượng mẫu thử*	*Hàm lượng Mg^{++} tính theo (microgam / gam cơ tim)*	*P*
Chứng	9	191,1 ± 9,9	
D. strophantin	9	168,8 ± 9	P>0,05

Ngược lại với kết quả ở canxi, ở đây hàm lượng Mg^{++} trong cơ tim sau khi truyền D. strophantin ít thay đổi so với đối chứng (P > 0,05).

IV. BIỆN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

Glycozid trợ tim gắn vào receptor màng cơ tim là Na^+ - K^+ - ATPase, trong thực nghiệm ở đề tài khác chúng tôi cũng thấy như vậy với D. strophantin (4). Sự ức chế Na^+ - K^+ - ATPase đồng biến với nồng độ glycozid trong tim làm tăng hàm lượng Na^+ trong tế bào cơ tim đầu mỗi kỳ tâm thu, sự xuất bắt buộc của Na^+ ra khỏi cơ tim do đổi chuyển Na^+ /Ca^{2+} sẽ làm tăng nhập Ca^{2+} và giảm xuất Ca^{2+} . Dẫn đến hàm lượng Ca^{++} trong tế bào cơ tim tăng lên. Kết quả thu được trong những số liệu trên với D. strophantin phù hợp với cơ chế của mọi glycozid trên.

Khi thư duỗi ở tâm trương, sau khi khép kênh Ca^{++} hàm lượng Ca^{++} hạ thấp dần do vận chuyển vào nơi dự trữ dưới ảnh hưởng của Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATPase màng. Việc Ca^{2+} - Mg^{2+} có hàm lượng nghịch biến nhau nhờ xúc tác của cùng một enzym này nếu hàm lượng Ca^{2+} tăng trong cơ tim thì Mg^{2+} sẽ xuất khỏi cơ tim. Vì vậy, trong kết quả thấy hàm lượng Mg^{2+} ở đây giảm khi dùng *D. strophantin* so với chứng, tuy chưa rõ (P>0,05) nhưng cũng hợp với cơ chế kinh điển của mọi glycozid tim.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Trịnh Gia Ân, Phan Đình Sửu, Nguyễn Văn Đàn, 1967.*

"Nghiên cứu hóa học cây *Strophanthus divaricatus*." Tạp chí y học Việtnam. Số 3 & 4, trang 64.

2. *Đoàn Thị Nhu, Lê Hà Lệ Xuân, 1971.*

"Tác dụng dược lý của D. strophantin". Kỷ yếu công trình nghiên cứu Viện Dược liệu - Bộ Y tế, trang 227.

3. *Đỗ Đình Địch, 1972.*

D. strophantin chữa suy tim ở bệnh viện Bạch Mai. Kỷ yếu công trình nghiên cứu Viện Dược liệu - Bộ Y tế.

4. *Quách Mai Loan và Nguyễn Xuân Thắng.*

"Tác dụng của D. strophantin lên màng tế bào". Luận án PTS.

ĐỊNH LƯỢNG MỨC ĐỘ HẤP THU CỦA D. strophantin QUA ĐƯỜNG TIÊU HOÁ

Quách Mai Loan, Đỗ Trung Đàm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khi đưa D.strophantin vào dạ dày hoặc tá tràng của mèo, thấy biên độ sóng R tăng lên và tần số tim giảm xuống, điều đó chứng minh là D.strophantin đã hấp thu được qua đường tiêu hoá vào hệ tuần hoàn gây ra tác dụng. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu về mức độ hấp thụ của D.strophantin qua đường tiêu hoá

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu

D. strophantin bột kết tinh trắng do Viện Dược liệu chiết xuất. Đã nghiên cứu 2 mẫu M1 và M2.

2. Định lượng D. strophantin theo đơn vị mèo

Tiến hành theo Dược điển Việt Nam (1) dựa vào nguyên tắc là glycozid ở liều cao gây ra chết mèo ở thời kỳ tâm thu. Pha D. strophantin với nồng độ $1,2.10^{-2}$ mg/ml, tiêm vào tĩnh mạch đùi của mèo có trọng lượng 1,5 - 2,5 Kg với tốc độ 1ml/phút cho đến khi mèo chết do ngừng tim. Tính liều gây chết theo mg/kg mèo, gọi là đơn vị mèo (đv mèo) theo công thức:

$$1đv\ mèo = V \times C/m\ \ mg/kg$$

Trong đó : m: Trọng lượng mèo (kg);
V: Thể tích truyền làm mèo chết (ml);
C: Nồng độ dung dịch truyền $1,2.10^{-2}$ mg/ml.

3. Xác định mức độ hấp thụ khi đưa thuốc vào đường tiêu hoá

Về nguyên tắc là đưa vào đường tiêu hoá của mèo một liều nhất định của D. strophantin. Sau 1 giờ (là lúc D. strophantin hấp thụ được nhiều nhất) truyền vào tĩnh mạch dung dịch D. strophantin $1,2.10^{-2}$mg/ml cho đến khi mèo ngừng tim.

Lượng D. strophantin hấp thu qua đường tiêu hoá bằng hiệu số của liều gây ch trừ liều truyền bổ xung cho mèo đến khi ngừng tim

III. KẾT QUẢ

1. Định lượng D. strophantin theo đơn vị mèo

a) Mẫu M1: kết quả xác định liều gây chết mèo (gọi là đơn vị mèo) của mẫu M được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Liều gây chết của mèo của mẫu M1**

TT	*Trọng lượng mèo m (kg)*	*Thể tích gây chết V (ml)*	*Liều gây chết mèo mg/kg*
1	1,60	23,0	0,1725
2	1,75	25,5	0,1748
3	1,85	30,0	0,1946

Trung bình 1 đơn vị mèo là 0,1806 mg/kg.

b) Mẫu M2: Liều gây chết mèo của mẫu M2 được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. **Liều gây chết mèo của mẫu M2**

TT	*Trọng lượng mèo m (kg)*	*Thể tích gây chết v (ml)*	*Liều gây chết mèo mg/kg*
1	1,90	32,5	0,2053
2	1,80	31,0	0,2067
3	1,52	26,0	0,2053
4	1,60	27,9	0,2092
5	1,70	29,7	0,2096
6	1,55	27,5	0,2129

Trung bình đơn vị mèo là 0,2082mg/kg.

2. Mức độ hấp thu D. strophantin qua đường tiêu hoá

a) Mức độ hấp thu khi cho thuốc vào trong thực quản: Đã thử 2 mẫu, mẫu M1 cho vào thực quản 1 liều bằng 1 đơn vị mèo 0,1806 mg/kg và mẫu M2 dùng liều bằng nửa đơn vị mèo 0,1041 mg/kg. Kết quả trình bày ở bảng 3.

***Bảng 3.* Mức độ hấp thu D. strophantin khi đưa thuốc vào thực quản**

Lô thử	*Số mèo thử*	*Liều dùng ban đầu mg/kg*	*Liều bổ xung gây chết mg/kg*	*Liều gây chết mg/kg*	*Lượng thuốc hấp thu*	
					mg/kg	*%*
Mẫu M1	3	0,1806	0,1360	0,1806	0,0446	24,7
Mẫu M2	3	0,1041	0,1864	0,2082	0,0218	20,9

Mức độ hấp thu trung bình 2 mẫu : 22,8%

b) Mức độ hấp thu khi đưa thuốc vào dạ dầy: Đã thử mẫu M2 trên 3 mèo cho vào dạ dày liều bằng nửa đơn vị mèo 0,1041 mg/kg. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

***Bảng 4.* Mức độ hấp thu D. strophantin khi đưa thuốc vào dạ dày**

Lô thử	*Số mèo thử*	*Liều dùng ban đầu mg/kg*	*Liều bổ xung gây chết mg/kg*	*Liều gây chết mg/kg*	*Lượng thuốc hấp thu*	
					mg/kg	*%*
Mẫu M2	3	0,1041	0,1779	0,2082	0,0303	29,1

c) Mức độ hấp thu khi đưa thuốc vào tá tràng: Đã thử mẫu M1 với 2 liều khác nhau cho thuốc vào tá tràng. Một liều bằng 1 đơn vị mèo, tức là 0,1806 mg/kg; một liều bằng 2 đơn vị mèo tức là 0,3612mg/kg. Kết quả trình bày ở bảng 5.

***Bảng 5.* Mức độ hấp thụ D. strophantin khi đưa thuốc vào tá tràng**

Lô thử	*Số mèo thử*	*Liều dùng ban đầu mg/kg*	*Liều bổ xung gây chết mg/kg*	*Liều gây chết mg/kg*	*Lượng thuốc hấp thu*	
					mg/kg	*%*
Mẫu M1	3	0,1806	0,1157	0,1806	0,0649	35,9
Mẫu M1	3	0,3612	0,0680	0,1806	0,1126	31,2

Mức độ hấp thu trung bình của lô là 33,6%.

III. BÀN LUẬN

.1. Qua việc định lượng độ hấp thu D. strophantin qua đường tiêu hoá, càng chứng minh rõ rệt là D. strophantin hấp thu được qua đường tiêu hoá

2. Sau khi đưa thuốc vào đường tiêu hoá, theo dõi điện tim chúng tôi thấy tác dụng mạnh nhất là sau 45-60 phút, vì vậy chúng tôi đã truyền liều bổ xung sau khi cho thuốc vào đường tiêu hoá 1 giờ.

3. Trong tính toán, chúng tôi đã phải loại bỏ 2 yếu tố ảnh hưởng là phải coi như lúc truyền bổ sung xong thuốc không còn hấp thu nữa và bỏ qua phần thuốc đã bị chuyển hoá.

4. Qua nghiên cứu, chúng tôi thấy kết quả thu được hợp lôgích. Khi đưa thuốc vào thực quản, tỷ lệ hấp thu của D. strophantin là 22,8%, khi đưa thuốc vào dạ dày tỷ lệ hấp thu 29,1%, còn khi đưa thuốc vào tá tràng tỷ lệ hấp thu 33,6%.

5. Đã thử 2 mẫu D.strophantin khác nhau (M1 và M2) và dùng liều ban đầu khác nhau (nửa đơn vị mèo, 1 đơn vị mèo, 2 đơn vị mèo) nhưng tỷ lệ hấp thu cũng không khác nhau nhiều.

IV. KẾT LUẬN

D. strophantin có thể hấp thu được qua đường tiêu hoá. Khi đưa thuốc vào tá tràng tỷ lệ thuốc hấp thu cao nhất (33,6%), vào dạ dày (29,1%) và vào thực quản (22,8%). Các mẫu thuốc khác nhau và liều lượng đưa vào ban đầu ít ảnh hưởng tới tỷ lệ hấp thu D. strophantin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Việt Nam I, 1971, trang 765-770.

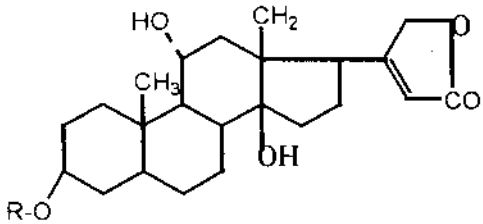
NGHIÊN CỨU SỰ HẤP THU D. strophantin QUA ĐƯỜNG TIÊU HOÁ

Quách Mai Loan, Đỗ Trung Đàm

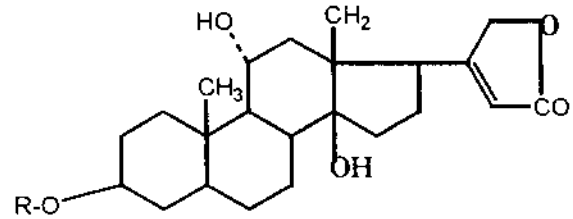
I. ĐẶT VẤN ĐỀ

D. strophantin là glycosid trợ tim chiết từ *Strophanthus divaricatus* (Lour) Hook et Arn (1) có tác dụng trên thực nghiệm và trong lâm sàng. Trước đây, D. strophantin vẫn được dùng dưới dạng ống tiêm 0,25mg/1ml để tiêm tĩnh mạch.

Căn cứ vào cấu trúc phần genin của D. strophantin là Sarmentogenin (hình1) chỉ có 2 nhóm OH tự do, gần giống genin của digoxin là digoxingenin, mà digoxin có thể dùng uống, điều đó đã thúc đẩy chúng tôi nghiên cứu sự hấp thu của D. strophantin qua đường tiêu hoá.



Sarmentogenin



Digoxigenin

Hình 1. **Cấu trúc của sarmentogenin và digoxigenin**

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu

D. strophantin dùng trong nghiên cứu là bột kết tinh trắng do Viện Dược liệu sản xuất, đạt tiêu chuẩn của Bộ Y tế. Mẫu thử có hoạt tính sinh học là 1g chứa 4828 đơn vị mèo, tính ra 1 đơn vị mèo tương đương 0,2071mg/kg. Đơn vị mèo là liều glycozid tim nhỏ nhất truyền vào tĩnh mạch đùi mèo cho đến khi ngừng tim trong những điều kiện thí nghiệm nhất định, trong đó có điều kiện là phải hòa loãng dung dịch glycozid tim như thế nào để truyền cho mèo với tốc độ 1ml/phút và làm mèo ngừng tim trong khoảng thời gian 25-50 phút.(2)

2. Phương pháp

Thí nghiệm được tiến hành bằng phương pháp dùng máy điện tim, thử trên mèo có trọng lượng 1,4 - 2,3 kg. Gây mê mèo bằng urêthan. Ghi điện tim bình thường. Trường hợp muốn cho thuốc vào tá tràng, thì mổ bụng, bộc lộ phần tá tràng, rồi dùng kim tiêm bơm thuốc vào tá tràng. Muốn cho thuốc vào dạ dày, thì bộc lộ thực quản, rồi dùng xông cho thuốc vào thẳng dạ dày. Liều dùng là 50% đơn vị mèo tức là 0,1036 mg/kg mèo.

III. KẾT QUẢ

1. Trên điện tim

D. strophantin tiêm tĩnh mạch có tác dụng trên nhiều thông số của hoạt động tim như làm tăng sức co của cơ tim, làm giảm dẫn truyền trong tim, giảm nhịp tim, làm tăng tính kích thích cơ tim.... ở đây chỉ phân tích 2 thông số là biên độ co bóp và tần số tim.

a) Biên độ co bóp

Sau khi đưa 50% đơn vị mèo, tức là 0,1036mg/kg mèo vào dạ dày hoặc tá tràng, diễn biến biên độ sóng R trên điện tim đồ (lấy biên độ trước khi dùng thuốc là 100) được trình bầy ở bảng 1

Bảng 1. **Diễn biến biên độ sóng R trên điện tim đồ mèo sau khi dùng D. strophantin liều 0,1036mg/kg**

Đường dùng	*Trước thuốc*	*Thời gian (phút)*					
		1	*5*	*15*	*30*	*45*	*60*
Dạ dày	100	107,0	116,0	118,8	128,8	149,8	144,2
n = 5		±3,9	±5,8	±6,7	±6,7	±8,3	±9,4
P		> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,02	< 0,01	< 0,01
Tá tràng	100	112,2	121,0	127,8	146,2	165,0	158,2
n = 5		±6,3	±7,5	±9,7	±11,6	±13,3	±12,3
P		> 0.05	< 0,05	< 0,05	< 0,02	< 0,01	< 0,01

Các glycozid trợ tim làm tăng sự co bóp của cơ tim, mà biểu hiện trên điện tim đồ là biên độ sóng R tăng cao. Dùng D. strophantin qua đường tiêu hóa (cho thuốc vào dạ dày hoặc tá tràng) làm tăng biên độ sóng R, chứng tỏ thuốc đã hấp thu được qua đường tiêu hóa vào tuần hoàn và gây ra tác dụng.

b) Tần số tim

Các glycosid trợ tim một mặt làm tăng sức co của tim, đồng thời làm giảm nhịp tim. Đưa D. strophantin liều 0.1036mg/kg mèo vào dạ dày hoặc tá tràng, nếu nhịp tim giảm đi thì chứng tỏ thuốc đã hấp thu được qua đường tiêu hoá. Kết quả nghiên cứu trên tần số tim mèo (lấy tần số trước thuốc là 100) được trình bầy trên bảng 2.

***Bảng 2.* Diễn biến tấn số tim sau khi dùng D. strophantin**

Đường dùng	*Trước thuốc*	*Thời gian (phút)*					
		1	*5*	*15*	*30*	*45*	*60*
Dạ dày	100	98,8	96,3	90,6	87.1	84,2	84,2
n = 5		±3,2	±4,5	±5,3	±3.4	±4,1	±5,4
P		> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,02	< 0,02	< 0,05
Tá tràng	100	93,6	88,8	86,4	81,5	80,4	80,2
n = 5		±2,2	±4,1	±4,6	±4,9	±4,7	±4,2
P		> 0.05	> 0,05	< 0,05	< 0,02	< 0,02	< 0,01

III. BÀN LUẬN

1. Với liều dùng 1 lần bằng 50% đơn vị mèo (0,1036mg/kg) cho thẳng vào dạ dày hay tá tràng, D. strophantin làm tăng biên độ co bóp và làm giảm nhịp tim, chứng tỏ thuốc hấp thu được qua đường tiêu hóa ở mèo.

2. Biên độ co từ phút thứ 5 đã bắt đầu tăng. Nhưng biên độ lớn nhất là sau 45 - 60 phút, sau đó vẫn duy trì cho đến phút 90. Cho thuốc vào tá tràng, tác dụng xẩy ra sớm hơn và mạnh hơn so với cho thuốc vào dạ dày.

3. Diến biến của tấn số tim cũng có hiện tượng tương tự, nhưng nhịp chậm xuất hiện muộn hơn, và mức độ giảm tính theo phần trăm lúc ban đầu cũng ít hơn so với tăng biên độ sóng R.

4. Trong những thí nghiệm định lượng mức độ hấp thu, đã xác định được lượng hấp thu khi cho thuốc vào thực quản là 22,8%, khi cho thuốc vào dạ dày là 29,1% và khi cho thuốc vào tá tràng là 33,6%.

IV. KẾT LUẬN

D.strophantin có thể hấp thu qua đường tiêu hóa ở mèo, vì vậy nên nghiên cứu bào chế ra thuốc D.strophantin dùng đường uống vì trong nhiều trường hợp dạng uống có ưu điểm hơn dạng tiêm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Trịnh Gia Ân, Phạm Đình Sửu, Nguyễn Văn Đàn, 1967.*
Nghiên cứu hóa học cây *Strophanthus divaricatus*, Tạp chí y học Việt Nam, số 3 và 4, trang 64.

2. Dược điển Việt Nam I, 1971, trang 765-770.

XÁC ĐỊNH BỆNH VIRUS HOA LÁ ĐỐM VÀNG ĐỊA HOÀNG BẰNG HIỂN VI ĐIỆN TỬ VÀ NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP NHÂN GIỐNG *in vitro* CÂY ĐỊA HOÀNG

Nguyễn Trần Hy, Phạm Văn Hiển,
Nguyễn Thị Chinh, Tạ Như Thục Anh
Nguyễn Văn Mẫn[1], Nguyễn Kim Giao[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây địa hoàng (*Rehmannia glutinosa* Libosch) là cây thuốc di thực từ Trung Quốc. Trong quá trình trồng trọt ở Việt Nam, năng suất địa hoàng ngày càng giảm do giống bị thoái hóa bởi nhiều nguyên nhân (về di truyền, sinh lý, bệnh lý...). Vì là cây nhân giống vô tính nên các yếu tố di truyền ít ảnh hưởng. Về mặt sinh lý thực vật, các tác giả Hoàng Minh Tấn, Phạm Văn Hiển (1994) đã nghiên cứu và đề xuất các giải pháp. Về nguyên nhân bệnh lý, địa hoàng vẫn còn là một vấn đề ít được quan tâm. Lâm Hồng Loan và cộng sự (1975) đã đề cập các bệnh hại ký sinh bề mặt (nấm, vi khuẩn...). Song có một loại bệnh hại có căn nguyên bên trong tế bào mà các biện pháp phòng trừ thông thường không ngăn chặn được tác hại làm giảm năng suất địa hoàng, đó là bệnh virus hoa lá đốm vàng (Dihuang Yellow Spot Virus) do Chu Bổn Minh và Trần Tác Nghị ở Viện Sinh hóa Thượng Hải phát hiện (1980). Hiện nay, việc ứng dụng khoa học công nghệ hiện đại trong nông nghiệp đã cho phép nghiên cứu các bệnh virus thực vật bằng các kỹ thuật cao như: kính hiển vi điện tử (HVĐT), chẩn đoán huyết thanh (test elisa) và biện pháp khắc phục sự thoái hóa giống cây trồng do nhiễm virus được thực hiện bằng công nghệ làm sạch virus và nhân nhanh giống cây sạch bệnh tại các phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào thực vật (NCMTBTV). Các nghiên cứu dưới đây của chúng tôi giải quyết hai

[1] Viện Vệ sinh dịch tễ-Bộ Y tế.

vấn đề là: xác định bệnh virus địa hoàng trồng ở Việt Nam và nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây địa hoàng.

II. PHƯƠNG PHÁP

1. Nghiên cứu điều tra bệnh virus địa hoàng trồng ở các tỉnh Hà Bắc, Hà Nội, Hải Hưng trong nhiều năm (1988-1995) theo phương pháp điều tra bệnh hại do Cục Bảo vệ Thực vật (BVTV) quy định (1987).

2. Nghiên cứu xác định virus bằng kính HVĐT-JEM T8, xử lý mẫu theo phương pháp Karnovsky (1962).

3. Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* địa hoàng trên môi trường cơ bản theo Murashige-Skoog (MS) có cải tiến. Chiếu sáng 2000 lux với thời gian 15h/9h, nhiệt độ nuôi cấy 25°C.

- Môi trường cho thí nghiệm tạo cụm chồi: MS + xytokynin (BA)
- Môi trường cho thí nghiệm tạo rễ: 1/2MS + auxin (αNAA)

4. Nghiên cứu trồng so sánh cây địa hoàng NCM (*in vitro*) với cây nhân giống bằng củ (*in vivo*).

Thí nghiệm ô đất ($2m^2$/ô), mỗi ô trồng 18 cây cho 2 công thức, 3 lần nhắc lại.

Các chỉ tiêu theo dõi:

- Diện tích lá S và chỉ số LAI (S/m^2) đất xác định theo phương pháp của Hoàng Minh Tấn và Phạm Văn Hiển (1992).
- Đo hàm lượng diệp lục a, b theo phương pháp Sestack-Trasky (1996) trên quang phổ kế Camspec-M302.
- Đo hoạt tính huỳnh quang diệp lục fv/fm theo nguyên lý Bolhar-Nordenkampf và Oquit (1993) trên máy HANSATECH.

Các số liệu nghiên cứu được xử lý theo phương pháp xác suất thống kê, thể hiện bằng trị số trung bình mẫu kèm theo độ lệch chuẩn.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Xác định bệnh virus hoa lá đốm vàng địa hoàng ở Việt Nam

Trên đồng ruộng tại tất cả các điểm điều tra (Hà Nội, Hà Bắc, Hải Hưng) từ 1988-1995, chúng tôi đều phát hiện có triệu chứng cây bị bệnh trung bình 20% vụ

hè và 40-50% vụ thu đông (vụ chính). Những cây bệnh nặng có năng suất củ rất thấp.

Nghiên cứu siêu cấu trúc lá bệnh trên kính HVĐT ở độ phóng đại 56-90 nghìn lần, thấy rất rõ các hạt virus sắp xếp đều đặn kiểu tinh thể mắt lưới mà ở cây khoẻ không có. Trong tế bào cây bệnh, virus thường nằm ở vùng bào tương giữa nhân và lục lạp, gây ra hiện tượng phá hủy cấu trúc lạp thể (Thyllacoid stroma). Đã phát hiện các trường hợp ẩn triệu chứng bệnh.

Theo nhận xét của các tác giả ở Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản gần đây, sự nhiễm bệnh virus hoa lá đốm vàng (DYSV) là một trong những nguyên nhân làm giảm năng suất, làm thoái hóa giống địa hoàng nhiều năm liên tục để giống bằng củ. Trong các phương thức lan truyền bệnh virus thực vật, củ giống được coi là một vectơ quan trọng. Do đó, việc tạo nguồn giống sạch virus và nhân nhanh *in vitro* giống sạch bệnh là một biện pháp cần thiết trong công tác phục tráng giống địa hoàng

2. Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây địa hoàng

Các thí nghiệm thăm dò cho thấy, trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* địa hoàng không có khả năng phát sinh chồi trực tiếp (như cây khoai tây, DF, cỏ ngọt...) cũng như dạng chồi căn hành protocorn (như cây phong lan, hoàng cung trinh nữ...). Đường hướng nhân *in vitro* địa hoàng phải thông qua giai đoạn tạo cụm chồi có bổ sung xytokynin (BA 1mg/l) vào môi trường nuôi cấy. Bước tạo cụm chồi sơ cấp thực hiện trong ống nghiệm, sau 5 tuần chồi được cấy chuyển vào bình tam giác để tạo chồi thứ cấp. Sau 5 tuần tiếp theo, các chồi có bộ lá đủ tiêu chuẩn được chuyển qua môi trường kéo rễ (1/2MS + αNAA 0,4mg/l) để tạo cây con hoàn chỉnh.

Hệ số nhân chồi đạt $22,3^{10}$/năm, hệ số tạo cây 1:35 cây con/tháng. Với hệ số nhân này cho phép thỏa mãn mọi yêu cầu nhân giống số lượng lớn.

Các cây địa hoàng NCM được đưa ra đất trồng so sánh với đối chứng.

Bước đầu nhận thấy các chỉ số sinh học của cây NCM về di truyền rất ổn định (số lượng nhiễm sắc thể, tỷ lệ diệp lục a/b)

Do trẻ hóa về sinh lý nên các cây NCM có bộ lá to hơn, khả năng hoạt động quang hợp (thông qua chỉ số fv/fm) mạnh hơn, tạo ra tiềm năng cho năng suất cao hơn, kích thước củ lớn hơn (bảng 1).

Bảng 1. **So sánh các chỉ tiêu sinh học**

Ngày trồng: 20/05/1995 *Ngày thu: 25/07/1995*

Chỉ tiêu	*Cây NCM*	*Đối chứng*
Số lượng nhiễm sắc thể (2n)	56	56
Chiều dài bình quân lá (Dcm)	15,86±1,57	14,36±1,71
Chiều rộng bình quân lá (Rcm)	6,71±0,58	6,37±0,82
Tỷ lệ D/R	2,36	2,25
Tỷ số LAI (m^2 lá/m^2 đất)	0,68	0,62
Hàm lượng diệp lục a (mg/l)	5,32±0,68	5,25±0,73
Hàm lượng diệp lục b (mg/l)	2,15±0,21	2,18±0,31
Tỷ lệ diệp lục a/b	2,4	2,4
Hoạt tính huỳnh quang fv/fm	0,8380±0,0077	0,8206±0,0063
Số củ trên cây	5,75±1,19	5,12±1,05
Năng suất bình quân (g/cây)	41,90±5,40	33,90±3,49
Bình quân trọng lượng củ (g/củ)	7,28	6,62

3. Thảo luận

Hiện tượng giống địa hoàng trồng ở Việt Nam bị thoái hóa do nhiễm bệnh virus sau nhiều năm liên tục để giống bằng củ về cơ bản đã được xác định. Có thể tiến tới xây dựng mô hình nhân giống địa hoàng sạch bệnh trên cơ sở quy trình nuôi cấy *in vitro* để khắc phục hiện tượng này.

Vấn đề là ở chỗ phải tạo được nguồn vật liệu khởi đầu sạch virus (meristem free virus) để đưa vào quy trình nhân giống *in vitro*, phải thiết lập các điều kiện trồng cách ly cây *in vitro* sạch bệnh giống gốc (cấp siêu nguyên chủng về độ sạch bệnh), các điều kiện thanh lọc virus (test virus) để khẳng định độ sạch của các cấp giống trước khi đưa ra trồng trọt. Muốn vậy phải có sự hợp tác đồng bộ giữa các chuyên ngành BVTV, công nghệ sinh học thực vật và giống cây trồng để khép kín một mô hình khoa học công nghệ ứng dụng trong sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Cục Bảo vệ Thực vật, 1987.*
Phương pháp điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

2. *Phạm Văn Hiển, Hoàng Minh Tấn, 1992.*
Xác định diện tích lá địa hoàng bằng phương pháp gián tiếp. Tạp chí Dược học 6/1992.

3. *Phạm Văn Hiển, 1994.*
Luận án PTS KHNN-ĐHNN I.

4. *Nguyễn Trần Hy, Phạm Văn Hiển, Nguyễn Văn Mẫn, 1996.*
Xác định bệnh virus hoa lá đốm vàng ở Việt Nam. Tạp chí Dược liệu 3+4/1996

5. *Nguyễn Trần Hy, 1995.*
Luận án ThS KHNN-ĐHNN I.

6. *Mao W.Y, Zhu.B.M, 1983.*
Studies on the meristem culture of Rehmannia glutinosa. Chin. Bull. Bot. 1:44-46.

7. *KAPA (Korean Agriculture Promotion Authority), 1994.*
Micropropagation of Aconitum carmichaeli and Rehmannia glutinosa through plant tissue culture techniques.

8. Bohlar - Nordenkampf and Oquit. Chlorophyll Fluorescence as a Tool in Photosynthesis Research. Pub.1993 by Chapman and Hall London. 193-195.

9. *Soyama Y, Nagano. M, 1983.*
Clonal multiplication of Rehmania glutinosa. Planta Med.48:124-125.

10. *Sestack Z, TraskyJ., 1966.*
Metody studia fotosynthetike produkce rostlin. Metodike exp. Botaniky. 2/1966.

11. *Chu Bổn Minh, Trần Tác Nghị, 1980.*
Viện Sinh hóa Thượng Hải. Xác định virus đốm vàng địa hoàng bằng huyết thanh (tiếng Hán). Nat. J. Shanghai. 4: 319-320.

NGHIÊN CỨU BIỆN PHÁP SẢN XUẤT GIỐNG ĐỊA HOÀNG CÓ CHẤT LƯỢNG CAO

(Thuộc đề tài X_8)

Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Tuấn,
Bùi Thị Bằng, Hoàng Minh Tấn[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Địa hoàng (*Rehmannia glutinosa* Libosch - Scrophulariaceae) là một cây thuốc quý nhập nội, nhân giống bằng rễ củ, hiện tại đang có xu hướng giảm sút năng suất rõ rệt. Các công trình nghiên cứu từ năm 1989 trở lại đây của Viện Dược liệu đã khẳng định: một trong những nguyên nhân của hiện tượng trên là do sử dụng củ giống già sinh lý và đã đề ra một số biện pháp khắc phục có hiệu quả.

II. PHƯƠNG PHÁP

Đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu được thừa nhận trong nông học, sinh lý thực vật và dược liệu. Các kết quả nghiên cứu đều được xử lý theo phương pháp thống kê toán học.

III. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu xác định tuổi cây thích hợp để thu hoạch củ giống

Từ trước tới nay người ta vẫn sử dụng củ địa hoàng 5-6 tháng tuổi (trồng từ tháng 2-3 đến tháng 7-8) để làm giống cho vụ thu đông (vụ chính để lấy dược liệu). Ở tuổi này, cây đã ra hoa hoàn toàn và bắt đầu tàn lụi. Chúng tôi đã chọn củ thu từ các cây giống đại diện cho 3 giai đoạn sinh trưởng chính để trồng so sánh trong vụ thu đông.

- 150 ngày tuổi: cây già, đã ra hoa hoàn toàn (giống này vẫn được dùng phổ biến trong sản xuất).

- 90 ngày tuổi: cây đã hoàn thành giai đoạn sinh trưởng dinh dưỡng, đang ở giữa giai đoạn sinh trưởng sinh sản (tỷ lệ ra hoa ≈ 50%).

---

[1] Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội.

- 60 ngày tuổi: cây đang trong giai đoạn sinh trưởng dinh dưỡng (củ đã hình thành nhưng cây chưa ra hoa).

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở các bảng 1, 2, 3, 4.

***Bảng 1.* Ảnh hưởng của tuổi giống tới sự mất nước, tỷ lệ nảy mầm và số mầm/lát cắt địa hoàng giống sau thu hoạch**

Chỉ tiêu theo dõi	*Tuổi giống (ngày)*	*Kết quả theo dõi ở các thời điểm (ngày sau thu hoạch)*			
		10	*20*	*30*	*40*
Sự mất nước (% trọng lượng)	150	29,73	39,56	59,47	72,69
	90	31,24	42,46	66,35	80,18
	60	34,47	46,52	74,48	96,02
Tỷ lệ nảy mầm (%)*.	150	97,87	68,67	52,33	29,67
	90	98,33	65,67	48,33	24,57
	60	98,67	60,33	30,67	-
Số mầm/lát cắt *.	150	4,25 ± 0,81	4,21± 0,53	3,72± 0,47	3,22± 0,66
	90	5,46 ± 0,74	5,01± 0,65	4,53± 0,82	3,65± 0,38
	60	4,05 ± 0,96	3,56± 0,31	2,95± 0,21	2,14± 0,48

Ghi chú: (*): Sau thời gian bảo quản, củ địa hoàng được cắt thành lát đem trồng và theo dõi 20 ngày sau trồng.

***Bảng 2.* Ảnh hưởng của tuổi giống tới sinh trưởng phát triển của cây địa hoàng vụ thu đông**

Chỉ tiêu theo dõi	*Tuổi giống (ngày)*	*Động thái biến đổi của các chỉ tiêu qua thời điểm theo dõi (ngày sau trồng)*					
		40	*60*	*80*	*100*	*120*	*140*
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Chỉ số diện tích lá (m^2 lá/m^2 đất)	150	0,323	0,534	0,826	0,851	0,672	0,451
	90	0,402	0,735	0,960	0,940	0,785	0,510
	60	0,365	0,645	0,946	1,115	0,951	0,620
Hiệu suất quang hợp (g chất khô/m^2 lá/ngày đêm)	150	-	6,14	8,01	7,25	5,38	-
	90	-	6,12	8,82	7,56	5,43	1,68
	60	-	6,21	7,11	8,04	5,71	1,07

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Số củ/khóm	150	1,61	5,71	6,50	6,35	6,40	6,47
	90	1,57	5,97	6,56	6,42	6,49	6,56
	60	1,47	5,87	6,48	6,46	6,51	6,50
Trọng lượng trung bình một củ (g tươi)	150	2,05	5,27	12,41	16,63	16,56	17,79
	90	2,34	7,01	17,09	21,90	22,24	23,37
	60	2,36	5,54	11,57	15,31	16,61	18,20
Thời gian sinh trưởng (ngày, trung bình 3 năm)	150	94,67 ± 3,51					
	90	122,00 ± 4,00					
	60	150					
Tỷ lệ ra hoa khi thu hoạch (%, trung bình 3 năm)	150	36,44					
	90	13,56					
	60	3,11					

Bảng 3. **Ảnh hưởng của tuổi giống tới năng suất dịa hoàng vụ thu đông (tạ/ha)**

Tuổi giống (ngày)	*1989*				*1992*			
	Năng suất củ tươi	*% so với giống 150 ngày*	*Năng suất sinh địa*	*Tỷ lệ tươi/sinh địa*	*Năng suất củ tươi*	*% so với giống 150 ngày*	*Năng suất sinh địa*	*Tỷ lệ tươi / sinh địa*
150	71,15	100,00	17,56	4,05	79,00	100,00	18,86	4,19
90	107,40	150,94	25,42	4,13	120,77	152,87	29,48	4,10
60	72,67	102,14	17,68	4,11	86,30	109,24	20,95	4,12

d_{05} = 6,71 (tạ/ha) d_{05} = 12,77 (tạ/ha)

Bảng 4. **Ảnh hưởng của tuổi giống tới chất lượng dược liệu (tính theo trọng lượng khô t.đ của dược liệu)**

Tuổi giống (ngày)	*Hàm lượng chất tan trong nước (%)*	*Hàm lượng chất tan trong cồn 96° (%)*
150	86,43	26,39
90	84,79	27,11
60	81,17	29,48
Dược liệu Trung Quốc (He, 1986)	81,49	24,39

Các số liệu trên cho thấy: cây trồng từ củ giống có 90 ngày tuổi sinh trưởng, phát triển mạnh nhất, có năng suất cao nhất và vẫn duy trì được hàm lượng chất tan trong nước và hàm lượng chất tan trong cồn (1).

2. Nghiên cứu sản xuất củ giống có chất lượng cao

Nhiều công trình nghiên cứu đã chứng tỏ: không phải tuổi niên đại mà chính là tuổi sinh lý của củ giống mới là yếu tố quyết định chất lượng giống (6). Ra hoa là biểu hiện rõ nét nhất của tuổi sinh lý của cây trồng (5). Vì vậy, chúng tôi đã sử dụng chỉ tiêu ra hoa để đánh giá chất lượng củ giống về mặt sinh lý.

Củ địa hoàng không có thời gian ngủ nghỉ và già hóa rất nhanh sau thu hoạch (3). Vì vậy, không thể nghiên cứu các phương pháp bảo quản để duy trì chất lượng củ giống qua vụ xuân hè. Cách tốt nhất là bố trí các vụ giống sao cho có thể thu hoạch được củ giống vừa đủ độ thành thục ngay trước khi trồng vụ thu đông.

Kết quả nghiên cứu cho thấy: Địa hoàng giống trồng vào bất kỳ tháng nào trong khoảng tháng 2 đến tháng 7 đều bắt đầu ra hoa sau 75-82 ngày và đạt tỷ lệ ra hoa 50% sau 92-103 ngày (trồng càng muộn, cây ra hoa càng chậm)(2).

Như vậy sẽ có 2 khả năng bố trí thời vụ trồng giống:

- Phương án 1 vụ giống: Trồng tháng 5, thu hoạch vào tháng 8. Từ tháng 2 đến tháng 5, củ giống chọn từ vụ dược liệu có thể bảo quản được vì khí hậu thời kỳ này còn dịu mát.

- Phương án 2 vụ giống: Trồng 2 vụ liên tiếp, từ tháng 2 đến tháng 5 và từ tháng 5 đến tháng 8.

Cả 2 phương án này đều đảm bảo đủ thời gian cho cây hoàn thành giai đoạn sinh trưởng dinh dưỡng, tạo ra củ giống có chất lượng cao về mặt sinh lý. Mô hình này đã được vận hành và kiểm tra đạt kết quả tốt trong sản xuất (4).

IV. KẾT LUẬN

- Tuổi củ giống ảnh hưởng sâu sắc tới quá trình sinh trưởng, phát triển và hình thành năng suất, chất lượng của địa hoàng, củ giống tốt nhất là củ giống thu vào lúc cây ra hoa khoảng 50%. Trong điều kiện Việt Nam, thời điểm này rơi vào khoảng cây 90 ngày tuổi.

- Biện pháp chuyển dịch thời vụ trồng giống cho phép thu được củ giống có chất lượng cao để cung cấp cho vụ thu đông.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Tuấn, Bùi Thị Bằng, Hoàng Minh Tấn, 1992.*
Ảnh hưởng của tuổi giống tới năng suất và chất lượng địa hoàng. Tạp chí Dược học, số 5/1992, tr.12-14.

2. *Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Tuấn, 1992.*
Ảnh hưởng của thời vụ và phương pháp trồng tới chất lượng và số lượng giống địa hoàng. Thông báo Dược liệu, tập 24 (3+4) 1992 tr.17-20.

3. *Phạm Văn Hiển, 1994.*
Nghiên cứu một số biện pháp nâng cao chất lượng và số lượng giống cây địa hoàng (*Rehmannia glutinosa* Libosch) ở đồng bằng và trung du Bắc Bộ. Luận án PTS KH Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp I. Hà Nội.

4. *Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Tuấn, Bùi Thị Bằng, Hoàng Minh Tấn, 1994.*
Kết quả khảo nghiệm trồng địa hoàng bằng củ giống có tuổi sinh lý khác nhau trong điều kiện đồng ruộng. Kết quả nghiên cứu khoa học, khoa SĐH, ĐHNNI. NXB Nông nghiệp. Hà Nội, tr.41-43.

5. *Oparin, A.I, 1977.*
Cơ sở sinh lý học thực vật, tập 2, NXB KHKT, Hà Nội.

6. *Nguyễn Quang Thạch, Hoàng Minh Tấn, 1989.*
Ảnh hưởng của tuổi sinh lý củ giống đến sinh trưởng phát triển và sự hình thành năng suất khoai tây. Tạp chí KHKT Nông nghiệp, số 2/1989, tr. 320.

NGHIÊN CỨU TRỒNG ĐỊA HOÀNG BẰNG MẦM

(Thuộc đề tài X_8)

Nguyễn Thị Tuấn, Phạm Văn Hiển,
Bùi Thị Bằng, Hoàng Minh Tấn[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Địa hoàng (*Rehmannia glutinosa* Libosch) từ trước tới nay vẫn được trồng bằng lát cắt rễ củ. Những nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, ngoài tác dụng tạo ra mầm, lát cắt rễ củ không những không có lợi mà còn có hại đối với đời sống cây địa hoàng: Nó chính là môi giới truyền bệnh từ vụ trước và từ đất. Ngoài ra nó còn tiêu tốn một lượng dinh dưỡng đáng kể một cách vô ích, đáng lẽ được đầu tư cho việc làm củ (4). Vì vậy chúng tôi đã nghiên cứu biện pháp tách mầm nhằm tạo ra các cây giống có chất lượng cao hơn.

II. PHƯƠNG PHÁP

Các thí nghiệm bao gồm 2 công thức: Trồng bằng lát cắt rễ củ và trồng bằng mầm. Lát cắt rễ củ được ngâm trong cát ẩm cho đến khi nảy mầm, công thức trồng bằng lát cắt được đem trồng ngay, công thức trồng bằng mầm thì tách những mầm có 4-5 lá thật, giâm lại trong cát ẩm (3-5 ngày) cho ra rễ rồi mới đem trồng. Các phương pháp theo dõi, đánh giá thí nghiệm đều tuân theo những qui định hiện hành.

III. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nguyên liệu trồng tới sinh trưởng phát triển và năng suất, chất lượng dược liệu địa hoàng vụ thu đông.

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

Bảng 1. **Ảnh hưởng của nguyên liệu trồng tới độ nhiễm bệnh của địa hoàng**

Chỉ tiêu theo dõi	*Trồng bằng mầm*	*Trồng bằng lát cắt*
Tỷ lệ cây sống sau khi trồng 15 ngày (trung bình 3 năm)	94,4%	85,6%
Tỷ lệ cây sống khi thu hoạch (trung bình 2 năm)	83,8%	74,8%
Tỷ lệ củ bị bệnh (trung bình 2 năm)	7,0%	13,8%
Chỉ số bệnh ở củ (trung bình 2 năm)	3,7%	6,9%

[1] Đại học Nông nghiệp I - Hà Nội.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của nguyên liệu trồng tới hoạt động quang hợp của địa hoàng.**

Chỉ tiêu theo dõi	*Nguyên liệu trồng*	*Động thái biến đổi của các chỉ tiêu qua các thời điểm theo dõi (ngày sau trồng)*										
		30	40	60	70	80	90	100	110	120	130	140
Chỉ số diện tích lá (m^2lá/m^2đất)	Lát cắt	0,268	0,444	0,722	0,847	0,946	0,954	0,882	0,801	-	0,524	-
	Mầm	0,310	0,660	0,954	0,948	0,956	0,946	0,901	0,791	-	0,570	-
Thế năng quang hợp (m^2láx ngàyx10^6/ha)	Lát cắt									0,36		
	Mầm									0,42		
Hàm lượng diệp lục (% trọng lượng khô tuyệt đối)	Lát cắt		0,58	0,69	0,92	0,94	0,86	0,75	0,60	-	0,53	-
	Mầm		0,66	1,06	1,12	1,07	0,99	0,81	0,67	-	0,55	
Hiệu suất quang hợp (g chất khô/m^2 lá/ ngày đêm)	Lát cắt	-	6,12	8,82	7,56	5,43	1,68					
	Mầm	-	7,63	12,14	10,63	6,48	2,06					
Tốc độ tích luỹ chất khô (g củ khô/cây/ngày)	Lát cắt	0,005	0,127	0,222	0,266	0,258	0,259	0,261	0,111	-		
	Mầm	0,036	0,197	0,325	0,314	0,308	0,294	0,237	0,124			

Bảng 3. **Ảnh hưởng của nguyên liệu trồng tới số lượng củ, tỷ lệ các cấp củ (%) và năng suất địa hoàng vụ thu đông**

Chỉ tiêu theo dõi	*Nguyên liệu trồng*	*Số lượng củ, các cấp củ và năng suất*		
		*1989**	*1990***	*1991***
Số củ / cây	Lát cắt	5,25	7,06	6,37
t_{LT} = 1,96	Mầm	8,75	9,39	8,91
		t_{TN} = 4,96	t_{TN} = 3,88	t_{TN} = 4,16
Củ loại I (%)	Lát cắt	29,53	33,06	32,34
Củ loại II (%)	Mầm	37,46	41,17	43,30
	Lát cắt	45,80	42,15	46,35
	Mầm	50,04	45,26	39,56
Năng suất củ tươi (tạ/ha)	Lát cắt	71,15	101,44	91,11
	Mầm	96,72	181,09	152,43
		d_{05} = 6,42	d_{05} = 7,27	d_{05} = 9,21
Năng suất củ khô (tạ/ha)	Lát cắt	17,56	25,77	22,36
	Mầm	23,38	45,32	37,05
Tỷ lệ củ tươi/khô	Lát cắt	4,05	3,94	3,99
	Mầm	4,05	4,00	4,11

Ghi chú: * Giống 150 ngày tuổi
** Giống 90 ngày tuổi

Bảng 4. **Ảnh hưởng của nguyên liệu trồng tới hàm lượng chất tan của dược liệu (tính theo trọng lượng khô tuyệt đối)**

Nguyên liệu trồng	*Hàm lượng chất tan (%)*					
	Trong nước			*Trong cồn 96°*		
	1990	*1990*	*1991*	*1990*	*1990*	*1991*
Lát cắt	81,17	84,79	84,48	29,48	22,11	20,02
Mầm	82,45	87,02	89,68	32,15	26,34	23,95

Các số liệu trên đây cho thấy: cây trồng bằng mầm ít bị bệnh hơn, sinh trưởng phát triển mạnh hơn, cho năng suất và hàm lượng chất tan cao hơn, đáng chú ý là số củ to tăng nên giá trị thương phẩm của dược liệu cũng được tăng lên (1,2,3).

2. NGHIÊN CỨU TẠO MẦM LÀM GIỐNG

Trồng bằng lát cắt, mỗi lát cắt thường chỉ cho 1 cây giống. Nhưng nếu tách mầm thì mỗi lát cắt có thể cho 2,6 cây giống (với $d_{05} = 0,27$, trung bình 3 năm).

Để sử dụng một cách hiệu quả nguồn giống, nhằm tạo ra số lượng cây giống tối đa từ một lượng giống ban đầu, chúng tôi đã nghiên cứu ảnh hưởng của kích thước lát cắt và một số hóa chất tới hiệu quả hình thành mầm. Kết quả cho thấy:

- Lát cắt phù hợp nhất là lát cắt chứa 2-3 mắt, độ dài trung bình 1,5-2 cm (đường kính 1-1,5 cm như thường dùng).

- Có thể sử dụng acid humic (0,03%) và benzylaminopurin (10 ppm) để xử lý lát cắt làm tăng số lượng mầm [5].

IV. KẾT LUẬN

- Cây trồng bằng phương pháp tách mầm có ưu thế hơn hẳn cây trồng theo phương pháp thông thường (bằng lát cắt).

- Giảm được tỷ lệ cây chết sau khi trồng.

- Giảm được tỷ lệ bệnh ở củ khi thu hoạch.

- Tăng năng suất cả về số củ nói chung và số củ loại I nói riêng.

- Dược liệu có hàm lượng chất tan trong nước và chất tan trong cồn cao hơn dược liệu trồng bằng lát cắt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Tuấn, Bùi Thị Bằng, Hoàng Minh Tấn, 1992.* Nghiên cứu nâng cao chất lượng dược liệu địa hoàng bằng phương pháp trồng từ mầm. Tạp chí Nông nghiệp-công nghiệp thực phẩm, số 7/1992, tr. 263-264.

2. *Phạm Văn Hiển, Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Thị Tuấn, Bùi Thị Bằng, 1992.* Hiệu quả của phương pháp nhân giống bằng mầm cây địa hoàng. Tạp chí Dược học, số 4/1992, tr.5-8.

3. *Phạm văn Hiển, Nguyễn Thị Tuấn, Bùi Thị Bằng, Hoàng Minh Tấn, 1993.*
Sự phát triển của cơ quan quang hợp và ảnh hưởng của nó tới sự hình thành năng suất rễ củ ở cây địa hoàng. Tạp chí Dược học, số 1/1993, tr.15-17.

4. *Phạm Văn Hiển, Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Thị Tuấn, 1993.*
Nghiên cứu ảnh hưởng của lát cắt rễ củ trong nhân giống đến đời sống và sự hình thành năng suất của cây địa hoàng. Kết quả nghiên cứu khoa học của khoa trồng trọt (1991- 1992). ĐHNNI. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, tr.145- 148.

5. *Phạm Văn Hiển, 1994.*
Tác dụng của một số chất điều tiết sinh trưởng đối với sự hình thành mầm cây địa hoàng. Thông báo Dược liệu, tập 26, số 3/1994, tr.65-68.

HỢP CHẤT POLYACETYLEN TRONG LÁ ĐINH LĂNG (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms., Araliaceae)

Trần Công Luận,
Hồ Thị Tuyết Linh, Phạm Thị Xuân Thắm,
Nguyễn Thành Nguyên, Nguyễn Thượng Dong

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở nước ta, ngoài cây sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) đã được nghiên cứu khá toàn diện trong hơn 20 năm qua, còn có cây đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms.) cũng được quan tâm nghiên cứu từ những năm 60 và đã được đưa vào Dược điển Việt Nam như là một vị thuốc bổ, tăng lực và sinh thích nghi.

Hợp chất polyacetylen của nhân sâm trong 2 thập niên qua cũng đã được quan tâm nghiên cứu do chứng minh được các tác dụng chống ung thư, chống oxy hóa, chống tiểu cầu, kháng khuẩn và kháng nấm của chúng. Vì vậy, theo hướng sàng lọc sinh học để xác định hợp chất polyacetylen trong những cây thuốc thuộc họ nhân sâm, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu hợp chất này trong lá đinh lăng nhằm tận dụng như một nguồn nguyên liệu làm thuốc trong nước có tác dụng tương tự như nhân sâm nhưng dễ tìm và dễ trồng.

II. NHỮNG KẾT QUẢ CHÍNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

- Bằng phương pháp thử vi sinh trên chủng vi khuẩn gram dương (*S. aureus* và *B. subtilis*), các dịch chiết ngấm kiệt MeOH của 2,5kg lá đinh lăng và dịch chiết tách phân đoạn với n-hexan, ethyl acetat, nước từ cắn MeOH đã được sàng lọc và cho thấy dịch chiết MeOH và các phân đoạn n-hexan, ethyl acetat có tác dụng kháng khuẩn.

- Bằng phương pháp sắc ký cột với polymer pha đảo Diaion HP-20 được rửa cột lần lượt với dung môi nước, 20%,40%,60%,80%,100% MeOH và aceton, kết hợp với

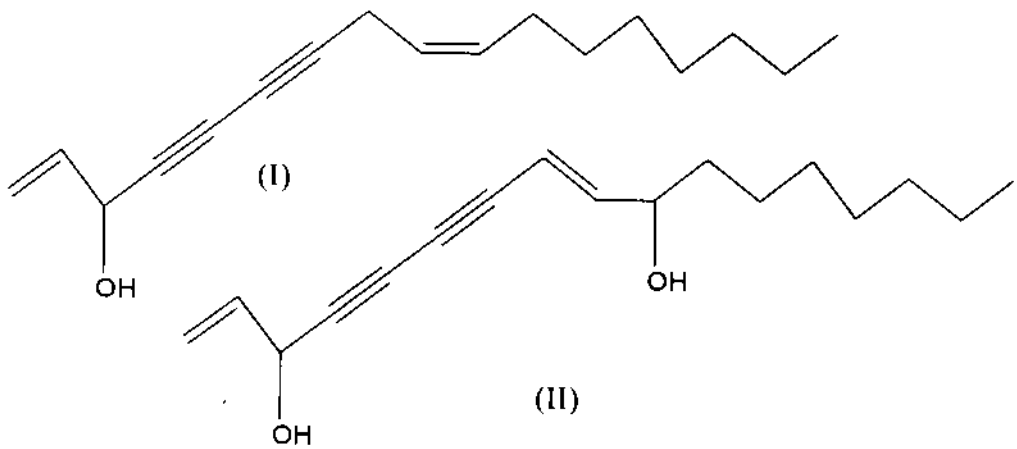
thử tác dụng trên 2 chủng vi khuẩn gram dương đã xác định được các phân đoạn 80% và 100% MeOH của cắn n-hexan và EtOAc có tác dụng kháng khuẩn.

- Bằng phương pháp sắc ký cột silicagel và tinh khiết hóa bằng sắc ký lớp mỏng đã phân lập được 5 hợp chất polyacetylen từ các phân đoạn có tác dụng kháng khuẩn.

- Hai hợp chất chủ yếu panaxynol (I) và heptadeca 1,8(E)-dien-4,6-diyn-3,10-diol (II) đã được xác định bằng các phương pháp phổ: UV, IR,1HNMR,13CNMR và đối chiếu với các thông số tham khảo cùng với tác dụng kháng khuẩn của chúng trên 2 chủng vi khuẩn gram dương.

III. THẢO LUẬN VÀ KẾT LUẬN

Việc kết hợp các thử nghiệm sinh học với các nghiên cứu hóa học để sàng lọc và định hướng vào các thành phần có tác dụng sinh học là xu hướng nghiên cứu cây thuốc hiện nay. Vì vậy, từ một trong những tác dụng sinh học của hợp chất polyacetylen là tác dụng kháng khuẩn, chúng tôi đã nhanh chóng sàng lọc và khu trú những phân đoạn chiết tách có hợp chất polyacetylen tập trung.



Kết qủa nghiên cứu cho thấy lá đinh lăng cũng có thành phần hợp chất polyacetylen tương tự như trong rễ đinh lăng theo nghiên cứu trước đây. Đồng thời 2 hợp chất (I) và (II) cũng là 2 polyacetylen chủ yếu có trong nhân sâm. Điều này củng cố thêm khả năng sử dụng lá đinh lăng nói riêng và cây đinh lăng nói chung như một nguyên liệu dễ tìm ở Việt Nam để thay thế cho nhân sâm trong một số tác dụng tương tự.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Fujimoto, Y., Satoh, M., Takreuchi, N. and Kirisawa, M., 1991.*
Cytotoxic acetylen from Panax quinquefolium. Chem. Pharm. Bull. 39 (10).

2. *Lutomski,J. and T.C.Luan, 1991.*
Polyacetylenes in the *Araliaceae* family. Part I. The isolation and identification of acetylenic compounds from rhizomes and roots of Vietnamese gingseng. Herba Polonica, Tom XXXVIII,3-4.

3. *Lutomski,J. and T.C.Luan, 1992.*
Polyacetylenes in the *Araliaceae* family. Part II. Polyacetylenes from the roots of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms.. Herba Polonica, Tom XXXVIII, 1.

TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA CAO TOÀN PHẦN CHIẾT XUẤT TỪ RỄ VÀ LÁ ĐINH LĂNG (*Polyscias fruticosa* L. Harms., Araliaceae)

Nguyễn Thị Thu Hương[1],
Lương Kim Bích[1], *Nguyễn Thới Nhâm*[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

. Đinh lăng là một cây thuốc thuộc họ nhân sâm (Araliaceae) đã được sử dụng từ lâu trong Y học phương đông như là một vị thuốc bổ, kích thích tiêu hoá, giải độc, kháng khuẩn, kháng viêm, gia tăng thể lực và sức bền. đinh lăng thể hiện nhiều ưu điểm như: dễ trồng, dễ sử dụng và mang nhiều tác dụng sinh học tiêu biểu của họ nhân sâm. Rễ đinh lăng cũng đã được Viện Y học Quân sự và trường Đại học Dược Hà Nội nghiên cứu trong thập niên 70 và đã được sử dụng như là một vị thuốc bổ, tăng cường thể lực và chống stress (1, 2, 3). Bước sang những năm 80, đinh lăng đã trở thành đề tài nghiên cứu cấp Bộ và đã được giao cho Trung tâm Sâm Việt Nam đảm trách. Trong công trình nghiên cứu này, những tác dụng dược lý cơ bản của cao toàn phần chiết xuất từ rễ và lá đinh lăng đã được xác định nhằm mục đích nghiên cứu sử dụng toàn bộ cây đinh lăng trong nguyên liệu làm thuốc.

II. TÓM TẮT NHỮNG ĐẶC ĐIỂM CHÍNH

Rễ và lá đinh lăng được chiết xuất bằng ethanol (phương pháp ngấm kiệt) cho ra dạng cao mềm có độ ẩm 20% (viết tắt: cao ĐL, 1g cao tương ứng với 4.55g dược liệu). Hiệu suất chiết: 15%. Hàm lượng saponin toàn phần tính theo chuẩn acid oleanolic: 1% (4).

Những thử nghiệm dược lý của cao đinh lăng được xây dựng dựa trên:

- Các kinh nghiệm sử dụng trong dân gian (3).

- Ba tác dụng dược lý cơ bản của các cây thuốc thuộc họ nhân sâm (*Araliaceae*) là: tác dụng tăng lực - tác dụng sinh thích nghi (adaptogen) – tác dụng bồi bổ cơ thể, trị suy nhược thần kinh và sinh dục.

---

[1] Trung Tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM .

Những kết quả nghiên cứu thực hiện trên chuột nhắt trắng, chuột cống trắng (*Swiss albino*) và thỏ cho thấy:

- Cao đinh lăng có độc tính cấp diễn đường uống thấp, LD50 là 8.51±0.59 g/kg thể trọng (phương pháp Miller-Tainter). Cao đinh lăng (liều 1/20 LD50, uống trong một tháng) làm gia tăng thể trọng của súc vật thử nghiệm, không có những tác động phụ trên thành phần máu, protid hoặc gây ra những thay đổi bất thường trong giải phẫu học các cơ quan nội tạng (5, 6).

- Trên thực nghiệm thời gian ngủ Barbital, cao đinh lăng có tác dụng kích thích hệ TKTW ở liều thấp (45-90 mg/kg) và ức chế hệ TKTW ở liều cao (180-450 mg/kg). Cao đinh lăng làm gia tăng ngưỡng chịu đựng nhiệt độ nóng của súc vật thử nghiệm (stress nhiệt độ 37-42(C) với cơ chế làm gia tăng sự đề kháng miễn dịch hơn là sự gia tăng những đáp ứng thể dịch (5, 6).

- Cao đinh lăng có tác dụng tăng lực được xác định bằng hai nghiệm pháp: chuột bơi kiệt sức của Brekhman và chuột leo dây của Cabureb [5, 6] thực hiện trên chuột nhắt.

- Ngoài ra, cao đinh lăng còn thể hiện tác động kháng viêm, tác động nội tiết tố sinh dục (hiệu lực androgen và hiệu lực estrogen) trên cơ địa súc vật bị suy nhược sinh dục (5, 6).

- Cao đinh lăng làm giảm sự gia tăng cholesterol huyết và lipid toàn phần trong huyết thanh của súc vật bị gây xơ vữa động mạch (mô hình gây xơ vữa động mạch thực nghiệm bằng chế độ ăn giàu cholesterol và bằng Tween 80) (5, 6).

- Tác động kháng khuẩn của cao đinh lăng trên các chủng Staphylococcus mạnh hơn trên các chủng vi khuẩn và nấm mốc khác (5, 6).

- Những nghiên cứu gần đây cho thấy cao đinh lăng có tác dụng chống trầm cảm (thực nghiệm của Porsolt) và tác dụng chống stress trong mô hình gây stress tâm lý thực nghiệm (stress cô lập) (4).

III. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

Cao toàn phần chiết xuất từ rễ và lá đinh lăng thể hiện nhiều ưu điểm hơn so với các dạng cao đã nghiên cứu từ trước của đinh lăng như:

- Liều có tác dụng thấp hơn so với liều sử dụng cao rễ hoặc cao lá đơn thuần, làm giảm bớt độc tính của lá.

- Các tác dụng dược lý được thể hiện phong phú và điển hình hơn cao rễ hoặc cao lá sử dụng riêng rẽ. Khoảng liều có tác dụng: liều uống từ 45 - 180 mg/kg.

Theo các tác giả của Trường Đại học Dược Hà Nội khi nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết đinh lăng trên ATPase màng tế bào nhận thấy đinh lăng có tác dụng kích thích ATPase màng tế bào theo hướng ức chế monoamine oxidase (IMAO) (7). Những chất IMAO như iproniazid, clorgyline... được sử dụng khá phổ biến trong điều trị bệnh trầm cảm (8). Ngoài ra, những cơ chế dược lý thần kinh chi phối các biểu hiện trong stress cô lập có liên quan đến hoạt động của phức hợp GABA của hệ thần kinh TW (9). Phối hợp với những dữ kiện này, kết quả nghiên cứu của chúng tôi đề xuất những nghiên cứu tiếp tục về sự liên quan giữa cấu trúc hóa học và tác dụng dược lý theo hướng ảnh hưởng lên hệ thần kinh TW của đinh lăng.

Các kết quả của công trình nghiên cứu này góp phần định hướng cho những nghiên cứu ứng dụng nhằm mục đích phát huy tiềm năng sử dụng của cây đinh lăng, một nguyên liệu dễ trồng, dễ tái sinh và có nhiều tác dụng dược lý phong phú tiêu biểu của họ nhân sâm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Brophy. J.J., Lassak, E.V. and Suksamrarn, A., 1990.*
Flavour Fragance Jounal, 5, 179.

2. *Quisumbing. E., 1978.*
Medicinal Plants of the Philippines, Katha Publishing Co., Philippines, 617-677.

3. *Ngô Ứng Long và Nguyễn Khắc Viện, 1985.*
Tạp chí Dược học, 1, 17.

4. *Nguyễn Thị Thu Hương, Lương Kim Bích, 2001.*
Nghiên cứu tác dụng chống trầm cảm và chống stress của đinh lăng, Tạp chí Dược liệu, tập 6, số 1, 2001.

5. *Nguyễn Thới Nhâm và cộng sự, 1990.*
Tóm tắt kết quả NCKH về đinh lăng từ 1986-1990.

6. *Nguyễn Thị Thu Hương, Lê thị Kiều Trang, Trần Trúc Mai, Nguyễn Thị Diệu, Nguyễn Thới Nhâm, 1998.*
Báo cáo tại Hội nghị Y Dược học kỷ niệm 300 năm Sài gòn -TP. Hồ Chí Minh, 11/1998.

7. *Đặng Hanh Phức và cộng sự, 1983.*
Công trình nghiên cứu khoa học Y Dược,Vụ KHKT-Bộ Y tế, 159-160, 168-169.

8. *Goodman & Gilman's, 1996.*
The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ninth Edition, McGraw Hill Publishing Co., 432-446.

9. *Nguyễn Thị Thu Hương, Matsumoto, K., Yamasaki, K. và Watanabe, H., 1997.*
Life Science, 61, 395-402.

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP NHÂN GIỐNG CÂY ĐỖ TRỌNG Ở SA PA

Ngô Quốc Luật, Đinh Văn My

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đỗ trọng (*Eucommia ulmoides* Olive.) là một trong những cây thuốc Bắc đầu vị, được sử dụng rất nhiều trong các bài thuốc đông y. Tuy nhiên việc sản xuất chưa đáp ứng được nhu cầu sử dụng trong nước,phần lớn còn nhập khẩu...., ở Việt Nam đã di thực thành công vào Sa Pa - Lào Cai từ năm 1964. Để có thêm cơ sở cho việc xây dựng quy trình kỹ thuật phát triển trồng trọt, chúng tôi đã triển khai thí nghiệm khảo sát, thăm dò một số phương pháp nhân giống.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thí nghiệm nhân giống cây con bằng phương pháp hữu tính

- Thí nghiệm tiến hành tháng 11 năm 1994.
- Địa điểm : Sa Pa - Lào Cai.
- Vật liệu thí nghiệm: Hạt đỗ trọng được thu hoạch trong năm.
- Phương pháp xử lý hạt: Xử lý hạt bằng nước ấm (một sôi,hai lạnh) khoảng 20 - 25 ^{0}C.
- Thời gian ngâm hạt: Ngâm 3 ngày,mỗi ngày thay nước một lần.
- Phương pháp ủ hạt: Sau thời gian ngâm, hạt được ủ với tỷ lệ 1 phần hạt,10 phần đất mùn tơi xốp (hoặc cát sạch) trộn đều và được đựng trong bao tải.
- Phương pháp gieo hạt: Gieo trong bầu và trong vườn ươm.

Bảng 1. **Phương pháp xử lý và thời gian hạt mọc**

Ngày xử lý hạt	*Thời gian ngâm hạt*	*Ngày ủ hạt*	*Ngày rãi hạt*	*Hạt bắt đầu mọc*	*Ngày hạt mọc đều*	*Tỷ lệ nảy mầm hạt (%)*
6.11.1994	6.11.1994 đến 8.11.1994	9.11.1994 đến 19.11.94	19.11.94	28.11.94	26.12.94 đến 5.1.1995	30-40 % - tiếp tục nảy mầm
-	3 ngày	10 ngày	-	Sau 22 ngày	50-60 ngày sau xử lý	-

· Theo kết quả bảng 1 thì số ngày xử lý và ngâm hạt là 3 ngày,thời gian ủ hạt với giá thể trong bao tải là 10 ngày,sau 22 ngày kể từ khi rãi hạt thì hạt bắt đầu mọc.

Như vậy thời gian hạt mọc của thí nghiệm rất nhanh,bởi điều kiện nhiệt độ ẩm,hạt được ủ trong giá thể,đậy bằng bao tải dày,có tác dụng giữ ẩm cho hạt và chống được giá rét nên tạo điều kiện cho hạt nảy mầm nhanh.

Thời gian hạt nảy mầm đồng đều và rộ nhất sau khi xử lý là 50-60 ngày.Kết quả này rất phù hợp với các tài liệu (1,2,3).

· Phương pháp gieo ươm sau khi hạt nảy mầm

- *Gieo hạt vào bầu:* Sau khi hạt nảy mầm đều thì tiến hành gieo ươm vào bầu.Bầu gieo đã được chuẩn bị trước,đựng giá thể đất mùn tơi xốp trộn lẫn phân chuồng hoai mục.Mỗi bầu gieo ươm một hạt đã nứt mầm.Dùng que nhọn chọc lỗ nông trên mặt bầu,đặt hạt vào và lấp nhẹ đất lên bề mặt.Các bầu được xếp với nhau thành luống đặt dưới giàn che để chăm sóc.

- *Gieo hạt trong vườn ươm:* Đất đã chuẩn bị xong,lấy những hạt ủ đã nứt mầm gieo đều lên mặt luống,hạt cách nhau 10-12 cm,phủ một lớp đất bột mịn nhỏ dầy 2-3cm.Mặt luống có giàn che,phủ rơm rạ hoặc cỏ khô để giữ độ ẩm,chống rét cho cây con.

2. Thí nghiệm nhân giống cây con bằng rễ đỗ trọng

Thí nghiệm giâm rễ được tiến hành 2 thời vụ:

- Thời vụ 1: Giâm rễ ngày 22/2/1995

· Thời vụ 2 : Giâm rễ ngày 13/4/1995

. Mỗi công thức gồm 15 hom rễ,nhắc lại 3 lần.

Dùng chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST)để xử lý rễ: ABT1,ABT3.&NAA(Dạng dung dịch).

Nồng độ xử lý:100ppm ;200ppm;Đối chứng ngâm nước cất.

Thời gian ngâm xử lý hom: 4 giờ.

Giá thể giâm rễ:Là cát sông sạch,giâm hom rễ vào bầu và giâm trên luống.

Qua bảng 2 thấy tất cả các công thức thí nghiệm,các hom giâm đều ra rễ,kể cả công thức đối chứng.Tuy nhiên tỷ lệ ra rễ không cao.Hiệu lực của thuốc ĐHST ở các nồng độ thí nghiệm chưa có ảnh hưởng gì rõ nét so với đối chứng.Tuy nhiên kết quả trên cho phép chúng ta khẳng định phương pháp nhân giống vô tính bằng giâm các đoạn hom rễ của cây đỗ trọng có thể thực hiện được.

***Bảng 2.* Ảnh hưởng chất điều hòa sinh trưởng lên khả năng tạo rễ**

Chất điều hòa sinh trưởng	*Nồng độ xử lý (ppm)*	*Điểm Sa Pa Tỷ lệ ra rễ (%)*	*Điểm Hà Nội Tỷ lệ ra rễ (%)*
ABT1	100 ppm	20 %	20%
	200 ppm	30%	20%
ABT3	100 ppm	30 %	30 %
	200 ppm	20 %	15 %
NAA	100 ppm	10 %	-
	200 ppm	10 %	10 %
Đối chứng	Nước lã	15 %	20 %

3. Thí nghiệm nhân giống cây con bằng phương pháp tái sinh chồi

Thí nghiệm được tiến hành bằng cách làm tổn thương các rễ cây đỗ trọng tại đây cây mọc mầm tạo khả năng tái sinh các cây con bằng chồi.

Đối tượng thí nghiệm sử dụng: Là những gốc cây đỗ trọng đã thu hoạch.

Phương pháp tiến hành : Làm sạch cỏ quanh gốc cây,sau đó cuốc sâu, chủ động làm tổn thương thương các rễ cây,một số rễ bật khỏi mặt đất một phần còn dính vào đất. Sau đó dùng đất bột mùn tơi xốp trộn với phân chuồng hoai bón đều quanh gốc và lấp đất lại.Sau một thời gian những rễ cây bị tổn thương đã đâm chồi tái tạo thành những cây con,có thể đánh đi trồng nơi khác.Thí nghiệm đã thành công.

III. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Khảo nghiệm nhân giống cây con đỗ trọng bằng phương pháp hữu tính có kết quả tốt.Có thể áp dụng để xây dựng quy trình gieo ươm hạt giống và phổ biến rộng rãi trong việc phát triển sản xuất.

2. Thí nghiệm nhân giống vô tính bằng rễ đỗ trọng theo hai phương pháp trên có kết quả khả quan,nó mở ra thế chủ động trong việc nhân ươm giống cây đực và cây cái đỗ trọng,tạo được tỷ lệ hài hòa giữa chúng.

3. Đỗ trọng Bắc là loài cây nhập nội rất quý, y học cổ truyền coi là thuốc đầu vị không thể thiếu được.Cây đã sinh trưởng và phát triển tốt trên một số vùng thích hợp ở Việt Nam. Đề nghị Nhà nước quan tâm thích đáng cho việc đầu tư nghiên cứu cơ bản về giống,kỹ thuật trồng trọt để phát triển sản xuất,nhằm tạo mặt hàng chủ động đáp ứng nhu cầu trong nước và xuất khẩu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nam kinh dược học viện, 1976.*
Trung khảo dược học (Tr.394).

2. *Viện Dược liệu.*
Kỹ thuật trồng cây thuốc. Nhà xuất bản Y học.

3. *Nguyễn Văn Được.*
Tài liệu về trồng cây đỗ trọng - Trại nghiên cứu cây thuốc Sa Pa.

4. Trung dược tái sinh sản kỹ thuật. NXB Nhân dân vệ sinh Bắc Kinh, 1965 (Tr.527).

5. *Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Quang Thạch, 1993.*
Chất điều hòa sinh trưởng đối với cây trồng. NXB NN Hà Nội.

6. *Lê Đình Khả, 1986.*
Cơ sở sinh học của việc nhân giống bằng hom.Thông tin KHKT Lâm nghiệp.Số 1/1986 Viện KHLNVN.

7. *Đặng Văn Phụ, 1992.*
Sản xuất cây con Bạch đàn vô tính Eucaluptus spp. bằng tạo rễ hom. Thông tin lâm nghiệp nước ngoài số 2/1992 (Tài liệu dịch).

8. *Ngô Thị Minh Duyên, 1994.*
Nghiên cứu chất ĐHST ABT đến khả năng ra rễ cành giâm một số loài cây gỗ.Trường ĐHTH Hà Nội.

9. *Ngô Quang Đệ, Nguyễn Mông Mệnh, 1981.*
Kỹ thuật giống cây rừng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

NGHIÊN CỨU VỀ HÓA HỌC VÀ DƯỢC LÝ CÂY ĐƠN CHÂU CHẤU (*Aralia armata* Seem., Araliaceae)

Phạm Kim Mãn, Nguyễn Ninh Hải

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây đơn châu chấu (*Aralia armata* Seem), họ ngũ gia bì (Araliaceae) được nhân dân dùng chữa bệnh bạch hầu, tê bại và chữa lị. Một số cây trong họ ngũ gia bì như nhân sâm, tam thất cũng đã được nhiều nhà khoa học nghiên cứu, đa số tập trung nghiên cứu về các saponin triterpenoit và nhiều tác dụng sinh học của chúng. Chúng tôi đã nghiên cứu tìm hiểu cây đơn châu chấu của Việt Nam nhằm xác định giá trị khoa học của cây thuốc trong nước và làm cơ sở cho việc nghiên cứu sử dụng đơn châu chấu trong điều trị.

II. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu về hóa học

1. Xác định sự có mặt của saponin triterpenoit trong rễ đơn châu chấu bằng các phản ứng sau:

- Phản ứng tạo bọt.

- Phản ứng phá huyết trên thạch máu: có vòng phá huyết rộng.

- Sắc ký lớp mỏng: hệ dung môi $CHCl_3$ -MeOH - H_2O (61: 32:7) trên lớp mỏng SiO_2G (VDL) chạy 2 lần hiện màu bằng H_2SO_4 xuất hiện 10 vết màu tím với hệ dung môi n-butanol - ethanol -amoniac (7: 2: 5) chạy 2 lần, thuốc thử phosphomolybdic xuất hiện ít nhất 6 vết màu xanh.

2. Chiết xuất saponin dùng dung môi ethanol 80%, tách saponin bằng BuOH bão hòa nước tinh chế bằng phương pháp lọc keo sephadex LH_{20}.

3. Thủy phân saponin - phân lập và xác định genin chính: acid oleanolic. Điểm chảy 304-306° C làm dầu xuất methol ester bằng diazomethan được sản phẩm có điểm chảy 198-200°C. Đo phổ hồng ngoại có các đỉnh hấp thụ 1390 $^{cm-1}$, 1366^{cm-1}, 1325^{cm-1}, 1306^{cm-1}, 1263^{cm-1} là những đỉnh đặc trưng cho các dẫn xuất của acid

oleanolic một băng hấp thụ mạnh ở 3430 $^{cm-1}$ (OH ở trạng thái cầu Hydro. 1035^{cm-1} (C-O-) 1690 $^{cm-1}$ (C = O) phổ IR dẫn xuất methyl este thấy chuyển dịch C = C ở 1650^{cm-1} và 1360^{cm-1} cũng như các dao động C = O ở 1728^{cm-1} và 1713^{cm-1} phổ NMR do viện VILR (Liên Xô cũ) chụp có các tín hiệu H của dây nối đôi ở C_{12} khung olean ở 3,5 ppm; OH 5,18 ppm và các tín hiệu của bảy nhóm -CH_3 trong acid oleanolic.

2. Nghiên cứu tác dụng sinh học

Chủ yếu nghiên cứu chống viêm trên các mô hình sau:

a) Mô hình u hạt thực nghiệm ở chuột cống trắng

Bảng 1. **Kết quả ức chế phù kaolin của các dạng chiết và saponin của đơn châu chấu**

Lô thí nghiệm	*Liều g/kg*	*Số lượng súc vật*	*Độ tăng TT chân chuột*	*Tỉ lệ % ức chế*	*P*
Đối chứng cao		5	76,5		
cồn 40 °	1,5	5	39,38	48,6	< 0,01
cao cồn 90°	1,5	5	45,13	42,3	< 0,02 < 0,01
saponin	~1,5 g dl	5	39,7	48,1	

b) Mô hình thu teo tuyến ức

Lò thí nghiệm	*Liều g/kg*	*Số lượng súc vật*	*Trọng lượng tuyến ức*	*Tỷ lệ % teo tuyến ức*	*P*
Đối chứng		5	0,1424		
cao cồn 40^0	0,3g/kg x 3	5	0,0773	46	< 0,05
saponin	0,3g/kg x 3	5	0,0938	33	< 0,05

Thí nghiệm với acid oleanoic 60mg/kg (tiêm dưới da) tỷ lệ giảm trọng lượng tuyến ức 40,9 với P < 0,01

c) Mô hình viêm màn dị ứng là giảm 20,3% trọng lượng u hạt dị ứng

III. KẾT LUẬN

Đơn châu chấu có saponin triterpen, genin chủ yếu là acid oleanolic, cao cồn, saponin và acid oleanolic đều có tác dụng chống viêm và có thể xếp vào loại chống viêm dị ứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *S. Shibata và cộng tác viên, 1963.*
Yakugaku Zashi 82, 1634, CA.59.1710.

2. *S. shibata, 1963.*
Tẻtabedron lettes 795.

3. *S. shibata, 1965.*
Tẻtabedron lettes 207.

4. Tạp chí Uỷ ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước - Hoạt động khoa học kỹ thuật. 6,30, 1973;

5. Phytochemistry 1995, 3a (1) 179 - 84;

6. CA., 123, 1995. 2512337;

7. CA., 125,1996. 256730S;

8. Rastitelnocres 1990 26 (1) 104 -23.

TÁC DỤNG CỦA MỘT SỐ CÂY THUỐC VÀ NHÓM CHẤT LÊN PHẢN ỨNG TẠO HOA HỒNG CỦA LYMPHO BÀO VỚI HỒNG CẦU CỪU

(Đề tài nhánh KHCN 11-05-02-01)

Bùi Thị Bằng,
Nguyễn Gia Chấn, Lê Nguyệt Nga,
Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu

SUMMARY

Effect of some medicinal plants and substances groups on the activity of T-lymphocytes to form rossette with sheep red blood cells.

Nonspecific immunostimulative agents may be value in combination with other therapies in the treatment of immunodeficiencies, cancer, infections and even autoimmune.

To search for these agents, 23 medicinal plants, 2 muchrooms and 5 substances groups have been tested. The results showed strong stimulative effect on the T-lymphocytes to form rossete with sheep red blood cells of the following plants and substances groups: Angelica sinensis (Oliv.) Diels., A. acutiloba Kit., Glycyrrhiza glabra L., Eucommia ulmoides Oliv., Curcuma domestica Valet, Bupleurum falcatum L. and Lentinus ododes. Two of six tested substances groups had the strongest effect on T-lymphocytes: polysaccharide and glycoside.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nước ta có nguồn tài nguyên phong phú về số lượng và đa dạng về tác dụng sinh học. Việc khảo sát tác dụng của chúng trên hệ miễn dịch là cần thiết, nhằm phát hiện những cây thuốc có tác dụng kích thích miễn dịch (KTMD), góp phần tạo ra những thuốc mới đáp ứng nhu cầu thuốc KTMD của cộng đồng.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Vật liệu nghiên cứu: là các mẫu cao nước, cao cồn, các nhóm chất toàn phần và một số chất tinh khiết chiết xuất từ một số dược liệu (cây thuốc, nấm, tảo).
- Phương pháp nghiên cứu:Tác dụng KTMD được đánh giá sơ bộ bằng phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào với hồng cầu cừu (HCC) theo Jondal [1].
- Nơi thử: Khoa Miễn dịch, Bệnh viện TƯ quân đội 108.
- Cán bộ thử: TS. Lê Văn Don.

III. KẾT QUẢ

1. Khảo sát tác dụng của một số dược liệu lên phản ứng tạo hoa hồng với HCC (bảng 1)

Nhận xét: Hầu hết các dược liệu đã khảo sát đều có tác dụng kích thích phản ứng tạo hoa hồng với HCC của tế bào lympho máu ngoại vi người. Tuy nhiên mức độ kích thích phụ thuộc vào bản chất của mẫu thử. Trong số các dược liệu trên, đương quy Trung Quốc (ĐQTQ), đương quy Nhật Bản (ĐQNB), đỗ trọng, nấm hương là những dược liệu có cao nước hoặc một số nhóm chất có tác dụng tốt hơn cả.

2. Khảo sát tác dụng của một số nhóm chất lên phản ứng tạo hoa hồng với HCC (bảng 2)

- Polysaccharid của hầu hết các dược liệu đã thử, ở nồng độ thích hợp (10^{-2}-10^{-3}g/ml) đều có tác dụng kích thích tốt phản ứng tạo hoa hồng của tế bào lympho. Trong đó polysaccharid của ĐQTQ, ĐQNB, sài hồ, nghệ vàng và nấm hương có tác dụng tốt hơn cả. Kết quả này phù hợp với kết quả công bố của nhiều tác giả trong và ngoài nước (2, 3, 4...).

Tác dụng kích thích hoặc ức chế phản ứng tạo hoa hồng của tế bào lympho là những căn cứ ban đầu để đánh giá sơ bộ tác dụng của các dược liệu và các nhóm chất đối với tế bào lympho T. Kết quả thu được trên đây đã là cơ sở cho việc lựa chọn ĐQNB làm nguyên liệu điều chế thuốc KTMD Angala - thuốc đã được thử nghiệm trên súc vật và trên lâm sàng có tác dụng KTMD (5).

-Polysaccharid của hầu hết các dược liệu đã thử, ở nồng độ thích hợp (10^{-2}-10^{-3}g/ml) đều có tác dụng kích thích tốt phản ứng tạo hoa hồng của tế bào lympho. Trong đó polysaccharid của ĐQTQ, ĐQNB, sài hồ, nghệ vàng và nấm hương có tác dụng tốt hơn cả. Kết quả này phù hợp với kết quả công bố của nhiều tác giả trong và ngoài nước (2, 3, 4...).

Bảng 1. **Tác dụng của một số cây thuốc lên phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào máu ngoại vi người (*in vitro*)**

TT	*Cây thuốc và nhóm chất thử*	*A*	*B*
1	Đương quy Trung Quốc		
	-Cao nước	+1,0	+8,0
	-Polysaccharid	+142,9	+52,3
	-Flavonoid	+7,4	-5,0
	-Glycosid	+21,4	+22,5
2	Đương quy Nhật bản		
	-Cao nước	+117,9	+47,5
	-Polysaccharid	+114,3	+67,6
	-Flavonoid	+50,0	+30,3
	-Glycosid	+42,9	-7,5
	-Saponin	+142,9	+62,5
3	Cam thảo:		
	-Cao nước	+9,0	+2,9
	-Flavonoid	-16,6	+11,8
	-Saponin	+50,0	+41,2
4	Sài hồ Trung Quốc:		
	-Cao nước	-18,2	+5,7
	-Saponin	-100,0	-100,0
5	Ba kích: Cao nước	-18,2	+2,9
6	Đỗ trọng: Cao nước	+72,7	+28,6
7	Hoàng cầm		
	Cao nước	+36,4	+25,5
8	Thanh cao		
	-Cao nước		
	- Protein	+44,5	+40,0
		+35,0	+31,0
9	Nấm Linh chi		
	-Cao nước		
	-Polysaccharid	+25,0	+23,5
	- Protein	-33,0	0
		-41,67	+5,9
10	Nấm hương		
	-Cao nước		
	- Polysaccharid	+25,0	+14,7
	- Protein	+91,7	+8,8
		+108,3	+58,2

Ghi chú: Nồng độ mẫu thử: 0,5 g/ml (dược liệu khô / dịch thử)-

A: Tỷ lệ % số lượng tế bào lympho tạo hoa hồng với HCC của mẫu thử tăng (+) hoặc giảm (-) so với mẫu chứng : 5 phút sau khi cho HCC.

B: Tỷ lệ % số lượng tế bào lympho tạo hoa hồng với HCC tăng (+) hoặc giảm (-) so với mẫu chứng : 16 - 18 giờ sau khi cho HCC.

(+): Tác dụng kích thích

(-): Tác dụng ức chế.

Bảng 2. **Tác dụng của một số nhóm chất lên phản ứng tạo hoa hồng với HCC của lympho bào máu ngoại vi người**

TT	*Nhóm chất*	*Liều thử (g/ml)*	*A*	*B*
1	*Polysaccharid* chiết xuất từ:			
	-Ba kích	10^{-3}	-8,3	+2,8
	-Bạch chỉ	10^{-3}	+8,3	+17,1
	-Cam thảo	10^{-3}	+50,0	+45,0
	-Đào tiên	10^{-3}	+33,3	+24,0
	-Đảng sâm	10^{-3}	+33,3	+17,6
	-Đương quy Trung Quốc	10^{-2}	-18,2	+8,5
		10^{-3}	+125,0	+45,2
		10^{-4}	+25,0	+6,5
	-Đương quy Nhật Bản	10^{-2}	+91,7	+52,9
		10^{-3}	-8,5	+2,9
		10^{-4}	-33,3	-5,8
	-Nghệ vàng	10^{-3}	+108,3	+80,0
	-Nghệ tím	10^{-3}	+41,6	+80,0
	-Nghệ trắng	10^{-3}	+66,0	+16,0
	-Quế	10^{-3}	+14,8	+40,0
	-Sài hồ Trung Quốc	10^{-3}	+40,0	+28,6
	-Sài hồ Nhật Bản	10^{-3}	+91,7	+84,0
	-Sinh địa	10^{-3}	+42,9	+40,0
	-Thục địa	10^{-3}	+50,0	+46,7
	- Bã lá Thanh cao	10^{-2}	-8,3	+2,8
	(sau chiết xuất artemisinin)	10^{-3}	+62,8	+35,5
	-Nấm hương	10^{-3}	+91,7	+8,8
2	-Krestin (Nhật Bản)	10^{-3}	+66,7	+80,0
	Alcaloid	10^{-2}	-58,3	-14,7
3	-Cepharanthin hydroclorid	10^{-3}	-16,7	-2,9
		10^{-5}	+37,5	0
	Flavonoid			
4	-Rutin	10^{-1}	-100	-100
		10^{-2}	-100	-100
	Glycosid			
5	-Mangiferin	10^{-4}	+75,0	+44,1
	Protein chiết xuất từ tảo:			
	-Spirulina platensis	10^{-3}	+26,6	+22,9

Nhận xét: Tác dụng kích thích tế bào lympho tạo hoa hồng với HCC phụ thuộc vào nồng độ của các chất trong dịch thử.

Tác dụng kích thích hoặc ức chế phản ứng tạo hoa hồng của tế bào lympho những căn cứ ban đầu để đánh giá sơ bộ tác dụng của các dược liệu và các nhó chất đối với tế bào lympho T. Kết quả thu được trên đây đã là cơ sở cho việc lự chọn ĐQNB làm nguyên liệu điều chế thuốc KTMD Angala - thuốc đã được th nghiệm trên súc vật và trên lâm sàng có tác dụng KTMD (5).

IV. KẾT LUẬN

Đã khảo sát tác dụng của 23 cây thuốc, 2 loại nấm và 5 nhóm chất lên phả ứng tạo hoa hồng với HCC của lympho bào máu ngoại vi người. ĐQNB, ĐQTQ, sà hồ, nghệ vàng, đỗ trọng, thanh cao, nấm hương và Krestin (thuốc KTMD của Nhậ Bản) là những được liệu có tác dụng mạnh hơn cả. Trong số các nhóm chất đã th polysaccharid và glucosid mangiferin là các nhóm chất có tác dụng kích thích tế bà lympho T tạo hoa hồng với HCC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Jondal M.H. et al, 1972.*
Exp. Med. 136, 207-215.

2. *Trần Văn Kỳ, 1994.*
Đông Y trị ung thư. NXB Tp HCM, 36-42.

3. *Lumazawa Y. et al, 1982.*
Immunology, 47(1), 75-83.

4. *Yamada H. et al, 1992.*
Planta Med. 58(2), 166-170.

5. *Nguyễn Gia Chấn, Lê Minh Phương, Bùi Thị Bằng, Phan Thị Phi Phi, Phan Thu Anh, Đỗ Hòa Bình, 1998.*
Abstracts of the ASOMPS IX, Hà Nội, 9-1998.

HÀM LƯỢNG, THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA TINH DẦU LÁ ĐƯƠNG QUY (*Angelica acutiloba* Kit.) DI THỰC TỪ NHẬT BẢN

Bùi Thị Bằng, Lê Tùng Châu,
Lê Kim Loan, J. Casanova[1], A. Muselli[1], A. Bighelli[1],
Phạm Văn Ý, Nguyễn Thị Dung, Vũ Văn Điển[2]

SUMMARY

The content, chemical composition and biological activity of essential iol from *Angelica acutiloba* Kit. leaves

The leaves of Angelica acutiloba Kit. grown in Thanh Tri (Hanoi) contain from 0,60 to 0,70% essential oil (absolute dried leaves). The essential oil has the following physical indices: d_{28} = 0,8917; α_{D28} = - 3,48; n_D = 1,5050; λ_{max} = 214 and 270 nm.

The composition of the essential oil, identified and quantified by combining of column chromatography, 13C - NMR spectroscopy and gas chromatography was the following: γ - terpinien, 36,5%; p - cymene, 17,1%; ligustilide, 16,1%; myrcene, 5,1%; β - ocimene, 3,1%; limonene, 2,4% and caryophyllene oxyde, 2,2% (totally 82,8%). It is noticeable that ligustilide, the main bioactive component of the root oil, is also present in the leaves oil of the plant.

The leaves oil has dilated the peripheral blood vessels of the rabbit ears, increasing quantity of the drops flowing through blood vessels up to 183%, in comparision with the control.

*
* *

[1] Trường ĐH Tổng hợp Corse.
[2] Trường ĐH Dược Hà Nội.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay lá đương quy (ĐQ) di thực từ Nhật Bản (ĐQNB) là phế liệu khi thu hoạch rễ củ. Lá có tinh dầu với mùi thơm đặc trưng. Vì vậy chúng tôi tiến hành khảo sát hàm lượng tinh dầu, nghiên cứu thành phần hoá học và tác dụng sinh học của tinh dầu lá ĐQNB nhằm tìm hiểu khả năng sử dụng làm thuốc.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Lá của loài đương quy (*Angelica acutiloba* Kit.) di thực từ Nhật Bản năm 1990 là vật liệu nghiên cứu. Mẫu lá dùng để cất tinh dầu được thu tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội và tại Hưng Yên vào tháng 7 năm 1995, 1996 khi thu hoạch rễ củ làm dược liệu (cây được 9 - 10 tháng tuổi kể từ khi gieo hạt).

2. Phương pháp nghiên cứu

• Tinh dầu được chiết xuất từ lá ĐQNB bằng phương pháp cất kéo với hơi nước.

• Các chỉ số hoá học được xác định theo Tiêu chuẩn Việt Nam [1].

• Các thành phần hoá học của tinh dầu được xác định và nhận dạng bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ cacbon13 ($C^{13}NMR$) kết hợp với sắc ký khí (SKK). Phổ $C^{13}NMR$ được ghi trên máy Bruker 200. Sắc ký khí được ghi trên máy SKK Perkin - Elmer 8500.

• Tác dụng trên mạch tai thỏ được thử theo phương pháp của Vaxileva [2]. Tinh dầu lá ĐQNB được pha trong nước nóng (nồng độ 10%) và bơm vào mạch máu tai thỏ cô lập với các liều 0,1; 0,2 và 0,3 ml. Đếm số giọt dung dịch tinh dầu chảy ra từ mạch máu trong 1 phút so sánh với dung dịch Krebs.

III. KẾT QUẢ

1. Xác định hàm lượng tinh dầu trong lá ĐQNB

• Đã xác định hàm lượng tinh dầu trong lá ĐQ tươi (ngay sau khi thu hoạch rễ củ), lá héo (4 - 5 ngày sau khi thu hoạch), lá phơi khô và lá khô sau khi bảo quản 5 - 6 tháng. Kết qủa cho thấy hàm lượng tinh dầu trong lá tươi, lá héo và lá khô là tương tự nhau: 0,6 - 0,7% (so với khối lượng khô tuyệt đối). Hàm lượng tinh dầu giảm đi đáng kể sau 5 - 6 tháng bảo quản: 0,30 - 0,32%. Kết quả cho thấy nên cất

tinh dầu ngay sau khi thu hoạch rễ củ. Hiệu suất cất tinh dầu tại Hưng Yên ở quy mô 50 kg lá/mẻ là 0,5%.

• Khảo sát thời gian cất tinh dầu từ lá ĐQ ở quy mô phòng thí nghiệm cho thấy thời gian để cất hết tinh dầu trong lá từ 3 đến 3 giờ rưỡi. Trong đó số lượng tinh dầu thu được chủ yếu từ phút thứ 45 đến phút 150 kể từ khi cất.

2. Xác định các chỉ số vật lý và hoá học của tinh dầu lá ĐQNB

Tinh dầu lá ĐQNB là chất lỏng, màu vàng nhạt có mùi thơm đặc trưng. Phổ tử ngoại của tinh dầu có 2 cực đại chính ở 214 và 270 nm và một số cực đại phụ ở 232, 280, 320 nm. Tinh dầu lá ĐQ trồng tại Thanh trì Hà Nội có các chỉ số vật lý và hoá học sau: d_{28} = 0,8917; α_D = - 3,48; n_D = 1,5050; chỉ số acid = 28,05; chỉ số ester = 119,0; hàm lượng cacbonyl = 20,00%.

3. Thành phần hoá học của tinh dầu

• ***Phân lập và nhận dạng ligustilid***: Trong tinh dầu rễ củ các loài ĐQ có ligustilid là thành phần có nhiều tác dụng sinh học như: giãn mạch, giảm đau, chống co thắt, ức chế ngưng tập tiểu cầu (3, 4, 5). Vì vậy định hướng của chúng tôi là tìm ligustilid trong tinh dầu lá ĐQNB. Kết quả phân tích bằng Sắc ký lớp mỏng (SKLM) cho thấy trong tinh dầu lá ĐQNB có ligustilid. Để nhận dạng cấu trúc hoá học, ligustilid đã được tách từ tinh dầu bằng phương pháp Sắc ký cột. Pha tĩnh là silicagel, pha động là hỗn hợp ether dầu hoả - diethyl ether với tỷ lệ tăng dần từ 10 đến 100% diethyl ether. Phân đoạn rửa bằng 100% diethyl ether có hàm lượng ligustilid cao nhất. Ligustilid được nhận dạng bằng phổ C^{13}NMRvà bằng SKK so sánh với ligustilid tách từ tinh dầu xuyên khung và đối chiếu với phổ chuẩn.

• ***Thành phần hoá học tinh dầu lá ĐQNB***: Bằng phương pháp SKK phối hợp với phổ C^{13}NMR đã nhận dạng và xác định hàm lượng các thành phần sau đây của tinh dầu lá ĐQNB:

γ - terpinen	36,5%
p - cymen	17,1
ligustilid	6,1
myrcen	5,1
β - ocimen	3,1
limonen	2,4
oxyd caryophyllen	2,2
Tổng cộng:	82,8%

Việc phát hiện ligustilid trong tinh dầu lá ĐQNB đã mở ra triển vọng sử dụng tinh dầu làm thuốc. Trong rễ củ ĐQNB có tinh dầu và ligustilid nhưng trong quá trình làm khô rễ củ, ligustilid còn lại không đáng kể. Ligustilid là một trong số các

thành phần có tác dụng hoạt huyết của vị thuốc Đương quy. Vì vậy chúng tôi tiến hành thử tác dụng của tinh dầu lá ĐQ trên mạch tai thỏ.

• ***Tác dụng của tinh dầu lá ĐQNB trên mạch tai thỏ:*** Kết quả trình bày ở bảng dưới đây cho thấy với liều thử 0,1 ml dung dịch 10% của tinh dầu lá ĐQNB số giọt dung dịch chảy qua mạch máu tăng 133% so với mẫu chứng. Tăng liều thử số giọt dung dịch chảy qua mạch tai thỏ cũng tăng theo: liều 0,2 ml tăng 173%; liều 0,3 ml tăng 183% so với mẫu chứng. Kết quả này chứng tỏ tinh dầu lá ĐQNB có tác dụng giãn mạch tai thỏ. Nhờ kết quả này tinh dầu lá ĐQNB đã được đưa vào làm thuốc tăng cường tuần hoàn máu có tên là Angelin.

Tác dụng của tinh dầu lá ĐQNB trên mạch tai thỏ

TT	*Liều thử (ml dung dịch 10% của tinh dầu bơm vào mạch máu tai thỏ cô lập)*					
	0,1		*0,2*		*0,3*	
	Số giọt/phút		*Số giọt/phút*		*Số giọt/phút*	
	Vo	Vt	Vo	Vt	Vo	Vt
1	30	70	30	80	30	80
2	30	70	30	90	30	90
3	30	70	30	90	30	100
4	30	70	30	80	30	90
5	30	70	30	75	30	90
6		70		75		80
7		70		70		80
8		70		80		80
9		70		90		80
10		70		90		80
TB	30	70	30	82	30	85
Tăng so với chứng (%)		+ 133		+ 173		+ 183

Ghi chú: Vo: Mẫu chứng; Vt: Mẫu thử.

IV. KẾT LUẬN

1. Hàm lượng tinh dầu trong lá ĐQNB trồng tại Thanh Trì Hà Nội từ 0,6 đến 0,7% (so với khối lượng khô tuyệt đối của lá).

2. Đã phân lập ligustilid từ tinh dầu lá ĐQNB bằng phương pháp sắc ký cột và nhận dạng bằng phương pháp phổ C^{13}NMR và sắc ký khí.

3. Đã nhận dạng và xác định hàm lượng (%) các thành phần sau đây trong tinh dầu lá ĐQNB: γ - terpinen 36,5; p - cymem 17,1; ligustilid 16,1; myrcen 5,1; β - ocimen 3,1; limonen 2,4; oxyd caryophyllen 2,2%.

4. Tinh dầu lá ĐQNB có tác dụng giãn mạch tai thỏ, tăng số giọt dung dịch chảy qua mạch máu tai thỏ từ 133 đến 183% so với chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tinh dầu. Tiêu chuẩn Nhà nước. TCVN 189 - 76, 1976.

2. *Vaxileva L.L., Vetiukova I.A., 1961.*
Thực hành sinh lý người và động vật, Nxb. " Trường Cao đẳng", M., 150 - 151.

3. *Noro Y. et al., 1989.*
Shoyakugaku Zasshi, 43 (1), 55 - 58.

4. *Lawrence B.M., 1980.*
Perfum. Flavor, 5, 20 - 30.

5. *Zhang Shi Yu, Cheng Kuo Chang, 1989.*
Forestry, V.7, 1 - 22.

TÁC DỤNG PHỤC HỒI MIỄN DỊCH CỦA CHẾ PHẨM POLYSACCHARID CHIẾT XUẤT TỪ ĐƯƠNG QUY NHẬT BẢN (*Angelica acutiloba* Kit.)

(Đề tài nhánh KHCN 11 - 05 - 02 - 01)

Nguyễn Gia Chấn, Phan Thị Phi Phi, Lê Minh Phương,
Bùi Thị Bằng, Phan Thu Anh[1], Đỗ Hoà Bình

SUMMARY

The immunorestorative effect of polysaccharide from *Angelica acutiloba* Kit.

The pectic polysaccharide fraction isolated from Angelica acutiloba Kit introduced into Vietnam has been tested for its effect on immunity of mice.

Oral administration of the polysaccharide fraction (150mg and 500 mg/kg body's weigh) had significantly increased the relative weigh of spleen and of thymus as well the number of anti - sheep red blood cell - IgM - plaque forming cells (anti - SRBC - IgM - FPC) in the spleen of mice.

When the polysaccharide fraction was orally administered to the cyclophosphamide - treated mice the structural injuries in the spleen and in the bone marrow have been mostly restored to the level of normal mice.

In vitro the polysaccharide fraction has lightly enhanced interleukin - 2 (IL - 2) production of T - lymphocytes isolated from normal man and has significantly increased IL - 2 production of T - lymphocytes isolated from nasopharyngeal carcinoma patients (NCP).

These results postulated that a low dose (150mg/kg) of the pectic polysaccharide from Angelica acutiloba Kit. roots has restored the structural and functional immune injuries in vitro as well In vivo.

*

* *

[1] Trường Đại học Y khoa Hà Nội.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Polysaccharid (PS) chiết xuất từ rễ củ đương quy Nhật Bản (ĐQNB) có tác dụng kích thích phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào [1]. Ở trong nước chưa có công trình nghiên cứu nào về tác dụng phục hồi tổn thương miễn dịch của rễ củ ĐQNB di thực. Mục đích nghiên cứu này là khảo sát tác dụng của chế phẩm PS chiết xuất từ rễ củ ĐQNB trên các tổn thương của hệ miễn dịch (MD) chuột nhắt trắng bị xử lý bằng cyclophosphamid (CY).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu: là chế phẩm PS chiết xuất từ rễ củ ĐQNB (*Angelica acutiloba* Kit.) trồng tại Thanh Trì, Hà Nội. Bột PS được hoà trong nước, cho chuột uống với liều 150 và 500 mg/kg thể trọng

2. Phương pháp nghiên cứu [2]

87 chuột chia làm 4 nhóm:

Nhóm 1: n = 11 - Đối chứng sinh học

Nhóm 2: n = 14 - Tiêm CY (250mg/kg)

Nhóm 3: n = 31 - Tiêm CY + PS (150mg/kg)

Nhóm 4: n = 31 - Tiêm CY + PS (500mg/kg)

- ***Chỉ tiêu theo dõi***

1- Trọng lượng chuột trước và sau điều trị

2- Công thức máu

3- Trọng lượng tuyến ức tương đối

4- Trọng lượng lách tương đối

5- Tỷ lệ tế bào tạo quầng dung huyết (PFC)

6- Phản ứng bì với kháng nguyên OA

7- Xét nghiệm cấu trúc vi thể, mô bệnh học của tuỷ xương và tuyến ức

8- Đo hàm lượng IL - 2 trong dịch nuôi cấy tế bào lympho T của người bệnh ung thư vòm họng giai đoạn muộn.

- ***Nơi thử***: Labô Trung tâm Y Sinh học, Đại học Y Hà Nội
- ***Cán bộ thực hiện:*** GS. TSKH. Phan Thị Phi Phi và ctv.

III. KẾT QUẢ

Bảng 1. **Kết quả điều trị bằng PS cho chuột bị xử lý bởi CY**

Các nhóm chuột	*Trọng lượng tương đối*		*Số lượng*		*PFC (‰)*	*Đường kính p.ư. bì (mm)*
	Lách (x1000)	*Tuyến ức (x1000)*	*Bạch cầu*	*Tiểu cầu*		
1	1048±347,22	849,18±197,50	5,52±1,36	1041±326,33	225,56±60,23	1,46±2,02
2	379,64±76,31	200,00±51,56	1,29±1,93	358,14±170,22	149,29±44,46	1,57±2,31
3	431,58±166,99	241,71±67,31	**2,14**±1,85	**472,55**±156,11	**184,97**±59,22	**4,19**±3,85
4	**461,65**±169,03	**246,23**±84,06	1,66±1,67	392,87±241,32	181,17±57,10	3,32±4,52
P	P < 0,01	P < 0,01	P < 0,01	P < 0,01	P = 0,05	P < 0,05

Bảng 2. **Kết quả mô bệnh học của tuyến ức và tuỷ xương**

Đối tượng	*Tuyến ức*	*Tuỷ xương*
Chuột đối chứng sinh học	Mật độ tế bào lympho bình thường, ranh giới vùng vỏ và tuỷ rõ ràng	Tế bào các dòng phân bố bình thường
Chuột tiêm CY 250mg không điều trị (dựa trên 2 mẫu tử thiết)	Mật độ tế bào giảm nặng, còn rất ít, nghèo nàn. Tăng sinh mô liên kết lan toả. Thoái hoá hốc rải rác, có một số tế bào nhân lớn hoặc 2 nhân.	Rất nghèo các dòng tế bào, đặc biệt dòng bạch cầu hạt và đơn nhân. Nhiều hồng cầu.
Chuột tiêm CY có điều trị liều thấp (dựa trên 2 mẫu tử thiết)	Nhiều tế bào lympho, đơn nhân, có tế bào biểu mô, không thấy hiện tượng xơ hoá, vùng vỏ và vùng tuỷ tương đối rõ. Còn một vài tế bào có hốc sáng.	Nhiều tế bào đơn nhân, dòng tế bào hạt vừa phải. Đặc biệt có tăng chỉ số nhân chia, nhiều mẫu tiểu cầu. Tuỷ gần bình thường.
Chuột tiêm CY có điều trị liều cao dựa trên 2 mẫu tử thiết)	Có thoái hoá hốc quanh mô lympho. Dòng lympho mức độ vừa, tăng sinh liên kết xơ vừa phải	Mật độ tế bào vừa phải, chủ yếu là dòng đơn nhân, các bạch cầu hạt ít hơn. Không thấy thoái hoá mỡ, mẫu tiểu cầu rất ít, có tiêu bản không có mẫu tiểu cầu

Nhận xét:

+ Sau 4 ngày điều trị cho chuột tiêm CY bằng PS các thông số theo dõi (trọng lượng lách tương đối, trọng lượng tuyến ức tương đối và số lượng bạch cầu) đều phục hồi và tăng lên có ý nghĩa so với nhóm không điều trị (bảng 1).

+ Sự phục hồi tổn thương cấu trúc vi thể của tuyến ức và tuỷ xương ở chuột tiêm CY có điều trị liều thấp tốt hơn ở chuột có điều trị liều cao (bảng 2).

Bảng 3. **Nồng độ IL - 2 trong dịch nổi các mẫu nuôi cấy lympho bào**

10^5 lympho bào của	*Nồng độ IL - 2*	
	ng/ml	*Tăng so với chứng (%)*
Người bình thường	50,6	100
Người bình thường + PS (150 mg)	55,3	**109,28**
Người bình thường + PS (500 mg)	32,3	63,83
Người NPC (T_{4TK} N_3 M_0)	12,4	100
Người NPC + PS 150 mg	23,3	**187,90**
Người NPC + PS 500 mg	18,5	149,19

*PS = Polysaccharid; * NPC = Người bệnh ung thư vòm họng giai đoạn muộn

IV. KẾT LUẬN

1. *In vivo* CY (250mg/kg) gây giảm chủ yếu số lượng, cấu trúc và chức năng tế bào lympho B và đáp ứng MD dịch thể, biểu hiện bằng sự giảm có ý nghĩa thống kê các thông số sau:

- Trọng lượng lách tương đối
- Trọng lượng tuyến ức tương đối
- Tỷ lệ tế bào tạo quầng dung huyết
- Số lượng bạch cầu

2. Sau điều trị 4 ngày cho chuột tiêm CY bằng PS các thông số trên đều phục hồi và tăng lên có ý nghĩa so với nhóm không điều trị. Sự hồi phục biểu hiện trên một số thông số đo chức năng MD chủ yếu, kể cả hồi phục cấu trúc vi thể của tuỷ xương và tuyến ức.

3. Liều thấp (150mg/kg) tỏ ra có tác dụng tốt hơn liều cao (500mg/kg).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Lê Nguyệt Nga, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu, 1997.*
Tạp chí Dược liệu, số 2, 1997, 14 - 17.

2. *Phan Thị Phi Phi và ctv, 1988.*
Revue pharmaceutique du Việt Nam, số 1, 1988.

NGHIÊN CỨU THUỐC KÍCH THÍCH MIỄN DỊCH TỪ RỄ CỦ CÂY ĐƯƠNG QUY NHẬT BẢN (*Angelica acutiloba* Kit.)

(Đề tài nhánh KHCN11 - 05 - 02 - 01)

Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng,
Lê Kim Loan, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu,
Nguyễn Văn Tài, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Kim Phượng

SUMMARY

Research on the immunostimulative drug from Japanese Danggui (*Angelica acutiloba* Kit.)

Nowaday immune therapy is an adjuvant therapy for treatment of tumorous and immunodefficient diseases. To search for the natural immunostimulative drugs some substances groups (water - , ethanol - soluble substances, flavonoids, saponins and polysaccharides) from Japanese Danggui (Angelica acutiloba Kit.) have been tested on the activity of T - lymphocytes to form rossetes E with sheep red blood cells. Polysaccharides (PS) have been considered to have stimulative effect on T - lyphocytes and on mice treated with cyclophosphamide, restoring theirs functional and structural injuries.

To produce an immunostimulative drug the extraction method for PS from Angelica roots has been studied. It includes the followings: Extractive solvent: Water; extractive temperature: 90^{0}C; Duration of extraction: 2 - 3 hours; PS efficiency: 10 - 13%/dry w. PS is non - toxic product (LD_{50} has not been determined; biochemical and structural damaged have not been observed after long period of oral administration of PS to mice).

*An immunostimulative drug, named **Angala**, has been formulated from Angelica PS in capsule form. One capsule of Angala consists of the followings: PS:0,5g; avicel: 0,04g and talc powder: 0,01g.*

Angala has been clinically tested on the chronic active hepatitis patients and the touinorous patients treated with chemo - and radiotherapies. Angala exerts good effect on the restoration of immune capacity, which badly affected by the radiation and the chemicals.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay vai trò của các thuốc kích thích miễn dịch (KTMD) trong điều trị các bệnh lý có liên quan đến suy giảm miễn dịch (MD) đã rõ ràng. Dùng phối hợp các thuốc KTMD với các thuốc đặc trị đã có hiệu quả hơn như cải thiện bệnh cảnh lâm sàng, xét nghiệm, làm giảm tỷ lệ tái phát, rút ngắn thời gian điều trị.

Một trong số các dược liệu được nghiên cứu nhiều về tác dụng trên hệ miễn dịch là đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kit.). Polysaccharid (PS) của rễ củ đương quy Nhật Bản (ĐQNB) đã được chứng minh trên thực nghiệm có tác dụng KTMD, chống ung thư, kéo dài thời gian sống của chuột cấy tế bào cổ trướng Erhlich, kích thích sản xuất interferon, phục hồi một số tổn thương cấu trúc và chức năng MD dịch thể và MD tế bào, phục hồi một số dòng tế bào máu (bạch cầu, tiểu cầu) ở chuột xử lý bằng cyclophosphamid (CY) [1,2,3]. Vì vậy chúng tôi đã nghiên cứu chế phẩm polysaccharid chiết xuất từ rễ củ ĐQNB làm thuốc KTMD.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Bước 1: Sàng lọc tìm nhóm chất có tác dụng KTMD bằng phản ứng tạo hoa hồng với hồng cầu cừu.

Bước 2: Nghiên cứu chiết xuất PS từ rễ củ ĐQNB.

Bước 3: Thử độc tính cấp, độc tính bán mãn, tác dụng dược lý của PS.

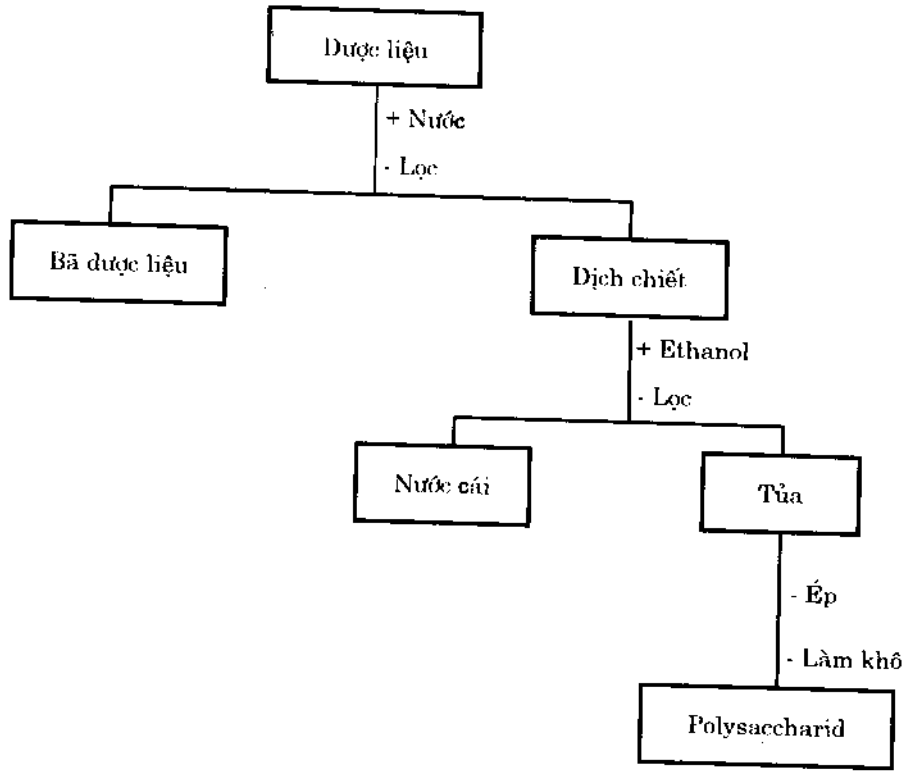
Bước 4: Nghiên cứu bào chế, xây dựng tiêu chuẩn thuốc KTMD.

Bước 5: Thử tác dụng KTMD của thuốc trên một số bệnh gây suy giảm MD (ung thư, viêm gan mãn hoạt động).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Nghiên cứu chiết xuất PS từ rễ củ ĐQNB

Kết quả khảo sát tác dụng của một số nhóm chất và chế phẩm của ĐQNB (cao nước, cao cồn, PS, flavonoid, saponin) cho thấy chế phẩm PS có tác dụng kích thích mạnh phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào T với hồng cầu cừu. Chúng tôi đã khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất và tác dụng sinh học của chế phẩm PS như: nhiệt độ, thời gian, tỷ lệ dược liệu và dung môi v.v.... Kết quả cho thấy dung môi chiết xuất là nước, nhiệt độ chiết xuất thích hợp là 90^0C, tỷ lệ dược liệu nước 1:7, thời gian chiết 2 - 3 giờ, Hiệu suất PS từ 10 đến 13% so với khối lượng khô của dược liệu. Chế phẩm PS được chiết xuất từ rễ củ ĐQNB theo sơ đồ 1.



Sơ đồ 1. **Sơ đồ chiết xuất chế phẩm polysaccharid từ ĐQNB.**

2. Thử độc tính cấp và độc tính bán mãn của chế phẩm PS chiết xuất từ ĐQNB

Kết quả: Chế phẩm PS có độc tính rất thấp (không xác định được LD_{50} vì không có chuột chết).

Khi cho thỏ uống liều 0,9 g PS (~ 10 g dược liệu)/kg thỏ/ngày, kéo dài 4 tuần liên tục, không có biểu hiện nhiễm độc trên thỏ về mặt sinh hoá và giải phẫu.

3. Nghiên cứu bào chế thuốc KTMD từ PS chiết xuất từ ĐQNB

Kết quả thử tác dụng trên mô hình gây suy giảm MD bằng CY cho thấy sau 4 ngày điều trị một số thông số đo chức năng MD chủ yếu ở chuột được phục hồi và tăng lên có ý nghĩa so với nhóm chứng, kể cả phục hồi cấu trúc vi thể của tuỷ xương và tuyến ức [4,5]. Vì vậy chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu bào chế thuốc KTMD cho thử nghiệm lâm sàng. Tên thuốc: Angala. Đã nghiên cứu 7 công thức cho viên nang Angala, trong đó công thức 7 cho viên nang đạt tiêu chuẩn DĐVN (xem bảng dưới).

Một số công thức bào chế viên nang Angala

Nguyên liệu (g)	*Công thức bào chế cho 1 viên*				
	3	*4*	*5*	*6*	*7*
Chế phẩm PS	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Tinh bột sắn	0,09	0,02	0	0	0
Avicel	0,01	0,01	0,01	0	0,04
Bột talc	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

4. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn và theo dõi tuổi thọ của thuốc Angala

Đã xây dựng 3 tiêu chuẩn:

• Tiêu chuẩn rễ củ ĐQNB (52TC - I_1 - 01/98) làm nguyên liệu chiết xuất chế phẩm PS.

• Tiêu chuẩn bột Angala (52TC - I_1 - 02/98) làm bán thành phẩm bào chế thuốc Angala.

• Tiêu chuẩn thuốc Angala: 52TC - I_1 - 03/98.

Tiêu chuẩn thuốc Angala đã được viện Kiểm nghiệm thẩm định đạt tiêu chuẩn DĐVN. Thuốc có thời hạn sử dụng 24 tháng [6].

Thuốc Angala đã được phép thử nghiệm trên bệnh nhân ung thư điều trị bằng tia xạ và hoá chất và trên bệnh nhân viêm gan mãn hoạt động.

IV KẾT LUẬN

1. Đã nghiên cứu chiết xuất chế phẩm polysaccharid từ rễ củ ĐQNB với hiệu suất 10 - 13% so với khối lượng khô của dược liệu.

2. Chế phẩm PS chiết xuất từ ĐQNB có độc tính thấp (không xác định được LD_{50}) và không gây nhiễm độc trên thỏ về mặt giải phẫu và sinh hoá.

3. Thuốc KTMD Angala được bào chế từ chế phẩm PS của ĐQNB dưới dạng viên nang cứng 0,5g đạt tiêu chuẩn DĐVN. Thuốc có thời hạn sử dụng 24 tháng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Lamuzawa Y. et al., 1982.*
Immunology, 47 (1), 75 - 83.

2. *Tsumuna Juntendo Inc., 1985.*

Antitumor polysaccharide. YT IIs from the roots of *Angelica acutiloba* Kit. CA 103, 762404.

3. *Yamada H. et al., 1990.*

Planta Med. 56 (2), 182 - 186.

4. *Nguyễn Gia Chấn và CTV, 1989.*

Tạp chí Dược liệu số 2, 49 - 52.

5. *Nguyễn Gia Chấn và CTV, 1998.*

Tạp chí Dược liệu số 3, 72 - 75.

6. *Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu, Bùi Thị Bằng, 1999.*

Tạp chí Dược liệu số 4, 113 - 115.

KẾT QUẢ THỬ TÁC DỤNG KÍCH THÍCH MIỄN DỊCH CỦA ANGALA TRÊN LÂM SÀNG

(Đề tài KHCN 11 - 05 - 02 - 01)

Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Bá Đức[1], Hoàng Văn Diện[1], Trần Minh Vịnh[2], Bùi Thị Bằng, Lê Minh Phương, Nguyễn Tuyết Mai[1], Trần Văn Công[1], Tô Anh Dũng[1], Hoàng Trọng Chính[3], Đỗ Văn Tú[1], Lê Văn Don,và ctv.

SUMMARY

Clinical trial of Angala on immunostimulative effect

A case - control randomized study of Angala tablet, prepared from root of Angelica acutiloba Kit., was performed on:

- 30 breast cancer patients treated with radiotherapy, chemotherapy (a daily dose of Angala 1000mg x 90 days).

- 20 toumorous patients treated with chemotherapy (a daily dose 1000mg x 30 days).

- 20 patients with chronic active hepatitis B (a daily dose 1000mg x 10 days).

Results are discussed basing on the analysis of myelogram, blood formula, especially of immune cells T_{CD4}, T_{CD8} and T_{CD3}. Angala exerts on the restoration of immune capacity, which badly affected by the radiation and the chemicals.

*

* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Angala là thuốc kích thích miễn dịch (KTMD) bào chế từ chế phẩm polysaccharid (PS) toàn phần chiết xuất từ rễ củ cây đương quy Nhật Bản

[1] Bệnh viện K Hà Nội.
[2] Bệnh viện TƯ Quân đội.
[3] Trung tâm Nghiên cứu phòng chống ung thư.

(*Angelica acutiloba* Kit.) (ĐQNB). Bột Angala có tác dụng phục hồi một số tổ thương cấu trúc và chức năng miễn dịch ở chuột nhắt trắng bị xử lý bở cyclophosphamid. *In vitro* bột Angala có tác dụng phục hồi khả năng chế tiết IL - 2 của tế bào lympho phân lập từ người bệnh ung thư vòm họng. Vì vậy Angala được thử nghiệm trên bệnh nhân ung thư và viêm gan mãn HBsAg (+) để đánh giá tác dụng bổ trợ miễn dịch của thuốc trên lâm sàng.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Viên nang Angala có chứa 0,5g PS chiết xuất từ rễ củ cây ĐQNB là vật liệu nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

Thuốc Angala được thử trên 60 bệnh nhân thuộc 3 nhóm bệnh: ung thư vú đang điều trị bằng tia xạ và hoá chất, ung thư các loại điều trị đa hoá trị liệu và bệnh nhân viêm gan mãn hoạt động (VGMHĐ) HBsAg (+) tại 3 cơ sở y tế (Bệnh viện K Hà Nội, Trung tâm nghiên cứu phòng chống ung thư và Bệnh viện TƯ quân đội 108). Liều thử: 2 viên 0,5 g chia 2 lần/ngày. Chỉ tiêu theo dõi: công thức máu, công thức bạch cầu, men gan, số lượng tế bào lympho mang dấu ấn, tác dụng phụ v.v.... so sánh với lô không dùng thuốc Angala.

III. KẾT QUẢ

1. Tác dụng bổ trợ MD của Angala trên bệnh nhân ung thư vú điều trị hoá chất, tia xạ

• ***Chọn bệnh nhân:*** 30 bệnh nhân ung thư vú chẩn đoán giai đoạn theo TNM của UICC được chia làm 3 nhóm:

- Nhóm I (nhóm chứng): 10 bệnh nhân điều trị hoá chất CAF hoặc CMF.
- Nhóm II: 10 bệnh nhân điều trị hoá chất + Angala (2 viên 0,5g/ngày x 90 ngày).
- Nhóm III: 10 bệnh nhân điều trị bằng tia xạ + Angala (2 viên 0,5g/ngày x 90 ngày).

• ***Chỉ tiêu theo dõi:*** Số lượng bạch cầu, tiểu cầu, huyết sắc tố, các dòng lympho T mang dấu ấn (TCD_4, TCD_8, TCD_3) và tác dụng phụ của thuốc. Xét nghiệm làm vào các ngày 0, 7, 14, 21, 28.

• ***Nơi thử:*** Bệnh viện K Hà Nội

Bảng 1. **So sánh số lượng một số dòng tế bào máu giữa hai nhóm bệnh nhân ung thư vú không điều trị (I) và có điều trị phối hợp với Angala (II)**

Chỉ tiêu	*Trước ĐT*	*Đợt I: ngày 8*		*Đợt II: ngày 8*		*Đợt III:ngày 8*	
		Số lượng	*Giảm %*	*Số lượng*	*Giảm %*	*Số lượng*	*Giảm (%)*
Hồng cầu I	3,91	3,93		3,97		3,93	
($x10^6$/mm^3) II	4,12	3,91	5,09	3,88	5,8	3,62	12,14
Hb I	12,6	10,9		11,5		12,4	
(g/dl) II	13,5	12,9	4,45	12,5	7,4	12,8	5,19
Bạch cầu I	7,34	5,7	22,34	5,3	27,74	4,7	35,97
($x10^3$/mm^3) II	6,81	5,3	22,17	5,7	22,74	4,7	**23,64**
Tiểu cầu I	303,4	231,3	23,76	222,8	26,56	205,8	32,17
($x10^3$/mm^3) II	287,6	235,9	17,47	251,8	12,44	250,8	**12,79**

Bảng 2. **So sánh số lượng tế bào lympho T mang dấu ấn giữa hai nhóm BN ung thư vú điều trị hoá chất: không phối hợp (I) và có phối hợp với Angala (II).**

Nhóm BN		TCD_4		TCD_8		TCD_3	
		SL (TB/µl)	*Giảm %*	*SL (TB/µl)*	*Giảm %*	*SL (TB/µl)*	*Giảm %*
Nhóm chứng I	Trước ĐT	719,5		386,5		1176,2	
	Sau ĐT	475,4	33,93	298,2	25,17	718,2	38,94
Nhóm dùng thuốc II	Trước ĐT	723,7		510,6		1331,3	
	Sau ĐT	**533,7**	**26,31**	**440,2**	**13,79**	**1045,8**	**21,45**
	P		> 0,05		> 0,05		< 0,05
Nữ bình thường 18 - 65 tuổi (Phan Bích Liên 1996)		907± 284 (399 - 1590)		649 ±183 (253 - 965)		1652±42 (794 - 2774)	

• ***Kết quả:***

- Số lượng bạch cầu và tiểu cầu giảm ở cả 2 nhóm nhưng ở nhóm bệnh nhân dùng phối hợp với Angala giảm ít hơn. Số lượng tế bào lympho T mang dấu ấn giảm ở cả 2 nhóm, nhưng ở nhóm dùng phối hợp với Angala giảm ít hơn và ở giới hạn bình thường. Sự khác nhau (TCD_3) có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Số lượng lympho bào mang dấu ấn ở nhóm không dùng Angala giảm nhiều, đặc biệt TCD_3 giảm dưới giới hạn bình thường.

- Tác dụng phụ: 1 bệnh nhân có triệu chứng đau đầu nhẹ, chiếm tỷ lệ 1/20.

2. Tác dụng của Angala đối với tế bào máu ngoại vi ở bệnh nhân ung thư dùng đa hoá trị liệu

• ***Chọn bệnh nhân:*** 40 bệnh nhân Hodgkin, non - hodgkin, ung thư đại tràng đã mổ, ung thư phổi, lách dùng đa hoá trị liệu cách nhau 2 tuần, chia làm 2 nhóm:

Nhóm I (nhóm chứng): 20 bệnh nhân dùng đa hoá trị liệu

Nhóm II: 20 bệnh nhân dùng đa hoá trị liệu phối hợp với Angala (2viên 0,5gx28 ngày).

• ***Chỉ tiêu theo dõi***: Số lượng hồng cầu, bạch cầu, công thức bạch cầu, huyết sắc tố, tiểu cầu. Xét nghiệm làm vào các ngày 0, 7, 14, 28.

• ***Nơi thử:*** Trung Tâm nghiên cứu phòng chống ung thư

Bảng 3. **So sánh số lượng các dòng tế bào máu giữa hai nhóm BN ung thư dùng đa hoá trị liệu không phối hợp (I) và có phối hợp với Angala (II)**

Tế bào máu		*Trước ĐT*	*Đợt I: ngày 14*		*Đợt II: ngày 14*	
			Số lượng	*Giảm %*	*Số lượng*	*Giảm %*
HC	I	3,67 ±0,52	3,30 ±0,70	10,08	3,12 ±0,90	14,98
($x10^{12}$/l)	II	3,57 ±0,68	3,37 ±0,66	5,60	3,30 ±0,87	**7,56**
Hb	I	131,43±10,03	114,42 ±10,11	11,59	104,72 ±9,18	19,09
(g/l)	II	131,43±10,03	117,49 ±12,10	10,61	128,78 ±10,74	**2,01**
	P		< 0,01		< 0,001	
BC	I	5,72 ±1,18	4,70 ±1,21	17,83	3,92 ±1,32	31,47
($x\ 10^9$/l)	II	5,69 ±1,31	5,03 ±1,62	11,59	5,00 ±1,12	12,00
	P		> 0,05		< 0,05	
TC	I	246 ±58	218 ±74	11,38	102 ±78	58,54
($x\ 10^9$/l)	II	262 ±66	231,6 ±48	11,83	196 ±69	**25,4**
	P		< 0,001		< 0,001	

• ***Kết quả:*** Sau 2 đợt điều trị bằng hóa chất số lượng các dòng tế bào máu giảm ở cả 2 nhóm. Số lượng bạch cầu, bạch cầu hạt, tiểu cầu ở nhóm dùng phối hợp với Angala giảm ít hơn rõ rệt so với nhóm chứng. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê.

3. Tác dụng bổ trợ của Angala trên bệnh nhân VGM hoạt động

• ***Chọn bệnh nhân:*** 30 bệnh nhân VGMHĐ chia làm 2 nhóm:

Nhóm I (n = 10) - nhóm chứng: Uống bổ gan, lợi mật và các sinh tố B, C x 10 ngày.

NhómII (n = 20: Uống thuốc như nhóm chứng + 2 viên Angala/ ngày x 10 ngày.

• ***Chỉ tiêu theo dõi:*** Cân nặng; số lượng bạch cầu, lympho T, Ta, Tt; Bilirubin, SGOT và SGPT; số ngày điều trị. Xét nghiệm làm vào các ngày 0 và ngày 10.

• ***Nơi thử:*** Khoa A4, Bệnh viện TƯ quân đội 108

Bảng 4. **So sánh kết quả điều trị giữa hai nhóm bệnh nhân VGMHĐ không dùng Angala (I) và dùng phối hợp với Angala (II)**

Chỉ tiêu		*Trước ĐT*	*Sau điều trị*				
			Số lượng	*Giảm*	*Tăng*	*Giảm (%)*	*Tăng (%)*
Bạchcầu ($x10^9/l$)	I	6,77±1,43	6,44±0,54	0,33		4,87	
	II	7,74±1,43	8,22±0,93		0,44		**6,20**
LymphoT (%)	I	38,7	37,0	1,7		4,39	
	II	30,7	35,8		5,1		**16,61**
Lympho Ta	I	485,3±123	348,8±117,8	136,5		28	
	II	315,3±114,7	495±117,8		179,7		**57**
	P		< 0,01				
Lympho Tt	I	878,8±196,5	615,3±104	263,5		29	
	II	660,8±273	771,3±283		110,5		**16,8**
	P		< 0,05				
Cân nặng (kg)	I	58,8±6,2	57,5±6,1	1,3		2,2	
	II	57,0±6,0	57,5±5,0		0,55		

Bảng 5. **So sánh Bilirubin, SGOT và SGPT giữa hai nhóm bệnh nhân: không điều trị (I) và có điều trị phối hợp với Angala (II)**

Chỉ tiêu	*Nhóm I (n = 10)*			*Nhóm II (n = 20)*		
	Trước ĐT	*Sau ĐT*	*Giảm (%)*	*Trước ĐT*	*Sau ĐT*	*Giảm (%)*
Bilirubin (µmg/l)	75,4 ±20	43,8 ±15	41	157,5±89	84,57±23	**46**
SGOT (U/l)	686,8±239	153,6 ±78	77	561,5 ±127	101,8±40	**81**
SGPT (U/l)	729,8±128	100,7 ±26	87	607,5±291	68,75±14	**88**
BN có men gan về BT sau 4 tuần ĐT	10	5	50	20	12	**60**

• ***Kết quả:*** Ở nhóm bệnh nhân điều trị phối hợp với Angala số lượng bạch cầu, lympho Ta, Tt tăng so với nhóm không dùng thuốc. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê. Các chỉ tiêu Bilirubin, SGOT, SGPT ở nhóm dùng Angala cũng giảm nhanh hơn nhóm không dùng thuốc. Tác dụng phụ không được ghi nhận

IV. KẾT LUẬN

Thuốc Angala có tác dụng bổ trợ miễn dịch, thể hiện trên tác dụng phục hồi sớm một số dòng tế bào máu (bạch cầu, tiểu cầu, lympho Ta, Tt, lympho T mang dấu ấn TCD_4, TCD_8, TCD_3) ở bệnh nhân ung thư điều trị hoá chất, tia xạ và bệnh nhân viêm gan mãn hoạt động HBsAg (+). Tác dụng phụ không được ghi nhận.

