VIỆN DƯỢC LIỆU

NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU VÀ ĐÔNG DƯỢC Ở VIỆT NAM



NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT

Nghiên cứu phát triển dược liệu và đông dược ở Việt Nam

VIỆN DƯỢC LIỆU

VIỆN DƯỢC LIỆU
THƯ VIỆN

NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU VÀ ĐÔNG DƯỢC Ở VIỆT NAM

THƯ VIỆN VDL

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
HÀ NỘI - 2006

CHỦ BIÊN

PGS. TS. NGUYỄN THƯỢNG DONG

BAN BIÊN TẬP

GS. ĐOÀN THỊ NHU

GS.TS. NGUYỄN GIA CHẤN

PGS.TSKH. ĐỖ TRUNG ĐÀM

PGS.TS. NGUYỄN THƯỢNG DONG

PGS.TS. BÙI THỊ BẰNG

TS. NGUYỄN TẬP

TS. NGUYỄN DUY THUẦN

TS. NGUYỄN VĂN THUẬN

TS. PHẠM VĂN Ý

DS. NGUYỄN THỊ MINH CHÂU

CN. ĐẶNG QUANG CHUNG

NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU VÀ ĐÔNG DƯỢC Ở VIỆT NAM

MỤC LỤC

Trang

Nghiên cứu và phát triển dược liệu 15
PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong - Viện trưởng Viện Dược liệu

I. ĐIỀU TRA, BẢO TỒN VÀ PHÁT TRIỂN NGUỒN TÀI NGUYÊN CÂY THUỐC

1 Kết quả điều tra nguồn tài nguyên dược liệu ở Việt Nam giai đoạn 2001 - 2005 20
Nguyễn Văn Tập, Ngô Văn Trại, Phạm Thanh Huyền, Lê Thanh Sơn, Ngô Đức Phương, Cù Hải Long, Phan Văn Đệ, Tạ Ngọc Tuấn, Hồ Đại Hưng, Nguyễn Duy Thuần

2 Nguồn dược liệu tỉnh Kon Tum, tiềm năng và hiện trạng 28
Nguyễn Văn Tập, Phan Văn Đệ, Lê Thanh Sơn, Ngô Đức Phương, Tạ Ngọc Tuấn, Cù Hải Long, Hồ Đại Hưng

3 Bảo tồn nguồn gen cây thuốc 39
Nguyễn Bá Hoạt và cs.

4 Kết quả bảo tồn cây thuốc cổ truyền dân tộc ở một số cộng đồng dân tộc miền núi phía Bắc 44
Nguyễn Duy Thuần, Trần Khắc Bảo, Ngô Quốc Luật, Lưu Đàm Cư, Phạm Văn Thính, Trương Anh Thư, Nguyễn Thị Thuỳ

5 Một số kết quả điều tra, nghiên cứu bảo tồn cây thuốc ở VQG Bạch Mã 51
Nguyễn Duy Thuần, Ngô Quốc Luật, Trần Thiện Ân

II. NGHIÊN CỨU TẠO THUỐC MỚI

Câu đằng

6 Phân lập và xác định cấu trúc của pteropodin trong cây câu đằng lá to thu hái ở Lào 64
Koson Solithan, Nguyễn Duy Thuần

Chè đắng

7 **Kết quả nghiên cứu hóa học và tác dụng sinh học của lá cây chè đắng Cao Bằng** 69
Bùi Thị Bằng và cs.

Cỏ ngọt

8 **Nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết của chế phẩm steviosid từ lá cây cỏ ngọt trồng ở Việt Nam trên động vật thí nghiệm** 83
Đỗ Thị Phương, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Kim Cần, Nguyễn Kim Phượng

Cúc gai

9 **Nghiên cứu thành phần hoá học của quả cây cúc gai di thực [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]** 93
Trịnh Thị Điệp, Nguyễn Thượng Dong, Bùi Thị Bằng, Châu Văn Minh, Phan Văn Kiệm

10 **Tác dụng dược lý của chế phẩm silymarin chiết xuất từ quả cúc gai di thực [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]** 102
Trịnh Thị Điệp, Nguyễn Thượng Dong, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Kim Phượng, Đỗ Thị Phương, Lê Minh Phương, Nguyễn Thị Dung

Đinh lăng

11 **Tác dụng bảo vệ gan của cao phối hợp từ lá đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms, *Araliaceae*) và nhân trần Tây Ninh (*Adenosma bracteosum* Bonati, *Scrophulariaceae*)** 110
Dương Thị Mộng Ngọc, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Thanh Tâm, Trần Công Luận

Gai chống

12 **Một số sapogenin từ *Tribulus terrestris* mọc ở Việt Nam** 117
Trần Công Luận, Nguyễn Xuân Trường, Đỗ Thanh Phủ, Nguyễn Thượng Dong

Mắc mật

13 **Kết quả nghiên cứu về hàm lượng và thành phần hoá học tinh dầu cây mắc mật thu hái tại Cao Bằng (*Clausena indica* (Dalzell) Oliv.)** 121
Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Bích Thu, Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Thị Nụ, Hoàng Giang, Nông Ích Thượng

Náng hoa trắng

14 **Tác dụng dược lý của náng hoa trắng (*Crinium asiaticum* L., *Amaryllidaceae*)** 128
Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Bá Hoạt, Đỗ Trung Đàm, Lê Minh Phương, Nguyễn Thị Dung, Đỗ Thị Phương

Nghệ

15 **Chiết xuất dầu nghệ** 139
Nguyễn Văn Luân và cs.

Ngũ sắc

16 **Một số nhận xét rút ra từ việc khảo sát hàm lượng và phân tích tinh dầu của cây hoa ngũ sắc (*Ageratum conyzoides* L., *Asteraceae*)** 147
Phạm Văn Thanh, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Thị Tâm, Nguyễn Bích Thu, Trương Vĩnh Phúc, Ngô Văn Trại, Dào Hồng Vân, Domirique Lesueur, Ange Bighelli, Joseph Casanova.

Ngũ vị tử

17 **Khảo sát thành phần hoá học quả ngũ vị tử mọc ở Kon Tum** 154
Trần Công Luận, Trần Thị Ý Nhi, Đỗ Thanh Phú, Nguyễn Bá Hoạt

18 **Nghiên cứu phát triển ngũ vị tử Ngọc Linh và tác dụng bảo vệ gan** 160
Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Công Luận, Lê Thanh Sơn

Nhàu

19 **Nghiên cứu sơ bộ thành phần hóa học và tác dụng hạ đường huyết của cây nhàu (*Morinda citrifolia* L., *Rubiaceae*)** 173
Phạm Văn Thanh, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Thị Xuân Hoa, Nguyễn Kim Phượng, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Trang Thuý, Đỗ Thị Hà, Vũ Thuý Lan, Nguyễn Ngọc Chi, Vũ Kim Thu

Ô đầu, phụ tử

20 **Nghiên cứu một loài ô đầu trồng ở Sa Pa (Lào Cai)** 181
Bùi Hồng Cường, Phùng Hòa Bình, Lê Đình Bích, Vũ Chí Nguyễn và cs.

21 **Khảo sát một số phương pháp chế biến phụ tử chế và chiết xuất cao phụ tử Sa Pa** 192
Bùi Hồng Cường, Phùng Hòa Bình, Nguyễn Trọng Thông, Chu Thế Ninh, Vũ Chí Nguyễn và cs.

Rau đắng biển

22 **Tác dụng của cao mềm chiết cồn từ rau đắng biển *(Bacopa monnieri* L. Wettst, *Scrophulariaceae)* trên khả năng học tập và ghi nhớ** 206
Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Thanh Duyên, Trần Thị Mỹ Tiên và cs.

23 **Tác dụng chống oxy hoá *in vitro* của rau đắng biển *(Bacopa monnieri* L. Wettst, *Scrophulariaceae*)** 212
Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Vũ Hoàng Phi, Võ Duy Huấn và cs.

24 **Tác dụng chống stress của cao chiết cồn từ rau đắng biển *(Bacopa monnieri* L. Wettst, *Scrophulariaceae*)** 219
Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Thanh Duyên, Hồ Việt Anh và cs.

Sài đất

25 **Nghiên cứu thành phần hoá học của cây sài đất (*Wedelia calendulaceae* Less.)** 224
Nguyễn Thị Xuân Hoa, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn

26 **Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của dược liệu sài đất (*Wedelia calendulaceae* Less.)** 230
Nguyễn Thị Xuân Hoa, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn

27 **Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của acid oleanoic phân lập từ sài đất (*Wedelia calendulaceae* Less.)** 237
Nguyễn Thị Xuân Hoa, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, Nguyễn Thị Minh Khai

28 **Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của phần chứa coumestan phân lập từ sài đất (*Wedelia calendulaceae* Less.)** 243
Nguyễn Thị Xuân Hoa, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn

Sâm Báo

29 **Nghiên cứu tác dụng dược lý của cây sâm Báo *(Hibiscus sagittifolius* var. *septentrionalis* Gag., *Malvaceae)*** 250
Đào Thị Vui, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Trọng Thông, Phạm Văn Thanh

Sâm Bố Chính

30 **Khảo sát hình thái - giải phẫu và thành phần hóa học các cây sâm bố chính mọc hoang và được trồng (*Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr.)** 264
Phan Văn Đệ, Trần Công Luận, Ngô Văn Tuấn

31 **Một số tác dụng dược lý của sâm Bố Chính và thập tử harmand ở Lộc Ninh, Bình Phước** 271
Nguyễn Thị Thu Hương, Lương Kim Bích, Trần Công Luận, Trần Đình Hợp

Sâm Việt Nam

32 **Nghiên cứu sự tăng trưởng và tích luỹ hoạt chất của sâm Việt Nam trồng ở Trà Linh, Quảng Nam** 278
Trần Công Luận, Võ Thị Thu Thuỷ, Phan Văn Đệ, Đỗ Thanh Phú, Đặng Ngọc Phái

33 **Tác dụng bảo vệ gan của sâm Việt Nam trong tổn thương gan thực nghiệm bằng ethanol** 288
Nguyễn Thị Thu Hương, Bùi Kim Cúc

34 **Nghiên cứu tác dụng của sâm Việt Nam và đinh lăng trên trí nhớ** 296
Nguyễn Thị Thu Hương, Lương Kim Bích, Đoàn Thị Ngọc Hạnh

35 **Nghiên cứu một số tác dụng dược lý của lá sâm Việt Nam** 303
Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Thị Thu Hương

Sì to

36 **Tác dụng dược lý của cao chiết từ rễ 2 loài *Valeriana* ở Việt Nam** 312

Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Duy Thuần, Đỗ Trung Dàm, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Trang Thuý, Phạm Nguyệt Hằng.

Tri mẫu

37 **Nghiên cứu sơ bộ thành phần hoá học và tác dụng hạ đường huyết của cây tri mẫu** 322

Phạm Văn Thanh, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Thị Xuân Hoa, Nguyễn Kim Phượng, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Trang Thuý, Đỗ Thị Hà, Vũ Thuý Lan, Nguyễn Ngọc Chi, Vũ Kim Thu

Nấm làm thuốc

38 **Nghiên cứu xác định tên khoa học, dấu vân tay hóa học và tác dụng sinh học của một số loài nấm đa niên thuộc chi *Ganoderma* và chi *Phellinus*** 331

Bùi Thị Bằng, Đàm Nhận, Nguyễn Kim Bích, Nguyễn Chiến Binh, Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Kim Phượng, Đỗ Thị Phương, Mai Thị Minh, Nguyễn Thị Nụ, Nguyễn Minh Tâm, Phan Thị Phi Phi, Phan Thị Thu Anh, Trần Công Yên, Nguyễn Thị Quỳ

39 **Tác dụng hỗ trợ điều trị u báng sarcoma 180 trên chuột của loài nấm cổ linh chi *(G. applanatum* (Per.) Pat.*)*** 344

Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thượng Dong, Đàm Nhận, Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Thị Nụ, Trần Công Yên, Nguyễn Thị Quỳ và cs.

40 **Tác dụng hỗ trợ điều trị u báng sarcoma 180 trên chuột của một loài nấm linh chi (*G. lobatum* (Sch. W.) Atk.)** 353

Nguyễn Thượng Dong, Bùi Thị Bằng, Đàm Nhận, Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Trang Thuý, Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Nụ, Trần Công Yên, Nguyễn Thị Quỳ và cs.

41 **Kết quả nghiên cứu về hóa học và tác dụng sinh học của nấm vân chi [*Trametes versicolor* (L.) Fr. Pilat.]** 364

Bùi Thị Bằng, Nguyễn Bá Hoạt, Đinh Thị Mai Hương, Đàm Nhận, Lê Thanh Sơn, Phan Thị Thu Anh, Lê Mai Hương, Nguyễn Thị Quỳ

Thuốc mới từ dược liệu

42 **Thử nghiệm lâm sàng đánh giá tác dụng hỗ trợ miễn dịch của thuốc angala trên bệnh nhân ung thư vú đang điều trị bằng hóa chất** 375

Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan, Lê Minh Phương, Phan Thị Phi Phi, Phạm Văn Bình, Nguyễn Bá Đức, Nguyễn Tuyết Mai, Lê Thanh Đức, Trần Văn Công, Đỗ Anh Tú, Trần Thắng, Nguyễn Thị Thoa, Lê Văn Thảo, Nguyễn Phương Dung, Nguyễn Hương Giang, Lại Phú Thường, Vũ Hồ, Lê Văn Don

43 Nghiên cứu thuốc điều trị rối loạn tuần hoàn não từ các dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm **386**

Đoàn Thị Nhu, Phạm Kim Mãn, Nguyễn Ngọc Chi, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Kim Phượng, Phạm Thanh Trúc, Đinh Thị Thuyết, Nguyễn Thị Dung, Cung Thị Tý, Trần Cẩm Vinh

44 Nghiên cứu bào chế viên famlergic chữa dị ứng **403**

Phạm Thanh Trúc, Nguyễn Kim Bích, Nguyễn Quang Việt

45 Nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc điều trị viêm gan mạn cugama **419**

Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Kim Phượng, Trịnh Thị Điệp, Lê Kim Loan, Đinh Thị Mai Hương, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Thị Nụ

III. NGHIÊN CỨU TẠO NGUỒN NGUYÊN LIỆU LÀM THUỐC

Đặc điểm nông sinh học

46 Đánh giá một số đặc điểm nông sinh học các giống ích mẫu ở Việt Nam **434**

Nguyễn Văn Thuận, Trịnh Thanh, Hoàng Văn Định, Trần Danh Việt

47 Nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng và phát triển của một số giống cây lão quan thảo (*Geranium nepalense* Kudo) trồng tại Trung tâm Nghiên cứu và chế biến cây thuốc Hà Nội, vụ 2002 - 2003 **444**

Phạm Văn Ý, Ngô Quốc Luật, Nguyễn DuyThuần, Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Bá Hoạt

Một số yếu tố ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng cây thuốc

48 Kết quả sơ bộ về phân tích chất đất ở một số vùng trồng cây thuốc **449**

Ngô Quốc Luật, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Công Vinh và cs.

49 Ảnh hưởng của hormon thực vật tới quá trình phát sinh hình thái của cây vân mộc hương (*Saussusrea lappa* Clarke) *in vitro* **459**

Tạ Như Thục Anh và cs.

50 Ảnh hưởng phân bón đến năng suất dược liệu actiso trồng ở Đà Lạt - Lâm Đồng **467**

Ngô Quốc Luật, Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Thị Làn, Đinh Văn My

51 Ảnh hưởng của chế phẩm EM đến năng suất hạt giống và dược liệu ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume) **472**

Ngô Quốc Luật, Lê Khúc Hạo

52 Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của một số loài hạt giống cây thuốc **475**

Phạm Văn Ý và cs.

53 **Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng lên sự nảy mầm của một số loại hạt giống cây thuốc** 483
Nguyễn Thị Thư và cs.

54 **Nghiên cứu ảnh hưởng của thời vụ, mật độ và phân bón đến năng suất và chất lượng dược liệu đương quy (*Angelica acutiloba* Kit.)** 489
Phạm Văn Ý, Nguyễn Văn Thuận, Bùi Thị Bằng

55 **Nghiên cứu ảnh hưởng của khoảng cách trồng và liều lượng phân bón NPK tổng hợp lên năng suất dược liệu ích mẫu (*Leonurus heterophyllus*)** 501
Lê Khúc Hạo, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Duy Thuần

56 **Một số kết quả ban đầu về sử dụng phân bón thể lỏng đến năng suất một số cây thuốc** 507
Lê Khúc Hạo và cs.

Nghiên cứu giống cây thuốc

57 **Sản xuất hạt giống ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume) chất lượng cao** 516
Nguyễn Văn Thuận, Phạm Thị Thu Thuỷ, Hoàng Văn Định

58 **Nghiên cứu xây dựng vùng giống ba kích và xây dựng luận chứng kinh tế trồng ba kích (*Morinda officinalis* How) trong mô hình vườn gia đình, vườn trang trại** 519
Nguyễn Văn Chiều và cs.

59 **Nghiên cứu các biện pháp tăng năng suất hạt giống, tạo giống từ hom thân ba kích và trồng thêm vườn giống ba kích** 524
Nguyễn Văn Chiều và cs.

60 **Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống cát cánh phục vụ sản xuất dược liệu trên địa bàn Bắc Trung Bộ** 533
Trần Thị Lan và cs.

61 **Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật nhân giống vô tính cây kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb)** 543
Trần Danh Việt và cs.

62 **Nghiên cứu khả năng nhân giống và bảo tồn ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai ở Việt Nam** 553
Phạm Thanh Huyền, Nguyễn Văn Tập, Lê Thanh Sơn, Ngô Đức Phương, Cù Hải Long, Đinh Văn My, Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Nghĩa Thìn và cs.

Nghiên cứu quy trình sản xuất dược liệu

63 **Nghiên cứu quy trình kỹ thuật trồng và quy hoạch phát triển sâm Ngọc Linh tại Kon Tum** 564
Nguyễn Bá Hoạt và cs.

64 **Xây dựng một số quy trình sản xuất dược liệu sạch và chế biến sạch để bào chế một số chế phẩm chất lượng cao** 576
Nguyễn Văn Thuần, Bùi Thị Bằng, Phạm Văn Ý, Lê Kim Loan, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Thị Thư, Lê Khúc Hạo

65 **Xây dựng quy trình trồng cây bạch chỉ (*Angelica dahurica* Benth et. Hook) cho dược liệu an toàn** 584
Lê Khúc Hạo, Nguyễn Văn Thuần và cs.

66 **Xây dựng quy trình trồng cây ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume) cho dược liệu an toàn** 590
Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Văn Thuần, Phạm Thị Lượt, Nguyễn Xuân Trường

67 **Nghiên cứu trồng thuỷ canh cây dừa cạn (*Catharanthus roseus*) thu rễ** 602
Nguyễn Trần Hy, Nguyễn Bích Thu và cs.

68 **Nghiên cứu nhân trồng và phát triển sì to - *Valeriana jatamansi* Jones ở Sapa - Lào Cai** 608
Phạm Thanh Huyền, Đinh Văn My, Nguyễn Duy Thuần và cs.

69 **Đánh giá năng suất và chất lượng dược liệu cây đương quy Nhật và cây trinh nữ hoàng cung trồng trên giá thể đất nhân tạo** 615
Ngô Quốc Luật, Đào Mạnh Hùng, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thị Dung

Nghiên cứu phòng trừ sâu, bệnh hại

70 **Nghiên cứu sâu bệnh hại trên một số cây thuốc quan trọng** 624
Ngô Quốc Luật và cs.

71 **Nghiên cứu nấm bệnh hại cây bạch truật và khảo sát một số biện pháp phòng trừ** 634
Ngô Quốc Luật, Vũ Thị Tuyết Mai, Lê Khúc Hạo và cs.

72 **Diễn biến một số bệnh hại chính trên cây bạch truật và khảo sát biện pháp phòng trừ bệnh thối gốc mốc trắng vụ đông xuân 2004 - 2005 tại Thanh Trì, Hà Nội** 650
Ngô Quốc Luật, Lê Khúc Hạo, Lê Khai Hoàn và cs.

73 **Nghiên cứu biện pháp phòng trừ sâu, bệnh hại trên cây cà độc dược (*Datura metel*)** 660
Nguyễn Thị Tuấn, Ngô Quốc Luật và cs.

74 **Nghiên cứu thành phần sâu hại chính trên cây cúc gai (*Silybum marianum* L.) và biện pháp phòng trừ** 666
Trần Danh Việt, Ngô Quốc Luật và cs.

75 **Sâu bệnh hại và biện pháp phòng trừ trên cây diệp hạ châu đắng (*Phyllanthus amarus* L.)** 678
Nguyễn Thị Thư, Ngô Quốc Luật

76 **Sâu bệnh hại trên cây lão quán thảo** 688
Ngô Quốc Luật, Phạm Văn Ý và cs.

77 **Diễn biến mật độ sâu ăn lá hại cây trinh nữ hoàng cung và so sánh hiệu lực một số loại thuốc phòng trừ** 696
Ngô Quốc Luật, Đặng Văn Ngân, Nguyễn Văn Đĩnh và cs.

IV. NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN CHUYÊN KHOA

78 **Xây dựng thử nghiệm tránh né thụ động để nghiên cứu tác dụng của sâm Việt Nam trên trí nhớ** 708
Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Thị Thu Hương

79 **Ứng dụng phương pháp GC-MS để phân tích thành phần hoá học tinh dầu chiết xuất từ một số dược liệu Việt Nam** 715
Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Duy Thuần, Đào Trọng Tuấn, Nguyễn Thị Nụ

80 **Định lượng artemisinin trong dược liệu thanh cao hoa vàng bằng phương pháp đo mật độ hấp thụ vết sắc ký lớp mỏng** 724
Nguyễn Kim Bích, Trịnh Thị Nga

81 **Định lượng lycorin trong dược liệu náng hoa trắng bằng phương pháp đo mật độ hấp thụ vết sắc ký lớp mỏng** 728
Nguyễn Kim Bích, Trịnh Thị Nga

82 **Nghiên cứu độc tính của dược liệu xông sinh** 734
Lê Thị Kim Loan, Nguyễn Kim Phượng, Vũ Văn Điền, Vũ Thị Thuận, Bùi Hồng Cường, Nguyễn Huy Văn và cs.

83 **Nghiên cứu phân biệt các cây sài đất (*Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr.) với sài lan (*Tridax procumbens* L.) và chè rừng (*Phyla nodiflora* (L.) Greene)** 740
Nguyễn Thị Xuân Hoa, Trần Công Khánh, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn

NGHIÊN CỨU VÀ PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU

PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong

Các chất hữu cơ đầu tiên như rượu, bia, giấm đã được loài người phát hiện từ năm 900. Nhưng phải mất gần một thiên niên kỷ, tức là vào năm 1789, Levis mới điều chế được acid acetic băng và năm 1796 cũng chính dược sỹ người Saint Perterburg này mới điều chế được cồn tuyệt đối. Năm 1773, Ruelle phân lập được hợp chất hữu cơ đầu tiên và đặt tên là carbamid. Năm 1874, Kolbe và Schmitt đã chiết xuất được acid salisylic. Nhưng có lẽ hợp chất đầu tiên được sử dụng làm thuốc lại là antipyrin, được Ludwig Knorr tổng hợp vào năm 1884, vì mãi sau này con người mới điều chế được muối natri của acid salisylic và đặt tên là aspirin, mặc dù acid này được tìm thấy sớm hơn antipyrin.

Như vậy, loại tân dược đầu tiên được loài người sử dụng là antipyrin vào năm 1884, cách đây 122 năm. Vậy trước đó, tổ tiên chúng ta đã chữa bệnh bằng gì?

Khi quan sát thế giới tự nhiên, loài người đã nhận thấy, thảm thực vật có ích cho họ, mỗi khi ốm đau, họ biết sử dụng những loài thực vật để chữa bệnh, và cũng biết tránh những loài có tác dụng độc. Loài người còn nhận thấy một số quy luật tự nhiên như vòng quay của mặt trăng, mặt trời, quy luật sinh tử, chu kỳ kinh nguyệt, chu kỳ mang thai của phụ nữ... Ban đầu là kinh nghiệm trong vận dụng các quy luật và giá trị của tài nguyên để tự chữa bệnh. Dần dần hình thành các nền y học mà ngày nay các nhà khoa học gọi là y học cổ truyền dân tộc, trí thức về thảm tài nguyên dược liệu được gọi là thực vật học dân tộc, còn các hiểu biết về tác dụng của cây cỏ được gọi là dược lý học dân tộc.

Khoa học ngày càng phát triển, con người càng đi sâu khám phá thế giới tự nhiên. Các nhà khoa học thấy rằng "sinh vật là nhà hóa học tuyệt vời" giỏi hơn cả các nhà hóa học trong việc tổng hợp các chất tự nhiên. Qua hàng triệu năm, sinh vật đã tự tổng hợp các chất để đáp ứng nhu cầu đặc biệt cho sự tồn tại của mình, như hirudin của đỉa để chống đông máu. Sau này, loài người đã sử dụng hợp chất này 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 hai lần so với phương pháp điều trị thông thường. Sau này loài người đã thành công trong việc tìm kiếm các thuốc vinblastin, vincristin từ cây dừa cạn, colchicin, colchamin từ một loài tỏi, hoặc

các dẫn chất taxol từ thông đỏ. Hiện nay nhiều hãng dược phẩm đã sản xuất thuốc chống ung thư từ sụn cá mập. Các chất chống oxy hóa màng tế bào như beta-caroten có trong cà rốt, gấc, táo đỏ, soài, vitamin E trong dầu đậu tương. Quinin và artemisinin gần đây đã rất có ích cho loài người. Trong những năm cuối thế kỷ 20 và đầu thế kỷ 21, bệnh cúm gia cầm đã trở thành vấn đề toàn cầu, một lần nữa các chất có nguồn gốc thiên nhiên lại giúp cho loài người có vũ khí hữu hiệu để phòng chống lại virus H5N1. Acid shikimic chiết xuất từ hoa hồi, sau khi bán tổng hợp thành oseltamivir phosphat có khả năng phòng và chữa căn bệnh nguy hiểm này.

Đất nước tính từ ngày giành độc lập đã hơn 60 năm, nhưng đã phải trải qua hai cuộc kháng chiến chống Pháp và chống Mỹ. Trong điều kiện chiến tranh mọi ưu tiên của Đảng và Nhà nước ta dành cho vũ khí và lương thực phục vụ chiến trường. Dược liệu và thuốc y học cổ truyền đã đóng vai trò chủ đạo trong công cuộc bảo vệ sức khỏe bộ đội và nhân dân thời chiến. Nhiều xưởng quân dược tiền phương và vùng hậu cứ đã sản xuất hàng trăm loại thuốc có nguồn gốc từ dược thảo phục vụ công tác phòng và chữa bệnh cho bộ đội và nhân dân. Sau giải phóng và tiếp quản thủ đô, ngày 27/2/1955, Hồ Chủ tịch đã gửi thư cho cán bộ ngành Y tế, trong thư Bác viết "Ông cha ta ngày trước có nhiều kinh nghiệm quý báu về cách chữa bệnh bằng thuốc Nam, thuốc Bắc. Để mở rộng phạm vi y học, các cô các chú cũng nên chú trọng nghiên cứu, phối hợp thuốc Đông và thuốc Tây". Ngày 13/4/1961, Bộ Y tế ra quyết định số 324/BYT-QĐ thành lập Viện Dược liệu, với chức năng nghiên cứu và chỉ đạo công tác nuôi trồng dược liệu và nghiên cứu sản xuất thuốc dược liệu trong cả nước.

Những công trình nghiên cứu trong giai đoạn đầu mới thành lập Viện bao gồm chiết xuất các hoạt chất làm thuốc và nghiên cứu phát triển nguồn tài nguyên dược liệu hoang dại và trồng trọt.

Các thuốc đã được nghiên cứu và chế tạo như tanoform, bromoform, camposulfonat, acid cholic, phytin, *D*-strophantin, embelin, vinblastin, nunaxin. Nhiều hoạt chất đã được phân lập như diosgenin, solasodin, rutin, berberin, rotundin, palmatin ... Nhiều loại tinh dầu như bạc hà, long não, hương nhu, quế, dầu giun đã được nghiên cứu phục vụ công tác phòng và chữa bệnh và xuất khẩu đem ngoại tệ về cho đất nước.

Công tác nhập nội giống những cây thuốc Bắc ở những năm 60 như đương quy, bạch truật, bạch chỉ, đảng sâm, vân mộc hương ... đã đóng góp rất lớn bổ sung nguồn tài nguyên cây thuốc cho đất nước. Bước đầu đã tự túc được một khối lượng lớn "thuốc Bắc" mà hàng năm vẫn phải nhập hàng trăm tấn từ Trung Quốc. Gần 60 loài cây thuốc được nhập nội thành công và nhiều người quen dùng đến mức cho rằng đó là những cây thuốc của Việt Nam. Để có được điều

này nhiều thế hệ lãnh đạo và cán bộ nghiên cứu khoa học của Viện, nhiều đồng chí lãnh đạo Đảng và Nhà nước, nhiều nhà ngoại giao đã dày công mới có được.

Tính từ ngày thành lập Viện, 45 năm đã trôi qua. Trong thời chiến, Viện đã hai lần đi sơ tán. Sau chiến tranh chống Mỹ, Viện lại chia tách với Viện Kiểm nghiệm. Thời kỳ bao cấp, đất nước còn khó khăn, nên về cơ bản Viện Dược liệu chưa được đầu tư một cách toàn diện. Nhưng chúng ta vẫn phải tập trung xây dựng công tác dược liệu phía Nam, bao gồm thành lập Phân viện Dược liệu và các trạm dược liệu trong cả nước. Tổ chức điều tra đánh giá nguồn tài nguyên dược liệu trong suốt 25 năm điều tra cơ bản (1961 - 1986), chúng ta đã xác định nguồn dược liệu tự nhiên của Việt Nam gồm 3948 loài cây thuốc, 408 loài động vật làm thuốc, 75 khoáng vật và 52 loài tảo biển lớn. Trong những năm gần đây, sau khi tái điều tra và đánh giá lại thực trạng nguồn tài nguyên hoang dại chúng ta đã xác định có 206 loài còn trữ lượng tương đối lớn thuộc 50 vùng, tại 22 tỉnh miền núi vẫn có khả năng khai thác với tổng trữ lượng 121.000 tấn. Chúng ta cũng đã xác định được 133 loài cây đang trồng tương đối phổ biến trong cả nước, hàng năm sản xuất ra hàng ngàn tấn dược liệu phục vụ y học cổ truyền , công nghiệp dược và xuất khẩu. Nhiều loại cây trồng như kim tiền thảo, thanh cao hoa vàng, các cây cho tinh dầu đã và đang phát huy vai trò là nguyên liệu quan trọng trong sản xuất thuốc. Từ những kết quả điều tra và nghiên cứu đó, đã tổng hợp biên soạn gần 20 đầu sách bằng tiếng Việt, Pháp và Anh để phổ biến rộng rãi trong và ngoài nước. Nhiều cây thuốc quý có giá trị đã được giới thiệu lên mạng www.vienduoclieu.org.vn, www.nimm.org.vn và www.apctt-tm.net.

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 đánh giá tác dụng trên lâm sàng nhiều loại thuốc như artemisinin từ thanh cao hoa vàng chữa bệnh sốt rét ác tính, curcuminoid từ cây nghệ vàng chữa bệnh viêm loét và hỗ trợ điều trị ung thư dạ dày, agerhinin từ cây ngũ sắc chữa viêm xoang, viêm mũi dị ứng, angobin từ đương quy Nhật Bản chữa bệnh thiểu năng tuần hoàn máu, angala làm thuốc tăng cường miễn dịch, haina và abivina chữa bệnh viêm, xơ gan virus, mudanin từ quả mướp đắng chữa bệnh tiểu đường, panacrin hỗ trợ chữa bệnh ung thư, ruvintat chữa cao huyết áp và xơ vữa động mạch, thập vị bổ và viên ngậm sâm K5 làm thuốc bổ trợ sức khỏe cho người cao tuổi, sotinin chữa sỏi tiết niệu. Gần đây Viện đã chiết xuất thành công acid shikimic từ hoa hồi làm nguyên liệu bán tổng hợp oseltamivir làm thuốc chữa bệnh cúm gia cầm. Ngoài ra Viện đã bàn giao nhiều mặt hàng cho các xí nghiệp trong nước và nghiên cứu nhiều loại thuốc mới như cugama, asphocitrin, ligustan, dihacharin ... đang trong giai đoạn thử lâm sàng. Về bán tổng hợp, đã tổng hợp thành công testosterol, progesterol từ diosgenin và buscopan từ scopolamin chiết xuất từ cà độc dược.

Từ năm 2001 đến nay, tình hình chất lượng dược liệu suy giảm một cách nghiêm trọng. Hơn nữa, xu thế hiện nay trong khu vực và trên thế giới đang đòi hỏi mọi quốc gia phải quan tâm đến tính đúng, đảm bảo chất lượng và an toàn. Chúng ta đã tham gia diễn đàn FHH, do vậy, Viện Dược liệu là đơn vị đầu tiên trong cả nước nghiên cứu trồng 5 cây thuốc actiso, ngưu tất, đương quy, bạch chỉ và cúc hoa bằng công nghệ GAP, tạo lòng tin cho khách hàng từ Nhật Bản mỗi năm vẫn nhập hàng chục tấn dược liệu do Viện sản xuất.

Công tác đào tạo tiến sĩ cũng được Bộ Giáo dục và Đào tạo phê duyệt từ năm 1979, nâng hoạt động của Viện đồng đều cả hai lĩnh vực Đào tạo và Nghiên cứu khoa học. Viện đã đào tạo được nhiều tiến sĩ chuyên ngành dược lý và dược liệu, góp phần xây dựng đội ngũ cán bộ cho nhiều cơ quan trong và ngoài ngành và các nước bạn Lào, Campuchia và Mông Cổ.

Hợp tác quốc tế đã đóng góp một phần rất quan trọng trong hoạt động và phát triển của Viện. Mở rộng quan hệ với các viện trong khu vực như Viện Dược liệu Tokai, Tập đoàn KAO, Hội Công nghệ sinh học Nhật Bản, Viện Phát triển Dược liệu Bắc Kinh, Viện Chulabhorn và Đại học Chieng mai - Thái Lan, Viện FRIM và Đại học Malaya - Malaysia, Tập đoàn Kimia - Indonesia, Viện Hoá các hợp chất tự nhiên - Hàn Quốc, Viện GIFSURIVET - Cộng hoà Pháp, Trường đại học Tổng hợp Sydney. Nhờ có quan hệ hợp tác quốc tế, Viện đã đào tạo được nhiều cán bộ giỏi về nhiều lĩnh vực và nâng cao trình độ nghiên cứu khoa học cho cán bộ, đặc biệt là cán bộ trẻ.

Khi sinh thời, cố Bộ trưởng Phạm Ngọc Thạch đã từng nói "*Nếu chúng ta chọn con đường mà các nước phát triển đang đi, sản xuất thành phẩm từ nguyên liệu hoá dược (chủ yếu chúng ta phải nhập nội) thì suốt đời vẫn là học trò của họ. Nhưng nếu chúng ta chọn con đường dược liệu, lấy cây thuốc trong nước làm nguyên liệu, với những phương pháp chế biến khoa học, ngày càng cải tiến, hiện đại hoá 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*". Trong 45 năm qua, nhiều thế hệ lãnh đạo và cán bộ công nhân viên Viện Dược liệu vẫn ghi sâu và ra sức thực hiện lời tâm huyết đó của cố Bộ trưởng. Mong rằng trong tất cả chúng ta sẽ không có người quay lưng lại với dược liệu. Nếu bạn vô tình làm thế, bạn đã quay lưng lại với tổ tiên. Dược liệu đã giúp bạn trong những lúc đất nước khó khăn. Quay lưng lại với dược liệu, không khác gì quay lưng lại với quá khứ. Các bạn đã biết, nếu quay lưng lại với quá khứ, quay lưng lại với lịch sử thì bạn rồi sẽ ra sao? Vậy nên, hơn bất cứ lúc nào, tất cả chúng ta phải đồng tâm, chung sức tháo gỡ cho dược liệu nước nhà phát triển như các nước Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản và các nước khác trong khu vực.

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

- Từ khi mối quan hệ thương mại quốc tế mở rộng, thuốc nước ngoài tràn vào Việt Nam ngày càng nhiều, tư tưởng chuộng thuốc ngoại đã làm giảm vị trí của thuốc dược liệu và thuốc sản xuất trong nước. Trong khi đó nhiều nước trong khu vực, đặc biệt là Trung Quốc đã có chiến lược và nhiều chương trình cấp Quốc gia, quy hoạch và phát triển dược liệu, Trung dược.
- Trong hoàn cảnh thuốc 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, quay sang sản xuất và kinh doanh thuốc tân dược, làm cho công tác phát triển dược liệu lại càng khó khăn. Trong khi đó các nước phát triển đang có xu thế hướng về các hợp chất thiên nhiên.
- Công tác quản lý và tổ chức chưa kịp thời chuyển đổi, chưa có cơ chế phù hợp khuyến khích và tạo điều kiện cho dược liệu phát triển. Ngại làm dược liệu, rất ít công ty và địa phương đầu tư tiền và thiết bị cho phát triển dược liệu và thuốc dược liệu. Buông lỏng công tác quản lý nhà nước về dược liệu.
- Do chưa được đầu tư đúng mức, nên hàm lượng khoa học trong sản phẩm dược liệu chưa cao, nhất là thuốc y học cổ truyền. Người dùng thuốc chưa biết mỗi thang thuốc, viên hoàn hoặc tễ có chứa bao nhiêu chất và lượng của từng chất là bao nhiêu. Do vậy, khi chúng ta giới thiệu xuất dược liệu và thuốc dược liệu, nhiều nước đã sử dụng hàng rào khoa học kỹ thuật để ngăn cản hoặc hạn chế chúng ta, buộc chúng chúng ta chỉ xuất được nguyên liệu thô cho họ. Chúng ta phải phấn đấu để làm sao tất cả các bao dược liệu phải có chất lượng đồng đều như các vỉ thuốc tân dược vậy.

Để phát triển được dược liệu trong nước, một số vấn đề sau cần phải được quan tâm:

1. Cần quan tâm quản lý chất lượng dược liệu từ khâu thu hái đúng, thu hái vào thời vụ có hoạt chất, không được nhiễm khuẩn, không bị mốc, mọt, không có tồn dư kim loại nặng, tồn dư thuốc trừ sâu, chất kích thích sinh trưởng và nhiễm xạ. Có vậy, chúng ta sản xuất ra mới có người mua, dược liệu sử dụng mới có hiệu quả và an toàn cho người sử dụng.
2. Cần có tổ chức làm công tác quản lý nhà nước như Cục Trung y - Trung dược của Trung Quốc để đề xuất được chiến lược phát triển của ngành, xây dựng các chương trình có khả năng kích cầu cho nhiều tổ chức và người dân tham gia phát triển dược liệu.
3. Cần có một cuộc điều tra tổng thể về hiện trạng nguồn tài nguyên dược liệu trồng và hoang dại, xác định nhu cầu trong nước và xuất khẩu, suy xét nhóm

thuốc nào, loại thuốc nào nên đi từ nguồn gốc dược liệu, để vạch ra một chương trình phát triển một cách đồng bộ.

4. Cần đầu tư về cơ sở vật chất, trang thiết bị và có cơ chế quản lý phù hợp để khuyến khích phát triển dược liệu. Chúng ta cần được kích cầu để vượt qua bước đột phá ban đầu. Khi đã vượt qua được giai đoạn này, sẽ có thế và lực để phát triển vì dược liệu và thuốc từ dược liệu là ngành có hiệu quả kinh tế.
5. Chính sách và cơ chế là hết sức quan trọng, ví như khoán 100, khoán 10 trong nông nghiệp, khuyến khích mọi thành phần kinh tế, mọi loại hình tổ chức tham gia phát triển dược liệu, sản xuất ra nhiều thuốc, góp phần giảm thiểu nhập ngoại, lựa chọn một số cây thuốc quan trọng, tập trung phát triển lớn, thu ngoại tệ để tạo nguồn kinh phí nhập những loại không thể sản xuất được trong nước.

Đông y hay Tây y đều có điểm yếu và điểm mạnh, như Bác Hồ đã nói "*Thuốc tây chữa được nhiều bệnh, nhưng có bệnh chữa không được, mà thuốc ta chữa được. Thuốc ta cũng chữa được nhiều bệnh nhưng có bệnh cũng không chữa được, mà thuốc tây chữa được. Bên nào cũng có ưu điểm, hai cái ưu điểm cộng lại, thì chữa bệnh tốt cho đồng bào, cho nhân dân, phục vụ cho xây dựng Chủ nghĩa xã hội. Thầy thuốc tây phải học đông y, thầy thuốc ta phải học thuốc tây. Thầy thuốc ta và thầy thuốc tây đều phục vụ nhân dân, như người có hai tay cùng làm việc, thì làm việc được tốt .... Cho nên phải đoàn kết thuốc ta và thuốc tây thành một khối để chữa bệnh cho đồng bào...*".

KẾT QUẢ ĐIỀU TRA NGUỒN TÀI NGUYÊN DƯỢC LIỆU Ở VIỆT NAM GIAI ĐOẠN 2001 – 2005

Nguyễn Văn Tập, Ngô Văn Trại, Phạm Thanh Huyền, Lê Thanh Sơn, Ngô Đức Phương, Cù Hải Long, Phan Văn Đệ, Tạ Ngọc Tuấn, Hồ Đại Hưng, Nguyễn Duy Thuần *– Viện Dược liệu*
Nguyễn Xuân Đặng, Nguyễn Văn Sáng và cs. *– Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật*
Nguyễn Văn Tiến, Nguyễn Huy Yết, Lê Thị Thanh và cs. *– Phân viện Hải dương học Hải Phòng*
Ngô Văn Minh, Nguyễn Văn Mạnh *– Liên đoàn Vật lý địa chất*

I. MỞ ĐẦU

Ngay sau khi thành lập (1961), Viện Dược liệu được giao nhiệm vụ tiến hành điều tra nghiên cứu toàn diện về nguồn tài nguyên dược liệu ở Việt Nam, phục vụ

cho nhu cầu khai thác sử dụng và giới thiệu cho nghiên cứu chế tạo thuốc mới từ dược liệu.

Từ năm 1961 đến 1985, Viện Dược liệu phối hợp với các địa phương hoàn thành giai đoạn I điều tra cơ bản tài nguyên cây thuốc ở cả hai miền Nam – Bắc, phát hiện 1.863 loài cây thuốc thuộc 263 họ thực vật. Tiếp tục mở rộng điều tra ở các địa phương, đồng thời hệ thống và bổ sung những kết quả thu thập được trước đây. Đến cuối năm 2000, đã thống kê ở Việt Nam có 3.830 loài thực vật và nấm được dùng làm thuốc, thuộc 246 họ thực vật.

Tuy nhiên, do khai thác liên tục nhiều năm, cùng với nhiều nguyên nhân tác động khác, đã làm cho nguồn tài nguyên cây thuốc giảm sút nhiều. Mặt khác, mặc dù đã được điều tra nhiều năm, song trên thực tế vẫn còn nhiều vùng rừng núi xa xôi chưa được khảo sát. Đặc biệt, ở Việt Nam có nhiều loài động vật và tảo biển có công dụng làm thuốc, nhưng cũng chưa được điều tra nghiên cứu.

Với yêu cầu nắm được đầy đủ về tiềm năng và hiện trạng nguồn tài nguyên dược liệu ở nước ta, để có kế hoạch khai thác hợp lý, bảo tồn và phát triển, đề tài KC.10.07 (2001 – 2005), đã được xây dựng với nội dung quan trọng là điều tra lại nguồn cây thuốc ở một số tỉnh trọng điểm. Phối hợp với các ngành khác có liên quan, bước đầu điều tra, thống kê nguồn tảo biển, động vật và khoáng vật làm thuốc hiện có ở nước ta.

Ngoài ra, với cùng mục đích nắm được nguồn tài nguyên dược liệu của địa phương mình, một số tỉnh như Quảng Ngãi (2002), Quảng Nam (2003), Nghệ An (2005)... cũng đã tiến hành điều tra, thống kê cây thuốc theo yêu cầu của địa phương..

II. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG, PHƯƠNG PHÁP VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Bao gồm toàn bộ các cây thuốc (kể cả nấm), tảo biển lớn, động vật và khoáng vật – khoáng chất có công dụng làm thuốc.

2.2. Nội dung

- Thu thập và thống kê tất cả các loại cây thuốc (từ bậc thấp đến bậc cao), động vật và khoáng vật – khoáng chất có công dụng làm thuốc; thu thập tiêu bản, mẫu vật; xác định tên khoa học; xây dựng danh lục cho các đối tượng trên.

- Xác định những loài thuộc diện quý hiếm cần bảo tồn hoặc những đối tượng có khả năng khai thác được ngay.

- Trên cơ sở đó, đề xuất một số biện pháp khả thi trong việt bảo tồn đi đôi với phát triển lâu dài.

2.3. Phương pháp

- Điều tra cây thuốc được áp dụng theo Quy trình điều tra dược liệu của Bộ Y tế (1973).

- Điều tra động vật làm thuốc, tảo biển lớn làm thuốc và khoáng vật – khoáng chất làm thuốc bằng các phương pháp chuyên ngành (Viện Dược liệu chưa có phương pháp này, phải phối hợp với các nhà chuyên môn trong từng lĩnh vực).

2.4. Địa điểm điều tra nghiên cứu

Từ 2001 đến 2005 đã tiến hành điều tra ở một số vùng núi trọng điểm của 7 tỉnh – thuộc đề tài KC.10.07 (Bắc Kạn, Tuyên Quang, Lai Châu, Gia Lai, Kon Tum, Đắk Lắk và Lâm Đồng) và 3 tỉnh Quảng Ngãi, Quảng Nam và Nghệ An theo yêu cầu của tỉnh.

Ngoài ra, trong khuôn khổ của dự án "*Bảo tồn thực vật Việt Nam*" hợp tác giữa Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật với Vườn Thực vật Mitxuri (Hoa Kỳ), trong đó Viện Dược liệu là một thành viên, đã điều tra tại Vườn Quốc gia (VQG) Ba Bể - Bắc Kạn, VQG Bạch Mã – Thừa Thiên Huế, VQG Núi Chúa – Ninh Thuận...

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Về cây thuốc

Số loài cây thuốc phát hiện được ở từng địa phương

- Tỉnh Bắc Kạn: Đã điều tra nghiên cứu trên địa bàn 8 xã, thuộc 3 huyện; phát hiện 751 loài cây thuốc, thuộc 171 họ thực vật.
- Tỉnh Đắk Lắk: Đã điều tra nghiên cứu ở 14 xã, thuộc 4 huyện; phát hiện 725 loài cây thuốc, thuộc 156 họ thực vật.
- Tỉnh Gia Lai: Điều tra nghiên cứu ở 16 xã, thuộc 4 huyện; phát hiện 783 loài cây thuốc, thuộc 161 họ thực vật.
- Tỉnh Kon Tum: Điều tra nghiên cứu ở 39 xã, thuộc 9 huyện; phát hiện 853 loài cây thuốc, thuộc 171 họ thực vật.
- Tỉnh Lai Châu: Điều tra nghiên cứu ở 11 xã, thuộc 3 huyện; phát hiện 875 loài cây thuốc, thuộc 175 họ thực vật.

- Tỉnh Lâm Đồng: Điều tra nghiên cứu ở 14 xã, thuộc 3 huyện; phát hiện 756 loài cây thuốc, thuộc 163 họ thực vật.
- Tỉnh Tuyên Quang: Điều tra ở 14 xã, thuộc 2 huyện; phát hiện được 682 loài cây thuốc, thuộc 159 họ thực vật.
- Tỉnh Quảng Ngãi: Đã điều tra nghiên cứu ở 75 xã, thuộc 13 huyện; phát hiện 735 loài cây thuốc, thuộc 545 chi và 188 họ thực vật.
- Tỉnh Quảng Nam: Đã điều tra nghiên cứu ở 52 xã (trên tổng số 86 xã) của 6 huyện; phát hiện và thống kê được 832 loài cây thuốc, thuộc 190 họ thực vật.
- Tỉnh Nghệ An: Đã tiến hành điều tra trên địa bàn 128 xã thuộc 10 huyện; phát hiện được 962 loài cây thuốc, thuộc 625 chi, 181 họ thực vật.

Trong những địa phương trên, có một số địa phương lần đầu tiên được điều tra về cây thuốc, như huyện Vân Đồn (Bắc Kạn), Eakar (Đắk Lắk), Kon Ch'Rò (Gia Lai), Mường Tè (Lai Châu)... Kết quả điều tra đã giới thiệu cho địa phương nhiều vùng có cây thuốc mọc tập trung để khai thác. Phát hiện và bổ sung trên 50 loài cây thuốc mới cho Danh lục cây thuốc Việt Nam, cũng như đối với hệ thực vật của nước ta.

Tổng hợp về số loài cây thuốc ở Việt Nam tính đến cuối năm 2005

Từ những kết quả thu được qua các đợt điều tra từ 2001 đến 2005, cùng với việc tổng hợp từ các tư liệu nghiên cứu trước đây, hiện đã phát hiện và thống kê được ở Việt Nam có 3.948 loài thực vật bậc cao, bậc thấp và nấm lớn có công dụng làm thuốc. Cụ thể:

- Nhóm Nấm làm thuốc (chủ yếu nấm lớn) có 22 loài, thuộc 16 chi và 12 họ.
- Nhóm Tảo biển lớn có 52 loài, thuộc 27 chi và 19 họ của 4 ngành.
- Nhóm Rêu (ngành Rêu) có 4 loài, thuộc 4 chi, 4 họ và 1 ngành.
- Nhóm thực vật bậc cao có mạch (tính từ ngành Lá thông – Psilotophyta đến ngành Mộc lan – Magnoliophyta) có 3.870 loài, thuộc 1.525 chi, 272 họ của 6 ngành. Trong đó, ngành Mộc lan chiếm nhiều nhất với 3.675 loài, thuộc 1.434 chi, 231 họ (số họ / chi / loài của lớp Mộc lan là 186 / 1.189 / 3.094 và lớp Hành là: 45 / 245 / 581, tương ứng). Ngành có số loài cây thuốc nhiều thứ hai trong nhóm này là ngành Dương xỉ với 128 loài; ngành Thông có 38 loài; ngành Tảo lục: 27 loài... và ngành Lá thông chỉ có duy nhất 1 loài.

Đáng chú ý, nhóm Tảo biển làm thuốc được thực hiện dưới sự phối hợp với Phân viện Hải dương học Hải Phòng (trong khuôn khổ của đề tài KC.10.07). Bước đầu đã điều tra các loài tảo biển lớn làm thuốc ở một số vùng ven biển

Quảng Ninh, Hải Phòng và khu vực biển miền Trung... Kết quả đã ghi nhận được 52 loài Tảo có công dụng làm thuốc, thuộc 27 chi, 19 họ của 4 ngành Tảo. Trong đó, ngành Tảo lục (Clorophyta): 15 loài; ngành Tảo nâu (Phaeophyta): 8 loài; ngành Tảo lam (Cyanophyta): 2 loài. Bên cạnh công dụng làm thuốc, từng loài còn ghi chú được nơi phân bố của chúng ở các vùng biển đã điều tra.

Những cây thuốc có giá trị sử dụng cao, có khả năng khai thác trong tự nhiên

Là những cây thuốc nằm trong danh mục 185 cây thuốc và vị thuốc thiết yếu của Bộ Y tế cũng như những cây thuốc đang được thị trường dược liệu quan tâm. Dựa vào những cơ sở đó, đã xác định được 206 loài cây thuốc có khả năng khai thác, thuộc 79 họ. Tất cả 206 loài này được biên soạn dưới dạng "*Danh lục những cây thuốc được sử dụng phổ biến, có khả năng tiếp tục khai thác ở Việt Nam*". Trong đó, đã thể hiện đầy đủ các thông tin về nơi phân bố cũng như trữ lượng (ước tính) có khả năng khai thác.

Có 30 loài và nhóm loài trong số đó là những cây thuốc vừa cung cấp cho thị trường trong nước, vừa để xuất khẩu, như cát sâm, cẩu tích, sa nhân, thạch hộc, thảo quyết minh, vàng đắng... Phần lớn các loài còn lại trong số đó đáp ứng cho nhu cầu sử dụng trong nước; một số loài mới được phát động khai thác (chè dây, cẩu tích...).

Những cây thuốc bị đe dọa, cần bảo vệ ở Việt Nam

Với các nguồn thông tin có được về sự phân bố, tình trạng khai thác sử dụng, kết hợp với những kết quả khảo sát gần đây, đã xác định được trong nguồn cây thuốc Việt Nam hiện nay có 136 loài, thuộc 81 chi và 55 họ thực vật là những cây thuốc cần được bảo vệ ở Việt Nam, do: đó là những cây thuốc vừa quý về giá trị sử dụng, giá trị nguồn gen do hiếm gặp hoặc đặc hữu; giá trị sử dụng cao nên thường xuyên bị tìm kiếm khai thác; một số loài khác hiếm gặp, hiện chưa bị khai thác nhưng lại có nguy cơ cao do số lượng cá thể ít.

Trong số 136 loài thuộc cây thuốc bị đe dọa kể trên, ngành Mộc lan có số loài lớn nhất với 122 loài; ngành Thông: 4 loài; ngàng Dương xỉ, Thông đất và Lá thông mỗi ngành chỉ có 1 loài.

Xét về tiêu chí phân loại, nhóm cực kỳ nguy cấp (CR) có 18 loài như sâm vũ diệp, tam thất hoang, hoàng liên, thanh mộc hương...; nhóm đang bị nguy cấp (EN) có 42 loài, như: hoang liên gai, hoàng tinh vòng, bát giác liên... và nhóm sắp bị nguy cấp (VU) có nhiều nhất với 76 loài.

Đây là danh sách các loài cây thuốc cần được bảo vệ đầy đủ nhất ở Việt Nam từ trước đến nay. Nó là cơ sở khoa học quan trọng để xác định các loài cần ưu tiên bảo tồn ở nước ta.

3.2. Về động vật làm thuốc

Công việc điều tra, thống kê về động vật làm thuốc lần đầu tiên được tiến hành trong khuôn khổ của đề tài KC.10.07. Viện Dược liệu phối hợp với các nhà động vật học của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (Viện Khoa học & Công nghệ Việt Nam) và Phân viện Hải dương học Hải Phòng đã tiến hành các đợt điều tra nhanh và hệ thống qua các tài liệu điều tra cơ bản trên toàn quốc.

Kết quả đã xây dựng được tập Danh lục động vật làm thuốc ở Việt Nam, với 408 loài, thuộc 22 lớp của 6 ngành động vật có xương sống và động vật không xương sống. Trong đó, từng loài được ghi đầy đủ các thông tin về tên khoa học, công dụng làm thuốc, phân bố, tình trạng bị đe dọa...

Đối với việc điều tra động vật làm thuốc cho các địa phương cụ thể, chỉ được tiến hành đầu tiên tại tỉnh Quảng Ngãi, qua điều tra đã ghi nhận được 20 loài động vật làm thuốc, thuộc 18 họ động vật.

Đến tỉnh Quảng Nam, việc điều tra động vật làm thuốc đã được thực hiện một cách đầy đủ hơn, qua đó đã xác định và thống kê được được 142 loài thuộc 97 họ động vật, thuộc 6 ngành động vật khác nhau.

Tỉnh Kon Tum : Đã thống kê và phát hiện được 124 loài, thuộc 107 chi và 87 họ động vật có công dụng làm thuốc.

3.3. Khoáng vật và khoáng chất làm thuốc

Là những khoáng vật và khoáng chất có sẵn trong tự nhiên hoặc nhân tạo có công dụng làm thuốc hoặc sử dụng dưới các hình thức khác nhau trong y học, với mục đích chữa bệnh.

Từ quá trình điều tra nghiên cứu và tổng hợp của các nhà địa chất học thuộc Liên đoàn Vật lý – Địa chất (Bộ Tài nguyên và Môi trường) phối hợp với đề tài KC.10.07 thực hiện, đã ghi nhận được 75 loại khoáng vật và khoáng chất được dùng trực tiếp hoặc gián tiếp để chữa bệnh. Trong đó:

- Khoáng vật (các nhân tố tự nhiên, sulfur, halogenua, oxyd, hydroxyd...): có 57 loại (nhóm oxyd và hydroxyd có nhiều nhất với 39 loại).
- Khoáng chất và khoáng vật hữu cơ (oxyd, carbonat, đất sét, carbon): có 18 loài (oxyd: 7 loại, carbonat: 6 loại; đất sét: 2 loại và carbon: 3 loại).

IV. KẾT LUẬN

- Đã tiến hành điều tra nghiên cứu về dược liệu tại một số địa phương trọng điểm, có nguồn cây thuốc phong phú. Cùng với việc tổng hợp các kết quả điều tra trước đây, đã thống kê được 3.948 loài cây thuốc (bao gồm cả nấm và tảo lớn làm thuốc). Trong đó, có 206 loài có giá trị sử dụng phổ biến, có khả năng khai thác ở Việt Nam và 136 loài là những đối tượng cần được quan tâm bảo vệ.
- Phối hợp với Phân viện Hải dương học Hải Phòng xác định được 52 loài tảo biển lớn làm thuốc, cùng với khu phân bố của chúng.
- Phối hợp với các nhà động vật học ở Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật và Phân viện Hải Dương học Hải Phòng đã xác định được 408 loài động vật làm thuốc (gồm động vật có xương sống và không xương sống).
- Phối hợp với các nhà địa chất học ở Liên đoàn Vật lý mặt đất xác định được danh mục 75 loại khoáng vật và khoáng chất làm thuốc hiện có ở Việt Nam.

V. ĐỀ NGHỊ

- Cần có kế hoạch điều tra ở các đảo lớn và một số tỉnh khác phải khảo sát lại để thực hiện yêu cầu khoanh vùng bảo vệ và khai thác lâu dài nguồn dược liệu Việt Nam.

- Chú trọng công tác điều tra phục vụ cho yêu cầu bảo tồn nguyên vị ở các Khu Bảo tồn thiên nhiên và các Vườn Quốc gia.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Averyanov L. et al, (2004), Lan hài Việt Nam, Royal Botanic Gardens Kew, Bird life Inter. in Indochina, Word Bank, 307p;
2. Đỗ Huy Bích, Bùi Xuân Chương, (1980), Sổ tay cây thuốc Việt Nam; NXB. Y học Hà Nội (lần thứ 2), 428 tr;
3. Võ Văn Chi, (1974), Cây thuốc trong hệ thực vật Bắc Việt Nam; Luận án PTS. Sinh học; Đại học Tổng hợp Hà Nội;
4. Võ Văn Chi, (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam; NXB. Y học Hà Nội, 1468 tr;
5. Võ Văn Chi, (1998), Từ điển Động vật và khoáng vật làm thuốc Việt Nam; NXB. Y học Hà Nội, 458 tr;
6. Lê Trần Đức, (1980),Lịch sử y-dược học dân tộc; NXB. Y học Hà Nội, 181 tr ;

7. Lê Trần Đức, (1995), Cây thuốc Việt Nam – Trồng, hái và sử dụng; NXB. Nông nghiệp Hà Nội, 827 tr ;

8. Hải Thượng Lãn Ông – Y tông tâm lĩnh, T. 1, 2, 3, 4 – Biên dịch của Viện Y học Dân tộc; NXB. Y học Hà Nội ;

9. Trịnh Mỹ Linh, (2004), 54 dân tộc ở Việt Nam ; Báo Thế giới, số 31 (146), tr. 16 ;

10. Phan Kế Lộc, (1998), *On the systematic structure of the Vietnam's Flora. In Proceeding of the First Symp. on Flor. charact. and Diversity of E.Asian Pl. Kunming China Higher Ed.* Press & Springer – Verlag, 1996: 120 – 129;

11. Đỗ Tất Lợi, (1969 & 1970), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, T.1 và T.2: 847 tr. NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội ;

12. Lã Đình Mỡi và những người khác., (2001), Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam ; NXB. Nông Nghiệp, T. 1 : 315 tr;

13. Võ Quý, (1995) *Conservation of Flora and Fauna & Endangered speciesin Vietnam.* Tropical Foest Ecosystem / BIOTROP species Publication 55: 139 – 146;

14. Nguyễn Nghĩa Thìn, (1997), Cẩm nang nghiên cứu đa dạng sinh học; NXB. Nông nghiệp; 223 tr;

15. Bộ Y tế, (1998), Đánh giá hiện trạng nguồn dược liệu Việt Nam. Báo cáo đề tài (Tài liệu lưu trữ Viện Dược liệu);

16. Bộ Y tế, (1973), Quy trình điều tra dược liệu – Tài liệu nội bộ (Lưu trữ Viện Dược liệu);

17. Bộ Y tế, (2003), Tài liệu Hội nghị Dược liệu toàn quốc lần thứ 1, tổ chức tại Hà Nội, tháng 3 – 2003 (Tài liệu lưu trữ Viện Dược liệu) ; 324 tr ;

18. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Bird life Inter. in Indochina et al., (2004), Thông tin về các khu Bảo tồn hiện có và đề xuất ở Việt Nam, T.I-Miền Bắc và T.II-Miền Nam;

19. Nhiều tác giả, (1996), Sách Đỏ Việt Nam, phần II – Thực vật; NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 484 tr;

20. Nhiều tác giả, (2002), Tên các loài thực vật rừng Việt Nam; NXB. Nông nghiệp, 330 tr;

21. Nhiều tác giả, (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam; NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội; T. I: 1138 tr.; T. II: 1255 tr;

22. Trung tâm nghiên cứu Tài nguyên và Môi trường - Đại học Quốc gia Hà Nội, (2002), Danh lục các loài thực vật Việt Nam; NXB. Nông nghiệp Hà Nội; T. I: 1181 tr;

23. Trung tâm nghiên cứu Tài nguyên và Môi trường - Đại học Quốc Gia Hà Nội và Viện Sinh thái & Tài nguyên sinh vật – Trung tâm Khoa học tự

nhiên và Côngnghệ Quốc gia, Hà Nội, (2003), Danh lục các loài thực vật Việt Nam; NXB. Nông nghiệp Hà Nội, 1203 tr;

24. Nguyễn Khanh Vân và những người khác, (2002), Biểu đồ sinh khí hậu Việt Nam ; NXB Đại học Quốc gia Hà Nội, 127tr;
25. Viện Dược liệu, (1971), Danh lục cây thuốc Miền Bắc Việt Nam; NXB. Y học và Thể dục thể thao, 76 tr;
26. Viện Dược liệu, (2003), Danh lục cây thuốc Việt Nam (Tài liệu nội bộ Viện Dược liệu);
27. Viện Dược liệu, (từ 1961-2004), Báo cáo kết quả điều tra ở các địa phương trong toàn quốc và Báo cáo kết quả nghiên cứu các đề tài (Tài liệu lưu trữ Viện Dược liệu);
28. Viện Đông Y, (1969), Thân thế và sự nghiệp của Hải Thượng Lãn Ông. NXB. Y học & Thể dục thể thao Hà Nội, 398 tr;
29. Viện Sinh thái & Tài nguyên sinh vật – Vườn Thực vật Mitxuri (Hoa Kỳ) / Dự án Bảo tồn thực vật Việt Nam. Báo cáo khoa học kết quả điều tra cây thuốc ở VQG. Ba Bể (2002), VQG. Bạch Mã (2003), VQG. Núi Chúa (2004). (Tài liệu lưu trữ Viện Dược liệu).

NGUỒN DƯỢC LIỆU TỈNH KON TUM, TIỀM NĂNG VÀ HIỆN TRẠNG

Nguyễn Tập, Phan Văn Đệ, Lê Thanh Sơn, Ngô Đức Phương, Tạ Ngọc Tuấn, Cù Hải Long,Hồ Đại Hưng - Viện Dược liệu

I. MỞ ĐẦU

Đề cập tới nguồn dược liệu tự nhiên, người ta thường nhắc đến cây thuốc, động vật và cả khoáng vật làm thuốc. Tuy nhiên, cây thuốc vẫn có vị trí quan trọng nhất về số lượng loài, cũng như khả năng cung cấp dồi dào cho sử dụng.

Nằm ở trung phần lãnh thổ Việt Nam, Kon Tum là tỉnh miền núi có nguồn tài nguyên động - thực vật phong phú và đa dạng, nhiều loài trong số này được dùng làm thuốc. Bên cạnh đó, cộng đồng các dân tộc ở tỉnh Kon Tum, từ lâu cũng đã có nhiều kinh nghiệm trong việc sử dụng các loại cây cỏ và con vật sẵn có để làm thuốc chữa bệnh và bồi bổ sức khoẻ.

Với mục đích khai thác được mọi tiềm năng này, phục vụ cho việc chăm sóc sức khoẻ toàn dân và phát triển kinh tế, ngay sau ngày giải phóng (1975), được sự chỉ đạo của Bộ Y tế, tỉnh Gia Lai – Kon Tum cũ đã sớm chú trọng tới công tác điều tra dược liệu để đưa vào khai thác sử dụng. Song, do khai thác liên tục, cùng với nhiều nguyên nhân tác động khác đã làm cho nguồn tài nguyên này có nhiều thay đổi. Đặc biệt, từ khi tái lập tỉnh Kon Tum đến nay, yêu cầu cần nắm vững đầy đủ về các nguồn tài nguyên, trong đó dược liệu là một nhiệm vụ cần thiết, phục vụ cho công tác quy hoạch, phát triển kinh tế quốc dân trong tỉnh. Trong khuôn khổ của đề tài "*Xây dựng bộ tài liệu về nguồn dược liệu tỉnh Kon Tum* (2003-2005), Sở Khoa học và Công nghệ Kon Tum đã giao cho Viện Dược liệu thực hiện, nhờ đó, các tư liệu về tiềm năng, hiện trạng nguồn tài nguyên dược liệu ở tỉnh Kon Tum đã được hoàn thiện đáng kể.

II. KHÁI QUÁT VỀ ĐIỀU KIỆN TỰ NHIÊN VÀ XÃ HỘI TỈNH KON TUM

2.1. Điều kiện tự nhiên

Trên lãnh thổ Việt Nam, tỉnh Kon Tum nằm ở phần phía bắc cao nguyên Miền Trung, thường gọi là Tây Nguyên. Có toạ độ địa lý $13^0$53' - $15^0$16' vĩ tuyến bắc và $107^0$20' – $108^0$33' kinh độ đông. Phía bắc và đông bắc giáp các tỉnh Quảng Nam và Quảng Ngãi, phía nam và đông nam giáp tỉnh Gia Lai và Bình Định; phía tây giáp Cộng hoà dân chủ nhân dân Lào và Vương quốc Campuchia. Tổng diện tích tự nhiên cả tỉnh là 9.662km^2, trên đó địa hình chủ yếu là đồi núi kiểu cao nguyên, ở vùng lòng chảo độ cao chỉ có vài trăm mét so với mặt biển. Tuy nhiên về phía tây và phía đông bắc nổi lên 2 khối núi cao là Chư Mom Ray (1.512m) và Ngọc Linh (2.598m). Dãy Ngọc Linh còn kéo dài theo hướng tây bắc - đông nam tạo nên một vành đai về phía đông bắc, với một số đỉnh núi khác như Ngọc Kring, Ngọc Tem có độ cao từ 1.300 đến 2.000m. Từ các vùng núi trùng điệp này đã tạo nên một hệ thống sông suối chằng chịt, trong đó đáng chú ý nhất là các sông Đắk Bla, Krông Pơ Kô, Pơ Kô và Sa Thầy... cung cấp nước tưới cho toàn tỉnh.

Khí hậu ở Kon Tum thuộc vành đai nhiệt đới gió mùa nóng và ẩm, với nhiệt độ trung bình hàng năm là 23,3^{0}C, lượng mưa trung bình hàng năm đạt 1.884mm, có nơi mưa nhiều tới 3.100 mm/năm. Độ ẩm không khí trung bình 78-87%. Thời tiết trong năm được chia thành 2 mùa rõ rệt, mùa mưa từ tháng 5 đến tháng 11; mùa khô từ tháng 12 đến tháng 4 năm sau. Về mùa khô, gần như liên tục tới 4-5 tháng không có mưa, ngược lại lượng mưa trong năm lại tập trung chính trong mùa mưa, nhất là tháng 8-10.

Do đặc điểm địa hình và khí hậu độc đáo như vậy, đã hình thành ở Kon Tum một thảm thực vật rừng phong phú và đa dạng. Đó là kiểu rừng mưa nhiệt đới thường xanh ở độ cao trên 800m; rừng xen tre nứa và rừng khô nửa rụng lá ở các đai thấp hơn. Tổng diện tích có rừng hiện nay ở Kon Tum chiếm tới 62,0% diện tích toàn tỉnh. Theo thống kê chưa đầy đủ, hiện đã biết ở Kon Tum có 1.610 loài thực vật bậc cao có mạch, trong đó có tới 460 loài cây gỗ, nổi bật lên một số loài cho gỗ quý như trắc, cẩm lai, giáng hương, gõ đỏ, kền kền... Về động vật, cũng đã biết 429 loài, các loài đặc biệt quý hiếm như hổ, bò tót, bò rừng, hươu, nai, gấu... đang được bảo vệ trong các Vườn Quốc gia như Chư Mom Ray, Khu Bảo tồn tự nhiên Ngọc Linh, Đăk Uy...

Đáng lưu ý rằng, trong số hàng ngàn loài động - thực vật đã biết kể trên, có hàng trăm loài có công dụng làm thuốc.

2.2. Đặc điểm kinh tế - xã hội

Toàn tỉnh Kon Tum có một thị xã và 8 huyện với tổng số 92 xã phường. Tổng dân số trong toàn tỉnh tính đến cuối năm 2004 có 366.720 người, bao gồm các dân tộc Kinh (chiếm hơn 46%), Sê Đăng (17,6%), Ba Na (6,0%), Rơ Ngao (4,78%) và một số dân tộc khác vốn có ở địa phương hoặc mới di cư đến (khoảng 21,8%).

Về kinh tế của tỉnh Kon Tum, hiện tại chủ yếu vẫn là nông - lâm nghiệp, kinh tế công nghiệp và dịch vụ cũng đã bắt đầu có những sự phát triển nhất định. Do sự phong phú về tiềm năng đất đai và khí hậu, Kon Tum có diện tích trồng cây công nghiệp như cao su, cà phê, hồ tiêu tương đối lớn. Bên cạnh đó, kinh tế nông nghiệp - nương rẫy vẫn là chỗ dựa chủ yếu của người nông dân, nhất là cộng đồng các dân tộc bản địa. Vì thế, nạn phá rừng để canh tác mặc dù đã giảm đi nhiều, nhưng vẫn còn là vấn đề nan giải, ở các vùng sâu vùng xa.

Bên cạnh những đặc điểm về kinh tế - xã hội kể trên, phải nói rằng, cộng đồng các dân tộc ở Kon Tum cũng có khá nhiều kinh nghiệm trong việc sử dụng những nguồn cây cỏ và động vật sẵn có trong rừng làm lương thực, thực phẩm cũng như làm thuốc để chữa bệnh. Nổi bật lên có vài cây thuốc quý như rơm con (sâm Ngọc Linh); tơ rơn (vàng đắng)... đã trở thành niềm tự hào của Kon Tum, đóng góp cho kho tàng dược liệu phong phú của nước nhà.

III. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng điều tra nghiên cứu là các loài cây thuốc (kể cả nấm lớn) và động vật làm thuốc đã biết hoặc mới sưu tầm được qua kinh nghiệm sử dụng của nhân dân địa phương. Trong đó, đặc biệt chú trọng tới hai nhóm đối tượng:

- Những cây thuốc đang được khai thác sử dụng phổ biến ở Việt Nam (bao gồm cả xuất khẩu), hiện có tại Kon Tum.

- Những cây thuốc và động vật làm thuốc thuộc diện quý hiếm bị đe doạ tuyệt chủng ở Việt Nam, cần quan tâm bảo vệ ở tỉnh Kon Tum.

3.2. Nội dung nghiên cứu

Như trong phần mở đầu đã đề cập, để xây dựng được bộ tài liệu về nguồn dược liệu ở tỉnh Kon Tum, trước hết phải tiến hành các đợt điều tra thu thập thông tin và tư liệu về:

- Các loài động - thực vật có công dụng làm thuốc để lập thành các tập Danh lục cây thuốc và động vật làm thuốc của tỉnh Kon Tum.

- Xác định các loài cây thuốc có khả năng tiếp tục khai thác trong tự nhiên ở tỉnh Kon Tum, dựa trên danh sách các loài cây thuốc và vị thuốc thiết yếu của Bộ Y tế hoặc đang được khai thác đưa ra thương mại hoá ở Việt Nam.

- Xác định danh sách các loài cây thuốc và động vật làm thuốc thuộc diện quý hiếm ở Việt Nam; hiện có ở tỉnh Kon Tum, phục vụ cho công tác bảo tồn.

3.3. Phương pháp điều tra nghiên cứu

- Áp dụng "*Quy trình điều tra dược liệu của Bộ Y tế*" (1973) [1], đã bổ sung sửa chữa (2000). Đó là phương pháp điều tra điểm đại diện theo đơn vị hành chính đương thời, trong đó tập trung khảo sát ở những nơi có rừng, thường phong phú về cây thuốc.

Riêng phần điều tra động vật làm thuốc, áp dụng phương pháp điều tra cổ điển của các nhà nghiên cứu động vật, trong đó chủ yếu là thu thập thông tin từ nhân dân và các cán bộ kiểm lâm, làm công tác bảo vệ rừng.

- Việc thu thập và làm tiên bản cây thuốc dựa theo phương pháp thu thập, làm tiên bản thực vật của vườn thực vật Mitxuri, Mỹ.

- Các loài cây thuốc và động vật làm thuốc được xác định về tên khoa học theo phương pháp phân loại hình thái cổ điển, với các bộ thực vật chí và động vật chí của Việt Nam và nước ngoài hiện có.

IV. KẾT QUẢ ĐIỀU TRA NGHIÊN CỨU

4.1. Tiềm năng nguồn cây thuốc và động vật làm thuốc ở tỉnh Kon Tum

4.1.1. Cây thuốc

a) Sự phong phú về thành phần loài

Tính từ năm 2002 đến 2005, đã có 8 huyện và thị xã ở tỉnh Kon Tum đã được điều tra phát hiện, thống kê về cây thuốc, cụ thể: Huyện Kon Plông,

huyện Đắk Tô và huyện Sa Thầy (năm 2002, thuộc đề tài KC.10-07); ngoại ô thị xã Kon Tum (năm 2003, thuộc đề tài cấp tỉnh do Sở Y tế chủ trì); Vườn Quốc gia Chư Mom Ray (Sa Thầy), huyện Ngọc Hồi, huyện Đắk Glei, huyện Đắk Hà và huyện Kon Rẫy (năm 2004 – 2005, thuộc đề tài cấp tỉnh – *Xây dựng bộ tài liệu về nguồn dược liệu tỉnh Kon Tum*).

Tổng hợp danh lục cây thuốc của tất cả các điểm đã thu thập kể trên cho thấy, đã ghi nhận được ở tỉnh Kon Tum tổng số ***853 loài thực vật bậc cao có mạch và nấm lớn có công dụng làm thuốc, thuộc 549 chi, 191 họ của 6 ngành.*** Cụ thể ở bảng sau:

***Bảng 1.* Số loài thực vật và nấm làm thuốc ở tỉnh Kon Tum**

TT	Ngành	Số họ	Số chi	Số loài
1	Nấm (Mycota)	5	5	5
2	Thông đất (Lycopodiophyta)	2	3	4
3	Cỏ tháp bút (Equisetophyta)	1	1	1
4	Dương xỉ (Polypodiophyta)	16	20	28
5	Thông/hạt trần (Pinophyta/Gymnospermae)	5	8	10
6	Mộc lan/hạt kín (Magnoliophyta/Angiospermae)	162	152	805
	Lớp mộc lan/hai lá mầm (Magnoliophyta/Dicotyledons)	127	417	655
	Lớp hành/một lá mầm (Lyliopsida/Monocotyledons)	35	95	150
	Tổng cộng	**191**	**549**	**853**

Nhận xét và phân tích

* Với 853 loài cây thuốc và nấm làm thuốc, thuộc 549 chi, 191 họ của 6 ngành thực vật khác nhau kể trên, cho phép khẳng định tỉnh Kon Tum là tỉnh có nguồn cây thuốc phong phú vào bậc nhất ở nước ta (tương đương với Lào Cai, Lai Châu). So với con số 926 loài cây thuốc đã thống kê năm 1980 thì có vẻ ít hơn, nhưng đó lại là kết quả điều tra bao gồm cả hai tỉnh Gia Lai-Kon Tum cũ.

* Sự phong phú này còn thể hiện ở chỗ, gần như tất cả các ngành thực vật hiện có ở Kon Tum đều có các đại diện (các loài) sử dụng làm thuốc. Trong đó, phong phú nhất là ở ngành Mộc lan, có 655 loài thuộc 417 chi, 127 họ nằm trong lớp Hai lá mầm. Còn ở lớp Một lá mầm chỉ có 150 loài, thuộc 95 chi, 35 họ. Sau ngành Mộc lan đến ngành Dương xỉ có 28 loài, ngành Thông (Khoả tử) có 10 loài, Nấm có 5 loài, Thông đất có 4 loài và Cỏ tháp bút chỉ có 1 loài.

Về nấm mọc hoang dại làm thuốc ở Kon Tum, đáng chú ý nhất là loài nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) đã phá hiện thấy dưới tán rừng tự nhiên ở Chư Mon Ray, Ngọc Linh và thậm chí cả ở rừng xen tre nứa ở xã Tân Lập - huyện Kom Rẫy. Trên thị trường Miền Bắc, nấm linh chi mọc hoang dại có giá bán gấp ba lần nấm nuôi cấy nhân tạo.

* Phân tích về số loài cây thuốc đã biết trong các họ thực vật và nấm cho thấy, có hai họ thực vật Hạt kín và Hạt trần đã phát hiện được từ 10-67 loài cây làm thuốc. Lần lượt như sau:

***Bảng 2.* Các họ thực vật có nhiều loài cây thuốc ở tỉnh Kon Tum**

TT	Họ thực vật	Số loài cây thuốc	TT	Họ thực vật	Số loài cây thuốc
1	Đậu – Fabaceae	67	4	Cà phê - Rubiaceae	29
2	Thầu dầu - Euphorbiaceae	54	5	Lúa - Poaceae	24
3	Cúc - Asteraceae	30	6	Dâu tằm – Moraceae	19
7	Ráy – Araceae	17	15	Gừng – Zingiberaceae	12
8	Hoa môi – Lamiaceae	17	16	Ô rô - Acanthaceae	11
9	Trúc đào – Apocynaceae	17	17	Bông – Malvaceae	11
10	Cà – Solanaceae	17	18	Đơn nem – Myrsinaceae	11
11	Ngũ gia bì - Araliaceae	16	19	Cam – Rutaceae	11
12	Bầu bí – Cucurbitaceae	16	20	Tiết dê - Menispermaceae	10
13	Long não – Lauraceae	12	21	Hoa mõm chó – Scrophulariaceae	10
14	Rau giền- Amaranthaceae	12			

Ngoài ra, có 111 họ đã phát hiện được từ 2-9 loài làm thuốc; còn 59 họ mới chỉ ghi nhận được mỗi họ 1 loài làm thuốc. Nhìn chung, họ nào có nhiều cây thuốc thì đều được coi là "họ cây thuốc quan trọng", tuy nhiên, một số họ mới biết ít loài hoặc thậm chí chỉ có 1 loài – nhưng lại là những cây thuốc quý. Ví dụ: Họ Bách bộ (Stemonaceae) mới phát hiện được 1 loài bách bộ (*Stemona tuberosa*), nhưng lại là cây thuốc có trữ lượng khá, đang được thị trường quan tâm. Hoặc một số họ khác cũng chỉ có một loài, nhưng đó lại là những loài cây thuốc quý hiếm, nằm trong diện bảo tồn ở Việt Nam, như: họ Trọng lâu (Trilliaceae) có loài bảy lá một hoa (*Paris chinensis*); họ Bách hợp (Liliaceae) có loài bách hợp (*Lilium brownii* var. *viridulum*); họ Nữ lang (Valerianaceae) có loài nữ lang (*Valeriana hardwicki*); họ Tai đất (Orobanchaceae) có loài lệ dương (*Aeginetia indica*)...v.v.

Những cây thuốc này thậm chí được coi là mới phát hiện đối với Kon Tum. Bởi vì, chúng nằm trong danh sách (khoảng 50 loài) không có tên trong danh lục 926 cây thuốc tỉnh Gia Lai – Kon Tum, đã điều tra từ 1978- 1980 [9].

* Phân tích về cây thuốc mọc tự nhiên và cây thuốc trồng trong tổng số 853 loài đã phát hiện cho thấy:

- Có 636 loài là những cây thuốc mọc tự nhiên, trong đó có 5 cây thuốc mọc tự nhiên nhưng cũng được trồng, đó là: thanh táo (*Justicia ventricosa*), dây bông xanh (*Thunbergia grandiflora*), sấu (*Dracontomelum duperreanum*), sữa (*Alstonia scholaris*), mạch môn đông (*Ophiopogon japonicus*). Đáng lưu ý ở đây là tất cả các cây thuốc có trữ lượng lớn, với giá trị sử dụng và kinh tế cao cũng đều là cây thuốc mọc tự nhiên, như sâm Ngọc Linh, đảng sâm, vàng đắng, sa nhân, thiên niên kiện, thổ phục linh v.v...

- Trong số 853 loài cây thuốc đã phát hiện ở Kon Tum, về cây thuốc trồng hay các loại cây trồng khác có công dụng làm thuốc có tất cả là 217 loài. Trong đó, phần lớn là những cây rau, cây ăn quả, cây cảnh... có bộ phận được dùng làm thuốc. Cây trồng với mục đích làm thuốc, mới chỉ thấy ở các vườn thuốc nam của Trạm Y tế xã hoặc ở trường Trung học y tế tỉnh. Duy nhất chỉ có một loài cây thuốc trồng mang tính chất sản xuất hàng hoá, đó là ý dĩ, đang được trồng khoảng vài hecta, tại xã Tê Xăng, huyện Tu Mơ Rông (Đắk Tô cũ).

* Một số cây thuốc mới phát hiện ở Kon Tum, bổ sung cho Danh lục cây thuốc Việt Nam.

Trong quá trình tiếp cận với đồng bào dân tộc để sưu tầm các cây thuốc và bài thuốc kinh nghiệm, ngoài những bổ sung mới về công dụng cho các cây thuốc trong danh lục cây thuốc Việt Nam, cũng như việc bổ sung thêm khoảng 50 cây thuốc so với Danh lục cây thuốc của tỉnh Gia Lai – Kon Tum trước kia, chúng tôi đã xác định được 3 loài cây thuốc hoàn toàn mới - bổ sung cho Danh lục cây thuốc Việt Nam, đó là:

- Prac (*Curcuma pierreana* Gagnep), họ Zingiberaceae: Dùng củ tươi giã nát, ngâm rượu làm thuốc xoa bóp chống đau nhức xương khớp. Hoặc củ thái lát phơi khô sắc uống cũng có công dụng tương tự. Cụm hoa (chưa nở) còn làm rau ăn.

- Tà liền chuông (*Stalianthus campanulatus* Kuntze), họ Zingiberaceae: Củ khô ngâm rượu, hoặc tán bột nấu với chân giò lợn, dùng cho phụ nữ sau khi sinh sẽ mau khoẻ và có tác dụng bổ máu.

- Gừng lúa (*Zingiber gramineum* Blume), họ Zngberaceae: Củ tươi giã nhỏ, ngâm rượu xoa bóp chữa đau nhức xương hoặc đi xa về mỏi (chân). Củ thái lát,

phơi khô sắc uống có tác dụng trợ giúp tiêu hoá và chống nôn trong trường hợp bị ngộ độc thức ăn.

b) Khả năng khai thác hiện tại

Qua điều tra nghiên cứu ở các huyện lần này, đã xác định ở Kon Tum có 55 loài nằm trong danh sách 206 loài - là những cây thuốc mọc tự nhiên (không kể những loài thuộc diện bảo tồn) có khả năng tiếp tục khai thác, phục vụ cho nhu cầu chăm sóc sức khoẻ cho cộng đồng, cũng như thương mại hoá. 55 loài cây thuốc này được tổng hợp và biên soạn dưới dạng danh lục "*Những cây thuốc có giá trị sử dụng phổ biến mọc tự nhiên có khả năng khai thác ở tỉnh Kon Tum*". Trong đó, từng loài được xếp theo vần ABC, với các thông tin chủ yếu như: Tên Việt Nam thông dụng; tên khoa học, họ thực vật; nơi phân bố tập trung; trữ lượng (ước tính) có khả năng khai thác.

Trong số những cây thuốc thuộc nhóm đối tượng này, đáng chú ý có các loài: Bách bộ (*Stemona tuberosa*) ~ 10 – 20 tấn; Cẩu tích (*Cibotium barometz*) ~ 300 tấn; Chè dây (*Ampelopsis cantoniensis*) > 20 tấn; Chua chát (*Malus doumeri*) < 5 tấn; Củ mài núi (*Dioscorea japonica & D. persimilis*) ~ 100 tấn; Nga truật (*Curcuma zedoaria*) > 100 tấn v.v...

c) Những loài cây thuốc quý hiếm, thuộc diện cần phải bảo vệ ở tỉnh Kon Tum

Hầu hết các loài cây thuốc có giá trị sử dụng và kinh tế cao mất dần khả năng khai thác lớn. Ví dụ: Vàng đắng, đảng sâm và sa nhân, trước kia, ở Kon Tum là một trong những nơi có trữ lượng của các loại dược liệu này rất lớn (so với cả nước). Nhưng trong những năm gần đây, do nhiều nguyên nhân khác nhau, nguồn dược liệu của những loài trên đã giảm sút nhanh chóng, thậm chí không còn khả năng khai thác ngay được.

Qua kết quả điều tra nghiên cứu, đã xác định ở tỉnh Kon Tum hiện nay đã có ***35 loài cây thuốc thuộc 27 họ thực vật*** thuộc diện quý hiếm có nguy cơ tuyệt chủng cần được bảo vệ (nằm trong Sách Đỏ Việt Nam, Danh lục Đỏ cây thuốc Việt Nam ; Nghị định 48/2002/NĐ-CP của Thủ tướng Chính phủ). Đáng chú ý ở đây là, trong số 35 loài cây thuốc thuộc diện trên, có 4 loài (bách hợp, hoàng tinh vòng, ngũ gia bì gai, ngân đằng) lần đầu tiên ghi nhận được sự hiện diện của chúng ở phía nam tổ quốc. Có 20 loài trong số 35 loài trên là những cây thuốc chưa hề có trong Danh lục cây thuốc tỉnh Gia Lai – Kon Tum trước kia (962 loài, năm 1980), như hoàng đàn giả, hồi nước, ngũ vị tử, kim giao núi đất, thông lông gà, thổ mộc hương, dương đầu, từ mỏng,...

4.1.2. Động vật làm thuốc

a) Số loài động vật có công dụng làm thuốc đã biết

Cách điều tra về động vật làm thuốc là thu thập thông tin từ nhân dân ở các địa phương, cũng như các cán bộ kiểm lâm ở các Vườn Quốc gia và Khu Bảo tồn thiên nhiên. Đồng thời đối chiếu với danh mục 408 loài động vật làm thuốc đã biết ở Việt Nam, bước đầu đã thống kê được ở tỉnh Kon Tum có ***124 loài động vật có công dụng làm thuốc, thuộc 107 chi, 87 họ, 4 phân bộ, 49 bộ, 3 phân ngành và 4 ngành***. Cụ thể:

- Thuộc ngành Động vật có dây sống, có ***88 loài thuộc 71 chi; 53 họ*** khác nhau. Đây là ngành động vật có giá trị kinh tế cao nhất trong giới động vật, đồng thời cũng có số loài làm thuốc nhiều nhất. Trong số những loài cho dược liệu quý đã ghi nhận có ở Kon Tum, đặc biệt phải kể đến như: hổ, tê tê, khỉ, vượn, hươu – nai, các loài rắn, kỳ đà, cá sấu, ba ba, rùa....

- Thuộc nhóm các động vật không có xương sống ở Kon Tum đã ghi nhận được tổng số ***36 loài, thuộc 36 chi, 34 họ của 3 ngành*** là: Ngành Giun đất (Annelida) có 2 loài thuộc 2 chi và 2 họ, ngành Thân mềm (Mollusca) có 4 loài thuộc 4 chi, 4 họ và ngành Chân khớp (Arthopoda) có 30 loài thuộc 30 chi, 28 họ. Trong nhóm này có một số loài dược liệu quý như: bọ cạp, ve sầu và ong mật

Với 124 loài đã ghi nhận được kể trên, trước hết có thể khẳng định, tỉnh Kon Tum là một trong số ít các tỉnh miền núi hiện có nhiều loài động vật làm thuốc. Trong đó, có gần như đầy đủ các loài động vật làm thuốc quý hiếm sống trên cạn, như: Hổ, hươu, nai, khỉ, gấu, voi, các loài rắn, rùa...

Động vật hoang dã ở Kon Tum (cũng như ở Việt Nam) đã bị săn bắn đến mức kiệt quệ. Hầu hết các loài có giá trị làm thuốc và kinh tế cao đã và đang đứng trước nguy cơ bị tuyệt chủng rất cao. Mặt khác tất cả các loài này cũng đều nằm trong danh mục cấm của Nghị định 48/2002/NĐ - CP của Chính phủ và danh mục CITES Việt Nam đã tham gia ký kết.

b) Những loài động vật làm thuốc quý hiếm, thuộc diện cần phải bảo vệ ở Kon Tum

Căn cứ vào kết quả điều tra thu thập và đối chiếu với Sách Đỏ Việt Nam (tập 1 - phần động vật, 1993), danh mục trong Nghị định 48/2002/NĐ-CP của Thủ tướng Chính phủ; Danh lục Đỏ IUCN và Danh lục Đỏ CITES đã thống kê được ở Kon Tum đã có ***38 loài thuộc 28 họ là những động vật làm thuốc cần được bảo vệ***. Trong đó, thuộc ***lớp Thú có 19 loài, lớp Chim có 2 loài, lớp Bò sát- lưỡng cư có 14 loài và lớp Cá có 3 loài.***

Trong số 38 loài trong Danh lục Đỏ động vật làm thuốc tỉnh Kon Tum, xét về tình trạng bị đe doạ cho thấy: có ***28 loài có tên trong Sách Đỏ Việt Nam*** (tập 1, 1993): bao gồm thuộc cấp đang bị nguy cấp (E): 7 loài; hiếm - dễ bị rủi ro: 4 loài; sắp bị nguy cấp (V): 11 loài; bị đe doạ: 6 loài.

Nằm trong các danh sách của ***Nghị định 48/2002/NĐ- CP của Chính phủ*** có tên loài trong đó 18 loài thuộc nhóm IV- bị nghiêm cấm săn bắt sử dụng, IIB: 10 loài hạn chế săn bắt sử dụng.

Nếu xét trên phạm vi toàn thế giới, trong số 38 loài động vật quý hiếm ở Kon Tum có ***17 loài trong Danh lục Đỏ IUCN*** (thuộc cấp EN: 6 loài, VU: 6 loài, LR/NT 4 loài, Dd 1 loài, hoặc trong danh mục của ***Công ước quốc tế các loài động thực vật hoang dã đang bị nguy hiểm (CITES)***– riêng về động vật có 6 loài.

4.2. Kết luận

- Nguồn cây thuốc và động vật làm thuốc và động vật làm thuốc của tỉnh Kon Tum khá phong phú về thành phần loài và có tiềm năng lớn về trữ lượng.
- Đã sưu tầm và thống kê được ở Kon Tum có 853 loài cây thuốc (kể cả 5 loài nấm) thuộc 549 chi, 191 họ của 6 ngành thực vật khác nhau và 124 loài động vật có công dụng làm thuốc thuộc 7 chi, 87 họ của 4 ngành động vật có xương sống cũng như không có xương sống.
- Trong số 853 loài cây thuốc ghi nhận được ở Kon Tum lần này đã phát hiện 3 loài mới bổ sung cho Danh lục cây thuốc Việt Nam (Tà liền chuông – *Stalianthus campanutatus*; Prác – *Curcuma pierreana*; Gừng lúa - *Zingiber gramineum*). Ngoài ra, còn có tới trên 50 loài cây thuốc được coi là mới đối với tỉnh Kon Tum (chưa ghi nhận được trong đợt điều tra 1978 – 1980).
- Qua quá trình điều tra, đã chỉ ra được ở Kon Tum hiện nay có 55 loài cây thuốc mọc tự nhiên, có tiềm năng giới thiệu cho khai thác được ngay. Những cây thuốc này nằm trong Danh mục Cây thuốc và vị thuốc thiết yếu của Bộ Y tế, đang có nhu cầu sử dụng trong nước cũng như xuất khẩu.
- Đối chiếu với Danh sách các loài cần bảo tồn ở Việt Nam, đã đưa ra danh sách gồm 35 loài cây thuốc và 38 loài động vật làm thuốc ở Kon Tum thuộc diện quý hiếm, có nguy cơ bị tuyệt chủng ở Việt Nam (nằm trong Sách Đỏ Việt Nam, Danh lục Đỏ cây thuốc Việt Nam, CITES, IUCN).

V. ĐỀ NGHỊ

Từ những kết quả điều tra thu được, chúng tôi đã tạo ra được nhiều sản phẩm thiết thực để tuyên truyền nhằm phục vụ cho yêu cầu khai thác hợp lý đi đôi với phát triển nguồn tài nguyên dược liệu ở tỉnh Kon Tum, như: Danh lục cây thuốc tỉnh Kon Tum, Danh lục động vật làm thuốc tỉnh Kon Tum, Danh lục cây thuốc có khả năng tiếp tục khai thác ở tỉnh Kon Tum, Danh lục Đỏ cây thuốc Kon Tum, Danh lục Đỏ động vật làm thuốc tỉnh Kon Tum, Bộ tài liệu về nguồn dược liệu tỉnh Kon Tum, Bản đồ dược liệu tỉnh Kon Tum. Vì vậy, chúng tôi xin đề xuất một số vấn đề cụ thể sau đây:

1. Sớm có kế hoạch xuất bản chọn lọc các tài liệu kể trên, đặc biệt là Bộ tài liệu về nguồn dược liệu tỉnh Kon Tum (khoảng 800 trang).
2. Phối hợp với một cơ quan nghiên cứu nào đó (về dược học), nghiên cứu nhanh để đưa cây chè dây ở địa phương vào khai thác sử dụng. Cụ thể đó là xác định phân bố, trữ lượng, xác định hàm lượng flavonoid, quy trình chiết xuất, bào chế ... Chuyển giao toàn bộ kết quả nghiên cứu này cho công ty Dược tỉnh Kon Tum để tiến hành sản xuất loại thuốc này ngay tại địa phương.
3. Xúc tiến điều tra thu thập, nghiên cứu bảo tồn những cây thuốc quý hiếm có nguy cơ bị tuyệt chủng ở tại Kon Tum. Cụ thể: xác định chính xác hơn về hiện trạng; thu thập các loài này, xây dựng 1 vườn Bảo tồn chuyển vị cây thuốc (kết hợp ở điểm trồng Sâm – tại Tu Mơ Rông). Nghiên cứu đề xuất đưa 1 – 2 loài nào đó có ý nghĩa kinh tế cao vào phát triển trồng tại chỗ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích và Bùi Xuân Chương, (1973), Sổ tay cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học.
2. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường, (1966), Sách Đỏ Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, Phần thực vật.
3. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường,(1993), Sách Đỏ Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Phần động vật.
4. Võ Văn Chi, (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học Hà Nội.
5. Phạm Hoàng Hộ, (2000), Cây cỏ Việt Nam, NXB. Trẻ, quyển I, II và III.
6. Nguyễn Tập, (2004), Danh lục Đỏ cây thuốc Việt Nam, Viện Dược liệu (tài liệu nội bộ).
7. Nguyễn Tập và nhiều người khác, (2004), Kết quả điều tra cây thuốc ở Việt Nam. Báo cáo đề tài cấp Nhà nước KC.10.07 (2001 - 2004) (Tài liệu lưu trữ nội bộ).

8. Viện Dược liệu, (2003), Cây thuốc và động vật làm thuốc, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, tập 1 và 2.
9. Viện Dược liệu (1961 - 2004), Kết quả điều tra dược liệu ở Việt Nam (Tài liệu lưu trữ nội bộ).
10. IUCN (2003), Guidelines for application of IUCN Red List criteria at Region Levals: Version 3.0.IUCN species survival commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, U.K.

BẢO TỒN NGUỒN GEN CÂY THUỐC

Nguyễn Bá Hoạt và cs. - Viện Dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam có nguồn tài nguyên động thực vật vô cùng phong phú và đa dạng. Theo Phạm Hoàng Hộ và Nguyễn Nghĩa Thìn, thực vật bậc cao có mạch đã thống kê được là 10.500 loài, dự đoán khoảng 12.000 loài. Số loài cây thuốc đã thống kê được ở Việt Nam là 3948 loài thuộc 307 họ thực vật, chiếm 37,6% số loài trong tự nhiên. Do khai thác quá mức và diện tích rừng bị thu hẹp nên nhiều loài cây thuốc bị đe doạ mất giống. Công tác bảo tồn nguồn gen cây thuốc đã được chú trọng và triển khai thực hiên trong nhiều năm qua. Viện Dược liệu được Bộ Khoa học và Công nghệ, Bộ Y tế giao là cơ quan đầu mối tổ chức thực hiện nhiệm vụ thường xuyên này.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Theo quy chế của Bộ Khoa học và Công nghệ, đối tượng bảo tồn nguồn gen sinh vật (Động thực vật và vi sinh vật) thuộc 4 nhóm sau:

1. Nguồn gen quý hiếm, có nguy cơ hoặc bị đe doạ mất giống.
2. Nguồn gen đã được nghiên cứu, đánh giá xác minh giá trị cho khoa học và đời sống
3. Nguồn gen phục vụ cho nghiên cứu khoa học, chọn tạo giống, giảng dạy và đào tạo.

4. Nguồn gen nhập nội đã được thuần hoá thích ứng với khí hậu, đất đai ở Việt Nam.

2.2. Phương pháp sử dụng trong bảo tồn nguồn gen cây thuốc

1. Bảo tồn nguyên vị (In situ conservation) là hình thức bảo tồn nguyên vẹn quần thể ngay trong hệ sinh thái cây thuốc đang sinh sống.
2. Bảo tồn chuyển vị (Ex situ conservation) là phương thức chuyển các nguồn gen trong các vùng phân bố tự nhiên về trồng lưu giữ trong các vườn thực vật có sinh thái và đất đai phù hợp.Lưu giữ các loại hạt giống trong kho lạnh hình thành ngân hàng hạt
3. Bảo tồn *in vitro* (In vitro conservation) là phương thức bảo quản nguồn gen thực vật (vật liệu di truyền) của loài trong môi trường sinh lý và môi trường khí hậu đặc biệt.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Hiện trạng bảo tồn nguồn gen cây thuốc trong các đơn vị thành viên

Số loài cây thuốc đã được lưu giữ trong hệ thống bảo tồn nguồn gen là 700 loài. Trong đó, 500 loài đã được xếp vào 4 nhóm ưu tiên bảo tồn theo quy chế. 300 loài được bảo tồn đánh giá lập lý lịch giống và 200 loài bảo tồn an toàn sẽ được đánh giá lập lý lịch giống giai đoạn 2.

Kết quả thực hiện tại các đơn vị:

1. Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội

- Lưu giữ 325 loài cây thuốc trên diện tích 2 khu bảo tồn 12.000 m^2 và 2.000 m^2 tại trung tâm. 175 loài cây thuốc trên diện tích 3.000 m^2 tại Trạm Cây thuốc Tam Đảo.
- Bảo tồn đánh giá 89 loài cây thuốc tại trung tâm và 47 loài tại Trạm Cây thuốc Tam Đảo.52 loài đã hoàn tất công tác đánh giá lập lý lịch giống. Số còn lại đang đánh giá 1 năm và 2 năm.
- Bảo tồn an toàn 83 loài tại trung tâm, 44 loài tại Tam Đảo (Mỗi loài hàng năm giữ 9 m^2, cây lâu năm 10 cá thể)
- Bảo tồn 4 loài nấm bản địa làm thuốc: 2 loài linh chi đa niên, một loài vân chi, một loài linh chi. Nấm linh chi đã nhân giống và sản xuất giống phục vụ nhu cầu sản xuất dược liệu tại Hà Tây và Thanh Hoá.
- Bảo tồn *in vitro* 7 loài cây thuốc, trong đó đinh lăng, náng hoa trắng, lô hội, ba kích đã và đang nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* phục vụ bảo tồn phát triển.

- Bảo tồn trên diện tích đủ lớn gắn với chon lọc giống 5 loài cây thuốc phục vụ mục tiêu bảo tồn phát triển là nhân trần, bồ bồ, diệp hạ châu đắng, xuyên tâm liên và kim tiền thảo. Diện tích bảo tồn 200m^2/loài.
- Xây dựng hệ thống tư liệu nguồn gen và quản lý tư liệu trên phần mềm chuyên dụng.

2. Trung tâm nghiên cứu Dược liệu Bắc Trung Bộ

- Lưu giữ 218 loài cây thuốc trên diện tích 2500 m^2 tại trung tâm.
- Bảo tồn đánh giá 39 loài, 16 loài đã hoàn tất công tác đánh giá lập lý lịch giống, số còn lại đang đánh giá 1 năm và 2 năm.
- Bảo tồn an toàn 86 loài cây thuốc theo quy định về số lượng cá thể/diện tích bảo tồn.
- Bảo tồn on farm trong hộ nông dân 3 loài cây thuốc sâm Báo, sâm Bố Chính và ba kích. Bảo tồn an toàn gắn với phát triển sử dụng.
- Bảo tồn phát triển 4 loài có nhu cầu sản xuất là lô hội, nha đảm tử, khởi tử và sa nhân tím. Diện tích bảo tồn 200 m^2/loài phục vụ chọn lọc và nhân giống ưu tú.
- Xây dựng hệ thống tư liệu nguồn gen, bước đầu quản lý tư liệu trên máy vi tính.

3. Trạm nghiên cứu trồng cây thuốc Sa Pa

- Lưu giữ 307 loài cây thuốc trên diện tích 3.500 m^2 tại trạm.
- Bảo tồn đánh giá 60 loài cây thuốc(24 loài quý hiếm), 35 loài đã hoàn tất đánh giá lập lý lịch giống, số còn lại đã đánh giá 1 năm và 2 năm.
- Bảo tồn an toàn 34 loài cây thuốc vùng cao mới thu thập(14 loài quý hiếm)/
- Bảo tồn on farm 3 loài sâm quý hiếm là sâm Ngọc Linh, sâm vũ diệp và tam thất hoang. Diện tích bảo tồn 50 m^2/loài.
- Bảo tồn phát triển 4 loài cây thuốc nhập nội phục vụ nhu cầu chọn giống cho phát triển sản xuất là độc hoạt Trung Quốc, độc hoạt Nhật, đương quy Nhật và đảng sâm Trung Quốc. Diện tích bảo tồn 200 m^2/loài.
- Xây dựng hệ thống tư liệu nguồn gen theo hồ sơ sổ sách, mới bắt đầu tiếp cận công tác tư liệu hoá trên máy vi tính.

4. Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

- Lưu giữ và đánh giá ban đầu 108 loài cây thuốc đang lưu giữ tại vườn đơn vị.
- Bảo tồn trọng tâm 26 loài, đã hoàn thiện công tác đánh giá và lập lý lịch giống cho 25 loài, một loài đánh giá năm thứ 2.

- Bảo tồn an toàn 17 loài đảm bảo diện tích lưu giữ 9 m^2/loài.
- Thu hạt giống 10 loài bảo tồn trong vườn phục vụ nhu cầu đánh giá giống và bảo tồn hạt.

5. Trung tâm nghiên cứu Cây thuốc Đà Lạt

- Lưu giữ 220 loài cây thuốc tại trung tâm.
- Bảo tồn trọng tâm, đánh giá đặc tính nông sinh hoc, xây dựng lý lịch giống cho 17 loài.
- Bảo tồn an toàn 90 loài cây thuốc, đảm bảo diện tích lưu giữ, đã và đang nâng dần số cá thể theo yêu cầu bảo tồn.
- Thu thập bảo tồn và nhân giống 20 loài cây thuốc kinh tế, trong đó 10 loài có triển vọng phát triển.
- Công tác tư liệu hoá đã hoàn tất phiếu đánh giá ban đầu 192 loài, phiếu đánh giá chi tiết 17 loài bảo tồn trọng tâm. Thực hiện quản lý tư liệu trên máy vi tính.

6. Sở Y tế Quảng Nam

- Bảo tồn sâm Ngọc Linh trên diện tích 2200 m^2, củng cố hàng rào bảo vệ.
- Thu hạt sâm gieo ươm hàng năm (năm 2005 thu 3500 hạt gieo ươm trên diện tích khoảng 100 m^2). Theo dõi sinh trưởng phát triển, lập lý lịch giống.
- Trồng bổ sung hàng năm mở rộng vườn giống gốc. Kiểm kê cây sâm trên đồng ruộng, lập sơ đồ quản lý cây giống tuyển chọn.
- Xây dựng vườn bảo tồn nữ lang, làm dàn leo cho vườn bảo tồn ngũ vị tử. Đánh giá sinh trưởng, ra hoa đậu quả của ngũ vị tử. Xây dựng lý lịch giống.

7. Đại học Dược Hà Nội

- Xây dựng mô hình bảo tồn in situ 12 loài cây thuốc quý hiếm tại Vườn Quốc gia Ba Vì. Xây dựng 10 ô tiêu chuẩn tại thực địa theo dõi đánh giá.
- Theo dõi các chỉ tiêu sinh học của 12 loài nghiên cứu, xây dựng bộ dữ liệu sinh thái của 12 loài, xây dựng hệ thống giám sát và đánh giá trong bảo tồn in situ.
- Hoàn thiện cơ sở dữ liệu máy tính hoá về 12 loài cây thuốc nghiên cứu, tài liệu phân tích tình trạng bảo tồn in situ cây thuốc.

8. Khoa Tài nguyên dược liệu

- Bảo tồn an toàn 28 loài cây thuốc quý hiếm, nhân giống nâng số cá thể bảo tồn trên 10 cá thể/loài.
- Đánh giá hoàn thiên tư liệu 16 loài bảo tồn trọng tâm, lập lý lịch giống , xây dựng bộ tư liệu các loài bảo tồn tại Phó Bảng Hà Giang.

- Hàng năm thu thập các loài cây thuốc quý hiếm (vùng cao Fansipan Ngũ Chỉ Sơn), bảo tồn tại trạm cây thuốc Sa Pa - Lào Cai và trạm Phó Bảng - Hà Giang

9. Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

- Lưu giữ 170 loài cây thuốc trong vườn trạm.
- Bảo tồn trọng tâm 14 loài, đánh giá đặc tính nông sinh học và hoàn thiện lý lịch giống.
- Cùng với Vườn Quốc gia Cát Tiên xây dựng vườn bảo tồn tại chỗ 67 loài cây thuốc.
- Xây dựng hồ sơ quản lý tư liệu nguồn gen trên máy vi tính.

Như vậy số loài bảo tồn đánh giá tại các đơn vị = 320 loài

+ Trung tâm Hà Nội = 89 loài
+ Tam Đảo = 47 loài
+ Thanh Hoá = 39 loài
+ Trung tâm Sâm = 14 loài
+ Đại học Dược = 12 loài
+ Viện Sinh thái = 26 loài
+ Đà Lạt = 17 loài
+ Quảng Nam = 3 loài
+ Khoa Tài nguyên = 28 loài

- Số loài bảo tồn an toàn (chưa đánh giá) = 200 loài
- Số loài bảo tồn phát triển = 15 loài :

+ Trung tâm Hà Nội = 5 loài
+ Trung tâm Bắc Trung Bộ = 5 loài
+ Trạm Cây thuốc Sa Pa = 4 loài
+ Trạm cây thuốc Trà Linh Quảng Nam = 1 loài

- Số loài bảo tồn on farm = 6 loài
  + Trung tâm Bắc Trung Bộ = 3 loài
  + Trạm SaPa = 3 loài
- Số loài bảo tồn *in vitro* = 7 loài
- Số loài bảo tồn in situ = 12 loài

Công tác tư liệu hoá của toàn hệ thống đã và đang được chú trọng củng cố. Năm 2005, đã tổ chức lớp tập huấn về tư liệu hoá nguồn gen cây thuốc trên nền tảng hệ thống lập và quản lý tư liệu của Viện Di truyền quốc tế (IPGRI). Chuyên gia Viện Di truyền Quốc tế giảng và hướng dẫn thực tế cho lớp tập huấn.

Đánh giá kết quả thực hiện các nội dung dự án đến năm 2005, đúng theo đề cương đã xây dựng. Chú trọng hướng mở rộng diện tích bảo tồn những loài cây thuốc có nhu cầu sản xuất hoặc có triển vọng phát triển phục vụ nhu cầu sản xuất. Năm 2005, đã có 3 loài cây thuốc quý hiếm phát triển thành dự án đầu tư "Bảo tồn phát triển cây sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*)" từ nguồn vốn bảo tồn nguồn gen sinh vật. Cây chóc máu (*Salasia chinensis*) và cây ngũ gia bì hương (*Acanthopanax gracilistylus*) được đầu tư từ nguồn vốn của dự án lâm sản ngoài gỗ, 2 loài quý hiếm khác được xây dựng thành đề tài nghiên cứu thuốc mới là sì to (*Valeriana jatamansi*) và ngũ vị tử Ngọc Linh (*Schisandra sphenanthera*).

KẾT QUẢ BẢO TỒN CÂY THUỐC CỔ TRUYỀN DÂN TỘC Ở MỘT SỐ CỘNG ĐỒNG DÂN TỘC MIỀN NÚI PHÍA BẮC

Nguyễn Duy Thuần, Trần Khắc Bảo, Ngô Quốc Luật *- Viện Dược liệu*
Lưu Đàm Cư, Phạm Văn Thính, Trương Anh Thư, Nguyễn Thị Thủy *- Viện Sinh thái & Tài nguyên sinh vật*

Các dân tộc thiểu số ở Việt Nam có truyền thống lâu sử dụng cây cỏ trong công tác phòng và chữa bệnh. Trong quá trình lịch sử khai thác và sử dụng các cây thuốc, mỗi dân tộc đã tích lũy riêng cho mình những kinh nghiệm sử dụng độc đáo, nhiều bài thuốc có hiệu quả điều trị cao. Tuy nhiên, nhiều kinh nghiệm, bài thuốc quý dân tộc thiểu số hiện chỉ được ứng dụng trong phạm vi hẹp cộng đồng và đang đứng trước nguy cơ bị lãng quên. Tri thức y dược dân tộc được coi là nguồn tài nguyên phi vật thể quý giá của mỗi quốc gia, ở nước ta nguồn lợi này có nguy cơ bị xói mòn dưới tác động của nhiều yếu tố xã hội.

Lãnh thổ Việt Nam nằm trải dài trên nhiều vĩ tuyến, có địa hình và khí hậu đa dạng với hệ thực vật phong phú về thành phần loài, trong đó có nhiều loài có tác dụng làm thuốc. Những năm gần đây, do nhu cầu phát triển kinh tế xã hội, môi trường tự nhiên ở nhiều khu vực bị hủy hoại nghiêm trọng làm thu hẹp vùng phân bố và khả năng phát triển của không ít loài cây thuốc. Bên cạnh đó, nhiều

loài cây thuốc bị khai thác thường xuyên với khối lượng lớn để thỏa mãn thu nhập kinh tế của người dân và yêu cầu thị trường trong và ngoài nước.

Vì vậy, mục đích các nghiên cứu bảo tồn cây thuốc dân tộc không chỉ hướng tới việc bảo tồn nguồn gen các cây làm thuốc, mà bao gồm cả việc bảo tồn, phát huy kinh nghiệm, tri thức của các dân tộc nước ta trong lĩnh vực sử dụng và phát triển cây thuốc. Thực hiện mục đích trên, từ 1998 đến nay, Bộ Y tế đã cho phép Viện Dược liệu thực hiện Dự án Bảo tồn cây thuốc cổ truyền dân tộc. Chúng tôi xin thông báo các kết quả mà Viện Dược liệu phối hợp với Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật đã đạt được tại một số địa phương trên một số cộng đồng dân tộc.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Điều tra tri thức và kinh nghiệm sử dụng cây thuốc được tiến hành theo phương pháp thực vật dân tộc học, đánh giá nông thôn có sự tham gia của cộng đồng và thu thập sử dụng tri thức bản địa [2,3,4]. Đánh giá độ tin cậy của thông tin điều tra dựa trên giá trị tin cậy tính theo công thức Fredmann. Kết quả điều tra được đánh giá tại Hội thảo cộng đồng sau mỗi đợt điều tra. Các cây ít nhất có 2 người thu hái và sử dụng được coi là thường sử dụng, các bài thuốc có ít nhất 3 người sử dụng có hiệu quả được coi là bài thuốc kinh nghiệm.

Xác định nội dung và phương pháp bảo tồn dựa theo hướng dẫn do WHO, IUCN và WWF đề nghị [1].

Xây dựng mô hình bảo tồn thích hợp trong cộng đồng dựa trên các đặc điểm dân tộc học lựa chọn các loài bảo tồn trong mỗi mô hình trên nguyên tắc tương đồng sinh thái nông nghiệp (eco-agricultural analogy) [5].

Các nghiên cứu thực vật được tiến hành theo phương pháp truyền thống,giám định tên khoa học của các loài cây thuốc do Phòng Thực vật học - Viện Sinh thái & Tài nguyên sinh vật thực hiện.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

2.1. Điều tra thu thập tư liệu hóa tri thức kinh nghiệm sử dụng cây thuốc của đồng bào dân tộc thiểu số

Trong những năm qua, các cuộc điều tra thu thập thông tin về tri thức, kinh nghiêm sử dụng cây thuốc được triển khai tại một số cộng đồng dân tộc thiểu số ở các tỉnh Lào Cai, Sơn La, Hòa Bình, Lạng Sơn. Tại một số điểm nghiên cứu, việc điều tra thu thập tư liệu còn được tiếp tục trong thời gian tới.

Bảng 1. **Kết quả tư liệu hóa thành phần loài cây thuốc sử dụng phổ biến trong cộng đồng**

Địa điểm điều tra	Số lượng taxon	
	Loài	Họ
Cộng đồng người H'mông đen xã Bản Khoang, Sa Pa, Lào Cai	214	76
Cộng đồng người Dao Bản Khoang, Sa Pa, lào Cai	345	86
Cộng đồng người H'mông hoa xã Sapả, Sa Pa, Lào cai	256	81
Cộng đồng người Tày xã Việt Lâm, huyện Vị Xuyên, Hà Giang	385	106
Công đồng người Mường xã Chiềng Yên, Mộc Châu, Sơn La	165	69
Cộng đồng người Dao Tiền, xã Chiềng Yên, Mộc Châu, Sơn La	189	74
Cộng đồng Khơ Mú xã Bản Vang, Điện Biên, Điện Biên Phủ	78	36
Cộng đồng người Tày huyện Tràng Định, tỉnh Lạng Sơn *	276	89
Cộng đồng người Thái xã Nà Ớt, Mai Châu, Sơn La *	135	72
Cộng đồng người Dao huyện Tràng Định, Lạng Sơn *	261	84

(*) Các khu vực đang tiếp tục điều tra

Điều tra, thu thập thông tin và tư liệu hóa tri thức, kinh nghiệm sử dụng cây thuốc của cộng đồng các dân tộc thiểu số ở Việt Nam làm cơ sở cho việc bảo tồn, phát triển cây thuốc dân tộc và góp phần phát triển y dược học truyền thống nước nhà là một hướng nghiên cứu tương đối mới. Ngững kết quả thu được trong 10 năm qua đã chứng tỏ ý nghĩa của các nghiên cứu theo hướng này, tuy nhiên cũng đặt ra nhiều vấn đề cần quan tâm.