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG HOÁ SẢN PHẨM LÀM THUỐC TỪ CÂY ĐƯƠNG QUY (*Angelica acutiloba* Kit.) DI THỰC TỪ NHẬT BẢN

Bùi Thị Bằng, Lê Tùng Châu, Lê Kim Loan

SUMMARY

Research on diversty of the medicinal products made of Danggui (*Angelica acutiloba* Kit.) introduced from Japan

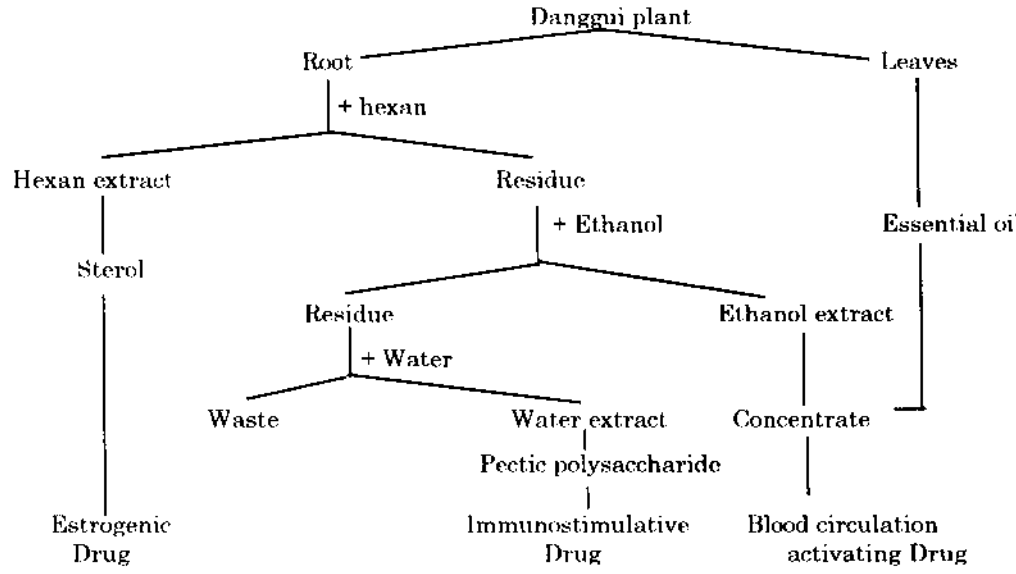
The research on directional extraction of some substances groups from the Danggui roots (Angelica acutiloba Kit.) introduced from Japan has been carried out. Basing on the experiences of the Traditional Medicine and biological tests three medicinal products have been made of the Danggui roots:

- Sterol used for preparation of a estrogenic

- Ethanol concentrate combined with essential oil used for a drug activating blood circulation ***Angelin***

- Pectic polysaccharide used for an immunostimulative drug ***Angala***

Angala and Angelin have been performed in clinical test.



Method for directional extraction of some substances groups and preparation of the medicinal products from Danggui.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong tự nhiên mỗi cây thuốc có khả năng tổng hợp và tích luỹ rất nhiều chất và nhiều nhóm chất. Chính vì vậy một cây thuốc không chỉ có một tác dung sinh học mà có rất nhiều tác dụng sinh học khác nhau. Do đó có nhiều công dụng khác nhau. Cây đương quy Trung Quốc (*Angelica sinenis* Oliv. (Diels.) (ĐQTQ) là một thí dụ điển hình. Kinh nghiệm sử dụng cho thấy ĐQTQ là vị thuốc công hiệu trong điều trị gần 40 bệnh khác nhau. Trong khi đó cây đương quy di thực từ Nhật Bản cũng có những tác dụng sinh học và thành phần hoá học tương tự như ĐQTQ nhưng lại chưa được sử dụng như ĐQTQ và hơn thế nữa nó chưa được các lương y Việt Nam tin dùng. Thừa kế kinh nghiệm sử dụng ĐQTQ của Y học cổ truyền và kết quả khảo sát so sánh thành phần hoá học và một số tác dụng sinh học của ĐQNB với ĐQTQ chúng tôi đã nghiên cứu chiết xuất định hướng các nhóm hoạt chất từ ĐQNB nhằm đưa ra 3 loại thuốc có chỉ định điều trị khác nhau.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Cây đương quy (*Angelica acutiloba* Kit.) di thực từ Nhật Bản trồng tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội, Trạm nghiên cứu cây thuốc Sa Pa, Lào Cai. Mẫu dược liệu do KS Phạm Văn Ý cung cấp.

2. Phương pháp

Dựa theo tài liệu và kinh nghiệm sử dụng ĐQTQ các nhóm chất được chiết xuất định hướng từ ĐQNB bằng các dung môi có độ phân cực tăng dần: sterol được chiết xuất bằng n - hexan, các thành phần của tinh dầu được chiết bằng ethanol cao độ, các hợp chất coumarin, acid nhân thơm được chiết bằng ethanol loãng, các chất pectin được chiết bằng nước.

III. KẾT QUẢ

1. nghiên cứu chiết xuất định hướng một số chất và nhóm chất từ ĐQNB

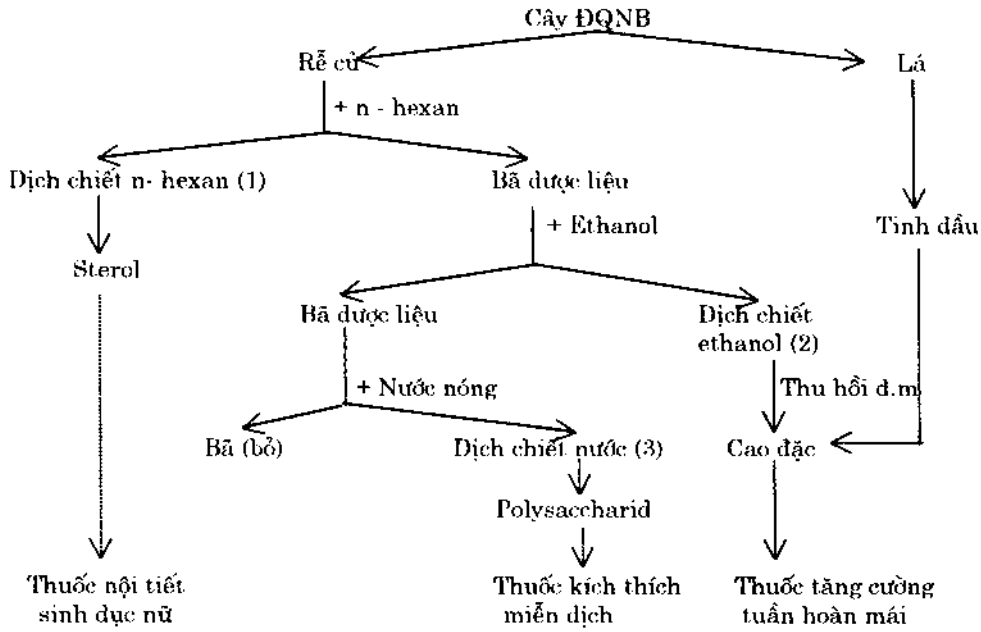
Kết quả phân tích định tính thành phần hoá học của rễ củ ĐQNB di thực bằng các phản ứng hoá học, bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, sắc ký giấy, phương pháp quang phổ phát xạ cho thấy trong rễ củ ĐQNB có các nhóm chất sau: tinh

dầu, hợp chất coumarin, flavonoid, saponin tritecpen, acid amin, acid nhân thơm, chất béo, tinh bột, chất nhầy, đường pectic và nhiều nguyên tố vi lượng và đa lượng. Trong lá ĐQNB có tinh dầu (hàm lượng 0,6 - 0,7% so với khối lượng khô tuyệt đối của lá). Trong tinh dầu lá có 16% ligustilid - là thành phần đã được chứng minh có tác dụng giãn mạch, giảm đau, kháng co thắt do histamin và acetyl cholin, ức chế ngưng tập tiểu cầu (1, 2, 3). Trong ĐQTQ và ĐQNB có β - sitosterol - là thành phần có tác dụng nội tiết sinh dục nữ, ức chế sự phát triển của tế bào ung thư vú, ung thư tuyến tiền liệt, ngăn ngừa bệnh loãng xương ở phụ nữ giai đoạn mãn kinh (4,5). Các hợp chất coumarin, các acid nhân thơm có tác dụng ức chế quá trình đông máu (6). Các đường pectic trong ĐQNB có tác dụng kích thích miễn dịch (7) v.v... Những thông tin và kết quả nghiên cứu trên là định hướng cho chúng tôi nghiên cứu chiết xuất một số nhóm chất để điều chế các chế phẩm với các tác dụng sinh học khác nhau để làm các loại thuốc có công dụng khác nhau. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở sơ đồ 1.

Từ cây ĐQNB chúng tôi đã điều chế được 3 sản phẩm dự kiến làm 3 loại thuốc:

- Dịch chiết n - hexan có sterol dùng làm thuốc nội tiết sinh dục nữ.

- Dịch chiết ethanol với các thành phần hoạt chất: ligustilid, acid nhân thơm, saponin, hợp chất coumarin, flavonoid, các nguyên tố vi lượng và đa lượng. Cao ethanol được bổ xung thêm 0,5% tinh dầu lá, được dùng làm thuốc tăng cường tuần hoàn máu. Thuốc có tên là Angelin đã được nghiên cứu lâm sàng trên bệnh nhân thiểu năng tuần hoàn não mạn tính. Kết quả bước đầu cho thấy thuốc có tác dụng cải thiện các xét nghiệm lâm sàng.



Sơ đồ 1. **Phương pháp chiết xuất một số nhóm chất từ ĐQNB**

- Dịch chiết nước được dùng để tách các đường pectic làm thuốc kích thích miễn dịch. Thuốc kích thích miễn dịch được nghiên cứu và thử lâm sàng trong đề tài KHCN 11 - 05 (8). Kết quả cho thấy thuốc có tác dụng bổ trợ miễn dịch trên bệnh nhân ung thư dùng hoá và xạ trị liệu (Báo cáo tổng kết của đề tài KHCN 11 - 05 nghiệm thu 1/2000).

2. Nghiên cứu bào chế thuốc tăng cường tuần hoàn máu từ cao ethanol của ĐQNB

• ***Chọn công thức bào chế***: Thành phần chính của thuốc Angelin gồm 0,18 cao ethanol chiết xuất từ rễ củ và 0,0013g tinh dầu lá. Cao ethanol ĐQNB rất dễ hút ẩm. Nếu dùng tá dược độn thông thường hàm lượng cao trong viên sẽ giảm và liều dùng sẽ tăng lên. Vì vậy chúng tôi đã chọn tá dược hút là bột ĐQNB - đây cũng chính là thành phần của thuốc. Vấn đề đặt ra là cần khảo sát, lựa chọn tỷ lệ giữa cao và bột dược liệu sao cho phù hợp. Đã khảo sát 4 công thức phối hợp khác nhau với các tỷ lệ cao ĐQ: bột ĐQ như sau: 2:1; 1,5:1; 1,25:1 và 1:1. Kết quả cho thấy tỷ lệ phù hợp nhất là 1,25: 1. Với tỷ lệ này công thức bào chế cho 1 viên bao như sau:

- Cao ĐQNB 0,18g (~1,15g dược liệu)
- Bột ĐQNB 0,14g
- Tinh dầu lá: 0,0013g

Tá dược vừa đủ

Thuốc Angelin bào chế theo công thức trên đạt tiêu chuẩn DĐVN, tiêu chuẩn thuốc đã được Viện Kiểm nghiệm thẩm định.

IV. KẾT LUẬN

Từ cây ĐQNB di thực chúng tôi đã nghiên cứu chiết xuất định hướng một số nhóm chất và điều chế 3 sản phẩm với các tác dụng sinh học khác nhau để làm 3 loại thuốc:

- Sterol làm thuốc kích thích nội tiết sinh dục nữ
- Cao ethanol có bổ sung tinh dầu lá gồm các nhóm chất tinh dầu, ligustilid, coumarin, flavonoid, acid nhân thơm, saponin v.v... làm thuốc tăng cường tuần hoàn máu Angelin.
- Cao nước làm thuốc kích miễn dịch Angala.

Hai trong ba thuốc trên đã và đang được nghiên cứu trên lâm sàng trong các đề tài KHCN11 - 05 và ĐLNN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Zhang Shi yu, Cheng Kuo Chang, 1989.*
Forestry, vol. 7, 1989, 1 - 22.

2. *Viện dược liệu.*
Tài nguyên cây thuốc Việt Nam. NXB Y học.

3. *Bui Thi Bang, Le Tung Chau, Le Kim Loan, Vu Van Dien, A. Muselli. A. Bighelli, J. Casanova, 1998.*
Abstract of the ASOMPS IX, Hanoi, 173 - 174.

4. *Elghamry M.I. and Zayed S.M., 1996.*
Planta Med. 2, 217 - 221.

5. *Bùi Thị Bằng, Vũ Thị Tâm, Lê Tùng Châu, Lê Kim Loan, 1998.*
Tạp chí được liệu số 2/ 1998, 53 - 55.

6. *Lê Kim Loan et al., 1998.*
Tạp chí Dược liệu số 4, 1998, 112 - 115.

7. *Lê Kim Loan et al., 1996.*
Tạp chí Dược liệu số 2/1996, 52 - 55.

8. *Nguyen Gia Chan, Bui Thi Bang, Le Minh Phuong, Phan Thi Phi Phi, Phan Thu Anh, Do Hoa Binh, 1998.*
Abstract of the ASOMPS IX, Hanoi, 137.

TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA ĐƯƠNG QUY (*Angelica acutiloba* Kit.) DI THỰC TỪ NHẬT BẢN

Lê Tùng Chôn, Bùi Thị Bằng,
Lê Kim Loan, Nguyễn Minh Châu, Vũ Thị Tâm,
Nguyễn Thị Dung (DLSH), Nguyễn Thị Dung (PTTC),
Vũ Ngọc Lộ[1], Nguyễn Văn Tài, Đỗ Trung Đàm,
Trần MinhVịnh[2], Lê Thị Thủy, Lê Văn Don[1], Cung Thị Tý[3]

SUMMARY

On some biological acivities of *Angelica acutiloba* Kit. introduced from Japan

Some substances groups from Angelica acutiloba Kit. have been isolated and tested for their biological activities.

The results have shown that:

• The ethanol - and water - soluble substances have strongly inhibited the internal as well the external coagulation factors. They had also strong anti - aggregation effect of platelets. More over, they had dilatatory effect on blood vessels of the rabbit ears, increasing quantity of the drops flowing through the blood vessels up to 90 - 95%, in comparison with the control.

• The phenolcarboxylic acids have completely inhibited conversion of fibrin into fibrinogene.

• Water - soluble substances, pectic polysaccharide and saponin fractions have strongly stimulated T - lymphocytes to form rossetes E with sheep red cells.

• Sterol fraction (injective ad. 4mg/kg body's weigh/day) has significantly increased rat's uterine and ovarian weights up to 50,34% and 16,0%, respectively, in comparison with that of control group.

*
* *

[1] Trường Đại học Dược Hà Nội.
[2] Bệnh viện TƯ Quân đội 108.
[3] Viện Huyết học, truyền máu TƯ.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 1990 Viện Dược liệu nhập từ Nhật Bản một loài đương quy (*Angelica acutiloba* Kit). Kết quả nghiên cứu di thực và sản xuất cho thấy loài đương quy (ĐQ) này tỏ ra thích hợp với khí hậu Việt Nam. Để đưa dược liệu ĐQ di thực vào sử dụng ở trong nước chúng tôi đã tiến hành khảo sát một số tác dụng sinh học của nó so sánh với ĐQ Trung quốc (ĐQTQ).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Đương quy di thực từ Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kit.) (ĐQNB) trồng tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội. Các mẫu thử được chuẩn bị dưới dạng cao ethanol, cao nước, các nhóm chất toàn phần như acid nhân thơm, saponin, flavonoid, đường pectic, sterol và được pha với các nồng độ khác nhau để thử tác dụng sinh học.

2. Phương pháp

• *Tác dụng trên hệ đông máu:* Xác định thời gian thromboplastin (PTT), thời gian Quick và thời gian thrombin (TT) tại Bệnh viện TƯ quân đội 108.

• *Tác dụng đối với phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào T với hồng cầu cừu* (HCC): Sau khi ủ lympho bào phân lập từ máu người với HCC, đếm số lympho bào tạo hoa hồng sau 5 phút và sau 16 giờ dưới kính hiển vi huỳnh quang của mẫu thử và mẫu chứng (1). Thí nghiệm được tiến hành tại Bệnh viện TƯ quân đội 108.

• *Tác dụng trên ngưng tập tiểu cầu:* Thử theo phương pháp của Born G.V.R.[2] tại Viện Huyết học, truyền máu TƯ. Tác nhân gây ngưng tập tiểu cầu là ADP.

• *Tác dụng nội tiết sinh dục nữ:* Thử theo phương pháp của Allen và Doisy tại Viện Dược liệu.

• *Tác dụng hướng sinh dục:* Thử theo phương pháp trọng lượng tử cung.

• *Tác dụng trên mạch tai thỏ*: Thử tại Viện Dược liệu.

• *Độc tính cấp:* Thử tại Viện Dược liệu (3).

III. KẾT QUẢ

1. Tác dụng trên hệ đông máu (4)

• *Kết quả:*

- Ở nồng độ 1%, 0,5% cả hai loại ĐQ đều ức chế hoàn toàn sự đông máu.

- Với nồng độ 0,25% ĐQNB ức chế đông máu nội sinh tốt hơn ĐQTQ. Cao nướ ức chế tác dụng của thrombin tốt hơn cao ethanol. Cao ethanol ức chế hoạt hoá đông máu ngoại sinh tốt hơn cao nước.

Bảng 1. **Tác dụng ức chế đông máu của ĐQNB (1) và ĐQTQ (2) (nồng độ mẫu thử 0,25%/NaCl 0,9‰)**

Chỉ tiêu / *Mẫu thử Loại ĐQ*		*Thời gian (giây)*		
		Quick	*Thromboplastin*	*Thrombin*
Cao nước	(1)	19,80±2,2^{+}	64,10±4,7^{++}	34,40±2,5^{++}
	(2)	22,86±1,2^{++}	52,40±6,6^{++}	34,90±2,6^{+++}
Cao cồn 50^{0}	(1)	28,85±0,5^{++}	60,136,1^{++}	22,672,2^{+}
	(2)	29,83±0,4^{++}	67,3±4,1^{++}	23,2±2,0^{+}
Acid nhân thơm	(1)	14,5±1,0	37,75±2,0	Không đông
Chứng (NaCl 0,9‰)		15,00±2,0	36,00±3,0	17,003±2,0
P		+: P > 0,05; ++: P < 0,05; +++: P < 0,01		

2. Tác dụng đối với phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào T với hồng cầu cừu (HCC) (5)

Bảng 2. **Tác dụng của ĐQNB và ĐQTQ đối với phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào**

Chỉ tiêu / *Mẫu thử* / *%*	*ĐQNB*		*ĐQTQ*		*ĐQNB*		*ĐQTQ*	
	Ta	*X %*	*Ta*	*X %*	*Tt*	*X %*	*Tt*	*X %*
Chứng	14	100	14	100	40	100	40	100
Cao nước	30,5	117,9	14	0	59	47,5	43	- 8,8
Cao cồn 50^{0}	0	- 100	-	-	0	- 100	-	-
Đường pectic	30	114,3	34	142,9	67	67,6	61	52,5
Flavonoid	21	50	15	7,1	52	30	38	- 5,0
Glucosid	20	42,9	17	21,4	37	- 7,5	49	22,5
Protein	35	150,0	13	- 7,14	56	40,0	39	- 2,5
Saponin	34	142,9	-	-	65	62,5	-	-

Ta: Tỷ lệ (%) tế bào lympho tạo hoa hồng trên tổng số tế bào lympho đọc kết quả sau 5 phút; Tt: Tỷ lệ (%) tế bào lympho tạo hoa hồng trên tổng số tế bào lympho đọc kết quả sau 16 giờ.

X (%): Tỷ lệ (%) số lượng tế bào lympho tăng tạo hoa hồng của mẫu thử so với mẫu chứng

• *Kết quả:*

- Hầu hết các nhóm chất của ĐQNB kích thích mạnh phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào, tăng từ 114 đến 150% so với mẫu chứng.

- ĐQTQ có 1 nhóm chất có tác dụng kích thích phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào, tăng 142% so với mẫu chứng.

3. Tác dụng trên ngưng tập tiểu cầu

Bảng 3. **Tác dụng ức chế ngưng tập tiểu cầu của ĐQNB**

Mẫu thử	*Tiểu cầu ngưng tập do ADP (%)*	*Giảm tiểu cầu ngưng tập (% so với mẫu chứng ADP) với các nồng độ (%) mẫu thử khác nhau*		
		0,25	*0,50*	*1,00*
Cao nước	100	10,5	12,1	15,2
Cao cồn 50%	100	8,9	14,2	41,1
Cao cồn 80%	100	3,9	9,9	28,9
Cao methanol*	100	74,3	76,4	77,8

*Tách từ cao cồn 80^0 bằng sắc ký cột

• *Kết quả:* Cao nước, cao ethanol ĐQNB có tác dụng ức chế ngưng tập tiểu cầu, giảm 15,2 và 28,9 - 41,1% tiểu cầu ngưng tập. Phân đoạn methanol có tác dụng ức chế mạnh nhất, giảm 77,8% số lượng tiểu cầu ngưng tập.

4. Tác dụng nội tiết sinh dục nữ

Kinh nghiệm sử dụng cho thấy ĐQ là vị thuốc công hiệu trong điều trị chứng rối loạn kinh nguyệt (mất kinh kéo dài, tắc kinh, kinh nguyệt không đều) (6). Trên chuột cái non Đoàn Thị Nhu và CS nhận thấy ĐQ có tác dụng nội tiết sinh dục nữ yếu. Kết quả nghiên cứu của thế giới cho thấy β - sitosterol có tác dụng nội tiết sinh dục nữ mạnh. Từ những thông tin trên chúng tôi đã định hướng chiết xuất và thử tác dụng nội tiết sinh dục nữ của β - sitosterol ĐQNB. Sterol được pha trong dầu hướng dương, tiêm dưới da cho chuột cái non và chuột cái đã cắt buồng trứng với liều 1và 4mg/kg chuột/ngày.

• *Kết quả:* Sterol ĐQNB (liều 4 mg/kg) có tác dụng hướng sinh dục trên chu cái non (làm tăng trọng lượng tử cung và buồng trứng lên 50,34 và 16,0%) và có t dụng nội tiết sinh dục nữ yếu trên chuột cái đã cắt buồng trứng.

5. Tác dụng trên mạch tai thỏ (bảng 4)

• *Kết quả*

- Cao cloroform có tác dụng giãn mạch tai thỏ rất mạnh (tăng 200% số gi dung dịch chảy qua mạch tai thỏ so với mẫu chứng).

- Bổ sung tinh dầu lá ĐQNB vào cao ethanol làm tăng đáng kể tác dụng giã mạch tai thỏ (tăng 223% số giọt dung dịch chảy qua mạch tai thỏ).

Bảng 4. **Tác dụng của ĐQNB trên mạch tai thỏ (liều thử 0,2 ml dung dịch 4%)**

Mẫu thử	*Số giọt/phút (TB: 9 lần đo)*		*Tăng so với chứng (%)*	*P*
	Vo	*Vt*		
Cao nước	20	38	+93	< 0,01
Cao ethanol 80^0	21	41	+95	< 0,05
Cao cloroform*	20	60	+200	< 0,01
Cắn ethanol**	20	38	+93	< 0,01
Cao ethanol + tinh dầu lá ĐQ	17	55	+223	< 0,01

*: Tách từ cao ethanol 80^0; **: Cắn còn lại sau khi tách cao cloroform; Vo: chứng; Vt: thử

6. Thử độc tính cấp của ĐQNB

Đã cho chuột nhắt trắng uống cao ethanol 80^0 với liều 40 - 50 g cao (~ 210 - 260 g ĐQ)/kg thể trọng, chuột không chết.

IV. KẾT LUẬN

1. Cao nước và cao ethanol của đương quy di thực từ Nhật Bản và ĐQTQ ức chế mạnh các yếu tố đông máu nội và ngoại sinh. Phân đoạn acid nhân thơm của ĐQNB ức chế hoàn toàn sự chuyển hoá fibrin sang fibrinogen.

2. Hầu hết các nhóm chất của ĐQNB kích thích mạnh phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào, tăng từ 114 đến 150% so với mẫu chứng.

3. Cao nước, cao ethanol ĐQNB có tác dụng ức chế ngưng tập tiểu cầu do ADP, giảm số lượng tiểu cầu ngưng tập 15 - 41%. Phân đoạn methanol ức chế mạnh nhất ngưng tập tiểu cầu, giảm 77,8% số lượng tiểu cầu ngưng tập.

4. Sterol ĐQNB với liều 1 và 4 mg/kg thể trọng có tác dụng nội tiết sinh dục nữ trên chuột cái non.

5. Cao nước, cao ethanol của ĐQNB có tác dụng giãn mạch tai thỏ, làm tăng 93 - 95% số giọt dung dịch chảy qua mạch tai thỏ. Bổ sung tinh dầu lá vào cao ethanol làm tăng đáng kể tác dụng giãn mạch của chế phẩm, tăng 223%.

6. Cao ethanol 80° ĐQNB có độc tính rất thấp, với liều uống ~ 210 - 260 g ĐQ/kg không có chuột chết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Jondal M.H. et al., 1972.*
J. exp. Med. 136, 207 - 215.

2. *Born G.V.R., 1962.*
J. Physiol. vol. 162, 67 - 68.

3. *Đỗ Trung Đàm, 1996.*
Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc. NXB Y học.

4. *Lê Thị Kim Loan et al, 1998.*
Tạp chí Dược liệu, số 4, 1998, 112 - 115.

5. *Lê Kim Loan et al., 1996.*
Tạp chí Dược liệu, số 2, 1996, 52 - 55.

6. *Zhang Shi yu, Cheng Kuo Chang, 1989.*
Forestry, vol. 7, 1989, 1 - 22.

NGHIÊN CỨU CHỌN LỌC GIỐNG ĐƯƠNG QUY THÍCH HỢP VỚI ĐIỀU KIỆN KHÍ HẬU MIỀN BẮC VIỆT NAM

Phạm Văn Ý, Trần Văn Diễn, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Văn Mai, Đinh Văn My

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rễ củ cây đương quy là một vị thuốc quý, không thể thay thế trong các bài thuốc bổ huyết, hoạt huyết của y học cổ truyền. Gần đây đã phát hiện thêm nhiều tác dụng mới như tác dụng kích thích miễn dịch, chống phóng xạ, giảm độc của các thuốc chống ung thư đã làm tăng thêm giá trị của cây thuốc này. Việc nghiên cứu nhập nội gặp rất nhiều khó khăn do giống kém thích ứng và nhanh chóng thoái hoá. Vì vậy, việc nghiên cứu chọn lọc giống đương quy phù hợp với điều kiện khí hậu miền Bắc Việt Nam là cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu là 2 giống đương quy nhập nội từ Triều Tiên và Nhật Bản. Lấy giống đương quy nhập nội từ Triều Tiên làm đối chứng.

2. Phương pháp

Giống đương quy được chọn lọc từ giống nhập nội bằng phương pháp chọn lọc quần thể dựa trên đặc điểm sinh lý, hình thái và tính ổn định kiểu hình. (Guliaev, Gnjop - 1978; Allard 1996; Eberhart và Russell 1996). Các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp ngẫu nhiên 4 lần nhắc lại. Diện tích ô thí nghiệm từ 5 - 20m^2 (tùy theo từng thí nghiệm). Hàm lượng các chất chiết được bằng cồn 50^0 được tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Dược điển Việt Nam 1994). Hàm lượng đường đơn được xác định theo tiêu chuẩn 52TC - I_1 - 01 - 91 của Viện Dược liệu. Xử lý kết quả thí nghiệm theo phương pháp thống kê sinh học. [Phạm Chí Thành (1976); Trần Văn Diễn, Tô Cẩm Tú (1995)].

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Chọn lọc giống đương quy dựa trên đặc điểm sinh lý

Dựa vào thời gian sinh trưởng của loài đương quy *Angelica acutiloba* Kitagawa., chúng tôi phân lập được 3 quần thể. Quần thể cây có hoa ở năm thứ nhất (8 tháng tuổi) gọi là 1N, năm thứ 2 (18 tháng tuổi) gọi là 2N, năm thứ 3 (30 tháng tuổi) gọi là 3N.

Khảo sát mối tương quan giữa năng suất rễ củ với thời gian sinh trưởng, năng suất sinh vật và một số yếu tố tạo thành năng suất cho thấy ở cả 3 quần thể giữa thời gian sinh trưởng và năng suất kinh tế đều có sự tương quan dương rất chặt (bảng 1)

Bảng 1. **Hệ số tương quan giữa năng suất rễ củ với thời gian sinh trưởng và một số yếu tố cấu thành năng suất của các quần thể đương quy Nhật Bản**

Chỉ tiêu / *Quần thể cây*	*Thời gian sinh trưởng*	*Năng suất sinh vật*	*Chiều dài củ*	*Đường kính củ*
1N	+0,80	- 0,86	- 0,11	+0,33
2N	+0,77	+0,95	- 0,51	+0,03
3N	+0,95	+0,91	- 0,54	+0,11

So sánh một số chỉ tiêu cấu thành năng suất và chất lượng rễ củ của 2 quần thể đương quy, kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy: Quần thể 2N và 3N có các yếu tố cấu thành năng suất và chất lượng dược liệu tương đương nhau và đều cao hơn quần thể 1N.

Bảng 2. **So sánh một số chỉ tiêu cấu thành năng suất và chất lượng dược liệu của 3 quần thể cây phân lập từ giống đương quy Nhật Bản (Thanh Trì - Hà Nội năm 1994)**

Quần thể cây	*Tỷ lệ cây ra hoa (%)*	*Chiều dài củ (cm)*	*Đường kính củ (cm)*	*Khối lượng củ khô (g/củ)*	*Hàm lượng chất tan trong cồn 50°*
1N	54,4	21,9 ± 1,2	2,4 ± 0,3	27,6 ± 3,9	38,22 ± 9,87
2N	0,9	24,5 ± 2,0	3,2 ± 0,2	33,2 ± 3,6	55,21 ± 2,55
3N	0,9	25,2 ± 1,9	3,3 ± 0,4	37,1 ± 3,3	55,14 ± 4,37

2. Tuyển chọn giống đương quy dựa trên các tham số ổn định kiểu hình

Giống mới đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao năng suất và sản lượng cây trồng. Để giống phát huy được hiệu quả cần sử dụng chúng phù hợp với điều

kiện sinh thái, khí hậu đất đai của từng vùng. Vì vậy, cần nghiên cứu tính thích nghi của giống, thông qua các nghiên cứu về tương tác giữa kiểu gen với môi trường. Phản ứng của giống với môi trường thể hiện qua 2 đặc điểm, đó là tính thích nghi và tính ổn định. 3 quần thể đương quy Nhật Bản và 1 quần thể đương quy Triều Tiên đã được nghiên cứu ở Thanh Trì (Hà Nội) và Khoái Châu (Hưng Yên). Trong 3 năm, tổng số là 6 môi trường. Qua kết quả nghiên cứu cho thấy: Các môi trường thí nghiệm đều thuận lợi cho tính trạng năng suất kinh tế của các giống đương quy thử nghiệm. Khi phân tích phương sai thành phần về năng suất rễ củ của các giống đương quy ở các môi trường cho thấy có sự tương tác giữa giống và môi trường, kết quả đó được chỉ ra ở bảng 3.

Bảng 3. **Kết quả phân tích phương sai ở các điều kiện môi trường khác nhau đối với năng suất rễ củ của các dòng giống đương quy (1992, 1994, 1996), P < 0,01**

Phương sai thành phần	*Môi trường*					
	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*
Phương sai di truyền thực nghiệm S_G^2	2,6485	2,7577	2,8012	2,2946	3,4057	3,6633
Phương sai di truyền (ngẫu nhiên) δ_g^2	0,6490	0,6807	0,6842	0,5603	0,8365	0,9071
Phương sai môi trường δ_e^2	0,0525	0,0269	0,0646	0,0534	0,0598	0,0349

Để tuyển chọn giống đương quy cho năng suất ổn định ở các vùng sinh thái khác nhau, chúng tôi đã so sánh các giống đương quy theo mô hình của Eberhart và Russell (bảng 4).

Bảng 4. **Năng suất trung bình và các tham số ổn định kiểu hình của 4 giống đương quy qua 6 môi trường (1992 - 1996)**

Dòng giống đương quy	*Năng suất trung bình*		*bi*	S^2di
	Tấn/ha	*% so với đối chứng*		
1N	2,11	181,89	1,59	- 0,09
2N	2,90	250,00	1,81	- 1,28
3N	2,97	256,00	2,22	- 1,59
TT (đối chứng)	1,16	100	0,86	- 0,21

Từ kết quả nghiên cứu ở bảng 4 cho thấy: Quần thể đương quy Triều Tiên là ổn định nhất, nhưng năng suất trung bình quá thấp (1,19 tấn/ha). Trong số 3 quần thể đương quy Nhật Bản thì 2N có sự nhậy cảm trung bình, có năng suất trung bình tương đối cao (đạt 250% so với đối chứng), quần thể 1N là giống ổn định và nhạy cảm trung bình nhưng có năng suất rễ củ thấp, không thể đưa vào sản xuất dược liệu.

IV. KẾT LUẬN

- Dựa vào đặc điểm sinh lý đã phân lập được quần thể đương quy 1N có thời gian sinh trưởng 8 tháng, quần thể 2N có thời gian sinh trưởng 18 tháng và quần thể 3N có thời gian sinh trưởng 30 tháng.

- Dựa trên cơ sở các tham số ổn định kiểu hình đã chọn lọc được giống Đương quy 2N có độ nhậy cảm trung bình, có năng suất cao, ổn định ở các điều kiện môi trường khác nhau và đã được đưa đi sản xuất thử đạt kết quả tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Guliaev G.V., Gujop I.V. 1978.*
Chọn giống và công tác giống cây trồng. NXB Nông nghiệp.

2. *Allard R., 1996.*
Principles of plant breeding. John Wiley & Sons. Inc.

3. *Eberhart S.A. and Russell W.A., 1996.*
Stability parameters for comparing varieties. Crop. Sci., 6, 1996.

4. *Trần Văn Diễn, Tô Cẩm Tú, 1995.*
Di truyền số lượng. NXB Nông nghiệp.

5. *Phạm Chí Thành, 1976.*
Phương pháp nghiên cứu thí nghiệm đồng ruộng. NXB Nông nghiệp.

CHẾ BIẾN THỬ NGHIỆM ĐƯƠNG QUY SAU THU HOẠCH THEO PHƯƠNG PHÁP NHẬT BẢN

Lê Xuân Ái,
Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kitagawa) đã nhập nội vào Việt Nam 1990. Củ đương quy đòi hỏi khâu chế biến nghiêm ngặt, vì gần như nó quyết định chất lượng của dược liệu điều trị.

Chúng tôi nghiên cứu chế biến đương quy Nhật đang trồng ở Việt Nam theo phương pháp Nhật Bản có hai lý do:

- Người Nhật đang có nhu cầu nhập đương quy bằng giống của họ và nhu cầu ở trong nước cần đương quy sau chế biến, đảm bảo mùi thơm và độ mềm.
- Cần sớm xây dựng quy trình chế biến đương quy cho sản xuất áp dụng.

II. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Đánh giá chung về độ mềm, mùi thơm và vị cay, ngọt của dược liệu được chế biến bằng phương pháp Nhật Bản so với đương quy Trung Quốc đang lưu hành (chế bằng phương pháp xông khói) và đương quy Nhật Bản di thực chế bằng sấy khô.

Đồng thời xác định hàm lượng chất tan trong cồn, trong nước và hàm lượng tinh dầu trong các loại đương quy chế bằng các phương pháp khác nhau tại phòng phân tích tiêu chuẩn.

III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phương pháp của chúng tôi là do các chuyên gia Nhật Bản trực tiếp hướng dẫn và kiểm tra thành phẩm.

Bước 1: Củ đương quy sau khi đào được bó thành từng bó nhỏ treo lên chỗ râm mát. Để khô dần đến độ ẩm 20 - 30% thì bắt đầu chế.

Bước 2: Rửa lăn.

Rũ sạch đất, đổ quy vào thùng, đổ nước ngập nóng 60^{0}C ngâm 5 giờ vớt ra rửa từng củ vào chậu nước nóng 50^{0}C. Tiếp tục rửa lại ở chậu nước nóng thứ 2 và dùng tay lăn quy trên ván để trong nước nóng đủ 100 lần.

Bước 3: Phơi khô.

Rửa lại quy ở chậu nước nóng thứ ba 50^{0}C và bó từng túm nhỏ, treo phơi ở nơi thoáng mát cho đến khô.

Bước 4: Tạo dáng.

Cắt cuống lá quy khô bỏ đi, nắn vuốt cho củ, rễ thẳng và bó lại thành từng bó 10 củ.

IV. KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ DƯỢC LIỆU

Kết quả so sánh 2 mẫu quy chế biến khác nhau và 1 mẫu quy Trung Quốc trên thị trường được trình bày ở bảng 1.

***Bảng 1.* Mùi, vị, độ mềm của các mẫu đương quy chế biến khác nhau**

Mẫu quy	*Mùi thơm*	*Độ mềm*	*Vị*
Sấy khô của Việt Nam	±	Rất cứng	Không
Xông khói của Trung Quốc	++	Rất mềm	Cay nhiều, ngọt ít
Chế theo Nhật Bản	+	Mềm	Ngọt nhiều, cay ít

Kết quả định lượng chất chiết trong cồn, nước và tinh dầu của 2 mẫu đương quy Nhật Bản trồng tại Hà Giang chế biến khác nhau được trình bày ở bảng 2.

***Bảng 2.* So sánh chất lượng đương quy chế bằng phương pháp Nhật Bản và sấy khô**

Mẫu đương quy	*Hàm lượng (% so với khối lượng khô tuyệt đối của)*		
	Chất tan trong cồn 50^0	*Chất tan trong nước*	*Tinh dầu*
Không chế (Sấy khô)	42,29%	45,08%	0,27% dược liệu khô tuyệt đối
Chế theo phương pháp Nhật Bản	30,43%	44,60%	0,41% dược liệu khô tuyệt đối

Nhận xét

Chế đương quy theo phương pháp Nhật Bản đảm bảo được:

- Độ mềm tương đối
- Lượng tinh dầu vẫn còn khá cao

V. KẾT LUẬN

Phương pháp chế biến đương quy của Nhật Bản cho đương quy có độ mềm nhất định và mùi thơm, đáp ứng yêu cầu làm thuốc. Do đó cần áp dụng phương pháp này trong sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nông dược giảm giới (Thượng hải khoa học kỹ thuật xuất bản xã 1959).

2.- Kỹ thuật nuôi trồng và chế biến dược liệu (NXB nông nghiệp Trung Quốc 1965)

3. Dược điển Việt Nam tập II - 1991.

TRỒNG KHẢO NGHIỆM CÂY ĐƯƠNG QUY (*Angelica acutiloba* Kitagawa) TẠI 2 HUYỆN ĐỒNG VĂN VÀ QUẢN BẠ - HÀ GIANG

Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Văn Thuận,
Phạm Đình Tuý, Lê Khúc Hạo,
Đào Mạnh Hùng, Hoàng Quang Hùng.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hà Giang là tỉnh miền núi nằm ở cực bắc nước ta, có biên giới giáp với tỉnh Vân Nam Trung Quốc, một địa bàn có nhiều kinh nghiệm nuôi trồng các loại dược liệu cũng như trao đổi buôn bán của nước bạn, diện tích đất tự nhiên 7831 km^2, bao gồm 22 dân tộc chung sống, trong đó dân tộc H'Mông chiếm đa số. Điều kiện tự nhiên thời tiết khí hậu khá phù hợp để phát triển một số loài cây thuốc.

Bốn huyện vùng cao núi đá có độ cao từ 1000m – 1600m so với mặt biển, nhiệt độ trung bình 15 – 17°C và vũ lượng 1600 – 2000mm là địa bàn thích hợp để phát triển cây thuốc.

Để từng bước đưa cây thuốc trở thành cây trồng trong thành phần cơ cấu cây trồng, góp phần làm đa dạng mùa vụ cũng như chủng loại cây trồng, nâng cao thu nhập cho người nông dân, đặc biệt ở vùng cao vùng sâu vùng núi đá của Hà Giang, chúng tôi đã đưa cây đương quy (*Angelica acutiloba* Kitagawa) trồng khảo nghiệm tại 2 huyện Đồng Văn và Quản Bạ.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hạt giống đương quy do Trạm nghiên cứu dược liệu Sa Pa – Viện Dược liệu cung cấp.

Thí nghiệm được bố trí trên 2 địa điểm:

Xã Quyết Tiến huyện Quản Bạ có độ cao 800 – 900m so với mặt biển, đất mầu mỡ, độ dốc không quá 5%, vũ lượng 1800 – 2000mm/năm.

Xã Phó Bảng huyện Đồng Văn, đất khô cằn độ cao 1200m so với mặt biển vũ lượng từ 900 – 1500mm/năm, đất dốc > 10%.

Diện tích khảo nghiệm: 30.000m^2

Kỹ thuật trồng được tiến hành theo quy trình trồng cây đương quy của Viện Dược liệu.

Các chỉ tiêu theo dõi chính:

- Thời gian nảy mầm của hạt
- Tỷ lệ cây sống sau khi trồng
- Tốc độ tăng trưởng chiều cao của cây
- Tỷ lệ cây lên ngồng trong năm thứ nhất
- Trọng lượng củ
- Chiều dài củ
- Đường kính củ
- Tỷ lệ củ loại I, loại II

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Vùng khảo nghiệm thứ nhất (xã Quyết Tiến huyện Quản Bạ) cách vùng khảo nghiệm thứ hai (xã Phó Bảng huyện Đồng Văn) là 150km, nhưng do 2 vùng sinh thái này có nhiều đặc điểm khác nhau nên tình hình sinh trưởng và phát triển của cây đương quy cũng khác nhau ở hầu hết các chỉ tiêu theo dõi.

Bảng 1. **Tình hình sinh trưởng của cây đương quy ở 2 vùng trồng khảo nghiệm**

Vùng trồng	*Ngày gieo hạt*	*Ngày trồng cây*	*Thời gian nẩy mầm của hạt (ngày)*	*Tỷ lệ cây sống sau trồng (%)*	*Chiều cao cây (cm)*			
					1 tháng	*3 tháng*	*6 tháng*	*9 tháng*
Quyết Tiến (Quản Bạ)	23/10/1997	16/2/1997	13	93,2	5,7	20,9	45,1	54,2
Phó Bảng (Đồng Văn)	23/10/1997	16/2/1997	17	98,5	3,2	15,3	30,6	49,6

Bảng 1 cho thấy cây đương quy gieo vào tháng 10 thì sau tháng 2 hoặc tháng 3, tận dụng mưa xuân sớm, có thể ra ngôi để trồng ra ruộng sản xuất. Ở Quản Bạ, do nhiệt độ cao hơn nên thời gian nẩy mầm của hạt nhanh hơn (13 ngày) so với ở

Đồng Văn (phải mất 17 ngày). Tốc độ tăng trưởng về chiều cao cây ở Quản Bạ cũng nhanh hơn tuy nhiên chỉ tiêu này còn tùy thuộc vào nhiều yếu tố.

Đối với năng suất và các chỉ tiêu cấu thành năng suất, qua 1 năm theo dõi chúng tôi thấy:

Bảng 2. **Năng suất cây đương quy trồng ở Quản Bạ và Đồng Văn tỉnh Hà Giang**

Vùng trồng khảo nghiệm	*Chiều dài củ (cm)*	*Đường kính củ (cm)*	*Tỷ lệ lên ngồng năm thứ nhất (%)*	*Trọng lượng củ tươi (gr)*	*Năng suất (kg/ha)*
Quản Bạ	23,3	4,5	22,0	270	7.227
Đồng Văn	24,2	3,5	10,0	250	6.234

Qua bảng 2 ta thấy do điều kiện khí hậu ở Quản Bạ nóng hơn, nên tỷ lệ cây lên ngồng trong năm sinh trưởng thứ nhất cao hơn hẳn so với ở Đồng Văn (22,0% và 10,0%) trong lúc đó chiều dài củ ở Đồng Văn lại dài hơn so với ở Quản Bạ, nhưng đường kính và trọng lượng củ ở Quản Bạ lại to và nặng hơn ở Đồng Văn. Và cuối cùng là năng suất trên mỗi ha gieo trồng ở Quản Bạ cao hơn ở Đồng Văn (một tấn trên mỗi ha).

Hiệu quả kinh tế sơ bộ trong năm thứ nhất trồng đương quy ở 2 huyện nói trên được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Hiệu quả kinh tế thực tế qua 1 vụ trồng đương quy tại Hà Giang.

Vùng trồng khảo nghiệm	*Tình hình đầu tư*		*Thu nhập thực tế*	*Thời gian*
	Nguyên vật liệu (triệu đồng)	*Nhân công (triệu đồng)*	*(giá 2500đ/kg dược liệu tươi)*	*sử dụng đất (tháng)*
Quản Bạ	3,5	3,5	16,60	11,0
Đồng Văn	4,0	3,0	14,89	10,5

Từ kết quả ở bảng 3, có thể rút ra một số đánh giá sơ bộ như sau:

Cây đương quy bước đầu đã tỏ ra thích nghi với điều kiện đất đai, khí hậu và tập quán canh tác của đồng bào tỉnh Hà Giang.

So với các cây nông nghiệp khác như lúa nương, ngô, khoai lang thì cây đương quy đầu tư cho sản xuất cao hơn nhưng thu nhập lại cao hơn nhiều (gấp 2 lần), có thể gấp 4 - 5 lần.

Cây đương quy là cây thuốc quý, bộ phận dùng để làm thuốc chính là rễ củ vì thế đương quy có thể trồng ở các vùng đồi cao, ít mưa như các huyện vùng cao Hà Giang.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Cây đương quy có thể trở thành một cây trồng kinh tế cho một số huyện vùng cao ít mưa của tỉnh Hà Giang.

Đề nghị Viện Dược liệu và cơ quan chức năng tỉnh Hà Giang có kế hoạch để triển khai trồng cây đương quy trên diện tích rộng, sớm đưa sản phẩm dược liệu đương quy thành mặt hàng hàng hoá để đáp ứng nhu cầu tiêu thụ trong nước và xuất khẩu.

NGHIÊN CỨU SƠ CHẾ VÀ BẢO QUẢN RỄ CỦ ĐƯƠNG QUY (*Angelica acutiloba* Kit.) DI THỰC TỪ NHẬT BẢN

(Chương trình Y học cổ truyền X.8, Bộ Y tế)

Phạm Văn Ý, Bùi Thị Bằng,
Lê Kim Loan, Nguyễn Bá Hoạt

SUMMARY

Studies on the preliminary processing and storageof the *Angelica acutiloba* Kit. roots

In order to find a suitable procedure for preliminary processing and storage of the Angelica acutiloba Kit. roots,three drying methods have been tested: Sun - drying of the roots preceded by sulphur fumigation, oven drying at 50^{0}C and firewood - heating at 50 - 60^{0}C.

The sugar content in each type of the dried roots is: 9,09, 11,93 and 14,15%, respectively. The corresponding 50% ethanol - soluble substances content are: 35,61, 44,02 and 49,75%.

Firewood - heating resulted in the highest quality product with a moderate moiture content. The product is also the most resistant to moulds and pests.

In view of the regulations prescribed in the Vietnamese Pharmacopoeia, the Angelica roots are suggested to be dried by firewood - heating to a moisture content below 13% and stored in cool and dry conditions.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sơ chế sau thu hoạch và bảo quản dược liệu là những khâu quan trọng trong việc nâng cao và duy trì chất lượng các vị thuốc đông dược, đặc biệt đối với những vị thuốc chứa nhiều đường, tinh bột và chất béo như đương quy (ĐQ). Để góp phần phát triển sản xuất cây đương quy di thực từ Nhật Bản chúng tôi đã nghiên cứu phương pháp sơ chế và bảo quản rễ củ làm dược liệu.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Rễ củ cây đương quy (*Angelica acutiloba* Kit.) di thực từ Nhật Bản (ĐQNB). Mẫu rễ củ dùng nghiên cứu được thu tại Trung Tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội tháng 7 năm 1995.

2. Phương pháp nghiên cứu

• ***Phương pháp sơ chế***: Rễ củ sau khi thu hoạch được phơi héo trong lán thoáng gió 1 - 2 ngày, rửa sạch đất, để ráo nước và chia làm 3 lô, mỗi lô được chia làm 4 lần nhắc lại và xử lý bằng 1 trong 3 phương pháp sau:

Lô I - Sấy bằng diêm sinh, sau đó phơi đến khô.

Lô II - Sấy ở 50^0C trong tủ sấy đến khô.

Lô III - Sấy bằng củi đến khô.

• ***Phương pháp bảo quản:*** A - Kho có điều hoà nhiệt độ

B - Kho thường (không có điều hoà nhiệt độ)

• ***Bao bì:*** a - Bảo quản trong bao polyetylen

b - Bảo quản trong bao tải gai.

• ***Phương pháp đánh giá chất lượng dược liệu***

- Hình thức và độ ẩm của dược liệu được đánh giá theo DĐVN (1).

- Hàm lượng chất tan trong cồn 50^0 được xác định theo DĐVN (1).

- Hàm lượng đường đơn tính theo glucose được xác định theo $52TCI_1$ - 01 - 91 của Viện Dược liệu.

III. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu phương pháp sơ chế rễ củ ĐQNB

Kết quả cho thấy phương pháp sấy bằng củi cho dược liệu có chất lượng cao và ổn định sau 8 tháng bảo quản ở kho lạnh cũng như kho thường, bảo quản trong bao polyetylen cũng như trong bao gai (bảng 1). Phương pháp sấy bằng củi có tác dụng hạn chế sự phát triển của nấm mốc và mọt (bảng 2). Dược liệu sấy bằng diêm sinh có chất lượng thấp nhất. Về mặt hình thức dược liệu sấy bằng diêm sinh cứng và hầu như không còn mùi thơm. Trong khi đó sấy bằng củi dược liệu mềm và có mùi thơm đặc trưng của ĐQNB. Phương pháp sấy bằng củi là phương pháp được áp

dụng ở Trung Quốc để sấy đương quy Trung Quốc (2). Ở Việt Nam phương pháp sấy bằng củi cũng được áp dụng để xử lý cám gạo trước khi đưa vào bảo quản (3).

***Bảng 1* Ảnh hưởng của sơ chế và bảo quản đến chất lượng dược liệu ĐQNB**

Sơ chế	*Hàm lượng (% so với khối lượng khô tuyệt đối của rễ củ)*									
	Đường đơn					*Chất tan trong cồn 50⁰*				
	7/1995	*11/1995*		*3/1996*		*7/1995*	*11/1995*		*3/1996*	
		A	*B*	*A*	*B*		*A*	*B*	*A*	*B*
I a	9,09	-	-	9,08	7,33	35,61	-	-	34,31	30,43
b		9,07	7,48	8,65	6,94		35,09	31,60	34,54	27,23
II a	11,93	-	-	11,21	10,04	44,02	-	-	42,82	37,59
b		8,87	6,46	10,06	6,52		33,38	33,51	39,90	27,55
III a	14,15	13,52	12,58	11,76	12,80	49,75	46.22	45,41	45,94	44,51
b		11,92	9,25	12,64	8,04		46,54	46,68	44,66	41,08

I - sấy bằng diêm sinh; II - sấy ở 50°C; III - sấy bằng củi; a - bao polyetylen; b - bao tải gai;
A - Kho có điều hoà nhiệt độ; B - Kho không có điều hoà nhiệt độ

2. Nghiên cứu bảo quản dược liệu ĐQNB

***Bảng 2.* Ảnh hưởng của sơ chế và bảo quản đến sự phát triển nấm mốc, mọt trên dược liệu**

Sơ chế	*Bao bì*	*A*				*B*			
		20/9/1995		*20/11/1995*		*20/9/1995*		*20/11/1995*	
		Mốc	*Mọt*	*Mốc*	*Mọt*	*Mốc*	*Mọt*	*Mốc*	*Mọt*
Sấy diêm sinh	a	+	0	0	0	+	0	0	+
	b	0	0	0	0	++	0	0	+
Sấy ở 50°C	a	++	0	0	0	+	0	0	+
	b	0	0	0	0	+++	0	0	++
Sấy bằng củi	a	0	0	0	0	0	0	0	0
	b	0	0	0	0	+	0	0	+

A: Kho lạnh; B: Kho thường; a: Bảo quản trong bao polyetylen; b: Bảo quản trong bao tải gai

Bảng 3. **Ảnh hưởng của hoá chất bảo quản đến sự phát triển của nấm mốc, mọt trên dược liệu ĐQNB**

Hoá chất bảo quản	*20/7*		*20/9*		*20/11*	
	Mốc	*Mọt*	*Mốc*	*Mọt*	*Mốc*	*Mọt*
Đối chứng	0	0	+++	0	0	+++
Acid ascorbic	0	0	++	0	0	++
Acid benzoic	0	0	0	0	0	0

Kết quả theo dõi bảo quản ĐQNB trong 8 tháng cho thấy chất lượng dược liệu trong thời gian bảo quản phụ thuộc vào các yếu tố sau: Phương pháp sơ chế, bao bì và điều kiện bảo quản. Điều kiện bảo quản tốt nhất là bảo quản lạnh (kho có điều hoà nhiệt độ) trong bao gai. Trường hợp không có kho lạnh thì dược liệu phải được sấy thật khô (độ ẩm < 14%), bảo quản trong bao polyetylen (bảng 1, 2). Dược liệu được xử lý bằng acid benzoic bảo quản tốt hơn dược liệu xử lý bằng acid ascorbic (bảng3).

IV. KẾT LUẬN

1. Phương pháp sấy bằng củi cho dược liệu ĐQNB có chất lượng cao nhất và ổn định trong quá trình bảo quản, hạn chế sự phát triển của nấm mốc, mọt.

2. Phương pháp sấy bằng diêm sinh cho dược liệu có chất lượng thấp nhất và ổn định trong quá trình bảo quản, hạn chế sự phát triển của nấm mốc nhưng dược liệu dễ bị mọt.

3. Bảo quản lạnh trong bao gai là phương pháp bảo quản tốt nhất đối với dược liệu ĐQNB.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Việt Nam II, tập 3, NXB Y học, 1994, 493 - 495.

2. *Zhang Shi - yu and Chang Kuo - Chang, 1989.*
Biotechnology in Agriculture and Forestry, 7, 1989, 1 - 22.

3. *Nguyễn Văn Khoa, Hoàng Văn Tiến, 1992.*
Một số kết quả nghiên cứu khoa học của nghiên cứu sinh. NXB Nông Nghiệp, 2, 155 - 158.

ĐÁNH GIÁ BƯỚC ĐẦU VỊ THUỐC HÀ THỦ Ô ĐỎ QUA MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP CHẾ BIẾN

Lê Xuân Ái, Nguyễn Thị Dung

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hà thủ ô đỏ (*Polygonum multiforum* Thunb.) Y học phương Đông đã có nhiều cách chế biến củ làm thuốc. Qua từng thời gian, người ta đưa ra những phương pháp chế khác nhau, ở đây chúng tôi chọn một số phương pháp chế phổ biến để đánh giá chất lượng sản phẩm qua đó tìm ra sự khác nhau giữa chúng nhằm giúp người sản xuất tìm phương pháp chế biến tốt nhất.

II. PHƯƠNG PHÁP TIẾN HÀNH

4 phương pháp chế biến hà thủ ô đỏ thường gặp là:

1. Phương pháp đồ 9 lần với đỗ đen

Phương pháp này được nêu ra trong "Tích thiện đường phương" và "Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam" của GS.TS. Đỗ Tất Lợi. Các bước tiến hành như sau:

Hà thủ ô đỏ ngâm củ vào nước vo gạo trong 3 ngày, vớt ra cạo vỏ, rửa sạch cho vào chõ, cứ một lớp hà thủ ô lại rải một lớp đỗ đen, sau đấy đem đồ chín đỗ đen. Lấy ra bỏ đỗ đen và phơi hà thủ ô cho khô, sau đem đồ lại làm như vậy 9 lần, lấy ra thái mỏng phơi khô là được.

2. Phương pháp đồ với rượu

Phương pháp này trong "Lôi công bào chế dược tính giải" hà thủ ô thái lát cho vào chậu, đổ rượu ngâm 1 đêm. Ngày hôm sau bỏ vào chõ đồ khoảng 4 giờ, lấy ra phơi chỗ râm mát cho đến khô, lại đem đồ 2 lần nữa, phơi khô là được.

3. Phương pháp của Viện Đông y Trung ương và Viện Đông y Quân đội đang làm

Phương pháp này có trong sách "Phương pháp bào chế và sử dụng Đông dược" của Viện Y học cổ truyền Việt Nam. Hà thủ ô ngâm nước một ngày đêm cho mềm.

Đỗ đen lượng bằng 1/10 hà thủ ô, đem đun với nước, cứ đổ nước vào đun lại, chắt ra đến khi đỗ đen bạc màu. Cho hà thủ ô vào nồi, đổ nước đỗ đen vào ninh cho đến khi nước cạn và hà thủ ô trở nên mềm là được. Lấy ra thái lát phơi khô (nếu thiếu nước có thể cho thêm đỗ đen vào ninh lấy nước và đun tiếp. Thường ngày đun 6 giờ và đun trong 3 ngày).

4. Phương pháp giản đơn

Phương pháp này thấy ở vùng Ninh Hiệp và nhiều nơi sản xuất để cung cấp cho các cửa hàng bán buôn, bán lẻ dược liệu trên thị trường tự do. Các bước tiến hành như sau:

Hà thủ ô ngâm cho đến khi mềm, thái lát phơi cho se lại. Đỗ đen đem nấu lấy nước, xong cho hà thủ ô vào nước đun và đảo đều liên tục cho đến khi cạn thì đem ra phơi. Thường thời gian từ khi đun đến lúc hoàn thành khoảng 2 giờ.

III. ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ

Đánh giá kết quả bằng 2 phương pháp:

1. Bằng cảm quan (Thuốc sau chế biến)

	Cửu chế	*Tam chế*	*ĐY QĐ TW*	*Thị trường tự do*
Mùi	Thơm rất dịu khi chế	Hắc khi chế	Ngái và hơi gây khi chế	Không rõ rệt khi chế
Vị sau chế	Vị chát còn ít (+)	Vị chát còn (++)	Vị chát còn (++)	Vị chát nhiều (+++)
Mầu sắc	Đen nhánh	Đen và tối màu	Đen, sáng không đều	Nhạt và tối màu

2. Theo kết quả của phòng phân tích tiêu chuẩn

Chỉ tiêu đánh giá	*Cửu chế*		*Tam chế*		*ĐY QĐ TW*		*Thị trường tự do*	
	Chưa chế	*Bình quân 3 lần chế*	*Chưa chế*	*Bình quân 3 lần chế*	*Chưa chế*	*Bình quân 3 lần chế*	*Chưa chế*	*Đã chế*
Bột dược liệu+ NaOH (TT)	Đỏ sẫm		Đỏ sẫm		Đỏ sẫm		Đỏ sẫm	
Nhỏ Iodua lên mặt cắt (loại pha loãng)	Xanh đen (đúng)		Xanh đen (đúng)		Xanh đen (đúng)		Xanh đen (đúng)	
Chất chiết trong cồn 30^0	23,397%	15,54%	23,45%	8,58%	23,43%	15,26%	23,40%	
Chất chiết trong nước	15,32%	12,06%	13,80%	5,31%	15,30%	13,23%	14,80%	12,44%

3. Nhận xét

Theo một số tài liệu thì cho đến nay chưa có nghiên cứu chứng minh rằng tác dụng làm thuốc của hà thủ ô là do nhóm hoạt chất nào quyết định.

Ở các phương pháp bào chế khác nhau chúng ta cũng có những kết quả khác nhau về mầu, vị, tài liệu nào đề cập cụ thể về sự thay đổi của hà thủ ô qua các cách chế biến.

Qua chế biến chất tan trong cồn và trong nước đều thấp hơn dược liệu chưa chế, cách tam chế có hàm lượng thống nhất, 3 cách còn lại sai khác không rõ. Trong đông y cửa hàng dược liệu chế cách đồ 9 lần với đỗ đen.

IV. KẾT LUẬN

Chúng tôi chọn ra một số phương pháp bào chế hà thủ ô đỏ tương đối phổ biến và chỉ ra những sự khác biệt để các đồng nghiệp tham khảo. Chúng tôi chưa thể khẳng định được phương pháp nào đưa lại hiệu quả điều trị tốt hơn. Điều này được thể hiện qua nhiều tài liệu của Trung Quốc và Việt Nam. Hiện nay có lẽ do giá thành sản phẩm cao và chưa có một sự khẳng định được phương pháp nào tốt, cho nên người ta đơn giản hoá cách chế đi. Vì thế cần phải khôi phục lại phương pháp cửu chế và quy định rõ phẩm chất vị thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hải thượng Lãn Ông (bản dịch). NXB Y học, 1963.

2. Dược điển Việt Nam tập I, II, III.

3. Phương pháp bào chế và sử dụng thuốc đông dược. NXB Y học, 1991.

4. Trung dược bào chế kinh nghiệm tập thành. Nhân dân vệ sinh xuất bản xã Bắc Kinh, 1965.

5. Lôi công bào chế dược tính giải. Thượng Hải vệ sinh xuất bản xã, 1957.

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT BECBERIN TỪ VỎ CÂY HOÀNG BÁ (*Phellodendron amurense* Rupr)

Phạm Văn Thanh, Nguyễn Tập,
Ngô Văn Trại, Nguyễn Chiều

SUMMARY

Becberin is extracted from bark of Phellodendron amurense Rupr. With method ... alcohol solvent. Productivity of this method is 2,7%. Extracted product with ... of Becberin 94,6%. The product is stable, nice, in normal preservation.

Key words: *Phellodendron amurense Rupr, Becberin, extract, alcohol.*

*
* *

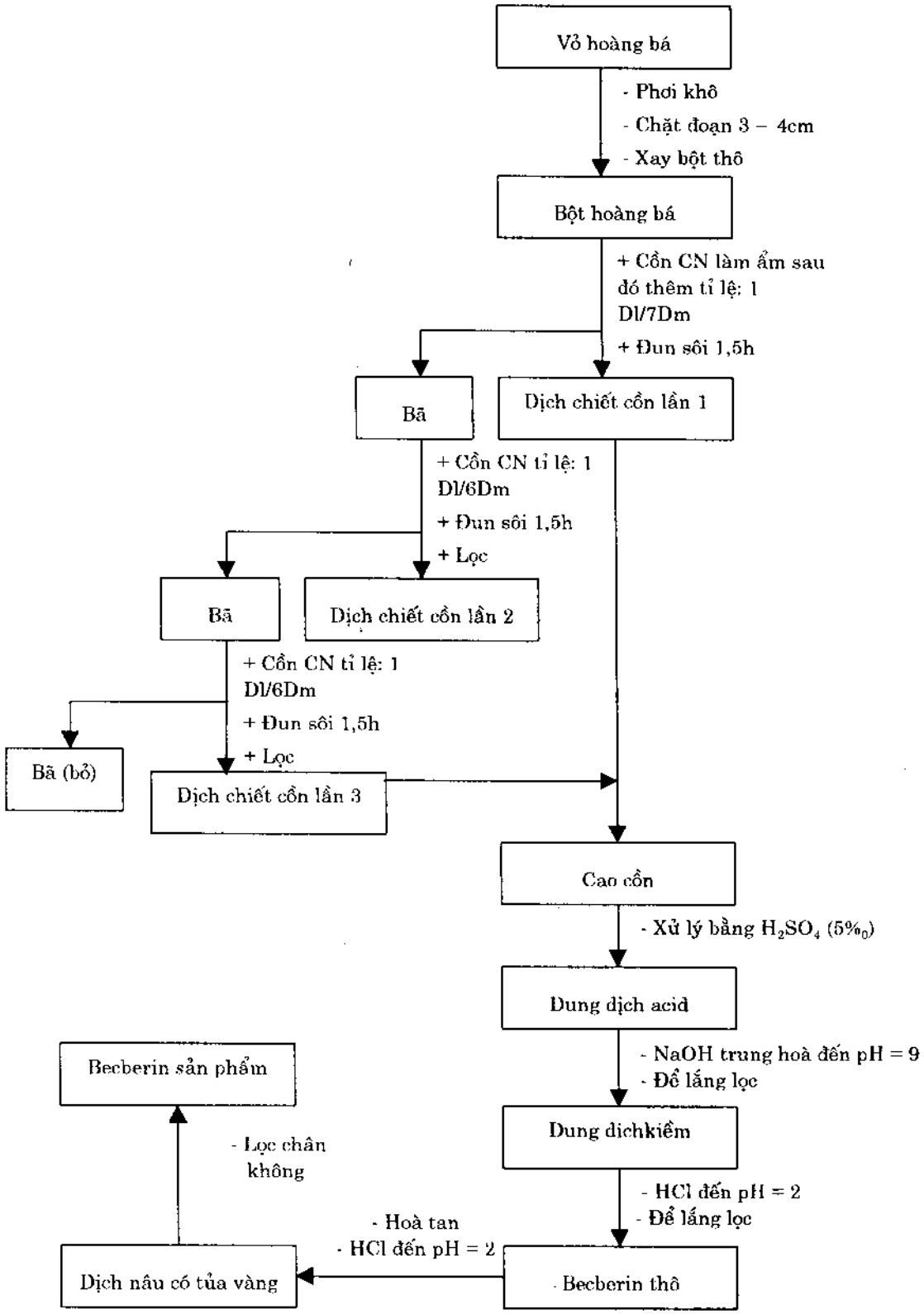
Trong lịch sử nghiên cứu và chiết xuất hợp chất becberin để làm thuốc ở nước ... có cây vàng đắng là có nguồn nguyên liệu tự nhiên dồi dào nhất. Tuy nhiên do khai thác quá mức và bị tàn phá nhiều nên nguồn tài nguyên sẵn có này đã bị giảm sút nhanh chóng.

Đi đôi với việc tổ chức khoanh vùng bảo vệ những cây vàng đắng còn lại tái sinh, cần nghiên cứu tìm kiếm thêm những loài thực vật khác có chứa becberin để chiết xuất hoặc sản xuất tạo nguyên liệu. Hoàng bá (*Phellodendron amurense* Rupr) thuộc họ Rutaceae là cây có thể đáp ứng được yêu cầu đó.

Sau khi hoàng bá được nhập nội vào Việt Nam từ những năm 1970, một số nhà nghiên cứu ở Viện dược liệu đã bước đầu nghiên cứu chiết xuất becberin từ cây này. Vào thời điểm đó cây trồng còn quá ít nên tạm thời chưa hoàn tất và chưa được công bố.

Về kỹ thuật chiết xuất becberin trong cây vàng đắng, đã có nhiều công trình nghiên cứu. Có thể sử dụng phương pháp chiết ngấm kiệt với dung môi là dung dịch acid sulfuric loãng, phương pháp chiết bằng nước nóng, phương pháp chiết bằng áp lực cao, phương pháp chiết dung áp lực giảm hoặc phương pháp chiết sử dụng kết hợp cả áp lực cao và nhiệt độ...

Sơ đồ chiết xuất becberin từ vỏ hoàng bá



Đối với dược liệu là vỏ hoàng bá, sau khi thử nghiệm, chúng tôi thấy phương pháp dùng dung môi cồn công nghiệp chiết nóng là có hiệu quả hơn cả, cách làm cụ thể như sau:

- Vỏ hoàng bá khô chặt đoạn dài 3 – 4cm xay thành bột thô. Làm ẩm bột này bằng cồn công nghiệp sau đó đổ cồn công nghiệp cho ngập bột dược liệu và chiết ở nhiệt độ sôi của cồn trong 1,5 giờ.

- Rút dịch chiết tiếp tục làm như vậy 3 – 4 lần để chiết được hết becberin tiềm tàng trong dược liệu. Gộp các dịch chiết lại thu hồi dung môi phần thu được đem loại tạp chất: chất nhựa, chất nhầy, chất béo. Dịch đã loại tạp đem lại kết tủa bằng acid clohydric sẽ được becberin thô.

- Becberin thô được tinh chế bằng cách hoà tan và cho tủa lại bởi acid clohydric lọc tủa, rửa nhanh bằng nước lạnh, hút chân không cho kiệt nước, sấy khô. Sản phẩm cuối cùng có hàm lượng becberin 94,6%.

Nhận xét

Ưu điểm

- Chiết được khá kiệt lượng becberin trong dược liệu nhất là đối với dược liệu hoàng bá phải trồng nhiều năm mới được thu hoach.

- Hiệu xuất của quy trình đạt 2,7% sản phẩm chiết đạt 94,6%becberin, có thể sử dụng bào chế thuốc được ngay hoặc tinh chế thêm tùy theo yêu cầu.

- Quy trình đơn giản thao tác dễ dàng.

Nhược điểm

- Dung môi chiết xuất là cồn công nghiệp, mặc dù rất dễ kiếm trong nước.

- Quy trình đòi hỏi phải có thiết bị chiết nóng và thu hồi dung môi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu, 1995.*
Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc – NXB Y học.

2. *Nguyễn Văn Bàn, 1996.*
Phân tích sàng lọc hoá thực vật (Tập 2).

3. *Đỗ Tất Lợi.*
Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Y học.

4. *Viện Dược Liệu, 1990.*
Cây thuốc Việt Nam. NXB KH&KT, 306 – 307.

NGHIÊN CỨU BỔ SUNG CHI *Geranium* L. Ở VIỆT NAM

Nguyễn Chiểu,
Mai Lê Hoa, Nguyễn Thượng Dong

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong Danh lục cây thuốc miền Bắc Việt Nam (1: 45) có cây mỏ hạc (*Geranium nepalense* Sweet) là cây thuốc duy nhất trong họ mỏ hạc (Geraniaceae. R. C. Carolin) ở Việt Nam. Phòng tiêu bản ở Viện Dược liệu trước đây cũng chỉ có 1 mẫu (N^{0} 2225); do Nguyễn Tập lấy ở Mường Lống, Kì Sơn, Nghệ An. Các tài liệu cũ (4:368, 5:522, 8:146) ghi loài này có ở Sa Pa - Lào Cai. Năm 1994 Nguyễn Chiểu lấy được mẫu mỏ hạc ở Sa Pa nhưng rất khác với mẫu ở Nghệ An và khác với loài đã được mô tả và công bố có ở Sa Pa trước đây. Năm 1993 Viện Dược liệu nhập từ Nhật Bản về một cây thuộc chi *Geranium* L. nhưng không biết là loài nào. Tên Nhật Bản của cây này là Gen - no - shoko, Furo. so. Để phân biệt với cây mỏ hạc, chúng tôi đặt tên Việt Nam cho cây này là "cỏ quan". Những cây này đều được sử dụng làm thuốc lợi tiểu, giảm đau nhức gân xương, tiêu chảy và làm nguyên liệu chiết xuất tanin.

Việc nghiên cứu bổ sung chi *Geranium* L. ở Việt Nam nhằm xác định những cây đã sử dụng là những loài nào.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng

Các mẫu khô và cây tươi thuộc chi *Geranium* L.

2. Phương pháp

Dùng phương pháp phân loại hình thái học thực vật để xác định tên loài.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Chi *Geranium* L. có khoảng 400 loài phân bố chủ yếu ở vùng Nhiệt đới và Cận nhiệt đới. Ở Việt Nam, các công trình nghiên cứu về thực vật trước đây (4, 5, 8) ghi

nhận chỉ có loài *Geranium nepalense* Sweet và về mặt dược liệu chỉ có Danh lục cây thuốc miền Bắc Việt Nam giới thiệu loài này với tên Việt Nam là Mỏ hạc.

Người đầu tiên nghiên cứu loài này ở Việt Nam là Tardieu - Blot (4:552). Tác giả này sử dụng mẫu do Aug. Chevalier và Petelot lấy ở Sa Pa. Sau này Võ Văn Chi (8:146), Phạm Hoàng Hộ (4:368) đều ghi có loài này ở Sa Pa. Nhưng Phạm Hoàng Hộ cho rằng *Geranium nepalense* Sweet là đồng danh của G. homeanum Turcz. Tác giả mô tả rất sơ sài và ghi hoa có màu vàng. Điều này mâu thuẫn với tất cả các tác giả khác đã ghi loài này có màu hồng. Mẫu Nguyễn Chiều lấy ở Sa Pa có hoa màu trắng.

Ở Trung Quốc, loài *G. nepalense* Sweet được gọi là "Lão quan thảo NePan" để phân biệt với các loại "Lão quan thảo" khác (6:507, 7:529) hoặc "Lão quan thảo mỏ ngắn" phân biệt với "Lão quan thảo mỏ dài" (*Erodium stenphaniaum* Willd. - một loài thuộc chi khác trong họ Geraniaceae) (6:506).

Ngoài loài *G. nepalense* Sweet đã được công bố, hiện nay ở Việt Nam còn có:

1. *Geranium sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi (*G. sibiricum Forma glabrius* Hara). Tên Việt Nam chúng tôi cũng gọi là Mỏ hạc. Loài này có ở Sa Pa - Nguyễn Chiều đã thu mẫu, nghiên cứu và công bố có ở Việt Nam từ 1995 (2). Cây mỏ hạc ở Sa Pa tồn tại ở bậc dưới loài của *G. sibiricum* L. nhưng vì nó là duy nhất thuộc loài đó nên vẫn được coi là phát hiện một loài mới ở Việt Nam.

Dưới loài *G. sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi khác với chính loài *G. sibirucum* L. ở chỗ thân gầy nhưng không lông và hoa có màu trắng, không phải màu hồng. Dưới loài này khác *G. nepalense* Sweet ở điểm cơ bản nhất là cụm hoa chỉ có 1 hoa và hoa màu trắng (cụm hoa của *G. nepalense* có 2 hoa và hoa màu hồng).

2. *Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo (*Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc.) Tên Việt Nam: cỏ quan. Nguyễn Chiều (2) nghiên cứu trên các cây nhập về trồng ở Sa Pa và Văn Điển, xác định tên dưới loài này.

Những người nghiên cứu loài này đầu tiên ở Nhật Bản là Ph. Fr. Von Siebold và Zuccarini, đặt tên là G. *thunbergii* Sieb. et Zucc. Sau đó Yushin Kudo nghiên cứu tiếp, xác định đây chỉ là dưới loài của *G. nepalense* Sweet và đặt tên là *G. nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo (3).

Dưới loài *G. nepalense* var. *thubergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo khác loài *G. nepalense* Sweet ở đặc điểm có thân khoẻ, cao hơn rất nhiều (160 cm hoặc hơn); các bộ phận của cây có lông dày đặc; Hoa màu trắng ngà, không phải màu hồng. Dưới loài này giống *G. sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi ở chỗ cả 2 đều có thân cao đến 100cm (và hơn), hoa màu trắng. Điểm khác biệt là cụm hoa của *Geranium*

var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo có 2 hoa, cụm hoa của *G. sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi chỉ có 1 hoa.

IV. KẾT LUẬN

Đến nay đã biết ở Việt Nam có 2 loài thuộc chi *Geranium* L. Thuộc 2 loài này ở Việt Nam có 3 cây. 1 cây có tên khoa học là *Geranium nepalense* Sweet; một cây là *G. nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo và một cây là *G. sibiricum* var. *glabrius* (Hara) Ohwi. Cả 3 cây này đều sử dụng làm thuốc. Đã bổ sung cho hệ thực vật Việt Nam 1 loài và 1 dưới loài mới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Bộ Y tế - Viện Dược liệu, 1971.*
Danh lục cây thuốc miền Bắc Việt Nam. NXB Y học. Hà Nội.

2. *Nguyễn Chiều, Nguyễn Thượng Dong, 1995.*
Tạp chí Dược học số 7 và 8 trang 48 - 49.

3. Ohwi Jisaburo, 1965.
Flora of Japan in Engl. Washinton.

4. *Phạm Hoàng Hộ, 1992.*
Cây cỏ Việt Nam, II (1).

5. Tardieur - Blot, 1945. Suppl F.F. I, I

6. *Viện Dược học Nam Kinh, 1976.*
Trung thảo dược học, II.

7. Viện Khoa học Trung Quốc, 1972. I. C.S, II.

8. *Võ Văn Chi và những người khác, 1971.*
Cây cỏ thường thấy ở Việt Nam II.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC LOÀI *Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo

Nguyễn Thượng Dong,
Nguyễn Gia Chấn, Mai Lệ Hoa

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lão quan thảo di thực, còn được gọi là cây mỏ hạc, cỏ quan; tên khoa học là *Geranium nepalense var. thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo - họ Geraniaceae. Đây là loài *Geranium* nhập nội từ Nhật Bản và đang được trồng ở một số vùng núi phía Bắc nước ta như một loại hàng hoá xuất khẩu từ năm 1990 (1).

Thành phần chủ yếu của cây lão quan thảo di thực là hợp chất polyphenol, đây là nhóm hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học giá trị (2). Tuy vậy, ở Việt Nam loài *Geranium nepalense* var. *thunbergii* chưa được nghiên cứu về thành phần hoá học. Để có thể đưa loài *Geranium nepalense* var. *thunbergii* vào sử dụng như một loại dược liệu chính thống, chúng tôi đã tiến hành định lượng một số nhóm hoạt chất và nghiên cứu thành phần hoá học của loại dược liệu này (3).

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC

1. Phương pháp

Chiết xuất, phân lập các hợp chất polyphenol theo phương pháp sàng lọc các hợp chất thiên nhiên (4), sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột, đo điểm chảy, phổ UV, FT - IR, ^{1}H - NMR, ^{13}C - NMR, DEPT.

1. Chiết xuất các polyphenol:

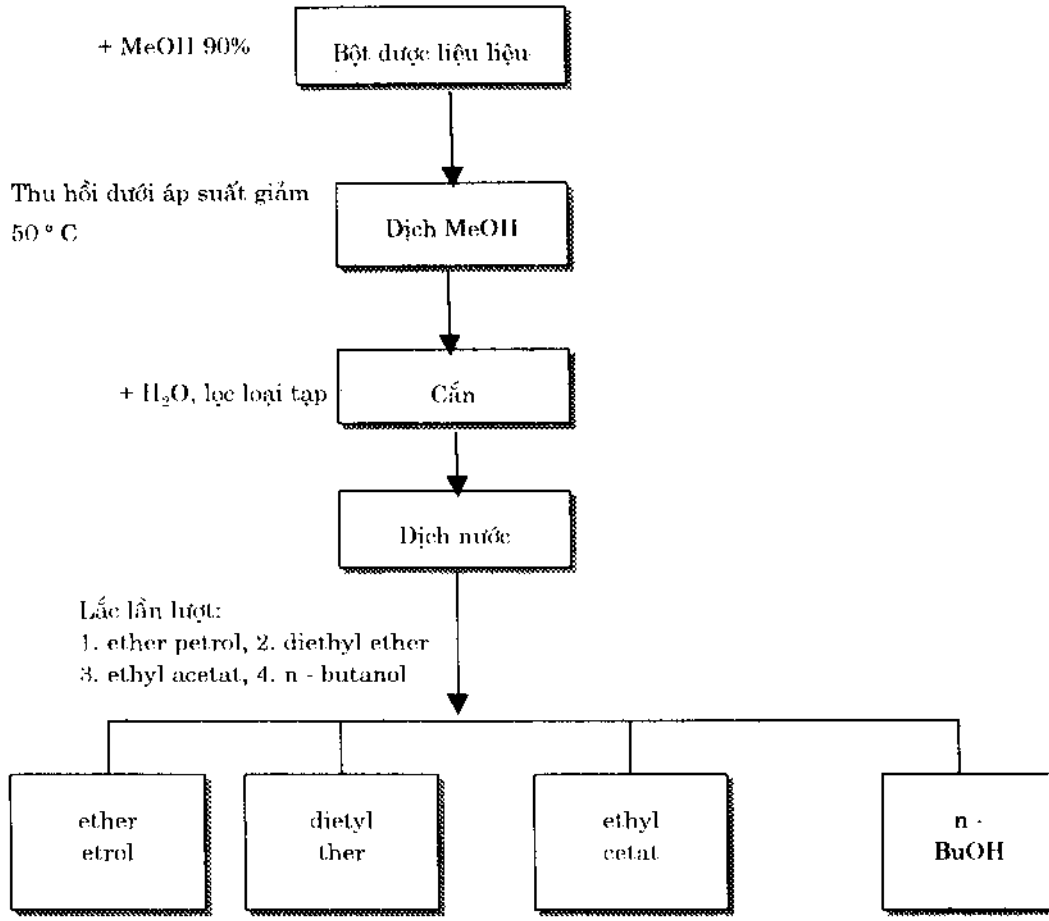
Sơ đồ chiết xuất được thể hiện ở hình 1.

2. Phân lập các polyphenol

Dịch chiết ethyl acetat được cất loại dung môi, dùng sắc ký cột silicagel G 60, cỡ hạt 100 - 160μm để phân lập, rửa giải bằng hệ dung môi toluen: ethyl acetat: acid formic (5:6:1). Các phân đoạn thu được tiếp tục được phân lập và tinh chế lại trên sắc ký cột sephadex LH 20, rửa giải bằng methanol 60%.

Từ hỗn hợp polyphenol bằng sắc ký cột silicagel đã thu được 3 phân đoạn. Phân đoạn I cho cắn màu vàng đậm. Tinh chế lại trên cột sephadex LH - 20 rửa giải

bằng metanol 60% thu được 2 chất, kí hiệu là V_1 và V_2. Phân đoạn II cho cắn màu vàng nhạt, tinh chế lại trên cột silicagel cho tinh thể hình kim màu trắng ngà, kí hiệu là V_3. Phân đoạn III cho cắn màu xám nhạt, tinh chế lại trên cột silicagel cho tinh thể màu trắng đục, kí hiệu V_5.



Sơ đồ chiết xuất hợp chất polyphenol

3. Nhận dạng V_1, V_2

Nhận dạng V_1: có dạng tinh thể hình kim, màu vàng nhạt. Tan tốt trong methanol, ethanol, diethyl ether, tan trong dung dịch kiềm và dung dịch acid, ít tan trong nước nóng. Hầu như không tan trong nước lạnh. Không tan trong benzen, cloroform.

- Nhiệt độ nóng chảy: 274 - 277°C.

- Phổ tử ngoại (UV): Có λ_{max} (MeOH): 265,8 và 366,5 nm.

- Phổ hồng ngoại (FT - IR): được đo dưới dạng viên nén KBr.V_1 có các đỉnh hấp thụ mạnh tại: 3321,6 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm phenol (- OH).

1662,7 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm carbonyl (C=O) liên hợp không tạo cầu hydro.

1615,7 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm carbonyl (C = O) liên hợp tạo cầu hydro.

1520 cm^{-1} đặc trưng cho C = C nhân thơm.

- Phổ khối (MS): Pic ion phân tử $[M^+]$ với cường độ khá lớn ở m/z = 286, tương ứng với công thức $C_{15}H_{10}O_6$. Các píc mảnh có m/z lần lượt là: 285, 258, 229, 213, 121, 105, 93, 83, 69, 55, 45.

- *Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)*

- ^1H - NMR: Phổ proton ^1H-NMR cho 6 tín hiệu doublet và 1 tín hiệu singlet.

- ^{13}C - NMR: Phổ ^{13}C - NMR của V_1 cho 13 tín hiệu của 15 nguyên tử carbon.

Phổ DEPT đã chứng tỏ rằng trong V_1 có 6 nhóm – CH và 9 carbon bậc bốn. Kết quả phân tích phổ ^1H - NMR và ^{13}C - NMR được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Số liệu phổ ^1H - NMR và ^{13}C - NMR của V_1 (DMSO - D6, δ (ppm), 200 MHz)**

Vị trí cacbon	δ_H *(ppm)* V_1	δ_C *(ppm)* V_1	δ_C *(ppm)* *Kaempferol [5]*
2		156,4	156,3
3		135,8	135,9
4		176,1	176,3
5	12,48 (OH, s)	160,9	160,8
6	6,19 (d, 2 Hz)	98,4	98,1
7		164,1	163,8
8	6,44 (d, 2 Hz)	93,7	93,5
9		159,4	159,6
10		103,2	103,2
1'		121,9	122,1
2'	8,05 (d; 8,9 Hz)	129,7	129,5
3'	6,93 (d, 8,9Hz)	115,6	115,5
4'		147,0	147,0
5'	6,93 (d, 8,9Hz)	115,6	115,5
6'	8,05 (d, 8,9 Hz)	129,7	129,5

Kết luận: Từ các kết quả phân tích số liệu phổ: UV, FT - IR, MS, ^1H - NMR và ^{13}C - NMR kết hợp với tài liệu tham khảo [5], chúng tôi nhận dạng chất V_1 là một flavonol, có công thức hoá học là $C_{16}H_{10}O_6$, công thức cấu tạo là 3,5,7,4' - tetra - hydroxy flavon, có tên là kaempferol..

Nhận dạng V2: có dạng tinh thể hình kim, màu vàng. Tan tốt trong methanol, ethanol, diethyl ether, trong dung dịch kiềm và dung dịch acid. Tan ít trong nước nóng, hầu như không tan trong nước lạnh, không tan trong benzen, cloroform.

- Nhiệt độ nóng chảy: Phân hủy ở 314 - 316°C.

- Phổ tử ngoại (UV): có λ_{max} (MeOH): 255,1 và 369,0 nm.

- Phổ hồng ngoại (FT - IR): được đo dưới dạng viên nén KBr. V_2 có các đỉnh hấp thụ mạnh tại: 3408,9 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm phenol (- OH).

1669,4 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm carbonyl (C = O) liên hợp không tạo cầu hydro.

1615,7 cm^{-1} đặc trưng cho nhóm carbonyl (C = O) liên hợp tạo cầu hydro.

1521,6 cm^{-1} đặc trưng cho (C = C) nhân thơm

- Phổ khối (MS): Pic ion phân tử $[M^+]$ với cường độ lớn nhất ở m/z = 302 tương ứng với công thức $C_{15}H_{10}O_7$. Các píc mảnh có m/z lần lượt là: 285, 273, 257,245, 228, 217, 200, 153, 137, 109, 81, 69, 55, 50.

- Phổ ^{1}H-NMR cho tín hiệu của 5 proton với 4 doublet (d) và 1 doublet kép (dd).

- Phổ ^{13}C - NMR và phổ DEPT cho tín hiệu của 15 nguyên tử carbon, trong đó có 5 nhóm - CH và 10 carbon bậc 4.

Kết quả phân tích phổ ^{1}H - NMR và ^{13}C - NMR của V_2 được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. **Số liệu phổ ^{1}H - NMR và ^{13}C - NMR của V_2 (DMSO - D6, δ (ppm), 200 MHz)**

Vị trí cacbon	δ_H *(ppm)* V_2	δ_C *(ppm)* V_2	δ_C *(ppm) Quercitrin [6]*
2		147,0	156,3
3		135,9	134,4
4		176,1	177,4
5	12,48 (OH, s)	161,0	161,2
6	6,19 (d; 1,8 Hz)	98,4	98,6
7		164,1	164,0
8	6,41 (d; 1,8 Hz)	93,6	93,5
9		156,4	157,0
10		103,3	104,2
1'		122,2	121,0
2'	7,684 (d; 2 Hz)	115,3	115,4
3'	9,33 (OH, s)	145,3	145,1
4'	9,33 (OH, s)	147,9	148,3
5'	6,89 (d; 8,5 Hz)	115,8	115,8
6'	7,54 (dd; 2 và 8,5Hz)	120,2	121,0

Kết luận: Từ các kết quả phân tích số liệu phổ: UV, FT - IR, MS, ^{1}H - NMR, ^{13}C - NMR, DEPT và so sánh với tài liệu [6] chúng tôi nhận định chất V_2 là một flavonol có công thức hoá học là $C_{15}H_{10}O_7$, công thức cấu tạo là 3, 5, 7, 3', 4' penta - hydroxy flavon, có tên là quercetin.

4. Nhận dạng V_3, V_5

Nhận dạng V_3: V_3 là những tinh thể hình kim màu trắng ngà. Tan tốt trong metanol, etanol. Không tan trong benzen, chloroform. Khó tan trong nước lạnh.

- Nhiệt độ nóng chảy: 153 - 155^{0}C.

- Phổ tử ngoại (UV) λ_{max} (MeOH): 217,5 và 273,9 nm.

- Phổ hồng ngoại (FTIR): đo dưới dạng viên nén KBr, các đỉnh hấp thụ cực đại:

Nhóm (- OH): 3462,5 cm^{-1}, 3308,0 cm^{-1}. Nhóm carbonyl (>C=O): 1709,2 cm^{-1}.

Nhân thơm: 3010; 1619,4 và 1534,4 cm $^{-1}$. CH no (- CH_3, > CH_2): 2974,5 cm^{-1}.

- Phổ khối (MS): Có pic ion phân tử [M$^+$] ở m/z = 198, tương ứng với công thức $C_9H_{10}O_5$. Ngoài ra có các pic với số khối m/z là: 183, 170, 153, 125, 79, 77, 50, 53.

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).

- Phổ ^{1}H - NMR cho tín hiệu của nhóm C_2H_5 ở dạng este, một tín hiệu ở vùng thơm ứng với hai proton và hai tín hiệu ở vùng OH phenolic ứng với 3 proton.

- ^{13}C - NMR và phổ DEPTcho 7 tín hiệu, trong đó có 2 tín hiệu mỗi tín hiệu ứng với 2 nguyên tử carbon, vậy V_3 có tổng số 9 carbon. Kết quả phân tích phổ ^{1}H - NMR và ^{13}C - NMR của V_3 thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. **Số liệu phổ ^{1}H - NMR và ^{13}C - NMR của V_3 và V_5**

Vị trí carbon	*δ_H (ppm) (200 MHz)*		*δ_C (ppm) (200 MHz)*	
	V_3 (DMSO - D6)	*V_5 (MEOD)*	*V_3 (DMSO - D6)*	*V_5 (MEOD)*
1			119,8	121,9
2	6,94 (s)	7,05 (s)	108,7	110,8
3	9,20 (OH, s)		145,7	146,3
4	8, 90 (OH, s)		138,5	139,5
5	9,20 (OH, s)		145,7	146,3
6	6,94 (s)	7,05 (s)	108,7	110,8
7			166,0	170,4
8	4,20 (q; 7,1Hz)		60,2	
9	1,27 (t; 7,1Hz)		14,5	

Kết luận: Từ các kết quả phân tích số liệu phổ:UV, FT - IR, MS, ^{1}H - NMR và ^{13}C - NMR nhận định V_3 là một este, có công thức hoá học là $C_9H_{10}O_5$, công thức cấu tạo là ethyl 3, 4, 5 - tri hydroxy benzoat có tên là ethyl gallat. Khối lượng phân tử: 198.

Nhận dạng V_5: là những tinh thể hình kim màu trắng đục. Tan tốt trong methanol, ethanol, diethyl ether, tan rất ít trong nước lạnh, tan trong nước nóng.

Nhiệt độ nóng chảy: 251 - 253^{0} C.

- Phổ tử ngoại (UV): λ_{max} (MeOH): 273,4 nm.

- Phổ hồng ngoại (FT - IR): đo dưới dạng viên nén KBr, các đỉnh hấp thụ cực đại:

Nhóm phenol, alcol (- OH): 3432,8 cm $^{-1}$ và 3247,7 cm $^{-1}$.

Nhóm carboxyl (- COO): 1703,0 cm $^{-1}$. Nhân thơm: 3059,7 và 1622,4 cm $^{-1}$

- Phổ khối (MS): Pic ion phân tử [M^{+}] ở m/z = 170 với cường độ rất mạnh, xấp xỉ 100%. Các pic mảnh với số khối m/z là: 153, 135, 125, 79, 75, 53, 50.

- *Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)*

- ^{1}H - NMR: Phổ ^{1}H - NMR cho một tín hiệu ở vùng thơm ứng với hai proton.

- ^{13}C - NMR và DEPT: Trên phổ ^{13}C - NMR cho 5 tín hiệu, trong đó có 2 tín hiệu, mỗi tín hiệu ứng với 2 nguyên tử carbon, qua đó nhận biết V_5 có 7 carbon.

Kết quả phân tích phổ ^{1}H - NMR và ^{13}C - NMR của V_5 được ghi trong bảng 3.

Kết luận: Nhiệt độ nóng chảy, kết quả phân tích số liệu phổ đo được cho phép nhận dạng V_5 là một acid polyphenolic, công thức hoá học: $C_7H_6O_5$, công thức cấu tạo là 3, 4, 5 - trihydroxy benzoic acid, có tên là acid gallic, khối lượng phân tử: 170.

5. Định lượng flavonoid, taninoid theo Dược điển Việt Nam II, tập 3.

• Định lượng flavonoid toàn phần

Hàm lượng "flavonoid toàn phần" đạt 2,2 % so với dược liệu khô tuyệt đối.

• Định lượng tanin theo thời gian thu hái

Kết quả định lượng tanin trong cây Lão quan thảo cho thấy hàm lượng tanin dao động từ 15 - 18% so với dược liệu khô tuyệt đối và đạt cao nhất vào thời điểm tháng 6, 7, khi cây đang trong thời kỳ ra hoa và bắt đầu kết quả.

• Định lượng tanin trong thời gian bảo quản

Loài *G. nepalense var. thunbergii* được thu hái vào tháng 7 - 1997, phơi sấy ở nhiệt độ dưới 60°C, độ ẩm 9 - 10%, xay nhỏ và đóng gói trong túi polyethylen hàn kín.

Sau một thời gian bảo quản từ 4 - 6 tháng, bột dược liệu bị chuyển từ màu lục nhạt sang màu vàng nâu đến nâu. Kết quả định lượng đã cho thấy hàm lượng (%) tanin giảm đi đáng kể theo thời gian bảo quản. Sau 8 tháng hàm lượng có thể giảm mất 30%, sau 12 tháng hàm lượng tanin có thể giảm mất 45%.

6. Định lượng các nguyên tố đa lượng và vi lượng

Các nguyên tố được xác định bằng phương pháp chuẩn độ thể tích, phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử. Hàm lượng nguyên tố so với dược liệu khô tuyệt đối được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. **Hàm lượng (%) nguyên tố đa, vi lượng trong dược liệu**

Nguyên tố	*Ca (%)*	*Mg (%)*	*K (%)*	*Na (%)*	*P (%)*	*Mn ppm*	*Fe ppm*	*Zn ppm*	*Cu ppm*	*Pb ppm*	*As ppm*	*Hg ppm*
Hàm lượng	1,06	0,42	1,20	0,04	0,38	66,7	391,8	45,0	5,75	4,86	0,53	0,124

III. KẾT LUẬN

- Đã định lượng "flavonoid toàn phần", tanin và các nguyên tố đa, vi lượng của loài *Geranium nepalense* var. *thunbergii*, đồng thời khảo sát hàm lượng tanin trong quá trình bảo quản, qua đó cho thấy hàm lượng tanin của dược liệu bị giảm 30% sau 8 tháng, và 45% sau 12 tháng bảo quản.

- Đã phân lập và nhận dạng các chất: kaempferol, quercetin, ethyl gallat, acid gallic dựa trên điểm nóng chảy, các phổ UV, FT - IR, MS, ^{1}H - NMR, ^{13}C - NMR và DEPT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Chiều, Nguyễn Thượng Dong, 1995.*
"Những cây thuốc thuộc chi *Geranium* trong họ *Geraniaceae* ở Việt Nam". Tạp chí dược học (7+8), 48 – 49.

2. *Vletinck, A.J. et al., 1998.*
"Plant - derived leading compounds for chemotherapy of Human Immunodeficiency virus (HIV) Infection", Plant. Med., 64, 97 - 109.

3. *Mai Lệ Hoa, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Thượng Dong, 2000.*
"Nghiên cứu thành phần hoá học của các loài *Geranium sp.* hiện có ở Việt Nam", Tạp chí Dược liệu, 5, (5), 134 - 138.

4. *Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu, 1985.*
Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc, NXB Y học, Hà Nội, 243 - 290.

5. *Bilia A. L. et al, 1996.*
"Flavonoids from Licania pyrifolia", Pharmaceutica Acta Helvetiae, 71, 199 - 204.

6. *Agrawal, P.K. (Ed), 1989.*
Studies in Organic Chemistry 39: Carbon - 13 NMR of Flavonoid (Quercitrin, ^{13}C - daten in DMSO - d_6), Elsevier, Amsterdam, 336.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG SINH HỌC LOÀI *Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo

Mai Lệ Hoa, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Kim Dung, Nguyễn Minh Phương, Trần Văn Hanh[1], Trần Duy Kkang[2]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Với thành phần chủ yếu là hợp chất polyphenol, các loài thuộc chi *Geranium* L. đã cho những hoạt tính sinh học phong phú và đa dạng. Theo một số tài liệu, các loài thuộc chi *Geranium* L. có một số công năng như hoạt huyết, khứ phong, tiêu viêm, chữa đau gân cốt, trị tiêu chảy... (1, 2, 3). Một số loài được dùng làm thuốc trong y học dân tộc cổ truyền và đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ sức khoẻ cộng đồng ở nhiều nước châu Á như Ấn Độ, Nê Pan, Trung Quốc, Nhật Bản và một số nước Châu Âu (4, 5, 6).

Ở Việt Nam, từ năm 1990 Viện Dược liệu đã đưa vào trồng thử nghiệm một loài *Geranium sp.* nhập nội từ Nhật Bản, có tên gọi là lão quan thảo di thực, cỏ quan, tên khoa học là *Geranium nepalense var. thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo [7].Tuy vậy những tác dụng sinh học của loài lão quan thảo di thực chưa được tiến hành nghiên cứu, do đó giá trị thực tiễn của loài dược liệu này chưa được đánh giá đúng mức.

Với mong muốn bổ sung, làm phong phú và đa dạng hoá nguồn dược liệu nước nhà, nhằm góp phần đưa cây thuốc vào sử dụng rộng rãi hơn, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tác dụng sinh học của loài *Geranium nepalense* var. *thunbergii* hiện được trồng ở miền Bắc nước ta.

II. NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG SINH HỌC

Đối tượng

Geranium nepalense var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo - Lão quan thảo di thực.

---

[1] Học viện Quân y.
[2] Viện Kiểm nghiệm.

Động vật thí nghiệm

Chuột, thỏ, các chủng vi sinh vật, dòng tế bào *Sarcoma 180* do Viện Vệ sinh Dịch tễ, Viện Kiểm nghiệm, Bệnh viện Bạch Mai, Học viên Quân y cung cấp.

Nghiên cứu độ an toàn của dược liệu

Cao chiết bằng cồn 80° từ cây Lão quan thảo di thực - *G. nepalense var. thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo được khảo sát về độc cấp và mạn tính, nhằm xác định độ an toàn của dược liệu để phục vụ việc nghiên cứu các tác dụng sinh học và trong điều trị.

Xác định độc tính cấp:

1. Độc tính cấp được xác định theo phương pháp Behrens - K™rber [8].

LD_0: 60 g/kg chuột, LD_{100}: 170 g/kg chuột và LD_{50}: 118,3 g/kg.

Qua khảo sát độc tính cấp của *G. nepalense var. thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo trên chuột nhắt trắng đã rút ra một số nhận xét sau:

- Chuột uống thuốc liều cao bị ngộ độc với những biểu hiện như mệt mỏi, lờ đờ, kém hoạt động, kèm theo tiêu chảy, đa số chuột chết sau 1 - 2 giờ.

- Ở những liều độc thấp, chuột có biểu hiện mệt mỏi, khắc khoải, một số con vượt qua giai đoạn này thì sống và sinh hoạt trở lại bình thường, số ít chết sau vài giờ.

- Với những liều thấp hơn, ở mức an toàn, chúng ít hoạt động trong 1 - 2 giờ, sau đó trở lại bình thường.

2. Xác định độc tính bán mạn.

Kết quả:

Nghiên cứu trên các thông số huyết học và hoá sinh

Những chỉ số về thân trọng, huyết học và hoá sinh ở lô thỏ đối chứng, lô thỏ thử thuốc, với thời điểm trước, trong và sau khi cho uống placebo hay thuốc thử cho thấy không có sự khác biệt đáng kể giữa lô thỏ thử thuốc và lô thỏ chứng.

Nghiên cứu về mô bệnh học

Gan: Cấu trúc các bè gan còn nguyên vẹn, ranh giới giữa các bè gan rõ rệt, tế bào gan bình thường, khoảng cửa rõ, không thấy hiện tượng thoái hoá hay xơ xuất hiện.

Thận: Các liên bào ống thận bình thường. Không thấy hồng, bạch cầu trong lòng ống thận. Không thấy hiện tượng giãn bể thận. Cầu thận bình thường.

Thượng thận: ranh giới giữa phần vỏ và phần tuỷ rõ rệt. Các tế bào tuyến sán đều, không có xuất huyết.

Nhận xét: Cao lỏng lão quan thảo khi cho thỏ uống với liều 10 ml cao/1 kg thỏ ngày, tương đương 10g dược liệu/kg thỏ/ngày, trong 4 tuần liên tục không thấy những biểu hiện khác thường về thân trọng, thông số hoá sinh cũng như huyết học trên mô học vi thể không thấy biểu hiện nhiễm độc, cấu trúc các phủ tạng bình thường.

2. Nghiên cứu tác dụng kháng khuẩn

Chế phẩm thử:

- Dịch chiết nước được cô cách thủy để đạt tới nồng độ 1:1.
- Dịch chiết bằng cồn 80°, thu hồi cồn, cô cao đạt tới nồng độ 1:1.
- Dung dịch flavonoid toàn phần 10% (g/ml).

Tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm được khảo sát trên 30 nòi vi sinh vật với những kết quả sau:

- Các chế phẩm chiết bằng cồn, nước, dung dịch flavonoid 10 % (g/ml) đều có tác dụng ức chế trên *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* và *Salmonella typhi.*

- Chế phẩm chiết cồn và dung dịch flavonoid 10% (g/ml) có tác dụng ức chế đối với các chủng *Shigella, Salmonella, Klebsiella, Micrococcus luteus, Escherichia coli, Sarcina lutea, Proteus mirabilis.*

3. Nghiên cứu tác dụng chống viêm

Chế phẩm thử là dịch chiết bằng cồn 80°, thu hồi cồn, cô cao đạt tới nồng độ 1:1. Chất gây viêm: Caragenin dùng để gây viêm cấp và amian để gây viêm mạn tính.

1) Tác dụng chống viêm cấp tính

Nghiên cứu tác dụng ức chế giai đoạn viêm cấp tính trên mô hình gây phù thực nghiệm chân chuột. Áp dụng phương pháp của Winter và cộng sự [9].

Kết quả

+ Cao cồn lão quan thảo cho chuột cống trắng (được gây phù bàn chân bằng carragenin) uống với liều quy ra dược liệu khô là 20g/ kg thể trọng x 3 lần, hoặc được tiêm dưới da với liều quy ra dược liệu khô là 3g/ kg thể trọng x 3 lần đã có tác dụng làm giảm mức độ phù 26,8% so với lô chuột đối chứng được gây phù bàn chân bằng caragenin và uống nước muối sinh lý. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

+ Cao cồn lão quan thảo tiêm dưới da cho chuột cống trắng đã có tác dụng làm giảm mức độ phù 82,1% so với lô chuột đối chứng được tiêm nước muối sinh lý. Sự khác nhau này có ý nghĩa thống kê cao (P < 0,001).

2) Tác dụng chống viêm mạn tính

Nghiên cứu tác dụng ức chế viêm mạn tính trên mô hình gây u hạt thực nghiệm với amian ở chuột cống trắng. Áp dụng phương pháp của Ducrot, Julou và cs [10].

Kết quả

- Cao lão quan thảo cho chuột cống trắng uống hàng ngày với liều qui ra dược liệu khô 20g/ kg thể trọng, trong 5 ngày liên tục, đã có tác dụng ức chế sự tạo u hạt với tỷ lệ 26,5%, so với sự phát triển u hạt ở lô chuột đối chứng. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao (P < 0,001).

- Cao lão quan thảo được tiêm dưới da cho chuột cống trắng với liều quy ra dược liệu khô 3g/ kg thể trọng/ ngày, đã có tác dụng ức chế sự tạo u hạt với tỷ lệ 54,35%, so với mức độ phát triển u hạt ở lô chuột đối chứng. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao (P < 0,001).

Các kết quả nghiên cứu trên mô hình gây phù bàn chân chuột cống trắng bằng caragenin và gây u hạt thực nghiệm bằng amian cho thấy lão quan thảo có tác dụng ức chế rõ rệt giai đoạn viêm cấp tính cũng như viêm mạn tính. Thuốc thử có tác dụng cả khi cho thuốc bằng đường uống và tiêm dưới da, nhưng có tác dụng mạnh hơn khi tiêm dưới da.

4. Nghiên cứu tác dụng giảm đau

Thí nghiệm được tiến hành trên mô hình gây đau nội tạng bằng hoá chất (test quặn đau) theo phương pháp của Koster và Turner [11],[12].

- Các chỉ tiêu theo dõi: Số cơn quặn đau trong từng khoảng thời gian 5 phút.

- Phương pháp đánh giá tác dụng: So sánh số cơn quặn đau của lô chuột thử thuốc và lô chuột chứng trong từng khoảng thời gian 5 phút.

Kết quả: Với cao lỏng chiết bằng cồn 80^0 từ *Geranium nepalense var. thunbergii* ở liều 15g dược liệu/kg chuột có tỷ lệ giảm đau là 67,44% và ở liều 25g dược liệu/kg có tỷ lệ giảm đau là 70,22%.Tỷ lệ giảm đau ở liều 15g dược liệu/kg và ở liều 25g dược liệu/kg chuột không có sự khác biệt đáng kể.

5. Nghiên cứu tác dụng giảm co thắt cơ trơn

Động vật thí nghiệm: chuột lang, không phân biệt giống, có khối lượng từ 300 - 350g, khoẻ mạnh.

Chế phẩm thử: cao lỏng chiết bằng cồn 80° từ loài *Geranium nepalense var. thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo (1:1).

Dịch nuôi: Được pha loãng trước khi dùng từ dung dịch Tyrode gốc.

Dung dịch $BaCl_2$ 2%

Phương tiện: Máy ghi 2 kênh, buồng nuôi cơ quan cô lập, bộ phận biến năng đẳng trương.

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp Magnus (13).

Ghi các nhu động ruột chuột cô lập ở các trạng thái khác nhau:

Trạng thái nhu động ruột bình thường, trạng thái kích thích do tác động của dung dịch $BaCl_2$, trạng thái sau khi thử thuốc.

Chỉ tiêu theo dõi: Số lượng cơn co (tần số), cường độ cơn co (biên độ).

Kết quả: Cao lỏng lão quan thảo Nhật chiết bằng cồn 80^0 có tác dụng giảm co thắt cơ trơn trên hồi tràng chuột lang cô lập.

Ở nồng độ 100µl thuốc thử trong 45 ml dịch nuôi tỷ lệ giảm co thắt cơ trơn là 86,81%, ở nồng độ 200µl thuốc thử tỷ lệ giảm co thắt là 88,53% với độ tin cậy cao, $P < 0,001$.Tuy vậy tỷ lệ giảm co thắt cơ trơn trên hồi tràng chuột lang cô lập do $BaCl_2$ gây ra ở hai nồng độ 100µl và 200µl hầu như không có sự khác biệt. Ở cả hai liều thuốc thử tần số co thắt cơ trơn trên hồi tràng chuột lang cô lập không có sự khác biệt đáng kể ở trước và sau khi thử thuốc.

6. Nghiên cứu tác dụng ức chế sự phát triển tế bào *sarcoma* 180

Kết quả: Các chế phẩm chiết từ *Geranium nepalense var. thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo có tác dụng hạn chế sự phát triển tế bào *Sarcoma 180* trong ổ bụng chuột thí nghiệm. Mức độ ức chế sự phát triển tế bào thể hiện qua chỉ số phát triển ung thư chậm (Growth Delay)[14] từ 22 - 46% tỷ lệ thuận với liều sử dụng, bên cạnh đó hiện tượng xuất huyết trong ổ bụng giảm hẳn ở lô chuột thử thuốc. Hỗn hợp chiết cồn hoặc aceton - nước có tác dụng rõ rệt so với đơn chất tanin "G".

Dịch chiết cồn với liều 20g dl/kg chuột/ngày đã ức chế sự phát triển tế bào là 43%, dịch chiết aceton: nước với liều như trên đã ức chế sự phát triển tế bào là 46%, và chế phẩm tanin với liều 15 mg/ kg chuột/ngày có tác dụng ức chế là 20%. Tác dụng ức chế có thể do hoạt tính của các thành phần polyphenol có trong dược liệu mang lại.

III. KẾT LUẬN VÀ BÀN LUẬN

- Qua khảo sát độc tính cấp đã xác định LD_{50} bằng đường uống trên chuột nhắt trắng, loài lão quan thảo nghiên cứu có độ an toàn tương đối cao. LD_{50} = 118,3g/kg.

- Đã thử độc tính bán mạn không thấy biểu hiện nhiễm độc trên thỏ về mặt hoá sinh và mô học.

- Đã thử tác dụng kháng khuẩn trên 30 nòi vi sinh vật: Các chế phẩm chiết bằng cồn, nước, dung dịch flavonoid 10 % (g/ml) đều có tác dụng trên các vi khuẩn gây bệnh đường ruột.

- Các kết quả nghiên cứu trên mô hình gây phù bàn chân chuột cống trắng bằng caragenin, và gây u hạt thực nghiệm bằng amian cho thấy lão quan thảo di thực có tác dụng ức chế rõ rệt giai đoạn viêm cấp tính cũng như viêm mạn tính.

- Cao lỏng lão quan thảo chiết bằng cồn 80° có tác dụng giảm đau, giảm co thắt cơ trơn trên hồi tràng chuột lang cô lập, hạn chế sự phát triển tế bào *Sarcoma 180* trong ổ bụng chuột thí nghiệm.

Cao chiết cồn của loài *Geranium nepalense var. thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo không những có tác dụng kháng khuẩn, chống viêm mà còn có tác dụng giảm đau, giảm cơn co thắt cơ trơn trên ruột chuột lang cô lập. Điều này hết sức quan trọng vì các tác dụng này phối hợp và hỗ trợ cho nhau trong việc điều trị các bệnh đường ruột, dạ dày, các bệnh tiêu chảy do nhiễm khuẩn hoặc do các nguyên nhân khác gây co thắt cơ trơn ruột dẫn tới các cơn quặn đau trong hệ tiêu hoá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Cộng hoà nhân dân Trung Hoa, I, 1990.

2. *Lưu Thọ Sơn, 1965.*
Trung dược nghiên cứu văn hiến trích yếu.

3. Trung dược chí, Viện Y học Trung Quốc, NXB Vệ sinh nhân dân.

4. Publication and information directorate, CSIR, (1956), *The Wealth of India,* IV.

5. *Kirtika, K.R., B.D. Basu., 1933.*
Indian Medicinal Plant, I.

6. *British herbal medicine Association, 1983.*
British herbal Pharmacopoeia.

7. *Nguyễn Chiều, Nguyễn Thượng Dong, 1995.*
"Những cây thuốc thuộc chi Geranium trong họ Geraniaceae ở Việt Nam", Tạp chí dược học (7+8), 48 - 49.

8. *Đỗ Trung Đàm, 1996.*
Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, NXB Y học - Hà Nội.

9. *Winter, C.A. et al., 1961.*
Proc. Soc. Exp. Biol., 111, 544.

10. *Ducrot - Julou, L. et al., 1963.*
Ann. Pharm. Fr., 21, 703 - 717.

11. *Koster, R., M. Anderson, E. J. de Beer, 1959.*
"Acid acetic for analgesic screening", Fed. Proc. 18, 412.

12. *Turner, R.A., 1965.*
Screening methods in pharmacology, Academic Press, New York and London, 114.

13. *Perry, W. L. M., 1968.* (Magnus, 1904).
"Experiments with guinea - pig ileum", Pharmacological experiments on isolated preparations, Living Stone Press, Edinburgh and London.

14. *Nowak, K., M. J. Peckham, G. G. Steel, 1978.*
"Variation in response of xenografts of Colo - rectal carcinoma to chemotherapy". Brit. J. Cancer 37, 576 - 580.

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP VÀ CHỌN LỌC CÂY LÃO QUAN THẢO (*Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo)

Phạm Văn Ý, Nguyễn Bá Hoạt,
Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Văn Mai, Nguyễn Thị Dung

SUMMARY

Collection and selection on *Geranium nepalense* Kudo.

Geranium nepalense Kudo was collected from Sa Pa and Paco - Mai Châu and planted at the research center of medicinal plants Thanh Tri - Ha Noi and Sa Pa station of medicinal plants in 2000 season, the result showed that:

There were some varieties in population of Geranium nepalense Kudo, which are being produced. The population of Geranium nepalense Kudo was separated into three different varieties such as: short day, middle day, and long day. Middle day variety may be better than two other varieties in both of climatic regions (Sapa - Lao Cai and Thanh Tri - Hanoi).

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lão quan thảo được nhập nội từ Nhật Bản vào Sa Pa - Lào Cai tháng 1/1990. Qua nghiên cứu di thực đã được đưa vào sản xuất dược liệu gần 10 năm nay. Nhưng việc nghiên cứu chọn giống chưa được đặt ra. Trong sản xuất thường chỉ nhân giống vô tính ở những gốc cây đã thu hoạch dược liệu, hoặc lấy hạt giống ở những ruộng gieo trồng muộn không có khả năng thu hoạch dược liệu,hoặc hạt giống thu được trong lò xấy dược liệu, do đó ảnh hưởng đến chất lượng hạt giống như tỉ lệ mọc mầm thấp, cây sinh trưởng không đồng đều làm ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng dược liệu. Sau 10 năm sản xuất tình trạng giống bị phân ly rõ rệt.

Để đáp ứng nhu cầu sản xuất ổn định, và ngày càng mở rộng về diện tích và sản lượng, việc nghiên cứu chọn giống phù hợp với diều kiện sinh thái và tập quán canh tác của từng vùng,nhằm nâng cao năng suất và chất lương sản phẩm là cần thiết.Trong năm qua, chúng tôi đã tiến hành đề tài: " Nghiên cứu phân lập và chọn lọc giống cây lão quán thảo "

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Những mầm gốc vô tính thu được từ những ruộng sản suất ở Sa Pa - Lào Cai và Pà Cò - Mai Châu - Hoà Bình.

- Hạt giống do trạm nghiên cứu cây thuốc Sa Pa cung cấp.

2. Phương pháp

Các thí nghiệm được tiến hành ở trạm nghiên cứu cây thuốc Sa Pa và Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội, mỗi điểm 200 m^2. Trồng, chăm sóc, theo dõi và đánh giá các chỉ tiêu:

+ Đặc điểm thực vật.

+ Chiều cao cây.

+ Khối lượng cây.

+ Khả năng ra hoa kết quả.

+ Thời gian sinh trưởng.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Qua nghiên cứu và theo dõi chúng tôi nhận thấy: Giống lão quan thảo hiện đang được trồng trong sản xuất không đồng nhất về kiểu hình và thời gian sinh trưởng. Sự không đồng đều của một giống đã làm ảnh hưởng rất lớn đến năng suất và chất lượng sản phẩm, ở đây thể hiện rất rõ sự phân ly về thời gian sinh trưởng và chiều cao cây. Chúng tôi đã sơ bộ phân lập được 3 mẫu giống có thời gian sinh trưởng khác nhau và tạm gọi tên các mẫu giống là:

1) Giống ngắn ngày, có thời gian sinh trưởng từ khi mọc mầm đến ra ngồng, hoa khoảng 2 tháng.Giống này số mầm gốc ít (khoảng 2 - 3), thân mảnh, màu tím, lóng dài, ít lông, lá xanh có vết loang, thuộc loại cây vừa sinh trưởng vừa phát triển (vừa ra ngồng, vừa ra hoa), hoa nhỏ, quả nhỏ, hạt hơi dài.

2) Giống trung bình, có thời gian sinh trưởng từ mọc mầm đến ra ngồng, hoa khoảng 3 - 4 tháng, giống này có số mầm gốc nhiều (6 - 9) to khoẻ, thân cây trưởng thành ít lông, thời kỳ cây con khía lá có vết tím nhỏ mờ, cây sinh trưởng nhanh, mạnh, cây có kiểu hình trung gian giữa (1) và (3).

3) Giống dài ngày, có thời gian sinh trưởng từ khi mọc mầm đến khi ra hoa khoảng 6 - 7 tháng. Giống này sinh trưởng chậm, thời kỳ cây con khía lá có chấm tím tròn to, đậm hơn giống số (2), thân lá có màu xanh nhiều lông tơ hơn 2 mẫu giống số (1) và (2), cây ra rất nhiều mầm gốc (trên 9 mầm),hoa, quả, hạt lớn hơn mẫu giống số (1)

Nghiên cứu đặc điểm nông học của các mẫu giống ở Sa Pa - Lào cai và Thanh Trì - Hà Nội, chúng tôi nhận thấy: Mẫu giống số (2) tỏ ra có ưu thế hơn về sinh trưởng và năng suất (xem bảng) ở cả 2 vùng khí hậu. Tuy nhiên việc nhân giống hữu tính gặp rất nhiều khó khăn do đặc điểm cây là ra hoa nhưng đậu quả ít, mỗi cây chỉ đậu được từ 3 - 5 quả, mỗi quả chỉ có 1 hạt. Trong khi đó mẫu giống số (1) và số (3) đậu quả rất cao (trên 90%), mỗi quả có từ 3 - 4 hạt.

Theo chúng tôi mẫu giống số 2 là giống có triển vọng cần được nghiên cứu kỹ hơn về 2 hình thức nhân giống vô tính và hữu tinh để nhân nhanh mẫu giống này.

Đặc điểm nông học của một số mẫu giống đã phân lập được trong năm 2000

Giống	*Thanh Trì - Hà Nội*		*Sapa - Lào cai*		*Hàm lượng chất tan trong cồn 80° (%)*
	Cao cây (cm)	*Khối lượng khô (g/ cây)*	*Cao cây (cm)*	*Khối lượng khô (g/ cây)*	
1. Ngắn ngày	58,6 ± 5,6	26,5 ± 4,5	-	-	25,60
2. Trung bình	60,7 ± 7,8	37,1 ± 5,2	84,8 ± 9,4	55,3 ± 6,1	37,20
3. Dài ngày	43,6 ± 4,3	31,5 ± 4,1	72,2 ± 4,5	41,1 ± 5,2	34,45

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Giống lão quan thảo đang sản xuất hiện nay có sự lẫn tạp về kiểu hình,làm ảnh hưởng đến năng xuất và chất lượng sản phẩm.

Trong 3 mẫu giống đã được phân lập thì mẫu giống số 2 là mẫu giống có triển vọng cho năng suất cao ở cả hai vùng khí hậu miền núi và đồng bằng, hàm lượng hoạt chất tan trong cồn cao nhất thể hiện chất lượng dược liệu tốt hơn.

• *Đề nghị,* cần được tiếp tục nghiên cứu chọn lọc, đánh giá so sánh về năng suất và chất lượng sản phẩm của các mẫu giống trên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Allard R., 1996.*

Principles of plant breeding. John wiley & sons. Inc.

2. *Guliaev G.V., Gujop L.V., 1978.*

Chọn giống và công tác giống cây trồng. NXB Nông nghiệp.

3. *Klein R.M., Klein D.T., 1979.*

Phương pháp nghiên cứu thực vật. NXB Khoa học & Kỹ thuật.

NGHIÊN CỨU TRỒNG VÀ CHẾ BIẾN LÃO QUAN THẢO *Geranium nepalense* var. *thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Kudo

Nguyễn Bá Hoạt, Đinh Văn My,
Nguyễn Văn Mai, Phạm Văn Ý, Đàm Nhận và cộng sự

SUMMARY

Geranium nepalense var. thunbergii is used popularly in Japan. It has been acclimatized to VN since 1990. Sa Pa - Laocai provinces have been chosen to grow this plant in order to study the technical process of growing and processing this plant.

Result of research indicated that Geranium nepalense var. thunbergii has best indications if

1/ It is grown up in Sa Pa (better than other places such as Moc chau, Son la, Thanh tri□) in December.

2/ Sow the sprout with suitable density 250.000 plants per hectare (distance 20.20 centimetres)

3/ Providing fertilizer for it 200 kiligrams N per hectare (equal 450 kilograms CO $(NH_2)_2$ per hectare).

Growing up this plant in the mountain areas gives quite positive results. However, Viet nam is facing many difficulties, so as we are trying to find out new technology to process this plant , which is perhaps suitable for the current conditions in the mountain areas. For example, this plant is dried by the heat of firing coals.

*

* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lão quan thảo là cây thuốc được sử dụng phổ biến ở Nhật Bản dưới nhiều dạng bào chế, trong đó trà lão quan thảo được dùng rộng rãi. Một số Công ty Dược Nhật Bản cấp giống và đề nghị Viện Dược liệu sản xuất cung ứng nguyên liệu lâu dài.

Để đáp ứng nhu cầu sản xuất lão quan thảo, chúng tôi đã chọn Sa Pa - Lào Ca làm điểm nghiên cứu trồng và chế biến.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu là hạt giống lão quan thảo nhập từ Nhật Bản.

Phương pháp nghiên cứu áp dụng "Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng" của Phạm Chí Thành xuất bản 1976. Số liệu được xử lý thống kê trên máy tính.

III. KẾT QUẢ

1. Đánh giá nhập nội giống lão quan thảo tại Sa Pa từ năm 1990 đến 1993

Cho kết luận: Thời vụ gieo hạt tháng 9 - 10. Thời vụ trồng tháng 11 - 12. Thời gian từ gieo hạt đến ra hoa 200 ± 15 ngày. Thời gian từ gieo hạt đến thu hạt. 310 ± 25 ngày. Năng suất hạt 113,4 ± 35,6kg/ha. Khối lượng 1000 hạt 1,4 ± 0,3gr. Tỷ lệ nảy mầm của hạt 78,5 ± 8%. Thời gian từ gieo hạt đến thu hạt, đến thu dược liệu 240 ± 15 ngày. Chiều cao cây khi thu hoạch 80,5 ± 25cm. Khối lượng khóm 42,85 ± 25 gr. Năng suất dược liệu 2700 ± 5,80kg/ha. Như vậy, lão quan thảo trồng ở Việt Nam sinh trưởng phát triển và năng suất giảm như nguyên sản.

2. So sánh năng suất lão quan thảo ở 3 vùng sinh thái khác nhau

Bảng 1. **Năng suất lão quan thảo trên 3 vùng trồng**

Vùng trồng	*Chiều dài cây (cm)*	*Khối lượng dược liệu trên khóm (gr)*	*Năng suất dược liệu khô (kg/ha)*
Sa Pa (Lao Cai)	85,3	42,5	2690
Mộc Châu (Sơn La)	72,5	30,7	1908
Thanh Trì (Hà Nội)	46,7	21,8	1660
			LSD_{50} = 24,96kg/ha

Bảng 1 cho thấy Sa Pa là vùng khí hậu phù hợp trồng lão quan thảo. Sa Pa là vùng sâu, vùng cao, vùng biên giới đang cần bổ sung cây trồng vật nuôi tham gia phát triển kinh tế tạo nguồn thu, góp phần thay thế cây thuốc phiện cho đồng bào địa phương.

Để xây dựng qui trình kĩ thuật trồng cần xác định rõ thời vụ và mật độ phù hợp: Kết quả nghiên cứu được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 2. **Ảnh hưởng thời vụ và mật độ đến năng suất lão quan thảo**

Công thức		*Tỷ lệ chết*	*Chiều dài cây*	*Năng suất dược liệu*
Thời vụ (tháng)	*Mật độ trồng (khoảng cách cm)*	*%*	*cm*	*kg/ha*
12	25 vạn cây/ha (20 x 20)	17,2	88,0	2020
	11 vạn cây/ha (30 x 30)	17,5	85,2	1984
	6,3 vạn/ha (40 x 40)	17,8	82,8	1904
				$LSD_{0,05}$ 23,8kg/ha
1	25 vạn cây/ha (20 x 20)	20,2	81,3	1865
	11 vạn cây/ha (30 x 30)	22,0	80,0	1785
	6,3 vạn/ha (40 x 40	21,5	78,0	1666
				$LSD_{0,05}$ 38,9kg/hu
2	25 vạn cây/ha (20 x 20)	28,3	75,0	1706
	11 vạn cây/ha (30 x 30)	24,2	72,0	1626
	6,3 vạn/ha (40 x 40	30,3	70	1587
				$LSD_{0,05}$ 8,73kg/ha

Thời vụ trồng thích hợp là tháng 12, mật độ thích hợp là 25 vạn cây/ha tức khoảng cách cây trồng 20 x 20cm.

3. Ảnh hưởng của phân đạm đến năng suất lão quan thảo

Bảng 3. **Ảnh hưởng của phân đạm đến năng suất lão quan thảo**

Công thức	*Lượng N (kg/ha)*	*Quy ra lượng urê (kg/ha)*	*Số thân/1 khóm*	*Chiều dài thân (cm)*	*Năng suất khô (kg/ha)*	*Hiệu quả (kgDL/kg)*
CT1	0	0	6,2	64,2	2095	0
CT2	150	326	9,8	80,6	2395	2,0
CT3	200	435	12,7	92,3	2895	4,0
CT4	250	545	15,4	116,3	3001	3,6
CT5	300	650	17,3	128,4	3109	3,4
					$LSD_{0,05}$ = 36kg/ha	

Bảng trên cho thấy bón đạm cho lão quan thảo chỉ cần ở mức 200kg/N/ha t 435 kg/ha đạm urê cho hiệu quả kinh tế cao nhất.

4. Tiêu chuẩn thương phẩm dược liệu lão quan thảo

Để có sản phẩm lão quan thảo đạt tiêu chuẩn thương phẩm, chúng tôi đã xá định các chỉ số kỹ thuật sấy bằng tủ sấy Trung Quốc; sấy ở nhiệt độ 60 - 70°C tron 8 giờ, sấy ở nhiệt độ 50°C trong 4 giờ, sấy ở 40°C trong 3 giờ cho dược liệu khô mà xanh, hàm ẩm không quá 10%, hiệu số sấy dược liệu khô đạt 15 - 17%. Nghiên cứ xây dựng lò sấy đốt than hoặc củi, cấu tạo và vận hành đơn giản nhằm triển kha ngay tại vùng trồng dược liệu: Giàn sấy giá treo dược liệu, hệ thống bầu lọ và ống dẫn nhiệt bằng tôn. Đốt không tải sau 1 giờ nhiệt độ lò đạt 70°C. Đã đưa vào sử dụng loại lò sấy công suất 1000kg khô/mẻ, khối lượng 150kg dược liệu khô/mẻ Lượng than tiêu hao 200kg/mẻ. thời gian sấy từ 15 đến 20 giờ /mẻ. Dược liệu sau sấy cắt ngắn bằng dao cầu đạp chân công suất 200kg dược liệu khô/ca 8 giờ với 2 người thao tác, dược liệu cắt ngắn 1,5 đến 3cm. Để ép dược liệu đã sử dụng bàn ép nén Vitme có 4 cánh mở để dán ni lông và khâu bao gai trước khi mở bàn ép, nén thể tích giảm từ 6 xuống 1, kích thước khối dược liệu 2000 x 600 x 800 mm với 2 lớp bao bì và 4 đai nẹp đảm bảo hàng đúng kích thước mẫu mã thương phẩm tham gia xuất khẩu.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu khẳng định khí hậu và đất đai Sa Pa thích hợp cho sinh trưởng, phát triển của lão quan thảo. Các số liệu thu được qua thí nghiệm đã cho phép xây dựng quy trình kỹ thuật trồng, chế biến lão quan thảo tham gia sản xuất hàng hóa. Trên thực tế Sa Pa đã là một điểm sản xuất lão quan thảo xuất khẩu với năng suất 20 đến 30 tấn hàng năm. Quy trình kỹ thuật và công nghệ chế biến đã được các hộ nông dân áp dụng vào sản xuất từ 1994 đến nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Ban huấn luyện đào tạo cán bộ dược liệu Trung Quốc, 1979.*
Kỹ thuật trồng và chế biến dược liệu. Nguyễn Văn Lan, Đỗ Tất Lợi; Nguyễn Văn Thạnh dịch. NXB Nông nghiệp.

2. *Võ Văn Chi, 1997.*
Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB Y học.

3. *Lê Trần Đức, 1997.*

Dược liệu Việt Nam trồng, hái, chế biến và trị bệnh ban đầu; NXB Nông nghiệp Hà Nội.

4. *Nguyễn Văn Lan, 1970.*

Kỹ thuật trồng cây dược liệu tập I, NXB Nông thôn.

5. *Phạm Chí Thành, 1976.*

Phương pháp thí nghiệp đồng ruộng NXB Nông nghiệp 1976.

6. *Viện Dược liệu, 1976.*

Kỹ thuật trồng cây thuốc. NXB Y học.

THÀNH PHẦN LOÀI TRONG HỌ NẤM LINH CHI (Ganodermataceae) Ở VIỆT NAM

Đàm Nhận, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Bá, Trịnh Tam Kiệt

SUMMARY

Of 37 species and 1 variety listed belonging to 3 genera of the family Ganodermataceae, 13 taxa have been found in Vietnam for the first time and described in detail by the author. The taxa include 01 genus: Humphreya; 11 species: Ganoderrma annuale, Ganoderrma guianense, Ganoderrma hainanense, Ganoderrma koningsbergii, Ganoderrma sichuanense, Ganoderrma tsugae, Amauroderma fasciculatum, Amauroderma juxtarugosum, Amauroderma salebrosum, Humphreya coffeatum, Humphreya sp.; and 01 variety: Ganoderrma applanatum var. gibbosum.

*
* *

I. MỞ ĐẦU

Lịch sử nghiên cứu nấm linh chi đã trải qua hơn 200 năm với nhiều biến đổi và dần dần hoàn thiện. W., Curtis (1871) lần đầu tiên phát hiện và đặt tên cho nấm linh chi. 100 năm sau, Karsten (1881) mới xác lập chi *Ganoderma* và những nghiên cứu về hệ thống học, phân loại học nhóm nấm này mới thực sự phát triển. Hiện nay các nhà khoa học trên thế giới đã phát hiện gần 300 loài thuộc họ Ganodermataceae (1, 2).

Ở Việt Nam, việc nghiên cứu phân loại nấm linh chi cũng khá sớm. Đầu tiên phải kể đến những nhà khoa học Pháp như Patouillard (1913, 1928), Heim (1928), Petelot (1952 - 1954)...mặc dù công trình của họ chỉ dừng lại ở mức độ thăm dò, phát hiện ở một số địa phương (10, 13, 14, 15). Từ ngày hoà bình lập lại (1954) các công trình nghiên cứu phân loại nấm linh chi mới có điều kiện phát triển. Nhiều

nhà khoa học đã quan tâm nghiên cứu nhưng cho đến nay cũng chưa có công trình phân loại đầy đủ về họ nấm này trong phạm vi cả nước (3, 18, 19, 20). Hi vọng công trình này đóng góp một phần cho phân loại họ Ganodermataceae ở Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng

Các loài nấm thuộc họ linh chi được thu hái trong cả nước, gồm 782 mẫu, mang 360 số hiệu đang được bảo quản tại Phòng tiêu bản, Viện Dược Liệu (IMM); một số được lưu giữ tại Trung tâm nghiên cứu nấm thuộc đại học Quốc Gia Hà Nội (CUM) và Viện nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt (INRD).

2. Phương pháp

Sử dụng phương pháp phân loại hình thái. Đặc biệt quan tâm đến các đặc điểm, cấu trúc hiển vi.

Quan sát và chụp ảnh các cấu trúc hiển vi bằng kính hiển vi Olympus của Nhật Bản với độ phóng đại từ 200 đến 1000 lần. Quan sát màng bào tử, soi chụp trên kính hiển vi điện tử JEM - T8, độ phóng đại từ 10.000 đến 100.000 lần.

Tham khảo các phương pháp và tra cứu khoá định loại của các tác giả kinh điển: Patouillard (1889 - 1928); Murill (1902, 1905, 1907); Fries E., (1821); Lloyd. (1912, 1915, 1925); Donk (1933, 1948); Overholts (1953); Pavlich (1953), Bondazev (1953), Teng (1964), Aoshma K., (1953, 1971), Kreisel (1975). Kết hợp với khoá định loại của các tác giả trong những năm gần đây như Ryvarden & Johansen (1980), Steyaert (1972 - 1981), He (1994), Zhao (1989 - 1994) và một số tài liệu phân loại khác (1, 17, 21).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Qua điều tra khảo sát và định loại, chúng tôi đã xác định được 37 loài và 01 thứ thuộc họ nấm linh chi ở Việt Nam trong đó: chi *Ganoderma* 26 loài 1 thứ, chiếm 71%; chi *Amauroderma* 9 loài chiếm 23,7 %; chi *Humphreya* 2 loài chiếm 5,3% tổng số loài. Bổ sung cho khu hệ nấm Việt Nam 1 chi mới là *Humphreya* Stey. và 14 loài, 1 thứ mới trong đó: *Ganoderma* 9 loài 1thứ, chi *Amauroderma* 3 loài, chi *Humphreya* 2 loài.

Các tác giả Patouillard (1889, 1900)(13, 14), Petelot (1910, 1952, 1954) (15), Heim và Malencon (1928) (10), đã phát hiện ở Việt Nam có 2 chi *Amauroderma* và

Ganoderma với số lượng loài không nhiều (12loài), 2 chi *Humphreya* và *Haddowia* chưa được biết đến. Những nghiên cứu của Trịnh Tam Kiệt (1975, 1981)[18] về nấm lớn ở Bắc Việt Nam cũng mới đưa ra được 4 loài *Ganoderma* và *Amauroderma*. Năm 1983, Trần Văn Mão trong khi nghiên cứu khu hệ nấm phá gỗ vùng Thanh Nghệ Tĩnh đã mô tả 19 loài *Ganoderma* và 2 loài *Amauroderma*, trong đó có 6 loài *Ganoderma* chưa được xác định tên khoa học.

Năm 1995, dựa vào khoá phân loại của các tác giả Steyaert (1972, 1977), Ryvarden và Johansen (1980), Zhao (1989 - 1994), He (1994) chúng tôi đã phát hiện chi *Humphreya* có ở Tam Đảo (Vĩnh Phúc), Đà Lạt (Lâm Đồng), đánh dấu một bước mới trong hệ thống phân loại nấm linh chi ở Việt Nam. Tại Đà Lạt, trên độ cao 1400 m so với mặt biển, vĩ độ thấp (dưới 12^0) chúng tôi tìm thấy một loài linh chi có cuống rất ngắn, thể quả có lớp vỏ bóng láng. Đặc biệt, màng bào tử đảm có cấu trúc khác hẳn với màng bào tử đảm của hai chi *Ganoderma* và *Amauroderma*. Đó là cấu trúc ô lưới đa giác rõ rệt. Kích thước của bào tử đảm là 9 - 13 x 14 - 19 µm. Những đặc điểm này không giống các loài linh chi đã được mô tả ở Việt Nam và cũng không đồng nhất với các loài *Humphreya* được mô tả từ mẫu type, holotype của Steyaert (1972) hay các bản mô tả của Ryvarden và Johansen (1980) và các tác giả khác. Cấu trúc lưới màng bào tử của loài này cũng chưa hoàn toàn điển hình. Các gờ nối tạo ra các ô lưới đa giác nhiều đoạn còn đứt quãng. Có thể đây là một loài *Humphreya* mới đối với Việt Nam và thế giới.

Ở Tam Đảo (Vĩnh Phúc) với độ cao 400 m so với mặt biển, toạ độ địa lí $21^0$21' vĩ bắc $105^0$24' kinh tuyến đông, chúng tôi cũng phát hiện một loài Humphreya khác có mật độ ống của bào tầng từ 2 - 4 ống/mm; kích thước bào tử đảm nhỏ hơn loài mô tả ở trên: 7,89 x 11,9 µm, đối chiếu với các loài đã biết của các tác giả Steyaert (1972, 1977), Ryvarden và Johansen (1980), Zhao (1989 - 1994), He (1994) chúng tôi xác định là *Humphreya coffeatum*, nâng số loài *Humphreya* gặp ở Việt Nam lên 2 loài.

Hiện nay, chúng tôi chưa gặp các đại diện của chi *Haddowia* ở Việt Nam.

Chi *Amauroderma* được các tác giả phát hiện và mô tả ở Việt Nam khá sớm. Nhưng số loài còn rất ít. Năm 1995, ở phía Nam, Lê Xuân Thám và cộng sự đã phát hiện *Amauroderma macer, A. elmerianum* ở Lâm Đồng. Số loài mà chúng tôi đưa ra cùng với số loài mà các tác giả Trịnh Tam Kiệt, 1981 (*A. bataanense*), Trần Văn Mão, 1983 (*A. rugosum, Amauroderma elmerianum*) nâng tổng số loài *Amauroderma* ở Việt Nam lên 9 loài.

Việt Nam ở vào vị trí mà các nước xung quanh có số chi và số loài họ linh chi rất phong phú. Theo các tài liệu nước ngoài, Trung Quốc có xấp xỉ 90 loài, riêng

tỉnh Quý Châu có 37 loài, Nhật Bản 20 loài, Malaysia 50 loài (9, 21). Từ kết quả nghiên cứu kể trên, so sánh với kết quả của các tác giả trên thế giới chúng tôi đi tới nhận định Việt Nam có số loài linh chi cao, chỉ đứng sau Trung Quốc (86 loài), Malaysia (50 loài) và châu Úc (50 loài) vượt xa số loài của châu Âu, châu Mỹ và vùng đông Phi (16, 17).

Như vậy ba chi *Ganoderma, Amauroderma* và *Humphreya* trong tổng số bốn chi của họ *Ganodermataceae* đã được ghi nhận ở Việt Nam.

IV. DANH LỤC CÁC LOÀI TRONG HỌ GANODERMATACEAE Ở VIỆT NAM

Chi *Ganoderma* Karsten

1. *Ganoderma amboinense* (Lam. & Fr.) Pat.; 2. **G. annulare* (Fr.) Gilbrn.; 3. *G. applanatum* (Pers.) Pat.; 3a. * *G. applanatum* Pat. var. *gibbosum* (Bl. & Nees.) Teng; 4. *G. australe* (Fr.) Pat.; 5. *G. batabacense* Murr.; 6. *G. boinense* Pat.; 7. *G. capense* (Lloyd.) Pat.; 8. *G. cochlear* (Bl. & Nees.) Bres.; 9. *G. fulvellum* Bres.; 10. **G. guinanense* Zhao et Zhang; 11. * *G. hainanense* Zhao, Xu et Zhang; 12. **G. koningsbergii* (Lloyd.) Teng; 13. *G. lobatum* (Schw.) Atk.; 14. *G. lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.; 15. *G. mastoporum* (Lev.) Pat.; 16. *G. ochrolaccatum* (Mont.) Pat.; 17. *G. oroflavum* (Lloyd.) Teng; 18. *G. philippii* (Bres et Heim.) Bres.; 19. *G. rivulosum* Pat. et Har.; 20. *G. sessile* Murr.; 21. **G. sichuanense* Zhao et Zhang; 22. *G. sinense* Zhao, Xu et Zhang; 23. *G. subtornatum* Murr.; 24. *G. tornatum* (Pers,) Pat.; 25. *G. tropicum* (Jungh.) Bres.; 26. **G. tsugae* Murr.

Chi *Amauroderma* Murrill:

27. *Amauroderma bataanense* Murr.; 28. *A. elmerianum* Murr.; 29. **A. fasicunatum* (Pat.) Torrend.; 30. **A. juxtarugosum* Lloyd.; 31. *A. macer* (Berk.) Pat.; 32. *A. niger* Lloyd.; 33. *A. rude* (Berk.) Pat.; 34. *A. rugosum* (Bl. & Nees.) Torrend.; 35. **A. salebrosum* Murr.

Chi ***Humphreya* Steyaert

36. **Humphreya coffeatum* (Berk.) Stey.; 37. **Humphreya* sp.

Ghi chú: ** Chi mới phát hiện ở Việt Nam, * Loài mới phát hiện ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Donk, M. A., 1948.

Ganodermataceae Donk. Bull. Bot. Gdns, Buitenz, III, 1948, p. 17 - 147.

2. *Đàm Nhận, Nguyễn Gia Chấn, Trịnh Tam Kiệt, 1994.*

Thông báo dược liệu, 25 (4), Hà Nội, tr. 100 - 102.

3. *Engler A., 1928.*

Die - Planzenfamilien. London.

4. *Fries, E., 1921.*

Systema Mycologicum. Vol. 1 Lond.

5. *Furtado J. S., 1965.*

Mycol. 57, p. 588 - 611.

6. *Furtado J. S..*

Memories of the New York Bot. Gard., 34, 1 - 1091;

7. *He S. C., 1995.*

Acta Mycol. Sin. 14, (1), 24 - 27.

8. *He S. C. & Wang Y. J., 1988.*

Acta Mycol. Sin. 7 (1), 7 - 12, 1988.

9. *He S. C. &Yu Hui - Fang, 1989.*

Acta Mycol. 8 (4), 282 - 288.

10. *Heim R. and G. Malenson, 1928.*

Ann. Crypt. Exot. 1, 58 - 74.

11. *Karsten P. A., 1889.*

Sympolaead mycologicam XXIX. Soc. Fauna Flora Fenn. Meddel. 16, 84 - 106.

12. *Patouillard N., 1889.*

Bull. Soc. Mycol. Fr. 5 (3), 64 - 80.

13. *Patouillard N., 1912.*

Bull. Soc. Mycol. Fr. 29 (2), 23.

14. *Patouillard N., 1928.*

Ann. Soc. Crypt. Exot. 1, 2 - 24.

15. *Pételot A.*

Les plantes médicinales du Cambodge, du Laos du Vietnam. Saigon,T1, II, III, IV, 1952 - 1954. 1346pp;

16. *Ryvarden L. & I. Johansen, 1980.*

A preliminary polypore flora of East Africa. Fungiflora - Oslo - Norway, p. 63 - 97;

17. *Steyaert R. L., 1972.*

Herbaria. Persoonia 7 (1), 55 - 118.

18. *Trịnh Tam Kiệt, 1981.*

Nấm lớn ở Việt Nam, tập 1. NXB KHKT, Hà Nội, 1981, tr. 137 - 144;

19. *Trịnh Tam Kiệt, Lê Xuân Thám, 1995.*

Những nghiên cứu về họ nấm linh chi *Ganodermataceae* Donk ở Việt Nam. Hội thảo quốc gia và khu vực nhân năm Louis Pasteur về vi sinh vật học & công nghệ sinh học, Hà Nội, tr. 535 - 539;

20. *Trần Văn Mão, 1983.*

Góp phần nghiên cứu thành phần loài và đặc điểm sinh học của một số loài nấm lớn phá hoại gỗ rừng Thanh Nghệ Tĩnh. Luận án PTS, Hà Nội.

21. *Zhao J D., 1989.*

The *Ganodermataceae* in China. J. Cramer: Berlin - Stuttgart, 176pp.

XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN DƯỢC LIỆU LINH CHI Ở VIỆN DƯỢC LIỆU

Đàm Nhận, Nguyễn Gia Chấn,
Nguyễn Kim Bích, Nguyễn Thị Dung

SUMMARY

Lingzhi is a valuable fungus, now a days, it's effectively used in the treatment of many kinds of diseases including cancers and tumours.

In Viet Nam, these raw materials with varieties in form are supplied from different sources in market, inside and outside our country.

Therefore, it's necessary to have a standardisation for the fungus to evaluate its quality and avoid mistakes in purchashing and using them in market. The specifications for the quality control were set up. The botanic characteristics of Lingzhi and its specific components, such as: tritecpenoids, compounds with reducing properties, aminoacids are identified by morphologie, anatomical and T.L.C methods.

*
* *

I. MỞ ĐẦU

Nấm linh chi [*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karsten] là một loài nấm dược liệu quý (1). Hiện nay, nhu cầu sử dụng nấm linh chi làm thuốc chữa bệnh ở trong nước cũng như xuất khẩu ngày càng tăng. Nhiều cơ sở đã tiến hành nghiên cứu nuôi trồng, chế biến và thăm dò các hoạt chất hoá học có trong linh chi. Người ta đã phát hiện thành phần hoá học của nấm linh chi rất phong phú bao gồm các nhóm: acid béo, steroid, alcaloid, protein, polysaccarid...Trong đó các thành phần có tác dụng dược lí quý báu, đặc trưng cho nấm linh chi phần lớn thuộc nhóm triterpenoid (1, 5, 6, 7, 8, 9) Các nghiên cứu về hệ thống học thực vật cũng được nhiều tác giả quan tâm (2, 3, 4). Các sản phẩm linh chi nuôi trồng và thu hái từ nguồn linh chi tự nhiên được thu mua và sử dụng rộng rãi. Hiện chưa có một tiêu

chuẩn thống nhất nên chất lượng dược liệu không ổn định, thậm chí còn có nhầm lẫn, sai lệch cả về họ thực vật vẫn được bày bán trên thị trường. Để góp phần quản lí chất lượng, chống nhầm lẫn và an toàn khi sử dụng nấm linh chi, cần có một tiêu chuẩn dược liệu linh chi thống nhất đáp ứng nhu cầu thu mua, sử dụng.

Thực hiện đề tài " nghiên cứu và sử dụng nấm linh chi " do Bộ Y tế chủ quản (1992 - 1995), nhóm cán bộ nghiên cứu Viện Dược Liệu đã thành công trong việc xây dựng quy trình nuôi cấy nấm linh chi công nghiệp, khảo sát các nhóm hoạt chất quý của nấm nuôi trồng cũng như nấm thu hái ngoài thiên nhiên, so sánh hàm lượng hoạt chất giữa các loài trong họ nấm linh chi làm cơ sở cho việc xây dựng tiêu chuẩn dược liệu linh chi.

Trong phạm vi nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn này, chúng tôi xây dựng các chỉ tiêu định tính dựa vào sự phát hiện các thành phần triterpenoid và chất khử trong dược liệu.

II. NỘI DUNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ DƯỢC LIỆU LINH CHI

1. Định nghĩa

Dược liệu là toàn bộ thể quả nấm Lingzhi [*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karsten] gồm cả tán và cuống nấm để nguyên hoặc cắt lát đã phơi hoặc sấy khô.

2. Mô tả

Mũ nấm hình thận, hình quạt hoặc gần tròn. Đường kính mũ từ 4 - 12 cm đôi khi tới 18 - 20cm, mép quăn vào trong. Mặt trên mũ có nhiều vòng đồng tâm hơi lồi lõm, màu vàng nhạt ở nấm non, màu cánh gián sau chuyển sang màu nâu đen ở nấm già.

Mặt dưới mũ phẳng, nhìn bằng mắt thường có thể thấy nhiều lỗ tròn như tổ ong, khi non màu trắng ngà, sau chuyển sang màu vàng nhạt ở nấm già.

Mô nấm chất bần hoặc hoá gỗ cứng. Bổ dọc mũ nấm thấy lớp vỏ mỏng bóng ở trên sau đến lớp thịt màu vàng nhạt, tiếp theo là lớp ống (lớp sinh sản) màu nâu do nhiều ống nhỏ xếp sít nhau tạo thành. Nếm có vị nhạt, hơi đắng, không mùi.

Cuống nấm tròn, đặc, có màu nâu đỏ, đường kính 1 - 3cm, ở nấm già có màu đen bóng. Độ dài cuống thường gấp từ 1 - 3 lần đường kính mũ. Cuống đính lệch một bên, đôi khi phân nhánh, không thấy nấm không cuống.

1) Vi phẫu

Cắt ngang lớp ống thấy các ống sinh sản hình tròn, xếp như tổ ong màu nâu. Đường kính ống từ 300 - 500 μm.

Lớp vỏ dày 30 - 200 μ m

Mô nấm gồm nhiều sợi nhỏ, đó là các tế bào sợi màu vàng sáng, không có vách ngăn ngang có thành dày tạo nên. Đường kính sợi từ 1,2 - 6 μ m.

Bào tử đảm (*Basidiospore*) màu vàng sáng hình trứng hoặc trứng cụt, có màng hai lớp, màng ngoài nhẵn không màu, màng trong thẫm màu có nhiều gai nhọn chống sát ra màng ngoài. Kích thước bào tử 5,4 - 6,5 x 9 - 9,3 μm

2) Soi bột

Có thể phát hiện thấy các mảnh tế bào sợi nấm không vách ngăn ngang, hoặc các mảnh ống xếp sít nhau như bó đũa, gõ nhẹ vào lam kính có thể quan sát thấy mặt cắt ngang ống như hình tổ ong. Đôi khi quan sát thấy bào tử đảm hình trứng màu vàng sáng.

3. Thử tinh khiết

- Độ ẩm: Không quá 12%.

- Tạp chất: Dược liệu không được mốc, mọt, không lẫn các nấm khác hoặc đất cát.

- Nấm khô phải chuyển sang màu thẫm trong môi trường có KOH.

4. Định tính: phương pháp sắc kí lớp mỏng (SKLM)

1) Hoá chất, thuốc thử

- Toluen

- Ethylacetat

- Aceton

- Acid formic

- Methanol

- Thuốc thử: Vanilin acid phosphoric.Hỗn hợp dung dịch gồm: 1 phần dung dịch acid phosphoric 25%, 4 phần dung dịch vanilin 2% trong cồn.

- Thuốc thử: Tetrazolium blue. Hỗn hợp dung dịch gồm:

1 phần dung dịch tetrazolium 0,2% trong methanol, 3 phần dung dịch natri hydroxyd 12%. Hỗn hợp chỉ pha trước khi dùng.

2) Triterpenoid

- Dung dịch đối chiếu:

+ Acid oleanolic 1% trong ethylacetat, lượng chấm 5 μl trên bản mỏng.

+ Mẫu thử.

+ Mẫu đối chiếu.

- Dung dịch chiết dược liệu linh chi: 1 gam dược liệu đã cắt nhỏ được chiết bằng 10 ml methanol x 3lần trên cách thủy, mỗi lần 15 phút. Gạn, lọc gộp các dịch chiết methanol, cô dịch chiết trên cách thủy đến cạn, hoà cắn thu được trong 2ml nước cất và lắc với 5ml ethylacetat, làm như vậy 2lần. Gạn lấy phần dịch chiết ethylacetat làm khan nước bằng natrisulphat khan, cô trên cách thủy đến cạn, hoà cắn thu được trong 1ml ethylacetat. Dung dịch này được chấm trên bản mỏng với lượng 10 µl.

- Hệ dung môi: Toluen: ethylacetat: aceton: acid formic

15 : 2 : 2 : 1

- Thuốc thử: Vanilin acid phosphoric.

- Kết quả: Sắc ký đồ của mẫu thử sau khi phun thuốc thử và sấy ở 100°C (đến khi xuất hiện vết) phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị Rf so với dược liệu linh chi đối chiếu trong đó phải có vết màu tím có giá trị Rx: 1,05 - 1,10 so với acid oleanolic.

3) Chất khử

- Dung dịch chiết như ở phần định tính triterpenoid, lượng chấm 5 µl trên bản mỏng.

- Hệ dung môi: Toluen: ethylacetat: aceton: acid formic

7,5 : 2 : 2 : 1

- Thuốc thử: Tetrazolium blue.

- Kết quả:

Sắc kí đồ định tính chất khử sau khi phun thuốc thử, quan sát dưới ánh sáng thường phải cho hai vết chính màu xanh tím và có giá trị:

Rf (1) = 0,250 - 0,300

Rf (2) = 0,320 - 0,380

5. Chế biến

Nấm sau khi thu hái, cắt bỏ phần gốc, nơi bám vào giá thể, loại bỏ những tán nấm dị dạng hoặc nhiễm bẩn.

Để nguyên thể quả hoặc thái lát mỏng phơi khô, nếu sấy giữ nhiệt độ từ 40 - 60°C đến khô, không sấy ở nhiệt độ > 60°C để tránh biến tính dược liệu.

6. Bảo quản

Để nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trung thảo dược học, Đại học Dược Nam Kinh, 1976. tr.14 - 15.

2. *Đỗ Tất Lợi và những người khác, 1994.*
Nấm linh chi nuôi trồng và sử dụng. Nhà XBNN, tp. Hồ Chí Minh. 37tr.

3. *Đàm Nhận, 1996.*
Nghiên cứu thành phần loài và một số đặc điểm sinh học của họ nấm linh chi (*Ganodermataceae* Donk) ở Việt Nam. Luận án PTS, Hà Nội, 152tr.

4. *Dam Nhan et al., 1995.*
Caracteres morphologiques, annatomiques du champignon linh chi cultives a l'Institut de Matiere Medical. Rev.Pharm. 2, Hanoi, p.38 - 42.

5. *Gow C. Y. & Jun Y. W., 1996.*
Antioxydant and Radical Scavenging activities of extracts from Ganoderma tsugae. Taipei Inter. Con. Centre, Aug. 14 - 15, p.4 - 5.

6. *He Y. et al., 1992.*
Chemical studies on immunologically active polysaccharides of Ganoderma lucidum (Leyss. ex Fr.) Karst. Chung Kuo Chung Yao Chin. 17 (4), p. 226 - 228.

7. *Hirotani M., Furuya T. & Shiro M., 1985.*
A ganoderic derivative, a highly oxygennated lanostane - type triterpenoid from Ganoderma lucidum. Phitochem. 24, p. 2055 - 2061.

8. *Kishida E., Okuda R., Son Y. & Misaki A., 1988.*
Fractionation structures and antitumor activities of polysaccharides of Reishi, the fungi body of Ganoderma lucidum. Osake - Shiritsu Daigaku Seikatsukagakubu Liyo 35, p. 1 - 10.

9. *Lin L., Shiao M.,* 1988.
Triterpens from Ganoderma lucidum. Phytochem. 27, p. 2269 - 2271.

THĂM DÒ KHẢ NĂNG ĐÀO THẢI PHÓNG XẠ CS - 134 BẰNG CAO NẤM LINH CHI Ở CHUỘT NHẮT TRẮNG

Nguyễn Gia Chấn,
Đàm Nhận, Lê Xuân Thám.

SUMMARY

In the accidents of nuclear reactors, e.g. Trernobyl explosion, the radioisotopes of Caesium (Cs - 137, Cs - 134) were distributed into the enviroment and hence dangerous for human health.

In this study, we have investigated the efficacy of the traditional medicament on the removal of Cs - 134 from mice (Mus musculus). The treatments per os with the concentrated extract from Lingzhi mushroom (Ganoderrma lucidum) 4,8 mg/mouse at 30 minutes and 6 hours after contamination with Cs - 134 at 15 μCi/ mouse (specific activity 1,5 μCi/ μgCs) continuously during 30 days, have proved that Lingzhi extract promoted the removal of Cs - 134 for 2,5 times higher, in comparing to control within first three days. Thanks that, the biological half - life (T1/2) has been reduced for about a haft (from 7 days in control to 4 days in Lingzhi treated mice). This result would be comparable to that of Prussian Blue - Indication in the cases of Cs - incorporation. However, Lingzhi used lately is still effective, even at 30 day after Cs - application and multiple nutishing.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong các vụ nổ hạt nhân, đồng vị phóng xạ Cs - 137 phát tán vào môi trường có mức độ nguy hiểm đứng vào hàng thứ 2 sau Sr phóng xạ. Do ít bị phân hủy bởi môi trường tự nhiên (thời gian bán rã sinh học là 30 năm), Cs phóng xạ tham gia vào chuỗi chuyển hoá trong hệ sinh thái, chúng xâm nhập vào thực phẩm và tới con người với sự phân bố khá đồng đều trong các tổ chức mô, cơ quan của cơ thể

(tích đọng trong mô mềm tới 52,2%) và bán thải sinh học khá dài từ 86 - 112 ngày chủ yếu qua đường tiểu.

Cho đến nay vẫn chưa tìm được các dược chất có khả năng tăng cường đào thải Cs phóng xạ cho người. Phức chất ferrokalicyannde (Prussian Blue, Berlin Lazure) được nghiên cứu từ gần 30 năm trước đây, hiện nay vẫn được coi là chỉ định cho các trường hợp tai nạn nhiễm độc phóng xạ Cs, do tác dụng phong bế hấp thu Cs trong đường tiêu hoá rồi thải ra theo phân. Koval (2) và Stather (4), năm 1972 đã tổng kết các kết quả thực nghiệm áp dụng phức chất này cho người, chó, thỏ và chuột cống. Thuốc chỉ có tác dụng tốt khi uống ngay lập tức sau khi bị nhiễm xạ, còn khi Cs phóng xạ đã lọt vào hệ tuần hoàn thì thuốc mất hiệu lực.

Sau sự cố Trecnobyl, vấn đề nhiễm độc phóng xạ Cs trở nên nghiêm trọng. Việc tìm kiếm một loại thuốc có khả năng tăng cường đào thải phóng xạ đã bị nhiễm vào cơ thể sau nhiều giờ trở nên cấp thiết. Chúng tôi chọn vị thuốc linh chi - một loài nấm được trồng chủ động tại Viện Dược liệu, vừa là thuốc bồi bổ tốt vừa có khả năng tăng cường sức đề kháng của cơ thể (1, 3, 5) để thăm dò khả năng đào thải phóng xạ Cs - 134 bị nhiễm trên chuột nhắt trắng; nhằm tìm kiếm những chế phẩm đáp ứng nhu cầu thực tiễn.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thuốc dùng thử nghiệm là nấm linh chi hiện có của Viện Dược liệu, Bộ Y tế được bào chế dưới dạng cao lỏng 1:1 (gọi tắt là chế phẩm TN 01). Khi sử dụng dùng nước nóng pha loãng tới liều lượng 5mg/0,2 ml cho chuột.

Chuột thí nghiệm (*Mus musculus*) do viện Pasteur Đà Lạt cung cấp toàn bộ là chuột cái chưa cho đẻ, trọng lượng 20 ± 2 g, thể trạng bình thường. Nuôi dưỡng trong điều kiện chuẩn của phòng thí nghiệm. Công thức máu được xác định trước thí nghiệm gồm số lượng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu.

Đồng vị phóng xạ Cs - 134 được dùng dưới dạng muối tan CsCl, được sản xuất trên lò phản ứng hạt nhân Đà Lạt có hoạt độ riêng đạt 1,5 μCi/μgCs. Liều cho uống 15 μ Ci cho 1 chuột (tương ứng với 10 μg Cs nhiễm vào). Việc đo mức phóng xạ toàn thân được thực hiện với tinh thể giống NaI (T1) trên máy đo MINIASSAY do cơ quan nguyên tử quốc tế cung cấp.

Cho chuột uống phóng xạ, sau 15 phút đo mức phóng xạ nhiễm toàn thân khởi đầu. Sau 30 phút, lô đối chứng (Bo) cho uống 0,2 ml nước cất. Lô thí nghiệm 1 cho uống 0,2 ml chế phẩm TN.01 (tức là 5mg mỗi con). Lô thí nghiệm 2 cho uống thuốc sau 6 h tính từ thời điểm cho uống phóng xạ. Trong 7 ngày đầu chuột được cho

uống thuốc và đo mức phóng xạ toàn thân hàng ngày. Trontg 14 ngày tiếp sau chuột được uống thuốc và đo mức phóng xạ cách nhật. Động lực đào thải Cs134 ở các lô chuột được xác định và tính toán được mức đào thải phóng xạ hàng ngày.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các dẫn liệu thu được cho đến ngày thứ 21 sau khi nhiễm xạ. So sánh với các dẫn liệu được Stather (1972) và đặc biệt của Koval (1972) tổng kết đã dẫn có thể chỉ ra rằng chuột nhắt có nhịp độ đào thải Cs - 134 nhanh hơn các loài động vật lớn như chuột cống, thỏ chó và người. Thật vậy, ở người thời gian bán thải sinh học khá dài khoảng 86 - 12 ngày, ở chuột cống khoảng 20 ngày và ở chuột nhắt lại ngắn hơn nữa. Điều này có thể liên hệ đến nhịp độ trao đổi chất của các loài động vật. Trong thực nghiệm của chúng tôi trị số này ở chuột nhắt trắng là 6 - 7 ngày. Rõ ràng các lô chuột có thử thuốc (lô B1 uống thuốc sau 30 phút nhiễm xạ, lô B2 uống sau 6h). Thời gian bán thải sinh học (viết tắt là T1/2) được rút ngắn khoảng 2 ngày tức là còn khoảng4 - 5 ngày.

Ở tất cả các thời điểm xác định mức đào thải Cs134 phóng xạ (tính theo % so với tổng lượng đưa vào chuột qua đường miệng), ở các lô thí nghiệm điều trị bằng cao linh chi đều cao hơn so với lô đối chứng. Ngay trong ngày đầu đã cao hơn 2 - 2,5 lần và rõ ràng thuốc được uống càng sớm càng có hiệu lực cao hơn. Khi các lô uống đạt tới T1/2 cỡ 4 - 5 ngày thì ở lô đối chứng mức thải khoảng 40%. Từ sau thời điểm này có thể nhận thấy 2 lô uống thuốc có nhịp độ đào thải tương tự nhau. Có lẽ vào giai đoạn này thuốc uống đã giảm hiệu lực, đến ngày thứ 21 ở các lô uống thuốc 91% lượng Cs phóng xạ được đào thải khỏi cơ thể chuột, trong đó lô chuột đối chứng cũng thải ra khoảng 87%. Sau T1/2 đầu nhịp độ đào thải giảm dần.

Trong thực nghiệm, các kết quả thu được chỉ tập trung trên các đối tượng chuột cống, chuột lang, thỏ... Tư liệu trên chuột nhắt trắng có lẽ chưa có.

Các loại thuốc, hoặc hoá chất đã được đem ra sử dụng thử nghiệm có số lượng rất lớn, phong phú về chủng loại.Từ các loại hợp chất vô cơ, hữu cơ, các loại thuốc lợi niệu, các chất tạo phức và kể cả hooc môn tuyến thượng thận. Kết quả thu được cho đến nay vẫn không có gì khả quan. Thuốc có hiệu lực tốt nhất với nhiễm độc Cs phóng xạ là Xanh Berlin (Berlin Lazure hay Prussian Blue) trên thực tế sau Trecnobyl không dùng được. Dù rằng khả năng tạo phức trao đổi của nó với Cs là rất tốt. Trong thực nghiệm nếu dùng ngay sau khi nhiễm xạ (3 phút ngay sau khi cho chuột cống uống Cs - 134) thì có tới 97% lượng Cs phóng xã bị đào thải ra ngoài theo phân trong vòng 24h. Nhưng một khi chất phóng xạ đã vào máu (15 - 2h sau

khi cho uống Cs - 134) thì thuốc vô hiệu. Thêm nữa, ngoài tính chất tạo phức Cs, thuốc này không có một đặc tính dược lí thuận lợi nào khác.

Thuốc bào chế từ dược liệu cổ truyền, đương nhiên đã bảo tồn đặc tính dược quý giá của chúng nếu có thêm khả năng đào thải phóng xạ thì thật đáng được ý. Cao lỏng 1:1 nấm linh chi qua thực nghiệm đã chỉ rõ khả năng tăng cường thải Cs - 134 hơn hẳn các loại thuốc hoá học khi cơ thể đã bị nhiễm xạ sau nh giờ. Hơn nữa, linh chi là một loại "thần dược" có tác dụng dược lí rất rộng lên cá quan trong cơ thể. Khử được một số gốc tự do sinh ra trong quá trình lão hoá cơ hay sau khi bị nhiễm xạ, phục hồi các tổ chức bị tổn thương và không gây hiệu ứ phụ cho cơ thể[1, 3, 5]. Những kết quả thực nghiệm từ vị thuốc linh chi đã chỉ một hướng nghiên cứu mới: bào chế các dạng thuốc vừa tăng cường khả năng đ thải phóng xạ vừa tăng nhanh khả năng hồi phục của cơ thể bị nhiễm xạ. Nhữ nghiên cứu phối hợp sử dụng với các loại thảo dược khác làm tăng khả năng trị l của linh chi cũng cần được quan tâm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi, Lê Duy Thắng, Trần Văn Luyến, 1994.*
Nấm linh chi nuôi trồng và sử dụng. NXB Nông nghiệp. Hà Nội, tr. 37

2. *Koval Ju. F., 1972.*
Tăng nhanh quá trình đào thải phóng xạ ra khỏi cơ thể. Moskova, Atomizdat.

3. *Đàm Nhận, Nguyễn Mộng Anh, 1980.*
Những kết quả bước đầu về nuôi cấy nấm linh chi ở Viện Dược Liệu. Thông báo dược liệu. Hà Nội, T3 - 4, tr34 - 38.

4. *Stather W J., 1972.*
Influence of Prussian Blue on XMetabolism of Cs - 137 enud Rb 86 in Rats. J. of Health Physics. Vol. 22, No. 1, p. 1 - 8.

5. *Trung thảo dược học, 1976.*
Đại học dược Nam Kinh, T1, tr.14.

KHẢ NĂNG PHÂN LẬP VÀ NUÔI CẤY CÁC LOÀI NẤM HỌ LINH CHI (Ganodermataceae)

Đàm Nhận

SUMMARY

A lot of precious activities of Lingzhi mushroom in treatment of dangerous disease of liver, bile, cancer even in the prevention and treatment of AID's has been reported.

The cultivation of Lingzhi (Ganoderrma lucidum) is studied sucessfully in the period of 1978 - 1980 at IMM. The semi - industrial scale of cultivation methods procedure of Lingzhi has established.

Isolation and cultivation of 25 species Lingzhi in 2 cultivated medium aqueous and non - aqueous medium is studied. The identification of the main composition of 22 species, the compasision of the composition and cultivated production of Lingi is studied and base on the result obtained, Lingzhi (Ganoderrma lucidum) is the most potensial specied for cultivation at industrial scale and as material for pharmaceutical production.

*
* *

I. MỞ ĐẦU

Nấm linh chi [*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.] và một số loài nấm trong họ linh chi là dược liệu quý. Việc thu hái nguồn dược liệu này từ thiên nhiên ngày càng trở nên khan hiếm. Những mẫu dược liệu này thường được nhân dân thu hái tự phát trong rừng, khả năng hiểu biết về linh chi của người thu hái không đồng đều nên đôi khi dẫn đến nhầm lẫn.

Trên thế giới, việc phân lập, nuôi trồng chủ động nấm linh chi và các đại diện họ *Ganodermataceae* đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm (1,2, 6). Các tác giả đã chỉ ra tác dụng dược lí và giá trị cao của một số loài cụ thể ở Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn quốc (1).

Trên cơ sở những mẫu nấm đã thu và phân lập thành công từ ngoài thiên nhiên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đặc điểm sinh học của 25 loài nuôi cấy; thăm dò khả năng nuôi trồng trên môi trường dịch thể và môi trường bán tự nhiên làm cơ sở giới thiệu khả năng nuôi trồng chủ động những loài linh chi làm dược liệu.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Giống nấm thu được ngoài thiên nhiên được phân lập, nuôi cấy thuần khiết tại phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào thực vật Viện Dược liệu; cấy truyền và lưu giữ phục vụ cho nghiên cứu nuôi trồng trên hai môi trường dịch thể và môi trường tổng hợp (có thành phần cơ chất gần giống với tự nhiên gọi tắt là môi trường C1) (2, 3, 4, 5).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Nuôi cấy trên môi trường dịch lỏng

Thăm dò khả năng nuôi cấy hàng loạt loài nấm trong môi trường dịch lỏng nhằm khảo sát khả năng tăng sinh khối của từng loài, Khảo sát sự hình thành các yếu tố sinh học, trên cơ sở đó đánh giá khả năng nuôi trồng công nghiệp.

25 loài phân lập từ nấm mọc hoang được đưa vào nghiên cứu. Nuôi cấy trong cùng 1 điều kiện thí nghiệm (môi trường C3, thời gian: 20 ngày, nhiệt độ $25^0 \pm 3$).

Số liệu được xử lý kiểm tra độ tin cậy bằng tiêu chuẩn Student trong thống kê sinh học với xác suất tin cậy $1 - \alpha = 0,95$. Dùng ngôn ngữ Turbo Pascal xử lý dữ liệu tính khoảng xác định của X trung bình

Kết quả cho thấy trong môi trường dịch lỏng (C3) loài *G. tropicum* cho sinh khối cao nhất: 27,6 g/l môi trường, trung bình ở các loài *G. lucidum*; *G. hainanense*, *G. applanatum*...,thấp nhất thuộc các loài *Aumaroderma*: từ 4,46 - 8,5g/l

Các loài trong họ linh chi đều mọc sợi và sinh trưởng với tốc độ tăng sinh khối khác nhau trong môi trường dịch lỏng. Như vậy có thể sử dụng môi trường C3 để nuôi cấy các loài linh chi thu sinh khối sợi, nhất là khả năng nuôi cấy làm dược liệu.

2. Nuôi cấy trên giá thể tổng hợp

Trên cơ sở những loài thu được ở Việt Nam, chúng tôi tiến hành nuôi cấy trên môi trường nhân tạo (giá thể phối trộn bằng các cơ chất tự nhiên) với mục đích thăm dò khả năng hình thành thể quả của các loài trên môi trường gần với giá thể tự nhiên, khảo sát năng suất, thời gian hoàn thành 1 chu kì sống của các loài làm cơ sở giới thiệu khả năng nuôi trồng một số loài làm dược liệu.

Bảng 1. **Kết quả nuôi cấy 25 loài linh chi trong môi trường dịch lỏng**

TT	*Loài nghiên cứu*	*Sinh khối sợi khô trong 1 lô thí nghiệm (g) / số bình của 1 lô*			*Sinh khối khô trung bình (g) / 1lít môi trường*
		lô 1	*lô 2*	*lô 3*	
1	*Ganoderrma amboinense*	13,91/8	15,57 /8	14,02 /8	14,56
2	*Ganoderrma applanatum*	8,86 /6	8,31 /8	8,68 /8	8,59
3	*Ganoderrma australe*	13,74 /6	16,45 /8	13,47 /7	14,05
4	*Ganoderrma balabacene*	15,35 /7	16,58 /7	18,22 /8	18,23
5	*Ganoderrma boinense*	18,76 /7	18,06 /8	14,53 /8	17,86
6	*Ganoderrma capense*	10,80 /8	13,50 /7	12,66 /8	12,85
7	*Ganoderrma cochlear*	6,85 /7	8,02 /8	7,40 /8	7,74
8	*Ganoderrma fulvelum*	13,70 /8	10,56 /8	9,63 /8	11,29
9	*Ganoderrma hainanense*	9,32 /7	11,03 /8	11,36 /8	11,02
10	*Ganoderrma mastoporum*	15,84 /8	17,52 /8	13,80 /6	17,14
11	*Ganoderrma lobatum*	11,00 /8	12,79 /8	8,71 /7	11,30
12	*Ganoderrma lucidum*	6,44 /6	9,18 /7	9,69 /8	9,64
13	*Ganoderrma oroflaum*	14,34 /8	8,56 /8	9,27 /8	12,66
14	*Ganoderrma philippii*	8,75 /6	11,23 /8	9,50 /8	11,69
15	*Ganoderrma rivulosum*	21,30 /8	22,70 /8	16,05 /6	21,83
16	*Ganoderrma sinense*	10,59 /7	11,99 /8	9,68 /7	11,73
17	*Ganoderrma subtornatum*	5,44 /8	5,75 /8	3,75 /6	5,43
18	*Ganoderrma tornatum*	7,17 /8	4,25 /6	6,75 /8	6,60
19	*Ganoderrma tropicum*	27,64 /8	20,05 /6	28,22 /8	27,60
20	*Humphreya* sp.	12,96 /6	15,72 /8	14,03 /8	15,53
21	*Amauroderma elmerianum*	4,68 /8	4,90 /8	3,25 /7	4,46
22	*Amauroderma fasciculatum*	9,50 /8	7,89 /8	8,12 /8	8,50
23	*Amauroderma macer*	7,06 /8	4,62 /7	5,89 /8	6,11
24	*Amauroderma niger*	5,55 /8	5,09/8	5,65 /8	5,43
25	*Amauroderma rugosum*	5,36 /8	7,55 /8	5,88 /8	6,26

16 loài có triển vọng dược liệu (có hàm lượng các hoạt chất chính cao) được nuôi cấy trên cùng một điều kiện thí nghiệm (giá thể là môi trường C1: công thức ghi ở phụ lục 1).

***Bảng 2.* Kết quả nuôi cấy các loài linh chi trên giá thể tổng hợp**

TT	*Loài nghiên cứu*	*Thời gian hoàn thành 1 chu kì sống (ngày)*	*Năng suất thí nghiệm (%)*
1	*Ganoderma amboinense*	56 - 61	9 - 10
2	*Ganoderma applanatum*	66 - 85	15 - 17
3	*Ganoderma boninense*	77 - 89	10 - 12
4	*Ganoderma capense*	33 - 45	4 - 6,5
5	*Ganoderma cochlear*	56 - 67	11 - 13
6	*Ganoderma hainanense*	45 - 62	17 - 19
7	*Ganoderma sinense*	53 - 66	9 - 12
8	*Ganoderma lucidum*	60 - 74	12 - 15
9	*Ganoderma mastoporum*	60 - 87	8 - 12
10	*Ganoderma oroflavum*	45 - 50	12 - 14
11	*Ganoderma rivulosum*	33 - 46	15 - 17
12	*Ganoderma subtornatum*	82 - 100	18 - 22
13	*Ganoderma tropicum*	45 - 55	16 - 18
14	*Amauroderma fasciculatum*	31 - 42	7 - 9,6
15	*Amauroderma macer*	36 - 46	6 - 10,5
16	*Humphreya* sp.	62 - 77	12 - 15

Kết quả cho thấy các loài linh chi đa niên, không cuống như: *Ganoderma subtornatum, Ganoderma applanatum* có thời gian sinh trưởng dài từ 66 - 100 ngày, các loài linh chi bóng có cuống có thời gian trung bình từ 45 - 75 ngày, ngắn nhất là các loài *Amauroderma:* 31 - 46 ngày. Năng suất thí nghiệm khác nhau tùy theo loài: cao nhất ở loài *Ganoderma subtornatum* (18 - 22%), tiếp theo là các loài *Ganoderma hainanense* (17 - 19%), *G. tropicum* (15 - 17%), *G. lucidum* (12 - 15%)... thấp nhất ở loài *Ganoderma capens* (4 - 6,5%).

III. KẾT LUẬN

- Các loài trong họ linh chi đều mọc sợi và sinh trưởng với tốc độ tăng sinh khối khác nhau trong môi trường dịch lỏng. Như vậy có thể sử dụng môi trường C3 để nuôi cấy các loài linh chi thu sinh khối sợi, nhất là khả năng nuôi cấy làm dược liệu.

- Có thể sử dụng môi trường C1 và quy trình nuôi cấy linh chi công nghiệp để sản xuất nguyên liệu làm thuốc.

- Qua kết quả nuôi cấy và khảo sát thành phần hoá học (4, 6) của các loài linh chi ở Việt Nam cho thấy loài *Ganoderma lucidum* có năng suất nuôi cấy và hàm lượng hoạt chất cao có thể lựa chọn làm nguyên liệu sản xuất thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi, Lê Duy Thắng, Trần Văn Luyến,* 1994.
Nấm linh chi nuôi trồng và sử dụng. NXB Nông nghiệp. Hà Nội, tr. 37.

2. *Đàm Nhận, 1979.*
Nuôi cấy nấm linh chi. Kỉ yếu công trình y dược năm 1979, Bộ Y Tế. Hà Nội, tr. 162.

3. *Đàm Nhận, Nguyễn Mộng Anh.*
Những kết quả bước đầu về nuôi cấy nấm linh chi ở Viện Dược liệu. Thông báo dược liệu. Hà Nội, T3 - 4, tr34 - 38.

4. *Đàm Nhận, Nguyễn Gia Chấn, 1995.*
Kết quả bước đầu về nuôi cấy dịch lỏng tạo sinh khối sợi ở một số loài trong chi linh chi Ganoderma Karsten. Tạp chí Y học thực hành, 1, Hà Nội, tr. 8 - 9.

5. *Đàm Nhận, Nguyễn Gia Chấn, 1995.*
Khả năng phân lập và nuôi cấy thuần khiết một số loài trong họ nấm linh chi (*Ganodermataceae Donk*). Tạp chí Dược học,1, Hà Nội, tr. 7 - 9.

6. *Đàm Nhận, Lê Xuân Thám, 1994.*
Nghiên cứu sự tương đồng về tính trạng hình thái và hoá sinh các đại diện chi Ganoderma Karsten. Tạp chí Di truyền và ứng dụng, 4, Hà Nội, tr. 10 - 13.

NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT TRỒNG MÃ ĐỀ

Nguyễn Thị Thư

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây mã đề (*Plantago major* L.) là cây mọc hoang và được trồng ở nhiều nơi làm thuốc lợi tiểu, sỏi thận, ho lâu ngày v.v... Những năm gần đây nhu cầu tiêu thụ trong nước và xuất khẩu tăng, mã đề đã và đang là mặt hàng sản xuất quan trọng mang lại hiệu quả kinh tế cao.

Để đáp ứng nhu cầu sản xuất ngày càng tăng, năm 95,96 chúng tôi tiến hành nghiên cứu các biện pháp kỹ thuật trồng cây mã đề.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nội dung

Nghiên cứu các kỹ thuật trồng mã đề như thời vụ, mật độ, phương thức gieo trồng thích hợp cho năng suất lá mã đề cao.

2. Vật liệu

Hạt mã đề sản xuất tại Nghĩa Trai - Hải Hưng

3. Phương pháp

Các ô thí nghiệm được sắp xếp tuần tự với 4 lần nhắc lại,diện tích ô thí nghiệm là 10 m^2.

4. Phương pháp xử lý số liệu

Theo phương pháp của Phạm Chí Thành.

III. KẾT QUẢ

Năm 1995 - 1996, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu 5 thời vụ trồng mã đề 1,2,3,4,5 lần lượt từ 15-10-1995;15-11-1995; 15-12-1995; 15-3-1996; 15-4-1996.

Ba khoảng cách trồng cây con mã đề: 10x15cm; 15x15cm; 20x15 cm; và hai phương pháp gieo trồng: gieo thẳng và đánh trồng cây con trên nền phân chuồng 500kg; phân lân 10 kg; phân đạm 10kg và phân kali 5 kg/ 360 m^2.

Kết quả thu được như sau:

1. Kết quả nghiên cứu thời vụ trồng mã đề

Thời vụ gieo và trồng càng muộn thì số lứa cắt và chiều cao của cây càng giảm (từ 4 lứa cắt xuống còn 1 lứa cắt; từ 48 cm xuống đến 30 cm) đồng thời số bông và trọng lượng lá / cây cũng giảm theo.

***Bảng 1.* Đánh giá năng suất ở các thời vụ khác nhau**

Thời vụ	*Năng suất lá tươi kg/ ô thí nghiệm*	*da*	*Ec*
1	53 a		
2	46 b		
3	29.8 c	1.8 kg lá tươi	0.56
4	20.2 d		
5	4.6 d		

Kết quả bảng 1 cho thấy năng suất ở thời vụ 1 gieo 15.10 trồng 15.11 cho năng suất lá cao nhất

2. Kết quả nghiên cứu mật độ trồng mã đề

Các yếu tố thí nghiệm tiến hành như ở thí nghiệm 1. Thời gian gieo hạt 15.10.1995 đánh trồng 15.11.1995 lúc cây con 5 lá thật.

Kết quả thu được thể hiện ở bảng 2.

***Bảng 2.* Đánh giá năng suất ở các mật độ khác nhau**

Mật độ	*Năng suất lá tươi kg/ ô thí nghiệm*	*da*	*Ec*
1	66.8 a		
2	54.4 c	1.12 kg	0.35
3	53.7 c		

Qua bảng 2 ta thấy mã đề trồng ở mật độ dày (1) (10×15 cm) cho năng suấ cao nhất.

3. Kết quả nghiên cứu phương thức gieo trồng mã đề

Trên nền phân bón như trên gieo hạt ngay 15.10.1995 với lượng hạt 150g/360 m^2 sau 50 ngày cố định cùng khoảng cách với cây đánh trồng 20×15 cm. Thu dược liệu lúc hạt bánh tẻ. Kết quả cho thấy:

Cây gieo thẳng cho thu hoạch lứa 1 chậm hơn cây đánh trồng 1.5 tháng. Chiều cao cây, số bông, số lá và khối lượng dược liệu tươi / cây của cây đánh trồng đều cao hơn cây để thẳng lần lượt là 8%; 12 %; 14.3 % và 12.5 %.

Năng suất cây đánh trồng và gieo thẳng thể hiện ở bảng 3.

***Bảng 3.* Năng suất dược liệu cây đánh trồng và gieo thẳng**

Công thức	*Số lứa cắt*	*Khối lượng lá tươi kg / ô thí nghiệm*	*Tỷ lệ tươi / khô %*	*Khối lượng lá khô kg / ô thí nghiệm*	*Khối lượng lá khô kg / 360 m^2*
Đánh trồng	3	49.2	15.3	7.53	271.0
Gieo thẳng	3	40.8	14.5	5.91	212.7
m dα		3.2% 2.38 kg lá tươi / ô thí nghiệm			

Kết quả bảng 3 cho thấy công thức đánh trồng cho năng suất lá cao hơn gieo thẳng là 21.7%

III. KẾT LUẬN VÀ THẢO LUẬN

Thời vụ thích hợp cho năng suất lá cao nhất là 15.10.

Khoảng cách trồng cho năng suất lá cao nhất là 10×15 cm.

Phương thức trồng cho hiệu quả hơn cả là gieo hạt trong vườn ươm và đánh trồng cây con.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi.*

Cây thuốc Việt Nam.

2. *Đỗ Tất Lợi.*

Từ điển sinh học.

3. *Lê Trần Đức.*

Cây thuốc Việt Nam .

4. Báo cáo quỹ gen năm 1990 - 1995

5. *Viện Dược liệu.*

Cây thuốc Việt Nam.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN BỆNH HẠI TRÊN CÂY MÃ ĐỀ (*Plantago major* L.) VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Nguyễn Thị Tuấn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mã đề (*Plantago major* L., Pantaginaceae) là cây thuốc có tác dụng lợi tiểu, long đờm, kháng khuẩn, chống viêm.., được dùng để chữa bí đái, phù nề, huyết niệu, viêm thận, sỏi bàng quang, viêm kết mạc, chảy máu cam, v.v. (3).

Trước đây, ở trạng thái mọc hoang hoặc trồng trên diện tích nhỏ trong các vườn gia đình, mã đề không thấy có bệnh hại đáng kể. gần đây, do nhu cầu tiêu thụ lớn nên cây đã trở thành hàng hoá và được trồng trên diện tích khá lớn ở nhiều địa phương như: Hà Nội, Hà Tây, Hưng Yên,...bắt đầu từ vụ đông xuân 1995 - 1996, bệnh hại lá và bông cây mã đề đã phát triển thành dịch và gây tổn tất nặng ở hầu hết các vùng sản xuất. Để góp phần hạn chế thiệt hại và phục vụ cho sản xuất, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thành phần bệnh hại trên cây mã đề và đề xuất các biện pháp phòng trừ. Các thí nghiệm được tiến hành từ năm 1996 đến năm 1998.

II.PHƯƠNG PHÁP

Bệnh hại được tiến hành điều tra trên cây mã đề trồng tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội (Viện Dược liệu) theo phương pháp của Cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật (1) và của Viện Bảo vệ thực vật (6); ngoài ra, còn điều tra bổ xung ở các diện tích sản xuất của các địa phương. Mẫu bệnh được giám định nguyên nhân tại Bộ môn Bệnh cây - Viện Bảo vệ thực vật - Bộ Nông nghiệp.

Thí nghiệm khảo sát hiệu lực của một số loại thuốc được bố trí tại Trung tâm Trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội, theo phương pháp tuần tự có cách ly, với 3 lần nhắc lại, diện tích mỗi ô thí nghiệm là 20 m^2. Kỹ thuật trồng trọt được áp dụng theo qui trình sản xuất của Viện Dược liệu. Các loại thuốc khảo nghiệm bao gồm: Anvil, Carbendas, Daconil, Fundazol, Tilt, và Vizines. Hiệu lực của thuốc được tính theo công thức Henderson - Tilton.

Thí nghiệm lây bệnh nhân tạo được thực hiện bằng phương pháp phun dịch chứa conidi nấm lên 2 loại mã đề *Plantago major* L. và *Plantago* sp.

III. KẾT QUẢ

1. Thành phần và diễn biến của bệnh hại mã đề

Sau khi điều tra ngoài đồng, các mẫu bệnh hại đã được thu thập và giám định. Kết quả giám định được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Thành phần bệnh hại trên cây mã đề**

Tên bệnh	*Tên khoa học*	*Bộ phận bị hại*
Bệnh đốm lá	*Alternaria* sp.	Lá
Bệnh thối gốc mốc trắng	*Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* sp.	Rễ và gốc
Bệnh thối củ đen gốc	*Aspergillus niger* Van Tiegh	Gốc
Bệnh phấn trắng	*Oidium* sp.	Lá, cuống lá, bông
Bệnh vàng lá	Chưa rõ nguyên nhân	lá

Bảng 1 cho thấy, trên ruộng mã đề đã xuất hiện 5 loại bệnh hại lá, bông, gốc và rễ cây. Trong số đó có 4 loại bệnh do nấm gây ra và 1 loại chưa tìm được nguyên nhân.Theo dõi diễn biến của các loại bệnh qua các tháng trong năm, chúng tôi đã thu được số liệu ở bảng 2.

Bảng 2. **Diễn biến của bệnh hại mã đề trong năm 1996 ở Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội**

Tên bệnh	*Tỷ lệ bệnh (%)*							
	Tháng 12	*Tháng 1*	*Tháng 2*	*Tháng 3*	*Tháng 4*	*Tháng 5*	*Tháng 6*	*Tháng 7*
Bệnh đốm lá	-	-	31,5	28,3	23,7	12,8	-	-
Bệnh phấn trắng	10,7	15,7	73,5	75,3	35,7	16,7	-	-
Bệnh thối gốc mốc trắng	-	-	-	-	14,3	17,2	13,7	-
Bệnh thối đen gốc	-	-	-	-	5,7	7,5	6,5	-
Bệnh vàng lá	-	-	-	-	-	-	8,7	5,3

Các số liệu ở bảng 2 cho thấy bệnh đốm lá và bệnh phấn trắng là 2 đối tượng gây hại chính cho mã đề. Hai loại bệnh này thường xuất hiện chủ yếu vào các tháng 2 - 3 - 4 hàng năm, khi nhiệt độ ban ngày ở mức dưới 25 - 28^{0}C. bệnh đốm lá thường xuất hiện sau bệnh phấn trắng, gây ra những vết thủng lá. Bệnh phấn trắng được thể hiện rõ trên mặt lá bởi một lớp bụi màu trắng. Bệnh dù nhẹ cũng làm cho lá bị giảm màu xanh nên khi phơi khô, toàn bộ lá trở thành màu nâu hoặc đen, ảnh hưởng rất lớn tới chất lượng sản phẩm. Bệnh nặng làm cho lá bị khô hoặc thối ngay trên cây, không còn giá trị thu hoạch.

Trên ruộng gieo thẳng, cây thường bị bệnh nặng hơn ruộng trồng bằng cây con. Hiện tượng này có thể do thời gian cây sống trên ruộng gieo thẳng dài hơn, ẩm độ không khí trong ruộng (từ mặt đất đến tán lá) thường cao hơn, đã tạo nên yếu tố thuận lợi cho bệnh phát triển.

2. Hiệu lực của thuốc trừ bệnh phấn trắng và đốm lá mã đề

Như đã trình bày ở phần trên, bệnh đốm lá thường chỉ xuất hiện sau khi tỷ lệ bệnh phấn trắng đã đạt đến 15 - 20% và bắt đầu gây hại, vì vậy mục đích của thí nghiệm nhằm tìm ra phương thuốc khống chế bệnh phấn trắng. Các thuốc thử nghiệm được dùng ở liều lượng theo quy định chung (4,5) và được phun thuốc khi bệnh xuất hiện khoảng 20%. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Hiệu lực của thuốc trừ bệnh phấn trắng mã đề**

Tên thuốc	*Lượng dùng/ha*	*Q% sau 3 ngày*	*Q% sau 7 ngày*	*Thời gian tái xuất hiện bệnh (ngày)*
Anvil	1,0 lít	31,5	76,7	14,5 ± 2
Carbendas	2,0 kg	28,4	61,4	-
Daconil	1,6 kg	35,8	87,5	16,5 ± 1,5
Fundazol	1,6 kg	38,9	69,3	-
Tilt	1,0 lít	59,5	91,3	23,8 ± 1,5
Vizines	1,8 kg	26,7	59,5	-

Kết quả trên cho thấy trong 6 loại thuốc đã thử nghiệm thì: Tilt, Daconil và Anvil có tác dụng nhanh và hiệu quả hơn cả. Trong đó, Tilt có hiệu lực mạnh nhất. Trong một vụ sản xuất, mã đề thường cho thu hoạch từ 5 đến 7 lứa cắt. Sự khác nhau về thời gian tái xuất hiện của bệnh phấn trắng trên các lô thí nghiệm là cơ sở để chọn loại thuốc phù hợp với thời gian của từng lứa cắt.

3. Nghiên cứu biện pháp xử lý tàn dư

Oidium sp. gây bệnh phấn trắng trên mã đề thuộc nhóm nấm bất toàn (*Deuteromycetes*). Trên đồng ruộng, nấm lây lan bằng conidi và lưu lại vụ sau ở giai đoạn hữu tính trên tàn dư cây bệnh (2). Chúng tôi đã tiến hành lây nhân tạo bằng cách phun dung dịch chứa conidi của nấm *Oidium* sp. lên 2 loại mã đề (*Plantago major* L. và *Plantago* sp.) đang được trồng tại Trung tâm nghiên cứu. trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. **Mức độ nhiễm bệnh phấn trắng của mã đề sau lây bệnh nhân tạo**

Loại mã đề	*Mức độ nhiễm bệnh phấn trắng*		
	Sau 3 ngày (%)	*Sau 7 ngày (%)*	*Sau 14 ngày (%)*
Plantago sp.	0	0	0
Plantago major L.	0	35	100

Kết quả trên cho thấy, chỉ có loài *P. major* L. bị nhiễm do lây bệnh. Điều này cho ta nhận xét: *Oidium* sp. gây bệnh phấn trắng trên mã đề là loài có đặc điểm chuyên tính rất cao, do đó khả năng ký sinh và lưu giữ lại vụ sau trên cây khác là rất nhỏ. Như vậy, việc xử lý tàn dư cây vụ trước, vệ sinh đồng ruộng và luân canh là những biện pháp phòng bệnh quan trọng. Đặc tính này của bệnh cũng mở ra khả năng có thể chọn được giống mã đề có sức đề kháng đối với loại bệnh này, thay thế cho giống đang trồng hiện nay.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Cây mã đề khi đưa ra trồng ở diện tích lớn thường bị bệnh gây hại thành dịch. Trong các loại bệnh, thì phấn trắng và đốm lá, là hai loại bệnh có khả năng gây hại nặng về năng suất và chất lượng sản phẩm. Chúng thường phát triển mạnh vào vụ đông xuân, khi nhiệt độ ban ngày thấp hơn 25 - 28^{0}C và ẩm độ không khí trên 85%. Có thể sử dụng các loại thuốc: Anvil, Daconil, Tilt để phun phòng trừ. Tùy thuộc vào thời gian yêu cầu của từng lứa cắt cụ thể mà sử dụng loại thuốc có thời gian hiệu lực kéo dài cho hợp lý.

Cần tránh trồng ở mật độ quá dày để đảm bảo cho ruộng có độ thông thoáng cần thiết. Sau mỗi vụ thu hoạch, cần dọn và tiêu hủy các tàn dư của cây vụ trước. Ruộng trồng mã đề cần được cày sâu, phơi đất và luân canh với cây trồng khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Cục Bảo vệ thực vật, 1987.*
Phương pháp điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

2. *Đường Hồng Dật, 1976.*
Sổ tay bệnh hại cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

3. National Institute of Materia Medica. Selected Medicinal Plants in Vietnam. Science and technology Publishing House, Hanoi, 1999, pp.184 - 189;

4. Novényvédoszerek, Mutragyak. Mezogazdasági kiado, Budapest, 1985;

5. *Trần Quang Hùng, 1995.*
Thuốc bảo vệ thực vật. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

6. *Viện BVTV, 1997.*
Phương pháp nghiên cứu BVTV, tập 1. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

7. *Viện KHKT Nông nghiệp Việt Nam, 1992.*
Giáo trình cao học nông nghiệp về BVTV. NXB Nông nghiệp. Hà Nội.

8. *Vũ Khắc Nhượng, 1992.*
Tạp chí BVTV, số 2 - 1992.

ĐIỀU TRA THÀNH PHẦN SÂU HẠI CÂY THUỐC VÀ NGHIÊN CỨU ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA SÂU ĐO - *Corgatha dictaria* (Walker) HẠI MÃ ĐỀ VỤ ĐÔNG XUÂN 1999 - 2000 TẠI TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU CÂY THUỐC HÀ NỘI

Nguyễn Thị Nhung[1],
Đặng Thị Dung[1], *Ngô Quốc Luật*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, trong chiến lược chăm sóc sức khoẻ cộng đồng, ngành y tế đã có kế hoạch từng bước phấn đấu để tự túc 40% thuốc hoặc hơn. Để thực hiện được mục tiêu này, bên cạnh sự quan tâm phát triển công nghiệp dược và kháng sinh, việc phát triển trồng dược liệu cũng đang là mối quan tâm lớn của ngành.

Tuy nhiên, cũng trong điều kiện nóng ẩm của nước ta, sâu bệnh hại phát sinh rất nhiều làm giảm năng suất và chất lượng của dược liệu. Để phát triển cây thuốc ở một diện rộng phải có biện pháp bảo vệ thực vật tương ứng, có hiệu quả cao.

Chính vì vậy, chúng tôi đã tiến hành điều tra thành phần sâu hại trên một số cây thuốc đang được trồng rộng rãi trong sản xuất và nghiên cứu đặc tính sinh học của sâu đo (*Corgatha dictaria* (Walker)) hại mã đề vụ đông xuân 1999 - 2000 tại Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội để làm cơ sở cho việc xây dựng biện pháp phòng trừ.

II. PHƯƠNG PHÁP

1. Thí nghiệm ngoài đồng

Phương pháp điều tra tiến hành theo Viện Bảo vệ thực vật (1997).

[1] Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội.

2. Thí nghiệm trong phòng

- Mẫu thực vật thu thập được phân loại và giám định tại Bộ môn Côn trùng - Trường đại học Nông nghiệp I, Phòng Côn trùng - Viện Bảo vệ thực vật và Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật.

- Tiến hành nuôi sâu theo phương pháp thông thường của Bộ môn Côn trùng - Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Thành phần sâu hại cây thuốc vụ đông xuân 1999 - 2000 tại Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy thành phần sâu hại khá phong phú, bao gồm 28 loài thuộc 14 họ của 4 bộ côn trùng khác nhau. Trong đó, 16 loài thuộc bộ cánh vẩy (Lepidoptera) chiếm 57,15%, 7 loài thuộc bộ cánh nửa (Hemiptera) chiếm 25%, 4 loài thuộc bộ cánh cứng (Coleoptera) chiếm 14,28% và 1 loài thuộc bộ cánh thẳng (Orthoptera) chiếm 3,57%.

Trong tổng số 22 loài cây được điều tra thì mã đề (*Plantago major* L.) là cây bị nhiều loài côn trùng gây hại, tổng số 12 loài. Trong đó, loài sâu đo (*Corgatha dictaria* (Walker)) gây hại chủ yếu, xuất hiện với mật độ cao từ khi cây mới trồng cho đến khi thu hoạch.

2. Đặc điểm sinh học của sâu đo (*Corgatha dictaria* (Walker))

a) Đặc điểm hình thái

Họ: Noctuidae

Bộ: Lepidoptera

- Trứng có hình tròn, đỉnh hơi lõm, đường kính khoảng 0,5mm, bề mặt có các đường vân ngang, dọc tạo thành nhiều ô nhỏ.

- Sâu non có 2 đôi chân bụng, cơ thể thuôn dài, vân đầu hình tam giác.

- Nhộng có mầu nâu, mầm cánh kéo dài tới đốt bụng thứ 5, cuối bụng có 2 gai nhọn.

- Sâu trưởng thành có màu xám tro, cánh trước và cánh sau có vân lượn sóng, mắt kép, đầu dạng sợi chỉ.

Bảng 1. **Thành phần sâu hại trên cây thuốc vụ đông xuân 1999 - 2000 tại Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội**

TT	*Tên Việt Nam*	*Tên khoa học*	*Họ*	*Bộ*	*Cây bị hại*
1	Sâu đo	*Chrysodeixis eriosoma* (Doubleday)	Noctuidae	Lepidoptera	Mã đề, cỏ ngọt, cà độc dược, bạc hà
2	Sâu đo	*Diachrysia intermixta* (Warren)	Noctuidae	Lepidoptera	Mã đề
3	Sâu đo	*Argyrogramma agnata* (Staudinger)	Noctuidae	Lepidoptera	Mã đề
4	Sâu đo	*Corgatha dictaria* (Walker)	Noctuidae	Lepidoptera	Mã đề
5	Sâu xanh	*Helicoverpa armigera* (hiibner)	Noctuidae	Lepidoptera	Ngưu tất, ích mẫu, mã đề, cối xay
6	Sâu khoang	*Spodoptera litura* (Fabricius)	Noctuidae	Lepidoptera	Kinh giới, mã đề, trạch tả, ngưu tất, bạc hà, lão quan thảo, thảo quyết minh, kim tiền thảo
7	Sâu đục quả	*Earias insulana* (Boisduval)	Noctuidae	Lep' loptera	Cối xay
8	Sâu xám	*Agrotis ipsilon* (Hiiffnagel)	Noctuidae	Lepidoptera	Lão quan thảo, bạc hà, ngưu tất, ích mẫu
9	Sâu sa	*Macroglossum* sp.	Sphingidae	Lepidoptera	Mơ tam thể
10	Sâu cuốn lá	*Notarcha* sp.	Pyralidae	Lepidoptera	Mã đề, bạc hà
11	Sâu cuốn lá đầu đen	*Archips* sp.	Tortricidae	Lepidoptera	Khổ sâm, đơn mặt trời, kiến cò, tía tô, thanh cao, diệp hạ châu
12	Sâu róm chỉ đỏ	*Euproctis* sp1.	Lymantridae	Lepidoptera	Mã đề, lão quan thảo
13	Sâu róm nâu	*Euproctis* sp2.	Lymantridae	Lepidoptera	Mã đề

Bảng 1 (tiếp theo)

TT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Họ	Bộ	Cây bị hại
14	Sâu róm đen	*Orgyia* sp.	Lymantridae	Lepidoptera	Mã đề Liên xô
15	Sâu róm vàng	*Euproctis* sp3.	Lymantridae	Lepidoptera	Mã đề, kinh giới
16	Sâu róm bụng đỏ	*Spilarctia* sp.	Arctiidae	Lepidoptera	Mã đề Liên xô, Mã đề Nhật bản
17	Bọ xít nâu 2 chấm trắng	*Eysarcoris ventralis* (Westwood)	Pentatomidae	Hemiptera	Mã đề Nhật bản
18	Bọ xít xanh	*Nezara viridulla* (Fab.)	Pentatomidae	Hemiptera	Mã đề, cối xay, ích mẫu
19	Bọ xít đen	*Scotinophora lurida* (burm.)	Pentatomidae	Hemiptera	Mã đề Nhật bản, Liên xô
20	Bọ xít 2 chấm trắng viền đen	*Eysarcoris guttiger* (Thunberg)	Pentatomidae	Hemiptera	Mã đề Nhật bản
21	Bọ xít tròn đen	*Coptosma* sp.	Plataspidae	Hemiptera	Ké đầu ngựa
22	Bọ xít gai	*Riptotus clevatus* (Thunberg)	Alydidae	Hemiptera	Thanh cao
23	Bọ xít dài	*Leptocorisa acuta* (fab.)	Alydidae	Hemiptera	Ba gạc
24	Câu cấu xanh lớn	*Hypomeces squamous* Fab.	Curculionidae	Coleoptera	Kinh giới
25	Bọ cánh cứng nâu đen	*Stereapalpus* sp.	Anthicidae	Coleoptera	Mã đề Liên xô
26	Bọ hung xanh đen	*Anomala* sp.	Scarabaeidae	Coleoptera	Mã đề Nhật bản
27	Ban miêu đen	*Epicauta impressicornis* P.	Meloidae	Coleoptera	Ngưu tất
28	Châu chấu lúa	*Oxya chinensis* (Thunberg)	Acrididae	Orthoptera	Mã đề

***b) Vòng đời của sâu đo (Corgatha dictaria* (Walker))**

***Bảng 2.* Vòng đời của sâu đo (*Corgatha dictaria* (Walker))**

Pha phát dục	*Tổng cá thể theo dõi*	*Thời gian phát dục của các pha (ngày)*	
		Đợt 1	*Đợt 2*
Trứng	100	3.92 ± 0.12	3.90 ± 0.15
Sâu non T1	100	3.06 ± 0.08	2.74 ± 0.16
Sâu non T2	80	2.12 ± 0.10	2.01 ± 0.07
Sâu non T3	70	2.88 ± 0.18	2.62 ± 0.19
Sâu non T4	52	2.81 ± 0.18	2.20 ± 0.16
Sâu non T5	40	3.19 ± 0.18	3.00 ± 0.15
Tiền nhộng	32	1.12 ± 0.16	1.06 ± 0.14
Nhộng	29	5.00 ± 0.20	5.00 ± 0.31
Trưởng thành	25	1.07 ± 0.28	1.00 ± 0.31
Vòng đời		25.170.16	23.530.18

Chú thích: Đợt 1: Nhiệt độ: 22,0 - 29,0^{0}C; ẩm độ 70 - 93%
Đợt 2: Nhiệt độ: 24,5 - 31,0^{0}C; ẩm độ 61 - 92%.

Bảng 2 cho thấy vòng đời của sâu đo tương đối ngắn. Tuy nhiên, ở các điều kiện nhiệt độ và ẩm độ khác nhau thì thời gian phát dục khác nhau. Ở nhiệt độ 22,0 - 29,0^{0}C, ẩm độ 70 - 93% thời gian phát dục là 25,17 ngày. Còn trong điều kiện nhiệt độ từ 24,5 - 31,0^{0}C, ẩm độ 61 - 92% thì thời gian phát dục là 23,53 ngày.

IV. KẾT LUẬN

- Trong điều kiện thời tiết vụ Đông Xuân 1999 - 2000, trên 22 loài cây thuốc khác nhau tại Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội, đã phát hiện được 28 loài côn trùng và sâu đo (*Corgatha dictaria* (Walker)) là loài gây hại chủ yếu.

- Qua 2 đợt thí nghiệm cho thấy nhiệt độ và ẩm độ có ảnh hưởng đến thời gian phát dục, nhiệt độ, ẩm độ cao thì thời gian phát dục ngắn lại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Viện Bảo vệ thực vật, 1997.*

Phương pháp nghiên cứu Bảo vệ thực vật. NXB Nông nghiệp.

2. Giáo trình côn trùng nông nghiệp. NXB Nông nghiệp, 1980.

3. *Bộ Y tế, 1983.*

Dược điển Việt Nam tập II. NXB Y học, Hà Nội.

4. *Võ Văn Chi, 1997.*

Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học.

NGHIÊN CỨU THUỐC MORANTIN CHỮA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TỪ QUẢ MƯỚP ĐẮNG - *Momordica charantia* L.

Đoàn Thị Nhu, Phạm Văn Thanh,
Phạm Kim Mãn, Nguyễn Thượng Dong,
Nguyễn Kim Phượng, Lê Minh Phương,
Phạm Thanh Trúc, Đinh Thị Thuyết và cộng sự

I. NGHIÊN CỨU DƯỢC LÝ VÀ ĐỘC TÍNH

1. Nghiên cứu tác dụng của cao cồn 40° và chế phẩm Morantin từ quả mướp đắng trên đường máu của thỏ bình thường

Thỏ được cho uống một liều duy nhất cao cồn mướp đắng hoặc cho uống Morantin mỗi ngày một lần trong 8 ngày liên tục. Đường máu được định lượng trước khi cho uống, và vào thời điểm 5 giờ sau khi cho thỏ uống liều cao cồn duy nhất, hoặc liều Morantin cuối cùng trong đợt cho uống 8 ngày. Những kết quả thí nghiệm cho thấy trên thỏ có đường máu bình thường, quả mướp đắng khô cho uống dưới dạng cao cồn 40° với một liều 10g/kg, và Morantin cho uống liều hàng ngày 1g/kg trong 8 ngày liên tục không làm giảm đường máu một cách có ý nghĩa so với đường máu của thỏ đối chứng.

2. Nghiên cứu tác dụng của cao cồn 40° quả mướp đắng trên đường máu của thỏ đái tháo đường

Thỏ được cho uống một liều cao cồn 40° quả mướp đắng vào sáng sớm ngày thứ 8 kể từ khi tiêm aloxan để gây đái tháo đường. Đường máu được đo ngay trước khi cho uống và 5 giờ sau khi cho thỏ uống thuốc. Kết quả thí nghiệm cho thấy cao cồn 40° mướp đắng (1ml = 1g quả mướp đắng khô) cho thỏ đái tháo đường uống một liều 10ml/kg thân trọng vào ngày thứ 8 kể từ khi tiêm aloxan, đã có tác dụng làm giảm đường máu 25,54% so với mức đường máu trước khi cho uống thuốc, ở thời điểm 5 giờ sau khi cho uống thuốc, trong khi ở nhóm thỏ đối chứng, đường máu tăng 4,4% ở cùng thời điểm. Sự khác nhau giữa hai mức biến đổi đường máu này có ý nghĩa thống kê cao ($P < 0,001$).

So sánh mức tăng đường máu của thỏ ở lô thử thuốc và lô đối chứng, ở thời điểm nêu trên, với mức đường máu bình thường trước khi tiêm aloxan, thấy rằng cao cồn 40° mướp đắng cho thỏ uống đã làm giảm mức tăng đường máu của thỏ đái tháo đường ở lô thử thuốc 70,47% so với mức tăng đường máu của thỏ ở lô đối chứng. Sự khác biệt giữa lô thử thuốc và lô đối chứng có ý nghĩa thống kê cao (P < 0,001).

3. Nghiên cứu tác dụng của glycosid và chế phẩm Morantin từ quả mướp đắng trên đường máu của thỏ đái tháo đường

Trong thí nghiệm này, glycosid mướp đắng hoặc Morantin pha thành nhũ dịch với nước cất được cho thỏ uống hàng ngày trong 8 ngày liên tục, bắt đầu từ ngày tiêm aloxan cho thỏ. Đường máu được định lượng theo phương pháp dùng men vào các thời điểm: trước khi tiêm aloxan, trước và 5 giờ sau khi cho uống liều glycosid mướp đắng hoặc Morantin cuối cùng vào ngày thứ 8. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Tác dụng của glycosid và Morantin từ quả mướp đắng trên đường máu của thỏ đái tháo đường**

Chế phẩm thử	*Liều hàng ngày trong 8 ngày, g/kg*	*Số thỏ thí nghiệm*	*Đường máu bình thường trước khi tiêm aloxan mg/100ml*	*Đường máu ở ngày 8 sau khi tiêm aloxan, mg/100ml*	*Độ tăng đường máu ở ngày 8 sau khi tiêm aloxan*		*Tỷ lệ % giảm mức tăng đường máu so với thỏ đối chứng*
					Tỷ lệ %	*P*	
Đối chứng	-	11	93,91±4,71	150,04±13,32	59,77±19,48		
Morantin	1g/kg ×8ngày	11	93,33±3,99	107,32±9,46	14,98±5,37	< 0,02	74,93%
Đối chứng	-	6	104,77±4,13	144,85±5,21	38,85±5,14		
Glycosid mướp đắng	0,9g/kg ×8ngày	6	100,13±4,25	123,37±7,2	23,20±6,42	< 0,10	40,28%

Kết quả thí nghiệm cho thấy:

1) Glycosid chiết từ quả mướp đắng, cho thỏ đã được tiêm tĩnh mạch aloxan để gây đái tháo đường uống với liều hàng ngày 0,9g/kg thân trọng trong 8 ngày liên tục, bắt đầu cho uống từ ngày tiêm aloxan, đã làm giảm mức tăng đường máu ở lô thỏ thử thuốc so với mức tăng ở lô đối chứng 40,28% tuy sự khác biệt chưa đạt yêu cầu về tính thống kê với liều lượng glycosid đã thử nghiệm (P < 0,10).

2) Morantin là hỗn hợp của glycosid mướp đắng và chất phụ gia P cho thỏ được gây đái tháo đường bằng aloxan uống với liều hàng ngày 1g/kg thân trọng trong 8 ngày liên tục, bắt đầu cho uống từ ngày tiêm aloxan, đã có tác dụng làm giảm mức tăng đường máu ở lô thỏ thử thuốc so với mức tăng ở lô thỏ đối chứng 74,93%.

Mức tăng đường máu so với đường máu ban đầu trước khi tiêm aloxan ở lô thỏ đối chứng là 59,77%, và chỉ là 14,98% ở lô thỏ uống Morantin. Sự khác biệt về mức tăng đường máu ở các lô thỏ đối chứng và thử thuốc có ý nghĩa thống kê ($P < 0,02$). Như vậy sự phối hợp glycosid mướp đắng với chất phụ P đã làm tăng rõ rệt hoạt tính hạ đường máu của mướp đắng. Chất phụ gia có thể ảnh hưởng về dược động học của glycosid mướp đắng.

4. Nghiên cứu tác dụng của saponin mướp đắng, của phần còn lại của cao mướp đắng sau khi đã chiết glycosid, và chất phụ gia P trên đường máu của thỏ đái tháo đường

Trên những lô thỏ khác nhau được gây đái tháo đường bằng aloxan, cho uống liều hàng ngày là lượng saponin chiết từ 50g quả mướp đắng khô, hoặc phần còn lại của cao cồn chiết từ 50g quả mướp đắng khô sau khi đã chiết glycosid, hoặc 0,10g chất phụ gia P cho 1kg thỏ trong 8 ngày liên tục, bắt đầu cho uống từ ngày tiêm aloxan.

Kết quả thí nghiệm cho thấy saponin mướp đắng, phần còn lại của cao mướp đắng sau khi đã chiết glycosid, và chất phụ gia P đều không có tác dụng gây hạ đường máu trên thỏ đái tháo đường.

5. Nghiên cứu độc tính cấp tính của Morantin

Kết quả thử độc tính cấp tính cho thấy Morantin cho chuột nhắt trắng uống dưới dạng dịch treo với liều tăng dần từ 10g đến 31g/kg thân trọng chuột (gấp 400 đến 1240 lần liều dùng trung bình một ngày cho người, tính theo kg thân trọng, đã không gây chết con chuột nào, chứng tỏ Morantin không độc. Thể trạng chuột bình thường, không có biểu hiện mệt mỏi, ăn uống hoạt động bình thường.

Không thể tăng thêm liều, vì nếu tăng thêm, sẽ phải đưa vào dạ dày chuột một thể tích vượt mức cho phép, sẽ gây giãn dạ dày cấp tính và gây chết chuột.

6. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Morantin

1) Ảnh hưởng trên các thông số huyết học và hoá sinh

Morantin cho thỏ uống hàng ngày với liều 0,3g/kg/ngày trong 30 ngày liên tục đã không ảnh hưởng một cách có ý nghĩa đến trọng lượng thỏ, đến các thông số xét nghiệm về chức phận tạo máu (số lượng hồng cầu, bạch cầu, tỷ lệ huyết sắc tố), về chức năng gan (tỷ lệ protein toàn phần, hoạt độ của các men GOT và GPT trong huyết thanh, và về chức năng thận (tỷ lệ creatinin và urê trong huyết thanh).

2) Ảnh hưởng về mô học trên các cơ quan: gan, thận và thượng thận

Các kết quả thí nghiệm cho thấy Morantin cho thỏ uống với liều hàng ngày 0,3g/kg thân trọng trong 30 ngày liên tục, không gây ra những biến đổi khác thường về mô học trên các cơ quan gan, thận và thượng thận.

II. NGHIÊN CỨU HOÁ THỰC VẬT

1. Phân tích định tính thành phần hoá học của mướp đắng

Chiết xuất bột quả mướp đắng bằng các dung môi và kỹ thuật thích hợp và làm các phản ứng hoá học, đã xác định quả mướp đắng chứa những chất sau đây: glycosid, alcaloid, saponin, protein, tanin, acid hữu cơ, chất béo, đường khử.

2. Định lượng một số thành phần hoá học trong quả mướp đắng

Đã định lượng một số thành phần hoá học trong quả mướp đắng, có kết quả là glycosid: 3,19%; saponin: 6,21%; alcaloid: 0,12%.

Qua kết quả thử dược lý (trình bày trong phần nghiên cứu dược lý), đã xác định glycosid là nhóm hoạt chất có tác dụng gây hạ đường máu ở thỏ đái tháo đường.

3. Nghiên cứu phần aglycon của nhóm glycosid từ quả mướp đắng

Bằng phổ khối và phổ cộng hưởng từ hạt nhân, đã xác định sự có mặt của cucurbit - 5ene - 3,22, 23, 24, 25 pentol trong thành phần các aglycon của nhóm glycosid.

4. Nghiên cứu định lượng glycosid trong các bộ phận khác nhau của cây mướp đắng

Kết quả cho thấy glycosid có trong lá: 2,1%; trong thân: 2,5%; trong gốc rễ: 2,25%; và trong quả: 3,19%.

III. NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT, BÀO CHẾ VÀ TIÊU CHUẨN HOÁ

Đã hoàn thành xây dựng quy trình chiết xuất bột Morantin, bào chế viên nang, và xây dựng tiêu chuẩn kiểm tra chất lượng viên nang Morantin được cơ quan có thẩm quyền thẩm duyệt.

IV. KẾT LUẬN

Thuốc Morantin là glycosid chiết xuất từ quả mướp đắng có tác dụng hạ đường máu rõ rệt trên thỏ đái tháo đường và không độc, sẽ góp phần quan trọng vào việc điều trị bệnh đái tháo đường hiện có tốc độ phát triển rất nhanh ở nước ta.

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU BƯỚC ĐẦU VỀ MẶT THỰC VẬT CỦA CÂY MƯỚP ĐẮNG TRỒNG Ở VIỆT NAM

Phạm Văn Thanh, Nguyễn Tập

SUMMARY

Botanical studies have revealed that all form of bitter gourd cultivated in Viet Nam belong to the same species of Momordica charantia L. (Cucurbitaceae). At least 3 cultivars have been distinguished.

Key - words: *Momordica charantia L., Botanical studies, Cultivars.*

*
* *

I. MỞ ĐẦU

Mướp đắng là cây trồng khá quen thuộc ở Việt Nam và nhiều nước châu Á khác như Ấn Độ, Indonesia, Philipin, Malaysia, Thái Lan, Lào, Campuchia và Trung Quốc (1, 4, 6, 9, 11, 12, 13, 15). Cây trồng chủ yếu để lấy quả non làm rau ăn. Trong y học, mướp đắng được dùng phổ biến ở nhiều nơi để chữa đái tháo đường, sốt, đau dạ dày, rôm sảy, ho, viêm họng, kiết lỵ, trĩ và ngộ độc (3, 4, 5, 6, 7, 10, 12, 13, 15). Có tài liệu còn cho biết hợp chất chiết được từ hạt có tác dụng ngừa thai (13).

Để góp phần nghiên cứu sử dụng mướp đắng có hiệu quả hơn, chúng tôi xin giới thiệu một số kết quả nghiên cứu bước đầu về mặt thực vật của cây mướp đắng trồng ở Việt Nam hiện nay.

II. KẾT QUẢ

1. Về phân loại thực vật học

1) Dẫn liệu phân loại

Chi *Momordica* L. thuộc họ Cucurbitaceae có khoảng 45 loài đã biết. Đa số là cây trồng, tập trung chủ yếu ở châu Phi, một số loài ở châu Mỹ. Châu Á chỉ có

khoảng 5 – 7 loài (1, 6, 9, 13, 14). ở Đông Dương, theo F. Gagnepain, 1921, ch *Momordica* L. có 6 loài, song thực tế chỉ ghi có 5, còn loài *Momordica macrophylla* Gage. Chỉ có ở Xieng - Mai thuộc Thái Lan chứ không phải ở Đông Dương (6). Đến năm 1975, M. Keraudren – Aymonin công bố ở cả Campuchia, Lào và Việt Nam chỉ có 4 loài (9). Theo Phạm Hoàng Hộ (1991) và Nguyễn Hữu Hiến (1994), chi *Momordica* L. ở Việt Nam có 3 loài là *Momordica charantia* L.; *Momordica cochinchinensis* (Luor.) Spreng. (*Muricia cochinchinensis* Lour.) và *M. subangulata* Blume (*M. eberhardtii* Gagnep., *M. laotica* Gagnep.) (1, 7, 8). Điều đáng lưu ý là trong các tài liệu trên, các tác giả đều thống nhất xác định cây mướp đắng trồng ở Việt Nam cũng như ở các nước khác trong khu vực là loài *Momordica charantia* L. (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14). Một trong những đặc điểm quan trọng nhất để phân biệt mướp đắng với các loài khác cùng chi là lá bắc của mướp đắng đính ở phía gốc hoặc sát gốc cuống hoa, còn ở các loài khác thì ngược lại (1, 4, 6, 7, 9, 11).

Các tiêu bản của tên gọi là "mướp đắng", hiện đang lưu trữ tại phòng tiêu bản – Viện Dược Liệu có: Tiêu bản số 1978A và B (Đỗ Huy Bích, Đỗ Đăng Lý; Yên Mông, Kỳ Sơn, Hoà Bình; 32/1/1965); số 3363A, B vàC – Mướp đắng quả tròn (Nguyễn Triều; Tân Phong, Phù Yên, Sơn La; 28/5/1996); số 3368A và B (Nguyễn Tập, Phạm Văn Thanh; Duyên Hà, Thanh Trì, Hà Nội; 2/6/96); số 3369A và B (Phạm Văn Thanh, Ngô Văn Trại; Đông Dư, Gia Lâm, Hà Nội; 7/6/1996). Khi đối chiếu chúng với nhau, chúng tôi thấy không có gì sai khác với mô tả của loài *Momordica charantia* L. đã được công bố (1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14).

2) Mô tả

Tên Việt Nam: Mướp đắng (miền Bắc); khổ qua, ổ qua (miền Nam); mướp mủ, chua hao (Mường – Thanh Hoá); má hói khôm (Tày – Cao Bằng, Lạng Sơn).

Tên khác: mrôah' (Campuchia); phăk, 'hả, haix, 'saix (Lào); paria, pare (Java – Indonesia); peria, paippa, peiok (Malaysia); ampalaya, palia (Philipin); mara, phakha (Thái Lan); kareli, karela (Hindu – Ấn Độ); bitter gourd (Anh); margose amère (Pháp).

Tên khoa học: *Momordica charantia* L. 1753, Cucurbitaceae.

Đặc điểm hình thái

Dây leo tua cuốn, sống một năm. Thân thường có cạnh; lúc non có lông nhất là ở ngọn, sau nhẵn. Lá mọc so le, có cuống dài 3 - 5 cm, có lông, phiến lá gần hình tròn, dài 3 - 10 cm, rộng 4 - 9 cm, thường xẻ 5 - 7 thuỳ, gốc lá hình tim, mép khía răng; 5 - 7 gân hình chân vịt, mặt dưới có lông. Hoa đực và hoa cái mọc riêng lẻ ở kẽ lá, màu vàng, đường kính hoa 1,5 - 2,0 cm. Hoa đực có cuống dài 3 - 8 cm, có lông; lá bắc hình thận, đính ở 1/3 hoặc gần sát gốc cuống hoa; 5 lá đài hình ô van,

mặt ngoài có lông, 5 cánh hoa hình thìa mỏng, 5 - 7 gân mờ; 3 nhị rời, bao phấn màu vàng sẫm, thường dính nhau và vặn thành hình chữ S. Hoa cái cũng có cuống, dài 4 - 10 cm, có lông; lá bắc xẻ thuỳ, đính về phía hoặc gần sát gốc cuống hoa, đài và cánh hoa giống hoa đực; nhụy ngắn, đầu nhụy gồm 3 khối, màu vàng sẫm, dính nhau ở dưới tạo thành hình nón tù. Bầu hình thoi dài, có nhiều gai nhọn, kích thước bầu 1,5 - 3,0 cm x 8,0 - 20,0. Quả hình trụ, hình con thoi hoặc hình cầu nhọn ở 2 đầu; kích thước quả thay đổi theo từng giống từ 3 đến 6 cm (đường kính) x 4 - 20 cm hoặc hơn (chiều dài). Vỏ nhiều gai tù hoặc nhọn, đôi khi các gai tù dính sát nhau tạo nên các đường gân tròn chạy dọc quả. Màu sắc quả cũng thay đổi theo từng giống: màu xanh, xanh nhạt, xanh trắng..., khi chín chuyển sang màu vàng da cam có phớt hồng, thường nứt thành 3 mảnh dọc, lộ ra phần áo hạt màu đỏ. Hạt nhiều, hình răng ngựa hoặc hơi giống hình con rùa, dẹt, thắt lại ở hai đầu; có vỏ cứng, màu nâu vàng hay nâu nhạt, có nốt sần và các nếp nhăn ở cả hai mặt, vùng giữa hạt nhẵn; xung quanh hạt là những hàng răng tù; kích thước hạt cũng thay đổi theo từng giống:4 - 8 x 6 - 13 x 1,5 - 2,5 mướp đắng.

Mùa hoa quả phụ thuộc thời vụ gieo trồng ở các nơi khác nhau và có thể kéo dài đến 2 tháng

2. Sự khác biệt của quả và các giống mướp đắng

1) Quan điểm chung

Loài *Momordica charantia* L. là một cây trồng đã được thuần hoá từ lâu. Có tài liệu cho rằng, cây được trồng đầu tiên ở Ấn Độ và Nam Trung Quốc, hoặc ở châu Phi, cùng với việc buôn bán nô lệ, sau lan sang châu Mỹ và các nơi khác (9, 11, 14). Theo M.E.C. Reyers, B. H. Gildemach và G. J. Jansnen, 1993, mướp đắng có hai quần thể mọc hoang và trồng trọt, tương đương với hai thứ khác nhau. Quần thể trồng trọt đã trở nên khá phong phú với các giống khác nhau (13). Căn cứ vào kích thước, màu sắc bên ngoài của quả, có thể chia các nhóm trồng trọt thành 2 nhóm chính (cũng gọi là thứ – var.). Nhóm thứ nhất: var. *minima* Williams et Ng., quả có màu xanh, đường kính < 5cm, hạt có kích thước 13 – 14,5 x 6,8 – 8,5mướp đắng. Nhóm này gồm 3 loại: quả dài (12 – 22cm), quả trung bình (8 – 12cm) và quả ngắn (6 – 7,5cm). Nhóm thứ 2: var. *maxima* Williams et Ng., quả màu trắng hay trắng xanh, đường kính > 5cm, kích thước hạt: 14,8 x 8,5mm. Nhóm này chia thành 2 loại quả: quả trung bình, màu trắng (dài 12 – 17cm) và quả dài, màu xanh hay trắng xanh (20cm) (13). Tuy nhiên, sự khác biệt của các loại quả kể trên chưa được coi là những dấu hiệu có ý nghĩa về mặt phân loại thực vật và cách phân chia như vậy còn mang tính chất nhân tạo (13, 14). Vốn là một cây trồng lâu đời, lại thường xuyên có sự thuần hoá từ nơi này đến nơi khác hoặc lai tạo giống mới, nên sự khác

biệt đó chỉ là biểu hiện của các giống trồng trọt khác nhau trong cùng một loài *Momordica charantia* L. mà thôi.Chính vì thế mà ở Ấn Độ, người ta cũng căn cứ vào sự khác biệt của quả, nơi trồng và thời vụ để chia thành 9 giống mướp đắng khác nhau (14). Còn ở Philipin có 4 giống mướp đắng trồng phổ biến, trong đó 2 giống là loại lai F_1 (13).

2) Dẫn liệu về quả của một số giống mướp đắng trồng ở Việt Nam

Tróng quá trình nghiên cứu về sinh học và dược học, chúng tôi phát hiện cây mướp đắng trồng ở nước ta cũng có nhiều dạng quả khác nhau về hình dạng, kích thước và màu sắc của quả khi còn xanh. Những dẫn liệu này được tổng hợp ở bảng 1.

***Bảng 1.* So sánh về một số giống mướp đắng trồng ở Việt Nam**

TT	*Nơi lấy mẫu*	*Thời điểm nghiên cứu*	*Số quả trong mẫu N.C*	*Đặc điểm của quả*			
				Hình thái bên ngoài của quả	*Chiều dài (cm) Trung bình*	*Đ.kính T.B (cm)*	*Khối lượng (Gam) Trung bình*
1	Đông Dư Gia Lâm Hà Nội	9.6.1996	59	Quả to, dài, màu xanh nhạt, gai tù, thịt quả dày, vị đắng	18,47	4,15	128,07
2	Đà Lạt Lâm Đồng	22.9.1998 25.10.1996	62	Quả to, màu xanh nhạt, gai tù, có nhiều đường gân tròn dọc theo quả, thịt quả dày, vị đắng ít	15,05	4,73	113,89
3	Đa Nhiễm Văn Giang Hưng Yên	17.5.1997 22.5.1998	60	Quả to, ngắn màu trắng xanh, gai nhọn, nhiều, thịt quả mỏng, ruột xốp, vị đắng ít	13,05	4,20	68,34
4	Thị xã Cao Bằng	28.5.1996	42	Quả nhỏ, dài và hơi cong, màu xanh thẫm gai hơi nhọn nhiều, thịt quả dày, vị đắng nhiều.	18,55	3,00	62,89
5	Tân Phong Phù Yên Sơn La	2.6.1996	10	Quả nhỏ nhất, hơi tròn và nhọn đột ngột ở hai đầu; màu xanh nhạt, gai tù, thịt quả mỏng, vị đắng ít	4,49	2,59	11,85

Qua các dẫn liệu trên, những sai khác về hình dạng, kích thước và màu sắc bên ngoài của quả là những đặc điểm khá rõ nét để phân biệt các giống mướp đắng. Năm mẫu nghiên cứu có thể phân ra thành 3 giống khác nhau:

- Giống thứ nhất: Quả to, dài, thẳng, màu xanh nhạt hoặc trắng, gai tù (các mẫu số 1, 2, 3).

- Giống thứ hai: Quả dài và hơi cong, màu xanh, gai nhọn (mẫu số 4).

- Giống thứ ba: Quả nhỏ, hơi tròn và nhọn ở hai đầu, xanh nhạt, gai tù (mẫu số 5).

Cách phân chia này về cơ bản cũng phù hợp với quan điểm đã nêu ở mục 2.1.

3. Đặc điểm sinh thái của mướp đắng

Mướp đắng là loại cây nhiệt đới, có biên độ sinh thái rộng, có thể trồng được ở nhiều nơi. Cây ưa ẩm, ưa sáng, trồng được trên nhiều loại đất, nhưng tốt nhất là đất pha cát dễ thấm nước và giàu chất hữu cơ. Tuy nhiên, cây nhạy cảm với điều kiện bị ngập úng. Mướp đắng sinh trưởng, phát triển tốt ở những vùng có nhiệt độ trung bình từ 20 đến 24°C, lượng mưa trên dưới 2000mm/năm. Do đó, mướp đắng không trồng được ở vùng có khí hậu á nhiệt đới, hơi lạnh như Sa Pa, Bắc Hà (Lào Cai), Sìn Hồ (Lai Châu)...

4. Kết luận

Qua những nghiên cứu bước đầu kể trên, có thể rút ra một số nhận xét như sau:

1. Mướp đắng trồng ở Việt Nam hiện nay bao gồm nhiều loại giống khác nhau. Song tất cả đều thuộc loài *Momordica charantia* L., họ Cucurbitaceae.

2. Nghiên cứu sự sai khác về hình dạng, kích thước và một số đặc điểm khác của 5 mẫu quả mướp đắng thu được, bước đầu có thể chia thành 3 giông khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. *C. A. Backer and R. C. Bakhuizen Van Den Brink, 1963.*
Flora of Java, vol. I, 229.

2. *Nguyễn Tiến Bân, 1997.*
Cẩm nang tra cứu và nhận biết các họ thực vật hạt kín ở Việt Nam. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 337.

3. *Võ Văn Chi, 1997.*
Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học, Hà Nội, 795.

4. *Vũ Văn Chuyên, 1971.*
Thực vật học, tập 2, NXB Y học, Hà Nội, 200 – 203.

5. *Lê Trần Đức, 1997.*
Cây thuốc Việt Nam – Trồng hái, chế biến, trị bệnh ban đầu, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 955 – 957.

6. *F. Gagnepain, 1912.*
Cucurbitaceae in: M. H. Lecomte, Flore Generale de L'Indochine,T. II; 1067 – 1072.

7. *Nguyễn Hữu Tiến, 1994.*
Tạp chí sinh học, 16 (4), 26, 1994.

8. *Phạm Hoàng Hộ, 1991.*
Cây cỏ Việt Nam. Montreal, tập 2 (quyển 1), tr 713.

9. *M. Keraudren – Aymonin, 1975.*
Cucurbitaceae in: A. Aubreville et J. Leroy, Flore du Laos, du Cambodge et du Vietnam; T. 15; Museum nationnal D'histoire Naturelle, 36 – 44.

10. *Đỗ Tất Lợi, 1991.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB KHKT, Hà Nội, tr. 814.

11. *Lu An – Ming et Zhang Zhi – Yun, 1986.*
Cucurbitaceae trong thực vật chí Trung Quốc, tập 73 (1), tr. 189 – 196 (tiếng Trung Quốc).

12. *A. Petelot et Ch. Crevost, 1982.*
Catalogue des produits de L'Indochine; T. V (fas. 1) – Produits medicinaux, 383.

13. *M. E. C. Reyes, B. H. Gildemacher and G. J. Jansen, 1993.*
Momordica L. in: Plant Resources of Southeast Asia, Pudor Scientific Publishers, Wageningen, Vegetable, 206 – 210.

14. B. N. Sastri et al., 1962.
The wealth of – India. Vol. VI; 408 – 413.

15. *Tuệ Tĩnh.*
Nam dược thần hiệu. Phòng tu thư huấn luyện – Viện nghiên cứu Đông y, NXB. Y học, Hà Nội (in lần thứ 2 có bổ sung), tr 27.

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH NHÓM HOẠT CHẤT CÓ TÁC DỤNG GÂY HẠ ĐƯỜNG MÁU TRÊN THỎ ĐÁI THÁO ĐƯỜNG THỰC NGHIỆM TRONG QUẢ CÂY MƯỚP ĐẮNG (*Momordica charantia* L.)

Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn,
Đoàn thị Nhu, Nguyễn Thượng Dong,
Nguyễn Kim Phượng, Lê Minh Phương, Vũ Kim Thu

SUMMARY

- The result of research showed that glycosid is active compound wich has effect of hypoglycemic on alloxan - diabetic rabbits. The effect of hypoglycemic will increase remarkably when adding one small amount of adjutant subtract "p" into glycosid.

Key words: *Momordica charantia L., glycosid, active compound, hypoglycemic, diabetic.*

*
* *

I. MỞ ĐẦU

Trên thế giới đã có nhiều công trình nghiên cứu quả mướp đắng. Về tác dụng sinh học các tác giả đã chứng minh mướp đắng có tác dụng chống bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) (1, 2, 3); Tác dụng ức chế hình thành khối u (4), chống gây đột biến (5), chống bệnh bạch cầu (6), tác dụng chống siêu virut HIV (7) và rất nhiều các tác dụng chữa bệnh khác trong y học cổ truyền, dân gian (8, 9).

Một số tác giả đã chứng minh được hoạt chất trong quả mướp đắng như: P. insulin (10), Charantin (11), vicin, pyrimidin nucleosid (12).

Các công trình nghiên cứu trên thế giới đã giúp chúng tôi rất nhiều trong việc phân tích định hướng đề tài. Tuy nhiên nghiên cứu về mướp đắng ở Việt Nam còn rất ít tài liệu, chưa tìm thấy tài liệu nào nghiên cứu hoạt chất, nghiên cứu phương

pháp tạo một thuốc chữa ĐTĐ từ hoạt chất của quả mướp đắng (MĐ). Vì vậy Viện Dược liệu đặt vấn đề nghiên cứu tạo một thuốc chữa ĐTĐ từ hoạt chất của quả MĐ, thuốc phải có được những ưu điểm của một dược phẩm hiện đại (sử dụng tiện lợi, điều trị có hiệu quả, bảo quản được lâu bền, hình thức đẹp). Việc nghiên cứu có nhiều bước, trong khuôn khổ bài viết này chúng tôi chỉ giới thiệu bước nghiên cứu xác định thành phần hoạt chất.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu

Mướp đắng giống quả to màu xanh nhạt (được trồng phổ biến ở hầu khắp các tỉnh trong cả nước) rửa sạch để ráo nước, thái thành lát mỏng rồi phơi hay sấy khô.

- Xử lý nguyên liệu để thử:

+ Bột quả (MC): lát quả MĐ khô xay thành bột mịn.

+ Cao cồn 40°: lát quả MĐ xay thành bột thô, chiết 3 lần với cồn 40° (1kg dược liệu/ 3lít cồn 40°). Dịch chiết tập trung lại, thu hồi chân không và cô thành cao (1kg dược liệu/1lít cao).

+ Glycosid: chiết theo phương pháp thay đổi độ phân cực của dung môi.

+ Saponin: phần cao cồn đã tách glycosid tách tiếp saponin bằng cách tủa với ete.

+ Phần còn lại: là phần còn lại của cao cồn 40° đã tách glycosid và saponin.

2. Phương pháp thử

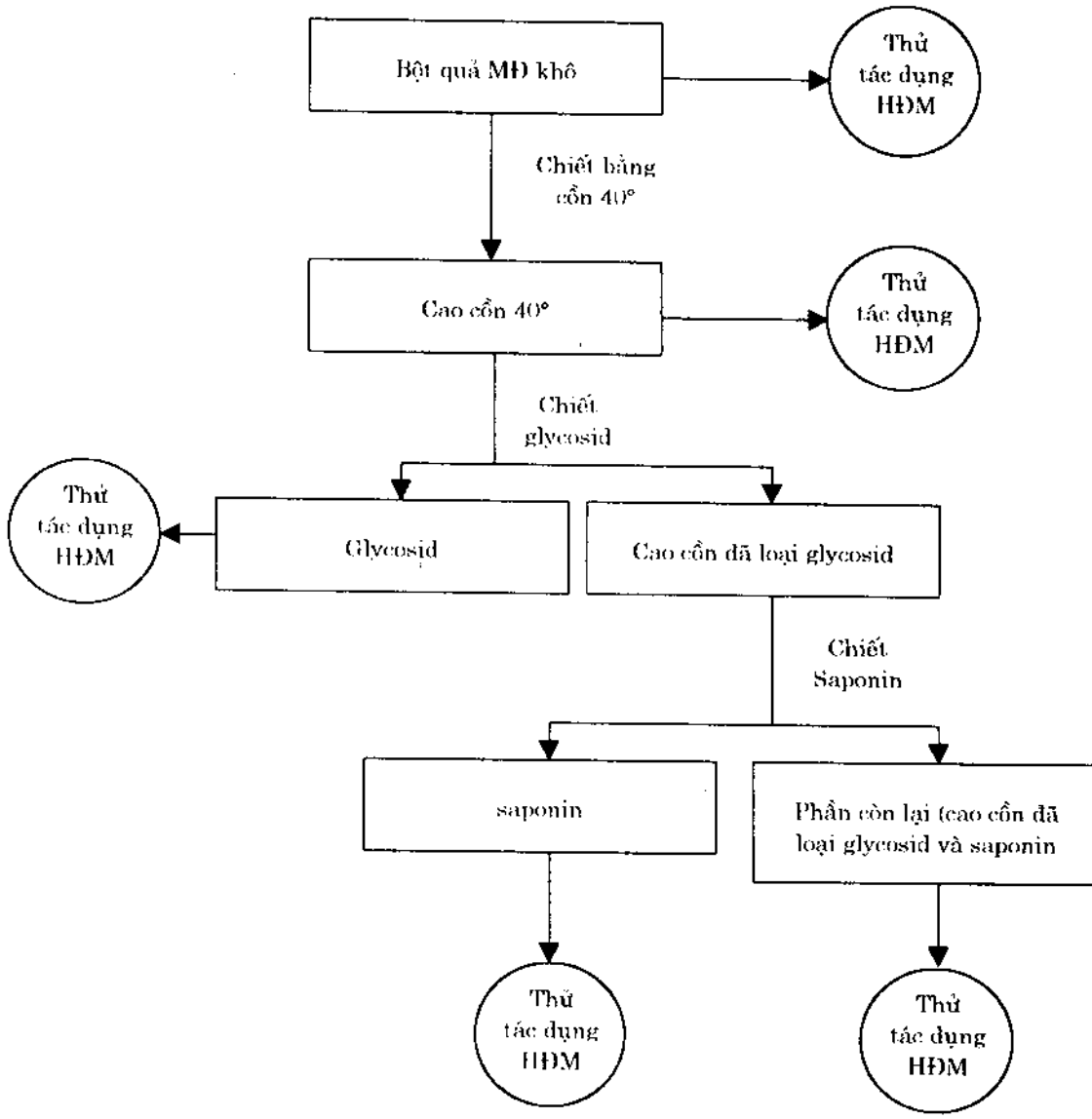
- Xác định nhóm hoạt chất được tiến hành theo sơ đồ (xem trang sau).

- Liều lượng thử: với bột MC và cao cồn 40° 1/1 thử với liều 10g dược liệu /1kg thể trọng thỏ; với glycosid, saponin, phần còn lại thử với liều quy ra dược liệu là 50g dược liệu /1kg thể trọng (dược liệu có độ ẩm 10%).

- Đánh giá tác dụng hạ đường máu trên thỏ gây đái tháo đường thực nghiệm theo phương pháp Loubatieres (13), Akhtar (14) và Nityanand (15) có sửa đổi một số chi tiết kỹ thuật cho phù hợp thỏ ở Việt Nam.

• Chuẩn bị thỏ thí nghiệm:

Nếu là thỏ phải mua ở nơi khác thì sau khi mua về nuôi khoảng 10 ngày cho thỏ ổn định quen với môi trường sống mới, sau đó chọn thỏ khoẻ mạnh chia đều cho lô thử thuốc và lô chứng, tỷ lệ đực cái và trọng lượng. Trước khi làm thí nghiệm cho nhịn đói 16 giờ và nhịn đói tiếp trong 5 giờ thử thuốc nữa.



• Thời gian định lượng đường máu

Tùy theo yêu cầu từng thí nghiệm nói chung định lượng ĐM vào các thời điểm: Lần 1: Trước khi tiêm aloxan (đường máu bình thường ở ngày thứ 8 sau khi tiêm aloxan); Lần 2: Trước khi uống thuốc; Lần 3: Sau khi uống thuốc 5 giờ.

• Phương pháp định lượng đường máu

- Phương pháp dùng men (GOD - PAP method) (16)

Nguyên tắc: Phản ứng ôxy hoá glucose thành acid gluconic được xúc tác bởi men glucose oxydase (GOD).

$$\text{Glucose} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Acid gluconic} + H_2O_2$$

H_2O_2 tạo thành sẽ bị men peroxydase phân hủy và giải phóng oxy. Oxy giải phóng sẽ oxy hoá 4 aminophenazon để tạo thành phức chất có màu đỏ tím. Cường độ màu tương ứng với lượng glucose và cho phép đo bằng phương pháp đo quang ở bước sóng 510nm.

$$2H_2O_2 + 4 \text{ aminophenazon} \xrightarrow{POD} \text{Quinoneimin} + 4H_2O \text{ (màu đỏ tím)}$$

• Gây dái tháo đường thực nghiệm

Thỏ được gây ĐTĐ thực nghiệm bằng cách tiêm tĩnh mạch aloxan monohydrat (hoà trong dung dịch NaCl 0,9%) với liều 150mg/kg.

• Cách cho thuốc thử nghiệm

Thuốc thử nghiệm được cho thỏ uống theo 2 cách cho thuốc sau đây:

- Cho uống một liều duy nhất vào sáng sớm ngày thứ 8 sau khi tiêm aloxan.

Hoặc cho uống thuốc hàng ngày bắt đầu từ ngày tiêm aloxan, trong 8 ngày liên tục.

III. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu tác dụng dược lý của bột MC (*Momordica charantia* L.) và cao cồn 40° của quả mướp đắng trên thỏ gây dái tháo đường (ĐTĐ) (bảng 1):

***Bảng 1.* Tác dụng hạ đường máu (ĐM) của bột MC và cao cồn 40° trên thỏ ĐTĐ**

Dạng thuốc thử	*Liều uống g/kg*	*ĐM bình thường mg/100ml*	*ĐM 8 ngày sau khi tiêm alloxan mg/100ml*	*ĐM sau khi uống thuốc 5 giờ mg/100ml*	*% biến đổi ĐM so với trước khi uống thuốc*		*% giảm mức tăng ĐM so với mức bình thường*	
					%	*P*	*%*	*P*
Đối chứng (n = 5)	-		191,6±9,1	178±8,7	- 6,6±1,2			
Bột MC (n = 5)	10		208,8±9,3	116±14,8	- 44,4±6,1	< 0,001		
Đối chứng (n = 4)	-	92,2±4,07	143,2±8,1	149,5±8,8	+4,4±0,2		0	
Cao cồn 40° (n = 5)	10	86,4±2,63	137,8±4,7	102,7±5,1	- 25,5±1,7	< 0,001	70,4±6,0	< 0,001

Các kết quả thí nghiệm cho thấy:

• Quả mướp đắng khi tán thành bột mịn cho thỏ được gây ĐTĐ bằng alloxan uống (khi hoà vào nước cất) với một liều duy nhất 10g/kg thể trọng vào ngày thứ 8 (kể từ khi tiêm alloxan) đã có tác dụng làm giảm ĐM 44,4% ở thời điểm 5 giờ sau

khi uống thuốc so với mức ĐM trước khi cho uống thuốc, trong khi mức giảm ĐM tự nhiên của lô thỏ đối chứng chỉ là 6,6% ở cùng một thời điểm. Sự khác nhau giữa 2 mức ĐM này có ý nghĩa thống kê $P < 0,001$.

• Cao cồn 40° (bào chế theo tỷ lệ 1g mướp đắng trong 1ml cao) cho thỏ ĐTĐ uống 1 liều duy nhất 10ml/kg thể trọng vào ngày thứ 8 kể từ khi tiêm alloxan, đã có tác dụng làm giảm ĐM 25,54% so với ĐM trước khi cho uống thuốc ở thời điểm 5 giờ sau cho khi uống thuốc, trong khi ở nhóm đối chứng, ĐM tăng 4,4% ở cùng thời điểm. Sự khác nhau giữa 2 mức biến đổi ĐM này có ý nghĩa thống kê cao ($P < 0,001$).

Xem xét mức tăng ĐM ở lô thử thuốc và lô đối chứng ở thời điểm nêu trên so với mức ĐM bình thường trước khi tiêm aloxan thấy rằng liều cao cồn 40° MĐ cho thỏ uống có tác dụng làm giảm mức tăng ĐM của thỏ gây ĐTĐ so với mức ĐM bình thường ban đầu với tỷ lệ 70,47%.

Sự khác biệt về kết quả thí nghiệm giữa lô thỏ thử thuốc và lô thỏ đối chứng có ý nghĩa thống kê cao ($P < 0,001$).

2. Thử tác dụng hạ đường máu của glycosid, saponin và phần còn lại:

Từ cao cồn 40° là dạng thử có tác dụng hạ đường máu đã tách thành 3 phần: glycosid, saponin và phần còn lại rồi thử tác dụng hạ đường máu. (bảng 2)

Bảng 2. **Kết quả nghiên cứu tác dụng của glycosid, saponin, phần còn lại trên thỏ ĐTĐ**

Chế phẩm thử	*Liều g/kg (dùng trong 8 ngày)*	*Số thỏ T.N*	*Đường máu bình thường trước khi tiêm alloxan (mg/100ml)*	*Đường máu sau khi uống thuốc 5 giờ vào ngày thứ 8 sau khi tiêm alloxan (mg/100ml)*	*Mức độ tăng đường máu (so sánh mức bình thường và mức gây tăng đường máu) (%)*	*Tỷ lệ % giảm mức tăng ĐM so với đối chứng*
Đối chứng	-	6	104,77 ± 4,13	144,85 ± 5,21	38,85 ± 5,14	40,28%
Glycosid	0,9g/kg	6	100,13 ±4,25	123,37 ± 7,2	23,20 ± 6,42	
Đối chứng	-	6	103,33 ± 4,8	214,34 ± 36,18	111 ± 36,2	0%
Saponin	9,1g/kg	6	104,53 ±4,46	216,03 ± 47,18	111,50 ± 51,49	
Đối chứng	-	6	103,33 ± 4,8	214,34 ± 36,18	111 ± 36,2	0%
Phần còn lại	5,5g/kg	6	103,83 ± 4,3	214,86 ± 35,92	111,96 ± 34,04	

Nhận xét: Glycosid làm giảm 40,28% mức tăng đường máu so với mức tăng của đối chứng. Còn phần saponin và phần còn lại không làm giảm phần trăm nào, như vậy glycosid là một thành phần hoạt chất của mướp đắng có tác dụng làm giảm đường máu.

Tuy nhiên khi tính P thì vẫn chưa đạt yêu cầu (0,1 > P > 0,05).

Trong khi cao cồn 40° thì tác dụng giảm đường máu có P < 0,001 và làm giảm tới 70,47% mức tăng của đường máu so với lô chứng. Điều này cho phép giả thiết rằng trong quả còn có những thành phần mà bản thân nó tuy không có hoạt tính gây hạ đường máu nhưng có tác dụng bổ trợ làm tăng hoạt tính gây hạ đường máu của glycosid.

Để giải quyết việc làm tăng tác dụng của glycosid, chất bổ trợ P là một trong các đối tượng được chọn thử vì trong y học cổ truyền chất bổ trợ P cũng hay được sử dụng.

3. So sánh tác dụng hạ đường máu của glycosid và glycosid thêm một lượng nhỏ chất bổ trợ P (bảng 3).

Bảng 3. **Tác dụng của glycosid và glycosid + chất bổ trợ P trên ĐM của thỏ ĐTĐ**

Lô thí nghiệm	*Liều dùng hàng ngày trong 8 ngày g/kg*	*Số thỏ T.N*	*Đường máu bình thường trước khi tiêm alloxan (mg/100ml)*	*Đường máu sau khi uống thuốc 5 giờ vào ngày thứ 8 sau khi tiêm alloxan*	*Mức tăng đường máu sau uống thuốc sovới bình thường (%)*	*Tỷ lệ % giảm mức tăng ĐM so với đối chứng*	*P*
Đối chứng	_	6	104,77 ± 4,13	144,85 ± 5,21	38,85 ± 5,14	40,28%	< 0,10
Glycosid	0,9g/kg	6	100,13 ±4,25	123,37 ± 7,2	23,20 ± 6,42		
Đối chứng	_	11	93,91 ± 4,71	150,04 ± 13,32	50,77 ± 19,48		
Glycosid + chất P	1g/kg	11	93,33 ± 3,99	107,32 ± 9,46	14,98 ± 5,37	70,5%	< 0,02

Nhận xét: Glycosid khi được sử dụng phối hợp với một lượng nhỏ chất bổ trợ P, tác dụng hạ đườngmáu tăng lên đáng kể.

4. Thử tác dụng của chất bổ trợ P trên ĐM của thỏ ĐTĐ (bảng 4)

Bảng 4. **Kết quả nghiên cứu tác dụng của chất bổ trợ P trên đường máu của thỏ ĐTĐ**

Lô thí nghiệm	*Liều uống hàng ngày trong 8 ngày*	*Đường máu của thỏ trước khi tiêm aloxan (ĐM bình thường g/100ml)*	*Đường máu của thỏ sau khi uống thuốc 5 giờ vào ngày thứ 8 sau khi tiêm aloxan mg/100ml*	*Mức độ tăng đường máu (%)*	*P*
Đối chứng (n = 6)		103,33 ± 9,1	214,34 ± 8,7	+ 107,43	
Chất bổ trợ (n = 7)	0,8g/kg	98,87 ± 4,7	186,64 ± 5,1	+ 88,77	P > 0,05

Nhận xét: So sánh sự thay đổi của mức đường máu giữa lô đối chứng và lô thử chất bổ trợ P thấy rằng sự thay đổi của 2 lô khác nhau không có ý nghĩa (P > 0,5) nói cách khác bản thân chất bổ trợ (với liều như trên) không có tác dụng gây hạ đường máu có ý nghĩa trên thỏ gây ĐTĐ bởi alloxan cho dù đã dùng liều thử cao gấp 8 lần liều phối hợp với glycosid.

IV. KẾT LUẬN

- Glycosid là nhóm hợp chất trong quả MĐ có tác dụng gây hạ ĐM trên mô hình thỏ gây ĐTĐ bởi alloxan.

- Glycosid khi được sử dụng phối hợp với một lượng nhỏ chất bổ trợ P tác dụng hạ ĐM tăng lên đáng kể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Krishnamurthy T.R, 1962.*
Antiseptic 1962, 59: 131.

2. *Lotlikar M.M, Rajarama Rao M.R, 1966.*
Ind. J. Pharmacy (28) 129 - 133.

3. *Loubatieres L, Trong Laurence D.R, Bacharach A.L, 1965.*
"Evaluation of drug activities": Pharmacometrics, Academic Press, London and New York, Vol 2, 789 - 800.

4. *Jilka - C; strifler - B; Fortner - GW; Hays - EF; Takemoto - D. J., 1983.*
"Invivo antitumor activity of the bittermelon (*Momordica charantia*)" Cancer - Res. Nov. 43 (11) 5151 - 5 (Medline 1983)

5. Guevara, Amelia P; Lim - Sylianco Clara; Dayrit, Fabian; Finch, Paul, 1990.
"Antimutagens from *Momordica charantia*" Mulat Res, 230 (2), 121 - 6 (C. A. 113: 148937 h).

6. *Takemoto D.J; Jilka C; Rockenbach S; Hughes J.V., 1983.*
"Purification and characterization of a cytostatic factor with anti - viral activity from the bitter melon", Prep. Biochem. Vol 13 No5 P.397 - 421.

7. Lee Huang S; Huang P. L; Naru - PL; Chen HC; Kung HF. Huang - P, Huang HI; Huang - PL. (1990). "MAP. 30; A new inhibitor of HIV - 1 infection and replication" *FEBS - Lett* - Oct. 15, 272 (2 - 2), 12 - 18.

8. *Viện Dược Liệu, 1993.*
Tài nguyên cây thuốc Việt Nam, Tr 532.

9. *Viên Đông Y, 1968.*

Thuốc nam và châm cứu, "Phần dược", NXB Y học HN Tr 90.

10. *Ng - Biochem; Wong - CM.; Li W.W.; Yeung HW., 1986.*

Insuline - like molecules in *Momordica charantia* seeds

J. Ethnopharmacol. Jan, 15 (1) 107 - 17.

11. *Wolfgang Sucrow, 1965.*

"Uber Steringglucoside und ein neues stigmastadienol aus *Momordica charantia*".Tetrahedron Lettera No 26, 2217 - 21.

12. *Raman A; Lau C., 1996.*

"Anti diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae)", Phytomedicine, 2 (4), 349 - 362 (C.A: 125: 48021j).

13. *Akhtar M.S., Akhtar M.A., Yaqub M., 1981.*

Planta Medica, 42: phương pháp 205 - 212.

14. *Nityanand S,Trong:xDhawan and C.S, 1984.*

The use of pharmacological techniques for the evaluation of natural products, UNESCO,Luckknow publishing house, India,61 - 68.

15. *Vũ Đình Vinh, Đặng Hanh Phức, Đỗ Đình Hồ, 1974.*

Kỹ thuật y sinh hoá, Trường đại học Quân y, NXB QĐND Tr 222 - 407.

XÁC MINH CẤU TRÚC CỦA AGLYCON G6 (TMND4) BẰNG PHỔ KHỐI LƯỢNG (MS) VÀ PHỔ CỘNG HƯỞNG TỪ HẠT NHÂN (N.M.R)

Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn,
Chu Đình Kính[1], Nguyễn Xuân Dũng[2]

ABTRACT

Structure determitation of the aglycon G6 (TMND4) by NMR and Mass spectrum

The major aglycon G6 (TMND4) was obtained from the hydrolysed product of the total glycosides from the green fruit of Momordica charantia L. by colum chromatography. Its structure was elucidated by MS and NMR spectrum as cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol.

Key words: *Momordica charantia L, Cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol antidiabet.*

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mướp đắng (*Momordica charantia* L) được trồng phổ biến ở nước ta và nhiều nước trên thế giới. Nó không chỉ là nguồn thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao mà còn là một dược liệu quý. Trong nhiều thập niên vừa qua nhiều nhà khoa học trên thế giới đã phát hiện và chứng minh trong quả mướp đắng có nhiều loại hợp chất với nhiều tác dụng sinh học, nổi bật là tác dụng hạ đường huyết. Trong y học cổ truyền cũng như trong dân gian, mướp đắng cũng đã được dùng để điều trị bệnh đái tháo đường.

[1] Viện Hoá học - Trung tâm KHTN và CNQG.
[2] Trung tâm GD - PT sắc ký Việt Nam.

Để góp phần khai thác có hiệu quả các giá trị của cây này ở Việt Nam đồng thời làm rõ thành phần hoạt chất có tác dụng làm hạ đường huyết, trên cơ sở đó tạo ra dạng thuốc ổn định có hiệu lực điều trị cao, thuận lợi trong sử dụng. Việc nghiên cứu về hoá học, xác minh cấu trúc của hoạt chất là điều rất cần thiết.

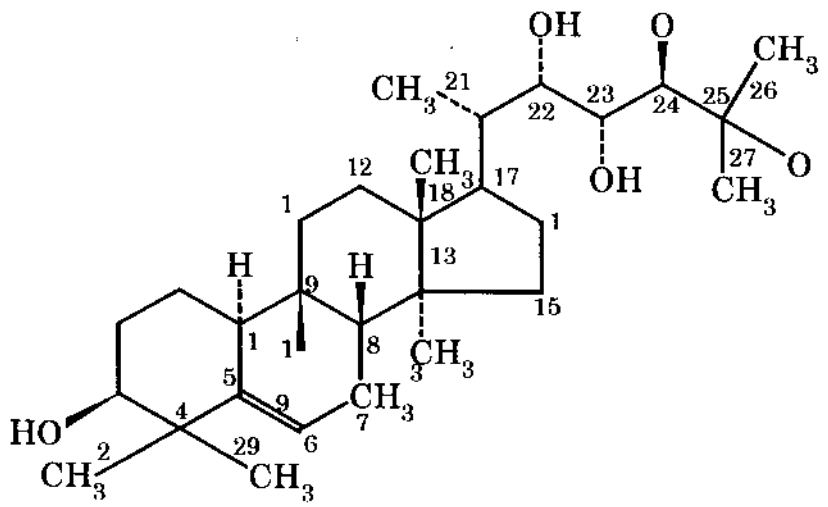
G6 (TMND4) được chiết tách từ sản phẩm thủy phân các glycosid của quả mướp đắng, hỗn hợp này qua thí nghiệm chúng tôi xác định là thành phần có tác dụng về sinh học với bệnh đái tháo đường. Việc xác minh cấu trúc của aglycon G6 (TMND4) trong thành phần chủ yếu tách từ nhóm hoạt chất của mướp đắng không những giúp việc nghiên cứu, xác định thành phần có tác dụng chữa bệnh đái tháo đường của dược liệu mà còn giúp cho việc xây dựng tiêu chuẩn của dược liệu và thuốc được thuận lợi.

II. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

Kết quả đo điểm chảy và phổ khối lượng của G6 (TMND4) đã gợi ý cho chúng tôi nghĩ đến việc so sánh G6 (TMND4) với một aglycon đã được công bố trên tài liệu là Cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol.

Trong bài báo này dựa vào phổ khối lượng (MS) và các loại phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D (^{1}H - NMR, ^{13}C - NMR, DEPT) và 2D (COSY, HMQC, HMBC) chúng tôi đưa ra những kết quả xác minh cấu trúc của aglycon G6 (TMND4).

Các công trình nghiên cứu trước đây đã đưa ra cấu trúc của cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol là:



Như vậy cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol có công thức cộng là $C_{30}H_{52}O_5$ với số khối chính xác là 492,738 m.v; mp: 193° - 195°. Để có thể ghi nhận

được pic phân tử bằng phổ khối mẫu nghiên cứu G6 (TMND4) đã được ghi trên phổ khối MALDI - TOF bằng phương pháp ion hoá giải hấp lase (Lase desorption ionisation). Chỉ số khối của pic phân tử trên phổ do thiết bị ghi nhận là 493,26mv, so với số khối của cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol là 492,738. Điều này dễ hiểu vì sai số số khối được phép đối với các thiết bị phổ thông thường là ± 0,5mv. Như vậy kết quả phổ khối cho phép chấp nhận số khối của mẫu đo là 492,7mv trùng với số khối phân tử của cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol.

Bảng 1. **Độ dịch chuyển hoá học (δ ppm)**
^1H - NMR của G6 (TMND4) Dung môi CDL_3; Thiết bị: 500MHz

TT	*Ký hiệu*	*δ ppm*	*Đặc điểm*	*Ghi chú*
1	- CH_3 (13)	0,90	3H vạch đơn	Các tín hiệu CH2 không phân giải phân bố trên một vùng rộng từ 0,9 đến 2,5 ppm.
2	- CH_3 (30)	0,92	3H vạch đơn	
3	- CH_3 (29)	0,95	3H vạch đơn	
4	- CH_3 (19)	0,97	3H vạch đơn	
5	- CH_3 (28)	1,27	3H vạch đơn	
6	= CH + CH_3 (21)	1,29	3H vạch đôi J = 6,4Hz	
7	HO - C + CH_3 (26)	1,63	3H vạch đơn	
8	(HO - C) - CH_3 (27)	1,78	3H vạch đơn	
9	- CH (17)	2,54	1H vạch bội	
10	- CH (8)	2,88	1H vạch ba J = 7,2Hz	
11	- CH (10)	3,45	1H vạch bội	
12	- CH (3)	3,80	1H vạch đơn rộng	
13	[- CH (OH)] - CH - OH (24)	4,90	1H vạch đôi J = 8,8Hz	
14	[- CH (OH)] - CH - OH (23)	5,17	1H vạch đôi J = 9,3Hz	
15	CH - OH (22)	5,70	1H vạch đôi J = 4,0Hz	
16	C = CH - (6)	6,12	1H vạch đôi rộng	

Phổ khối của phương pháp ion hoá giải hấp lase bao gồm rất ít mảnh vỡ, tuy nhiên dễ dàng nhận thấy pic cơ bản trong phổ là pic có số khối 477,25mv. Loại bỏ sai số pic này ứng với số khối 476,7mv, đây là mảnh vỡ ứng với sự cắt một nhóm OH trong cấu trúc của cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol. Điều đáng chú ý là pic mảnh vỡ này hoàn toàn tương ứng với pic phân tử của một hợp chất đã biết đó là cucurbit - 5 - ene - 3, 23, 24, 25 tetrol. Như vậy kết quả khảo sát khối phổ đã cho phép nhìn nhận mẫu G6 (TMND4) là cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol.

Việc phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân của mẫu đo được bắt đầu bằng phổ ^{13}C - 1D - NMR và phổ DEPT. Số lượng các pic cộng hưởng cho thấy mẫu có lẫn vết của sản phẩm chứa nối đôi trong mạch nhánh. Để loại bỏ những pic nhiễu cần kết hợp phân tích tổ hợp các loại phổ COSY, HMQC, HMBC. Ở phổ khối ^{13}C - NMR tồn tại nhiều pic trùng lặp hoặc chênh lệch quá nhỏ có thể đưa ra nhiều ví dụ: pic δ: 17,6ppm là pic của 2 nhóm CH_3 (C_{30} và C_{18}) pic δ = 23,9 là của CH_3 (27) và CH_2 (11), pic δ = 37,8 là của CH_2 (1) và CH (10). Ngoài ra còn nhiều cặp pic chỉ chênh lệch 0,01ppm. Để có thể phân tích phổ phải thiết lập đồng thời nhiều mối tương quan. Sự kết hợp các mối tương quan khác nhau cho phép gán phổ ^{13}C - NMR tương đối triệt để. Tuy nhiên điều đó lại không thực hiện được ở phổ ^{1}H - NMR. Tuy việc ghi các loại phổ proton được thực hiện trên máy 500 MHz, nhưng vùng CH_2 vẫn hầu như không phân giải. Mặt khác cũng không nhận ra được các pic của OH do tính không ổn định của các pic này. Do vậy kết quả giải phổ ^{1}H - NMR chỉ cho phép làm rõ các pic của CH_3 và OH, các mối tương quan của các pic này với các pic trong phổ ^{13}C - NMR.

Kết quả việc phân tích phổ ^{1}H - NMR được đưa ra ở bảng 1, kết quả phân tích phổ ^{13}C - NMR được đưa ra ở bảng 2.

Bảng 2. **Độ dịch chuyển hoá học (δ ppm)**
^{13}C - NMR của G6 (TMND4) Dung môi $CDCl_3$; Thiết bị 125MHz

TT	*Ký hiệu*	*δ ppm*	*TT*	*Ký hiệu*	*δ ppm*
1	CH_3 (29)	14,1	16	CH_2 (1)	37,8
2	CH_3 (21)	15,5	17	CH (10)	37,8
3	CH_3 (30)	17,6	18	CH (5)	39,8
4	CH_3 (18)	17,6	19	CH (8)	40,7
5	CH_3 (19)	21,6	20	C (13)	41,6
6	CH_3 (26)	23,8	21	C (9)	46,2
7	CH_3 (27)	23,9	22	C (14)	48,5
8	CH_2 (11)	23,9	23	CH (17)	53,4
9	CH_3 (28)	25,1	24	CH (23)	73,1
10	CH_2 (15)	25,2	25	CH (22)	73,7
11	CH_2 (2)	27,8	26	C (28)	73,7
12	CH_2 (16)	27,9	27	CH (24)	75,8
13	CH_2 (12)	31,2	28	CH (3)	85,5
14	C (4)	34,1	29	= CH (6)	105,3
15	CH_2 (7)	34,2	30	C = (5)	132,1

III. PHẦN THỰC NGHIỆM

Mẫu nghiên cứu G6 (TMND4) được tạo ra như sau:

- Quả mướp đắng thái lát phơi khô, nghiền nhỏ rồi chiết xuất theo phương pháp lấy glycosid, dung môi chủ yếu là cồn.

- Glycosid được thủy phân bằng H_2SO_4 10% trong thời gian 5 - 6 giờ ở nhiệt độ 100°C để nguội lọc lấy phần không tan, phần này được rửa nhiều lần bằng nước cất cho đến khi pH trung tính, sấy khô ở 70° - 80°C.

- Phần aglycon được chiết xuất bởi n Hexan từ phần sấy khô trên. Thu hồi dung môi được hỗn hợp aglycon.

- Hỗn hợp các aglycon được tách bằng phương pháp sác ký cột:

+ Chất nhồi cột là silicagel do viện Kiểm nghiệm sản xuất có cỡ hạt 40 - 160µ.

+ Dung môi triển khai là n Hexan - aceton (4:1).

+ Cho dung môi chảy với tốc độ 20 - 22 giọt/phút, mỗi phân đoạn hứng 6ml, với tổng số 272 phân đoạn. G6 (TMND4) nằm ở các phân đoạn 95 - 125 (kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng). Phần G6 (TMND4) ở cột tách ra để bay hơi dung môi đến khô được bột màu trắng xốp, trong metanol sẽ kết tinh hình kim không màu có nhiệt độ nóng chảy 191° - 194°.

- Phổ khối lượng được đo trên máy FINIGAN - MANDL - TOF (Anh). Mode: Reflector, Method: RPEPLM, Laser: 2680.

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được đo trên máy BRUKER 500 MHz (125MHz cho ^{13}C - NMR) dung môi $CDCl_3$ do GS_TS Kony W.A. giúp đỡ tại phòng thí nghiệm hoá hữu cơ trường đại học Hamburg (CHLB Đức).

IV. KẾT LUẬN

Kết quả phân tích phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân cho thấy mẫu chất G6 (TMND4) tách được có cấu trúc phù hợp với cucurbit - 5 - ene - 3, 22, 23, 24, 25 pentol.