Kết quả điều tra cho thấy số lượng loài cây thuốc thường được sử dụng (tần suất thông tin ≥ 2) ở các cộng đồng khác biệt khá lớn. sự khác biệt đó trước hết phụ thuộc vào mứcđộ tri thức của người dân đối với tài nguyên cây thuốc trong khu vực, ngoài ra mức độ đa dạng về thành phần loài thực vật tại địa bàn cư trú cũng ảnh hưởng không nhỏ tới tình hình khai thác và sử dụng cây thuốc.

Đối với cùng một loài cây thuốc, các dân tộc khác nhau có mục đích và phương thức điều trị khác nhau. Ngay trong một dân tộc, các nhóm khác nhau cũng gọi tên cây thuốc và sử dụng chúng theo phương thức và mục đích điều trị khác nhau; mặc dù các nhóm này cư trú trên cùng một địa bàn (trường hợp người H'mông đen và người H'mông hoa tại Sa Pả - Tả Phìn, Sa Pa, Lào Cai).

Bên cạnh các kinh nghiệm truyền thống và tự nhận thức trong quá trình khai thác sử dụng các cây làm thuốc là nguồn tri thức chính, xu hướng tiếp thu tri thức các cộng đồng khác hoặc từ các nguồn thông tin đại chúng xảy ra ở tất cả các cộng đồng đã được nghiên cứu. Người Dao (xã Tả Phìn) tiếp thu cách sử dụng

cây lá ngón (*Gelsemium elegans*) của đồng bào dân tộc H'mông và gọi tên là giảm mỉu công (cây của ông Mèo), hoặc với loài *Talium patens* người dao gọi là cót lý sinh, người H'mông gọi là cao lỷ sâng, cả hai tên này đều dịch từ tiếng phổ thông (thổ sâm cao ly)... Vì vậy, trong quá trình thu thập và tư liệu hóa thông tin, cần có sự phân tích kỹ lưỡng và thấu đáo.

Thu thập và xác định tên cây bằng tiếng dân tộc (gồm cả dịch nghĩa) là yêu cầu bắt buộc trong quá trình điều tra và tư liệu hóa. Trong rất nhiều trường hợp, tên cây được gọi theo công dụng chính của loài cây thuốc. với dân tộc H'mông sún dỉ (bí đái) hoặc kể dỉ (đái từng giọt) là công dụng chính và tên của loài *Artemisia vulgaris*, sùa mao sa (thuốc đau gan) là tên gọi đồng thời chỉ công dụng của chính của loài cơm nguội lá anh thảo (*Ardisia primulaefolia*)

Ngoài ra, thu thập, tư liệu hóa và nghiên cứu các bài thuốc kinh nghiệm của đồng bào dân tộc thiểu số cũng bước đầu được triển khai. Trong các cuộc điều tra, số lượng các bài thuốc được người dân cung cấp khá lớn; tuy nhiên, nhiều bài thuốc chỉ được một người (hoặc một gia đình sử dụng). Việc đánh giá tính xác thực hiệu quả điều trị của các bài thuốc dân tộc cần có các nghiên cứu thực nghiệm khoa học. Trong phạm vi điều tra cộng đồng, chúng tôi chỉ thống kê các bài thuốc được ít nhất 03 người không cùng gia đình đã sử dụng hoặc thừa nhận hiệu quả chữa bệnh.

Trển cơ sở phân tích độ tin cậy của các bài thuốc dân tộc thu thập được. trong thời gian qua đã đưa vào nghiên cứu thực nghiệm 02 bài thuốc chữa phì đại tuyến tiền liệt của dân tộc tày. Kết quả cho thấy bài thuốc mang ký hiệu TL-02 có hiệu quả điều trị rất thấp, trong khi đó bài thuốc mang ký hiệu TL – 01 cho hiệu quả điều trị cao: 93,75 % trường hợp cải thiện tốt và trung bình các triệu chứng lâm sàng, 6,25% trường hợp không đáp ứng; 81,25% đáp ứng tốt và trung bình về giảm thể tích tuyến, 18,25% trường hợp không đáp ứng (theo thang điểm Craig Peter) [6].

Bảng 2. **Kết quả thu thập bài thuốc kinh nghiệm ở một số cộng đồng**

Địa điểm điều tra	Số lượng bài thuốc thu thập	
	Số lượng	Số lượng bài thuốc kinh nghiệm theo nhóm bệnh
Cộng đồng người Dao Bản Khoang, Sa Pa, Lào Cai	85	Cầm máu: 7, xương - khớp: 9, tiêu hóa: 6, ngoài da: 12, hệ tiết niệu: 5, bệnh phụ nữ: 16
Cộng đồng người H'mông hoa xã Sa Pả, Sa Pa, Lào Cai	72	Các bệnh xương khớp: 8, bệnh phụ nữ: 12, hệ tiêu hóa: 10, hệ tiết niệu: 11, đường hô hấp: 3

Cộng đồng người Tày xã Việt Lâm, huyện Vị Xuyên, Hà Giang	51	Hệ tiêu hóa: 12, hệ hô hấp: 7, bệnh phụ nữ: 7, bệnh ngoài da: 8, cảm sốt: 3
Cộng đồng người Khơ Mú xã Bản Vang, Điện Biên, Điện Biên Phủ	16	Cầm máu: 3, bệnh ngoài da: 4, bệnh đường tiêu hóa: 4, bệnh hệ tiết niệu: 1
Cộng đồng dân tộc Tày xã Kim Đồng, Tràng Định, Lạng Sơn	11	Hệ tiết niệu: 2, xương - khớp: 3, bệnh phụ nữ: 4, bệnh gan: 2

2.2. Nghiên cứu xây dựng các mô hình bảo tồn và phát triển các loài cây thuốc tại cộng đồng

- *Lựa chọn mô hình thích hợp:* Do tập quán, tín ngưỡng và đặc điểm sản xuất nông nghiệp của mỗi dân tộc khác nhau, việc lựa chọn mô hình bảo tồn và phát triển cây thuốc phù hợp với mỗi cộng đồng là hết sức quan trọng. Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu về nông nghiệp dân tộc, tín ngưỡng của một số dân tộc miền Bắc Việt Nam [5], chúng tôi đề xuất 2 kiểu mô hình vườn rừng và vườn hộ để sự dụng trong nghiên cứu bảo tồn và phát triển cây thuốc tại cộng đồng. Bước đầu khẳng định, đối với dân tộc Dao chỉ thích hợp với mô hình bảo tồn vườn rừng; dân tộc Hmông, Tày - Nùng, Thái thích hợp với mô hình vườn hộ gia đình. Tới nay đã hình thành hệ thống gồm các vườn bảo tồn và phát triển cây thuốc ở một số tỉnh phía Bắc.
- *Xác định loài cây thuốc đưa vào bảo tồn và phát triển trong các mô hình:* Việc xác định các loài cây thuốc dân tộc để trồng trong các mô hình bảo tồn và phát triển cây thuốc tại cộng đồng, ngoài tiêu chí ưu tiên đối với các loài cây thuốc quý hiếm bị đe dọa ngoài tự nhiên, còn bao gồm cả tiêu chí về giá trị sử dụng và nguyện vọng của người dân [5]. Bảo tồn cây thuốc tại cộng đồng do cộng đồng là sự kết hợp hài hoà giữa mục đích bảo tồn đa dạng sinh học với lợi ích của người dân tham gia hoạt động bảo tồn. Do vậy, với phương thức này sẽ có một số loài cây thuốc đe doạ ngoài tự nhiên không được lựa chọn. Với các loài này cần được bảo tồn trong các nghiên cứu khác. Tuy nhiên, đây là phương thức duy nhất để tiến tới xã hội hoá công tác bảo tồn trong tương lai.

Tại khu vực Sa Pa đã lựa chọn 51 loài cây thuốc dân tộc đưa vào trồng ở 7 mô hình, trong đó hầu hết là các loài được ghi trong Sách Đỏ Việt Nam (1986): *Acanthopanax spp., Panax bipinnitifidus* Seem., *Panax sp., Tetrapanax papyriferus*

(Hook.) C. Koch (*Araliaceae*), *Asarum caudigerum* Hance (*Aristolchiaceae)*, *Berberin wallichiana* DC., *Berberis julianae* Schneid. (*Berberindaceae*), *Codonopsis javania* (Blume) Hook. f. (*Campanulaceae*), *Helwingia himalaica* Hook. f. et Thoms. ex Clarke (*Helwingiaceae*), *Stephania brachyandra* Diels. (*Menispermaceae*), *Coptis chinensis* Franch., *Coptis quinquesecta* W.T.Wang (*Ranunculaceae*), *Valeriana hardwickii* Wall., *Valeriana jatamansi* Jones (*Valeraanaceae*), *Dispiopsis longifolia* Criab., *Disporopsis aspera*, *Polygonatum kingianum* Coll. ex Hemsl., *Reneckea carnea* (Andr.) Kunnth. (*Convallariaceae*), *Curculigo orchioides* Gaertn. (*Hypoxidaceae*), *Lilium brownii* Baker (*Liliaceae*), *Ardisia primulaefolia* (*Myrsinaceae*), *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Wall. Ex lindl., *Nervilia sp.* (*Orchidaceae*), *Paris spp. (Trilliaceae*), *Drynaria fortunei* (Kuntze ex Mett) Smith, *Toricellia angulata* (*Toricelliaceae*), *Elsholtizia penduliflora* W.W. Smith (*Lamiaceae*), *Limnophylla rugosa* (Roth.) Merr. (*Scrophulariaceae*).

- Ngoài các loài được lựa chọn, thực tế người dân đã chủ động trồng nhiều loại cây thuốc hoang dại có nhu cầu sử dụng thường xuyên, đưa tổng số loài hiện có tại các vườn lên 115 loài. Tại các khu vự khác (Hà Giang, Lạng Sơn, Sơn La) hiện đang hoàn thiện danh sách các loài đưa vào bảo tồn phát triển và nhân rộng số lượng các mô hình tại cộng đồng.
- Qua 10 năm (1996 - 2006) theo dõi sinh trưởng của các loài cây thuốc hoang dại được trồng thử nghiệm trong các mô hình bảo tồn và phát triển cây thuốc, có thể nhận xét:

- Hầu hết các loại nêu trên sinh trưởng tốt trong các vườn bảo tồn, ra hoa kết quả thường niên, đúng chu kỳ và tự tái sinh trong môi trường mới (*Panax, Berberis, Valeriana, Stephania, ...*). Nhiều loài cho năng suất cao (*Valeriana jatamansi ,...*) đáp ứng được nhu cầu kinh tế và sử dụng của người dân.
- Một số ít loài sinh trưởng chậm, kích thước cây nhỏ và thay đổi nhịp điệu sinh trưởng so với trong điều kiện tự nhiên (các loài *Coptis*), khả năng cung cấp dược liệu không cao.
- Trong số các loài nghiên cứu, loài Lan kim tuyến đến nay vẫn không thành công.
- Do tập quán sản xuất và tín ngưỡng, cho tới nay cá mô hình bảo tồn, phát triển cây thuốc tại cộng đồng dân tộc Dao ít thành công so với các dân tộc khác.

Tóm lại, xây dựng các mô hình bảo tồn và phát triển cây thuốc dân tộc tại cộng đồng là một hướng đi đúng đắn, bước đầu đã thu được kết quả khả qua và chứng minh triển vọng thực tế.

2.3. Nâng cao nhận thức cộng đồng và đào tạo cán bộ làm công tác bảo tồn, phát triển cây thuốc dân tộc

Để nâng cao nhận thức của người dân về ý nghĩa bảo tồn, sử dụng bền vững tài nguyên cây thuốc đồng thời hướng dẫn các kỹ thuật thu hái, trồng và chăm sóc cây thuốc, trong thời gian qua đã tổ chức một số đợt tập huấn kỹ thuật cho người dân địa phương với thành phần là các cán bộ chủ chốt và các cá nhân thường xuyên thu hái, sử dụng cây thuốc.

***Bảng 3.* Các lớp tập huấn tại cộng đồng**

Nơi tổ chức	Số đợt tập huấn	Số lượng người tham gia
Xã Bản Khoang, Sa Pa, Lào Cai	2	86
Xã Sa Pả, Sa Pa, Lào Cai	3	84
Khu vực Vị Xuyên, Hà Giang	1	28
Xã Nà Ớt, Mai Châu, Sơn La	2	95
Xã Kim Động, Tràng Định, Lạng Sơn	1	42

Các lớp tập huấn do các cán bộ nghiên cứu Viện Sinh Thái và Tài nguyên sinh vật giảng lý thuyết và hướng dẫn thực hành. Tập huấn tập trung vào các nội dung: Tiềm năng của tài nguyên cây thuốc tại địa phương, kỹ thuật thu hái cây thuốc ngoài tự nhiên, ý nghĩa của việc bảo tồn, phát triển cây thuốc và kỹ thuật nhân giống, trồng, chăm sóc, một số loại cây thuốc. Kết quả, các lớp tập huấn người dân không chỉ được nâng cao nhận thức về công tác bảo tồn mà còn nắm vững một số kỹ thuật cơ bản về nhân giống và chăm sóc cây thuốc.

Ngoài ra, để đào tạo đội ngũ cán bộ khoa học chuyên ngành, gần đây Phòng Thực vật dân tộc học, Viện STTNSV đã phối hợp với Bộ môn Y học cổ truyền Đại học Y Hà Nội đào tạo 03 thạc sỹ nghiên cứu về tri thức và kinh nghiệm sử dụng cây thuốc của đồng bào dân tộc H'mông (Sa Pa) và dân tộc Tày (Vị Xuyên) và dân tộc Bru - Vân Kiều (Dar rông).

III. KẾT LUẬN

Nghiên cứu bảo tồn cây thuốc dân tộc tại các cộng đồng thiểu số được thực hiện ở nước ta chưa lâu. Kết quả thu được trong những năm qua cho thấy đây là hướng nghiên cứu có triển vọng thực tế mang lại lợi ích lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anon, (1993), Gildelines on the conservation of medical plants. WHO, IUCN & WWF
2. Anon, (1996), Recording and using indigenous knowledge; A manual. IIRR, Silang, Cravite, Philippines.
3. Jackson W.J., A.W. Ingles, (1998), Particpatory techniques for community forestry – Afield manual. WWF – AusAID – IUCN, printed by SADAG, France
4. Gary J.Martin, (1995), Ethnobotany – A method manual. University Press, Cambrigde, UK.
5. Luu Dam Cu, (2001), Introduction of rare and endangered medical plants into forest garden in ethnic minoritries. Conference "Buiding brigde between European and ASEAN biodiversity researchers". ARCBC, Bangkok, Thailand, 1-4 dec.
6. Lưu Đàm Cư và cộng sự, (2002), Nghiên cứu thực nghiệm các bài thuốc dân tộc điều trị phì đại tuyến tiền liệt. Báo cáo nghiệm thu đề tài KHCN cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 45 tr.

MỘT SỐ KẾT QUẢ ĐIỀU TRA, NGHIÊN CỨU BẢO TỒN CÂY THUỐC Ở VƯỜN QUỐC GIA BẠCH MÃ

[1]Nguyễn Duy Thuần, [1]Ngô Quốc Luật, [2]Trần Thiện Ân
(1) Viện Dược liệu, (2) Vườn Quốc gia Bạch Mã

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lịch sử y học cổ truyền Việt Nam được hình thành và phát triển cùng với quá trình phát triển của dân tộc. Cùng với thời gian, ông cha chúng ta đã có nhiều kinh nghiệm quý báu trong việc sử dụng cây cỏ làm thuốc chữa bệnh. Các danh y, từng lớp người thừa kế kinh nghiệm thực tiễn về phòng, chữa bệnh bằng cây cỏ có sẵn ngoài tự nhiên. Ngày nay, trên thế giới việc sử dụng cây thuốc đang được sử dụng rộng rãi và đã được kết hợp với y học hiện đại để nâng cao hiệu quả chữa bệnh. Nhiều công trình nghiên cứu về thực vật dân tộc học đã và đang tiến hành thu được nhiều kết quả quan trọng.

Nằm ở miền Trung Việt Nam, Vườn Quốc gia Bạch Mã (VQGBM) có một vị trí địa lý tương đối đặc biệt, là phần cuối cùng của dãy Trường Sơn Bắc, nên khu

vực này có tính đa dạng sinh học rất cao. Hơn nữa, Vườn được bao bọc xung quanh bởi một diện tích vùng đệm khá lớn, với các cộng đồng người dân tộc sống trong đó bao gồm người Kinh, người Mường, người Vân Kiều và người Ka Tu. Đặc biệt, ở đây các cộng đồng người dân tộc với truyền thống sống dựa vào rừng là chủ yếu, đã có rất nhiều kinh nghiệm sử dụng cây cỏ làm thuốc chữa bệnh, trong đó nhiều kinh nghiệm chưa được phổ biến.

Dự án "*Bảo tồn cây thuốc cổ truyền*" do Bộ Y tế quản lý, Viện Dược liệu là cơ quan chủ trì. Nhận thức được vị trí và tầm quan trọng của VQGBM, Viện Dược liệu đã tiến hành triển khai một phần dự án tại đây từ năm 1998 đến nay với các nội dung: Khảo sát đánh giá thực trạng tài nguyên cây thuốc trong VQGBM; điều tra kinh nghiệm sử dụng cây làm thuốc (loài cây thuốc, công dụng, sử dụng, các bài thuốc) của đồng bào ở vùng đệm, chú trọng đến đồng bào dân tộc thiểu số; tổ chức tuyên truyền giáo dục nâng cao nhận thức bảo tồn, tập huấn kỹ thuật thu hái, trồng cây thuốc tại vườn hộ gia đình cho người dân; nghiên cứu đề xuất các biện pháp bảo tồn tài nguyên cây thuốc. Nâng cao nhận thức cộng đồng về bảo tồn và sử dụng hợp lý nguồn tài nguyên cây thuốc ở địa phương. Bảo tồn ex-situ một số loài cây thuốc có giá trị kinh tế và khoa học tại vườn sưu tập cây thuốc của VQGBM và vườn hộ gia đình ở cộng đồng người dân địa phương.

II. ĐỊA BÀN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa bàn nghiên cứu

Điều tra thực địa thành phần loài cây thuốc trong khu vực nghiên cứu gồm các tiểu khu: 1177,1151,1198,1205 và trong các vườn hộ gia đình ở vùng đệm.

Các tuyến điều tra:

Tuyến 1: Từ VQG Bạch Mã vào khu vực tiểu khu 1198.

Tuyến 2: Từ VQG Bạch Mã vào khu vực tiểu khu 1205.

Tuyến 3: Từ VQG Bạch Mã vào khu vực tiểu khu 1177.

Tuyến 4: Từ VQG Bạch Mã vào khu vực tiểu khu 1151.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Điều tra phỏng vấn trong cộng đồng: Sử dụng phương pháp PRA, dùng phiếu điều tra, phỏng vấn theo các nội dung đã chuẩn bị sẵn.
- Phương pháp điều tra cơ bản: Điều tra theo tuyến, tuyến điều tra là các tuyến được chọn sao cho đi qua các kiểu địa hình, có đủ các điều kiện sinh thái

khác nhau. Sau khi đã lập tuyến điều tra, tiến hành điều tra trên các tuyến đã chọn. Quá trình điều tra, người dân địa phương là người cung cấp thông tin tham gia. Các chỉ tiêu khảo sát như trong phiếu điều tra.

- Điều tra thành phần loài: Trên các tuyến điều tra, thu mẫu tất cả các cây thuốc được người dân địa phương sử dụng, ghi nhân các thông tin vào phiếu điều tra, chụp ảnh một số loài cây thuốc cần thiết. Mẫu thu thập được đưa về phòng thí nghiệm phân tích và xác định tên khoa học. Phân loại thực vật, sử dụng phương pháp hình thái so sánh.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1.Thành phần loài

Qua thời gian nghiên cứu phỏng vấn ở cộng đồng, kết hợp với khảo sát ngoài thực địa trên 4 tuyến điều tra ở các tiểu khu 1177,1151,1198,1205 thuộc VQG Bạch Mã từ tháng 02 đến 30 tháng 12 năm 2005. Chúng tôi đã thu được kết quả:

+ Thành phần loài cây thuốc rất đa dạng và phong phú, kết quả nghiên cứu đã thống kê được 140 loài cây có, thuộc 74 họ thực vật được sử dụng làm thuốc có ở Vườn Quốc gia Bạch Mã. Các loài điều tra được thuộc 5 ngành thực vật (Xem danh mục thành phần loài cây thuốc Vườn Quốc gia Bạch Mã):

- Ngành Lycopodiophyta: có 2 loài thuộc 2 họ.
- Ngành Polypodiophyta: có 4 loài thuộc 4 họ.
- Ngành Pinophyta: có 1 loài thuộc 1 họ.
- Ngành Gnetophyta: có 1 loài thuộc 1 họ.
- Ngành Magnoliophyta: có 132 loài thuộc 66 họ. Đây là ngành có thành phần loài cây thuốc nhiều nhất.

+ Trong 74 họ ghi nhận được, các họ có nhiều loài được sử dụng làm thuốc, đó là:

- Rubiaceae: có 10 loài
- Fabaceae: có 8 loài, kế đến là:
- Zingiberaceae: có 6 loài
- Menispermaceae: có 5 loài
- Euphorbiaceae: có 5 loài

+ Kết quả điều tra thống kê so với các kết quả điều tra trước đây (1998 - 2004) tăng thêm 15 loài, đưa tổng số loài cây thuốc thống kê được ở Bạch Mã lên 586 loài.

Danh mục các loài cây thuốc điều tra mới so với các kết quả từ 1998 đến 2004:

1. *Aeschynanthus amicunatus* Wall.- Tên địa phương (?)
2. *Apurosa dioica* (Roxb.) Muell-Arg.- Tên địa phương (?)
3. *Balanophora latisepata* (van Tiegh.) Lec.- Cu chú
4. *Crateva nuruvala Buch* – Ham.- Bỳn
5. *Desmodium gyroides* (Roxb. ex Link.) DC.- Thúc lộp lay
6. *Hedyotis diffusa* Willd.- Tên địa phương (?)
7. *Helicteres hirsuta* Lour.- Tên địa phương (?)
8. *Lonicera* sp.- Tên địa phương (?)
9. *Ophiorrhiza mungos* L.- Tên địa phương (?)
10. *Phyllanthus amarus Schum. & Thonn*.- Tên địa phương (?)
11. *Rauwenhofia siamensis Scheff*.- Bũ bũ
12. *Waltheria americana* L.- Xà bà
13. *Strobilanthes affinis (Griff.)* Y.C. Tang.- Tên địa phương (?)
14. *Oxystelma esculenta* (L.f.) *Smith*. - Cự mai.

+ Trong số 140 loài cây thuốc ghi nhận được có 9 loài là thực vật quý hiếm được đưa vào trong Sách Đỏ Việt Nam

Các loài cây thuốc quý hiếm và vùng phân bố của chúng ở Vườn Quốc gia Bạch Mã

TT	Tên cây thuốc	Tình trạng quý hiếm	Phân bố
1	Da vê rờ - *Anoectochilus chapaensis Gagn.*	*(R)*	Khe đá ẩm, hoặc bờ khe ẩm trong rừng
2	Tom lơ khôi - *Ardisia silvestris* Pit.	(V)	Dưới tán rừng ẩm hoặc bờ khe suối
3	Ho mơ chưa - *Coscinium fenestratum* (Gagn.) Colebr.	(V)	Trong rừng già, rừng phục hồi
4	A duông - *Scaphium lychnophorum* (Hance) Kost.	(K)	Trong rừng già, rừng thứ sinh độ cao dưới 400 m, sườn núi
5	Dè-*Cinnamomum parthenoxylon* (Jack.) Meissn.	R	Độ cao trên 700m, tiểu khu 1198.
6	Đỗ trọng tía-Euonymus chinensis Benth.	T	Trong rừng tiểu khu 1205
7	Cúc mai-*Indosinias involucrata* (Gagn.)Vid.	T	Trong rừng thưa, ven rừng

8	Bảy lá một hoa- *Paris polyphylla Sm. var. chinensis* (Franch.)Hara.	R	Trong rừng độ cao trên 700m, tiểu khu 1198
9	Hoàng nàn-Strychnos wallichiana Steud. ex DC.	R	Trong rừng

* *Ghi chú*:

- Tình trạng quý, hiếm:

(V): Loài trong tình trạng sẽ nguy cấp, có thể bị đe dọa tuyệt chủng.

(R): Loài trong tình trạng hiếm, có thể sẽ nguy cấp.

(K): Loài được liệt vào danh sách tuy chưa biết đủ thông tin chính xác.

(T): Loài đang bị đe doạ tuyệt chủng.

+ Các loài cây thuốc cũng rất đa dạng về dạng sống bao gồm: cây thân cỏ (thảo), cây bụi, bụi leo, cây leo, cây gỗ,...trong đó các loài thực vật được sử dụng làm thuốc gồm các dạng sống nhiều nhất là cỏ các loại.

3.2. Kinh nghiệm sử dụng cây cỏ làm thuốc của cộng đồng

+ Tác dụng chữa bệnh của cây thuốc:

Với kết quả điều tra được, chúng tôi thấy rằng tác dụng chữa bệnh của các loài cây thuốc được người dân địa phương sử dụng có thể chia làm các nhóm chính sau:

- Dùng để chữa vết thương tiêu viêm.
- Chữa bong gân, trặc gãy tay chân, đau xương
- Chữa đau bụng, ỉa chảy
- Dùng trị đau đầu, cảm sốt
- Tác dụng cầm máu
- Chữa phong thấp, đau khớp
- Chữa đau lưng, nhức mỏi
- Có tác dụng lợi kinh
- Dùng cho phụ nữ uống sau khi sinh
- Lợi tiểu, chữa đau thận, đái khó
- Chữa đau mắt đỏ
- Chữa sốt rét
- Chữa đau gan
- Chữa đầy bụng khó tiêu
- Chữa bệnh đau dạ dày
- Trị viêm họng, ho
- Chữa đau răng
- Tác dụng bổ máu, bổ cơ thể, mạnh gân cốt
- Chữa huyết áp cao, khó thở
- Tác dụng bổ thần kinh
- Trị giun
- Chữa viêm tai

- Chữa rắn cắn, sâu bọ đốt
- Trị chấy
- Dùng chữa phù
- Chữa hen suyễn
- Chữa ghẻ lở và các bệnh ngoài da
- Giải độc
- Chữa bỏng

+ *Cách sử dụng:*

- Việc sử dụng các bộ phận của cây cỏ làm thuốc của người dân cũng rất đa dạng: sử dụng cả cây, sử dụng dây,cành lá, sử dụng các bộ phận rễ, thân rễ, củ,sử dụng thân gỗ, vỏ cây,sử dụng hoa,quả,hạt, sử dụng nhựa cây, và sử dụng bột bào tử.

- Cách sử dụng, chế biến của đồng bào cũng rất đa dạng từ việc sử dụng tươi cho đến sao khô sắc uống hay ngâm rượu, cho đến dùng nấu xông, giả đắp, tắm rửa ngoài.

+ Sự phân bố của các loài cây thuốc trên các tuyến khảo sát thuộc khu vực nghiên cứu cũng khác nhau (xem bảng: Sự phân bố các loài cây thuốc trên các tuyến điều tra). Trong đó có nhiều loài phân bố rộng, thấy có mặt trên tất cả các tuyến điều tra, tuy nhiên nhiều loài phân bố hẹp chỉ thấy phân bố trên một tuyến điều tra, trên các tuyến còn lại không thấy xuất hiện. Đặc biệt, trong các loài trên, nhiều loài bị khai thác nhiều, cần quan tâm bảo vệ để tránh nguy cơ bị tuyệt chủng, đó là: Bình vôi tán ngắn, ba gạc, ba kích lông, cu chó, trầm, thạch xương bồ.

Ngoài ra, một số loài khác mặc dù phân bố rộng, trữ lượng tương đối còn nhiều, tuy nhiên do có nguy cơ bị khai thác với số lượng lớn nên cần phải có biện pháp bảo vệ, đó là các loài:

STT	Các loài	Tên địa phương, tên khác
1.	*Scaphium lychnophorum* (Hance.) Kost.	: A luông, ươi
2.	*Fibraurea tinctoria* Lour.	: Ba bia, hoàng đằng
3.	*Ardisia silvestris* Pit.	: Tom lơ khôi
4.	*Homalomena occulta* (Lour.) Schott.	: Sơn thục
5.	*Stemona tuberosa* Lour.	: Bral, a bít, bách bộ

+ Kết quả khảo sát đã cho thấy các loài cây thuốc trong khu vực có nguy cơ bị khai thác nhiều, cần có biện pháp bảo vệ do có khả năng bị giảm số lượng nhanh chóng và sẽ có nguy cơ đi đến tuyệt chủng, đó là:

1. Vàng đắng - *Coscinium fenestratum* (Gagn.) Colebr.
2. Kim tuyến sapa - *Anoectochilus chapaensis* Gagn.
3. Tom lơ khôi - *Ardisia silvestris* Pit.
4. A duông, ươi - *Scaphium lychnophorum* (Hance) Kost.
5. Bình vôi tán ngắn- *Stephania sinica* Diels.
6. A bít, bách bộ- *Stemona tuberosa* Lour.
7. Sơn thục - *Homalomena occulta* (Lour.) Schott.
8. Ba bia, hoàng đằng - *Fibraurea tinctoria* Lour.
9. Thạch xương bồ - *Acorus tatarinowii* Schott.
10. Ba kích lông- *Morinda cochinchinensis* DC.

+ Đề tài cũng đã bước đầu nhân giống bằng hom và bằng hạt được 500 cây giống cây thuốc (Cây CM05, và KT05).

3.3. Tổ chức tập huấn và xây dựng vườn trồng sưu tập cây thuốc

Với kinh phí và thời gian có hạn, trong quá trình triển khai đề tài, chúng tôi đã tổ chức được 1 đợt tập huấn cho các hộ gia đình về các kỹ thuật nhân giống cây thuốc bằng hom giâm, xây dựng vườn thuốc gia đình. Trong buổi tập huấn này chúng tôi cũng đã tuyên truyền cho người dân trong cộng đồng về tầm quan trọng của việc bảo tồn nguồn gen cây thuốc cũng như các kiến thức bản địa về cây thuốc.

Bên cạnh đó, hiện nay đã và đang đầu tư xây dựng vườn trồng sưu tập cây. Chúng tôi đã trồng được 87 loài cây thuốc (Xem danh mục các loài cây thuốc trồng trong vườn sưu tập Bạch Mã.); dự định trong thời gian tới sẽ nâng số loài sưu tập lên trên100 loài. Ngoài ra phong trào trồng cây thuốc nam để sử dụng tại chỗ cũng đã được người dân địa phương hưởng ứng và có nhiều hộ đã trồng một cách tự phát, rất đáng ghi nhận.

3.4. Thực trạng khai thác và những tồn tại

Trong những năm trở lại đây, việc sử dụng dược liệu có nguồn gốc thảo mộc vào mục đích bảo vệ sức khoẻ con người và cho việc nghiên cứu tìm ra thuốc mới đang ngày càng phát triển. Tuy nhiên, việc trồng trọt thì vẫn đang còn hạn chế và chưa có hiệu quả, do vậy việc sử dụng nguồn nguyên liệu dược từ khai thác trong tự nhiên vẫn là chủ yếu. Lợi ích nhiều mặt thu được từ nguồn tài nguyên cây thuốc thực sự là rất lớn đã dẫn đến tình trạng khai thác bừa bãi vì mục đích lợi nhuận kinh tế, mà chưa có kế hoạch tái sinh phát triển đã làm cho

nhiều loài cây thuốc mọc tự nhiên, nhiều loại dược liệu quý đang đứng trước nguy cơ bị tuyệt chủng.Trong Sách Đỏ Việt Nam (1996), đã có tới 128 loài cây thuốc, chiếm hơn 38% số loài cây quý hiếm bị đe doạ tuyệt chủng.

Cùng với tình trạng diện tích, chất lượng rừng ngày càng bị suy giảm và sự khai thác ồ ạt, liên tục, không có kế hoạch bảo vệ tái sinh, đã dẫn đến tình trạng nhiều loài mất khả năng tái sinh tự nhiên và đi dần đến cạn kiệt, như ba kích, vàng đắng, sa nhân, cẩu tích, thạch học,...Theo số liệu khảo sát năm 1998 của Viện Dược liệu, nguồn cây thuốc ở nước ta đang bị suy thoái, nhiều cây thuốc quý hiếm đạng bị suy giảm nghiêm trọng, đáng lưu ý là có khoảng 31 loài đang ở mức độ bị đe doạ tuyệt chủng cao.

Ở Vườn Quốc gia Bạch Mã, việc khai thác cây thuốc chỉ tập trung do một số người dùng cây thuốc để chữa một số bệnh thông thường, việc khai thác này không làm ảnh hưởng đến tài nguyên cây thuốc ở đây. Tuy nhiên, từ những năm 70 - 80 tình trạng khai thác một số loài vì mục đích kinh tế, thu hái và bán cho một số chủ thu mua từ nơi khác đến đã làm cho trữ lượng các loài này giảm một cách đáng kể, nhiều loài có nguy cơ tuyệt chủng cao như ho mơ chưa (vàng đắng), da vê rờ (kim tuyến), tom lơ khôi (khôi), a duông (lười ươi), sơn thục, khoai mài, thạch xương bồ,... Tuy nhiên,từ năm 1991, khi Vườn Quốc gia Bạch Mã được thành lập, công tác quản lý bảo vệ tài nguyên thiên nhiên được chú trọng và tình trạng khai thác trên đã phần nào đã được giảm đi, tuy nhiên, do điều kiện kinh tế của người dân vùng đệm còn quá thấp, hơn nữa việc sống phụ thuộc vào tài nguyên rừng vẫn đang còn là nguồn thu nhập chính, cộng thêm thói quen từ lâu đời nên việc quản lý khai thác trái phép tài nguyên rừng, nhất là tài nguyên phi gỗ như cây thuốc là việc làm rất khó, đặc biệt khi thị trường có nhu cầu.

Hơn nữa, thực tế cho thấy, trong công tác quản lý bảo vệ tài nguyên rừng của chúng ta hiện nay thường tập trung vào các loài cây gỗ lớn, các loài động vật hoang dã. Các loài thực vật phi gỗ, trong đó phần lớn là rất nhiều loài cây thuốc, lại rất ít được quan tâm cho dù đã có những quy định chung về việc cấm khai thác bằng mọi hình thức vào các khu bảo tồn. Bên cạnh đó chưa có sự phối hợp chặt chẽ giữa các cơ quan ban ngành liên quan (như Lâm nghiệp, Nông nghiệp, Dược,...) trong việc quản lý nguồn tài nguyên này.

Công tác bảo tồn chuyển vị (ex situ) các nguồn gen cây thuốc đang còn yếu. Mặt dù Vườn Quốc gia Bạch Mã đã bước đầu quan tâm đến việc trồng sưu tập cây thuốc, nhưng do điều kiện kinh phí, cơ sở vật chất còn thiếu nên vẫn chưa đáp ứng được ngang tầm với công cuộc bảo tồn một cách quy mô, hiệu quả.

Nhận thức về đa dạng sinh học, bảo tồn tài nguyên cây thuốc trong đại bộ phận người dân và đặc biệt trong các cán bộ, những người trực tiếp quản lý bảo vệ tài nguyên rừng đang còn thấp. Nâng cao nhận thức cho người dân rõ ràng là phải được ưu tiên hàng đầu, nhưng việc tổ chức thực hiện chưa được quan tâm đúng mức và chưa có chương trình cấp ngân sách cụ thể cho công tác này.

Một tồn tại khác, đó là thái độ coi thường các bài thuốc dân gian, các kinh nghiệm chữa bệnh cổ truyền và các tri thức bản địa của đại đa số người dân cộng đồng kể cả một bộ phận cán bộ làm công tác bảo tồn, đã làm mai một dần kho tàng kinh nghiệm quý báu này.

3.5. Các giải pháp bảo tồn tài nguyên đa dạng sinh học nói chung và tài nguyên cây thuốc nói riêng ở Vườn Quốc gia Bạch Mã

Vấn đề bảo tồn tài nguyên đa dạng sinh học là vấn đề cấp bách hàng đầu không chỉ là nhiệm vụ của các Vườn Quốc gia và các Khu Bảo tồn mà còn là vấn đề quan tâm của toàn nhân loại. Riêng ở Vườn Quốc gia Bạch Mã, với những đặc điểm đặc thù, thì cần có những giải pháp thích hợp nhằm làm tốt công tác này. Các giải pháp đề xuất là:

a. Nghiên cứu bảo tồn loài và môi trường sống

+ Cần tiến hành nghiên cứu về quần thể các loài có nguy cơ bị tuyệt chủng, phạm vi phân bố, những thay đổi về quần thể và xác định các phương pháp bảo vệ tốt nhất.

+ Thực hiện các kế hoạch phục hồi một số loài đã bị tuyệt chủng hoặc đang có nguy cơ bị tuyệt chủng.

+ Thiết lập các chương trình theo dõi loài như là công cụ để đánh giá nỗ lực bảo vệ và phục hồi môi trường nơi cư trú của loài cây thuốc.

+ Khoanh vùng ưu tiên những khu vực có môi trường sống của các loài đặc hữu, hiếm có nguy cơ bị tuyệt chủng và các khu vực rừng, kể cả rừng nguyên sinh, rừng thứ sinh và bìa rừng cho việc theo dõi sự diễn thế và bảo vệ.

b. Quản lý bảo vệ và thực thi pháp luật

+ Tăng cường mức độ hoạt động của lực lượng thực thi pháp luật. Tăng cường các đợt tuần tra thường xuyên ở các khu vực để phát huy hiệu quả hơn nữa công tác bảo vệ.

+ Tăng cường đào tạo lực lượng kiểm lâm nhằm nâng cao năng lực trong các lĩnh vực bảo vệ đa dạng sinh học và thực thi pháp luật.

+ Ban hành và thực thi các quy định để kiểm soát các hoạt động khai thác cây thuốc ở các cộng đồng địa phương.

+ Xây dựng một mạng lưới bảo vệ tại các cộng đồng địa phương để hỗ trợ cho lực lượng Kiểm lâm.

c. Phát triển cộng đồng

Giảm thiểu sự phụ thuộc của các cộng đồng địa phương vào nguồn tài nguyên trong Vườn Quốc gia bằng các giải pháp nâng cao mức sống của người dân thông qua các chương trình, dự án phát triển kinh tế vùng đệm, đặc biệt là việc xây dựng các mô hình trồng cây dược liệu thích hợp nhằm tăng thêm thu nhập và tạo nguồn thuốc nam có sẵn cho cộng đồng.

d. Giáo dục bảo tồn

+ Công tác giáo dục nâng cao nhận thức bảo tồn cho học sinh và cộng đồng:

Trong điều kiện cuộc sống đang còn nhiều khó khăn, người dân sống ở vùng đệm (nhất là người dân tộc thiểu số) không chỉ nghèo mà dân trí còn quá thấp. Đối tượng học sinh, cộng đồng dân cư chưa được đặc biệt quan tâm. Vì vậy, cần có các hoạt động cần thiết cho công tác tuyên truyền giáo dục:

- Tiến hành các hoạt động thực hiện ấn phẩm tuyên truyền như: khẩu hiệu, tờ bướm, ấn phẩm lịch bảo vệ tài nguyên thiên nhiên.

- Tiến hành các hoạt động giao lưu với các đoàn thể địa phương, nói chuyện theo từng chủ đề, sáng tác những tiểu phẩm tuyên truyền, phối hợp với các cơ quan ban ngành liên quan, thi tìm hiểu về rừng, bảo vệ thiên nhiên môi trường cho các em học sinh và thôn bản.

- Thành lập các câu *lạc bộ xanh* ở các trường học trong phạm vi vùng đệm, duy trì thường xuyên các hoạt động của các câu lạc bộ, nhằm thông qua các thành viên trung tâm là các em học sinh, chuyển tải nhận thức, hành vi và trách nhiệm bảo tồn cho cộng đồng.

+ Công tác giáo dục bảo tồn cho cộng đồng thông qua chương trình hỗ trợ phát triển kinh tế vùng đệm:

- Giáo dục cho cộng đồng hiểu được thế nào là "*phát triển bền vững*", nghĩa là phát triển sao cho việc sử dụng các nguồn tài nguyên thiên nhiên nhằm đáp ứng nhu cầu của thế hệ hiện tại, không ảnh hưởng đến khả năng thỏa mãn nhu cầu cho các thế hệ tương lai.

+ Giáo dục bảo tồn thông qua chương trình phát triển du lịch sinh thái:

Thông qua chương trình du lịch sinh thái, tham quan vườn thực vật, vườn cây thuốc mọi người sẽ được tiếp thu những kiến thức tổng quát về bảo tồn tài nguyên thiên nhiên. Người dân địa phương là thành viên quan trọng tham gia trong chương trình này, là lực lượng chuyển tải kiến thức, tuyên truyền hiệu quả nhất cho cộng đồng và du khách.

+ Giáo dục bảo tồn bằng pháp luật:

Ở Vườn Quốc gia, lực lượng Kiểm lâm là lực lượng nòng cốt trong các hoạt động. Các hoạt động này thường nặng về giáo dục bằng pháp luật, xử phạt hành chính và truy tố đối với các đối tượng cố tình vi phạm. Các hoạt động kèm theo là truyền thanh lưu động đến từng thôn bản với nội dung pháp luật và các văn bản dưới luật liên quan đến bảo tồn.

e. Bảo tồn kiến thức cây thuốc bản địa

Bảo tồn kiến thức sử dụng cây thuốc của người dân bản địa đóng một vai trò lớn trong việc bảo tồn cây thuốc cổ truyền. Việc khai thác các tiềm năng cây thuốc trong cộng đồng địa phương có vai trò to lớn trong công cuộc duy trì, phát triển những kinh nghiệm sử dụng cây thuốc cổ truyền của đất nước ta. Vì vậy cần phải có một cuộc điều tra nghiên cứu toàn diện, song song với việc tuyên truyền cho người dân hiểu rõ giá trị của việc làm này, nhằm hoàn thiện một cách tốt nhất công cuộc bảo tồn cây thuốc cổ truyền ở nước nhà.

IV. KẾT LUẬN

- Đã điều tra được 140 loài cây thuốc, thuộc 74 họ thực vật. So với kết quả điều tra các năm trước đã tăng thêm 15 loài.

- Tổng hợp với các kết quả điều tra của các năm **từ 1998 đến nay**, tổng số loài cây thuốc đã lên đến **586 loài**, trong đó có 9 loài được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam, là các loài quý hiếm bị đe dọa tuyệt chủng.

- Người dân biết sử dụng cây thuốc để chữa rất nhiều bệnh, từ những bệnh thông thường như đau đầu, đau bụng cho đến các bệnh ho, dạ dày, thận ...

- Cây thuốc ở VQG Bạch Mã nói riêng hay tài nguyên rừng ở đây nói chung, được quản lý và bảo vệ tốt. Tuy nhiên, có những lúc do nhu cầu thị trường về một số loài có giá trị, do chưa được nhận thức đầy đủ về công tác bảo tồn và sử dụng bền vững tài nguyên, một số người dân đã khai thác trộm sản phẩm cây thuốc từ rừng đã làm ảnh hưởng ít nhiều đến công tác bảo tồn

tài nguyên ở VQG Bạch Mã. VQG Bạch Mã đã bước đầu đưa vào trồng sưu tập được 150 loài cây thuốc.

- Đời sống kinh tế và văn hóa người dân ở đây còn thấp, lại thiếu đất đai canh tác nông nghiệp, chưa có những mô hình làm kinh tế phù hợp. Điều này đã gây một sức ép không nhỏ đến công tác bảo tồn tài nguyên ở VQG Bạch Mã.

- Một số hộ dân bước đầu đã biết đưa một số cây thuốc về trồng ở vườn gia đình để sử dụng. Tuy nhiên việc này còn mang tính chất tự phát, hơn nữa do chưa nắm được kiến thức trồng và khai thác dược liệu nên việc trồng cây thuốc của người dân còn chưa hiệu quả.

V. ĐỀ NGHỊ

Việc nghiên cứu điều tra tính đa dạng sinh học cây thuốc và các kinh nghiệm sử dụng cây thuốc của cộng đồng, nhất là các cộng đồng dân tộc thiểu số là việc làm rất cần thiết và lâu dài nhằm bảo tồn tài nguyên cây thuốc cổ truyền của dân tộc. Trên cơ sở này Dự án cần được tiếp tục đi sâu nghiên cứu:

- Nghiên cứu điều tra tổng thể trên phạm vi các cộng đồng người dân ở vùng đệm của VQG Bạch Mã (nhất là trong các cộng đồng người dân tộc thiểu số sống xung quanh) nhằm thu thập, tổng hợp các kinh nghiệm dùng thuốc của đồng bào. Trên cơ sở đó đề ra các giải pháp thích hợp nhằm bảo tồn và phát triển các giá trị quý báu này.

- Phải có những chương trình cụ thể cho công tác tuyên truyền giáo dục bảo tồn tài nguyên cây thuốc trong vùng, cũng như tập huấn, chuyển giao kỹ thuật gieo trồng các cây thuốc quan trọng, quý hiếm, đến tận cộng đồng, làm cơ sở cho việc bảo tồn và khai thác bền vững nguồn tài nguyên cây thuốc trong vùng.

- Có sự phối hợp chặt chẽ giữa các ngành liên quan, các tổ chức trong và ngoài nước đề ra các giải pháp cụ thể cho việc phát triển kinh tế của nhân dân vùng đệm, thông qua đó nâng cao nhận thức bảo tồn tài nguyên cây thuốc cho cộng đồng.

- Cần có chương trình phát triển các mô hình trồng cây thuốc trong vườn nhà, hay tập trung xây dựng các vùng chuyên canh trồng các loài cây thuốc có giá trị và có nhu cầu, thông qua đó nhằm loại bỏ những tập tục sống ỷ lại, phụ thuộc vào nguồn tài nguyên sẵn có trong tự nhiên. Chương trình này phải có sự chỉ đạo phối hợp của các ngành liên quan để tranh thủ sự đầu tư của nhà nước cũng như sự tài trợ của các tổ chức trong và ngoài nước.

Qua việc khảo sát việc sử dụng tài nguyên cây thuốc và khả năng phát triển cây thuốc trong vùng, cần thiết phải phát triển những cây thuốc có triển vọng trong vùng, bao gồm:

1. Tom lơ khôi (Khôi) - *Ardisia silvestris* Pit.
2. Sơn thục - *Homalomena occulta* (Lour.) Schott.
3. Vàng đắng - *Coscinium fenestratum* (Gagn.) Colebr.
4. Hoàng đằng - *Fibraurea tinctoria* Lour.
5. Nghệ đen - *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe.
6. Bình vôi tán ngắn -*Stephania sinica* Diels
7. Nhàu núi - *Morinda citrifolia* L.
8. Bách bộ- *Stemona tuberosa* Lour.
9. Chè dây- *Ampelopsis cantoniensis* (Hook. Et Arn.) Planch.
10. Nghệ trắng- *Curcuma aromatica* Salisb.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Khắc Bảo, (1991), Bảo tồn nguồn gen cây thuốc, Nxb Nông nghiệp.
2. Nguyễn Tiến Bân,(1997), Cẩm nang tra cứu và nhận biết các họ thực vật hạt kín ở Việt Nam, NXB Nông nghiệp.
3. Võ Văn Chi, (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB Y học.
4. Vũ Văn Chuyên, Phan Nguyên Hồng, Trần Hợp, (1969, 1971, 1974, 1975, 1976), Cây cỏ thường thấy ở Việt Nam, tập 1,2,3,4,5,6, NXB Khoa học và Kỹ thuật,
5. Phạm Hoàng Hộ, (1991,1992,1993), Cây cỏ Việt Nam, quyển I,II,III .
6. Bộ Lâm nghiệp, Viện Điều tra Quy hoạch, (1987), Những loài thực vật rừng quý hiếm cần được bảo vệ ở Việt Nam.
7. Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, (1996), Sách Đỏ Việt Nam, phần thực vật, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
8. Huỳnh Văn Kéo- Trần Thiện Ân - Trần Khắc Bảo, (2001), Đa dạng sinh học cây thuốc Vườn Quốc gia Bạch Mã.
9. Ngô Quốc Luật, Viện Dược liệu - Tiềm năng và giải pháp thúc đẩy phát triển bền vững nguồn tài nguyên cây thuốc Việt Nam. Báo cáo Tham luận tại Hội thảo Quốc tế về Mạng lưới hoạt động nghiên cứu, bảo tồn, sử dụng bền vững tài nguyên cây thuốc ở Việt Nam và Lào, Ba Vì 27-29/3/2002.

10. Lã Đình Mỡi, (2002), Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Phát triển sử dụng hợp lý và bền vững nguồn tài nguyên thực vật ngoài gỗ ở Việt Nam- Tham luận tại hội thảo quốc gia về nâng cao nhận thức về sử dụng bền vững đa dạng sinh học ở Việt Nam. Hà Nội, 7-8/10/2002.

11. Mohan Karnat, (2002), Thiết lập mạng lưới bảo tồn các loại dược thảo tại miền Nam Ấn Độ - Một sáng kiến tiên phong. Báo cáo Tham luận tại hội thảo quốc tế về mạng lưới hoạt động nghiên cứu, bảo tồn, sử dụng bền vững tài nguyên cây thuốc ở Việt Nam và Lào, Ba Vì 27-29/3/2002.

12. Pie Shengji, Shen Peiquiong, Huangji, (2002), Viện Thực vật học Côn Minh, Trung Quốc-Y học dân tộc và thực vật học dân tộc tại Trung Quốc- Tham luận tại hội thảo quốc tế về mạng lưới hoạt động nghiên cứu, bảo tồn, sử dụng bền vững tài nguyên cây thuốc ở Việt Nam và Lào, Ba Vì 27-29/3/2002.

13. Shen Peipiong, Pei Shengji, (2002), Viện Thực vật học Côn Minh, Trung Quốc- Phát triển thuốc mới từ Y học cổ truyền: nghiên cứu điển hình cây Adenosona buchneroides bonati (Scrophulariaceae)- Báo cáo tham luận tại Hội thảo Quốc tế về Mạng lưới hoạt động nghiên cứu, bảo tồn, sử dụng bền vững tài nguyên cây thuốc ở Việt Nam và Lào, Ba Vì 27-29/3/2002.

14. Gary J. Martin, (1997), Ethnobotany,vol 1.

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CỦA PTEROPODIN (UNCARIA C) TRONG CÂU ĐẰNG LÁ TO (*Uncaria macrophylla* Wall., *Rubiaceae*) THU HÁI Ở LÀO

Kôsỏn sosoulithan, Nguyễn Duy Thuần[1], Phạm Thanh Kỳ [2], Chu Đình Kính[3]

(1) Viện Dược liệu,(2) ĐH Dược Hà Nội, (3)Viện Hóa học – Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

SUMMARY

*Khua Nam Bet (Laos) or Cau dang (Vietnamese) - (**Uncaria macrophylla** Wall., **Rubiaceae**) is a valualble medicinal plant and has been used to treat the hypertention, joint pain, vertigo, diziness, high pyretics and seizer.*

*In order to have the scientific basis for using this plant as a medication, we implemented studies on its phytochemistry. By developing the column choromatography and thin layer choromatography, we isolated a pure compound (**KSO 2**) from the total alcaloids of branches with hooks. The analysis results of IR, UV, MS and NMR spectrum showed that **KSO2** is **pteropodine** (or uncarine C). This is a first time **pteropodine** is found in U. macrophylla of Laos.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khưa nam bết hay câu đằng (***Uncaria macrophylla*** **Wall.**, ***Rubiaceae***), một cây thuốc quý từ lâu đã được đồng bào các dân tộc Lào dùng để chữa các chứng bệnh bệnh cao huyết áp, đau nhức xương khớp và hoa mắt chóng mặt, sốt cao, co giật ở trẻ em. Gần đây, Trung tâm Nghiên cứu Cây cỏ và Động vật làm thuốc của Bộ Y tế Lào đã cho phép các cơ sở điều trị dùng thang thuốc có câu đằng để chữa các chứng bệnh bệnh cao huyết áp, đau nhức xương khớp và hoa mắt chóng mặt, sốt cao, co giật ở trẻ em.

Để có cơ sở khoa học cho việc dùng câu đằng làm thuốc chữa bệnh, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thành phần hoá học của cây thuốc này. Từ đoạn cành mang móc câu đằng, đã phân lập được một chất tinh khiết, ký hiệu KSO2. Các kết quả phân tích phổ cho phép kết luận KSO2 là một alcaloid thuộc nhóm oxindol có tên là pteropodin (Uncarin C). Đây là lần đầu tiên pteropodin được tìm thấy trong câu đằng thu hái ở Lào.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bột alcaloid toàn phần chiết từ cành mang móc của loài câu đằng lá to (***Uncaria macrophylla*** **Wall.**, ***Rubiaceae***), được thu hái tại Bản Văng Khi, thị xã Văng Viêng, tỉnh Viêng Chăn - Trung Lào, thu hái vào tháng 3- 4 và tháng 8-9 năm 2001 và 2002.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

a). Chiết xuất và phân lập các chất: Theo các phương pháp ghi trong tài liệu [3].

b). Xác định điểm chảy trên máy Electrothermal Apparatus của hãng OSI..

c). Nhận dạng chất phân lập được bằng các phương pháp phổ tử ngoại (UV), hồng ngoại (IR), phổ khối (MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): ^{1}H-

NMR, ^{13}C-NMR, DEPT), với các điều kiện như đã ghi trong các tài liệu [2,4,5,6].

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Chiết alcaloid toàn phần từ cành mang móc của câu đằng

Bột dược liệu thô, làm ẩm bằng amoniac 25%, để yên trong 4 giờ. Sau đó chiết xuất alcaloid toàn phần trên bình Soxhlet đến kiệt bằng dung môi là chloroform. Cất thu hồi dung môi được cắn. Hoà tan cắn trong dung dịch H_2SO_4 5%, lọc qua giấy lọc, sau đó kiềm hoá dịch lọc bằng ammoniac đến pH = 8-9. Lắc với cloroform nhiều lần, gộp dịch chiết cloroform, lọc qua giấy lọc có chứa Na_2SO_4 khan. Cất thu hồi dung môi được cắn alkaloid toàn phần, sấy khô ở 60^{0}C.

3.2. Phân lập KSO2

Lấy 1g bột alcaloid toàn phần, triển khai sắc ký cột với chất hấp phụ là silicagel (Merck) và hệ dung môi rửa giải là cloroform – methanol (9:1). Hứng dịch rửa giải trong các ống nghiệm có đánh số thứ tự (mỗi ống nghiệm là một phân đoạn, chứa khoảng 5 ml dịch rửa giải). Gộp các phân đoạn trong các ống nghiệm từ số 5- 25 (có số vết giống nhau trên sắc ký đồ), tiến hành sắc ký lớp mỏng điều chế, chất hấp phụ là silicagel GF_{254} (Merck) và hệ dung môi triển khai là cloroform - aceton - ethylacetat (5:4:3), thu được một chất tinh khiết (55mg), ký hiệu là KSO2.

3.3. Nhận dạng KSO2

- KSO2 là chất vô định hình, màu vàng nhạt, tan trong cloroform, methanol, ether, không tan trong nước; t_{nc}= 209-211^{0}C, góc quay cực là $[\alpha]^{tD}$= -111.
- Phổ tử ngoại (UV) có các đỉnh hấp thụ cực đại ở λ_{max}= 244 nm; 285 nm.
- Phổ hồng ngoại (IR, đo trong KBr): Có các đỉnh hấp thụ mạnh ở (đơn vị cm^{-1}) 437,04; 589,04; 923,19; 1003,94; 1076,34; 1182,15; 1388,21(δ- CH_3), 1457,82(ν- C = C nhân thơm), 1714,01(ν- C = 0), 2869,46; 2926,71(ν- C - H), 3413,27(ν- N-H).

Phân tích phổ của KSO2

+ Phổ khối (MS) chất KS02 cho pic $[M]^+$ = 368 mu tương ứng với công thức $C_{21}H_{24}O_4N_2$, các pic phân mảnh có số khối 351 mu, 337 mu, 325 mu, 309 mu, 293 mu, 281 mu, 223 mu, 146 mu, 117 mu. Sự phân mảnh này phù hợp tới 97% phổ MS của isopteropodin.

+ Trên phổ ^{1}H-NMR của KSO2 có tổng cường độ các giá trị tích phân là 24 tương ứng với 24 proton có trong công thức trên. Mặt khác trên phổ ^{13}C-NMR cũng xuất hiện 21 píc C và khi tổ hợp 3 phổ C13 CPD và DEPT 135, DEPT 90 của KSO2 thấy có: 4CH_2, 9CH, 2CH_3 và 6 C bậc 4 (trong đó có 2 nhóm C=O). Như vậy dữ liệu trên các phổ ^{1}H-NMR và ^{13}C-NMR của hợp chất KSO2 là tương đối phù hợp với công thức của uncarin đã nêu trên. Việc định từng vị trí cộng hưởng của các proton trên phổ ^{1}H-NMR, cũng như xác định vị trí cộng hưởng của các píc C được sự hỗ trợ bởi các phổ thực nghiệm khác như: Phổ DEPT, phổ hai chiều tương tác đồng hạt nhân 2D – COSY, phổ tương tác hai chiều dị hạt nhân là tương tác trực tiếp 2D–HMQC và tương tác xa qua liên kết 2D - HMQC.