Sự phân tích các loại phổ 1D (^1H - NMR, ^{13}C - NMR, DEPT) và 2D (COSY, HMQC, HMBC) cho phép đưa ra những giá trị về độ dịch chuyển hoá học được trình bày trên bảng 1 và 2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Fatope, Majekodunmi O et al, 1990.*
New cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* L. J. Nat. Prod, 53 (6) 1491 – 7.

2. *Zhu - ZJ, Zhong ZC, Luo ZY and Xiao ZY., 1990.*
Studies on the active constituents of *Momordica charantia* L. Yao - Hsueh - Hsueh - Pao, 25 (12) 898 - 903

3. *Okabe Hikaru et al., 1980.*
Studies on the constituents of *Momordica charantia* L, isolation and characterization of Momordicosides A and B glycosides of pentahydroxy - cucurbitane triterpene. Chem. Pharm. Bull 1980, 28 (9), 2753 - 62 (C.A 93: 235146m)

4. *Miyahara Yumi et al., 1981.*
Studies on the constituents of *Momordica charantia* L: II isolation and charaterization of minor seed glycoside momordicosides C, D and E. Chem. Pharm. Bull. 1981, 29 (6), 1561 - 6 (C.A 95: 111719x)

5. *Yasuda Mayumi et al., 1984.*
Structures of momordicines I, II and III the bitter principles in the leaves and vines of *Momordica charantia* L. Chem, Pharm. Bull 1984, 32 (5), 2044 - 7 (C.A 101: 107352x)

6. Dictionary of natural products 1994 1182 - 1183.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG HẠ ĐƯỜNG MÁU VÀ ĐỘC TÍNH CỦA CHẾ PHẨM MORANTIN

Đoàn Thị Nhu, Phạm Văn Thanh,
Phạm Kim Mãn, Nguyễn Thượng Dong,
Nguyễn Kim Phượng, Đinh Thị Thuyết,
Phạm Thanh Trúc, Lê Minh Phương

SUMMARY

Study of hypoglycemic effect and toxicity of the drug Morantin

The results of this study have shown that the drug Morantin prepared from the green fruit of Momordica charantia L. exerts hypoglycemic effect in alloxan - diabetic rabbits. The drug has been not toxic in the trials of acute and chronic toxicity in experimental animals.

Key words: *Momordica charantia L., Morantin, hypoglycemic, not toxic*

*
* *

1. MỞ ĐẦU

Ngày nay trong y học hiện đại đã có nhiều loại thuốc điều trị bệnh đái tháo đường. Thuốc tiêm như insulin, thuốc uống như những thuốc của nhóm sulfonylure, biguanid... được áp dụng rộng rãi trong điều trị bệnh đái tháo đường. Tuy nhiên các thuốc nói trên đôi khi còn có các tác dụng không mong muốn gây phiền toái cho người sử dụng, hoặc còn có hiện tượng kháng thuốc nghĩa là ngay từ đầu thuốc đã không phát huy được tác dụng hoặc khi sử dụng rồi đến một lúc nào đó thuốc sẽ kém hiệu lực hoặc không còn tác dụng nữa đặc biệt thuốc uống các nhóm này lại chống chỉ định với bệnh nhân đái tháo đường bị suy gan, suy thận, hoặc có cùng lúc một số bệnh khác.

Việc sử dụng cây cỏ làm thuốc chữa bệnh đái tháo đường đã có từ lâu đời, khoảng 1550 năm trước Công nguyên. Người ta đã thống kê có tới trên 400 cách chữa bệnh đái tháo đường, tuy nhiên mới chỉ một số ít trong số đó được chứng minh

về khoa học và y học. Hy vọng rằng các phương thuốc cổ truyền sẽ là những đầu mối để tìm ra các thuốc điều trị đái tháo đường mới.

Kinh nghiệm sử dụng cây thuốc để điều trị đái tháo đường ở Việt Nam cũng rất phong phú, có nhiều bài thuốc, cây thuốc được sử dụng. Một trong những cây hay được sử dụng là mướp đắng (*Momordica charantia* L.)

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu

Là chế phẩm Morantin, chế phẩm được tạo bởi 90% là glycosid chiết xuất từ quả mướp đắng và 10% là chất phụ gia khác

2. Phương pháp

1) Nghiên cứu tác dụng hạ đường máu của morantin trên thỏ gây đái tháo đường thực nghiệm

Áp dụng phương pháp được mô tả bởi Loubatières (3), Akhtar (1) và Nityanand (4) có sửa đổi một số chi tiết kỹ thuật cho phù hợp với thỏ ở Việt Nam.

2) Thử độc tính cấp (phương pháp Karber)

Chuột nhắt trắng được chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con, cho uống thuốc liều tăng dần từ lô 1đến lô 5, khoảng cách giữa các liều có thể không bằng nhau. Xác định liều tối đa không gây chết con chuột nào và liều tối thiểu gây chết toàn bộ chuột trong nhóm (LD 100) và một số liều trung gian. Theo dõi và ghi số chuột chết ở mỗi nhóm trong 3 ngày. Tính LD50 theo công Karber.

3) Thử độc tính bán trường diễn

Thỏ thí nghiệm được chia thành 2 lô: lô thử thuốc và lô đối chứng, lô thử thuốc uống chế phẩm cần thử, lô đối chứng uống nước cất với thể tích tương đương trong cùng thời gian. Theo dõi tình trạng chung của thỏ: cân nặng, chức phận tạo máu, chức năng gan và thận trong thời gian 30 ngày trước, 30 ngày trong và 30 ngày sau khi uống thuốc. Trong mỗi tháng lấy máu 2 lần vào các tuần thứ 2 và thứ 4 rồi làm các xét nghiệm hoá sinh và huyết học để theo dõi ảnh hưởng của thuốc. Làm xét nghiệm bệnh lý giải phẫu đại thể và vi thể gan, thận và thượng thận thỏ 1 tháng sau khi kết thúc việc cho uống thuốc.

4) Xử lý số liệu

Theo phương pháp phân tích thống kê bằng nghiệm pháp t của Student.

III. KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

1. Nghiên cứu tác dụng hạ đường máu trên thỏ đái tháo đường:

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Kết quả thử tác dụng hạ đường máu của Morantin trên thỏ đái tháo đường**

Lô thí nghiệm	*Liều dùng*	*Số thỏ T.N*	*Đường máu bình thường trước khi tiêm alloxan (mg/100ml)*	*Đường máu sau khi uống thuốc 5 giờ vào ngày thứ 8 sau khi tiêm alloxan*	*Mức tăng đường máu sau uống thuốc sovới bình thường*	*Tỷ lệ % giảm mức tăng ĐM so với đối chứng*	*P*
Đối chứng	..	11	93,91 ± 4,71	150,04 ± 13,32	50,77 ± 19,48		
Morantin	1g/kg	11	93,33 ± 3,99	107,32 ± 9,46	14,98 ± 5,37	70,5%	< 0,02

2. Nghiên cứu độc tính cấp của Morantin

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp tính của Morantin được trình bày ở bảng 2, kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Moranitn được trình bày ở bảng 3.

Bảng 2. **Thử độc tính cấp tính của Morantin**

Liều uống Morantin g/kg thể trọng	*Số chuột thí nghiệm*	*Số chuột chết ở mỗi liều*	*Tỷ lệ % chuột chết ở mỗi liều*	*Ghi chú*
10	10	0	0	Thể trạng chuột bình thường
20	10	0	0	
25	10	0	0	
30	10	0	0	
31	10	0	0	

Nhận xét: Kết quả thí ngiệm cho thấy Morantin cho chuột nhắt trắng ở các lô khác nhau uống với những liều tăng dần từ 10g đến 31g/kg thể trọng, đã không gây chết con chuột nào chứng tỏ Moratin không độc, thể trạng chuột bình thường không có biểu hiện mệt mỏi, ăn uống hoạt động bình thường.

3. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Morantin

Các kết quả thí nghiệm cho thấy:

Ở thỏ được uống hàng ngày Morantin với liều 0,3kg/ngàytrong 30 ngày liên tục, trong các thông số xét nghiệm về chức phận tạo máu, thấy số lượng hồng cầu,

bạch cầu không thay đổi có ý nghĩa. Tỷ lệ huyết sắc tố có thay đổi một chút sau khi kết thúc đợt cho thuốc. Như vậy Morantin đã không gây những tác dụng bất lợi trong thử nghiệm cho thuốc dài ngày.

Trong những thông số xét nghiệm về chức năng gan, thấy tỷ lệ protein toàn phần và hoạt độ của các men GOT và GPT trong huyết thanh không thay đổi, chứng tỏ Morantin đã không ảnh hưởng đến chức năng gan.

Trong những thông số xét nghiệm về chức năng thận, thấy tỷ lệ creatinin và urê trong huyết thanh không thay đổi.

Như vậy Morantin cho thỏ uống với liều hàng ngày 0,3g/kg (gấp 15 lần liều dự kiến dùng hàng ngày trong thử nghiệm lâm sàng cho người tính theo kg thể trọng) cho uống liên tục trong 30 ngày, đã không gây những ảnh hưởng bất lợi đến chức phận tạo máu và chức năng gan thận của động vật thí nghiệm.

Bảng 3. **Ảnh hưởng của Moranitn trên các thông số về huyết học và hoá sinh của máu thỏ**

Các thông số	*Lô thỏ chứng (Nước cất)*			*Lô thỏ uống Morantin (0,3g/kg/ngày x 30 ngày)*		
	Trước khi uống n = 6	*Trong khi uống n = 6*	*Sau khi uống n = 6*	*Trước khi uống n = 6*	*Trong khi uống n = 6*	*Sau khi uống n = 6*
Hồng cầu (triệu)/ml	4,11 ± 0,75	3,96 ± 0,23 P > 0,05	4,12 ± 0,10 P > 0,05	4,37 ± 0,15	4,15 ± 0,18 P > 0,05	3,94 ± 0,15 P > 0,05
Bạch cầu (nghìn)/ml	7,57 ± 0,75	6,81 ± 0,73 P > 0,05	6,87 ± 0,23 P > 0,05	6,87 ± 0,14	6,25 ± 0,44 P > 0,05	6,92 ± 0,09 P > 0,05
Huyết sắc tố (g/l)	87,31 ±4,28	81,87±7,84 P > 0,05	88,06± 5,43 P > 0,05	81,73± 1,34	81,56± 2,27 P > 0,05	91,02± 3,44 Tăng 11,4% P < 0,05
Protein toàn phần (g/dl)	6,23 ± 0,15	6,17 ± 0,21 P > 0,05	6,04 ± 0,06 P > 0,05	6,29 ± 0,12	6,49 ± 0,12 P > 0,05	6,25 ± 0,16 P > 0,05
GOT (UI/l)	45,89± 3,28	49,94± 7,72 P > 0,05	43,59± 3,26 P > 0,05	50,97± 4,79	45,92± 7,52 P > 0,05	45,03± 2,95 P > 0,05
GPT (UI/l)	106,13±14,88	113,24±14,57 P > 0,05	104,42±9,91 P > 0,05	93,15±7,99	93,26±4,80 P > 0,05	98,01± 6,69 P > 0,05
Urê (mgl/dl)	27,59± 5,88	23,83± 2,80 P > 0,05	28,24± 1,37 P > 0,05	25,59± 1,11	25,28± 2,07 P > 0,05	25,55± 0,86 P > 0,05
Creatinin (mg/dl)	0,269±0,006	0,275±0,013 P > 0,05	0,224±0,021 P > 0,05	0,264±0,005	0,272±0,009 P > 0,05	0,254±0,003 P > 0,05

• Ảnh hưởng của Morantin trên hình thể bên ngoài của các cơ quan gan, thận và thượng thận.

Các kết quả thí nghiệm cho thấy Morantin cho thỏ uống với liều hàng ngày 0,3g/kg thể trọng trong 30 ngày liên tục, không gây ra những biến đổi khác thường về mô học trên các cơ quan gan thận và thượng thận. Như vậy Morantin cho động vật uống dài ngày đã không gây những tổn thương thực thể ở gan, thận và thượng thận.

Morantin đã không ảnh hưởng tới trọng lượng cơ thể của thỏ trong và sau đợt dùng thuốc.

IV. KẾT LUẬN

- Chế phẩm Morantin có tác dụng hạ đường máu tốt trên thỏ gây đái tháo đường với alloxan

- Morantin không độc, không ảnh hưởng tới chức phận tạo máu và chức năng gan thận của thỏ thí nghiệm với liều gấp 15 lần liều dự kiến dùng hàng ngày trong thử nghiệm lâm sàng cho người tính theo kg thể trọng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Akhatar M. S., Akhatar M. A., Yaqub M., 1981.*
Planta Medica, 42: pp 205 - 212.

2. *Belenki M. L., 1963.*
Elementi Kolitchestvennoi osenki farmakologhitcheskovo effekta, gosudarstvennoe izdatelsvo meditsinskoi literaturi, Leningrad: 24 - 32. (Tiếng Nga).

3. *Loubatieres., trong Laurence D.R., Bacharach A.L., 1965.*
Evaluation of drug activities: Pharmacometries, vol 2 Academic Press, London and New York, 789 - 800.

4. *Nityananand S., trong Dhawan và C.S., 1984.*
The use of pharmacological techniques for the evanluation of natural products, UNESCO, Luc know Publishing House: 61 - 68.

5. *Vũ Đình Vinh, Đặng Hanh Phức, Đỗ Đình Hồ, 1974.*
Kỹ thuật y sinh hoá, Trường đại học Quân y: 222 - 407.

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG GLYCOSID THEO CHẤT G6 (CUCURBIT – 5 ENE – 3, 22, 23, 24, 25 PENTOL) TRONG SẢN PHẨM CHIẾT XUẤT LÀM THUỐC CHỮA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TỪ QUẢ MƯỚP ĐẮNG

Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn,
Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Thượng Dong,
Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Bích Thu

SUMMARY

The quantitative method of the total glycosid in the anti – diabet preparations extracted from Momordica charantia L. was studied.

The glycosid concentration in the preparations were measured at 242nm.

We also built up the different methods to calculate the result.

The method was simple, rapid with the high precision and accuracy.

Key - words: *Momordica charantia L. glycosid, quantitative.*

*
* *

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

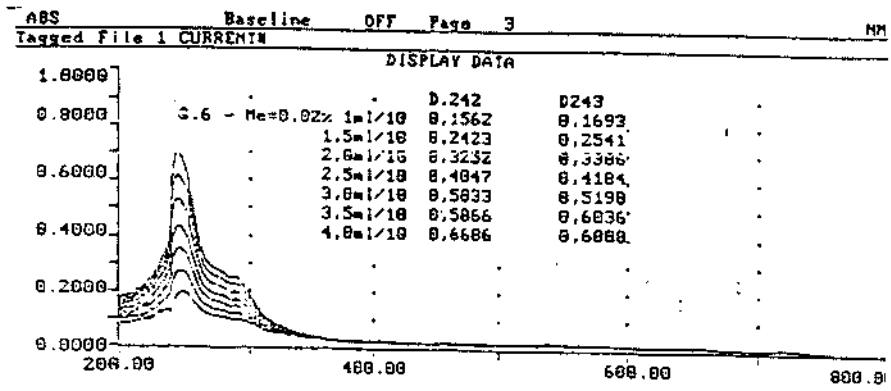
Mướp đắng (*Momordica charantia* L.) là cây trồng phổ biến, vừa là cây thực phẩm, vừa là cây thuốc có giá trị chữa bệnh cao. Tác dụng nổi bật của mướp đắng là gây hạ đường máu trên cơ thể bị đái tháo đường (týp 2).

Viện Dược liệu đã nghiên cứu thành công dạng thuốc nang chữa bệnh đái tháo đường từ quả mướp đắng. Hoạt chất có tác dụng hạ đường máu là glycosid đã được chứng minh. Sản phẩm glycosid chiết xuất đã được bào chế thành thuốc. Việc nghiên cứu phương pháp xác định hàm lượng glycosid trong sản phẩm chiết xuất được đặt ra nhằm tạo cơ sở để đánh giá, kiểm tra chất lượng bán sản phẩm trước khi tạo thành thuốc.

II. PHƯƠNG PHÁP

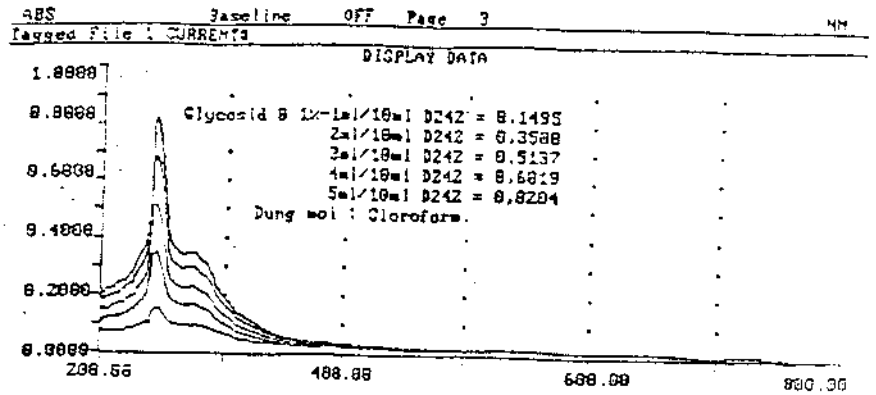
1. Cơ sở của phương pháp

Qua khảo sát độ hấp thụ ở bước sóng tử ngoại chúng tôi thấy rằng glycosid (sản phẩm chiết xuất) và chất G6 (Cucurbit – 5 ene – 3, 22, 23, 24, 25 pentol – Mp: 191° - 194° $[\alpha]^{20}$ +48°, trên SKLM hệ dung môi n hexan – aceton 4:1 Rf = 0,43, là một aglycon được phân lập sau khi thủy phân glycosid trong sản phẩm chiết) đều có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 242nm trong dung môi cloroform, độ hấp thụ phụ thuộc tuyến tính với nồng độ glycosid, G6 (phổ UV1, phổ UV2). Do vậy có thể xác định hàm lượng glycosid tính theo G6 bằng cách xây dựng một đồ thị đối chiếu của chất G6 (ở nồng độ có mật độ quang 0,200 - 0,800) vì ở mật độ quang này sự phụ thuộc giữa nồng độ chất và mật độ quang sẽ tuân theo định luật Lambert – Beer.



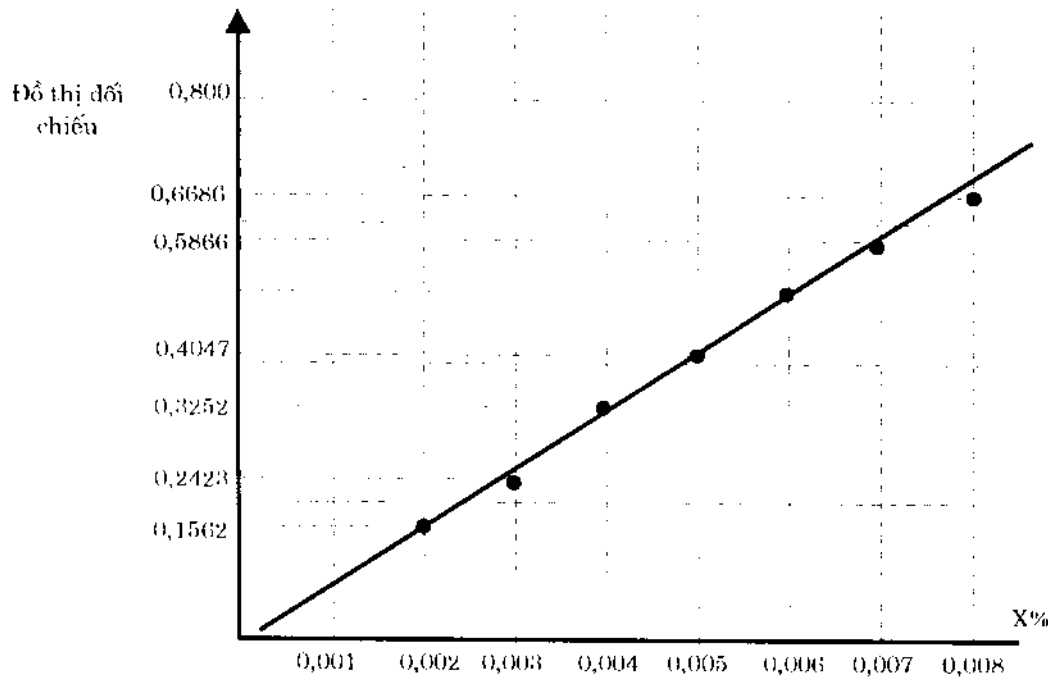
Phổ UV1 **Sự phụ thuộc tuyến tính giữa độ hấp thụ D và nồng độ glycosid X%**

2. Xây dựng đồ thị đối chiếu:



Phổ UV2: **Sự phụ thuộc tuyến tính giữa độ hấp thụ D và nồng độ chất G6.**

Căn cứ vào các cặp giá trị của nồng độ và độ hấp thụ tương ứng của G6 xác định được các điểm trên mặt phẳng của hệ trục toạ độ mà trục tung là độ hấp thụ D, trục hoành là nồng độ % của G6. Các điểm sẽ phân bố trên một đường thẳng, đường thẳng có dạng phương trình y = ax + b (1) còn gọi là phương trình hồi quy.



Sự phụ thuộc tuyến tính giữa D (Độ hấp thụ) và X (Nồng độ G6)

1) Tính hệ số a và b cho phương trình (1)

Dựa vào các giá trị của nồng độ, các dung dịch đã pha và mật độ quang đo được lập bảng các số liệu để tính trị số a và b.

Số liệu để tính hệ số a và b cho phương trình hồi quy.

TT	x_i	y_i	$x_i.y_i$	x_i^2	y_i^2
1	0,002	0,1562	0,0003124	0,000004	0,02439844
2	0,003	0,2423	0,0007269	0,000009	0,05870229
3	0,004	0,3252	0,0013008	0,000016	0,10575504
4	0,005	0,4047	0,0020235	0,000025	0,16378209
5	0,006	0,5033	0,0030198	0,000036	0,25331089
6	0,007	0,5866	0,0041062	0,000049	0,34409956
7	0,008	0,6686	0,0053488	0,000064	0,44702596
Σ	0,035	2,8869	0,0168384	0,000203	1,39707427

Hệ số a được tính theo công thức:

Hệ số b được tính theo công thức: $b = y - ax$

$$a = \frac{\sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \cdot \sum y_i}{n}}{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}$$

Từ bảng và công thức trên tính được:

$$\left.\begin{array}{l} a = 85{,}8535 \\ b = -0{,}0168 \end{array}\right\} \Rightarrow y = 85{,}8535x - 0{,}0168 \qquad (2)$$

2) Công thức tính hàm lượng

Từ phương trình (2), với mỗi giá trị đo được của y đều có thể tính được một giá trị tương ứng của x. Từ giá trị tính được của x có thể tính tiếp hàm lượng glycosid trong sản phẩm chiết theo công thức:

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

trong đó: C- hàm lượng glycosid cần tính (tính theo %);

X- giá trị nồng độ tính được theo phương trình;

a- khối lượng glycosid đã cân dùng cho định lượng;

b- độ ẩm.

3) Tính hệ số tương quan r

r = 0,9999 (rất tương quan).

3. Tính hàm lượng glycosid theo độ háp thụ phân tử

Cũng có thể tính hàm lượng glycosid trong sản phẩm chiết mà không cần vẽ đồ thị đối chiếu, bằng cách tính kết quả theo độ hấp thụ phân tử (ε) của chất đối chiếu G6:

$$\varepsilon = \frac{E_{1cm}^{1\%} \times M}{10}$$

trong đó: $E_{1cm}^{1\%}$ - độ hấp thụ của dụng dịch G6 ở nồng độ 1%;

M- trọng lượng phân tử của G6: 493;

ε- hệ số hấp thụ phân tử.

Hàm lượng glycosid của mẫu đo được tính theo công thức:

$$C_x = \frac{D_x \cdot V \cdot M_{(G6)} \cdot 100}{\varepsilon \cdot a \cdot V_1 (100 - b)}$$

Trong trường hợp cụ thể của glycosid và G6 thì:

Từ cột x_i và y_i của bảng số liệu tính được $E^{1\%}_{1cm}$ (trung bình) = 81,7

M (phân tử lượng) của G6 = 493, Vậy tính được ε = 4028

Công thức tính hàm lượng glycosid sẽ là:

C_x: Hàm lượng glucosid cần tính (tính theo %).

$$C_x = \frac{D_x \cdot V \cdot 493 \cdot 100}{4028 \cdot a \cdot V_1(100 - b)}$$

D_x: Mật độ quang của dụng dịch phân tích đã pha loãng.

V: Thể tích ban đầu của dụng dịch phân tích: (10ml).

V_1: Thể tích dung dịch phân tích lấy để pha loãng: (1ml).

a: Khối lượng mẫu phân tích (g).

b: Độ ẩm (%): 5%

493: Phân tử gam của G6 (Cucurbit – 5 ene – 3, 22, 23, 24, 25 pentol).

4028: Hệ số hấp thụ phân tử của G6.

III. KẾT QUẢ ĐỊNH LƯỢNG

Cân chính xác các mẫu 0,01g; 0,02g; 0,03g; 0,04g; 0,05g mỗi mẫu pha trong $CHCl_3$ thành 10ml dung dịch mẹ, sau đó lấy 1ml pha loãng thành 10ml rồi tiến hành đo độ hấp thụ D.

1. Kết quả định lượng

Sử dụng công thức của kết quả tính toán trên, kết quả định lượng như sau:

Kết quả định lượng

Tên mẫu	*Số gam glycosid mang pha dung dịch (độ ẩm 5%)*	*Trị số độ hấp thụ D*	*Kết quả tính. Hàm lượng glycosid theo G6 nhờ phương trình y = ax + b*	*Kết quả hàm lượng glycosid tính theo độ hấp thụ phân tử (ε)*
Mẫu 1	0,02g	0,3270	21,07%	21,18%
Mẫu 2	0,03g	0,5013	22,23%	21,52%
Mẫu 3	0,04g	0,6894	21,64%	22,20%
Mẫu 4	0,05g	0,8477	21,18%	21,84%
TB			21,53%	21,68%

Nhận xét: Kết quả định lượng glycosid tính theo phương trình hồi quy và tính theo độ hấp thụ phân tử (ε) của G6 là tương tự nhau.

2. Xác định độ lặp lại của phương pháp

Khảo sát trên một sản phẩm chiết, tiến hành định lượng glycosid theo 3.2.5.2. Lặp lại thí nghiệm 5 lần. Kết quả ở bảng cho thấy độ lặp lại khá cao: $\varepsilon_t = 2,48\%$

3. Xác định độ đúng của phương pháp

Dùng phương pháp cho thêm: Cân chính xác 5 mẫu "glycosid chiết xuất" mỗi mẫu 0,02g, mẫu "glycosid chiết xuất" có hàm lượng glycosid toàn phần tính theo G6 là 21,6%. Như vậy lượng glycosid có sẵn trong mỗi mẫu thử là 4,3mg (tính theo G6). Cho vào mỗi mẫu 2mg chất G6. Pha dung dịch và đo độ hấp thụ ở $\lambda = 242nm$. Kết quả độ đúng $\zeta_t = \pm 2,15\%$

IV. KẾT LUẬN

Đã xây dựng phương pháp định lượng glycosid trong sản phẩm chiết từ quả mướp đắng bằng phương pháp quang phổ tử ngoại.

- Kết quả định lượng tính theo phương trình hồi quy $y = ax + b$, hay tính theo độ hấp thụ phân tử (ε) là tương đương nhau (21,53% và 21,68%).

- Phương pháp có độ tương quan, độ lặp lại và độ đúng cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Việt Nam (in lần thứ 3) 2000 – Dự thảo.

2. *Trường đại học Dược Hà Nội, 1967.*
Hoá phân tích, NXB Y học và TDTT, Tr 220.

3. *Dr. L. Lang, 1965.*
Absorption speectra in the UV - VIS region – Akadémiai Kiadó, Budapest, V. S.

4. The Merck Index. Tenth edition 1983 p. 225.

5. Offical Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemistry, Eighth Edition 1955 p. 238 - 240.

6. USP. 23, I, 1995 p. 242.

7. Pharmacopea Rumania VIII. A. 1965 p. 192.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA CÂY MƯỚP ĐẮNG (*Momordica charantia* L.)

Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn,
Đoàn thị Nhu, Nguyễn Thượng Dong,
Nguyễn Kim Phượng, Vũ Kim Thu, Lê Minh Phương

SUMMARY

Researching the chemical composition of Momordica charantia L. and proving the effect of hypoglycemic of glycosid group on alloxan diabetic rabbits.

Fruit of Momordica charantia L. This strain of fruit is big, and light green grown popularly in Viet Nam. The result of researching has proved that:

- fruit contains following ingredients: - lipids; essential oil, protein, alcaloid, tannin, sterols, organic acid, glycosid, saponin monosacharides.

Analyzing by paper chromatography showing that there are eight pots of acid amin. (from hydrolytic peptid) and five pots of acid amin free.

- Analyzing by thin chromatography showed that: there are two spots of alcaloid and some spots of amine, glycosid has at least twelve spots; saponin has at lest eight spots.

The fruit contains 0,131% of alcaloid; 3,16% of glycosid; 5,5% of saponin.

- Glycosid found in the leave: 2,52%; trunk: 2,12% and in root: 2,27%.

*
* *

1. MỞ ĐẦU

Trong mấy thập kỷ vừa qua mướp đắng đã giành được sự quan tâm của nhiều tác giả, ở nhiều nước. Đã có nhiều công trình nghiên cứu về thành phần hoá học.

Các tác giả đã phân lập và xác định cấu trúc của nhiều loại hợp chất: 1) Các hợp chất thuộc nhóm glycosid như: Momordicosid A, B, C, D, E, F_1, F_2, I, G, K, L (1); Charantin (Hỗn hợp của 6 chất) (2); Cucurbitane triterpenoid I, II, III. (3); Momorcharasid I, II, III. (4); Momordicin I, II, III. (5) ; Nuomiosid A (Calceolariosid E) (6). 2) Các polypeptid – lectin: Nhiều protein đã xác định được chuỗi acid amin tận cùng, xác định được trọng lượng phân tử: MAP - 30 (7); MCI, MCTI: I, II, III (8); α, β momorcharin (9); Momorcharin I, II... (9); P_ insulin (10). 3) Các hợp chất khác: chất dẫn dụ côn trùng (11); chất màu: lycopen, β caroten (12); các acid amin (13); các chất khoáng Ca, Mg, Fe, Cu; Zn, P, N, I, F.. (14); các vitamin (15); các acid béo; các alcol, aldehyd (16).

Các công trình nghiên cứu công bố trên thế giới đã giúp chúng tôi rất nhiều trong việc phân tích và định hướng đề tài. Tuy nhiên điều cần thiết nhất mà chúng tôi quan tâm là phương pháp sản xuất một thuốc điều trị bệnh đái tháo đường có hiệu quả điều trị tốt, bền, đẹp, tiện lợi trong sử dụng thì chưa có tài liệu nào đề cập tới. Mặt khác nghiên cứu về mướp đắng trồng ở Việt Nam còn rất ít. Do vậy Viện Dược liệu đã tiến hành đề tài nghiên cứu thuốc điều trị đái tháo đường từ quả mướp đắng. Một trong các công việc đầu tiên của đề tài là phân tích thành phần hoá học của quả mướp đắng.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nguyên liệu

Quả mướp đắng thuộc giống quả to, màu xanh nhạt, được trồng phổ biến ở nhiều tỉnh trong đó có vùng ngoại ô của thành phố Hà Nội. Lấy những quả già chưa chín thái thành lát mỏng phơi hay sấy khô, rồi xay thành bột thô (để chiết xuất).

2. Phương pháp

+ Định tính bằng các phản ứng hoá học kết tủa, màu và sắc ký. (17) (18) (19) (20)

+ Định lượng dùng phương pháp cân. (19)

III. KẾT QUẢ

1. Định tính bằng phản ứng (xem bảng trang sau).

TT	Nhóm chất	Phản ứng	Kết quả	Kết luận
1	Chất béo	Nhỏ trên giấy lọc và bốc hơi	Để lại vết không khô	Có chất béo
2	Phytosterol	+ thuốc thử Lieberman	Có màu xanh lục	Có phytosterol
3	Ancaloid	+ thuốc thử Mayer	Có tủa rõ	Có ancaloid
		+ thuốc thử Bertrand	Tủa không rõ lắm	
		+ TT Munier (SKLM)	Có 2 vết màu đỏ cam	
4	Tanin	+ $NaCH_3COO$ tinh thể và $FeCl_3$	Xanh lơ lục	Có tanin
		+ với gelatin	Tủa trắng	
5	Acid hữu cơ	+ Na_2CO_3 tinh thể	Có sủi bọt	Có acid hữu cơ
6	Đường khử	+ thuốc thử Fehling	Có tủa đỏ nâu	Có đường khử
7	Protein	+ HNO_3 và thuốc thử Milon	Màu vàng chuyển thành màu đỏ	Có protein
8	Saponin	+ Tạo bọt	Có bọt bền vững	
		+ Phản ứng phá huyết	Có vòng phá huyết nhỏ	Có saponin
9	Glycosid	+ thuốc thử Thymol 20% và H_2SO_4 đặc	Xuất hiện màu đỏ carmin	Có glucosid
		+ SKLM xác định phần aglycon	Có nhiều vết aglycon	
		+ SKLM xác định phần đường	Có vết đường	

2. Định tính một số nhóm chất chính trên sắc ký

• *Định tính protein:* Dùng phương pháp sắc ký giấy:

Hệ dung môi: + Butanol – acid acetic – nước (4:1:1); Toluen – etyl acetat – aceton – acid formic (5:2:2:1). Phun thuốc hiện màu: Ninhydrin 1%.

Kết quả trên sắc ký đồ cho 8 vết acid amin (peptid thủy phân) và 5 vết acid amin tự do. Các vết có màu tím hồng.

• *Định tính alcaloid:* Lớp mỏng là Silicagen G. Hệ dung môi: Toluen – etyl acetat – aceton – acid formic (5:2:2:1) Thuốc hiện màu: Munier, hơi iốt.

Kết quả có 2 vết (a và b). Vết a gần điểm xuất phát có màu vàng cam, vết b gần đỉnh dung môi có màu vàng nhạt (với munier) và màu nâu với hơi iốt.

• *Định tính glycosid:* Lớp mỏng Silicagen G Hệ dung môi: Cloroform – methanol (10:1).

Thuốc thử hiện màu acid phosphomolypdic/cồn/H_2SO_4 đặc.

Kết quả có ít nhất 12 vết xanh lơ.

Vết số	*Rf*	*Màu sắc*	*Vết số*	*Rf*	*Màu sắc*
1	0,02	Xanh lơ đậm	7	0,39	Xanh lơ
2	0,06	Xanh lơ đậm	8	0,56	Xanh lơ
3	0,10	Xanh lơ đậm	9	0,66	Xanh lơ đậm
4	0,21	Xanh lơ đậm	10	0,80	Xanh lơ
5	0,30	Xanh lơ	11	0,88	Xanh lơ
6	0,34	Xanh lơ	12	0,94	Xanh lơ

• *Định tính Saponin:* Hệ dung môi: n Butanol_ acid acetic_ nước (8: 1: 5). Lớp mỏng: silicagel G. Thuốc thử hiện màu: acid phosphomolypdic/ cồn_ H_2SO_4 đặc.

Có ít nhất 8 vết như sau

Vết số	*Rf*	*Màu sắc*	*Vết số*	*Rf*	*Màu sắc*
1	0,13	Xanh lơ	5	0,61	Xanh lơ
2	0,25	Xanh lơ	6	0,71	Xanh lơ
3	0,38	Xanh lơ	7	0,89	Xanh lơ
4	0,54	Xanh lơ	8	0,96	Xanh lơ

3. Định lượng một số thành phần chính trong quả mướp đắng: glycosid, saponin, alcaloid được định lượng theo phương pháp cân (19).

Kết quả: alcaloid: 0,131%; glycosid: 3,16%; saponin: 5,51%.

4. Định lượng glycosid trong các bộ phận khác của cây ngoài quả

Mục đích: nếu hàm lượng đáng kể có thể tận dụng cả các phần của cây sau khi đã thu hoạch quả để làm nguyên liệu chiết xuất.

Kết quả: Glycosid trong thân: 2,12%; trong lá: 2,52%; trong gốc rễ: 2,27%

Kết luận: Qua phân tích định tính các nhóm chất thấy trong quả mướp đắng có các thành phần như sau:

TT	Nhóm chất	TT	Nhóm chất
1	Chất béo	6	Ancaloid
2	Tanin	7	Glycosid
3	Sterol	8	Saponin
4	Acid hữu cơ	9	Đường khử
5	Protein		

* Trong đó định tính trên sắc ký thì:

- Protein thủy phân có 8 vết acid amin và 5 vết acid amin tự do.

- Ancaloid có 2 vết và một số vết của amin.

- Glycosid có ít nhất 12 vết, phần aglycon của các glycosid này cũng có ít nhất 12 vết.

- Saponin có ít nhất 8 vết.

* Trong quả mướp đắng: Alcaloid: 0.131%; glycosid: 3,16%; saponin: 5,51%.

* Glycosid: trong lá2,52%; trong thân 2,12%; trong gốc + rễ 2,27%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Beauregard, Jean, 1979.*
"β - D - glucoside of β - sitosterol and fatty acids from seeds of Momordica charantia". Res. Soc. Quim. Mex, 23 (3), 117 (Span)

2. *Wolfgang Sucrow, 1965.*
"Uber Steringglucoside und ein neues stigmastadienol aus Momordica charantia".Tetrahedron Lettera No 26, 2217 - 21.

3. *Fatope, Majekodunmi O.; Takeda, Yoshio; Yamashito, Hiroyasu; Okabe, Hikaru; Yamauchi, Tatsuo, 1990.*
"New cucurbitane triterpenoids from Momordica charantia", J. nat. Prod, 53 (6) 1491 – 7

4. *Zhu - Z, Zhong - ZC, Lao ZY, Xiao – ZY, 1990.*
"Studies on the active constituents of Momordica charantia L", Yao - Hsueh - Hsueh - Pao, 25 (12) 898 - 903.

5. *Barron,D.;Kaouadji,M;Mariotte,A.M., 1982.*
"Comparative study of two medicinal cucurbitaceae I. seed metabolism and amino acid composition".Planta. Med. (46 (3).18 - 6 (Fr).

6. *Nunziatina De Tommasi; Francesco De Simone; Vincenzo De Feo and Cosimo Pizza, 1991.*

"Phenylpropanoid Glycosides and Romarinic Acid from Momordica balsamina", Planta Medica (57, 201)

7. *Lee Huang S; Huang P. L; Naru - PL; Chen HC; Kung HF. Huang - P, Huang HI; Huang - PL., 1990.*

"MAP. 30; A new inhibitor of HIV - 1 infection and replication" FEBS - Lett - Oct. 15, 272 (2 - 2), 12 – 18

8. *Hamato Nobuaki, Koshiba Takashi, Pham Thien Ngoc, Tatsumi yoko Nakamuar Daisaka, Takano Ryo, Hayashi Kaeko, Hong yeong Man, Hara saburo, 1995.*

"Trysin and elastase inhibitors from bitter gourd (Momordica charantia L.) seeds;Purification amino acid sequences, and inhibitory activities of four new inhibitor", J. Biochem. (Tokyo) 117 (2), 432 – 7

9. *Fong, W. P.; Poon, Y. T.; Wong, T. M.; Mock, J. W. Y; Ng. T. B; Wong R. N. S.; Yao Q. Z; yeung HW., 1996.*

"A hight efficient procedure for purifying the ribosome. Inactivating protein α and β momorcharins from Momordica charantia seeds, N – Termonal sequence comparison and establishment of their N – Glycosidase activity", Life Sci, 59 911), 901 – 9

10. *Kana B., 1985.*

Insulin from Momordica charantia. Japan, Kokai 7607, 111 (Cl A61K37/26) 21 Ian 1976, Appl 74/77, 562, 06 Jul 1974, 11pp.

11. *Saito Tetsuo; Kato Natsuki, 1987.*

"Galacto pyranosyl dilinolenoyl glycerol as a Dacus cucurbitae attractant", Jpn. Kokai Tokyo Koho J.P 62 26,292 [87'26,292] (Cl CO7 H15/06), 04 Feb App. 85/166, 262 27 Jul 1985 4pp.

12. *Rodrigoez Delia B; Lee Tung Ching; Chichester Clinton O, 1975.*

"Comparative study of the carotenoid compositon of the seeds of ripening Momordica charantia and tomatoes", Plant Physiol, 56 (5), 629 – 9

13. *Pichi Ivan, 1976.*

"Seed globulins of various species of cucurbitaceae", Phytochemistry, 15 (5), 717.

14. *Yuwai Kuri E, Rao Koyyalamudi Sundar, Kaluvin chalapan, Jones, Gwyn P, Rivett. Donald E., 1991.*
"Chemical composition of Momordica charantia l. fruits", J. Agric. Food chem, 39 (10), 1762 - 3.

15. *Jorge, Luzia Ilza Ferreira; sakuma, Alice Momordica charantia; Inomata Emik Ikejiri, 1992.*
"Histo logical and biochemical analysis of Momordica charantia L. (Bassam pear)" Rev. Inst. Addfo Lutz, 52 (1 - 2), 23 - 6 (Port)

16. *Kikuchi M; Ichikawa, T.; Iida T.; Seto S; Tamura T; Matsumoto T. T., 1992.*
"Steam volatile constituents from seeds of Momordica charantia L", Dev. Food Sci, 29 (Food Sci Hum. Nuth.) 153 - 61

17. *Nguyễn Văn Bàn, 1996.*
Phân tích sàng lọc hoá thực vật.

18. *Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu, 1985.*
Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc, NXB Y học HN.

19. Tạp chí công tác dược chính (1961), Liên Xô (2) Tài liệu dịch.

20. *Ngô Văn Thu, 1981.*
Bài giảng Dược liệu tập 1.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI VỤ, KHOẢNG CÁCH VÀ PHÂN BÓN ĐẾN NĂNG SUẤT DƯỢC LIỆU NHÂN TRẦN

Nguyễn Thị Hoà, Nguyễn Bá Hoạt

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiên cứu cây nhân trần làm thuốc đã được nhiều tác giả quan tâm, nhưng cho đến nay chưa có tác giả nào nghiên cứu về trồng trọt, thường chỉ dùng nguồn dược liệu hoang dại. Do khai thác không có biện pháp khoanh nuôi, bảo vệ tái sinh nên dược liệu nhân trần hoang dại ngày càng cạn kiệt. Để ổn định năng suất và chất lượng dược liệu việc nghiên cứu các biện pháp kỹ thuật đưa cây nhân trần vào trồng trọt là cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu

Hạt nhân trần được thu từ những cây mọc hoang ở vùng Bắc Thái vào tháng 11 năm 1994.

2. Phương pháp

Thí nghiệm đồng ruộng được bố trí theo phương pháp ngẫu nhiên, 3 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm là $5m^2$. Thí nghiệm thời vụ 4 công thức 1/3, 15/3, 1/4, 15/4. Thí nghiệm kép 2 nhân tố là khoảng cách trồng và phân bón gồm 12 công thức sau:

1 - 15x15 + NOK	5 - 15x20 + NOK	9 - 15x25 + NOK
2 - 15x15 + NPO	6 - 15x20 + NPO	10 - 15x25 + NPO
3 - 15x15 + OPK	7 - 15x20 + OPK	11 - 15x25 + OPK
4 - 15x15 + NPK	8 - 15x20 + NPK	12 - 15x25 + NPK

Nền phân chuồng bón lót 15 tấn/ha.

Phân đạm, lân, kali cố định ở mức $100N/100P_2O_5/100K_2O$ (1:1:1)

Xử lý kết quả theo phương pháp của Phạm Chí Thành.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của thời vụ gieo trồng đến năng suất dược liệu nh trần

Bảng 1. **Ảnh hưởng của thời vụ đến năng suất dược liệu nhân trần**

Công thức (ngày/tháng)	*Năng suất dược liệu (kg/m²)*	*Đánh giá*
1/3	0.51	a
15/3	0.55	a
1/4	0.39	b
15/4	0.24	c

$F_{T/N} = 56$; $F_{a\,0.05} = 4.7$; m% = 4.34

Qua bảng cho thấy ở thời vụ đầu là 1/3 và 15/3 cho năng suất dược liệu c nhất đạt 0.51 - 0.55 kg/m². Qua xử lý thống kê cho thấy năng suất của 2 thời này ở cùng một mức a, điều đó nói lên rằng thời vụ gieo tốt nhất là trong nửa đ tháng 3. Sang 1/4, năng suất thấp đi rõ rệt (ở mức b) và sang đến trung tuần thá 4 năng suất dược liệu giảm ở mức thấp nhất (mức c), nguyên nhân là sang tháng nhiệt độ cao và khô, không thích hợp, cây sinh trưởng chậm, thời gian sinh trưở ngắn đã làm ảnh hưởng đến năng suất.

2. Ảnh hưởng của khoảng cách và phân bón đến năng suất dược li nhân trần

Qua bảng cho thấy đạm có vai trò làm tăng trưởng chiều cao và khối lượng thể của cây nhân trần rõ rệt ở các loại khoảng cách trồng. Trong khi đó, vai trò c lân và kali không thấy tác dụng. Phân đạm có ảnh hưởng rõ rệt đến năng su nhân trần ở tất cả các loại khoảng cách. Với mức 100N ở 2 loại khoảng cách 15x15cm và 15x20cm cho năng suất cao nhất biến động ở mức từ 0.68 đến 0. kg/m² và ở mức năng suất a. Nhưng cùng lượng phân đạm đó ở khoảng cách 15x cho năng suất thấp hơn (0.57 - 0.58 kg/m²) đạt mức năng suất b ở cả 3 khoả cách. Nếu không có phân đạm thì cho năng suất thấp nhất, biến động từ 0.44 - 0. kg/m² đạt năng suất ở mức c. Riêng công thức 3 đạt được ở mức b và c. Khoảng cá góp phần làm tăng năng suất khi không có phân đạm. Như vậy trong thí nghiệ này N có vai trò rất lớn làm tăng năng suất dược liệu. Từ đó đưa ra kỹ thuật trồ cây nhân trần.

Bảng 2. **Thí nghiệm ảnh hưởng của từng loại phân bón và khoảng cách đến năng suất dược liệu nhân trần**

TT	*Công thức*	*Chiều cao cây (cm)*	*Khối lượng cá thể khô (g/cây)*	*Năng suất (kg/m^2)*	*Đánh giá*
1	15x15 + NOK	105.3	23.3	0.74	a
2	15x15 + NPO	112.8	25.2	0.71	a
3	15x15 + OPK	96.7	16.8	0.52	bc
4	15x15 + NPK	105.5	20.8	0.72	a
5	15x20 + NOK	105.5	20.0	0.68	a
6	15x20 + NPO	104.1	22.0	0.66	a
7	15x20 + OPK	95.7	15.2	0.48	c
8	15x20 + NPK	105.7	18.8	0.68	a
9	15x25 + NOK	104.8	17.6	0.58	b
10	15x25 + NPO	103.0	18.0	0.57	b
11	15x25 + OPK	89.7	14.8	0.44	c
12	15x25 + NPK	102.9	29.6	0.57	b

$F_{A\,T/N} = 24.97$ $F_{A\,0.05} = 3.4$ (A là yếu tố mật độ)

$F_{B\,T/N} = 33.44$ $F_{B\,0.05} = 3.01$ (B là yếu tố phân bón)

$F_{AB\,T/N} = 0.4558$ $F_{AB\,0.05} = 2.51$

m% = 4.4

IV. KỸ THUẬT TRỒNG CÂY NHÂN TRẦN

1. Chuẩn bị đất trồng và phân bón

* Đất trồng cây nhân trần cần chọn đất cát pha thoát nước hoặc đất đồi nhẹ tơi xốp, cây nhân trần phạm vi thích ứng rộng có thể trồng rộng rãi nhiều nơi. Đất cần được cày bừa nhỏ, lên luống cao 35cm, mặt luống rộng 80 - 90cm.

* Chuẩn bị:

Phân bón: - Phân chuồng hoai mục: 1.5 tấn/ha

- Đạm: 140 kg/ha

- Lân: 150 kg/ha

- Kali: 150 kg/ha

Toàn bộ phân chuồng + phân lân + 1/3 kali bón lót. Số phân còn lại sẽ chia bón cho 3 đợt sau.

2. Gieo hạt, trồng, chăm sóc

Thời vụ thích hợp cho gieo hạt 1/3 đến 15/3. Hạt nhân trần rất nhỏ, nếu gieo vườn ươm, đất gieo hạt cần được làm nhỏ, trước lúc gieo hạt cần trộn thêm cát để gieo cho đều. Khi gieo cần xử lý đất để tránh côn trùng làm hại đến hạt, sau khi gieo phủ rơm rạ và tưới đủ độ ẩm 80% để hạt nhanh mọc và mọc đều. Khi cây con được 8 - 10 lá thật (cây 2 tháng tuổi) ta đánh trồng với khoảng cách trồng 15x15cm. Sau khi trồng 15 - 20 ngày làm cỏ phá váng đợt 1, bón phân, phân đạm chia 3 lần bón:

Làm cỏ phá váng bón thúc lần 1.

Làm cỏ đợt 2 bón thúc lần 2 khi cây cao 40cm.

Làm cỏ đợt 3 bón thúc lần 3 và 2/3 số kali còn lại khi cây xuất hiện nụ.

3. Thu hoạch, sơ chế và bảo quản

Thu hoạch dược liệu nhân trần vào tháng 8 đến 15/10. Chọn ngày nắng cắt phơi tại chỗ hoặc mang về sân phơi. Dược liệu nhân trần phơi từ 3 - 4 nắng là khô, bó từng bó hoặc cắt ngắn, đóng túi polyetylen bảo quản nơi khô ráo, tránh ẩm cây sẽ mốc.

Thu hoạch hạt: Kỹ thuật trồng như lấy dược liệu, khoảng cách 15x25cm hoặc 15x30cm.

Khi hoa nở hết, bấm ngọn để quả đậu hạt.

Quả chín 2/3 cây thì thu hoạch, chọn ngày nắng cắt cả cây về phơi trên bạt, sau 2 nắng đập lấy hạt và làm sạch tạp chất, phơi lại cho thật khô, độ ẩm 7%, bảo quản kín trong chai hoặc túi polyetylen.

V. KẾT LUẬN

Thời vụ gieo trồng nhân trần tốt nhất là từ 1/3 đến 15/3.

Phân đạm có tác dụng rõ rệt làm tăng năng suất dược liệu nhân trần ở các loại khoảng cách 15x15cm (36 cây/m^2) và 15x20cm (30 cây/m^2) cho năng suất cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi, 1991.*

Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam.

2. *Phạm Chí Thành, 1976.*

Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng. NXB Nông nghiệp, 1976.

3. *Viện Dược liệu.*

Tài nguyên cây thuốc Việt Nam. Chương trình tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA VỎ THÂN VÀ LÁ NGŨ GIA BÌ CHÂN CHIM (*Schefflera octophylla* Harm., *Araliaceae*)

Trần Mỹ Tiên,
Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thới Nhâm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngũ gia bì chân chim (NGBCC) – *Schefflera octophylla* Harm., *Araliaceae* đã được sử dụng trong dân gian từ lâu dưới dạng rượu bổ giúp ăn ngon ngủ tốt, tăng sức lực cho cơ thể (1). Chúng tôi tiến hành thăm dò tác dụng dược lý trên hai nguồn nguyên liệu dồi dào của cây NGBCC là vỏ thân, lá để chứng minh những tác dụng trên đồng thời so sánh tác dụng của hai nguyên liệu này.

II. NỘI DUNG

1. Nguyên liệu và súc vật thử nghiệm

Nguyên liệu thử nghiệm là bột chiết vỏ thân và lá NGBCC.

Súc vật thử nghiệm là chuột nhắt trắng trọng lượng trung bình từ 18 - 20g do Viện Pasteur TPHCM cung cấp.

2. Phương pháp

- Độc tính cấp và xác định LD50 theo hai phương pháp: Karber - Behrens và Miller - Tainter (2).

- Tác động trên giấc ngủ gây bởi barbital bằng cách tiêm dưới da (s.c) dung dịch natri barbital liều 200mg/kg thể trọng (3).

- Tác động nội tiết tố sinh dục được đánh giá qua sự thay đổi trọng lượng các cơ quan sinh dục và xuất hiện thời kỳ động dục của chuột (4). Việc đánh giá này cũng được áp dụng trên mô hình gây suy nhược sinh dục (cắt bỏ tinh hoàn ở chuột đực và buồng trứng ở chuột cái).

- Để đánh giá tác động kháng viêm cấp tính và mãn tính, chúng tôi dùng phương pháp gây u hạt thực nghiệm bằng cách cấy một vật lạ vào dưới da chuột và

phương pháp gây phù tại chổ bằng cách tiêm dưới da bàn chân chuột dung dịch formol. Kèm theo đó, tác dụng giảm đau cũng được thực hiện trên hai phương pháp: gây xoắn bụng bằng acid acetic và gây đau bằng kích thích nhiệt do đĩa nóng (5).

III. KẾT QUẢ

- Bột chiết vỏ thân NGBCC có độc tính đường uống thấp với LD50 = 126g dược liệu khô/kg thể trọng. Bột chiết lá NGBCC có độc tính đường uống rất thấp không xác định được LD50, chỉ xác định được LD50 ở đường tiêm phúc mô (i.p) là 3,32g dược liệu khô/kg thể trọng. Triệu chứng ngộ độc của bột chiết lá NGBCC tương tự với bột chiết vỏ thân NGBCC.

Khi dùng thuốc dài ngày (28 ngày) với liều cao (1/20 LD50 đối với bột chiết vỏ thân và 1g/kg đối với bột chiết lá) cả hai nguyên liệu này đều không có ảnh hưởng rõ rệt trên thể trọng, trọng lượng các cơ quan nội tạng, hoạt độ transaminase và vi thể giải phẩu bệnh lý các cơ quan.

- Tác động trên giấc ngủ gây bởi barbital: ở liều thấp (0,025g/kg và 0,05g/kg) bột chiết vỏ thân và lá NGBCC rút ngắn thời gian ngủ của barbital. ở liều cao (0,0625g/kg và 0,5g/kg) cả hai bột chiết vỏ thân và lá có khuynh hướng ức chế hệ thần kinh trung ương, kéo dài thời gian ngủ và cả hai tác động rút ngắn và kéo dài thời gian ngủ thể hiện rõ hơn đối với bột chiết lá NGBCC.

- Trên cơ địa súc vật bình thường, bột chiết vỏ thân NGBCC với liều 0,06g/kg và 0,25g/kg, bột chiết lá NGBCC với liều 0,1g/kg và 0,5g/kg đều có khuynh hướng làm tăng trọng lượng các cơ quan sinh dục nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy tác động nội tiết tố sinh dục của NGBCC trên cơ địa súc vật bình thường là không rõ rệt. Trên cơ địa súc vật bị suy nhược sinh dục, bột chiết vỏ thân và lá NGBCC đều thể hiện hiệu lực androgen (đối với chuột đực) cũng như hiệu lực estrogen (đối với chuột cái) rõ rệt ở liều 0,06g/kg và 0,1g/kg.

- Đối với tác động kháng viêm, ở hai liều thử 0,1g/kg và 0,5g/kg, bột chiết lá NGBCC có tác động chống viêm cấp, làm giảm khoảng 48% mức độ phù ở bàn chân chuột. Trong đó liều 0,1g/kg có tác dụng điển hình hơn. Trên thực nghiệm điều trị viêm mãn, chúng tôi chưa nhận được tác dụng kháng viêm của nguyên liệu trên. Trên mô hình kích thích nhiệt do đĩa nóng, bột chiết lá NGBCC chưa thể hiện tác động giảm đau rõ rệt, nhưng nó làm giảm đau xoắn bụng do acid acetic gây ra với tỉ lệ giảm đau là 52,9%, đạt ý nghĩa thống kê so với chứng. Ngoài ra, bột chiết lá NGBCC còn kéo dài tiềm thời của phản ứng đau (tăng sức chịu đựng của súc vật thử so với chứng).

IV. KẾT LUẬN

Qua những kết quả trên, chúng tôi nhận thấy bột chiết đi từ nguyên liệu là vỏ thân và lá NGBCC có tác động tương đối rõ rệt trên một số mô hình dược lý căn bản. Đây chỉ là những kết quả bước đầu, cần nghiên cứu thêm những chỉ tiêu dược lý khác để có những kết luận phong phú và hoàn thiện hơn. Ngoài ra, trên một số thực nghiệm dược lý, bột chiết lá NGBCC có tác dụng rõ hơn bột chiết vỏ thân. Do đó, kết hợp với độc tính thấp và nguồn nguyên liệu dồi dào bột chiết lá NGBCC thể hiện tiềm năng sử dụng cao trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi, 1981.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, 393.

2. *Bộ môn Dược Lực, Trường Đại học Y Dược, 1985.*
Giáo trình thực tập Dược lực. 15.

3. *N. T. Nhâm, N.T.T.Hương, N.T.T.Tịnh, 1987.*
Thăm dò tác dụng của callus SK5 - 86,18,1987.

4. *N.H.H.Thứ, Đ. S. Huy, T. T. T. Hồng, 1980.*
Thăm dò tác dụng nội tiết tố sinh dục của SK5,19 – 24.

5. *N. H. H. Thứ, Đ. Đ. Vinh, 1981.*
Thăm dò tác động kháng viêm của SK5, 25 – 32.

NGHIÊN CỨU THUỐC ỨC CHẾ U PANACRIN DÙNG TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ
NGHIÊN CỨU ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG ỨC CHẾ U CỦA MỘT SỐ CHẾ PHẨM TỪ DƯỢC LIỆU VÀ PANACRIN TRÊN MÔ HÌNH U BÁNG THỰC NGHIỆM

Phạm Kim Mân, Nguyễn Minh Khai,
Nguyễn Bích Thu, Vũ Kim Thu,
Trần Văn Yên[1], Nguyễn Thị Quỹ[1], Nguyễn Hiền Anh[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dựa trên cơ sở kinh nghiệm dân gian và những thành tựu nghiên cứu trên thế giới về tác dụng điều trị ung thư của một số cây thuốc trong nước với mục đích tạo ra một sản phẩm có tác dụng ức chế sự phát triển của khối u, hạn chế sự di căn của tế bào ung thư, kéo dài thời gian sống của người bệnh, nhóm tác giả đã nghiên cứu một loại chế phẩm đặt tên là Panacrin nhằm ứng dụng trong điều trị bệnh nhân ung thư.

Phần I: Được thực hiện tại Viện Dược liệu và Đại học Quốc gia Hà Nội với mục đích đánh giá tác dụng của một số chế phẩm (chiết từ lá đu đủ, bột tam thất, lá hoàng cung trinh nữ, một bài thuốc của Trung Quốc dùng để chữa ung thư và thuốc Panacrin) về tác dụng ức chế u trên mô hình gây ung thư thực nghiệm.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

a) Các chế phẩm

A: Dịch chiết lá đu đủ, B: Dịch chiết lá trinh nữ hoàng cung, C: Dịch chiết bột tam thất, D: Dịch chiết một bài thuốc có 2 vị: Hoàng cầm râu và Bạch hoa xà thiệt thảo, P: sản phẩm Panacrin chế từ đu đủ, hoàng cung trinh nữ, tam thất.

b) Bố trí thí nghiệm

Thăm dò tác dụng ức chế u của A, B, C, D, P theo:

[1] Trường Đại học Quốc gia Hà Nội.

Lô	Số chuột TN	Số TBUT cấy truyền cho 1 con	Chế phẩm cho uống (trước và sau cấy u) và liều lượng hàng ngày / 1 chuột	Tổng liều lượng / 1 chuột		Ngày mổ chuột sau cấy truyền u	Các chỉ tiêu cần khảo sát
				Trước cấy u	Sau cấy u		
I_1	10	10^6	Đối chứng	0	0	13	- Thể tích u báng
I_2 (A)	10	10^6	A (0,15ml)	13 ngày	13 ngày	13	- Mật độ TBUT
I_3 (B)	10	10^6	B (0,15ml)	13 ngày	13 ngày	13	- Sinh khối u
I_4 (C)	10	10^6	C (0,15ml)	13 ngày	13 ngày	13	- Tỷ số phát triển u
I_5 (D)	10	10^6	D (0,15ml)	13 ngày	13 ngày	13	- Khả năng phân bào ung thư
I_6 (P)	10	10^6	P (0,45ml) (A+B+C)	13 ngày	13 ngày	13	- Mật độ hồng cầu - Mật độ bạch cầu - Công thức bạch cầu

III. KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

Kết quả thăm dò ảnh hưởng của các chế phẩm A, B, C, D, P lên sự phát triển u báng và máu ngoại vi của chuột nhắt trắng Swiss (xem bảng trang sau).

IV. KẾT LUẬN

a) Sinh khối u, hay tổng số tế bào ung thư trên chuột thí nghiệm ở các lô được uống thuốc đã giảm nhiều so với lô chứng đặc biệt lô uống P giảm 40,3% so với chứng, độ tin cậy 95% và đạt hiệu lực chống u ++ theo thang đánh giá của Itokawa (1989).

b) Chỉ số giản phân MI của tế bào Sarcoma TG. 180 ở ngày thứ 13 sau cấy truyền ở các lô chuột được uống thuốc đều giảm so với chứng. Dưới tác dụng của A chỉ số MI giảm 0,3%, của B giảm 0,1%, của C giảm 0,4%, của D giảm 0,6%, của P giảm 0,4% so với chứng.

Sự giảm chỉ số giãn phân này là một trong những nguyên nhân làm giảm sinh khối u do đó làm giảm tốc độ phát triển u.

Kết quả thăm dò ảnh hưởng của các chế phẩm A, B, C, D, P lên sự phát triển u báng và máu ngoại vi của chuột nhắt trắng *Swiss*

TT	*Lô* / *Các chỉ tiêu*	*Đối chứng*	*A (0,15ml/con)*	*B (0,15ml/con)*	*C (0,15ml/con)*	*D (0,15ml/con)*	*P (0,45ml/con)*
1	Số lượng chuột	10	10	10	10	10	10
2	Trọng lượng trung bình (g/con)	18	18	18	18	18	18
3	Tỷ lệ phát sinh UT (%)	100	100	100	100	100	100
4	Số ngày điều trị	0	26	26	26	26	26
5	Tổng liều điều trị/con	0	3,9ml	3,9ml	3,9ml	3,9ml	11,7ml
6	Ngày mổ xét nghiệm	26	26	26	26	26	28
7	Thể tích TB dịch báng (ml/con)	10,6 ± 1	6,3 ± 1,5	6,9 ± 2,4	6,9 ± 3,8	10 ± 2,1	7,8 ± 1,6
8	Mật độ TBUT/ml ($x10^6$)	146,4 ± 27,4	121,4 ± 25,6	153,5 ± 50,9	113,2 ± 43,5	92,7 ± 59,59	80,2 ± 31,7
9	Sinh khối u ($x10^6$)	1551,8±403,8	764,8±116,7	1059,2±284,7	781,1±812,8	927 ± 308,7	625,6 ± 227
10	Chỉ số phát triển u (GR%)	100	49,3	68,3	50,3	59,7	40,3
11	Chỉ số phân bào UT (%)	21	18	20	17	15	17
12	Tỷ lệ các pha phân bào						
	Prophase (%)	17	10	6	5	5	10
	Metaphase (%)	63	72	74	81	69	69
	Anaphase (%)	9	12	11	8	19	13
	Telophase (%)	11	6	9	6	8	8
13	Số lượng hồng cầu/mm^3 ($x10^6$)	8,5 ± 1,2	7,94 ± 0,9	11,7 ± 1,2	10,2 ± 1,3	10,2 ± 1,1	10,15 ± 1,7
14	Số lượng bạch cầu/mm^3 ($x10^6$)	35,2 ± 50	20,3 ± 24,2	35,4 ± 51,8	35.5 ± 62,6	36 ± 26,4	37 ± 71.3
15	Công thức bạch cầu						
	Neutrophiles (%)	96	89	86	90	94	92
	Lymphocytes (%)	0	0	0	0	0	0
	Monocytes (%)	0	0	0	0	0	0
	eosinophiles (%)	3	7	8	8	5	7
	Basophiles (%)	1	4	6	2	1	1

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Chang Minyi, 1992.*

Anticancer herbs, Human science and technology Publishing house, 3 exhibition road, Human Changsha 41005 China.

2. *Lê Thế Trung, Trần Văn Hanh, 1995.*

Nghiên cứu một số vị thuốc cổ truyền có tác dụng hỗ trợ điều trị ung thư trong thực nghiệm và lâm sàng - Kỷ yếu công trình khoa học ngành Y tế, 1991 - 1995, trang 174.

3. *Phan Thị Phi Phi, 1990.*

Phát hiện đánh giá các chất chống ung thư. Trung tâm nghiên cứu chất lượng đào tạo Bộ Y tế.

4. *Nguyễn Thị Quỳ, 1993.*

Gây mô hình u báng thực nghiệm và thử tác dụng phòng chống ung thư của một số chế phẩm tự nhiên và tổng hợp. Luận án tiến sỹ khoa học sinh học, 1993.

5. *Trần Công Yên, 1992.*

Một mô hình ung thư thực nghiệm. Tạp chí Di truyền học và ứng dụng, số 1 - 1992.

6. *Cohen Leonard A., 1987.*

Died and Cancer. Scientific American 11 - 1987 vol. 257, N 5, pp 42 - 48.

7. Lá đu đủ chữa ung thư - Gold coast Bulletin - 1992.

8. *S. Cohoshal K.S, Sami and S. Razdan, 1985.*

Crinum alkaloids, their chemistry and biology. Physochemistry 20 (10) 1985, 2141 - 2156.

NGHIÊN CỨU THUỐC ỨC CHẾ U PANACRIN DÙNG TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ
NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ỨC CHẾ U VÀ HẠN CHẾ DI CĂN CỦA MỘT SỐ CHẾ PHẨM TỪ DƯỢC LIỆU VÀ PANACRIN TRÊN MÔ HÌNH U ĐÙI THỰC NGHIỆM

Phạm Kim Mãn, Lê Thu Thủy, Trần Văn Hanh[1], Nguyễn Minh Thông[1], Nguyễn Thị Đức[1]

I. MỤC ĐÍCH

Xác định tác dụng ức chế u và hạn chế di căn của một số chế phẩm chế từ dược liệu trong nước (đã có tài liệu nước ngoài và kinh nghiệm của nhân dân sử dụng trong điều trị u và ung thư) và chế phẩm PANACRIN nhằm đưa ra ứng dụng 1 loại thuốc có tác dụng ức chế u, hạn chế sự di căn của tế bào ung thư dùng trong điều trị ung thư.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Nguyên liệu gồm các chế phẩm: A chiết từ lá đu đủ, B chiết từ lá trinh nữ hoàng cung, C chiết từ bột Tam thất, D từ 1 bài thuốc chữa ung thư của Trung Quốc, P (Panacrin) bào chế từ đu đủ, tam thất và hoàng cung trinh nữ.

- Phương pháp: gây mô hình ung thư đùi thực nghiệm bằng dùng ung thư Sarcoma 180 tiêm vào đùi chuột nhắt trắng thuần chủng BAL b/c 8 tuần tuổi $5x10^7$ tế bào ung thư 100% khối u phát triển đánh giá tác dụng thuốc đến sự phát triển khối u thông qua:

Khối lượng u (dùng thước kẹp để đo kích thước đùi chuột, rộng, dài, chu vi) ở những thời điểm 4, 7, 10, 14 ngày sau khi tiêm tế bào ung thư. Từ các số đo trên tính thể tích tương đối của khối u theo công thức:

$$V = \frac{\pi}{6} D_3$$

(Theo Nowak và cộng sự, 1978)

[1] Viện Quân y 103.

- Tính trọng lượng u đùi: giết chuột ở ngày thứ 14, lấy trọng lượng đùi mang u trừ trọng lượng đùi bên đối diện.

- Tính tỷ lệ phần trăm hạn chế phát triển khối u:

$$\text{GrowthDelay(GD)} = \frac{V_t - V_c}{V_c}$$

(Theo Nowak, 1978)

Trong đó: V_t- khối lượng u của nhóm dùng thuốc;

V_c- khối lượng u của nhóm chứng (không dùng thuốc).

III. KẾT QUẢ

1. Tác dụng hạn chế sự phát triển ung thư

Mẫu A: Làm giảm thể tích u đùi chuột ở 10 ngày và 14 ngày

Mẫu C: Làm giảm thể tích u đùi chuột ở 4, 7, 10 ngày

Mẫu D: Làm giảm thể tích u đùi chuột ở 4, 7, 10 ngày

Mẫu P: Làm giảm thể tích u đùi chuột ở 4, 7 ngày

Căn cứ theo thang đánh giá của V.V Sokolov và cộng sự thì các chế phẩm A, C, D, P có tác dụng hạn chế một phần sự phát triển của khối u ở giai đoạn sớm.

2. Tác dụng hạn chế di căn của tế bào ung thư

Theo dõi sự di căn của tế bào ung thư lên gan, phổi, lách

Lô	*Đợt 1*	*Đợt 2*	*Đợt 3*	*Đợt 4*
Chứng	Gan 6/6 chuột có di căn, 20 nốt	Gan 6/6 chuột có di căn, 20 nốt	Gan 5/10 chuột, 10 nốt	Gan 6/9 chuột có di căn, 13 nốt
	Phổi 6/6 chuột có di căn, 23 nốt	Phổi 6/6 chuột có di căn, 20 nốt	Phổi 4/10 chuột, 7 nốt	Phổi 4/9 chuột, 12 nốt
	Lách to	Lách to và rất to	Lách to	Lách to

Lô	*Đợt 1*	*Đợt 2*	*Đợt 3*	*Đợt 4*
Thuốc C	Gan 1/6 chuột, 4 nốt Phổi 3/6 chuột, 8 nốt Lách bình thường	Gan 1/6 chuột xơ Phổi 1/6 chuột, 3 nốt Lách 3 chuột, lách to	Gan không có di căn Phổi 1/10 chuột, 2 nốt Lách hơi to	
Thuốc D	Gan 1/6 chuột, 2 nốt Phổi 3/6 chuột, 6 nốt Lách hơi to	Gan 2/6 chuột xơ Phổi không có di căn Lách 3 chuột, hơi to	Gan không có di căn Phổi 1/10 chuột, 2 nốt Lách hơi to	
Thuốc P			Gan không có di căn Phổi 1/10 chuột, 2 nốt Lách hơi to	Gan 3/9 chuột, 5 nốt Phổi 1/9 chuột, 2 nốt Lách 3 chuột, lách to

Các mẫu thuốc đều có tác dụng hạn chế sự di căn của tế bào ung thư từ u đùi lên gan, phổi, lách. Quan sát đại thể các lô thí nghiệm số chuột uống thuốc có di căn chỉ bằng 1/3 đến 1/6 so với lô chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Bruce at. el., 1996.*
Molecular biology of the cell, Garland Pub., Inc., New York – London.

2. Electron microscopic studies of mouse ascitic tumor EL_4 and C_{1498} in susceptible ($C_{57}BL$) and resistant ($B_{10}D_2$) mice. Cancer res. 1965 - 25, 3, 329.

3. *K. Nowak, M.F Peckham and G.G. Steel., 1978.*
Brit. of cancer 37, 576 - 580.

4. Các chất có khả năng dự phòng làm giảm tỷ lệ ung thư, actualités pharmaceutique 11 - 1997 (Thông tin dược lâm sàng 2 - 1999).

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA PANACRIN

Đỗ Trung Đàm,
Nguyễn Kim Phượng, Phạm Kim Mãn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Panacrin đã được chứng minh có tác dụng ức chế sự phát triển khối u, hạn chế sự di căn của tế bào ung thư và kéo dài thời gian sống thêm của chuột mang ung thư thực nghiệm. Để có cơ sở xem xét tính an toàn của thuốc và chỉ định liều lượng dùng cho người bệnh khi đưa thuốc vào thử nghiệm trên lâm sàng cần thiết phải khảo sát độc tính cấp (xác định liều LD_{50}) khi dùng dài ngày và độc tính bán trường diễn.

II. PHƯƠNG PHÁP TIẾN HÀNH VÀ KẾT QUẢ

1. Xác định độc tính cấp

Phương pháp: Theo tổ chức Y tế thế giới và sách "Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc"

- Động vật thí nghiệm: chuột nhắt trắng 19 - 23g.

- Dạng dùng: Dịch Panacrin cô cách thủy đến đậm độ thích hợp, rồi cho chuột uống.

TT	*Liều (ml/kg)*	*Số chuột thử*	*Số chuột chết*	*Tỷ lệ % chuột chết (a)*	*Tỷ lệ % chuột chết mong đợi (b)*	*Hiệu 2 tỷ lệ chết (a - b)*	*Tham số cho χ^2*
1	40	12	0	(0) 0,80	2,2	1,4	0,009
2	50	12	1	8,3	9,6	1,3	0,002
3	62,5	12	3	25	22	3	0,006
4	80	12	5	41,7	48	6,3	0,017
5	100	12	9	75	72	3	0,005
6	200	12	12	(100) 95,7	86,2	9,5	0,075

2. Xác định độc tính bán trường diễn

Thí nghiệm được thử trên thỏ gồm 2 lô: lô đối chứng và lô thỏ thử thuốc. Các thỏ của lô thử thuốc được uống Panacrin dưới dạng cao cồn với liều 4,5 ml cao/1 kg thỏ/1 ngày và cho uống 30 ngày liền. Trước khi cho thỏ uống, phải bốc hơi cồn. Các thỏ đối chứng cho uống nước cất với cùng thể tích và thời gian tương đương với thỏ thử thuốc. Cho thỏ uống thuốc và nước qua ống thông vào dạ dày.

Trong quá trình thí nghiệm, theo dõi tình trạng chung của thỏ, cân nặng, chức phận tạo máu, chức năng gan và thận trong thời gian 30 ngày trước, 30 ngày trong và 30 ngày sau khi cho uống thuốc. Trong mỗi tháng lấy máu thỏ 2 lần vào các tuần thứ 2 và thứ 4. Các mẫu máu này được làm các xét nghiệm bệnh lý giải phẫu đại thể và vi thể gan, thận của thỏ sau 1 tháng kết thúc việc cho thỏ uống thuốc.

Chức phận tạo máu được đánh giá qua xét nghiệm: đếm số lượng bạch cầu, hồng cầu và định lượng huyết sắc tố bằng phương pháp Crosby dưới dạng phức chất hemiglobincyanid (cyan - methemoglobin).

Chức năng gan được đánh giá qua các xét nghiệm:

- Định lượng protein toàn phần trong huyết thanh bằng phương pháp Biurê.

- Định lượng hoạt độ các men transaminase GOT và GPT trong huyết thanh theo phương pháp của Reitrman - Frankel sửa đổi bởi Sevela - dùng các cơ chất là L - aspartat và L - alanin.

Chức năng thận được đánh giá qua các xét nghiệm:

- Định lượng men trong huyết thanh theo phương pháp dùng men ureaza của Rappoport.

- Định lượng Creatinin trong huyết thanh bằng phản ứng Jaffe.

Các enzym và các chất chuyển hoá nêu trên được định lượng bằng thuốc thử được cung cấp bởi các hãng Human (Đức) và Menarini (Ý) dưới dạng các bộ thuốc thử (Kit) và được đo trên máy quang kế bán tự động Scout theo chỉ dẫn của nhà sản xuất.

Các kết quả thí nghiệm được phân tích thống kê bằng nghiệm pháp t của Student.

Kết quả thử độc tính bán trường diễn của Panacrin

	Lô thỏ chứng n = 6			*Lô thỏ uống thuốc n = 5*		
	Trước khi uống	*Trong khi uống*	*Sau khi uống*	*Trước khi uống*	*Trong khi uống*	*Sau khi uống*
Cân nặng Đơn vị: kg	1,98 ± 0,13	1,91 ± 0,09 t = 0,78	2,02 ± 0,03 t = 0,51	1,94 ± 0,07	2,03 ± 0,08 t = 0,82	2,09 ± 0,09 t = 1,34
Bạch cầu ĐV: 1000/mm^3	7,78 ± 0,76	8,13 ± 0,39 t = 0,71	7,35 ± 0,27 t = 0,93	6,86 ± 1,22	7,11 ± 0,81 t = 0,19	7,21 ± 0,40 t = 0,27
Hồng cầu ĐV: triệu/mm^3	4,21 ± 0,07	4,28 ± 0,11 t = 1,0	4,23 ± 0,14 t = 0,22	4,18 ± 0,19	4,21 ± 0,18 t = 0,16	4,22 ± 0,09 t = 0,19
Hemoglobin ĐV: g.l	95,75 ± 1,64	94,70 ± 1,44 t = 0,83	93,02 ± 3,81 t = 1,14	94,53 ± 2,52	94,68 ± 6,66 t = 0,02	95,53 ± 1,72 t = 0,33
Protein toàn phần ĐV:g/dl	6,14 ± 0,12	5,96 ± 0,27 t = 1,06	6,24 ± 0,12 t = 1,00	6,31 ± 0,26	6,10 ± 0,31 t = 0,51	6,44 ± 0,15 t = 0,42
Ure ĐV: µmol/ml	19,97 ± 0,75	20,86 ± 1,22 t = 1,44	22,32 ± 1,02 t = 1,97	20,93 ± 3,24	17,66 ± 0,79 t = 1,01	21,50 ± 1,34 t = 0,16
Creatinin ĐV:mg/dl	2,66 ± 0,28	2,46 ± 0,13 t = 1,11	2,51 ± 0,10 t = 0,88	2,57 ± 0,08	2,47 ± 0,19 t = 0,48	2,61 ± 0,07 t = 0,38
GOT ĐV:UI/l	68,75 ± 4,62	70,95 ± 6,68 t = 0,46	67,18 ± 7,26 t = 0,18	81,30 ± 6,09	75,37 ± 25,98 t = 0,22	82,41 ± 6,85 t = 0,12
GPT ĐV:UI/l	153,60±15,45	145,51±18,18 t = 0,59	160,62±20,37 t = 0,55	173,41±11,24	161,95±35,56 t = 0,31	171,74±8,10 t = 0,19

III. KẾT LUẬN

Khi cho thỏ uống liều 4ml/kg thỏ/ngày và uống kéo dài 30 ngày dưới dạng cao cồn thì không có biểu hiện nhiễm độc về mặt sinh hoá, huyết học và giải phẫu. (Liều thử trên là gấp 5 lần liều dùng bình thường của Panacrin trong điều trị)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Trung Đàm. 1976.*
Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, NXB Y học.

2. *W.H.O., 1963.*
Research guidling for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine, Manila - Philippines.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA PANACRIN LÊN THỜI GIAN SỐNG THÊM CỦA CHUỘT MANG U BÁNG TG. 180

Phạm Kim Mãn, Nguyễn Minh Khai,
Nguyễn Bích Thu, Vũ Kim Thu,
Trần Công Yên[1], Nguyễn Hiền Anh[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Panacrin là sản phẩm được bào chế từ lá đu đủ, lá trinh nữ hoàng cung và bột tam thất. Panacrin đã được chứng minh có tác dụng hạn chế sự phát triển khối u trên mô hình gây u báng thực nghiệm và hạn chế sự di căn của tế bào ung thư trên mô hình gây ung thư dùi và tạo di căn lên phổi, gan, lách của súc vật.

Phần này các tác giả nghiên cứu tác dụng kéo dài thời gian sống đối với động vật đã được gây ung thư nhằm xác minh giá trị bổ trợ điều trị ung thư của thuốc Panacrin.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

• Bố trí thí nghiệm

Ảnh hưởng của Panacrin lên thời gian sống thêm của chuột mang u báng TG.180

Mục đích thí nghiệm	*Lô*	*Số lượng TBUT cấy truyền/con*	*Uống hoặc tiêm chế phẩm*	*Liều lượng*	*Chỉ tiêu cần khảo sát*
Không phẫu thuật bỏ u	(ĐC1) 10 chuột	10^6	0	0	* Thời gian sống trung bình của chuột bị UT
	10 chuột	10^6	uống Panacrin liên tục hàng ngày	0,45ml/ con	* Thời gian sống thêm khi không phẫu thuật có điều trị
Có phẫu thuật ở ngày thứ 10 sau	(ĐC2) 10 chuột	10^6	0	0	* Thời gian sống trung bình của chuột bị ung thư có phẫu thuật không điều trị

• Phương pháp xác định thời gian sống thêm của chuột sau ngày điều trị ung thư

Ngày thứ 10 sau khi cấy truyền, hút hết dịch báng trong xoang bụng chuột bị ung thư (ở lô không phẫu thuật thì không hút bỏ u). Tiếp tục nuôi, chăm sóc chuột chu đáo quan sát kỹ, ghi ngày chuột chết để tính thời gian sống trung bình của chuột ở các lô điều trị và đối chứng.

Xác định % thời gian sống kéo dài thêm theo phương pháp Norio Nagamoto và cộng sự (1987)

$$ILS(\%) = \left(\frac{TS}{CS} - 1\right) \times 100$$

trong đó: TS- thời gian sống trung bình của chuột điều trị;
CS- thời gian sống trung bình của chuột đối chứng.

III. KẾT QUẢ

Mục đích thí nghiệm	*Lô thí nghiệm*	*Số chuột*	*Liều uống Panacrin*	*Thời gian sống trung bình (ngày)*	*Thời gian sống thêm*
I. Điều trị không phẫu thuật	I_1. Đối chứng không uống Panacrin	10	0	14 (13 - 18) ngày	0
	I_2 Có uống Panacrin	10	0,45 ml/con/ngày	16 (13 - 18)ngày	14,3%
I. Điều trị có phẫu thuật	II_1 Không uống Panacrin	10	0	22 (15 - 30) ngày	57%
	II_2 Có uống Panacrin	10	0,45 ml/con/ngày	27 (17 - 37) ngày	92,9%

IV. KẾT LUẬN

Panacrin có tác dụng kéo dài thời gian sống của chuột mang ung thư với thời gian sống thêm 92,9%, gấp đôi thời gian sống của chuột mang u đối chứng theo công thức tính của N. Nagamoto.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Trần Công Yên, 1992.*

Mô hình ung thư thực nghiệm - Tạp chí Di truyền học và ứng dụng số 1 - 1992

2. *Nguyễn Thị Quỳ, 1993.*

Gây tạo mô hình u báng thực nghiệmvà thử tác dụng phòng chống ung thư của một số chế phẩm tự nhiên và tổng hợp. Luận án PTS. khoa học sinh học.

3. *Bruce et al., 1966.*

Molecular biology of the cell Garland pul. Iuc. Ny. London.

4. *K. Nowak. MF. Peckham, 1978.*

CCISteel. Brit. J. Cancer. 37,576, 560.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GÂY SẨY THAI CỦA CÂY RAU RĂM (*Polygonum odoratum* Lour., *Polygonaceae*)

Nguyễn Gia Chấn, Vũ Thị Tâm,
Đỗ Xuân Lai[1], *Phan Lệ Chi*[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo y học cổ truyền, rau răm có vị cay chua, tính ấm, không độc, tác dụng vào ba kinh: can, phế, tam tiêu; thường được dùng làm thuốc chữa các bệnh như: đau dạ dày, đau bụng, đầy hơi, chữa rắn cắn, sâu quảng.. Theo Tuệ Tĩnh, Đỗ Tất Lợi, Nguyễn Đăng Khôi thì rau răm còn có tác dụng làm dịu tình dục, gây sẩy thai ở phụ nữ có thai trong 2 - 3 tháng đầu. Năm 1981 - 1982, nhóm nghiên cứu của Nguyễn Gia Chấn, Lê Thị Tươi, Nguyễn Đăng Hùng, Phạm văn Thịnh, Nguyễn thị Cảnh (Trường Dại học Dược khoa Hà - nội) và Trương Thị Vinh (Viện BM&TSS) đã nghiên cứu cây rau răm về các mặt thực vật, thành phần tinh dầu và tác dụng gây sẩy thai thực nghiệm của tinh dầu và dịch ép, và đã có một số kết luận: - Cây rau răm thường dùng làm gia vị có tên khoa học là *Polygonum odoratum* Lour. thuộc họ Polygonaceae, thực tế có hai loại: rau răm tía (trồng trên cạn) và rau răm trắng (trồng dưới nước). Về thực chất, đây là hai dạng của cùng một loài *P. odoratum*, nhưng chỉ có dịch ép của rau răm tía mới có tác dụng gây sẩy thai; tinh dầu rau răm không có tác dụng này.. Dịch ép rau răm chỉ có tác dụng trong vòng 4 giờ, để quá thời gian đó sẽ mất dần hiệu lực. Chuột sau khi sẩy thai vẫn có thể thụ thai bình thường.

Đề tài này nghiên cứu tác dụng gây sẩy thai của rau răm trên mô hình dược lý thực nghiệm và trên lâm sàng với dạng bào chế sử dụng có hiệu quả..

II. PHƯƠNG PHÁP VÀ KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu tác dụng của rau răm ngăn cản sự phát triển của thai hoặc gây sẩy thai ở thỏ

1) Thí nghiệm trên thỏ cái có trọng lượng 2kg - 2,2kg

---

[1] Viện Bảo vệ Bà mẹ & Trẻ sơ sinh.

Thỏ cái được ghép với thỏ đực, sau đó dùng phương pháp phiến đồ âm đạo kiểm tra sự thụ thai của thỏ. Lô thỏ thí nghiệm được uống dịch ép tươi rau răm tía, mỗi ngày 15g/kg x 5 ngày liền; bắt đầu cho uống ngay từ ngày đầu tiên phối giống. Lô thỏ đối chứng được uống NaCl 0,9% với cùng thể tích của dịch ép rau răm. Sau một tháng theo rõi, kết quả như sau:

- Lô đối chứng: thỏ đẻ 100% bình thường, mỗi lứa 5 đến 6 con. Có 1 thỏ không cho ghép đực, sau 1 tháng, mổ để so sánh tử cung, thấy tử cung bình thường không có các vách ngăn ổ.

- Lô thí nghiệm: có 2 thỏ ra huyết sẩy thai, 7 thỏ khi mổ sau thí nghiệm không thấy bào thai ở 2 bên sừng tử cung, còn lại là những vách ngăn rõ ràng, có thể đếm được, chứng tỏ bào thai đã bị sẩy hoặc bị ngăn cản không phát triển được. Chỉ riêng một thỏ còn bào thai.

Kết luận: Trên thỏ, dịch ép rau răm có tác dụng gây sẩy thai hoặc ngăn cản sự phát triển của thai rất rõ rệt.

2) Thí nghiệm trên chuột cống trắng cái 120g

Ghép 1 chuột đực với 3 chuột cái; kiểm tra thụ thai bằng xét nghiệm phiến đồ âm đạo. Lô chuột thí nghiệm được uống dịch ép tươi rau răm tía, mỗi ngày 20g x 5 ngày liền. Lô chuột đối chứng thay dịch ép rau răm tươi bằng NaCl 0,9% với cùng thể tích.Sau 3 tuần theo rõi, kết quả như sau:

- Lô đối chứng: chuột đẻ bình thường 100%.

- Lô thí nghiệm: 2 chuột đẻ, 4 chuột không đẻ.

Kết luận: Trên chuột cống trắng, dịch ép rau răm tía có tác dụng giảm tỷ lệ sinh đẻ khoảng 60%. Các chuột đã dùng thí nghiệm, sau một thời gian, cho ghép với chuột đực, lại sinh đẻ bình thường; chuột con cũng khoẻ và phát triển bình thường.

2. Nghiên cứu tác dụng của rau răm trên co bóp của tử cung

1) Tác dụng trên tử cung cô lập

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp Magnus trên tử cung cô lập của chuột 200g với những nồng độ khác nhau (0,1 ml, 0.2 ml, 0,3 ml) nước ép rau răm tươi trong 10ml dung dịch nuôi. Kết quả: tử cung co bóp mạnh hơn bình thường; nồng độ càng cao, tác dụng càng rõ.

2) Tác dụng trên tử cung tại chỗ

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp Nicolaev trên thỏ cái 2kg, gây mê bằng chloral hydrat, 7ml dung dịch 7% /1kg thể trọng. Tiêm dịch ép rau răm

tươi dưới da, với liều 2ml - 3ml/kg thể trọng, có tác dụng tăng co bóp tử cung hơn bình thường, tác dụng co sau 2 giờ.

3. Nghiên cứu tác dụng của rau răm trên co bóp của ruột

1) Tác dụng trên ruột cô lập

Thí nghiệm trên ruột thỏ với liều 0,1, 0,2, 0,5 ml - > 2ml có tác dụng co cơ ruột, nồng độ cao co càng rõ.

2) Tác dụng trên ruột tại chỗ

Thí nghiệm trên thỏ 2 - 2,2kg với liều uống 5ml/kgcó tác dụng co nhẹ hơn bình thường, tần số và biên độ đều đặn.

4. Nghiên cứu tác dụng của rau răm trên nội mạc tử cung về phương diện tổ chức học

Thí nghiệm được tiến hành trên chuột lang và chuột cống.Lô đối chứng uống nước muối 0,9% x 10 ngày. Lô thử thuốc uống nước ép tươi rau răm 20g/kg x 10 ngày. Sau 1 tháng, giết chuột lấy tử cung ngâm trong formol 10%, chuyển bệnh phẩm qua 3 lần cồn, 3 lần toluen, sau đó với paraffin 5 giờ đúc và cắt bệnh phẩm, nhuộm bằng phương pháp Hematocylin và Eosin. Kết quả:

- Đại thể: ở lô chứng và lô thử thuốc, tử cung bình thường, niêm mạc tử cung bình thường không thấy xuất huyết.

- Vi thể: - ở lô đối chứng, niêm mạc tử cung bình thường, trong cùng là lớp liên bào; trong phần nội mạc tử cung thấy lác đác tuyến, tế bào tuyến bình thường không có xuất huyết.

- Ở lô thử thuốc, niêm mạc tử cung bình thường, lớp liên bào trong cùng đôi chỗ phát triển thành nhiều lớp rải rác, có chỗ niêm mạc bong ra từng mảng nhỏ, không có xuất huyết trong phần nội mạc tử cung, rải rác có tuyến; niêm mạc tuyến bình thường, tổ chức liên kết bình thường.

5. Nghiên cứu tác dụng kiểu oestrogen

Thí nghiệm tiến hành theo phương pháp Allen Doisy: chuột nhắt cái trắng 20g được thiến buồng trứng, sau 15 ngày chăm sóc, theo rõi, chia lô làm thí nghiệm. Lô đối chứng không dùng gì. Lô chuẩn tiêm dưới da oestradiol 2µg cho mỗi chuột. Lô thử thuốc uống nước ép tươi rau răm 20g/kg x 5 ngày. Hàng ngày lấy tế bào âm đạo nhuộm Giemsa, soi kính hiển vi và đánh giá. Kết quả cho thấy:

Lô đối chứng: 100% có bạch cầu;

Lô chuẩn: 100% có tế bào sừng;

Lô thử thuốc: tế bào sừng rải rác + bạch cầu.

Nhận xét: Rau răm có tác dụng kiểu oestrogen nhẹ.

6. Kết quả nghiên cứu sẩy thai trên lâm sàng

Tiến hành năm 1987 và 1988: 64 + 40 = 104 trường hợp tự nguyện.

Bệnh nhân do Phòng Sinh đẻ kế hoạch Viện BVBMTSS khám hoặc xét nghiệm bằng phương pháp thử ếch.Trường hợp nào không ra thai thì bệnh viện xử lý bằng phương pháp hút. Thuốc uống do nhóm tác giả tại Phòng Dược lý Viện Dược liệu cung cấp: 400g rau răm tía tươi, rửa sạch, để ráo nước, ép lấy 200ml cho bệnh nhân uống vào buổi tối trước khi đi ngủ.

Chỉ định: dùng cho bệnh nhân chậm kinh từ 5 đến 10 ngày. Tuổi từ 20 - 45. Không dùng cho bệnh nhân mổ và đau dạ dày.

Kết quả: 52 trường hợp ra huyết, sớm nhất là 1 ngày, chậm nhất là 5 ngày sau khi uống thuốc (50%). 34 trường hợp không ra (33%), 18 trường hợp không báo cáo (17%)..Nếu tính trên số BN có báo cáo (86) thì tỷ lệ ra thai là khoảng 60%. Có BN uống ba lần đều có kết quả. Tất cả các BN sau khi uống thuốc không có biểu hiện phản ứng phụ. Thuốc dễ uống; ra huyết nhẹ nhàng, không ảnh hưởng tới sức khoẻ.

III. KẾT LUẬN

Dịch ép tươi của cây rau răm *Polygonum odoratum* Lour. - Polygonaceae có tác dụng: ngăn cản sự phát triển của thai hoặc gây sẩy thai trên thỏ và chuột cống trắng, trên thỏ thể hiện rõ hơn; gây co bóp cơ trơn, cơ tử cung và cơ ruột non; có tác dụng kiểu oestrogen nhẹ; trên nội mạc tử cung có ảnh hưởng phần nào đến tuyến và niêm mạc; không ảnh hưởng tới thế hệ sau của động vật thí nghiệm. Trên lâm sàng có tác dụng gây sẩy thai khoảng 50 - 60%; sau khi dùng thuốc vẫn có khả năng thụ thai trở lại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Methods in hormon research. Vol II. Bioasay. Dorfman.

2. Burn. Biological standardisation. 2nd edition. Oxford. University Press. 1952.

3. *Đỗ Tất Lợi, 1986.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

4. *Nguyễn Dăng Hùng, 1981.*
Luận văn tốt nghiệp DSĐH.

5. *Nguyễn Văn Thịnh, 1982.*
Luận văn tốt nghiệp DSĐH.

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA RỄ CÂY SÂM BỐ CHÍNH (*Hibiscus sagittifolius* Kurz. Malvaceae) TRỒNG Ở BẠC LIÊU

Trần Công Luận, Bùi Trần Minh Phương

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm bố chính (còn gọi là bố chính sâm, sâm thổ hào, sâm báo, nhân sâm Phú Yên) là cây thuốc đã được dân gian dùng từ lâu đời và đã được đưa vào Dược điển Việt Nam. Bộ phận thường dùng của cây là rễ củ để làm thuốc bổ, chữa ho, viêm họng, giúp tiêu hoá, nhuận phế, sinh tân dịch... Tuy nhiên, các công trình nghiên cứu về cây sâm bố chính hiện nay còn rất ít trong khi cây được trồng làm cảnh và làm thuốc khá phổ biến ở nước ta. Gần đây người ta đã trồng thử nghiệm ở Bạc liêu nhằm bổ sung nguồn nguyên liệu làm thuốc ở đây.

Để góp phần định hướng và phát triển cây thuốc này ở địa phương, chúng tôi đã tiến hành xác định thành phần cơ bản của sâm bố chính trên cơ sở khảo sát cây sâm bố chính trồng ở Bạc liêu.

II. NHỮNG ĐIỂM CHÍNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

1. Về thực vật học

Đã xác định đặc điểm vi phẫu và soi bột của nguyên liệu.

2. Về thành phần hoá học

- Xác định độ ẩm (12,55%), độ tro toàn phần (9,79%), tro không tan trong HCl (4,98%).

- Phân tích sơ bộ thành phần hoá học bằng các phương pháp hoá học đã xác định có: Phytosterol, coumarin, acid béo, acid hữu cơ, đường khử và hợp chất uronic.

- Xác định lipid:

Hàm lượng: 3,96%.

Các thành phần trong lipid: acid myristic, a. palmitic, a. stearic, a. oleic, a.linoleic và a. linolenic.

- Xác định đạm toàn phần:

Hàm lượng đạm toàn phần: 0,23g/100g.

Hàm lượng protid trong SBC: 1,26g/100g.

- Xác định acid amin:

Có 11 acid amin trong đó có 9 acid amin đã được xác định: histidin, arginin, threonin, alanin, prolin, tyrosin, valin, phenylalanin và leucin.

- Xác định tinh bột:

Hàm lượng tinh bột: 15,14%

- Xác định chất nhầy:

Hàm lượng: 18,92%

Thành phần cấu tạo gồm 3 đường trong đó đã xác định được D - glucose và L.rhamnose.

- Xác định các nguyên tố đa lượng và vi lượng:

Xác định được 13 nguyên tố: Na, Ca, Mg, Al, Si, Fe, V, Mn, Ti, Mo, Cu, Zr và P.

3. So sánh đối chiếu với các tiêu chuẩn DĐVN

Hầu hết các chỉ tiêu đều đạt, riêng kích thước nguyên liệu chỉ đạt 54,96% và hàm lượng chất nhầy chỉ đạt 57% so với tiêu chuẩn.

III. THẢO LUẬN VÀ KẾT LUẬN

Kết quả phân tích các thành phần hoá học cơ bản đã chứng minh được phần nào việc dùng làm thuốc trong dân gian của SBC. Tuy nhiên, các chỉ tiêu về kích thước và hàm lượng chất nhầy, một thành phần chủ yếu của SBC, vẫn chưa đạt so với tiêu chuẩn DĐVN. Vì vậy để có một vùng nguyên liệu tốt, địa phương phải có chế độ trồng hợp lý mới đảm bảo các tiêu chuẩn của DĐVN. Về nghiên cứu, có thể đi sâu hơn cấu trúc và tác dụng sinh học của chất nhầy để chứng minh rõ hơn các công dụng làm thuốc của SBC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Boyer R.F., 1993.*

Modern experimental biochemistry. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.

2. Dược điển Việt Nam II tập 3. NXB Y học, 1994.

3. *Đỗ Huy Bích, 1995.*
Thuốc từ cây cỏ và động vật. NXB Y học.

4. *Đỗ Tất Lợi, 1986.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

5. *Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu, 1988.*
Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc. NXB Y học.

6. *Martin, 1965.*
Remington's pharmaceutical sciences XIII. Mack publishing company.

7. *Phạm Văn Sổ, Bùi Thị Như Thuần, 1975.*
Kiểm nghiệm lương thực thực phẩm. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC VÀ TRỒNG BÁN TỰ NHIÊN SA NHÂN

Nguyễn Chiêu, Nguyễn Tập, Ngô Trại

I. THÀNH PHẦN LOÀI CỦA CHI *Amomum* Roxb. VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC HAI LOÀI ĐƯỢC GỌI LÀ SA NHÂN CHỦ YẾU

1. Thành phần loài

Chi *Amomum* Roxb. trên thế giới có khoảng 250 loài. ở Việt Nam có khoảng 30 loài, 23 loài trong số đó đã được xác định tên khoa học. Số loài mang tên sa nhân 15. Phổ biến nhất là *Amomum longiligulare* T.L. Wu và *A.villosum* Lour. với 2 dưới loài là *A.villosum* Lour. var. *villosum* T.L. Wu ex Senjen Chen và *A. villosum* Lour. var. *xanthioides* (Vall. ex Bak) T. L. Wu ex Senjen Chen

2. Đặc điểm sinh học

1) Hình thái thực vật

Đã phân tích mẫu khô và cây tươi, mổ tả 2 loài Sa nhân chủ yếu kể trên; xác định được khu phân bố của chúng. Các đặc điểm khác biệt cơ bản của hai loài như sau:

Loài *A. longiligulare* T. L. Wu có lưỡi bẹ dài 3 - 5 cm. Quả tím từ khi mới hình thành cho đến khi chín và khô. Quả hình cầu khối hạt hơi dẹt hai đầu, có 3 cạnh lồi rõ rệt. Ngược lại loài *A. villosum* Lour. có lưỡi bẹ ngắn 3 - 7mm. Quả đỏ ở var. *villosum,* quả xanh ở var. *xanthioides*. Khối hạt hình trứng, lồi hai đầu.

2) Sinh sản

Cây sinh cây con ở gốc vào mùa xuân và mùa hè - thu thành hai vụ trong năm. Sự sinh sản vô tính này làm tăng số cây con theo cấp số nhân, công bội q = 2. Công thức tính tổng quát là:

$$U_n = U_1 . q^{n-1} \qquad (U_1 = 1; n = 1, 2, 3... k)$$

Toàn bộ số cá thể các nhóm tăng lên theo qui luật số cá thể sau mỗi lần sinh bằng 2 lần số cá thể có trước cộng với 1; (n và 2n + 1), tạo thành dãy số với công thức tính tổng quát: $2^n - 1$.

Với loài *A. longiligulare* T. L. Wu mùa hoa quả kéo dài từ tháng II đến tháng XI hàng năm, chia làm hai vụ: xuân - hè và thu - đông. Vụ xuân - hè là chính, có sản lượng lớn. ở loài *A. villosum* Lour. mới phát hiện có một vụ quả xuân - hè. Sự ra hoa kết quả không đều: Năm nhiều, năm ít, năm có, năm không.

II. KHOANH VÙNG BẢO VỆ VÀ TRỒNG BÁN TỰ NHIÊN

1. Khoanh vùng bảo vệ

Đã khoanh vùng 1599,5 ha rừng có sa nhân mọc tự nhiên để nghiên cứu hiện tượng học của cây *A. villosum* Lour. và *A. longiligulare* T.L. Wu. Đã thiết lập được bản đồ phân bố ở các vùng này, bàn giao lại cho lâm trường ở các địa phương quản lý.

2. Trồng bán tự nhiên loài *A. longiligulare* T.L. Wu

Đã trồng thí điểm dưới tán rừng Keo lá tràm ở lâm trường Tân Lạc - Hoà Bình và trồng dưới tán rừng thứ sinh tạp ở xã Vĩnh Sơn, huyện Vĩnh Thạnh, tỉnh Bình Định. Theo dõi ở hai điểm đã trồng thấy cây sinh trưởng nhanh. Cây con được sinh ra sau 16 tháng tuổi đã ra hoa, kết quả hai vụ đúng như ở cây mọc tự nhiên.

Nhận xét: hai vùng trồng (một ở miền Bắc, một ở miền Trung) tuy xa nhau và trồng dưới 2 dạng thực bì khác nhau nhưng đều cho kết quả giống nhau, chứng tỏ rằng cây sa nhân có khả năng chung sống với nhiều loại cây đi kèm ở nhiều vùng khác nhau. Tuy nhiên sự sinh trưởng ở cả 2 vùng đều chưa mạnh vì cả hai vùng được chọn có độ ẩm thấp. Với cây sa nhân môi trường sống cần phải ẩm.

III. NHÂN GIỐNG

Trước mắt vẫn sử dụng giống từ cây mọc sẵn ở rừng hoặc vườn trồng. Nhân giống theo cách sinh sản vô tính sẽ được lượng cây con tăng theo cấp số nhân, công bội q = 2.

Tạo giống từ hạt:

Thu hái quả chín, bóc bỏ vỏ, đãi hạt, hong ráo nước, gieo vào cát hoặc đất mịn. Khi cây cao 5 cm, thì vào bầu, chăm sóc cây con trong bầu đến khi cao 10 - 20 cm, đem trồng, sống 100%. Bằng cách này tạo giống nhanh và chủ động hơn. Tuy nhiên, chúng tôi mới chỉ thăm dò ở số lượng nhỏ, chưa có bố trí thí nghiệm để khảo sát đầy đủ các chỉ tiêu về hạt giống và giống từ hạt. Vấn đề này cần được nghiên cứu kỹ về sau này.

IV. KẾT LUẬN

+ Đã khoanh được một số vùng sa nhân mọc tập trung. Xác định sa nhân thương phẩm ở Việt Nam là hỗn hợp nhiều loài mà phổ biến là loài *A. longiligulare* T.L. Wu và *A. villosum* Lour.

+ Xác định được phổ hiện tượng học, phát hiện sự sinh sản vô tính làm tăng số cá thể tuân theo các qui luật tạo thành các dãy số, xác lập được công thức tính số hạng tổng quát của các dãy đó.

+ Khẳng định sa nhân có khả năng đưa vào trồng trọt ở nhiều dạng thực bì ở nhiều vùng khác nhau. Loài được chọn đưa vào trồng là *A. longiligulare* T.L. Wu cho thu hoạch đều đặn hàng năm.

+ Cây ưa sống ở vùng rừng ẩm ướt. Khi trồng phải chọn nơi ẩm ướt thì cây mới sinh trưởng phát triển mạnh, cho năng suất cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Chiều, 1986.*
Một số dẫn liệu về phân loại sa nhân ở Việt Nam. Thông báo Dược liệu, Viện Dược liệu, Số 2, trang 5.

2. *Nguyễn Chiều, 1991.*
Góp phần phân loại chi Amomum Roxb. Thông báo Dược liệu. Số 3 + 4 trang 27.

3. *Vũ Văn Chuyên, 1985.*
Tên khoa học của cây sa nhân ở Ba Vì. Tạp chí Dược học số 5 + 6 trang 10 - 12.

4. *Thanh Duyệt, 1963.*
Tu bổ rừng sa Nhân. Tập san Lâm nghiệp. Số 2, trang 33.

5. *Gagnepain F., 1937.*
F. G. I. VI. P. 102 - 117.

6. *Mai Nghị, 1967.*
Sa nhân và hiện tượng tái sinh của cây. Dược học số 9. trang 10.

NHỮNG HOA TỰ BẤT THƯỜNG CỦA CÂY SÂM VIỆT NAM *Panax vietnamensis* Ha et Grushv., (Araliaceae)

Phan Văn Đệ, Grushvitsky I.V., Skvortova N.T

Loài mới đối với khoa học của chi *Panax* L. - *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. (Hà Thị Dung, Grushvitsky I.V., 1985) được biết đến không chỉ là loài sâm mới đặc hữu trong hệ thực vật Việt Nam mà còn là nguồn cây thuốc quý. Từ năm 1977, vườn trồng cây này đã được triển khai đầu tiên ở vùng cây mọc tự nhiên ở độ cao 1800m sau đó ở độ cao 1100m so với mặt biển với số lượng vài nghìn cây trồng. Trung tâm sâm Việt Nam đã tiến hành nghiên cứu về sinh học và nuôi trồng cây thuốc quý này.

Trong công tác nuôi trồng cây sâm các tác giả chú ý đến sự hiện diện của những mẫu cây trồng trên luống từ thân rễ (cây trồng năm thứ 3 và thứ 4) có cấu tạo cụm hoa bất thường, không giống những đặc trưng tiêu biểu của loài là tán đơn mà là tán kép, giống với cấu tạo cụm hoa của phần lớn các đại diện của họ Apiaceae. Ở cây sâm mọc hoang và cây trồng trong vườn từ hạt của loài này những dạng hoa tự bất thường như thế không thấy xuất hiện.

Trong khi tiến hành phân tích cụm hoa bất thường, các tác giả đặc biệt chú ý đến mẫu tiêu bản có 2 chồi thân rễ dưới mặt đất, phát triển thành 2 thân rễ riêng rẽ tương ứng: 1 trong số đó mang tán đơn bình thường, một còn lại hình thành 1 tán kép, nghĩa là từ một cá thể có đến 2 dạng cụm hoa riêng biệt,. Hai kiểu cụm hoa bất thường đã được mô tả:

Mẫu số 1: Tán hoa dày, có dạng hình cầu, trục hoa dài 20cm, 3 lần dài hơn cuống lá kép (ở cây bình thường từ 1,5 - 2 lần). Tán kép có đường kính 6cm, gồm 40 tán nhỏ, mỗi tán nhỏ có 20 hoa, cuống hoa ngắn (0,5 - 1cm). Cuống tán nhỏ dài đến 3,5 cm, thẳng, mảnh, phủ những u nhỏ dạng núm, có những lá hình bắc dài hoặc hình tim dài 1 - 3mm tạo thành ở gốc một tổng bao đặc sắc, có hai trường hợp lá bắc nằm ở phần giữa của tia. Những tán nhỏ có đường kính 1 - 1,3mm (2 - 4 lần ngắn hơn những tán đơn bình thường) mang 20 - 33 hoa trên cuống dài 0,5 - 0,7 cm (ở những tán hoa bình thường thì dài hơn 1,5 - 2 lần: 1,5 - 2cm), phủ đầy những u dạng núm nhỏ, có tổng bao hình thành từ những lá bắc con.

Mẫu số 2: Tán hoa thưa, dạng elip (trong khu trồng đa số có dạng hình cầu). Phần lớn các dấu hiệu tán hoa này giống với đặc điểm của tán hoa mẫu số 1; chỉ khác với mẫu trước: bởi có ít tán nhỏ (10), bởi số lượng hoa nhiều hơn (45) trong tán kép và tương ứng với sự phân bố thưa hơn các tán nhỏ có cuống 2 lần dài hơn cuống hoa của các hoa đơn độc. Mặc dù có những sự khác biệt, cả hai dạng biến đổi này có thể xem như có cùng một kiểu hoa tư, về nguyên tắc giống với tán kép, còn từ quan điểm phát sinh hình thái đó là kết quả của sự tăng sinh của tán đơn.

Những khác biệt tồn tại trong cấu trúc của tán hoa và quả được khảo sát. Đặc biệt là hoa ở những hoa tự bất thường vẫn giữ được tính đặc trưng của loài là 4 lần trội hơn cuả hoa có bầu 1 ô và 1 vòi (80%) và hoa có 2 vòi (20%). Tuy nhiên, ở các cụm hoa bất thường một số có kích thước nhỏ (so với cây thông thường có tán đơn) và chỉ có một số ít có quả chín.

Theo sự quan sát của tác giả, những kiểu cụm hoa bất thường kể trên mặc dù rất hiếm nhưng không phải là sự biến đổi đặc biệt. Trong vườn trồng ở độ cao 1800m từ 700 cây khảo sát có 15 cây (2,1%) có tán hoa bất thường, trong số chúng có 3 có tán hoa dày như ở mẫu số 1 và 12 có tán hoa kép như ở mẫu số 2. Trong vườn trồng ở độ cao 1100m từ 1258 cây có 33 (2,6%) là có cụm hoa bất thường, trong số chúng có 1 có tán hoa dày và 32 có tán kép thưa. Cần phải thấy rằng sự hiện diện trong cùng các vườn trồng cây này có sự khác biệt trong cấu tạo cụm hoa đó là kiểu chùm tán, 2 tán do sự phân đôi trục hoa, với trục hoa mang lá và các bộ phận khác họp thành khoảng 7 và chiếm tỷ lệ 12%. Cần phải nhấn mạnh tính gần gũi của chỉ số độ gặp của các cụm hoa kiểu tán kép ở hai vườn trồng khác nhau (như 2,1% và 2,6%) chắc hẳn phản ánh một quy luật nào đó. Những kết quả thu được cung cấp các số liệu bổ sung cho các đặc điểm của cây sâm Việt Nam. Chúng được quan tâm trong hướng thiết lập một mắt xích, xác nhận sự hiện hữu của tính thân cận trong sự phát sinh chủng loài họ Araliaceae và họ Apiaceae. Vả lại, trong trường hợp nói trên mắt xích này được thành lập do những cây thân thảo chứ không phải là những cây thân gỗ vốn chiếm ưu thế trong họ Araliaceae.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Dung H.T., Grushvitsky I.V.,1985.*
A new species of the genus *Panax* L. (*Araliaceae*) in Vietnam. Bot. Jour. 17: 518 - 522

STRESS VÀ LÃO HOÁ - NHỮNG TRIỂN VỌNG CỦA SÂM VIỆT NAM

Nguyễn Thị Thu Hương[1],
Yobimoto kaori[2], *Kinzo matsumoto*[2],
Ryoji kasai[2], *Kazuo yamasaki*[2], *Hiroshi watanabe*[2]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Stress oxy hoá (oxidative stress) là những yếu tố stress gây ra những phản ứng oxy hoá lipid của màng tế bào (lipid peroxidation), dẫn đến những tổn thương về chức năng và cấu trúc của màng tế bào cả ngoại biên lẫn hệ thần kinh TW. Stress oxy hoá làm gia tăng sự hình thành các gốc tự do (free radical) với độc tính cao và là yếu tố bệnh sinh của những căn bệnh liên quan đến tuổi già như bệnh tim mạch, ung thư, suy giảm chức năng não bộ (bệnh Alzheimer)... (1,2). Việc nghiên cứu tìm ra những tác nhân chống oxy hoá (antioxidant) để dự phòng những bệnh lý gây bởi tác hại của gốc tự do là một trong những nhiệm vụ trọng tâm cuả ngành Dược trong việc nâng cao sức khoẻ và tuổi thọ con người.

Sâm Việt Nàm là một trong những cây thuốc họ nhân sâm (Araliaceae) tiêu biểu của Việt Nam, có thành phần hoá học và tác dụng dược lý tương tự như sâm Triều Tiên và các cây thuốc trong họ Nhân sâm. Sự hiện diện của majonoside - R_2 với hàm lượng cao đã góp phần hình thành một số tác dụng dược lý mới của sâm Việt Nam so với sâm Triều Tiên (3,4).

Công trình này được thực hiện nhằm mục đích xác định tác dụng chống oxy hoá của saponin toàn phần sâm Việt Nam và hoạt chất majonoside - R_2 *in vitro* trên sự gia tăng oxy hoá lipid do stress tâm lý.

II. TÓM TẮT NHỮNG ĐẶC ĐIỂM CHÍNH

- **Nguyên liệu nghiên cứu**

- Bột chiết saponin toàn phần được tinh chế từ bột chiết sâm Việt Nam.

[1] Trung Tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM.
[2] Institute of Natural Medicine, Toyama Medical & Pharmaceutical University, Toyama – Japan. Institute of Pharmaceutical Sciences, Hioshima University of Medicine.

- Bột chiết saponin toàn phần sâm Triều Tiên (5).

- Majonoside - R_2 (hiệu suất chiết: 5,29%) và aglycon của majonoside - R_2 có độ tinh khiết đạt trên 90% (được kiểm định bằng HPLC).

- Ginsenoside - Rg1, ginsenoside - Rb1 (Nacalai Tesque, Inc., Kyoto, Japan).

• **Những thử nghiệm dược lý** (được thực hiện trên chuột nhắt đực chủng BALB/c và chủng ICR).

- Thực nghiệm *in vitro* khảo sát tác dụng chống oxy hoá của saponin sâm Việt Nam và các hoạt chất chính majonoside - R_2 ginsenoside - Rb1 trên sự hình thành malonyl dialdehyd sản phẩm của quá trình oxy hoá lipid (lipid peroxidation) có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric (TBA - RS)(6).

- Thực nghiệm *in vivo* khảo sát ảnh hưởng của stress tâm lý (communication box) trên sự hình thành TBA - RS và tác dụng của sâm Việt Nam(7).

- Thực nghiệm khảo sát cơ chế của tác dụng chống oxy hoá của sâm Việt Nam (7).

• **Kết quả nghiên cứu:**

- Saponin sâm Việt Nam và saponin sâm Triều Tiên (nồng độ 0,05 - 0,5mg/ml) ngăn chặn sự hình thành sản phẩm TBA - RS của quá trình oxy hoá lipid trong mô não, dịch đồng thể tế bào gan và vi thể gan. Tác động này tương tự như vitamin E (nồng độ 10 - 100μM) là một chất chống oxy hoá điển hình. Các hoạt chất chính majonoside - R_2, ginsenoside - Rg1, ginsenoside - Rb1 ở những nồng độ 0,05 - 0,5 mg/ml không thể tác động ức chế sự hình thành sản phẩm TBA - RS (6).

- Sự tiếp súc với stress tâm lý trong 4 giờ làm gia tăng hàm lượng TBA - RS trong não. Saponin sâm Việt Nam (liều uống 15 - 25mg/kg) không làm gia tăng hàm lượng TBA - RS trong não ở cơ địa súc vật bình thường như làm giảm điển hình sự gia tăng hàm lượng TBA - RS gây bởi stress và đưa trở về mức bình thường (7).

- Majonoside - R_2 (3 - 10 mg/kg, tiêm phúc mô) và aglycon của majonoside - R_2 (1,2 mg/kg, tiêm phúc mô) cũng ức chế điển hình sự gia tăng hàm lượng TBA - RS gây bởi stress và đưa trở về mức bình thường (7).

- Chất đối kháng với thụ thể GABA flumazenil (10mg/kg, tiêm phúc mô) và pregnenolone sulfate (10mg/kg, tiêm phúc mô) phá hủy tác động ức chế của majonoside - R_2 (10mg/kg, tiêm phúc mô) trên sự gia tăng hàm lượng TBA - RS gây bởi stress và đưa trở về mức bình thường (7).

III. BÀN LUẬN, KẾT LUẬN

Saponin toàn phần sâm Việt Nam thể hiện tác động ức chế phản ứng oxy hoá lipit *in vitro*, và trên sự gia tăng hàm lượng TBA - RS trong tế bào não gây bởi stres tâm lý. Majonoside - R_2 đã được chứng minh là hoạt chất quyết định tác dụng

chống oxy hoá *in vivo* của sâm Việt Nam. Cơ chế tác động của majonoside - R_2 được giải thích do sự kích hoạt thụ thể GABA chi phối các đáp ứng thần kinh trong stress. Aglycon của majonoside - R_2 thể hiện tác động chống oxy hoá ở liều rất nhỏ, gợi mở những hướng nghiên cứu tiếp trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Camhi, S.L., Lee,P, Choi, A.M., 1995.*
New Horiz., 3, 170 – 182.

2. *Liu, J., Wang, X., Shigenaga, M.K., Yeo, H.C., Mori, A., Ames, 1996.*
B.N. FASEB. J. 10, 1532 – 1538.

3. *Nguyễn Thới Nhâm và cộng sự, 1993.*
Sâm Việt Nam: Tóm tắt kết quả nghiên cứu từ năm 1978 - 1992, Trung tâm sâm Việt Nam - Bộ Y tế.

4. *Nguyện Thị Thu Hương, Matsumoto, K. và Watanabe, H., oura, H., 1996.*
Phytotherapy Res. 10,569 – 572.

5. *Nguyện Thị Thu Hương, Matsumoto, K. Kasai, R., Yamasaki, K., Watanabe, H., 1998.*
Biol. Pharm. Bull.21,978 - 981, 1998;

6. *Yobimoto, K., Matsumoto, K., Nguyện Thị Thu Hương, Kasai, R., Yamasaki, K., 2000.*
Watanabe, H. Pharmacol. Biochem. Behav. 66,661 - 665,2000.

DI THỰC CÂY NHÂN SÂM VÀ BẠCH QUẢ

Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Văn Thuận,
Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Thị Hoà,
Đinh Văn My, Nguyễn Mạnh Hà và Đào mạnh Hùng.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhân sâm (*Panax ginseng* C. A. Mey. (*P. schinseng* Nees.)) và Bạch quả hay còn gọi là ngân hạnh (*Ginkgo biloba* L.) là hai loại cây thuốc quý được xếp thứ tự số 1 và số 2 trong bảng sắp các loại cây thuốc bổ, quý của Trung Quốc. Ngoài nhân sâm có tác dụng chữa được tất cả mọi loại bệnh như ý nghĩa tên gọi của nó thì Bạch quả đã không những chỉ là loại thảo dược cổ truyền mà y học hiện đại đã chứng minh tác dụng kiềm chế hoạt động của nhiều loại vi khuẩn gây bệnh, chống "lão hoá" giãn mạch máu, xúc tiến tuần hoàn máu, bổ thận, bổ não, dưỡng da v.v.. Từ lá bạch quả chiết được chất hoàng đồng can để bào chế tân dược Nhu huyết ninh chữa bệnh xơ cứng động mạch. Ở Hàn Quốc và Nhật Bản lá bạch quả dùng để bào chế thuốc giải độc, thuốc kháng sinh kháng ung thư và điều trị hen xuyễn, các bệnh về mạch máu, bệnh thuộc hệ thần kinh, bệnh ngoài da làm chất phụ gia của thực phẩm và mỹ phẩm v.v.. Với giá trị chưa bệnh và kinh tế to lớn như thế nên tháng 11/1993 Viện Dược liệu di thực cây bạch quả và cây nhân sâm.

II. PHƯƠNG PHÁP

1. Cây nhân sâm

Cây nhân sâm 18 tháng tuổi nhập từ Nhật Bản (tỉnh Hokaido - phía bắc Nhật Bản) đã có mầm cây dài từ 2 - 5cm và rễ từ 3 - 6cm chuyển lên trồng tại 10 điểm thuộc huyện Sa Pa tỉnh Lào Cai và một điểm tại huyện Mộc Châu tỉnh Sơn La.

Mười điểm đưa trồng tại huyện Sa Pa có điều kiện sinh thái và thổ nhưỡng như sau:

Tả Giàng Phình: Có độ cao 1350m so với mực nước biển, đất bạc mầu. Mầm nhân sâm được trồng dưới tán cây, tưới đủ ẩm hàng ngày, độ che bóng 40%.

Ngũ Chỉ Sơn: Độ cao khoảng 1600m đất đỏ bazan, làm giàn che nhân tạo, tưới đủ ẩm, độ tán che 60%, giàn che cao 1,2m.

Núi Hàm Rồng: Đất thịt nhiềumùn núi, độ dốc 10%, có giàn che nhân tạo, lợp cỏ tranh, giàn cao 1,5m, tưới tiêu tự chẩy và thường xuyên đủ ẩm.

Violet: Độ cao 1500m, đất tơi xốp có nhiều mùn núi, lân và kali trồng dưới tán cây to độ che phủ 30%. Nước tưới tiêu tự chẩy, luống đánh ngang, đất có độ dốc trên 15%.

Ô Quý Hồ: Độ cao trên 1500m, trồng dưới giàn che nhân tạo, lợp bằng lá cây và rơm rạ độ che 70%, giàn thấp 50 - 60cm, thường xuyên cung cấp đủ ẩm.

Cây số 15 (đèo Sa Pa) trồng dưới tán rừng già độ che phủ 20%, đất nhiều mùn, đủ ẩm thường xuyên.

Sau Chua: Độ cao 1600 - 1700m. Trồng dưới tán cây bụi, đất nhiều mùn núi, giầu dinh dưỡng, tưới nước hàng ngày. Độ che phủ 10%.

Xéo Mỹ Tỷ: Độ cao 1600m. Trồng dưới tán rừng già và có giàn che nhân tạo, giàn che được lợp bằng cành cây, lá cây. Độ che phủ 60%. Tưới nước hàng ngày.

Thị trấn Sa Pa: Giàn che nhân tạo, ngày che đêm mở, tưới nước ngày 2 lần, đất giầu dinh dưỡng.

Trại thuốc Sa Pa: Đất tốt trộn thêm mùn núi, giàn che nhân tạo, lợp bằng phên nứa và lá cây. Độ che 50%.

2. Cây Bạch quả

Do vỏ hạt bạch quả rất cứng ảnh hưởng đến thời gian và tỷ lệ *nảy* mầm của hạt nên chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu cơ chế tác động vào vỏ hạt Bạch quả nhằm đẩy mạnh quá trình hút nước của hạt từ đó cải thiện tỷ lệ và thời gian *nảy* mầm của hạt bạch quả.

Chúng tôi đã đập loại bỏ hoàn toàn phần vỏ cứng của hạt giữ nguyên phần phôi mầm và embryo.

Chỉ cắt bỏ phần vỏ cứng của hạt ở phần có phôi mầm.

Dùng cơ chế nhiệt để tác động (ngâm nước ấm 60^0C.)

Sau khi có cây con bạch quả gieo ở bầu đất từ 4 - 6 tháng tuổi chúng tôi đã đưa trồng cây bạch quả ở 3 địa điểm..

- Trại nghiên cứu cây thuốc Sa Pa Lào Cai
- Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội - TP. Hà Nội
- Cao nguyên Mộc Châu - Tỉnh Sơn La

III. KẾT QUẢ

1. Tình hình sinh trưởng và phát triển của cây nhân sâm

Tình hình sinh trưởng và phát triển / Địa điểm trồng	Tỷ lệ nảy mầm cây sau 15 ngày (%)	Tỷ lệ nảy mầm cây sau 30 ngày (%)	Tỷ lệ nảy mầm cây sau 60 ngày (%)	Tỷ lệ cây chết sau 90 ngày (%)	Tỷ lệ cây chết sau 150 ngày (%)	Tỷ lệ cây chết sau 180 ngày (%)	Số cây còn lại sau 200 ngày
Tả Giàng phình	8	14	5	3	7	15	32
Ngũ Chỉ Sơn	3	10	-	5	5	1	0
Núi Hàm Rồng	12	18	10	2	6	5	84
Violet	6	4	5	0	10	3	8
Ô Quý Hồ	16	11	15	5	4	3	51
Cây số 15	4	12	3	3	7	5	14
Sau Chua	3	12	-	2	8	3	8
Xéo Mỹ Tỷ	4	8	5	1	9	5	4
Thị trấn Sa Pa	15	14	8	2	7	13	42
Trại thuốc Sa Pa	18	21	12	3	11	20	26
Unáu	11	7	6	8	8	3	32

Phần lớn các cây bị chết trong khoảng thời gian từ lúc trồng đến dưới 200 ngày đều không hình thành được rễ mới, các cây này chỉ duy trì "sự sống" bằng nguồn dinh dưỡng của củ mầm và một tỷ lệ khá cao các cây này đã có nụ hoa và thậm chí nở hoa.

Số cây sống sau 200 ngày ở mọi nơi đều sinh trưởng rất kém. Sau 3 năm chỉ còn 2 điểm là núi Hàm Rồng (nhà ông Chấn) còn 5 cây và Ô Quý Hồ còn 8 cây, nhưng sinh trưởng cũng rất kém.

2. Cây Bạch quả

1) Tình hình nảy mầm của hạt bạch quả

Tỷ lệ nảy mầm / Công thức thí nghiệm	Sau 10 ngày (%)	Sau 15 ngày (%)	Sau 20 ngày (%)	Sau 25 ngày (%)	Sau 30 ngày (%)	Sau 40 ngày (%)
Bỏ toàn bộ vỏ cứng	4	-	-	-	-	-
Cắt một phần vỏ cứng	3	8	14	5	1	-
Ngâm trong nước nóng 60%, 30phút	-	-	4	1	-	-
Đối chứng (không xử lý gì)	-	-	3	1	-	-

2) Tình hình sinh trưởng và phát triển của cây bạch quả ở 3 địa điểm

Cây bạch quả được 4 tháng tuổi, có chiều cao 10 - 15cm được đem trồng ở 3 địa phương: Mộc Châu - Sơn La, Sa Pa - Lào Cai và Văn Điển - Hà Nội, và sau đây là tình hình sinh trưởng và phát triển của cây bạch quả.

Chỉ tiêu theo dõi / *Địa điểm*	*Chiều cao cây tăng trưởng sau trồng (cm)*		
	6 tháng	*12 tháng*	*24 tháng*
Thanh Trì (Hà Nội)	2,4 ± 0,04	3,0 ± 0,12	4,5 ± 0,16
Mộc Châu (Sơn La)	3,7 ± 0,50	16,8 ± 0,18	45,4 ± 0,41
Sa Pa (Lao Cai)	3,2 ± 0,18	12,1 ± 0,32	28,7 ± 0,28

Cho đến nay sau sáu năm trồng cây bạch quả ở Thanh Trì - Hà Nội chỉ cao trung bình 0,68m, trong lúc đó ở Sa Pa do chăm sóc không được đều đặn nên cây gần như chết hết. Còn ở Mộc Châu cây cao trung bình 3,2m đường kính gốc đã có cây đạt 6cm.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Di thực bước đầu cây nhân sâm và bạch quả vào Việt Nam chưa thành công. Từ thực tế khảo nghiệm chúng tôi có nhận xét:

- Muốn di thực thành công cây nhân sâm từ Triều Tiên, Nhật Bản hay Trung Quốc nhất thiết phải di thực bằng mầm giống và phải có sự chuẩn bị cơ sở vật chất hạ tầng cho cây trồng thật chu đáo (cần trồng cây trong các điều kiện nhân tạo).

- Cây bạch quả có thể di thực vào các vùng có độ cao so với mặt biển 800m trở lên, nhưng độ cao thích hợp nhất để trồng bạch quả ở miền bắc nước ta phải 1500m trở lên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tổng quan về cây bạch quả và cây hạch đào của Phó thủ tướng Nguyễn Công Tạn gửi Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn về dự án "Tăng cường năng lực và chính sách cho Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn" thuộc chương trình hợp tác lâm nghiệp Việt Nam - Thuỵ Điển.

2. Tài liệu lược dịch về "cây bạch quả - một cây thuốc và cây thực phẩm quý" do ông J. Tanaka cung cấp.

3. Cây ngân hạnh (Bạch quả) được người Pháp đưa vào trồng ở Việt Nam từ bao giờ - Thảo luận tại hội nghị "Triển khai trồng Bạch quả và cây Hạch đào" do Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn chủ trì tháng 5 năm 1999.

4. *Đỗ Tất Lợi, 1999.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam - NXB Y học. Tr. 774 - 775.

NGHIÊN CỨU VỀ DƯỢC LIỆU HỌC VÀ HOÁ HỌC CÂY SÂM VIỆT NAM *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. (Araliaceae)

Nguyễn Thới Nhâm, Phan Văn Đệ,
Trần Công Luận, Nguyễn Minh Đức,
Shoji Shibata, Osamu Tanaka, Ryoji Kasai

Những loài *Panax* phân bố ở phía bắc bán cầu từ trung tâm Himalaya đến bắc Mỹ qua Trung quốc, Triều tiên và Nhật Bản (Hara 1970; Zhou et al., 1975). Chi này bao gồm những cây thuốc nổi tiếng như *Panax ginseng* C. A. Mey (nhân sâm) và các nghiên cứu thực vật học, hoá thực vật và y học đối với chi này đã và đang được nghiên cứu tỉ mỉ. Năm 1973, một loài mới của chi này được phát hiện ở Việt Nam và được định danh là *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. năm 1985 (Dung et al., 1985). Những nghiên cứu về thực vật, hoá thực vật và dược lý đã được nghiên cứu chủ yếu tại Trung Tâm Sâm Việt Nam Tp. HCM. Tóm tắt của công trình này liên quan đến các nghiên cứu về hình thái, sinh học - sinh thái của cây này và nó được xem như là một nguồn cây thuốc mới.

Phát hiện

Ngày 19 tháng 3 năm 1973, Đoàn điều tra dược liệu do Đào Kim Long dẫn đầu đã phát hiện một loài *Panax*, *Panax vietnamensis* ở vùng Ngọc Lây, huyện Đắc Tô, tỉnh Kon Tum miền Trung Việt Nam ở độ cao 1800m so với mặt biển.

Cây mọc hoang trong rừng dày vùng núi cao mưa lạnh và sương mù hầu như quanh năm và được sử dụng như cây "Thuốc giấu" của dân tộc Xê Đăng sống trong vùng này và chỉ có các già làng cao tuổi biết được tác dụng của cây này. Họ sử dụng để chữa các bệnh nặng cho người trong nhà, cho dân làng và xem cây sâm này như một cây thuốc hộ thân hay cấp cứu có hiệu quả trong điều trị nhiều bệnh. Sử dụng dài ngày cây thuốc này có tác dụng tăng lực.

Đánh giá trữ lượng

Trữ lượng của *P.vietnamensis* được đánh giá dựa trên các điều kiện sinh thái dẫn đến kết quả: phát hiện 108 vùng có sâm mọc tập trung, phân bố trên một diện

tích rộng của 13 xã miền núi của 3 huyện thuộc 2 tỉnh. Trong cuộc điều tra này, 17.548 cây sâm hoang dại được thu thập và 1.032 ô tiêu chuẩn đã được thiết lập để thu các số liệu góp phần mô tả chính xác hình thái và điều kiện sinh thái phù hợp cho cây này. Phát hiện trữ lượng lớn của cây hoang dại và đáng chú ý là có hơn 78,5% cây được điều tra có trên 10 năm tuổi. Năm 1980, chính phủ đã có quyết định vùng cấm quốc gia để bảo tồn, tái sinh và nuôi trồng trên qui mô lớn cây thuốc có giá trị này. Vùng sâm mọc tự nhiên ở 15o vĩ độ bắc và 108o kinh độ đông, đây là vùng núi có trên 50 đỉnh cao trên 1500m bao gồm đỉnh cao nhất Ngọc Linh (2598m) của dãy Trường Sơn nam.

Nghiên cứu hình thái

Panax vietnamensis là một cây thảo sống nhiều năm nhờ thân rễ, cao 40 - 60cm, đôi khi đạt tới 1m và mọc tập trung thành những đám nhỏ.