Phổ 13C- NMR của KSO2 và phổ 13C- NMR của Pteropodin tư liệu [6], [7]

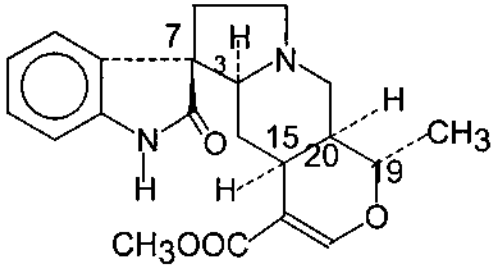
Pteropodin			Hợp chất KSO2		
Vị trí	Nhóm	δ (ppm)	Vị trí	Nhóm	δ (ppm)
2	C=O	181,23	2	C=O	181,56
3	CH	74,43	3	CH	74,38
5	CH_2	55,18	5	CH_2	55,15
6	CH_2	34,67	6	CH_2	34,68
7	C	56,13	7	C	56,14
8	C	133,47	8	C	133,46
9	CH	123,05	9	CH	122,91
10	CH	122,60	10	CH	122,49
11	CH	127,92	11	CH	127,88
12	CH	109,56	12	CH	109,70
13	C	140,77	13	C	140,94
14	CH_2	29,57	14	CH_2	29,53
15	CH	31,00	15	CH	30,99
16	C	109,18	16	C	109,15
17	CH	155,25	17	CH	155,21
18	CH_3	18,97	18	CH_3	18,91
19	CH	72,18	19	CH	72,15
20	CH	37,87	20	CH	37,83
21	CH_2	53,68	21	CH_2	53,65
22	C=O	167,72	22	C=O	167,67
23	OCH_3	50,89	23	OCH_3	50,8

IV. KẾT LUẬN

Từ các dữ liệu phổ được phân tích đã ở trên ta thấy rằng KSO2 là một uncarin có công thức cấu tạo giống như isopteropodin. Bằng việc so sánh phổ ^{1}H-NMR và ^{13}C- NMR của hai hợp chất này, cho thấy chúng hoàn toàn giống nhau, chỉ có một số vị trí thay đổi đó là: Tín hiệu C_3 , H_3 , H_{14} , H_1 trong phổ KSO2 nằm ở trường thấp hơn trong phổ của isopteropodin, điều này được giải thích bởi sự thay đổi cấu hình tại vị trí C_7, ở isopteropodin là 7S còn KSO2 có cấu hình là 7R và sự thay đổi vị trí cộng hưởng của các tín hiệu đã nêu trên là do sự thay đổi cấu hình ở C_7 dẫn đến có sự thay đổi, làm che phủ của cặp electron tự do của hạt nhân *nitro* và ảnh hưởng chắn của vòng thơm. Cùng với việc so sánh phổ thực nghiệm của KSO2 với phổ tư liệu của pteropodin ta thấy hoàn toàn giống nhau. Vậy KSO2 chính là pteropodin. Nó tạo với isopteropodin thành một cặp isomer có cấu hình giống hệt nhau chỉ khác nhau ở vị trí C_7.

Công thức cấu tạo KSO2 là:

3S,7R,19S,20S Pteropodin (uncarin C)



Từ alcaloid toàn phần của câu đằng, bằng các phương pháp sắc ký, chúng tôi đã thu được một chất, ký hiệu KSO2. Các phân tích phổ UV, IR, MS và NMR đã cho biết KSO2 là một uncarin, có tên là pteropodin (Uncarin C). Đây là lần đầu tiên tìm thấy pteropodin trong loài câu đằng lá to thu hái ở Lào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Trại, Kôsổn Sosoulithan, Nguyễn Duy Thuần,(2005), *Khua nam bết (Uncaria macrophylla Wall.)*, một loài cây thuốc dân gian của dân tộc Lào, Tạp chí Dược liệu, Số 4, T. 10, Tr. 108-110.
2. Chu Đình Kính (1997), Các phương pháp phổ trong nghiên cứu hoá học - Bài giảng cho nghiên cứu sinh, Viện Hoá – Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia, Hà Nội.

3. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu (1985), Phương pháp nghiên cứu hoá học cây thuốc, NXB. Y học Hà Nội.

4. Trần Mạnh Bình (2000), Các phương pháp phân tích phổ – Biên giải phổ hồng ngoại, tử ngoại, khối phổ và phổ cộng hưởng từ hạt nhân các hợp chất hữu cơ. Tài liệu sau đại học. Trường đại học Dược Hà Nội.

5. Silverstein. Basslor (1981), Spectrometic identification of organic compounds, New York.

6. J. E. Saxton (1965), *The alcaloid*, Vol. 8, ed. by R. H. F. Manske, Academic Press, New York, Chapter 5.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA LÁ CÂY CHÈ ĐẮNG CAO BẰNG

Bùi Thị Bằng, Trần Thị Diệu Anh, Nguyễn Chiến Binh, Nguyễn Thị Dung, Trịnh Thị Điệp, Đinh Thị Mai Hương, Vũ Thị Hường, Lê Thị Kim Loan, Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Thị Phương, Lê Minh Phương, Nguyễn Trang Thuý,Đặng Văn Tĩnh, Nguyễn Thị Nụ và ctv. *- Viện Dược liệu.*
Nông Đình Hai *- Sở Khoa học - Công nghệ Cao Bằng*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây chè đắng (CĐ) ở Trung Quốc (*Ilex kudincha* C. J. Tseng) đã được sử dụng làm thuốc và làm nước uống từ cách đây 2000 năm. Nước hãm của lá CĐ được dùng rộng rãi như một loại nước uống truyền thống ở các tỉnh phía Nam Trung Quốc. Ngoài ra, lá CĐ còn được sử dụng trong nhân dân để làm thuốc chữa các bệnh viêm họng, sút cân; làm thuốc kích thích hệ thần kinh trung ương; thuốc hạ huyết áp; thuốc tăng lực và kéo dài tuổi thọ. Viện Nghiên cứu các bài thuốc dân gian tỉnh Quảng Tây đã nghiên cứu CĐ làm nước giải khát, hạ nhiệt, thuốc giải độc do rượu và thuốc lá. Lá chè đắng kết hợp với lá bạch quả làm tăng tác dụng đối với tuần hoàn máu và trí nhớ của cả 2 dược liệu [14].

Ở Việt Nam, Nguyễn Tiến Bân và Nguyễn Khắc Khôi đã xác định tên khoa học của cây CĐ mọc ở vùng núi đá vôi thuộc tỉnh Cao Bằng và một số địa phương khác là *Ilex kaushue* S.Y. Hu [1]. Tên Việt Nam: chè đắng, ché khôm, khổ đinh trà. Thành phần hoá học của lá CĐ ở Việt Nam mới chỉ được nghiên cứu sơ

bộ. Đã phát hiện trong lá CĐ thu hái tại Cao Bằng cũng có saponin triterpen tương tự như lá CĐ ở Trung Quốc [5, 10, 11, 12]. Ngoài ra, còn có flavonoid, β - caroten, polysaccharid.

Những người dùng nước uống CĐ hàng ngày cho biết uống nước lá CĐ làm cho người khoẻ mạnh, đỡ mệt mỏi khi làm việc trí óc căng thẳng hoặc gặp những bất lợi về thời tiết như thời tiết quá nóng, CĐ làm cho đầu óc tỉnh táo nhưng không gây mất ngủ.

Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu chiết xuất sản phẩm, thử tác dụng sinh học và bào chế dạng trà tan giải độc và tăng lực từ lá CĐ Cao Bằng. Nội dung nghiên cứu gồm:

+ Nghiên cứu quy trình chiết xuất saponin toàn phần từ lá CĐ.
+ Thử một tác dụng trên thần kinh, tác dụng giải độc, bảo vệ gan của bột saponin chiết xuất từ lá CĐ Cao Bằng.
+ Thử độc tính cấp của bột saponin.
+ Nghiên cứu bào chế trà tan từ saponin CĐ.
+ Xây dựng tiêu chuẩn lá CĐ, bột saponin CĐ và trà tan "Chè đắng Cao Bằng".

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Lá CĐ thu hái tại Cao Bằng do Sở Khoa học – Công nghệ Cao Bằng và Công ty Chè đắng Cao Bằng cung cấp, đã được dùng để chiết xuất sản phẩm saponin toàn phần dùng làm vật liệu nghiên cứu cho đề tài.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu chiết xuất và xây dựng tiêu chuẩn saponin toàn phần từ lá chè đắng

Nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi, nhiệt độ, thời gian chiết lên chất lượng và hiệu suất chiết xuất sản phẩm.

Xây dựng tiêu chuẩn dược liệu và sản phẩm theo Quy chế công bố tiêu chuẩn cơ sở thực phẩm chức năng của Bộ Y tế.

2.2.2. Phương pháp thử tác dụng trên thần kinh

- Sử dụng mô hình chuột bám trên trục quay để đánh giá tác dụng kích thích hoặc ức chế thần kinh trung ương, chống stress, tăng khả năng thích nghi.

- Thử tác dụng trên hoạt động tự nhiên của chuột để đánh giá tác dụng an thần hoặc tác dụng kích thích thần kinh.

- Tác dụng trên khả năng nhận thức và duy trì phản xạ có điều kiện để đánh giá tác dụng của thuốc trên trên khả năng học tập - nhận thức và ghi nhớ.

2.2.3. Phương pháp thử tác dụng giải độc, bảo vệ gan

Sử dụng mô hình gây viêm gan mạn, stress oxy hoá và xơ gan bằng CCl_4 theo phương pháp của Maros và cộng sự [9,13]. Cách tiến hành được mô tả chi tiết trong tài liệu [3].

2.2.4. Phương pháp thử tác dụng chống viêm mạn tính

Áp dụng phương pháp gây u hạt thực nghiệm của Ducrot Julou và cs. Tác nhân gây u hạt là amian [8].

Mẫu thử: Chế phẩm saponin toàn phần chiết xuất từ lá chè đắng.

Động vật thí nghiệm: Chuột cống trắng trưởng thành, có trọng lượng từ 110 - 130g. Chia chuột làm 3 lô:

- 1 lô đối chứng

- 1 lô uống thuốc đối chứng prednisolon, liều 5mg/kg chuột.

- 1 lô uống chế phẩm SF với liều tương đương 15 g lá CĐ khô/kg chuột.

2.2.5. Phương pháp thử độc tính cấp

Theo phương pháp của Tổ chức Y tế Thế giới do PGS. TSKH. Đỗ Trung Đàm biên soạn. Cho chuột uống thuốc bằng kim cong đầu tù bơm thuốc thẳng vào dạ dày chuột. Chuột được để trong phòng thí nghiệm có điều kiện khí hậu đảm bảo cho hoạt động bình thường của chuột. Theo dõi hoạt động, số chuột sống, chuột chết sau 72 giờ uống thuốc.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nghiên cứu phương pháp chiết xuất saponin toàn phần từ lá chè đắng

Đã nghiên cứu phương pháp phòng thí nghiệm chiết xuất saponin toàn phần từ lá chè đắng với hiệu suất chiết từ 9,28 đến 9,97% so với dược liệu khô. Dung môi chiết xuất thích hợp là ethanol. Chiết xuất bằng ethanol có ưu điểm làm cho sản phẩm giữ được hương thơm đặc trưng của lá chè đắng.

Đã nghiên cứu quy trình chiết xuất saponin toàn phần từ lá chè đắng ở quy mô pilot. Kết quả thu được trình bày ở bảng 1:

Bảng 1. **Kết quả chiết xuất saponin CĐ quy mô pilot (năm 2004)**

Mẻ chiết	Khối lượng lá chè đắng chè đắng khô (kg)	Khối lượng saponin (kg)	Hiệu suất (% so với lá chè đắng khô)	Hàm lượng saponin (% trong chế phẩm khô tuyệt đối)
1	10	1,5	15	36,38
2	10	1,3	13	31,79
Trung bình		1,4	14	34,09

Năm 2005, đã triển khai chiết xuất với khối lượng 50 kg lá khô/mẻ x 2 mẻ. Kết quả cho hiệu suất chiết là 17,27% và hàm lượng saponin toàn phần trong sản phẩm là 32,88%.

Kinh nghiệm cho thấy hàm lượng saponin trong sản phẩm và hiệu suất chiết xuất phụ thuộc vào chất lượng của lá chè đắng.

3.2. Nghiên cứu tác dụng trên thần kinh của saponin chè đắng

** Trên mô hình chuột chạy trên trục quay*

Kết quả: Cho chuột uống cao nước và saponin chè đắng với liều ~20g lá chè đắng khô/kg chuột/ngày x 17 ngày đã làm tăng đáng kể thời gian bám của chuột trên trục quay so với lô đối chứng tăng từ 4688,8 % (chuột uống saponin) đến 5270,0% (chuột uống cao nước) so với lô đối chứng. Sự khác biệt giữa 2 lô chuột uống chè đắng với lô đối chứng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả bước đầu này gợi ý giả thiết cao nước và saponin chè đắng có tác dụng trên thần kinh theo hướng kích thích thần kinh, chống stress, tăng khả năng thích nghi và có thể làm tăng khả năng làm việc trí óc.

** Tác dụng trên khả năng nhận thức và duy trì phản xạ có điều kiện*

Để kiểm tra kết quả trên chúng tôi đã tiến hành thử tác dụng của lá chè đắng trên khả năng học tập và duy trì phản xạ có điều kiện của chuột. Chuột thí nghiệm đươc uống chế phẩm saponin chè đắng với liều ~15g lá chè đắng khô/kg 30 phút trước khi thí nghiệm. Các thông số chính để đánh giá khả năng học tập và duy trì phản xạ có điều kiện gồm số ngày học tập để hình thành phản xạ và số ngày dập tắt phản xạ. Các thuốc có tác dụng kích thích thần kinh trung ương làm tăng khả năng nhận thức và duy trì phản xạ sẽ làm rút ngắn thời gian học tập phản xạ và làm tăng số ngày duy trì phản xạ.

Kết quả thử nghiệm cho thấy saponin chè đắng có tác dụng rút ngắn thời gian học tập phản xạ có điều kiện so với chứng nhưng không nhiều (giảm 8,57% số ngày so với chứng). Trong khi đó saponin chè đắng lại có tác dụng kéo dài thời

gian duy trì phản xạ đã học được, làm tăng thời gian duy trì phản xạ 69,14% so với lô chuột đối chứng. Kết quả này cho phép giả thiết saponin chè đắng có tác dụng trên trí nhớ: làm tăng khả năng nhận thức và duy trì nhận thức.

** Tác dụng trên hoạt động tự nhiên của chuột*

Nghiệm pháp thử tác dụng trên hoạt động tự nhiên của chuột dùng để đánh giá tác dụng của thuốc trên thần kinh trung ương. Nếu thuốc có tác dụng an thần thì thuốc sẽ làm giảm hoạt động của chuột. Ngược lại, nếu thuốc có tác dụng kích thích thần kinh sẽ làm tăng hoạt động tự nhiên của chuột.

Chuột thí nghiệm được đặt vào lồng rung nối với biến năng đẳng trương rồi truyền qua máy ghi để ghi hoạt động của chuột. Cho chuột uống saponin chè đắng với các liều tương đương 5, 10 và 15 g lá chè đắng khô/kg chuột 20 phút trước khi thí nghiệm. Kết qủa cho thấy với cả 3 liều thử saponin chè đắng có tác dụng làm giảm hoạt động của chuột 39,26 đến 67,14% so với lô chứng. Kết quả này cho thấy saponin chè đắng có thể có tác dụng an thần, trấn tĩnh ngay sau khi uống 20 phút.

Tổng hợp kết quả thí nghiệm trên 2 mô hình: mô hình trên trục quay và mô hình lồng rung cho giả thiết là chè đắng có tác dụng an thần ngay sau khi uống liều thấp và có tác dụng kích thích thần kinh khi uống liều cao saponin chè đắng dài ngày.

3.3. Nghiên cứu tác dụng giải độc, bảo vệ gan của saponin chè đắng

Tác dụng bảo vệ gan của saponin chè đắng được đánh giá dựa trên tác dụng lên hoạt độ của men gan GPT và bilirubin ở chuột bị gây viêm gan mạn tính bằng CCl_4. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. **Hoạt độ của men gan GPT và hàm lượng bilirubin/huyết thanh ở các lô chuột thí nghiệm**

Mẫu thuốc	*Chỉ tiêu đánh giá*	*Lô chuột thí nghiệm*			*% giảm so với lô gây bệnh*	$P_{2,3}$
		Đối chứng sinh lý (1)	Đối chứng bệnh lý (2)	Thử thuốc (3)		
Saponin CĐ	GPT (U/lit)	49,69 ± 2,18	78,63 ± 5,89	56,59 ± 2,35	28,03	<0,01
	bilirubin (µmol/l)	1,497 ± 0,16	1,830 ± 0,11	1,628 ± 0,09	11,96	<0,25
Thuốc cugama	GPT (U/lit)	49,69 ± 2,18	78,63 ± 5,89	53,29 ± 1,67	32,23	<0,001
	bilirubin (µmol/l)	1,50 ± 0,16	1,83 ± 0,11	1,66 ± 3,52	9,29	<0,25

** Cugama: Là thuốc hỗ trợ điều trị viêm gan bào chế từ hỗn hợp sylimarin của quả cúc gai với mã đề đã được nghiên cứu tại Viện Dược liệu.*

Nhận xét: Chế phẩm saponin chè đắng có tác dụng giảm 28,03% hoạt độ của men gan GPT so với lô chuột bệnh lý không được điều trị. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê. Mức giảm hoạt độ của men gan của chế phẩm saponin chè đắngchè đắng thấp hơn thuốc cugama không đáng kể nhưng mức giảm bilirubin lại cao hơn cugama.

- ***Tác dụng ức chế colagen gan***

Tác dụng dụng ức chế sự hình thành collagen trong gan chuột của saponin chè đắng đã được nghiên cứu trên mô hình gây viêm gan mạn. Hàm lượng collagen biểu hiện sự tiến triển của qúa trình viêm gan và mức độ xơ hoá gan. Bảng 3 là kết quả xác định hàm lượng colagen trong gan của các lô chuột thí nghiệm: Lô gây viêm gan mạn không được điều trị, lô gây viêm gan mạn được điều trị bằng chế phẩm saponin CĐ và lô điều trị bằng thuốc đối chứng cugama.

Bảng 3. **Hàm lượng collagen gan trong gan chuột thí nghiệm**

TT	*Lô chuột*	Hàm lượng collagen (mg/100g gan tươi)	% giảm collagen so với chứng bệnh lý	P
1	*Chứng sinh lý (1)*	132,5 ± 3,02	-	-
2	Chứng bệnh lý (2)	195,3 ± 15,1	-	-
3	Saponin CĐ (3)	135,5 ± 4,5	30,6	< 0,05
4	Thuốc cugama (4)	149,9 ± 9,1	23,2	< 0,05

Nhận xét: Saponin chè đắng làm giảm 30,6% hàm lượng collagen trong gan so với chứng bệnh lý (mức giảm nhiều hơn so với thuốc cugama). Sự khác nhau giữa lô dùng thuốc và lô đối chứng bệnh lý có ý nghĩa thống kê ($P_{2,3} < 0,05$).

- ***Hoạt tính chống oxy hoá***

Hoạt tính chống oxy hoá được coi là một cơ chế bảo vệ gan, chống lại các tác nhân gây độc gan. Vì vậy để tiếp tục chứng minh tác dụng bảo vệ gan chúng tôi đã xác định hoạt tính chống oxy hoá của saponin chè đắng trên chuột bị gây độc bằng CCl_4. Hoạt tính chống oxy hoá được đánh giá dựa trên hàm lượng MDA tạo thành trong gan chuột. Kết quả thu được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. **Hoạt tính chống oxy hoá của saponin chè đắng**

Số TT	Lô chuột	D (mật độ quang)	*HTCO (% giảm so với chứng bệnh lý)*	*P*
1	*Chứng sinh lý (1)*	0,441 ± 0,013	-	-
2	Chứng bệnh lý (2)	0,690 ± 0, 014	-	-
3	Saponin CĐ (3)	0,522 ± 0,016	24,34	$P_{2,3}$ <
4	Thuốc cugama (4)	0,499 ± 0,017	27,68	$P_{2,4} < 0,05$

**HTCO: Hoạt tính chống oxy hoá*

Nhận xét: Saponin chè đắng có tác dụng làm giảm 24,34% lượng MDA so với mẫu chứng bệnh lý. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (P < 0,05). Hoạt tính chống oxy hoá của chè đắng yếu hơn hoạt tính chống oxy hoá của thuốc cugama.

• ***Tổ chức học tế bào gan***

* ***Đại thể:*** Nhìn đại thể các lô thí nghiệm cho thấy:

+ Lô chứng sinh lý: Gan mịn, mặt gan nhẵn bóng màu nâu đỏ

+ Lô chứng bệnh lý: Toàn bộ gan đều bị xơ, có nhiều hạt nhỏ nổi lên mặt gan, gan to, xốp, mật độ chắc.

+ Các lô điều trị bằng thuốc: Mặt gan rỗ, gan vẫn bị tổn thương nhưng có nhiều con tình trạng gan có được cải thiện hơn, mật độ tương đối mềm, gan to, màu vàng sẫm.

* Vi thể:

+ Lô chứng sinh lý: Tất cả các mẫu gan đều có cấu trúc bình thường: cấu trúc bè gan nguyên vẹn, khoảng cửa rõ, tế bào gan bình thường.

+ Lô chứng bệnh lý: Nhiều chỗ cấu trúc bè gan bị phá vỡ hoàn toàn, tế bào gan bị hoại tử, thoái hoá, giữa các bè gan xuất hiện những vạch xơ, tăng sinh nhiều mạch máu.

+ Lô thử saponin CĐ: Gan tuy vẫn bị tổn thương nhưng có nhiều chỗ cấu trúc bè gan còn nguyên vẹn. Xơ cũng có nhưng ít hơn. Tăng sinh nhiều mạch máu.

+ Lô thử thuốc cugama: Gan vẫn còn bị tổn thương, tuy nhiên mức độ nhẹ hơn so với chứng bệnh lý. Xen kẽ những bè gan bị phá huỷ là những bè gan tương đối nguyên vẹn, xơ cũng có nhưng ít hơn.

3.4. Tác dụng chống viêm cấp của saponin chè đắng

Bảng 5. **Tác dụng của saponin chè đắng trên độ phù của bàn chân chuột**

Độ phù chân chuột	Lô đối chứng (1) n=8	Lô thuốc (2) liều 15g DL/kg (n=9)	Lô thuốc (3) liều 20g DL/kg (n=8)
Trung bình (%)	83,43 ± 8,72	50,94 ± 3,73 ($P_{1,2} < 0.05$)	52,80 ± 6,13 ($P_{1,3} < 0,05$)
Tỷ lệ ức chế phù so với đối chứng (%)		32,49	30,63

Nhận xét: Saponin chè đắng được cho chuột uống với liều ~ 15g dược liệu/kg và 20g dược liệu/kg đều có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm cấp thực nghiệm. Cả hai liều thử đều có tác dụng ức chế phù chân chuột, sự khác nhau giữa lô chuột đối chứng và lô chuột được điều trị bằng saponin chè đắng có ý nghĩa thống kê.

3.5. Tác dụng chống viêm mạn tính của saponin chè đắng chè đắng

Bảng 6: **Tác dụng của saponin chè đắng trên trọng lượng khối u (mg)**

Lô chuột / Chỉ tiêu so sánh	Đối chứng (n=8) (1)	Prednisolon (n=6) (2)	Saponin (n=8) (3)
Trọng lượng khối u (mg)	223,59±15,72	160,91±17,84	155,12±12,60
Tỷ lệ % giảm khối u		28,03	30,62
P		$P_{1,2} < 0,05$	$P_{1,3} < 0,05$

Nhận xét: Saponin CĐ có tác dụng chống viêm mạn rõ rệt trên mô hình gây viêm mạn thực nghiệm, làm giảm có ý nghĩa thống kê 30,62% trọng lượng khối u so với đối chứng. Mức độ giảm trọng lượng khối u của saponin chè đắng nhiều hơn mức giảm của prednisolon liều 5 mg/kg.

3.6. Kết qủa thử độc tính cấp của saponin chè đắng

Cho 5 lô chuột, mỗi lô 10 con, uống saponin chè đắng liều tăng dần tương đương với từ 200g/kg; 220g/kg; 240g/kg; 280g/kg và 300g lá chè đắng khô/kg chuột. Liều 300g/kg là liều tối đa mà dạ dày chuột có thể chịu đựng được.

Cả 5 lô chuột, sau 72 giờ uống thuốc đều không có chuột nào chết. Tình trạng chuột khoẻ mạnh, ăn uống bình thường.

* ***Kết luận:*** Không xác định được LD_{50} của saponin chè đắng. Liều 300g dược liệu/kg không có chuột chết. Chè đắng hoàn toàn an toàn cho người sử dụng.

3.7. Nghiên cứu bào chế trà tan "Chè đắng Cao Bằng"

Đã nghiên cứu 6 công thức và lựa chọn được 2 công thức thích hợp (công thức 5 và 6) đã chọn công thức 5 và xây dựng quy trình sản xuất trà tan "Chè đắng Cao Bằng" thuận tiện cho sử dụng, bảo quản, kiểm soát chất lượng và phù hợp với thị hiếu của người sử dụng.

Công thức 5 trà tan như sau:

Bột saponin chè đắng	0,1 (g)
Lactose (g)	1,84
Na.CMC (g)	0,06

3.8. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu, bán thành phẩm và thành phẩm trà tan

* ***Tiêu chuẩn nguyên liệu - lá chè đắng Cao Bằng:*** Kết qủa khảo sát hàm lượng saponin trong lá chè đắng thu hái vào các thời điểm khác nhau trong năm, trên các cây có tuổi khác nhau và lá non, lá già, lá trưởng thành cho thấy hàm lượng saponin rất khác nhau. Dựa trên kết quả nghiên cứu chúng tôi quy định hàm lượng saponin toàn phần trong lá chè đắng không thấp hơn 7% trong lá khô - làm nguyên liệu chiết xuất saponin.

****Tiêu chuẩn bán thành phẩm - bột saponin toàn phần:*** Hàm lượng saponin toàn phần trong chế phẩm phụ thuộc vào hàm lượng saponin trong lá chè đắng khi đưa vào chiết xuất. Vì vậy, căn cứ trên một số mẻ chiết quy mô pilot, chúng tôi quy định hàm lượng saponin trong chế phẩm không thấp hơn 25%.

****Tiêu chuẩn trà tan "Chè đắng Cao Bằng":*** Tiêu chuẩn trà tan được xây dựng và soạn thảo theo mẫu quy định của Cục Vệ sinh - An toàn thực phẩm – Bộ Y tế cho thực phẩm chức năng. Chỉ tiêu chất lượng của trà tan được quy định là hàm lượng saponin toàn phần không dưới 30 mg trong 1 gói trà 2 gam. Các chỉ tiêu khác theo quy định của Bộ Y tế về an toàn thực phẩm.

Trà tan "Chè đắng Cao Bằng" đang được Công ty Chè đắng Cao Bằng sản xuất và bán trên thị trường.

IV. BÀN LUẬN KẾT QUẢ

Ở Việt Nam, Nguyễn Tiến Bân và Nguyễn Khắc Khôi đã xác định tên khoa học của cây chè đắng mọc ở vùng núi đá vôi thuộc tỉnh Cao Bằng và một số địa phương khác là *Ilex kaushue* S.Y. Hu [1]. Tên Việt Nam: chè đắng, chè khôm, khổ đinh trà.

Thành phần hoá học của lá cây chè đắng: Đã định tính và xác định hàm lượng các nhóm chất sau đây trong lá chè đắng [5]:

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

Trong số các nhóm chất trên, các nhóm chất có khả năng có tác dụng trung hoà các gốc tự do, chống peroxyd hoá màng tế bào và bảo vệ tế bào gan được biết là saponin, flavonoid và carotenoid. Vì vậy chúng tôi đã tiến hành chiết xuất sản phẩm saponin toàn phần từ lá chè đắng có hàm lượng saponin từ 31,79 – 36,38% và flavonoid từ 7 - 10%.

*** Tác dụng sinh học:** Kết quả nghiên cứu tác dụng trên thần kinh và trên gan thu được trên đây cho thấy saponin chè đắng có thể là sản phẩm đa tác dụng.

- ***Tác dụng trên thần kinh:***

Kết quả nghiên cứu của Viện Dược liệu và Trường đại học Y Thái Nguyên đã chứng minh lá chè đắng thu hái tại Cao Bằng có tác dụng kích thích thần kinh trung ương khi uống dài ngày và có tác dụng an thần ngay sau khi uống nước lá chè đắng. Thử tác dụng saponin chè đắng trên khả năng học tập phản xạ có điều kiện và duy trì nhận thức cho thấy chè đắng có tác dụng tăng khả năng học tập phản xạ có điều kiện và duy trì phản xạ học được lâu hơn so với chuột không được uống chè đắng.

Những tác dụng trên đây rất gần với tác dụng của các dược liệu chống suy giảm trí nhớ, chống suy nhược thần kinh ở người cao tuổi. Kết quả này cũng mở ra khả năng sử dụng chè đắng cho người cao tuổi.

- ***Tác dụng hạ huyết áp:***

Tác dụng hạ huyết áp của lá chè đắng đã được nghiên cứu trên động vật thực nghiệm [4]. Trong thí nghiệm trên bệnh nhân tăng huyết áp vô căn điều dưỡng tại Bệnh viện Điều dưỡng và phục hồi chức năng tỉnh Thái Nguyên, Nông Thị Nga

đã kết luận lá chè đắng có tác dụng hạ huyết áp, an thần, tăng cường giấc ngủ sâu và dài. Lá chè đắng cũng cải thiện một số chỉ tiêu chủ quan như đau đầu, chóng mặt, choáng váng, tê mỏi chân tay, đau tức ngực trái. Lá chè đắng cũng làm giảm hàm lượng cholesterol trong máu [6].

Những kết quả thu được trên đây cho thấy chè đắng có tác dụng tăng cường sức khoẻ cho người lao động trí óc, đồng thời lại có tác dụng an thần - có ích cho người bị suy nhược thần kinh, chống giảm trí nhớ. Ngoài ra chè đắng còn có tác dụng hạ cholesterol, hạ huyết áp. Trên thực tế, hiện nay những người cao tuổi đều rất thích uống chè đắng.

- ***Tác dụng giải độc, bảo vệ gan:***

Kết quả thử tác dụng giải độc, bảo vệ gan của chè đắng trên mô hình gây tổn thương gan bằng CCl_4 cho thấy chè đắng có tác dụng bảo vệ gan, thể hiện trên tác dụng giảm độ tăng men gan PGT, bilirubin và giảm hàm lượng colagen ở chuột gây tổn thương gan và gây xơ gan bằng CCl_4. Chè đắng còn có tác dụng chống oxy hoá, bảo vệ màng tế bào gan khỏi các tác dụng độc hại của CCl_4. Sự khác biệt giữa lô điều trị và lô chứng ở tất cả các chỉ tiêu đều có ý nghĩa thống kê. Saponin chè đắng có thể dùng phòng độc hại cho người lao động trong môi trường độc hại kéo dài do nghề nghiệp hoặc môi trường. Các tác giả Trường đại học Y Thái Nguyên cũng thu được kết quả tương tự khi thử tác dụng của dịch chiết lá chè đắng trên chuột bị gây độc bằng dioxin (2,4D) [7]. Tác dụng giải độc, bảo vệ gan của chè đắng đã được khẳng định khi thử nghiệm trên một số chỉ số sinh học của dân cư sống xung quanh vùng khai thác thiếc Sơn Dương của Trường đại học Y Thái Nguyên [2].

Trên cơ sở kinh nghiệm sử dụng lá CĐ trong dân gian ở Việt Nam và Trung Quốc, kết hợp kết quả nghiên cứu và sử dụng chè đắng ở Trung Quốc hiện nay với kết quả nghiên cứu về các tác dụng của lá chè đắng thu hái tại Cao Bằng của Viện Dược liệu, Trường đại học Y Thái Nguyên có thể kết luận lá chè đắng thu hái tại Cao Bằng có nhiều tác dụng khác nhau:

- Tác dụng kích thích thần kinh khi uống dài ngày.
- Tác dụng an thần ngay sau khi uống.
- Tác dụng hạ huyết áp.
- Tác dụng hạ cholesterol.
- Tác dụng giải độc, bảo vệ gan.

- ***Độc tính cấp***

Saponin chè đắng hoàn toàn không độc trên chuột vì trong thử nghiệm độc tính cấp đã không xác định được LD_{50} của saponin chè đắng. Vì vậy có thể an toàn cho người sử dụng. Kết quả thử nghiệm trên bệnh nhân cao huyết áp và trên dân cư sống xung quanh vùng ở Sơn Dương cũng cho thấy chè đắng không độc đối với tế bào gan, men gan SGOT và SGPT không thay đổi. Không nhận thấy các tác dụng phụ không mong muốn [2, 6].

- ***Nghiên cứu quy trình chiết xuất saponin toàn phần từ lá chè đắng***

Saponin có thể là thành phần hoạt chất của lá chè đắng. Kết quả thực nghiệm trên đã góp phần khẳng định giả thiết này. Đã nghiên cứu quy trình pilot chiết xuất saponin toàn phần từ lá chè đắng đạt 13 – 17%, hàm lượng saponin toàn phần trong chế phẩm đạt 31,79 – 36,38% so với khối lượng khô tuyệt đối của chế phẩm (bảng 2).

- ***Nghiên cứu sản phẩm mới từ lá chè đắng Cao Bằng***

Đã nghiên cứu bào chế trà tan "Chè đắng Cao Bằng" và xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu, bán thành phẩm và trà tan dưới dạng thực phẩm chức năng. Trà tan "Chè đắng Cao Bằng" đang được sản xuất và bán trên thị trường. Bước đầu được người dùng ưa chuộng.

V. KẾT LUẬN

1. Đã xây dựng quy trình chiết xuất pilot saponin từ lá chè đắng với hiệu suất đạt 13 – 17% so với khối lượng lá khô, hàm lượng saponin toàn phần trong chế phẩm đạt 31,79 – 36,38% so với khối lượng khô tuyệt đối của chế phẩm.
2. Lá chè đắng có tác dụng bảo vệ gan, thể hiện trên tác dụng giảm độ tăng men gan GPT, bilirubin và giảm lượng collagen ở chuột gây tổn thương gan và gây xơ gan bằng CCl_4. Sự khác biệt giữa lô điều trị và lô đối chứng ở tất cả các chỉ tiêu đều có ý nghĩa thống kê.
3. Lá chè đắng có tác dụng chống oxy hoá, làm giảm lượng MDA 24,34% so với mẫu chứng bệnh lý. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).
4. Lá chè đắng có tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt bằng amian trên chuột cống trắng, làm giảm có ý nghĩa thống kê 30,62% trọng lượng khối u so với chứng.

5. Lá chè đắng có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm cấp thực nghiệm, làm giảm có ý nghĩa thống kê 32,49% độ phù bàn chân chuột so với lô đối chứng.
6. Không xác định được LD_{50} của chế phẩm saponin chè đắng. Cho chuột uống saponin chè đắng tới liều ~ 300g dược liệu/kg thể trọng chuột, không có chuột chết. Chứng tỏ chế phẩm này có độc tính cấp rất thấp và có thể an toàn cho người sử dụng.
7. Đã xây dựng được 2 công thức bào chế cho trà tan "Chè đắng Cao Bằng" thuận tiện cho sử dụng, vận chuyển, bảo quản và kiểm soát chất lượng.
8. Đã xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho lá chè đắng, bột saponin toàn phần và trà tan "Chè đắng Cao Bằng".
9. Trà tan "Chè đắng Cao Bằng" – một sản phẩm mới từ lá chè đắng là kết quả hợp tác nghiên cứu giữa Viện Dược liệu với Sở Khoa học-Công nghệ và Công ty Chè đắng Cao Bằng đã được phép sản xuất và bán trên thị trường dưới dạng thực phẩm chức năng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. 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.
2. Hoàng Hải Bằng và ctv, (2003), Nghiên cứu tác dụng của dịch chiết là chè đắng đối với một số chỉ số sinh học của dân cư sống xung quanh vùng khai thác thiếc Sơn Dương. Nội san Khoa học Công nghệ Y Dược miền núi, số 2, 27 –32.
3. Bùi Thị Bằng, Nguyễn Chiến Binh, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Kim Phượng, Đinh Thị Mai Hương, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Trang Thuý, Nguyễn Thị Chinh, Lê Minh Phương và CTV. (Viện Dược liệu). Nông Đình Hai (Sở Khoa học - Công nghệ Cao Bằng), 2004, Tác dụng chống viêm gan và ức chế xơ gan của chế phẩm chiết xuất từ lá chè đắng (*Ilex Kaushue* S. Y. Hu) thu hái tại Cao Bằng. Tạp chí Dược liệu T.9, số 5, 145 – 150.
4. Phan Văn Các, Nông Thanh Sơn, Đỗ Minh Thanh và cs, (2004), Nghiên cứu sơ bộ cơ chế hạ huyết áp của dịch chiết lá chè đắng (Ilex Kaushue S.Y.HU) trên động vật thực nghiệm. Nội san KH-CN Y Dược miền núi, số 4, 10 - 16.

5. Nông Đình Hai, Hoàng Thị Lệ, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Minh Châu, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Văn Tài, (2001), Nghiên cứu định tính, định lượng một số nhóm chất trong cây chè đắng (*Ilex kaushue* S.Y.Hu). Tạp chí Dược liệu t. 6, số 1, 3 – 6

6. Nông Thị Nga, (2003), Nghiên cứu tác dụng hạ huyết áp và thay đổi hàm lượng cholesterol máu của dịch chiết lá cây chè đắng tại Bệnh viện Điều dưỡng và Phục hồi chức năng tỉnh Thái Nguyên. Luận án Thạc sĩ Y học, Thái Nguyên.

7. Nông Thanh Sơn và ctv, (2001), Nghiên cứu tác dụng của dịch chiết là chè đắng đối với nhiễm độc 2,4 D trên động vật thực nghiệm. Nội san Khoa học - Công nghệ Y Dược miền núi, số 2, 18 – 36.

8. Ducrot, Zulou L. et al., (1963), Ann. Pharm. Fr. 21, 703 – 717.

9. Maros, T., Lakatos., (1971), On the anticirrhotic effect of certain Biologycall active short- chai thiamino-acids-arzneimittel forsch, 21 (2), 257.

10. Ming-An Ouang et al., (1996), Triterpenes and triterpenoid glycosides from the leaves of *Ilex kudincha*. Phytochemistry, 41(3), 871-877.

11. Nishimura K., Miyase T., Noguchi H., (1999), Triterpenoid saponin from *Ilex kudincha*. J. Nat. Prod. 62(8): 1128 – 1133.

12. Ouyang MA, Yang CR, Wu ZJ., (2001), Triterpenoid saponin from the leaves of *Ilex kudincha*. J. Asean Nat. Prod. Res. 3 (1): 31 – 42.

13. Pesson M. J. Sall, C. Auffret,(1965), Screening methods in Pharmacology by Robert A. Turner, 229 – 230.

14. Subhuti Dharmananda. Ku Ding cha. (6/11/03)

15. Turner R. A.,(1965), Screening methods in Pharmacology. Vol. 1, Test for hepatotocity, 299 – 300.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE HUYẾT CỦA CHIẾT PHẨM STEVIOSID TỪ LÁ CỦA CÂY CỎ NGỌT TRỒNG Ở VIỆT NAM TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Đỗ Thị Phương, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Bích Thu - Viện Dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, bệnh đái tháo đường đã thật sự trở thành mối lo chung của toàn xã hội. Bệnh có chiều hướng tăng rõ rệt theo thời gian và sự tăng trưởng kinh tế [9]. Do tốc độ phát triển nhanh của bệnh, nên nhu cầu điều trị đái tháo đường cũng tăng nhanh. Bên cạnh các thuốc có nguồn gốc tổng hợp, các nguồn thuốc thảo dược cũng đang được quan tâm và phát triển.

Trước đây, lá cỏ ngọt (*Stevia rebaudiana*) đã được dùng để chữa đái tháo đường [8], nhưng với quan niệm cho là do cỏ ngọt có vị ngọt làm cho bệnh nhân giảm ăn đường, nên glucose huyết giảm. Gần đây, một số nhà khoa học đã chứng minh chính bản thân steviosid có tác dụng làm giảm glucose huyết [5], [7]. Ở Việt Nam, chưa có một công trình nào trong nước nghiên cứu một cách đầy đủ về tác dụng của nó. Vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài "*Nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết của chiết phẩm steviosid từ lá của cây cỏ ngọt trồng ở Việt Nam trên động vật thực nghiệm*", với mục tiêu:

1. Chiết xuất một chiết phẩm steviosid có hàm lượng steviosid cao từ lá của cây cỏ ngọt để nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết và làm bán thành phẩm cho sản xuất thuốc.
2. Chỉnh lý mô hình nghiên cứu thuốc chữa đái tháo đường thực nghiệm ở chuột nhắt trắng trong điều kiện của Việt Nam.
3. Nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết và sơ bộ tìm hiểu cơ chế tác dụng của chiết phẩm steviosid.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Chiết phẩm steviosid chiết từ lá cỏ ngọt.

- Động vật thí nghiệm:

* Chuột nhắt trắng Swiss, 20- 22 g, khoẻ mạnh, cả đực và cái

* Thỏ khoẻ mạnh, cả 2 giống, cân nặng 1,8-2,2 kg

- Các loại dung môi, hoá chất chiết xuất đạt yêu cầu về chất lượng và độ tinh khiết do các hãng trong và ngoài nước cung cấp.

- Các thuốc và hoá chất dùng trong nghiên cứu sinh học: Alloxan, insulin, minidiab, apo-clorpropamid.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất steviosid từ lá cỏ ngọt

- Theo phương pháp chiết với ethanol 80^0

- Phân tích chiết phẩm steviosid chiết được bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

2.2.2. Nghiên cứu diễn biến glucose huyết (GH) trong ngày ở động vật ăn uống bình thường

Thí nghiệm được tiến hành ở thỏ và chuột nhắt trắng. Chọn động vật trưởng thành, khoẻ mạnh, không phân biệt đực cái.

Vào buổi sáng khi chưa cho ăn (0 giờ), sau khi ăn được 1 giờ và 5 giờ, lấy máu xác định glucose huyết.

2.2.3. Nghiên cứu diễn biến GH khi đói ở động vật [6]

Thí nghiệm được tiến hành ở thỏ và chuột nhắt trắng.Cho động vật thí nghiệm nhịn đói từ chiều hôm trước, đến sáng hôm sau lấy máu định lượng glucose huyết (từ lúc không cho ăn đến lúc lấy máu lần thứ nhất khoảng 16 giờ). Tiếp tục để động vật nhịn đói, sau đó, 4 giờ, 8 giờ và 16 giờ, lấy máu để định lượng glucose huyết.

2.2.4. Xác định liều alloxan làm tăng GH ở chuột nhắt trắng

Đã có nhiều tác giả nghiên cứu thuốc chống ĐTĐ trên mô hình gây tăng GH bằng alloxan [6].Xác định glucose huyết lúc đói vào các ngày 2, 4, 8, sau khi tiêm alloxan để xem vào ngày nào glucose huyết tăng nhiều nhất và kéo dài được bao lâu. Thử thuốc nghiên cứu vào ngày glucose huyết bắt đầu đạt mức cao nhất là thích hợp nhất.

2.2.5. Nghiên cứu tác dụng của steviosid trên GH ở chuột nhắt trắng bình thường khi đói, có so sánh với glipizid và clorpropamid

Nhiều tác giả đã nghiên cứu tác dụng của thuốc trên GH của chuột nhắt trắng bình thường khi đói [8], [10].

Chọn chuột nhắt trắng trưởng thành khoẻ mạnh, không phân biệt đực cái, chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 12 con. Lô chứng sinh lý cho uống nước cất, lô uống steviosid: uống liều 100 mg và 200 mg/ kg, lô uống glipizid: uống liều 2 mg/ kg, lô uống clorpropamid: uống liều 50 mg/ kg.

Để chuột nhịn đói 16 giờ, xác định glucose huyết vào các thời điểm 0 giờ (trước khi dùng thuốc) và 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ sau khi dùng thuốc.

2.2.6. Nghiên cứu tác dụng của steviosid trên chuột nhắt trắng bị tăng GH do alloxan, có so sánh với insulin và glipizid

Thí nghiệm được tiến hành trên mô hình gây tăng GH ở chuột nhắt trắng bằng alloxan [6]. Chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 8 con. Lô đối chứng gây bệnh: tiêm tĩnh mạch (i.v) alloxan và cho uống nước cất, lô gây bệnh + uống steviosid 200 mg và 400 mg/kg, lô gây bệnh + uống glipizid 2 mg và 4 mg/kg, lô gây bệnh + tiêm i.v. insulin 1đvqt/kg.

Tiêm alloxan 60 mg/ kg cho mỗi chuột. Đến ngày thứ 8 tính từ sau khi tiêm alloxan, cho chuột nhịn đói trước 16 giờ, xác định GH trước khi dùng thuốc (0 giờ), sau khi dùng thuốc 2 giờ, 4 giờ và 6 giờ. Riêng đối với insulin, định lượng thêm GH ở thời điểm sau khi tiêm 1 giờ.

2.2.7. Phương pháp định lượng glucose huyết và xử lý các kết quả nghiên cứu

Định lượng glucose trong huyết thanh bằng phương pháp GOD, thực hiện trên máy sinh hoá bán tự động SCOUT.

Các kết quả nghiên cứu được biểu thị bằng trị số trung bình cộng trừ sai số chuẩn (M± SE). Đánh giá so sánh giữa các lô được xử lý bằng nghiệm pháp t của Student dùng Microsoft Excel.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả chiết xuất steviosid từ lá cỏ ngọt

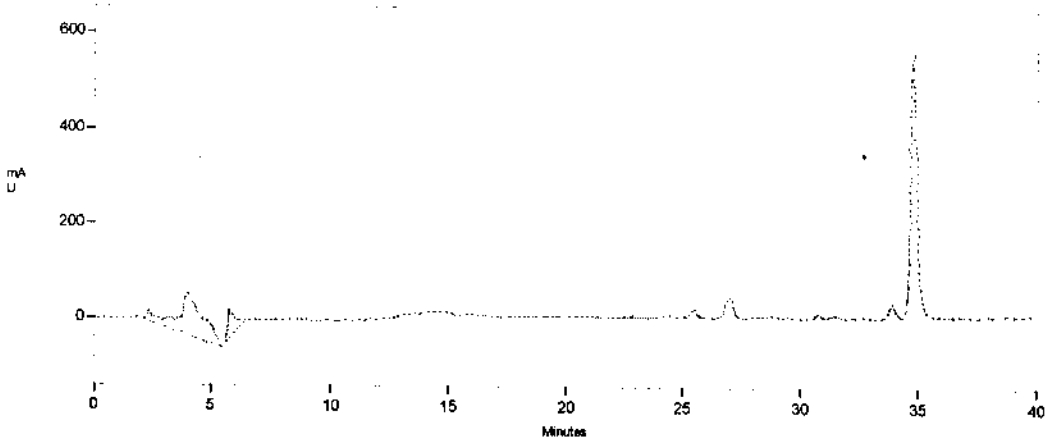
3.1.1. Kết quả chiết xuất steviosid

Bột chiết phẩm steviosid thu được có màu trắng ngà, vị ngọt.

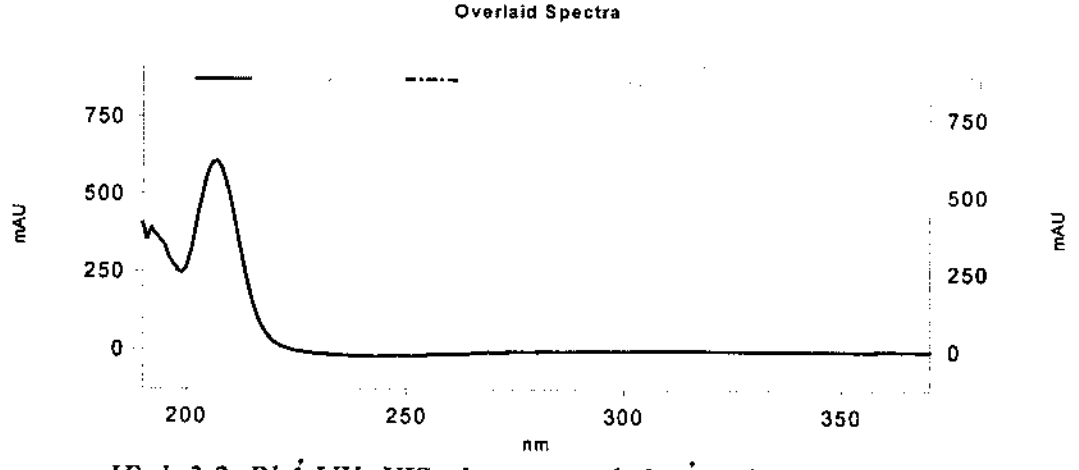
Để tính hàm lượng chiết phẩm steviosid chiết được, tiến hành chiết 5 lần. Hàm lượng chiết phẩm steviosid qua các lần chiết trung bình là 3,50 ± 0,08%

3.1.2. Kết quả phân tích chiết phẩm steviosid bằng phương pháp HPLC

Sắc ký đồ HPLC của chiết phẩm steviosid được thể hiện ở hình 3.1.



Hình 3.1. Sắc ký đồ HPLC chiết phẩm steviosid

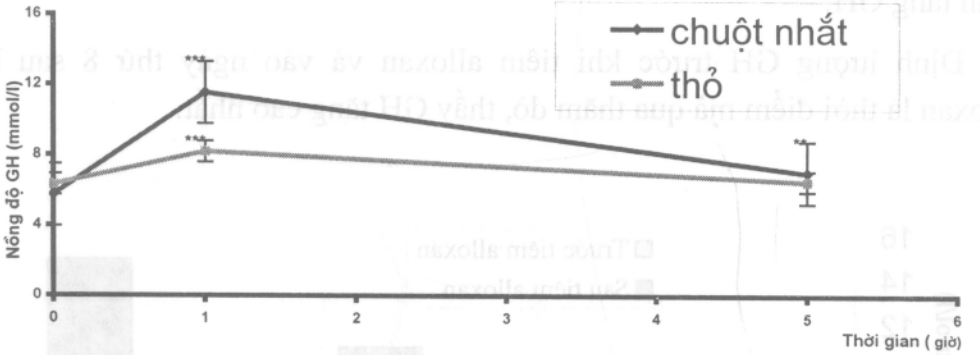


Hình 3.2. Phổ UV- VIS của steviosid chuẩn và pic có thời gian lưu 34, 78 phút của chiết phẩm steviosid

Trên sắc ký đồ, pic chính (thời gian lưu: 34,78 phút) có thời gian lưu và phổ UV-VIS giống với steviosid chuẩn (Hình 3.2). Như vậy chiết phẩm steviosid chiết được có thành phần chính là steviosid. Tiến hành định lượng hàm lượng steviosid trong chiết phẩm steviosid bằng phương pháp HPLC, dựa vào đường chuẩn steviosid, kết quả cho thấy hàm lượng steviosid trong chiết phẩm là 85,5 ± 1,2%.

3.2. Kết quả diễn biến GH trong ngày ở động vật ăn uống bình thường

Thí nghiệm tiến hành trên thỏ (n=8) và chuột nhắt trắng (n = 14).

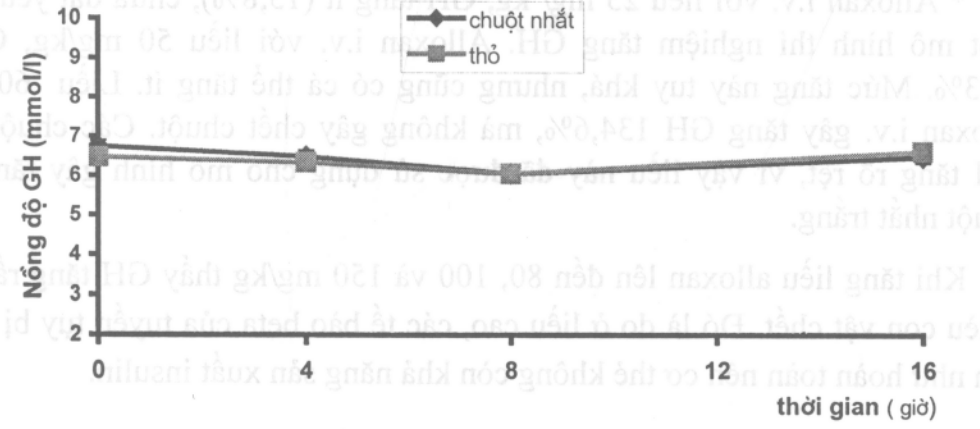


Hình 3.3. Biểu đồ diễn biến GH trong ngày ở động vật ăn uống bình thường

* Sau khi cho ăn, ở cả chuột nhắt trắng và thỏ, GH đều tăng, GH ở chuột nhắt trắng tăng nhiều (101,2%, P < 0,001); ở thỏ, GH tăng thấp hơn (29,4%, P < 0,001).

3.3. Kết quả diễn biến GH khi đói ở động vật

Thí nghiệm được tiến hành ở 1 lô động vật: thỏ (n=8) và chuột nhắt trắng (n=10).



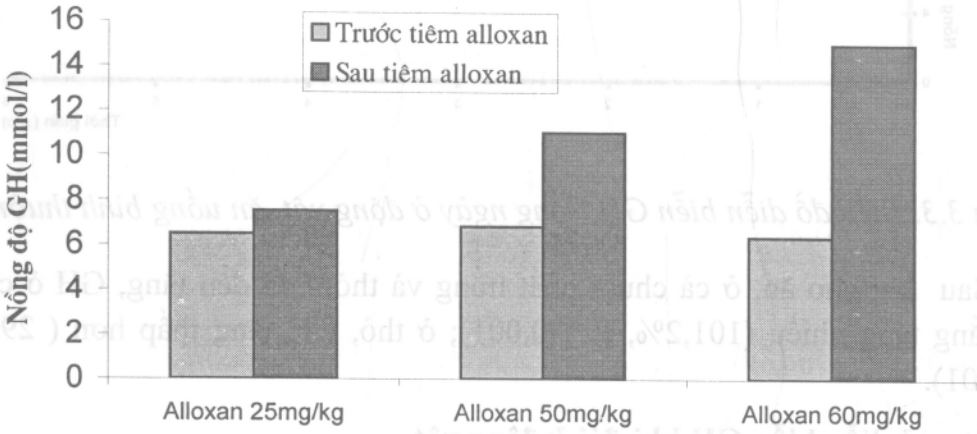
Hình 3.4. Biểu đồ diễn biến GH ở động vật nhịn đói kéo dài

Khi nhịn đói kéo dài, GH ở thỏ và chuột nhắt trắng trong các thời điểm 0 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 16 giờ tương đối ổn định, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05). Lúc đói, GH ở thỏ và ở chuột nhắt là tương đương nhau.

3.4. Xác định liều alloxan làm tăng GH ở chuột nhắt trắng

Dùng alloxan với các liều 25, 50, 60, 80, 100, 150 mg/ kg, tiêm i.v. đuôi chuột nhắt trắng để phá huỷ các tế bào beta tuyến tụy của chuột nhắt, gây mô hình tăng GH.

Định lượng GH trước khi tiêm alloxan và vào ngày thứ 8 sau khi tiêm alloxan là thời điểm mà qua thăm dò, thấy GH tăng cao nhất.

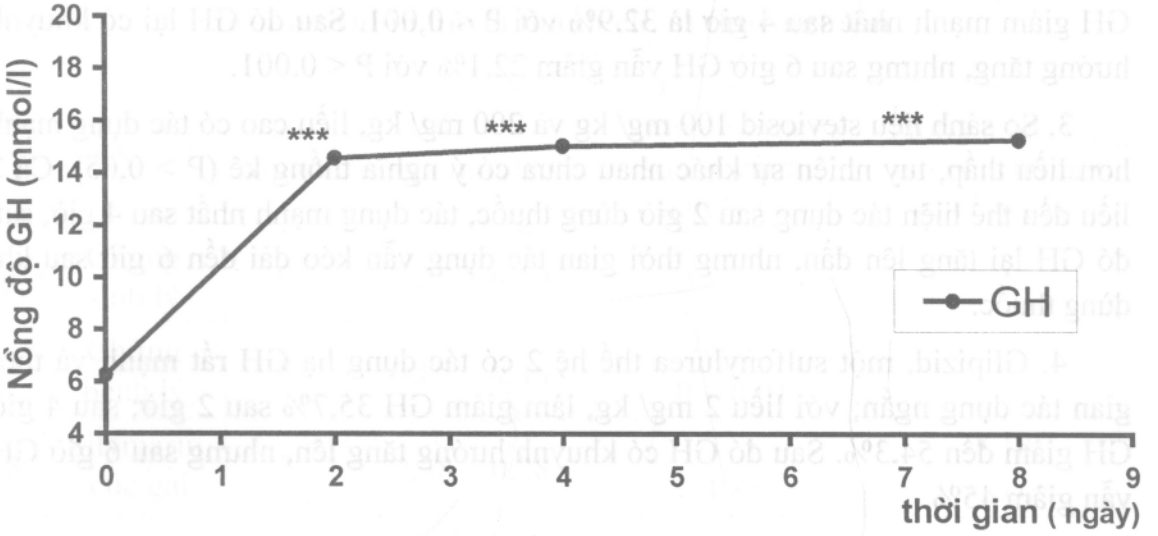


Hình 3.5. Biểu đồ biểu diễn nồng độ GH phụ thuộc liều alloxan trên chuột nhắt trắng

* Alloxan i.v. với liều 25 mg/ kg, GH tăng ít (15,8%), chưa đạt yêu cầu của một mô hình thí nghiệm tăng GH. Alloxan i.v. với liều 50 mg/kg, GH tăng 61,3%. Mức tăng này tuy khá, nhưng cũng có cá thể tăng ít. Liều 60 mg/ kg alloxan i.v. gây tăng GH 134,6%, mà không gây chết chuột. Các chuột đều có GH tăng rõ rệt, vì vậy liều này đã được sử dụng cho mô hình gây tăng GH ở chuột nhắt trắng.

Khi tăng liều alloxan lên đến 80, 100 và 150 mg/kg thấy GH tăng rất cao và nhiều con vật chết. Đó là do ở liều cao, các tế bào beta của tuyến tụy bị phá hủy gần như hoàn toàn nên cơ thể không còn khả năng sản xuất insulin.

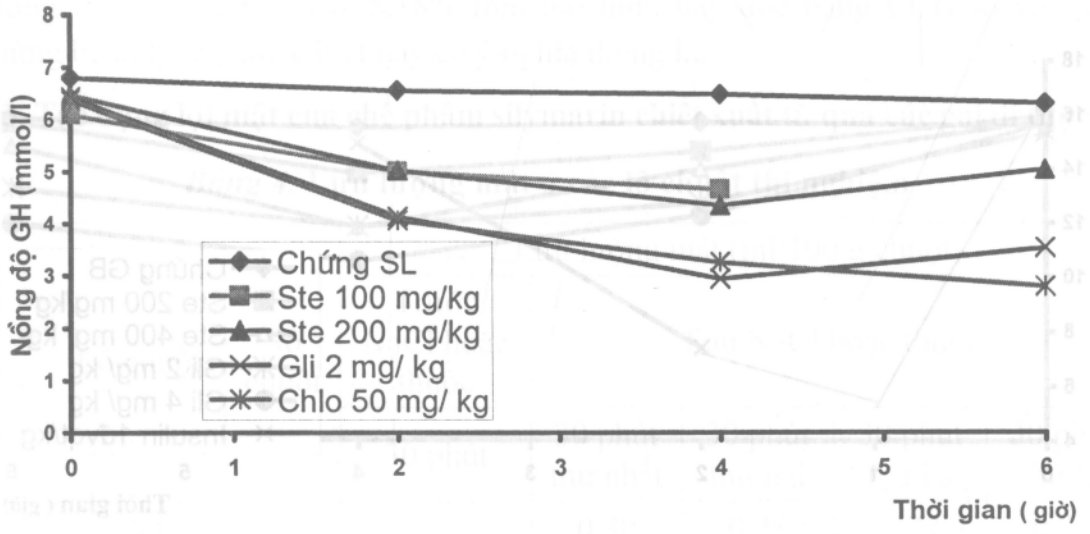
Khi tiêm alloxan thì GH ở chuột nhắt trắng bắt đầu tăng ngay sau 2 ngày là 133,5% với $P < 0,001$ và tiếp tục tăng đến ngày thứ 8 là cao nhất, tuy nhiên GH cũng khá ổn định trong các ngày tiếp theo (hình 3.6).



Hình 3.6. Biểu đồ diễn biến GH khi tiêm alloxan liều 60 mg/ kg trên chuột nhắt trắng

3.5. Nghiên cứu tác dụng của steviosid trên GH ở chuột nhắt trắng bình thường khi đói, có so sánh với glipizid và clorpropamid

Kết quả trình bày ở hình 3.7



Hình 3.7. Biểu đồ biểu thị tác dụng của steviosid trên GH ở chuột nhắt trắng bình thường có so sánh với glipizid và clorpropamid

1. Steviosid liều 100 mg/ kg làm giảm GH 17,9% có ý nghĩa thống kê sau 2 giờ; GH giảm mạnh nhất sau 4 giờ là 23,6% và có ý nghĩa thống kê với $P < 0,01$.

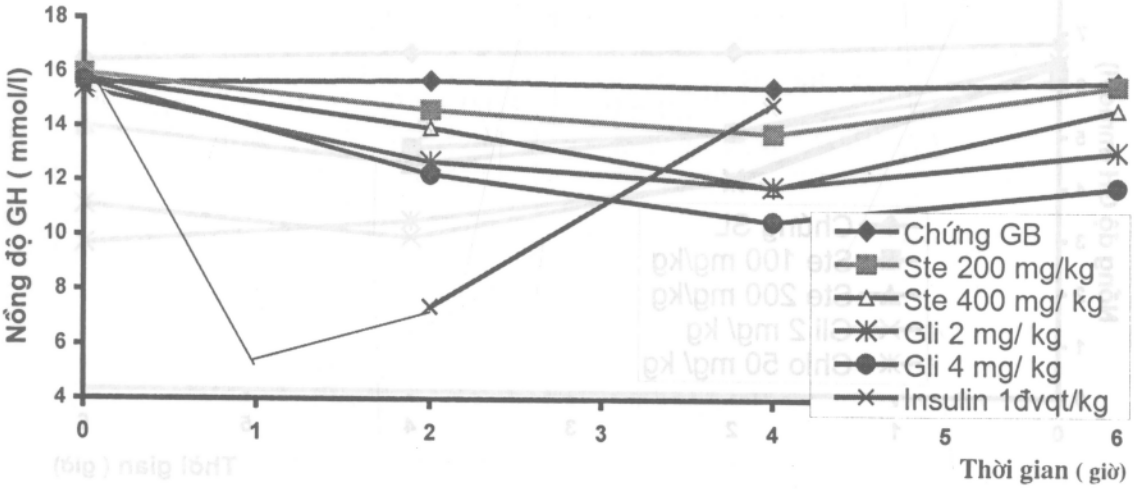
2. Steviosid liều 200 mg/ kg, sau 2 giờ làm giảm GH 22,4% với P < 0,001; GH giảm mạnh nhất sau 4 giờ là 32,9% với P < 0,001. Sau đó GH lại có khuynh hướng tăng, nhưng sau 6 giờ GH vẫn giảm 22,1% với P < 0,001.

3. So sánh liều steviosid 100 mg/ kg và 200 mg/ kg, liều cao có tác dụng mạnh hơn liều thấp, tuy nhiên sự khác nhau chưa có ý nghĩa thống kê (P > 0,05). Cả 2 liều đều thể hiện tác dụng sau 2 giờ dùng thuốc, tác dụng mạnh nhất sau 4 giờ, sau đó GH lại tăng lên dần, nhưng thời gian tác dụng vẫn kéo dài đến 6 giờ sau khi dùng thuốc.

4. Glipizid, một sulfonylurea thế hệ 2 có tác dụng hạ GH rất mạnh và thời gian tác dụng ngắn; với liều 2 mg/ kg, làm giảm GH 35,7% sau 2 giờ; sau 4 giờ GH giảm đến 54.3%. Sau đó GH có khuynh hướng tăng lên, nhưng sau 6 giờ GH vẫn giảm 45%.

5. Clorpropamid, một sulfonylurea thế hệ 1 có tác dụng hạ GH mạnh và kéo dài, với liều 50 mg/kg sau 2 giờ GH giảm 36,4%, sau 4 giờ GH giảm 48,9%, sau đó GH vẫn tiếp tục giảm và đến 6 giờ, GH giảm 56,1%, còn giảm mạnh hơn sau 4 giờ.

3.6. Nghiên cứu tác dụng của steviosid trên chuột nhắt trắng bị đái tháo đường do alloxan, có so sánh với insulin và glipizid



Hình 3.8. Biểu đồ biểu thị tác dụng của steviosid trên GH ở chuột nhắt trắng bị tăng GH do alloxan có so sánh với insulin và glipizid

Nhận xét

Trên mô hình gây tăng GH bằng alloxan ở chuột nhắt trắng.

1. Steviosid liều 200 mg/kg, sau 2 giờ GH giảm ít (8,5%) và không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05); sau 4 giờ GH giảm 13,7% (P < 0,001) và sau 6 giờ GH gần như trở về bình thường (GH chỉ còn giảm 2,2% với P > 0,05).

2. Steviosid liều 400 mg/kg có tác dụng hạ GH là 11,5% (P < 0,01) sau 2 giờ; 25,2% (P < 0,01) sau 4 giờ và GH trở về gần bình thường sau 6 giờ.

3. Insulin i.v. 1 đvqt/kg có tác dụng hạ GH mạnh ngay sau 1 giờ (68,7% với P < 0,001); sau 2 giờ GH vẫn còn giảm tới 52,8% với P < 0,001; và sau 4 giờ GH đã trở về bình thường (GH chỉ còn giảm 4,7% với P > 0,05).

4. Glipizid 2mg/kg có tác dụng hạ GH sau 2 giờ là 17,3% ,sau 4 giờ GH giảm mạnh nhất 23,0%; sau 6 giờ GH tăng lên, chỉ còn giảm 14,2% đều có ý nghĩa thống kê.

5. Glipizid 4 mg/kg có tác dụng hạ GH sau 2 giờ là 22,0%, sau 4 giờ GH giảm mạnh nhất 32,8%; sau 6 giờ GH tăng lên, chỉ còn giảm 24,2%.

IV. KẾT LUẬN

1. Về kết quả chiết xuất steviosid từ lá cỏ ngọt

Chiết phẩm steviosid chiết được từ cỏ ngọt trồng ở Việt Nam có hàm lượng steviosid là 85,5 ± 1,2% và tỷ lệ chiết phẩm steviosid chiết được từ cỏ ngọt là 3,50 ± 0,08%.

2. Về chỉnh lý mô hình nghiên cứu thuốc chữa đái tháo đường thực nghiệm ở chuột nhắt trắng trong điều kiện của Việt Nam

- Đã chỉnh lý được mô hình gây đái tháo đường do alloxan ở chuột nhắt trắng, dùng alloxan của hãng Sigma - Aldrich, tiêm tĩnh mạch đuôi liều 60 mg/kg, sau 8 ngày GH có nồng độ cao nhất và kéo dài là thời gian bắt đầu thử thuốc định nghiên cứu.

- Trước khi lấy máu định lượng GH cần phải cho động vật thí nghiệm nhịn đói trước 16 giờ.

3. Về tác dụng hạ glucose huyết và cơ chế tác dụng của steviosid

3.1. Tác dụng hạ GH của steviosid

Trên chuột nhắt trắng bình thường lúc đói, steviosid liều 100 và 200 mg/ kg, dùng đường uống, tác dụng hạ GH bắt đầu xuất hiện từ giờ thứ 2, mạnh nhất ở giờ thứ 4 và kéo dài trên 6 giờ. Tác dụng hạ GH của steviosid phụ thuộc vào liều dùng, liều càng cao, tác dụng hạ GH càng mạnh. Steviosid liều 100 mg/kg

và 200 mg/kg, mức hạ GH tối đa tương ứng là 23,6% ($P < 0,01$) và 32,9% ($P < 0,001$).

Trên chuột nhắt trắng bị tăng GH do alloxan, steviosid liều 200 và 400 mg/kg, dùng đường uống, tác dụng hạ GH xuất hiện từ giờ thứ 2 và mạnh nhất ở giờ thứ 4, sau đó tác dụng giảm dần. Tác dụng hạ GH của steviosid trên chuột bị đái tháo đường do alloxan cũng phụ thuộc liều dùng, liều càng cao, tác dụng hạ GH càng mạnh. Steviosid liều 200 và 400 mg/ kg có tác dụng hạ GH mạnh nhất theo thứ tự tương ứng là 13,7% ($P < 0,001$) và 25,2% ($P < 0,01$).

3.2. Sơ bộ về cơ chế tác dụng của steviosid

Tác dụng hạ GH của steviosid có xu hướng gần giống kiểu tác dụng hạ GH của glipizid, một sulfonylurea thế hệ 2. Tác dụng hạ GH xuất hiện từ từ không gây tụt GH đột ngột như insulin và thời gian tác dụng vừa phải không kéo dài quá mức như clorpropamid.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Kim Cẩn, Nguyễn Hoàng Anh, Lê Nguyệt Nga, (2001), "Phân lập steviosid và hàm lượng steviosid từ lá cỏ ngọt trồng ở Việt Nam", Công trình nghiên cứu khoa học 1987- 2000, Viện Dược liệu, NXB. Khoa học và kỹ thuật: 120 - 124.
2. Nguyễn Kim Cẩn, Lê Nguyệt Nga, (2001), "Định lượng steviosid trong lá cỏ ngọt", Công trình nghiên cứu khoa học 1987- 2000, Viện Dược liệu, NXB. Khoa học và Kỹ thuật: 125 - 128.
3. Lê Huy Liệu (2000), "Đái tháo đường", Bách khoa thư bệnh học, NXB. Từ điển Bách khoa: 146 - 156
4. Viện Dược liệu, (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập I, NXB Khoa học và Kỹ thuật: 495-498.
5. Chen TH., Chen SC., Chan P., Chu YL., Yang HY. Cheng JT., (2005), " Mechanism of the hypoglycemic effect of stevioside, a glycoside of *Stevia rebaudiana*", Planta Medica, 71 (2): 108- 13.
6. Gomori G., Goldner MG., (1943), "Production of diabetes mellitus in rats with alloxan", Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 54: 287- 290.

7. Gregersen S., Jeppesen PB., Holst JJ., Hermansen K. (2004), "Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subject", Metabolism, 53, 1: 73- 76.

8. Handa S.S., Chawla A.S., Maninder (1989), "Hypoglycaemic plants-a review", Fitoterapia, 60, 3: 195-224.

9. King H., Aubert RE., Herman WH.(1998), "Global burden of diabetes, 1995- 2025", Diabetes Care, 21: 1414- 1431.

10. Kramer M. (1966), "Evaluation of antidiabetic activity", Method in drug evaluation, *Mantegazza* P. và *Piccinini* F., North - Holland Publishing Company: 98 - 106.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA QUẢ CÂY CÚC GAI DI THỰC [*Silybum marianum* (L.) Gaertn]

Trịnh Thị Điệp[1], Nguyễn Thượng Dong[1], Bùi Thị Bằng[1]
Châu Văn Minh[2], Phan Văn Kiệm[2]
(1)Viện Dược liệu, Bộ Y tế, (2)Viện Hoá học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, các hợp chất silybin, 2,3-dehydrosilybin, 2,3-dehydrosilychristin, quercetin và quercitrin đã được phân lập lần đầu tiên từ quả cây cúc gai di thực ở Việt Nam. Cấu trúc hoá học của chúng được xác định bằng các phổ hồng ngoại (IR), phổ khối lượng (ESI) và các phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cúc gai [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] là cây thuốc có nguồn gốc từ Địa Trung Hải và phân bố ở châu Âu, Bắc Phi, Trung Đông, Bắc và Nam Mỹ. Quả cúc gai được dùng theo truyền thống để chữa viêm gan và hoàng đản [1]. Ngay từ những năm 1960, cúc gai được chú ý nghiên cứu nhiều và thành phần hoạt chất chính đã

được xác định là silymarin- hỗn hợp các flavonolignan có trong quả. Silymarin được đánh giá cao về tác dụng chống oxy hoá, bảo vệ gan, chống độc, giúp tái tạo tế bào gan bị tổn thương. Sau đó nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra rằng thành phần chủ yếu của *S. marianum* là các hợp chất flavonolignan như silybin, silychristin, isosilybin, silandrin, silyhermin, neosilyhermin A, neosilyhermin B, 2,3-dehydrosilybin, 2,3-dehydrosilychristin, ... [2, 3, 4].

Để đưa cây thuốc này vào sử dụng, chúng tôi đã nghiên cứu thành phần hoá học của quả cúc gai di thực. Bài này trình bày một số kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Quả cúc gai di thực được thu hái tại Trạm Nghiên cứu cây thuốc Sa Pa, Lào Cai vào tháng 6/2004. Mẫu cây được TS. Nguyễn Tập, Khoa Tài nguyên, Viện Dược liệu giám định.

2.2. Phương pháp

Điểm chảy được đo trên máy Kofler micro-hotstage, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phổ hồng ngoại được đo trên máy Impact-410 (Nocolet), Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phổ khối lượng phun mù điện tử (Electron Spray Ionization mass, ESI) được đo trên máy AGILENT 1100 LC-MSD Trap ; phổ 1D-NMR và 2D-NMR được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR của Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Chất chuẩn nội là tetramethyl silan.

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F_{254} (Merck 1,05715), RP_{18} F_{254s} (Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 366 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H_2SO_4 10% phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là silicagel pha thường và pha đảo. Silicagel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh). Silicagel pha đảo ODS hoặc YMC (30-50 μm, FuJisilisa Chemical Ltd.).

2.3. Phân lập các hợp chất

Bột quả cúc gai di thực (200g) được chiết với methanol sau khi đã loại dầu béo bằng ether dầu hoả thu được 5,8 g cao khô ký hiệu là CG. 5,8 g CG được tiến hành trên sắc ký cột silicagel (110g) với hệ dung môi cloroform : methanol (gradient từ 100% cloroform đến 100% methanol) thu được 4 phân đoạn ký hiệu

là CG1 (1,2 g), CG2 (1,8 g), CG3 (1,5 g), CG4 (1,0 g). Phân đoạn CG2 (1,8 g) được tiến hành trên sắc ký cột silicagel (54 g) với hệ dung môi rửa giải là $CHCl_3$/MeOH (10/1), sau đó tinh chế lại bằng cột sắc ký YMC với hệ dung môi MeOH/H_2O (10/1,5) thu được 50 mg chất bột vô định hình màu trắng ký hiệu là CG2D (**1**) và 16 mg chất bột màu vàng ký hiệu là CG2E (**2**).

Phân đoạn CG3 (1,5 g) được tiến hành trên sắc ký cột silicagel (45 g) với hệ dung môi rửa giải là cloroform : methanol (10/1), sau đó tinh chế lại bằng cột sắc ký YMC với hệ dung môi methanol: nước (10/1,5) thu được 13 mg chất bột vô định hình màu vàng ký hiệu là CG4A (**3**) và 8,0 mg tinh thể màu vàng ký hiệu là CG3B (**4**). Phân đoạn CG4 (1,0 g) được tiến hành trên sắc ký cột silica gel (30 g) với hệ dung môi rửa giải là cloroform : methanol : nước (70/30/4), sau đó tinh chế lại bằng cột sắc ký YMC với hệ dung môi methanol: nước (10/2) thu được 10 mg chất bột vô định hình màu vàng ký hiệu là CG4B (**5**).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Silybin (1): Bột vô định hình màu trắng; điểm chảy 166-167^{0}C; IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3426, 2924, 1640; ESI *m/z*: 483 $[M+H]^+$ ($C_{25}H_{22}O_{10}$ + H); ^{1}H-, ^{13}C-NMR δ (ppm): xem bảng 1.

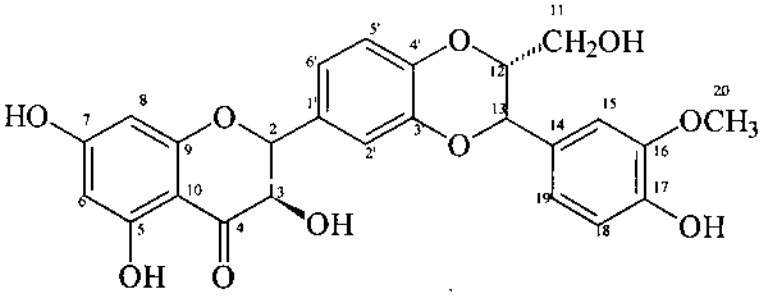
2,3-Dehydrosilybin (2): Bột vô định hình màu vàng, điểm chảy 254-255^{o}C; IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3430, 2967, 2924, 2860, 1720, 1652, 1029; ESI *m/z*: 481 $[M+H]^+$ ($C_{25}H_{20}O_{10}$ + H); ^{1}H-, ^{13}C-NMR δ (ppm): xem bảng 1.

2,3-Dehydrosilychristin (3): Chất bột vô định hình màu vàng, điểm chảy 254-256^{o}C; IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3400 (br, OH), 2924, 2867 (CH), 1732 (C=O), 1653 (C=C), 1096 (C-O-C); ESI *m/z*: 481 $[M+H]^+$ ($C_{25}H_{20}O_{10}$ + H); ^{1}H-, ^{13}C-NMR δ (ppm): xem bảng 2.

Quercetin (4): Tinh thể màu vàng, điểm chảy 313-314^{o}C; IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3377, 3299 (br, OH), 2919, 2845 (CH), 1664 (C=O), 1614 (C=C), 1096 (C-O-C); ESI *m/z*: 303 $[M+H]^+$ ($C_{15}H_{10}O_7$ + H); ^{1}H-NMR (MeOD-d_4) δ (ppm): 6,20 (1H, d, *J* = 2,1Hz, H-6), 6,41 (1H, d, *J* = 2,1Hz, H-8), 7,75 (1H, d, *J* = 2,1Hz, H-2'), 6,90 (1H, d, *J* = 8,5Hz, H-5') vμ 7,65 (1H, dd, *J* = 8,5, 2,1Hz, H-6'); ^{13}C-NMR (MeOD-d_4) δ (ppm): 148,0 (C-2), 137,2 (C-3), 177,3 (C-4), 162,5 (C-5), 99,2 (C-6). 165,6 (C-7), 99,4 (C-8), 158,2 (C-9), 104,5 (C-10), 124,2 (C-1'), 116,0 (C-2'), 146,2 (C-3'), 148,7 (C-4'), 116,2 (C-5') vμ 121,7 (C-6').

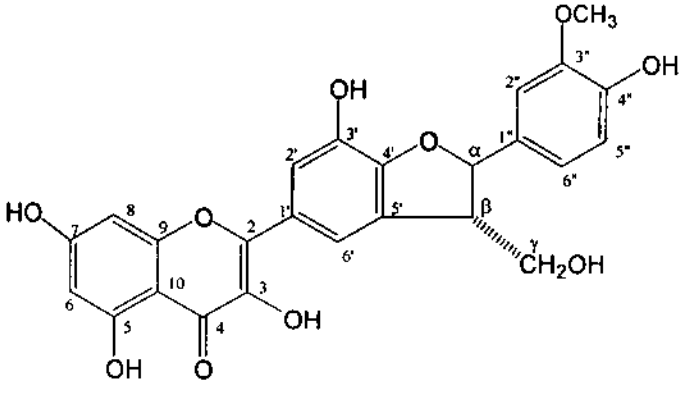
Quercitrin (5): Chất bột vô định hình màu vàng, điểm chảy 182-185^{o}C; IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3300, (br, OH), 2929 (CH), 1657 (C=O), 1600 (C=C), 1064 (C-O-C); ESI *m/z*: 449 $[M+H]^+$ ($C_{21}H_{20}O_{11}$ + H); NMR (MeOD-d_4) δ (ppm): 6,19

(1H, d, J = 2,0Hz, H-6), 6,35 (1H, d, J = 2,0Hz, H-8), 7,33 (1H, d, J = 2,0Hz, H-2'), 6,90 (1H, d, J = 8,2Hz, H-5') vμ 7,30 (1H, dd, J = 8,2, 2,0Hz, H-6'); 5,34 (1H, s, H-1_{ram}), 3,30-4,23 (4H, H-2_{ram}, H-3_{ram}, H-4_{ram}, H-5_{ram}) vμ 0,93 (3H, d, J = 6,0 Hz, H-6_{ram}); ^{13}C-NMR (MeOD-d_4) δ (ppm): 158,5 (C-2), 136,2 (C-3), 179,6 (C-4), 163,2 (C-5), 99,8 (C-6), 165,8 (C-7), 94,7 (C-8), 159,3 (C-9), 105,9 (C-10), 122,9 (C-1'), 116,4 (C-2'), 146,4 (C-3'), 149,7 (C-4'), 116,9 (C-5'), 122,9 (C-6'), 103,5 (C-1_{ram}), 72,0 (C-2_{ram}), 72,1 (C-3_{ram}),73,3 (C-4_{ram}), 71,9 (C-5_{ram}) vμ 17,6 (C-6_{ram}).

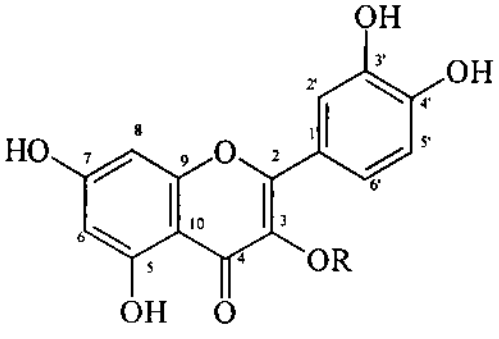


1 Silybin

2 $\Delta^{2(3)}$ 2,3-dehydrosilybin

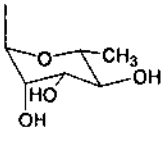


3 2,3-dehydrosilychristin



	R
4 quercetin	H

5 quercitrin



Hình 1. Cấu trúc hoá học của các hợp chất 1-5

Các hợp chất **1-3** nhận được dưới dạng bột vô định hình. Phổ hồng ngoại của chúng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho sự có mặt của các nhóm hydroxyl (3400-3430cm^{-1}), nhóm carbonyl (1732 cm^{-1}), vòng thơm (1653 cm^{-1}) liên kết C-O-C (1096 cm^{-1}).

Phổ ^{1}H-NMR của **1** xuất hiện các tín hiệu của 8 proton của vòng thơm δ 6,93 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,09 (1H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz), 6,98 (1H, d, J = 2,0 Hz), 7,01 (1H, d, J = 1,5 Hz), 6,86 (1H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz), 6,81 (1H, d, J = 8,0 Hz), 5,92 (1H, d, J = 2,0 Hz) và 5,88 (1H, d, J = 2,0 Hz); nhóm methoxy δ 3,78 (3H, s); nhóm methylenoxy δ 3,53 (1H, m) và 3,33 (1H, m); và 4 proton methincarbinol δ 5,11 (1H, d, J = 11,0 Hz), 4,59 (1H, d, J = 11,0 Hz), 4,16 (1H, m) và 4,93 (1H, d, J = 8,0 Hz). Phổ ^{13}C-NMR của **1** xuất hiện 25 tín hiệu carbon. Kết hợp giữa phổ ^{1}H-NMR, phổ DEPT 135 và DEPT 90 có thể xác định được 1 có 1 CH_3, 1 CH_2, 12 CH và 11 C. Nhóm carbonyl được xác định bởi tín hiệu δ 197,7 (s). Ngoài ra còn có nhóm methoxy (δ_C 55,7), nhóm methylenoxy (δ_C 60,2), và 4 nhóm methincarbinol (δ_C 82,5, 78,1, 75,8 và 71,5). Từ các phân tích và tính toán trên phổ NMR có thể dự đoán công thức cộng của **1** là $C_{25}H_{22}O_{10}$. Phổ khối lượng phun mù điện tử (ESI) xuất hiện píc ion *m/z* 483 $[M+H]^+$, hoàn toàn phù hợp với công thức phân tử dự đoán $C_{25}H_{22}O_{10}$. Các số liệu phổ NMR của **1** tương ứng phù hợp với số liệu phổ đã công bố cho hợp chất silybin [5] và được nêu ra trong bảng 1. Để khẳng định chính xác cấu trúc phân tử của **1**, phổ hai chiều 2D-NMR của **1** đã được thực hiện. Phổ HMQC đã xác định các giá trị độ dịch chuyển hoá học (δ_H, δ_C) của H-C. Ngoài ra, trên phổ ^{1}H-^{1}H COSY, H-3 (δ 4,59) tương tác với H-2 (δ 5,11), H-12 (δ 4,16) tương tác với H-11 (δ 3,53) và H-13 (δ 4,93), H-18 (δ 6,81) tương tác với H-19 (δ 6,86) và H-5' (δ 6,93) tương tác với H-6'(δ 7,09) đã chứng tỏ cấu trúc từng phần của **1**. Cấu trúc hoàn chỉnh của **1** được chứng minh bằng các tương tác trên phổ HMBC. Trên phổ HMBC, H-11 (δ 3,53) tương tác với C-12 (δ 78,1) và C-13 (δ 75,8) chứng tỏ nhóm methylenoxy nối vào C-12; H-20 (δ 3,78) tương tác với C-16 (δ 147,6) chứng tỏ nhóm methoxy nối vào C-16. Ngoài ra, hoá học lập thể của **1** cũng được xác định bằng sự so sánh trực tiếp các giá trị độ dịch chuyển hoá học (δ_H, δ_C) và tương tác spin-coupling của các proton H-2/H-3, H-12/H-13 với các giá trị tương ứng của silybin [3] và được chỉ ra trên hình 1. Từ những kết quả nêu trên, hợp chất **1** được xác định là silybin.

Bảng 1. **Số liệu phổ NMR của 1 và 2 (dung môi: DMSO, T=300^{0}K)**

C	1		2	
	δ_C	δ_H (J, Hz)	δ_C	δ_H (J, Hz)
2	82,5 (d)	5,11 (1H, d, 11.0)	145,6 (s)	-
3	71,5 (d)	4,59 (1H)	136,2 (s)	-
4	197,7 (s)	-	175,8 (s)	-
5	163,3 (s)	-	160,5 (s)	-
6	96,0 (d)	5,92 (1H, d, 2.0)	98,1 (d)	6,25 (1H, d, 2.0)
7	166,8 (s)	-	163,9 (s)	-
8	95,0 (d)	5,88 (1H, d, 2.0)	93,4 (d)	6,51 (1H, d, 2.0)
9	162,4 (s)	-	156,1 (s)	-
10	100,5 (s)	-	102,9 (s)	-
11	60,2 (t)	3,53 (1H, m) 3,33 (1H, m)	59,9 (t)	3,47 (1H, m) 3,62 (1H, m)
12	78,1 (d)	4,16 (1H, m)	78,4 (d)	4,32 (1H, m)
13	75,8 (d)	4,93 (1H, d, 8.0)	75,7 (d)	5,01 (1H, d, 8,0)
14	127,5 (s)	-	127,1 (s)	-
15	111,7 (d)	7,01 (1H, d, 1.5)	111,6 (d)	7,09 (1H, d, 2,0)
16	147,6 (s)	-	147,5 (s)	-
17	146,9 (s)	-	146,9 (s)	-
18	115,3 (d)	6,81 (1H, d, 8.0)	115,2 (d)	6,87 (1H, d, 8,0)
19	120,4 (d)	6,86 (1H, dd, 8.0, 1.5)	120,4 (d)	6,94 (1H, dd, 8,0; 2,0)
20	55,7 (q)	3,78 (3H, s)	55,5 (q)	3,80 (3H, s)
1'	130,3 (s)	-	123,6 (s)	-
2'	116,4 (d)	6,98 (1H, d, 2,0)	116,6 (d)	7,16 1H, d, 2,0)
3'	142,9 (s)	-	143,2 (s)	-
4'	143,9 (s)	-	144,9 (s)	-
5'	116,4 (d)	6,93 (1H, d, 8,0)	116,0 (d)	7,82 (1H, d, 8,0)
6'	120,9 (d)	7,09 (1H, dd, 8,0; 2,0)	121,1 (d)	7,81 (1H, dd, 8,0; 2,0)

Các phổ ^{1}H-NMR và ^{13}C-NMR của 2 tương tự như các phổ tương ứng của silybin (1) ngoài sự mất đi các tín hiệu của hai nhóm methincarbinol và thêm vào đó là các tín hiệu dịch chuyển về phía trường thấp hơn của một nối đôi. Kết quả phân tích trên có thể dự đoán 2 là một dẫn xuất dehydro của 1 tại C-2/C-3 và được khẳng định thêm bằng sự xuất hiện píc *m/z* 481 $[M+H]^+$, tương ứng hoàn

toàn với công thức cộng $C_{25}H_{20}O_{10}$, tức là mất 2H so với hợp chất 1. So sánh các giá trị phổ của 1 và 2 (Bảng 1) thấy rằng chúng chỉ khác nhau ở vòng C mà đặc biệt là vị trí C-2, C-3 và C-4. Giá trị δ_{C-2} 145,6, δ_{C-3} 136,2 và đặc biệt là δ_{C-4} 175,8 chứng tỏ sự tồn tại một nối đôi tại C-2/C-3 của 2 giống như kaempferol [6,7]. Để khẳng định chính xác cấu trúc của 2, các phổ ^{1}H-^{1}H COSY, HMQC và HMBC đã được thực hiện. Nhóm methylenoxy được xác định nối với C-12 bằng tương tác giữa H-11 (δ 3,47) với carbon C-12 (δ 78,4)/C-13 (δ 75,7); nhóm methoxy cũng được xác định nối với C-16 bằng tương tác giữa H-20 (δ 3,80) với C-16 (δ 147,5) trên phổ HMBC. Hoá học lập thể tại C-12 và C-13 cũng được xác định là Hβ-12 và Hα-13 với sự phù hợp giữa các giá trị phổ của 1 và 2 tại các vị trí C-11, C-12, C-13 và C-14. Từ những kết quả phân tích nêu trên, hợp chất 2 được khẳng định là 2,3-dehydrosilybin.

Phổ ^{13}C-NMR của **3** xuất hiện tín hiệu của 25 carbon. Các phổ DEPT đã xác định được **3** có 1 CH_3, 1 CH_2, 9 CH và 14C. Nhìn chung các phổ NMR của **3** có dạng phổ của một hợp chất flavon với sự có mặt khá tập trung các tín hiệu của vòng thơm nằm trong vùng δ_C 89,6 – 162,5 ppm [6]. Phổ NMR còn chứng tỏ sự có mặt của một nhóm methylenoxy [δ_C 64,9/ δ_H 3,90 (2H,m)] và một nhóm methoxy[δ_C 56,4/ δ_H 3,89 (3H,s)]. Từ kết quả phân tích phổ NMR, cùng với sự có mặt của pic ion *m/z* 481 $[M+H]^+$ trên phổ ESI với cường độ mạnh, có thể đưa ra công thức phân tử của **3** là $C_{25}H_{20}O_{10}$, phù hợp với công thức cộng của 2,3-dehydrosilychristin. Tín hiệu cộng hưởng ở δ_C177,3 ppm chứng tỏ sự có mặt của một nhóm carbonyl tại C-4 và đặc biệt khẳng định có nối đôi tại C-2/C-3 [6]. Trong các trường hợp không có nối đôi C-2/C-3 thì tín hiệu của nhóm carbonyl C-4 thường dịch chuyển nhiều về phía trường thấp hơn, tức là trong khoảng 190-200 ppm. Các giá trị phổ của **3** được so sánh cùng với các giá trị tương ứng của silychristin, một hợp chất cũng được phân lập từ cây *S. marianum*. Kết quả so sánh trong bảng 2 đã cho thấy sự phù hợp về các giá trị phổ của 2 hợp chất này, ngoại trừ sự khác biệt đáng kể tại các vị trí C-2, C-3 và C-4. Để có cơ sở khẳng định chính xác cấu trúc của **3**, các phổ 2 chiều đã được thực hiên bao gồm phổ ^{1}H-^{1}H COSY, HMQC và HMBC. Nhóm methylenoxy gắn vào vị trí β được khẳng định bằng tín hiệu tương tác HMBC giữa Hγ (δ_H 3,90) với C-β (δ_C 55,3) và C-α (δ_C 89,6). Tương tác HMBC giữa proton của nhóm methoxy (δ_H 3,89) với C-3" (δ_C 149,2) chứng tỏ vị trí của nhóm methoxy tại C-3". Sự phù hợp hoàn toàn về độ dịch chuyển hoá học của proton và carbon cũng như các giá trị tương tác sin-coupling tại vị trí α và β của **3** và silychristin chứng tỏ sự giống nhau về hoá học lập thể tại hai vị trí này giữa hai hợp chất. Từ những kết quả nêu trên, **3** được khẳng định là 2,3-dehydrosilychristin.

Bảng 2. **Số liệu phổ NMR của 3 (dung môi: DMSO, T=300^{0}K)**

C	δ_C*[6]	$\delta_C$$^{\#}$	$\delta_H$$^{\#}$ (J=Hz)
2	85,2 d	150,4 s	-
3	73,7 d	137,3 s	-
4	198,2 s	177,3 s	-
5	165,2 s	162,5 s	-
6	97,4 d	99,3 d	6,20 (1H, d, 2.0)
7	168,7 s	165,6 s	-
8	96,3 d	94,5 d	6,41 (1H, d, 2.0)
9	164,4 s	158,3 s	-
10	101,8 s	104,5 s	-
1'	130,1 s	125,9 s	-
2'	116,6 d	117,2 d	7,72 (1H, d, 2.0)
3'	147,5 s	147,9 s	-
4'	142,1 s	142,2 s	-
5'	131,5 s	130,4 s	-
6'	117,0 d	117,2 d	7,72 (1H, d, 2.0)
α	89,1 d	89,6 d	5,65 (1H, d, 6.5)
β	55,4 d	55,3 d	3,61 (1H, m)
γ	64,8 t	64,9 t	3,90 (2H, m)
1"	134,7 s	134,5 s	-
2"	110,7 d	110,6 d	7,03 (1H, d, 2.0)
3"	149,1 s	149,2 s	-
4"	147,5 s	147,7 s	-
5"	116,2 d	116,2 d	6,82 (1H, d, 8.5)
6"	119,8 d	119,8 d	6,90 (1H, dd, 8.5, 2.0)
OCH3	56,4 q	56,4 q	3,89 (3H, s)

*Phổ ^{13}C của silychristin đo trong CD_3OD; $^{\#}$ Đo trong DMSO-d_6

Từ các phổ NMR, hợp chất **4** và **5** được dự đoán là các flavonoid. Phổ ESI của **4** và **5** xuất hiện các pic ion tương ứng là *m/z*: 303 $[M+H]^+$ ($C_{15}H_{10}O_7$ + H) và *m/z*: 449 $[M+H]^+$ ($C_{21}H_{20}O_{11}$ + H) phù hợp với công thức phân tử của quercetin và quercitrin. Các phổ NMR của hai hợp chất này gần tương tự nhau,

với sự khác biệt chính là **5** có thêm các tín hiệu của đường rhamnose. Hợp chất **4** và **5** được xác định tương ứng là quercetin và quercitrin nhờ kết quả so sánh các giá trị phổ của chúng với các dữ kiện phổ đã công bố cho hai hợp chất này [6,7].

IV. KẾT LUẬN

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, các hợp chất silybin, 2,3-dehydrosilybin, 2,3-dehydrosilychristin, quercetin và quercitrin đã được phân lập lần đầu tiên từ quả cây cúc gai di thực ở Việt Nam. Cấu trúc hoá học của chúng được xác định bằng các phổ hồng ngoại (IR), phổ khối lượng (ESI) và các phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi (1997), "Từ điển cây thuốc Việt Nam", NXB. Y học Hà Nội.
2. Szilagi, I., Tetenyi, P., Antus, S., Seligmann, O., Chari, V. M., Seitz, M., and Wagner, H., (1981), Structure of silandrin and silymonin, two new flavanolignans from a white blooming *Silybum marianum* variety, Planta Medica, 43 , 121-127.
3. Fiebig, M. and Wagner, H., (1984), Neue antihepatotoxisch wirksame flavonolignane aus einer weiβbluhenden *Silybum*-varietat, Planta Medica, 50, 310-313.
4. Mericeli, A.H., (1988), Flavonolignans, kaempferol 3-sulphate and other flavonoids from *Silybum marianum* subsp. anatolicum, Planta Med., 54, 44-45.
5. Tanaka, H., Shibata, M., Ohira K. and Ito, K., (1985), Total synthesis of (±) Silybin, an antihepatotoxic flavonoliglan, Chem. Pharm. Bull., 33(4), 1419-1423.
6. Agrawal, P. K., (1989), Carbon-13 NMR of flavonoids, Elsevier Science Publishers B. V., pp. 152-153.
7. Shen, C. C., Chang Y. S., and Ho, L. K., (1993). Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids, Phytochemistry, 34(3), 843-845.

TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA CHẾ PHẨM SILYMARIN CHIẾT XUẤT TỪ QUẢ CÚC GAI DI THỰC

Trịnh Thị Điệp, Nguyễn Thượng Dong, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Kim Phượng, Đỗ Thị Phương, Lê Minh Phương, Nguyễn Thị Dung - Viện Dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cúc gai di thực *Silybum marianum* (L.) Gaertn. , *Asteraceae* là cây thuốc có nguồn gốc từ châu Âu, đã được đưa vào trồng tại Sa Pa và Hà Nội. Cúc gai được đánh giá cao về hiệu lực chữa viêm gan và bảo vệ gan phòng và chống các chất độc. Thành phần có tác dụng chính đã được chứng minh là silymarin - hỗn hợp các flavonolignan có trong quả [1]. Với mong muốn đưa cây thuốc này vào sử dụng làm thuốc chúng tôi đã bước đầu nghiên cứu về thành phần nhóm hoạt chất, phương pháp chiết xuất silymarin [2]. Trong bài này chúng tôi trình bày kết quả thử một số tác dụng của sản phẩm chiết xuất từ cúc gai di thực theo hướng làm thuốc điều trị viêm gan.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Quả cúc gai thu hái tại Trạm nghiên cứu Cây thuốc Sa Pa và Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội vào tháng 6/2002.
- Chuẩn bị chế phẩm thử: Bột dược liệu được làm ẩm với cồn rồi chiết hồi lưu bằng cồn 85^0. Dịch chiết đem thu hồi dung môi dưới áp suất giảm đến cắn. Loại dầu béo trong cắn bằng ether dầu hoả. Hoà tan cắn đã loại dầu béo bằng lượng tối thiểu cồn 85^0 rồi tủa với nước. Sau 24h, lọc lấy tủa, rửa và sấy khô ở nhiệt độ 60^0C thu được sản phẩm là bột khô, màu vàng. Hiệu suất chiết xuất là 4,0% so với dược liệu khô.
- Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng, chuột cống trắng và chuột lang có trọng lượng phù hợp, khoẻ mạnh, do Viện Vệ sinh dịch tễ cung cấp.

- Các hoá chất và thuốc thử đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng cho phân tích.
- Kit định lượng GPT và bilirubin do hãng Human cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Tác dụng chống viêm mạn được thử trên mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng amian trên chuột cống trắng theo phương pháp của Ducrot, Julou và cộng sự [3]. Liều thử là 0,4g silymarin/kg thể trọng/ngày trong 5 ngày liên tục.
- Tác dụng chống viêm mạn được biểu thị bằng tỷ lệ % độ giảm trọng lượng u hạt ở lô thử thuốc so với lô chứng.
- Tác dụng bảo vệ gan được thử trên mô hình gây tổn thương tế bào gan bằng CCl_4 ở chuột nhắt trắng [4]. Liều thử là 0,4g silymarin/kg thể trọng/ngày.
- Tác dụng bảo vệ gan của thuốc được biểu thị bằng độ giảm hoạt độ enzym GPT và hàm lượng bilirubin huyết thanh của lô chuột gây bệnh được điều trị bằng thuốc so với lô chứng bệnh lý.
- Tác dụng lợi mật được thử trên chuột lang theo phương pháp của Turner R. A.[5]. Liều thử là 0,4g silymarin/kg thể trọng.
- Tác dụng lợi mật của thuốc được biểu thị bằng độ tăng lưu lượng mật sau khi bơm thuốc so với trước khi bơm thuốc và so với lô đối chứng.
- Tác dụng chống oxy hoá, bảo vệ chức năng gan và ức chế quá trình tạo colagen gan được thử trên mô hình gây viêm gan mạn trong 3 tháng ở chuột cống trắng theo phương pháp của Maros và cộng sự [6].
- Kết quả tác dụng ức chế quá trình tạo collagen gây xơ gan được biểu thị bằng tỷ lệ % độ giảm hàm lượng collagen gan của lô chuột gây bệnh được điều trị bằng thuốc so với lô chuột gây bệnh không được điều trị.
- Kết quả tác dụng chống oxy hoá được biểu thị bằng tỷ lệ % độ giảm hàm lượng malonyldialdehyd (MDA) trong gan của lô chuột gây bệnh được điều trị bằng thuốc so với lô chuột gây bệnh không được điều trị.
- Các số liệu được xử lý thống kê theo nghiệm pháp Student, sử dụng công cụ Data analysis của Microsoft Excel.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Tác dụng chống viêm mạn của chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực

Bảng 1. **Tác dụng chống viêm trên u hạt thực nghiệm của chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực**

TT	Lô chuột	Liều uống	Số chuột	Trọng lượng TB u hạt (mg)	Độ giảm trọng lượng u hạt (%)	P
1	Chứng NaCl 0,9%	20ml/kg	9	246,87±11,78		
2	Prednisolon	5mg/kg	6	143,22±7,20	41,99	$P_{1,2}$< 0,001
3	Silymarin/ cúc gai	0,4g/kg	9	176,04±10,64	28,69	$P_{1,3}$< 0,001

Nhận xét: Chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực, cho chuột cống trắng uống hàng ngày với liều 0,4g silymarin/kg thể trọng, trong 5 ngày liên tục, đã có tác dụng ức chế sự tạo u hạt với tỷ lệ 28,69% so với lô chuột đối chứng. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao.

3.2. Tác dụng bảo vệ gan của chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực

Bảng 2. **Tác dụng của chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực trên hoạt độ enzym GPT huyết thanh chuột thực nghiệm**

Stt	Lô chuột	Số chuột	GPT (U/l)	Độ tăng hoạt độ enzym GPT so với chứng sinh lý (%)	Độ giảm hoạt độ enzym GPT so với chứng bệnh lý (%)
1	Chứng sinh lý	9	44,20 ± 2,57		
2	Chứng bệnh lý	8	139,05 ± 15,54	214,59 P < 0,01	
3	Silymarin /cúc gai	7	88,73 ± 12,33	100,75	36,19 P < 0,05

Bảng 3. **Tác dụng của chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực trên bilirubin huyết thanh chuột thực nghiệm**

S tt	Lô chuột	Số chuột	Bilirubin (µmol/l)	Độ tăng hàm lượng bilirubin so với chứng sinh lý (%)	Độ giảm hàm lượng bilirubin so với chứng bệnh lý (%)
1	Chứng sinh lý	9	2,27 ± 0,19		
2	Chứng bệnh lý	8	3,85 ± 0,45	69,60 P < 0,01	
3	Silymarin /cúc gai	7	2,38 ± 0,28	4,85	38,18 P < 0,05

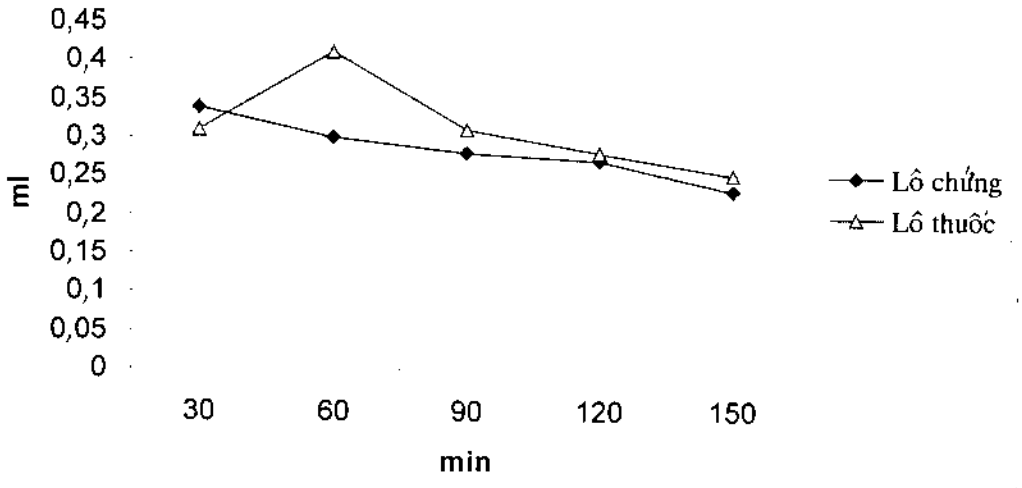
Nhận xét: Mô hình gây tổn thương gan đã làm tăng hoạt độ enzym GPT và hàm lượng bilirubin huyết thanh của chuột lên tương ứng là 214,59% và 69,60% so với chứng sinh lý. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

Chế phẩm silymarin chiết xuất từ quả cúc gai di thực cho chuột cống trắng uống hàng ngày với liều 0,4g silymarin/kg thể trọng, trong 8 ngày liên tục, đã làm giảm hoạt độ enzym GPT và hàm lượng bilirubin huyết thanh chuột nhắt tương ứng là 36,19% và 38,18% trên mô hình gây độc bằng CCl_4 so với đối chứng bệnh lý. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

3.3. Tác dụng lợi mật của chế phẩm silymarin chiết xuất từ quả cúc gai di thực

Bảng 4. **Lưu lượng mật ở các lô chuột thí nghiệm**

TT	Lô chuột	Số chuột	Lưu lượng mật (ml/100 g chuột)				
			Trước NaCl hoặc thuốc	Sau NaCl hoặc thuốc			
			30 phút	30 phút thứ nhất	30 phút thứ hai	30 phút thứ ba	30 phút thứ tư
1	Đối chứng	6	0,34 ± 0,04	0,30 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,23 ± 0,03
2	Silymarin /cúc gai	9	0,31 ± 0,02	0,41 ± 0,04	0,31 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,25 ± 0,02



Hình 1. Diễn biến của lưu lượng mật theo thời gian

***Bảng 5.* Tác dụng lợi mật của thuốc**

TT	Lô chuột thí nghiệm	Số chuột	Lưu lượng mật trong 30 phút (ml)		% so với ban đầu	% tăng của lô thuốc so với chứng
			Trước thuốc hoặc NaCl	Sau thuốc hoặc NaCl		
1	Chứng	6	0,34 ± 0,03	0,30 ± 0,02	88,24 P > 0,05	
2	Silymarin /cúc gai	9	0,31 ± 0,02	0,41 ± 0,04	132,25 P < 0,05	49,88 P < 0,05

Nhận xét: Chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực với liều 0,4g silymarin/kg thể trọng chuột lang đã làm tăng lưu lượng mật lên thêm 32,25% so với khi chưa dùng thuốc và 49,88% so với lô chuột không dùng thuốc. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Như vậy thuốc có tác dụng lợi mật rõ rệt.

***Bảng 6.* Hàm lượng cắn khô và hàm lượng bilirubin trong dịch mật**

TT	Lô chuột thí nghiệm	Số chuột	Hàm lượng cắn khô trong dịch mật (mg/ml)		Hàm lượng bilirubin trong dịch mật (mmol/l)	
			Trước thuốc hoặc NaCl	Sau thuốc hoặc NaCl	Trước thuốc hoặc NaCl	Sau thuốc hoặc NaCl
1	Chứng	6	12,9 ± 0,6	11,3 ± 0,6	11,70 ± 1,03	10,62 ± 1,40
2	Silymarin /cúc gai	9	13,4 ± 0,5	12,4 ± 0,4	12,24 ± 1,31	12,94 ± 1,05

So sánh hàm lượng cắn khô và hàm lượng bilirubin trong dịch mật ở lô chứng và lô dùng thuốc trước và sau khi xử lý đều tương tự nhau, sự sai khác không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Như vậy, chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực có tác dụng lợi mật rõ rệt mà chất lượng mật biểu hiện bằng hàm lượng cắn khô và hàm lượng bilirubin vẫn không thay đổi.

3.4. Tác dụng chống oxy hoá

***Bảng 7.* Tác dụng chống oxy hoá của chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực**

TT	Lô thí nghiệm	Số chuột	Nồng độ MDA (nM/ ml)	HTCO (%)	P
1	Chứng sinh lý	15	2,28 ± 0,14		
2	Chứng bệnh lý	15	4,89 ± 0,20		$P_{1.2} < 0,001$
3	Silymarin/cúc gai	15	3,76 ± 0,11	23,12	$P_{2.3} < 0,001$

Nhận xét: Mô hình gây bệnh đã làm tăng hàm lượng MDA gan lên một cách có ý nghĩa. Chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực cho chuột cống trắng đã gây bệnh bằng CCl_4 uống với liều 0,4g silymarin/kg thể trọng/ngày trong 2 tháng, đã thể hiện hoạt tính chống oxy hoá, làm giảm hàm lượng MDA trong gan chuột so với lô chuột đối chứng bệnh lý là 23,12%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao. Như vậy, chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực có tác dụng chống oxy hoá thể hiện qua việc ức chế quá trình peroxy hoá lipid màng tế bào.

3.5. Tác dụng ức chế quá trình tạo collagen gan

Bảng 8. **Kết quả định lượng collagen gan của các lô chuột thí nghiệm**

TT	Lô thí nghiệm	Số chuột	Hàm lượng collagen (mg/100g gan)	Độ giảm hàm lượng collagen gan so với đối chứng bệnh lý (%)	P
1	Đối chứng sinh lý	15	272,62 ± 11,34		
2	Đối chứng bệnh lý	15	436,33 ± 10,77		$P_{1.2} < 0,001$
3	Silymarin /cúc gai	15	395,36 ± 12,30	**9,39**	$P_{2.3} < 0,05$

Nhận xét: Carbon tetraclorid (CCl_4) được chuyển hoá bởi cytocrom P450 thành gốc triclorometyl có tính phản ứng gây một dây truyền peroxy hoá lipid. Những thay đổi này gây ra sự lắng đọng quá mức của collagen trong gan, dẫn đến xơ gan.

Mô hình gây bệnh đã làm tăng hàm lượng collagen gan một cách có ý nghĩa. Chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực, cho chuột cống trắng đã gây bệnh bằng CCl_4, uống hàng ngày với liều 0,4g silymarin/kg thể trọng/ngày trong 2 tháng, đã làm giảm hàm lượng collagen gan 9,39% so với lô chuột gây bệnh không được điều trị. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Như vậy, chế phẩm này có tác dụng ức chế xơ hoá gan ở liều đã thử.

3.6. Tác dụng trên hoạt độ enzym GPT và hàm lượng bilirubin huyết thanh

Bảng 9. **Tác dụng của chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực trên hoạt độ enzym GPT và bilirubin huyết thanh của chuột gây viêm gan mạn thực nghiệm**

TT	Lô chuột	Số chuột	Hoạt độ GPT huyết thanh		Hàm lượng bilirubin huyết thanh	
			GPT (U/L)	Độ giảm so với chứng bệnh lý (%)	Bilirubin (µ mol/l)	Độ giảm so với chứng bệnh lý (%)
1	Chứng sinh lý	15	42,40 ± 2,04		1,47 ± 0,05	

2	Chứng bệnh lý	15	134,40 ± 9,97		2,14 ± 0,14	
3	Silymarin /cúc gai	15	85,13 ± 7,52	36,66 $P_{2,3} < 0,05$	1,81 ± 0,08	15,17 $P_{2,3} = 0,05$

Nhận xét: Mô hình gây bệnh đã làm tăng hoạt độ enzym GPT và bilirubin huyết thanh của chuột lên một cách có ý nghĩa. Chế phẩm silymarin chiết xuất từ cúc gai di thực, cho chuột cống trắng đã gây bệnh bằng CCl_4, uống với liều 0,4g silymarin/kg thể trọng/ngày trong 2 tháng, đã làm giảm hoạt độ enzym GPT và bilirubin huyết thanh chuột so với lô chuột gây bệnh không được điều trị tương ứng là 36,66% ($P < 0,05$) và 15,17% ($P = 0,05$). Như vậy, thuốc đã có tác dụng bảo vệ tế bào gan một cách có ý nghĩa.

IV. KẾT LUẬN

Chế phẩm silymarin chiết xuất từ quả cúc gai di thực đã được thử tác dụng trên các mô hình thực nghiệm theo hướng làm thuốc điều trị viêm gan. Chế phẩm này đã thể hiện:

- Có tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt thực nghiệm, ức chế sự tạo u hạt với tỷ lệ 28,69% so với lô chuột đối chứng.
- Có tác dụng bảo vệ gan, làm giảm hoạt độ enzym GPT và bilirubin huyết thanh chuột nhắt tương ứng là 36,19% và 38,18% trên mô hình gây độc bằng CCl_4 trong 8 ngày so với đối chứng bệnh lý.
- Có tác dụng lợi mật, làm tăng lưu lượng mật lên 32,25% so với khi chưa dùng thuốc và 49,88% so với lô chuột không dùng thuốc mà không làm thay đổi chất lượng mật.
- Có tác dụng chống oxy hoá, làm giảm 23,12% hàm lượng MDA trong gan chuột so với đối chứng bệnh lý.
- Có tác dụng ức chế xơ hoá gan, làm giảm 9,39% hàm lượng collagen trong gan chuột so với đối chứng bệnh lý.
- Có tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình gây viêm gan mạn bằng carbon tetrachlorid, làm giảm tương ứng là 36,66% và 15,17% hoạt độ enzym GPT và hàm lượng bilirubin trong huyết thanh chuột so với đối chứng bệnh lý.

Với những kết quả nghiên cứu mà chúng tôi thu được ở trên có thể nói rằng cây cúc gai di thực vào Việt Nam vẫn giữ được những thành phần hoạt chất có tác dụng chống viêm gan, bảo vệ tế bào gan, bảo vệ chức năng gan. Điều đó đã góp thêm bằng chứng khoa học để khẳng định giá trị sử dụng của cây thuốc này ở Việt Nam, làm phong phú thêm nguồn nguyên liệu làm thuốc của chúng ta.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Wagner H.,(1980), Natural products as medicinal agents, Strasbourg.
2. Trịnh Thị Điệp, Nguyễn Thượng Dong, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Kim Bích, (2002), Tạp chí Dược liệu, tập 7, số 3, 73-76.
3. Ducrot R., Zulou L. et al., (1963), Ann. Pharm. Fr., 21, 703-717.
4. Turner R.A, Screening methods in pharmacology, Vol. 1, Test for hepatotoxicity, 290-300.
5. Turner R.A, (1965), Choleretic agents, Screening methods in pharmacology, Academic Press, New York and London, 229-230.
6. Maros T., Lacatos. C., (1971), On the anticirrhotic effect of certain biologically active short-chain thioaminoacids. Arzneimittelforschung, 21(2), 257.

TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA CAO PHỐI HỢP TỪ LÁ ĐINH LĂNG (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms, *Araliaceae*) VÀ NHÂN TRẦN TÂY NINH (*Adenosma bracteosum* Bonati, *Scrophulariaceae*)

Dương Thị Mộng Ngọc, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Thanh Tâm, Trần Công Luận - Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, bệnh viêm gan chiếm một tỷ lệ khá cao và việc tìm kiếm những dược thảo có tác dụng bồi dưỡng cơ thể, giải độc hàng ngày và đặc biệt có tác dụng bảo vệ gan là vấn đề quan tâm của ngành y tế Việt Nam và thế giới.

Một số công trình nghiên cứu đã công bố tác dụng chống oxy hóa, tăng cường chức năng giải độc gan trong thực nghiệm của lá đinh lăng và nhân trần Tây Ninh [1, 2] .

Tuy nhiên cho đến nay, chưa có công trình nào nghiên cứu một chế phẩm được điều chế từ lá đinh lăng và nhân trần Tây Ninh, là hai nguồn dược liệu có nhiều ở khu vực phía nam Việt Nam, để có thể vừa phát huy tác dụng chữa viêm gan mạn tính của cả hai dược liệu này, lại vừa phát huy tác dụng kích thích miễn dịch, chống trầm uất, tăng lực, chữa cơ thể suy nhược, gầy yếu của đinh lăng và tác dụng tăng tiết mật, kháng khuẩn, ăn uống kém tiêu, ngộ độc của nhân trần Tây Ninh.