Thân khí sinh: thẳng, nhẵn, màu xanh hoặc tím nhạt, đường kính 5 - 8mm. Thân thường lụi đi sau mùa sinh trưởng mỗi năm. Tuy nhiên, do ảnh hưởng của khí hậu hoặc điều kiện đất, 2 hay 3 thân khí sinh các năm trước vẫn có thể tồn tại trên cùng một thân rễ. Ngoài ra, thân rễ có thể phân nhánh nhiều lần và mỗi nhánh có thể mang 2 - 3 thân nên đôi khi toàn cây biến thành một bụi.

Lá: kép chân vịt, mọc vòng. Có 3, 4 hoặc 5 (hiếm khi 6 hoặc 7 đối với cây già tuổi) lá kép trên một thân khí sinh. Cuống lá kép dài 6 - 12cm.

Lá chét: thuôn, hình mũi giáo hoặc trứng, bìa có răng cưa. Chóp lá nhọn, đôi khi kéo dài thành đuôi. Lá kép thường có 5 lá chét (hiếm khi 3, 6 hoặc 7). Lá chét giữa to nhất và 2 lá chét gần cuống nhỏ nhất. Lá chét lớn nhất dài 6 - 15cm, rộng 3 - 6 cm. Gân lá lông chim thường có khoảng 10 cặp gân phụ. Gân phụ hình mạng và có lông cứng dài 1 - 2mm trên gân chính và ở cả 2 mặt của phiến lá.

Phiến lá: màu xanh, mỏng và dễ rách.

Cụm hoa: xuất hiện ở hầu hết các cây già tuổi có từ 3 lá kép trở lên. Trục tán hoa dài 10 - 20cm và thường mang một tán đơn ở tận cùng, đôi khi có thêm 2, 3 hoặc 4 tán phụ. Tán có đường kính 2,5 - 4cm có từ 50 - 120 hoa. Cuống hoa mảnh và dài 1 - 1,5cm. Một vài mẫu ngoại lệ có hoa tự bất thường giống như các đại diện của họ Apiaceae mang 20 - 50 tán phụ nhỏ.

Hoa: Màu lục nhạt, đường kính lúc hoa nở 3 - 4mm. Mỗi hoa có 5 lá dài hợp thành chuông phía trên chia thành 5 răng nhỏ hình 3 cạnh (dài 1 - 1,5mm), 5 cánh hoa (dài 1,5 - 2mm), 5 nhị, chỉ nhị mảnh (dài 1,5 - 2mm), bao phấn đính lưng. Bầu 1 ô, 1 vòi (85%) đôi khi 2 ô, 2 vòi. Vòi cao 1 - 1,5mm. Chưa thấy quả có bầu 3 ô, 3 vòi hoặc hơn.

Quả: Quả nang màu đỏ, khi chín thường có chấm đen ở đỉnh quả. Quả chín đỏ không chấm đen thường hiếm hơn. Phần lớn mỗi quả chứa 1 hạt hình thận dài 8 - 12mm, rộng 6 - 8mm, dày 2mm. Bề mặt hạt ráp, trọng lượng trung bình của 1 hạt là 275mg. Đôi khi có quả có 2 hạt có hình cầu dẹt, chưa thấy có quả 3 hạt hoặc hơn. Số liệu thu được trên 4910 quả chín cho thấy: 85,3% quả 1 hạt, quả 2 hạt: 14,7%. Quả có chấm đen chiếm 98,8% và quả không chấm đen 1,2%.

Thân rễ: là bộ phận dùng chính của cây sâm. Màu vàng nhạt hoặc vàng nâu, mùi nhẹ, vị đắng, hơi ngọt. Thân rễ có nhiều đốt, mang những vết sẹo do thân khí sinh để lại hàng năm. Mỗi vết sẹo có thể tượng trưng cho một năm tuổi. Hình dạng thân rễ cây hoang dại rất thay đổi, chiều dài và đường kính của thân rễ tùy thuộc năm tuổi của cây, thường dài 20 - 25cm, đường kính 1 - 3,5cm đối với cây 15 - 20 năm tuổi. Ở những cây già tuổi thân rễ có thể trồi lên mặt đất. Năm 1978, một thân rễ cây hoang dại dài 90cm, nặng 710g mang 62 vết sẹo đã được thu thập. Năm 1983, một cây già tuổi khác có 72 vết sẹo nặng 780g được thu thập. Thân rễ thường có mang những rễ phụ dọc theo đốt và dễ gãy.

Rễ củ: màu vàng nhạt, có những vân ngang và mang nhiều rễ con. Ở các cây sâm hoang dại, rễ củ là bộ phận ít phát triển, có hình trụ hay hình con quay, đôi khi có hình người. Năm 1978, một rễ củ to (200g), dài 10cm, đường kính 5cm đã được thu thập.

Ở những cây trồng, những biến đổi đáng chú ý được ghi nhận. Khác biệt chủ yếu giữa cây trồng và cây hoang dại là hình dạng của rễ. Rễ củ cây trồng dưới mặt đất phát triển mạng mỗi năm và trở thành bộ phận chính dưới mặt đất, còn thân rễ ngắn và nhỏ. Các rễ phụ có thể phình to thành rễ củ. Có 3 dạng rễ củ khác nhau ở cây trồng: dạng củ cà rốt, dạng con quay và dạng chùm củ cà rốt.

Ngoài ra cấu tạo hình thái của các bộ phận đa dạng của cây bao gồm thân rễ, rễ củ, rễ con, thân khí sinh và lá (gân chính, phiến lá, lông cứng...) đã được khảo sát.

Một vài đặc điểm sinh học - sinh thái của *P. vietnamensis.*

Cây phân bố ở độ cao từ 1.500m trở lên nhưng mọc dày hơn ở độ cao 1.700 - 2000m dưới tán rừng thường xanh, hỗn giao giữa cây lá rộng và cây lá kim. Cây ưa ẩm và thường mọc tập trung ven 2 bên bờ suối, nơi có độ ẩm trong không khí và trong đất trên 80% và tỉ lệ mùn hữu cơ trong đất rất cao. Tuy nhiên, ở các nơi xa suối giàu mùn và đủ ẩm, độ che phủ tốt cây sâm có thể mọc tốt. Thông số về khí hậu tối ưu cho sự phát triển: nhiệt độ trung bình năm 18 - 20^{0}C, nhiệt độ tối thấp tuyệt đối trong những ngày lạnh nhất có thể thấp hơn 0^{0}C, nhiệt độ cao nhất tuyệt đối không quá 25^{0}C dưới tán rừng. Có sự dao động lớn trong biên độ nhiệt độ giữa

ngày và đêm, số lượng ánh sáng tiếp nhận tương đối thấp (25 - 30% ánh sáng toàn phần), số giờ nắng 3 - 6 giờ trong ngày, độ ẩm trên 80%.

Chu kỳ sinh trưởng của cây trong năm: tháng 10 - 12, thân khí sinh năm trước bắt đầu tàn lụi và xuất hiện chồi ngủ mang tán hoa mới; tháng 1 - 3, xuất hiện thân khí sinh và tán hoa mới; tháng 4 - 6, cây ra hoa và kết quả; tháng 6 - 9, mùa quả chín. Thời kỳ tốt nhất cho việc thu hoạch cây sâm có lẽ là cuối giai đoạn của sự sinh trưởng tháng 10 - 12, thời kỳ tích lũy hoạt chất ở các bộ phận dưới mặt đất.

Ngoài ra, các đặc điểm khác về sinh lý ra hoa của cây so sánh với các loài *P. ginseng* và *P. notoginseng* và đặc biệt là khả năng tái sinh rất mạnh của cây sâm từ thân rễ đã được khảo sát.

Thành phần Saponin

Những saponin dammaran đã được chiết tách và xác định (Duc et al, 1993). Các saponin đã biết của 20 (S) - proto*Panax*adiol: ginsenosides - Rb1 (2.0%), - Rb3 (o.1%) và - Rd (1.4%) và notoginsenoside - R1 (0.4%). Saponin kiểu ocotillol: majonosides - R1 (0.1%) và - R2 (5.3%). Gần đây, các nghiên cứu sâu hơn về các saponin của rễ và thân rễ hướng đến chiết tách các saponin đã biết và mới cùng với một lượng nhỏ các saponin oleanolic acid (Duc et al,1994).

Thành phần saponin của hầu hết các loài *Panax* gần đây đã được làm sáng tỏ (Tanaka et al, 1994). Thân rễ của các loài *Panax* mọc ở Himalaya đến tây nam Trung Quốc và Nhật Bản chứa một lượng lớn saponin oleanolic acid bên cạnh saponin dammaran khác; thành phần saponin của bộ phận dưới mặt đất của *P. ginseng, P. quinquefolius, P. notoginseng* và các loài ở trung Nepal thì chủ yếu kết hợp với saponin dammaran có (hoặc không có) một lượng tương đối nhỏ saponin oleanolic acid. Thành phần saponin của *P. vietnamensis* tương tự như thành phần của nhóm cuối. Tuy nhiên, đáng chú ý là thân rễ cũ *P. vietnamensis* chứa một lượng lớn saponin kiểu ocotillol, kiểu saponin này chưa phân lập được từ *P.ginseng, P. quinquefolius* và *P. notoginseng.*

Ngoài ra các hợp chất polyacetylen được phân lập từ rễ nhân sâm có tác dụng chống các tế bào ung thư nuôi cấy cũng đã được phân lập từ thân rễ của *P. vietnamensis.*

Nghiên cứu dược lý

Nghiên cứu dược lý của nhân sâm và các saponin của nó trên chuột cống và chuột nhắt được tiến hành từ 1970 (Shibata et al, 1985, 1990). So sánh với tác dụng sinh học của nhân sâm, những nghiên cứu dược lý của dịch chiết

P. vietnamensis được thực hiện ở Việt Nam. Tác động sinh thích nghi, chống mệt mỏi, giảm đau đã được khảo sát trên dịch chiết. Sự kích thích hệ thần kinh trung ương ở liều thấp nhưng ức chế ở liều cao. Sự gia tăng trọng lượng của cơ quan sinh dục đực và cái, tác động chống xơ cứng động mạch, tác động tăng huyết áp đối với động vật có huyết áp thấp, tác động hạ đường huyết và bảo vệ tái tạo chống tổn thương gan đã được khảo sát trong những thí nghiệm trên súc vật.

Hai tác động được khảo sát gần đây trên dịch chiết và saponin hổn hợp của *P. vietnamensis* làm tăng hàm lượng cytocrom P - 450 trong các vi thể gan và tác động kháng khuẩn chống các loài Streptococcus gây bệnh nhưng không có ảnh hưởng trên các vi sinh vật có ích trong đường ruột.

Đánh giá lâm sàng của dịch chiết sâm Việt Nam đối với bệnh nhân có tuổi và ở thời kỳ hậu phẩu được thực hiện tại Viện Lão Khoa - Hà Nội, Viện Quân y 175, Viện Điều dưỡng TP.HCM. Những kết quả dương tính thu được: tác động bổ toàn thân, tác động chống mệt mỏi, làm ăn ngon,ngủ tốt, tăng cường cơ bắp và trạng thái tinh thần, tăng trí nhớ, giảm đau nhức xương, phục hồi sau các bệnh thiếu máu, xơ cứng động mạch, viêm họng hạt mãn tính, giảm hen phế quản...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Duc N.M., Nham N.T., Kasai R., Ito A., Yamasaki K.andTanaka O..1993.*
Saponin from Vietnamese Ginseng. *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. Collected in Central Vietnam. I. Chem. Pharm. Bull. 41: 2010 - 2014.

2. *Duc N.M., Nham N.T., Kasai R., Ito A., Yamosaki R. and Takaha O., 1994.*
Saponins from Vietnamese Ginseng *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. Collected in Central Vietnam. II. Chem. Pharm. Bull. 42: 115 - 122.

3. *Duc N.M., Nham N.T., Kasai R., Ito A., Yamosaki R. and Takaha O., 1994.*
Saponins from Vietnamese ginseng.*Panax vietnamensis* Ha et Grushv. Collected in Vietnam III. Chem. Pharm. Bull. 42: 634 - 640.

4. *Dung H. T., Grushv. I. V., 1985.*
A new species of the genus *Panax* L. (*Araliaceae*) in Vietnam. Bot. Jour. 70: 518 - 522.

5. *Hara H., 1970.*
On the asiatic species of the genus *Panax*. Jpn. Bot. 45: 197 - 215.

6. *Nham N.T., 1989.*

Study on *Panax vietnamensis*: Botany, tissue culture, chemistry, biological properties. Herba Polonica Tom XXXV (Supplement II): 1 - 229 (Thesis for Ph.D.)

7. *Shibata S., Tanaka O.,Shhoji J. and Saito H., 1985.*

Chemistry and pharmacology of *Panax*. In: Wagner H., Hikino H. and Fansworth N.R. (eds.), Economic and Medicinal Plant Reseach 1: 217 - 284, Academic Pres, London.

8. *Tanaka O., 1991.*

Studies on chemotaxonomical and biosystemical comparison of plants growing in Japan and Yunnan, China: *Panax* species. Japanese Scientific Monthly (Gakujutsu Geppo, JSPS). 44: 590 - 596.

9. *Zhou J., Wu M., Yang C., and Huang K., 1975.*

Triterpenoids from *Panax* Linn. and relationship with taxonomy and geographical distribution. Acta Phytochemica Sinica 13: 29 - 48.

NHỮNG ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI - GIẢI PHẪU LÁ CỦA CÂY SÂM VIỆT NAM *Panax vietnamensis* (Araliaceae)

Phan Văn Đệ, Grushvitsky I.V., Skvortsova N.T.

Nhân việc phát hiện và mô tả loài mới đối với khoa học và là loài đặc hữu trong hệ thực vật Việt Nam của chi *Panax* L. - *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. (Hà Thị Dụng, Grushvítky I.V., 1987) các tác giả đã kết hợp hợp lý trở lại việc nghiên cứu hình thái giải phẫu so sánh được tiến hành trước đây đối với lá của các loài thuộc chi này. Phân tích giải phẫu tiến hành lúc bấy giờ cho thấy sự khác biệt rõ rệt giữa các loài nghiên cứu và khả năng phân nhóm cùng chi của chúng dựa vào các dấu hiệu tổng hợp. Vì thế, dựa vào cấu tạo của phiến lá, biểu bì và cuống lá người ta hình thành một nhóm gần gũi nhất trong quan hệ hình thái thái *Panax ginseng* C. A. Mey. và *Panax* quinquefolius L.; một nhóm khác *Panax pseudoginseng* Wall. và *Panax japonicus* C. A. Mey. Sau cùng, nhóm của *Panax* trifolius L. và *Panax major* (Burkill) Ting được tách riêng mặc dù *P. trifolius* dựa vào hàng loạt các dấu hiệu có khuynh hướng gần với *P. quinquefolius* còn loài *P. major* thì gần với *P. pseudoginseng*.

Dưới đây tóm tắt những đặc điểm giải phẫu-hình thái lá của *P. vietnamensis* đã được tiến hành:

Trong bản mô tả đầu tiên (Hà Thị Dụng, Grushvitsky, 1985) hình thái của *P. vietnamensis* gần với nhóm *P. pseudoginseng* và *P. japonicus*, đặc biệt là với *P. pseudoginseng*. Ví dụ như chỉ đối với 2 loài này sự hiện diện đặc trưng ở cây mầm là tán lá có 5 lá chét (ở *P. japonicus* số lá chét dao động từ 3-5), còn ở những loài còn lại tán lá chỉ có 3 lá chét. Trong lúc đó, khi so sánh tán lá của *P. vietnamensis* và *P. pseudoginseng* cho thấy hàng loạt sự khác biệt. Lá chét trong tán lá của loài mới có kích thước nhỏ hơn, hẹp hơn, mép lá có răng cưa nhỏ đồng đều (không có răng cưa to 2 lần ở gần mũi) và v.v..

Phiến lá cắt ngang cho thấy nó mỏng nhất (30-49μ) trong số các loài đã nghiên cứu của chi *Panax* L. Mô mềm thịt lá ít phân hóa gồm 4-5 dãy tế bào. Những tế bào của hàng trên, như của *P. pseudoginseng*, có kích thước to, phần lớn có đường kính

đồng đều, những tế bào của hàng dưới kéo dài theo chiều ngang (chiều cao của chúng 2-3 lần ngắn hơn chiều dài).

Gân chính có cấu tạo giống như ở *P. japonicus*, nhưng khác với tất cả các loài khác là to hơn: khoảng 9 lần dày hơn phiến lá; u lồi phía trên có hình 3 cạnh tròn, phía dưới hầu như tròn. Tuy nhiên, khác biệt với *P. japonicus* mô mềm thịt lá ở đây không được áp dụng vào u lồi phía trên của gân lá. Ở tất cả các loài khác sự giống nhau không lặp lại với *P. japonicus* thể hiện ngay cả trong cấu tạo của hệ thống bó libe-gỗ, có ít hoặc nhiều hơn 9 bó libe-gỗ tạo thành một vòng không khép kín (ở phía trên). Nhưng chỉ có *P. vietnamensis* ở nơi gián đoạn của vòng gần với bó libe-gỗ ngoài có những bó libe-gỗ đảo ngược. Ở loài mới, các ống tiết biểu hiện rõ rệt hơn so với các loài còn lại.

Biểu bì trên và dưới trong vi phẫu cắt ngang giống như đa số các loài *Panax* khác, tương đối ít khác biệt, nếu như không kể loài *P. major* (có sự khác nhau rõ rệt giữa biểu bì trên và biểu bì dưới).

Khi quan sát trên một mặt phẳng ở *P. vietnamensis*, màng tế bào biểu bì trên và dưới uốn lượn hầu như cùng một mức độ (khác với tất cả các loài còn lại), nhưng những tế bào khác nhau tùy theo hình dạng của chúng: biểu bì trên cho thấy có ít những tế bào kéo dài hơn những tế bào ở biểu bì dưới.

Sự khác biệt có ý nghĩa của *P. vietnamensis* với tất cả các loài khác căn cứ vào hàng loạt các dấu hiệu cấu tạo của cuống lá kép. Cuống lá của loài mới được củng cố bởi lớp mô dày ở dưới biểu bì và bởi một vòng không liên tục của mô mềm hóa gỗ ở giữa các bó libe-gỗ. Có sự hiện diện của các ống tiết ở cả mặt ngoài và mặt trong của các bó libe-gỗ, những ống tiết này cũng có ở P. ginseng nhưng với số lượng ít hơn.

Phân tích các số liệu đã tiến hành trước tiên có thể rút ra những dấu hiệu giải phẫu, căn cứ vào đó loài mới cho thấy sự khác biệt với hầu hết các loài đã nghiên cứu trước đây. Đó là sự biểu hiện rõ rệt hơn của các ống tiết có ở cả gân chính cũng như ở cuống lá kép, sự uốn lượn của vách tế bào biểu bì trên và dưới hầu như có cùng một mức độ, ở cuống lá có sự hiện diện của một lớp mô dày và một vòng gián đoạn mô mềm hóa gỗ giữa các bó libe-gỗ của phiến lá, có sự hiện diện của 2 bó mạch đảo nằm gần các bó ở phần trên của nửa vòng.

lần so với phiến lá, dựa vào hình dạng của gân chính cắt ngang, căn cứ vào sự hiện diện ít hoặc nhiều hơn 9 bó libe-gỗ riêng rẽ tạo thành một vòng hở ở phía trên.

Những nghiên cứu hình thái-giải phẫu so sánh được thực hiện đã xác định độc lập loài của loài mới của chi *Panax* L. - *Panax vietnamensis*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Dung H. T., Grushv. I. V., 1985.*
A new species of the genus *Panax* L. (*Araliaceae*) in Vietnam. Bot. Jour. 70: 518-522.

TÁC DỤNG KÍCH THÍCH MIỄN DỊCH CỦA SÂM VIỆT NAM (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv. *Araliaceae*)

Nguyễn Thị Thu Hương[1], *Kinzo Matsumoto*[2], *Nguyễn Thới Nhâm*[1], *Hiroshi Watanabe*[2]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Việt Nam là một trong những cây thuốc thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae) tiêu biểu của Việt Nam và là một loài *Panax* mới của thế giới. Sâm Việt Nam có thành phần hóa học và những tác dụng dược lý tương tự như sâm Triều Tiên và các cây thuốc trong họ Nhân sâm (1). Những nghiên cứu gần đây đã công bố tác dụng antistress của sâm Việt Nam và hoạt chất chính majonoside-R2 (2). Stress, ngoài việc gây ra những rối loạn chức năng và thực thể, còn gây suy giảm hệ miễn dịch dẫn đến những bệnh lý do suy giảm sức đề kháng của cơ thể. Do đó, tác dụng kích thích miễn dịch được xác định là một trong những chỉ tiêu để đánh giá tác dụng antistress của các cây thuốc và những hoạt chất adaptogen có nguồn gốc từ tự nhiên (3). Sâm Triều Tiên và những hoạt chất của sâm Triều Tiên được chứng minh làm gia tăng những đáp ứng miễn dịch và điều hòa sự ức chế miễn dịch gây bởi stress trên súc vật thử nghiệm (4,5).

Công trình này được thực hiện nhằm mục đích xác định ảnh hưởng của sâm Việt Nam và hoạt chất majonoside-R2 trên sự đáp ứng miễn dịch ở cơ địa súc vật bình thường và ở cơ địa súc vật bị suy giảm miễn dịch gây bởi stress tâm lý.

II. TÓM TẮT NHỮNG ĐẶC ĐIỂM CHÍNH

1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Bột rễ và thân rễ của cây sâm Việt Nam (5 năm tuổi) được chiết xuất bằng ethanol theo phương pháp ngấm kiệt và cô giảm áp cho ra dạng cao mềm.

- Bột chiết saponin toàn phần được tinh khiết hóa từ bột chiết sâm Việt Nam.

- Hoạt chất chính majonoside-R2 (hiệu suất chiết: 5.29%) sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp từ GS. Kazuo Yamasaki - Trường Đại học Hiroshima, BM. Hóa

hợp chất tự nhiên. Độ tinh khiết của mẫu majonoside-R2 đạt trên 90% (được kiểm định bằng HPLC).

2. Những thực nghiệm dược lý

Thực hiện trên: chuột nhắt đực chủng BALB/c và Swiss albino.

- Thực nghiệm khảo sát ảnh hưởng của sâm Việt Nam trên độc tính cấp của Escherichia coli ATCC 25922 (tiêm phúc mô ở liều 3 x 108 /ml) (6).

- Thực nghiệm khảo sát ảnh hưởng của sâm Việt Nam trên sự thực bào của bạch cầu *in vitro* (microscopic assay) (6).

- Thực nghiệm khảo sát ảnh hưởng của sâm Việt Nam trên sự thực bào của bạch cầu *in vivo* (bactericidal assay) (6).

- Thực nghiệm khảo sát ảnh hưởng của sâm Việt Nam trên sự thực bào của đại thực bào (macrophage) *in vivo* (carbon clearance test) (6).

- Thực nghiệm khảo sát tác dụng của sâm Việt Nam trên sự suy giảm khả năng thực bào do stress tâm lý: stress cô lập (isolation stress) và stress tâm lý sử dụng hộp truyền tin giao tiếp (communication box) (2).

3. Kết quả nghiên cứu

- Bột chiết sâm Việt Nam (liều uống 500 mg/kg) và majonoside-R2 (50 mg/kg, tiêm phúc mô) có tác dụng bảo vệ súc vật thử nghiệm đối với liều gây chết của E. coli. Bột chiết sâm Việt Nam và majonoside-R2 ở những liều trên có tác dụng làm gia tăng chỉ số thực bào của bạch cầu trong cả hai thực nghiệm *in vitro* và *in vivo* (6).

- Bột chiết sâm Việt Nam (liều uống 100-500 mg/kg), saponin toàn phần sâm Việt Nam (25 mg/kg, tiêm phúc mô) và majonoside-R2 (10 mg/kg, tiêm phúc mô) có tác dụng làm gia tăng chỉ số thực bào *in vivo* của đại thực bào trong thực nghiệm carbon clearance test. Tác dụng này tương tự như tác dụng của zymosan A (30 mg/kg, tiêm phúc mô), là một chất kích thích sự thực bào điển hình (6).

- Stress tâm lý làm giảm khả năng thực bào *in vivo* của đại thực bào. Majonoside-R2 (10 mg/kg) và thuốc đối chiếu *zymosan* (30 mg/kg), được tiêm phúc mô 5 ngày trước thực nghiệm, có tác dụng dự phòng sự suy giảm khả năng thực bào gây bởi stress tâm lý (6).

III. BÀN LUẬN - KẾT LUẬN

Sâm Việt Nam cũng như saponin toàn phần và majonoside-R2 thể hiện tác động gia tăng chỉ số thực bào ở cơ địa súc vật bình thường và cơ địa súc vật bị suy

giảm miễn dịch gây bởi stress tâm lý. Majonoside-R2 đã được chứng minh là hoạt chất quyết định tác dụng kích thích miễn dịch của sâm Việt Nam.

Sơ bộ xác định cơ chế tác động của sâm Việt Nam như sau:

- Tác dụng kích thích hoạt động của hệ thống lưới nội mô (reticuloendothelial system) của sâm Việt Nam. Hệ thống lưới nội sinh chất thường giữ vai trò quan trọng trong việc duy trì sự hằng định nội môi và sự miễn dịch không đặc hiệu của sinh vật (7).

- Sự tương quan giữa hệ thần kinh TW và hệ miễn dịch trong các bệnh lý suy giảm miễn dịch gây bởi stress là cơ sở cho tác động dự phòng sự suy giảm miễn dịch gây bởi stress của sâm Việt Nam. Sâm Việt Nam với tác động chống stress và tăng lực trong đó majonoside-R2 đã được xác định như một chất chủ vận lên hệ thống GABA của hệ thần kinh TW tham gia vào quá trình điều hòa những rối loạn gây bởi stress.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Thới Nhâm và cộng sự, 1993.*
Sâm Việt Nam: Tóm tắt kết quả nghiên cứu từ năm 1978-1992. Trung tâm sâm Việt Nam - Bộ Y tế.

2. *Nguyễn Thị Thu Hương, Matsumoto, K. và Watanabe, H., 1998.*
Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 20, 65-76.

3. *Wagner, H., Norr, H., Winterhoff, H., 1994.*
Phytomedicine 1, 63-76.

4. *Singh, V.K., Agarwal, S.S., Gupta, B.M., 1984.*
Planta Medica 50, 462-465.

5. *Saito, M., Okamoto, S., 1996.*
Ginseng Review 21, 7-11.

6. *Nguyễn Thị Thu Hương, Matsumoto, K., Nguyễn Thới Nhâm, Nguyễn Huy Quang, Nguyễn Minh Đức, Yamasaki, K. và Watanabe, H., 1997.*
Phytomedicine 4, 341-346.

7. *Silverstein, S.C., Greenberg, S., Virgilio, F.D., 1989.*
Steinberg, T.H In: Fundamental Immunology, Paul, W.E. (ed.), Raven Press Ltd., New York, 703-720.

TÁC DỤNG CHỐNG STRESS VÀ CHỐNG TRẦM CẢM CỦA SÂM VIỆT NAM (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., Araliaceae)

Nguyễn Thị Thu Hương[1], *Kinzo Matsumoto*[2], *Nguyễn Thới Nhâm*[1], *Hiroshi Watanabe*[2]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Stress là một trong những nguyên nhân của những căn bệnh của thời đại công nghiệp như: trầm cảm, tim mạch, ung thư, suy giảm khả năng miễn dịch... Theo thống kê của Bệnh viện Tâm thần TW, tỉ lệ người có biểu hiện các triệu chứng của bệnh trầm cảm chiếm khoảng 5-7%, trong đó phụ nữ có tỉ lệ mắc bệnh cao hơn (1).

Sâm Việt Nam là một trong những cây thuốc thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae) tiêu biểu của Việt Nam và là một loài *Panax* mới của thế giới. Sâm Việt Nam có thành phần hóa học và những tác dụng dược lý tương tự như sâm Triều Tiên và các cây thuốc trong họ Nhân sâm như: tác dụng bổ, tăng lực, sinh thích nghi, kháng viêm, giảm đau, hạ cholesterol huyết, hạ đường huyết... Ngoài ra, sự hiện diện của 24 dammarane saponin mới (vina-ginsenosides-R1-24) và hợp chất majonoside-R2 với hàm lượng cao đã góp phần hình thành một số tác dụng dược lý mới của sâm Việt Nam so với sâm Triều tiên (2, 3). Tác dụng chống stress và chống trầm cảm được định hướng nghiên cứu trong công trình này nhằm mục đích thăm dò những tác dụng mới của sâm Việt Nam và xác định hoạt chất có tác dụng của sâm Việt Nam, đặc biệt là majonoside-R2.

II. TÓM TẮT NHỮNG ĐẶC ĐIỂM CHÍNH

1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Bột rễ và thân rễ của cây sâm Việt Nam (5 năm tuổi) được chiết xuất bằng ethanol theo phương pháp ngấm kiệt và cô giảm áp cho ra dạng cao mềm. Hiệu suất chiết: 56.2%. Độ ẩm cao: 20.4%. Hàm lượng saponin toàn phần tinh khiết qui ra chuẩn ginsenoside Rg1: 13.2% (4).

---

[1] Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM.
[2] Institute of Natural Medicine, Toyama Medical & Pharmaceutical University, Toyama-Japan.

- Hoạt chất chính majonoside-R2 (hiệu suất chiết: 5.29%) sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp từ GS. Kazuo Yamasaki - Trường đại học Hiroshima, BM. Hóa hợp chất tự nhiên. Độ tinh khiết của mẫu majonoside-R2 đạt trên 90% (được kiểm định bằng HPLC).

2. Những thực nghiệm dược lý

Thực hiện trên: chuột nhắt đực (chủng dY và Swiss albino) và chuột cống đực (Swiss albino).

- Stress vật lý: stress nhiệt độ nóng (37-42(C) và lạnh (0-5(C).

- Stress tâm lý: stress cô lập (isolation stress), stress gây sợ hãi có điều kiện (conditioned fear stress) và stress tâm lý sử dụng hộp truyền tin giao tiếp (communication box) (5).

- Thực nghiệm của Porsolt sàng lọc tác dụng chống trầm cảm (6).

3. Kết quả nghiên cứu

- Trong stress vật lý, sâm Việt Nam (liều 100 mg/kg, uống) có tác dụng gia tăng ngưỡng chịu đựng của súc vật thử nghiệm đối với nhiệt độ, làm kéo dài thời gian sống sót của súc vật thử nghiệm. Cơ chế tác dụng của sâm Việt Nam là làm gia tăng các đáp ứng thể dịch và sự đề kháng miễn dịch (tăng tiết corticoid của tuyến thượng thận, tăng sinh tuyến ức) (2).

- Stress tâm lý thực nghiệm gây ra các rối loạn chức năng và thực thể như: làm mất cảm giác đau, loét dạ dày, giảm thời gian ngủ của pentobarbital, giảm khả năng miễn dịch không đặc hiệu... sâm Việt Nam (liều uống 50-200 mg/kg) và hoạt chất majonoside-R2 (liều 3,1- 12,5 mg/kg, tiêm phúc mô) có tác dụng phục hồi các rối loạn trên, đưa trở về trạng thái bình thường. Sâm Triều Tiên khi được thử đối chiếu ở khoảng liều uống từ 50-200 mg/kg đã không thể hiện tác dụng đạt ý nghĩa thống kê (4, 5).

- Sâm Việt Nam có tác dụng chống trầm cảm ở liều uống một lần 200 mg/kg và liều 50-100 mg/kg khi được cho uống trong thời gian 7 ngày. Majonoside-R2 có tác dụng chống trầm cảm ở cả 3 liều thử 3,1; 6,2 và 12,5 mg/kg tiêm phúc mô (4).

- Majonoside-R2 đã được chứng minh là hoạt chất quyết định tác dụng chống stress và tác dụng chống trầm cảm của sâm Việt Nam (4, 5).

- Nghiên cứu về cơ chế tác dụng đã xác định vai trò của thụ thể opioid, phức hợp GABA và các neurosteroid có thể ảnh hưởng lên tác dụng chống stress của sâm Việt Nam và hoạt chất majonoside-R2 (5).

III. BÀN LUẬN, KẾT LUẬN

Sâm Việt Nam thể hiện tác động chống stress và chống trầm cảm ở liều 50-200 mg/kg. Khoảng liều này cũng được báo cáo có tác dụng dược lý khác như: tăng lực, kích thích hoạt động não bộ và nội tiết .... Majonoside-R2 được xác định là một hoạt chất quan trọng quyết định những tác dụng dược lý đặc hiệu của sâm Việt Nam. Cơ chế của tác động này được xác định thông qua hệ thống GABA ở hệ thần kinh TW trong đó majonoside-R2, với cấu trúc tương tự như một neurosteroid, có tác động như một chất chủ vận lên hệ thống này (4).

Những nghiên cứu gần đây xác định majonoside-R2 có tác dụng kích hoạt tác động chống ung thư *in vitro* và *in vivo* (7), gợi mở cho thấy majonoside-R2 có triển vọng trong điều trị các trường hợp ung thư có nguồn gốc từ stress.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Ngô Hữu Lộc, 2000.*
Tạp chí Thế giới Phụ nữ, 8, 26, 2000.

2. *Nguyễn Thới Nhâm và cộng sự, 1993.*
Sâm Việt Nam: Tóm tắt kết quả nghiên cứu từ năm 1978-1992, Trung tâm Sâm Việt Nam - Bộ Y tế.

3. *Nguyễn Minh Đức, Kasai, R., Yamasaki, K., Nguyễn Thới Nhâm và Tanaka, O., 1997.*
Proceedings of Pharma Indochina, 273-283, 1997

4. *Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Mỹ Tiên, 2001.*
Nghiên cứu tác dụng chống stress và chống trầm cảm của sâm Việt Nam, Tạp chí Dược liệu tập 6, 2+3.

5. *Nguyễn Thị Thu Hương, Matsumoto, K. và Watanabe, H., 1998.*
Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 20, 65-76, 1998.

6. *Porsolt, R.D., Bertin, A., Jalfre, M., 1997.*
Arch. Int. Pharmacodyn., 229, 327-336, 1977

7. *Konoshima, T., Takasaki, M., Tokuda, H., Nishino, H., Nguyễn Minh Đức, Kasai, R., Yamasaki, K., 1998.*
Biol. Pharm. Bull. 21, 834-838, 1998.

HÀM LƯỢNG ARTEMISININ, CÁC SESQUYTECPEN VÀ TINH DẦU TRONG CÂY THANH CAO TRỒNG VÀ MỌC HOANG Ở VIỆT NAM

Bùi Thị Bàng, Nguyễn Gia Chấn, Herman J.W.[1], Nesko Pras[1], Nguyễn Văn Bời[2], Phạm Văn Ý[3], Lugt C. B.[3][4], Đỗ Đình Rãng[4]

SUMMARY

The content of artemisinin, related sesquyterpenes and essential oil in cultivated and wild *Artemisia annua* L. in Viet Nam

The development of the Artemisinin content and of the biosynthetically related sesquyterpenes: Artemisinic acid, Arteannuin B and Artemisistene in Artemisia annua L. during vegetation period in Viet Nam was carried out. In addition, the essential oil and composition were studied. Samples of leaves, buds, flowers, post-bloom flowers and fruits were taken at different stages in Ha Noi and in Lang Son (where this species is indigenous). The highest Artemisinin content (1,05 - 1,1% of dry wt.) was present in the leaves of 5 months-old plants. The content of the related sesquyterpenes was very low in all stages. The essential oil content was maximal (1,9% of dry wt.) at flowering stage and was composed of 55% monoterpenes and 45% sesquyterpenes.

The leaves of wild Artemisia plants as well as cultivated in the North Viet Nam having high Artemisinin content. The harvest of Artemisia leaves just before the appearance of buds obtains the highest quality: Artemisinin content is high, impurities are low.

*

* *

[1] Trường Tổng hợp Groningen (Hà Lan).
[2] Trường Đại học Sư phạm Huế.
[3] ACF Beheer BV (Hà Lan).
[4] Trường ĐHSP Hà Nội.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm vừa qua nguyên liệu thanh cao phục vụ cho chiết xuất artemisinin (ART) được thu hái từ cây thanh cao trồng và cây thanh cao mọc hoang tại một số tỉnh phía Bắc. Ngoài ra cây thanh cao còn được nghiên cứu trồng thử tại một số tỉnh phía Nam. Để đánh giá chất lượng thanh cao chúng tôi đã theo dõi hàm lượng ART trong lá thanh cao trong quá trình sinh trưởng của cây trồng và cây mọc hoang và trong quá trình làm khô dược liệu.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu

Lá cây thanh cao mọc hoang tại Lạng Sơn (*Artemisia annua* L.), trồng tại Hà Nội.Thái Nguyên, Thanh Hóa và Nghệ An.

2. Phương pháp

- Hàm lượng các thành phần của tinh dầu, ART và các sesquytecpen liên quan được xác định bằng phương pháp sắc ký khí - phổ khối liên hợp tại trường Tổng hợp Groningen (1). Hàm lượng ART trong các mẫu thanh cao thu tại Lạng Sơn, Thái Nguyên, Thanh Hóa và Nghệ An được xác định bằng phương pháp quang phổ tử ngoại (2).

III. KẾT QUẢ

1. Hàm lượng tinh dầu, ART và các sesquytecpen trong quá trình sinh trưởng của cây thanh cao mọc hoang tại Lạng Sơn (1994) và trồng tại Hà Nội (1992)(3)

Bảng 1. **Sự thay đổi hàm lượng tinh dầu, ART và các sesquytecpen trong các pha sinh trưởng của cây thanh cao**

Ngày lấy mẫu	*Lạng Sơn*	*Hà Nội*				
	ART	*ART*	*arteannuic acid*	*arteannuin B*	*artemisistene*	*Tinh dầu*
15/5	0,53					
15/6	0,93	1,10	0,16	0,08	0,01	0,98
15/7	1,05	0,90	0,03	0,02	0,01	0,98
15/8	1,02					
15/9	0,59	0,85	0,05	0,03	0,09	0,78
15/10	0,48	0,54	0,06	0,01	0,07	1,90
10/11	0,31	0,34	0,02	0,003	0,004	0,60
20/11		0,15	0,001	0,002	0,002	0,40

Bảng 2. **Hàm lượng các thành phần tinh dầu (% diện tích pic) trong các pha sinh trưởng khác nhau của cây (Hà Nội, 1992)(3)**

Cấu tử	*15/6*	*15/7*	*15/9*	*15/10*	*10/11*	*20/11*
α-Pinen	0,6	0,5	0,6	1,4	0,2	0,1
Camphen	1,1	1,1	1,1	1,9	0,4	0,3
Sabinen	0,5	0,2	0,4	1,8	-	0,2
β-Pinen	0,5	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1
Myrcen	-	-	-	8,5	0,1	0,1
p-Cymen	1,5	0,5	1,2	1,3	0,1	0,5
1,8-cineol	2,0	1,1	1,6	7,3	3,4	2,1
Artemisia xeton	-	-	-	2,5	0,1	4,4
α-Terpinen	0,3	0,2	0,3	2,1	0,3	0,3
Artemisia ancol	0,1	0,2	0,2	0,6	0,5	0,5
Linalol	-	-	0,1	1,4	4,2	2,9
Campho	18,0	22,0	13,5	16,9	13,8	9,1
Borneol	2,4	1,5	1,3	0,6	3,7	1,8
Terpinen-4-ol	0,7	0,3	0,5	0,6	0,7	0,9
α-Terpineol	0,2	0,1	0,1	0,9	0,3	0,3
α-Copaen	0,2	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2
β-Caryophyllen	3,2	8,6	7,8	4,4	5,2	5,4
Humulen	0,2	0,7	0,6	0,4	0,4	0,5
Transβ-farnesen	1,1	1,6	3,8	5,3	12,8	13,4
Germacren D	4,3	13,6	18,9	8,8	12,5	9,3

2. Hàm lượng ART trong lá thanh cao trồng ở các vùng khác nhau(4)

Bảng 3. **Hàm lượng ART trong lá thanh cao trồng ở các vùng khác nhau**

Nguồn gốc địa lý và vùng trồng	*Tình trạng cây khi lá có hàm lượng ART cao nhất*	*% ART trong lá khô tuyệt đối*	*Năm thí nghiệm*
1. Mọc hoang tại Lạng Sơn	Trước khi cây có nụ	0,93 - 1,05	1994
2. Trồng Tại:			
- Thái Nguyên	- nt -	0,90 - 0,92	1993
- Hà Nội	- nt -	0,85 - 0,88	1993
- Thanh Hoá	- nt -	0,78 - 0,82	1994
- Nghệ An	- nt -	0,89 - 0,91	1993
		0,88 - 1,01	1992

3. Ảnh hưởng của phương pháp làm khô đến hàm lượng ART trong lá thanh cao

Artemisinin là một sesquyterpen lacton có nhóm peroxyd nội, dễ bị phân hủy dưới tác dụng của ánh sáng, nhiệt độ.... Để làm rõ tác động của các yếu tố ánh sáng và nhiệt độ trong quá trình làm khô lá thanh cao chúng tôi đã khảo sát hàm lượng ART trong lá thanh cao được làm khô bằng các phương pháp khác nhau: (1)lá tươi, (2)lá phơi ngoài nắng đến khô, (3) lá phơi khô trong bóng dâm, (4)lá ủ 3 ngày sau đó phơi ngoài nắng đến khô. Kết quả thu được cho thấy phương pháp làm khô không ảnh hưởng đến hàm lượng ART: Hàm lượng ART như sau: (1) - 0,91; (2) - 1,08; (3) - 1,02; (4) - 1,06% (4).

Kết quả thu được về động thái tích luỹ ART trong lá cây thanh cao trồng cũng như cây thanh cao mọc hoang cho thấy hàm lượng ART trong lá cao nhất vào lúc cây ngừng phát triển chiều cao, chuẩn bị ra nụ. Về đặc điểm này thanh cao Việt Nam khác với thông báo của các tác giả nước ngoài: hàm lượng ART cao nhất vào lúc cây có hoa (5,6,7). Lá của cây thanh cao trồng ở các tỉnh phía Bắc nước ta đều có hàm lượng ART cao và hàm lượng các sesquytecpen liên quan rất thấp. Hàm lượng tinh dầu cao nhất vào lúc cây có hoa. Thành phần tinh dầu bao gồm nhiều chất, trong đó thành phần chính thay đổi tùy theo giai đoạn sinh trưởng của cây. Phương pháp làm khô không ảnh hưởng đên hàm lượng ART trong lá thanh cạo.

IV. KẾT LUẬN

1. Hàm lượng ART trong lá thanh cao trồng và mọc hoang ở các tỉnh phía Bắc có hàm lượng ART cao nhất vào trước lúc cây có nụ. Đây là thời điểm thu hái lá thanh cao thích hợp nhất cho chiết xuất ART. Hàm lượng các sesquytecpen khác trong lá thanh cao Việt Nam không đáng kể.

2. Hàm lượng tinh dầu cao nhất vào lúc cây có hoa (1,9%). Hàm lượng các thành phần chính của tinh dầu (campho, germacren-D, trans- farnesen) thay đổi theo giai đoạn phát triển của cây.

3. Phương pháp làm khô lá thanh cao (phơi ngoài nắng, phơi trong bóng dâm, để âm can sau đó phơi nắng) không làm ảnh hưởng đến hàm lượng ART trong lá thanh cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Herman J.W. et al., 1991.*
Phytochemical analysis, vol. 2, 1991, 215-219.

2. *Bùi Thị Bằng, 1993.*
Tạp chí Dược học, số 5, 1993, 21-22.

3. *Herman J.W., Nesko Pras, Nguyen Gia Chan, Bui Thi Bang et al., 1994.*
Planta Med. 60(3), 1994, 272-275.

4. *Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, 1995.*
TC Dược học. 7+8. 1995, 32-34.

5. *Sterer A.I. và ctv., 1988.*
Tài nguyên thực vật, 24(1). 1988. 66-72.

6. *Klayman D.L., 1985.*
Science, 288, 1985, 1049-1055.

7. *Singh A. et al., 1988.*
Planta Med. vol. 54, 1988, 475-476

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT ĐỒNG THỜI ARTEMISININ VÀ MỘT SỐ NHÓM CHẤT TỪ LÁ THANH CAO (*Artemisia annua* L.)

Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng,
Nguyễn Văn Bội[1], *Đỗ Đình Rãng*[2]

SUMMARY

Research on simultaneous extraction of Artemisinin and some substances groups from *Artemisia annua* L. leaves

Artemisinin is sparingly soluble in non-polar solvents and freely soluble in the polar ones. Its solubility in ethanol is 6,3 times higher than that in n-hexan at 25°C and 21 times higher at 50°C. This makes ethanol comfortable and effective for extraction of Artemisinin from plant materials.

Base on the above results, an ethanolic laboratory scale extraction of Artemisinin from Artemisia leaves has been established. It includes the following:

-Extractive solvent: ethanol

-Extractive temperature: 50°C

-Duration of extraction process: twice, 30 and 15-20 min.

-Crystallization: twice in mixture of n-hexan and ethanol.

-Extractive yield: 0,29-0,30% on dry leaves.

Beside Artemisinin, other substances such as flavonoids, coumarins, polysaccharide could also be extracted from the plant materials. By this way, medicinal and economic efficiencies of Atremisia annua L. can be increased and its use can be modernized.

*

* *

[1] Trường Đại học Sư phạm Huế.
[2] Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viện Dược liệu và một số cơ sở trong nước đã nghiên cứu chiết xuất artemisinin (ART) từ lá thanh cao (*Artemisia annua* L.) bằng xăng công nghiệp (1,2). Trong các phế thải (lá, sáp) còn nhiều nhóm hoạt chất (3,4). Mục tiêu của công trình này là tiếp tục nghiên cứu chiết xuất ART; một mặt nhằm đa dạng hóa dung môi chiết xuất, sử dụng dung môi sản xuất ở trong nước và có độ an toàn cao; mặt khác xây dựng quy trình khép kín, chiết xuất đồng thời một số nhóm chất có tác dụng sinh học từ lá thanh cao để nâng cao hiệu quả sử dụng và giá trị kinh tế của cây thuốc này.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nội dung

- Khảo sát độ hoà tan của ART trong các dung môi có độ phân cực khác nhau (n-hexan, xăng công nghiệp và ethanol).

- Khảo sát ảnh hưởng của dung môi và nhiệt độ đến ART.

- Nghiên cứu chiết xuất đồng thời ART và một số chất từ lá thanh cao bằng ethanol.

- Khảo sát sự phân bố ART trong các công đoạn chiết xuất ART bằng ethanol.

2. Phương pháp

- Độ hoà tan của ART trong dung môi được tiến hành theo DĐVN (5).

- Hàm lượng ART trong nguyên liệu và các sản phẩm xác định theo DĐVN (5).

- ART thành phẩm được kiểm tra theo tiêu chuẩn Ngành: 52TCN 364-91 do Bộ Y tế ban hành.

- Hợp chất coumarin, ankan và ancol phân lập từ lá thanh cao được nhận dạng bằng các phương pháp vật lý và hóa học.

III. KẾT QUẢ

1. Khảo sát độ hoà tan của ART trong n-hexan và trong ethanol.

Kết quả khảo sát cho thấy: ở 25°C lượng ART tan trong ethanol gấp 10 lần trong n-hexan (11,3 và 1,1 mg/ml tương ứng). Sự chênh lệch về độ hoà tan còn tăng lên hơn nữa nếu tăng nhiệt độ của dung môi lên 50°C. ở 50°C lượng ART tan trong

ethanol cao gấp 21 lần trong n-hexan (71,5 và 3,4 mg/ml). Kết quả này cho thấy ưu điểm của ethanol về khả năng hoà tan ART so với n-hexan. Nguyên nhân cản trở đưa ethanol vào chiết xuất ART là quan niệm cho rằng ART bị phân hủy nhanh trong ethanol. Để tìm hiểu vấn đề này chúng tôi đã khảo sát độ bền vững của ART trong ethanol và xăng là 2 dung môi thường dùng trong chiết xuất và tinh chế ART.

2. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và dung môi đến ART

1) Ảnh hưởng của nhiệt độ và dung môi đến ART tinh khiết

Kết quả đun hồi lưu dung dịch ART trong ethanol 96% và trong xăng ở 70°C trong 6 giờ cho thấy lượng ART hao hụt trong xăng cao hơn trong ethanol (4,36 và 1,3% tương ứng). Nếu tăng nhiệt độ lên 96°C thì lượng ART hao hụt sau khi đun trong ethanol tăng lên 7,3%. Như vậy sự hao hụt của ART tinh khiết trong dung dịch phụ thuộc vào nhiệt độ xử lý và dung môi. Nếu dung môi dễ bay hơi và nhiệt độ càng cao thì sự hao hụt càng nhiều.

2) Sự hao hụt ART trong dịch chiết (xăng và ethanol) của lá thanh cao

Kết quả xác định hàm lượng ART trong dịch chiết xăng (1) và dịch chiết ethanol (2) của lá thanh cao sau khi đun hồi lưu dịch chiết 6 giờ ở 70°C cho thấy lượng ART hao hụt trong (1) là 13,0%, trong (2) là 19,10%. Đun hồi lưu ở 95°C trong 6 giờ lượng ART hao hụt: (1) = 20,0%; (2) = 37,5%. Như vậy lượng ART hao hụt trong dịch chiết bằng cả hai loại dung môi đều cao hơn trong ethanol và xăng tinh khiết. Nhiệt độ xử lý càng cao thì sự hao hụt ART càng lớn.

3) Nghiên cứu chiết xuất ART từ lá thanh cao bằng ethanol

Kết quả khảo sát trên đây cho thấy điểm đáng lưu ý trong chiết xuất ART là nhiệt độ. Chúng tôi đã khảo sát hiệu suất chiết ART bằng ethanol ở các nhiệt độ khác nhau: 20, 50 và 100°C. Kết quả thu được như sau: nhiệt độ thích hợp là 20°C (16 giờ) và 50°C (1 giờ). ở 50°C sau 30 phút đã chiết được 82% lượng ART có trong nguyên liệu và sau 50 phút chiết được 96% ART. Hiệu suất ART dược dụng thu được bằng phương pháp chiết với ethanol ở 50°C đạt 0,29 - 0,30% so với dược liệu và 47 - 48% so với lượng ART có trong nguyên liệu.

Ngoài ART, từ dịch chiết ethanol chúng tôi đã phân lập được một số nhóm chất khác có tác dụng sinh học như: flavonoid, hợp chất coumarin, ankan, ancol béo. Bã thanh cao sau khi chiết ART, tiếp tục chiết với nước thu được polysaccharid.Chúng tôi đã nghiên cứu và đề xuất phương pháp chiết xuất đồng thời ART và một số nhóm chất từ lá thanh cao (Sơ đồ 1) (6,7).

Từ cao cồn, sau khi tách ART đã phân lập được một số chất và một số nhóm chất: -hợp chất coumarin đã được nhận dạng bằng các phương pháp vật lý (UV, IR, MS, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR) là Scopoletin (8).

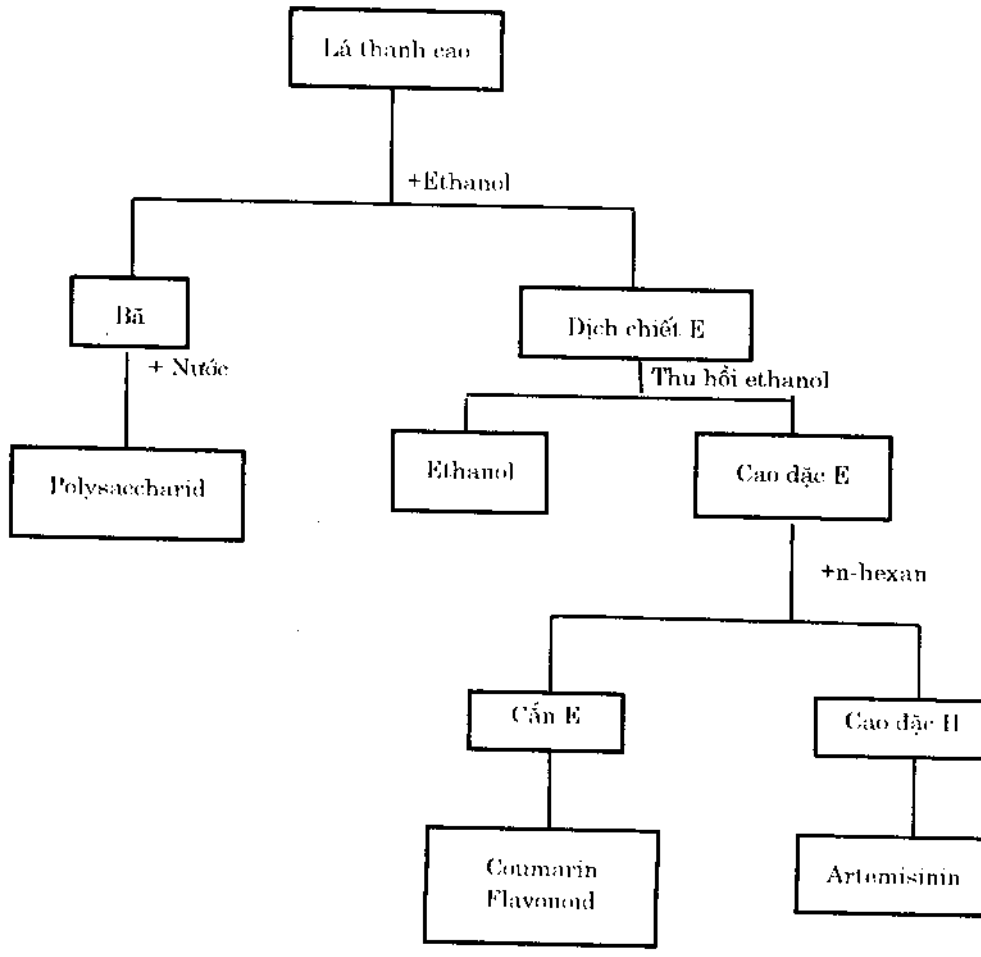
- Ancol béo được nhận dạng bằng các phương pháp hóa học và vật lý (IR, ^{1}H-NMR) và phân tích nguyên tố là n-octacosanol ($C_{28}H_{57}OH$).

- Ankan được nhận dạng bằng các phương pháp vật lý và kết quả phân tích nguyên tố là n-nonacosan (n-$C_{29}H_{60}$).

- Flavonoid toàn phần đang được thử tác dụng trên sâu bọ và côn trùng, dùng làm thuốc trừ sâu thảo mộc.

- Từ bã thanh cao sau khi chiết bằng ethanol, chiết tiếp bằng nước, thu được polysaccharid. Chế phẩm có tác dụng kích thích tế bào lympho T tạo hoa hồng với hồng cầu cừu, tăng 62,8% so với mẫu chứng (3).

***Sơ đồ 1.* Sơ đồ chiết xuất đồng thời ART và một số nhóm chất từ lá thanh cao**



4) Khảo sát sự phân bố ART trong các công đoạn chiết xuất ART từ lá thanh cao

Để tìm hiểu nguyên nhân của hiệu suất thấp (30-40%) của quy trình chiết xuất ARTchúng tôi đã khảo sát sự phân bố ART trong các sản phẩm của các công đoạn chiết xuất. Kết quả cho thấy sự phân bố ART như sau: - ART còn lại trong bã dược liệu, trong phụ gia loại tạp, trong cắn ethanol, cắn hexan và nước cái sau kết tinh ART = 32,7%.

- Sự hao hụt ART khi thu hồi dung môi của dịch chiết = 19,2%. Tổng cộng là 51,9%. Như vậy nguyên nhân hiệu suất thấp có thể do quy trình chiết xuất ART phải qua nhiều công đoạn, một phần lớn ART lưu lại trong các sản phẩm của các công đoạn đó.

IV. KẾT LUẬN

1. Đã xây dựng phương pháp chiết xuất đồng thời ART và một số nhóm chất từ lá thanh cao.Hiệu suất ART đạt 47-48% lượng ART có trong nguyên liệu.

2.Từ lá thanh cao đã phân lập và nhận dạng scopoletin, n-octacosanol và n-nonacosan bằng các phương pháp vật lý và hóa học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Quang Hoan, Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Gia Chấn, 1995.*
Tạp chí Dược học số 7+8, 1995,24-27.

2. *Đỗ Hữu Nghị, 1996.*
Tóm tắt Luận án PTS.

3. *Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Lê Nguyệt Nga, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu, 1997.*
Tạp chí Dược liệu, số 2, 1997, 14-17.

4. *Bế Thị Thuần, Trương Văn Như, 1997.*
Tạp chí Dược học số 7,1997, 17-18.

5. Dược Điển Việt Nam II. Tập 3, NXB Y học, 1994.

6. *Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Đỗ Đình Rãng, Nguyễn Văn Bời, 1998.*
Tạp chí Dược liệu, số 3, 1998, 87-90.

7. *Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Đỗ Đình Rãng, Nguyễn Văn Bời, 1998.*
Tạp chí Dược học, số 7+8, 1995, 29-31.

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT ARTEMISININ TỪ ĐÀI HOA CÂY THANH CAO (*Artemisia annua* L.)

Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Gia Chấn

SUMMARY

The investigation of chemical components of the sepal and petal of the flower of Art. annua L. as well as the method of extraction of artemisinin were carried out. Artemisinin was isolated with average yield 0,75% at laboratory scale, and 0,65% at pilot scale. Its physico-chemical constants are the same of the standard of artemisinin.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong các thông báo trước đây, chúng tôi đã công bố công trình nghiên cứu chiết xuất artemisinin (art) quy mô công nghiệp từ lá cây thanh cao. Để có thể cung cấp nguyên liệu lá thanh cao cho công nghiệp chiết xuất art mà nhu cầu hiện nay khoảng 1000 tấn / năm, từ năm 1989 Viện Dược liệu đã tiến hành nghiên cứu chọn lọc và sản xuất hạt giống thanh cao có năng suất và hàm lượng hoạt chất cao. Hàng năm đã cung cấp cho thị trường trong nước hàng trăm cân hạt giống. Bên cạnh việc thu hạt giống, chúng tôi đã thu được một lượng khá lớn đài, đế hoa và cánh hoa của cây thanh cao.

Để tận dụng nguồn nguyên liệu trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học và phương pháp chiết xuất art từ đài và cánh hoa thanh cao.

II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Đài và cánh hoa sau khi thu hạt đem sấy khô, chiết với dung môi ít phân cực, lọc và thu hồi dung môi dưới áp lực giảm còn 1/3 thể tích; để nguội qua đêm, lọc loại tạp; Dịch chiết được thu hồi dung môi tới dịch đặc, đem hoà tan vào dung môi phân

cực mạnh, quấy bằng máy trong 15 phút cho tan hết, lọc qua vải lọc để loại sáp. Dịch lọc đem thu hồi dung môi ở nhiệt độ thấp dưới áp lực giảm đến dịch đặc rồi đem hoà tan vào chloroform, để kết tinh trong nhiệt độ phòng thí nghiệm. Sau 24 giờ, lọc lấy tinh thể, tinh chế lại trong hỗn hợp cồn với n-hexan tỷ lệ 3:2 thu được tinh thể hình kim dài. Lọc, sấy nhẹ ở 50°C thu được sản phẩm tinh khiết. Đạt hiệu suất: quy mô phòng thí nghiệm 0,75%; quy mô pilot 0,65%.

Sản phẩm đã được kiểm tra trên SKLM cho 1 vết có giá trị Rf hoàn toàn trùng lặp với artemisinin chuẩn; điểm chảy 153 - 154°C; $[\alpha]^{25}_{D}$: 66,3 (C = 1,64, $CHCl_3$); phổ IR có các đỉnh đặc trưng: 1745 cm^{-1} (δ-lacton), 831, 881 và 1115 cm^{-1} (cầu peroxyd). Các kết quả phân tích hóa lý hoàn toàn trùng lặp với artemisinin chuẩn.

III. KẾT LUẬN

Từ đài và cánh hoa cây thanh cao chúng tôi đã chiết được artemisinin tinh khiết với hiệu suất 0,75% (PTN) và 0,65% (Pilot).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Klayman D.L., 1985.*
Qinghaosu an antimalarial drug from China. Science 1985, Vol 228, 1049-55.

2. China cooperative research group on Qinghaosu and it's derivatives as antimalarial. J. Trad. Med. 1982, 2, 3-8.

3. *Luo XD, Shen CC., 1987.*
The chemistry, pharmacology and clinical application of Qinghaosu and it's derivatives. Med. Res. Rev. 1987, 7, 29-52.

4. *Nickel P., 1983.*
Malaria, problem in treatment. Pharm. Int. 1983, 4, 37-41.

5. *White N.J., 1988.*
Drug treatment and prevention of malaria. Eur. J. Clin. Pharmacol. 1988, 34, 1-14

6. *E.I. Chomchenonosky, 1986.*
Meditsinskaia Parasitologia (Moskva), 4, 73-77.

7. *H. Wagner, 1989.*
Economic and Medicinal plant research. Vol 3. 1989. 1-53

BÁN ĐỊNH LƯỢNG VÀ ĐỊNH LƯỢNG ARTEMISININ TRONG LÁ THANH CAO

Nguyễn Kim Cần, Lê Nguyệt Nga

Ở nước ta cây thanh cao *Artemisia annua* L. mọc hoang nhiều ở các tỉnh Lạng Sơn, Cao Bằng... song muốn sản xuất ổn định và đáp ứng được nhu cầu chữa bệnh sốt rét, việc nghiên cứu sản xuất artemisinin phải gắn liền với việc nghiên cứu tạo nguồn nguyên liệu trên cơ sở phát triển trồng trọt giống thanh cao ưu tú cho hàm lượng hoạt chất cao, ổn định ở quy mô công nghiệp.

Trong nghiên cứu trồng trọt, việc xác định thời vụ thu hái cho hàm lượng hoạt chất cao nhất là một vấn đề vô cùng quan trọng. Trong thu mua nguyên liệu ở địa phương cũng như việc bảo quản nguyên liệu trong kho và nghiên cứu nâng cao hiệu quả chiết suất artemisinin cần có một phương pháp phân tích thích hợp, nhanh, đơn giản, đủ tin cậy. Chúng tôi đã nghiên cứu xây dựng phương pháp bán định lượng và định lượng artemisinin.

I. PHƯƠNG PHÁP BÁN ĐỊNH LƯỢNG

Đã có phương pháp định tính và bán định lượng artemisinin bằng SKLM (1). Khi áp dụng phương pháp này có nhiều nhược điểm: mầu của vết không bền, thuốc thử khó kiếm, kỹ thuật phức tạp. Chúng tôi xây dựng phương pháp bán định lượng đơn giản phù hợp với điều kiện của phòng thí nghiệm thông thường và áp dụng được ở địa phương cũng trên nguyên tắc dùng SKLM. Thuốc thử để xác định sắc phổ là nước hoặc p-dimethylaminobenzandehyd (p-DMAB).

Phương pháp bao gồm chiết artemisinin bằng toluen theo tỷ lệ dược liệu và dung môi là 1: 20 ở nhiệt độ phòng. Dung dịch artemisinin chuẩn pha trong toluen. Đưa một thể tích nhất định giống nhau của dung dịch phân tích và dung dịch chuẩn lên kính sắc ký với lớp mỏng là silicagel G. Sắc ký trong hệ dung môi benzen: ethyl acetat hoặc toluen: ethyl acetat (95: 5) theo chiều từ dưới lên. Để khô sắc phổ ngoài không khí, sấy nhẹ rồi phun thuốc thử:

- Phun dung dịch p-DMAB (0,25% p-DMAB trong hỗn hợp 50ml CH_3COOH, 5 ml H_3PO_4 và 45 ml H_2O). Sấy sắc phổ ở 100°C đến xuất hiện vết màu.

- Phun H_2O: hoạt chất cho vết mầu trắng đục.

Đánh giá kết quả bằng so sánh cường độ mầu và diện tích vết của dung dịch phân tích và dung dịch mẫu chuẩn. Đối với mục đích thu mua nguyên liệu dùng phương pháp loại trừ, còn đối với mục đích khác dùng phương pháp so sánh với thang chuẩn.

II. PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG

1. Nguyên tắc của phương pháp định lượng artemisinin

Là chuyển nó thành dạng hợp chất có hấp thụ tử ngoại trong môi trường khác nhau ở bước sóng 292nm và 260nm.

2. Dung môi chiết artemisinin

Các tác giả trước đây đều dùng ether dầu (40-60°C) để chiết artemisinin trong máy soxhlet. Chúng tôi đã khảo sát nhiều dung môi khác nhau: xăng nhẹ, n-hexan, cloroform, hỗn hợp dung môi xăng- aceton, cồn 95°. Kết quả khảo sát cho thấy có thể thay ether dầu bằng xăng nhẹ, hay n-hexan hoặc cloroform. Kinh tế nhất là dùng xăng nhẹ.

3. Cách chiết

Chúng tôi đã khảo sát chiết bằng máy soxhlet và ngấm kiệt ở nhiệt độ phòng cho thấy có thể dùng một trong 2 cách trên.

4. Loại tạp

Trước đây các tác giả đã dùng acetonitril để loại tạp trước khi chuyển artemisinin thành dạng có hấp thụ tử ngoại, nhưng trên thực tế acetonitril không loại được hết những tạp làm ảnh hưởng đến kết quả định lượng. Đặc biệt là khi chuyển hóa artemisinin trong môi trường kiềm nhiều lần dung dịch bị đục làm tăng sự hấp thụ tử ngoại gây sai số thừa. Acetonitril là hóa chất đắt tiền không thông dụng.

Chúng tôi thay acetonitril bằng cồn 95° kết hợp với SKLM tách riêng artemisinin khỏi các tạp chất tan trong cồn. Kết quả phân tích luôn thấp hơn khi dùng acetonitril, ổn định, chính xác.

5. Phương pháp phân tích

Từ những kết quả khảo sát, chúng tôi đề nghị phương pháp tử ngoại kết hợp với SKLM định lượng artemisinin trong dược liệu như sau:

Cân chính xác khoảng 1g bột dược liệu (tiến hành làm độ ẩm dược liệu) chiế bằng một dung môi tự chọn (ether dầu, xăng nhẹ, n-hexan hay cloroform) trong máy soxhlet hoặc ngấm kiệt ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết thu hồi đến cắn khô. Hoà cắn bằng 10ml cồn 95° (có thể dùng hỗn hợp cloroform: cồn 1: 9).

Đưa 0,1 ml dung dịch phân tích lên tấm sắc ký đã hoạt hóa ở 120°C 2 giờ trước khi dùng. Chấm song song 0,1ml dung dịch artemisinin chuẩn mới pha (0,1% artemisinin trong cồn 95°).

Tiến hành sắc ký từ dưới lên trong hệ dung môi benzen: ethyl acetat hoặc toluen: ethyl acetat (95: 5). Làm khô sắc phổ. Hiện vết artemisinin bằng phun nước. Đánh dấu vị trí vết. Cạo lớp silicagel G chứa artemisinin vào một lọ nhỏ. Thêm 10 ml hỗn hợp cồn-NaOH 0,2% theo tỷ lệ 1: 9 để phản hấp phụ artemisinin rồi ủ ở 50°C trong 30 phút. Lọc, đo mật độ quang của dung dịch phân tích và mẫu chuẩn ở bước sóng 292nm so với dung dịch mẫu trắng. Hàm lượng artemisinin trong dược liệu tính theo công thức

$$X = \frac{Dx.100}{Dc.m.(100 - b)}$$

Trong đó : X- hàm lượng % của artemisinin;
Dx- mật độ quang của mẫu phân tích;
Dc- mật độ quang của dung dịch mẫu chuẩn;
m- khối lượng dược liệu lấy phân tích (g);
b- độ ẩm dược liệu (%)

Độ chính xác và độ lặp lại của phương pháp được kiểm tra bằng phương pháp thêm.

III. KẾT LUẬN

1) Đã khảo sát và xây dựng phương pháp bán định lượng và định lượng artemisinin trong dược liệu.

2) Để chiết định lượng artemisinin từ dược liệu có thể dùng ether dầu, xăng nhẹ, n-hexan hoặc cloroform.

3) Phượng pháp đơn giản có thể áp dụng được với phòng thí nghiệm thông thường và ở địa phương đảm bảo chính xác.

4) Phương pháp được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu phục vụ trồng trọt thanh cao, kiểm tra chất lượng nguyên liệu, nghiên cứu bảo quản, kiểm tra những công đoạn trong sản xuất artemisinin. Phương pháp có thể áp dụng để xây dựng tiêu chuẩn dược liệu thanh cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *A.I.Sreter; K.S.Rưbalko; A.A.Konovalova; T.I.Derevinscaia; N.I.Maisuradze; N.V.Makarova.*

2. *Đ.V.Trang; N.B.Thu; N.Tập et. all., 1988.*
Công trình NCKH y dược 1988.Tr.86.

3. *Shi-Shan Zhao, 1985.*
Meiyi Zeng "Planta medica" 1985,N.3,p.233.

4. *Shi-Shan Zhao, 1986.*
Meiyi Zeng "Yaowu Fenxi Zashi" 1986, 6 (1), 3-4.

5. *Elsohly H. N., Croom E. M., Elsohly M. A., 1987.*
"Pharm. Res." 1987, 4 (3), 258-260.

6. *N. Acton, D. L., 1985.*
Klayman and I. Rollnan "Planta medica" 1985, 47 (5), 445.

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG ARTEMISININ TRONG LÁ THANH CAO (*Artemisia annua* L.)

Bùi Thị Bằng

SUMMARY

Research on quantitative determination of Artemisinin in the artemisia leaves (*Artemisia annua* L.)

Thre methods for quantitative determination of Artemisinin in the Artemisia leaves have been studied: Determination by high performance liquyd chromatography (HPLC), rapid determination by UV- spectroscopy and semi-quantitative determination by thin layer chromatography (TLC).

-HPLC method has long procedures and high cost.

- The improved and modified UV- method has rapid procedures, gives exact and stable result. It was applied to determination of Artemisinin in thousands Artemisia leaves samples for selection object.

-Semi-quantitative method with simple procedures can be applied to control artemisinin production steps (including plant material, crude extract, mother solution and final product).

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Để đáp ứng kịp thời yêu cầu định lượng nhanh artemisinin (ART) của công tác sản xuất, nghiên cứu, thu mua dược liệu và chiết xuất ART chúng tôi đã nghiên cứu xây dựng phương pháp định lượng và bán vi định lượng ART trong lá thanh cao (*Artemisia annua* L.). Mục tiêu: Xây dựng phương pháp định lượng nhanh, đơn giản, cho kết quả có độ chính xác cần thiết, áp dụng dễ dàng trong điều kiện Việt Nam.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nội dung

• Nghiên cứu phương pháp định lượng ART bằng sắc ký lỏng cao áp (SKLCA)

• Nghiên cứu cải tiến một số khâu trong phương pháp định lượng ART bằng quang phổ tử ngoại:

- Cải tiến phương pháp chiết ART từ dược liệu
- Nghiên cứu loại tạp trong dịch chiết thanh cao
- Xác định độ đúng và sai số của phương pháp

• Nghiên cứu phương pháp bán định lượng ART bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM).

2. Phương pháp

• *Nghiên cứu định lượng ART bằng SKLCA:* Máy SKLCA Hitachi-635 A (Nhật Bản).

• *Nghiên cứu phương pháp chiết ART từ dược liệu*: ART được chiết từ dược liệu bằng n-hexan. So sánh kết quả giữa 3 phương pháp chiết: 6 giờ trên bếp cách thủy (1), ngấm kiệt 48 giờ ở nhiệt độ phòng và trên bếp siêu âm 30A (Nhật Bản, tần số 41 KHz).

• *Nghiên cứu loại tạp trong dịch chiết thanh cao:*

- Các tạp chất có định hấp thụ ở cùng bước sóng với dẫn xuất của ART được loại bằng dung môi. Các mẫu dịch chiết trước và sau khi loại tạp được kiểm tra trên máy SKLCA Chrompack Midelburg (Hà Lan) với các điều kiện sau: cột: 100x3 mm; bước sóng phát hiện: 260 nm; pha tĩnh: Lichrosorb 7 RP-18; pha động: dung dịch đệm phốt phát 0,01 M-methanol (55:45).

- Các tạp gây đục dung dịch được loại trên máy ly tâm tự động Eppendorf 5415C (Đức) với 10 000 vòng/phút.

- Mật độ quang của mẫu được đo trên máy quang phổ tử ngoại Camspec M302 (Hà Lan).

III. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu phương pháp định lượng ART bằng SKLCA

Đã khảo sát và xác định các điều kiện định lượng ART trên máy SKLCA với detector tử ngoại: pha động - hỗn hợp methanol: nước (50:50); pha tĩnh - Hitachi gel

3050; bước sóng phát hiện 260 nm. Phương pháp này cho kết quả ổn định nhưng không thể áp dụng để định lượng hàng loạt mẫu vì mất nhiều thời gian và chi phí cao.

2. Nghiên cứu cải tiến phương pháp định lượng ART bằng quang phổ tử ngoại

a) Nghiên cứu phương pháp chiết ART từ dược liệu: Trước đây ART được chiết từ dược liệu bằng ether petrol trên bếp cách thủy trong 6 giờ (1,2,3). Chúng tôi đã dùng n-hexan thay thế cho ether petrol. Để làm hàng loạt mẫu phục vụ cho chọn giống chúng tôi đã khảo sát chiết ART bằng phương pháp ngấm kiệt ở nhiệt độ phòng. Kết quả cho thấy thời gian cần để chiết hết ART từ dược liệu là 48 giờ. Phương pháp ngấm kiệt rất thuận tiện cho định lượng hàng loạt mẫu phục vụ cho chọn giống.

Để đáp ứng yêu cầu trả lời nhanh kết quả cho thu mua dược liệu chúng tôi đã dùng bếp cách thủy siêu âm để chiết ART từ dược liệu. Kết quả khảo sát cho thấy dùng bếp cách thủy siêu âm ở 50°C thời gian cần để chiết hết ART từ dược liệu là 30 phút. Dịch chiết bằng siêu âm có ít tạp chất hơn dịch chiết bằng phương pháp dùng bếp cách thủy thường và phương pháp ngấm kiệt ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết bằng siêu âm sau khi làm phản ứng với kiềm cho dung dịch trong có thể đo trực tiếp trên máy quang phổ tử ngoại.

b) Nghiên cứu loại tạp trong dịch chiết thanh cao: Trong dịch chiết thanh cao có 2 loại tạp chất:

- Tạp gây đục dung dịch dẫn đến sự không ổn định của kết quả. Các tạp chất gây đục dung dịch được loại bằng cách chiết trên bếp siêu âm. Nếu chiết bằng phương pháp ngấm kiệt thì các tạp này được loại bằng cách lọc qua giấy lọc hoặc li tâm.

- Tạp chất có đỉnh hấp thụ ở cùng bước sóng với dẫn xuất của ART (292 nm), gây sai số thừa. Để loại các tạp chất trên một số tác giả dùng SKLM (2,3), sắc ký cột hoặc SKLCA với detector điện hóa (4). Bằng dung môi thông dụng chúng tôi đã loại các tạp chất gây sai số thừa trong dịch chiết lá thanh cao. Kết quả kiểm tra bằng SKLCA các mẫu dịch chiết trước và sau khi loại tạp đã chỉ rõ trong dịch chiết không còn các thành phần có cùng cực đại hấp thụ với dẫn xuất của ART.

Nhờ kết quả nghiên cứu trên chúng tôi đã xây dựng phương pháp định lượng ART trong dược liệu bằng quang phổ tử ngoại nhanh, đơn giản với độ chính xác cần thiết (sai số của phương pháp ±3,83%). Độ đúng của phương pháp đã được kiểm tra bằng phương pháp cho thêm. Phương pháp này đã được áp dụng để định lượng hàng trăm mẫu lá thanh cao phục vụ cho chọn giống và thu mua dược liệu.

3. Nghiên cứu phương pháp bán định lượng ART bằng phương pháp SKLM

Đối với những cơ sở không có máy quang phổ tử ngoại cần có phương pháp đơn giản hơn để đánh giá hàm lượng ART trong dược liệu. Vì vậy chúng tôi đã nghiên cứu xây dựng phương pháp bán định lượng ART trong dược liệu bằng SKLM.. Đã khảo sát dung môi chiết ART từ dược liệu, lượng ART thích hợp chấm lên lớp mỏng, hệ dung môi triển khai SKLM, thuốc hiện màu để đánh giá hàm lượng ART... Kết quả thu được đã cho một phương pháp bán định lượng tiến hành như sau:

• *Chuẩn bị dịch chiết dược liệu*: Cân chính xác 1 gam dược liệu cho vào bình nón (hoặc bình cầu) có nút mài. Thêm vào 25ml ethanol 96%, lắc đều, để ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ (hoặc trên bếp cách thủy ở 50°C trong 45 phút). Trước khi chiết cân trọng lượng bình cùng dung môi. Sau khi chiết cân lại, bổ sung dung môi đến trọng lượng ban đầu. Lọc, thu được dung dịch A.

• *Chuẩn bị dung dịch ART đối chiếu*: Cân chính xác 0,05 g ART cho vào bình định mức 100 ml, thêm ethanol 96%, lắc cho tan hết ART. Thêm ethanol đến vạch chuẩn, lắc đều, được dung dịch B. Từ dung dịch B chuẩn bị các dung dịch có nồng độ ART khác nhau từ C_1 đến C_7.

• *Tiến hành SKLM*: Lớp mỏng Silicagel (Merck) kích thước 20x10cm, dày 0,25mm. Hệ dung môi triển khai: Toluen: ethyl acetat (95:5). Thuốc hiện màu: hỗn hợp acid acetic băng: acid sunfuric: anisaldehyd (50:1:0,5). Trên bản mỏng chấm 5µl dung dịch A và các dung dịch C_1, C_2...C_7. Sau khi triển khai xong ngâm lớp mỏng trong thuốc hiện màu trong 10 giây. Sấy bản mỏng ở 105°C trong 5-7 phút. Vết ART có màu hồng.

• *Đánh giá kết quả:* Bằng cách quan sát so sánh độ đậm nhạt của vết ART của mẫu dược liệu với các vết ART đối chiếu, xác định vết ART của dược liệu tương đương với vết nào từ vết C_1 đến C_7. Từ đó tính ra hàm lượng ART trong mẫu dược liệu. Đã so sánh kết quả của phương pháp bán định lượng, phương pháp định lượng bằng quang phổ tử ngoại với phương pháp trong Dược điển VN (5) nhận thấy các phương pháp cho kết quả tương tự nhau.

IV. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu 3 phương pháp định lượng ART trong dược liệu: định lượng bằng SKLCA và bằng quang phổ tử ngoại và 1 phương pháp bán định lượng bằng SKLM.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Ovadra M.E. Skauen D.M., 1965.*
Pharmacy, vol.IV, 1965, 1013-1016.

2. *Nancy Acton & CTV., 1985.*
Planta Med. số 5, 1985, 445-446.

3. *Sterer A.I. & CTV., 1988.*
Tài nguyên thực vật, số 1, 1988, 66-72.

4. *Klayman D.L. et al., 1984.*
Nat. chem. vol. 47, 1984, 715-717

5. Dược điển Việt Nam II, T.3, 1994, 267-268.

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRỒNG CÂY THANH CAO LẤY LÁ

(Đề tài nhánh của đề tài 64C-03-08 thuộc chương trình 64C-1987-1990 và đề tài KY02-01 thuộc chương trình KY02 - 1991-1995)

Phạm Thị Lượt, Nguyễn Gia Chấn, Trần Toàn,
Phạm Văn Ý, Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Tập

SUMMARY

The research on the sowing, the crop distance, the fertilization and the harvesting of Artemisia annua L. was carried out. Based on the experimental data, a technology of cultivation of Artemisia annua L. was set up; six species fungus and four diseases on Artemisia annua L. were determined; the usage of some insectisides for the treatment give succesful effects.

Concerning the experimenhts on the influence of some micro-elements (B,Mn,Zn), the solution of $ZnSO_4$ 0,3% used in the developping period of the plant increases the productivity and the quality of the plant.

The experiments on the crop rotation of Artemisia annua L. showed that the influence of soy-bean crop to grm / yield artemisinin per m^2 was better than other tuber food crop like sweet potato in Thanh hoa and Bac Thai; but in Ha noi, the potatoes will be better than soy-bean crop before Artemisia annua L. All the places should be planting rice after Artemisia.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viện Dược liệu chính thức đưa cây thanh cao vào nghiên cứu một cách đồng bộ từ năm 1987.Sau giai đoạn điều tra trữ lượng và các khu vực phân bố tự nhiên của cây thanh cao trong toàn quốc, công việc di thực thuần hóa đã nhanh chóng được tiến hành thành công.Kế hoạch 1991-1995 là giai đoạn nghiên cứu quy trình kỹ thuật trồng, sơ bộ chọn lọc và sản xuất giống tốt nhằm tạo ra các vùng trồng để

cung cấp ổn định về số lượng và chất lượng của dược liệu thanh cao cho việc sản xuất artemisinin. Đề tài này tập trung hoàn chỉnh việc nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến năng suất, chất lượng cây thanh cao khảo nghiệm tại một số vùng có khí hậu khác nhau để xây dựng quy trình kỹ thuật trồng cây thanh cao lấy lá. Nội dung nghiên cứu gồm: Thời vụ gieo trồng, khoảng cách cây trồng, chế độ phân bón thích hợp, thời gian thu hái, các cây trồng luân canh với cây thanh cao, sâu bệnh hại cây thanh cao, các biện pháp kỹ thuật tổng hợp trồng cây thanh cao, xây dựng quy trình kỹ thuật trồng cây thanh cao.

Các thí nghiệm hầu hết được tiến hành tại Trại Văn điển (Viện Dược liệu).

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu khởi đầu chúng tôi dùng cho nghiên cứu là hạt giống thanh cao thu hoang dại ở Cao Bằng, Lạng Sơn (tháng 12/1987), hạt giống đưa vào làm thí nghiệm được lựa chọn, sản xuất theo quy trình chọn lọc và sản xuất giống hàng năm. Mọi thí nghiệm đều được bố trí trên nền đất có độ pH từ 5 - 6,1. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên, nhắc lại 3 lần. Hàm lượng Artemisinin được xác định theo phương pháp quang phổ tử ngoại.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Xác định thời vụ gieo hạt thích hợp

Thí nghiệm thăm dò thời vụ gieo hạt thanh cao thích hợp đã được tiến hành năm 1987; kết quả bước đầu cho thấy hạt thanh cao không nên gieo sớm hơn 15 / 12 năm trước và cũng không nên gieo muộn hơn 15 / 3 hàng năm. Do vậy, trong ba năm 1988, 1989, 1990 chúng tôi đã bố trí thí nghiệm thăm dò thời vụ gieo trồng vào 15/12/87, 15/1/88, 15/2/89, 15/3/90.

Kết quả cho thấy thời vụ gieo hạt thanh cao ảnh hưởng rất rõ đến các chỉ tiêu quan trọng như: Thời gian nảy mầm của hạt, nếu gieo sớm (15/12) thời gian nảy mầm của hạt kéo dài đến 11-12 ngày; nếu gieo 15/1 thời gian nảy mầm của hạt chỉ mất 6-7 ngày. Về năng suất lá khô và hàm lượng Art trong lá thì thời vụ gieo 15/1 qua 3 năm vẫn cao và ổn định nhất, kế đó là thời vụ 15/2; còn thời vụ 15/12 và 15/3 thì hai chỉ tiêu này thấp và không ổn định.

2. Nghiên cứu khoảng cách cây trồng thích hợp

Năm 1988, ba khoảng cách cây trồng đã được đưa ra khảo sát: 20x10cm, 20x15cm, 20x20cm. Kết quả cho thấy ở khoảng cách 20x20cm năng suất lá khô

tăng gấp 2 lần ở khoảng cách 20x15 và gấp 3 lần so với khoảng cách 20x10. Như vậy khoảng cách cây trồng của thanh cao nên từ 20x20cm trở lên. Năm 1989 và 1990, ba khoảng cách thưa hơn đã được bố trí thí nghiệm: 20x20, 20x30, 20x40cm. Kết quả cho thấy ở hai khoảng cách 20x30 và 20x40, thanh cao cho năng suất lá xanh và hàm lượng art cao ở cả hai năm 1989, 1990.Tuy nhiên tùy từng loại đất, trình độ canh tác và khả năng đầu tư của từng vùng mà quyết định khoảng cách thích hợp; đất càng xấu thì khoảng cách càng phải mau hơn và ngược lại, ở các vùng đất tốt giàu dinh dưỡng thì khoảng cách cây phải thưa hơn. Trong thực tế nhiều năm, khoảng cách 20x30cm thường cho kết quả cao nhất.

3. Xác định chế độ phân bón thích hợp cho cây thanh cao

Các thí nghiệm riêng rẽ để thăm dò các ngưỡng phân bón thích hợp đã được tiến hành trong các năm 1989 và 1990. Các công thức thăm dò liều lượng thích hợp của phân chuồng được tiến hành từ 250kg, 500kg, 1.000kg trên mỗi sào Bắc bộ; kết quả cho thấy mức phân chuồng (PC) 500kg/sào (13.500kg/ha) là phù hợp hơn cả đối với cây thanh cao. Tương tự như thế, một dải rộng về liều lượng phân đạm (urea) đã được bố trí thăm dò từ 0N, 60N, 120N, 180N; kết quả cho thấy ở mức 120N chỉ số năng suất art/ha cao hơn hẳn. Cũng tương tự, các thí nghiệm thăm dò các ngưỡng thích hợp của P_2O_5 và K_2O đối với thanh cao đã được triển khai.

Cuối cùng, một thí nghiệm tổng hợp nhằm tìm ra sự kết hợp tác dụng giữa các loại phân bón ảnh hưởng đến năng suất lá xanh và hàm lượng art đã được bố trí. Kết quả cho thấy với tổ hợp phân bón 13.500PC-120N-80P-40K cho năng suất art/m^2 cây trồng cao nhất.Tuy nhiên tùy từng loại đất mà xác định lượng phân bón phù hợp cho thanh cao, ví dụ các tổ hợp 13500PC- 90N-30P-60K; 13500PC-60N-40P-20K; 13500PC-120N-40P-80K cũng rất đáng được quan tâm.

4. Xác định thời gian thu hái thích hợp với cây thanh cao

Theo kinh nghiệm thực tế và theo nhiều tài liệu nước ngoài, cây thanh cao có thời gian sinh trưởng khá dài(7-8 tháng), nhưng thời gian tích luỹ art lại ngắn, và thời điểm tích luỹ art trong lá cao nhất lại không duy trì được lâu,mà gần trùng với thời điểm tích luỹ chất xanh cao nhất. Xuất phát từ thực tế đó, chúng tôi đã bố trí khảo sát thời gian thu hái theo các công thức từ 20/6 trở đi; cụ thể:20/6, 30/6 10/7,20/7, 30/7, 10/8 và 20/8.

Kết quả cho thấy: ở thời điểm 20/6, năng suất lá 970kg, hàm lượng art 0,82%, các thông số này tăng dần cho đến đỉnh cao nhất là 20/7, sau đó giảm dần; cho đến 20/8 các chỉ số đó đã gần bằng với thời điểm 20/6. Từ kết quả trên có thể rút ra kết luận:

- Thời gian tích luỹ art trong lá thanh cao cao nhất chỉ duy trì trong vòng 1 tháng, từ 10/7 đến 10/8 nên cần thiết phải thu hoạch lá thanh cao ở các tỉnh phía bắc vào thời điểm trên. Trong thực tế ở vùng lúa thường thu hái sớm hơn (20/6 đến 20/7) để giải phóng ruộng kịp làm vụ lúa.

- Thời điểm thanh cao cho năng suất lá và hàm lượng art trong lá cao nhất gần như trùng nhau, cũng vào thời gian trên (10/7-10/8).

- Khác với một số tài liệu nước ngoài cho rằng cây thanh cao cho hàm lượng art cao nhất vào thời kỳ cây đang ra hoa, cây thanh cao ở nước ta có hàm lượng art cao nhất vào thời kỳ cây chớm có nụ.

5. Nghiên cứu biện pháp tổng hợp trồng cây thanh cao

Năm 1993, các kết quả nghiên cứu trên đã được phối hợp trong một số thí nghiệm ở quy mô sản xuất tại ba vùng khí hậu khác nhau nhằm khảo sát sự phối hợp giữa các biện pháp kỹ thuật để thử nghiệm quy trình trồng cây thanh cao vừa được sơ bộ xây dựng. Thí nghiệm được triển khai tại Nga Sơn-Thanh hóa có khí hậu Bắc Trung bộ ven biển; Bắc Thái, vùng trung du và Tuyên Quang, vùng núi phía bắc. Diện tích trồng mỗi nơi 3 ha.

Kết quả cho thấy: Nếu quy trình trồng do Viện Dược liệu xây dựng được áp dụng triệt để với giống thanh cao do Viện cung cấp, cây thanh cao có thể cho năng suất bình quân trên 2 tấn lá khô/ha và hàm lượng art có thể đạt từ 1% trở lên. Quy trình này khi đưa áp dụng ở các vùng sinh thái khác nhau cần thiết phải có sự điều chỉnh cho thích hợp, đặc biệt là vấn đề thời vụ gieo trồng và thời vụ thu hái.

6. Nghiên cứu ảnh hưởng của nguyên tố vi lượng tới năng suất lá và hàm lượng art

Trong năm 1991, trong 3 nguyên tố vi lượng được khảo nghiệm $ZnSO_4$, H_3BO_3, $MnSO_4$, dung dịch $ZnSO_4$ tỏ ra có tác dụng tốt hơn đối với năng suất lá và hàm lượng art trong lá thanh cao. Năm 1992, đã sử dụng dung dịch $ZnSO_4$ phun ở các nồng độ khác nhau, kết quả cho thấy: với nồng độ 0,3%, dung dịch $ZnSO_4$ đã có tác dụng làm tăng năng suất lá và hàm lượng art nếu như phun đúng vào thời kỳ phát triển mạnh của cây.

7. Nghiên cứu hệ thống cây trồng phù hợp với cây thanh cao

Năm 1994-1995, tại ba địa phương đã bố trí hai loại cây trồng trước thanh cao khác nhau: Nga Sơn- Thanh hóa : Đậu tương và khoai lang.

Thái Nguyên- Bắc Thái: Đậu tương và khoai lang.

Thanh Trì-Hà Nội : Khoai tây và đậu tương.

Kết quả cho thấy: ở Bắc Thái và Thanh Hoá, cây trồng vụ đông trước lúc trồng thanh cao là cây họ Đậu; còn ở Hà Nội và đồng bằng sông Hồng lại là cây khoai tây rồi mới đến các cây họ Đậu khác. Một số cây thuốc khác cũng có thể trồng trước thanh cao như ngưu tất, mã đề. Sơ đồ hệ thống cây trồng của cây Thanh cao có thể tóm tắt như sau: *Khoai tây (hoặc cây họ Đậu) - Thanh cao - Lúa mùa.*

8. Điều tra sâu bệnh hại cây thanh cao và biện pháp phòng trừ

Kết quả điều tra nghiên cứu ở Trại Văn Điển, Nga Sơn-Thanh Hoá, Đại Từ-Bắc Thái đã thu thập được 6 loại sâu hại, chủ yếu là rệp, sâu keo, sâu xanh, và 4 triệu chứng bệnh: thối nâu do nấm *Phoma* sp.; Thối đen gốc do nấm *Alternaria* sp.và *Nigrospora Palida* Matz; Vàng toàn cây và khô đầu lá dọc theo thân cành (chưa xác định được nguyên nhân). Sâu bệnh thường tập trung mật độ cao và gây hại nặng vào cuối tháng 4 - đầu tháng 5; tác hại của rệp đối với năng suất ở mức trên dưới 10%. Bệnh hại ít ảnh hưởng tới năng suất lá, nhưng làm giảm tới gần 47% hàm lượng art trong dược liệu.

Dùng thuốc Zineb 80 BTN với liều 2kg/ha hoặc Ridomil BTN với liều 2,5kg/ha phun khi bệnh thối nâu xuất hiện 5% có khả năng ngăn chặn sự lan tràn của chúng và làm tăng 49% hàm lượng art so với cây bị bệnh không xử lý thuốc.

Dùng thuốc Fostion 50 EC với liều 2,0lit / ha hoặc Methylparation 50 ND với liều 2,5lit / ha phun khi rệp gây hại 30% đạt hiệu quả trừ diệt cao (80-82%); năng suất dược liệu tăng 8-12%.

IV. QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRỒNG CÂY THANH CAO (*Artemisia annua* L.) ĐỂ LẤY LÁ

Sau 5 năm nghiên cứu, với những thông số kỹ thuật thu được đã nêu ở trên, chúng tôi đã xây dựng quy trình kỹ thuật trồng cây thanh cao để lấy lá. Dưới đây là bản tóm tắt quy trình:

1. Đặc điểm sinh thái

Cao 2-3m, phân cành nhiều, thân nửa thảo nửa gỗ, ưa sáng, ưa phân, không chịu được úng.

2. Yêu cầu đất

Phạm vi thích ứng đất rộng, yêu cầu đất giầu dinh dưỡng, thoát nước, tưới tiêu thuận tiện, pH = 5,0-6,5.

3. Làm đất lên luống

Cầy bừa nhỏ, sạch cỏ, lên luống cao, thấp, dài, rộng tùy địa hình. Chân luống: 1,45-1,50m, mặt luống: 1,20m.

4. Thời vụ

Gieo hạt ươm cây con: từ 5/1 đến 20/1. Đánh trồng cây con: từ 10/2 đến 10/3. Thu hoạch lá: từ 20/6 đến 10/7.

Công thức cây luân canh thích hợp: Khoai tây (hoặc cây họ Đậu)-Thanh cao-Lúa mùa.

5. Khoảng cách cây trồng

Đất tốt trồng thưa 20 x 30cm hoặc 20 x 40 cm; đất xấu trồng dầy hơn 20 x 20 cm.

6. Phân bón:

Phân chuồng: 500kg / sào (13.500kg / ha). Phân vô cơ tùy đất tốt xấu mà bón theo 3 tổ hợp: 120 N + 80 P_2O_5 + 40 K_2O; 90 N + 30 P_2O_5 + 60 K_2O; 60 N + 40 P_2O_5 + 20 K_2O. Có thể dùng dung dịch SO_4Zn 0,3% phun vào lúc cây đang phát triển mạnh.

7. Chăm sóc

Làm cỏ, xới xáo, bón phân sao cho đủ ẩm, đủ phân, sạch cỏ.

Khi bệnh thối nâu xuất hiện 5%, phun Zineb 80 BTN (2kg/ha) hoặc Ridomil BTN (2.5kg/ha). Khi rệp gây hại 30%, phun Fostion 50 EC (2lit/ha) hoặc Methylparation 50 ND (1,5 lt/ha).

8. Thu hoạch và bảo quản

Chặt cây vào sáng sớm, phơi tại ruộng, chiều tối thu về, hôm sau đem phơi, khi lá dòn đập lấy lá; phơi tiếp và đập lại, xảo loại bỏ cành, cuống lá, đóng bao. Để nơi khô ráo, thoáng mát. Không thu hoạch vào ngày mưa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *T,H, Vinh và cộng sự, 1986.*

Trung dược thông báo 1986. Tập 11, số 7. 9-11.

2. *P.I.Trigg, 1989.*

Economic and medicinal plant research. 1989, vol.3, p.20-25.

3. *Phạm Chí Thành, 1963.*

Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng. NXB Nông nghiệp.

4. *Bùi Huy Đáp, 1962.*

Phân bón và cây trồng. NXB Nông nghiệp.

5. Kỹ thuật trồng cây thuốc. NXB Vệ sinh nhân Trung Quốc, 1958.

6. *Đường Hồng Dật, 1976.*

Bệnh thối khô bắp cải Phomalingam. Sổ tay bệnh hại cây trồng. Tập 1. NXB NT.

7. *Trần Đình Chiến.*

Tìm hiểu thành phần côn trùng bắt mồi trên một số cây trồng tại Gia Lâm-Hà Nội. Kết quả nghiên cứu khoa học 1986-1991. ĐHNN1.

8. Novenyvedoszevek. Mutragyak 1985.

9. *Nguyễn Viết Tùng, 1992.*

Nghiên cứu về rệp muội ở vùng đồng bằng sông Hồng. Tạp chí BVTV 4/1992.

10. Indian I. agric. Res. 1979. 13 (2); 85-89.

ẢNH HƯỞNG CỦA NGUYÊN TỐ VI LƯỢNG ĐẾN NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG DƯỢC LIỆU THANH CAO (*Artemisia annua* L.)

Phạm Văn Ý, Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Gia Chấn

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc cung cấp phân vi lượng cho cây đã được thừa nhận là rất quan trọng trong việc thâm canh trồng trọt và xem như sử dụng một loại phân đặc biệt cho cây trồng. Giữa các cây trồng khác nhau thì nhu cầu các loại phân vi lượng cũng khác nhau. Đối với cây thanh cao, một cây hoang dại mới được Viện Dược liệu di thực và thuần hoá, việc tìm hiểu ảnh hưởng của nguyên tố vi lượng đến năng suất và chất lượng dược liệu là cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Vật liệu nghiên cứu là hạt giống thanh cao *Artemisia annua* L. đã được nghiên cứu di thực và thuần hóa tại Trung tâm nghiên cứu cây thuốc Hà Nội từ năm 1989 - 1991. Các dung dịch được sử dụng để phun cho cây thanh cao là: H_3BO_3, $MnSO_4$, $ZnSO_4$.

- Phương pháp nghiên cứu: Thí nghiệm đồng ruộng được bố trí theo phương pháp ngẫu nhiên 4 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm là $5m^2$. Khảo sát các yếu tố vi lượng được phun ở nồng độ 0,3% cho các dung dịch H_3BO_3, $MnSO_4$, $ZnSO_4$. Đối với dung dịch $ZnSO_4$ được nghiên cứu mở rộng ở các nồng độ 0,1%; 0,3%; 0,6%; 0,9%.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nhìn chung các dung dịch nghiên cứu là H_3BO_3, $MnSO_4$, $ZnSO_4$ đều có ảnh hưởng tốt đến năng suất và chất lượng dược liệu thanh cao, nhưng dung dịch muối kẽm tỏ ra có tác dụng tốt hơn các dung dịch khác, điều đó được thể hiện qua bảng 1.

Bảng 1. **Ảnh hưởng của một số nguyên tố vi lượng đến năng suất và chất lượng dược liệu thanh cao (1991)**

Công thức	*Khối lượng lá khô (g/cây)*	*Hàm lượng artemisinin (%)*
Đối chứng	10,4	1,13
H_3BO_4	10,8	1,22
$MnSO_4$	11,4	1,24
$ZnSO_4$	12,7	1,31

Từ kết quả nghiên cứu trên đây chúng tôi đã chọn dung dịch muối $ZnSO_4$ phun ở các nồng độ khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của nồng độ dung dịch muối $ZnSO_4$ đến năng suất và hàm lượng artemisinin trong lá thanh cao (1992)**

Nồng độ $ZnSO_4$ (%)	*Năng suất lá khô (kg/m^2)*	*Hàm lượng artemisinin (%)*	*Năng suất artemisinin (kg/m^2)*
Đối chứng	0,176	0,71	0,00125
0,1	0,192	0,91	0,00174
0,3	0,203	0,92	0,00186
0,6	0,185	0,83	0,00153
0,9	0,170	0,85	0,00144

Kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy: ở các nồng độ nghiên cứu của dung dịch muối $ZnSO_4$ đều cho hàm lượng artemisinin cao hơn so với đối chứng, nhưng tốt nhất là phun ở nồng độ 0,3%.

IV. KẾT LUẬN

- Trong 3 nguyên tố vi lượng đưa ra thí nghiệm kết quả cho thấy: $ZnSO_4$ có tác dụng lên cây thanh cao tốt hơn H_3BO_3 và $MnSO_4$.

- Trong 4 nồng độ thí nghiệm của dung dịch muối $ZnSO_4$ thì ở nồng độ 0,3% cho năng suất artemisinin cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Vũ Văn Vụ, Hoàng Đức Cự, Vũ Thanh Tâm, Trần Văn Lài, 1993.*
Sinh lý học thực vật. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

2. Indian I. Agric. Res. 1979. 13 (2): 85-89.

3. *R.M.Klein và D.T.Klein, 1979.*
Phương pháp nghiên cứu thực vật. NXB Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.

NGHIÊN CỨU CHỌN LỌC GIỐNG THANH CAO CHO NĂNG SUẤT LÁ VÀ HÀM LƯỢNG ARTEMISININ CAO

(Đề tài nhánh của Đề tài KY01-01 thuộc chương trình KY02-1991 - 1995)

Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thị Thư, Phạm Văn Ý, Lê Khúc Hạo, Nguyễn Văn Ngót[1], Nguyễn Hữu Thấu[2]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trung Quốc là nước đầu tiên phát hiện trong cây thanh cao (Quynghao) có chứa chất artemisinin (Quynghaosu) diệt được ký sinh trùng sốt rét, đặc biệt một số chủng ký sinh trùng đã trở nên kháng các loại thuốc như Fansidar, Quynin, Chloroquyn.... Trung Quốc cũng là nước đầu tiên nghiên cứu khảo sát hàm lượng artemisinin có trong cây thanh cao. Sở nghiên cứu y dược Hạ môn đã nghiên cứu di thực thanh cao từ khắp nơi trong nước về trồng tại Hạ môn và cho thấy sự thay đổi hàm lượng artemisinin từ 0,185% đến 0,714%. Thời gian gieo trồng khác nhau và điều kiện sinh thái khác nhau đều cho hàm lượng artemisinin khác nhau.

Ở Việt Nam chúng tôi đã tiến hành khảo sát 573 cá thể cây thanh cao có nguồn gốc từ nhiều tỉnh khác nhau ở khu vực biên giới phía Bắc cho thấy hàm lượng artemisinin trong cây thanh cao cũng thay đổi trong một số biên độ khá rộng từ 0,27% đến 1,62%. Biên độ thay đổi hàm lượng artemisinin rộng là yếu tố quan trọng hàng đầu quyết định sự thành công của công tác chọn lọc giống thanh cao cho hàm lượng artemisinin cao. Vì thế, từ năm 1990 đến năm 2000, chúng tôi đã tiến hành đề tài chọn lọc giống Thanh cao cho năng suất lá và hàm lượng artemisinin cao.

II. PHƯƠNG PHÁP

Chọn giống thanh cao theo phương pháp bông - hàng cải tiến của Hopkins (1908).

---

[1] Trạm Dược liệu Thanh Hoá.
[2] Xí nghiệp liên hiệp Dược Tuyên Quang.

Phân tích artemisinin theo phương pháp quang phổ tử ngoại cải tiến (Bùi Thị Bằng 1990). Sử dụng các phương pháp thống kê, xử lý số liệu của Fisher (1952), Burton và Davance (1953), Robinson và Comstock (1956), Miller và Robinson (1958)...

Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên, 3 lần nhắc lại.

Địa điểm nghiên cứu: Hà Nội, Thanh Hoá, Tuyên Quang, Cao Bằng, Lạng Sơn.

III. KẾT QUẢ

Năm 1990: Chọn 1000 cá thể, tiến hành loại thải, phân tích hàm lượng artemisinin kết quả cho thấy có 100 cá thể đạt hàm lượng artemisinin từ 0,99% đến 1,62%.

Năm 1991: So sánh 100 dòng (so sánh nhỏ) năm thứ nhất.

Năm 1992: So sánh 100 dòng ở năm thứ hai, chọn 20 dòng tốt nhất.

Năm 1993: So sánh 20 dòng có sử dụng giống đối chứng.

Năm 1994: Tiếp tục so sánh 20 dòng có sử dụng giống đối chứng. Chọn 3 dòng có nhiều hứa hẹn.

Năm 1995: Thí nghiệm so sánh 3 dòng (so sánh lớn) ở 3 vùng sinh thái có sử dụng giống đối chứng.

***Bảng 1.* Kết quả khảo nghiệm giống năm 1997**

Vùng trồng / *Giống* / *Các chỉ tiêu theo dõi*	*Thanh Hoá*		*Hà Nội*		*Tuyên Quang*	
	Chọn lọc	*Chưa chọn lọc*	*Chọn lọc*	*Chưa chọn lọc*	*Chọn lọc*	*Chưa chọn lọc*
Chiều cao cây (m)	2,49±0,09	1,84±0,42	2,73±0,38	2,41±0,17	2,52±0,17	2,36±0,14
Số cành trên cây	60,06±5,5	50,84±5,36	69,1±4,50	66,3±1,67	72,2±9,62	66,40±3,97
Đường kính cây (cm)	4,91±0,18	4,23±0,66	4,62±0,47	3,94±0,50	4,10±0,20	3,50±0,29
Khối lượng lá khô/m^2 (gr)	293,0±3,96	178,2±2,62	450,0±6,72	293,0±5,20	405,0±3,52	246,6±4,86
Hàm lượng artemisinin trong lá khô tuyệt đối (%)	0,91±0,06	0,82±0,08	1,06±0,07	0,95±0,01	1,01±0,09	0,95±0,08
Độ thuần đồng ruộng	Khá	Kém	Khá	Kém	Trung bình	Kém
Tỷ lệ cây thoái hóa (lá kim và ra hoa sớm) (%)	4,0%	12%	0%	5,0%	6,0%	6,0%

Năm 1996: Thí nghiệm so sánh 3 dòng ở 3 vùng sinh thái mà 3 vùng đó có thể sử dụng để triển khai sản xuất lớn cây Thanh cao sau này. Chọn được một mẫu giống tốt nhất.

Năm 1997: Thí nghiệm khảo nghiệm giống ở 3 vùng sinh thái (Năm thứ nhất).

Năm 1998: Thí nghiệm khảo nghiệm giống ở 3 vùng sinh thái (Năm thứ 2).

Năm 1999: Thí nghiệm khảo nghiệm giống ở 3 vùng sinh thái (Năm thứ 3).

Kết quả khảo nghiệm giống trong 3 năm được trình bày ở bảng 1, 2 và 3.

***Bảng 2.* Kết quả khảo nghiệm giống năm 1998**

Vùng trồng / *Các chỉ tiêu theo dõi* / *Giống*	*Thanh Hoá*		*Hà Nội*		*Tuyên Quang*	
	Chọn lọc	*Chưa chọn lọc*	*Chọn lọc*	*Chưa chọn lọc*	*Chọn lọc*	*Chưa chọn lọc*
Chiều cao cây (m)	2,17±0,24	1,71±0,14	2,10±0,17	1,72±0,2	2,54±0,24	2,30±0,30
Số cành trên cây	59,8±2,4	42,7±4,3	64,3±5,2	55,2±2,8	58,20±3,90	49,10±7,9
Đường kính cây (cm)	6,4±0,4	5,7±0,5	6,7±0,54	6,1±0,72	6,5±0,3	5,5±0,2
Khối lượng lá khô/m^2 (gr)	256,2±3,4	288,3±3,2	336,4±5,2	252,8±3,7	316,5±4,5	259,4±3,8
Hàm lượng Artemisinin trong lá khô tuyệt đối (%)	0,76±0,05	0,75±0,03	0,88±0,08	0,83±0,08	0,88±0,08	0,76±0,05
Độ thuần đồng ruộng	Rất tốt	Trung bình	Tốt	Trung bình	Trung bình	Kém
Tỷ lệ cây thoái hóa (lá kim và ra hoa sớm) (%)	3,0%	5,0%	0%	5,0%	7,0%	8,0%

***Bảng 3.* Kết quả khảo nghiệm giống năm 1999**

Vùng trồng / *Các chỉ tiêu theo dõi* / *Giống*	*Thanh Hoá*		*Hà Nội*		*Tuyên Quang*	
	Chọn lọc	*Chưa chọn lọc*	*Chọn lọc*	*Chưa chọn lọc*	*Chọn lọc*	*Chưa chọn lọc*
Chiều cao cây (m)	2,27±0,09	1,62±0,07	2,60±0,08	1,90±0,07	2,42±0,07	1,58±0,08
Số cành trên cây	61,58±1,18	43,46±2,20	76,12±4,13	52,94±2,39	64,18±2,28	41,00±3,00
Đường kính cây (cm)	6,34±0,25	5,30±0,26	4,28±0,38	5,34±0,31	6,26±0,10	5,02±0,14
Khối lượng lá khô/m^2 (gr)	346,20±4,1	277,0±2,8	356,0±4,3	214,60±5,20	344,20±4,3	238,5±3,2
Hàm lượng Artemisinin (%)	1,22±0,06	0,98±0,19	1,03±0,17	0,97±0,07	1,25±0,009	1,09±0,09
Độ thuần đồng ruộng	Trung bình	Kém	Tốt	Kém	Trung bình	Kém
Tỷ lệ cây thoái hóa (lá kim và ra hoa sớm) (%)	4,0%	8,5%	0,8	2,6	3,4	7,4

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Giống thanh cao mới chọn lọc đã có những phẩm chất tốt hơn hẳn giống cũ chưa chọn lọc, đặc biệt ở 2 chỉ tiêu quan trọng: năng suất lá tăng 29% và hàm lượng artemisinin tăng 10%.

Đề nghị giống mới thanh cao được làm các thủ tục công nhận giống và sản xuất để cung cấp cho các vùng sản xuất dược liệu thanh cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Heinrich Koch – Quynghaosu, 1981.*

A potent antimalarial from plant origin; pharmacy international September [New drug].

2. *Daniel L., 1985.*

Klayman - Science 31 May 1985. Volume 228, pp. 1049-1055.

Quynghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China.

3. *Trần Đình Long và cộng sự.*

Chọn giống cây trồng (giáo trình cao học nông nghiệp) tr. 122-123.

4. *B.D.Singh.*

Statistical analysis in plant breeding and genetics.

NGHIÊN CỨU BẢO QUẢN LÁ THANH CAO LÀM NGUYÊN LIỆU CHIẾT XUẤT ARTEMISININ

(Đề tài nhánh của đề tài cấp nhà nước KY02-01 thuộc chương trình KY02 1991 - 1995)

Nguyễn Gia Chấn, Lê Nguyên Hương[1]

SUMMARY

The influence of moisture and temperature on the quality of the dry leaves of Artemisia annua L. was investigated. A model of store suited for the storage of hundreds tones of Art. annua L. dry leaves was set up.

Some treatment measures for the drying process and the death-watch beetles protection were determined.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hàng năm nhu cầu lá thanh cao làm nguyên liệu chiết xuất artemisinin rất lớn, mỗi đơn vị sản xuất cần hàng trăm tấn lá khô. Chỉ tính riêng 2 dây chuyền của Viện Dược liệu và CTDLTƯ1, mỗi năm cần từ 200 tấn đến 350 tấn.

Mùa thu hái lá thanh cao chỉ ngắn trong vòng một tháng nên muốn dây chuyền hoạt động liên tục, phải bảo quản nguyên liệu trong kho cả năm. Chất lượng lá thanh cao chủ yếu phụ thuộc vào hàm lượng hoạt chất artemisinin, một chất sesquyterpen lacton có cầu nối peroxyd nội (yếu tố có tác dụng tiêu diệt KST sốt rét) rất dễ bị phá hủy bởi nhiệt độ và độ ẩm cao trong môi trường bảo quản. Trong quá trình chiết xuất, nếu nguyên liệu có độ ẩm cao (độ ẩm quy định trong dự thảo tiêu chuẩn nguyên liệu lá thanh cao của Viện Dược liệu là 13%) thì hiệu suất chiết sẽ rất thấp.

[1] Công ty Dược liệu Trung ương 1.

Trong quá trình bảo quản trong kho, hai nguyên nhân chính ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu là độ ẩm và nhiệt độ trong môi trường bảo quản. Hai yếu tố đó thúc đẩy quá trình biến đổi sinh hóa trong dược liệu và hoạt động sinh lý của sâu mọt, nấm mốc, dẫn tới sự phân hủy làm giảm hoạt chất trong dược liệu.

Đề tài này nhằm đánh giá ảnh hưởng của độ ẩm và nhiệt độ của môi trường trong kho, ảnh hưởng của nhiệt độ khi phơi, tác hại của sâu mọt đối với chất lượng dược liệuThanh cao và tìm ra biện pháp khắc phục để có thể đảm bảo cung cấp nguyên liệu tốt cho công nghệ chiết xuất artemisinin.

Thí nghiệm được tiến hành tại kho dược liệu của CTDLTƯ 1.

II. NỘI DUNG VÀ KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu ảnh hưởng của độ ẩm và nhiệt độ môi trường bảo quản đến hàm lượng artemisinin trong lá thanh cao

1) Phương pháp nghiên cứu

- Lấy 3 lô lá thanh cao nhập tháng 8/91, 9/91, 10/91. Mỗi lô trộn đều các mẫu, không mốc mọt, độ ẩm và hàm lượng được xác định.

- Mỗi lô làm 2 bao, mỗi bao 20kg đựng trong bao tải gai, đặt trong ba mô hình kho: mô hình tự nhiên (kho thông thoáng tự nhiên), mô hình nhân tạo (kho có điều hoà không khí), mô hình kho tự nhiên kết hợp với nhân tạo (kết hợp việc chạy máy điều hoà nhiệt độ theo một chế độ thích hợp với việc thông gió tự nhiên).

- Theo dõi diễn biến nhiệt độ và độ ẩm của môi trường tự nhiên, điều chỉnh máy ở môi trường nhân tạo sao cho lúc nào nhiệt độ cũng trong khoảng 20-24^{0}C, độ ẩm 60-70%; ở môi trường kết hợp tự nhiên với nhân tạo đạt được nhiệt độ trung bình 25-27^{0}C, độ ẩm trung bình 75-77%.

- Từng thời gian nhất định, lấy mẫu xác định lại độ ẩm và hàm lượng artemisinin.

2) Kết quả nghiên cứu và bàn luận

Sau 18 tháng, kết quả thu được của 3 lô thí nghiệm cho thấy:

2) Trong điều kiện kho nhân tạo, hàm lượng art giảm không đáng kể đối với cả hai loại; khoảng 16-17,5%.

3) Trong điều kiện kho tự nhiên kết hợp với nhân tạo, mức giảm hàm lượng art đều khoảng 25% ở cả hai loại. Trong điều kiện thực tế Việt Nam, kết quả này có thể chấp nhận được nếu so sánh chi phí phải bỏ ra để trả tiền điện chạy máy, hao mòn, hỏng hóc, sửa chữa thiết bị với tiền thu mua lá thanh cao, nhất là khi phải bảo quản khối lượng lớn hàng trăm tấn.

3) Mô hình và quy trình kỹ thuật bảo quản

Từ kết quả nghiên cứu 2 năm chúng tôi đề xuất mô hình và quy trình kỹ thuật bảo quản lá thanh cao trong kho như sau:

a) Mô hình kho bảo quản

- Yêu cầu: Nhiệt độ cần có: 20°C - 26°C; Độ ẩm: 60% - 75%.Ngăn được ẩm và nhiệt từ ngoài vào; nhưng phải rất thoáng khi cần thông gió

- Để đạt các yêu cầu đó phải áp dụng mô hình kho kết hợp điều hoà không khí với thông gió tự nhiên và vận dụng các nguyên tắc cơ bản của bảo quản, cụ thể là:

- Kho cách nhiệt bằng gạch chống nóng hoặc làm thêm một lớp trần để dừng lớp không khí đệm chống nóng.

- Tường kho bằng gạch lỗ dầy, sau lớp tường gạch có thể có thêm một lớp tường bằng gỗ ván ghép.

- Sàn kho phải cách đất để chống ẩm (hàng xếp trên kệ).

- Các cửa ra vào và cửa sổ bố trí đối nhau để thuận tiện cho việc thông gió, đồng thời mép cửa phải có gioăng bảo đảm kín khi đóng.

- Kho có gắn máy điều hoà không khí, máy hút ẩm, quạt đẩy, nhiệt kế, ẩm kế.

b) Quy trình kỹ thuật bảo quản lá thanh cao

- Lá thanh cao nên thu mua loại có hàm lượng > 1%, khi nhập kho phải không được mốc mọt, xử lý sạch tạp chất, phơi khô, độ ẩm 10%-13%. Trong thực tế, lá thanh cao khi mua về thường rất ít đạt độ ẩm yêu cầu, nên ngay từ đầu đã phải phơi lại.

- Chế độ sắp xếp chuyển đảo: Các bao thanh cao phải được sắp xếp lên kệ cao khoảng 30-50cm thành từng khối cách nhau, cách trần, cách tường. Thường các đống hàng nên xếp cao x dài x rộng = 2,5m x 3m x 3m và cách tường 40cm. Ở vị trí đối diện cửa ra vào và cửa sổ phải có một khe giữa hai đống hàng (thông thoáng, dễ đi lại). Cứ 6 tháng một lần phải chuyển đảo đống hàng.

- Chế độ thông gió tự nhiên và chạy máy: Đầu tiên cho máy chạy thử, đồng thời theo dõi nhiệt độ, độ ẩm trong ngoài kho. Từ đó quyết định thời điểm, thời gian chạy máy và thông gió tự nhiên.

- Chế độ kiểm tra định kỳ và xử lý: Mỗi tháng kiểm tra chất lượng TC lưu kl một lần bằng cảm quan để phát hiện ẩm, mốc, mọt...

Theo nghiên cứu của chúng tôi, lá TC nếu đã phơi đến độ ẩm an toàn và đư bảo quản trong môi trường như trên thì không phải phơi lại trong thời gian 1 tháng.

Tuy nhiên, trong thực tế sản xuất artemisinin, tốt nhất nên dự trữ nguyên liệ để chiết xuất trong 6 - 7 tháng (từ tháng 7 đến tháng 1 năm sau) để tránh mù xuân, thường có mưa phùn kéo dài, độ ẩm không khí rất cao.

2. Nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình phơi đến hàm lượng art tron lá thanh cao

Để bảo vệ cầu nối peroxyd trong phân tử art, cần nghiên cứu cách phơi như thế nào để hạn chế tác hại của nhiệt độ. Với khối lượng hàng chục, hàng trăm tấ không thể phơi trên giàn, phơi âm can, mà đành phải phơi trên sân gạch, sân xi măng. Sau đây là những nhận xét rút ra từ một số mẻ thí nghiệm:

- Khi phơi lá thanh cao phải tùy từng điều kiện thời tiết mà tính toán thời gian phơi thích hợp. Vào mùa hè, trong những tháng nóng nhất (tháng 7,8) chỉ nên phơi trong 3 giờ vào đầu buổi sáng, sau khi đã hết sương, có nhiều gió. Nếu phơi buổi chiều thì nên phơi vào lúc quá trưa sang chiều (từ 14 giờ) và chỉ phơi trong 2 giờ. Trong những tháng có nhiệt độ không cao (tháng 11, tháng 3) thì có thể phơi trong 3 giờ vào buổi chiều, từ 14-17 giờ hoặc trong 5 giờ vào buổi sáng.

3. Nghiên cứu ảnh hưởng của sâu mọt đến hàm lượng art và biện pháp phòng trừ

- Lá thanh cao có thể bị ăn hại bởi mọt thuốc lá (Lasioderma serricome Fab.). Tốc độ phá hoại của mọt thuốc lá đối với lá thanh cao rất lớn: chỉ qua một vòng đời 35 ngày mọt thuốc lá có thể làm giảm hàm lượng art tới 40%.

- Để diệt mọt thuốc lá có thể dùng Bekaphot (AlP). Với liều 25g / m^3 thì sâu mọt chết hết mà hàm lượng art hầu như không thay đổi.

2. *Kovaev. Iu. Ph., 1972.*

Uscorenie vvivedenia iz organizma radioactivnuch izotomov. Moxcva Atomuzdat.

3. *Ch. H. Ruan, 1985.*

Chung yao tung pao 11 (2) P. 10.

4. *Ch. H. Ruan, 1986.*

Chung yao tung pao 11 (7) P. 9.

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH CÔNG NGHỆ CHIẾT XUẤT ARTEMISININ TỪ CÂY THANH CAO (*Artemisia annua* L.)

(Đề tài nhánh của Đề tài KY02-01 thuộc chương trình KY02-1991-1995)

Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Quang Hoan, Lã Kim Oanh, Trương Vĩnh Phúc, Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Xuân Cường và các cộng sự.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viện Dược liệu là một trong những đơn vị đầu tiên nghiên cứu quy trình chiết xuất Artemisinin từ cây thanh cao ở quy mô phòng thí nghiệm từ năm 1987. Với mục đích phục vụ chương trình phòng chống sốt rét của Ngành Y tế, từ đầu năm 1991 tiếp thu kết quả nghiên cứu từ phòng thí nghiệm, xưởng chiết xuất thử nghiệm đã tham gia nghiên cứu triển khai chiết xuất Arteminisin ở quy mô pilot trên dây chuyền chiết xuất của viện trợ PNUD. Cũng trong thời gian đó nhiều đơn vị khác ở Việt Nam cũng đã triển khai chiết xuất Artemisinin ở quy mô pilot và có hai cơ sở đã chiết xuất ở quy mô công nghiệp. Tuy vậy quy trình kỹ thuật chiết xuất cũng như hiệu quả kinh tế còn khác nhau (dung môi, tỷ lệ hư hao dung môi, hiệu suất chiết, hiệu suất tinh chế...). Mặt khác quy trình chiết xuất còn gây ô nhiễm môi trường, không đảm bảo an toàn và ảnh hưởng độc hại đến người làm việc. Chính vì vậy mục tiêu nghiên cứu được đặt ra là phải xây dựng được quy trình CN chiết xuất Artemisinin ổn định, phù hợp với điều kiện làm việc và các trang thiết bị tự lắp đặt, nâng cao hiệu quả kinh tế, giảm giá thành sản phẩm, hạn chế ô nhiễm môi trường, bảo đảm an toàn và sức khoẻ cho người lao động.

II. NỘI DUNG VÀ KẾT QUẢ ĐẠT ĐƯỢC

1. Nghiên cứu khảo sát các thông số kỹ thuật và trang thiết bị

- Khả năng trích ly Artemisinin: loại dung môi, tỷ lệ DM/ DL,nhiệt độ và thời gian chiết,số lần chiết và hư hao dung môi.

- Kỹ thuật loại tạp và kỹ thuật tinh chế để nâng cao hiệu suất và chất lượng sản phẩm.

Thiết kế và lắp đặt dây chuyền chiết xuất phù hợp với quy trình kỹ thuật, điều kiện trang thiết bị thực tế để hạn chế ô nhiễm môi trường và bảo vệ sức khoẻ con người.

2. Kết quả

Qua thực nghiệm trên các dây chuyền chiết xuất ở quy mô 50 kg /mẻ, 100 kg/mẻ, 350 kg/mẻ, 500 kg/mẻ với các nguyên liệu thu hái ở những vùng trồng có địa lý khác nhau và bằng phương pháp xác định hàm lượng Artemisinin trong nguyên liệu, dịch chiết dư phẩm chúng tôi đã xây dựng được quy trình chiết xuất gồm 3 công đoạn:

- *Công đoạn 1:* Tạo sản phẩm trung gian có hàm lượng Artemisinin cao. Đã xác định được dung môi chiết xuất phù hợp và kinh tế nhất là xăng công nghiệp có tỷ trọng ở 15-25°C là 0,715. Chiết ở nhiệt độ tối ưu là 50° trong 3 giờ/mẻ với 2 lần chiết là kiệt. Tỷ lệ DM/ DL là 6/1(thể tích/ trọng lượng). Hư hao dung môi giảm từ 110 lít xuống còn 70 - 80 lít / tấn dược liệu. Sản phẩm trung gian đã được loại tạp ở dạng cao đặc có hàm lượng Artemisinin từ 85-90% hàm lượng hoạt chất có trong dược liệu.Cao có màu xanh đen hoặc nâu đen.

- *Công đoạn 2:* Chiết Artemisinin thô từ sản phẩm trung gian.

Đã tìm được dung môi thích hợp để loại sáp trong quá trình chiết Artemisinin thô từ sản phẩm trung gian với tỷ lệ phù hợp.Artemisinin thô kết tinh màu vàng ánh xanh hoặc nâu.Hàm lượng Art tinh khiết chứa trong Artemisinin thô từ 85-90 %.

- *Công đoạn 3:* Kết tinh Artemisinin tinh khiết từ Artemisinin thô.

Đã tìm được hỗn hợp dung môi thích hợp với tỷ lệ phù hợp để kết tinh Artemisinin. Sau khi lọc loại tạp và rửa lại thu được Artemisinin tinh thể màu trắng đạt tiêu chuẩn ngành.

Hiệu suất tinh chế đạt 96-98 % tính theo Artemisinin thô.

Cả 2 công đoạn này đều thực hiện trong dây chuyền thiết bị kín tự lắp đặt, thao tác thuận lợi. Hư hao dung môi ở 2 công đoạn này đã giảm xuống còn 10-20 lít/ tấn DL.

III. KẾT LUẬN

1. Quy trình công nghệ chiết xuất ổn định. Hiệu suất chiết được nâng cao trung bình từ 0,25-0,4% đối với các loài thanh hao được trồng ở các vùng địa lý khác nhau

có chứa hàm lượng Artemisinin từ 0,6% trở lên (tính theo dược liệu khô).Giá thành sản phẩm hạ.

2. Quy trình công nghệ đã được áp dụng trên các dây chuyền thiết bị tự lắp đặt, chế tạo tại Việt Nam có công suất từ 250-500-1000 lít/ mẻ ở các địa phương.

3. Quy trình chiết xuất cũng đã được đưa vào thẩm định phương pháp chiết xuất Art trong dự án hợp tác với Hà Lan.

4. Dư phẩm ít, hạn chế ô nhiễm môi trường và bảo vệ được sức khoẻ người lao động.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Journal of medical chemistry 1988 vol.31 p.645-650.

2. Journal of medical chemistry 1989,vol.32 P.1249-1252.

3. *Klayman D.L., 1985.*
Science (Washington D.C) 1985 - vol. 226 - P.104.

4. International J. of Immunopharmacology 1990- vol.12.No 4-P.385-389.

5. Proc. CAMS and PUMC 1989 vol.4 No 4-P.181-185.

6. Journal of traditional Chinese medicine 1982 (2)1 45-50.

7. Science reporter January 1988 (M.C. Nigam Assist. Director).

CHIẾT XUẤT ARTEMISININ QUY MÔ CÔNG NGHIỆP

Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Gia Chấn,
Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Kim Cẩn,
Nguyễn Quang Hoan, Lã Kim Oanh

SUMMARY

Extraction and purification of Artemisinin in industrial scale.

Based on the results of experimental research, we have designed, manufactured and installed a line for extraction of Artemisinin in industrial scale with econo of brance standard technical indexes. This extraction line should be spreaded widely and applied suitably for the localities.

*
* *

1. MỞ ĐẦU

Nhóm thuốc Artemisinin và dẫn chất đã được nhiều nước đầu tư nghiên cứu và sản xuất. Artemisinin lần đầu tiên được chiết xuất vào năm 1972 từ cây thanh cao (*Artemisia annua* L.). Nghiên cứu quy mô phòng thí nghiệm đã được công bố ở nhiều nước trên thế giới. Nhưng chiết xuất ở quy mô công nghiệp thì mới được ứng dụng tại Trung Quốc và Việt Nam.

Từ năm 1993, ở Việt Nam có khá nhiều cơ sở trồng và chiết xuất Artemisinin, nhưng xét về góc độ kết hợp giữa nghiên cứu và sản xuất để mang tính hiệu quả kinh tế kỹ thuật thì chủ yếu chỉ tập trung ở một vài cơ sở. Về phương pháp chiết xuất, thiết kế lắp đặt dây chuyền công nghệ cũng có nhiều điểm khác nhau. có cơ sở áp dụng phương pháp chiết nguội, ít hư hao dung môi hóa chất nhưng hiệu suất thấp hơn so với công nghệ chiết nóng. Có đơn vị chiết bằng dung môi ít phân cực nhưng không qua khâu loại tạp, công nghệ đơn giản hơn, chi phí thấp hơn nhưng hiệu suất thấp hơn so với công nghệ đã qua bước loại tạp. Tóm lại, đây là quan điểm về công nghệ khác nhau nhưng mục đích cuối cùng là làm sao hiệu quả kinh tế cao nhất.

Công nghệ của chúng tôi dựa trên nguyên tắc của định luật khuếch tán, là quá trình chuyển động phân tử làm cho phân tử của vật chất chuyển từ pha này sang pha khác và phân phối đều trong hai pha. Quá trình khuếch tán xảy ra từ nơi có nồng độ cao đến nơi có nồng độ thấp. Lượng vật chất khuếch tán được qua một diện tích bề mặt F, trong khoảng thời gian t, với sự chênh lệch nồng độ (C_1-C_2) trên một quãng đường bằng:

$$G = \frac{D.F.t(C_1 - C_2)}{\delta}$$

$$D = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6\eta\pi r}$$

$$G = \frac{R}{6N\pi r} \cdot \frac{T}{\eta} \cdot \frac{F.t(C_1 - C_2)}{\delta}$$

trong đó: D- hệ số khuếch tán, phụ thuộc vào bản chất của chất khuếch tán, độ nhớt của môi trường và nhiệt độ;

R - hằng số khí (0,0821 atm/độ);

T - nhiệt độ tuyệt đối;

N - hằng số Avogadro;

η - độ nhớt;

r - bán kính phân tử khuếch tán

Như vậy, các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng chiết xuất là: chênh lệch nồng độ hoạt chất giữa hai pha (C_1-C_2), diện tích tiếp xúc bề mặt, thời gian, nhiệt độ. Trong chiết xuất hiện tượng khuếch tán xảy ra ở hai khu vực: Bên trong nguyên liệu (qua lỗ thông của màng tế bào dược liệu) và trong dung môi (ở đây nhanh hơn trong nguyên liệu từ 200-300 lần).

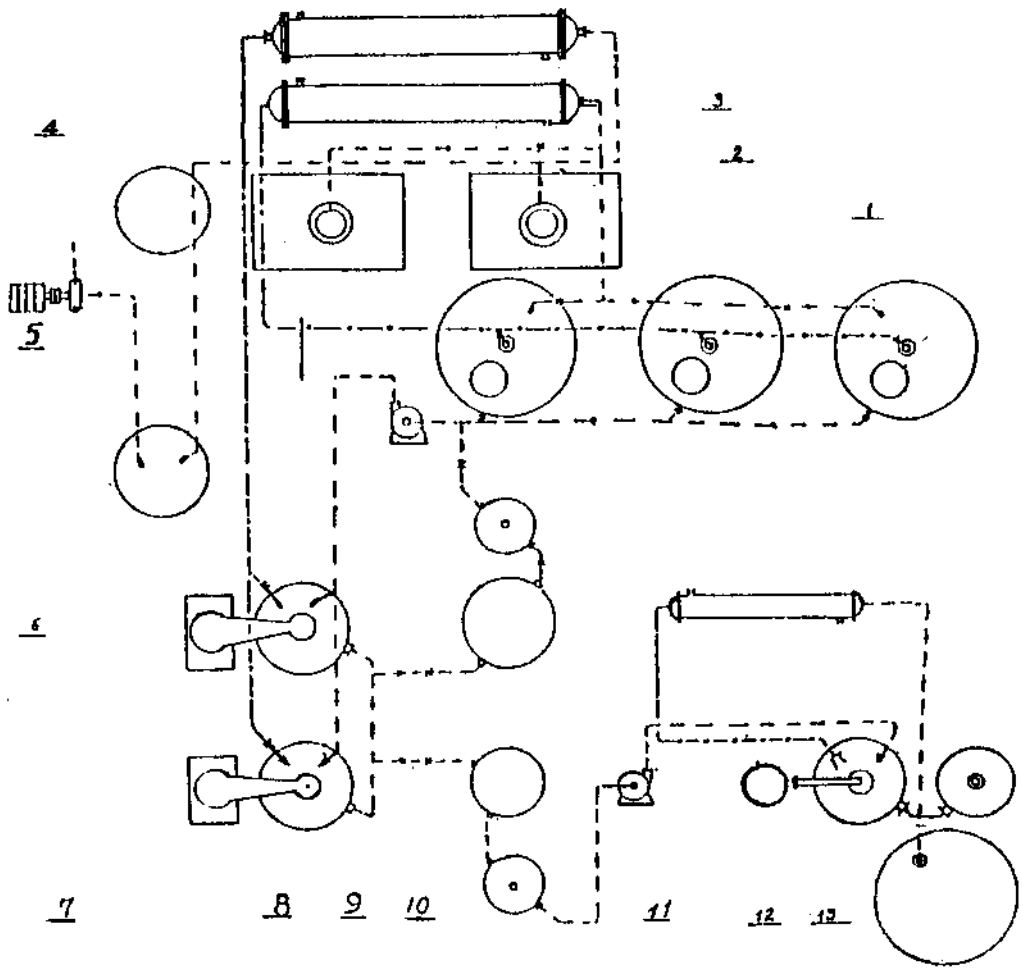
(D trong nguyên liệu = 10^{-8} - 1^{-7}; D trong dung môi = 10^{-5} - 10^{-6})

II. KẾT QUẢ

Chúng tôi đã khảo sát độ hoà tan của Artemisinin trong một số dung môi hữu cơ để lựa chọn dung môi thích hợp và dự kiến lượng dung môi để có hiệu số (C_1 - C_2) lớn nhất, khảo sát nhiệt độ chiết xuất phù hợp để có khả năng chiết ra nhiều hoạt chất nhưng ít tạp chất và thời gian chiết (số lần chiết) thích hợp nhất.