Để góp phần vào việc nghiên cứu đó, bài này giới thiệu một số kết qủa nghiên cứu sơ bộ về độc tính cấp diễn đường uống và tác dụng bảo vệ gan của cao phối hợp từ lá đinh lăng và nhân trần Tây Ninh trên các mô hình gây tổn thương gan bằng ethanol, bằng CCl_4, bằng ethanol kết hợp CCl_4 và bằng paracetamol.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Lá đinh lăng và nhân trần Tây Ninh được chiết bằng phương pháp ngấm kiệt với dung môi là ethanol, thu được hai dạng cao toàn phần lá đinh lăng (Cao TPLĐL) và nhân trần Tây Ninh (Cao TPNTTN).
- Mẫu thử: Cao phối hợp (CPH) với liều thử là 0,58g/ kg thể trọng (0,08g cao TPLĐL và 0,5g cao TPNTTN được quy ra khô kiệt).
- Đường dùng thuốc: Đường uống
- Lô đối chiếu: Silymarin (0,1g/kg) (LKT Laboratories, Inc.) (đây là một hoạt chất chiết từ cây cúc gai (*Silibum marianum*) có tác dụng bảo vệ gan điển hình.
- Thể tích dùng thuốc: 10ml/ kg thể trọng

Động vật nghiên cứu:

Chuột nhắt trắng đực (chủng Swiss albino, 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 20 ± 2 gam), được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thử nghiệm độc tính cấp diễn đường uống: Xác định LD_{50} theo phương pháp Behrens và Karber [3]
- Xác định tác dụng bảo vệ gan của mẫu thử, tiến hành thăm dò tác dụng bảo vệ gan trên các thực nghiệm gây tổn thương gan như:
  - Thực nghiệm gây tổn thương gan mạn bằng ethanol 8 g/kg [4]
  - Thực nghiệm gây tổn thương gan cấp bằng tetraclorua carbon 2 g/kg [5]
  - Thực nghiệm gây tổn thương gan bằng ethanol 3,6 g/kg + CCl_4 2 g/kg [4, 5]
  - Thực nghiệm gây tổn thương gan bằng paracetamol [6]

Đây là các phương pháp thử nghiệm đơn giản, có độ tin cậy và đã được thử nghiệm rộng rãi trong và ngoài nước.

- Phương pháp xác định hàm lượng MDA được dùng để nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa [7]
- Malonyl dialdehyd (MDA) được sản sinh trong quá trình peroxy hóa lipid màng tế bào, khi cho phản ứng với acid thiobarbituric sẽ tạo ra phức màu hồng có độ hấp thu cực đại ở bước sóng 532nm. Đo cường độ màu của phức suy ra hàm lượng MDA có trong mẫu.
- Hàm lượng protid toàn phần trong mẫu được định lượng theo phương pháp Biure bằng bộ kit định lượng của hãng Human Ltd. Co.
- Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình của 3 lần đo và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-Way ANOVA. Tác dụng bảo vệ gan của nguyên liệu thử phải đạt ý nghĩa thống kê khi $P < 0,05$ so với đối chứng.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xác định độc tính cấp diễn đường uống

CPH không thể hiện độc tính cấp đường uống với liều thử là 0,58 g/kg thể trọng.

3. 2. Đánh giá tác dụng bảo vệ gan trong các tổn thương thực nghiệm

3. 2. 1. Thực nghiệm gây tổn thương gan bằng ethanol

Bảng 1. **Hàm lượng MDA trong gan ở các lô thử nghiệm trên mô hình gây tổn thương gan bằng ethanol**

Lô (n = 8 – 10)		Liều uống (g/kg)	Hàm lượng MDA (nM/ml dđt)	Hàm lượng MDA (nM/g protid)
EtOH (-)	Chứng	-	3,014 ± 0,152	82,290 ± 4,157
	Thử	0,58	2,812 ± 0,212	76,763 ± 5,778
	Silymarin	0,1	2,363 ± 0,191	64,502 ± 5,204
EtOH (+)	Chứng	-	3,993 ± 0,339	147,90± 12,540 **
	Thử	0,58	2,406 ± 0,119	65,690 ± 3,253*
	Silymarin	0,1	2,696 ± 0,258	73,616 ± 7,049*

* $P < 0,05$ so sánh với lô chứng tương ứng

** $P < 0,05$ so sánh nhóm bệnh lý với nhóm sinh lý bình thường

Nhận xét

➢ Nhóm sinh lý bình thường: Không gây xơ gan bằng EtOH, ký hiệu bằng EtOH (-) :

- Mẫu thử không ảnh hưởng hàm lượng MDA so với lô đối chứng.
- Lô đối chiếu silymarin làm giảm hàm lượng MDA (21,6%) so với lô chứng nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê.

➢ Nhóm bệnh lý: Gây xơ gan bằng EtOH, ký hiệu bằng EtOH (+):

- Lô đối chứng bệnh lý làm tăng rõ rệt hàm lượng MDA (79,7%) so với lô đối chứng bình thường, đạt ý nghĩa thống kê $P< 0,05$. Điều này cho thấy ethanol (1,8 g/kg uống trong 30 ngày) gây tổn thương gan thực nghiệm, làm gia tăng hàm lượng MDA trong tế bào gan.
- Lô thử làm giảm sự gia tăng MDA gây bởi ethanol (giảm 55,6%) so với lô chứng đạt ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.
- Lô đối chiếu silymarin thể hiện tác động làm giảm sự gia tăng hàm lượng MDA gây bởi ethanol (giảm 50,3%) so với lô chứng và đạt ý nghĩa thống kê.

3. 2. 2. Thực nghiệm gây tổn thương gan bằng CCl_4

Bảng 2. **Hàm lượng MDA trong gan ở các lô thử nghiệm trên mô hình gây tổn thương gan bằng carbon tetrachlorid**

Lô n = 8 - 10		Liều uống (g/kg)	Hàm lượng MDA (nM/ml dđt)	Hàm lượng MDA (nM/g protid)
CCl_4(-)	Đối chứng	-	2,781 ± 0,079	82,290 ± 4,157
	Thử	0,58	2,812 ± 0,212	76,763 ± 5,778
	Silymarin	0,1	2,362 ± 0,191	64,502 ± 5,204
CCl_4 (+)	Đối chứng	-	3,445 ± 0,270	102,446 ± 7,718*
	Thử	0,58	3,304 ± 0,467	80,521 ± 9,436
	Silymarin	0,1	3,111 ± 0,168	86,428 ± 4,670

* $P < 0,05$ so sánh lô đối chứng bệnh lý với lô đối chứng bình thường

Nhận xét

➢ Nhóm bình thường: Không gây tổn thương gan bằng CCl_4, ký hiệu bằng CCl_4 (-):

- Lô thử không ảnh hưởng trên hàm lượng MDA so với lô chứng
- Lô đối chiếu silymarin thể hiện được tác động làm giảm hàm lượng MDA (21,6%) so với lô đối chứng, nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê.

➢ Nhóm bệnh lý: Gây tổn thương gan bằng CCl_4, ký hiệu bằng CCl_4 (+):

- Lô đối chứng bệnh lý có sự tăng hàm lượng MDA (tăng 24,5%) so với lô chứng bình thường, đạt ý nghịa thống kê $P<0,05$. Điều này cho thấy CCl_4 liều 2g/kg gây tổn thương gan thực nghiệm, làm gia tăng hàm lượng MDA trong tế bào gan.
- Lô thử làm giảm sự gia tăng hàm lượng MDA gây bởi CCl_4 (giảm 21,4%) so với lô chứng nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê.
- Lô đối chiếu silymarin cũng làm giảm hàm lượng MDA gây bởi tetraclorua (giảm 15,7%) so với lô đối chứng, nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê.

3. *2. 3. Thực nghiệm gây tổn thương gan bằng ethanol và CCl_4*

Bảng 3. **Hàm lượng MDA trong gan ở các lô thử nghiệm trên mô hình gây tổn thương gan bằng ethanol và CCl_4**

Lô n = 8 – 10		Liều uống (g/kg)	Hàm lượng MDA (nM/ml dịch hoàng thể)	Hàm lượng MDA (nM/g protid)
EtOH và CCl_4 (-)	Đối chứng	-	2,781 ± 0,079	82,290 ± 4,157
	Thử	0,58	2,812 ± 0,212	76,763 ± 5,778
	Silymarin	0,1	2,363 ± 0,191	64,502 ± 5,204
EtOH và CCl_4 (+)	Đối chứng	-	5,112 ± 0,503	151,777 ± 15,571**
	Thử	0,58	3,717 ± 0,255	101,481 ± 6,969*
	Silymarin	0,1	4.581 ± 0,167	125,055 ± 2,194

* $P < 0,05$ so sánh với lô đối chứng tương ứng

** $P < 0,05$ so sánh nhóm bệnh lý với nhóm sinh lý bình thường

Nhận xét

➢ Nhóm bình thường: Không gây tổn thương gan bằng ethanol và CCl_4, ký hiệu bằng ethanol và CCl_4 (-):

- Lô thử không ảnh hưởng trên hàm lượng MDA so với lô đối chứng.
- Lô đối chiếu silymarin thể hiện được tác động làm giảm hàm lượng MDA (21,6%) so với lô đối chứng, nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê.

➢ Nhóm bệnh lý: Gây tổn thương gan bằng ethanol và CCl_4, ký hiệu bằng ethanol và CCl_4 (+):

- Lô đối chứng bệnh lý làm tăng rõ rệt hàm lượng MDA (tăng 84,4%) so với lô đối chứng bình thường, đạt ý nghĩa thống kê $P < 0,05$. Điều này giải thích việc dùng ethanol (3,6g/kg) phối hợp với CCl_4 (2g/kg) làm gia tăng hàm lượng MDA trong tế bào gan.
- Lô thử làm giảm rõ rệt sự gia tăng hàm lượng MDA gây bởi ethanol và CCl_4 (giảm 33,2%) so với lô đối chứng, đạt ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.
- Lô đối chiếu silymarin (0,1g/kg) thể hiện tác động làm giảm sự gia tăng hàm lượng MDA gây bởi ethanol và CCl_4 (giảm 17,6%) so với lô đối chứng, nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê.

3. 2. 4. Thực nghiệm gây tổn thương gan bằng paracetamol

Liều gây chết 50% (LD_{50}) chuột nhắt thử nghiệm của paracetamol theo đường uống là 0,626 g/kg. Lô thử cho uống 5 ngày trước khi cho uống liều LD_{50} của paracetamol có tác dụng bảo vệ động vật thử với phân suất tử vong ghi nhận sau 48 giờ theo dõi là 30%.

IV. KẾT LUẬN

4.1. Xác định độc tính cấp diễn đường uống

Cao phối hợp không thể hiện độc tính cấp đường uống với liều thử là 0,58g/ kg thể trọng.

4.2. Tác dụng bảo vệ gan trên các thực nghiệm gây tổn thương gan

Ở cả 3 thực nghiệm gây tổn thương gan bằng ethanol, bằng tetraclorua carbon, bằng ethanol và CCl_4 cao phối hợp (liều 0,58g/ kg thể trọng) đều thể hiện tác động bảo vệ gan thông qua việc ức chế phản ứng peroxyd hóa lipid, làm giảm hàm lượng MDA. Các tác dụng này đều được thử nghiệm đối chứng với silymarin (0,1g/kg), một hoạt chất chiết từ cây cúc gai (*Silibum marianum*) có tác dụng bảo vệ gan điển hình.

Trong mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng paracetamol, cao phối hợp cũng thể hiện được tác động bảo vệ gan thông qua việc làm giảm phân suất tử vong gây bởi liều LD_{50} của paracetamol.

Từ những kết quả trên đã tạo tiền đề cho những bước nghiên cứu tiếp theo, nhằm có thể tạo ra những chế phẩm phối hợp từ lá đinh lăng và nhân trần Tây Ninh có tác dụng phòng và chữa các bệnh viêm gan hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nhiều tác giả, (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật.
2. Nguyễn Thị Ánh Như, (2003), Nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa (antioxidant) của cây đinh lăng (Polyscias fruticosa (L) Harms.) thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae), khóa luận tốt nghiệp cử nhân sinh học.
3. Đỗ Trung Đàm, (1996), Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc. NXB. Y học, Hà Nội, trang 7 -11.
4. Maria Fracisca MOLINA, Isabel SANCHEZ-REUS, Irene IGLESIAS, and Juana BENEDI, (2003), Quercetin, a flavonoid Antioxidant, Prevents

and Protects against Ethanol-Induced Oxidative Stress in Mouse Liver, Biol. Pharm. Bull. 26(10) 1398 – 1402.

5. Alant Willams and Raymond F. Burk, (1990), Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of free radial-mediated injury, Seminars in Liver Disease, 10, N^0 4, 279 – 281.
6. Pulok K. Mukherjee, (2002), Quality control of herbal drugs, Horizons Pharmaceutical Publishers, 529. 532.
7. Stroev E. A., Makarova V. G., (1989), Determination of lipid peroxidation rate in tissue hornogenate laboratory. Munual in Biochemistry, Moscow, 243-256.

MỘT SỐ SAPOGENIN TỪ *TRIBULUS TERRESTRIS* MỌC Ở VIỆT NAM

Trần Công Luận, Nguyễn Xuân Trường, Đỗ Thanh Phú, Nguyễn* Thượng *Dong,
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh – Viện Dược liệu

TÓM TẮT

Từ phần trên mặt đất của loài *Tribulus terrestris* mọc ở ven biển khu vực tỉnh Khánh Hòa chúng tôi đã phân lập được 03 hợp chất sapogenin, có cấu trúc được xác định là neotigogenin, neohecogenin và neogitogenin. Việc nghiên cứu cấu trúc chủ yếu dựa trên phổ NMR và phổ khối, kết hợp với so sánh các dữ liệu phổ tương ứng tham khảo từ các bài báo liên quan.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tribulus terrestris L. (*Zygophyllaceae*) mọc tự nhiên nhiều nơi trên thế giới, từ Trung Quốc, Nhật, Hàn Quốc, Tây Á cho đến Nam châu Âu, Nam Phi và Bắc Mỹ. Ở Việt Nam, loài này mọc tự nhiên dọc biển từ Quảng Bình vào đến phía nam.

T. terrestris là loài thân thảo, hằng niên. Loài này được dùng làm thuốc cổ truyền ở nhiều nước trên thế giới. Người ta dùng *T. terrestris* trong các vị thuốc trị bệnh tim mạch, chứng phù, bệnh về mắt, ghẻ ngứa và đặc biệt là trị chứng bất lực trong sinh

hoạt tình dục [1,3,5]. Hiện trên thế giới đã có nhiều chế phẩm chứa dịch chiết *T. terrestris*, chẳng hạn như tribestan (Bulgaria), libillov (Mỹ) dùng điều trị chứng bất lực; Xin-nao-shu-tong (Trung Quốc) trị bệnh tim mạch [1,6,7,10]. Trong những chế phẩm này, phần saponin của dịch chiết *T. terrestris* là thành phần hoạt chất chính có tác dụng điều trị. Tuy nhiên, những thành phần khác cũng phát hiện thấy có tác dụng sinh học.

Nhiều nghiên cứu về hóa học đã được thực hiện và kết quả cho thấy *T. terrestris* có chứa những hợp chất như các saponin furostanol và spirostanol, glycosid flavonoid, alkaloid và một số amid [3,4,5,9]. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu về hóa thực vật trên *T. terrestris* đều có nguồn gốc từ Bulgaria hay Trung Quốc. Do đó, trong báo cáo này, chúng tôi đã khảo sát các sapogenin từ *T. terrestris* mọc ở Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu: Phần trên mặt đất của cây *T. terrestris* được thu hái từ Khánh Hòa. Nguyên liệu được phơi khô và xay nhỏ.

Phương pháp nghiên cứu: Phổ NMR được ghi trên máy phổ Bruker AVANCE 500 MHz, trong dung môi $CDCl_3$ hoặc pyridin-D5 với chất chuẩn nội là tetramethyl silan (TMS). Sắc ký cột (SKC) với chất hấp phụ là silicagel 60 F254 (0,063-0,2 mm, Merck). Bản nhôm tráng sẵn silicagel 60F254 được dùng trong sắc ký lớp mỏng (SKLM). Thuốc thử Sanni dùng để phát hiện vết trên bản mỏng.

Chiết xuất saponin thô toàn phần: Chiết ngấm kiệt bột dược liệu (1kg) với MeOH. Cô dịch chiết dưới áp xuất giảm và hòa cắn thu được với lượng nước vừa đủ tan. Lắc với ether ethylic cho đến khi lớp ether nhạt màu. Sau đó, lớp nước thu được tiếp tục lắc với *n*-BuOH (3x0,5 lít). Tập trung dịch BuOH và cô dưới áp xuất giảm đến cắn, thu được 9,36g saponin thô toàn phần.

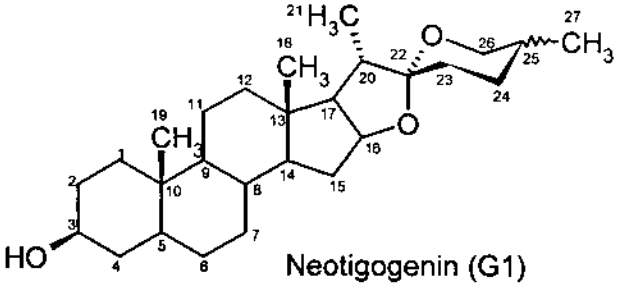
Chiết sapogenin toàn phần: Thủy phân saponin thô toàn phần trong dung dịch dioxan/HCl 2N (1/1) trong 2 giờ. Làm lạnh dung dịch, lắc với $CHCl_3$. Rửa dịch $CHCl_3$ với nước cất cho đến khi trung hòa. Dịch chiết được tập trung và cô dưới áp xuất giảm cho đến khô, thu được 4,3g cắn sapogenin thô toàn phần.

Phân lập các sapogenin: Rửa giải sapogenin thô toàn phần qua SKC với hệ dung môi benzen/EtOAc có tỷ lệ thay đổi từ 5/1 (v/v) đến 5/5 (v/v). Chúng tôi thu được 07 phân đoạn (F1-F7). Từ phân đoạn F2, F4 và F6, lặp lại quá trình SKC tương tự như trên, thu được 03 phân đoạn chứa những hợp chất gọi là G1, G2, G3. Kết tinh trong dung môi MeOH/$CHCl_3$, thu được các tinh thể hình kim với khối lượng lần lượt như sau: 59mg (G1), 25mg (G2) và 20 mg (G3).

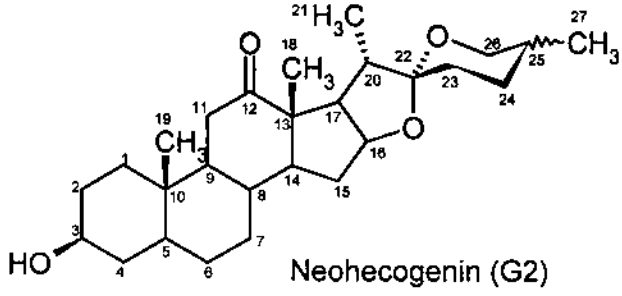
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân tích cấu trúc các hợp chất G1, G2 và G3 dựa trên các thông số phổ MS, ^{1}H và ^{13}C NMR so sánh với những sapgenin đã được nghiên cứu trong các tài liệu tham khảo về *T. terrestris* [2,9,10]. Cuối cùng, chúng tôi đã đề xuất cấu trúc của 03 sapogenin phân lập được là neotigogenin (G1), neohecogenin (G2) và neogitogenin (G3).

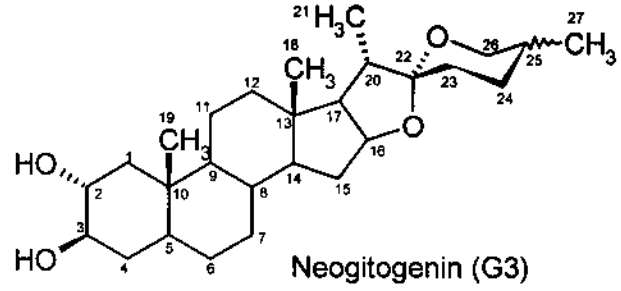
C	G1	G2	G3
1	37,0	46,4	36,9
2	31,5	73,0	31,4
3	71,3	76,7	70,3
4	38,2	37,2	39,0
5	44,8	45,2	44,9
6	28,6	28,3	28,7
7	32,2	32,4	31,8
8	35,1	34,6	34,4
9	54,4	54,6	55,7
10	35,6	37,5	36,3
11	21,1	21,5	38,0
12	40,1	40,1	212,9
13	40,5	40,8	55,4
14	56,3	56,4	56,0
15	31,7	32,1	32,1
16	80,9	81,2	79,8
17	62,0	62,8	54,1
18	16,5	16,6	16,2
19	12,4	13,7	11,9
20	42,1	42,5	43,1
21	14,3	14,8	13,7
22	109,7	109,7	109,8
23	27,1	27,5	27,5
24	25,8	26,2	26,1
25	26,0	26,4	26,3
26	65,1	65,0	65,2
27	16,1	16,3	16,1



Neotigogenin (G1)



Neohecogenin (G2)



Neogitogenin (G3)

IV. KẾT LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên về thành phần hóa học của loài *Tribulus terrestris* mọc ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cho thấy thành phần cấu trúc các sapogenin loài *T. terrestris* ở nước ta rất giống với những loài mọc ở Trung Quốc và Bulgaria. Thành phần sapogenin chính của *T.terrestris* mọc ở Việt Nam gồm neotigogenin, neohecogenin và neogitogenin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adimoelja A.., (2000), Phytochemicals and the breakthrough of traditional herbs in the management of sexual dysfunctions. Int J Androl. 23,
2. Agrawal P.K., Jain D.C., Gufta R.K. and Thakur R.S., (1985), Review article number 11: Carbon-13 NMR spectroscopy of Steroidal sapogenins and Steroidal saponins. Phytochemistry, Vol. 24, No. I I, pp. 2479-2496.
3. Cai L, Wu Y, Zhang J, Pei F, Xu Y, Xie S, Xu D., (2001), Steroidal saponins from *Tribulus terrestris*. Planta Med. 67,196.
4. Conrad J. , Dinchev D. , Klaiber I. , Mika S. , Kostova I., Kraus W., (2004), A novel furostanol saponin from *Tribulus terrestris* of Bulgarian origin. Fitoterapia 75 ,117–122.
5. Chui S.Z., Liao C.X., Jiao Q.P., Zhu H.M., Chen S.Y., Chou Z.J. (1992), Xinnao shutong for coronary heart disease in 41 patients. New Drugs and Clinical Remedies 11, 202–204.
6. De Combarieu E, Fuzzati N, Lovati M, Mercalli E., (2003), Furostanol saponins from *Tribulus terrestris*. Fitoterapia,74(6),583-91.
7. Gauthaman K., Adaikan P.G., Prasad R.N.V., (2002), Aphrodisiac properties of *Tribulus Terrestris* extract (Protodioscin) in normal and castrated rats. Life Sciences 71, 1385–1396.
8. Gauthaman K., Adaikan P.G., (2005), Effect of *Tribulus terrestris* on nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase activity and androgen receptors in rat brain. Journal of Ethnopharmacology 96, 127–132.
9. Wang Y., Ohtani K., Kasai R. and Yamasaki K., (1996), Steroidal saponins from fruits of *Tribulus terrestris*. Phytochemistry Vol. 42, No. 5, pp. 1417-1422.
10. Wang B., Ma L., Liu T., (1990), 406 cases of angina pectoris in coronary heart disease treated with saponin of *Tribulus terrestris*. Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 10,85-7.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ HÀM LƯỢNG VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU CÂY MẮC MẬT THU HÁI TẠI CAO BẰNG (*Clausena indica* (Dalzell) Oliv.)

Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Bích Thu, Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Thị Nụ *- Viện Dược liệu*
Hoàng Giang, Nông Ích Thượng *- Sở Khoa học -Công nghệ tỉnh Cao Bằng*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây mắc mật (MM) thu hái tại Cao Bằng đã được TS. Nguyễn Tập và cs. xác định tên khoa học là *Clausena indica* (Dalzell) Oliv., họ Cam (*Rutaceae).*

Hiện nay, cây MM mới chỉ được sử dụng trong phạm vi hẹp, làm gia vị hoặc có buôn bán trao đổi sang Trung Quốc ở dạng quả chín tươi hoặc quả phơi khô. Theo kinh nghiệm của nhân dân có dùng cành, lá, rễ MM làm thuốc chữa phong thấp, cảm sốt, lá nấu nước gội đầu làm sạch gàu. Giá trị đầu tiên của cây MM là được dùng làm gia vị. Lá kho lẫn với cá, thịt hoặc thái nhỏ xào với thịt có mùi vị thơm ngon rất đặc biệt. Lá còn được nhồi vào bụng lợn sữa, ngan, vịt,...để quay, đây là món ăn rất ngon ở vùng Thất Khê, Đồng Mỏ - Lạng Sơn, Đông Khê - Cao Bằng. Quả MM chín có vị chua ngọt, thơm. Đồng bào ngâm quả MM với măng và ớt, đây là một gia vị được nhiều người ưa thích.

Cây MM của Việt Nam mặc dù lá và quả có mùi thơm đặc biệt thể hiện có rất nhiều tinh dầu nhưng chưa được nghiên cứu như một cây tinh dầu. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu hàm lượng và thành phần hoá học của tinh dầu có trong các bộ phận của cây MM.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là các bộ phận của cây mắc mật (lá, quả, cành, thân, rễ) thu hái tại 2 điều kiện thổ nhưỡng khác nhau tại tỉnh Cao Bằng vào tháng 6 năm 2005:

- Vườn nhà (đất): Tại khu Trại giam Duyệt Chung – thị xã Cao Bằng.
- Núi đá vôi: Tại Lam Sơn, Hồng Việt, Hoà An.
- Các mẫu lá, quả, thân, rễ tươi của cây MM được Sở Khoa học-Công nghệ tỉnh Cao Bằng thu hái và cung cấp cho Viện Dược liệu ngay trong ngày thu hái để phục vụ cho nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- ***Phương pháp xác định hàm lượng tinh dầu:*** Hàm lượng tinh dầu được xác định bằng phương pháp cất kéo hơi nước theo Dược điển Việt Nam 3. Các mẫu lá, quả và hạt được cất tinh dầu ngày sau khi thu hái (khi mẫu còn tươi).

- ***Phương pháp phân tích định tính và định lượng thành phần hóa học của tinh dầu:*** Thành phần hoá học và hàm lượng của các thành phần của tinh dầu cây MM được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí – khối phổ (SKK-KP) với điều kiện sau:

  - Máy SKK-KP: GC-MS-QP2010 của hãng Shimadzu (Nhật Bản)
  - Cột sắc ký khí: DB-5MS (30 m x 0.25 mm ID)
  - Khí mang: Khí heli
  - Tỷ lệ m/z từ: 40 - 250
  - Nhiệt độ buồng tiêm: 150^0C
  - Nhiệt độ phát hiện: 200^0C
  - Chương trình nhiệt độ: 50^0C; giữ trong 2 phút, tăng tới 250^0C, tốc độ 8^0C/phút
  - Thể tích mẫu tiêm: 1 µl
  - Hệ số tách dòng: 30

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Hàm lượng tinh dầu

Như đã biết lá và quả cây MM có mùi thơm đặc trưng, đặc biệt khi vò lá và vỏ quả nhận thấy mùi thơm toả ra dễ chịu, lúc đầu hơi giống mùi thơm của quả cây hồng bì (*Clausena lansium*) nhưng sau mùi thơm dịu hơn và rất đặc trưng của cây MM. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu về tinh dầu của các bộ phận có mùi thơm của cây MM như lá, vỏ quả, hạt, cành, cuống lá, cuống quả. Kết quả xác định hàm lượng tinh dầu được trình bày ở bảng 1.

***Bảng1.* Hàm lượng tinh dầu trong các bộ phận khác nhau của cây mắc mật**

STT	Bộ phận của cây	Hàm lượng tinh dầu (% so với khối lượng khô tuyệt đối của nguyên liệu)		
		Vườn nhà (đất)	Núi đá	Trung bình
1	Lá	3,13	2,29	***2,71***
2	Cuống lá	0,72	0,68	0,70
3	Cành nhỏ	0,52	0,46	0,49
4	Quả (bỏ hạt)	1,78	2,13	1,96
5	Vỏ quả	5,48	5,62	***5,55***
6	Cuống quả	0,7	0,7	0,70
7	Hạt	1,46	1,48	1,47

Bảng 1 cho thấy tất cả các bộ phận thuộc phần trên mặt đất của cây MM có chứa tinh dầu với hàm lượng khác nhau. Bộ phận có nhiều tinh dầu nhất là vỏ quả (bỏ hạt và thịt quả): 5,55%. Sau vỏ quả là lá chứa 2,71 %. Hạt MM cũng chứa một hàm lượng đáng kể tinh dầu: 1,47%. Hàm lượng tinh dầu cao trong vỏ quả là một đặc điểm nổi bật của nhiều loài trong chi *Citrus* và một số loài trong chi *Clausena* thuộc họ Cam.

So sánh hàm lượng tinh dầu của cây MM thu hái tại 2 vùng núi đá và vườn nhà không nhận thấy có sự khác nhau về hàm lượng tinh dầu.

3.2. Thành phần hoá học tinh dầu

Hàm lượng tinh dầu cao trong quả và lá cây MM đã gây sự chú ý đặc biệt khi nghiên cứu cây này. Vì vậy, việc nghiên cứu thành phần hóa học của tinh dầu là việc làm cần thiết để định hướng cho sử dụng tinh dầu MM. Tinh dầu MM thu được bằng phương pháp cất kéo hơi nước là chất lỏng không màu đến màu vàng nhạt sau một vài ngày để ở nhiệt độ phòng. Tinh dầu có mùi thơm dịu. Các thành phần hoá học của tinh dầu lá và quả MM được nhận dạng bằng cách so sánh thời gian lưu và phổ khối lượng của các pic thu được trên phổ sắc ký khí với phổ khối lượng của các chất trong thư viện phổ chuẩn có trong máy SKK-KP. Hàm lượng của các thành phần được tính theo % diện tích của pic trên tổng số diện tích của các pic phát hiện được. Kết quả thu được trình bày tại các bảng 2, 3.

Bảng 2. **Thành phần hoá học và hàm lượng các thành phần của tinh dầu lá MM**

TT	Tên chất	Hàm lượng (%) trong tinh dầu	
		Vườn nừa	Núi đá
1	alpha-pinen	1,55	0,72
2	beta-myrcen	1,49	0,77
3	delta-caren	0,31	4,47
4	cymol	4,67	2,27
5	*D*-limonen	1,97	0,91
6	alpha-terpinolen	3,53	1,01
7	myrtenol	6,47	4,40
8	*trans*-carveol	1,07	0,69
9	***p- cymen-8-ol***	***22,45***	***18,58***
10	beta-bisabolen	0,61	3,26
11	***myristicin***	***40,37***	***56,04***

Bảng 2 cho thấy đã nhận dạng được 11 trong số ~ 20 pic trên sắc ký đồ SKK của tinh dầu lá MM. Trong đó, 2 thành phần chính của tinh dầu lá MM là ***myristicin*** (40, 37 - 56,04%) và ***p- cymen-8-ol*** (18,58 – 22,45). Không nhận thấy sự khác nhau đáng kể về số chất và hàm lượng của các chất trong tinh dầu lá MM thu tại 2 địa điểm nghiên cứu vườn nhà và núi đá (phụ lục 1).

Điểm đáng chú ý là trong tinh dầu lá MM có myristicin với hàm lượng cao (40,37 - 56,04%). Myristicin (methoxysafrol) là một chất có công thức hoá học $C_{11}H_{12}O_3$ (5-allyl-1-methoxy-2,3-methylen dioxybenzen) có trong tinh dầu quả nhục đậu khấu (*Myristica fragrans* Houtt.) với hàm lượng 4% (phụ lục 2). Nhục đậu khấu là vị thuốc dùng trong cả Đông y và Tây y [6].

Ngoài ra, myristicin còn có trong tinh dầu một số cây gia vị khác nhưng với hàm lượng ít hơn như cây ngổ tây, cây thì là. Đây là một chất có tác dụng kích thích thần kinh ở liều cao. Theo một số tài liệu myristicin là một chất diệt côn trùng và giun sán nguồn gốc thiên nhiên có tác dụng trên thần kinh: gây ảo giác ở liều cao hơn rất nhiều so với liều dùng làm gia vị trong nấu ăn. Trước đây myristicin được dùng trong điều trị một số bệnh thần kinh. Độc tính cấp của myristicin rất thấp: không nhận thấy độc tính khi cho chuột uống liều 10 mg/kg thể trọng chuột [13, 16].

Như đã trình bày ở bảng 1, hàm lượng tinh dầu cao nhất trong vỏ quả MM. Kết quả phân tích thành phần tinh dầu quả MM bằng SKK-KP được trình bày ở bảng 3.

***Bảng 3.* Thành phần hoá học và hàm lượng các thành phần của tinh dầu quả MM**

STT	Tên chất	Hàm lượng (%) trong tinh dầu	
		Vườn nhà	Núi đá
1	alpha-pinen	0,22	0,16
2	***beta-myrcen***	***70,45***	***70,66***
3	delta-caren	1,42	0,83
4	cymol	1,02	0,51
5	*D*-limonen	1,43	0,90
6	beta-phellandren	0,33	0,27
7	alpha-terpinolen	1,58	1,99
8	*p* - cymen-8-ol	1,23	0,56
9	***myristicin***	***18,77***	***20,97***

Kết quả phân tích trình bày ở bảng 3 cho thấy thành phần hóa học của tinh dầu lá và quả MM có sự khác nhau cơ bản về hàm lượng một số thành phần chính. Điều này giải thích vì sao mùi thơm của quả MM khác với mùi của lá MM. Nếu thành phần chính của tinh dầu lá MM là myristicin thì thành phần chính của tinh dầu quả MM là beta-myrcen từ 70,45 đến 70,66% của tinh dầu. Tinh dầu quả MM cũng có hàm lượng myristicin tương đối cao (18,77 – 20,97%). Beta-myrcen là một monoterpen mạch thẳng có công thức phân tử là $C_{10}H_{16}$, thường gặp trong tinh dầu vỏ cam và chính nó tạo ra mùi thơm dễ chịu và hấp dẫn của vỏ cam. Gần đây beta-myrcen còn được tìm thấy trong tinh dầu của loài xả chanh (*Cymbopogon citratus*) ở Brazil [9, 10]. Tuy nhiên, cho đến nay chúng tôi chưa tìm thấy tài liệu viết về loại tinh dầu có hàm lượng beta –myrcen cao như trong tinh dầu quả MM. Đây thực sự là một điểm đặc biệt của tinh dầu quả MM.

Hiện nay tại Brazil có Chương trình nghiên cứu tiền lâm sàng về beta-myrcen vì đã phát hiện myrcen là chất có tác dụng giảm đau nguồn gốc thiên nhiên có triển vọng. Tác dụng giảm đau của sả chanh chính là do tác dụng giảm đau của beta-myrcen có trong tinh dầu sả chanh. Kết qủa nghiên cứu cho thấy myrcen không gây đột biến trên thực nghiệm với nhiễm sắc thể của *Salmonella*.

Hy vọng của Brazil sau nghiên cứu này sẽ đưa ra được thuốc giảm đau từ beta-myrcen ít độc hại hơn các thuốc giảm đau hoá chất [9, 10, 11].

Như vậy, tinh dầu quả MM với hàm lượng beta-myrcen rất cao 70% - có triển vọng làm thuốc giảm đau nguồn gốc thiên nhiên trong tương lai.

- **Bàn luận kết quả**

Cây MM là cây gia vị truyền thống của đồng bào vùng cao ở các tỉnh Cao Bằng, Lạng Sơn, Bắc Kạn... nhưng còn chưa được nghiên cứu về nhiều mặt. Kết quả nghiên cứu của đề tài đã cho những số liệu có nhiều ý nghĩa về khoa học và giá trị thực tiễn.

Cho đến nay tên khoa học của cây MM được viết cho cây vương tùng trong hầu hết các sách cây thuốc ở Việt Nam [1, 3, 4, 8, 18]. Theo các tác giả của khoa Tài nguyên dược liệu tên khoa học của cây MM ở Cao Bằng đã được xác định là *Clausena indica* (Dalzell) Oliv., họ Cam (*Rutaceae*). Việc xác định tên khoa học sẽ góp phần quan trọng cho thành công của các nghiên cứu tiếp theo về cây MM, đặc biệt trong việc trao đổi, so sánh và thừa kế các tư liệu Quốc tế về các thành phần hoá học có trong cây MM.

Kết quả nghiên cứu về thành phần hoá học của cây MM sẽ góp phần quyết định trong việc định hướng nghiên cứu tiếp theo và nâng cao giá trị sử dụng cũng như giá trị kinh tế của cây MM. Điểm nổi bật của cây MM là mùi thơm dịu đặc trưng và hấp dẫn toả ra từ lá và quả MM. Vì vậy, tinh dầu MM đã thu hút sự chú ý đầu tiên của nhóm nghiên cứu. Kết quả xác định hàm lượng tinh dầu cho thấy vỏ quả MM có hàm lượng tinh dầu cao nhất; đến 5,55%. Sau đó là lá MM có hàm lượng tinh dầu 2,71% (bảng 1). Kết quả trên đây gợi ý chúng ta xếp cây MM vào nhóm cây tinh dầu.

Tuy nhiên, sử dụng truyền thống của cây MM là cây gia vị. Vậy tại sao cây MM lại được dùng làm cây gia vị ? Giải đáp câu hỏi này là các kết quả phân tích thành phần hoá học của tinh dầu lá và quả MM. Một phát hiện mới về tinh dầu lá MM là hàm lượng myristicin rất cao, đến 56% (bảng 2). Myristicin là một chất kích thích có trong các loài cây gia vị như hạt tiêu, hạt cà rốt, hạt cần tây và đặc biệt là trong quả nhục đậu khấu – một gia vị đắt tiền tại thị trường châu Âu từ thế kỷ 11 đến nay [19]. Vì vậy, cần có những nghiên cứu tiếp theo về myristicin trong tinh dầu lá MM.

Tinh dầu quả MM với hàm lượng rất cao của beta-myrcen (đến 70%) cũng là điểm đáng chú ý bởi vì chưa có tài liệu nào viết về một loại tinh dầu có hàm lượng beta-myrcen cao như vậy (bảng 3). Hơn thế nữa, beta- myrcen lại đang

được một số nhà khoa học nước ngoài nghiên cứu làm thuốc giảm đau nguồn gốc thiên nhiên ít độc hại [9, 10, 11].

IV. KẾT LUẬN

1) Các bộ phận sau đây của cây MM có tinh dầu và hàm lượng được xếp theo thứ tự từ cao đến thấp như sau (% so với khối lượng khô tuyệt đối của nguyên liệu):

- Vỏ quả MM -là cao nhất : 5,48 – 5,62
- Lá: 2,29 - 3,13
- Quả bỏ hạt: 1,78 – 2,13
- Hạt: 1,46 – 1,48
- Cuống lá: 0,68 – 0,72
- Cuống quả: 0,7

2) Thành phần hoá học của tinh dầu quả MM: Bằng phương pháp SKK-KP đã nhận dạng và xác định hàm lượng của 9 thành phần, trong đó có 2 thành phần chính là beta-myrcen (70,45 – 70,66%) và myristicin (18,74 – 20,97%).

3) Thành phần hoá học của tinh dầu lá MM: Bằng phương pháp SKK-KP đã nhận dạng và xác định hàm lượng của 11 thành phần, trong đó có 2 thành phần chính là myristicin (40,37 - 56,04%) và *p*-cymen-8-ol (18,58 – 22,45%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Delgado IF et al., (1993), Peri – and postnatal developmental toxicity of beta-myrcene in the rat. Food Chem Toxicol. 31(9): 623 – 8.
2. Francisco Jos Roma Paumgartten, (2005), Preclinical toxicological study of beta-myrcene, an analgesic substance obtained from lemongrass (*Cymbopogon citratus*, Stapf). http://www.dbbm.fiocruz.br/biotech/tox2.html.
3. Gomes-Carneiro MR, Viana ME, Felzenswalb I, Paumgartten FJ., (2005), Evaluation of beta-myrcene, alpha-terpinene and (+) and (-) alpha-pinene in the *Salmooonella*/micrisome assay. Chem. Toxicol. 43(2): 247 – 52.
4. Guillaumin, (1911), Flore génerale de L' Indo-chine 660-665. Paris.
5. Hallstrom H, Thuvander A., (1997), Toxicological evaluation of myristicin. Nat. Toxins. 5(5): 186 – 192.

6. Hooker, J.D, (1875), Flora of Bristsh, 1: 503-506.
7. Joshi BS., Kamat VN, Gawad DH., (1974), Structure of clausindine, a new coumarin from *Clausena indica* Oliv. Experientia; 30(3): 223.
8. Myristicin – Wikipedia, (2005), the free encyclopedia. http://en.wikipedia.org/wiki/myristicin.
9. Molino, J.I, (1994), Revision de genre *Clausena* Burm.f. (Rutaceae). Adansonia, 1: 105-153.
10. National Institute of Materia Medica, (1999), Seleted Medicinal Plants in Vietnam, Science and Technology publishing House. vol.2: 117-119 .
11. Nutmeg & Mace. (2005). http://www.menumagazine.co.uk/book/aznutmeg.htm.
12. Riemer B. Hofer O., Greger H., (1997), Tryptamine derived amides from *Clausena indica*. Phytochemistry; 45 : 337 – 341.

TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA NÁNG HOA TRẮNG (*CRINUM ASIATICUM* L., *AMARYLLIDACEAE*)

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

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây náng hoa trắng còn gọi là cây lá náng, cây tỏi lơi, tỏi voi, chuối nước .

Tên khoa học là: *Crinum asiaticum L. Amaryllidaceae*. Hiện nay, ở nhiều nơi, nhân dân đã dùng nước sắc để chữa phì đại tuyến tiền liệt và một số loại u khác.

Dựa vào cơ sở thực tế chữa bệnh của nhân dân, chúng tôi đã nghiên cứu tác dụng dược lý của cây náng hoa trắng, tìm nhóm hoạt chất có tác dụng làm giảm phì đại lành tính tuyến tiền liệt. Đồng thời bước đầu thăm dò xem thuốc có gây tác hại đến hệ sinh dục nam hay không.

Nội dung nghiên cứu như sau:

1. Nghiên cứu tác dụng ức chế u hạt thực nghiệm
2. Nghiên cứu tác dụng giảm phì đại tuyến tiền liệt. So sánh tác dụng giảm phì đại tuyến tiền liệt của alcaloid với các liều tương đương 1 - 2 - 3 - 4g dược liệu khô/kg
3. Xác định độc tính cấp của alcaloid toàn phần
4. Xác định độc tính bán trường diễn của alcaloid toàn phần
5. Nghiên cứu ảnh hưởng của alcaloid toàn phần đến tác dụng hướng sinh dục nam ở chuột cống trắng non
6. Nghiên cứu ảnh hưởng của alcaloid toàn phần đến hoạt động sinh dục của chuột cống trắng đực thông qua sự thụ thai của chuột cái.

II. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Động vật thí nghiệm

+ Chuột cống trắng đực và cái khoẻ mạnh, còn non trọng lượng 40 - 60 g và đã trưởng thành 120-160g.

+ Chuột nhắt trắng, trưởng thành, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, trọng lượng 20 - 22 g.

+ Thỏ trưởng thành, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, trọng lượng 2,0 - 2,2 kg.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

2.2.1. Mẫu thử: Cao cồn; cao nước; bột alcaloid toàn phần, tỷ lệ chiết được là 2% so với dược liệu khô

2.2.2. Hoá chất và thiết bị nghiên cứu: Testosteron, kit thuốc thử định lượng sinh hoá, kit thuốc thử xét nghiệm huyết học; máy định lượng sinh hoá bán tự động Scout, máy phân tích máu Sysmex.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nghiên cứu tác dụng ức chế u hạt thực nghiệm trên chuột cống trắng theo phương pháp của Flandre et al, 1968 [4]

Động vật thí nghiệm: Chuột cống trắng trưởng thành, trọng lượng 100g – 120 g.

Dùng một mẩu sợi amian có trọng lượng 30mg ± 0,1 mg được vê tròn và sấy tiệt trùng trong tủ sấy ở nhiệt độ 160^0C trong 2 giờ, cấy dưới da lưng chuột. Phẫu thuật được tiến hành trong điều kiện bán vô trùng.

Sau 1 thời gian uống thuốc, bóc tách u hạt. Trọng lượng trung bình u hạt của chuột thử thuốc được so sánh với trọng lượng u hạt của chuột đối chứng. Tác dụng ức chế u được biểu thị bằng tỷ lệ % giảm trọng lượng u hạt ở lô thử so với lô chứng.

2.3.2. Nghiên cứu tác dụng giảm phì đại tuyến tiền liệt

Gây phì đại tuyến tiền liệt theo phương pháp của Dorfman [3].

Chuột cống trắng đực còn non, trọng lượng 50 - 60 g được chia đều thành các lô thí nghiệm. Gây phì đại tuyến tiền liệt bằng cách tiêm testosteron pha trong dầu olive. Sau 1 thời gian uống thuốc, mổ chuột để tách tuyến tiền liệt. So sánh trọng lượng trung bình tuyến tiền liệt của lô thử thuốc với lô chứng bệnh lý không dùng thuốc.

2.3.3. Xác định độc tính cấp

Độc tính cấp được tiến hành theo sách "Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc" [8] và LD_{50} được tính theo Behrens- Karber.

Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng trưởng thành, trọng lượng 20-22g.

Nguyên tắc của phương pháp:

+ Xác định liều tối đa không gây chết con chuột nào trong tổng số chuột thí nghiệm (LD_0).

+ Xác định liều tối thiểu làm chết 100% chuột thí nghiệm trong tổng số chuột thí nghiệm (LD_{100}).

+ Từ khoảng cách giữa 2 liều trên ($LD_0 - LD_{100}$), thử 3 - 4 liều trung gian và xác định số chuột chết do các liều này.

Theo dõi tình trạng hoạt động, mức ăn uống của chuột thí nghiệm và số chuột chết, sống trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc.

LD_{50} (liều gây chết 50%) được tính theo công thức:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\Sigma Zd}{n}$$

2.3.4. Xác định độc tính bán trường diễn

Động vật thí nghiệm: Thỏ trưởng thành, trọng lượng 2,0- 2,2 kg

Đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến chức năng gan, thận, chức năng tạo máu sau khi uống thuốc hàng ngày trong 1 tháng với liều 2,5 g bột alcaloid/kg (cao gấp 10 lần liều dự kiến dùng trên người tính theo kg thể trọng).

Các chỉ số được dùng để đánh giá:

- Chức năng tạo máu được đánh giá thông qua:

+ Số lượng bạch cầu

+ Số lượng hồng cầu

+ Tỷ lệ huyết sắc tố

- Chức năng gan được đánh giá thông qua các xét nghiệm:

Định lượng hàm lượng protein toàn phần, định lượng hoạt độ các enzym ALT (GPT) và AST (GOT) trong huyết thanh

- Chức năng thận được đánh giá thông qua các xét nghiệm:

Định lượng hàm lượng creatinin trong huyết thanh

- Xét nghiệm mô bệnh học tế bào gan, thận, thượng thận để đánh giá tổn thương thực thể của thuốc (nếu có).

2.3.5. Tác dụng hướng sinh dục ở chuột đực

Phương pháp tiến hành theo Hebborn (1971), [5].

Động vật thí nghiệm: Chuột cống đực non, trọng lượng từ 40 g-50 g.

Sau một thời gian uống thuốc, gây mê chuột, bóc tách tinh hoàn, tuyến tiền liệt, túi tinh. Xác định trọng lượng của tổ chức tươi rồi qui về cho 100g chuột. So sánh trọng lượng trung bình của tinh hoàn, tuyến tiền liệt, túi tinh giữa lô thử và lô chứng

2.3.6. Xác định ảnh hưởng của náng hoa trắng đến hoạt động sinh dục của chuột đực thông qua sự thụ thai của chuột cái [3]

Động vật thí nghiệm: Chuột cống trắng đã trưởng thành, trọng lượng 150-160g.

Thí nghiệm được tiến hành vào 3 đợt thời gian khác nhau để loại trừ ảnh hưởng mùa sinh sản của chuột.

Sàng lọc để chọn những chuột có khả năng sinh sản. Trước khi thí nghiệm, cách ly chuột đực và chuột cái. Sau khi cho chuột đực uống thuốc 1 thời gian tiến hành ghép đôi chuột đực và chuột cái. Trong khi ghép đôi, chuột đực được tiếp tục uống thuốc trong những ngày ghép. Hết thời gian uống thuốc của chuột đực, tách riêng chuột đực và cái, theo dõi cho đến khi chuột cái đẻ và đếm số chuột con sinh ra. Thống kê và so sánh số chuột con sinh ra giữa các lô.

2.3.7. Xử lý kết quả

Các kết quả nghiên cứu được biểu thị bằng trị số trung bình ± sai số chuẩn (M ± SE). Đánh giá mức độ có ý nghĩa giữa các lô dựa vào test t - Student, dùng Microsoft- Excel, [9].

III. KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

3.1. Tác dụng ức chế u hạt của cao cồn và cao nước náng hoa trắng sau khi gây u hạt thực nghiệm

Lô cao cồn và cao nước dùng với liều hàng ngày tính ra dược liệu khô là 3g/kg có so sánh với prednisolon liều 5mg/kg, thuốc dùng trong 5 ngày liền. Kết quả được trình bày ở bảng 1

Bảng 1. **Tác dụng ức chế u hạt của cao náng hoa trắng (liều tương đương 3g dl khô/kg/ngày) và prednisolon (liều 5mg/kg/ngày)**

Lô thí nghiệm	n	Trọng lượng u hạt (mg)	% giảm trọng lượng u hạt	P
Chứng	5	344,0 ± 38,0		
Cao cồn	6	256,7 ± 14,0	254	< 0,05
Cao nước	6	303,3 ± 15,0	11,8	> 0,05
Prednisolon	5	190,0 ± 8,9	44,8	< 0,001

Bảng 1 cho thấy: ở liều 3g /kg/ngày, dạng cao cồn có tác dụng làm giảm trọng lượng u hạt so với lô chứng với tỷ lệ 25,4% (có ý nghĩa thống kê với P < 0,05), cao nước làm giảm 11,8% trọng lượng u hạt nhưng không có ý nghĩa thống kê.

3.2. Tác dụng của náng hoa trắng trên phì đại tuyến tiền liệt do testosteron

3.2.1.Tác dụng của cao náng hoa trắng trên phì đại tuyến tiền liệt do testosteron

Cao cồn và cao nước náng hoa trắng được dùng với liều hàng ngày tính theo dược liệu khô là 3g/kg trong 7 ngày liên tiếp sau khi gây phì đại tuyến tiền liệt. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. **Tác dụng của cao cồn và cao nước náng hoa trắng trên phì đại tuyến tiền liệt do testosteron**

TT	Lô	n	Trọng lượng tuyến tiền liệt (mg/100g)	% giảm so với chứng bệnh lý	P
1	Chứng sinh lý	9	26,3 ± 5,8		
2	Chứng bệnh lý	9	74,3 ± 6,5		$P_{1,2}$<0,001
3	Cao nước	9	52,8 ± 6,5	28,9	$P_{3,2}$< 0,05
4	Cao cồn	9	48,0± 5,2	35,4	$P_{4,2}$< 0,01

Kết quả bảng 2 cho thấy:

+ Ở lô đối chứng sinh lý trọng lượng tuyến tiền liệt là 26,3 ± 5,8 mg/100g, trong khi đó ở lô đối chứng bệnh lý là 74,3 ± 6,5 mg/100g, tăng 182 % (P < 0,001), điều đó chứng tỏ mô hình gây phì đại tuyến tiền liệt bằng testosteron là đáng tin cậy, đủ điều kiện để thử tác dụng của thuốc

+ Với liều tương đương 3g/kg/ngày, cả dạng cao cồn và cao nước đều có tác dụng làm giảm phì đại tuyến tiền liệt (có ý nghĩa thống kê). Dạng cao cồn làm giảm 35,4% với P< 0,01, dạng cao nước làm giảm 28,9% với P<0,05. Như vậy dạng cao cồn có tác dụng tốt hơn dạng cao nước.

3.2.2. Tác dụng làm giảm phì đại tuyến tiền liệt do testosteron của bột alcaloid toàn phần

Tác dụng của bột alcaloid toàn phần náng hoa trắng với các liều hàng ngày 20mg/kg; 40mg/kg; 60mg/kg và 80mg/kg, tính theo dược liệu khô là 1;2;3 và 4 g / kg trên phì đại tuyến tiền liệt do testosteron gây ra ở chuột cống trắng được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Tác dụng của bột alcaloid trên phì đại tuyến tiền liệt do testosteron**

TT	Lô	Liều bột alcaloid mg/kg/ ngày	n	Trọng lượng tuyến tiền liệt (mg/100g)	% giảm so với chứng bệnh lý	P
1	Chứng sinh lý		8	26,6 ± 3,6		
2	Chứng bệnh lý		12	77,8 ± 5,87		$P_{1,2}$ <0,001
3	Alcaloid náng	20	12	66,9 ± 4,6	14,0	$P_{2,3}$ > 0,05

4	Alcaloid náng	40	12	62,3 ± 3,7	19,9	$P_{2,4}$< 0,05
5	Alcaloid náng	60	12	62,0 ± 3,7	20,2	$P_{2,5}$< 0,05
6	Alcaloid náng	80	12	59,5 ± 4,6	23,5	$P_{2,6}$< 0,05

Kết quả bảng 3 cho thấy:

+ Ở lô chứng sinh lý, trọng lượng tuyến tiền liệt là 26,6 mg / 100g, trong khi đó, ở lô chứng bệnh lý là 77,8 mg/ 100g, tăng 191,96% (P < 0,001), như vậy sự khác nhau rất có ý nghĩa chứng tỏ mô hình gây phì đại tuyến tiền liệt là thích hợp để thử thuốc.

+ So sánh giữa lô điều trị và lô chứng bệnh lý thấy lô dùng bột alcaloid náng hoa trắng với liều hàng ngày tính ra dược liệu khô 1 g / kg có tác dụng làm giảm phì đại tuyến tiền liệt 14% nhưng không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05), còn các lô dùng liều hàng ngày tương đương 2; 3 và 4 g dược liệu khô / kg làm giảm phì đại tuyến tiền liệt với tỷ lệ tương ứng 19,9%; 20,2% và 23,5% có ý nghĩa thống kê (P < 0,05). Như vậy, khi liều tăng tác dụng cũng không tăng nhiều, điều này giúp định hướng trong lâm sàng nên dùng liều vừa đủ mà có tác dụng để giảm thiểu các tác dụng không mong muốn.

3.3. Độc tính cấp của alcaloid náng hoa trắng

Bảng 4. **Kết quả xác định LD_{50} của bột alcaloid náng hoa trắng**

S TT	Liều dùng (g alcaloid/ kg)	Số chuột mỗi lô (n)	Số chuột chết	Hiệu số giữa 2 liều kế tiếp (d)	Số chuột chết trung bình giữa 2 liều kế tiếp (Z)	Zd
1	0,2	10	0			
2	0,3	10	2	0,1	1	0,1
3	0,4	10	4	0,1	3	0,3
4	0,5	10	5	0,1	4,5	0,45
5	0,6	10	9	0,1	7	0,7
6	0,8	10	10	0,2	9,5	1,9

LD_{50} = 0,455 g bột alcaloid / kg = 22,75 g dược liệu/ kg

3.4. Độc tính bán trường diễn của bột alcaloid toàn phần náng hoa trắng

Bảng 5. **So sánh các chỉ số sinh hoá và huyết học trước khi dùng thuốc với sau 1 tháng dùng thuốc và 1 tháng sau khi ngừng thuốc giữa lô chứng và lô dùng thuốc**

	Lô thỏ chứng			Lô thỏ thử alcaloid náng hoa trắng		
	Trước khi uống thuốc n = 6 (1)	sau khi uống thuốc 1 tháng n = 6 (2)	Sau 1 tháng ngừng uống n = 6 (3)	Trước khi uống thuốc n = 7 (4)	sau khi uống thuốc 1 tháng n = 7 (5)	Sau 1 tháng ngừng uống n = 7 (6)
Cân nặng (kg)	1,94 ± 0,04	1,83 ± 0,04 $P_{1,2} > 0,05$	1,90 ± 0,12 $P_{1,3} > 0,05$	2,03 ± 0,07 $P_{1,4} > 0,05$	1,90 ± 0,06 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	1,96 ± 0,07 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Hồng cầu (triệu/ mm^3)	5,55 ± 0,30	4,94 ± 0,17 $P_{1,2} > 0,05$	5,11 ± 0,09 $P_{1,3} > 0,05$	5,59 ± 0,23 $P_{1,4} > 0,05$	5,02 ± 0,22 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	5,13 ± 0,11 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Bạch cầu (nghìn/ mm^3)	9,40 ± 0,52	9,90 ± 0,57 $P_{1,2} > 0,05$	8,88 ± 0,10 $P_{1,3} > 0,05$	8,76 ± 0,93 $P_{1,4} > 0,05$	7,31 ± 0,25 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} < 0,05$	7,59 ± 0,56 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Hemoglobin (g/dl)	11,87 ± 0,61	10,53 ± 0,56 $P_{1,2} > 0,05$	11,07 ± 0,36 $P_{1,3} > 0,05$	11.53 ± 0,46 $P_{1,4} > 0,05$	10,28 ± 0,46 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	10,40 ± 0,19 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
ASAT (GOT) (U/l)	36,52 ± 1,56	39,01 ± 3,39 $P_{1,2} > 0,05$	35,87 ± 1,29 $P_{1,3} > 0,05$	33,68 ± 3,89 $P_{1,4} > 0,05$	36,17 ± 1,63 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	31,28 ± 2,78 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$

Bảng 5 (tiếp theo)

ALAT (GPT) (U/l)	57,70 ± 4,54	61,81 ± 3,99 $P_{1,2} > 0,05$	51,76 ± 4,68 $P_{1,3} > 0,05$	56,21 ± 6,65 $P_{1,4} > 0,05$	52,45 ± 2,35 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	59,45 ± 5,18 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Creatinin (µmol/l)	123,26 ± 4,18	128,81 ± 3,40 $P_{1,2} > 0,05$	128,4 ± 2,76 $P_{1,3} > 0,05$	119,46 ± 3,89 $P_{1,4} > 0,05$	114,08 ± 4,02 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	115,37±3,23 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} < 0,05$
Ure (mg/ dl)	49,12 ± 6,5	41,98 ± 2,19 $P_{1,2} > 0,05$	47,21 ± 4,20 $P_{1,3} > 0,05$	43,02 ± 3,35 $P_{1,4} > 0,05$	43,62 ± 3,29 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	48,53 ± 1,23 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Protein toàn phần (g/dl)	6,96 ± 0,12	7,14 ± 0,09 $P_{1,2} > 0,05$	7,98 ± 0,25 $P_{1,3} < 0,05$	6,69 ± 0,12 $P_{1,4} > 0,05$	6,53 ± 0,09 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} < 0,05$	7,51 ± 0,27 $P_{4,6} < 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$

Xét nghiệm mô bệnh học: Thuốc không gây ảnh hưởng đến tổ chức tế bào gan, thận thượng thận.