Từ nguyên tắc trên sau nhiều lần khảo sát ở quy mô pilot và chỉnh lý bổ sung, chúng tôi đã thiết kế và lắp đặt một dây chuyền chiết xuất ở quy mô công nghiệp với 3 nồi chiết, với dung tích mỗi nồi 500kg dược liệu/mẻ, cùng với các thiết bị cô chân không, sục bã dược liệu thu hồi kiệt dung môi trong bã sau khi chiết, các thiết bị loại tạp, kết tinh và tinh chế.

Sơ đồ thiết bị dây chuyền chiết xuất



1- Nồi chiết
2- Bình phân ly dung môi
3- Sinh hàn
4- Bình hứng dung môi thu hồi
5- Bơm chân không
6- Nồi cô chân không
7- Thiết bị lọc
8- Thiết bị loại tạp
9- Bơm cất dung môi
10- Sinh hàn thiết bị tinh chế
11- Thiết bị tinh chế
12- Thiết bị kết tinh
13- Bình chứa dung môi

Trên quy mô dây chuyền thiết bị đã được cải tiến nhiều lần, chúng tôi đã tiến hành khảo sát quy trình chiết xuất ở quy mô công nghiệp với 3 chế độ khác nhau trên cùng một loại dược liệu và dung môi.

Kết quả các mẻ thí nghiệm ở quy mô lớn như sau:

Chế độ chiết	*Số mẻ thí nghiệm*	*Số lượng dược liệu / kg*	*Lượng Art tinh chế thu được / kg*	*Hiệu suất t%*
A	12	5880	14,5	0,264
B	5	2300	7,72	0,336
C	5	2400	13,56	0,565

Kết quả trên có ý nghĩa xác định được các điều kiện chiết xuất tối ưu. Song khi áp dụng vào thực tế do các điều kiện thu mua bảo quản nguyên liệu không đồng đều, dược liệu bảo quản lâu ngày hàm lượng giảm dần và trong thực tế sản xuất lớn còn có yếu tố hư hao công nghiệp. Do vậy, trong thực tế sản xuất lớn từ năm 1990 đến nay sau một chu kỳ sản xuất khoảng 100 tấn dược liệu chúng tôi mới đạt được hiệu suất 0,28% - 0,4%. Vì vậy, vấn đề nghiên cứu để ổn định hiệu suất vẫn là rất quan trọng.

Artemisinin chiết xuất bằng công nghệ của Viện Dược liệu đạt tiêu chuẩn mới 52 TCN 364 - 94 của Bộ Y tế: Điểm chảy 152 - 153°C, $[\alpha]^{25}_{D} = 66^{0}$, hàm lượng hoạt chất 99,5%.

III. KẾT LUẬN

1- Dựa trên kết quả nghiên cứu ở quy mô phòng thí nghiệm qua nhiều lần sửa đổi chỉnh lý và nghiên cứu công nghệ chúng tôi đã thiết kế lắp đặt 1 dây chuyền chiết xuất Artemisinin có hiệu quả kinh tế kỹ thuật, đảm bảo tính an toàn, có thể áp dụng cho các địa phương và cơ sở sản xuất.

2- Trên những thông tin mới về ứng dụng của Artemisinin và các dẫn chất, về các dư phẩm trong sản xuất công nghiệp, việc tiến hành nghiên cứu tiếp là rất quan trọng và cần thiết.

SƠ BỘ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA DỊCH CHIẾT THANH CAO VÀ ARTEMISININ THÔ

(Đề tài nhánh của Đề tài cấp nhà nước 64C-03-08 thuộc chương trình 64C-1986-1990. Đã nghiệm thu ngày 8 tháng 6 năm 1991)

Nguyễn Gia Chân, Nguyễn Thị Ninh Hải, Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Quang Hoan, Nguyễn Văn Sỹ[1], Đào Bội Hoàn[1]

SUMMARY

The pharmacological experiments of Art. annua L. extracts and raw artemisinin showed that:

- water extract and ethanol extract 40° do not have antipyretic action, but ethanol extract 70° has late antipyretic action.

clinical assays of raw artemisinin (98%) in 15 malarial patients including normal malarial, acute malarial, serious malarial and pregnant malarial patients give good effects: fast clearance of plasmodium, recrudescence 30%. Side effects are not considered.

*
* *

I. NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG HẠ SỐT CỦA DỊCH CHIẾT THANH CAO

Dùng ba dịch chiết thanh cao: cao nước, cao cồn 40°, cao cồn 70°. Gây sốt cho chuột cống trắng tạp chủng, trọng lượng 120-150g bằng men bia theo phương pháp Smith và Hamburger. Lô thử thuốc cho uống dịch chiết thanh cao hai lần: một lần trước gây sốt nửa giờ, lần thứ hai sau gây sốt 1 giờ. Lô đối chứng uống nước muối sinh lý cùng thời gian và khối lượng. Theo dõi nhiệt độ trong 6 giờ.

Kết quả cho thấy: dịch chiết nước và cồn 40° không làm giảm sốt của lô uống thuốc so với lô đối chứng. Dịch chiết cồn 70° có tác dụng hạ sốt có ý nghĩa thống kê.

---

[1] Viện SRKSTCT.

II. NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA ARTEMISININ THÔ

1. Nghiên cứu tác dụng ức chế KSTSR trên mô hình thực nghiệm

1. Nghiên cứu trên *in vivo* theo kỹ thuật Peter Rabinovitch gây nhiễ *P. berghei* nhậy và kháng Chloroquyn cho chuột nhắt trắng. Dùng artemisinin tl để điều trị với liều 150 mg / kg, đường uống, trong 5 ngày. Theo dõi số lượng KS trong máu hàng ngày trong 10 ngày, sau đó 3 lần một tuần đến hết 28 ngày. K quả: 24 giờ sau uống thuốc, 16/20 chuột của các lô điều trị không có KST tror máu. Ngày 14 và 17 có 2/20 chuột bị tái phát; 18/20 chuột sau 5 ngày điều trị sốr khoẻ mạnh. ở 20 chuột chứng, KST phát triển nhanh trong máu, sau 10 ngày chi toàn bộ.

2. Nghiên cứu trên *in vitro* theo phương pháp của Beal và Thái Thông có cả tiến, artemisinin thô được thử trên *P. falciparum* trong nuôi cấy liên tục. Trong ốn nghiệm, artemisinin thô ức chế KST với liều 50 nanogram / 1ml môi trường.

2. Nghiên cứu độc tính cấp

Dùng phương pháp Karber xác định LD50. Kết quả thử trên 6 lô chuột, mỗi lô 10 con cho uống artemisinin thô, LD50 tính được là 1.275 mg/kg chuột.

3. Nghiên cứu tác dụng dược lý lâm sàng

11 người tình nguyện đã được uống artemisinin thô gồm: 2 nam, 9 nữ, tuổi từ 28-44. Uống 4 g artemisinin chia 3 ngày. Theo dõi các chỉ số:

Các triệu chứng chủ quan sau uống thuốc: buồn nôn, nôn, chóng mặt, rối loạn trí nhớ, thân nhiệt, phản ứng mẩn ngứa, mề đay.

Các triệu chứng khách quan: tim mạch, huyết áp,hồng cầu, bạch cầu, điện giải đồ máu, chức năng gan, thận, đường huyết.

Kết quả cho thấy: Một số triệu chứng cơ năng có xuất hiện nhưng khi ngừng dùng thuốc thì mất đi hoàn toàn. Thuốc không ảnh hưởng tới hồng, bạch cầu, điện giải đồ máu, glucoza máu, huyết áp và các chức năng gan. Ngoài ra, 11 người tình nguyện uống artemisinin thô còn được theo dõi chức năng thận. Kết quả cho thấy: các chỉ số creatinin niệu, protein niệu, tế bào niệu trước và sau uống thuốc không có thay đổi bệnh lý.

và tốt. Đến ngày 21 và 28 có 5 bệnh nhân tái phát phải chuyển sang dùng Fansimep.

III. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

1. Tác dụng hạ sốt của dịch chiết cồn 70° lá thanh cao xuất hiện tương đối chậm, 3 giờ sau khi gây sốt. Tác dụng mạnh hơn ở giờ thứ 4, thứ 5. Cao nước và cao cồn 40° không có tác dụng.

2. Artemisinin thô có tác dụng ức chế rõ rệt với *P. berghei* nhậy thuốc và kháng thuốc gây nhiễm trên chuột nhắt, ức chế *P. falciparum* nuôi cấy liên tục trong ống nghiệm. Trong thí nghiệm *in-vivo*, súc vật bị tái phát sau dùng thuốc chiếm tỷ lệ 10%. Điều này phù hợp với thực tế sử dụng artemisinin cho người bệnh.

3. Liều độc LD50 là 1.275 mg/kg, so với liều điều trị là 150 mg/kg/ngày bằng 8,5 lần. Như vậy thuốc tỏ ra ít độc, có tác dụng cắt KST nhanh nên có thể dùng trên người được.

4. Về dược lý lâm sàng: thuốc đã được dùng trên người tình nguyện. Các triệu chứng chủ quan như buồn nôn, mệt mỏi có xuất hiện ở một số người, nhưng khi ngừng thuốc thì hết. Có thể do dùng liều cao (4g) nên đã gây nên các triệu chứng này. Các triệu chứng khách quan biến đổi ít, trong phạm vi sinh lý cho phép. Điều này chứng tỏ thuốc ít độc, có thể dùng cho người bệnh.

5. Artemisinin thô đã được dùng điều trị cho 15 bệnh nhân sốt rét ở các thể ác tính, thể nặng, bệnh nhân có thai và sốt rét thường.. Thuốc cắt KST nhanh, không độc cho bệnh nhân.Tỷ lệ tái phát là 1/3. Cần nghiên cứu một phác đồ điều trị thích hợp để hạn chế tỷ lệ tái phát.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. China cooperative research group on qinghaosu and its derivatives as antimalarials. J. trad. Chin. Med. 2, p. 13 (1982). J. trad. Chin. Med. 2, p. 17 (1982)

2. *Jing bo Xiang, 1985.*
Am. J. trop. Med., Hyg. 34 (3).

3. Fourth meeting of the scientific working group on the chemotherapy of malaria. 6 – 10 October 1981. Beijing - RP China.

4. *D.L. Klayman, 1985.*
Science, 228 (4703) PP. 1049-55.

5. *P.I.Trigg, 1989.*

Economic and medicinal plant research. Vol.3,P.20-55.

6. *Tu you-you, 1982.*

Planta medica, Vol. 44, P. 143-145.

7. *Y. m. Liu, 1979.*

Acta chim. Sínica 37, P. 129.

8. *Wong Tongyin, Xuruchang, 1985.*

J. trad. Chin. Med. 5 (4), P.240-242.

9. *Long J., Lechat P., 1968.*

Etude experimentale des anti-inflammatoires. Ed. Dous, Paris, 61-72.

10. *Nguyễn Bá Tĩnh (Tuệ Tĩnh), 1988.*

Nam Dược thần hiệu. NXB Y học.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU DẠNG BÀO CHẾ VIÊN ARTEMISININ 0,25G

(Đề tài nhánh của đề tài KY02-01 thuộc chương trình KY02-1991-1995)

Phạm Thanh Trúc, Nguyễn Gia Chấn, Ngô Thu Hoà, Nguyễn Văn Doanh, Vũ Thị Đậu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Artemisinin (Art.) có đặc tính hầu như không tan trong nước, tinh thể có độ đàn hồi cao nên viên Art. rất khó rã và hay bị bong mặt trong quá trình dập viên. Để giải quyết nhược điểm trên, thông thường trong kỹ thuật bào chế phải dùng một lượng khá lớn tá dược độn (thường lớn hơn hai lần lượng Art.). Nhưng việc sử dụng tá dược độn nhiều sẽ gây ra một vài hạn chế, như hoạt chất nhanh giảm trong quá trình bảo quản, viên to gây cảm giác khó chịu cho người bệnh khi sử dụng vì Art. rất đắng, ngoài ra xét về mặt kinh tế thì giá thành bao bì đóng gói của viên nhỏ (vỉ hay lọ) sẽ giảm được một nửa.

Cho nên việc lựa chọn những tá dược thích hợp để viên đạt tiêu chuẩn theo quy định Dược điển, đồng thời có khả năng giải phóng hoạt chất tốt, ổn định trong thời gian bảo quản là trọng tâm của đề tài KY02-01 phần nghiên cứu về bào chế.

II. NHỮNG THỰC NGHIỆM ĐÃ THỰC HIỆN

1. Khảo sát một số công thức viên nén Art. 0,25g
2. Bào chế viên nén, viên nang Art. 0,25g để dùng thử tốc độ hoà tan của Art.
3. Thử độ rã, độ mài mòn, định lượng Artemisinin trong viên.
4. Thử tốc độ hoà tan của Artemisinin trong các dạng bào chế.
5. Theo dõi sự ổn định của thuốc.

Nhóm	*Thành phần viên*
1	Artemisinin, tinh bột, talc, magie stearat
2	Artemisinin, tinh bột, lactose, talc, magie stearat

Nhóm	*Thành phần viên*
3	Artemisinin, tinh bột, lactose. CMC, talc, magie stearat
4	Artemisinin, tinh bột, CMC, talc, magie stearat
5	Artemisinin, tinh bột, lactose, PVP, talc, magie stearat
6	Artemisinin, tinh bột, VPV, talc, magie stearat
7	Artemisinin, tinh bột, Aga, talc, magie, stearat
8	Artemisinin, tinh bột, croscamelose, talc, magie stearat
9	Artemisinin, tinh bột, crospovidon, talc, magie stearat
10	Artemisinin, tinh bột, metyl cellulose, talc, magie stearat
11	Artemisinin, tinh bột, na starch glycolat, talc, magie stearat

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khảo sát ảnh hưởng của hồ dính đến độ chắc, độ mài mòn, kết cấu của viên

Vì lượng tá dược độn trong những mẫu nghiên cứu bào chế rất ít (khoảng 4%) nên ảnh hưởng tá dược độn không đáng kể, mà chủ yếu là tính chất và số lượng hồ đưa vào công thức. Đã làm nhiều công thức với hồ tinh bột sắn (hoặc hồ PVP, hồ CMC, hồ gelatin...) ở các nồng độ hồ khác nhau.

Trong các mẫu khảo sát, công thức viên với hồ tinh bột sắn có độ mài mòn cao nhất, song nhìn chung công thức bào chế viên Art. với tất cả các loại hồ nghiên cứu, viên nén có độ chắc đạt yêu cầu, độ mài mòn thấp. Nồng độ hồ dao động từ 1-3% đối với hồ Na CMC và PVP, hồ tinh bột sắn từ 4-7%, còn hồ gelatin 3-5% là thích hợp.

2. Khảo sát ảnh hưởng của tá dược đến độ rã của viên

Tất cả các mẫu viên nén Art. 0,25g, đường kính 9mm trong nghiên cứu bào chế có sử dụng một trong những công thức hồ trên đều không đạt được độ rã theo tiêu chuẩn, nếu không sử dụng loại tá dược rã mạnh.

Có nhiều mẫu đã sử dụng lượng tinh bột đến 10%, song độ rã của viên vẫn cao. Các chất cao phân tử cho viên có độ rã đạt yêu cầu.

Tuy nhiên độ chắc cũng như độ rã của viên, ngoài ảnh hưởng lớn của yếu tố tá dược, còn phụ thuộc nhiều vào kỹ thuật bào chế như thời gian, phương thức tạo hạt, lực nén của máy khi dập viên...

3. Khảo sát ảnh hưởng của một vài yếu tố đến tốc độ giải phóng thuốc

Những yếu tố nghiên cứu trên cũng chỉ phản ánh chủ yếu "diện mạo" của viên, chưa đánh giá được thực chất chất lượng của viên. Bởi vì hiện nay nhiều nghiên cứu về sinh dược học đã chứng minh có những viên nén tuy tương đương về hóa học, nhưng lại không tương đương về tác dụng sinh học, và một trong những tiêu chuẩn cơ bản đánh giá tác dụng sinh dược học của viên là độ hoà tan dược chất trong viên. ở nước ta hiện còn ít những nghiên cứu về lĩnh vực này. Cho nên trọng tâm đề tài đã đi sâu vào nghiên cứu những ảnh hưởng của tá dược đến tốc độ giải phóng thuốc, và trên cơ sở đó lựa chọn công thức bào chế thích hợp để xây dựng quy trình sản xuất thuốc ở quy mô công nghiệp (Xem Tạp chí dược học số 1, 1995).

Hoạt chất Art khá bền vững, nhất là khi có độ tinh khiết cao, nên ở cả hai dạng viên nén và viên nang sau 3 năm hoặc trên 3 năm theo dõi, hoạt chất giảm không đáng kể (mẫu BL (A), M.5, M.10, M.15).

Điều kiện bảo quản ảnh hưởng nhiều đến tuổi thọ của thuốc. Để so sánh mẫu BL (A) bảo quản trong lọ kín, tránh ánh sáng, để nơi mát sau 48 tháng, hàm lượng hoạt chất hầu như không giảm, trong khi đó mẫu BL (B) bảo quản trong lọ nhưng nút không kín (không xi xáp), hoạt chất đã giảm 9,3% sau 2 năm theo dõi.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Để nghiên cứu những ảnh hưởng của tá dược đến dạng bào chế viên, chúng tôi đã khảo sát 11 nhóm có những tá dược khác nhau trong mỗi nhóm chúng tôi lần lượt thay đổi các loại tá dược đưa vào công thức, tỷ lệ giữa các loại tá dược, nồng độ các loại hồ từ thấp đến cao (từ 1- 7%). Trong số công thức đó, chúng tôi lựa ra 10 công thức để tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của tá dược, ảnh hưởng của dạng thuốc, ảnh hưởng của kích thước tiểu phân đến tốc độ giải phóng hoạt chất và sau cùng chọn 2 mẫu để nghiên cứu sự hấp thu của Art. trong huyết tương thỏ. Kết hợp tất cả các nghiên cứu trên, chúng tôi chọn 1 công thức để viên bào chế ra đạt tiêu chuẩn ngành, đồng thời có khả năng giải phóng hoạt chất tốt, ổn định trong thời gian bảo quản.

2. Dựa trên kết quả theo dõi tuổi thọ thuốc trong các dạng bao bì khác nhau, chúng tôi đã rút ra kết luận tuổi thọ của viên Art. là 3 năm.

3. Trong hai dạng bào chế viên nén và viên nang, qua những nghiên cứu về sinh dược học, nhận thấy tốc độ giải phóng hoạt chất ở cả hai dạng không có sự khác biệt đáng kể, song dạng viên nang có nhiều ưu việt hơn vì bào chế dễ dàng và giải quyết được vị đắng của Art.

Kết quả bước đầu về ứng dụng sinh dược học vào việc nâng cao chất lượng các dạng viên nói trên tuy còn khiêm tốn nhưng đã mở ra triển vọng và khả năng có thể tiếp tục đi sâu để hoàn chỉnh phương pháp nghiên cứu các dạng bào chế chất lượng cao, đồng thời cũng đặt ra một yêu cầu cần phải sớm đào tạo cán bộ và tăng cường trang thiết bị cho môn sinh dược học, dược động học để xây dựng chuyên ngành bào chế thuốc của ta phát triển nhanh hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Application of precolumn reaction to high - performance liquid chromatography of quinghaosu in quima Plasma Zhao Shishun and Zeng Mei-Yi. Anal. Chem. 1986, 50, 289-292.

2. Reductive Electrochemical HPLC Assay for Artemisinine Nancy Acton, Daniel L. Klayman... Planta Medica 1985, 47 N°5, p 445-446.

3. *Phạm Thanh Trúc và cộng sự, 1995.*
Góp phần nghiên cứu sự giải phóng artemisinin qua nghiên cứu sinh dược học (*in vitro*). TCDH 1995, 1, p. 18-21.

NGHIÊN CỨU BÁN TỔNG HỢP
β - dihydroartemisinin ethyl ether (Arteether)

(Đề tài nhánh của đề tài KY02-01
thuộc chương trình KY02-1991-1995)

Trần Mạnh Bình[1],
Nguyễn Gia Chấn, Đặng Ngọc Bích

SUMMARY

Arteether has been semisynthesized from artemisinin in three steps: The first, reduction of artemisinin to dihydroartemisinin by sodium borohydride. The following step was reacted dihydroartemisinin with ethanol in the presence of boron trifloride etherate to give arteether.

The last step was convresion of the α-epimer to the β- epimer.

*
* *

Từ artemisinin, hoạt chất chống sốt rét của cây thanh cao (*Artemisia annua* L.) có thể bán tổng hợp ra những dẫn xuất dễ tan hơn, có hoạt tính cao hơn. Nhiều dẫn xuất ether, carbonat, sulfonat đã được thế giới nghiên cứu. Một số dẫn xuất quan trọng đáng chú ý là artemether, arteether, artesunat, artelinat,.. Arteether có tác dụng tương tự như artemether và ưa dầu hơn, nó dễ tích luỹ hơn trong tổ chức não, nên có tác dụng mạnh đối với sốt rét thể não.

Mục đích của công trình này là nghiên cứu bán tổng hợp arteether từ artemisinin.

Bán tổng hợp arteether từ artemisinin được tiến hành qua 3 giai đoạn sau:

- Khử hóa artemisinin thành dihydroartemisinin (DHA).

- Ether hóa DHA bằng cồn ethylic trong sự có mặt của chất xúc tác để tạo thành các đồng phân của dihydroartemisinin ethyl ether (đồng phân α và β).

[1] Đại học Dược Hà Nội.

- Chuyển đồng phân α - dihydroartemisinin ethyl ether thành đồng phân β - dihydroartemisinin ethyl ether (arteether).

Công trình bán tổng hợp được tiến hành qua các giai đoạn sau:

1. Bán tổng hợp dihydroartemisinin (DHA) từ artemisinin

Artemisinin có công thức phân tử là $C_{15}H_{22}O_5$ là một sesquyterpen lacton có cầu peroxyd nội. DHA được điều chế bằng cách khử hóa chọn lọc artemisinin với natri borohydrid ($NaBH_4$) trong môi trường methanol để cho sản phẩm dưới dạng kết tinh. Phản ứng khử hóa nhóm carbonyl bằng $NaBH_4$ là phản ứng cộng hợp nucleophin của ion hydrid (H^-) vào nhóm - C = 0. Dùng tác nhân khử hóa chọn lọc và ở nhiệt độ thấp để khử hóa nhóm -C(=O)- lacton thành -CH- OH lactol mà không ảnh hưởng đến cầu peroxyd và vòng lacton.

- Quá trình bán tổng hợp DHA qua các bước sau: Khử hóa artemisinin trong môi trường methanol bằng $NaBH_4$. Khống chế nhiệt độ phản ứng từ - 5°- 0° C. Theo dõi quá trình phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng. Khi phản ứng kết thúc, trung hoà hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch acid acetic. Cất để thu hồi bớt dung môi. Thêm nước cất vào và khuấy tiếp 1 giờ. Lọc lấy kết tủa DHA. Tinh chế và sấy ở nhiệt độ 40° C dưới áp lực giảm.

Đã khảo sát lượng $NaBH_4$ và lượng methanol cần thiết để tiến hành khử hoá, đã giảm được 1/ 2 lượng tác nhân khử hóa và lượng dung môi so với các tài liệu tham khảo.

Hiệu suất DHA đạt được 94-96 %. DHA thu được là những tinh thể hình kim nhỏ. Sắc ký lớp mỏng cho một vết với hệ dung môi toluen-ethyl acetat (1:1) hiện màu bằng hơi iod, có cùng Rf so với chất đối chiếu (0,83). Đo phổ hồng ngoại của DHA trên máy SHIMADZU, dùng viên nén KBr, thu được các đỉnh:

3400 $^{cm-1}$: O-H (lactol); 1125, 880, 825 $^{cm-1}$: -O-O (Peroxyd)

2. Bán tổng hợp arteether

Ether hóa DHA với ethanol khan trong sự có mặt của chất xúc tác là boron trifluorid etherat $F_3B.OEt_2$.

Cho DHA vào ethanol khan và cyclohexan đun nóng 45°C. Cho nhanh chất xúc tác $BF_3.OEt_2$. Đun hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 70°C. Theo dõi quá trình phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng. Trung hoà hỗn hợp phản ứng sau khi để nguội bằng dung dịch natri acetat bão hoà. Rửa lại bằng nước cất. Chiết pha nước với cyclohexan. Tập trung pha hữu cơ, làm khan bằng Na_2SO_4. Cất thu hồi dung môi ở nhiệt độ

40°C ở áp suất giảm. Thu được hỗn hợp nửa rắn, đem hoà tan trong n - hexan nóng (45°C), để ở -20°C trong 56 giờ. Lọc và phân lập đồng phân α và β.

Hiệu suất arteether thu được khi nghiên cứu sản xuất thử nghiệm là 50% so với DHA đem phản ứng.

Xác định sản phẩm tạo thành:

- Tinh thể trắng, dày, nhiều cạnh. Sắc ký lớp mỏng: 1 vết (hệ dung môi toluen / ethyl acetat 1: 1).

- Nhiệt độ nóng chảy 80° - 82° C.

$$[\alpha]^{21}_{D} = + 154 \ (C = 1,0; CHCl_3)$$

- Đo phổ hồng ngoại, viên nén KBr thu được các đỉnh: 878, 822 cm^{-1}:

- O - O (peroxyd). Không còn đỉnh O - H của DHA ở 3400 cm^{-1}

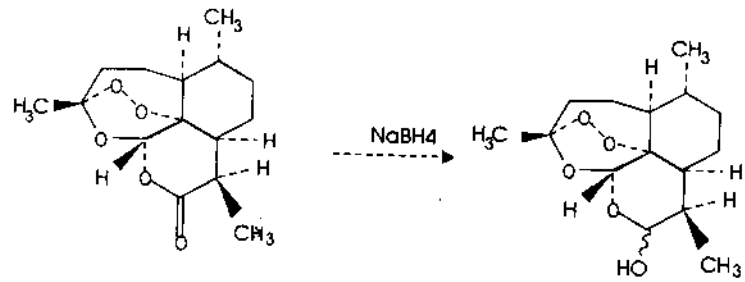
3. Chuyển đồng phân α thành đồng phân β .

Khi điều chế arteether thì bên cạnh arteether β - epimer kết tinh ta còn thu được khoảng 20-30% α - epimer (dạng sánh như dầu).

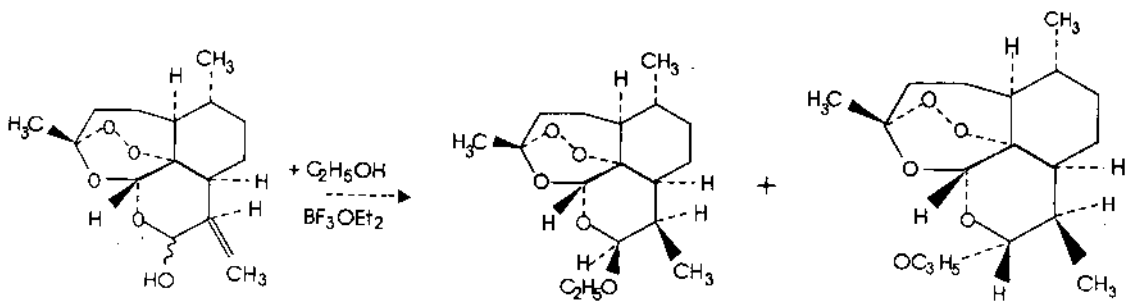
Khi cho đồng phân α trong hỗn hợp dung môi với chất xúc tác $BF_3.OEt_2$, đun nóng ở 70°C thì đồng phân α → β với hiệu suất 30%.

Sơ đồ phản ứng như sau:

Giai đoạn 1: **Khử hóa Artemisinin thành dihydroartemisinin**



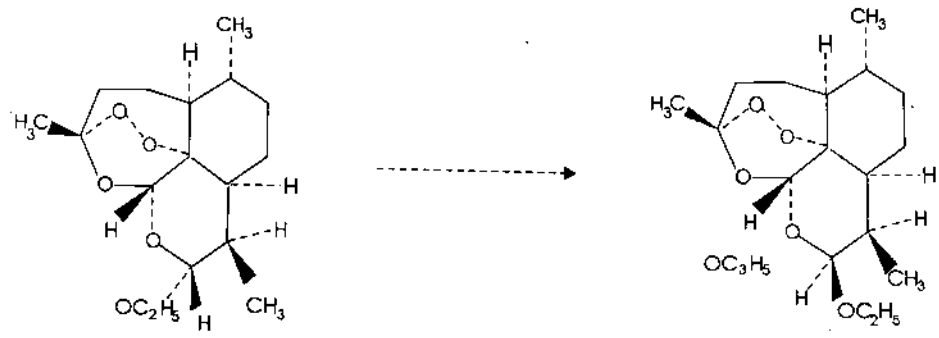
Giai đoạn 2: **Ether hóa dihydroartemisinin**



β-dihydroartemisinin ethyl ether (Arteether)

α-dihydroartemisinin ethyl ether

Giai đoạn 3: **Chuyển đồng phân α thành đồng phân β**



Đồng phân α

Đồng phân β

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *D.L. Klayman, 1985.*
   Science, 1985, vol.228, 1049-1055.

2. *P.Buchs, A. Brossi, 1989.*
   European patent Application. No- 0330.520 (1989).

3. *A.J.Lin, D.Klayman, 1987.*
   J. Med.Chem. 1987, 30, 2147 - 2150

4. *C.R.Thornfeldt, 1989.*
   United States Patent No 4.816.478 (1989)

5. *Xuan de Lue and Chia Chiang Shen, 1987.*
   The chemistry, pharmacology and clinical applications of Quynghaosu (Artemisinin) and its derivatives. Medicinal Research review Vol 7, No-1, 29-52 (1987).

6. Pratique de la chimiotherapie du paludisme. OMS. Geneve, 1990.

7. The Merk Index. Eleventh Edition, 1989.

8. *Nguyễn Gia Chấn, Trần mạnh Bình, Đặng Thị Ngọc Bích, 1992.*
   Báo cáo nghiệm thu cấp cơ sở đề tài nhánh cấp Nhà nước về "Bán tổng hợp arteether từ artemisinin" ngày 15/12/1992.

NGHIÊN CỨU SỰ GIẢI PHÓNG HẤP THU ARTESUNAT QUA NGHIÊN CỨU SINH DƯỢC HỌC *IN-VITRO* VÀ *IN-VIVO*

(Đề tài nhánh của đề tài KY02-01 thuộc chương trình KY02-1991-1995)

Phạm Thanh Trúc, Nguyễn Minh Khai, Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Gia Chấn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay artemisinin là loại thuốc điều trị sốt rét rất tốt, đặc biệt là *P. falciparum* kháng thuốc, nhưng vì artemisinin hầu như không tan trong nước, nên thời gian đạt tới nồng độ tối đa trong máu của người sau khi uống (10mg/kg) trung bình là 2 giờ thì chưa phải là lý tưởng, nhất là trong trường hợp sốt rét hiểm nghèo. Artesunat (Arts), một dẫn chất của artemisinin sẽ khắc phục nhược điểm trên, vì độ hoà tan trong nước của Arts lớn hơn nhiều so với artemisinin, tạo điều kiện để cơ thể có thể hấp thụ được nhanh hơn, chính vì vậy Arts có tác dụng mạnh gấp 5 lần artemisinin.

Trong phạm vi công trình này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố bào chế học đến tính chất và chất lượng của viên artesunat nhằm mục đích nâng cao chất lượng thuốc, phục vụ cho công tác điều trị ngày càng tốt hơn.

II. NHỮNG ĐIỂM CHÍNH ĐÃ THỰC HIỆN

1. Nghiên cứu bào chế viên nén Artesunat 0,05g

(Công thức để khảo sát tiến độ giải phóng hoạt chất)

Mẫu	*Thành phần tá dược làm hạt*
M10	Tinh bột sắn, lactose
M15	Tinh bột sắn, NaCMC
M17	Tinh bột sắn, lactose, NaCMC
M21	Tinh bột sắn, lactose, PVP

2. Nghiên cứu sự giải phóng hoạt chất viên Artesunat 0,05g qua thử độ hoà tan *in-vitro*.

3. Theo dõi độ ổn định của viên artesunat 0,05g

4. Nghiên cứu tốc độ hấp thu artesunat trong huyết tương thỏ (thử *in-vivo*).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khảo sát ảnh hưởng của một vài yếu tố đến tốc độ giải phóng của thuốc

So với artemisinin thì artesunat dễ tan trong nước hơn, vì vậy những ảnh hưởng của tá dược trong thử *in-vitro* không thể hiện rõ. Tuy nhiên trong những công thức có sử dụng tá dược thân nước thì cũng thể hiện tốc độ giải phóng hoạt chất cao hơn.

So sánh tốc độ giải phóng artesunat của mẫu M21 của VDL, mẫu của X, mẫu của Trung Quốc, tốc độ giải phóng của M21 là cao nhất, sau đó là mẫu của X. ở phút thứ 10, 15 hầu như hoạt chất giải phóng hết; trong khi ở phút thứ 15 mẫu của Trung Quốc mới giải phóng được 67,4% và đến phút thứ 30 mới giải phóng được 80% hoạt chất.

Kết quả thử *in vivo* lại ngược với trên. Mẫu TQ ở phút thứ 10 đã đạt nồng độ trong huyết tương cao hơn hẳn 4 mẫu còn lại, và tiếp tục tăng cao đến đỉnh ở phút thứ 60. Mẫu X và M10 có đỉnh ở phút thứ 10, M17 và M21 ở phút thứ 20 và 30. Đỉnh của mẫu TQ cao hơn hẳn so với đỉnh của các mẫu khác.

Artesunat dễ tan trong nước, hấp thu nhanh, nhưng cũng loại trừ nhanh ra khỏi huyết tương để chuyển sang hồng cầu và diệt KSTSR tại đây. Đỉnh cao hay thấp, xuất hiện sớm hay muộn trong huyết tương, không có ý nghĩa về mặt hiệu lực điều trị. Kết quả thử lâm sàng tại Phân viện sốt rét ký sinh trùng côn trùng Quy Nhơn và Viện Y học lâm sàng các bệnh nhiệt đới cho thấy, so với viên của Trung Quốc thì viên artessunat 0,05g của Công ty Dược liệu Trung ương 1 sạch KST nhanh hơn, tái phát chậm hơn và ít hơn.

2. Theo dõi tuổi thọ của viên artesunat

Trong những mẫu viên nén theo dõi, nhận thấy thực chất tuổi thọ của viên chỉ được 12 tháng; mặc dù kiểm tra theo tiêu chuẩn cơ sở thì viên vẫn đạt tiêu chuẩn về hàm lượng, nhưng nếu kiểm tra đối chứng bằng HPLC thì kết quả cho thấy hàm lượng viên không đạt tiêu chuẩn ngoài 12 tháng.

Phương pháp định lượng artesunat bằng HPLC là phương pháp định lượng trực tiếp không qua sản phẩm thủy phân, nên đánh giá được chính xác lượng artesunat còn lại trong viên sau một thời gian bảo quản.

Ở M23, M24, M25 kết quả giữa hai phương pháp ít chênh lệch nhau, vì viên mới được bào chế hàm lượng còn tốt chưa bị phân hủy, nên định lượng bằng phương pháp phổ và HPLC đều cho kết quả tương đương.

IV. KẾT LUẬN

1. Viên nén artesunat có thể bào chế dễ dàng bằng những phương pháp và tá dược thông thường, nhưng vì bản chất artesunat không bền vững (kém nhiều so với artemisinin) nên tuổi thọ chỉ có 12 tháng.

2. Tiêu chuẩn artesunat nên bổ sung thêm độ hoà tan của hoạt chất sau những thời gian nhất định, qua khảo sát có thể nêu tiêu chuẩn chung là "*phải giải phóng được 80% hoạt chất sau 30 phút thử*".

3. Trên cơ sở nghiên cứu này, chúng tôi đề nghị nên sản xuất viên artesunat dưới dạng viên nang, bởi vì bằng kỹ thuật bào chế ưu việt của viên nang, chắc chắn thuốc sẽ có tuổi thọ cao hơn (hiện chúng tôi đang tiếp tục theo dõi tuổi thọ của các mẫu viên nang đã bào chế). Còn nếu bào chế dưới dạng viên nén thì nên sử dụng tá dược riêng để có thể dập viên trực tiếp không qua sát hạt ướt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. The pharmacokinetics of Artemisinin after oral, intramuscular and rectal administration to volunteers. Titulaer H.A.C. Jzuidema J.Pharm, Pharmacol. 1990, 42, 810-813.

2. Góp phần nghiên cứu sự hấp thu Artemisinin trong huyết tương thỏ qua một số dạng bào chế. TCDH 1994, 5.20-21.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU SỰ GIẢI PHÓNG ARTEMISININ QUA NGHIÊN CỨU SINH DƯỢC HỌC (*in - vitro*)

(Đề tài nhánh của đề tài KY02-01 thuộc chương trình KY02-1991-1995)

Phạm Thanh Trúc, Ngô Thu Hoà, Nguyễn Gia Chấn, Hoàng Ân[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Artemisinin (Art.) được chiết xuất từ cây thanh cao (*Artemisia annua* L.). Trong một vài năm gần đây, việc nghiên cứu sinh dược học của thuốc ở Việt Nam đã bắt đầu được đề cập tới và trên cơ sở những nghiên cứu này, giúp người ta đánh giá chất lượng thuốc một cách chính xác hơn. Trong phạm vi bài này, chúng tôi trình bày nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố bào chế học đến tốc độ giải phóng dược chất artemisinin từ viên nén và viên nang qua những nghiên cứu *in-vitro*.

II. NHỮNG THỰC NGHIỆM ĐÃ THỰC HIỆN

- Xây dựng công thức bào chế viên nén và viên nang Art. 0,25g: Tá dược dùng tinh bột, hoặc tinh bột với lactose, với Na. CMC, với PVP... (từ mẫu 1 đến mẫu 11)

- Xác định độ hoà tan của Artemisinin.

- Thử tốc độ hoà tan của Artemisinin (*in-vitro*) từ những dạng bào chế trên, thí nghiệm được thực hiện trong máy thử độ hoà tan Erweka, dùng cánh khuấy, môi trường hoà tan pH = 7,2 (dùng hệ đệm phosphat), nhiệt độ: 37°C.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khảo sát ảnh hưởng của một vài yếu tố đến tốc độ giải phóng thuốc.

1. Nghiên cứu ảnh hưởng của tá dược

Art. gần như không tan trong nước (độ hoà tan 0,0113% ở nhiệt độ 37°C) nên trong những công thức có sử dụng nhiều tá dược thân nước thì tốc độ giải phóng

[1] Viện Công nghệ Dược.

hoạt chất cao hơn hẳn. M3 có tốc độ giải phóng hoạt chất cao hơn M1 là 12,4%, M5 có tốc độ giải phóng hoạt chất cao hơn M1là 12,8% ở phút thứ 150.

Sự khác nhau về tốc độ giải phóng hoạt chất giữa M1-M2, giữa M3-M4 là không đáng kể vì lượng lactose đưa vào quá ít.

Sự khác nhau về tốc độ giải phóng hoạt chất ở đây có thể giải thích cho những tá dược đưa vào đã làm tăng độ hoà tan của artemisinin. Sự có mặt của tá dược PVP và Na CMC trong viên đều làm tăng tốc độ giải phóng hoạt chất và tốc độ tăng này là xấp xỉ nhau tại cùng một thời điểm. Vai trò của tá dược còn được chứng minh rõ trong đồ thị tốc độ giải phóng hoạt chất của M7 (có tá dược là tinh bột, CMC) cao hơn M8 (chỉ có Artemisinin tinh khiết) là 12,3%, ở phút thứ 150.

Từ những kết quả nghiên cứu trên có thể cho phép xác định rằng: tá dược không chỉ là những chất trơ đóng vai trò hình thành dạng bào chế, mà nó còn có tác dụng làm tăng hay giảm tốc độ giải phóng hoạt chất, hoặc có thể làm thay đổi đặc tính tác dụng của thuốc dưới ảnh hưởng của những yếu tố khác nhau, hoặc bằng sự kết hợp phong phú của nó. Đặc biệt đối với những thuốc có hoạt chất ít hoặc rất ít tan trong nước, thì sự có mặt của các tá dược thân nước sẽ đóng góp một vai trò đáng kể.

2. Ảnh hưởng của kích thước các tiểu phân

Tốc độ giải phóng dược chất còn phụ thuộc rất rõ vào kích thước các tiểu phần dược chất. Trong M9, artemisinin được nghiền nhỏ cho qua rây số 26 (0,3mm) có tốc độ giải phóng hoạt chất cao hơn M10 - artemisinin không nghiền qua rây số 28 (0,5mm) là 6,7% ở phút thứ 150. Như vậy khi giảm kích thước các tiểu phân làm cho diện tích bề mặt tăng lên, do đó tốc độ hoà tan tăng lên, đó cũng chính là cơ sở làm cho sự hấp thụ thuốc của cơ thể tốt hơn.

3. Nghiên cứu ảnh hưởng của dạng thuốc

Khi tiến hành thử so sánh giữa hai dạng bào chế artemisinin viên nén và viên nang cùng gelatin có thành phần tá dược tương tự nhau thì tốc độ giải phóng hoạt chất không có sự phân biệt đáng kể giữa M4 và M7, có lẽ do viên artemisnin M4 này có độ rã khá nhanh (5 phút). Tuy nhiên, vì vị của Art. rất đắng nên dùng nang thuốc là dạng bào chế có nhiều ưu điểm hơn và quy trình sản xuất cũng đơn giản hơn.

Trong đồ thị giữa viên nén M1 (9mm) và viên M11 (12mm) có cùng thành phần tá dược, song tốc độ giải phóng hoạt chất của M11 cao hơn 4,9% so với M1 ở phút thứ 150 vì thời gian rã của M11 nhanh hơn; song so với M3 thì tốc độ giải phóng

hoạt chất của M11 lại thấp hơn nhiều (7,5%) ở phút thứ 150. Có nghĩa là tốc độ giải phóng hoạt chất trong trường hợp này phụ thuộc vào thành phần công thức viên nhiều hơn là vào dạng thuốc (kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu in- vivo).

IV. KẾT LUẬN

Qua những nghiên cứu bước đầu về độ hoà tan một số thí nghiệm về sinh dược học của thuốc đã chứng minh những yếu tố bào chế học như tá dược, kích thước tiểu phân, lực nén, cũng như dang thuốc đều ảnh hưởng nhiều đến chất lượng thuốc.

Artemisinin rất ít tan trong nước vì vậy qua những nghiên cứu trên đã thể hiện tốc độ giải phóng dược chất khá chậm, ở phút thứ 150 mới giải phóng được 50-55% dược chất. Nhưng trong thực tế điều trị, artemisinin và dẫn chất được coi như một thuốc điều trị sốt rét lý tưởng vì có hiệu lực cao với *P.falciparum* đặc biệt là *P.falciparum* kháng thuốc, ngăn chặn được sốt rét ác tính và điều trị được cả những trường hợp sốt rét hiểm nghèo. Artemisinin cắt sốt nhanh, số lượng ký sinh trùng hầu như giảm 95-99% sau 24 giờ uống thuốc...

Một vài kết quả nghiên cứu *in-vitro* trên đã được nghiên cứu so sánh với *in-vivo* và được khẳng định bằng kết quả nghiên cứu *in-vivo*. Công trình cần được nghiên cứu thêm như ảnh hưởng của các chất diện hoạt, lực nén, đường dùng thuốc... đối với tốc độ giải phóng dược chất ở những nghiên cứu *in-vitro* và *in-vivo* tiếp theo.

NGHIÊN CỨU SỰ HẤP THU ARTEMISININ TRONG HUYẾT TƯƠNG THỎ QUA MỘT SỐ DẠNG BÀO CHẾ

Nguyễn Bích Thu,
Nguyễn Minh Khai, Phạm Thanh Trúc

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Artemisinin được phân lập từ cây thanh cao (*Artemisia annua* L., Asteraceae) có cấu trúc sesquiterpen, khác với các thuốc chứa nitơ hiện có, nên có thể dùng để điều trị các thể *Plasmodium falciparum* đã kháng nhiều thuốc.

Hiện nay, thuốc Artemisinin có nhiều dạng bào chế khác nhau. Để đánh giá chất lượng một chế phẩm bào chế người ta phải dựa vào sinh khả dụng của thuốc đó. Bước đầu chúng tôi đã dùng phương pháp sắc ký lỏng cao áp theo dõi nồng độ thuốc trong máu để sơ bộ đánh giá tốc độ hấp thu thuốc trong huyết tương thỏ qua một số dạng bào chế Artemisinin được sản xuất tại Viện Dược liệu.

II. TÓM TẮT NHỮNG ĐIỂM CHÍNH CÔNG TRÌNH ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC

- Cho thỏ uống viên nén Artemisinin I_1 và M_3 với liều 200mg/ kg thể trọng. Xác định hàm lượng Artemisinin trong huyết tương thỏ theo thời gian bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp Hitachi 635 A, detector UV-VIS, cột sắc ký 4,6 mm x 150 mm.

- Điều kiện chạy sắc ký lỏng cao áp:

Pha tĩnh: Lichrosorb RP 18

Pha động: Methanol- Hệ đệm NaH_2PO_4 và Na_2HPO_4 có pH = 7,8 (45-55).

Bước sóng phát hiện: 260 nm

Tốc độ dòng: 1ml/phút.

Độ nhạy detector 0,08.

- Nồng độ artemisinin (viên I_1) trong huyết tương (µg / ml)sau khi cho thỏ uống 10 phút, 30 phút, 60 phút, 90 phút theo thứ tự là 2,53; 3,02; 3,27; 2,28 (µg / ml).

- Nồng độ artemisinin (viên M_3) trong huyết tương (µg / ml)sau khi cho thỏ uống 10 phút, 30 phút, 60 phút, 90 phút theo thứ tự là 2,85; 3,47; 4,24; 3,10 (µg / ml).

III. KẾT LUẬN VÀ BÀN LUẬN

- Hai dạng thuốc I_1 và M_3 hấp thu nhanh và thải trừ nhanh, điều đó thể hiệ 10 phút sau khi uống thuốc đã xuất hiện artemisinin trong huyết tương thỏ tươn đối rõ. Đến 60 phút đạt nồng độ hấp thu cao nhất và đến 90 phút đã thải trừ.

- Tốc độ hấp thụ thuốc của hai hai dạng I_1 và M_3 tương đối giống nhau.

- Nồng độ thuốc được hấp thu theo thời gian thì M_3 cao hơn I_1.

- Xét về sinh khả dụng của thuốc thì thấy nồng độ hấp thu của M_3 cao hơn I mặc dù lượng thuốc uống giống nhau.

- Bước đầu đánh giá sinh dược học bào chế của viên M_3 và I_1 cho thấy sinh khả dụng của M_3 tốt hơn I_1

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Zhao Shishan and Zeng Mei- xi, 1986.*
Anal. Chem. 58, 1986, 289-292.

2. *Đỗ Minh, 1993.*
Sinh dược học bào chế (Tủ sách sau đại học, trường đại học Dược Hà Nội).

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TRÀM LÁ HẸP Ở VIỆT NAM (*Melaleuca alternifolia* Cheel)

Nguyễn Văn Nghi và cộng sự

SUMMARY

Chemical composition of the leaf oil of "tea tree" (*Melaleuca alternifolia* Cheel) from Vietnam

The essential oil, obtained by steam distillation of leaf M. alternifolia Cheel, was investigated by high resolution GC and GC/MS. A new chemotype of □tea-tree□ growing from seed in Vietnam. Of the two chemotypes of □tea-tree□ reported (one with terpinen-4-ol and the other with 1,8-cineole as the main component), only the terpinen-4-ol chemotype has been found, but a new one with the main component being terpinolene (37.6 - 60.3%) was recorded in the population grown from seeds in Vietnam. The oil of the terpinolene type remained unchanged through generation propagated vegetatively irrespective of ecological conditions.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây tràm lá hẹp mọc hoang dại và hiện nay được trồng đại trà ở vùng Tây Australia với tên gọi là cây dầu trà (*Tea tree Oil*). Tinh dầu tràm lá hẹp chủ yếu được sản xuất tại đây với số lượng không lớn nhưng được thị trường ưa chuộng và xuất khẩu đi khắp thế giới. Do những phát hiện mới đây về công dụng của tinh dầu tràm lá hẹp trong y học và mỹ phẩm nên nhu cầu tiêu thụ có xu thế tăng lên. Viện Dược liệu đã nghiên cứu thành công di thực và nhân giống vô tính cây tràm lá hẹp này ở Việt Nam. Vì vậy, nghiên cứu thành phần hóa học của tinh dầu tràm lá hẹp là cần thiết.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

1) Các cây tràm Úc do Viện Dược liệu trồng từ hạt giống cây tràm *Melaleuca alternifolia* Cheel nhập từ Australia năm 1986 được trồng tại Trung tâm cây thuốc Hà Nội và Đồng Hới (Quảng Bình).

2) Các cây nhân giống vô tính (bằng chiết cành) từ các cây chủ kể trên được trồng tại Hà Nội, Hà Tây và Quảng Bình.

3) Tinh dầu thương mại của loài *M. alternifolia* Cheel đang trồng tại Australia.

2. Phương pháp

1) Định lượng và cất lấy tinh dầu trên mọi đối tượng theo phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước.

2) Phân tích thành phần hóa học của tinh dầu: bằng phương pháp sắc ký khí và sắc ký khí - khối phổ (thực hiện tại Công ty tinh dầu thuộc Trung tâm KHTN &CNQG và tại Trung tâm Giáo dục và Phát triển sắc ký Việt Nam) với các điều kiện như đã nêu trong tài liệu (3).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tinh dầu và thành phần tinh dầu

Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy: tinh dầu chủ yếu tập trung ở phần lá và hàm lượng tinh dầu của các đối tượng nghiên cứu khác nhau không đáng kể.

Bảng 1. **Một số đặc điểm của tinh dầu**

Tinh dầu	*Kiểu thương phẩm*	*Kiểu terpinolen*
Hàm lượng tinh dầu trong lá tươi (%)	1,9 - 2,1	1,8 - 2,1
d^{25}	0,8749	0,8776
n_d^{25}	1,4717	1,4771
α_d^{25}	+ 10,11	- 4,6

Kết quả phân tích thành phần hóa học của các mẫu tinh dầu được tập hợp trong bảng 2:

Những kết quả dẫn ra ở bảng 2 cho thấy tập đoàn cây nghiên cứu chia ra làm hai loại rõ rệt với các thành phần đặc trưng như sau:

Loại 1: kiểu thương phẩm có thành phần chủ yếu là terpinen-4-ol (thấp nhất 33%, cao nhất 46%), γ-terpinen (thấp nhất 10%, cao nhất 25%) và α-terpinen (thấp nhất 3%, cao nhất 13%). Loại này có thành phần hóa học phù hợp với tinh dầu tràm Úc thương phẩm đã được công bố.

Loại 2: có thành phần chủ yếu là terpinolen (thấp nhất 37,65%, cao nhất 60,28%) và 1,8-cineol (thấp nhất 16,31%, cao nhất 28,84%) khác hẳn với loại thương phẩm kể trên.

Bảng 2. **Thành phần hóa học của tinh dầu**

Thành phần chính	*Kiểu thương phẩm terpinen-4-ol*			*Kiểu terpinolen*
	1997 - 1999	*Thương mại**	*1991***	
α-thujen	0,47 ÷ 0,94	0,95	0,86	0,41 ÷0,96
α-pinen	2,13 ÷ 3,44	2,76	2,82	1,15 ÷ 1,92
camphen	0,03 ÷1,81	0,01		0,03 ÷ 0,18
sabinen	0,51 ÷ 0,71	1,40	0,21	0,32 ÷ 1,90
β-pinen			0,70	
myrcen	0,63 ÷ 1,39	0,79	0,87	0,01 ÷ 2,17
α-phellandren	0,21 ÷ 0,71	0,55	0,31	0,83 ÷ 3,42
α-terpinen	3,44 ÷13,21	8,91	7,01	0,03 ÷ 1,70
limonen	0,75 ÷ 1,33	1,31		2,20 ÷ 3,44
p-cymen	3,47 ÷ 16,11	4,96	7,13	0,99 ÷ 4,13
1,8-cineol	0,78 ÷ 4,95	6,84	4,15	16,31÷28,84
γ-terpinen	10,17 ÷ 25,53	17,68	18,21	1,86 ÷ 3,53
terpinolen	2,29 ÷ 4,60	3,51	3,15	37,65÷60,28
terpinen-4-ol	32,99 ÷ 43,05	34,08	46,10	1,31 ÷ 2,05
α-terpineol	0,78 ÷ 4,48	3,37	3,36	1,64 ÷ 3,54
aromadendren	0,68 ÷ 1,71	1,58		0,08 ÷ 0,56
allo-aromadendren	0,26 ÷ 1,41	0,10		0,08 ÷ 0,48
viridifloren	0,61 ÷ 1,78	1,53		0,06 ÷ 0,94
δ-cadinen	0,10 ÷ 1,24	1,24		0,16 ÷ 1,06
viridiflorol	0,11 ÷ 0,42	0,46		0,42 ÷ 0,82
γ-eudesmol	0,15 ÷ 1,34	0,39		0,13 ÷ 0,65

Bảng 3. **Thành phần hóa học của tinh dầu kiểu 2**

Thành phần chính	*Cây mẹ*	*Cây con từ cành chiết trồng tại*		
		Hà Nội	*Hà Tây*	*Quảng Bình*
α-thujen	0,41	0,88	0,92	0,79
α-pinen	1,83	1,76	1,74	1,58
camphen	0,08	0,04	0,03	0,03
β-pinen + sabinen	1,72	1,72	1,89	1,85
myrcen	0,15	0,25	0,37	
α-phellandren	2,58	3,03	3,26	2,94
α-terpinen	1,68	1,25	1,37	1,39
limonen	3,12	3,05	3,05	2,99
p-cymen	0,99	1,42		
1,8-cineol	18,25	18,83	20,30	19,48
γ-terpinen	3,78	3,05	3,42	3,38
terpinolen	58,66	51,70	53,27	52,30
terpinen-4-ol	1,56	1,77	1,85	1,56
α-terpineol	1,64	2,51	3,16	2,88
aromadendren	0,16	0,45	0,56	0,48
allo-aromadendren	0,06	0,35	0,30	0,35
viridifloren	0,12	0,37	0,47	0,41
δ-cadinen	0,16	0,68	0,49	0,75
viridiflorol	0,49	0,60	0,82	0,41
γ-eudesmol	0,25	0,28	0,42	0,34

*Thương mại** mẫu tinh dầu thương mại của loài *M. alternifolia* Cheel trồng ở Australia do chúng tôi phân tích thành phần hóa học tại Việt Nam.

*1991*** trích dẫn kết quả nghiên cứu của Phạm Quốc Bảo(4) để so sánh.

Chúng tôi đã tách riêng các cây thuộc kiểu 2 và khảo sát một cách hệ thống hơn để tìm hiểu các biến đổi về thành phần tinh dầu của chúng trong quá trình sinh trưởng và trong các điều kiện sinh thái khác nhau. Kết quả thu được ở bảng 3 cho thấy trong mọi điều kiện các cây này đều cho một loại tinh dầu có cùng đặc trưng chứa terpinolen là thành phần chính (trên 50%), thành phần tiếp theo là 1,8-cineol (trên 18%). Các thành phần khác dao động ở mức thấp hơn nhiều.

Các kết quả này là cơ sở để chúng tôi cho rằng kiểu tràm lá hẹp là một kiểu độc lập được phân biệt rõ rệt với kiểu thương phẩm - terpinen-4-ol và có *tính chất* ổn định trong các điều kiện sinh trưởng và sinh thái khác nhau. Chúng tôi gọi kiểu này là tràm lá hẹp kiểu terpinolen.

IV. KẾT LUẬN

Trên cơ sở phân tích hóa học của tinh dầu xác định cây này trồng ở Việt Nam có 2 kiểu hóa học: kiểu thương phẩm - terpinen-4-ol (trên 30%); kiểu terpinolen với hàm lượng terpinolen là chính (trên 50%) là một kiểu hóa học hoàn toàn mới ở Việt Nam.

Việc chúng tôi phát hiện ra một kiểu hóa học mới của tràm lá hẹp cho thấy cần thiết phải chú ý đến các kiểu hóa học trong quá trình chọn giống và nhân giống cây tràm cho triển khai sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Văn Nghi, Phạm Văn Hiển, 1997.*
Nghiên cứu nhân giống cây tràm lá hẹp (*Melaleuca alternifolia* Cheel) bằng phương pháp chiết cành, Tạp chí Dược liệu, Tập 2, 1.

2. *Nguyễn Văn Nghi, Phạm Văn Hiển, Lưu Đàm Cứ, Nguyễn Xuân Dũng, 1998.*
Khả năng sinh trưởng và tích luỹ tinh dầu của cây tràm lá hẹp (*Melaleuca alternifolia* Cheel) trồng từ cành chiết tại Hà Nội, Tạp chí Dược liệu, Tập 3, 2.

3. *Phạm Quốc Bảo, 1993.*
Nghiên cứu tinh dầu hai loài tràm (Melaleuca sp.) ở Bình Trị Thiên và dạng bào chế có chứa tinh dầu tràm, Luận án Phó tiến sĩ Y-Dược. Trường Đại học Dược Hà Nội.

4. *E. Guenther, 1961.*
The Essential Oils, Vol. IV, D.Van Nostrand Company, Inc. New York.

5. *J. J. Brophy, N.W. Davies, I. A. Southwell, I. A. Stiff, I. R. Williams, 1989.*
Gas chromatographic quality control for oil of Melaleuca terpinen-4-ol type (Australian tea tree), Journal of Agricultural and food chemistry, Vol. 37, N° 5, 1989, 1330 - 1335.

6. *E. V. Lassak, 1992.*
Chemistry of the volatile oils of family Myrtaceae. J. & Proc. Roy. Soc. N.S.W.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH TRÀM LÁ HẸP Ở VIỆT NAM

Nguyễn Văn Nghi và cộng sự

SUMMARY

Preliminary results of the Studies on proparagation of the "tea-tree" (*Melaleuca alternifolia* Cheel) in Vietnam

Introduction of "tea-tree" (Melaleuca alternifolia Cheel) in Vietnam. Seeds of "tea-tree" originated from Australia germinate favourably at 30 - 35°C which correspond with the temperatures in June - August under the local climatic conditions. A procedure for propagation of "tea tree" by layerage under the climatic conditions in Vietnam has been successfully established. Air layered stems of o.5 - 1.0 cm in diameter treated either with IAA (500 ppm), α-NAA (500 ppm) in spring give rise to profuse root systems and develop into new individual plants on being severed from the parent trees and transplanted in soil. Of the regulators tested, ABT$_1$ proves to be the most suitable for this species. Micropropagation of □tea-tree□. Shoot apices of the plant were induced in a medium containing MS-minerals. Kinetin and Benzylaminopurin (BAP) synergistically promote shoot - proliferation. Best results are obtained at the combination of 0.4 mg/l Kinetin and 0.5 BAP. A medium consisting of MS-mineral salts supplemented with 0.4 mg/l α- Naphtylacetic acid (α-NAA) promotes rooting. The plantlets were transferred successfully in pots after a period of hardening-off. Theoretically, 5^6 plantlets can be obtained from an initial shoot in one year.

*

* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tràm lá hẹp là cây thuốc và cây tinh dầu có giá trị. Australia là quốc gia duy nhất sản xuất tinh dầu "tea tree oil" để tiêu thụ trong nước và xuất khẩu. Tràm lá hẹp có thể nhân giống khá dễ dàng bằng hạt. Nhưng thực tế cây tràm lá hẹp trồng

(từ hạt) ở Việt Nam đã gần 15 năm vẫn chưa cho hạt. Vì vậy, phải tiến hành nghiên cứu một số biện pháp nhân giống vô tính.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1) Chiết cành: Trên những cây tràm lá hẹp ở Hà Nội, Quảng Bình đã trồng từ hạt 10 năm tuổi. Sử dụng những cành con có đường kính từ 0,5 đến 1,5 cm để chiết cành theo phương pháp cổ điển, có dùng các chất điều hoà sinh trưởng: IAA, α-NAA và ABT_1 ở các nồng độ khác nhau.

2) Nhân nhanh bằng phương pháp *in vitro*: Trực tiếp từ ngọn chồi. Môi trường nuôi cấy là môi trường dinh dưỡng MS có cải tiến.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Nghiên cứu nhân giống bằng phương pháp chiết cành

Bảng 1. **Ảnh hưởng của các chất ĐHST đến thời gian và tỷ lệ ra rễ ở cành chiết**

Chất ĐHST, nồng độ (ppm)	*Mùa xuân*			*Mùa thu*			*Mùa đông*		
	Số ngày	*%*	*Số rễ*	*Số ngày*	*%*	*Số rễ*	*Số ngày*	*%*	*Số rễ*
Đối chứng	Không hình thành rễ								
IAA 100	100-120	36,7	2,0	140-150	33,3	1,8	160-170	33,3	1,5
200	70-80	66,6	2,0	120-130	46,6	2,3	140-150	36,7	1,8
500	70-80	100	2,7	100-110	66,7	2,5	120-130	66,7	2,0
1000	Chết			Chết			Chết		
α-NAA 100	100-120	53,3	2,5	120-130	36,7	2,5	130-140	46,7	2,6
200	80-90	70	2,6	100-120	46,6	2,6	120-130	56,7	2,6
500	70-80	100	2,9	90-100	66,7	2,6	100-120	70	2,9
1000	Chết			Chết			Chết		
ABT_1 200	90-100	56,7	2,3	100-110	53,3	3,2	110-130	56,7	3,2
500	70-90	70	3,7	90-100	66,7	3,2	100-110	70	3,7
1000	50-70	100	3,2	60-80	66,7	3,7	70-90	100	3,7
1500	50-70	66,7	2,5	60-80	17	3,2	70-90	17	2,5
2000	Chết			Chết			Chết		

• Ảnh hưởng của thời vụ, thời gian sau khi trồng của cây mẹ, vị trí cành trên cây đến hình thành mô sẹo cành chiết

Thời gian hình thành mô sẹo của các cành được chiết vào mùa xuân, mùa thu (40-45 ngày), mùa đông, mùa hè (60-70 ngày). Tỷ lệ hình thành mô sẹo đạt cao nhất vào mùa đông (80%), sau đó đến mùa thu (70%), mùa xuân (60%) và thấp nhất vào mùa hè (20%). Thời gian hình thành mô sẹo ở cây có thời gian trồng được 2 và 3 năm sớm hơn ở những cây đã trồng được 10-12 năm từ 15 đến 20 ngày. Tỷ lệ phát sinh mô sẹo ở cây mới trồng được 2 và 3 năm đạt 100%, ở những cây 10 - 12 năm tuổi chỉ đạt 60%. Những cành ở gần đỉnh có tỷ lệ hình thành mô sẹo thấp nhất (60%) và thời gian hình thành mô sẹo dài nhất (từ 100 đến 110 ngày) so với các cành ở tầng giữa và dưới của cây (từ 50 đến 60 ngày) và tỷ lệ hình thành mô sẹo 100%. Vì vậy, khi chiết cành tràm lá hẹp nên chọn những cành ở tầng thấp hoặc tầng giữa của cây.

• Ảnh hưởng của các chất điều hoà sinh trưởng (ĐHST) đến chiết cành

Những số liệu ở bảng 1 cho thấy: cả 3 chất ĐHST (IAA, α-NAA và ABT_1) đều có tác dụng kích thích ra rễ đối với cành chiết tràm lá hẹp. Nồng độ tối ưu của IAA và α-NAA là 500 ppm, còn ABT_1 từ 1000 đến 1500 ppm. Nếu vượt quá nồng độ trên các cành chiết đều bị chết. Mùa xuân thời gian ra rễ nhanh nhất (sau 70-80 ngày). Nồng độ các chất ĐHST thấp hơn tỷ lệ thì hình thành rễ kém hơn và thời gian ra rễ cũng kéo dài hơn. Cành chiết xử lý với ABT_1 có chiều hướng ra rễ nhanh hơn (50-70 ngày). Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy: ABT_1, α-NAA có tác dụng cao hơn IAA. Tỷ lệ hình thành rễ ở cành chiết được tác động bởi ABT_1 ở cả 3 mùa (60-100%) đều cao hơn IAA và α-NAA (30-100%). Ở các nồng độ tối ưu của IAA và α-NAA là 500ppm, khi chiết vào mùa xuân (3 rễ/cành) đều có số lượng rễ sơ cấp cao hơn các mùa thu và mùa đông (2 rễ/cành). ABT_1 (ở nồng độ 1000 ppm) khi chiết vào mùa thu (4 rễ/cành) có số lượng rễ cao hơn khi chiết vào mùa đông và muà xuân (3 rễ/cành). Cành chiết xử lý với ABT_1 và α-NAA có khả năng cho số lượng rễ sơ cấp và chất lượng bộ rễ ở cành chiết tràm lá hẹp tốt hơn IAA.

2. Nhân giống tràm lá hẹp bằng phương pháp *in vitro*

a) Nghiên cứu tạo chồi in vitro

• Ảnh hưởng của nồng độ muối khoáng trong môi trường nuôi cấy

Nồng độ muối khoáng trong môi trường MS được pha loãng theo 3 công thức: 1, 1/2 và 1/3. Sự hình thành chồi và khả năng sinh trưởng của các chồi trong các môi trường dinh dưỡng khoáng khác nhau cũng có sự sai khác đáng kể. Môi trường có nồng độ muối khoáng cao (1) và thấp (1/3) đều có số lượng chồi phát sinh (1,2 -

1,5 chồi/lát) và tăng trưởng chiều dài kém hơn so với môi trường có nồng độ muối khoáng trung bình 1/2 MS (2,3 chồi/lát).

• *Ảnh hưởng của đường và nước dừa trong môi trường nuôi cấy in vitro ngọn chồi*

Nồng độ sacaroza thích hợp cho việc tạo chồi và sinh trưởng của chồi trong môi trường nhân giống *in vitro* là từ 20 g/l đến 30 g/l. (1,3 - 1,6 chồi/lát). Nước dừa bổ sung vào môi trường ở nồng độ 100 đến 200 ml/l có tác dụng kích thích việc tạo ra nhiều chồi hơn (2 - 2,2 chồi/lát) so với không có nước dừa (1,5 chồi/lát).

• *Các chất điều hoà sinh trưởng*

• *Kinetin:* Nồng độ kinetin 0,4 mg/l có tác dụng kích thích tái sinh chồi cao nhất trong số các nồng độ đã thí nghiệm cả về tỷ lệ ra chồi (40%) và số lượng chồi (3 chồi/lát cắt) so với đối chứng (30% và 2,2 chồi). Nồng độ kinetin cao dần thì tỷ lệ và số lượng các chồi mới giảm dần.

• *Benzyladenin (BA):* nồng độ BA 0,5 mg/l cho tỷ lệ phát sinh và số lượng chồi cao nhất. Sau 2 tuần 2,58 chồi/lát và 4 tuần đạt 4,75 chồi/lát. Nồng độ BA từ 1 mg/l đến 2 mg/l, lát cắt tạo thành cụm chồi nhưng không phát triển thành thân và lá. Trong cùng nhóm xitokinin, BA có hiệu quả cao hơn kinetin. Tổ hợp 0,4 mg/l kinetin + 0,5 mg/l BA có tác dụng kích thích phát sinh chồi và sinh trưởng của chồi tốt hơn so với môi trường có kinetin.

• *Hệ số nhân chồi in vitro*: với hệ số nhân chồi là 5 sau 2 tháng, nếu 1 năm cấy chuyển 6 lần thì số chồi lý thuyết sẽ là 5^6 = 15.625 chồi.

b) Nghiên cứu tạo rễ

Kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy: tổ hợp auxin α-NAA (0,2 - 0,4) + IBA (0,2 - 0,5) đã rút ngắn thời gian ra rễ (7 ngày) và làm tăng số lượng rễ (2,7 rễ/chồi) của tràm lá hẹp trong nhân giống *in vitro*.

• *Ảnh hưởng của trạng thái môi trường đến sinh trưởng của cây con in vitro*

Tỷ lệ phát sinh chồi cao (3,1chồi/lát) khi nuôi trong môi trường lỏng (không có agar). Môi trường lỏng có tác dụng làm tăng hệ số nhân của chồi. Môi trường mềm có nồng độ agar 5 g/l (2,3 chồi/lát) có tác dụng làm cho bộ rễ tràm lá hẹp phát triển tốt hơn về số lượng (4,4rễ/chồi) và chất lượng bộ rễ, thời gian kéo dài các rễ chính và rễ bên cũng nhanh hơn trong môi trường lỏng và rắn (7 g/l agar) là 2,4 chồi/lát và 3 rễ/chồi.

• *Ảnh hưởng của than hoạt đến nhân giống in vitro tràm lá hẹp*

Trên môi trường có than hoạt cây ra rễ nhanh hơn. Chỉ sau 7 ngày đã bắt đầu ra rễ (30%) và sau 15 ngày tất cả các chồi đã ra rễ. Trong khi đó, môi trường không

có than hoạt phải sau 30 ngày mới bắt đầu ra rễ và sau 45 ngày mới đạt tỷ lệ trên. Nồng độ 0,4 g/l than hoạt trong môi trường là thích hợp nhất.

***Bảng 2.* Ảnh hưởng của auxin đến quá trình ra rễ của chồi tràm lá hẹp**

Auxin (mg/l)		*Tỷ lệ cây ra rễ (%)*				*Số rễ/cây*
α-NAA	*IBA*	*7 ngày*	*15 ngày*	*30 ngày*	*45 ngày*	*sau 45 ngày*
0	0,1	0	0	0	11,3	1,2
0,2	0,2	11,0	12,4	20,5	76,9	2,2
0,4	0,5	12,5	36,6	52,0	80,8	2,7
0,2	1,0	0	42,3	64,6	55,6	2,0
0	1,5	0	30,4	40,5	46,2	2,0
0	2,0	0	16,7	21,8	40,2	1,5

c) Quá trình chuyển cây con ra vườn ươm

Đây là giai đoạn quan trọng trong quy trình nhân giống *in vitro*. Sau khi các cây con *in vitro* có bộ rễ tương đối hoàn chỉnh, chúng tôi bắt đầu chuyển chúng sang môi trường không có chất ĐHST. Khi cây con 7-10 cm, chuyển từ phòng nuôi ra ngoài trong môi trường lỏng có chứa 1/3 nồng độ muối khoáng của (MS). Sau đó, trồng vào bầu đất. Tỷ lệ sống đạt 60-70%. Thời gian thích nghi khoảng 2 tháng.

IV. KẾT LUẬN

1. Có thể nhân giống tràm lá hẹp bằng phương pháp chiết cành. Khi chiết vào mùa xuân kết hợp xử lý với một trong các hóa chất IAA (500 ppm), α-NAA (500 ppm) hoặc ABT_1 (1000 ppm) tỷ lệ cành chiết ra rễ đạt 100% sau 3 tháng. Nếu dùng ABT_1 để xử lý thì chiết cành vào mùa đông cũng cho kết quả tương tự.

2. Phương pháp nhân giống *in vitro* ngọn chồi tràm lá hẹp là phương pháp nhân giống có hiệu quả cao, cho hệ số nhân lớn (5^6/năm). Cây đã được đưa ra trồng trong bầu đất với tỷ lệ sống 60-70 %.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *T. Murashige, F. Skoog, 1962.*
Physiol. Plant., 15, 473-497.

KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ TÍCH LUỸ TINH DẦU CỦA CÂY TRÀM LÁ HẸP (*Melaleuca alternifolia* Cheel) Ở VIỆT NAM

Nguyễn Văn Nghi và cộng sự

SUMMARY

Growth ability and essential oil accumulation of "tea tree"

The resultant plants thrive well and can be harvested for essential oil 18 months after planting. The oil is at very high content in the leaf (2.7% on dry basis) and rich in terpinen-4-ol (over 40%). Air layered of "tea tree" cultivated around Hanoi take to fast growing after about 9 months. The active growing period lies in summer and autumn. Highest essential oil content (over 2% on fresh basis) in the leaf in obtained in the mornings during autumn. The chemical composition of the oil, the main component of the which being terpinen-4-ol (over 40%), is similar to that of the oil resulted from seeds plants grown in Dong Hoi (Quang Binh province).

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tinh dầu tràm lá hẹp (*Melaleuca alternifolia* Cheel) có nhiều tác dụng sinh học có giá trị, đặc biệt là tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm với hoạt phổ rộng trên 20 chủng. Ngoài ra, tinh dầu tràm lá hẹp còn được dùng trong công nghiệp mỹ phẩm và hương liệu. Hiện nay, trên thị trường thế giới, tinh dầu tràm Việt Nam giá chỉ khoảng 3-4 USD/kg, nhưng tinh dầu tràm lá hẹp khoảng 30-50 USD/kg. Nguồn cung cấp tinh dầu tràm lá hẹp chủ yếu là từ Australia. Tràm lá hẹp sinh trưởng mạnh trên đất sỏi khô hạn, khí hậu khắc nghiệt, rất phù hợp cho việc cải tạo môi trường vùng gò đồi. Nghiên cứu khả năng sinh trưởng và tích luỹ tinh dầu của cây tràm lá hẹp để làm cơ sở cho việc phát triển sản xuất một loại tinh dầu mới phục vụ nhu cầu trong nước và xuất khẩu ở Việt Nam là cần thiết.

II. PHƯƠNG PHÁP

Hạt giống được nhập từ Australia. Cây con và các cành chiết được bố trí thí nghiệm trồng tại Hà Nội, Quảng Bình và Hà Tây.

Các chỉ tiêu theo dõi về sinh trưởng và các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng, phát triển của cây theo các phương pháp nghiên cứu sinh trưởng cổ điển.

Xác định hàm lượng tinh dầu theo phương pháp cất kéo hơi nước.

III. KẾT QUẢ

1. Một số đặc điểm của hạt giống và khả năng nảy mầm của hạt giống

- Hạt tràm lá hẹp có kích thước rất nhỏ, hình chóp cụt hoặc nhọn đầu. Hạt có màu vàng sẫm. Trọng lượng 1000 hạt: 0,0175 g.

Bảng 1. **Khả năng nảy mầm của hạt tràm lá hẹp**

Các nền giá thể gieo hạt	*Tỷ lệ nảy mầm (%)*				
	5 ngày	*7 ngày*	*9 ngày*	*11 ngày*	*13 ngày*
Ngoài vườn ươm (nhiệt độ 23-28°C)					
Cát ẩm	2	7,3	10,5	13,2	13,2
Cát ngập nước	7,8	17,2	20,5	21,0	21,0
Đất ngập nước	7,5	16,4	20,3	22,5	22,5
Trong phòng					
Nước 25°C	10,5	19,5	22,5	23,5	23,5
Nước 30°C	21,5	33,5	39,5	40,5	40,5
Nước 35°C	17,2	28,5	33,4	37,5	37,5

Hạt tràm lá hẹp bắt đầu nảy mầm sau 5 ngày và kết thúc sau 11 ngày. Nhiệt độ thích hợp từ 30°C đến 35°C và đặc biệt giá thể gieo hạt cần phải ngập nước, tỷ lệ nảy mầm đạt cao cao nhất (40,5%).

2. Sự tăng trưởng của cây tràm lá hẹp

Những số liệu ở bảng 2 cho thấy: trong 12 tháng đầu sau khi trồng, tốc độ tăng trưởng chiều cao của cây trồng từ cành chiết nhanh hơn so với cây trồng từ hạt. Từ

năm thứ 2 trở đi tốc độ tăng trưởng chiều cao và đường kính tán của 2 loại tương đương nhau. Sau 36 tháng, chiều cao của cả 2 loại cây trồng đều giảm tốc độ tăng trưởng. Với khoảng cách trồng 1,5 m x 1,5 m, cây trồng từ cành chiết khép tán sau 24 tháng, nhưng cây trồng từ hạt phải sau 36 tháng trồng. Trọng lượng lá xanh của cá thể tăng mạnh nhất ở cây trồng bằng cành chiết bắt đầu từ tháng thứ 6 đến 36 tháng. Sau đó, khả năng tăng trọng lượng của bộ lá thấp rõ rệt. Đối với cây trồng từ hạt phải sau 24 tháng trồng mới bắt đầu tăng mạnh và cũng sau 36 tháng giảm mức tăng trưởng của bộ lá. Nếu trọng lượng lá tươi của một cá thể ở mức 1,2 kg thì cây trồng từ cành chiết chỉ mất 24 tháng, nhưng cây trồng từ hạt phải mất 42 tháng.

Bảng 2. **Sự tăng trưởng chiều cao, đường kính thân, tán cây và bộ lá sau khi trồng**

Số tháng trồng	*Chiều cao (cm)*		*Đường kính thân (cm)*		*Đường kính tán (cm)*		*Trọng lượng bộ lá (g/cây)*	
	từ hạt	*chiết*	*từ hạt*	*chiết*	*từ hạt*	*chiết*	*từ hạt*	*chiết*
6	76,0	82,1	0,3	1,4	22,1	70,5	64,3	332,5
9	88,4	98,0	0,4	1,8	37,2	89,9		
12	119,2	147,9	0,5	3,5	48,6	114,4	235,5	630,0
18	145,2	167,0	0,7	4,9	64,8	142,5	487,2	942,5
24	170,6	196,6	1,0	5,5	82,3	163,3	675,2	1262,5
30	201,7	221,2	1,6	6,2	110,4	189,4	975,3	1661,7
36	233,5	248,5	2,2	7,5	165,5	215,5	1141,7	1955,2
42	241,3	256,4	3,4	8,1	196,4	230,2	1234,9	2137,4
48	247,1	261,0	4,1	8,7	220,1	239,7	1307,3	2349,1

3. Một số yếu tố ảnh hưởng tới sinh trưởng của tràm lá hẹp

• *Ảnh hưởng của các tháng trong năm tới sinh trưởng*

Kết quả nghiên cứu sự tăng trưởng về chiều cao cây, đường kính thân và đường kính tán của cây trồng từ cành chiết tại Hà Nội trong năm 1996 cho thấy: trong những tháng mùa xuân và mùa hè (I - VI) có tốc độ tăng trưởng mạnh hơn so với những tháng mùa thu và mùa đông (VII - XII).

• *Ảnh hưởng của thu hái trong năm tới năng suất cành mang lá*

Kết quả nghiên cứu cho thấy: thu hái cành mang lá làm tăng số lượng cành con lên nhiều so với không thu hái ở hai loại cây trồng và ở thời điểm thu hái sau

24 và 36 tháng trồng đều tăng lên gấp hơn 3 lần. Một năm chỉ nên thu hái 2 lần vào tháng giêng - hai và tháng bảy - tám là hợp lý nhất. Bình quân mỗi lứa cắt sẽ thu được khoảng 300 - 400 g/cây.

4. Đặc điểm tích lũy tinh dầu ở cây tràm lá hẹp

1) Biến động hàm lượng tinh dầu trong ngày và theo tháng

Bảng 3. **Hàm lượng tinh dầu trong lá trong ngày và các tháng trong năm**

Tháng	*Hàm lượng tinh dầu (%) trong lá*			
	Buổi sáng		*Buổi chiều*	
	Lá tươi	*Lá khô TĐ*	*Lá tươi*	*Lá khô TĐ*
1	1,76	4,00	1,88	3,95
2	1,69	4,00	1,82	3,90
3	1,63	3,80	1,69	3,70
4	1,53	3,70	1,59	3,60
5	1,66	3,75	1,73	3,50
6	1,70	3,85	1,75	3,70
7	1,99	4,15	2,08	4,00
8	2.09	4,55	2,11	4,30
9	1,96	4,20	1,98	4,00
10	1,82	3,75	1,78	3,75
11	1,82	3,89	1,87	3,80
12	1,75	3,95	1,86	3,90

Tuy không chênh nhau nhiều, nhưng hàm lượng tinh dầu trong lá vào buổi sáng đều có xu thế cao hơn buổi chiều. Ở những tháng 7, 8, hàm lượng tinh dầu đạt cao nhất (trên 2%). Những tháng 4, 5, 6 hàm lượng tinh dầu đạt thấp nhất (từ 1,5 đến 1,75%). Điều này cho thấy thu hoạch nguyên liệu để chưng cất tinh dầu vào mùa thu là thích hợp hơn cả.

2) Biến động hàm lượng tinh dầu ở các năm sau khi trồng.

Bảng 4. **Hàm lượng tinh dầu trong lá sau các năm trồng**

Số năm trồng	*Hàm lượng tinh dầu (%) trong lá*	
	tươi	*khô tuyệt đối*
1	1,18 ± 0,03	2,92 ± 0,08
1,5	1,65 ± 0,06	3,87 ± 0,25
2	1,70 ± 0,06	3,91 ± 0,31
3	1,96 ± 0,05	4,82 ± 0,40
10	2,00 ± 0,05	5,05 ± 0,06
11	1,96 ± 0,04	5,10 ± 0,05
12	2,00 ± 0,06	5,50 ± 0,05

Hàm lượng tinh dầu trong lá của những cây trồng từ hạt tăng dần từ khi trồng đến khoảng 3 năm tuổi, sau đó bắt đầu ổn định ở mức 2%. Hàm lượng tinh dầu trong cây trồng từ cành chiết cũng đạt 2% sau 2 năm trồng nhưng ổn định sớm hơn so với cây trồng từ hạt. So với loài tràm địa phương (*M. cajuputi*), tràm lá hẹp có hàm lượng tinh dầu cao hơn gấp 2 lần. Như vậy, tràm lá hẹp trồng từ hạt chỉ nên thu hoạch sau 3 năm trồng, nếu trồng bằng cành chiết thì có thể thu hoạch sau 2 năm.

3) Ảnh hưởng của các vùng sinh thái tới hàm lượng tinh dầu trong lá tràm lá hẹp

Bảng 5. **Hàm lượng tinh dầu qua các mùa và vùng sinh thái**

Vùng sinh thái	*Hàm lượng tinh dầu (%) trong lá tươi*			
	Mùa xuân	*Mùa hè*	*Mùa thu*	*Mùa đông*
Hà Nội	1,75 ± 0,04	1,66 ± 0,03	2,04 ± 0,03	1,82 ± 0,02
Hà Tây	1,80 ± 0,04	1,75 ± 0,03	2,05 ± 0,04	1,92 ± 0,05
Quảng Bình	2,00 ± 0,05	2,10 ± 0,04	2,20 ± 0,04	2,05 ± 0,07

Các mùa trong năm đã ảnh hưởng rõ rệt đến quá trình tích luỹ tinh dầu trong lá tràm lá hẹp. Mùa thu và mùa đông có hàm lượng tinh dầu cao hơn hai mùa xuân và hè. Mùa thu có hàm lượng tinh dầu cao nhất (2 - 2,2 %) và thấp nhất mùa hè (1,6 - 2,1%). Các vùng sinh thái khác nhau cũng có sự biến động đáng kể tới hàm

lượng tinh dầu trong lá của tràm lá hẹp. Tại Quảng Bình, tràm lá hẹp có khả năng tích luỹ tinh dầu cao hơn ở Hà Nội và Hòa Lạc (Hà Tây).

IV. KẾT LUẬN

1. Hạt giống tràm lá hẹp được nhập từ Australia vào Việt Nam. Hạt nảy mầm tốt nhất ở nhiệt độ từ 30 đến 35°C và đặc biệt giá thể gieo hạt cần phải ngập nước. Hạt bắt đầu nảy mầm sau 5 ngày gieo và kết thúc sau 11ngày. Với nguồn hạt trên, tỷ lệ nảy mầm tối đa đạt 40,5%.

2. Cây con từ hạt và từ cành chiết tràm lá hẹp đã được trồng tại Quảng Bình, Hà Nội và Hà Tây chúng đều sinh trưởng tốt. Tốc độ sinh trưởng tăng mạnh từ năm thứ 2 trở đi, nhanh nhất vào những tháng có nhiệt độ và độ ẩm môi trường cao. Với trọng lượng chất xanh đạt 1,2 kg/cây/năm thì cây trồng từ cành chiết chỉ mất 24 tháng trồng, nhưng cây trồng từ hạt phải mất 42 tháng. Hàng năm có thể thu hoạch 2 lần cách nhau 6 tháng. Hàm lượng tinh dầu trong lá tươi thấp nhất đạt 1,7% và cao nhất đạt 2,2%, những cây tràm lá hẹp trồng ở Quảng Bình có xu hướng cao hơn ở Hà Nội và Hà Tây.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *E. Guenther, 1961.*
The Essent Oil, 4, 529.

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY TRINH NỮ HOÀNG CUNG

Phạm Văn Hiển, Nguyễn Thị Chinh,
Tạ Như Thục Anh, Nguyễn Trần Hy, Đỗ Năng Vịnh[1]

I. MỞ ĐẦU

Trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium* L., Amaryllidaceae) chứa các alkaloid vừa có tác dụng chống ung thư, vừa có tác dụng kích thích miễn dịch (Robinson, 1981; Mineshita et al, 1956; Chattopadhyay et al, 1984, 1984; Saini, 1983; Carrasco et al, 1975; Zimenez et al, 1976; Ghosal et al, 1984; Phạm Kim Mãn et al, 1999).

Cây có thể nhân giống bằng phương pháp vô tính (tách mầm), nhưng hệ số nhân rất thấp, năm đầu hầu như không đẻ nhánh, từ năm thứ hai trở đi mỗi cây chỉ đẻ 2-3 nhánh. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành "Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* cây trinh nữ hoàng cung".

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Giống trinh nữ hoàng cung được đề tài KH 11-05-02-02 (nghiên cứu chế tạo Panacrin) cung cấp. Củ có đường kính từ 3,5 đến 4 cm được rửa sạch, khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,07% trong 10 phút và tráng lại nhiều lần bằng nước cất vô trùng. Cắt bỏ 2/3 phía trên, phần còn lại được bổ dọc thành các mảnh nhỏ, mỗi mảnh chứa ít nhất một mầm ngủ trên đế củ giữa các vảy hành. Các lát cắt được nuôi cấy trong môi trường MS_1 (Murashige & Skoog, 1962, có cải tiến) có bổ sung các chất điều hoà sinh trưởng ở những nồng độ khác nhau, chỉnh pH tới 5,8 và hấp dưới áp suất 0,8 kg/cm^2 trong 40 phút. Phòng nuôi được giữ ở nhiệt độ 25°C ± 2, cường độ ánh sáng: 2000 lux, độ ẩm 70% và thời gian chiếu sáng: 14 giờ sáng/10 giờ tối.

[1] Viện Di truyền Nông nghiệp.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tái sinh chồi

Các lát cắt nuôi trong môi trường MS_1 chỉ có thêm BAP ở các nồng độ 0,1; 0,3 và 0,5 mg/l đều không phát sinh hình thái. Bổ sung 0,5 mg/l IBA vào các môi trường nói trên, từ các nách vẩy hành của các lát cắt đã xuất hiện 1-2 chồi sau 4-6 tuần nuôi cấy. Khi nồng độ BAP tăng dần thì số lượng chồi cũng như tốc độ sinh trưởng của chồi giảm dần.

Điều này cho thấy trinh nữ hoàng cung vốn đã khá giàu cytokinin nội sinh, khi thêm BAP vào môi trường, nồng độ chất này trở nên quá cao gây ức chế quá trình hình thành chồi. Sự có mặt của IBA trong môi trường làm cân bằng hormon được thiết lập trở lại và dẫn đến việc phát sinh chồi.

Thay đổi nồng độ IBA từ 0,3 đến 1,0 mg/l cho thấy, ở nồng độ 0,5 mg/l, số lượng, chất lượng cũng như tốc độ sinh trưởng của chồi đạt cao nhất. Sau 6 tuần nuôi cấy, chồi có đủ lá, củ và rễ, cao 5-7 cm.

Tác dụng kích thích ra chồi của IBA đối với cây trinh nữ hoàng cung là một hiện tượng rất đáng lưu ý. Phản ứng tương tự do auxin nói chung tạo ra cũng đã được phát hiện đối với các cây thân hành khác (Pierik, 1989).

2. Nhân nhanh

Ở giai đoạn khởi động, từ các nách vảy hành của lát cắt hình thành từ 1 đến 2 chồi. Nếu tách các chồi này và tiếp tục nuôi trong môi trường khởi động thì chỉ thu được 1 cây/1 chồi (chồi không đẻ nhánh). Để tăng hệ số nhân, củ *in vitro* được cắt thành 2-4 phần và cấy vào các môi trường sau:

BM_1 + 0,5 mg/l IBA

BM_1 + 2,0 mg/l IBA + 0,2 mg/l BAP

BM_1 + 1,0 mg/l IBA + 0,5 mg/l BAP

BM_1 + 0,5 mg/l IBA + 1,0 mg/l BAP

BM_1 + 0,2 mg/l IBA + 2,0 mg/l BAP

Ở môi trường BM_1 + 1,0 mg/l IBA + 0,5 mg/l BAP, cây phát triển tốt hơn cả. Sau 4 tuần, cụm chồi xuất hiện và đã phát triển thành cây với củ có đường kính 2-4 mm.

Các chồi này có thể được tách riêng, củ của chúng được dùng để tạo cụm chồi tiếp tục hoặc cấy truyền để tạo cây con hoàn chỉnh và đưa ra ngoài trồng vào bầu đất.

3. Đưa cây ra bầu

Chồi sau khi tách được cấy sang môi trường MS_1 (không chứa chất ĐTST). Sau 6 tuần nuôi cấy, cây có 3-4 lá, 2-3 rễ và cao 5-7 cm.

Các ống nghiệm có chứa cây con này được chuyển từ phòng nuôi ra nuôi ở điều kiện nhiệt độ và ánh sáng tự nhiên trong thời gian 6-7 ngày. Sau đó cây con được lấy ra khỏi ống nghiệm, rửa sạch môi trường, trồng vào bầu đất và nuôi trong điều kiện sương mù. Sau 1 tháng có thể đưa cây trong bầu trồng ra ruộng.

Phương pháp này cho tỷ lệ cây sống khá cao (> 90%), nhưng tốn khá nhiều công sức, thời gian và cần đến một hệ thống phun mù phức tạp, làm tăng giá thành cây giống.

Để đơn giản hóa việc ra cây, chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm cắt bỏ rễ *in vitro*. Kết quả cho thấy, cắt rễ làm tăng năng suất lao động lên 5 lần (vì giảm được thời gian rửa thạch), giảm thời gian ra rễ 3 lần và tăng tỷ lệ cây sống khoảng 6% (đạt xấp xỉ 100%). Sau 4-5 ngày, cây đã bén rễ. Đặc biệt, cây cắt rễ không cần phải trồng trong điều kiện phun mù. Theo ước tính, biện pháp này làm giảm được khoảng 15-20% giá thành.

Như trên đã thấy, trinh nữ hoàng cung khá giàu cytokinin nội sinh. Cytokinin ức chế quá trình ra rễ mà chính rễ lại là cơ quan sinh tổng hợp cytokinin. Cắt bỏ rễ cũ (rễ *in vitro*) có thể đã làm lệch cân bằng phytohormon về phía auxin và vì vậy kích thích sự ra rễ mới.

Theo tính toán, từ một lát cắt ban đầu, sau một năm có thể thu được $2x3^5$ cây giống. Hệ số này chưa phải cao nhưng cũng đã gấp hàng trăm lần so với cách nhân *in vivo*. Đây là phương pháp nhân tái sinh trực tiếp không thông qua giai đoạn mô sẹo nên cây con chắc chắn giống hệt cây mẹ và đồng nhất về mặt di truyền (Reinert et al, 1977).

Quy trình nhân nhanh trinh nữ hoàng cung được trình bày trong sơ đồ sau: (xem trang sau).

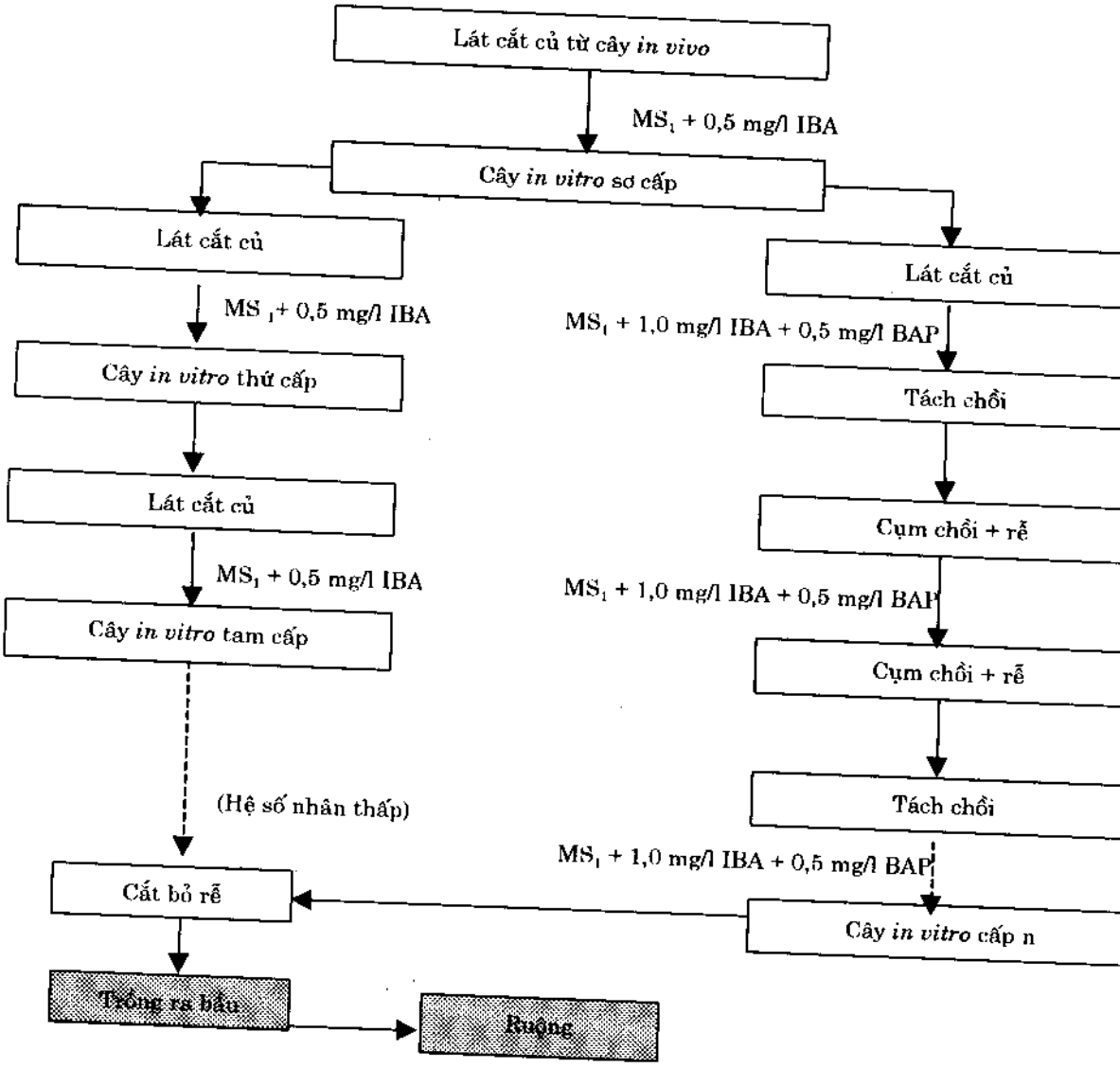
IV. KẾT LUẬN

Ở giai đoạn khởi động, môi trường MS_1 + 0,5 mg/l IBA là môi trường thích hợp để tạo chồi trinh nữ hoàng cung.

Ở giai đoạn nhân nhanh, phản ứng phát sinh hình thái mạnh nhất thu được ở môi trường MS_1 + 1,0 mg/l IBA + 0,5 mg/l BAP.

Cắt bỏ rễ của trinh nữ hoàng cung *in vitro* có tác dụng kích sự ra rễ mới, tạo thuận lợi và làm tăng hiệu quả nhiều mặt của việc chuyển cây *in vitro* ra trồng ở điều kiện tự nhiên.

Quy trình nhân nhanh *in vitro* trinh nữ hoàng cung:



TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Carrasco, L. et al., 1975.*
FEBS Letters 52, 236.

2. *Chattopadhyay, S. et al., 1983.*
Planta Med. 49, 252, 1983.

3. *Chattopadhyay, U. et al., 1984.*
Pharmazie 39, 855, 1984.

4. *Crevost, C. and Petelot, A., 1954.*
Les plantes mộdicinales du Cambodge, du Laos et du Vietnam.

5. *Ghosal, S. et al., 1984.*
J. Chem. Res. (S), 232.

6. *Murashige, T., Skoog, F., 1962.*
Physiol. Plant. 15, 473-497.

7. *Phạm Kim Mãn et al., 1999.*
Báo cáo nghiệm thu đề tài KHCN11-05-02-02 Hà Nội.

8. *Pierik, R.L.M., 1989.*
In vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 1989.

9. Robinson, T. in The Biochemistry of Alkaloids, 2nd edn. Springer, New York.

10. *Saini, K. S. Ph. D., 1983.*
Thesis, Banaras Hindu University, Vanarasi, India.

11. *Võ Văn Chi, 1997.*
Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học, Hà Nội.

12. *Zimenez, A. et al., 1976.*
Biochim. Biophys. Acta 425, 342.

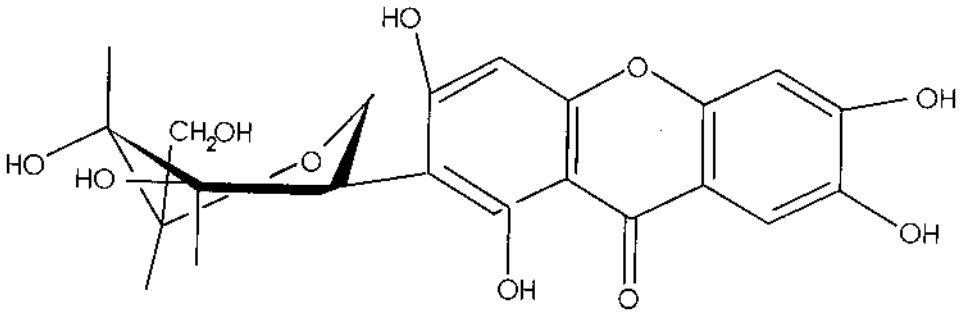
SẢN XUẤT MANGIFERIN TỪ LÁ XOÀI BẰNG GIẢI PHÁP CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Nguyễn Viết Tựu, Nguyễn Thị Hạnh Trang

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vào khoảng 1982-1983, V.I. Glyzin và cộng sự tại Viện cây thuốc toàn Liên bang Xô viết cũ (VILR), qua chương trình sàng lọc hợp chất chống Virus từ thảo mộc, đã phát hiện một hợp chất có tác dụng mạnh trên Virus Herpès từ loài Hedysarum alpinum L. họ Fabaceae, mọc hoang ở Liên xô và đặt tên chất này là Alpisarin.

Chế phẩm bào chế Alpisarin (viên nén và thuốc mỡ) đã được đăng ký tại Liên xô và một số nước Âu Mỹ từ năm 1985.



Sau đó, những nghiên cứu cấu trúc hóa học kỹ lưỡng đã xác nhận alpisarin không phải là một hợp chất mới mà nó chính là mangiferin, một hợp chất cấu trúc Xanthone có nhiều trong cây xoài (*Mangifera* indica L.) mà Iseda (1957) và Ramanaha Seshadri (1960) đã nghiên cứu cấu trúc hóa học. Nó là 1,3,6,7 tetrahydroxy 2-cβ D glucopyranosyl xanthone.

Nhận thấy việc khai thác alpisarin (Mangiferin) từ cây *Hedysarum alpinum* ở Liên xô khó khăn do nguồn nguyên liệu khan hiếm và hiệu xuất thấp, các nhà khoa học nghĩ ngay đến việc khai thác mangiferin từ cây xoài, vốn được trồng trọt phổ biến ở Việt Nam. Và một lớp dự án hợp tác giữa Việt Nam (Vimedimex II) và Liên xô được thực hiện nhằm cung cấp mangiferin cho phía đối tác.

Để sản xuất mangiferin từ nguyên liệu thực vật, các tác giả người Nga đã sử dụng lần lượt 4 loại dung môi hữu cơ: Acetone, chloroform, n-Butanol và Dioxane.

Nhận thấy quy trình sản xuất trên quá tốn kém, khó có thể thực hiện có hiệu quả, chúng tôi đã nghiên cứu đề xuất một quy trình sản xuất mới theo hướng ứng dụng giải pháp công nghệ sinh học, dùng nước nóng làm dung môi chiết xuất.

II. MỤC TIÊU

Mục tiêu nghiên cứu cụ thể là sản xuất mangiferin thương phẩm để xuất khẩu, vì vậy, nội dung nghiên cứu của chúng tôi là nhằm đạt yêu cầu chất lượng với giá thành thấp, hợp lý. Tuy vậy, trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi cố gắng tìm hiểu về cơ chế, bản chất hiện tượng để đúc kết thành lý luận, làm sáng tỏ những vấn đề trong kỹ thuật sản xuất, đặc biệt là trong ứng dụng giải pháp công nghệ sinh học để chiết xuất hợp chất tinh khiết từ cây cỏ.

III. NỘI DUNG VÀ KẾT QUẢ

1. Khảo sát nguyên liệu

Đã có những thông báo về kết quả điều tra thực vật chi *Mangifera* họ Anacardiaceae. Việt Nam có 10 loài *Mangifera* và một số dưới loài của *Mangifera indica* L. (xoài) trong tổng số 40 loài trên thế giới. Trên thực tế, việc phân loại dưới loài đối với *Mangifera indica* là rất phức tạp. Chúng tôi sơ bộ thống kê đã có trên 30 tên gọi xoài khác nhau. Xoài là loại cây ăn quả có giá trị kinh tế cao, nhằm nâng cao năng suất và chất lượng quả người ta đã lai tạo ra rất nhiều chủng giống trong trồng trọt (cultivar). Vì vậy, việc xác định chắc chắn cây nào là nguyên chủng, cây nào là chủng lai tạo là điều không dễ dàng.

Về hoạt chất mangiferin: Tất cả các loài *Mangifera* đều có chứa mangiferin ở mức độ hàm lượng khác nhau, trong lá và vỏ thân.

Nhưng nhằm mục tiêu khai thác nguyên liệu cho chiết xuất với khối lượng lớn 50-100 tấn lá khô / năm, chúng tôi chỉ tập trung khảo sát 2 vùng xoài lớn tập trung ở phía nam. Đó là huyện Cái Bè tỉnh Tiền Giang và huyện Cam Ranh tỉnh Khánh Hoà.

Vùng Cái Bè chủ yếu trồng xoài cát, xoài thanh ca, xoài ghép... là những chủng xoài cho quả lớn, thơm ngon, có giá trị kinh tế cao nhưng cây lại thưa lá. Nhân dân ở đây không thiết tha gì đến việc bán lá xoài mà chỉ nuôi dưỡng cây thu nhiều quả.

Vùng Cam Ranh trồng chủ yếu xoài canh nông. Chủng xoài này có tán lá rộng, mật độ lá dày sum sê. Quả xoài nhỏ và kém ngon nên hiệu quả kinh tế thấp. Do vậy, ở đây nhân dân đã chấp nhận bán lá xoài vì thực tế hàng năm sau khi thu

hoạch quả, cây xoài thường được đốn tỉa bớt cành lá để cây bớt rậm rạp, giúp cây phát triển chồi mới.

Những kết quả nghiên cứu tại đây cho thấy, nếu cây xoài hái lá hợp lý; độ 1/3 lá trên cây thì cây sẽ ra nhiều hoa và đậu nhiều qủa.

Quy cách hái lá: ở mỗi cành chừa lại 2- 3 lá non ở ngọn, còn lại tuốt lấy hết số lá bánh tẻ. Lá xoài thu xong phơi liền 3- 4 nắng đến khô giòn. Tỷ lệ lá tươi / trên lá khô là 3,5/1.

2. Quy trình sản xuất

a) Nguyên lý và thực hiện

Mangiferin là hợp chất kết tinh màu vàng, không tan trong nước, nhưng khi còn nằm trong cây chúng liên kết với các ose, osane, tạo thành hợp chất hòa tan trong dịch tế bào, tan dễ dàng trong nước ở nóng.

Lợi dụng đặc tính này, chúng tôi đã dùng nước nóng 90-95o làm dung môi chiết. Cho bột lá xoài vào nước nóng khuấy đều 15-20 phút. Lọc ly tâm lấy dịch trong. Lượng dịch thu được bằng khoảng 8 lần trọng lượng bột.

Cho dịch chiết vào các bể chứa, chiều cao độ 1m. Khi dịch đã nguội khoảng 40-45° cho dịch meo gốc được lấy từ dịch thải của các mẻ chiết trước, sau khi đã lấy tủa, cho vào, trộn đều, để yên. Sau 24h meo mọc dày thành một lớp trên bề mặt và tiếp tục phát triển. Sau 72h dịch chuyển màu nâu nhạt, có vị chua và tủa Mangiferin tách ra lắng đọng dưới đáy bể. Gạn lấy tủa lần 1. Dịch được hứng vào bể chứa thứ hai. Tiếp tục phân giải thêm 3 ngày nữa để tận thu hết mangiferin. Tủa mangiferin thu được đem rửa bằng nước, để lắng (3 lần), lọc lấy tủa, sấy khô, sẽ được mangiferin kỹ thuật đạt các tiêu chuẩn về chất lượng theo yêu cầu xuất khẩu:

- Dung dịch 0,001% trong methanol đo UV trong vùng 250-400nm phải có các hấp thụ cực đại 258 ± 2; 316 ± 2; 365 ± 2 nm.

- Hàm lượng ẩm không qúa 9%.

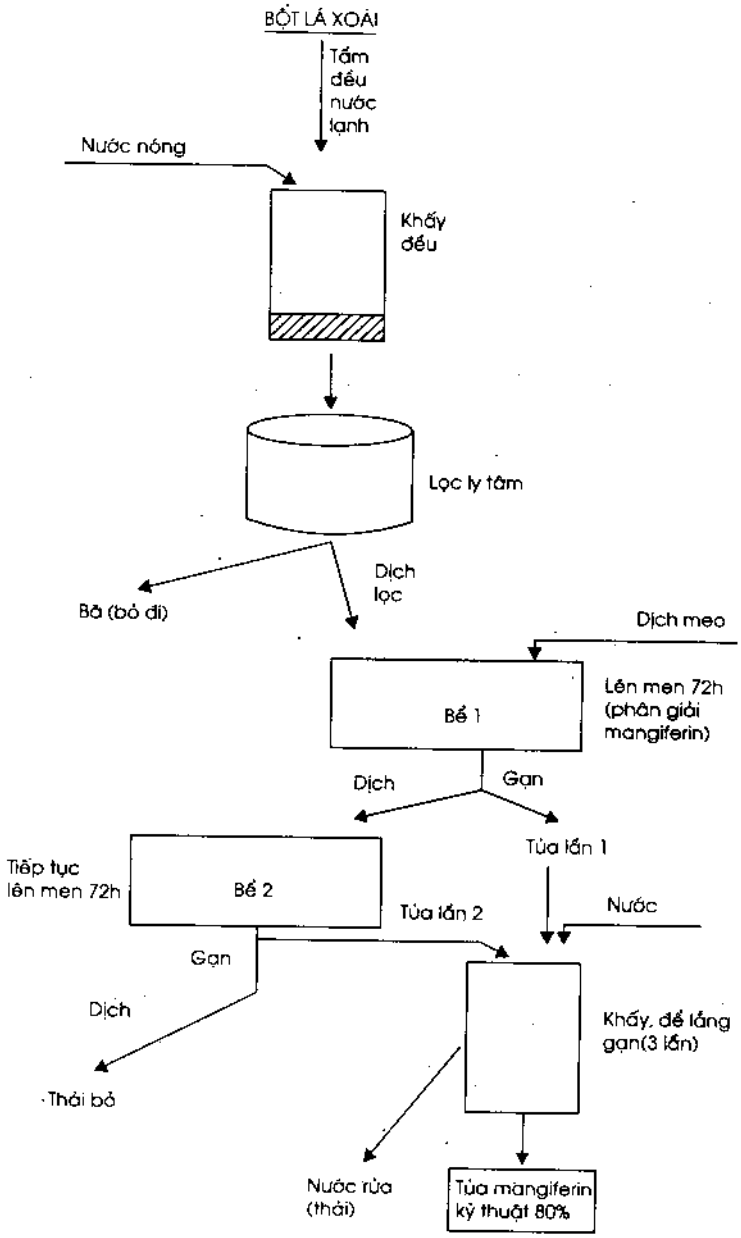
- Tro sunfat không qúa 1,5%.

- Hàm lượng mangiferin tính trên chế phẩm khô tuyệt đối phải không thấp hơn 80%.

Từ mangiferin kỹ thuật đem tinh chế với cồn 70° sẽ thu được mangiferin tinh khiết, đạt hàm lượng 98%.

b) Sơ đồ sản xuất mangiferin kỹ thuật

Sơ đồ sản xuất mangiferin kỹ thuật



IV. KẾT LUẬN

Đã đưa ra một qui trình chiết xuất mangiferin bằng nước nóng và phân giải mangiferin nhờ hoạt tính enzym của mốc.

Phương pháp sản xuất đã được cấp bằng độc quyền sáng chế của cục sáng chế Việt Nam - số 135. Quy trình đã được ứng dụng, triển khai sản xuất lớn từ năm 1991 và cung cấp mangiferin kỹ thuật cho Liên Xô (cũ) và hiện nay là Liên Bang Nga, đạt chất lượng ổn định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *E.W.M. Verheij and R. E.Coronel, 1992.*
Plant Resources of South-East Asia. No⁰ 2. Edible fruits and nuts. Boger-Indonesia.

2. *H.Lecomte, 1908.*
Flore générale de L'Indochine I.

3. *H.Lecomte, 1960.*
Flore du Cambodge, du Laos, et du Vietnam. 1-2. 1960.

4. *H.I.EL Sissi and N.A.M. Saleh*
Planta medica. 1964, 1966, 1970.

5. *Ngô Văn Trại, 1989.*
Thông báo Dược liệu VDL. 2/1989.

6. *Nguyễn Viết Tựu, 1992.*
Tạp chí Dược học.

7. *Phạm Hoàng Hộ, 1991.*
Cây cỏ miền Nam Việt Nam.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU NGUỒN NGUYÊN LIỆU LÁ XOÀI Ở MIỀN BẮC VIỆT NAM

Ngô Văn Trại

Chi *Mangifera* L. họ Đào lộn hột (Anacardiaceae) ở Việt Nam có nhiều loài với các tên khác nhau. Hợp chất Mangiferin chiết từ lá ở các loài trong chi này được sử dụng làm thuốc chữa bệnh ngoài da (1). Để góp phần nghiên cứu nguồn nguyên liệu này, chúng tôi đã tiến hành:

- Xác định thành phần loài trong chi *Mangifera* L.

- Khả năng cung cấp nguyên liệu ở một số điểm trong tỉnh Sơn La có cây mọc tập trung với trữ lượng lớn.

I. PHÂN LOẠI THỰC VẬT

Theo các tài liệu (2,3,4,5), Việt Nam có 10 loài và 3 dưới loài. Với số mẫu thu được ở các điểm nghiên cứu (Hà Nội, Sơn La, Thái Nguyên, Vĩnh Phúc), dựa vào khoá phân loại của H. Lecomte, 1908; M.L. Tardieu - Blot, 1962; Phạm Hoàng Hộ, 1992, chúng tôi đã xác định được 4 loài có tính phổ biến ở miền Bắc Việt Nam. Đó là:

1. Xoài Sơn La (xoài hôi) - *Mangifera camptosperma* Pierre, 1897, F.For.Cochinch. 1. P. 363A; H. Lec., 1908. F. G. I. II, P.18; Craib, 1926, F. Siam. Enum. 1 (2), P. 343; Mukherdji, 1949. Lloydia, 12:99. fig. 6.

Cây gỗ cao tới 30m. Cành non màu xám nâu. Lá mọc so le, dài 10-20cm, rộng 3-5cm, hình dải thuôn, đầu hẹp dần và nhọn, có 20-30 đôi gân bên; cuống dài 1,5-4cm. Cụm hoa là một chuỳ tận cùng, dài 30cm, có lông; 4-5 lá đài dài 2-3mm, hình ô van có mũi nhọn; 4-5 cánh hoa hình ô van - mác, mặt trong có 3-5 mào tuyến dài bằng 2/3 cánh hoa; 4-5 nhị, có 1 nhị hữu thụ. Bầu nhẵn hình đầu. Quả hạch hình elíp 9-10x7,5-8,5cm.

Cây được trồng chủ yếu ở hai huyện Mộc Châu và Yên Châu.

2. Mác trai (xoài dại) - *Mangifera longipes* Griff., Notul. 4:419; Engl. in DC.1883, Monogr. Phan. 4:201; Pierre, 1897, F. For. Cochinch. 1: t. 364b.; M. sylvatica H. Lec., 1908. F. G. I. II: 17; Mukherdji, loc. cit 94.

Cây gỗ cao 30-40m. Lá mọc so le, phiến hình ô van - mũi mác, dài 14-20cm, rộng 2-4cm, có 18-20 đôi gân, nổi rõ ở 2 mặt; cuống dài 2-4cm. Cụm hoa là dạng chuỳ rộng, dài 15-17 cm; hoa có 5 lá đài dài 4-5mm, hình ô van nhọn, cánh hoa hẹp, thuôn, có 2-3 mào tuyến phân thuỳ, dài đến đầu cánh hoa; đĩa có 5 thuỳ rõ, nhị hữu thụ 1, nhị lép 2-3 hoặc tiêu giảm. Bầu hình cầu, nhẵn, có vòi tận cùng. Quả nhỏ hình ô van, thịt quả có sợi.

Cây mọc hoang hoặc được trồng ở huyện Yên Châu, Mộc Châu và một số tỉnh vùng trung du như Vĩnh Phúc, Phú Thọ.

3. Cây quéo (cây muỗm) - *Mangifera reba* Pierre, 1897. Fl. For. Cochinch. 1: t. 363B; H. Lec. 1908, F. G. I. II: 19; Mukherdji, 1949 Lloydia 12:130.

Cây gỗ cao tới 30m, cành non có cạnh. Lá mọc so le; phiến lá hình mũi mác, dài 12-16cm, rộng 3-5cm, có 18-22 đôi gân bên, rõ ở mặt dưới; cuống lá dài 1-3cm. Cụm hoa tận cùng, dài 15cm, dạng tháp, có lông dày; lá bắc hình tam giác nhọn; cánh hoa dài hơn lá đài, cong; có 3 mào tuyến, dài bằng 1/2 cánh hoa; đĩa 5 thuỳ rõ; nhị 5; 1-2 cái hữu thụ, 1 cái rất to. Bầu hình cầu, vòi cong. Quả hạch dẹt 7-8cm.

Cây được trồng ở Văn Miếu Hà Nội và rải rác ở các tỉnh vùng trung du để lấy gỗ và quả.

4. Xoài nứt - *Mangifera cochinchinensis* Engl. 1883 in DC. Monogr. Phan. IV: 205; Pierre, 1897, Fl. For. Cochinch. 1: 362B.; H. Lec., 1908, F. G. I. II: 15; Mukherdji, 1949 Lloydia XII: 82. - M. sugenda Gén., in Crévost et Lemarié Cat. Prod. Indoch. I: 234. 1917.

Cây gỗ cao tới 30m. Lá hình mác, mọc so le, dài 8-15cm, rộng 2-6cm; có 12-15 đôi gân bên, cuống dài 1,5-5cm. Cụm hoa là một chuỳ có lông dày, rất dài so với lá; hoa có cuống ngắn, có đốt ở gốc; lá đài tròn, có lông ở mặt ngoài, dài 0,2-0,5cm; 5 cánh hoa, phía trong cánh hoa có 3-4 mào tuyến màu nâu; đĩa mật nạc, có tuyến; nhị hữu thụ 5. Bầu hình đấu. Quả hạch nhỏ, dài 3cm, rộng 1,5cm.

Cây được trồng để lấy gỗ ở một vài nơi thuộc tỉnh Thái Nguyên và Bắc Cạn. Quả có chất lượng kém.

5. Xoài tròn - *Mangifera* sp. Loài xoài này cũng được trồng phổ biến ở huyện Yên Châu, Mộc Châu và Sông Mã tỉnh Sơn La. Chúng tôi chưa đủ tài liệu giám định.

II. TRỮ LƯỢNG

Theo kết quả điều tra, với 5 loài trên, mỗi năm chúng ta có thể thu được hàng trăm tấn lá khô phục vụ nghiên cứu chiết xuất mangiferin dùng trong ngành dược

nước ta. Trong đó chủ yếu thu từ hai loài *Mangifera camptosperma* và *Mangifera* sp. được trồng ở các huyện: Sông Mã, Mộc Châu và Yên Sơn tỉnh Sơn La.

III. KẾT LUẬN

1. Đã xác định được 4 loài thuộc chi *Mangifera* L., được trồng phổ biến ở tỉnh Sơn La và một vài vùng khác ở miền Bắc Việt Nam.

- Xoài Sơn La (xoài hôi): *Mangifera camptosperma* Pierre
- Xoài nứt: *M. cochinchinensis* Engl.
- Mác trai: *M. longipes* Griff.
- Cây quéo: *M. reba* Pierre

2. Đã xác định sơ bộ, hàng năm chúng ta có thể thu hàng trăm tấn lá khô từ các loài trên, trong đó chủ yếu từ 2 loài được trồng ở tỉnh Sơn La.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi, 1986.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam in lần thứ 2. P. 575

2. *H. Lec., 1908.*
Flore générale de l'-indochin I. P. 13-19

3. *M. L. Tardieu - Blot, 1962.*
Flore du Cambodge, du Laos et du Viet Nam II, 83-99

4. *Phạm Hoàng Hộ, 1992.*
Cây cỏ Việt Nam Q.II, 457-460

5. Iconographia Cormophytorum Sinicorum 1972, T. II. P. 640

MỘT SỐ BIỆN PHÁP CHỐNG THỐI MẦM XUYÊN KHUNG TRONG BẢO QUẢN VÀ THỜI VỤ TRỒNG THÍCH HỢP ĐỂ SẢN XUẤT DƯỢC LIỆU Ở TAM ĐẢO

Phạm Anh Thắng

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây xuyên khung (*Liguticum wallichii*) được nhập nội 1960, trồng trên diện tích lớn và trở thành mặt hàng có giá trị sử dụng trong y học. Nhiều tác giả đã nghiên cứu và xây dựng được quy trình sản xuất và thâm canh để tăng năng xuất.

Những năm gần đây, việc bảo quản mầm giống hết sức khó khăn do tỷ lệ thối cao, không đảm bảo đủ giống cho sản xuất, đồng thời năng xuất giảm đáng kể. Qua tìm hiểu các gia đình sản xuất xuyên khung điển hình ở Tam Đảo đều cho rằng thời vụ trồng ảnh hưởng lớn đến năng suất. Có ý kiến nên trồng cuối tháng 1, có ý kiến nên trồng trong tháng 2. Theo kết quả nghiên cứu những năm trước(1961-1967) thì thời vụ trồng thích hợp là tháng 3. Để bảo quản được mầm giống, giảm tỷ lệ thối đến mức thấp và nâng cao năng suất, chúng tôi tiến hành nghiên cứu một số biện pháp chông thối mầm xuyên khung trong bảo quản và khảo cứu lại thời vụ trồng thích hợp.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu

Mầm xuyên khung được lấy trên ruộng sản xuất đại trà trồng ngày 15/12 năm trước, trên cây hoa đã tàn (trừ thí nghiệm so sánh tỷ lệ thối mầm ở giai đoạn sinh trưởng và phát dục khác nhau đưa vào bảo quản, được chọn thải cây bệnh).

2. Phương pháp

III. NỘI DUNG

1. Ảnh hưởng của thời điểm thu mầm đến tỷ lệ thối mầm trong bảo quản (trước ra nụ, ra nụ, hoa rộ hoà tan)

2. Ảnh hưởng của tỷ lệ N:P:K khác nhau đến tỷ lệ thối

N:P:K = 1:1:1

N:P:K = 2:1:1

N:P:K = 1:1:2

3. Ảnh hưởng của việc chọn thải cây bệnh trước khi đưa vào bảo quản tới tỷ lệ thối mầm

4. Ảnh hưởng của thời vụ trồng đến năng suất xuyên khung.

Thời vụ 20/1; 20/2; 20/3; 10/4

IV. KẾT QUẢ

1. Ảnh hưởng của thời điểm thu mầm đưa vào bảo quản đến tỷ lệ thối mầm sau bảo quản

Kết quả / *Giai đoạn ST P. dục*	*Năm*	*Trước ra nụ 15 ngày*	*Ra nụ*	*Hoa rộ*	*Hoa tàn*	*X^2 TN*
Sống	1991	187	208	224	232	523
Chết		113	92	76	68	
Sống	1992	201	226	241	258	413,8
Chết		99	74	59	42	

$X^2_{0,05} = 7,8 < X^2_{TN}$. Như vậy tỷ lệ sống của mầm xuyên khung ở các công thức đều khác nhau sau thời gian bảo quản.

- Tỷ lệ sống cao nhất ở thời kỳ cây ra hoa rộ và hoa đã tàn, đạt 75-68%.

- Tỷ lệ sống thấp nhất ở thời kỳ cây chưa ra nụ, sau đó đến thời kỳ cây ra nụ, chỉ đạt 62-75%.

2. Ảnh hưởng của tỷ lệ N:P:K bón cho cây đến tỷ lệ thối mầm sau bảo quản

$X^2_{0,15} = 6 < X^2_{TN}$ Như vậy tỷ lệ N:P:K bón cho cây có ảnh hưởng rõ rệt tới tỷ lệ sống của mầm xuyên khung.

- Tỷ lệ sống cao nhất ở công thức N:P:K = 1:1:2 (đạt 87,5-91,5%)
- Tỷ lệ sống thấp nhất khi bón N:P:K = 2:1:1
- Tỷ lệ hao hụt trong bảo quản tăng 10,25-11,5%

Kết quả / *Công thức bón*	*Năm*	*2:1:1*	*1:1:1*	*1:1:2*	X^2_{TN}
Sống	1991	276	322	366	389,9
Chết		124	78	34	
Sống	1992	296	337	350	318
Chết		104	63	50	

3. Ảnh hưởng của thời vụ trồng đến năng suất xuyên khung

Năm	*Thời vụ*	*Năng suất củ tươi (g/ô) ở các lần nhắc lại*			*Tạ/ha*
		I	*II*	*III*	
1991	20/1	2713	2659	2595	34,78
	20/2	2657	2624	2490	33,20
	20/3	2112	2438	2218	28,90
	10/4	2017	1850	2132	25,62
1992	20/1	2614	2563	2359	32,20
	20/2	2479	2520	2387	31,56
	20/3	1912	1979	1990	25,12
	10/4	1817	1725	1640	22,14

Năm 1991: $F_{TN} = 14,5$

$m\% = 3,4$

$d_{0,05} = 3,5$ tạ/ha

Năm 1992: $FTN = 77,6$

$m\% = 2,01$

$d_{0,05} = 19$tạ/ha

Cả 2 năm: $F_{TN} = 14,5$

$m\% = 3,4$

$d_{0,05} = 3,5$ tạ/ha

$F_{05} = 4,72 < F_{TN}$ chứng tỏ năng suất xuyên khung ở các thời vụ trồng khác nhau rõ rệt

- Thời vụ trồng xuyên khung cho năng suất cao nhất vào cuối tháng 1 đến cuối tháng 2.

V. KẾT LUẬN

1. Bón N:P:K theo tỷ lệ 1:1:2 làm giảm hao hụt trong bảo quản 10%.

2. Mầm xuyên khung chỉ lấy trên cây hoa đã tàn đưa vào bảo quản, tỷ lệ sống đạt 86%.

3. Thời vụ trồng xuyên khung cho năng suất cao ở Tam Đảo từ 20/1-20/2.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT GIBERENLIN LÊN TỶ LỆ NẢY MẦM CỦA HẠT XUYÊN TÂM LIÊN

Nguyễn Thị Thư

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata* Nees) được phát hiện ở nước ta từ thế kỷ thứ 18 (theo Lãn Ông Lĩnh Nam bản thảo), cây mọc hoang nay được trồng làm thuốc chữa các bệnh như: Lỵ trực khuẩn, cấp tính, viêm dạ dày, viêm ruột, viêm họng, cảm sốt v.v...

Qua nghiên cứu lưu giữ quỹ gen từ năm 1990 tới nay cho thấy hạt cây xuyên tâm liên có tỉ lệ nảy mầm thấp từ 20-30% và thời gian mọc mầm kéo dài từ 30 –40 ngày. Với mục đích làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt và rút ngắn thời gian nảy mầm, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của chất Giberenlin (GA_3) lên tỷ lệ nảy mầm của hạt xuyên tâm liên.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nội dung

Nghiên cứu 4 nồng độ chất GA_3 đó là: 0; 1; 1,5; 2,5 g/lít dung dịch chất GA_3 (ký hiệu: 1,2,3,4) và 4 thời gian xử lý: 12; 24; 48 và 72 giờ.Ký hiệu (I,II, III,IV) ảnh hưởng tới tỷ lệ nảy mầm của hạt xuyên tâm liên.

2.Vật liệu

Hạt xuyên tâm liên trồng tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội.

3. Phương pháp

Số lượng hạt sử lý mỗi mẫu là 200 hạt, các công thức nhắc lại 3 lần. Môi trường nảy mầm trên đĩa Petri, trên giấy lọc dưới có bông thấm nước.

Phương pháp xử lý số liệu của Phạm Chí Thành.

III. KẾT QUẢ

- Hạt xuyên tâm liên sau khi xử lý với 4 nồng độ chất GA_3 ở 4 thời gian khác nhau sau 3-4 ngày hạt đã bắt đầu mọc và kết thúc sau 15-17 ngày ở thời gian xử lý I và II cả 3 nồng độ (2, 3, 4) đều có 40 –42 % hạt nảy mầm sau 3-4 ngày thử, cao hơn nồng độ đối chứng (1) 52%.

- Thời gian xử lý III và IV số hạt mọc rải rác không tập trung ở ngày đầu. ở các nồng độ xử lý (2, 3, 4) Tỷ lệ mọc thấp ở ngày đầu hơn đối chưng (1) là 15%.

- Tỷ lệ sống của hạt xuyên tâm liên sau khi xử lý có tỷ lệ sống từ 50 –60 % ở các công thức.

- Tỷ lệ nảy mầm của các hạt xuyên tâm liên ở các công thức xử lý thể hiện ở bảng sau:

Bảng 1. **Tỷ lệ nảy mầm của hạt ở các thời gian và nồng độ xử lý khác nhau**

Công thức / *nồng độ* / *Thời gian*	*Tỷ lệ nảy mầm %*				*Trung bình nồng độ 2,3,4 %*	*Chênh lệch với đối chứng %*
	1	*2*	*3*	*4*		
I	37.3	51.6	58.8	51.3	53.9(± 3.5)	16.6
II	39.3	55.6	56.0	53.0	54.8(± 1.3)	15.5
III	31.6	21.0	19.6	15.0	18.5(± 2.5)	-13.1
IV	40.0	38.0	38.3	21.3	32.5(± 7.9)	-7.4

Kết quả bảng trên cho thấy hạt xuyên tâm liên xử lý ở thời gian I và II cho tỷ lệ mọc cao tương đương nhau và cao hơn đôi chứng là 15,5 -10,5%. Ngược lại xử lý ở thời gian III và IV có tỷ lệ mọc thấp hơn so với đối chứng từ -13,1 đến -7,4 %.

IV. KẾT LUẬN VÀ THẢO LUẬN

- Hạt xuyên tâm liên xử lý Giberelin ở các nồng độ 1; 1,5; 2,5 g/lít đã làm tăng tỷ lề mọc mầm của hạt từ 15-16% và rút ngắn thời gian nảy mầm xuống 50 %.

- Các nồng độ xử lý khác nhau không làm thay đổi lớn tỷ lệ này.

- Thời gian xử lý thích hợp cho tỷ lệ cao nhất là I; II (sau 12 và 24 giờ) tỷ lệ mọc 54- 55 % tăng 15-16% so với đối chứng. Xử lý ở thời gian III và IV (sau 36 –72 giờ) làm giảm tỷ lệ mọc so với đối chứng từ 13.1 –7.4%.

- Hạt xuyên tâm liên sau khi xử lý bắt đầu mọc nhanh sau 3 -4ngày và mọc tập chung từ 40-42 % ở thời gian xử lý I,II ở các nồng độ xử lý cao hơn đối chứng 52 %.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sinh lý thực vật. Giáo trình cao học.

2. *Đỗ Tất Lợi.*

Cây thuốc Việt Nam.

3. *Đỗ Tất Lợi.*

Từ điển sinh học cây thuốc.

4. *Research journal, 1986.*

Nanelp on progressive Horbiculture (1985).

5. *Phạm Chí Thành.*

Phương pháp thí nghiệm

6. *Tô Cẩm Tú.*

Phân tích số liệu nhiều chiều.

NGHIÊN CỨU BẢO VỆ, TÁI SINH CÂY VÀNG ĐẮNG VÀ KHẢ NĂNG PHÁT TRIỂN TRỒNG CÂY HOÀNG BÁ, TẠO THÊM NGUỒN NGUYÊN LIỆU BERBERIN Ở VIỆT NAM

Nguyễn Tập, Nguyễn Chiểu, Ngô Văn Trại, Phạm Bích Thu, Phạm Văn Thanh, Đinh Thị Tuyết, Nguyễn Kim Cẩn, Đinh Văn My, Nguyễn Văn Mai, Hoàng Thị Bình, Nguyễn Châu Giang[1] và cộng sự.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong số vài chục loài thực vật có chứa berberin đã biết ở Việt Nam, mới chỉ có vàng đắng (*Coscinium fenestratum* (Gaertn.) Colebr.), Menispermaceae, được khai thác lớn để sản xuất thuốc chữa bệnh đường tiêu hoá. Song, do khai thác ồ ạt, nguồn nguyên liệu này đã trở nên bị cạn kiệt.

Song song với việc nghiên cứu bảo vệ và khả năng tái sinh tự nhiên của cây vàng đắng, cần thiết phải tìm kiếm loài cây khác có triển vọng tạo thêm nguồn nguyên liệu cung cấp berbrin ở Việt Nam. Đó chính là nội dung và mục đích của đề tài cấp Nhà nước mã số KY. 02.04 (1991-1995).

II. PHƯƠNG PHÁP

- Pháp quy điều tra quy hoạch vùng rừng- Bộ Lâm nghiệp 1977
- Xác lập ô nghiên cứu tái sinh tự nhiên
- Trồng cây thuốc
- Định lượng Berberin: Phương pháp quang phổ và cân

III. KẾT QUẢ

1. Vàng đắng

1) Phân bố

Đã xác định vùng phân bố vàng đắng ở Việt Nam từ 16°15' vĩ tuyến Bắc (Phú Lộc - Thừa Thiên Huế) trở vào. Cây mọc ở kiểu rừng kín thường xanh ẩm nhiệt đới.

---

[1] Sở y tế Bình Định.

Đã thống kê cây phân bố ở 140 xã thuộc 47 huyện của 17 tỉnh phía Nam. độ cao phân bố tới 800m, tập chung ở 400-600m.

2) Đặc điểm sinh học

Vàng đắng là dây leo gỗ lớn, hoa khác gốc, tỉ lệ cây cái trong quần thể chỉ chiếm dưới 20%. Mùa hoa quả: tháng IV-X (XII). Cây ưa ẩm, chụi bóng. Thích nghi với điều kiện khí hậu nhiệt đới điển hình, mọc được trên nhiều loại đất. Có khả năng tái sinh cây chồi sau khi chặt.

3) Tái sinh tự nhiên và sinh trưởng của cây chồi

• Cây con từ hạt: Quả chín vào mùa mưa, dễ bị nước cuốn trôi. Lượng cây con mọc từ hạt ít. Nghiên cứu ở 2 vùng điển hình, xác định số cây mọc từ hạt có chiều cao dưới 1m, ở Vĩnh Thạnh (Bình Định): 15 cây/ha; ở Phước Sơn (Quảng Nam): 24,18 cây/ha.

• Tái sinh cây chồi: năm 1981 và 1992 tiến hành khai thác 2 lô có vàng đắng ở Khánh Sơn (Khánh Hoà) và Vĩnh Sơn, Vĩnh Thạnh (Bình Định) trên diện tích 13ha rừng. Các cây vàng đắng chặt để chừa gốc 10-15cm. Khai thác cuối mùa khô, sau 60 ngày (đầu mùa mưa) 100% gốc cây chừa lại đều mọc chồi. Qua theo dõi hàng năm cho thấy trong 3 năm đầu, cây chồi đạt 1,5-2,0m/năm về chiều dài và 0,3-0,5 cm/năm về đường kính. Sau 12 năm tuổi, cây chồi đạt đường kính 2,5-3,2cm (Khánh Sơn). Hàm lượng berberin tăng dần theo tuổi cây chồi, từ có vết (sau 1 năm tuổi) đến 1,83% (12 năm tuổi).

2. Hoàng bá (*Phellodendron amurense* Rupr.), Rutaceae

Hoàng bá là cây thuốc được nhập từ Trung Quốc từ năm 1962. Lúc đầu trồng ở Sa Pa, sau đưa trồng thêm ở trại thuốc Tam Đảo (VDL), nông trường dược liệu Sìn Hồ (Lai Châu) và ở Bá Thước (Thanh Hoá)... vỏ thân được dùng nhiều trong Y học dân tộc; chứa trên 2% berberin. Cây trồng ở Việt Nam tỏ ra thích nghi với điều kiện vùng khí hậu á nhiệt đới núi cao. Đến năm 1992, chỉ ở Sa Pa còn thấy hoàng bá trồng rải rác trong nhân dân lâm trường Sa Pa và trại thuốc Sa Pa (VDL). Nhìn chung cây đã bị lãng quên.

1) Đặc điểm sinh học

Là cây gỗ lớn, cây có hoa khác gốc. Ưa vùng có khí hậu ẩm mát, t° 15 - 20°c; lượng mưa tới 2800mm/năm; độ ẩm không khí 86%. Cây mọc tốt trên đất feralit đỏ - vàng hoặc feralit mùn trên núi, ưa sáng, ưa ẩm, song ở thời kỳ cây con chịu bóng. Mùa hoa quả: tháng IV-X (XII). Rụng lá mùa đông.

2) Nghiên cứu gieo trồng

Mỗi chùm quả trung bình có 14,3 quả (1-39 quả); số quả có 4-5hạt (65,42%); 100kg quả chín cho 10 - 12kg hạt; 1kg hạt có 46.822 hạt, 1000 hạt nặng 21,33g. Khi quả chín (tháng X) thu hái, ủ, đãi lấy hạt chín, gieo ngay tháng 11 hoặc tháng 1 năm sau. Gieo ở vườn ươm, tỷ lệ nảy mầm trung bình 72%. Cây con ở vườn ươm 1 năm sau đó đem trồng (khi rụng lá, cao 50-80 cm). Trồng xen cây ăn quả ở vườn hay ven rừng, bờ nương rẫy... Trong 3 năm đầu sinh trưởng nhanh: 0,8 - 1,0m/năm về chiều cao và 1,6 - 2,3 cm/ năm về đường kính, Cây 4 tuổi bắt đầu có hoa lần đầu, sau tăng dần. Sau 6-7 năm cao 5,5 - 6,8 m, đường kính 13-14cm. Khối lượng vỏ cũng tăng theo tuổi cây. Cây trồng 8-10 năm có thể khai thác vỏ.

3) Động thái tích luỹ berberin trong vỏ cây tăng dần theo tuổi cây

Cây 4 tuổi: trung bình 1,33kg vỏ khô/cây; berberin trong vỏ thân: 2,99%; 5 tuổi: 2,07kg/cây; 3,09%; 6 tuổi; 2,75kg/cây: 3,31%; 7 tuổi: 3,64kg/cây: 3,75%; 8 tuổi: 4,70kg/cây: 3,25%... 31 tuổi: > 20kg/cây: 3,45%. Hàm lượng Berbrin trong vỏ ở cây 7-8 tuổi trở lên tương đối ổn định và có thể khai thác được.

IV. KẾT LUẬN

1. Trên cơ bản đã nắm được về đặc điểm sinh học của cây vàng đắng và cây hoàng bá

2. Lượng cây con mọc từ hạt trong tự nhiên của vàng đắng rất ít. Cây tái sinh chồi sau khai thác nếu được bảo vệ tốt, sau 12-15 năm có thể cho khai thác lần tiếp theo. Tất nhiên lượng khai thác mỗi lần sau sẽ giảm dần. Bởi vậy cần nghiên cứu trồng thêm.

3. Bên cạnh cây vàng đắng, hoàng bá là cây có triển vọng là nguồn cung cấp Berberin ở Việt Nam. Cây trồng ở vùng núi cao (như Sa Pa), sau 7-10 năm có thể khai thác vỏ với khối lượng trung bình 5-10 kg vỏ khô/cây; hàm lượng berberin trong vỏ khá cao. Cần nghiên cứu phát triển trồng nhiều.

TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. *Gagnepain F, 1973.*
F.G.I.VI, 102-117

2. *J.D. Hooker, 1873.*
Flra of Brit. India

3. Kỹ thuật nuôi trồng và chế biến dược liệu. NXB Y học Bắc Kinh, 1965.

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU BÁN TỔNG HỢP TETRAHYDROBERBERIN TỪ BERBEREN CLORUA

Ngô Ngọc Khuyến,
Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Minh Quý

Tetrahydroberberin là một sản phẩm khử hóa của berberen clorua. Tetrahydroberberin (THB) có tác dụng an thần rõ, không có tác dụng gây ngủ, không có tác dụng chống nôn do apomorphin, có tác dụng hạ thân nhiệt. Qua những nhận xét trên thấy THB có tác dụng liệt tâm thần (paycloleptic) rõ ràng nhưng để xếp vào nhóm các thuốc liệt thần kinh - (neuroleptic) hay nhóm thuốc trấn tĩnh (tranquillisent) thì đây còn là vấn đề cần cân nhắc. THB là một thuốc ít độc, có LD_{50} cao. Kết quả thí nghiệm thu được phù hợp với Merek và cộng sự (1). Năm 1970, A. Berger cho rằng THB có tác dụng liệt thần kinh (neuroleptic) giống như cloporomazin trên súc vật thí nghiệm và trên người, nhưng hiệu lực yếu hơn (3). Theo Merker và cộng sự tác dụng của Canadin (Tetrahydroberbecin) chủ yếu là an thần và giãn cơ (2). Tác dụng này cũng phù hợp với hyndarin - (L.tetrahydrophalmatin) một alcaloid có trong bình vôi *Stephania rotunda* mà theo tác giả Liên Xô M.D.Maskopski thì hyndarin được xếp vào nhóm các thuốc trấn tĩnh (tranquillisent) (4).

Tetrahydroberberin là một loại thuốc an thần. Trong thiên nhiên có ở dạng hoạt quang. Khi điều chế từ berberin bằng cách khử hóa với một số tác nhân khử như natri borohydrua có dạng dl. Trong môi trường oxy, THB bị oxy hoáthành Beberin. THB clohydrat vững bền hơn THB. THB có thể điều chế bằng phương pháp điện hóa (5), khử hóa bằng kẽm trong môi trường acid (6) hoặc khử bằng natri borohydrua (7,8)...

Chúng tôi đã tiến hành bán tổng hợp THB từ berberin clorua với tác nhân khử là natri borohydrua ($NaBH_4$) và tiến hành điều chế THB clohydrat.

I. PHẦN THỰC NGHIỆM

Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là berberin clorua do tỉnh Cửu Long và berberin clorua do Viện Dược liệu sản xuất. Natri borohydrua được dùng làm tác nhân khử hoá. Bột silicagel Merck và silicagel Viện Dược liệu dùng cho sắc ký lớp

mỏng. Dùng kính hiển vi đi điểm chảy Boetius. Sử dụng đèn tử ngoại camag hai bước song366 và 254nm. Quá trình nghiên cứu được tiến hành qua những giai đoạn sau.

1. Điều chế tetrahydroberberin từ berberin clorua

Hoà tan berberin clorua (100g) trong metanol (100ml) lọc được dung dịch. Cho thêm $NaBH_4$ vào dung dịch, đun nóng. Để nguội được tinh thể I. Lọc lấy dung dịch, thu hồi chân không, để nguội được tinh thể II. Lọc gấp tinh thể I + II, rửa bằng nước, lọc hút hết nước, để khô ở phòng được bột mầu vàng chanh. Hiệu suất 80% tính theo berberin clorua. Điểm chảy 171-172^{0}C. Sắc ký lớp mỏng silicagel G Merck và silicagel G Viện Dược liệu, dung môi ete - ete dầu hoả (1:1) bão hoà khí quyển bằng NH_4OH đặc, hiện mầu bằng hơi iode, sau quan sát dưới đèn tử ngoại bước sóng 366nm, THB có cùng Rf với THB mẫu chuẩn của Ấn Độ RRL.

2. Điều chế tetrahydroberberin clohydrat từ tetrahydroberberin

Hoà tan THB (110g) trong metanol (1100ml). Cho thêm acid clohydric (37ml) vào dung dịch. Đun nóng, để nguội được tinh thể. Lọc lấy tinh thể rửa bằng metanol được tinh thể I mầu vàng nhạt. Nước cái thu hồi chân không được tinh thể II. Hiệu suất 90% tính theo THB. Sắc ký lớp mỏng silicagel G Merck và silicagel G Viện Dược liệu, dung môi ete - ete dầu hoả (1:) bão hoà khí quyển bằng NH_4OH đặc hiện mầu bằng hơi iode sau quan sát đèn tử ngoại bước sóng 366nm, tetrahydroberberin clohydrat có cùng Rf với tetrahydroberberin clohydrat mẫu chuẩn Ấn Độ RRL.

II. KẾT LUẬN

Từ berberin clorua chúng tôi đã bán tổng hợp tetrahydroberberin và điều chế tetrahydroberberin clohydrat. Sản phẩm điều chế đã được so sánh với mẫu chuẩn tin cậy. Phương pháp điều chế đơn giản, ổn định và có thể áp dụng sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Doãn Đại, Dương Hữu Lợi, Hồ Lưu Châu, 1984.*
Nghiên cứu tác dụng dược lý an thần của D.L tetrahydroberberin, Dược học, 5,23-26.

2. TheMerck Index: USA. Ninth edition, 220-221 (1976).

3. *A.Berger, 1976.*

Tetrahydroberberin, Medicinal Chemistry, 3 edition, Part II, 1458.

4. *M.Maskopski, 1977.*

Psikhotropnui preparat lecarstvenui sretstva, xuất bản lần 8, phần I .

Phạm Gia Khôi, Phan Quốc Kinh: Tổng hợp điện hoa d1.

6. Tetrahydroberberin và d1. Tetrahydroberberin, hội nghị khoa học toàn quốc.

Tóm tắt các báo cáo khoa học của Viện Khoa học Việt Nam, Hà Nội, 51 (1981).

7. *Nguyễn Liêm. Triệu Huy Việt, 1979.*

Bán tổng hợp canadin từ berberin công trình nghiên cứu khoa học y dược Hà Nội 212.

8. *Dr. Sunil Kumar Banerjee.*

Analysis of and improvement on Traditional Drugs and Laboratory processes for some drugs and Intermediates based on plants and their Analysis, United Nation Industrial Development Organiation Vienna, 1988 (Annexure I and J).

9. *Ngô Ngọc Khuyến, Nguyễn Minh Quý, 1989.*

Góp phần nghiên cứu bán tổng hợp tetrahydroberberin từ berberin clorua, thông báo Dược liệu 22 (2), 5-6.

10 NĂM HOẠT ĐỘNG BẢO TỒN NGUỒN GEN VÀ GIỐNG CÂY THUỐC

Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Gia Chấn,
Lê Tùng Châu, Trần Khắc Bảo và cộng sự

Từ năm 1988, Viện Dược liệu được Nhà nước giao là cơ quan đầu mối tổ chức thực hiện " Đề án Bảo tồn nguồn gen và giống cây thuốc ".

I. MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG CHÍNH CỦA ĐỀ ÁN

- Xây dựng hệ thống các cơ quan, đơn vị cơ sở (gọi tắt là đơn vị) thành mạng lưới trong cả nước để tổ chức bảo tồn, lưu giữ nguồn gen và giống cây thuốc. Kết quả thực hiện:

- Điều tra khảo sát, thu thập nguồn gen để bảo tồn, lưu giữ, đánh giá kết quả.

- Bảo tồn lưu giữ nguồn gen (trên cơ sở danh mục các loài được lựa chọn cho từng kỳ kế hoạch) bằng các phương pháp *in situ*, *on farm*, *Ex situ* (Field bank), Seed bank, *In vitro* phù hợp với đối tượng bảo tồn ở điều kiện sinh thái thích ứng.

- Đánh giá nguồn gen được bảo tồn, lưu giữ, theo các chỉ tiêu cụ thể.

- Tư liệu hóa nguồn gen được bảo tồn, lưu giữ

- Trao đổi, cung cấp nguồn gen và thông tin.

- Xác định danh mục những loài cây thuốc đưa vào bảo tồn từng kế hoạch 5 năm và hàng năm.

- Đề xuất những loài cây thuốc có nguy cơ bị mất và những biện pháp bảo vệ và lưu giữ an toàn

- Hình thành, đào tạo đội ngũ cán bộ làm công tác bảo tồn nguồn gen cây thuốc.

- Hợp tác trong và ngoài nước trong lĩnh vực bảo tồn nguồn gen thực vật.

- Xây dựng cơ sở vật chất kỹ thuật cho công tác bảo tồn nguồn gen và nguồn dữ liệu cây thuốc.

II. NHỮNG KẾT QỦA ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC SAU 10 NĂM THỰC HIỆN ĐỀ ÁN

1. Tổ chức xây dựng mạng lưới các đơn vị bảo tồn

• ***Về tổ chức chỉ đạo:*** Từ cuối năm 1988, Viện Dược liệu đã thành lập Ban chủ nhiệm đề án, các Viện trưởng và Phó viện trưởng đã trực tiếp làm chủ nhiệm Đề án qua các thời kỳ:

Từ 1988 đến 11/1991:	PGS.TS. Nguyễn Gia Chấn
11/1991 - 12/1993:	Cử nhân Nguyễn Bá Hoạt
12/1993 - 3/1999:	PGS.TS. Lê Tùng Châu
3/1999 đến nay:	ThS. Nguyễn Bá Hoạt

KS Trần Khắc Bảo là Thư ký thường trực Đề án từ năm 1988.

Ban chủ nhiệm Đề án đã tập trung chỉ đạo xây dựng hệ thống mạng lưới, kế hoạch hoạt động từng 5 năm và hàng năm, nhất quán theo nội dung Đề án và sự chỉ đạo của Bộ KHCN&MT và Bộ Y tế, chi tiết hóa nội dung hoạt động hàng năm của các đơn vị trong hệ thống bằng hợp đồng khoa học (KH). Công tác được thường xuyên kiểm tra, đôn đốc nghiệm thu tại các đơn vị trong hệ thống mạng lưới cả nước.

• ***Mạng lưới các đơn vị*** tham gia bảo tồn, lưu giữ nguồn gen cây thuốc được hình thành, củng cố và phát triển:

Đơn vị:

1. Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội (Trại thuốc Văn Điển) từ năm 1988
2. Trạm cây thuốc Tam Đảo (1988)
3. Trạm cây thuốc Sa Pa (1988)
4. Phòng Tài nguyên - Viện Dược liệu (1988)
5. Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Đà Lạt (1988)
6. Trường ĐH Dược Hà Nội (1988)
7. Viện Quân Y 103 - Học viện quân y (1988)
8. Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào - VDL- (1996)
9. Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. TTKH&CNQG (1997)
10. Trung tâm NC nuôi trồng và chế biến dược liệu Quân khu 9 (1997)
11. Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. Hộ Chí Minh (1997)
12. Viện Y học cổ truyền dân tộc Quân đội (1998)
13. Sở Y tế tỉnh Quảng Nam (2000)
14. Trạm dược liệu tỉnh Thanh hóa (2000)

Trước những yêu cầu mới, năm 1999 Bộ KHCN&MT cho 3 đơn vị hình thành một hệ thống mạng lưới mới của Quân đội, làm công tác bảo tồn nguồn gen các loài cây và con làm thuốc, không trực thuộc hệ thống do Viện Dược liệu chỉ đạo.

Giai đoạn 1988 - 1991: Thống nhất phương pháp luận, nhận thức về bảo tồn nguồn gen, bảo vệ và tu bổ nâng cấp các vườn cây thuốc của hệ thống mạng lưới thành các vườn sưu tập để lưu giữ và khảo cứu đánh giá, xây dựng các biểu mẫu và hình thành hồ sơ nguồn gen được lưu giữ, bảo tồn.

Từ 1992 xây dựng các vườn bảo tồn (field bank), kho lạnh ngắn hạn bảo tồn hạt, thử nghiệm bảo tồn *in vitro*, bảo tồn *in situ* và *on farm*, đánh giá nguồn gen, mở rộng hợp tác trong và ngoài nước.

Các nội dung hoạt động bảo tồn nguồn gen được tổ chức thực hiện từng bước, khối lượng công việc, số loài được bảo tồn lưu giữ, qui mô... được tăng trưởng và mở rộng phù hợp với điều kiện thực tế và kinh phí được cấp hàng năm.

2. Kết quả hoạt động bảo tồn, lưu giữ nguồn gen

Các vườn cây thuốc của các đơn vị được tu bổ, thu thập thêm hàng năm và lưu giữ phục vụ khảo cứu, đào tạo. Một số vườn tránh được nguy cơ bị xoá bỏ.

• *Đến nay số loài lưu giữ ở các đơn vị là:* Đơn vị 1: 337 loài, đơn vị 2: 252 loài, đơn vị 3: 178 loài, đơn vị 5: 66 loài, đơn vị 6: 426 loài, đơn vị 7: 220 loài, đơn vị 8: 7 loài (*in vitro*), đơn vị 9: 90 loài, đơn vị 10: 130 loài...

• ***Tổ chức bảo tồn:*** Từ 1991 Ban chủ nhiệm Đề án xây dựng kế hoạch toàn diện công tác bảo tồn 5 năm (1991 - 95, 1996 - 2000, 2001 - 2005) và kế hoạch hoạt động hàng năm, vừa củng cố nâng cấp các vườn lưu giữ, thu thập nguồn gen và xây dựng các vườn bảo tồn (Field bank), bảo quản hạt (seed bank) và bảo tồn *in vitro*.

Các loài lưu giữ có số lượng 1-3 cá thể hoặc 1-2m2/ 1loài

Các loài bảo tồn field bank: 5-10cá thể thân gỗ hoặc 9m2/ 1loài đối với các loài thân bụi, cây nhỏ, thân thảo, trồng lại hàng năm.

• ***Phương pháp bảo tồn***

- *Ex situ* (field bank) :	243 loài, chủng
- *In situ* và *on farm* :	11 loài, chủng
- *In vitro* :	4 loài, chủng
- Seed bank:	133 loài, chủng

Hầu hết các loài đang được bảo tồn sinh trưởng phát triển tốt. Tuy nhiên có hàng chục loài hiện không đảm bảo an toàn, một số loài có nguy cơ bị mất do không ra hoa kết hạt, khó nhân giống hoặc chưa nắm được các đặc tính sinh lí, di truyền...

Do đó cần có những đề tài nghiên cứu về sinh lý, di truyền, tạo giống và dược tính của nhiều loài...

Tổng số loài quý hiếm, có nguy cơ tuyệt chủng đang được bảo tồn ở các đơn vị là 73 loài, trong đó 36 loài có ghi trong Sách đỏ Việt Nam. Nếu phân hạng theo Quy chế bảo tồn nguồn gen của Bộ KHCM&MT, trong số 243 loài có 47 loài thuộc nhóm I, 44 loài nhóm II, 79 loài nhóm III, 73 loài nhóm IV.

• ***Công tác tư liệu hoá:*** Công tác đánh giá nguồn gen vừa mới mẻ, vừa nhiều khó khăn. Trên 2 phiếu Đăng ký bảo tồn và Lý lịch giống, những chỉ tiêu bao gồm: 18 chỉ tiêu về sinh học, 10 chỉ tiêu nông học, 3 chỉ tiêu về giá trị, 4 chỉ tiêu sinh thái, việc đánh giá để tư liệu hóa còn nhiều bất cập. Tuy nhiên các cán bộ tham gia công tác bảo tồn đã ý thức rõ tầm quan trọng của tư liệu hoá, trên 200 loài đã được theo dõi, đánh giá. Hơn 300 loài đã chụp được ảnh. Việc nhập thông tin, xây dựng giữ liệu trên máy tính đang được khẩn trương tiến hành.

• ***Sử dụng, trao đổi nguồn gen:*** Nhiều loài, chủng, giống được lưu giữ, bảo tồn từ những năm qua đã có ý nghĩa phát huy phục vụ hướng phát triển sản xuất, nghiên cứu khoa học: mộc hương, bạch truật, đỗ trọng, ô đầu, mã đề, ngưu tất, actiso, ba kích, râu mèo, kim tiền thảo, sến mật, hà thủ ô đỏ, hoàng cung trinh nữ.... Cung cấp, trao đổi nguồn gen trong nước khoảng 40 loài, cung cấp 30 loài cho các địa phương phát triển vườn thuốc tuyến y tế cơ sở theo chỉ thị số 03 cuả Bộ trưởng Bộ Y tế.

3. Đào tạo, xây dựng đội ngũ cán bộ bảo tồn nguồn gen

Đây là vấn đề quan trọng Ban chủ nhiệm đề án đã có nhiều cố gắng, tích cực thực hiện ngay sau khi Đề án được duyệt.

- Tập huấn 2 lớp mỗi lớp 2 tuần cho cán bộ để thống nhất phương pháp luận (1988,1989)
- Tập huấn chuyên đề bảo tồn nguồn gen 20 ngày: 2 người (1991)
- IBPGR/Regional training course 20 ngày: 1 người (1992)
- Tập huấn kỹ thuật bảo tồn: 1 lớp 3 ngày cho 14 cán bộ của 7 đơn vị (1993)
- 1NCS bảo vệ thành công luận án tiến sĩ khoa học về đề tài bảo tồn cây thuốc
- 5 cán bộ được đi tham quan khảo sát trao đổi kinh nghiệm ở Trung Quốc (2000)
- Hàng năm tổ chức hội nghị đánh giá kết quả và trao đổi phương pháp bảo tồn nguồn gen cây thuốc.

4. Hợp tác quốc tế

Ban chủ nhiệm đề án đã tham gia tổ chức và dự 3 cuộc hội thảo quốc tế tại Hà Nội về "Tăng cường tài nguyên di truyền thực vật ở Việt Nam", "Kế hoạch hành động bảo vệ đa dạng sinh học Việt Nam"và "Tạo thu nhập từ đa dạng sinh học để bảo tồn đa dạng sinh học". Công tác hợp tác quốc tế chưa tạo được những đối tác hay dự án hợp tác quốc tế về bảo tồn cây thuốc.

III. CƠ SỞ VẬT CHẤT VÀ ĐẦU TƯ KINH PHÍ

Kinh phí được cấp cho cả hệ thống bảo tồn qua các năm như sau:

1988: 3,4 triệu đồng, 1989: 10tr; 1990: 33tr; 1991: 30tr; 1992: 35tr; 1993: 46tr; 1994: 50tr; 1995: 60tr; 1996: 100tr; 1997: 100tr; 1998: 135tr;1999: 180tr; 200: 300tr

Tổ chức văn phòng dự án với hệ thống máy vi tính và các thiết bị tiến hành tư liệu hóa cập nhật thông tin trong hệ thống bảo tồn

IV. KẾT LUẬN

10 năm qua bám sát mục tiêu, nội dung của đề án, thực hiện đúng hướng dẫn và quy chế của Bộ KHCN&MT về bảo tồn nguồn gen. Đề án đã hình thành được chiến lược bảo tồn cây thuốc thể hiện trong kế hoạch 5 năm 1996-2000 và 2001-2005.

- Đã xây dựng và mở rộng mạng lưới các đơn vị bảo tồn trên phạm vi cả nước, duy trì và nâng cao chất lượng hoạt động của hệ thống. Đã và đang xây dựng, hoàn thiện mô hình bảo tồn nguồn gen cây thuốc ở Trung tâm cây thuốc Hà Nội và các đơn vị trong hệ thống.

- Đã tiến hành và thử nghiệm hầu hết các phương pháp và kỹ thuật bảo tồn, rút ra được những bài học kinh nghiệm quý báu để tiến hành các hoạt động trong những năm tới

- Bảo tồn nguồn gen cây thuốc là lĩnh vực mới còn nhiều khó khăn, cần khắc phục về thiếu cán bộ chuyên môn sâu và tổ chức chuyên trách, kinh phí còn rất eo hẹp. Phương pháp bảo tồn *insitu* chưa được mở rộng, tính an toàn bảo tồn *ex situ* còn thấp. Công tác tư liệu hóa còn chưa đáp ứng được yêu cầu đối với nguồn gen cây thuốc.

CÁC GIẢI PHÁP BẢO TỒN NGUỒN GEN VÀ GIỐNG CÂY THUỐC

Trần Khắc Bảo

Từ năm 1988, Nhà nước đã giao cho Viện Dược liệu tổ chức thực hiện đề án "Lưu giữ nguồn gen và giống cây thuốc" nhằm xây dựng hệ thống mạng lưới các cơ quan trong cả nước để tiến hành công tác bảo tồn, lưu giữ nguồn gen và giống cây thuốc, thuộc 5 nhóm đối tượng do Uỷ ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước quy định (tại Quyết định số 582/QĐ, ngày 02/11/1987) dưới đây:

1. Những gen và giống đã thu thập được hiện đang lưu giữ ở các cơ quan nghiên cứu và sản xuất (gồm cả nguồn bản địa và nhập nội)

2. Những gen và giống đang được phát triển trong sản xuất, cần duy trì sức sản xuất.

3. Những gen và giống đang là đối tượng nghiên cứu của các đề tài KHKT.

4. Những gen và giống quý hiếm, đặc hữu của ta đang có nguy cơ bị tiêu diệt.

5. Những gen và giống đã xác định rõ đặc tính sinh học cơ bản và giá trị kinh tế (đã định tính nhưng chưa phát triển được trong sản xuất).

Bảo tồn nguồn gen thực vật (cây làm thuốc) là một công tác lớn, một khoa học đa ngành, mới mẻ, đòi hỏi hiểu biết sâu rộng về di truyền học, sinh thái, thực vật, hóa sinh và sinh lý thực vật, nông học, dược học, khí hậu và đất đai, địa lý thực vật..., và nhất là những kiến thức về bảo tồn nguồn gen, vấn đề quá mới mẻ với chúng ta. Nguồn gen sinh vật là tài nguyên tái tạo, chịu tác động của các quy luật sống, của các yếu tố tự nhiên và cả yếu tố xã hội, con người. Bảo tồn nguồn gen là phải bảo đảm tính toàn vẹn di truyền của sinh vật qua nhiều thế hệ. Như vậy cần có tổ chức tốt, với sự đầu tư trí tuệ, công sức không nhỏ và cơ sở vật chất kỹ thuật cần thiết.

Nguồn gen (Genetic resources - nguồn di truyền, tài nguyên di truyền): Là những vật thể mang thông tin di truyền sinh học và là những vật liệu ban đầu có khả năng tạo ra, hay tham gia tạo ra giống mới của sinh vật (thực vật, động vật, vi sinh vật).

Gen (Gene - còn viết là gien): Là đơn vị vật chất cơ sở của tính di truyền sinh vật, một đoạn phân tử AND (acid deoxyribonucleic) có trong thành phần của thể nhiễm sắc (chromosome). Tuy không tham gia trực tiếp vào việc tổng hợp protein, gen có mang mã di truyền xác định phân tử protein.

Giống (variety, seed,..., - thứ, chủng) là: a/ Tất cả các dạng thực vật của vật liệu gieo trồng: bản thân hạt, quả, cành, củ, căn hành..., và b/ Giống là một nhóm (quần thể) cây trồng giống nhau về những đặc tính sinh học, kinh tế và những tính trạng hình thái, có nguồn gốc họ hàng, đã được chọn và nhân giống để gieo trồng trong những điều kiện tự nhiên và sản xuất nhất định, nhằm nâng cao năng suất và chất lượng sản phẩm.

Bảo tồn nguồn gen là công tác cơ bản, công tác mở đầu, sản phẩm là nguyên liệu (cho công tác giống, nghiên cứu khoa học, đào tạo...), còn công tác giống lại là công tác ứng dụng, là hoạt động sản xuất và tạo ra sản phẩm tiêu dùng cho nhu cầu ngày càng cao của con người. Công tác bảo tồn nguồn gen phải xác định được các dạng biến dị di truyền, các tính trạng di truyền, các phương thức sinh sản, độ dài vòng đời của loài, các yêu cầu sinh thái... mà xác định các phương thức và biện pháp bảo tồn phù hợp.

Đến nay có thể thống kê được khoảng 3.800 loài cây làm thuốc ở nước ta. Cây thuốc Việt Nam rất đa dạng, phong phú về thành phần loài, về công dụng, về cách sử dụng, về thành phần hóa học. Nhiều loài phân bố rộng, trữ lượng lớn nhưng cũng rất nhiều loài phân bố hẹp, quý hiếm. Nhiều loài có yêu cầu sinh thái nghiêm ngặt, môi trường sống đặc biệt. Phần có ý nghĩa, có giá trị của cây thuốc là ở thành phần hóa học, hàm lượng hoạt chất chứa trong cây, mà chúng chỉ chiếm tỷ lệ rất nhỏ trong dược liệu. Nhiều yếu tố tác động có thể ảnh hưởng đến dược tính của cây thuốc, do đó đánh giá đúng nguồn gen, đúng thực trạng của giống đã khó, việc bảo tồn nguồn gen cây thuốc còn phức tạp hơn nhiều. Nguồn tài nguyên vô cùng đa dạng, phong phú, quý giá đó lại đang đứng trước nguy cơ bị cạn kiệt, xói mòn, nhiều loài có nguy cơ tuyệt chủng.

Chiến lược bảo tồn nguồn gen là bảo tồn các hệ sinh thái, bảo tồn sự đa dạng các loài trước hết là các loài có giá trị y học và kinh tế, quý, hiếm, đặc hữu, có nguy cơ tuyệt chủng và sự đa dạng di truyền (đa dạng trong từng loài). Cây thuốc có số lượng loài lớn nhất trong thảm thực vật Việt Nam, tồn tại cùng với hệ sinh thái rừng, hệ sinh thái nông nghiệp và nông thôn trên khắp đất nước. Muốn bảo tồn được tính toàn vẹn di truyền của hàng ngàn loài cây thuốc, trong đó có rất nhiều loài quý hiếm, đặc hữu, cần kết hợp trước hết với 10 Vườn Quốc gia và các Khu bảo tồn thiên nhiên trong cả nước (có tổng diện tích hơn 1 triệu ha) để bảo tồn *in situ*. *In situ conservation - bảo tồn nguyên vị, bảo tồn nội vi*, là cách bảo tồn lý tưởng,

nghĩa là bảo tồn nguồn gen tại chỗ, tại môi trường tự nhiên, tại nơi nguyên sản của chúng, bảo tồn cả hệ sinh thái. Thực tế, các Vườn Quốc gia và Khu bảo tồn thiên nhiên mới quan tâm bảo vệ tổng thể hệ sinh thái, chú trọng nhiều tới tầng cây gỗ, mà chưa chú ý đến các sản phẩm rừng phi gỗ. Nhiệm vụ bảo tồn cây thuốc còn chưa được đặt ra cụ thể, tài nguyên cây thuốc chưa được khảo sát, kiểm kê đầy đủ, việc kiểm soát thu hái cây thuốc và bảo vệ những loài đó bị xem nhẹ. Theo một báo cáo nghiên cứu, hơn một tấn các loài cây thuốc đã bị lấy ra khỏi Vườn Quốc gia Ba Vì mỗi ngày, khoảng 10 loài cây thuốc ở đó có nguy cơ tuyệt chủng. ở một số nơi, việc tu bổ, "làm sạch" rừng cũng đã triệt phá một số loài do không biết đó là cây thuốc.

Sâm ngọc linh (*Panax vietnamensis*) là loài cây thuốc đặc hữu, có giá trị y học và kinh tế cao, trong thành phần hóa học có tới 49 saponin, nhiều loại acid amin, các acid béo và nguyên tố vi lượng, trong đó nhiều hợp chất quan trọng có hàm lượng cao, có tác dụng dược lý đặc hữu của sâm Việt Nam, nhưng chỉ hai thập kỷ qua hàng nghìn hecta sâm của vùng núi ngọc linh hiểm trở nay không còn nữa. Cây sâm rất khó sống ngoài vùng núi ngọc linh, cũng như nhiều loài cây thuốc khác khó sống ngoài môi trường sinh thái tự nhiên của chúng, nếu các nhà khoa học di thực được đến một vùng mới khác thì chắc chắn chất lượng dược liệu cũng sẽ suy giảm hoặc đổi khác.

Khai thác hợp lý, có kế hoạch bảo vệ, tái sinh và nuôi trồng phát triển là cách bảo tồn tốt. Nếu biết làm như vậy thì những loài sâm, ba kích, vàng đắng... đã không bị đứng trước nguy cơ tuyệt chủng.

Việc phối hợp với ngành nông lâm nghiệp là cần thiết, để kiểm kê số loài, đánh giá trữ lượng, giá trị, khả năng khai thác, phát triển, xác định các biện pháp và bảo tồn các loài cây thuốc.

Bảo tồn *In situ* và *On farm* (*On farm conservation - bảo tồn trong nông dân, nông trại*) là thực tế hơn và rẻ hơn bảo tồn *ex situ*. Người nông dân đã biết làm công việc bảo tồn, gìn giữ các loài cây cỏ từ hàng nghìn năm nay. Giờ đây công việc bảo tồn tài nguyên di truyền càng không thể thiếu vắng sự tham gia trực tiếp của các cộng đồng nông dân. Bảo tồn *In situ* và *On farm* là phương pháp hữu hiệu và tốt nhất để bảo tồn đa dạng sinh học cây thuốc. Hoạt động này vừa bảo tồn cây thuốc tại chỗ, vừa thu thập thông tin, dữ liệu, đồng thời thu thập nguồn gen để bảo tồn *ex situ*. Các vườn gia đình, vườn rừng, trang trại của đồng bào các dân tộc giàu nguồn cây thuốc truyền thống cần được khuyến khích bằng các chính sách, tạo điều kiện để người dân tham gia việc bảo tồn, khai thác lâu bền. Cấm hoặc hạn chế khai thác cây thuốc hoang dại một cách máy móc có thể làm người dân nghèo mất đi nguồn thu nhập, đồng thời mất luôn cả sự kế thừa y học dân tộc. Cần có chính sách, tổ

chức lồng ghép việc bảo tồn và trồng trọt phát triển. Có thể đó là biện pháp hàng đầu chống lại việc khai thác kiệt quệ các loài cây thuốc mọc hoang. Đến nay đã có hàng chục gia đình người Dao, người Mông ở Lào Cai, Hà Tây từ chỗ chỉ biết đi thu hái hoang dại bừa bãi, nay đã tự nguyện trồng tại trang trại, vườn rừng của mình hàng chục loài cây thuốc quý hiếm bị đe doạ để bảo tồn và sử dụng, kết quả rất khả quan.

Bảo tồn *ex situ* (*Ex situ conservation - bảo tồn chuyển vị hay bảo tồn ngoại vi*) là xây dựng các khu trồng mới hoặc trồng trong các khu vườn nhỏ, với điều kiện sinh thái cho loài có thể sinh trưởng và phát triển bình thường, trong điều kiện nhân tạo dưới sự giám sát của con người, khi mà các loài đó không thực hiện được bảo tồn *In situ*. Yêu cầu là bảo tồn được tính toàn vẹn di truyền của nguồn gen. Sẽ chỉ có kết quả đối với những loài đã có những hiểu biết nhất định về sinh học, các kiểu sinh sản và khả năng gây trồng. (Điều này thấy rõ khi đưa cây hoàng liên chân gà vào trồng nhiều lần ở Trại cây thuốc Sa Pa trong nhiều năm không có kết quả). Bảo tồn *ex situ* là một giải pháp quan trọng, phối hợp, bổ sung cho bảo tồn *In situ* và *On farm*, nó được thực hiện trong các vườn thực vật cây thuốc, ngân hàng hạt giống, trong phòng nuôi cấy mô *In vitro*.

Mười năm qua, đề án Bảo tồn nguồn gen và giống cây thuốc đã xây dựng được hệ thống mạng lưới trong cả nước gồm 14 cơ quan, đơn vị tham gia. Một số vườn cây thuốc tránh được nguy cơ bị xoá bỏ. Khoảng 500 loài đang được lưu giữ tại các vườn, 250 loài đang được trồng bảo tồn, theo dõi, đánh giá, trao đổi, cung cấp giống cho nhu cầu nghiên cứu, sản xuất. Đây là kết quả đáng khích lệ, cần được đầu tư, hoàn thiện, tập trung vào các đối tượng quan trọng để đảm bảo an toàn. Hạt giống cũng đã thử nghiệm bước đầu bảo quản trong kho lạnh ngắn hạn (bảo quản dưới 5 năm): các loại hạt ngưu tất, đương quy, thanh cao... đã kéo dài được thời gian có sức sống và tỷ lệ nảy mầm cao so với điều kiện bảo quản thủ công, kinh nghiệm của nông dân. Bảo quản *In vitro*, bảo quản hạt trong kho lạnh cần đầu tư nghiên cứu và trang thiết bị.

Công tác bảo tồn nguồn gen có những nội dung chính là: a/ Khảo sát, kiểm kê. b/ Thu thập để bảo tồn. c/ Bảo tồn. d/ Đánh giá và tư liệu hoá, bảo tồn thông tin. e/ Sử dụng, trao đổi. Thực hiện các nội dung trên là những khối lượng công việc rất lớn, đòi hỏi một tổ chức cỡ một viện nghiên cứu.

Để bảo tồn nguồn gen cây thuốc, tài nguyên vô cùng to lớn, có giá trị nhiều mặt của nước ta, các vấn đề cần quan tâm giải quyết là:

- Đào tạo, xây dựng đội ngũ cán bộ chuyên trách.

- Xây dựng một tổ chức nghiên cứu và thực nghiệm các giải pháp bảo tồn, có cơ sở vật chất và trang thiết bị tốt.

- Tổ chức tuyên truyền, vận động, giáo dục, nâng cao nhận thức và thực hiện các hoạt động bảo tồn cây thuốc trong nhân dân.

- Hợp tác đa ngành trong nước và với nước ngoài.

- Đầu tư tài chính cho chương trình, dự án dài hạn từ nguồn vốn ngân sách nhà nước và từ các nguồn khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Trần Khắc Bảo, 1991.*
Bảo tồn nguồn gen cây thuốc. NXB Nông nghiệp.

2. Viện tài nguyên di truyền thực vật quốc tế. Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam. Tài nguyên di truyền thực vật ở Việt Nam. NXB Nông nghiệp, 1996.

3. *Hội KHKT lâm nghiệp, 1995.*
Các Vườn Quốc gia và Khu bảo tồn thiên nhiên Việt Nam. NXB Nông nghiệp.

4. Dự án bảo tồn nguồn cây thuốc cổ truyền - Viện Dược liệu. Hội thảo khoa học Bảo tồn đa dạng sinh học cây thuốc cổ truyền. Hà Nội, 11/1997.

5. *Ban chỉ đạo kiểm kê rừng tự nhiên Trung ương, 1993.*
Kết quả kiểm kê rừng tự nhiên. Hà Nội, 1993.

6. *Richard B. Primack, 1999.*
Đại học Boston, Mỹ. Bản dịch. Cơ sở Sinh học Bảo tồn. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU BẢO TỒN NGOẠI VI (*Ex situ con.*) MỘT SỐ CÂY THUỐC QUÝ HIẾM BỊ ĐE DOẠ TUYỆT CHỦNG TẠI TRẠI THUỐC SA PA VÀ TAM ĐẢO - VIỆN DƯỢC LIỆU

Nguyễn Tập
Đinh Văn My, Phạm Anh Thắng

SUMMARY

There are 40 species of rare, threatened medicinal plants have been collected and cultivated in the gardens of Sa Pa and Tam Dao medicinal plant stations, P. polyphylla, P. hainanensis; Ararum glabrum, A. caudigerum; Disporopsis longilolia; Polygonatum kingianum; Rauvolfia verticillata, R. yunanensis; TetraPanax papyriferus; AcanthoPanax trifoliatus; Stephania brachyandra; Panax bipinnatifidus and P. stipleanatus... are showed a good adaptability to conditions of cultivation in the garden for expectation of ex situ-conservation

*
* *

Ở Việt Nam hiện đã xác định có trên 100 loài cây thuốc thuộc diện quý hiếm bị đe doạ tuyệt chủng (Nguyễn Tập 1984, 1996, Sách đỏ Việt Nam 1996) Đáng lưu ý trong số đó có khoảng trên 40 loài và dưới loài (var.) là những cây thuốc đặc biệt quý hiếm, đang có nguy cơ tuyệt chủng cao và đã được ưu tiên nghiên cứu bảo tồn.

Song song với việc điều tra nghiên cứu bảo tồn nội vi (*in situ con.*), hầu hết các loài kể trên còn được thu thập về trồng tại vườn thuốc Trại Sa Pa và Tam Đảo, nhằm bảo tồn ngoại vi (*ex situ con.*). Sau gần 10 năm theo dõi nghiên cứu, kết quả bước đầu cụ thể như sau:

I. TẠI TRẠI THUỐC SA PA

Trại thuốc Sa Pa ở độ cao khoảng 1500m; khí hậu á nhiệt đới núi cao, nhiệt độ trung bình 15,2°c, lượng mưa 2901 mm/năm; độ ẩm không khí 86%. Điều kiện tự

nhiên ở đây phù hợp cho việc nghiên cứu trồng- bảo tồn ngoại vi những cây thuốc ưa ẩm, vốn chỉ thấy ở vùng núi cao. Tổng số loài đã thu thập và trồng tại vườn gồm 25 loài, đa số các loài đã tỏ ra thích nghi, sinh trưởng phát triển khá tốt.

1. Những loài ưa bóng trồng ở vườn có mái che

1. Củ rắn cắn (*Paris fargessi* Franch); 2. Bảy lá một hoa (*P. polyphylla* Sm); 3. Thổ tế tân (*Asarum caudigerum* Hance); 4. Hoàng tinh cách (*Disporopsis longifolia* Craib); 5. Hoàng tinh vòng (*Polygonatum kingianum* Collet et Hemsl); 6. Cỏ nhung (*Anoectochilus setaceus* Blume); 7. Sâm vũ diệp (*Panax bipinnatifidus* seem); 8. Tam thất hoang (*P.stipuleanatus* H.T.Tsai et K.M.Feng)... và loài khác như hoàng liên (*Coptis chinensis* Franch và *C.quinquesecta* W.T.Wang) việc nghiên cứu trồng chưa thành công hiện chưa đủ dẫn liệu để kết luận.

2. Những loài ưa sáng, trồng ở vườn

1. Hoàng liên gai (*Berberis julianae* Schneid); 2. Hoàng liên gai lá dài (*B-wallichiana* Dc.); 3. Ngũ gia bì gai (*AcanthoPanax trifoliatus* (L.) Merr.); 4. Ngũ gia bì hương (*A. gracilistylus* WW. Smith); 5. Thông thảo (*TetraPanax papyriferus* K.koch); 6. Bách hợp (*Lilium brownii* var. *colchesteri* Wilson); 7. Bình vôi núi cao (*Stephania brachyandra* Diels); 8. Thổ hoàng liên (*Thalictrum foliolosum* DC.)... Trong số này, có loài thổ hoàng liên sinh trưởng tốt, ra hoa hàng năm, nhưng quả thường bị lép.

Ngoài các loài trên, hiện còn một số loài đã thu thập, đang được trồng và theo dõi như: phòng kỷ (*Aristolochia*): 2 loài; *Mahonia japonica* (Thunb.) DC.; *Epimedium* spp.; *Gautheriana fragantisima*...

II. TẠI TRẠI THUỐC TAM ĐẢO

Trại thuốc Tam Đảo ở độ cao khoảng trên 900m; thuộc vùng có khí hậu á nhiệt đới núi cao, nhiệt độ trung bình: 18°c, lượng mưa 2630mm/năm và độ ẩm không khí trung bình 87%... Điều kiện này cũng phù hợp với việc trồng cây ở vùng núi cao và cả cây ở vùng núi thấp.

Những cây ưa ẩm, ưa bóng, trồng dưới tán rừng tự nhiên đã tỏ ra thích nghi, sinh trưởng phát triển được, như: trọng lâu Hải Nam (*Paris hainanensis* Sm.); đại hoa tế tân (*Asarum glabrum* Mer.); khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pit.)... Một số cây thuốc ưa sáng, trồng ở ngoài vườn như: ba gạc (*Rauwolfia verticillata* (Lour) Baill. và *R. yunamensis* Triang); hoàng đằng (*Fibraurea tinctoria* Lour.). Các loài ba gạc và hoàng đằng đã nghiên cứu nhân giống được bằng cành. Riêng loài hoàng liên gai

(*Berberis wallichiana* DC.) đưa từ Sa Pa về trồng năm 1981, hàng năm ra hoa nhưng ít đậu quả.

III. KẾT LUẬN

1. Trong số khoảng trên 40 loài cây thuốc thuộc diện quý hiếm có nguy cơ bị tuyệt chủng cao ở Việt Nam, đã thu thập về trồng tại vườn Trại thuốc Sa Pa và Tam Đảo (Viện Dược liệu) cho thấy phần lớn chúng tỏ ra thích nghi với điều kiện nhân tạo. Các loài đã sinh trưởng phát triển tốt, ra hoa kết quả và hạt giống của chúng gieo đã nảy mầm. Điển hình là các loài hoàng liên gai, ba gạc, các loài hoàng tinh, bảy lá một hoa và các loài tế tân... Một số loài khác cần phải nghiên cứu theo dõi thêm, như các loài hoàng liên (coptis spp); thổ hoàng liên; hoàng liên gai và các loài sâm mọc tự nhiên.

2. Với những kết quả bước đầu kể trên, có thể khẳng định hầu hết các loài đã thu thập và trồng ở trại Sa Pa, Tam Đảo đều có triển vọng bảo tồn ngoại vi (*ex situ con.*) thành công

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nguyễn Tiến Bân và những người khác, 1996.*
Sách đỏ Việt Nam, T. II- Thực Vật

2. *Nguyễn Tập, 1984.*
Một số loài thực vật làm thuốc quý hiếm cần được bảo vệ ở Việt Nam, Tạp chí Sinh học, tập IV, số 3, 16-19

3. *Nguyễn Tập, 1996.*
Nghiên cứu bảo tồn những cây thuốc quý hiếm có nguy cơ bị tuyệt chủng ở Việt Nam, luận án TS. Sinh học

4. *Akerele et al, 1991.*
The conservation of medicinal plants.

BƯỚC ĐẦU XÂY DỰNG BỘ "TÀI NGUYÊN CÂY THUỐC VIỆT NAM"

Đỗ Huy Bích và các cộng tác viên

SUMMARY

Survey has been conducted in 9 strategic ecological areas covered 23 provinces. The result of the survey shows that among diversified material resources existed in the country, 368 species are quite well-known and used popularly as material medicine for domestic consumption and for export. According to the primary estimation, currently, the demand for Vietnamese medicinal material from abroad is about 25-30.000 tons from 37 species of Vietnamese materials.

The result also indicated that in the nature only 120 species of essential medicinal materials have enough resources to be exploited excessively, which need to be protected, preserved and grown. Vietnam is trying to preserve these valuable medicinal materials, 48 species of essential materials are cultivated.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Qua nhiều năm nghiên cứu và ứng dụng, công tác phát triển dược liệu bao gồm nhiều khâu từ khảo sát thực tế đến nghiên cứu thực nghiệm đã thu được những kết quả khả quan. Những tài liệu và kinh nghiệm về công tác này dần dần được tích lũy, phổ biến và bước đầu đã được tập hợp, in thành sách. Nhìn chung những tài liệu về dược liệu chưa nhiều, hầu hết là những tài liệu phổ biến và sách chuyên đề.

Trong giai đoạn hiện nay, nhu cầu về dược liệu ngày càng cao, công tác phát triển dược liệu đòi hỏi không chỉ chuyển biến mạnh trong nước mà còn phải mở rộng phạm vi hoạt động ra nước ngoài; việc xây dựng chính quy một tài liệu tổng hợp hoàn chỉnh về dược liệu, có tính chất quốc gia mang sắc thái tài nguyên độc đáo và có tầm cỡ quốc tế để phục vụ cho công tác nghiên cứu, phổ biến, hướng dẫn sử dụng và trao đổi quốc tế là rất cần thiết.

II. NỘI DUNG VÀ KẾT QUẢ

1. Nội dung

Sách gồm 200 cây thuốc. Mỗi cây thuốc được thể hiện như một chuyên khảo đầy đủ các mặt: danh pháp, mô tả đặc điểm, phân biệt chống nhầm lẫn, phân bố sinh thái, cách trồng, thành phần hóa học, tác dụng dược lý, bộ phận dùng, công dụng, các bài thuốc và tranh vẽ.

2. Kết quả

Bước đầu hoàn thành bản thảo hoàn chỉnh của 190 cây thuốc với 357 tranh vẽ đen và một số tranh màu. Các cây thuốc được sắp xếp theo thứ tự ABC tên Việt Nam.

III. NHẬN XÉT VÀ BÀN LUẬN

1. Về nội dung: Có nhiều điểm mới:

1) Mục danh pháp

Ngoài tên chính, những tên khác, tên khoa học, còn có tên nước ngoài của cây thuốc và đặc biệt một tập hợp các tên địa phương là tên gọi theo từng dân tộc ở miền núi như Tày, Nùng, Thái, H'mông, Dao, Mường, Mán (ở miền Bắc), K'ho, K'dong, Ê đê, Ba na, Vân kiều (ở miền Nam). Có thể coi đây là một bộ sưu tập có giá trị, hiếm có về mặt danh pháp của các cây thuốc, có tác dụng thiết thực trong việc phổ biến, tuyên truyền sâu rộng trong cả nước.

2) Mục phân biệt, chống nhầm lẫn các loài cây thuốc

Việc nêu lên tập hợp nhiều loài cây thuốc trong cùng một chi có chung hoạt chất hoặc có thể dùng thay thế nhau như *Rauvolfia, Stephania, Amomum,...* càng cho thấy nguồn dược liệu tự nhiên thêm phong phú, đa dạng và diện sử dụng cây cỏ chữa bệnh được mở rộng hơn. Nhiều cây thuốc quý đã được giám định lại tên khoa học một cách chính xác. Đặc biệt là mục chống nhầm lẫn các loài cây thuốc thường gặp trong công tác khai thác, thu mua và sử dụng bằng hình ảnh và bảng mô tả phân biệt sai khác.

3) Mục sinh thái, tái sinh và trữ lượng

Nêu lên khả năng tiềm tàng, hiện trạng thực tế và các hiện tượng tiêu cực trong công tác khai thác và sử dụng cây thuốc dẫn đến tình trạng kiệt quệ của nguồn thuốc tự nhiên. Đặc biệt lưu ý những cây thuốc thuộc diện quý, hiếm và có nguy cơ bị diệt chủng.

4) Bộ tranh màu các cây thuốc

Sẽ làm tăng giá trị của cuốn sách về mặt khoa học và nhất là mặt thẩm mỹ, có sức thu hút cao khi sản phẩm được ấn loát, phát hành, phổ biến và trao đổi.

2. Về chất lượng

1. Ban biên tập gồm những cán bộ đã kinh qua hàng chục năm nghiên cứu, giảng dạy và biên soạn dược liệu, là những chuyên gia có nhiều kinh nghiệm thực tiễn, đứng đầu các chuyên khoa của Viện Dược liệu và Trường Đại học Dược và đã từng chủ trì nhiều đề tài khoa học. Các bản thảo cây thuốc đều được những chuyên gia của các lĩnh vực chuyên môn có liên quan trong ngành và ngoài ngành xem xét và góp ý kiến nhằm bảo đảm độ chính xác và chất lượng cao.

2. Những thông tin, tư liệu thể hiện trong bản thảo là kết quả của các công trình nghiên cứu thực tế trong nước và các thành tựu khoa học kỹ thuật của thế giới trong lĩnh vực dược liệu. Đó là những thông tin, tư liệu bảo đảm tính thời sự và tính khoa học cao, dựa trên những khảo nghiệm thực tế, kết hợp kinh nghiệm dân gian, cổ truyền với kiến thức khoa học hiện đại.

IV. KẾT LUẬN

Bản thảo 190 cây thuốc hoàn thành bước đầu đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu nội dung, có nhiều điểm mới, bảo đảm các thông tin, tư liệu chính xác, trung thực, có chất lượng và sẽ là cơ sở tiếp cho việc ứng dụng và triển khai trong công tác khai thác, sử dụng, phát triển và sản xuất dược liệu, xứng đáng với khẩu hiệu: *"Tài nguyên Cây thuốc Việt Nam mang sắc thái dân tộc, có tính chất quốc gia và có tầm cỡ quốc tế"*.

ĐÁNH GIÁ HIỆN TRẠNG NGUỒN DƯỢC LIỆU VIỆT NAM

Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Tập, Ngô Quốc Luật và cộng sự

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nằm trong vùng nhiệt đới gió mùa nóng và ẩm, Việt Nam có nguồn tài nguyên động thực vật phong phú và đa dạng, trong đó nhiều loài đã được dùng làm thuốc. Cho đến nay đã biết 3.800 loài cây làm thuốc trong tổng số khoảng 12.000 loài thực vật có mặt ở Việt Nam. Trong chiến lược chăm sóc và bảo vệ sức khoẻ cộng đồng, chính sách quốc gia về thuốc đã chỉ ra đến năm 2010 ngành dược phải tự túc được 70% nhu cầu thuốc chữa bệnh. Dược liệu ở nước ta đã và đang là nguồn thuốc quan trọng cho YHCT, là nguyên liệu cho công nghiệp dược và xuất khẩu. Để có cơ sở cho việc hoạch định chiến lược và chính sách công tác dược liệu, Bộ Y tế đã giao cho Viện Dược liệu thực hiện đề án "Đánh giá hiện trạng nguồn dược liệu Việt Nam".

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đánh giá hiện trạng nguồn dược liệu Việt Nam trong một thời gian ngắn, tập trung chủ yếu vào cây làm thuốc về tiềm năng, hiện trạng khả năng khai thác và giá trị sử dụng. Chú ý đến những cây thuốc có trữ lượng lớn, những cây thuốc đang giảm sút nghiêm trọng hoặc đứng trước nguy cơ mất giống để có chính sách bảo vệ tái sinh. Đánh giá hiện trạng tài nguyên cây thuốc bằng các bước: Phân vùng sinh thái, chọn khu đại diện, lập tuyến điều tra. Trong khi điều tra đã sử dụng các phiếu điều tra dựa trên các tài liệu sau: Quy trình điều tra dược liệu Bộ Y tế 1973, phương pháp điều tra trữ lượng Viện Dược liệu 1972, phương pháp đánh giá tình trạng bị đe doạ của cây thuốc theo khung phân hạng JUCN, phương pháp đánh giá nhanh nông thôn (R.R.A); phương pháp thu thập thông tin từ nhóm người am hiểu (K.I.P). Thu thập tư liệu hồi cứu các nguồn tư liệu lưu trữ và đã công bố. Kết quả điều tra được xử lý trên máy vi tính với các chương trình Foxpro, Parmar, SPSSPC.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Cây thuốc mọc tự nhiên

Tổng hợp cây thuốc mọc tự nhiên đã biết 3.800 loài.

Cây thuốc còn khả năng khai thác với khối lượng lớn trong tự nhiên 120 loài và nhóm loài trong đó 109 loài và nhóm loài đã được thông kê đánh giá trong các tuyến điều tra 11 loài đang được thu mua với sản lượng khá chỉ được thu thập qua điều tra phỏng vấn và thu thập thông tin.

Kết quả tổng hợp từ các phiếu điều tra cây thuốc thiết yếu còn khả năng tiếp tục khai thác tại các vùng sinh thái thể hiện trong bảng sau:

Vùng sinh thái	*Số loài và nhóm loài*	*Mức độ khai thác (loài)*			*Khả năng khai thác theo phiếu điều tra (tấn/năm)*	*Ước khả năng khai thác toàn vùng (tấn/năm)*
		Ít	*Trung bình*	*Nhiều*		
Việt Bắc- Hoàng Liên Sơn	76	39	18	19	483,37	15.000,00
Đông Bắc	79	38	26	15	158,00	15.000,00
Tây Bắc	82	43	22	17	10656,00	16.000,00
Đồng bằng sông Hồng	39	19	11	9		10.000,00
Bắc Trung Bộ	77	30	26	21	818,35	15.000,00
Nam Trung Bộ	69	29	19	21	325,25	15.000,00
Tây Nguyên	65	35	11	19	4271,85	20.000,00
Đông Nam Bộ	44	23	11	10	456,00	10.000,00
Đồng bằng sông Cửu Long	27	12	11	4	1154,20	5.000,00
Tổng số	**109**				**18.323,07**	**121.000,00**

Những loài cây thuốc đang bị suy giảm nghiêm trọng do khai thác quá mức và những cây thuốc quý hiếm được tổng hợp từ các phiếu điều tra có 85 loài trong đó nhóm loài đang đứng trước nguy cơ tuyệt trủng 17 loài, nhóm loài sắp bị nguy cấp 14 loài, nhóm loài đang bị rủi ro cao 31 loài và nhóm loài đang bị suy giảm nghiêm trọng 23 loài. Đây là những loài cần có biện pháp cụ thể bảo vệ và phát triển

2. Cây thuốc trồng

Thống kê số xã còn trồng cây thuốc trong các huyện điều tra đã giảm so với những năm trước 1995. Hầu hết các vùng trồng cây thuốc truyền thống đã giảm về

sản lượng và diện tích trồng như: Thanh Trì Hà Nội, Sình Hồ Lai Châu, Bắc Hà Lào Cai, Phó Bảng Hà Giang, Thạch Thất Hà Tây...

Số hộ nông dân trồng cây thuốc hàng hóa giảm rất lớn. Trước năm 1995 nhiều vùng số hộ trồng cây thuốc chiếm 25 - 30% nay không trồng nữa. Ở nhiều xã thuộc Hải Dương, Hưng Yên số hộ trồng cây thuốc chiếm 70 - 80% nay giảm xuống còn 20 - 25%.

Thống kê cho thấy: số loài cây thuốc, diện tích, sản lượng đều suy giảm rất lớn so với thời gian 1995. Một số cây thuốc dài ngày tham gia các chương trình sản xuất sinh thái tăng nhanh về diện tích, vùng trồng như quế, hoè, thảo quả, nhãn, hồi... số loài cây trồng là 57 loài, trong bảng sau:

Vùng	Việt Bắc	Tây Bắc	ĐB sông Hồng	Bắc TB	Nam TB	Tây Nguyên	Đ Nam Bộ	ĐB sông Cửu Long
Loài	18	32	14	35	12	32	11	8

Số loài cây thuốc được trồng nhiều nhưng diện tích không lớn nên sản phẩm hàng hóa không nhiều. 80% ý kiến hộ nông dân cho rằng dược liệu đang thiếu thị trường ổn định, 70% ý kiến cho rằng nhà nước không có chính sách khuyến khích và bảo vệ cây trồng làm thuốc như các cây công nghiệp quan trọng khác trong cơ chế thị trường hiện nay.

3. Đề xuất giải pháp cho phát triển cây thuốc

Khai thác hợp lý, bảo tồn gắn với phát triển và sử dụng lâu bền cây thuốc mọc tự nhiên. 120 loài cây thuốc có giá trị sử dụng phổ biến và giá trị thương phẩm cần có kế hoạch và giải pháp hợp lý để khai thác. Nhóm loài còn trữ lượng lớn cần xây dựng kế hoạch luân chuyển vùng khai thác gồm 33 loài. Nhóm loài còn trữ lượng trung bình cần có kế hoạch khai thác hạn chế, định thời gian khai thác cho từng vùng và kỹ thuật khai thác gắn với bảo vệ tái sinh được giám sát chặt chẽ gồm 30 loài. Nhóm loài có thể tiếp tục khai thác trong tự nhiên đồng thời nghiên cứu đưa vào trồng thêm để chủ động nâng cao sản lượng gồm 22 loài. Đối với cây thuốc bị suy giảm nghiêm trọng trong diện quý hiếm phải đình chỉ khai thác, có biện pháp bảo tồn và phát triển ngay.

Khôi phục và phát triển vùng trồng cây thuốc là cấp thiết để chủ động được nguyên liệu, đảm bảo sản lượng và chất lượng dược liệu. Áp dụng biện pháp quản lý và chính sách đòn bẩy để tạo thị trường cho việc phát triển cây thuốc.

IV. KẾT LUẬN

Dược liệu là nguồn lực chủ yếu đưa ngành Dược hoà nhập cơ chế thị trường. Kết quả đánh giá hiện trạng tài nguyên cây thuốc đã chỉ ra những lợi thế và những yếu kém phải sớm khắc phục trong định hướng phát triển dược liệu trước mắt và lâu dài

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Võ Văn Chi, 1997.*
Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học.

2. *Tổng công ty Dược Việt Nam, 1997.*
Quy hoạch sản xuất và phát triển dược liệu. Tài liệu lưu hành nội bộ.

3. *Viện Dược liệu.*
Báo cáo kết quả điều tra dược liệu 1961 - 1995. Tài liệu lưu trữ tại Phòng Tài nguyên.

4. *Viện Dược liệu.*
Danh lục cây thuốc Việt Nam. Tài liệu lưu hành nội bộ, lưu giữ tại Phòng Tài nguyên

5. *Viện Dược liệu.*
Số liệu về khai thác thu mua dược liệu ở Việt Nam từ 1961 - 1985. Tài liệu nội bộ, lưu giữ tại Phòng Tài nguyên.

CÂY THUỐC TRONG HỆ THỰC VẬT SA PA - PHAN XI PAN

Đinh Văn My, Nguyễn Bá Hoạt, Ngô Văn Trại, Nguyễn Chiêu, Nguyễn Tập và cộng sự

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sa Pa là huyện vùng cao trên sườn đông bắc dãy Hoàng Liên Sơn có đỉnh Phan Xi Pan cao 3143m, được coi là nóc nhà của Đông Dương. Cho đến nay, đã có nhiều nhà thực vật nghiên cứu hệ thực vật ở vùng sinh thái đặc biệt này, nhưng hệ cây thuốc chưa được điều tra nghiên cứu đầy đủ. Chúng tôi đã tiến hành 2 dự án "Đánh giá thực trạng nguồn dược liệu Việt Nam" năm 1997 và "Điều tra đánh giá tiềm năng dược liệu một số vùng trọng điểm của tỉnh Lao Cai" năm 1998 đều chọn Sa Pa - Phan Xi Pan là vùng nghiên cứu trọng điểm. Kết quả nghiên cứu được trình bày dưới đây.

II. PHƯƠNG PHÁP

Phương pháp nghiên cứu đã được áp dụng gồm: Hồi cứu các nguồn tư liệu đã công bố về thực vật và dược liệu khu vực Sa Pa - Phan Xi Pan và áp dụng quy trình điều tra dược liệu - Bộ Y tế năm 1973 và phương pháp điều tra trữ lượng dược liệu - Viện Dược liệu 1972 để tiến hành bổ sung.

III. KẾT QUẢ

Thành phần cây thuốc trong hệ thực vật Sa Pa - Phan Xi Pan được thể hiện trong bảng 1, 2.

Ở huyện Sa Pa, đã phát hiện được 706 loài cây thuốc thuộc 565 chi của 154 họ thực vật. Đối chiếu với các tài liệu (Võ Văn Chi 1975; Lê Trần Chấn 1996 và Nguyễn Nghĩa Thìn 1998) thì có 195 loài cây thuốc đã được công bố mà chúng tôi chưa gặp. Như vậy số loài dùng làm thuốc đã phát triển ở Sa Pa lên tới 901 loài. Ngược lại, có tới 207 loài cây thuốc chưa được công bố thấy có ở Sa Pa trong các tài liệu nêu trên.

Bảng 1. **Thành phần cây thuốc trong hệ thực vật Sa Pa - Lao Cai**

TT	*Ngành thực vật*	*Số họ*	*Số chi*	*Số loài*	*Số loài làm thuốc*	
					Số lượng	*%*
1	Ngành thông đất	2	3	24	4	16
2	Ngành cỏ tháp bút	1	1	2	1	50
3	Ngành dương xỉ	17	74	273	67	24
4	Ngành hạt trần	4	8	10	4	40
5	Ngành hạt kín					
	Một lá mầm	20	156	361	122	33
	Hai lá mầm	110	601	1434	703	49
Số họ không có loài làm thuốc						
1	Ngành dương xỉ	7	14	35	0	
2	Ngành hạt trần	1	2	3	0	
3	Ngành hạt kín	34	47	155	0	
Tổng số		196	906	2297	901	

Nhóm cây thuốc đã được sử dụng phổ biến, trở thành hàng hoá, hiện nay trong tự nhiên còn khả năng khai thác 10 - 30 tấn/năm được thống kê là30 loài. Những loài quan trọng là bình vôi, cẩu tích, chè dây, chùa dù, đảng sâm, hà thủ ô đỏ, hy thiêm, ích mẫu, nga truật, ngũ gia bì, táo mèo (sơn tra), thiên niên kiện, tục đoạn, thạch xương bồ v.v.. Trong đó có nhiều loài cây thuốc quý như bẩy lá một hoa, củ cần, hoàng tinh vòng, cẩm địa la, dâm dương hoắc, nữ lang, sì to, phòng kỷ, thông thảo. Tình trạng khai thác bừa bãi không gắn với bảo vệ tái sinh đang làm cho nhiều loài quý trở nên hiếm gặp, không còn khả năng khai thác hoặc đứng trước nguy cơ tuyệt chủng.

Nhóm cây thuốc quý hiếm ở Sa Pa đánh giá theo khung phân hạng của I.U.C.N. được thống kê là 36 loài, bao gồm 10 loài đang bị nguy cấp (Endangered), 8 loài sắp bị nguy cấp (Vulnerable), 11 loài hiếm (Rare) và 7 loài đang bị đe doạ (Threatened) (Bảng 2). Phá rừng làm nương rẫy mất hệ sinh thái rừng làm nhiều cây thuốc quý bị thu hẹp khu phân bố. Việc khai thác đến mức cạn kiệt cây thuốc và các lâm sản khác đẩy nhanh nhiều cây thuốc tới nguy cơ tuyệt chủng.

***Bảng 2.* Cây thuốc quý hiếm đang bị đe doạ tại Sa Pa**
(Theo khung phân hạng IUCN)

Đang bị nguy cấp (Endangered-E.)	*Sắp bị nguy cấp (Vulnerable -V.)*	*Loài hiếm (Rare-R.)*	*Bị đe doạ (Threatened-T.)*
Sâm vũ diệp (*Panax bipinnatifidus*)	Cỏ thơm (*Lysimachia congestifolia*)	Bách hợp (*Lilium brownii*)	Thông thảo (*TetraPanax papyriferus*)
Sâm tam thất (*Panax stipuleanatus*)	Hoàng liên lùn (*Berberis julianae*)	Bạch cập (*Bletilla striata*)	Bẩy lá một hoa (*Paris* spp.)
Hoàng liên chân gà (*Coptis quinquisecta*)	Sốt rét lá nhỏ (*Reineckea carnea*)	Bát giác liên (*Podophyllum tonkinense*)	Biến hóa (*Asarum* spp.)
Ngũ gia bì hương (*AcanthoPanax gracilistylus*)	Tiền hồ (*Peucedalum decursivum*)	Hồi nước (*Limnophila rugosa*)	Thạch xương bồ (*Acorus tatarinowii*)
Thông đỏ (*Taxus* spp.)	Hoàng liên ô rô (*Mahonia japonica*)	Mã đậu linh (*Aristolochia* spp.)	Đại kế (*Cirsium japonicum*)
Kim tuyến (*Anoectochilus setaceus*)	Sì to (*Valeriana satamansi*)	Tắc kè đá (*Drynaria bonii*)	Lan mùn vàng (*Galeola nudiflora*)
Thổ hoàng liên (*Thalictrum* spp.)	Hoàng tinh vòng (*Polygonatum kingianum*)	Lá khôi (*Ardisia silvestris*)	Thanh giáp (*Helwingia himalaica*)
Thiên môn ráng (*Asparagus filicinus*)	Thạch hộc (*Dendrobium nobile*)	Ngọc trúc (*Polygonatum odoratum*)	
Một lá (*Nervilia ragoana*)		Hoàng liên gai (Berberis wallichii)	
Hoàng liên bắc (*Coptis chinensis*)		Bổ béo tía (*Polygala aureocauda*)	

Nhóm cây thuốc trồng ở mức độ khác nhau được thống kê bao gồm trên 80 loài, được trồng phổ biến trở thành hàng hóa có 23 loài, trong đó 16 loài là cây thuốc nhập nội từ Trung Quốc, Triều Tiên, Nhật Bản. Sa Pa đã trở thành địa phương cung cấp chủ yếu giống cây thuốc trồng có nguồn gốc Á nhiệt đới cho cả nước.

IV. KẾT LUẬN

Sa Pa - Phan Xi Pan là vùng giầu tiềm năng về cây làm thuốc. Kết quả điều tra của chúng tôi đã khẳng định sự phong phú về số loài thực vật làm thuốc (706 loài), nhiều loài quý hiếm (36 loài) cần được bảo vệ, nhiều loài còn khả năng khai

thác (30 loài) cần nhanh chóng quy hoạch và hướng dẫn kỹ thuật khai thác gắn với bảo vệ tái sinh. Sa Pa còn là vùng trồng cây thuốc quan trọng với nhiều loài nhập nội á nhiệt đới (23 loài) cần tổng kết và đầu tư phát triển.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Lê Trần Chấn, 1996.*
Phan Xi Pan nguồn gen thực vật quý hiếm cần được bảo vệ. Hội thảo về Phan Xi Pan Hà Nội.

2. *Võ Văn Chi, 1975.*
Hệ thực vật và thảm thực vật vùng núi Sa Pa tỉnh Lao Cai. Hà Nội. (Tài liệu lưu hành nội bộ)

3. *Võ Văn Chi, 1977.*
Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học, Hà Nội.

4. *Nguyễn Nghĩa Thìn, 1998*
Đa dạng thực vật có mạch vùng núi cao Sa Pa - Phan Xi Pan. NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.

5. *Nguyễn Tập, 1996.*
Bảo tồn những cây thuốc quý hiếm có nguy cơ bị tuyệt chủng ở Việt Nam. Luận văn PTS, Hà Nội.

KẾT QUẢ ĐIỀU TRA CÂY THUỐC Ở VÙNG RỪNG HƯƠNG SƠN, TỈNH HÀ TĨNH

Nguyễn Tập, Ngô Văn Trại, Nguyễn Chiều, Lê Thanh Sơn, Phạm Thanh Huyền, Phan Kế Lộc[1]

SUMMARY

Survey results of medicinal plants in the forest of Huong Son, Ha Tinh province

The resources of natural medicinal plants of Huong Son-Ha Tinh povince rather abundant in amount of species and potentiality of exploitation. There are 307 species of medicinal plants of 105 families have been identified in the flora of this area. In which, about 20 species of medicinal plants with a large reserves are can be exploited for use. Some other are and threatened medicinal plants necessary for conservation.

*
* *

I. MỞ ĐẦU

Từ năm 1961 đến nay, công tác điều tra về nguồn tài nguyên dược liệu đã được ngành y tế liên tục triển khai trên phạm vi toàn quốc. Tuy nhiên, hiện vẫn còn những vùng rừng núi xa xôi, có nguồn cây thuốc phong phú chưa có điều kiện điều tra. Vùng rừng ở phía tây nam huyện lỵ Hương Sơn, giáp biên giới Việt Lào, do công ty lâm nghiệp và dịch vụ Hương Sơn, tỉnh Hà Tĩnh quản lý là một ví dụ. Chính vì thế, vấn đề điều tra tiềm năng cây thuốc mọc tự nhiên ở đây đã trở thành một trong những nội dung chủ yếu, trong đề tài cấp nhà nước " Đánh giá tiềm năng tài nguyên thực vật ngoài gỗ vùng rừng Hương Sơn, tỉnh *Hà Tĩnh", mã số* KHCB.6.2.11.

II. PHƯƠNG PHÁP

Đã áp dụng các phương pháp điều tra nghiên cứu như: Quy trình điều tra dược liệu - Bộ Y tế, 1973; Phương pháp đánh giá trữ lượng dược liệu - Viện Dược liệu, 1971; Pháp quy điều tra quy hoạch rừng - Bộ Lâm nghiệp 1977...

Việc điều tra về cây thuốc được tiến hành đồng thời với các nhóm điều tra tài nguyên thực vật khác, tại các phân trường và khu vực: Keo Nưa, Nước Sốt, Rào Mắc, Hồng Lĩnh và Khe Lét.

III. KẾT QUẢ

1. Về thành phần loài

Đã xác định được 307 loài, thuộc 105 họ thực vật bậc cao có mạch được sử dụng làm thuốc. Cụ thể: ngành Licopodiophyta; 1 loài thuộc 1 họ; Equisetophyta: 1 loài, 1 họ; Polypodiophyta; 19loài, 7 họ; Pinophyta; 3 loài, 3 họ; Magnoliophyta: 293 loài, 93 họ trong đó thuộc lớp 2 lá mầm (Dycotyledones = Magnoliopsida) 249 loài, 75 họ và lớp một lá mầm (Monocotyledones = Liliopsida): 44 loài, 18 họ. Trong số 105 họ, có 5 họ đã ghi nhận trên 10 loài cây thuốc; số họ còn lại chỉ có từ 1-9 loài

Trong số 307 loài đã phát hiện, có 2 loài thuộc họ Aristolochiaceae là những cây thuốc mới, lần đầu tiên đã tìm thấy trong hệ thực vật Việt Nam. Đó là phòng kỷ (*Aristolochia zollingeriana* Mig.): rễ chữa phong thấp; mẫu thu ở khu vực Rào mắc và ngũ linh tế tân (*Asarum wulingense F. Liang;* sp.nov.): rễ chữa rắn cắn; mẫu thu ở vùng Keo Nưa, độ cao khoảng 800m.

2. Khả năng khai thác sử dụng

Tất cả 307 loài cây thuốc đã phát hiện đều là những cây mọc tự nhiên trong các quần thể rừng. Xét về giá trị sử dụng, phần lớn là những cây thuốc sử dụng trong y học dân tộc. Một số loài là nguồn cung cấp nguyên liệu chiết xuất các hợp chất tự nhiên để làm thuốc. Hiện có khoảng trên 20 loài là những cây thuốc có giá trị sử dụng và thương mại, hiện còn nguyên trạng với trữ lượng lớn, như: Thiên niên kiện (*Homalomena occulta*); Ngũ gia bì chân chim (có tới 4 loài thuộc chi *Schefflera*); Cẩu tích (*Cibotium barometz*)... ước tính mỗi loài từ 100 tấn trở lên. Một số loài khác, ước tính có thể khai thác được vài chục tấn, như: Hoàng đằng (*Fibraurea tinetoria*); Câu đằng (*Uncaria* spp.); Thạch xương bồ (*Acorus giamineus*); Lá khôi (*Ardisia sylvestris*)... Đáng lưu ý rằng, một số loài vốn có tên trong sách đỏ Việt Nam, song ở Hương Sơn lại tỏ ra khá phong phú, chưa hề bị khai thác, như lá khôi, hoàng đằng, cẩu tích... về một số loài cây thuốc thuộc diện quý hiếm khác, ở

vùng Hương Sơn có bẩy lá một hoa (*Paris polyphylla* Sm. var. *chinesnis* (Fracnh) Hara); cỏ nhung (*Anoectochilus setaceus* Blume) loài này đang bị thu gom bán ra nước ngoài; phá lủa (*Tacca subflabellata* P.P.Ling et C.T.Ting)... những loài này ở đây cũng hiếm gặp.

3. Vấn đề quản lý, bảo vệ, khai thác hợp lý đi đôi với phát triển tiềm năng cây thuốc ở vùng rừng Hương Sơn

Vùng rừng Hương Sơn tỉnh Hà Tĩnh là một nơi có nguồn cây thuốc tự nhiên phong phú và gần như còn nguyên trạng hiếm thấy ở Việt Nam hiện nay. Để duy trì sự khai thác lâu dài nguồn tài nguyên này cần lưu ý:

- Trước mắt chỉ cho phép khai thác lớn khoảng 20 loài kể trên. Khi khai thác cần áp dụng quy trình khai thác đối với từng loài, về mùa khai thác (tránh mùa hoa quả, cách khai thác chừa cây giống và để cây tái sinh chồi...)

- Tăng cường khâu quản lý cây thuốc: coi cây thuốc là nguồn lâm sản đặc biệt. Việc khai thác cây thuốc cần quy định về khai thác quản lý rừng của lâm trường. Cấm khai thác các loài có tên trong sách đỏ và danh mục cây thuốc quý hiếm cần bảo vệ

- Đi đôi với khai thác có kế hoạch, có thể đưa thêm một số loài cây thuốc quý khác (vốn mọc tự nhiên ở nơi khác) vào trồng thêm ở những nơi thích hợp, tạo thêm nguồn hàng xuất khẩu. Ví dụ: sa nhân tím (*Amomum longiligulare* T.L.Wu) vì 2 loài sa nhân hiện có ở vùng rừng Hương Sơn không thấy có quả hoặc quả không có giá trị thương phẩm, ba kích (*Morinda officinalis* How) trồng trong các mô hình trang trại...

IV. KẾT LUẬN

1. Qua điều tra đã xác định có 307 loài thực vật bậc cao có mạch được dùng làm thuốc. Phát hiện 2 loài thuộc họ Aristolochiaceae là những cây thuốc mới đối với Việt Nam

2. Bên cạnh sự phong phú về thành phần loài, đã xác định có trên 20 loài là những cây thuốc có giá trị sử dụng và kinh tế cao, có trữ lượng khá lớn có thể khai thác được ngay. Một số loài có tên trong sách đỏ Việt Nam, song ở đây mọc khá tập trung và trong giới hạn nào đó lại có thể khai thác được (hoàng đằng, lá khôi...) Một vài loài khác (cỏ nhung, bảy lá một hoa, phá lủa...) rõ ràng là những cây thuốc quý hiếm cần bảo vệ.

3. Với mục đích khai thác lâu dài nguồn cây thuốc ở vùng rừng Hương Sơn, cần có kế hoạch hợp lý ngay từ khâu khai thác, tăng cường công tác bảo vệ, khai thác đi đôi với phát triển trồng thêm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. Acta phytotaxonomica Sinica, 1975, vol XIII (2): 18-19, 22.

2. *Nguyễn Tiến Bân và những người khác, 1996.*
Sách đỏ Việt Nam, Tập II- Thực vật.

3. *Huang, Sing-Fan, 1996.*
Aristolochiaceae; in Flora of Taiwan, Vol. II: 336-342

4. *Nguyễn Tập, 1996.*
Nghiên cứu bảo tồn những cây thuốc quý hiếm có nguy cơ bị tuyệt chủng ở Việt Nam; Luận án tiến sĩ sinh học.

5. *Viện Dược liệu, 1961-1985.*
Kết quả điều tra dược liệu tỉnh Hà tĩnh và các tư liệu khác (tài liệu lưu trữ, Viện Dược liệu).

ĐÁNH GIÁ TIỀM NĂNG VÀ QUY HOẠCH PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU 4 HUYỆN VÙNG CAO NÚI ĐÁ TỈNH HÀ GIANG

Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Tập, Nguyễn Văn Thuận, Ngô Văn Trại, Lê Khúc Hạo, Nguyễn Chiều, Ngô Quốc Luật, Phạm Thanh Huyền, Trần Toàn, Lê Thanh Sơn, Nguyễn Thị Tuấn và cộng sự

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hà Giang là một tỉnh miền núi nằm ở cực bắc của Tổ quốc. Với điều kiện tự nhiên địa hình và khí hậu đa dạng, đặc biệt 4 huyện vùng cao núi đá nằm dọc biên giới Việt Trung: Đồng Văn; Mèo Vạc; Yên Ninh và Quản Bạ cần được đánh giá tiềm năng cây thuốc, quy hoạch và phát triển dược liệu nhằm chuyển đổi cơ cấu cây trồng phát triển kinh tế vùng cao

II. KẾT QUẢ

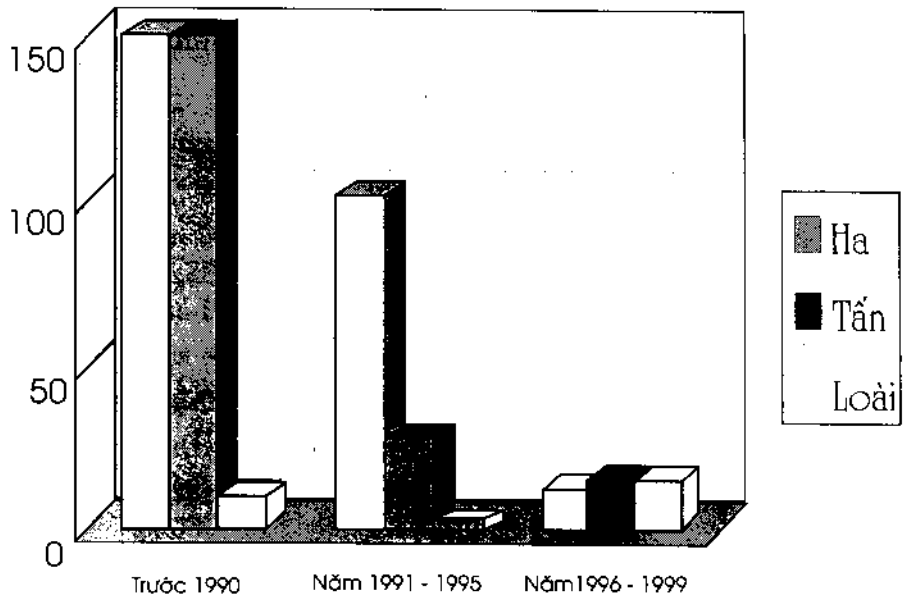
Kết quả điều tra đánh giá hiện trạng nguồn cây thuốc mọc tự nhiên 4 huyện vùng cao núi đá Hà Giang được thể hiện trong bảng sau:

TT	*Huyện*	*Số loài làm thuốc*	*Thuộc số chi*	*Thuộc số họ*
1	Đồng Văn	564	432	147
2	Mèo Vạc	542	421	137
3	Yên Ninh	495	376	124
4	Quảng Bạ	592	454	147

Tổng hợp cây thuốc có ở 4 huyện vùng cao núi đá phía bắc Hà Giang 665 loài thuộc 159 họ thực vật trong đó cây thuốc á nhiệt đới và ôn đới ấm chiếm 30% số loài, nhóm cây trồng chiếm trên 100 loài. Cây thuốc phân bố còn khá tập trung chủ yếu ở các khu vực còn rừng như vùng Bát Đại Sơn vùng núi Ba Tiên - Hố Than (Quảng Bạ) vùng Du Già (Yên Minh) vùng Sán Tớ (Mèo Vạc) Vùng Củng Chá

(Đồng Văn). Đã phát hiện trên 30 loài có giá trị sử dụng phổ biến và giá trị thương mại còn trữ lượng có thể khai thác trong tự nhiên: Có 6 loài trữ lượng từ 100 – 1000 tấn là bình vôi, cẩu tích, nga truật, ngải cứu dại, nghệ vàng, ngũ gia bì chân chim, 10 loài mọc trên núi đá vôi vùng cao như cẩu tích, đảng sâm, chè dây, hà thủ ô đỏ, hạ khô thảo, hoàng tinh, táo mèo... Đã phát hiện 26 loài 16 họ thuộc nhóm cây thuốc quý hiếm trong đó 17 loài đang bị đe dọa tuyệt chủng cần sớm được tổ chức bảo vệ nghiêm ngặt.

Kết quả điều tra tình hình trồng cây thuốc ở 4 huyện vùng cao núi đá Hà Giang



Cây thuốc trồng truyền thống: xuyên khung, huyền sâm, bạch chỉ, ô đầu, đỗ trọng, tam thất... vào những năm 1991 - 1995 chỉ còn trồng 2 cây đỗ trọng và ích mẫu nhưng không có địa chỉ tiêu thụ. Giai đoạn 1996 - 1999 phối hợp với Viện Dược liệu nghiên cứu khảo sát tập đoàn cây thuốc cho 4 huyện vùng cao và bước đầu đưa vào sản xuất 2 cây đương quy, lão quan thảo. Thị trường dược liệu thúc đẩy hộ nông dân sản xuất một số cây thuốc nhưng diện tích trồng còn thấp

Xây dựng mô hình trồng cây thuốc ở 2 địa điểm thí nghiệm: Phó Bảng - Đồng Văn (độ cao 1500m) và Quyết Tiến - Quản Bạ (độ cao 800m). Mỗi điểm trồng 10 loài, mỗi loài 100m^2. đánh giá tốc độ sinh trưởng, khả năng phát triển, năng xuất và chất lượng dược liệu. Kết quả khảo nghiệm tạo cơ sở cho việc đề xuất phát triển các cây thuốc như đương quy, lão quan thảo, ngưu tất, ích mẫu, bạch truật, actiso, mã đề, vân mộc hương, tiểu hồi, thảo quả, đỗ trọng.

Quy hoạch phát triển dược liệu cho 4 huyện vùng cao núi đá Hà Giang trước hết cần khoanh vùng bảo vệ khai thác hợp lý nhằm phát triển tiềm năng cây thuốc tự nhiên của vùng sinh thái đặc biệt này. Bảo tồn đi đôi với nghiên cứu phát triển trồng bán tự nhiên mở rộng diện tích phân bố các cây thuốc quý hiếm có nguy cơ bị tuyệt chủng. Phải tăng cường công tác quản lý tài nguyên cây thuốc trong khai thác thu mua trước hết ở 6 vùng còn cây thuốc tập trung.

Quy hoạch phát triển cây thuốc trồng theo hướng sản xuất sinh thái bền vững với sự phối hợp hài hoà của 4 nhóm cây trồng: Tham gia trồng rừng cải tạo môi trường sinh thái bảo vệ đất có hoàng bá, đỗ trọng, táo mèo. Trồng vành đai chống xói mòn có tiểu hồi, hoài sơn, huyền sâm, tục đoan, actiso. Trồng xen canh với cây ngô có lão quan thảo. Trồng luân canh với đậu tương, lúa nương và ngô có đương quy, ích mẫu, ngưu tất, bạch truật, vân mộc hương.

III. KẾT LUẬN

Kết quả điều tra đánh giá cây thuốc của 4 huyện vùng cao núi đá tỉnh Hà Giang cho thấy đây là vùng giầu tiềm năng. Cây thuốc phong phú với 665 loài thuộc 259 họ thực vật, trong đó có 30 loài có trữ lượng có thể khai thác, 26 loài cây thuốc quý hiếm cần bảo vệ, xác định 6 vùng cây thuốc mọc tập trung cần khoanh nuôi bảo vệ và khai thác hợp lý. Đây còn là vùng có truyền thống trồng cây thuốc có khả năng phát triển thành vùng sản xuất hàng hóa tập trung của 10 loài cây thuốc quan trọng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Võ Văn Chi, 1997.*

Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học, Hà Nội.

2. *UBND tỉnh Hà Giang, 1995.*

Quy hoạch tổng thể phát triển kinh tế - Xã hội tỉnh Hà Giang. Tài liệu lưu hành nội bộ. Hà Giang.

3. *Nguyễn Tập, 1996.*

Bảo tồn những cây thuốc quý hiếm có nguy cơ tuyệt chủng ở Việt Nam. Luận văn PTS. Hà Nội.

4- *Phạm Trí Thành, 1977.*

Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

CÔNG TÁC NHẬP NỘI GIỐNG CÂY LÀM THUỐC CỦA VIỆN DƯỢC LIỆU TRONG 10 NĂM QUA (1990 - 2000)

Nguyễn Bá Hoạt, Ngô Quốc Luật

Nhập giống cây trồng nói chung và cây làm thuốc nói riêng là sự di chuyển giống cây trồng từ điều kiện môi trường sống ở vùng này tới điều kiện môi trường sống ở vùng khác nhằm đáp ứng nhu cầu sử dụng của con người. Đây là giải pháp quan trọng nhằm cung ứng giống cây thuốc mới cho nhu cầu sản xuất nguyên liệu làm thuốc. Mười năm qua (1990-2000) Viện Dược Liệu đã đạt được một số kết quả tốt trong việc nhập nội giống cây thuốc, tạo nên một số giống mới có giá trị kinh tế và giá trị chữa bệnh cao đang được ứng dụng đưa vào sản xuất dược liệu, chủ động nguyên liệu cho sản xuất thuốc trong nước và tham gia xuất khẩu.

Trong 10 năm qua Viện Dược liệu đã nhập nội 66 mẫu cây giống thuốc khác nhau từ nhiều quốc gia như: Nhật Bản; Trung Quốc; Ấn Độ; Pháp; Nam Triều Tiên; Anbani; Đức. Đặc biệt nguồn giống được cung cấp từ Nhật Bản thông qua chương trình hợp tác nghiên cứu và phát triển dược liệu giữa Viện Dược liệu (Việt Nam) và công ty Honso (Nhật Bản) với định hướng nghiên cứu nhập nội và phát triển sản xuất những cây thuốc thị trường khu vực và quốc tế có nhu cầu. Phía Nhật Bản đã cung cấp 26 giống cây thuốc để qua nghiên cứu, đánh giá, kết quả đã có 6 giống được đưa vào sản xuất tạo mặt hàng xuất khẩu với sản lượng vài chục tấn/năm.

Nhiều giống nhập nội đã đổi mới thay thế giống cũ đã thoái hóa kém phẩm chất như đương quy Nhật; cát cánh; bạch truật; sả; bạc hà; sài hồ bắc; độc hoạt; tiểu hồi; hoài sơn.... Nhiều giống nhập nội đã tạo ra giống mới mặt hàng dược liệu mới của thị trường Việt Nam như lão quan thảo (*Geranium nepalensis* var. *thunbergii*) chè xanh Nhật Bản (*Hydrangea macrophylla* var *thunbergii*), sả Ấn Độ (*Cymbopogon winterianus*), đảng sâm Trung Quốc (*Codonepsis pilosula*)....

Công tác nghiên cứu đánh giá giống cây thuốc nhập nội đã được củng cố, tổ chức lại. Viện Dược liệu đã ban hành văn bản "Quy định về công tác nhập nội giống cây thuốc thuộc Viện Dược liệu". Văn bản đã quy định rõ về quản lý mọi nguồn giống đưa vào các đơn vị nghiên cứu phải đăng ký qua Phòng Kế hoạch tổng hợp vào sổ gốc xác định nguồn gốc, giá trị và định hướng nghiên cứu, thời gian và kế

hoạch giao các đơn vị thực hiện. Về kỹ thuật quy định rõ các chỉ tiêu phải đánh giá, hồ sơ đánh giá từng năm, báo cáo tổng kết hoàn thiện hồ sơ chuyển sang nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn giống và kỹ thuật trồng. Chỉ khi đó mới được đưa đi đánh giá khảo nghiệm ở cơ sở. Về quyền lợi quy định quyền tác giả đối với giống mới sau khi đã nhập nội thành công. Mười năm qua công tác quản lý nhập nội giống cây thuốc có tiến bộ nhưng chưa thực hiện đầy đủ quy định của văn bản đã ban hành.

Viện Dược liệu đã sắp xếp lại hệ thống nghiên cứu nhập nội trong các đơn vị trực thuộc và mở rộng mạng lưới tham gia nghiên cứu đánh giá. Vùng sinh thái tham gia nghiên cứu nhập nội thuộc Viện Dược liệu có đơn vị đại diện cho các vùng sinh thái khác nhau là: Vùng sinh thái núi cao phía bắc Trạm N/c Sa Pa Lào Cai (1600m) vùng sinh thái Trung du Trạm N/c Tam Đảo Vĩnh Phúc (900m) vùng đồng bằng sông Hồng Trung tâm N/c Thanh Trì Hà Nội. Vùng cao tây nguyên Trung tâm nghiên cứu Đà Lạt Lâm Đồng (1600m). Viện Dược liệu đã chú ý mở rộng hợp tác nghiên cứu nhập nội cây thuốc với các đơn vị mạng lưới như Trạm Dược liệu Hải Dương (Đồng bằng sông Hồng), Trạm dược liệu Thanh Hóa (Ven biển Bắc miền trung). Mở rộng nghiên cứu đánh giá giống mới sau nghiên cứu nhập nội đưa xuống địa phương xác định khả năng thích nghi của giống nhằm đáp ứng nhu cầu xây dựng vùng nguyên liệu tại cao nguyên Mộc Châu Sơn La, cao nguyên Đồng Văn Hà Giang, vùng cao Mai Châu Hoà Bình.

Kết quả nghiên cứu nhập nội ở các đơn vị đánh giá chi tiết 41 giống đã được tổng kết, 25 giống không thích nghi khí hậu Việt Nam. Đây là cơ sở khoa học tin cậy cho kế hoạch nghiên cứu phát triển sản xuất giống khi thị trường có nhu cầu. Việc bảo tồn lưu giữ các giống sau khi được đánh giá còn thiếu chặt chẽ nên nhiều giống mất đi sau vài năm đánh giá nhập nội. Hiện nay công tác bảo tồn nguồn gen cây thuốc đã xếp cây thuốc sau đánh giá nhập nội đưa vào bảo tồn là 1 trong 4 nhóm cây thuốc ưu tiên lưu giữ.

40 năm hoạt động nghiên cứu dược liệu, Viện Dược liệu luôn luôn chú trọng đến công tác nhập nội giống cây thuốc. Nhiều giống cây thuốc đang được mở rộng diện tích xản xuất phục vụ nhu cầu trong nước và xuất khẩu là thành quả của công tác nhập nội giống cây thuốc. Tuy vậy việc đầu tư của ngành cho công tác này còn quá ít chưa tạo điều kiện và khuyến khích phát triển. Ngành Y tế chưa có đề tài hay chương trình về công tác giống cây thuốc, chưa tổ chức công nhận giống cấp ngành để đưa vào sản xuất, công tác thanh tra kiểm tra giống cây thuốc chưa được thực hiện. Những tồn tại trên là một trong những nguyên nhân làm cho việc phát triển trồng cây thuốc của nhiều vùng nguyên liệu chững lại hoặc giảm sút, dược liệu ngoại nhập chất lượng kém đang chiếm lĩnh thị trường.

NGHIÊN CỨU DI THỰC NHẬP NỘI CÁC CÂY THUỐC Ở TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU TRỒNG VÀ CHẾ BIẾN CÂY THUỐC HÀ NỘI TỪ 1992 - 1999

Nguyễn Thị Hoà, Nguyễn Bá Hoạt
Bùi Thị Bằng, Nguyễn Văn Thuận

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Để tìm kiến những nguyên liệu mới làm thuốc chúng tôi đã di thực một số cây thuốc hoang dại và nhập các giống cây thuốc ở Nhật Bản, Ấn Độ, Trung Quốc v.v... Cụ thể là các cây: sài hồ, rau đay Nhật, *Hibiscus manihot,* gô bô, tía tô, bạch quả, gừng, đậu tương đen, lão quán thảo, trinh nữ hoàng cung.

Bài viết này chỉ trình bày những kết quả nghiên cứu di thực các cây sài hồ, *Hibiscus manihot* và cây rau đay.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu nghiên cứu là các hạt giống nhập từ nước ngoài được gieo trồng trong các chậu vại và ngoài đồng ruộng từ 1992 - 1999 ở điều kiện thời tiết đồng bằng Bắc Bộ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Cây sài hồ *Bupleurum sinense* thuộc họ hoa tán Umbelliraceae

Hạt giống được nhập vào Việt Nam năm 1992, qua các năm di thực, cây Sài hồ thích nghi với điều kiện sống ở đồng bằng Bắc Bộ, chiều cao cây từ 90 - 110cm, thời gian sinh trưởng là 280 - 300 ngày. Thời vụ thích hợp gieo tháng 9.

Năng xuất, hàm lượng chất tan trong cây, hàm lượng saponin trong rễ sài hồ được thể hiện ở bảng 1.

Kết quả cho thấy cây sài hồ trồng 3 năm tuổi cho năng suất cao và hàm lượng chất tan trong cồn và saponin cũng cao hơn cây 1 năm tuổi.

Bảng 1. **Năng suất chất lượng rễ sài hồ nhập nội**

Tên dược liệu	*Tuổi cây*	*Năng suất khô (gr)*	*Hàm lượng % so với khối lượng khô tuyệt đối của rễ*	
			Chất tan trong cồn 50°	*Saponin*
Rễ sài hồ	6 tháng	1,6	18,92	4,51
	3 năm	14,5	24,08	6,24

2. Cây *Hibiscus manihot* thuộc họ bông Malvaceae

Hạt giống *Hibiscus manihot* được nhập từ Nhật Bản về Việt Nam năm 1992. Tỷ lệ nảy mầm đạt 70%, hạt giống sau khi gieo 3 ngày bắt đầu nảy mầm, thời vụ thích hợp cho gieo trồng từ tháng 11 đến tháng1, cây ra hoa từ tháng 4 đến tháng 7 và cho thu hoạch từ tháng 6 đến tháng 8.

Cây cao 45 - 55cm, có thể áp dụng gieo thẳng hoặc đánh trồng. Trọng lượng trung bình củ tươi đạt 59,5 - 74,6g, mỗi quả có từ 55 - 70 hạt, trọng lượng 1000 hạt từ 19 đến 20g

Bảng 2. **Năng suất và hàm lượng chất tan trong cồn 50° và chất nhầy trong rễ củ *Hibiscus manihot***

Tên dược liệu	*Năng suất khô (gr)*	*Hàm lượng % so với khối lượng khô tuyệt đối của rễ*	
		Hàm lượng chất tan trong cồn 50°	*Hàm lượng chất nhầy trong rễ củ*
Rễ *Hibiscus*	10 - 20	27,41%	23,25%

Kết quả cho thấy cây *Hibiscus manihot* sinh trưởng phát triển tốt ở vùng đồng bằng, năng suất dược liệu và hạt giống cũng như chất lượng dược liệu đạt kết quả tốt.

3. Cây rau đay xanh *Corchorus* sp. thuộc họ đay Tiliaceae

Hạt giống đay được nhập vào Việt Nam năm 1993, tỷ lệ nảy mầm đạt 57%.

Hạt sau khi gieo 14[h] bắt đầu nảy mầm gieo 20 - 25 ngày, cây cao 20 - 30cm có thể đánh trồng.

Thời vụ thích hợp cho gieo trồng vào tháng 3, tháng 4, năng suất lá khô đạt 200g/m^2. Cây ra hoa vào tháng 8 -9, cho thu hạt vào tháng 11 và 12. Hàm lượng chất nhầy trong lá đạt 23,68%. Hàm lượng chất tan trong cồn 50° đạt 28,53% ((so với khối lượng khô tuyệt đối của lá).

Cây rau đay trồng thích hợp ở đồng bằng, cho năng suất cao, đạt từ 120 - 130 kg lá khô/360m^2. Công dụng: Có tác dụng nhuận tràng, lợi sữa, chữa táo bón.

IV. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu di thực, các cây thuốc sài hồ, *Hibiscus manihot* và rau đay nhập từ Nhật Bản vào Việt Nam từ năm 1992 - 1999 đã được thuần hóa thích nghi với điều kiện khí hậu đất đai ở miền Bắc Việt Nam, cây sinh trưởng phát triển tốt cho năng suất dược liệu khá và thu được hạt giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi, 1991.*
Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam.

2. *Viện Dược liệu, 1996.*
Tài nguyên cây thuốc Việt Nam- Chương trình tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

TIÊU CHUẨN GIỐNG CHO ĐƯƠNG QUY, BẠCH CHỈ, NGƯU TẤT VÀ BẠC HÀ

(Đề tài thuộc chương trình nghiên cứu cấp Nhà nước giai đoạn 1991 - 1995 "Tạo nguồn nguyên liệu dược. Mã số: KY 02-05)

Nguyễn Văn Thuận, Lưu Đàm Cư[1], Nguyễn Văn Hoan[2], Phạm Văn Ý, Nguyễn Thị Thư, Lê Khúc Hạo, Trần Toàn, Trần Khắc Bảo, Nguyễn Thị Hoà, Nguyễn Đức Thịnh, Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Ngọc Chiêm, Đinh Văn My, Phạm Anh Thắng, Lã Đình Mỡi, Nguyễn Thị Phương Thảo, Nguyễn Thị Thủy, Trần Minh Hợi, Trương Anh Thư, Vũ Thị My, Hoàng Văn Định, Đào Mạnh Hùng, Đỗ Thị Tiêm, Phùng Tuyết Hồng[1], Nguyễn Thị Đạo[3].

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Giống tốt là tiền đề để tăng năng suất, tăng vụ, nâng cao chất lượng dược liệu. Tuy nhiên cho đến nay chúng ta chưa nghiên cứu và giải quyết đồng bộ các vấn đề về giống cây thuốc để đưa ra sản xuất dược liệu có chất lượng.

Mục tiêu của đề tài nhằm xây dựng một hệ thống tiêu chuẩn giống cấp ngành cho 4 loại cây thuốc: đương quy, bạch chỉ, ngưu tất và bạc hà.

II. KẾT QUẢ

1. Cây bạch chỉ: Giống BC1

1) Cây mẹ

Là cây 2 năm: Thời gian để hoàn thành giai đoạn sinh trưởng (gieo hạt đến thu hạt) phaỉ trải qua 2 mùa đông trong đó một mùa đông để cây nghỉ dưới dạng củ (do phần rễ phình ra), một mùa đông để cây phân hóa hoa từ các nhánh thân phát triển từ củ.

Củ giống: Là dạng củ đơn có dạng củ cà rốt (hình con thoi cụt) mầu vàng nâu, với các vết gờ ngang nổi rõ, củ nạc không phân nhánh. Củ giống đem trồng để phát triển thành cây mẹ.

---

[1] Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật.
[2] Trường Đại học Nông nghiệp I.
[3] Công ty Dược liệu Trung ương 1.

Cây ngồng: Được phát triển từ cây mẹ. Cây ngồng là cây thu hạt giống, cây ngồng phải sinh trưởng mạnh, có nhánh cấp 3, không bị sâu bệnh, ra hoa kết quả bình thường. Cây ngồng chỉ có một thân chính.

Quần thể xuất phát dùng cho chọn lọc duy trì: Là quần thể chuẩn đã được phục tráng đạt mọi tiêu chuẩn của sản xuất dược liệu trong đó tỷ lệ ra ngồng ở năm thứ nhất phải dưới 20%.

2) Hạt giống

Dạng hạt: Quan sát dưới kính lúp có độ phóng đại 40 lần: Là loại hạt chắc, Phần giữa hạt có những đường gờ song song nổi rõ, hạt được bao bọc bởi một lớp màng cánh có tỷ lệ tương ứng với độ lớn của hạt.

Tỷ lệ hạt chắc:	lớn hơn 85%.
Tỷ lệ tạp chất (chủ yếu là hạt lửng):	nhỏ hơn 15%
Khối lượng 1000 hạt:	6-7gam
Tỷ lệ nảy mầm:	lớn hơn 75%
Môi trường nảy mầm:	Cát ẩm hoặc giấy lọc
Nhiệt độ nảy mầm tối ưu:	24 - 26^{0}C
Phương pháp gieo thử hạt:	Gieo trên bề mặt.

Cây mầm bình thường (gồm 2 lá sò, thân mầm và rễ) lớn hơn 90% số cây mọc.

Cây biến dạng: Nhỏ hơn 10% số cây mọc.

3) Cây thương phẩm (trồng lấy dược liệu)

Thời gian sinh trưởng: 260-270 ngày (từ gieo đến thu dược liệu). Ở vùng trung du phía bắc và đồng bằng sông Hồng

Củ dược liệu: Tỷ lệ củ đơn đạt trên 65%, củ nạc mầu vàng nâu, có hình dạng củ cà rốt.

Tỷ lệ củ đạt tiêu chuẩn làm dược liệu: Trên 80% tổng số củ.

Năng suất: Trên 2500 kg/ha.

2. Cây đương quy: Giống ĐQ1

1) Cây mẹ

Là cây 2 năm: Đã trải qua 2 mùa đông.

Củ giống: Là dạng củ đơn hình nêm với một rễ chính đâm dài, củ nạc rễ bẻ gãy, khi phơi khô tạo ra một hình con thoi cụt. Củ giống đem trồng để phát triển thành cây mẹ.

Cây ngồng: Phát triển từ cây mẹ, là cây để thu hạt giống, cây ngồng phải sinh trưởng mạnh, phân nhánh cấp 3, ra hoa tập trung, kết hạt cao. Cây ngồng chỉ có một thân chính.

Quần thể xuất phát dùng trong chọn lọc duy trì; Là quần thể chuẩn đã được phục tráng đạt mọi tiêu chuẩn của sản xuất dược liệu, tỷ lệ ngồng dưới 10% tổng số cây.

2) Hạt giống

Dạng hạt: Có các đường gờ nổi rõ nhưng không hoàn toàn song song mà thu lại ở hai đầu, hạt chắc có gờ rõ, hình hơi cong ngả về thẳng, màu đen thẫm không có màng cánh.

Tỷ lệ hạt chắc:	Trên 90%.
Tạp chất:	Dưới 10% (chủ yếu là hạt lửng).
Phương pháp gieo hạt:	Gieo trên bề mặt giấy lọc hoặc cát đã khử trùng.
Nhiệt độ nảy mầm tối ưu:	24 - 25°C.
Khối lượng 1000 hạt :	7-8 gam.
Tỷ lệ nảy mầm:	Trên 75%.

Cây mầm bình thường (có 2 lá sò, thân mầm và rễ): Trên 90% số cây mọc.

Cây mầm biến dạng: Dưới 10 % số cây mọc.

3) Cây thương phẩm (trồng lấy dược liệu)

Thời gian sinh trưởng: 250-260 ngày (từ gieo đến thu dược liệu). Ở vùng trung du phía bắc và đồng bằng sông Hồng

Củ dược liệu: Tỷ lệ củ đơn trên 65%, củ nạc mầu vàng nâu, có hình dạng chiếc nêm với 1-3 rễ đâm dài, trong đó có 1 rễ chính.

Tỷ lệ củ đạt tiêu chuẩn làm dược liệu: Trên 80% số củ thu hoạch.

Năng suất: Trên 2500kg/ha.

3. Cây ngưu tất: Giống NT1

1) Cây mẹ

Là cây 1 năm được trải qua 2 giai đoạn, giai đoạn sinh trưởng ra củ, giai đoạn ra hoa kết hạt.

Củ giống: Là loại củ cọc, củ đơn với 1 số nhánh đâm ra từ củ, củ dài 20 - 30 cm, thuôn đều, khi mang trồng để thu hạt còn có nhiều đỉnh sinh trưởng đang trong thời kỳ sinh trưởng (dân gian gọi là mắt cua) và nảy chồi.

Cây giống: phát triển từ củ giống cùng năm, cây giống cần phát triển mạnh, có nhiều cành nhánh, không bị sâu bệnh, kết hạt cao.

Quần thể xuất phát dùng cho chọn lọc có thời gian sinh trưởng (từ gieo đến lụi) 180 ngày, chậm ra hoa, phân cành mạnh.

2) Hạt giống

Dạng hạt: Có hình trụ trứng với 1 mỏ hạtlồi lên khá rõ, hạt mầu đen được bao bọc bởi một lớp vỏ quả.

Tỷ lệ hạt chắc	Trên 90% tổng số hạt.
Tỷ lệ tạp chất	Dưới 10% (chủ yếu là quả lép)
Môi trường nảy mầm	Cát ẩm khử trùng.
Nhiệt độ nảy mầm tối ưu	28-30^{0}C.
Khối lượng 1000 hạt	5-6 gam
Tỷ lệ nảy mầm	Trên 85%

Cây mầm bình thường (có 2 lá sò, thân và rễ): Trên 90% số cây mọc.

Cây mầm biến dạng Dưới 10% số cây mọc.

3) Cây thương phẩm: (thu dược liệu)

Thời gian sinh trưởng 130 - 135 ngày (từ gieo đến thu dược liệu).

Tỷ lệ củ đơn: Trên 65% số củ. củ nạc, mầu trắng ngà, hơi trong, dẻo.

Tỷ lệ củ đạt tiêu chuẩn làm dược liệu: Trên 85% số củ.

Năng suất: 2000-2200kg/ha.

4. Cây bạc hà: Giống TN8

Hom giống: Là loại thân ngầm cơ bản, không bị nhiễm bệnh và tuyến trùng, có 7-8 đốt, khoảng cách giữa các đốt dưới 2 cm, chiều dài hom giống trên 15cm.

Mầm: Là loại mắt ngủ chưa mọc thành chồi, chưa có lá xuất hiện rõ trên hom giống.

Chiều cao trung bình của thân	Trên 75cm
Hình dạng lá	4,2 - 2,2cm
Hoa	Bất dục, không có khả năng kết hạt.
Môi trường nảy mầm của hom	Cát ẩm khử trùng.
Nhiệt độ nảy mầm tối ưu	30-32^{0}C

Phương pháp trồng thử mầm	Trồng giữa lớp cát.
Tỷ lệ nảy chồi	100% tính theo số mầm
	50% tính theo số mầm.
Khối lượng 100 mầm	700 - 800gam
Hàm lượng tinh dầu trong cây tươi	Trêm 0,8%
Hàm lượng Menthol	Trên 75%.
Năng suất chất xanh	Trên 20 tấn/ha.
Năng suất tinh dầu	Trên 100kg/ha.

III. ĐỀ NGHỊ

Đây là lần đầu tiên có một đề tài đề cập quy củ đến vấn đề tiêu chuẩn giống của cây thuốc và mới chỉ đề cập đến 4 cây. Cần có các đề tài tiếp theo hướng nhằm xây dựng tiêu chuẩn cho các loài cây thuốc khác làm cơ sở cho các đề tài nghiên cứu, duy trì và khai thác tiềm năng của các giống cây thuốc ở nước ta..

Đề nghị các cấp có thẩm quyền duyệt dự thảo tiêu chuẩn giống cho 4 cây thuốc trên và cho phép đưa vào sử dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Allard, R. W., 1960.*

Principles of plant breeding. John Wiley and Sons, Inc. New York.

2. *Chalam, G. V. and Neelkantan, L., 1962.*

Improved seed - Agricultural Production Manual. ICAR New Delhi.

3. *Đỗ Tất lợi, 1965.*

Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Trang 144, 859, 100, 851. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

4. *Singh, B. D.*

Plant breeding: Principles and Methods.

5. *Singh, A., 1963.*

What is good quality seed. Indian Farm 13:8

6. *Công ty giống cây trồng TW, 1983.*

Văn bản về công tác giống cây trồng. NXB Nông nghiệp.

7. Handbook of Seed Reproducting worker - International Seed Association SVALOF. Sweden - 1980.

8. Seed testing procedures - International Seed Association SVALOF. Sweden - 1986.

9. *Viện Dược liệu, 1980.*
Cây thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM NÔNG HỌC CỦA 6 GIỐNG SẢ TRỒNG TẠI TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU CÂY THUỐC NGỌC HỒI (THANH TRÌ - HÀ NỘI)

Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Văn Nghi, Đào Mạnh Hùng và CS

SUMMARY

Some results of biology characteristics of six varieties of citronella grass cultivating in Hanoi

The citronella grasses in Vietnam includes 3 groups essential oils, which content of main constituents as citral, citronella and geraniol. The essential oil attain export standard. The chemical composition of essential oil of varieties V1, V2 and V3 are citral. Green yield and percentage of essential oil in the leaf are advantage.

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sả gồm các loài thuộc chi *Cymbopogon* họ lúa (Poaceae) là nguồn nguyên liệu chủ yếu cho tinh dầu chứa citral, citronella, geraniol, v.v... dùng trong hương liệu, mỹ phẩm và dược phẩm. Việt Nam đã phát triển trồng sả từ lâu để sử dụng trong nước và xuất khẩu. Tinh dầu sả được chưng cất từ nhiều nguồn giống khác nhau, chưa được đánh giá tuyển chọn, nên sản phẩm xuất khẩu thiếu đồng nhất, chất lượng không ổn định và thấp... Từ thực tế đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đánh giá một số đặc điểm nông học của 6 giống sả được tập hợp từ nhiều nguồn khác nhau trong cả nước và các giống nhập nội, nhằm giới thiệu cho sản xuất giống cho cả 3 nhóm tinh dầu sả: *citral*, *citronella* và *geraniol*.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

+ Giống sả được trồng từ trước năm 1945 tại Bắc Sơn (Thái Nguyên). Trước đây xác định tên khoa học là *Cymbopogon nardus* (L.) Rendla. Nay được xác định là C. *pendulus* Nec. Mang ký hiệu V5.

+ Giống sả có nguồn gốc nhập từ Trung Quốc đang được trồng khắp cả nước. Các tác giả trước đây xác định là *C. winterianus* Jowitt. Nay xác định lại là *C. nardus* (L.) Rendla mang ký hiệu V3

+ Các giống sả nhập từ Ấn Độ năm 1985

Giống V1: *C. flexuosus* Stapf OD19

Giống V2: *C. tortilis* Preel.

Giống V4: *C. flexuosus* Stapf RRL.62

Giống V6: *C. flexuosus* Stapf OD19 Selection 269

2. Phương pháp

Phương pháp bố trí thí nghiệm đồng ruộng: Ô thí nghiệm có diện tích 50 m^2, phân bón: phân hữu cơ: 10 tấn + 200 kg super lân/ha. Bón thúc bằng phân vô cơ theo tỷ lệ: 100 N + 50 P + 50 K. Mật độ trồng 5cây/m^2

Định lượng tinh dầu theo phương pháp cất kéo hơi nước.

Phân tích thành tinh dầu do Phòng phân tích tiêu chuẩn Viện Dược liệu thực hiện.

III. KẾT QUẢ

1. Xác định các giống sả bằng các đặc điểm hình thái theo bảng phân loại sơ bộ

Sả có bẹ màu tím nhạt, thân giả ngắn hình dùi trống. Bụi xoè, gốc nổi trên mặt đất, phiến lá rộng (tới 2 cm), màu xanh lá mạ. Giống V3.

Sả có bẹ màu tím nhạt hay xanh, thân giả mọc đứng. Bụi không nổi trên mặt đất. Phiến lá màu xanh thẫm. Giống V5.

Bẹ lá màu xanh nhạt hay phớt hồng, thân màu vàng rơm. Lá vươn thẳng, hai phần phiến lá tạo thành góc rõ rệt, không lông. Cây ra hoa rải rác nhiều đợt trong năm. Giống V2.

Bẹ lá không lông, khi cắt lá phần gốc còn lại cong hình lò so đến sát đất. Lá xanh mượt, lá non không lông, lá trưởng thành có ít lông thưa ở mặt trên phía gốc lá. Giống V6.

Bẹ lá sau khi cắt, phần gốc còn lại cong hình lò so đến sát đất. Giống V4.

Bẹ lá sau khi cắt, phần gốc còn lại cong hình lò so đến sát đất. Gốc cắt không biến dạng. Giống V1.

2. Một số đặc điểm sinh học

+ Tỷ lệ sống sau khi trồng

Tất cả các giống đều có tỷ lệ sống sau khi trồng cao (trên 90%). Giống V3 có tỷ lệ sống thấp hơn (70%).

+ Một số đặc điểm sinh trưởng và năng suất:

Giống	*Góc lá (độ)*	*Chiều cao (cm)*	*Chiều dài lá (cm)*	*Chiều rộng lá (cm)*	*Lá (g/cây)*	*Khóm (g)*	*50 m^2 (kg)*
V1	10,0	164,4	101,3	1,4	14,8	732	53,8
V2	13,5	107,2	72,5	1,3	13,6	641	63,3
V3	30,0	78,5	53,2	1,4	7,6	417	29,3
V4	10,0	148,9	79,9	1,3	12,9	599	47,7
V5	13,0	118,4	79,8	1,3	12,5	628	46,5
V6	10,0	149,1	90,7	1,3	12,8	599	46,8

Giống V3 có bụi xoè nhất, giống V1 đứng cây và cao nhất.

Giống V1 có năng suất chất xanh cao nhất, giống V3 thấp nhất.

Các giống V3 và V5 có tốc độ hình thành lá (16 - 18 ngày/lá) nhanh hơn so với các giống nhập nội từ Ấn Độ (19 - 21 ngày/lá). Giống V1 có tốc độ phát triển chiều cao mạnh nhất (1,2 cm/ngày), giống V3 chậm nhất (0,5 cm/ngày). Giống V2 có tốc độ đẻ nhánh nhanh nhất (0,35 nhánh/ngày), giống V3 chậm nhất (0,2 nhánh/ngày).

Qua 4 lứa cắt ở 4 vụ khác nhau cho thấy vụ Xuân - Hè thời gian các cá thể đạt 6 - 7 lá/120 ngày. Vụ Đông - Xuân: 150 ngày. Các giống V3, V5 có thời gian sinh trưởng ngắn hơn các giống còn lại là 30 ngày.

3. Hàm lượng và chất lượng tinh dầu

Giống	*Tinh dầu (%)*	*Citral (%)*	*Citronella (%)*	*Geraniol (%)*
V1	0,47	87,25		
V2	0,50	86,65		
V3	0,67		39,00	
V4	0,47	64,00		
V5	0,54	37,00		
V6	0,59	23,50		40 - 60

Giống V3 có hàm lượng tinh dầu cao nhất.

Giống V1 có hàm lượng citral trong tinh dầu cao nhất, giống V3 có hàm lượng citronella cao nhất.

IV. KẾT LUẬN

Sả hiện có ở Việt Nam được chia làm ba nhóm tinh dầu chính (citral, citronella và geraniol)

Tinh dầu của tất cả các giống sả trên đều đạt tiêu chuẩn xuất khẩu.

Nhóm giống sả V1, V2 và V4 cho tinh dầu có thành phần chủ yếu là citral có ưu thế về chất xanh và năng suất tinh dầu. Đây là những giống chịu hạn khá. Trên nền đất trồng lúa năng suất giảm nhiều so với kết quả trồng ở vùng đất bạc màu huyện Tam Đảo (Vĩnh Yên).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Bộ Y tế, 1983.*
Dược điển Việt Nam I, Tập II, NXB Y học.

2. *Phạm Hoàng Hộ, 1991.*
Cây cỏ Việt Nam.

3. *Đỗ Tất Lợi, 1996.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

CHỌN LỌC PHỤC TRÁNG VÀ QUY TRÌNH KỸ THUẬT GIEO TRỒNG THÍCH HỢP CHO CÂY NGƯU TẤT TRONG ĐIỀU KIỆN MIỀN BẮC VIỆT NAM

Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Văn Thuận,
Trần Toàn, Hoàng Văn Định,
Đinh Văn My, Phạm Anh Thắng, Nguyễn Đức Thịnh.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume) được nhập từ Trung Quốc vào Việt Nam vào đầu thập kỷ 70 làm thuốc hạ cholesterol máu (Bidentin) và dùng trong y học cổ truyền như một vị thuốc có tác dụng bổ gan thận chữa tê thấp.

Trải qua quá trình sản xuất không được chọn lọc, giống ngưu tất đang bị thoái hóa gây ảnh hưởng xấu đến năng suất rễ củ và chất lượng dược liệu. Để khắc phục tình trạng ngưu tất thoái hóa nhằm phục hồi phẩm chất, chất lượng giống, chúng tôi đã chọn hai hướng nghiên cứu là chọn lọc theo phương pháp quần thể và phục tráng chúng bằng vùng sinh thái kết hợp chọn lọc khử âm.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nội dung

- Chọn lọc các giống ngưu tất để xác định giống tốt phục vụ sản xuất.
- Phục tráng giống ngưu tất bằng vùng sinh thái thích hợp.
- Xây dựng quy trình sản xuất dược liệu và giống phục vụ cho sản xuất dược liệu trong nước và xuất khẩu.

2. Vật liệu

- Các giống cây ngưu tât đang trồng ở 3 trạm cây thuốc thuộc Viện Dược liệu (Sa Pa, Tam Đảo, Văn Điển) và một số địa phương trồng ngưu tất lâu năm.

3. Phương pháp

- Để tạo ra các quần thể tiêu biểu và đồng nhất đã tiến hành chọn lọc và phục tráng giống theo phương pháp quần thể.

- Các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp tuần tự và 3 lần nhắc lại.

- Phương pháp xử lý số liệu theo phương pháp của Phạm Chí Thành.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả khảo sát giống ngưu tất

- Các giống ngưu tất đang trồng ở các địa phương (Văn Điển, Bình Minh, Mai Lĩnh, Văn Võ) đã bị thoái hóa vì kỹ thuật canh tác và ảnh hưởng của điều kiện của mỗi địa phương. Thời gian sinh trưởng bị rút ngắn 20- 30 ngày, tỷ lệ củ I thấp năng suất củ giảm 24.7 % so với nơi nguyên sản.

2. Kết quả chọn lọc giống ngưu tất

- Giống ngưu tất do nông dân vùng sản xuất dược liệu tự để giống (số 1) được đem so sánh với giống số 2 (NT 1) đã được chọn lọc tại trại Văn Điển cho thấy các kết quả như sau: giống chọn lọc có thời gian sinh trưởng kéo dài hơn 15 ngày(110 ngày) so với giống đại trà (95 ngày); kích thước củ to và dài hơn, đặc biệt khối lượng củ khô cao hơn rất nhiều (đạt 4.2 g/ củ), giống không chọn lọc chỉ đạt 2.9 g/ củ dẫn tới năng suất củ khô trên m^2 và trên ha đều tăng hơn hẳn giống không chọn lọc là 12.35 %.

- So sánh phẩm cấp hạt chọn lọc và giống đại trà, giống chọn lọc có:

+ Tỷ lệ hạt chắc (80 %) tăng 33.3 %.

+ Khối lượng (1000 hạt) tăng 22.14 %.

+ Và cuối cùng là tỷ lệ nảy mầm (72.5 %) tăng 45 % so với giống đại trà.

3. Kết quả phục tráng giống ngưu tất thể hiên ở bảng 1

-Năm 1992 hạt của giống chọn lọc tại trại Văn Điển đã được đưa trồng ở 3 vùng sinh thái khác nhau là Thanh Trì - Hà Nội, Sa Pa – Lao Cai và Tam Đảo –Vĩnh Phú.

Ký hiệu các mẫu giống như sau:

Mẫu 1: Mầm giống lấy từ quần thể chọn lọc ở Văn Điển và sản xuất hạt cũng ở Văn Điển.

Mẫu 2: Mầm giống lấy từ quần thể chọn lọc ở Tam Đảo và sản xuất hạt cũng ở Tam Đảo.

Mẫu 3:Mầm giống lấy từ quần thể chọn lọc ở Sa Pa và sản xuất hạt ngay tại Sa Pa.

Mẫu 4: Mầm giống lấy từ quần thể chọn lọc ở Văn Điển và đưa lên Tam Đảo để sản xuất hạt.

Mẫu 5: Mầm giống lấy từ quần thể chọn lọc ở Văn Điển và đưa lên Sa Pa để sản xuất hạt.

***Bảng 1.* Kết quả so sánh 5 mẫu giống ngưu tất khác nhau tại Văn Điển trong 3 năm 1993,1994,1995**

Chỉ tiêu / Mẫu giống	*Chiều dài củ (cm)*	*Đường kính củ (cm)*	*Tỷ lệ củ loại 1 (%)*	*Khối lượng củ tươi (g)*	*Tỷ lệ khô/tươi (%)*	*Năng suất củ khô*		*Đánh giá năng suất*		
						kg/ô	*Kg/ha*	*1993*	*1994*	*1995*
1	26.0±0.12	0.7±0.02	67.6±4.3	14.9±0.4	26.2±0.36	13.9	2318	14.2d	13.9d	13.6d
2	26.1±0.38	0.7±0.02	60.4±3.3	15.5±0.1	26.6±0.45	12.5	2027	12.6d	12.9d	11.9b
3	27.0±0.60	0.8±0.05	72.0±2.0	16.7±0.2	26.1±0.07	16.2	2694	16.6b	16.0b	15.9b
4	25.2±0.12	0.7±0.02	64.4±1.4	16.5±0.5	24.5±0.14	15.5	2577	15.2d	15.3d	15.9b
5	28.0±0.43	0.9±0.06	75.0±0.0	22.8±0.3	28.4±0.48	25.4	3677	21.8a	21.9a	23.5a
								EC = 1.05	EC = 0.93	EC = 0.93

Kết quả cho thấy mẫu giống chọn lọc sản xuất ở Sa Pa đem trồng ở đồng bằng (Văn Điển), các chỉ tiêu theo dõi cao hơn hẳn các mẫu giống còn lại đặc biệt là năng suất bình quân của giống số 5 vượt hơn so với trung bình các mẫu giống còn lại trung bình trong 3 năm 1993,1994,1995 là 27.68 %.

Kết quả này là cơ sở để khẳng định rằng Sa Pa là vùng sinh thái phục tráng giống ngưu tất có hiệu quả cao hơn hẳn Tam Đảo – Vĩnh Phúc. Từ kết quả trên chúng tôi chọn mẫu giống số 5 là giống tốt nhất để so sánh với giống cũ dùng trong sản xuất.

4. Kết quả đánh giá giống mới phục tráng với giống cũ dùng trong sản xuất

Giốngmới chọn lọc phục tráng (mẫu giống số 5) sau khi so sánh đánh giá với giống cũ dùng trong sản xuất thu được các kết quả sau:

Các chỉ tiêu về hình thái của giống mới đều tăng hơn so với giống đại trà, đặc biệt thời gian sinh trưởng kéo dài hơn 40 ngày, chiều dài củ vượt 15.3 %, đường kính củ vượt 48.2 % và năng suất củ khô / ha vượt 28.1 %.

Các chỉ tiêu về phẩm cấp hạt cũng được cải tiến một cách rõ rệt: tỷ lệ hạt chắc tăng 39,1%; khối lượng 1000 hạt tăng 35,6%; tỷ lệ cây mầm bình thường tăng 23,9% và tỷ lệ nảy mầm của hạt tăng 50% so với giống cũ với độ tin cậy cao và cho phép. Từ các kết quả trên đã chứng minh rằng: giống có mầm giống sản xuất từ quần thể chọn lọc ở Văn Điển đưa lên sản xuất hạt tại Sa Pa (ký hiệu - NT1) là giống tốt nhất. Từ năm 1995 đến nay Viện Dược liệu và Trại thuốc Văn Điển đã có cơ sở và ổn định mạng lưới sản xuất giống, phục tráng giống ngưu tất tốt (NT1)để phục vụ nhu cầu sản xuất dược liệu trong nước và xuất khẩu

5. Kết quả nghiên cứu xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất dược liệu và làm giống

1) Kỹ thuật gieo trồng dược liệu

Thời vụ gieo trồng: Gieo hạt 15 tháng 9 đến 15 tháng 10. Lượng hạt 8-9kg/ha. Gieo xong phủ rơm rạ,tưới ẩm,sau 5-6 ngày hạt mọc bỏ rơm rạ.

Đất trồng: tốt nhất là đất nhẹ, giàu dinh dưỡng, tơi xốp, chủ động nước.

Phân bón: phân chuồng 27 tấn/ ha; phân đạm 380kg/ha; phân lân 500kg/ha; phân kali 150 kg/ha

Chăm sóc: tưới ẩm thường xuyên, sau khi mọc 20-25 ngày tỉa định cây 5-10cm

Phòng trừ sâu hại : phun Ofatốc với nồng độ 0.2%. Bệnh hại: bệnh lở cổ rễ lúc cây con - phòng tránh bằng cách giữ độ ẩm vừa phải và không để mật độ cây quá dày.

Thu hoạch vào ngày nắng, rửa sạch, sau khi xông sinh 18-20 giờ đem phơi khô, phân loại củ và bảo quản trong túi ni lông.

2) Kỹ thuật gieo trồng làm giống

- Thời vụ trồng làm giống 15/2 -15/3.

- Đất cao, tơi xốp chủ động nước tưới.

- Phân bón: phân chuồng 500 kg; phân đạm 10 kg; phân lân 10 kg; phân kali 10 kg.

- Khoảng cách trồng: 20-30 cm.

- Phòng trừ sâu bệnh hại - như đối với cây trồng làm dược liệu.

- Thu hái và bảo quản: khi hạt chín vàng được 2/3 bông thu hoạch vào buổi sáng, phơi 2 đến 3 nắng, đập lấy hạt, loại bỏ tạp chất, phơi khô đóng bao trong là túi xi măng ngoài túi nilông, bảo quản nơi khô ráo thoáng mát.

3) Điểm đặc trưng trong qui trình sản xuất giống mới phục tráng

- Vào cuối tháng 2 đầu tháng 3, sau khi thu dược liệu ở đồng bằng chọn mầm giống tốt mang trồng tại Sa Pa - Hoàng Liên Sơn và thu hạt vào cuối tháng 7 đầu

tháng 8. Hạt giống sau khi thu đóng gói chuyển về các vùng sản xuất dược liệu ở đồng bằng.

IV. KẾT LUẬN VÀ THẢO LUẬN

- Đã chọn được giống mới (NT1) có những ưu điểm sau: Thời gian sinh trưởng của cây kéo dài 40 ngày tăng 42,1% so với giống sản xuất đại trà; chiều dài củ tăng 7,5%; đường kính củ tăng 13,3%; tỷ lệ củ loại 1 tăng 9,6%; tỷ lệ khô/ tươi tăng 7,6%; năng suất củ/ha tăng 27,6%.

- Qui trình sản xuất dược liệu và sản xuất giống (đặc biệt là giống NT1) đã được xây dựng xong để phục vụ các vùng sản xuất dược liệu Ngưu tất ở đồng bằng và trong cả nước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Viện Dược liệu, 1990.*
Cây thuốc Việt Nam.

2. Kỹ thuật nuôi trồng và chế biến dược liệu. NXB YH Bắc Kinh, 1965.

3. *Viện Dược liệu, 1976.*
Kỹ thuật trồng cây thuốc.

4. Tiêu chuẩn giống cho Đương quy, Bạch chỉ, Ngưu tất, Bạc hà.

5. *Đỗ Tất Lợi.*
Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam.

6. *G. V. Guliaev.*
Chọn giống và công tác giống cây trồng.

7. *Phạm Chí Thành.*
Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng.