3.5. Tác dụng hướng sinh dục ở chuột đực của bột alcaloid thô náng hoa trắng

Bảng 6. **Tác dụng của bột alcaloid trên trọng lượng tuyến tiền liệt, túi tinh, tinh hoàn của chuột cống trắng**

Lô	Số chuột thí nghiệm	Trọng lượng túi tinh (mg/100g)	Trọng lượng tinh hoàn (mg/100g)	Trọng lượng tuyến tiền liệt (mg/100g)
Lô chứng	16	28,9 ± 4,24	1023,7 ± 128,3	21,9 ± 3,0
Alcaloid náng (60mg/kg)	22	28,2 ± 2,9	1014,6 ± 73,7	22,8 ± 1,9
P		>0,05	>0,05	>0,05

Từ bảng 6 cho thấy: Bột alcaloid toàn phần với liều 60mg/kg (3 g dược liệu/kg) dùng trong 21 ngày, không ảnh hưởng trên trọng lượng túi tinh, tinh hoàn, tuyến tiền liệt của lô chuột uống thuốc so với lô chứng (P > 0,05). Điều này chứng tỏ náng hoa trắng không gây ảnh hưởng đến sự phát triển của một số cơ quan sinh dục của chuột đực với liều lượng đã thử nghiệm

3.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của bột alcaloid náng hoa trắng đến hoạt động sinh dục của chuột đực thông qua sự thụ thai của chuột cái

Theo dư luận trong nhân dân thì náng hoa trắng có tác dụng ức chế phì đại tuyến tiền liệt và các u khác, nhưng có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh dục nam. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của bột alcaloid náng hoa trắng với liều 60mg/kg (tính ra tương đương 3g dược liệu/kg) đến hoạt động sinh dục của chuột đực thông qua sự thụ thai của chuột cái. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong bảng 7.

Bảng 7. **So sánh khả năng sinh sản của chuột đực giữa lô chứng và lô thử thuốc**

Các lô	Số chuột đực thí nghiệm	Số chuột đực gây có thai ở chuột cái	Số chuột cái thí nghiệm	Số chuột cái đẻ	Trung bình số con	p
Lô đối chứng	16	14	32	20	6,4 ± 0,4	
Alcaloid náng	16	14	32	20	6,4 ± 0,3	> 0,05

Từ bảng 7: Số chuột cái thụ thai giữa 2 lô không có sự khác nhau. Như vậy, thuốc không ảnh hưởng đến khả năng sinh dục của chuột đực với liều lượng đã thử nghiệm.

IV. KẾT LUẬN

Náng hoa trắng có tác dụng ức chế u trên mô hình gây u hạt thực nghiệm. Có tác dụng giảm phì đại tuyến tiền liệt trên mô hình gây phì đại tuyến tiền liệt thực nghiệm bằng testosteron. Khi chuột uống náng hoa trắng kéo dài 21 ngày với liều tương đương 3 g dl/kg/ngày không ảnh hưởng đến sự phát triển của tuyến sinh dục và hoạt động sinh dục của chuột đực. Náng hoa trắng không gây ảnh hưởng đến chức năng gan, thận, tạo máu khi thỏ uống kéo dài 30 ngày với liều gấp 10 lần liều dự kiến dùng trên người tính theo kg thể trọng. LD_{50} tính theo dược liệu khô là 22,75 g / kg.

Các tác dụng dược lý thực nghiệm trên đã chứng minh rằng kết quả thí nghiệm phù hợp với xu hướng sử dụng náng hoa trắng một cách tự phát hiện nay trong nhân dân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barthlems H.U, (2004), Lycobetain acts as a selective topoisomerase II beta poison and inhibits the growth of human tumor cells. British Journal of cancer, 85 : 1585-91.
2. Dorfman R.I. (1962), Proc. Soc. exp. Biol. Med 111, 441, theo [5]

3. Dorfman R.I.,(1962), Methods in hormon research, Vol 2., Acadamic Pres, New York and London, 65-69.
4. FLANDRE et al.,(1968), technique de production des granulomes inflammatoires , trong " Etude experimentale des anti inflammatories, Ed. Levy, Lechat, NXB. Doin, 27 – 38.
5. Hebborn P., (1971), Androgenic and anabolic agents trong Screening methods in pharmacology, Academic Press New York and London, page 75 – 83.
6. He H.N.,(1989), Structure activity relationship study of the new anticancer drug lycobetain (AT- 1840). Acta Pharmaceutical Sinica ; 24 : 303-4
7. W.H.O.,(1968), Research guidling for evaluating the safeting and efficacy of herbal medicine, Manila – Philippines.
8. Đỗ Trung Đàm, (1996), Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, NXB. Y học, Hà nội.
9. Đỗ Trung Đàm, (2003), Sử dụng Microsoft trong thống kê sinh học, NXB. Y học, Hà Nội.
10. Nguyễn Bửu Triều, (1991), U xơ tiền liệt tuyến. Bệnh học tiết niệu, NXB. Y học; 441-447.

CHIẾT XUẤT DẦU NGHỆ

Nguyễn Văn Luân
Khoa Công nghệ chiết xuất - Viện Dược Liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây nghệ vàng (Curcuma *longa L.*) Được trồng ở nhiều địa phương của nước ta và một số nước Đông Á. Từ lâu thân rễ nghệ đã được nhiều người dùng làm gia vị, chất bảo quản thực phẩm, chất màu. Nhiều nhà khoa học trong nước và trên thế giới quan tâm nghiên cứu giá trị của cây nghệ trong đời sống, đặc biệt là trong lĩnh vực y học.

Turmeron ($C_{15}H_{22}O$), Ar-turmeron ($C_{15}H_{22}O$), α-turmeron, β-turmeron... là thành phần chính trong tinh dầu nghệ đã được phát hiện từ lâu khi dùng phương pháp ép củ nghệ tươi, hoặc cất kéo theo hơi nước.

Tinh dầu nghệ có tác dụng điều trị một số bệnh ngoài da, bệnh hô hấp,do có tính kháng khuẩn, kháng nấm cao. Trong công nghiệp mỹ phẩm người ta sử dụng tinh dầu nghệ rất phổ biến.

Hàm lượng của hỗn hợp turmeron trong tinh dầu nghệ rất lớn. Trong quá trình phân lập curcuminoid từ nghệ mà phải dùng các phương pháp chiết xuất thích hợp, vừa đảm bảo cho quá trình phân lập curcuminoid, vừa thu được dầu nghệ.

Mục tiêu nghiên cứu

Nghiên cứu quy trình chiết xuất dầu nghệ trong quá trình sản xuất curcuminoid

Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu điều kiện tách chiết dầu nghệ turmeron từ cao nghệ toàn phần.

- Nghiên cứu các phương pháp tinh chế sản phẩm dầu nghệ.

- Xây dựng các chỉ tiêu đánh giá chất lượng sản phẩm dầu nghệ (tiêu chuẩn cơ sở).

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Củ nghệ vàng đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam 3.

- Dung môi hóa chất: Cloroform, ether dầu, *n*-hexan, xăng công nghiệp, ethanol, natri sulfat, acid acetic, natrihydroxyd, methanol.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu về hoá học

- Định tính một số hoạt chất trong nhóm tinh dầu từ dược liệu.

- Định lượng hỗn hợp turmeron từ tinh dầu nghệ.

- Định lượng hỗn hợp turmeron trong dầu nghệ chiết từ cao nghệ toàn phần.

2.2.2. Chiết xuất phòng thí nghiệm

- Xử lý dược liệu.

- Chiết ngấm kiệt, hồi lưu, chiết 2 pha rắn/lỏng và lỏng/lỏng.

- Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết và chất lượng sản phẩm dầu nghệ như:

- Dung môi chiết.

+ Tỷ lệ dung môi

+ Độ pH

- Nhiệt độ chiết

- Thời gian chiết

- Khối lượng dược liệu cho mỗi mẻ chiết

- Các phương pháp loại nhựa, loại tạp

2.2.3. Đánh giá hiệu suất chiết, so sánh các lô mẻ khác nhau từ đó quyết định phương pháp chiết xuất thích hợp

III. KẾT QUẢ

3.1. Nguyên liệu chiết xuất

Nghệ được thu hái vào tháng 10, chọn những củ cái rửa sạch, thái lát mỏng khoảng 0,2-0,3cm, phơi âm can đến khô đạt độ ẩm 10-12%. Sau đó đựng dược liệu trong bao nylon bảo quản nơi thoáng mát.

Sau khi xử lý dược liệu đã tiến hành cất tinh dầu bằng phương pháp cất kéo hơi nước để đánh giá hàm lượng tinh dầu.

Bảng 7. **Kết quả định lượng hỗn hợp turmeron có trong tinh dầu nghệ bằng sắc ký khối phổ (Sản phẩm được cất kéo hơi nước hiệu suất 3,83%)**

TT	TÊN HOẠT CHẤT	HÀM LƯỢNG (%)	HỖN HỢP TURMERON (%)
1	Beta-Turmeron	38,31	
2	Turmeron	34,77	73,08
3	Zingiberen	1,18	
4	Curnon	18,86	
5	Curcumen	1,24	

6	*trans* - Caryophyllen	0,46	
7	Beta- sesquiphellamdren	2,40	
8	Bisabolon	1,09	
9	Farnesen	0,80	
10	Atlanton	0,88	
		100%	

3.2. Công đoạn chiết cao nghệ toàn phần

a. Phương pháp chiết

Từ các phương pháp chiết phòng thí nghiệm, trong điều kiện thực tế đã chọn phương pháp chiết hồi lưu để áp dụng cho công đoạn này.

b. Dung môi chiết

Dung môi sử dụng cho công đoạn chiết cao toàn phần là EtOH với độ cồn 70°, trong môi trường acid acetic có độ pH từ 2÷3, tỷ lệ dung môi /dược liệu là 6/1.

c. Nhiệt độ chiết

Đã tiến hành chiết xuất 4 mẻ với các điều kiện và phương pháp chiết như nhau, nhiệt độ chiết khác nhau, so sánh các sản phẩm thu được và kết luận: Ở công đoạn chiết cao nghệ toàn phần nhiệt độ chiết thích hợp nhất là 60°C. Nếu chiết ở nhiệt độ thấp hơn hiệu suất sẽ giảm, một số thành phần có trong tinh dầu và curcuminoid chưa được tách khỏi dược liệu. Nếu chiết ở nhiệt độ cao hơn lượng tạp chất là nhựa và tanin tăng nhiều, gây khó khăn cho công đoạn tinh chế sau này.

3.3. Công đoạn tách chiết dầu nghệ thô từ cao nghệ toàn phần

*** Dung môi**

Dung môi sử dụng cho công đoạn này cần được chọn lọc bởi có thể cùng một loại dung môi sẽ hoà tan cả tinh dầu và curcuminoid. Đã tiến hành chiết xuất dầu nghệ bằng các dung môi có độ phân cực khác nhau như ether dầu, cloroform, *n*-hexan, xăng CN... so sánh kết quả của mỗi lần chiết, có nhận xét sau:

- Dùng ether dầu hoặc *n*- hexan làm dung môi chiết, sản phẩm rất ổn định, các bước tiếp theo như loại nhựa, tạp dễ dàng hơn, thời gian và nhiệt độ chiết giảm xuống, nhưng tỷ lệ hư hao dung môi rất cao.

- Dùng cloroform làm dung môi chiết, hiệu suất chiết không cao, công đoạn tinh chế phức tạp do lượng nhựa và sáp tan trong dung môi khá nhiều, hơn nữa nó ảnh hưởng tới quá trình chiết xuất curcumin do một lượng chất màu đã hoà tan trong dung dịch này, phải khó khăn mới có thể phân lập được chúng ra khỏi dung dịch.

- Dùng xăng công nghiệp cho sản phẩm tương tự như dùng ether dầu hoặc *n*-hexan, dung môi này rẻ tiền dễ kiếm hơn, sau khi chiết, quá trình thu hồi dễ dàng ít hư hao, chỉ cần loại nước lại đưa vào làm dung môi để chiết mẻ sau.

Bảng 2. **Kết quả chiết xuất dầu nghệ từ cao nghệ toàn phần bằng các dung môi khác nhau ở quy mô phòng thí nghiệm**

Mẻ	Cao toàn phần (g)	Nhiệt độ chiết (°C)	Dung môi	Dầu nghệ thô(g)	Hiệu suất (%)
1	200	55	Ether dầu	16,0	8,0
2	150	55	$CHCL_3$	9,0	6,0
3	400	55	*n*- hexan	34,0	8,5
4	400	55	Xăng CN	30,0	7,5

3. 4. Công đoạn tinh chế dầu nghệ

Đã tiến hành tinh chế 4 mẻ áp dụng các phương pháp tinh chế, phân lập ở quy mô phòng thí nghiệm.Hiệu suất trung bình 4,0%so với dược liệu khô.

Dùng sắc ký khí, sắc ký khí khối phổ định tính và định lượng tỷ lệ các hoạt chất có trong dầu nghệ cho thấy:tỷ lệ hỗn hợp turmeron (thành phần chính) có tới 68,17%.

Bảng 3. **Kết quả định lượng hỗn hợp turmeron trong dầu nghệ đã tinh chế bằng sắc ký khối phổ**

TT	TÊN HOẠT CHẤT	HÀM LƯỢNG %	HỖN HỢP TURMERON %
1	Alpha - Turmeron	0,76	
2	Beta - Turmeron	20,33	
3	Ar- Turmeron	0,44	
4	Turmeron	46,64	68,17
5	Zingiberen	2,86	
6	Curlon	19,78	

7	Turmerol	2,07	
8	Curcumen	0,97	
9	Bisabolon	0,64	
10	Beta Funeberen	3,26	
11	Santalol	2,07	
12	Atlanton	1,78	

** Nhận xét*

Ở trạng thái lỏng hỗn hợp dầu nghệ thô còn lẫn nhiều tạp chất như nhựa, sáp, nước. Thứ tự loại các chất không mong muốn nói trên ra khỏi dầu nghệ là vấn đề cần nghiên cứu. Việc sử dụng dung môi hữu cơ ở từng giai đoạn sẽ ảnh hưởng đáng kể đến sản phẩm.

Nếu sử dụng dung môi hữu cơ loại nhựa và sáp trước, sẽ tiêu hao lượng dung môi nhiều hơn và sau đó việc tách loại nước gặp nhiều khó khăn. Khả năng một số muối vô cơ đang ở trạng thái kết tủa bị hoà tan trong dung môi làm sản phẩm sau khi tinh chế kém tinh khiết. Do vậy, trước tiên phải loại nước ra khỏi dầu thô dựa vào nguyên lý chênh lệch tỷ trọng và tính chất hoá học của dầu nghệ. Phần nước còn lại dùng Na_2SO_4 khan để loại bỏ. Sau đó bằng các phương pháp lắng gạn, lọc, loại các muối vô cơ ra khỏi dầu nghệ thô, lúc này sử dụng dung môi hữu cơ loại nhựa và sáp dễ dàng và hiệu quả hơn.

3.5. Mô tả quy trình chiết xuất dầu nghệ trong quá trình sản xuất curcumin ở quy mô labo

** Chọn và xử lý dược liệu*

Chọn củ nghệ tươi (củ cái) có màu vàng đỏ da cam, thái lát mỏng từ 0,2 ÷ 0,3 cm phơi âm can đến khô (độ ẩm đạt 10 ÷ 12%). Xay qua rây cỡ 2mm.

** Các bước tiến hành*

Cân dược liệu đã xử lý cho vào bình, chiết 4 lần với ethanol công nghiệp 70° trong môi trường acid acetic có pH bằng 2÷3 tỷ lệ dung môi/dược liệu là 6/1. Nhiệt độ chiết 60° thời gian cho mỗi lần chiết từ1,5 ÷2giờ.

Gộp các dịch chiết, thu hồi dung môi ở áp suất giảm đến tỷ lệ dung dịch/dược liệu là 2/2, lọc qua vải lọc để loại bớt tạp, sau đó tiếp tục thu hồi đến dịch đặc, được cao nghệ toàn phần.

Dùng xăng công nghiệp chiết dầu nghệ từ cao nghệ toàn phần, tỷ lệ cao/dung môi là 1/3. Nhiệt độ chiết 55°C, chiết từ 2 ÷ 3 lần tuỳ theo hàm lượng dầu nghệ có trong cao. Thời gian mỗi lần chiết từ 1÷ 1giờ 30.

+ Dịch chiết xăng được thu hồi dưới áp suất giảm đến khi xăng không còn trong dịch, ta được dầu nghệ thô

+ Tách loại nước có trong dầu thô, sau đó dùng Na_2SO_4 khan với tỷ lệ dầu thô/ natri sulfat là 8/1 để làm kiệt nước trong dầu thô.

+ Tinh chế, xử lý loại tạp bằng dung môi $CHCl_3/CH_3OH$ tỷ lệ 3/1, ta được dầu nghệ đạt tiêu chuẩn cơ sở.

* *Tinh chế curcuminoid:* theo quy trình của Viện Dược liệu.

***Bảng 4.* Kết quả chiết xuất curcuminoid sau khi chiết tách dầu nghệ trong phòng thí nghiệm**

MẺ	DƯỢC LIỆU (g)	DẦU NGHỆ (g)	HIỆU SUẤT (%)	CURCUMINOID (g)	HIỆU SUẤT (%)
1	1000	35	3,5	11	1,1
2	1000	34	3,4	14	1,4
3	2000	82	4,1	25	1,25
4	2000	85	4,25	26	1,3
Hiệu suất trung bình			3,9		1,27

3.6. Triển khai chiết xuất dầu nghệ ở quy mô pilot

Đã tiến hành chiết xuất 3 mẻ với 50kg dược liệu khô, các dản phẩm sau khi chiết ở mỗi công đoạn cho hiệu xuất và chất lượng tương tự như tiến hành ở quy mô Labo.

- Dầu nghệ đạt hiệu xuất 4%
- Bột curciminoid đạt 1,34 %

***Bảng 5.* Kết quả định lượng hỗn hợp tumeron trong dầu nghệ bằng sắc ký khối phổ, chiết xuất ở quy mô pilot**

TT	TÊN HOẠT CHẤT	HÀM LƯỢNG %	HỖN HỢP TURMERONE %
1	Beta - Turmeron	23,77	
2	Turmeron	44,06	67,83

3	Zingiberen	1,54	
4	Curlon	20,96	
5	Ar - Curcumen	0,58	
6	Beta - Curcumen	1,33	
7	*D* - Nerolidol	0,41	
8	*trans* - Beta - Farnesen	2,64	
9	Beta - Farnesen	1,00	
10	Bisabolon	1,01	
11	Atlanton	2,69	

IV. KẾT LUẬN

- Đã nghiên cứu quy trình chiết xuất dầu nghệ từ cao nghệ toàn phần ở quy mô labo, triển khai chiết thử ở quy mô pilot đạt kết quả ổn định. Thu được 2060g dầu nghệ và 670g curcuminoid/53 kg dược liệu.

- Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở dầu nghệ với một số chỉ tiêu chính là hàm lượng hỗn hợp turmeron phải đạt trên 50%...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế,(2002), Dược điển Việt Nam tập 3
2. Lã Kim Oanh,(2004), Nghiên cứu quy trình chiết xuất curcuminoid từ nghệ, báo cáo KH, cấp Viện
3. Lương Sỹ Bình và cs., Tạp chí Dược liệu số 2/2000.
4. Vũ Ngọc Lộ, Phạm Thị Ánh Tuyết,(1997), Thành phần hoá học và tác dụng dược lý của các loài trong chi Curcuma ở Việt Nam(Tạp chí Dược liệu 1997).
5. Viện Dược liệu,(2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam tập 2, NXBKH & KT.
6. Merck Index 2003 phần II.
7. Guddarangavvanhally k, Jayaprakasha và cs, Evaluation of Antioxidant Activities and Antimutageticity of Turmeric Oil: A Byproduct from Curcumin Production, Zeitschrift fiir Naturforschung C.57c, 828-835(2002).
8. I.rdian Perfumer 199 – 202, (2003), Antimicrobial Activity of the essential oil of Curcuma *Longa* L.

MỘT SỐ NHẬN XÉT RÚT RA TỪ VIỆC KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG VÀ PHÂN TÍCH TINH DẦU CỦA CÂY HOA NGŨ SẮC (*AGERATUM CONYZOIDES* L., *ASTERACEAE*)

Phạm Văn Thanh[1], Nguyễn Thượng Dong[1],
Nguyễn Thị Tâm[2],Nguyễn Bích Thu[1],
Trương Vĩnh Phúc[1], Ngô Văn Trại[1], Đào Hồng Vân[1],
Domirique Lesueur [3], Ange Bighelli[3], Joseph Casanova [3]
(1) Viện Dược liệu - 3[B] Quang Trung - Hà Nội,
(2)Trường đại học Dược Hà Nội -13 LêThánh Thánh Tông,
(3) Université de Corse UMR CNRS, Equipe Chimie et Biomasse,
Route des Sangguinaires 20000 Ajaccio, France

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây hoa ngũ sắc có mặt ở nhiều nước trên thế giới như Ấn Độ, Trung Quốc, Thái Lan, Lào, Campuchia và nhiều nước khác. Ở Việt Nam cây hoa ngũ sắc có dải phân bố rất rộng từ vùng núi cao (1800m) đến trung du và miền đồng bằng. Cây thường mọc ở ruộng, nương, vườn nhà, ven đường đi hay dải đất phù sa ven sông. Cây có trữ lượng lớn có thể khai thác rất thuận lợi. Cây có tác dụng chống viêm, giảm phù, giảm u hạt thực nghiệm. Cây còn có tác dụng ức chế miễn dịch, kháng histamin, nhiều cơ sở y tế đã dùng cây hoa ngũ sắc để làm thuốc điều trị viêm xoang, viêm mũi dị ứng, nhân dân thường dùng làm thuốc chữa bệnh rong kinh ở phụ nữ sau đẻ, cũng có thể dùng ngoài chữa vết thương chảy máu, mụn nhọt, eczema, nấm, ghẻ, chốc đầu trẻ em. Viện Dược liệu đã nghiên cứu và sản xuất thành công thuốc chữa viêm xoang, viêm mũi bằng sản phẩm chiết xuất từ cây này. Để góp phần nghiên cứu toàn diện về cây hoa ngũ sắc, cũng như góp phần khai thác, sử dụng một cách hợp lý chúng tôi đã tiến hành khảo sát hàm lượng và phân tích tinh dầu của cây đặc biệt là so sánh giữa hai loại hoa trắng và hoa tím.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Cây hoa ngũ sắc tươi thu hái ở Hà Nội với hai loại hoa trắng và hoa tím.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thực vật

So sánh hình thái cây bằng phân tích quan sát thực tế và bằng tra cứu tài liệu tham khảo.

2.2.2. Nghiên cứu hàm lượng tinh dầu

Bằng việc thu hái hai loại hoa trắng và hoa tím ở một số thời điểm khác nhau của năm và đều vào lúc cây có nhiều hoa (vì trong năm cây có nhiều vụ hoa). Cất tinh dầu theo phương pháp cất kéo hơi nước trong thời gian 3 giờ. Một điểm nên chú ý là tinh dầu cây hoa ngũ sắc có cả phần hơi nhẹ hơn nước và có cả phần hơi nặng hơn nước, tỉ trọng chênh lệch so với nước không nhiều, do vậy khi cất cần có biện pháp xử lý thích hợp.

2.2.3. Nghiên cứu thành phần và hàm lượng các thành phần có trong tinh dầu bằng phương pháp sắc ký khí (GC), sắc ký khí kết hợp khối phổ (GC- MS) và cộng hưởng từ hạt nhân (C^{13}NMR).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phần thực vật

Theo các tài liệu [1],[2],[6] mô tả: Cây hoa ngũ sắc là loại cây thảo sống hàng năm, cao từ 25- 50cm. Thân cây màu xanh lục hay màu tím đỏ, toàn thân có nhiều lông mềm. Lá mọc đối hình trứng, mép lá có răng cưa tròn, lá có 3 gân tỏa ra từ gốc lá hai mặt lá đều có lông, mặt dưới đều rất nhạt. Cụm hoa hình đầu xếp thành ngù ở ngọn thân hay đầu cành.Cuống cụm hoa cũng có nhiều lông, tổng bao hình đầu gồm lá bắc xếp thành 2 dãy, đầu nhỏ chứa những hoa hình ống, bé và đều nhau; tràng hoa ngắn có 5 thùy tam giác màu lam nhạt, tím hay trắng , nhị 5. Quả bế màu đen có 5 sống dọc. Mùa hoa quả gần như quanh năm.

Chúng tôi quan sát thực tế thấy rằng cây hoa ngũ sắc ngoài các đặc điểm chung như trên thì loại hoa trắng và loại hoa tím có sự khác nhau khá rõ.

+ Về thân: loại hoa trắng thường cao hơn (cao có thể đến 70- 80 cm) có màu xanh nhạt còn loại hoa tím thường thấp hơn (cao từ 20- 40 cm) và có màu tím.

+ Về lá: loại hoa trắng có đầu lá nhọn hơn, phiến lá mỏng hơn, màu xanh nhạt, còn loại hoa tím có đầu lá tù hơn, phiến lá dầy hơn và màu xanh cũng đậm hơn nhiều.

+ Về hoa: một loại có màu hoa trắng và một loại có màu hoa tím.

3.2. Kết quả nghiên cứu về hàm lượng tinh dầu

3.2.1. Dược liệu thu hái vào tháng 5

Bảng 1. **Cất tinh dầu từ loại hoa trắng**

STT	Phần dược liệu đem cất tinh dầu	Lượng dược liệu cất tinh dầu quy ra tương đương với khối lượng dược liệu là toàn bộ phần trên mặt đất. (kg)	Lượng tinh dầu thu được (ml)	Hàm lượng tinh dầu tính ra % so với dược liệu tươi (phần trên mặt đất)
1	Lá hoa và cành nhỏ	2,5	0,9	0,036
2		2,5	0,75	0,030
3		2,5	0,70	0,028
4		2,5	0,75	0,030
TB		2,5	0,77	0,031

Bảng 2. **Cất tinh dầu từ loại hoa tím**

STT	Phần dược liệu đem cất tinh dầu	Lượng dược liệu cất tinh dầu quy ra tương đương với khối lượng dược liệu là toàn bộ phần trên mặt đất (kg).	Lượng tinh dầu thu được (ml)	Hàm lượng tinh dầu tính ra % so với dược liệu tươi (phần trên mặt đất)
1	Lá, hoa và cành nhỏ	2,5	1,50	0,060
2		2,5	1,65	0,066
3		2,5	1,57	0,063
TB		2,5	1,57	0,063

Nhận xét: Dược liệu thu hái vào tháng 5 thì hàm lượng tinh dầu của loại hoa tím cao gấp đôi của loại hoa trắng.

4.2.2. Dược liệu thu hái vào tháng 6

Bảng 3. **Cất tinh dầu từ loại hoa trắng**

TT	Phần dược liệu đem cất tinh dầu	Lượng dược liệu cất tinh dầu quy ra tương đương với khối lượng dược liệu là toàn bộ phần trên mặt đất (kg)	Lượng tinh dầu thu được (ml)	Hàm lượng tinh dầu tính ra % so với dược liệu tươi (phần trên mặt đất)
1	Lá, hoa và cành nhỏ	3,0	1,40	0,046
2		3,0	1,65	0,055
3		3,0	1,58	0,052
TB		3,0	1,54	0,051

Bảng 4. **Cất tinh dầu từ loại hoa tím**

STT	Phần dược liệu đem cất tinh dầu	Khối lượng phần dược liệu mang cất tinh dầu (kg)	Lượng tinh dầu thu được (ml)	Hàm lượng tinh dầu tính ra % so với dược liệu tươi (phần trên mặt đất)
1	Lá, hoa và cành nhỏ	3,0	2,10	0,070
2		3,0	2,35	0,078
3		3,0	2,43	0,081
TB		3,0	2,29	0,076

Nhận xét: Dược liệu thu hoạch vào tháng 6, hàm lượng tinh dầu của loại hoa tím cao gấp rưỡi loại hoa trắng.

3.2.3. Dược liệu thu hái vào tháng 9

Bảng 5. **Cất tinh dầu từ loại hoa trắng**

TT	Phần dược liệu đem cất tinh dầu	Lượng dược liệu cất tinh dầu quy ra tương đương với khối lượng dược liệu là toàn bộ phần trên mặt đất (kg)	Lượng tinh dầu thu được (ml).	Hàm lượng tinh dầu tính ra % so với dược liệu tươi (phần trên mặt đất)
1	Lá, hoa và cành nhỏ	2,55	1,40	0,054
2		2,55	1,55	0,060
3		2,55	1,52	0,059
TB		2,55	1,49	0,057

***Bảng 6.* Cất tinh dầu từ loại hoa tím**

TT	Phần dược liệu đem cất tinh dầu	Lượng dược liệu cất tinh dầu quy ra tương đương với khối lượng dược liệu là toàn bộ phần trên mặt đất (kg)	Lượng tinh dầu thu được (ml)	Hàm lượng tinh dầu tính ra % so với dược liệu tươi (phần trên mặt đất)
1	Lá, hoa và cành nhỏ	2,50	2,10	0,084
2		2,50	2,20	0,088
3		2,50	2,00	0,080
TB		2,50	2,10	0,084

Nhận xét: Dược liệu thu hái vào tháng 9, cây hoa ngũ sắc có hàm lượng tinh dầu cao nhất và hàm lượng tinh dầu của loại hoa tím cũng vẫn cao hơn nhiều so với hàm lượng tinh dầu của loại hoa trắng.

3.2.4. Dược liệu thu hái vào tháng 11

***Bảng 7.* Cất tinh dầu từ dược liệu hoa trắng**

TT	Phần dược liệu đem cất tinh dầu	Lượng dược liệu cất tinh dầu quy ra tương đương với khối lượng dược liệu là toàn bộ phần trên mặt đất (kg)	Lượng tinh dầu thu được (ml).	Hàm lượng tinh dầu tính ra % so với dược liệu tươi (phần trên mặt đất)
1	Lá, hoa và cành nhỏ	3,0	0,60	0,020
2		3,0	0,51	0,016
3		3,0	0,55	0,018
TB		3,0	0,55	0,018

- Mẫu hoa tím vào tháng 11 không có dược liệu để thử nghiệm.

Nhận xét: Dược liệu thu hái vào tháng 11 thì hàm lượng tinh dầu giảm đi rất nhiều.

3.3. Kết quả phân tích tinh dầu

Bảng 8. **So sánh hàm lượng các chất trong tinh dầu của cây hoa ngũ sắc, hai loại hoa trắng và hoa tím (mẫu thu hái vào tháng 6)**

TT	Hợp chất	Hàm lượng chất có trong loại hoa tím (%)	Hàm lượng chất có trong loại hoa trắng (%)	Phương pháp xác định
1	Bornyl format	0,3	0,1	MS
2	Bornyl acetat	1,4	1,1	NMR, MS
3	Neryl acetat	0,1	0,1	MS
4	α - Cubeben	0,1	1,0	MS
5	α - Longipinen	0,2	0,1	MS
6	α - Copaen	0,1	0,1	MS
7	β- Bourbonen	0,2	0,1	MS
8	β- Cubeben	1,8	0,8	MS
9	(*E*)-β-Caryophyllen	23,7	24,1	NMR, MS
10	*trans*-α-bergamoten	0,1	0,1	MS
11	Precocen I	19,7	7,4	NMR, MS
12	(*E*)-β-farnesen	1,0	2,7	NMR, MS
13	α- Humulen	2,3	0,4	NMR, MS
14	Germacren -*D*	2,5	1,3	NMR, MS
15	*trans* - bergamoten	1,0	0,5	NMR, MS
16	Bicyclogermacren	1,3	0,2	MS
17	γ - Cadinen	0,1	0,1	MS
18	4 - Epicubebol	0,2	0,1	MS
19	β- Sesquiphellandren	1,5	1,1	NMR, MS
20	(*E*)- nerolidol	0,4	0,3	MS
21	Spathulenol	0,1	0,1	MS
22	Caryophellen oxyd	0.4	0,5	MS
23	Precocen II	37,3	54,2	NMR, MS
	Tổng số	**95,8%**	**95,5%**	

IV. KẾT LUẬN VÀ THẢO LUẬN

Do số lượng mẫu nghiên cứu chưa nhiều, cũng như chưa có mẫu nghiên cứu ở nhiều địa phương nên chưa thể có kết luận một cách khái quát và chắc chắn.Tuy nhiên ở mức độ và quy mô thí nghiệm này chúng tôi có một số nhận xét sau :

- Trong các thời gian thu hái mẫu thì thu hái vào tháng 9 là tốt nhất vì thời điểm này hàm lượng tinh dầu rất cao. Nếu thu hái vào tháng 11 hàm lượng tinh dầu đã giảm rất nhiều.

- Hàm lượng tinh dầu của loại hoa tím luôn cao hơn hàm lượng tinh dầu của loại hoa trắng (ở mọi thời điểm thu hái), cao hơn có thể đến 1,5 hoặc 2 lần.

- So sánh thành phần của tinh dầu cũng như hàm lượng của các thành phần đó cho thấy, 2 loại hoa trắng và hoa tím hầu như giống nhau: đều phát hiện 23 thành phần (chiếm 95,8% tinh dầu toàn phần ở loại hoa tím và chiếm 95,5% tinh dầu toàn phần ở loại hoa trắng). Nhưng hàm lượng của các thành phần trong tinh dầu thì khác nhau kể cả những thành phần chính (bảng 8).

Hàm lượng (%)	Hoa tím	Hoa trắng
α - cubeben	0,1	1,0
β - cubeben	1,8	0,8
Precocen I	19,7	7,4
Precocen II	37,3	54,2
Bicyclogermacren	1,3	0,2
α - humulen	2,3	0,4
(E)- β - farnesen	1,0	2,7

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi,(1996),Từ điển Cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học, tr. 264.
2. Trung tâm Nghiên cứu Tài nguyên môi trường (ĐH Quốc gia Hà Nội)- Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (Viện KH và CN Việt Nam),(2005), Danh mục các loài thực vật Việt Nam- NXB. Nông nghiệp, Tập 3 Trang 349.
3. Dung NX, Thọ PTT, Dan NV, Leclercq PA.,(1989), J Essent oil Des -1:135
4. Flora.Reipublicae populairis sinicae. Science press 1985 Tomus 74 - P.53

5. National Institute of Materia medica, (1999), Selected medicinal plants in Viet
6. Nam Science and technology Publishing house Ha Noi, Viet Nam. Vol I,. 44.
7. Viện Dược liệu, (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập 1, NXB Khoa học và kỹ thuật, tr 375.

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC QUẢ NGŨ VỊ TỬ MỌC Ở KONTUM (*SCHISANDRA SP.*)

Trần Công Luận, Trần Thị Ý Nhi, Đỗ Thanh Phú , Nguyễn Bá Hoạt
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh – Viện Dược liệu

TÓM TẮT

Một loài ngũ vị (*Schisandra* sp.) mọc tự nhiên ở vùng núi thuộc tỉnh Kontum đã được thu thập và tên khoa học vẫn còn đang xác định. Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học của quả loài cây này cho thấy có chứa những hợp chất như: anthraglycosid, carotenoid, phytosterol, flavonoid, polyphenol, tinh dầu. Nghiên cứu sâu hơn bằng phương pháp sắc ký cột và phân tích phổ, chúng tôi đã phân lập được một hợp chất thuộc nhóm lignan, cấu trúc được xác định gomisin B.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quả của ngũ vị tử (*Schisandra chinensis* Baill.) đã được người Trung Quốc sử dụng hơn 2000 năm trước để làm thuốc bổ, chống lão hóa, trị ho và làm thuốc an thần [3]. Trong những năm gần đây, các nhà khoa học đã phân lập nhiều hợp chất có cấu trúc là dẫn xuất của dibenzo[a,c] cyclooctadien từ các loài *Schisandra* khác nhau. Một số hợp chất này đã được chứng minh có hoạt tính sinh học quan trọng trong những nghiên cứu ở phòng thí nghiệm cũng như trên lâm sàng. Hơn nữa, một số dẫn xuất lignan không thuộc nhóm dibenzo[a,c]cyclooctene cũng đã được phân lập từ các loài *Schisandra* như: pregomisin [4], epigalbacin[2], anwulignan[6], ganschisandrin [9], henricin [7].

Trong báo cáo này, chúng tôi trình bày kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật một loài *Schisandra sp.* mọc hoang với trữ lượng lớn ở Kontum. Nghiên

cứu dựa trên phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM) so sánh với mẫu dịch chiết của *Schisindra chinensis* và phương pháp phản ứng hóa học. Bằng phương pháp sắc ký cột (SKC) và các kỹ thuật phổ, chúng tôi phân lập và xác định cấu trúc một hợp chất lignan tiêu biểu của loài nghiên cứu.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Quả của loài *S. chinensis* dùng làm mẫu so sánh do Viện Dược liệu cung cấp. Quả *Schisandra sp.* dùng trong nghiên cứu này được thu hái ở Kontum. Nguyên liệu được để khô trong điều kiện râm mát và xay thành bột mịn.

Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học: Dựa trên phương pháp phân tích của Đại học Dược Rumani.

Định tính bằng SKLM: Dịch chiết cloroform của mẫu phân tích và so sánh được phân tích trên SKLM với các thuốc hiện màu khác nhau. Bản nhôm tráng sẵn silicagel 60F254 được sử dụng trong SKLM.

Phân lập và xác định cấu trúc: Silicagel 60 F254 (0,063-0,2 mm, Merck), silicagel đảo pha (Lichroprep RP-18. Merck) và Diaion HP-20 được dùng làm chất hấp phụ trong SKC. Các thiết bị dùng trong phân tích cấu trúc gồm: máy đo điểm chảy GALLENKAMP; máy đo phổ UV Unicam - Heλios γ; máy đo IR FTIR 8201 (SHIMADZU); máy ghi khối phổ Hewlett Packard 5989B MS Engin; máy ghi phổ NMR Bruker AVANCE 500 MHz, đo trong $CDCl_3$ với tetramethyl silan (TMS) làm chất chuẩn nội.

Chiết xuất và phân lập lignan từ quả Schisandra sp.

Chiết ngấm kiệt bột quả *Schisandra sp.* (100 g) với MeOH ở nhiệt độ phòng. Cô dịch chiết dưới áp xuất giảm. Cắn thu được cho qua cột Diaion HP-20 và rửa giải lần lượt với nước cất, MeOH and $CHCl_3$. phân đoạn $CHCl_3$ (1,28 g) tiếp tục được rửa qua cột silicagel với hệ dung môi Benzen/EtOAc thay đổi từ (9/1), (8/2)...đến (5/5), thu được 06 phân đoạn (I-VI). Phân đoạn IV tiếp tục được rửa qua cột silicagel đảo pha RP-18 với hệ dung môi MeOH/H_2O thay đổi từ (8/1) đến (8/4), thu được 05 phân đoạn (A-E). Sau đó, chúng tôi rửa giải tiếp tục phân đoạn D với hệ dung môi benzen/EtOAc (9/1) và thu được 21mg một hợp chất tinh khiết gọi là chất **X**.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

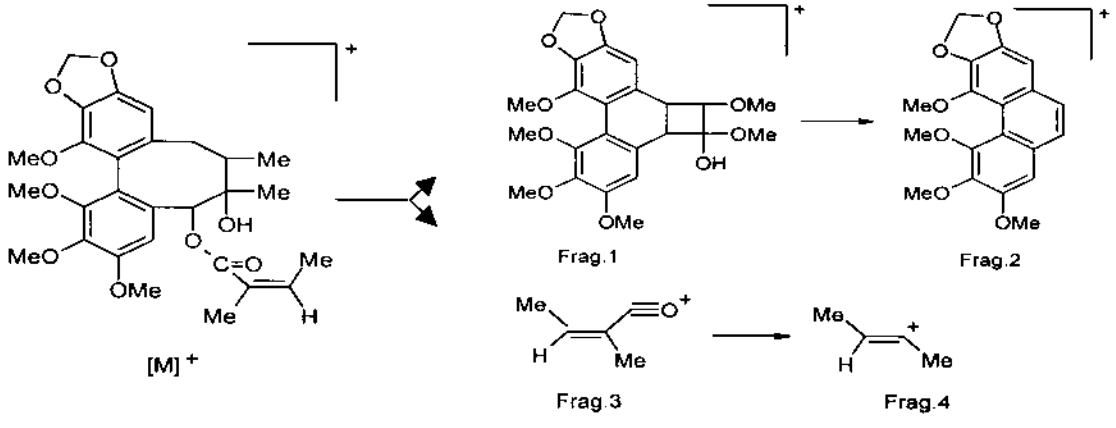
Kết quả phân tích sơ bộ bằng các phản ứng hóa học cho thấy các dịch chiết *Schisandra* sp. có phản ứng dương tính với các thuốc thử đặc trưng cho các nhóm hợp chất như: anthraglycosid, carotenoid, phytosterol, flavonoid, polyphenol, tinh dầu.

So sánh trên SKLM các dịch chiết cloroform của *Schisandra* sp. và *S. chinensis* (hệ dung môi: Toluen/ethyl acetat (7/3), phát hiện bằng UV254 hay phun vanilin-H_2SO_4 sau đó sấy ở 110^0C trong 10 phút) cho thấy cả hai mẫu đều cho những vết chất có màu sắc và giá trị Rf tương đương. Như vậy, có thể sơ bộ nhận định rằng hai loài có nhiều hợp chất tương đồng trong dịch chiết chloroform.

Cấu trúc của hợp chất X được xác định như sau

Phổ UV của chất X có các đỉnh hấp thu cực đại ở 241, 284 và 325 nm; và phổ IR có các band hấp thu tương ứng như sau: 3517 (OH), 1701 (ester), 1618 (C=C), 1595 và 1502 (vòng thơm) cm^{-1}. Kết quả trên cho thấy chất X có những dấu hiệu phổ tiêu biểu của dẫn xuất benzocyclooctadien, ngoài ra, trong cấu trúc X còn có nhóm hydroxyl và ester [1, 8].

Phổ khối lượng MS có các tín hiệu tiêu biểu như sau: m/z (%) 514 [M^+] (5.9), 414 [frag.1] (15.9), 343 [frag.2] (35.7), 83 [frag.3] (71.7), 55 [frag.4] (100.0). Sự phân mảnh khối lượng được đề nghị như sau [5]:



Hình 1. Sự phân mảnh khối lượng của hợp chất X

Hơn nữa, phổ proton ^{1}H NMR cho thấy dấu hiệu đặc trưng của hai nhóm proton olefinic methyl [δ 1,39 (3H,s) và 1,85 (3H,d, J=1,07)] và một olefinic proton [δ 5,98 (H,m)] do nhóm angeloyl (Frag.3, hình 1). Các tín hiệu phổ

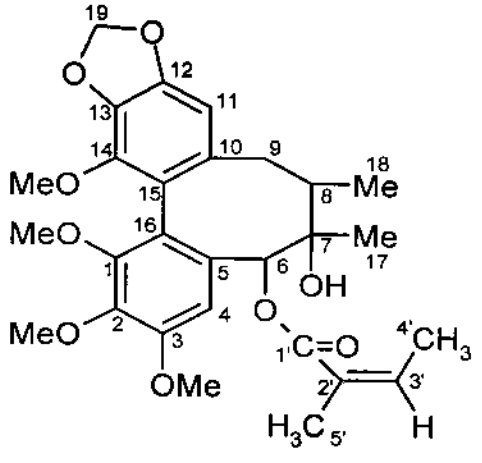
proton ở δ 1,91-1,99, 2,18 và 5.6 ppm chứng tỏ có sự hiện diện của các proton vòng cyclooctadien. Các tín hiệu singlet ở δ 6,76 và 6,46 phía trường thấp chứng tỏ sự hiện diện các proton vòng thơm. Hai proton nhóm methylendioxy là các singlet ở δ 5,89 and 5,86 ppm. Ngoài ra, các phổ khác như ^{13}C NMR, DEPT, HMQC, HMBC và COSY của hợp chất **X** cũng được chúng tôi phân tích và dữ liệu phổ được trình bày trong bảng 1 dưới đây:

Bảng 1. **Dữ liệu phổ NMR của hợp chất X**
(δ, $CDCl_3$, ^{13}C 500 MHz và ^{1}H 125 MHz)

Carbon	^{13}C NMR (ppm)	DEPT	^{1}H NMR (ppm)	HMQC	HMBC	^{1}H-^{1}H COSY
C1	151,9	C				
C2	140,5	C				
C3	152,1	C				
C4	109,8	CH	6,76 (H,s)	H4	C_6,C_{16},C_5,C_1	
C5	130,6	C				
C6	84,5	CH	5,60 (H,s)	H6	C_{17},C_8,C_7,C_4,C_{16}, C_5,$C_{1'}$	
C7	72,2	C	1,6 (0H, brs)			
C8	42,5	CH	1,91-1,99 (H,m)	H8	C_{18},C_9	H18
C9	36,4	CH_2	2,14 (Ha,d,J = 14,0) 2,22-2,31(Hb, m)	H9	C_{18},C_8,C_7,C_{11}, C_{15},C_{13} C_8,C_7,C_{11},C_{15},C_{13}	H8, H9a
C10	135,2	C				
C11	102,7	CH	6,46 (H,s)	H11	C_9,C_{15},CC_{13},C_{12}	
C12	148,9	C				
C13	134,3	C				
C14	141,8	C				
C15	121,2	C				
C16	122,3	C				

C17	28,1	CH_3	1,33 (3H,s)	H17	C_8,C_7,C_6	
C18	18,9	CH_3	1,13 (3H,d,J=7,1)	H18	C_9,C_8,C_7	
C19	10,5	CH_2	5,90 (Ha,s), 5,86 (Hb,s)	Ha19,Hb19	C_{10},C_{12}	
MeO-1	55,9	CH_3	3,91 (3H,s)	H (MeO-1)	C_{14},C_1	
MeO-2	59	CH_3	3,56 (3H,s)	H (MeO-2)	C_2	
MeO-3	60,6	CH_3	3,73 (3H,s)	H (MeO-3)	C_3	
MeO-14	60,8	CH_3	3,90 (3H,s)	H (MeO-14)		
C1'	165,8	C				
C2'	127,1	C				
C3'	139,9	CH	5,98 (H,m)	H3'	$C_{5'}$	H4' H5'
C4'	15,7	CH_3	1,85 (3H,d, J=1,07)	H4'	$C_{2'},C_{3'}$	H5'
C5'	19,7	CH_3	1,39 (3H,s)	H5'	$C_{2'},C_{3'},C_{1'}$	

Từ những phân tích trên, cấu trúc của hợp chất X được đề nghị là gomisin B.



Gomisin B

IV. KẾT LUẬN

Những kết quả nghiên cứu trên đây cho thấy loài ngũ vị tử *Schisiandra* sp. mọc hoang ở Kon Tum có thành phần hóa học rất giống với loài *S. chinensis*.

Một lignan đã được phân lập từ *Schisiandra* sp.và cấu trúc được xác định là gomisin B, một cấu trúc cũng đã được phân lập từ *S. chinensis*. Như vậy, nghiên cứu này đã chứng tỏ một phần rằng loài *Schisiandra* sp. ở Kon Tum có thể được dùng thay thế cho *S. chinensis* như là nguồn dược liệu đặc trưng của Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dao - Feng Chen, Guo - Jun Xu et al., (1992), Dibenzo cyclo-octadiene lignans from *Kadsura heteroclita*, Phytochemistry, 31(2), 629 – 632.
2. Huang MF, Fang SD, Kao YL, (1982), Studies on the constituents of *Schisandra sphenanthera* Rehd et Wils. III. Constituents of the lignan in different districts and the structure of d-epigalbacin. Acta Bot Sin 24:451-455.
3. H.Y. Hsu and W.G. Peacher, (1976), "Chinese Herb Medicine and Therapy." Oriental Healing Arts Institute, Los Angeles, p.176 .
4. Ikeya Y., Taguchi H., Yosioka I., (1978), The constituents of *Schisandra chinensis* Baill. The structures of two new lignans, pre-gomisin and gomisin J. Chem Pharm Bull (Tokyo) 26:682-684.
5. Ikeya Y., Taguchi H., Yosioka I. and Kobayashi H., (1988), The constituents of *Schizandra chinensis* Baill. I. Isolation and structure determination of five new lignans, Gomisin A, B, C, F and G, and the absolute structure of Schizandrin, Chem. Pharm. Bull, 27 (2), 569-573
6. Liu J, Huang M, (1984), Constituents of *Schisandra sphenanthera* Rehd. Et Wils. IV. Structures of anweizic acid and dl-anwulignan and the absolute configurations of d-epigalbacin. Acta Chim Sin 42:246-270
7. Li LN, Xue H, (1986), Henricine, a new tetrahydrofuran lignan from Schisandra Henryi. Plant Med 52:493-494.
8. Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, (1996), Spectometric Identification of Organic Compounds, Sixth Edition, 71-111
9. Yue JM, Chen YZ, Hua SM, Cheng JL, Cui XY., (1989), Ganschisandrine, a lignan from *Schisandra sphenanthera*, Phytochemistry 28:1774-1776.

NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN NGŨ VỊ TỬ NGỌC LINH VÀ TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN

Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Thị Thu Hương,
Trần Công Luận, Lê Thanh Sơn - Viện Dược liệu

I. MỞ ĐẦU

Ngũ vị tử (*Fructus Schisandrae*) là vị thuốc Y học cổ truyền phương Đông,đã được sử dụng từ xa xưa. Theo y học Trung Quốc, ngũ vị tử có vị chua, chát, đắng, cay, ngọt (ngũ vị) tính ấm vào hai kinh phế và thận. Có tác dụng thu liễm, cố sáp, ích khí, sinh tân, bổ thận, an thần. Sử dụng chủ yếu là quả và hạt như là vị thuốc bổ và trấn thống. Dùng chữa ho lâu ngày, phế hư, ho tức ngực, hen suyễn, mỏi mệt, di tinh, hoạt tinh, mộng tinh, tân dịch thương tổn, đoản khí, mạch hư, nội nhiệt tiêu khát, mất ngủ, lạnh chân tay ở người già, niệu tần, tiêu chảy lâu ngày không cầm, tự hãn, đạo hàn, kiết lỵ....Vì những tác dụng quý nêu trên, ngũ vị tử là vị thuốc thiết yếu, có mặt ở nhiều phương thuốc cổ truyền, nhu cầu hàng năm lớn, Việt Nam lâu nay phải nhập khẩu 50-70 tấn/năm từ Trung Quốc. Khi phát hiện một loài ngũ vị tử mọc hoang ở núi Ngọc Linh, tỉnh Kon Tum và Quảng Nam đã hấp dẫn các nhà nghiên cứu, hy vọng xác định được loài thuốc quý có thể thay thế vị thuốc nhập khẩu hiện nay. Được Sở Khoa học - Công nghệ tỉnh Kon Tum đầu tư kinh phí, chúng tôi đã thực hiện đề tài "*Nghiên cứu phát triển ngũ vị tử Ngọc Linh và tác dụng bảo vệ gan*", với mục tiêu xác minh giá trị làm thuốc của ngũ vị tử Ngọc Linh, xây dựng cơ sở khoa học cho quy hoạch và phát triển vùng nguyên liệu ngũ vị tử.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Loài ngũ vị tử (*Schisandra* sp.) mới phát hiện mọc hoang ở Kon Tum và Quảng Nam quanh núi Ngọc Linh nên đặt tên là ngũ vị tử Ngọc Linh.

- Nguyên liệu nghiên cứu là quả của cây ngũ vị tử được cung cấp từ các nơi:

+ Ngũ vị tử Ngọc Linh (NVT1): Quả thu trong tự nhiên tại huyện Đắc Tô, Kon Tum. Quả già, thu hoạch, làm sạch, sấy khô trong nhiệt độ thấp (50-60°C).*Ngũ vị tử (thương phẩm) được mua ở phố Hải Thượng Lãn Ông, Tp. Hồ Chí Minh (NVT2.)*

+ Ngũ vị tử bắc (NVT3). Quả ngũ vị tử do Công ty Ích thảo đường Quảng Tây cung cấp, tại vùng trồng ngũ vị tử bắc tại Hồ Bắc Trung Quốc.

+ Ngũ vị tử mua ở Bắc Kinh -Trung Quốc (NVT4) (thương phẩm).

- Mẫu thử nghiên cứu dược lý: Quả ngũ vị tử Ngọc Linh, chiết xuất theo phương pháp ngấm kiệt với dung môi ether dầu hỏa (tỷ lệ 1:6). Dịch chiết thu được cô giảm áp thành dạng cao 10/1, hiệu suất chiết 10%, chủ yếu là hợp chất lignan.

- Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng đực (chủng Swiss albino, 5-6 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 20 ± 2 gam) được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh, và được nuôi ổn định ít nhất một tuần trước khi thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Nghiên cứu định danh theo phương pháp so sánh hình thái.
- Nghiên cứu phân bố sử dụng phương pháp nghiên cứu sinh thái địa thực vật.
- Nghiên cứu các đặc tính nông học sử dụng phương pháp thí nghiệm đồng ruộng của Phạm Chí Thành.
- Phân tích thành phần hoá học và xây dựng tiêu chuẩn theo các phương pháp quy định trong DĐVN 3.
- Thử nghiệm độc tính cấp diễn theo phương pháp Karber-Behrens
- Đánh giá tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây viêm gan cấp bằng tetraclorua carbon, mô hình tổn thương gan thực nghiệm bằng ethanol.
- Xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-way ANOVA. phần mềm kiểm định Sigma Stat.
- Xử lý thống kê trong trồng trọt theo Chương trình Irisstas.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thực vật học (xác định danh pháp)

Phân tích đặc điểm hình thái, dựa vào khóa phân loại họ *Schisandraceae* trong tài liệu R.M.K. Saunders, Schisandraceae, Species plantarum; Flora of the World, part 4:1-62 (2001), có đối chiếu với Thực vật chí Trung Quốc, chúng tôi xác định tên loài ngũ vị tử Ngọc Linh là *Schisandra sphenanthera* Rehder & E.H.Wilson. họ *Schisandraceae*.

Việc xác định loài *S. sphenanthera* mọc hoang ở vĩ độ 15 là một đóng góp mới về vùng phân bố của loài này và bổ sung cho hệ thực vật Việt Nam nói chung, hệ cây thuốc nói riêng, một loài mới. Theo Dược điển Trung Quốc, vị thuốc ngũ vị tử (*Fructus Schisandrae*) là quả của hai loài *S. chinensis* và *S. sphenanthera*.

3.2. Khảo sát thành phần hoá học

Sơ bộ xác định hiệu suất chiết với 2 dung môi phân cực (ether) và không phân cực (MeOH) cho thấy ngũ vị tử Ngọc Linh và ngũ vị tử bắc tương đương nhau: Dung môi ether NVT1= 5,30 % và NVT3= 5,90%. Dung môi MeOH NVT1=3,35% và NVT3 = 3,14%. Dung môi ether phù hợp hơn MeOH. Kiểm tra trên sắc ký lớp mỏng ngũ vị tử Ngọc Linh và ngũ vị tử bắc cho thấy sắc đồ tương đồng nhau.

Bảng 1. **Kiểm tra trên sắc ký lớp mỏng**

Hệ dung môi	Thuốc thử hiện màu	Ngũ vị tử Ngọc Linh (NVT1)	Ngũ vị tử bắc (NVT3)
Toluen : ethyl acetat (9:1)	UV 254nm	Có ít vết, Rf thấp	Có ít vết, Rf thấp
	UV 365nm	Không phát quang	Không phát quang
	TT. vanillin-H_2SO_4	Không hiện rõ	Không hiện rõ
Toluen : ethyl acetat (7:3)	UV 254nm	Có ít nhất 5 vết	Có ít nhất 6 vết
	UV 365nm	2 vết phát quang đỏ	1 vết đỏ và 1 vết xanh
	TT:vanillin- H_2SO_4	Có ít nhất 6 vết, có 1 vết đậm	Có ít nhất 6 vết
Toluen : aceton (65:35)	UV 254nm	Có ít vết	Có ít vết
	UV 365nm	Không phát quang	Không phát quang
	TT:vanillin- H_2SO_4		

3.3. Nghiên cứu tác dụng dược lý

** Xác định độc tính cấp diễn đường uống*

LD_{50} =13,4 g cao/kg thể trọng, tương ứng 140 g dược liệu/kg thể trọng (ngũ vị tử Bắc LD_{50} = 10,5g/kg thể trọng)

** Đánh giá tác dụng phục hồi chức năng giải độc gan của cao ngũ vị tử Ngọc Linh*

***Bảng 2.* Tác dụng của cao ngũ vị lên thời gian ngủ gây bởi pentobarbital trong mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng tetraclorua carbon**

Nhóm	Lô (n = 6 – 8)	Liều uống (mg/kg)	Tiềm thời (phút)	Thời gian ngủ (phút)
CCl_4(-)	Đối chứng	-	2,75 ± 0,25	65,0 ± 8,43
	Cao ngũ vị	67	3,43 ± 0,30	77,42 ± 8,34
	Đối chiếu silymarin	100	3,5 ± 0,19	77,00 ± 6,76
CCl_4(+)	Đối chứng	-	3,67 ± 0,53	272,89 ± 19,14#
	Cao ngũ vị	67	5,62 ± 1,08 *	235,75 ± 16,62*
	Đối chiếu silymarin	100	5,53 ± 0,58 *	235,25 ± 39,59*

* P < 0,05: so sánh với lô đối chứng tương ứng.