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ ẨM HẠT ĐẾN TỶ LỆ NẢY MẦM CỦA MỘT SỐ GIỐNG CÂY THUỐC BẢO QUẢN TRONG KHO LẠNH NGẮN HẠN

Phạm Văn Ý, Ngô Quốc Luật,
Trần Khắc Bảo, Lê Tùng Châu

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bảo quản trong kho lạnh là một trong những phương pháp quan trọng trong việc bảo tồn nguồn gen và giống thực vật. Trong quá trình bảo quản, người ta đã xác định được rằng độ ẩm có ảnh hưởng lớn đến chất lượng của hạt giống. Tuy nhiên, việc đó mới chỉ được nghiên cứu trên các loại hạt ngũ cốc và rau màu. Đối với hạt giống cây thuốc hầu như chưa được biết đến. Để tìm hiểu vấn đề này, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu sự biến đổi của độ ẩm hạt trong thời gian bảo quản và tỷ lệ nảy mầm của một số giống cây thuốc bảo quản trong kho lạnh ngắn hạn.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu

Là hạt giống của 4 loài cây thuốc sau:

+ Đương quy. *Angelica acutiloba* Kitagawa.

+ Ngưu tất- *Achyranthes bidentata* Blume.

+ Mã đề- *Plantago major* L.

+ Lão quán thảo - *Geranium nepalense* Kudo.

2. Phương pháp

+ Độ ẩm hạt giống được xác định bằng máy phân tích độ ẩm Sartorious-MA-30.

+ Tỷ lệ nảy mầm của hạt được xác định bằng cách gieo trong hộp Petri, đặt trong môi trường thích ứng với mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 100 hạt. Riêng hạt lão quán thảo được xử lý acid H_2SO_4 trước khi thử tỷ lệ mọc mầm.

+ Hạt giống được bảo quản trong túi polietylen, khối lượng 1kg/túi.

+ Các mẫu giống được bảo quản trong kho lạnh ngắn hạn có nhiệt độ từ 18-22^{0}C, và độ ẩm không khí tương đối từ 50-60%.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng sau:

Sự biến đổi của độ ẩm hạt theo thời gian bảo quản và tỷ lệ nảy mầm của một số loại hạt giống

Các loại hạt giống	*Bắt đầu bảo quản(%)*		*Sau 6 tháng (%)*		*Sau 12 tháng (%)*	
	Độ ẩm hạt (%) a	*Tỷ lệ mọc mầm (%) b*	*Độ ẩm hạt (%) a*	*Tỷ lệ mọc mầm (%) b*	*Độ ẩm hạt (%) a*	*Tỷ lệ mọc mầm (%) b*
Đương quy	3,17	59,3 ± 8,0	5,31	40,3 ± 8,5	6,06	7,3 ± 1,1
Ngưu tất	5,93	82,6 ± 3,1	7,63	78,6 ± 6,1	7,94	64,3 ± 4,9
Mã đề	3,76	40,6 ± 4,1	4,13	39,3 ± 5,7	5,52	40,7 ± 3,1
Lão quán thảo	4,86	79,6 ± 5,7	5,16	87,3 ± 7,0	5,23	72,6 ± 5,8

Kết quả trên cho thấy:

• Về độ ẩm của hạt giống

Sau 6 tháng bảo quản, độ ẩm của các loại hạt giống đều tăng lên, nhưng hạt giống đương quy hút ẩm nhiều nhất, lượng nước hút vào tăng lên 68%, tiếp đến là hạt ngưu tất, tăng lên 29%. 6 tháng tiếp theo, lượng nước hút vào của các loại hạt giống cũng có tăng lên, song gần như có xu hướng ổn định đối với mỗi loại hạt (xem cột a của bảng). Theo chúng tôi, khả năng hút ẩm của hạt đương qui cao hơn các loại hạt giống khác là do vỏ quả rất mỏng, nên độ ẩm của không khí dễ xâm nhập vào trong hạt. Còn các loại hạt mã đề, và lão quan thảo có vỏ dầy, cứng nên đã hạn chế được sự xâm nhập của độ ẩm không khí.

• Về tỷ lệ mọc mầm của hạt

Sau 6 tháng bảo quản, tỷ lệ mọc mầm của 3 loại hạt: ngưu tất, lão quan thảo và mã đề hầu như không có sự thay đổi. Sự sai lệch về tỷ lệ mọc mầm qua các giai đoạn chỉ là ngẫu nhiên. Trong khi đó tỷ lệ mọc mầm của hạt giống đương quy giảm đi rõ rệt, từ 59,3 ± 8% còn 40,3 ± 8,5%. Sau 12 tháng bảo quản, tỷ lệ mọc mầm của hạt đương quy giảm xuống chỉ còn 7%. Hạt ngưu tất cũng bắt đầu giảm tỷ lệ mọc mầm, từ 82,6 ± 3,1% còn 64,3 ± 4,9% (xem cột b của bảng). Sự giảm tỷ lệ mọc mầm của hạt đương quy nhanh hơn các loại hạt giống khác là do trong quá trình bảo

quản, hạt đương quy có tỷ lệ hút ẩm cao hơn. Độ ẩm trong hạt cao (nhất là những loại hạt nội nhũ chứa nhiều dầu) đã làm cho quá trình trao đổi chất trong hạt xảy ra mạnh, và từ đó làm giảm tỷ lệ mọc mầm của hạt giống. Vì vậy, hạt đương quy nói riêng và những loại hạt trong họ hoa tán nói chung cần được nghiên cứu sâu thêm để có phương pháp bảo quản đặc biệt để duy trì tỷ lệ mọc mầm của hạt. Nội nhũ của hạt Ngưu tất chứa tinh bột là chủ yếu, nên khi độ ẩm của hạt tăng lên trên 7% mới có sự suy giảm về tỷ lệ mọc mầm.

IV. KẾT LUẬN

- Hạt giống đương quy hút ẩm cao hơn so với các loại hạt giống khác. Sau 6 tháng bảo quản, tỷ lệ nảy mầm của hạt giảm từ 59,3% xuống còn 40,3%. Sau 12 tháng bảo quản chỉ còn lại 7% tỷ lệ hạt nảy mầm.

- Hạt giống ngưu tất bắt đầu suy giảm tỷ lệ mọc mầm sau 12 tháng bảo quản khi độ ẩm hạt tăng lên trên 7%

- Sau 12 tháng bảo quản, độ ẩm của các loại hạt giống mã đề và lão quán thảo, hầu như không bị giảm tỷ lệ mọc mầm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *R.M.Klein - D.T.Klein, 1979.*

Phương pháp nghiên cứu thực vật, tập I. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

2. *Zahurul, H. Md. and Mahnuida, 1983.*

Rice seed viability under Awo storage conditions. IRRN 8:5, 1983.

3. *Robert F. H., 1972.*

Storage environment and the control of viability. In E. A. Robert, ed. "Viability of seed", Chapman and Hall, London.

4. *Phạm Văn Ý, Trần Văn Diễn, Bùi Thị Bằng, 1998.*

Nghiên cứu một số đặc điểm về hạt giống và cây giống đương quy - *Angelica acutiloba Kitagawa* - Tạp chí Nông nghiệp Công nghiệp thực phẩm -1/1998.

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG MÔ HÌNH NÔNG - LÂM - CÂY DƯỢC LIỆU KHAI THÁC CẢI TẠO ĐẤT DỐC SA PA - LAO CAI

Nguyễn Bá Hoạt, Ngô Quốc Luật, Đinh Văn Mỵ, Nguyễn Văn Mai, Nguyễn Xuân Trường, Phan Thuý Hiền

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam có diện tích đất dốc chiếm 3/4 lãnh thổ, với 1/3 dân số sống ở đây đều có thu nhập thấp, do đất bị thoái hóa cằn cỗi vì hiện tượng xói mòn rửa trôi kéo theo sự tàn phá của môi trường sinh thái. Mặt khác do quá khứ con người đã sử dụng khai thác và canh tác bất hợp lý. Cải tạo đất dốc, đưa cơ cấu cây trồng Nông - Lâm - Cây dược liệu vào các nông hộ sống trên đất dốc đã trở thành nhu cầu bức xúc. Phát triển cây dược liệu, đối tượng quan trọng trong cơ cấu cây trồng của vùng núi, nhất là các vùng cao có diện tích đất dốc lớn phải được thực hiện thông qua mô hình ở các nông hộ được giao đất giao rừng. Với mục tiêu trên chúng tôi nghiên cứu nhằm tìm kiếm một mô hình phù hợp với vùng sinh thái, để khai thác, sử dụng, bảo vệ và cải tạo đất dốc tại Sa Pa - Lao Cai.

II. NỘI DUNG ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Nội dung

Nghiên cứu điều tra tổng hợp đánh giá điều kiện tự nhiên, đất đai, cây trồng và hiện trạng sử dụng đất dốc ở Sa Pa - Lao Cai.

Xây dựng và thử nghiệm mô hình khai thác cải tạo đất dốc bằng kỹ thuật canh tác với cơ cấu giống cây trồng Nông - Lâm - Cây dược liệu kết hợp.

2. Đối tượng và phương pháp

1) Điều tra nghiên cứu thu thập số liệu

Theo phương pháp hồi cứu từ các nguồn tư liệu. Sử dụng các phương pháp tổng hợp hệ thống nông nghiệp (RAA, KIP, SWOT).

2) Hệ thống canh tác

Áp dụng hệ thống canh tác tạo băng theo hàng đồng mức bằng các loại cây dược liệu, cây lâm nghiệp, cây ăn quả và bổ sung thêm các giải băng cần thiết chống xói mòn khác.Mô hình được triển khai ở 2 hộ nông dân thuộc Sa Pa - Lao Cai trên diện tích 1,5ha/hộ thuộc đất rừng được nhà nước giao, với độ dốc từ 20 - 30^0.Kỹ thuật canh tác: Bờ đồng mức với băng cây xanh, trồng xen các loại cây dược liệu dưới vườn cây ăn quả, dưới tán rừng, bìa rừng và trảng đất trống.

3) Đối tượng cây trồng

Cây dược liệu - Cây lâu năm (dài ngày) hoàng bá, đỗ trọng, ngũ gia bì, hoàng liên gai, thảo quả, tiểu hồi, câu đằng cây ngắn ngày (hàng năm), bạch truật, đương quy, vân mộc hương, độc hoạt, xuyên khung, tục đoạn, ô đầu, actisô, lão quán thảo.

Cây lâm nghiệp - tống quán sủi, cây hông, luồng.

Cây ăn quả- đào, lê, mận.

Cây Nông nghiệp- ngô, đậu, chè.

4) Kỹ thuật trồng trọt

Cây dược liệu,cây rừng,cây nông nghiệp:áp dụng quy trình của Viện Dược liệu-Bộ Y tế và Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

5) Biện pháp kỹ thuật

Xây dựng các băng cây xanh chống xói mòn đất; bờ đồng mức phối hợp với băng cây xanh; biện pháp canh tác nhiều tầng nông - lâm cây dược liệu kết hợp trồng xen - Luân canh; theo dõi sinh trưởng phát triển, năng suất, hiệu quả cây trồng.

III. KẾT QUẢ

1. Điều kiện tự nhiên - kinh tế - xã hội Sa Pa - Lao Cai

Sa Pa là huyện vùng cao có độ cao trung bình 1500m (nằm sườn đông dãy Hoàng Liên Sơn có đỉnh Phan Xi Pan cao 3143m). Sa Pa có khí hậu á nhiệt đới núi cao điển hình, nhiệt độ từ 15,6^{0}C (thấp tuyệt đối -2^{0}C) lượng mưa trung bình 2749mm, số ngày mưa trung bình 187 ngày, ẩm độ 88%. Loại đất chủ yếu feralit đỏ vàng nhiều mùn núi cao.

Sa Pa có 7 dân tộc anh em, là một huyện kinh tế chậm phát triển, sản xuất thuần nông độc canh, đời sống nhân dân còn nhiều khó khăn, dân nghèo chiếm 62% số hộ.

Diện tích tự nhiên của Sa Pa là 67.905 ha, trong đó đất rừng chiếm 22.618ha, đất sử dụng cho nông nghiệp 4,538ha, đất chưa sử dụng là 37.354ha chiếm 55% tổng diện tích.

2. Đặc điểm tài nguyên đất đai của Sa Pa

Tài nguyên đất của Sa Pa đa dạng phong phú bao gồm 4 nhóm đất chính sau:

Bảng 1. **Đặc điểm một số loại đất chính ở Sa Pa**

TT	*Nhóm đất*	*Đai cao (m)*	*Diện tích (ha)*	*Tỷ lệ (%)*
1	Đất mùn trên núi cao	> 1700	12.186	18,0
2	Đất mùn vàng đỏ trên núi cao	700 - 1700	44.365	65,3
3	Đất feralit trên núi thấp và trung bình	400 - 700	3.533	5,2
4	Đất feralit biến đổi do trồng lúa	-	1.380	2,0
5	Nhóm đất khác	-	6.325	9,5

Kết quả phân tích các mẫu đất chính của Sa Pa cho thấy: Về hữu cơ và thành phần dinh dưỡng của đất - Tích luỹ hữu cơ cao, đạm tổng hợp cao, lân và kali đại bộ phận nghèo do bị rửa trôi. Thành phần hóa học trong đất: sắt thấp, nhôm cao, kiềm và kiềm thổ đều nghèo điều đó thể hiện đất bị rửa trôi mạnh.

3. Các loại cây trồng và diện tích đất sử dụng

Qua điều tra nghiên cứu chúng tôi thấy tập đoàn cây trồng chủ yếu của Sa Pa qua các năm trước đây thể hiện ở bảng sau:

Bảng 2. **Các loại cây trồng và tình hình sử dụng đất**
(Số liệu do Phòng Nông nghiệp huyện Sa Pa cung cấp)

TT	*Các loại cây trồng*	*Diện tích đất sử dụng*		
		1996	*1997*	*1998*
1	Lúa nước	1.390	1.345	1.539
2	Lúa nương	230	200	200
3	Ngô đồi	1.077	1.072	815
4	Sắn khoai các loại	155	218	220
5	Dược liệu và hoa mầu khác	271	512	589
6	Đậu tương và Lanh	61	100	85
7	Chè - trẩu - quế	121	165	217
8	Cây ăn quả	77	137	200
9	Thảo quả (dưới tán rừng)	460	574	835
10	Rừng tự nhiên	20.543	20543	20.543
11	Rừng trồng	1.175	1575	2.075

4. Tình hình sản xuất cây dược liệu ở Sa Pa

Sa Pa là nơi có khí hậu phù hợp cho nhiều loại cây làm thuốc phát triển nhất là những cây thuốc nhập nội có nguồn gốc á nhiệt đới. Hàng trăm cây thuốc đã được Viện Dược liệu nghiên cứu di thực nhập nội, gần 50 loài có khả năng phát triển và đang được lưu giữ ở trại nghiên cứu cây thuốc Sa Pa, 18 loài đã được sản xuất giống cung cấp cho việc phát triển sản xuất dược liệu trong nước. Nhiều cây thuốc có hiệu quả kinh tế cao đã tham gia vào cơ cấu cây trồng của địa phương và trở thành tập quán sản xuất của một số vùng sinh thái. Qua điều tra khảo sát và theo số liệu của phòng nông nghiệp huyện Sa Pa cho biết vùng thượng huyện sản xuất các cây dược liệu sau:

Bảng 3. **Sản xuất cây dược liệu ở Sa Pa**
(Số liệu do Phòng Nông nghiệp Sa Pa cung cấp)

TT	*Các loại cây thuốc*	*Diện tích (ha)*	*Năng suất (tấn/ha)*	*Sản lượng (tấn)*
1	Vân mộc hương	25	0,8	20
2	Đương quy	3	1,95	5,5
3	Xuyên khung	20	0,7	14
4	Thảo quả (thượng và hạ huyện)	835	0,15	47,7
5	Lão quán thảo	10	1,69	16,9
6	đỗ trọng	12,2	30.500 cây	Cây phân tán
7	Hoàng bá	148,2	120.500 cây	Cây phân tán

Ngoài ra các loại cây thuốc khác như bạch truật, ô đầu, tục đoạn, actisô, huyền sâm, độc hoạt... tuy diện tích sản xuất không lớn, song hiệu quả kinh tế đưa lại không nhỏ trong việc thu nhập kinh tế cho nhiều hộ nông dân ở Sa Pa.

5. Kết quả xây dựng mô hình

1) Chọn địa điểm các loại cây trồng, xây dựng và thiết kế xây dựng mô hình

Mô hình được thiết kế xây dựng dựa trên cơ sở hiện trạng sẵn có của diện tích 3 ha đất trồng rừng được giao dài hạn của 2 nông hộ. Đã có cây lâm nghiệp, cây ăn quả, cây dược liệu dài ngày. Từ đó thiết kế, cải biên lại, duy trì và phát triển thêm, tạo ra mô hình mới nhằm khai thác đất dốc có hiệu quả hơn.

* Các cây được chọn: Cây lâm nghiệp (Tống quán sủi, cây sa mộc, cây luồng, bổ sung thêm cây hông); cây ăn quả (đào, lê, mận); Cây dược liệu (đỗ trọng, hoàng bá, thảo quả, bạch truật, đương quy, lão quán thảo, xuyên khung, tục đoạn, ô đầu, actisô, ngũ gia bì gai, tiểu hồi, hà thủ ô đỏ, câu đằng); cây nông nghiệp (chè, ngô, đậu).

* Kỹ thuật canh tác: Rừng được trồng theo các hàng đồng mức xen 3 loài trong một quần thể (Mỗi hàng đồng mức/1loại) thuận lợi cho việc khai thác mà không phá vỡ quần thể. Các hàng đồng mức cách 5 - 10m đủ tạo nên các thửa, băng, dải canh tác cây thuốc ngắn ngày dưới tán rừng và cây ăn quả. hàng cây gỗ trên đường đồng mức được trồng thêm các cây dược liệu dài ngày để chống xói mòn (Ngũ gia bì, Hoàng liên gai, Câu đằng, Hà thủ ô đỏ, tiểu hồi). Trong các dải băng canh tác cây dược liệu ngắn ngày khi làm cỏ tự tạo nên bờ ngăn tự nhiên.

2) Nghiên cứu chất đất của 2 mô hình đã chọn

Qua thí nghiệm phân tích của 2 mô hình: Nhà Ông Nguyễn Ngọc Xá (MH 1). Nhà ông Nguyễn Văn Khanh (MH 2) chúng tôi có kết quả sau:

***Bảng 4.* Các chỉ tiêu phân tích đất của 2 điểm xây dựng mô hình**

Hàm tổng số	OM		N		P_2O_5		K_2O		-	
	MH1	MH2	MH1	MH2	MH1	MH2	MH1	MH2	MH1	MH2
	3,94	5,06	0,16	0,16	0,141	0,113	1,285	2,214	-	-
Hàm dễ tiêu	P_2O_5		K_2O		CEC		Ca^{2+}		Mg^{2+}	
	MH1	MH2	MH1	MH2	MH1	MH2	MH1	MH2	MH1	MH2
	4,63	1,09	14,31	16,69	11,05	13,08	6,53	0,12	2,7	0,08
Thành phần cơ giới	> 0,05 (mm)		0,05 - 0,002 (mm)		< 0,002 (mm)		-		-	
	MH1	MH2	MH1	MH2	MH1	MH2	-	-	-	-
	19,45	17,98	57,66	58,57	22,69	23,48	-	-	-	-

6. Kết quả thí nghiệm mô hình

Các số liệu bảng trên cho thấy hiệu quả kinh tế của mô hình, thu nhập từ cây dược liệu được chọn đã phát huy khả năng của nó so với các loại cây trồng khác. Mô hình đưa lại lợi ích kinh tế rõ rệt, người nông dân tin tưởng và yên tâm thực hiện. Bước đầu thực tế chứng minh mô hình đã xây dựng là phù hợp với điều kiện canh tác trên đất dốc Sa Pa - Lao Cai.

Bảng 5. **Thu nhập sản phẩm từ cây trồng qua các năm của 2 điểm mô hình**

Tên cây trồng	*Năm 1998*				*Năm 1999*				*Năm 2000*			
	Tổng chi		*Tổng thu*		*Tổng chi*		*Tổng thu*		*Tổng chi*		*Tổng thu*	
	MH1	*MH2*	*MH1*	*MH2*	*MH1*	*MH2*	*MH1*	*MH2*	*MH1*	*MH2*	*MH1*	*MH2*
Lãoquán thảo	170	-	600	-	1200	518	2000	700	700	520	1600	700
Đương quy	195	400	700	1000	518	1190	1400	6000	800	3000	1728	6000
Bạch truật	215	800	200	1500	520	1200	800	2100	3000	7000	5520	15000
Tục đoạn	200	-	600	-	-	-	-	-	550	500	800	560
Mộc hương	-	150	-	600	-	1040	-	3000	-	1500	-	3000
Xuyên khung	-	300	-	2500	-	-	-	-	-	-	-	-
Ô đầu	-	-	-	-	650	-	2000	-	-	800	-	1750
Ac ti sô	-	-	-	-	-	1200	-	3000	1600	1500	2700	2025
Ngô	-	300	-	480	120	336	180	320	-	336	-	320
Lê (1995)	-	-	-	-	-	-	-	-	800	7000	8400	8000
Mận (1995)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6500	-	4500
Đào (1995)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16000	-	8400
Chè (1995)	-	-	-	-	-	-	-	-	26000	6200	33000	5760
Thảoquả (1995)	-	-	-	-	-	-	-	-	700	-	1100	-

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Giải pháp thiết kế và xây dựng mô hình lồng ghép các loại cây trồng với cây dược liệu trên hiện trạng đất giao rừng sẵn có đối với đa số hộ nông dân trên đất dốc Sa Pa là một giải pháp dễ thực hiện được người dân sẵn sàng chấp nhận và tham gia tích cực.

2. Kỹ thuật thiết lập băng cây xanh theo đường đồng mức cắt dòng chẩy của cây lâm nghiệp xen kẽ cây dược liệu dài ngày tạo ra quần thể băng dải cây xanh chống xói mòn rửa trôi đất có ý nghĩa cực kỳ quan trọng.

3. Đưa cây thuốc các loại tham gia cơ cấu cây trồng, tận dụng mùa vụ lệch với cây nông nghiệp nhằm khai thác lao động nhàn rỗi, tạo công ăn việc làm, thu nhập

thêm kinh tế. Đồng thời tạo được lớp che phủ đất quanh năm, nhằm chống đất bị rửa trôi cải tạo đất dốc.

4. Hiệu quả kinh tế của mô hình đã cho thu nhập đa dạng hóa các sản phẩm từ nhiều loại cây trồng khác nhau.

5. Đề nghị cho tiếp tục nhân rộng mô hình ra các điểm khác và có thể xây dựng một dự án P sản xuất thí điểm trên quy mô lớn hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Thái Phiên, Nguyễn Tử Siêm, 1998.*
Canh tác bền vững trên đất dốc ở Việt Nam, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

2. *Viện Thổ nhưỡng nông hoá, 1997.*
Quản lý dinh dưỡng và nước cho cây trồng trên đất dốc miền Bắc Việt Nam. 2/1997 - Hà Nội.

3. *Viện Sinh thái và tài nguyên sinh vật, 1995.*
Tuyển tập các công trình nghiên cứu sinh thái và tài nguyên sinh vật. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội (Tr. 89, 111, 147).

4. *Viện Dược liệu, 1976.*
Kỹ thuật trồng cây thuốc. NXB Y học, Hà Nội.

5. *Viện Dược liệu, 1990.*
Cây thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

6. *Nguyễn Văn Lan, Đỗ Tất Lợi, Nguyễn Văn Thạch, 1965.*
Kỹ thuật nuôi trồng và chế biến dược liệu. NXB Y học Bắc Kinh (tài liệu dịch).

7. *Viện Dược liệu, 1993.*
Tài nguyên cây thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

8. *Viện Dược liệu, 1995.*
Xây dựng mô hình áp dụng tiến bộ kỹ thuật nhằm tổ chức sản xuất dược liệu + Nấm hương tạo nguồn thu nhập thay cây thuốc phiện cho đồng bào dân tộc Sa Pa - Lao Cai. (Báo cáo nghiệm thu dự án miền núi 1995).

KẾT QUẢ THỰC HIỆN DỰ ÁN MIỀN NÚI "PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU VÀ NẤM HƯƠNG" VÀ ỨNG DỤNG PHÁT TRIỂN VÙNG NGUYÊN LIỆU Ở LAO CAI VÀ HÀ GIANG

(Dự án cấp Nhà nước nghiệm thu 1996)

Nguyễn Bá Hoạt, Đàm Nhận, Đinh Văn My, Phạm Văn Ý, Trịnh Văn Trường[1], Thân Đức Nhã[1], Hoàng Hữu Chất[1]

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc đưa cây thuốc có thị trường ổn định tham gia cơ cấu cây trồng vùng cao, nhất là vùng vừa phá bỏ cây thuốc phiện sẽ thiết thực góp phần tạo việc làm tăng thu nhập cho hộ nông dân, từng bước tạo nền sản xuất hàng hóa ở vùng giầu tiềm năng của đất nước.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

Thực hiện dự án " Xây dựng mô hình phát triển dược liệu và nấm hương tạo nguồn thu góp phần thay thế cây thuốc phiện cho đồng bào các dân tộc huyện Sa Pa tỉnh Lao Cai", chúng tôi đã chọn 2 cây thuốc: lão quan thảo (*Geranium nepalense* var. *Thunbergii* Kudo) đương quy (*Angelica acutiloba* Kitagawa) và nấm hương giống Đài Loan (*Lentinus edodes* Berk-Singer) để nghiên cứu phát triển. Lão quan thảo có thị trường xuất khẩu ổn định và lâu dài. Đương quy có thị trường xuất khẩu và nhu cầu sử dụng trong nước cao. Nấm hương có thị trường trong nước và xuất khẩu lớn, không chỉ là thực phẩm có giá trị cao còn là nguyên liệu của thuốc Lentina điều trị ung thư dạ dầy hiệu quả, có doanh thu cao.

Phương pháp nghiên cứu là kết hợp giữa nghiên cứu đồng ruộng với xây dựng mô hình thực nghiệm nhằm hoàn thiện quy trình công nghệ, thử nghiệm gắn liền với nhân nhanh mô hình tạo vùng sản xuất nguyên liệu.

---

[1] XN Mây tre.

III. KẾT QUẢ

1. Cây đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba*)

Theo Cử nhân Nguyễn Chiều, hai giống đương quy Triều Tiên và đương quy Nhật Bản về mặt thực vật là một loài. Đánh giá phẩm chất giống ở Sa Pa theo quy trình trồng của đề tài X8 đề nghị cho kết quả sau: Chiều cao cây khi thu dược liệu 47,5cm ± 3, chiều dài củ 25,7cm ± 6,2, đường kính củ 2,7cm ± 0,65, khối lượng củ 45,2g ± 8,6. Năng suất hạt/ha 283,5kg ± 35, khối lượng 1000 hạt 4,21± 0,25. Tỷ lệ nảy mầm của hạt 86,5% ± 8,5. Kết quả này cho thấy đương quy trồng ở Sa Pa không có sai khác đáng kể so với nguyên sản về phẩm chất giống và năng suất dược liệu.

Kết quả khảo nghiệm sản xuất đương quy của dự án ở Sa Pa trong 2 năm 1994 và 1995, năng suất hạt đạt 513kg/ha, năng suất dược liệu đạt 2682kg/ha. Kết quả nghiên cứu đã xác định vị trí của cây đương quy trong cơ cấu cây trồng của Sa Pa - Lao Cai. Ứng dụng kết quả này, cây đương quy Nhật Bản đã dược trồng thử nghiệm và phát triển tạo vùng nguyên liệu ở Mộc Châu - Sơn La; Quản Bạ, Đồng Văn -Hà Giang.

2. Cây lão quan thảo (*Geranium nepalense* var. *thunbergii*)

Cây lão quan thảo được nhập vào Việt Nam năm 1990. Sau 3 năm đánh giá nhập nội tại Sa Pa đã xác định thời vụ trồng tháng 10 - 11; thời gian từ trồng đến thu hoạch dược liệu 240 ngày ± 15, chiều dài cây khi thu dược liệu 80,5cm ± 25,5, khối lượng của gốc 42,85g ± 2,5, năng suất dược liệu 2700kg ± 580/ha. Thời gian từ trồng đến thu hạt giống 250 ngày ± 12; năng suất hạt 113,4kg ± 35,6/ha; khối lượng 1000 hạt 1,4g ± 0,3; tỷ lệ nảy mầm của hạt 78,5% ± 8. Kết quả này cho thấy cây sinh trưởng phát triển tốt ở Sa Pa, sai khác không đáng kể so với nguyên sản. Năm 1994, đã xây dựng mô hình sản xuất ở 4 xã thuộc huyện Sa Pa với diện tích 4,5ha, 56 hộ nông dân trồng lão quán thảo trong đó có 43 hộ người dân tộc H'Mông. Đã xây dựng 1 lò sấy công suất 700kg dược liệu/mẻ tại thôn Tân Khai Ô Qúy Hồ cho hộ nông dân vận hành chế biến dược liệu và xây dựng khu chế biến trung tâm tại Trạm dược liệu Sa Pa. Sản lượng dược liệu năm 1994 đạt 8300kg, năng suất đạt 1830kg/ha. năm 1995 mở rộng diện tích trên 17ha, đạt sản lượng 31 tấn. Kết quả nghiên cứu hoàn thiện quy trình kỹ thuật trồng và công nghệ chế biến lão quan thảo khẳng định vị trí cây lão quán thảo trong cơ cấu cây trồng vùng cao. Ứng dụng kết quả này, cây lão quán thảo đã được khảo nghiệm và phát triển trong sản xuất ở Bắc Hà - Lao Cai, Mộc Châu - Sơn La, Mai Châu - Hoà Bình và Quản Bạ, Đồng Văn - Hà Giang.

3. Nấm hương

Do giống nấm hương truyền thống có giá trị thương phẩm thấp nên đã thực nghiệm so sánh với giống nấm hương Nhật Bản và Đài Loan. Kết quả cho thấy giống nấm hương Đài Loan ưu điểm hơn cả về năng suất và hình thái thương phẩm. Đề tài đã khảo sát so sánh chọn giá thể giữa gỗ sồi giẻ truyền thống với tống quán sủi (bảng 1)

Bảng 1. **Kết quả đánh hiệu quả hai loại giá thể nuôi nấm hương ở Sa Pa**

Loại giá thể	*Thời vụ cấy nấm*	*Thời gian nuôi sợi (tháng)*	*Thời vụ thu hoạch*	*Năng suất nấm tươi năm đầu (kg/m³)*	*Chu kỳ sản xuất (năm)*
Gỗ tống quán sủi (*Betulaceae*)	Từ tháng 4 đến tháng 8	6 tháng (180 ngày)	Từ tháng 4 đến tháng 10	60 kg/m³	2 - 3 năm
Gỗ sồi giẻ (*Fagaceae*)	Từ tháng 4 đến tháng 8	16 tháng (480 ngày)	Từ tháng 4 đến tháng 10	30 kg/m³	3 - 4 năm

Kết quả cho thấy trên gỗ tống quán sủi, thời gian ra nấm nhanh hơn (trên gỗ tống quán sủi 6 tháng, gỗ sồi giẻ 16 tháng). Năng suất trung bình cao hơn (60kg nấm tươi/m^3 và gỗ sồi giẻ 30kg nấm tươi/m^3), năng suất năm thứ nhất và năm thứ hai đề tài đã thực hành công nghệ nuôi nấm hương trên giá thể mùn cưa gỗ tống quán sủi thời gian nuôi sợi 75 - 80 ngày, năng suất đạt 85kg nấm tươi trên 100kg mùn cưa. Dự án đã tiến hành sản suất thử nghiệm để hoàn thiện quy trình công nghệ với 4260 túi nấm (700g/túi) là giá thể mùn cưa; 25m^3 gỗ tống quán sủi và 15m^3 gỗ sồi giẻ. Kết quả này khẳng định giá trị gỗ tống quán sủi trong sản xuất công nghiệp nấm hương trên địa bàn vùng cao, là cơ sở cho việc mở rộng diện tích trồng tống quán sủi phủ xanh đất trống đồi trọc hiện nay.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả thực hiện dự án cho thấy cây đương quy Nhật Bản và cây lão quan thảo sinh trưởng phát triển tốt trong điều kiện khí hậu đất đai ở Sa Pa Lao Cai. Hiệu qủa kinh tế và xã hội của 2 cây thuốc này đã được nhiều địa phương miền núi tiếp nhận và phát triển, khẳng định vai trò cây thuốc trong chuyển đổi cơ cấu cây trồng, tham gia xoá đói giảm nghèo ở vùng cao. Kết quả nghiên cứu phát triển nấm hương đã xác định hiệu quả và khả năng sản xuất nấm hương trên giá thể nhân tạo. Đặc biệt khẳng định có thể thay thế giá thể là gỗ tống quán sủi trong sản xuất

nấm hương chẳng những tránh phá rừng mà còn thúc đẩy việc trồng rừng cây tống quán sủi cải thiện môi trường sinh thái của vùng cao.

Đây là mô hình gắn nghiên cứu với thực tiễn, cần quan tâm mở rộng phạm vi và đối tượng áp dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đường Hồng Dật, 1993.*

Khoa học công nghệ và sự phát triển bền vững nền kinh tế hàng hóa ở vùng miền núi dân tộc. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

2. *Lê Trần Đức, 1997.*

Dược liệu Việt Nam, trồng thu hái và chế biến NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

3. *Nguyễn Bá Hoạt, Đàm Nhận, Đinh Văn My, Trịnh Văn Trường, Hoàng Đức Nhã và cộng sự, 1998.*

Kết quả nghiên cứu phát triển dược liệu và nấm hương tại Sa Pa Lao Cai. Tạp chí Dược liệu tập 3 số 1, Hà Nội.

4. *Bomfor R., 1998.*

Immunomodulators from plants and fungi phytotherapy reseaour Vel. 2 - 1998 P. 159 - 161

NGHIÊN CỨU CÁC BIỆN PHÁP, CHÍNH SÁCH HIỆN ĐẠI HÓA NGÀNH CÔNG NGHIỆP BÀO CHẾ CÁC THUỐC LÀM TỪ CÂY THUỐC

(Đề tài nhánh KHCN 11-05-01 của Đề tài KHCN 11-05 thuộc chươngtrình KHCN 11. Đã được nghiệm thu chính thức ngày 23 / 6 / 2000)

Nguyễn Gia Chấn, Phạm Thanh Trúc, Hoàng Thế Tân[1], Nguyễn Văn Phận[1], Nguyễn Xuân Hùng[2], Bùi Văn Đạm[2], Nguyễn Quang Cừ[2], Lê Minh Điểm[3]

I. MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG

- Khảo sát, đánh giá thực trạng hiện nay của công nghiệp bào chế thuốc từ cây thuốc

- Trên cơ sở đó nghiên cứu đề xuất các biện pháp, chính sách hiện đại hóa ngành công nghiệp này.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thực trạng hiện nay của ngành công nghiệp bào chế (CNBC) các thuốc từ cây thuốc

1) Số cơ sở đã khảo sát: 38. Số cán bộ, chuyên gia đã phỏng vấn: 41.

2) Tình hình phát triển có thể chia 3 thời kỳ

Thời kỳ trước 1987: Thời kỳ bao cấp.

Thời kỳ 1987 - 1995: Thời kỳ chuyển đổi từ cơ chế bao cấp sang cơ chế thị trường. Đây là giai đoạn chuyển tiếp.

- Những năm đầu chưa thích ứng với cơ chế mới, sản xuất-kinh doanh sút giảm.

---

[1] Công ty Dược liệu Trung ương 2.
[2] Bộ Y tế.
[3] Xí nghiệp Dược phẩm Trung ương 26.

- Những năm sau, tùy mức độ thích ứng, đã có những chuyển biến tích cực, chủ động.

Thời kỳ 1995 - 1999: - Thời kỳ các cơ sở thoát ra khỏi ảnh hưởng của cơ chế bao cấp, thích ứng dần với cơ chế thị trường, hoạt động sản xuất-kinh doanh chuyển biến tích cực, chủ động.

- Đồng thời, về mặt quản lý nhà nước, từ 1990 đến 1999, ngành y tế đã ban hành và đề nghị nhà nước ban hành nhiều văn bản quan trọng có liên quan tới vấn đề phát triển y dược học cổ truyền, quản lý chất lượng thuốc.

- Từ năm 1996, nhất là trong năm 1998-1999, hoạt động của các cơ sở sản xuất-kinh doanh đông dược đã thật sự khởi sắc, rõ nét.

3) Đánh giá thực trạng hiện nay của ngành CNBC thuốc từ cây thuốc

a) Về quy mô:

- Nhìn chung lực lượng sản xuất đông dược còn mỏng, quy mô vừa và nhỏ.

- Theo thống kê Cục Quản lý Dược 3/98: - cả nước có 257 cơ sở sản xuất đông dược (189 cơ sở chuyên sản xuất đông dược và 68 sơ sở sản xuất tân dược có sản xuất đông dược), có 82 cơ sở quốc doanh và 175 cơ sở tư doanh.

- Doanh số: cơ sở cao nhất khoảng 30-40 tỷ đồng/năm, một số đạt khoảng 10 - 15 tỷ đồng, còn đa số là cơ sở sản xuất nhỏ, doanh số chỉ vài chục triệu đồng/năm.

b) Số mặt hàng đăng ký đến 3/98: 1.177.

Về chủng loại, các mặt hàng chủ yếu là các loại dễ bán như dầu xoa, cao xoa, thuốc bổ, chè thuốc...; năm 1998-1999 đã quan tâm đến thuốc bệnh nhiều hơn.

Các dạng bào chế gồm: Thuốc nước 21,9%, rượu thuốc 16,5%, viên hoàn 17,8%, thuốc bột 8,1%, thuốc thang đóng gói sẵn 4,7%, viên nén, viên bao, viên nang 13,5%, chè thuốc 1,2%.

Riêng chè thuốc năm 1998-1999 tăng nhanh, chỉ tính 6 cơ sở ở TP HCM, dạng chè thuốc đã chiếm 21% trên tổngsố các dạng bào chế.

- Về chất lượng thuốc, mấy năm gần đây có nhiều tiến bộ.

- Việc kiểm tra chất lượng trong các doanh nghiệp tư nhân còn nhiều khó khăn.

c) Về kinh doanh

- Thị trường trong nước được mở rộng đến tất cả các tỉnh, các tuyến y tế cơ sở thông qua mạng lưới tiếp thị.

- Thị trường nước ngoài được củng cố mở rộng, doanh số xuất khẩu tăng dần.

- Trong 2 năm 97-98, một số cơ sở đông dược ở TP. HCM có mức tăng doanh số là 17,4%, mức tăng dược liệu và đông dược là 26,64%.

d) *Về nâng cấp cơ sở, đổi mới công nghệ*

Hầu hết các cơ sở đã tập trung đầu tư cải tạo nâng cấp cơ sở làm việc, đổi mới thiết bị từng bộ phận theo hướng phấn đấu sớm có được một dây chuyền đạt GMP vào năm 2000-2001.

Hiện nay nhiều thiết bị cho bộ phận chế biến dược liệu và một số máy cho công nghệ bào chế đã sản xuất được trong nước, tạo thuận lợi cho việc đầu tư đổi mới công nghệ.

d) Về nghiên cứu khoa học

- Đến 1999, các cơ sở xản xuất quốc doanh và công ty TNHH đã có nhiều biện pháp kết hợp với các viện nghiên cứu, trường đại học, bệnh viện nghiên cứu mặt hàng mới.

e) Về hợp tác quốc tế

- Hầu hết các XN/CTy sản xuất đông dược đều đã tổ chức tham quan khảo sát kinh nghiệm của Trung quốc, Hàn Quốc mua trang thiết bị.
- Ký được hợp đồng xuất khẩu sang các nước SNG, Đông Âu...

f) Về đội ngũ cán bộ chuyên khoa

- Về chế biến dược liệu và bào chế đông dược hiện nay rất thiếu.
- Chưa có nơi nào đào tạo lương dược.
- Kỹ thuật chế biến dược liệu mỗi nơi làm theo kinh nghiệm riêng.

g) Khó khăn

- Nguyên liệu đầu vào hiện nay chủ yếu do tư thương lũng đoạn, không bảo đảm chất lượng.
- Sản phẩm đầu ra (đông dược) còn hạn chế do nhiều lý do (nhu cầu ít, lợi nhuận thấp...) nên hầu hết các XN/Cty đông dược vẫn phải sản xuất một phần tân dược để bù đắp cho đông dược
- Quá trình sản xuất mặt hàng đông dược thường dài hơn tân dược, vốn quay vòng chậm hơn, lợi nhuận lại ít hơn nhưng thuế đánh ngang nhau.
- Khó đáp ứng được quy chế đăng ký thuốc mới (về kinh phí,về trình độ...)

2. Biện pháp, chính sách hiện đại hóa CN bào chế thuốc từ cây thuốc

1) Mục tiêu và nội dung hiện đại hoá

- Bảo đảm tính an toàn và hiệu lực của thuốc.
- Cải tiến dạng bào chế tiện dùng hơn, ổn định hơn.
- Hiện đại hóa từng bước, từng bộ phận tiến tới hiện đại háo toàn xí nghiệp.

- HĐH từ khâu sơ chế, chế biến nguyên liệu, khâu chiết xuất, cô cao đến khâu sản xuất dạng bào chế, đóng gói.

2) Về tổ chức sản xuất kinh doanh

a) Sản xuất nguyên liệu

- Tổ chức các vùng trồng cây thuốc; cơ khí hóa khâu trồng trọt và sơ chế, trồng cây thuốc sạch.

- Phục hồi nhiệm vụ sản xuất-kinh doanh dược liệu của các Công ty Dược liệu Trung ương (CTDLTU). Đầu tư xây dựng 1-2 XN chế biến dược liệu.

- Viện Dược liệu xây dựng, trình Bộ duyệt và triển khai đề án về công tác giống cây thuốc, công tác bảo tồn 500 loài cây thuốc (2020).

b) Về công nghiệp bào chế

- Đầu tư cải tạo và xây mới 1-2 XN chuyên sản xuất thuốc từ cây thuốc đạt tiêu chuẩn GMP Asean.

- Hiện đại hóa các công nghệ bào chế sau: Chế biến thuốc sống thành thuốc chín, chiết xuất bán thành phẩm, bào chế dạng cổ truyền và dạng hiện đại, kiểm nghiệm chất lượng.

- Cải tạo, xây mới nhà xưởng theo chuẩn mực GMP; lắp đặt các thiết bị lọc không khí, xử lý bã thải, nước thải.

c) Tạo đầu ra cho sản phẩm

- Hướng dẫn cách triển khai Danh mục thuốc đông dược thiết yếu, các cây thuốc, vị thuốc thiết yếu cho cơ sở sản xuất và bác sĩ tây y.

- Các XN/CTy đa dạng hóa sản phẩm từ cây thuốc và cây tinh dầu, sản xuất các thuốc thiết yếu.

- Tiếp tục mở rộng mạng lưới tiếp thị tới vùng xa, vùng sâu; tuyên truyền phổ biến lợi ích của việc dùng thuốc đông dược.

Lưu ý theo rõi cảnh báo tác dụng phụ của thuốc.

- Tiếp tục đẩy mạnh quảng cáo mở rộng thị trường ngoài nước.

- Nghiên cứu nhiều thuốc chữa bệnh có hiệu lực tốt gây được tín nhiệm trong nhân dân và thầy thuốc tây y.

3) Thực hiện chính sách kinh tế ưu đãi đối với CNBC thuốc từ cây thuốc

- Đề nghị chính phủ cho ngành y tế được sử dụng một phần quỹ hỗ trợ vùng khó khăn (Chương trình 327, vốn xây dựng vườn quốc gia) trong việc nuôi trồng cây con làm thuốc.

- Đề nghị chính phủ cho XN sản xuất đông dược vay vốn với lãi suất ưu đãi 0,4% / tháng; - cấp vốn đầu tư xây dựng 2 XN GMP về đông dược; - có chính sách ưu dãi liên doanh với nước ngoài xây dựng XN chế biến dược liệu.- Có chính sách

hạn chế nhập khẩu và đánh thuế thích đáng đối với dược liệu và thuốc cổ truyền trong nước sản xuất được.

4) Về nghiên cứu khoa học

a) Đề nghị nhà nước dành cho ngành Dược một *chương trình nghiên cứu thuốc mới từ cây thuốc trong mỗi kế hoạch 5 năm.*

Chú trọng nghiên cứu biện chứng luận trị của Y học cổ truyền.

- Nghiên cứu bổ sung một số điều khoản trong quy chế đăng ký thuốc thích hợp hơn đối với thuốc cổ truyền.

- Bổ sung quy định về GMP thích hợp đối với các cơ sở nhỏ như nhà thuốc gia truyền, tổ hợp sản xuất.

b). Xây dựng Viện Dược liệu thành Trung tâm hợp tác WHO về y học cổ truyền, đầu tư nâng cấp thư viện của Viện Dược liệu thành Trung tâm thông tin - tư liệu về cây thuốc và thuốc từ cây thuốc phục vụ toàn ngành và cả nước.

c). *Đầu tư xây dựng Trung tâm nghiên cứu và phát triển công nghệ dược trực thuộc Tổng công ty Dược Việt Nam.*

d). Xây dựng các hình thức kết hợp nghiên cứu khoa học với sản xuất.

5) Về đào tạo cán bộ cho công tác nghiên cứu, sản xuất thuốc từ cây thuốc

a). Giao Trường ĐH Dược:

- Chuẩn bị cho việc thành lập Khoa Dược học cổ truyền trong Trường ĐHYDHCT sẽ thành lập.

- Tổ chức các lớp cao học đào tạo các Thạc sĩ Dược học cổ truyền có ba tháng thực tập tại Trung Quốc về Trung dược. Các cơ sở cử cán bộ đi học đóng góp kinh phí. Có thể mời GS Trung Quốc.

b) Bộ Y tế tạo nguồn

- Đào tạo Dược sĩ, Thạc sĩ, Tiến sĩ về Dược học cổ truyền tại Trung Quốc.

- Đào tạo Tiến sĩ về hóa thực vật tại Nhật, Pháp, Canada, Hoa Kỳ.

c) Bộ Y tế chỉ đạo việc xây dựng chương trình đào tạo lương dược.

d) *Trường Đại học Dược* mở các lớp bổ túc cho các DS và Lương y đang làm sản xuất đông dược về chế biến dược liệu, bào chế đông dược, về kiểm nghiệm. Các cơ sở cử cán bộ đi học đóng góp kinh phí.

6) Về hợp tác quốc tế

- Tranh thủ sự giúp đỡ của WHO về nghiên cứu khoa học, bổ túc cán bộ, thông tin tư liệu trong lĩnh vực cây thuốc và các thuốc từ cây thuốc.

- Tranh thủ sự hợp tác, liên doanh liên kết với Trung Qquốc, Hàn Quốc, Nhật Bản, đặc biệt vấn đề xây dựng xí nghiệp chế biến thuốc sống thành thuốc chín.

7) Về quản lý nhà nước

- Tăng cường kiểm tra hướng dẫn các cơ sở thực hiện các chủ trương chính sách đã ban hành về dược liệu và thuốc cổ truyền. Kết hợp chặt chẽ ba mặt sản xuất-kinh doanh, nghiên cứu khoa học, đào tạo cán bộ trong chỉ đạo.

- Chú trọng chính sách tạo " Đầu ra " và chính sách đầu tư cho xây dựng cơ sở vật chất kỹ thuật, cho công tác nghiên cứu khoa học và đào tạo cán bộ.

III. KẾT LUẬN

1. - Thuốc từ cây thuốc nói chung, thuốc cổ truyền nói riêng có vai trò không thể thiếu trong sự nghiệp bảo vệ và chăm sóc sức khoẻ nhân dân. Trong kháng chiến cũng như trong hoà bình đã đóng góp khoảng 30% tổng giá trị thuốc hàng năm.

- Từ 1987 Nhà nước ban hành NQ 217, mở ra giai đoạn chuyển đổi nền kinh tế từ hạch toán bao cấp sang hạch toán kinh doanh theo cơ chế thị trường.

Những năm đầu lúng túng do chưa thích nghi với cơ chế mới, sản xuất-kinh doanh của các cơ sở đông dược bị giảm sút mạnh.

Từ 1995 đã thoát khỏi ảnh hưởng của cơ chế bao cấp, bắt đầu hoạt động có hiệu quả; 1998-1999 tốc độ công nghiệp hóa - hiện đại hóa trong lĩnh vực này đã và đang được đẩy mạnh.

Tuy quy mô hiện nay còn nhỏ bé, nhưng có tiềm năng và triển vọng phát triển tốt với đội ngũ cán bộ giầu nhiệt tình và tâm huyết với ngành.

2. - Về mặt quản lý nhà nước đã ban hành nhiều văn bản quan trọng.

Trong giai đoạn tới cần đẩy mạnh việc kiểm tra hướng dẫn cơ sở thi hành các văn bản, đồng thời tiếp tục ban hành các chính sách khuyến khích hỗ trợ, nhất là các chính sách về đầu tư và tạo đầu ra. Trong chỉ đạo cần chú ý kết hợp ba mặt hoạt động sản xuất-kinh doanh, nghiên cứu khoa học, đào tạo cán bộ.

Cần chú ý thỏa đáng tới các công ty dược các tỉnh, các công ty trách nhiệm hữu hạn, các nhà thuốc gia truyền lớn là những cơ sở có nhiều tiềm năng về thuốc cổ truyền, cần có chính sách khuyến khích tư doanh phát triển thuốc cổ truyền.

Xây dựng Xí nghiệp N26 thành Xí nghiệp Đông dược quốc doanh đầu đàn để có mô hình chỉ đạo chung.

Cần chú ý kiểm tra hướng dẫn, tạo điều kiện cho các Khoa dược Bệnh viện y học cổ truyền điều chế các thuốc đảm bảo chất lượng tốt hơn.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG HẠ CHOLESTEROL MÁU CỦA CHẾ PHẨM BIDENTIN BÀO CHẾ TỪ RỄ NGƯU TẤT

Đoàn Thị Nhu, Phạm Kim Mãn,
Phạm Văn Thanh, Nguyễn Kim Phượng,
Nguyễn Quang Hoan, Đinh Thị Thuyết,
Nguyễn Kim Bích, Hồ Đắc Trinh và cộng sự

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rễ ngưu tất đã được Đoàn Thị Nhu và cộng sự nghiên cứu dược lý dưới dạng cao toàn phần và chứng minh có các tác dụng.

- Làm giảm cholesterol máu ở thỏ đã được gây tăng cholesterol máu thực nghiệm do ức chế sự hấp thu cholesterol từ bên ngoài vào và do ức chế sự tổng hợp cholesterol trong cơ thể thỏ.

- Gây hạ huyết áp rõ rệt trên mèo, mức độ hạ áp từ từ, thời gian tác dụng kéo dài.

- Chống viêm.

- Độc tính cấp tính thấp, không gây ảnh hưởng xấu đối với cơ năng gan và thận trong thí nghiệm cho uống thuốc dài ngày.

Viên cao toàn phần ngưu tất do Viện Dược liệu bào chế đã được GS. Phạm Khuê và cộng sự thử nghiệm trên lâm sàng và chứng minh có tác dụng điều trị chính như sau:

- Làm giảm cholesterol máu trên bệnh nhân có cholesterol máu cao.

- Làm giảm tỷ lệ β/α lipoprotein máu ở bệnh nhân có tỷ lệ này cao.

- Làm giảm huyết áp ở bệnh nhân tăng huyết áp.

Trong công trình này, chúng tôi nghiên cứu dược lý trên bộ phận hóa học chủ yếu của rễ ngưu tất là saponin, và của công thức phối hợp saponin ngưu tất và chất phụ gia P để ảnh hưởng có lợi về dược động học làm tăng tác dụng hạ cholesterol máu của saponin ngưu tất, nhằm mục đích xây dựng một công thức thuốc và chế tạo một dạng sản phẩm có hiệu lực cao và thuận tiện trong việc bảo quản và sử dụng.

II. NGHIÊN CỨU THỰC NGHIỆM VỀ DƯỢC LÝ

1. Phương pháp nghiên cứu gây tăng cholesterol máu thực nghiệm trên thỏ bằng cách tiêm tween 80

Áp dụng phương pháp của Kellner, Correll và Ladd gây tăng cholesterol máu thỏ bằng cách tiêm tween 80. Chất này gây tăng tỷ lệ cholesterol máu nhanh, nhưng thời gian ngắn và chủ yếu do cơ chế tăng cholesterol nội sinh.

Thí nghiệm trên thỏ đực 2-3 kg. Ở lô thỏ đối chứng, tiêm tĩnh mạch vành tai thỏ 2,5 ml/kg tween 80 (dung dịch 20 p.100 trong dung dịch NaCl 0,9%), tiếp đó tiêm cùng một thể tích dung dịch NaCl để tránh tác dụng kích ứng của tween 80 có thể gây hoại tử lan rộng ở tai thỏ nếu không tiêm dung dịch NaCl. Lấy máu ở tĩnh mạch vành tai, trước khi tiêm và 4 giờ 30 phút sau khi tiêm tween 80, định lượng cholesterol toàn phần trong huyết thanh theo phương pháp đo quang. Tỷ lệ cực đại sau 4 giờ 30 phút hay 6 giờ, ít khi đạt sau 3 giờ hay 7 giờ 30 phút.

Ở lô thỏ thử thuốc, cho thỏ uống hoặc cao ngưu tất pha chế với cồn 40 độ, với tỷ lệ 1:1 trong 4 ngày liền, với liều hàng ngày tương đương 10g ngưu tất khô cho 1 kg thỏ, hoặc các bộ phận hóa học chiết tách riêng rẽ của ngưu tất, và Bidentin cũng trong thời gian 4 ngày và với liều hàng ngày tương đương 10g ngưu tất khô cho 1 kg thỏ. Ngày thứ tư, ngay sau khi cho uống thuốc, tiêm tween 80 cho thỏ như với lô đối chứng.

Những lô thỏ đã thí nghiệm sau hai tuần được thử lại, dùng lô đối chứng ban đầu làm lô thử thuốc và lô thử thuốc ban đầu làm lô đối chứng.

2. Kết quả thí nghiệm

1) Nghiên cứu so sánh tác dụng của một số bộ phận hóa học của rễ ngưu tất trên thỏ đã gây tăng cholesterol máu thực nghiệm

Từ rễ ngưu tất, đã tách riêng 3 bộ phận hóa học chính là: saponin, đường tự do và sterol. Kết quả thí nghiệm trên thỏ đã gây tăng cholesterol máu thực nghiệm cho thấy:

a. Khi thử riêng rẽ phần saponin và phần đường tự do của ngưu tất không thấy có tác dụng hạ cholesterol máu, nhưng khi thử hỗn hợp saponin và đường tự do thì thấy có tác dụng hạ cholesterol máu, saponin có hàm lượng khá cao so với các thành phần hóa học khác của rễ ngưu tất, là bộ phận hóa học chính có hoạt tính hạ cholesterol máu. Phần đường tự do có tác dụng có lợi về dược động học làm tăng tác dụng hạ cholesterol máu của saponin ngưu tất.

b. Bộ phận sterol có tác dụng làm giảm cholesterol máu ở thỏ với mức độ nhất định, nhưng hàm lượng sterol ở rễ ngưu tất rất thấp, nên sterol là bộ phận hoạt chất phụ của rễ ngưu tất.

2)Nghiên cứu tác dụng của hỗn hợp saponin ngưu tất và chất phụ gia P để làm tăng khả năng hấp thu và phát huy tác dụng hạ cholesterol máu của saponin ngưu tất

Hỗn hợp saponin ngưu tất và đường tự do có sẵn trong rễ ngưu tất có tác dụng hạ cholesterol máu, nhưng vì đường dễ hút ẩm nên không phù hợp cho việc sản xuất dạng viên nén và viên nang.

Đã nghiên cứu tác dụng của công thức phối hợp saponin ngưu tất với chất phụ gia P, đồng thời so sánh với tác dụng của cao toàn phần ngưu tất trên thỏ đã gây tăng cholesterol máu thực nghiệm. Các kết quả thí nghiệm được trình bày Bảng 1.

Bảng 1. **Tác dụng của công thức phối hợp saponin ngưu tất với chất phụ gia P so sánh với cao toàn phần ngưu tất trên thỏ đã gây tăng cholesterol máu thực nghiệm**

Chế phẩm thử	*Liều quy ra rễ ngưu tất khô*	*Số lượng thỏ thí nghiệm*	*Tỷ lệ % tăng cholesterol máu so với trước khi tiêm*	*Tỷ lệ % giảm mức tăng cholesterol máu của thỏ thử thuốc so đối chứng*	*P*
Đối chứng	-	8	166±22		
Cao toàn phần Ngưu tất	10g/kg/ ngày x 4 ngày	8	109±9	34p.100	< 0,05
Đối chứng	-	20	141±11		
Saponin ngưu tất + chất P (Bidentin)	10g/kg/ ngày x 4 ngày	20	84±14	40p.100	< 0,01

Các kết quả thí nghiệm cho thấy hỗn hợp saponin ngưu tất với chất P (Bidentin) có tác dụng làm giảm cholesterol máu thỏ tương đương với tác dụng của cao toàn phần ngưu tất.

III. NGHIÊN CỨU VỀ ĐỘC TÍNH

1. Độc tính cấp tính của Bidentin được xác định theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon bằng đường uống trên chuột nhắt trắng.

$$LD_{50} \text{ (uống)} = 10,3 \text{ (8,7 - 12,3) g/kg ở } P = 0,05.$$

Liều này gấp 13,7 lần liều dùng một ngày cho người, chứng tỏ Bidentin có độc tính thấp.

2. Độc tính bán trường diễn được tiến hành trên thỏ, cho uống hàng ngày Bidentin 0,5g/kg thể trọng (gấp 33,3 lần liều dùng hàng ngày cho người tính theo kg thể trọng) trong 30 ngày liên tục, đã không ảnh hưởng có ý nghĩa đến trọng lượng thỏ, đến các thông số xét nghiệm về chức phận tạo máu (số lượng hồng cầu, bạch cầu và tỷ lệ huyết sắc tố), về chức năng gan (tỷ lệ protein toàn phần, hoạt độ các men GOT và GPT trong huyết thanh, và về chức năng thận (nồng độ urê và creatinin trong huyết thanh). Bidentin đã không gây tổn thương thực thể, qua kết quả xét nghiệm về mô học trên gan, thận, thượng thận thỏ.

3. Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất bột Bidentin

Đã hoàn thành xây dựng quy trình sản xuất bột Bidentin gồm các nội dung: đặc điểm thành phẩm và nguyên phụ liệu, sơ đồ các giai đoạn sản xuất, mô tả quá trình sản xuất, kỹ thuật an toàn và vệ sinh công nghiệp.

4. Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất viên nang Bidentin

Đã hoàn thành xây dựng quy trình bào chế viên nang Bidentin gồm các nội dung: đặc điểm thành phẩm và nguyên phụ liệu, sơ đồ các giai đoạn sản xuất, sơ đồ máy móc thiết bị, mô tả quá trình sản xuất, kỹ thuật an toàn lao động và vệ sinh vô trùng.

5. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn chất lượng của bột Bidentin và viên nang Bidentin

Đã xây dựng tiêu chuẩn chất lượng của thuốc Bidentin bao gồm: chất lượng nguyên liệu, chất lượng bán thành phẩm Bidentin và chất lượng viên nang Bidentin, phương pháp thử, đóng gói ghi nhãn bảo quản.

IV. KẾT LUẬN

Thuốc Bidentin có hiệu quả điều trị chứng tăng cholesterol máu và không độc, được xác nhận trên thử nghiệm lâm sàng. Thuốc Bidentin đã được phép đưa vào sản xuất và lưu hành rộng rãi.

NGHIÊN CỨU THUỐC DENTONIN ĐIỀU TRỊ VIÊM LỢI VÀ VIÊM QUANH RĂNG

Đoàn Thị Nhu, Phạm Văn Thanh, Nguyễn Ninh Hải, Phạm Thanh Trúc, Đinh Thị Thuyết và cộng sự

I. NGHIÊN CỨU DƯỢC LÝ 3 DƯỢC LIỆU CÀ GAI LEO, NGƯU TẤT VÀ SÂM ĐẠI HÀNH DÙNG BÀO CHẾ DENTONIN

1. Nghiên cứu tác dụng chống viêm

a) Tác dụng trên phù kaolin

Cả ba dược liệu có tác dụng ức chế phù thực nghiệm chân chuột cống trắng gây bằng kaolin (tương ứng với giai đoạn viêm cấp tính). Rễ ngưu tất có tác dụng mạnh nhất, tiếp đến rễ cà gai leo, rồi đến củ sâm đại hành và thân lá rễ cà gai leo. Hoạt lực ức chế giai đoạn viêm cấp tính của 1mg hydrocortison gần tương đương với hoạt lực của 60 mg rễ ngưu tất loại I, 150 mg rễ ngưu tất loại III, 520 mg rễ cà gai leo, 720 mg củ sâm đại hành và 900 mg thân lá cà gai leo.

b) Tác dụng trên u hạt amian

Cả 3 dược liệu có tác dụng ức chế sự phát triển u hạt thực nghiệm gây bằng amian ở chuột cống trắng. Rễ ngưu tất có tác dụng mạnh nhất, tiếp đến rễ cà gai leo, rồi đến thân lá cà gai leo và củ sâm đại hành. Hoạt lực ức chế giai đoạn viêm mạn tính của 1mg hydrocortison gần tương đương với hoạt lực của 96 mg rễ ngưu tất, 375 mg rễ cà gai leo, 750 mg thân lá cà gai leo và 750 mg của sâm đại hành.

2. Nghiên cứu tính chất đặc thù của thuốc ức chế phản ứng miễn dịch

a) Tác dụng gây thu teo tuyến ức chuột cống đực non

Ngưu tất và cà gai leo có tác dụng gây thu teo tuyến ức chuột cống đực non, sâm đại hành không có tác dụng này. Rễ ngưu tất có tác dụng mạnh nhất, tiếp đến rễ cà gai leo rồi thân lá cà gai leo. Hoạt lực gây thu teo tuyến ức chuột cống non của 1 mg hydrocortison gần tương đương với hoạt lực của 125 mg rễ ngưu tất, 500 mg rễ cà gai leo và 650 mg thân lá cà gai leo.

b) Tác dụng bảo vệ chống lại độc lực của nọc rắn mang bành của cà gai leo

Rễ cà gai leo tươi dạng nước sắc cho chuột nhắt trắng uống 1ml x 2lần, một lần trước và một lần sau khi tiêm nọc rắn với liều 9 microgam (liều gây chết khoảng

90% chuột nhắt), đã thể hiện khả năng bảo vệ chống lại độc lực của nọc rắn. Ở lô đối chứng, tỷ lệ chuột sống là 10,86%; ở lô thử thuốc tỷ lệ này là 53,62%, tăng thêm 42,76% so với lô chứng. Huyết thanh chống nọc rắn tiêm bắp thịt một liều 0,2 ml cho mỗi chuột, ngay sau khi tiêm nọc rắn, có tác dụng bảo vệ cao, với tỷ chuột sống là 93%, tăng thêm được 82,14% so với lô đối chứng.

Tỷ lệ chuột được bảo vệ do uống cà gai leo (42,76%), bằng 52% so với tỷ lệ chuột được bảo vệ do tiêm bắp thịt huyết thanh chống nọc rắn (82,14%).

c) Nghiên cứu tác dụng kháng khuẩn in vitro của sâm đại hành

Củ sâm đại hành có tác dụng ức chế sự phát triển của nhiều chủng vi khuẩn gây bệnh gram- dương và gram-âm *in vitro*. Có tác dụng ức chế mạnh nhất với; *Diplococcus pneumoniae, Streptococcus hemolyticus, Staphylococcus aureus*. Có tác dụng ức chế yếu hơn với: *Shigella dysenteriae, Sh.flexneri, Bacillus anthracis, Bacillus mycoides.*

II. NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CỦA 3 DƯỢC LIỆU VÀ CHẾ PHẨM DENTONIN

a) Nghiên cứu độc tính cấp tính

• *Độc tính cấp tính của cà gai leo và sâm đại hành*

Cà gai leo và sâm đại hành cho chuột nhắt trắng uống với liều rất cao (cà gai leo 300 g/kg, sâm đại hành 170 g/kg) mà không gây chết con chuột nào, chứng tỏ các dược liệu này không gây độc tính cấp tính.

• *Độc tính cấp tính của ngưu tất*

Xác định LD_{50} cho uống bằng phương pháp Karber trên chuột nhắt trắng của ngưu tất là: LD_{50} (uống) = 145 g/kg. Trị số này chứng tỏ ngưu tất có độc tính cấp tính thấp.

• *Độc tính cấp tính của chế phẩm Dentonin*

Với liều 240 ml/kg (gấp 480 liều dùng cho người trong một ngày tính theo 1 kg thân trọng) cho chuột nhắt trắng uống không gây chết chuột. Khi nâng liều đến mức tối đa có thể được là 500 ml/kg, thì chỉ có 4/10 chuột chết. Vì độc tính của thuốc quá thấp, nên không xác định được LD_{50}.

b) Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Độc tính bán trường diễn của cà gai leo và sâm đại hành:

Mỗi dược liệu được cho thỏ uống liều hàng ngày *10g/kg dạng cao lỏng, trong 30* ngày liên tục. Cà gai leo đã **không ảnh hưởng có ý nghĩa đến các thông số xét**

chức năng gan (thành phần protein, hoạt độ các men GOT và GPT trong huyết thanh), và về chức năng thận (nồng độ urê trong huyết thanh). Sâm đại hành đã không ảnh hưởng đến các thông số theo dõi về chức năng gan và thận.

• *Độc tính bán trường diễn của ngưu tất*

Ngưu tất cho thỏ uống hàng ngày với liều 8g/kg/ ngày dạng cao lỏng trong 30 ngày liên tục, đã tỏ ra không độc trong các thông số xét nghiệm về chức phận tạo máu, chức năng gan và thận của thỏ.

• *Độc tính bán trường diễn của chế phẩm Dentonin*

Dentonin với liều quy ra hỗn hợp dược liệu toàn phần 10g/kg (tương đương với 15,4 ml Dentonin/kg) cho chuột cống trắng uống hàng ngày trong 30 ngày liên tục, đã tỏ ra không độc trong những thông số theo dõi về thân trọng, tình trạng của lông, tình hình ăn uống và hoạt động, hình dáng xét nghiệm đại thể mô học các phủ tạng.

III. NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH SẢN XUẤT

Đã xây dựng được quy trình sản xuất chế phẩm Dentonin bao gồm những nội dung: công thức điều chế gồm 3 dược liệu cà gai leo, ngưu tất, sâm đại hành và một số phụ liệu; đặc điểm, thành phần và tiêu chuẩn nguyên phụ liệu; máy móc thiết bị; các giai đoạn trong quy trình sản xuất; kỹ thuật an toàn lao động và vệ sinh vô trùng; phương pháp kiểm soát trong quá trình sản xuất.

IV. NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CHẤT LƯỢNG CỦA THUỐC DENTONIN

Đã xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng cấp cơ sở của thuốc bao gồm những nội dung về: chất lượng các dược liệu và các phụ liệu, dung môi; chất lượng thành phẩm; phương pháp thử.

Thuốc Dentonin (ký hiệu A.P.D) đã bước đầu được thử nghiệm lâm sàng tại Khoa Răng hàm mặt Bệnh viện Việt Nam - Cu Ba và được chứng minh có kết quả tốt điều trị viêm lợi và viêm quanh răng, chữa khỏi các đợt cấp tính và làm chậm sự tiến triển của bệnh. Dentonin không gây những tác dụng không mong muốn, thuốc dễ dùng, không độc, bào chế từ nguyên liệu dễ có trong nước, sẽ có lợi ích trong việc điều trị viêm lợi và viêm quanh răng có tỷ lệ rất cao ở nước ta.

NGHIÊN CỨU HIỆN ĐẠI HÓA DẠNG BÀO CHẾ CỦA BÀI THUỐC CỔ PHƯƠNG NGŨ LINH TÁN

Phạm Thanh Trúc,
Nguyễn Thanh Bình, Trịnh Thị Điệp

SUMMARY

Studies on the modernization of Ngu Linh Tan traditional formulation

Ngu Linh Tan is a traditional recipe for the treatment of stones in the urinary system. This recipe has anti-inflammatory action and reduce pain. In order to combine the traditional medicine and modern medicine, the institute of Materia Medica has studied on the chemistry, the pharmacology, the clinical trial and the modernization of Ngu Linh Tan formulation. This form was called Sotinin. This paper reports on the processing methods, on the stability study data of galenic forms of Sotinin: Sugar-coated tablet, film-coated tablet, capsule. Based on the results of this investigation, it may conclude that the film-coated tablet is the best suitable in order to bring the drug to the market.

Key word: *Ngu Linh Tan, Traditional medicine, film-coated tablet.*

*
* *

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nền y học cổ truyền (YHCT) Việt Nam hình thành từ đời Hùng Vương, có bề dày lịch sử trên 4000 năm, đã tích luỹ và tổng kết được hàng ngàn bài thuốc quý để phòng và chữa bệnh, nhưng chúng mới chỉ được bào chế dưới dạng cao đơn, hoàn, tán. Các dạng bào chế này chưa tiện dùng và bảo quản nên tính phổ cập thấp. Để YHCT mãi mãi là một di sản quý của dân tộc, tiếp tục đóng góp cho sự nghiệp chăm sóc và nâng cao sức khỏe nhân dân thì hiện đại hóa dạng bào chế là một trong những mắt xích quan trọng giúp cho YHCT cất cánh. Trong khuôn khổ của đề tài ĐLNN - 05 Viện Dược liệu cùng với viện YHCT Việt Nam chọn bài thuốc Ngũ

linh tán gia giảm gồm: bạch linh, trư linh, lá cối xay, quế chi, kê nội kim, trạch tả, bạch truật, kim tiền thảo làm cơ sở để nghiên cứu thuốc điều trị bệnh sỏi tiết niệu dưới tên viên Sotinin. Thuốc đã được nghiên cứu toàn diện về phương pháp chiết xuất hoạt chất, dược lý, lâm sàng cũng như hiện đại hóa dạng bào chế. Trong bài này chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu 2 dạng bào chế của bài thuốc, từ đó tìm ra dạng bào chế thích hợp cho chế phẩm này.

II. PHƯƠNG PHÁP

1. Bào chế theo phương pháp sát hạch khô.
2. Bào chế viên bằng phương pháp sát hạch ướt.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Nghiên cứu bào chế viên nén

Cao khô Sotinin là một hỗn hợp của nhiều nhóm hoạt chất trong dược liệu, có tính hút ẩm mạnh, dễ chảy nhão, dùng $MgCO_3$ và tinh bột để hút ẩm. Trong quá trình nghiên cứu với mục đích xây dựng công thức cho dạng bào chế viên nén, đã thay đổi tỉ lệ, lượng các loại tá dược, khảo sát 9 công thức bào chế (bảng 1) và tiến hành bào chế viên nén theo phương pháp sát hạt khô và ướt.

Qua quá trình thực nghiệm, cốm tạo thành từ công thức từ 1 → 6 (viên sát hạt ướt) khó thực hiện được vì cao hút ẩm rất nhanh, khó tạo hạt và khi dập viên hay bị dính chày cối.

Trong quá trình thực hiện sát hạt khô (công thức 7, 8, 9), dập viên thực hiện được với cốm của công thức 7, 8, còn khi dập viên của cốm theo công thức 9 viên hay bị dính chày. Viên được dập trong phòng có nhiệt độ: 17 - 18°C, độ ẩm 45% - 55%.

2. Nghiên cứu bao phim

Viên nén dập từ cao khô, rất dễ bị hút ẩm và chảy, vì vậy để đảm bảo tuổi thọ của viên chúng cần được bao bảo vệ, đã thay đổi tỷ lệ bề dày của lớp vỏ bao, và dùng kỹ thuật bao phim và bao đường để bao viên (bảng 2) và theo dõi tuổi thọ. Kết quả như sau:

Cả 4 mẫu viên được đóng gói trong lọ, có 2 lần nắp, đậy kín, đặt ở nhiệt độ phòng, theo những thời gian nhất định, lấy mẫu kiểm tra các chỉ tiêu (xem bảng 1).

Bảng 1. **Theo dõi tuổi thọ của viên bao**

Mẫu tiêu chuẩn	*Thời gian (tháng)*	*Hình thức bên ngoài*	*Định tính*	*Độ rã (phút)*	*Độ ẩm (%)*
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
		Viên bao màu nâu đồng nhất, mặt viên nhẵn bóng không loang màu, không rạn nứt, cầm không dính phẩm và đường	Bằng SKLM các dược liệu: kim tiền thảo, bạch truật, bạch linh, trạch tả, quế	≤ 60	≤ 9
1	0	Đạt	Đạt	20	6,0
	6	-	-	23	7,0
	8	Viên bị rạn nứt	-	35	10,0
2	0	Đạt	-	21	6,0
	6	-	-	23	6,9
	12	Viên bị rạn nứt	-	30	9,8
3	0	Đạt	-	24	6,0
	6	-	-	28	6,5
	12	-	-	30	7,9
	18		-	32	8,1
	24	Viên bị loang mầu	-	50	10,2
4	0	Đạt	-	24	6,0
	6	-	-	29	6,7
	12	-	-	35	7,5
	18	-	-	38	8,2
	24	-	-	45	8,5
	30	-	-	46	8,9

Viên nén chứa 90 - 95% cao dược liệu, nếu chỉ bao phủ lớp phim ở bên ngoài có độ dày lớp vỏ phim từ 0,28 đến 0,36mm (mẫu 1, mẫu 2) cũng không đảm bảo được tuổi thọ của viên, với độ dày vỏ phim của mẫu 1 thì sau 8 tháng viên bị rạn nứt và

chảy cao ra ngoài, còn với lớp vỏ dày hơn (mẫu 2) cũng chỉ đến tháng thứ 12 viên bị rạn nứt. Viên bao đường mẫu 3, có độ dày lớp vỏ 1,35mm tuổi thọ đạt được đến tháng thứ 18. Tốt nhất là viên được bao lót, rồi bao bảo vệ bằng lớp phim ở ngoài, mẫu 4 có tuổi thọ được trên 30 tháng.

3. Nghiên cứu bào chế viên nang

Cốm được tạo bằng 2 phương pháp:

- Tạo cốm bằng phương pháp sát hạt khô (như ở viên nén).

- Tạo cốm bằng máy phun sương: Hoà tan cao khô thành cao lỏng có tỷ lệ 1: 3 cho thêm 20% lactose và 0,2% Aerosil, khuấy kỹ đến khi aerosil trương nở hoàn toàn. Tiến hành phun sấy bằng máy với thông số kỹ thuật sau: Áp suất phun: 0,5 bar. Đường kính trong của kim phun 1,5mm. Nhiệt độ vào 95 - 100°C. Nhiệt độ ra 70 - 72°C. Tốc độ tiếp dịch 5ml/phút. Tốc độ thổi gió: 55 - 60 m^3/h.

Cốm thu được bằng phương pháp phun sương có màu nâu, mùi thơm, vị ngọt hơi đắng nhưng hút ẩm mạnh.

- Cả 2 cốm thu được ở trên được tiến hành đóng nang cứng số 1, trong điều kiện nhiệt độ phòng 18°C, độ ẩm 45 - 50%. Cốm tạo từ phương pháp phun sương sốp, nhẹ hơn cốm tạo bằng phương pháp sát hạt khô, nhưng chúng cũng hút ẩm mạnh và dính tay hơn. Nên bước đầu chỉ khảo sát viên nang có cốm tạo bằng phương pháp sát hạt khô.

Tiến hành theo dõi độ ổn định thuốc trong các dạng bao bì khác nhau, trong cùng một điều kiện bảo quản về nhiệt độ: 18 - 25°C và độ ẩm 70 - 75%.

Ở thời điểm khảo sát, nhận thấy nhiệt độ phòng 15 - 22°C và độ ẩm từ 45 - 60% là điều kiện thích hợp. Viên nang Sotinin được bảo quản trong 2 lần túi PE, hoặc trong lọ nhựa, có nắp kín, nhúng xi xáp, hoặc trong vỉ nhôm đều có độ ổn định thấp và thấp nhất là viên bảo quản trong 2 lần túi PE. Đến tháng thứ 3, cao trong viên đã hút ẩm, loang màu ra vỏ nang, còn viên bảo quản trong lọ nhựa hoặc trong vỉ nhôm thì cũng chỉ ổn định được đến hết tháng thứ 3. Nhưng khi viên bảo quản trong vỉ, và vỉ lại được đựng trong túi thiếc hàn kín thì viên Sotinin ổn định được đến tháng thứ 24.

IV. KẾT LUẬN

Đã tiến hành nghiên cứu 2 dạng bào chế của bài thuốc cổ phương ngũ linh tán gia giảm là dạng viên bao phim và viên nang.

Trong điều kiện nghiên cứu và đặc điểm khí hậu Việt Nam có độ ẩm và nhiệt độ cao, dạng bào chế viên nén bao phim từ cao khô dược liệu là phù hợp nhất. Thuốc dễ sử dụng, vận chuyển, bảo quản.

Quy trình bào chế viên nang cứng theo phương pháp phun sấy tạo hạt, hay phương pháp sát hạt khô khá đơn giản, dễ thực hiện, thành phẩm có giá trị thẩm mỹ cao song cần có phương tiện bào chế hiện đại, điều kiện bào chế và bảo quản thành phẩm nghiêm ngặt.

Tóm lại, qua quá trình nghiên cứu bào chế một chế phẩm thuốc cổ truyền Ngũ linh tán gia giảm với 2 dạng bào chế khác nhau, chúng tôi thấy việc hiện đại hóa dạng bào chế thuốc đông dược là rất cần, giúp chúng ta có thể đưa những bài thuốc hay, độc đáo đáp ứng được yêu cầu phổ biến rộng rãi ở cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Phạm Xuân Sinh, 2000.*
Tạp chí Dược liệu tập 5, số 3/2000, tr 78.

2. *Bộ môn bào chế (Trường Đại học Dược Hà Nội), 1991.*
Kỹ thuật bào chế các dạng thuốc, Tập 2, NXB Y học 1991

3. *Viện Đông y, 1986.*
Phương pháp bào chế đông dược, TW hội YHCT dân tộc Việt Nam tái bản.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG HẠ HUYẾT ÁP VÀ HẠ CHOLESTEROL HUYẾT CỦA CHẾ PHẨM "RUVINTAT"

Dương Thị Mộng Ngọc, Nguyễn Thị Thu Hương, Đào Đại Cường, Trần Mỹ Tiên

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tăng huyết áp và và xơ vữa động mạch là các bệnh tim mạch hay gặp ở tất cả các nước và thường có nhiều biến chứng nguy hiểm, nên việc chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời bệnh tim mạch hiện đang là mối quan tâm thường xuyên của các nhà y học thế giới và Việt Nam. Trong lĩnh vực điều trị, bên cạnh hiệu quả trị liệu, giá thành của các thuốc hóa dược vẫn còn cao và đặc biệt là thường gây các phản ứng phụ. Vì vậy, hiện nay, xu hướng chung trên thế giới đang quay trở lại nghiên cứu và sử dụng nguồn dược liệu trong thiên nhiên làm thuốc phòng và chữa bệnh tim mạch và cũng phù hợp với định hướng phát triển cơ bản của ngành Y-Dược Việt Nam.

"RUVINTAT" là một chế phẩm được phối hợp từ các dược liệu, dưới dạng viên bao đường dùng để điều trị bệnh tim mạch, ít độc, rẻ tiền, thuận lợi mà có hiệu quả cho người bệnh. Chế phẩm này sử dụng hoàn toàn nguồn dược liệu phong phú trong nước trên cơ sở kinh nghiệm dân gian và dựa vào những nghiên cứu trước đây. Để làm sáng tỏ tác dụng của chế phẩm "RUVINTAT", chúng tôi tiến hành xác định độc tính cấp diễn đường uống và nghiên cứu đánh giá tác dụng hạ huyết áp và hạ cholesterol huyết trên súc vật thí nghiệm.

II. TÓM TẮT MỘT SỐ KẾT QUẢ

Chế phẩm"RUVINTAT" được sản xuất tại Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM dưới dạng viên bao đường màu vàng, gồm các dược liệu sau (1):

- Hoa hòe (*Sophora japonica* - Lin, thuộc họ Đậu - Fabaceace).
- Rễ dừa cạn (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don, thuộc họ Trúc đào - *Apocynaceae*).
- Rễ ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume), thuộc họ Rau dền -*Amaranthaceae*).
- Câu đằng (*Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks. thuộc họ Cà phê - Rubiaceae).

- Râu ngô (*Stigmata* Maydis) là vòi và núm phơi khô của hoa cây ngô.
- Mã đề (*Plantago major* L., thuộc họ Mã đề -Plantaginaceae).
- Muồng trâu (*Cassia alata* L., thuộc họ Đậu - Fabaceae).
- Vông nem (*Erythrina variegata* L., thuộc họ Đậu - Fabaceae).

1. Xác định độc tính cấp diễn đường uống của chế phẩm

Để ước lượng độc tính cấp diễn của thuốc thử nghiệm, người ta dựa vào liều làm chết 50% thú vật thử nghiệm (LD50). Xác định độc tính cấp diễn bằng đường uống sau 72 giờ và tính LD50 bằng cách quan sát tình trạng ngộ độc trên chuột từ khi bắt đầu nhiễm độc đến khi nhiễm độc nặng, ghi nhận phân suất tử vong.

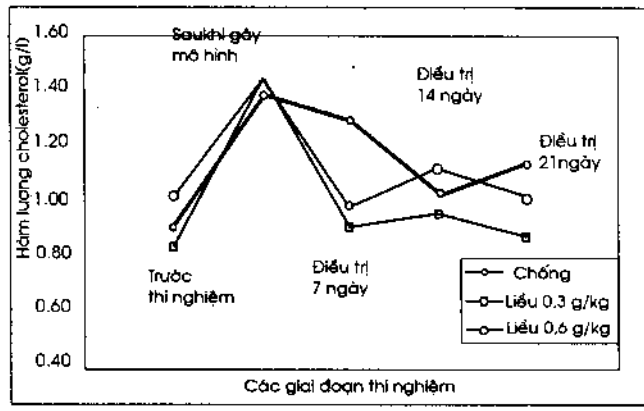
Kết quả khi cho 20 chuột nhắt trắng uống chế phẩm với liều tối đa có thể bơm được là 10g/ kg thể trọng, sau 72 giờ, súc vật nằm im, ít vận động và trở về sinh hoạt bình thường sau 2 giờ.

2. Ảnh hưởng của chế phẩm trên mô hình gây tăng cholesterol huyết

a) Mô hình gây tăng cholesterol huyết ngoại sinh trên chuột nhắt trắng

Phương pháp áp dụng là phương pháp Anisecov cải tiến dựa vào sự tăng choleterol huyết do chế độ dinh dưỡng hàng ngày (3).

Kết quả ảnh hưởng của chế phẩm trên mô hình gây tăng cholesterol nội sinh - được trình bày qua hình 1.

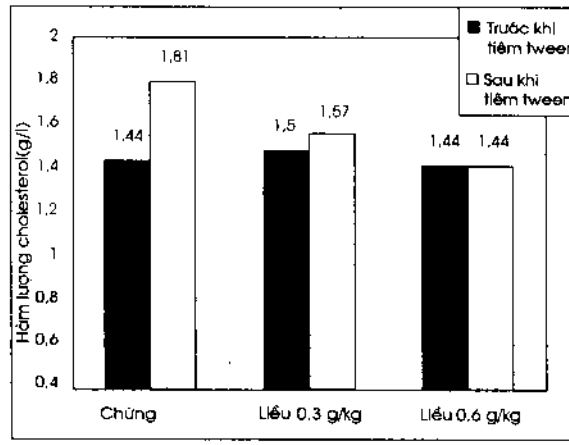


Hình 1. **Ảnh hưởng của chế phẩm trên mô hình gây tăng cholesterol huyết ngoại sinh.**

b) Mô hình gây tăng cholesterol nội sinh trên chuột nhắt trắng

Áp dụng phương pháp của Kellner và Correll gây tăng cholesterol máu ở súc vật thử nghiệm bằng cách tiêm Tween 80 (3).

Kết quả ảnh hưởng của chế phẩm trên mô hình gây tăng cholesterol nội sinh được trình bày hình 2.



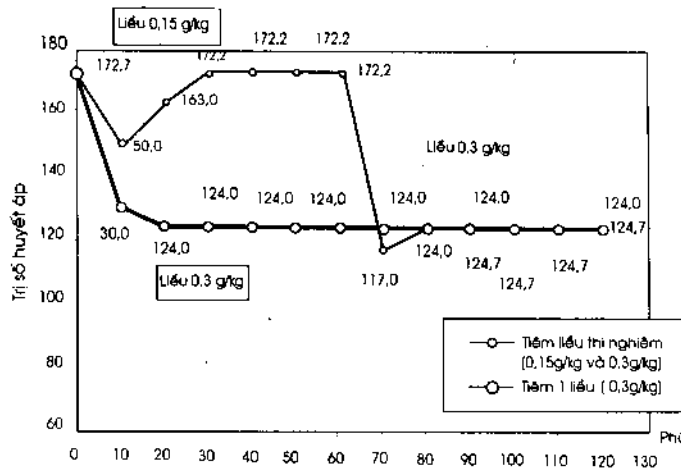
Hình 2. **Ảnh hưởng của chế phẩm trên mô hình gây tăng cholesterol huyết nội sinh.**

3. Nghiên cứu ảnh hưởng của các mẫu thử nghiệm trên huyết áp của mèo

- Phương pháp thử nghiệm: TCVN 1025-70

- Thuốc đối chứng: Nifehexal liều 0,2mg/kg

- Kết quả ảnh hưởng của chế phẩm trên huyết áp của mèo được trình bày qua hình 3.



Hình 3. **Ảnh hưởng của chế phẩm lên huyết áp mèo.**

III. THẢO LUẬN VÀ KẾT LUẬN

1. Thảo luận

1) Xác định độc tính cấp diễn đường uống

Chuột nhắt trắng uống chế phẩm với liều tối đa có thể bơm được là 10g/ kg thể trọng. Kết quả là chuột trở về sinh hoạt bình thường sau thực nghiệm, chế phẩm không thể hiện độc tính cấp diễn đường uống.

2) Ảnh hưởng của chế phẩm trên mô hình gây tăng cholesterol huyết

a) Mô hình gây tăng cholesterol huyết ngoại sinh

- Sau khi gây mô hình, hàm lượng cholesterol ở các lô đều tăng đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

- Sau thời gian điều trị 7 ngày, cả hai liều thử nghiệm đều có hàm lượng cholesterol giảm so với lô chứng đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

- Sau 21 ngày điều trị hàm lượng cholesterol ở lô thử liều 0,3g/ kg vẫn giảm so với chứng đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Như vậy, ở súc vật thực nghiệm bị tăng cholesterol do dùng chế độ ăn hàng ngày nhiều cholesterol, với liều 0,3g/kg thể trọng đã có tác dụng hạ dần cholesterol sau 7 ngày dùng thuốc và ở giai đoạn điều trị 21 ngày, liều 0,3g/ kg vẫn giảm lượng cholesterol so với chứng.

b) Mô hình gây tăng cholesterol huyết nội sinh

Hàm lượng cholesterol sau khi tiêm Tween ở lô chứng tăng so với trước thử nghiệm, trong khi đó ở các lô dùng chế phẩm với liều 0,3g/kg và 0,6g/kg thể trọng, hàm lượng vẫn không thay đổi so với trước khi tiêm Tween.

Như vậy, chế phẩm còn có tác dụng dự phòng, duy trì lượng cholesterol bình thường trong cơ thể do yếu tố nội sinh gây tăng.

3. Ảnh hưởng của chế phẩm lên huyết áp mèo

Từ kết quả trên, nhận thấy chế phẩm có tác dụng làm hạ huyết áp khá tốt, cho mèo dùng liều 0,3g/kg thể trọng, tác dụng hạ huyết áp cao nhất tới 30% so với huyết áp ban đầu và duy trì trên 120 phút. Tác dụng này được so sánh với mèo đối chứng tiêm nifehexal liều 0,2mg/kg làm hạ huyết áp từ 31,03 - 37,28% và kéo dài trên 120 phút.

2. Kết luận

- Chế phẩm không thể hiện độc tính cấp diễn đường uống với liều 10g/kg thể trọng.

- Chế phẩm có tác dụng điều hoà lượng cholesterol huyết trong trường hợp rối loạn lipid huyết ở liều 0,3g/kg thể trọng.

- Chế phẩm có tác dụng làm hạ huyết áp nhanh và kéo dài (27 - 30%) ở liều 0,3g/kg thể trọng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi, 1997.*

Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

2. *Đoàn Thị Nhu và CS., 1988.*

Nghiên cứu dược lý cây ngưu tất về tác dụng hạ cholesterol máu và hạ huyết áp. Tạp chí dược học số 1, trang 11, 1988.

3. *Vũ Đình Vinh, Đỗ Đình Hồ, Đặng Hanh Phức, 1974.*

Kỹ thuật y sinh hoá. Trường Đại học Quân y.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA BÀI THUỐC THẤP KHỚP SASP-5221

Đỗ Trung Đàm, Hà Ngọc Tuyết

I. MỞ ĐẦU

Bài thuốc chữa thấp khớp SASP-5221 gồm có hy thiêm (5 phần tính theo khối lượng), ngưu tất (2 phần), thổ phục linh (2 phần) và lá lốt (1 phần), có trong một số sách, tạp chí, đặc biệt có trong sách "Hướng dẫn trồng và sử dụng thuốc nam châm cứu" do Vụ Dược chủ biên để phổ biến dùng cho y tế tuyến cơ sở.

Bài thuốc đã được đưa vào chương trình nghiên cứu khoa học cấp nhà nước với mã số 64-01 trong các năm 1982-1986. Về bào chế, Đặng Hồng Vân đã nghiên cứu ra dạng thuốc viên tròn. Về lâm sàng, Phạm Khuê và Trần Thuý đã thử trên 242 bệnh nhân bị các thể thấp khớp khác nhau và đã thu được kết quả tới 83%, trong đó tốt có 29% và khá 54%.

Viện Dược liệu đã nghiên cứu chiết bài thuốc ra dạng bột khô. Từ dạng bột khô đã bào chế ra viên nang, đã xây tiêu chuẩn bán thành phẩm bột và thành phẩm viên nang. Tài liệu này trình bày một số kết quả nghiên cứu tác dụng dược lý của bài thuốc.

II. KẾT QUẢ

1. Tác dụng chống viêm cấp

Dùng phương pháp gây phù bằng cao lanh ở chuột cống trắng. Bài thuốc, các vị thuốc hợp thành và thuốc tham chiếu, mỗi thứ dùng nhiều liều khác nhau để trên tọa độ lôgarit -probit, xác định liều ức chế viêm cấp 50% (ID50) (bảng 1).

Qua bảng 1 và dựa vào ID50 thấy ngưu tất và hy thiêm có tác dụng khá mạnh, lá lốt có tác dụng trung bình, còn thổ phục linh có tác dụng rất yếu. Đồng thời cũng thấy 1g bài thuốc có tác dụng tương đương 3,3mg prednisolon; 2,8 mg indomethacin; 36mg phenylbutazon hoặc 245 mg aspirin, tức là có tác dụng khá mạnh.

Bảng 1. **Tác dụng chống viêm của các thuốc nghiên cứu**

Thuốc nghiên cứu	*Đơn vị tính*	*Tác dụng chống viêm cấp ID50*	*Tác dụng chống viêm mạn ID30*
Bài thuốc	g/kg	1,00	2,4
Hy thiêm	"	1,03	8,2
Ngưu tất	"	0,57	1,12
Thổ phục linh	"	13,50	8,0
Lá lốt	"	4,00	1,5
Prednisolon	mg/kg	3,3	1,1
Indomethacin	"	2,8	1,8
Phemylbutazon	"	36,0	24
Aspirin	"	245	-

2. Tác dụng chống viêm mạn

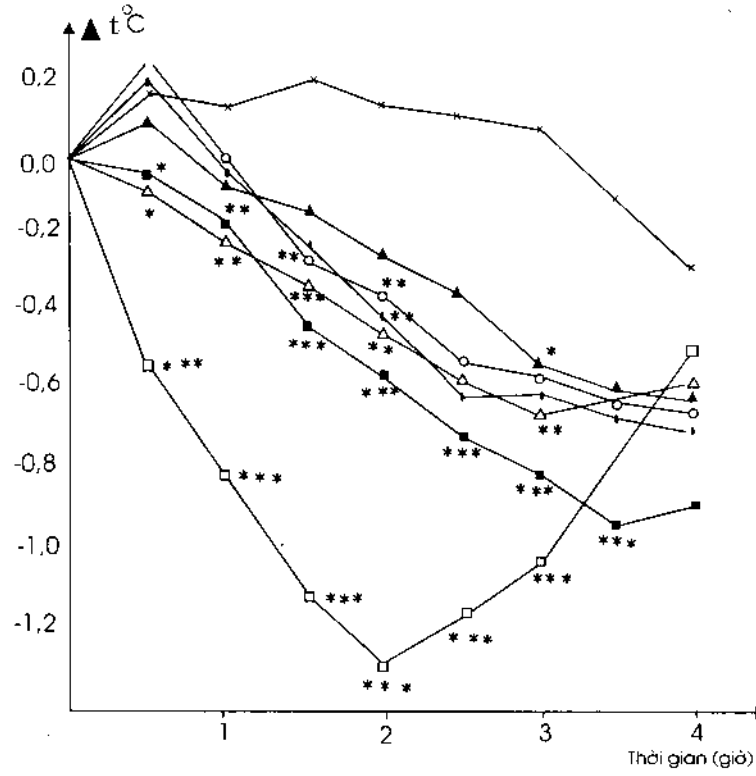
Dùng phương pháp gây u hạt thực nghiệm bằng amiăng ở chuột cống trắng. Mỗi thuốc nghiên cứu cũng dùng nhiều liều khác nhau và trong trường hợp này, xác định liều ức chế viêm mạn 30% (ID30) (bảng 1).

Qua bảng 1 và dựa vào ID30 thấy ngưu tất có tác dụng mạnh, lá lốt có tác dụng khá, còn hy thiêm và thổ phục linh có tác dụng yếu. Đồng thời cũng thấy chỉ 2,4g bài thuốc có tác dụng tương đương 1,1mg prednisolon hoặc 1,8 mg indomethacin, tức là có tác dụng khá mạnh.

3. Tác dụng hạ sốt

Dùng mô hình nghiên cứu thực nghiệm ở chuột cống trắng bằng cách tiêm dưới da hỗn dịch men bia 20% với liều 0,5ml/100g chuột. Sau 18 giờ (ngày hôm sau) tiêm lắp lại một lần nữa. Sau lần tiêm thứ hai 2 giờ cho chuột uống thuốc rồi đo nhiệt độ ngay. Nhiệt độ lúc này tăng hơn so với trước khi tiêm men bia 1,0-1,5°C. Trên hình 1 biểu thị nhiệt độ lúc sốt lấy làm mốc là 0 để xem diễn biến nhiệt độ dưới tác dụng của thuốc. Từ hình 1 thấy:

1) Ở lô chứng (n = 8), sau 2 giờ kể từ khi tiêm men bia lần 2, nhiệt độ tăng lên so với trước khi tiêm men bia là 1,00±0,08°C. Sau đó nhiệt độ vẫn tiếp tục tăng 0,15°C và kéo dài thêm 2 giờ nữa, rồi nhiệt độ mới giảm dần.



Hình 1. **Tác dụng hạ sốt của bài thuốc (●), hy thiêm (O), ngưu tất (▲), thổ phục linh (Λ), lá lốt (■) so với chủng (X):**
* P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

2) Lô dùng analgin (200mg/kg, n = 7) nhiệt độ giảm rất nhanh. Sau analgin 2 giờ nhiệt độ giảm manh nhất và bằng nhiệt độ lúc chưa gây sốt, rồi nhiệt độ tăng lên. Sau 4 giờ, nhiệt độ cao hơn các lô dùng bài thuốc và chỉ còn kém. Lô chứng 0,23°C.

3) Tác dụng hạ sốt của bài thuốc (10g/kg, n = 6) xuất hiện chậm., cường độ vừa phải, nhưng kéo dài.

4) Trong số các vị thuốc hợp thành bài thuốc, lá lốt (10g/kg, n = 6) có tác dụng mạnh nhất. Các vị thuốc khác (liều đều 10g/kg, n = 6) có tác dụng xấp xỉ hoặc yếu hơn bài thuốc.

4. Tác dụng trên hàm lượng Serotonin

Trong số nhiều chức năng sinh lý và bệnh lý, serotonin là một chất trung gian làm tăng viêm. Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc và ngưu tất thấy bài thuốc làm

giảm hàm lượng serotonin ở não chuột cống trắng 10,1% (nhưng p > 0,05). Còn ngưu tất làm giảm 23,8% và có ý nghĩa thống kê (bảng 2).

***Bảng 2.* Tác dụng trên Serotonin, Dopamin và Noradrenali**

Thông số	*Thuốc nghiên cứu*	*Nhóm nghiên cứu*	*Liều uống g/kg*	*Hàm lượng (mcg/g não)*	*Tỷ lệ tăng giảm (%)*	*p*
Serotonin	Bài thuốc	Chứng n = 6	-	0,3706±0,0277	-	
		Thuốc n = 6	2,0	0,3331±0,0280	-10,1	> 0,05
	Ngưu tất	Chứng n = 8	-	0,3800±0,0125	-	
		Thuốc n = 6	1,0x2	0,2895±0,0090	-23,8	< 0,001
Dopamin	Bài thuốc	Chứng n = 3	-	0,4180±0,0166	-	
		Thuốc n = 3	5,0	0,4751±0,0066	+13,7	< 0,05
Noradrenalin	Bài thuốc	Chứng n = 6	-	0,2874±0,0164	-	
		Thuốc n = 6	5,0x2	0,4516±0,0438	+57,1	< 0,01

5. Tác dụng trên hàm lượng Dopamin và Noradrenalin

Các Catecholamin nói chung có nhiều chức năng sinh lý trong cơ thể, đồng thời cũng là những chất điều hoà viêm. Trong thí nghiệm nghiên cứu tác dụng của thuốc đối với Dopamin và Noradrenalin ở não chuột cống trắng, bài thuốc làm tăng hàm lượng Dopamin mức độ vừa phải (13,7%) nhưng có ý nghĩa thống kê, đồng thời cũng làm tăng hàm lượng Noradrenalin 57,1% với p < 0,01.

III. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu một số tác dụng dược lý của bài thuốc chữa thấp khớp SASP-5221.

1. Bài thuốc có tác dụng chống viêm cấp mạnh
2. Có tác dụng chống viêm mạn khá
3. Tác dụng hạ sốt xuất hiện chậm, mức độ vừa phải nhưng kéo dài.
4. Làm giảm hàm lượng của serotonin là một chất trung gian gây viêm.
5. Làm tăng hàm lượng của Dopamin và Noradrenalin là những chất điều hoà viêm.

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ, XÂY DỰNG QUI TRÌNH, TIÊU CHUẨN, THỬ ĐỘC TÍNH VÀ TÁC DỤNG DƯỢC LÝ THUỐC CHỮA SỎI MẬT SOMATAN

Nguyễn Văn Tường, Đỗ Trung Đàm,
Nguyễn Thị Minh Khai, Nguyễn Thị Dung,
Nguyễn Kim Phượng, Lê Minh Phương,
Đinh Thị Thuyết, Nguyễn Kim Bích và cộng sự

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm đường dẫn mật do sỏi mật là một bệnh khá phổ biến, điều trị chủ yếu là phẫu thuật hay tán sỏi, thường hay tái phát và phải mổ lại. Điều trị cấp tính bằng nội khoa thường dùng thuốc kháng sinh, lợi mật và giảm đau. Trung Quốc đã sản xuất thuốc Shudan chữa sỏi mật. Bài thuốc "Đởm đạo bài thạch thang" có: Kim tiền thảo, nhân trần, chỉ xác, nghệ, đại hoàng và mộc hương Trung y viện Nam Khai Thiên Tân (Trung Quốc) nghiên cứu thấy có tác dụng điều trị sỏi mật.

Từ năm 1995 đến nay Viện Dược Liệu đã nghiên cứu thuốc Somatan (trên cơ sở bài thuốc Đởm đạo bài thạch thang) đã được Bộ Y tế nghiệm thu giai đoạn I (nghiên cứu bào chế, xây dựng quy trình, tiêu chuẩn thử độc tính và tác dụng dược lý)

II. PHƯƠNG PHÁP

1. Nghiên cứu bào chế: Sử dụng kỹ thuật bào chế cao khô.

2. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn dược liệu và chế phẩm Somatan

Sử dụng các chuyên luận Dược điển Việt Nam II tập 1-2-3; tiêu chuẩn nghành y tế; Dược điển Trung Quốc tập I năm 1990 và các tài liệu nội bộ của Viện Dược liệu.

3. Nghiên cứu độc tính và tác dụng dược lí

a) Thử độc tính cấp, bán mãn

- Độc tính cấp tính : Xác định LD_{50} theo phương pháp Behrens và Karber.

- Độc tính bán mãn : Dùng các phương pháp hóa sinh và huyết học để nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan và thận.

b) Thử tác dụng mòn sỏi invitro

Phương pháp do PGS-TS Đỗ Trung Đàm chỉnh lí (Tạp chí Dược học số I năm 1997).

c) *Thử tác dụng lợi mật:* Sử dụng phương pháp Pesson và cộng sự.

d) *Thử tác dụng chống viêm:* Sử dụng phương pháp Lechat và cộng sự.

e) *Thử tác dụng bảo vệ gan:* Sử dụng phương pháp Shibay Ama và cộng sự.

III. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu bào chế và xây dựng qui trình sản xuất

Chiết suất li vị từng dược liệu: Kim tiền thảo, nhân trần, nghệ, chỉ xác, đại hoàng và mộc hương. Sau nhiều thí nghiệm đã chọn được công thức bào chế viên nang Somatan

TT	*Dược liệu*	*1000 viên nang số 0 (g)*	*1 viên nang số 0 (g)*
1	Kim tiền thảo	995	0,955
2	Nhân trần	265	0,265
3	Chỉ xác	265	0,265
4	Nghệ	255	0,255
5	Đại hoàng	255	0,255
	Cao khô hỗn hợp của 5 dược liệu	372	0,372
6	Mộc hương (bột)	128	0,128

Theo dõi tuổi thọ trong 18 tháng thuốc vẫn ổn định từ đó đã nghiên cứu xây dựng qui trình sản xuất viên nang Somatan.

2. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn dược liệu và chế phẩm

a) Xây dựng tiêu chuẩn dược liệu chỉ xác - kim tiền thảo

Ngoài các chỉ tiêu chung của dược liệu, chúng tôi đi sâu nghiên cứu định tính sắc ký đồ của dịch chiết chỉ xác và kim tiền thảo. Dịch chiết chỉ xác có 2 vết phát quang lên tia cực tím có bước sóng $\lambda = 366$ nm có giá trị $R_{f(1)} = 0,42\text{-}0,50$ (màu lục) và $R_{f(2)} = 0,52\text{-}0,60$ (màu lơ đậm) và không phát quang khi phun thuốc thử; sắc ký

đồ của dịch chiết kim tiền thảo có $R_{r(1)}$ = 0,40-0,45; $R_{r(2)}$ = 0,55-0,60 (vết đậm nhất) và $R_{r(3)}$ = 0,68-0,73. Khảo sát nhiều mẻ đã chọn phương pháp định tính này để xác định dược liệu.

b) Xây dựng tiêu chuẩn chế phẩm Somatan

Ngoài các chỉ tiêu chung đã đi sâu nghiên cứu định tính và định lượng chế phẩm. Đã xác định được sự có mặt của mộc hương, kim tiền thảo và đại hoàng trong thành phần của viên và đã định lượng các chất chiết được trong Ethanol 50^0 không thấp hơn 50%.

3. Nghiên cứu độc tính và tác dụng dược lí

1) Nghiên cứu độc tính

a) Độc tính cấp

Chế phẩm Somatan có độc tính cấp thấp, không tính được LD_{50}.

b) Độc tính bán mãn

Cho thỏ uống với liều tương đương 10g dược liệu/1kg thỏ/1 ngày, kéo dài 4 tuần liên tục không có biểu hiện nhiễm độc trên thỏ về mặt sinh hóa và giải phẫu.

2) Tác dụng làm mòn sỏi mật Invitro

Kết quả: Độ mòn sỏi mật của lô chứng là 16%

Độ mòn sỏi mật của lô thuốc 30,3%

Tỷ lệ tan sỏi lô thuốc so với lô chứng tăng 89,3% sỏi tan trong thuốc gần gấp đôi trong lô chứng thuốc Somatan có tác dụng làm mòn sỏi mật *in vitro* rõ rệt.

3) Tác dụng lợi mật

Thử trên chuột lang, liệu trình thuốc tương ứng 1g dược liệu/100g cơ thể súc vật.

Kết quả: So sánh lô dùng thuốc và lô chứng lưu lượng mật tăng 173% ($P \leq 0,001$). Thuốc Somatan có tác dụng lợi mật rõ rệt trên súc vật thí nghiệm.

4) Tác dụng chống viêm

a) Chống viêm cấp

Kết quả ức chế phù của thuốc Somatan cho bằng đường tiêm có tác dụng chống viêm cấp tương đối rõ rệt (Tỷ lệ ức chế phù 46,27%).

b) Tác dụng chống viêm mãn

Dùng thuốc bằng đường tiêm với liều 2,4 g dược liệu/1kg cơ thể chuột cống trắng ức chế sự tạo thành u hạt tới 50%.

5) Tác dụng bảo vệ gan

Kết quả nghiên cứu:

Bảng 1. **Hoạt độ enzym transaminaza trong huyết thanh chuột**

TT	*Nhóm*	*n*	*GOT (v/e)*	*GPTC (v/e)*
1	Chuột lành	7	92	47
2	Chuột gây độc bằng CCl4	7	4112	2358
3	Chuột gây độc CCl4 có uống thuốc	7	2436	1848

Nhìn vào bảng thấy thuốc Somatan có tác dụng bảo vệ gan nên sự giải phóng GOT, GPT đã giảm xuống trong huyết thanh.

Bảng 2. **Nồng độ MDA trong tế bào gan**

TT	*Nhóm*	*n*	*D0532 nm*	*MDA nmil/mg mô gan*
1	Chuột lành	7	0,240	7,5
2	Chuột gây độc CCl4	7	0,385	11,85
3	Chuột gây độc CCl4 có uống thuốc	7	0,325	9,91

Nhóm chuột gây độc CCl4 có uống thuốc thì nồng độ MDA vẫn tăng hơn so với nhóm chuột lành, nhưng so với nhóm gây độc không uống thuốc thì hàm lượng MDA đã giảm. Bước đầu thăm dò thấy thuốc Somatan có tác dụng bảo vệ gan.

IV. KẾT LUẬN

Thuốc Somatan đã được nghiên cứu về bào chế, tiêu chuẩn dược liệu, sản phẩm và đặc biệt là nghiên cứu độc tính và tác dụng dược lý nhận thấy thuốc Somatan có thể dùng chữa bệnh sỏi mật. Để đánh giá chính xác hơn thuốc cần phải được thử lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Viện Nghiên cứu Y học Dân tộc Thượng Hải, 1990.*
380 bài thuốc đông y hiệu nghiệm (bản dịch).
NXB Thanh Hóa, trang 67-68.

2. *Viện Nghiên cứu Dân tộc Thượng Hải, 1993.*
Chữa bệnh nội khoa bằng y học cổ truyền Trung Quốc (Bản dịch). NXB Thanh Hóa, trang 187-191.

3. *Nguyễn Dương Quang, 1994.*
"Bách khoa thư bệnh học", tập II. NXB Trung tâm biên soạn từ điển Bách khoa Việt Nam, trang 448-451.

4. Dược điển Trung Quốc, 1990, tập I.

NGHIÊN CỨU BÁN TỔNG HỢP ĐỊNH HƯỚNG CÁC DẪN XUẤT EUGENOL CÓ TÁC DỤNG KHÁNG NẤM *C. albicans*

Phạm Trương Thị Thọ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cho đến giữa thế kỷ 20, việc quy hoạch tổng hợp để tìm kiếm những chế phẩm mới vẫn còn có nhiều hạn chế. Mãi đến sau năm 1960, cùng với sự phát triển của các ngành khoa học đặc biệt là ngành tin học và sự xuất hiện những môn khoa học liên ngành mới như khoa học về "Mối liên quan giữa cấu trúc hóa học và tác dụng sinh học QSAR" thì việc tổng hợp hóa học đã mang một màu sắc mới. Đó là việc tổng hợp có định hướng. Công trình nghiên cứu của chúng tôi nằm trong hướng phát triển này.

II. NỘI DUNG

1. Đối tượng nghiên cứu: Là eugenol từ tinh dầu hương nhu (*Ocimum gratissimum L*, Labiateae).

2. Phương pháp nghiên cứu: Các phương pháp hóa học, vật lý học, sinh học, phương pháp tin học trong hóa học. Đặc biệt là dùng hai mô hình nghiên cứu mối liên quan giữa cấu trúc hóa học và tác dụng sinh học QSAR của Free-Wilson và Hansch.

• *Mô hình Free-Wilson:* Dựa trên giả thiết là tác dụng sinh học của một phân tử {A} là tổng hợp đóng góp của khung phân tử - mô hình còn có tên là mô hình toán cộng tính.

Theo mô hình Free-Wilson, số lượng các dẫn xuất cần phải tổng hợp được định theo công thức:

$$p \geq \sum_{i=1}^{m} n_i + 1$$

Ở đây: p- số các dẫn xuất cần tổng hợp;

n_i- số nhóm thế ở mỗi vị trí;

m- số vị trí thay thế.

• *Mô hình Hansch:* Phương trình biểu thị tổng quát mối quan hệ tác dụng sinh học với các thông số hóa lý Corwin Hansch đề ra:

$$\lg(1/C) = -1K_1\Pi^2 + K_2\Pi + K_3\delta + K_4Es + K_5$$

Dạng phương trình đơn giản thường gặp là: $\lg(1/C) = K_2\Pi + K_5$

Ở đây lg(1/C) là tác dụng sinh học, biểu thị bằng logarit của nghịch đảo nồng độ mol của chất trước khi đưa vào cơ thể gây ra phản ứng sinh học.

Π là hằng số kị nước, được xác định bởi đẳng thức.

$$\Pi = \lg Px - \lg P$$

lgPx là logarit hằng số phân tán dung môi/nước của một chất thế, còn lgP là hợp chất không thế. Hằng số Π phản ánh sự tham gia của nhóm thế vào sự tạo thành liên kết kị nước Pr-R

δ là hằng số thế Hammet, phản ánh ảnh hưởng của các hiệu ứng điện tử, cảm ứng và liên hợp của các nhóm thế lên hằng số tốc độ Kx của phản ứng xác định tốc độ.

Es là hằng số lập thể Taft, phản ánh sự biến đổi của các hiệu ứng không gian, gây ra bởi nhóm thế.

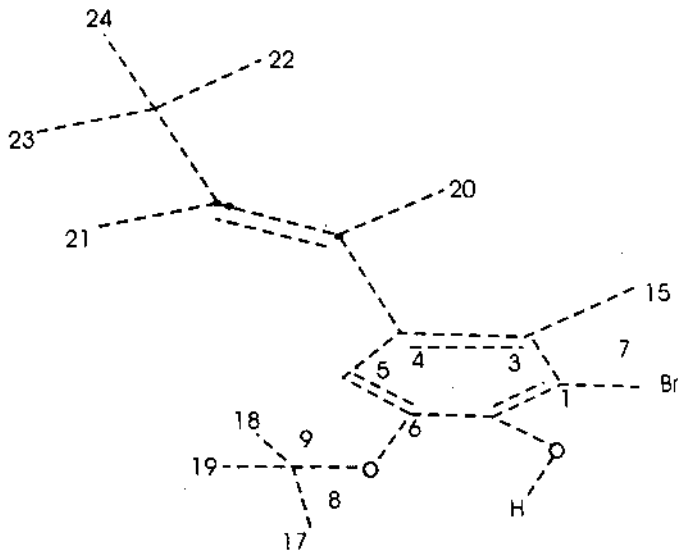
K_1, K_2, K_3,..... K_5 là các hệ số của phương trình.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu nghiêm túc công phu, đã tìm được dẫn xuất (m) là dẫn xuất thỏa mãn các điều kiện nghiên cứu lý thuyết và thực tế, là sản phẩm cuối cùng của việc nghiên cứu theo hai mô hình nói trên. Hiệu quả tác dụng tăng:

$$\frac{37{,}80.10^{-5}}{6{,}42.10^{-5}} = 5{,}88 \text{ lần}$$

So với eugenol ban đầu nhờ áp dụng các mô hình này và sử dụng công cụ toán học, đã giảm được số lượng các dẫn xuất cần điều chế để nghiên cứu xuống chỉ còn một phần bảy so với số lượng theo con đường nghiên cứu kinh điển. Để tìm hiểu thêm cấu trúc của dẫn xuất brom-isoeugenol (m) chúng tôi đã dùng PCMODEL Version 4.0 của Serena Software để tính toán sự phân bố mật độ điện tử, tối ưu hóa cấu dạng và vẽ giản đồ phân tử của nó.



Dẫn xuất (m)

Các kết quả thu được cho thấy việc nghiên cứu bán tổng hợp định hướng nhờ áp dụng hai mô hình về QSAR của Free-Wilson và Hansch kết hợp với việc sử dụng công cụ toán học khác là một hướng đi có hiệu quả. Con đường đã sử dụng có thể không chỉ giới hạn trong phạm vi cụ thể bán tổng hợp các dẫn xuất eugenol có tác dụng kháng nấm mà còn áp dụng được để giải quyết một số vấn đề tổng hợp định hướng khác.

Điểm cơ bản của công trình này là sự tìm kiếm những phương pháp khoa học và có hiệu quả nhằm giải quyết vấn đề bán tổng hợp một cách có định hướng cho các dẫn xuất tác dụng sinh học từ các hợp chất thiên nhiên. Vấn đề này còn khá mới mẻ ở nước ta.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Free S.M, Wilson J.W, 1964.*
A mathematical contribution to structure activity studies. Copyright 1964 by the American Chemical Society. J. of Med. Chem. July 6 (1964) V.7. N4 395 - 399

2. Hansch C., 1976.
On the structure of Medicinal Chemistry - Copyright 1975 by the American Chemical Society - J. of Medicinal Chemistry (1976) V19 N^{0}1 2-6.

3. *Hansch C., 1971.*

Substituent Constants in "Drug Design" V.1 Ariens E.J Eds - Academic Press. New York (1971) V.1.75

4. *Paul N., 1971.*

Craig - Comparison of the Hansch and Free-Wilson Approaches to structure - Activity correlation. J.Med.Chem (1971) 14, 680

5. *Lien E.J., 1972.*

Structure - Activity Relationships in Antifuzal Agents: A survey. Biological correlation - the Hansch Approach (R. F. Gould Ed). Am. Chem. Soc Washington D.C (1972) 155-182.

6. *Phạm Trương Thị Thọ, 1994.*

Luận án tiến sĩ khoa học hóa học, Hà Nội.

NGHIÊN CỨU TIÊU CHUẨN HÓA BUSCOPAN (Scopolamin n- butylbromi)

Nguyễn Kim Cẩn

Buscopan là một amin bậc 4, sản phẩm của phản ứng bán tổng hợp giữa scopolamin và n- butylbromua, có tên khoa học là scopolamin N-butylbromua.

Buscopan được sản xuất lần đầu tiên ở hãng C.H.Boehringer Sohn.

Buscopan được sử dụng như một biệt dược trong điều trị các bệnh loét dạ dày, thông mật,co thắt thực quản, tim...(1).

Thuốc được sản xuất dưới nhiều dạng khác nhau: dung dịch tiêm, viên hoặc thuốc đạn ở nhiều nước trên thế giới. Buscopan còn mang nhiều tên khác nhau: bulamin, uscolisin, butylspamin, pasmamina, verbidung 1637 (2).

Viện Dược liệu cũng đã nghiên cứu bán tổng hợp thành công và có thể áp dụng sản xuất ở qui mô công nghệ (3).

Để đưa vào sản xuất và ứng dụng chúng tôi đã nghiên cứu tiêu chuẩn hóa buscopan bán tổng hợp được.

1. Khảo sát tính chất của buscopan

Buscopan thường gặp dưới dạng bột tinh thể mầu trắng có mùi nhẹ, vị đắng dễ tan trong nước, cồn, không tan trong cloroform và ether. Dung dịch nước có phản ứng acid yếu.

Sản phẩm sau khi làm khô chân không có điểm chảy 139-141 °C phù hợp với tài liệu công bố (2) và dung dịch 3% của nó trong nước có độ quay riêng $\alpha_{D:}$ -18,5 - 20,8 (4)

Phổ tử ngoại của dung dịch nước (0,1%, cuvec 10mm) Buscopan đặc trưng bằng cực đại ở 251, 257, 263 nm và 3 cực tiểu ở 245, 254, 261 nm. Cực đại ở 257 nm có độ hấp thụ lớn nhất. Nếu xác định E ở cực đại này thì giá trị của độ hấp thụ ánh sáng nằm trong khoảng 4,2 - 4,6, phù hợp với tài liệu (5).

Chúng tôi đã xác định độ hấp thụ ánh sáng của buscopan ở bước sóng 219,5 nm có $E^{1\%} = 16,5$. Với trị số này hy vọng cho kết quả chính xác hơn trong tính toán.

2.Nghiên cứu định tính buscopan

Buscopan là một amin bậc 4 do đó trước hết sẽ cho phản ứng đặc trưng của nitơ, sau đấy là phản ứng đặc trưng của những thành phần khác trong cấu trúc phân tử của nó:ionbrom và khung scopolamin

- Thử sự có mặt của nitơ nhờ thuốc thử Grissa (6).

Lấy một ống nghiệm nhỏ chịu nhiệt, cho vào ống nghiệm một lượng bột $KMnO_4$, cho vài tinh thể buscopan hay môt giọt dung dịch nước của nó vào ống nghiệm, trộn đều. Miệng ống nghiệm phủ một miếng giấy lọc có tẩm thuốc thử mới pha. Đốt mạnh đáy ống nghiệm, trên giấy lọc xuất hiện một vòng tròn mầu hồng chứng tỏ sự có mặt của nitơ.

- Thử sự có mặt của brom: Có thể thực hiện một trong 2 phản ứng đặc trưng của brom.

a) 1ml dung dịch 1% của chế phẩm trong nước, acid hóa bằng vài giọt acid HNO đặc, thêm vài giọt dung dịch $AgNO_3$ 0,1N cho kết tủa vàng nhạt khó tan trong dung dịch ammoniac chứng tỏ có mặt ionbrom.

b) 1ml dung dịch 1% chế phẩm trong nước, thêm 1ml HCl loãng, 0,5ml dung dịch 5% cloramin trong nước (mới pha), thêm 1ml cloroform, lắc. Lớp cloroform cho mầu vàng đậm chứng tỏ có mặt brom.

- Thử sự có mặt của khung scopolamin.

1mg chế phẩm, thêm 4 giọt HNO_3 đặc, bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hoà tan cặn bằng 2 ml aceton khan, thêm 4 giọt dung dịch KOH 3% trong CH_3OH dung dịch phải xuất hiện màu tím không bền.

3. Nghiên cứu những chỉ số về độ tinh khiết của buscopan

Thông thường để xác định độ tinh khiết của một chất người ta tiến hành xác định những chỉ số sau:

- Sự giảm khối lượng khi làm khô (7) tiến hành trên 3 mẻ khác nhau sự giảm khối lượng không vượt quá 5%.

- Cắn sau khi nung hay là độ tro sulfat cho kết quả không quá 0,1% (7)

- Từ cắn tro sulfat tiến hành thử tạp chất kim loại nặng cho kết quả không vượt quá 0,001% (7).

- Với buscopan cần thiết qui định về giới hạn của những chất khử như: apoatropin, apo scopolamin... Để xác định giới hạn này, tiến hành thử như sau: 1ml dung dịch 5% trong nước của chế phẩm phải không màu và trong, pha loãng đến 5ml, thêm 0,01ml dung dịch $KMnO_4$ 0,1N có mầu hồng tím.

- Chế phẩm phải không được có mặt những alcaloid lạ khác, tiến hành thử như sau: 1ml dung dịch 5% chế phẩm trong nước không bị đục khi thêm vài giọt amoniac.

- Dung dịch nước của buscopan có tính acid yếu, có tài liệu qui định cả về giới hạn acid và thử như sau: 1 ml dung dịch 5% chế phẩm trong nước thêm 1 giọt xanh brommothymol dung dịch có màu vàng xanh. Dung dịch chuyển sang mầu xanh khi thêm nhiều nhất 0,05 ml NaOH 0,1 N.

Có thể thử độ tinh khiết bằng SKLM.

- Lớp mỏng trên kính là silicagel G.

- Dung môi khai triển: n-BuOH: CH_3COOH: H_2O (7: 1: 2)

- Hiện màu bằng phun thuốc thử Munier.

Lượng dung dịch đưa lên kính từ 3-5 µl (1% chế phẩm trong C_2H_5OH), so với chuẩn scopolamin, buscopan chỉ được thể hiện một vết màu vàng cùng mầu với scopolamin và có Rx từ 1,3-1,6.

- Nghiên cứu định lượng buscopan

Có rất ít các phương pháp nghiên cứu định lương buscopan song có thể chia làm hai loại phương pháp: một là các phương pháp chuẩn độ acid-bazơ (5) sau khi khoá ion brom hoặc ngược lại, hai là phương pháp đo bạc (8). Nếu dựa vào đặc tính của ion brom để định lượng buscopan có thể tìm kiếm thêm được nhiều phương pháp mới.

Chúng tôi đã nghiên cứu so sánh một số phương pháp khác nhau: phương pháp trọng lượng, phương pháp chuẩn độ điện thế, phương pháp chuẩn độ chỉ thị. Trong quá trình nghiên cứu so sánh các phương pháp chúng tôi đã thành công trong việc sử dụng phương pháp chuẩn độ Hg^{2+} với chỉ thị diphenylcarbazon là phương pháp vi lượng được dùng trong phân tích nguyên tố xác định brom để định lượng buscopan (9).

Phương pháp đơn giản, đảm bảo độ chính xác và phù hợp với điều kiện trong nước. Chúng tôi đã sử dụng để kiểm tra chất lượng của buscopan tổng hợp được. Hàm lượng của hoạt chất dao động từ 98,5%-101,5%. Cũng có thể tính theo hàm lượng brom toàn phần chứa trong chế phẩm và thấy dao động từ 17,8%-18,4%.

Phương pháp không những có thể dùng để tiêu chuẩn hóa chế phẩm buscopan mà còn dùng để tiêu chuẩn hóa các dạng bào chế như viên nén, thuốc đạn...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dictionaire Vidal Paris, 1970, p.239.

2. *V.Zvanov, N.Nikolov, 1967.*
Farmac. XVII.4, 6-8 (1967).

3. *Ngô Ngọc Khuyến, Nguyễn Văn Đàn, Vũ Quang Hưng, 1981.*
Thông báo dược liệu 1981,T.13.N.3.Tr.1.

4. *Seiho company LTD.*
Pharmaceutical Raw materials and Fine chemical.

5. *Farmacopeea Română., 1968.*
Ed. VIII.a, Supliment, Editura medicala. Bucaresti 1968, p. 18.

6. *F. Feigl, 1962.*
Spot test in organic analysis. Moscow. p.127.

7. Dược điển Việt Nam II,T.3, 1994,Tr.450,471.

8. *L.Kékedy, M.Serban, D.Fabian, 1976.*
"Revista de chemic" 1976,27,11,989.

9. *Nguyễn Kim Cẩn, 1984.*
Tạp chí Dược liệu, 1984, N3, Tr. 24.

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN INDOL-3-ACETIC ACID (IAA)

Nguyễn Kim Cẩn

Indol-3-acetic acid được tổng hợp từ indol. Indol-acetic acid được sử dụng rộng rãi trong ngành trồng trọt làm chất kích thích tố thực vật. IAA còn được sử dụng để làm giầu hoạt chất trước khi chiết xuất.

Nhu cầu sử dụng IAA trong nước ngày càng tăng. Việc nhập nội khó khăn, do đó việc nghiên cứu sản xuất trong nước là cần thiết và đã tổng hợp được IAA.

Để trở thành mặt hàng trên thị trường phải đảm bảo những tiêu chuẩn nhất định.

Với mục đích này chúng tôi tiến hành nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn IAA phù hợp với điều kiện sản xuất trong nước và yêu cầu sử dụng.

I. NGHIÊN CỨU TÍNH CHẤT IAA

IAA tồn tại ở dạng tinh thể màu hồng nhạt, mùi đặc trưng, dễ tan trong cồn, tan trong aceton và ete, khó tan trong $CHCl_3$ và nước.

Tùy theo điều kiện kết tinh và độ tinh khiết của IAA mà điểm chảy của nó khác nhau từ 165^0 C đến 170^0 C.

Chúng tôi đã tiến hành khảo sát thực tế những sản phẩm tổng hợp và thấy rằng độ hoà tan phù hợp với tài liệu và phù hợp với chỉ tiêu qui định trong Dược điển Việt Nam.

Điểm chảy của IAA qua các mẻ khác nhau dao động từ 155^0C đến 167^0 C.

Sự giảm trọng lượng khi làm khô IAA tổng hợp được ở nhiệt độ 100^0-105^0 C dao động trong khoảng từ 1-1,5%.

Chúng tôi tiến hành kiểm tra các tạp chất vô cơ trong các mẻ tổng hợp theo hai chỉ số: kim loại nặng và tro sunfat theo dược điển Việt Nam. Kết quả thực nghiệm cho thấy kim loại nặng dao động từ 0,0005-0,001% và tro sunfat từ 0,1-0,7%.

IAA trong cồn cho phổ tử ngoại phù hợp với tài liệu. Chỉ số hấp thụ ánh sáng $E^{1\%}_{1cm}$ ở bước sóng cực đại từ 150-180. Chúng tôi đo ở bước sóng cực tiểu λ_{min} = 245nm là 95.

Để xác định tạp chất hữu cơ chúng tôi đã tiến hành phân tích sắc ký lớp mỏng trên lớp silicagenG (Merck hoặc tương đương do Viện Dược liệu sản xuất). Dung môi triển khai là $CHCl_3$- CH_3COOH (95-5). Hiện màu bằng dung dịch 1% p-dimethylaminobenzaldehyd trong HCl 6N trong CH_3OH.

Sản phẩm IAA tổng hợp được phân tích đối chứng với IAA chuẩn, Indol và tryptophan. Trên sắc ký đồ IAA tổng hợp ngoài vết có Rf ngang với IAA chuẩn (Rf: 0,33-0,46) còn có một vết phụ không đáng kể (Rf:0,17-0,23) không phải là Indol, cũng không phải là tryptophan. Theo chúng tôi, vết phụ này là một sản phẩm trung gian của quá trình thủy phân.

II. NGHIÊN CỨU ĐỊNH TÍNH IAA

Để nhận biết nhanh IAA, chúng tôi thấy có thể dùng những phản ứng hóa học đơn giản sau:

1) Phản ứng với H_3PO_4 hay H_2SO_4 đặc trong môi trường cồn (CH_3OH, hay C_2H_5OH). Cơ chế và bản chất của phản ứng không đơn giản và chưa có tài liệu nào giải thích. Có tác giả cho rằng dưới tác dụng của acid có thể hình thành Indol-α-pirol cho màu (1)

Chúng tôi cho rằng dưới tác dụng của acid vô cơ háo nước gây nên quá trình làm mất nước trong phân tử mà tạo thành sản phẩm màu.

2) IAA cho phản ứng đặc trưng của nitơ với thuốc thử Grissa (2), cơ chế của phản ứng được giải thích như sau:

$$IAA + KMnO_4 \xrightarrow{t^\circ} MnO_2 + CO_2 + H_2O + NO_2\uparrow$$

NO_2 sinh ra trong quá trình oxy hóa IAA phản ứng với thuốc thử trong môi trường acid tạo nhân diazonium.

Nhân diazonium rất dễ dàng diazo hóa cho sản phẩm màu.

III. NGHIÊN CỨU ĐỊNH LƯỢNG IAA

Có nhiều phương pháp định lượng IAA, song có thể qui về những loại phương pháp sau: phương pháp thể tích (3), phương pháp so mầu (4-5) phương pháp huỳnh quang (5-6), phương phap sắc ký khí (7-8). Để phát hiện lượng rất nhỏ IAA trong cây người ta còn áp dụng những phương pháp hiện đại: tổ hợp phương pháp sắc ký khí và khối phổ và phương pháp đồng vị phóng xạ (9-11).

Trong tất cả các phương pháp đã biết, phương pháp chuẩn độ acid- bazơ là phương pháp đơn giản phù hợp với yêu cầu và mục tiêu đặt ra. Chúng tôi đã dùng

NaOH 0,01 N để chuẩn độ IAA của các mẻ tổng hợp với chỉ thị phênolphtalein. Hàm lượng IAA tổng hợp trong các mẻ khác nhau dao động từ 80-90%.

Phương pháp chuẩn độ acid-bazơ có thể chọn dùng làm phương pháp đánh giá chất lượng của IAA trong việc tiêu chuẩn hóa IAA.

Cân chính xác khoảng 0,01-0,05g chế phẩm cho vào bình nón 100ml. hoà lượng cân bằng một vài ml cồn,thêm khoảng 20ml nước cất,lắc đều, cho 3 giọt chỉ thị rồi chuẩn độ bằng NaOH 0,01N đến khi xuất hiện mầu hồng (có thể kiểm tra bước nhảy bằng dùng lượng dư NaOH rồi chuẩn độ ngược bằng HCl 0,01N đến mất mầu chỉ thị). 1ml NaOH 0,01N tương đương 0,0017519g IAA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *F.N. Boetor., 1972.*
J.Chromatogr. 1972 V 67, N.2, pp 371-372.

2. *F.Feigl., 1962.*
Spot tests in organic analysis,Moscow.1962, p 127.

3. *J.P.Sharm, V.K.S.Shukla, 1977.*
A.K.Dubey"Chem.pharm.Bull."1977,25,7p1493.

4. *A.M.Mayer, 1958.*
"Nature". 1958.V.182 pp1670-1671

5. *Stoessl A, 1970.*
M.A.Venis,"Anal. Bichem."1970,34,N2.p 344.

6. *D.Yamamoto, M. Tsukada, 1975.*
T.Segawa"Bunseky Kagaku " 1975,24, N10. pp 661-663

7. *Bittner, Shmuel, Even chen Zeev.A., 1975.*
"Phytochemistry", 1975,14,11, p 2455.

8. *H. During, 1977.*
"Experientia". 1977, 33, N.12. p. 1666.

9. Champault Andre Cr. Acad. Sci., 1975 D.280.N.5. p. 591.

10. *Little C.H.A, Head J.K, 1978.*
Brwning G."Planta". 1978, 132, N.2,p. 133

11. *P. William; Jr. Meins, 1977.*
Frederick."Planta". 1977, 136, N.2, p. 173 .

VIỆN DƯỢC LIỆU

CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC
(1987 - 2000)

Chịu trách nhiệm xuất bản : PGS. TS. TÔ ĐĂNG HẢI
Biên tập và sửa bài : PHẠM THÁI
Trình bày bìa : HƯƠNG LAN

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
70 TRẦN HƯNG ĐẠO - HÀ NỘI

In 300 bản, khổ 19 x 27 cm, tại Công ty In Công Đoàn Việt Nam, 169 Tây Sơn, Đống Đa, Hà Nội. Giấy phép xuất bản số: 846 - 22 ngày 26/4/2001. In xong và nộp lưu chiểu tháng 5 năm 2001.



☆ Nghiên cứu
trồng chè xanh tại
Trạm cây thuốc Sa Pa

☆ Trạm trồng
cây thuốc Tam Đảo





★ Giáo sư, Tiến sĩ Phạm Mạnh Hùng, Thứ Trưởng Bộ Y Tế thăm Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Đà Lạt - Lâm Đồng.

★ Nhà ươm cây thuốc tại Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Đà Lạt.