# P < 0,05: so sánh lô đối chứng bệnh lý (CCl_4 +) với lô đối chứng bình thường (CCl_4 -)

Nhận xét

Thời gian tiềm thời giấc ngủ ở lô đối chứng nhóm CCl_4 (+) không kéo dài hơn so với lô đối chứng bình thường (không đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%). Nhưng ở lô thử cao ngũ vị tử liều uống (67 mg/kg) có kéo dài thời gian tiềm thời giấc ngủ so với lô đối chứng bệnh lý đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Lô đối chiếu silymarin (100 mg/kg) cũng cho kết quả tương tự như ở lô cao ngũ vị tử.

Thời gian ngủ ở nhóm CCl_4 (-) không có sự khác biệt giữa các lô thử nghiệm so với lô đối chứng. Ở nhóm CCl_4 (+) thời gian ngủ của lô đối chứng bệnh lý tăng 319,83% so với lô đối chứng bình thường, đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Cao ngũ vị tử liều 67 mg/kg được cho uống 7 ngày trước khi gây mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng tetraclorua carbon có tác dụng làm

giảm thời gian ngủ (13,6%) của pentobarbital bị kéo dài do tiêm CCl_4 so với lô đối chứng bệnh lý đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả ở lô đối chiếu silymarin (100mg/kg), cũng làm giảm thời gian ngủ (13,57%) so với lô đối chứng bệnh lý, đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

* *Đánh giá tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng tetraclorua carbon*

Bảng 3. **Hàm lượng MDA trong gan ở các lô thử nghiệm trên mô hình gây tổn thương gan bằng tetraclorua carbon**

Lô (n = 6 - 8)		Liều uống (mg/kg)	Hàm lượng MDA (nM/ml dịch đồng thể)	Hàm lượng MDA (nM/g tổ chức gan)
CCl_4 (-)	Đối chứng	-	3,174 ± 0,252	31,737 ± 2,521
	Cao ngũ vị	67	2,215 ± 0,206	22,147 ± 2,057 *
	Silymarin	100	2,304 ± 0,203	23,041 ± 2,026*
CCl_4 (+)	Đối chứng	-	4,311 ± 0,114	43,11 ± 1,147 #
	Cao ngũ vị	67	3,225 ± 0,21	32,249 ± 2,099 *
	Silymarin	100	3,111 ± 0,168	31,114 ± 1,681 *

* P< 0,05: so sánh với lô đối chứng tương ứng.

# P< 0,05: so sánh lô đối chứng bệnh lý (CCl_4 +) với lô đối chứng bình thường (CCl_4 -)

Nhận xét

Nhóm bình thường CCl_4 (-): Lô thử cao ngũ vị từ liều uống (67 mg cao/kg) đã thể hiện tác dụng làm giảm hàm lượng MDA (30,2%) so với lô đối chứng đạt ý nghĩa thống kê P<0,05. Lô đối chiếu silymarin (100 mg/kg) cũng cho kết quả tương tự như lô thử cao ngũ vị tử, làm giảm hàm lượng MDA (27,4%) so với lô đối chứng đạt ý nghĩa thống kê P < 0,05.

Nhóm bệnh lý CCl_4 (+): Lô đối chứng bệnh lý làm tăng rõ rệt hàm lượng MDA (35,8%) so với lô đối chứng bình thường đạt ý nghĩa thống kê P < 0,05. Điều này giải thích việc dùng CCl_4 gây mô hình tổn thương gan thực nghiệm đã làm gia tăng hàm lượng MDA trong tế bào gan. Sự gia tăng này là cơ sở để

chứng minh tác dụng bảo vệ gan của mẫu thử theo hướng tác dụng antioxydant thông qua việc làm giảm hàm lượng MDA.

Lô thử cao ngũ vị tử liều (67 mg/kg) thể hiện tác dụng làm giảm sự tăng hàm lượng MDA (25,2%) gây bởi CCl_4 so với lô đối chứng đạt ý nghĩa thống kê P<0,05. Điều này chứng minh tác dụng bảo vệ gan của cao ngũ vị tử trên mô hình gây tổn thương gan bằng CCl_4.

Lô đối chiếu silymarin (100 mg/kg) cũng thể hiện tác dụng làm giảm sự tăng hàm lượng MDA (28,9%) gây bởi CCl_4 so với lô đối chứng đạt ý nghĩa thống kê.

Như vậy, cao ngũ vị tử có tác dụng làm giảm sự gia tăng hàm lượng MDA gây bởi CCl_4 tương đương với tác dụng của silymarin, là một hoạt chất được chiết xuất từ cây cúc gai *Silybum marianum* có tác dụng bảo vệ gan điển hình.

** Đánh giá tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng ethanol*

***Bảng 4.* Hàm lượng MDA trong gan ở các lô thử nghiệm trong mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng ethanol**

Lô (n=6-8)		Liều uống (mg/kg)	Hàm lượng MDA(nM/ml dịch đồng thể)	Hàm lượng MDA(nM/g tổ chức gan)
Ethanol (-)	Đối chứng	-	2,781 ± 0,079	27,815± 0,789
	Cao ngũ vị tử	67	2,215 ± 0,206	22,147 ± 2,057 *
	Silymarin	100	2,304 ± 0,203	23,041 ± 2,043 *
	Vitamin E	25	0,997 ± 0,015	9,971 ± 0,146 *
Ethanol (+)	Đối chứng	-	3,993 ± 0,339	39,933 ± 3,387 #
	Cao ngũ vị tử	67	3,003 ± 0,257	30,026 ± 2,571 *
	Silymarin	100	1,928 ± 0,221	19,283 ± 2,207 *
	Vitamin E	25	2,059 ± 0,226	20,589± 2,256 *

* P < 0,05 so sánh với lô đối chứng tương ứng

\# P < 0,05 so sánh lô đối chứng bệnh lý [ethanol (+)] với lô đối chứng bình thường [ethanol (-)].

Nhận xét

- Nhóm bình thường ethanol (-): Lô thử cao ngũ vị tử liều uống (67mg/kg) đã thể hiện tác dụng làm giảm hàm lượng MDA (20,38%) so với lô đối chứng đạt

ý nghĩa thống kê P < 0,05. Lô đối chiếu silymarin (100 mg/kg) hay vitamin E (25 mg/kg) đều thể hiện tác dụng làm giảm hàm lượng MDA (từ 17,2% - 64,2%) so với lô đối chứng đạt ý nghĩa thống kê P < 0,05.

- Nhóm bệnh lý ethanol (+): Lô đối chứng bệnh lý làm tăng rõ rệt hàm lượng MDA (43,5%) so với lô đối chứng bình thường đạt ý nghĩa thống kê P < 0,05. Điều này giải thích việc cho uống ethanol (1,8 g/kg) trong 30 ngày đã làm gia tăng hàm lượng MDA trong tế bào gan. Từ sự gia tăng này là cơ sở để chúng ta chứng minh tác dụng bảo vệ gan của chất thử thông qua việc làm giảm hàm lượng MDA.

+ Lô thử cao ngũ vị tử (67mg/kg) đã thể hiện tác dụng làm giảm sự gia tăng hàm lượng MDA gây bởi ethanol (24,8%) so với lô đối chứng đạt ý nghĩa thống kê P < 0,05.

+ Lô đối chiếu vitamin E (25 mg/kg) hay silymarin (100 mg/kg) đều thể hiện tác dụng làm giảm sự gia tăng hàm lượng MDA gây bởi ethanol (từ 48,4% - 51,7%) so với lô đối chứng đạt ý nghĩa thống kê P < 0,05. So với lô thử ngũ vị tử thì tác dụng làm giảm sự gia tăng hàm lượng MDA trong gan gây bởi ethanol của silymarin hay vitamin E là tốt hơn ở cùng điều kiện thử nghiệm.

3.4. Điều tra về phân bố, đánh giá trữ lượng và nghiên cứu kỹ thuật nhân giống

Bảng 5. **Kết quả điều tra về phân bố tự nhiên và sơ bộ đánh giá trữ lượng ngũ vị tử Ngọc Linh**

TT	Độ dài tuyến	Độ gặp (cây)			Hiện trạng		Tổng số	Ghi chú
		<1m	1-3m	>3m	Có hoa	Có quả		
1	**Xã Ngọc Lây**	**441**	**109**	**75**	**84**	**46**	**625**	
	Tuyến 1	147	33	19	24	13	99	Một số cây chỉ thấy hoa
	Tuyến 2	165	21	8	8	8	94	
	Tuyến 3	129	55	48	52	25	192	
2.	**Xã Tê Xăng**	**392**	**121**	**63**	**38**	**30**	***576***	
	Tuyến 4	105	28	17	8	9	150	Một số cây có quả lớn

	Tuyến 5	74	26	11	2	4	111	
	Tuyến 6	213	67	35	28	17	315	
3.	**Xã Măng Ri**	**326**	**66**	**34**	**31**	**14**	***426***	
	Tuyến 7	85	46	23	26	7	124	
	Tuyến 8	174	13	9	5	6	196	
	Tuyến 9	67	7	2	0	1	46	
Tổng số 9 tuyến		**1.159 71,24%**	**296 18,19%**	**172 10,57%**	**153 9,40%**	**95 5,84%**	**1.627 100%**	

Cây tái sinh nhiều trong đó bao gồm cả tái sinh chồi và tái sinh hạt. Tỷ lệ cây lớn (có chiều cao > 3m) không nhiều 10,57% và tỷ lệ cây có hoa, có quả thấp (có hoa 9,40 %; có quả 5,84%).

Mở rộng phạm vi điều tra, kết luận 3 xã Ngọc Lây, Tê Xăng, Măng Ri của huyện Đăk Tô - Kon Tum và 2 xã Trà Linh, Trà Nam huyện Trà My – Quảng Nam là trung tâm phân bố của ngũ vị tử.

Bảng 6. **Năng suất quả trên cây ngũ vị tử tại các tuyến điều tra**

TT	Tuyến điều tra	Số cây thu quả	Trọng lượng (kg)	Trọng lượng quả TB/cây	Ghi chó
1.	Tuyến 1	4	58,6	14,65	
	Tuyến 2	6	33,0	5,5	
	Tuyến 3	6	97,5	16,25	Max 45,6kg
2.	Tuyến 4	3	15,5	5,17	
	Tuyến 5	4	27,0	6,75	
	Tuyến 6	7	186,9	26,7	Max 37,0kg
3.	Tuyến 7	5	34,8	6,96	
	Tuyến 8	3	26,0	8,67	
	Tuyến 9	1	2,8	2,8	
Tổng cộng		**39**	**482,1**	**Trung bình: 12,36 kg/cây**	

Trữ lượng ước tính trên địa bàn 3 xã từ 40-50 tấn quả tươi/năm (tương đương 4,5 – 5,0 tấn khô/năm).

Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống

** Nghiên cứu nhân giống vô tính từ hom thân*

Bảng 7. **Kết quả nghiên cứu xác định loại hom cho nhân giống**

TT	Loại hom	Thời vụ	Số hom	Số chết	Số cây mọc	Tỷ lệ % mọc
1	Hom già	Tháng12/03	100	2	98	98
2	Hom bánh tẻ	—	100	2	98	98
3	Hom non	—	100	6	94	94
4	Hom già	Tháng12/04	150	0	150	100
5	Hom bánh tẻ	—	150	0	150	100
6	Hom non	—	150	3	147	98

Bảng 8. **Kết quả nghiên cứu xác định kích cỡ hom giống**

TT	Kích cỡ hom (cm)	Loại hom	Số lượng	Hom chết	Số cây con	Tỷ lệ %
1	30 - 35 cm	Hom già	120	5	115	95,83
2		Bánh tẻ	120	11	109	90,83
3		Hom non	120	8	112	93,33
4	15 - 20 cm	Hom già	120	113	7	5,83
5		Bánh tẻ	120	109	11	9,16
6		Hom non	120	107	13	10,83

Bảng 9. **Kết quả nghiên cứu xác định thời vụ gieo hom**

TT	Loại hom	Thời vụ (tháng/năm)	Cỡ hom(cm)	Số lượng	Hom chết	Cây con	Tỷ lệ %
1	Bánh tẻ	3/04	30-35	120	11	109	90,83
2	Hom non	3/04	30-35	120	8	112	93,33
3	Bánh tẻ	6/04	30-35	90	4	86	95,55
4	Hom non	6/04	30-35	90	2	88	97,77
5	Bánh tẻ	9/04	30-35	120	3	117	97,50
6	Hom non	9/04	30-35	120	5	115	95,83
7	Bánh tẻ	12/04	30-35	150	0	150	100
8	Hom non	12/04	30-35	150	3	147	98

Nhận xét

1. Về kích thước tiêu chuẩn của hom: Độ dài của hom phải đạt từ 30 – 35 cm.
2. Tỷ lệ sống của các loại hom già, trung bình, non là gần như nhau và đều ở mức cao (trên 90%) trong điều kiện giâm hom thông thường.
3. Mùa nào cũng có thể tiến hành giâm hom. Tuy nhiên, giâm hom vào thời điểm tháng 12 là tốt nhất bởi sẽ không ảnh hưởng tới năng suất quả (thu quả chín vào tháng 9 – 10) và cho tỷ lệ cây con cao 98-100%.
4. Kỹ thuật xử lý hom rất đơn giản, giai đoạn chăm sóc trong vườn ươm không đòi hỏi nhiều công lao động.

***Bảng 10.* Kết quả nghiên cứu sự sinh trưởng và phát triển của hom**

Thời vụ	Thời gian ra chồi (ngày)	Thời gian ra rễ (ngày)	Chiều cao của chồi (cm)				Ghi chú
			Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Sau 90 ngày	Sau 120 ngày	
Xuân	15-20	35	4-5	22,4	54,5	> 100	Sau khoảng 80-100 ngày nên đưa ra vườn trồng
Hạ	18-24	48	1-3	13,5	39,2	70-80	
Thu	25-28	48	< 1	7,8	25,1	50-60	
Đông	35-40	56	0	< 5	16,6	40-45	

* *Kết quả nghiên cứu tạo giống hữu tính từ quả và hạt*

***Bảng 11.* Kết quả khảo sát gieo quả NVT loại tươi và khô**

TT	Loại quả gieo	Hình thức gieo	Số quả	Số cây giống	Tỷ lệ %
1	Quả tươi loại 1	Nổi trên mặt luống	482	37	7,67
2	Quả tươi loại 2	-nt-	150	7	4,67
3	Quả khô	-nt-	300	0	0
4	Quả tươi loại 1	Chìm dưới mặt luống	446	269	60,31
5	Quả tươi loại 2	-nt-	120	31	25,83
6	Quả tươi TN	-nt-	360	145	40,28
7	Quả khô	-nt-	400	0	0

Bảng 12. **Kết quả khảo sát gieo hạt NVT loại tươi và khô**

TT	Loại hạt gieo	Hình thức gieo	Số hạt gieo	Số cây giống	Tỷ lệ %
1	Hạt tươi	Nổi trên mặt luống	240	26	10,83
2	Hạt khô	-nt-	450	0	0
3	Hạt tươi	Chìm dưới mặt luống	440	238	53,79
4	Hạt phơi nhẹ	-nt-	200	77	38,50
5	Hạt khô	-nt-	240	0	0

Nhân giống hữu tính từ quả và hạt ngũ vị tử, kết quả thí nghiệm trên cho thấy không có sự khác biệt rõ rệt. Hạt đạt tỷ lệ từ 38,50 - 53,79%. Quả đạt tỷ lệ từ 40,28 - 60,31%. Quả và hạt tươi nảy mầm cho cây giống đạt 53,79-60,31%, còn quả và hạt phơi khô không nảy mầm. Phương thức gieo quả và hạt phải gieo chìm dưới mặt đất, nếu gieo nổi trên mặt đất sẽ không mọc hoặc mọc rất thấp từ 7,67 - 10,83%.

IV. BÀN LUẬN

1. Lần đầu tiên chúng tôi phát hiện và bổ sung cho hệ thực vật Việt Nam loài ngũ vị tử Ngọc Linh (*Schisandra sphenanthera* Rehder et Wills. Họ *Schisandraceae*), một trong hai loài được Dược điển quy định sử dụng làm thuốc ngũ vị tử. Vị thuốc này lâu nay ta vẫn phải nhập từ nước ngoài, mở ra khả năng sản xuất tự túc trong nước.

2. Kết quả nghiên cứu hoá học, so sánh ngũ vị tử Ngọc Linh với ngũ vị tử bắc (*S.* chinensis) - vị thuốc ngũ vị tử thương phẩm mua tại Tp. Hồ Chí Minh và Bắc Kinh – cho thấy thành phần hoạt chất khá tương đồng.

3. Nghiên cứu một số tác dụng dược lý của ngũ vị tử Ngọc Linh

- Xác định liều độc đường uống của ngũ vị tử Ngọc Linh là 140 g dược liều/kg thể trọng (13,3 g cao); chứng tỏ ngũ vị tử Ngọc Linh có độc tính đường uống thấp (ngũ vị tử bắc 10,5g cao).

- Tác dụng của cao ngũ vị tử Ngọc Linh liều 67 mg/kg cho uống 7 ngày trước khi gây mô hình viêm gan cấp bằng tetraclorua carbon có tác dụng làm giảm thời gian ngủ của barbital bị kéo dài do tiêm tetraclorua carbon và làm

giảm hàm lượng MDA ở các mô tế bào gan bị tổn thương về mức bình thường. Điều này thể hiện cao ngũ vị tử Ngọc Linh có tác dụng phục hồi chức năng giải độc của gan.

- Cao ngũ vị tử Ngọc Linh liều uống (67mg/ kg) được cho uống 7 ngày trước khi gây mô hình tổn thương gan bằng tetraclorua carbon có tác dụng làm giảm hàm lượng MDA ở cả lô bình thường lẫn lô bệnh lý. Điều này chứng minh rằng cao ngũ vị có tác dụng bảo vệ tế bào gan theo cơ chế chống gốc tự do, làm giảm sự hình thành gốc tự do trong quá trình chuyển hoá phân tử CCl_4 → ngăn chặn quá trình peroxy hoá lipid của màng tế bào → bảo vệ tế bào gan khỏi bị tổn thương.

Như vậy, cao ngũ vị không những làm giảm hàm lượng MDA ở các mô tế bào gan bị tổn thương về mức bình thường mà còn có tác dụng làm giảm hàm lượng MDA ở các mô tế bào khoẻ mạnh. Điều này mở ra hướng nghiên cứu mới trong việc tạo ra những sản phẩm có tác dụng chữa bệnh và dự phòng bảo vệ tế bào gan.

- Tác dụng bảo vệ gan của cao ngũ vị tử Ngọc Linh liều uống 67mg/kg uống trong 15 ngày sau khi gây mô hình tổn thương gan bằng ethanol có tác dụng làm giảm hàm lượng MDA ở mô tế bào gan trên cả lô bình thường và lô bệnh lý. Điều này thể hiện cao ngũ vị tử Ngọc Linh có tác dụng bảo vệ tế bào gan theo cơ chế chống gốc tự do.

4. Ngũ vị tử Ngọc Linh phân bố rộng và có mật độ khá dày trên các trảng cây bụi, ven rừng, vùng nương rẫy đang phục hồi ở độ cao trên 1200m, là cây ưa sáng có khả năng tái sinh từ hạt, tái sinh chồi mạnh, số cây trưởng thành ra hoa chiếm 9,40% và có quả chiếm 5,84%. Tỷ lệ cây lớn (có chiều cao >3m) chỉ chiếm 10,57% Đã xây dựng bản đồ vùng phân bố tập trung ngũ vị tử phục vụ bảo tồn phát triển.

Sơ bộ xác định trữ lượng trên 3 xã điều tra có khả năng thu được từ 4 – 5 tấn dược liệu khô/năm. Năng suất một cây trung bình thu được từ 10 – 15 kg quả tươi/năm, cao nhất có cây cho 37 – 45 kg quả tươi/năm.

5. Nhân giống vô tính từ hom thân cho tỷ lệ tạo cây con từ hom thân cao trên 90%, thời vụ giâm hom tốt nhất vào tháng 12, chiều dài hom 30 – 35 cm. Nhân giống hữu tính cho tỷ lệ nảy mầm giữa gieo quả và gieo hạt không có sai khác lớn, gieo quả tỷ lệ nảy mầm đạt từ 40,28 – 60,31%, gieo hạt tỷ lệ nảy mầm đạt từ 38,50 – 53,79%. Hạt phơi khô không mọc, thời gian nảy mầm rất lâu, từ 345 – 365 ngày. Xây dựng vườn ươm 250m^2 có lượng cây giống trên 2000 cây, có thể cung cấp trồng thử nghiệm.

V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Ngũ vị tử Ngọc Linh là cây thuốc mới phát hiện ở Việt Nam, đã được xác minh danh pháp, sơ bộ thành phần hoá học, tác dụng dược lý tương đồng với vị thuốc ngũ vị tử bắc, có thể sử dụng thay thế vị thuốc này lâu nay phải nhập từ Trung Quốc.

Trên vùng phân bố tự nhiên,đã xác định vùng phân bố tập trung, sơ bộ đánh giá trữ lượng cho phép khoanh nuôi bảo vệ và khai thác sử dụng. Đã nghiên cứu kỹ thuật nhân giống vô tính từ hom thân và hữu tính từ quả-hạt tạo cơ sở khoa học cho nhân trồng tạo vùng nguyên liệu ngũ vị tử.

Đề nghị cho đề tài tiếp tục nghiên cứu tạo vùng nguyên liệu và tạo thuốc mới từ ngũ vị tử Ngọc Linh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, (2002), Dược điển Việt Nam, lần xuất bản thứ ba, NXB.Y học, 428-429.
2. Đàm Hải Ninh, (1999), *Schisandraceae*. Phụ chương 1 (Supplementum) Thực vật chí Trung Quốc; 511-515.
3. Đỗ Tất Lợi, (1999), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, 872-875, NXB. Y học- Hà Nội
4. Nhiều tác giả, (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật-Hà Nội, tập 2, trang 416-423.
5. Nguyễn Tiến Bân, (2003), *Schisandraceae*, Danh mục các loài thực vật Việt Nam.Tập II:135-137.
6. Võ Văn Chi, (1999), Tự điển Cây thuốc Việt Nam, 851-852, NXB. Y học Hà Nội.
7. Phạm Hoàng Hộ, (1991), Cây cỏ Việt Nam, quyển 1:384-387.
8. Chiu, P.Y. et al., (2002), Planta Medica 68, 217-220, 951-956.
9. IPSP.et al., (1996), Pharmacol Toxicol jun 78 (6):413.
10. IPSP. et al., (2000), Mol cell Biochem. May; 208(1-2):151.
11. Zhu M. et al., (1999), Ethnopharmacol. Oct;67(1):61.
12. Zhu M. et al., (2000), Planta Med. Aug; 66(6):521.
13. Li Hui Lin; Chaw, Shu Miaw, (1996), *Schisandraceae.* Flora of Taiwan. Volume 2:423-426.Taipei,Taiwan,Roc

14. Pan, S.Y. et al., (2002), Planta Medica 68, 217-220,

15. Siu Po Ip et al., (1996), Pharmacology & Toxicology 78, 413-416,

16. Richard M. K. Saunders, (2001), *Schisandraceae.* Flora of the World.Part 4:1-62,

17. M. R.Sukshom Kashemsanta, (1970), *Schisandraceae.* Flora of Thailand.Volume 2 part 1:112-115.

18. Petelot P. A.,(1952-1954), Les Plantes Medicinales du Cambodge, du Laos et du Vietnam (Cây thuốc Campuchia, Lào và Việt Nam) Sài Gòn.

NGHIÊN CỨU SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG HẠ ĐƯỜNG HUYẾT CỦA CÂY NHÀU (*MORINDA CITRIFOLIA* L., *RUBIACEAE*)

Phạm Văn Thanh, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Thị Xuân Hoa, Nguyễn Kim Phượng, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Trang Thúy, Đỗ Thị Hà, Vũ Thúy Lan, Nguyễn Ngọc Chi, Vũ Kim Thu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiên nhiên đã ban tặng cho đất nước ta nguồn tài nguyên động thực vật phong phú và đa dạng, con người Việt Nam đã biết sử dụng những tính chất hữu ích của nguồn tài nguyên này để phục vụ cuộc sống của mình. Theo con số thống kê công bố năm 2004 của Khoa Tài nguyên - Viện Dược liệu, hiện ở Việt Nam có khoảng 3948 loài thực vật được sử dụng làm thuốc.

Thuốc từ cây cỏ đã giúp con người phòng và điều trị nhiều loại chứng bệnh, từ các chứng bệnh thông thường như cảm cúm, nhức đầu, ho, sốt, đến phòng và điều trị các chứng bệnh hiểm nghèo như các bệnh về gan, thận, ung thư, HIV-AIDS. Bệnh đái tháo đường cũng có nhiều cây thuốc, bài thuốc đã được sử dụng, lưu truyền trong dân gian, tuy nhiên, mới chỉ số ít trong đó được chứng minh về mặt khoa học. Để góp phần tìm hiểu thành phần hóa học và chứng minh tác dụng

của một số cây thuốc, Viện Dược liệu đã tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng hạ đường huyết của quả nhàu.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Cây nhàu có nhiều trên các đảo Thái Bình Dương , ở các vùng có khí hậu nhiệt đới Đông Nam Á, Trung Quốc, Lào , Campuchia, Thái Lan, Philippin, Ấn Độ, Austraylia và Việt Nam .Bộ phận được sử dụng làm nguyên liệu nghiên cứu là quả già còn xanh, cắt lát phơi hay sấy khô, được thu hái tại Nghệ An.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu về hóa học

* Phân tích định tính thành phần hóa học dựa vào các phản ứng hóa học đặc trưng, phản ứng màu, kết tủa và trên sắc ký lớp mỏng [1], [2], [3].

* Phương pháp định lượng:

Định lượng saponin: Cân chính xác khoảng 25g bột dược liệu, xác định độ ẩm và chiết bằng Soxhlet với methanol cho đến khi dịch chiết trong, không màu và không cho phản ứng với H_2SO_4 đặc. Dịch chiết methanol được thu hồi dung môi dưới áp suất giảm còn khoảng 20 ml, để nguội cho từ từ vào đó 200ml aceton, vừa cho vừa khuấy, để ở tủ lạnh qua đêm, gạn lấy tủa. Tủa để ngoài không khí cho bay hết aceton rồi lại hòa vào methanol và tủa như trên. Phần tủa sấy ở 60^0 C cho đến khô. Cân và tính hàm lượng saponin theo công thức:

$$Saponin_{tp} = \frac{a \times 100}{A(100 - X)} \times 100$$

trong đó: a: khối lượng saponin thô TP (g);

A: khối lượng dược liệu (g);

X: độ ẩm của dược liệu (%).

Định lượng flavonoid: Cân chính xác khoảng 25g bột dược liệu đã sấy khô .xay nhỏ và xác định độ ẩm , chiết hồi lưu 30 phút bằng cồn 90^0, lọc, chiết như vậy 3 lần (dịch lọc lần cuối lên phản ứng cyanidin màu rất nhạt). Tập trung dịch chiết thu hồi và cô đến còn cắn. Thêm 25ml nước cất vào cắn, khuấy và đun cách thủy 15-20 phút cho tan rồi lọc ,làm lại như vậy 2 lần.Cho dịch lọc của 2 lần vào

bình gạn dung tích 150ml. Lắc với 50ml ethylacetat (lắc như vậy 10 lần). Tập trung dịch ethylacetat lại, thu hồi và cô đến cắn. Cắn sấy trong tủ sấy chân không ở 60 ^{0}C đến khô.Ghi khối lượng của cắn và tính ra hàm lượng flavonoid toàn phần (theo công thức tương tự như trên).

2.2.2. Nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết [4]

- *Chuẩn bị mẫu thử* : dược liệu được chiết với nước hoặc cồn 80^0 ,tỷ lệ dược liệu so với dung môi là 1/6, chiết cách thủy 1 giờ 30 phút một lần, chiết 3 lần. Các dịch chiết tập trung lại bốc hơi hay thu hồi dung môi dưới áp suất giảm đến cao lỏng 1/1.

- *Thử tác dụng hạ đường huyết trên chuột gây đái tháo đường thực nghiệm*

+ Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng có trọng lượng từ 30 - 35g (đảm bảo lấy đủ được lượng máu 2 lần trước khi gây đái tháo đường và sau khi thử thuốc) là chuột thuần chủng do Viện Vệ sinh dịch tễ cung cấp, nuôi tiếp ở nhà chăn nuôi của Viện khoảng 4 - 5 ngày để chuột thích nghi với điều kiện sống mới. Khi chuột đã ổn định, lấy máu chuột để kiểm tra đường huyết nhằm chọn được những chuột có đường huyết bình thường sử dụng trong nghiên cứu.

* Sau khi đã chọn được chuột chia làm 2 lô: Lô thử thuốc và lô đối chứng.

* Trước khi gây tăng đường huyết, cho chuột của lô thử thuốc uống trước 2 ngày với liều 10g dược liệu /kg chuột. Ngày thứ 3 gây tăng đường huyết với cả 2 lô và tiếp tục cho lô thử thuốc uống thuốc và lô chứng uống nước với thể tích tương đương, uống tiếp 8 ngày.

* Đến ngày thứ 8 sau khi gây tăng đường huyết lấy máu để định lượng đường ở cả 2 lô: Lô thử thuốc và lô đối chứng.

* Phương pháp gây tăng đường huyết: Áp dụng mô hình gây tăng đường huyết bằng alloxan monohydrat, liều gây tăng do Khoa Dược lý sinh hoá (DLSH) chỉnh lý (60 mg/kg).

Dung dịch alloxan monohydrat được tiêm vào tĩnh mạch đuôi chuột.

* Phương pháp định lượng đường huyết:

- Phương pháp dùng men (GOD-PAP method).

Nguyên tắc: Phản ứng oxy hóa 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 hóa 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

(màu đỏ tím)

$$2H_2O_2 + 4\,\text{ainophenazon} + \text{phenol} \xrightarrow{POD} \text{Quinonei min} + 4\,H_2O$$

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả định tính

3.1.1.Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học bằng phản ứng đặc trưng

Bảng 1. **Sự có mặt của các nhóm chất**

TT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận
1	Flavonoid	-Phản ứng cyanidin -Phản ứng với kiềm: +Amoniac +NaOH 10% -Phản ứng với dung dịch $FeCl_3$ 5%	+++ +++ ++ +++	Có Flavonoid
2	Glycosid tim	-Phản ứng Lieberman -Phản ứng Baljet -Phản ứng Legal -Phản ứng Keller- Kiliani	+++ – – –	Không có Glycosid tim
3	Alcaloid	-Với thuốc thử Dragendoff -Với thuốc thử Mayer -Với thuốc thử Bouchardat	++ ++ ++	Có alcaloid
4	Coumarin	-Phản ứng đóng mở vòng lacton -Phản ứng diazo hóa	– –	Không có coumarin
5	Saponin	-Hiện tượng tạo bọt -Tính phá huyết	+++ ++	Có saponin
6	Anthranoid	-Phản ứng với NaOH	+++	Có anthranoid
7	Tanin	-Phản ứng với $FeCl_3$ 5% -Phản ứng với gelatin 1%	+++ ++	Có tanin

8	Acid hữu cơ	-Phản ứng với Na_2CO_3 dạng tinh thể	–	Không có
9	Phytosterol	-Phản ứng Lieberman	+++	Có sterol
10	Chất béo	-Để lại vết loang trên giấy thấm	++	Có chất béo
11	Caroten	-Với H_2SO_4 10%	–	Không có caroten
12	Đường khử	-Thuốc thử Fehling Avà B	–	Không có đường khử

3.1.2. Kết quả phân tích flavonoid trên sắc ký lớp mỏng

Bảng 2. **Với hệ dung môi toluen: EtOAc: aceton : acid formic (7:2:2:1)**

TT	Hệ dung môi TEAF	Hiện màu với các thuốc thử		
	Rf	Hơi NH_3, UV 365	UV254	NaOH 1%/ cồn UV 365
1	0,00	Vàng đậm	Nâu tối	Vàng đậm
2	0,10	Vàng đậm	Nâu tối	Vàng đậm
3	0,69	Xanh phát quang	Không màu	Xanh phát quang
4	0,95	Phát quang xanh lơ	Nâu nhạt	Phát quang xanh lơ

Bảng 3. **Với hệ dung môi toluen : EtOAc : acid formic (5:4:1)**

TT	Hệ dung môi TEF	Hiện màu với các thuốc thử		
	Rf	UV365, Hơi NH_3	UV 254	NaOH 1%/cồn UV365
1	0,00	Phát quang vàng sáng	Nâu đạm	Vàng đạm
2	0,12	Xanh phát quang	Không màu	Xanh phát quang
3	0,66	Xanh phát quang	Không màu	Xanh phát quang
4	0,92	Vàng	Nâu tối	Vàng

3.1.3. Kết quả phân tích saponin trên sắc ký lớp mỏng

Bảng 4. **Với hệ dung môi cloroform - methanol - nước (6,5- 3,5- 1)**

TT	Hệ dung môi	Hiện màu với các thuốc thử		
	Rf	UV365	UV 254	Acid phosphomolypdic/ $MeOH/H_2SO_4$
1	0,00	Nâu nhạt	Nâu nhạt	Xanh nhạt
2	0,27	Phát quang xanh nhạt	Nâu nhạt	Xanh nhạt
3	0,41	Phát quang xanh nhạt	Nâu nhạt	Xanh nhạt
4	0,67	Xanh phát quang	Nâu nhạt	Xanh sẫm
5	0,75	Xanh phát quang	Nâu nhạt	Xanh nhạt
6	0,88	Nâu tối	Không màu	Xanh đậm

3.2. Kết quả định lượng

Bảng 5. **Kết quả định lượng flavonoid toàn phần của quả nhàu**

Mẫu số	Khối lượng mẫu định lượng (g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng flavonoid toàn phần (g)	Hàm lượng flavonoid tính ra %
1	25,00	10,41	0,40	1,80
2	25,00	10,41	0,48	2,13
3	25,00	10,41	0,41	1,80
TB	**25,00**	**10,41**	**0,43**	**1,91**

Bảng 6. **Kết quả định lượng saponin của quả nhàu**

Mẫu số	Khối lượng mẫu định lượng (g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng saponin toàn phần (g)	Hàm lượng saponin (%)
1	25,00	10,02	0,66	2,75
2	25,00	10,02	0,76	3,17
3	25,00	10,02	0,70	2,95
TB	**25,00**	**10,02**	**0,71**	**2,96**

3.3. Kết quả thử tác dụng hạ đường huyết

3.3.1. Kết quả hạ đường huyết của cao chiết nước

Bảng 7. **Kết quả thí nghiệm**

Lô thử nghiệm	Liều thử thuốc quy ra dược liệu	Số chuột thử nghiệm	Tỷ lệ % tăng đường huyết sau khi tiêm alloxan 8 ngày	Mức % giảm đường huyết của lô thử thuốc so với lô đối chứng	P
Lô đối chứng	Lượng nước cất tương ứng	14	201,39±17,30	34,60	0,02
Lô thử thuốc	10 g dược liệu/kg	13	131,71±25,36		

Nhận xét: Tác dụng hạ đường huyết của cao chiết nước ở lô thử thuốc so với lô đối chứng là tốt (giảm 34,60%).

3.3.2. Thử tác dụng hạ đờng huyết của cao chiết cồn 80°

Bảng 8. **Kết quả thí nghiệm**

Lộ thử nghiệm	Liều thử thuốc quy ra dược liệu	Số chuột thử nghiệm	Tỷ lệ % tăng đường huyết sau khi tiêm alloxan 8 ngày	Mức % giảm đường huyết của lô thử thuốc so với lô đối chứng	P
Lô đối chứng	Lượng nước cất tương ứng	14	115,11 ± 14,29	28,62	<0,1
Lô thử thuốc	10 g dược liệu/kg	15	82,16 ± 14,66		

Nhận xét: Tác dụng hạ đường huyết của cao cồn 80^0 ở lô đối chứng so với lô thử thuốc còn chưa nhiều, giá trị P chưa đạt (ở mức < 0,1).

IV. KẾT LUẬN

4.1. Trong quả nhàu có một số nhóm chất chính: flavonoid, alcaloid, saponin, anthranoid, sterol, chất béo, tanin. Trong đó, hàm lượng flavonoid toàn phần 1,91%, hàm lượng saponin toàn phần 2,96%.

Trên sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi toluen - EtoAc - aceton - acid formic (7/2/2/1) flavonoid toàn phần có 7 vết; với hệ dung môi toluen- EtOAc -acid formic (5/4/1) có 4 vết.

Saponin toàn phần trên sắc ký lớp mỏng có 6 vết với hệ dung môi cloroform - methanol - nước (6,5/3,5/1).

4. 2. Thử nghiệm mô hình gây đái tháo đường bằng alloxan trên chuột nhắt trắng:

* Cao chiết bằng cồn 80^0 của quả nhàu có tác dụng hạ đường huyết yếu, mức giảm đường huyết của lô thử thuốc so với lô chứng là 28,62%, chưa có ý nghĩa thống kê (P = 0,1).

* Cao chiết bằng nước của quả nhàu có tác dụng hạ đường huyết tốt, mức giảm đường huyết của lô thử thuốc so với lô chứng là 34,60%, có ý nghĩa thống kê (P = 0,02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Bàn,(1996), Phân tích sàng lọc hóa thực vật.
2. Bộ môn Dược liệu Trường đại học Dược Hà Nội,(1998), Bài giảng Dược liệu Tập I, Tập II.
3. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu,(1985), Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc NXB Y học HN
4. Vũ Đình Vinh, Đặng Hanh Phức, Đỗ Đình Hồ, Kỹ thuật Y sinh hóa Trường đại học Quân y NXB. Quân đội Nhân dân Trang 222- 407.
5. Allen WH, London C, (1873) Some information on the ethnobotanical properties of Noni (*Morinda citrifolia*) In: The useful plants of india;
6. Hirazumi A, Furusawa E., (1999), An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitomour activity. Phytother Res; 13:380-7
7. Hokama Y.,(1993), The effect ofNoni fruit extract (*Morinda citrifolia, Indian mulberry*) on thymocytes of BALB/c mouse. FASEB J; 7:A866
8. Liu G, Bode A, Ma WY, Sang S, Ho CT, Dong Z,.Two glycosides from the fruits of *Mroinda citrifolia* (noni) inhibit AP-1 transactivation and cell transformation in the mouse epidermal JB6 cell line.
9. Morton JF., (1992), The oceangoing Noni, or Indian mulberry (*Morinda citrifolia, Rubiaceae*) and some of its colorfull relatives . E conomic Botany; 46:241-56.
10. Saludes JP, Garson MJ, Fronzblau SG. Aguinaldo AM.,(2002), Antitubercular constiturents from the hexame fraction of *Morinda citrifolia* Limn. (*Rubiaceae*). Phytother Ré. Nov; 16(7): 683

NGHIÊN CỨU MỘT LOÀI Ô ĐẦU TRỒNG Ở SA PA (LÀO CAI)

Bùi Hồng Cường[1], Phùng Hòa Bình[2], Lê Đình Bích[2], Vũ Chí Nguyễn[3] và cs

(1) Công ty Cổ phần Traphaco; (2) Trường đại học Dược Hà Nội;
(3) Bệnh viện Y học cổ truyền Bộ Công An.

SUMMARY

Aconitum has been cultivated in Sa Pa many years ago. Based on the analysis of the samples and literature, determination of nomenclature showed that Aconitum in Sa Pa bears the name of Aconitum carmichaelii Debx., Ranunculaceae.

The Radix Aconiti carmichaelii lateralis in Sa Pa contains alcaloids, coumarins, sterols, oil, carotenes, organic acids, free sugars and amino acids. Determination of total alcaloids, diester alcaloids content in Radix Aconiti carmichaelii lateralis collected in Sa Pa from July to December 2003 showed that: The content of total alcaloids is about 1.15% - 1.21%; That of diester alcaloids is about 0.21% - 0.34%.

Key words: *Aconitum carmichaelii* Debx., *Radix Aconiti carmichaelii lateralis, Aconitin, Diester alcaloids.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ô đầu, phụ tử là những vị thuốc quý, được sử dụng khá phổ biến trong Y học cổ truyền phương Đông, nhất là ở Trung Quốc [2], [3], [7], [9], [10], và được lấy từ củ của một số loài thuộc chi *Aconitum* L., họ Mao lương (*Ranunculaceae*). Trên thế giới, chi này có khoảng 400 loài, phân bố chủ yếu ở các vùng ôn đới Bắc Bán Cầu [8]. Riêng ở Trung Quốc có tới 211 loài [8], trong đó 2 loài là *Aconitum carmichaelii* Debx. (xuyên ô) và *Aconitum kusnezoffii* Reichb. (thảo ô) đã được đưa vào Dược điển Trung Quốc năm 2000 [9]. Loài *Aconitum napellus* L. đã được đưa vào Dược điển Pháp X [7].

Ở Việt Nam, cây ô đầu đã được nhân dân trồng tại vùng Sa Pa, Bắc Hà (tỉnh Lào Cai), Sìn Hồ (tỉnh Lai Châu) và Quản Bạ, Đồng Văn (tỉnh Hà Giang) [7]. Cây thuốc này đã bị phá hủy nhiều. Từ năm 1990 trở lại đây, người dân ở xung quanh thị trấn Sa Pa (Lào Cai) đã khôi phục và phát triển trồng trở lại.

Tuy nhiên, theo một số tài liệu hiện có, tên khoa học cây ô đầu ở Việt Nam đã được ghi nhận là *A. fortunei* Hemsl. [3], [5], [6], [7] và *A. carmichaelii* Debx. [5], [6]. Vì thế, vấn đề xác định chính xác tên khoa học cây ô đầu đang được trồng phổ biến ở Sa Pa hiện nay cũng như nghiên cứu về thành phần hoá học, hàm lượng alcaloid của vị thuốc phụ tử là một việc làm cần thiết, làm tiền đề cho các bước nghiên cứu tiếp theo về chế biến và tác dụng sinh học.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và nguyên liệu nghiên cứu

- Cây ô đầu hiện đang được trồng khá phổ biến ở vùng Sa Pa, tỉnh Lào Cai.

- Rễ củ nhánh của cây ô đầu (phụ tử) được thu hái tại các thời kỳ phát triển khác nhau như cây chưa ra hoa (14-7-2003), cây bắt đầu ra nụ (18-8-2003), cây đang nở hoa rộ (17-9-2003), cây ra quả (18-10-2003), cây lụi (6-12-2003).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu đặc điểm hình thái thực vật và xác định tên khoa học

- Thu thập mẫu thực vật của cây trồng ở thị trấn Sa Pa (Lào Cai), vào 2 thời kỳ đang có hoa và quả và xử lý mẫu theo phương pháp làm mẫu thực vật.

- Phân tích các đặc điểm, xác định tên khoa học của cây và mô tả chi tiết hình thái loài ở Khoa Tài nguyên dược liệu (Viện Dược liệu) và Bộ môn Thực vật Dược (Trường đại học Dược Hà Nội). Xác định tên khoa học loài theo phương pháp so sánh hình thái, có sử dụng khóa phân loại đến loài của chi *Aconitum* L. [8].

2.2.2. Nghiên cứu về hóa học

- Định tính:

+ Định tính các nhóm chức hóa học bằng các thuốc thử chung và các phản ứng đặc trưng tại Khoa Hoá thực vật -Viện Dược liệu .

+ Phân tích alkaloid bằng phương pháp quang phổ tử ngoại theo Dược điển Trung Quốc (DĐTQ)2000 [9] trên máy UV-vis Spectrophotometer U-2010 (Hitachi) tại phòng Kiểm tra chất lượng thuộc Công ty Cổ phần Traphaco.

- Định lượng alcaloid toàn phần bằng phương pháp acid-base theo DĐTQ 2000 [9] tại Khoa Hoá thực vật -Viện Dược liệu.

- Định lượng diester alcaloid bằng phương pháp đo độ hấp thụ áp dụng DĐTQ 2000 [9] trên máy UV-vis Spectrophotometer U- 2010 Hitachi, tại Phòng Kiểm tra chất lượng thuộc Công ty Cổ phần Traphaco.

- Xử lý số liệu theo phương pháp thống kê.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Nghiên cứu đặc điểm hình thái thực vật và xác định tên khoa học

3.1.1. Các mẫu đã được nghiên cứu

Để xác định được tên khoa học cây ô đầu đang được trồng ở Việt Nam, chúng tôi đã tiến hành 2 đợt thu thập mẫu cây trồng ở Sa Pa vào tháng 9/2003 và 10/2003. Tổng số mẫu thu được là 40, có đầy đủ hoa quả, đang được lưu trữ tại Bảo tàng mẫu của Viện Dược liệu và Bộ môn Thực vật Dược (Trường đại học Dược Hà Nội).

Ngoài ra, chúng tôi cũng nghiên cứu, so sánh với 3 mẫu cây ô đầu được thu thập trước đây của Bảo tàng mẫu Viện Dược liệu, nâng tổng số mẫu đã nghiên cứu lên 43 mẫu.

3.1.2. Xác định tên khoa học

Với một số đặc điểm điển hình về dạng sống là cây thân cỏ sống lâu năm, có rễ cái. Lá đơn mọc so le trên thân cây, chia hình chân vịt. Cụm hoa mọc thành chùm. Cuống nhỏ có 2 lá bắc con. Hoa lưỡng tính, đối xứng hai bên. Đài hình cánh hoa, màu tía xanh; lá đài dưới 2, hình thuôn hẹp; Lá đài bên 2, gần hình tròn; lá đài trên cong hình mũ. Cánh hoa 2, có môi và móng. Nhị nhiều, bao phấn hình cầu đến ellip. Lá noãn 5 (ít khi 6-10); vòi nhuỵ ngắn, bền. Chúng tôi khẳng định các mẫu ô đầu thu được ở Sa Pa thuộc chi *Aconitum* L. [8].

Sau khi nghiên cứu chi tiết các mẫu thu thập được ở Sa Pa, chúng tôi cũng nhận thấy nổi bật lên một số đặc điểm: Thân cao 0,6-1,5m hoặc hơn, ngọn có lông tơ hướng ra phía sau. Phiến lá chia 3 thuỳ, có lông thưa ở mặt trên và ở gân lá mặt dưới. Cuống hoa và cuống cụm hoa có lông tơ dày, hướng ra phía sau; có hai lá bắc nhỏ hình mác. Lá đài có lông tơ, lá đài trên hình mũ cao, mép dưới hơi

lõm. Cánh hoa không lông. Nhị không lông, chỉ nhị rộng, có cánh ở nửa dưới; Lá noãn có lông thưa. Quả đại. Hạt có cánh. Mùa hoa quả tháng 8-10. Theo khóa phân loại các loài của chi *Aconitum* L. của Trung Quốc [8], những đặc điểm trên chắc chắn thuộc về loài *Aconitum carmichaelii* Debx., ở Trung Quốc loài này còn được chia thành 5 thứ (var.):

A. carmichaelii Debx. var. *carmichaelii* (loài gốc);

A. carmichaelii Debx. var. *hwangshanicum*(W. T. Wang & P. K. Hsiao) W. T. Wang & P. K. Hsiao;

A. carmichaelii Debx. var. *truppelianum* (Ulbrich) W. T. Wang & P. K. Hsiao. (=*A. fortunei* Hemsley);

A. carmichaelii Debx. var. *pubescens* W. T. Wang & P. K. Hsiao;

A. carmichaelii Debx. var. *tripartitum* W. T. Wang.

Song, căn cứ vào những đặc điểm của các mẫu đã thu thập được, chúng tôi thấy cây ô đầu trồng ở Sa Pa hiện nay thuộc loài gốc *A. carmichaelii* Debx. và có thể là *A. carmichaelii* Debx. var. *carmichaelii* để tương ứng về mặt phân loại các taxon dưới loài.

Trong một số tài liệu đã được công bố trước đây [3], [5], [6], [7], các tác giả đều ghi tên khoa học cây ô đầu trồng ở miền Bắc Việt Nam là *A. fortunei* Hemsl. Theo Thực vật chí Trung Quốc, loài này có đồng danh là *A. carmichaelii* Debx. var. *truppelianum* (Ulbrich) W. T. Wang & P. K. Hsiao. với một số đặc điểm phân biệt như cuống hoa và cuống cụm hoa có lông tơ lan tỏa. Trong khi đó, các mẫu thu thập được đều có đặc điểm là cuống hoa và cuống cụm hoa có lông tơ dày, hướng ra phía sau. Khi nghiên cứu các tiêu bản cây ô đầu số 60 thu ngày 15/10/1961, số 361A thu ngày 5/10/1963 ở Sa Pa và số 361B thu ngày 28/8/1969 ở Sa Pả - Lào Cai đang lưu ở Viện Dược liệu, chúng tôi thấy không có sự sai khác với các mẫu cây ô đầu thu được năm 2003. Từ đó, chúng tôi cho rằng cây ô đầu trồng ở Sa Pa hiện nay và trước kia vẫn thuộc một loài là *Aconitum carmichaelii* Debx. hoặc *Aconitum carmichaelii* Debx. var. *carmichaelii.*

3.1.3 Mô tả

Tên Việt Nam thường gọi: ***Ô đầu, ấu tàu, gấu tàu.***

Tên khoa học: *Aconitum carmichaelii* Debx., 1879, (Hoặc *A. carmichaelii* Debx. var. *carmichaelii*), họ Mao lương (Ranunculaceae).

Cây thân cỏ, sống nhiều năm, cao 0,6-1,5m hoặc hơn, phần thân trên mặt đất lụi hàng năm. Rễ củ gồm một củ mẹ (củ cái, ô đầu) ở giữa và các củ con (phụ tử) mọc xung quanh, hình con quay hoặc nón thuôn, đường kính 1-4cm, dài 3-9cm. Thân khí sinh mọc thẳng, ít phân cành, phần thân non và ngọn có lông đơn bào cong. Lá đơn, mọc so le; lá ở gốc của cây non có cuống dài 4-10cm, phiến có dạng gần hình tim tròn hoặc dạng chân vịt xẻ 3 thùy sâu, mép khía răng cưa to, các lá ở gốc sớm rụng. Lá của cây trưởng thành có cuống dài 1-3,5cm; phiến lá dạng chân vịt dài 6-15cm, rộng 9-19cm, gồm 3 thùy sâu, hai thùy bên xẻ tiếp tạo thành 5 thùy không đều nhau, mép khía răng cưa to; gân lá 5, hình chân vịt; cuống lá, mặt trên của phiến lá và gân lá ở mặt dưới đều có lông tơ.

Cụm hoa dạng chùm đơn, mọc ở ngọn thân và kẽ lá, dài 10-30cm gồm nhiều hoa màu tía xanh hoặc lam tím. Cuống hoa dài 2-6cm, cuống hoa và cuống cụm hoa có lông tơ dày và cong ngược lại; các lá bắc ở phần dưới cụm hoa chia 3 thuỳ, các lá bắc khác hình mác; có 2 lá bắc con hình mác nhỏ, dài 4-8mm, rộng 1-2,5mm, hai mặt có lông tơ. Hoa không đều, lưỡng tính; 5 lá đài hình cánh hoa, mặt ngoài có lông tơ ngắn, mịn; lá đài trên khum hình mũ cao, hơi dẹt, trùm lên 2 lá đài bên và 2 cánh hoa, cao 2-3cm, đáy rộng 1,8-2,5cm, mép đáy hơi lõm, mặt trong nhẵn; hai lá đài bên hình trứng đến gần tròn, dài 1,7-2,2cm, rộng 1,8-2,6cm, mặt trong có lông tơ dài; hai lá đài dưới hình thuôn, dài 1,3-2cm, rộng không đều nhau: một lá đài rộng 0,5-1,1cm, mặt trong gần như nhẵn, lá đài kia rộng hơn 0,8-1,3cm, mặt trong có lông tơ dài. Tràng hoa gồm 2 cánh hoa tiêu giảm, nhẵn, dài 1,8-2,1cm, nằm trong lá đài trên, phía dưới hẹp và nạc, hai bên cuộn vào thành hình trụ đường kính 1-1,5mm, đoạn hình trụ dài 1,3-1,6cm; phần trên phía sau có móng dài, hẹp vuông góc với phiến uốn cong và cuộn vào, phía trước có môi. Nhị nhiều (40-46), không lông, dài 9-12 mm, chỉ nhị rộng có cánh ở nửa dưới, phần có cánh dài 5-8mm, rộng 1,4-2,4mm; bao phấn 2 ô, đính gốc, gần hình cầu đến ellip, đường kính khoảng 1-1,4mm, nứt dọc. Lá noãn 5 (ít khi 6-10), rời, bầu trên, dài 5-12 mm, có lông nhỏ rải rác, đính noãn bên, mỗi lá noãn có nhiều noãn (18-22). Vòi nhuỵ tồn tại, ngắn hơn bầu nhụy.

Quả gồm 5 đại (ít khi 6-10), hình ellip, dài 1,5-2,5cm, đường kính 0,5cm, có mỏ ngắn (dấu tích của vòi nhụy tồn tại), đài không tồn tại. Trong mỗi đại chứa 10-20 hạt dẹt, dài 4-5mm, rộng 2-3mm, có cánh mỏng.

Mùa hoa, quả: Tháng 9 -10 (11).

3.2. Nghiên cứu thành phần hoá học, hàm lượng alcaloid toàn phần, diester alcaloid của phụ tử

3.2.1. Nghiên cứu định tính

3.2.1.1. Định tính xác định các nhóm chất bằng phản ứng hoá học

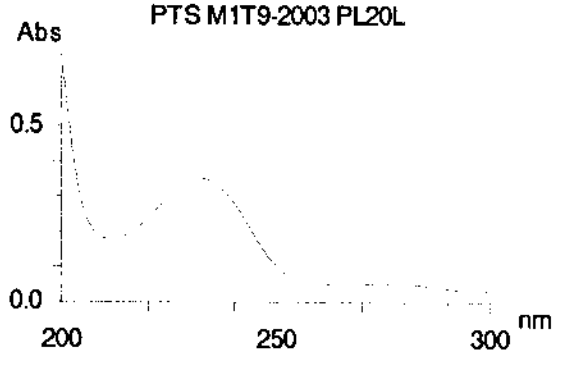
Kết quả định tính xác định các nhóm chất bằng phản ứng hoá học cho thấy trong phụ tử Sa Pa ngoài alcaloid còn có chất béo, carotenoid, sterol, coumarin, acid hữu cơ, đường khử, acid amin.

Các công trình nghiên cứu về phụ tử chủ yếu tập trung vào alcaloid, tuy nhiên các nhóm coumarin, sterol có thể có hoạt tính sinh học cũng cần được nghiên cứu.

3.2.1.2. Phân tích alcaloid bằng quang phổ tử ngoại

Lấy 2,5g bột thô phụ tử sống, thêm 10ml ether và 0,5ml amoniac, lắc trong 10 phút, lọc. Dịch lọc cho vào bình gạn thêm 20 ml dung dịch H_2S0_4 0,25mol/lit, lắc mạnh, để tách lớp, gạn lấy dịch acid, pha loãng đến nồng độ thích hợp, quét phổ hấp thụ tử ngoại từ 200 – 300nm.

Kết quả: Alcaloid của phụ tử sống có độ hấp thụ tối đa ở bước sóng 231nm (Hình 2).Điều đó phù hợp với các tài liệu Trung Quốc về phân tích alcaloid của loài *Aconitum carmichaeli* Debx. [9], [10] và cho thấy loài ô đầu nghiên cứu có tên khoa học như trên [1] là phù hợp. Do đó, có thể sử dụng phương pháp quang phổ tử ngoại để định tính phụ tử sống.



Hình 2. Phổ UV alcaloid trong phụ tử sống

3.2.2. Định lượng alcaloid toàn phần

- Cân chính xác khoảng 10g bột dược liệu đã xác định độ ẩm cho vào bình nón có nút mài dung tích 150ml. Thêm 50ml hỗn hợp ether - cloroform (tỷ lệ 3:1) và 4ml dung dịch thử amoniac. Đậy nắp, lắc kỹ, để qua đêm, lọc. Cho 50ml hỗn hợp ether - cloroform (3:1) vào bã, lắc liên tục trong 1 giờ, lọc. Rửa bã 3 lần bằng hỗn hợp ether - cloroform (3:1), mỗi lần 15ml, lọc. Gộp dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi cách thuỷ đến khô ở nhiệt độ thấp, được cắn. Hoà tan cắn bằng 5ml hỗn hợp ether - cloroform (3:1), bốc hơi cách thuỷ ở nhiệt độ thấp tới khô, được cắn. Hoà tan cắn bằng 5ml ethanol. Thêm 15ml H_2SO_4 0,02N và 15ml nước cất, 3 giọt chỉ thị đỏ methyl. Chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,02N đến khi xuất hiện màu vàng.

Mỗi 1ml dung dịch H_2SO_4 0,02N tương đương với 12,9 mg aconitin.

Hàm lượng alcaloid toàn phần trong chế phẩm phụ tử được tính theo công thức

$$X(\%) = \frac{(K_{H2SO4} \times 15 - V_{NaOH} \times K_{NaOH}) \times 12,9}{P(1-a) \times 10}$$

trong đó: X là hàm lượng acaloid toàn phần (%);

P là khối lượng dược liệu (gam);

a là độ ẩm của dược liệu (%);

K là hệ số pha loãng;

V NaOH là thể tích NaOH tham gia phản ứng (ml).

Kết quả định lượng alcaloid toàn phần trong phụ tử sống thu hoạch vào các thời điểm khác nhau năm 2003 thể hiện trên bảng 1.

***Bảng 1.* Hàm lượng (%) alcaloid toàn phần trong các mẫu phụ tử**

TT	Thời điểm thu hoạch (Tháng)	Số mẫu (n)	Hàm lượng alcaloid toàn phần (%)	P
1	7	6	1,15 ± 0,06	> 0,2
2	8	6	1,21 ± 0,02	
3	9	6	1,16 ± 0,06	
4	10	6	1,21 ± 0,05	
5	12	6	1,17 ± 0,09	

Kết quả bảng 1 cho thấy hàm lượng alcaloid toàn phần trong phụ tử sống qua các thời kỳ trước khi cây ra hoa (tháng 7), khi cây bắt đầu ra nụ (tháng

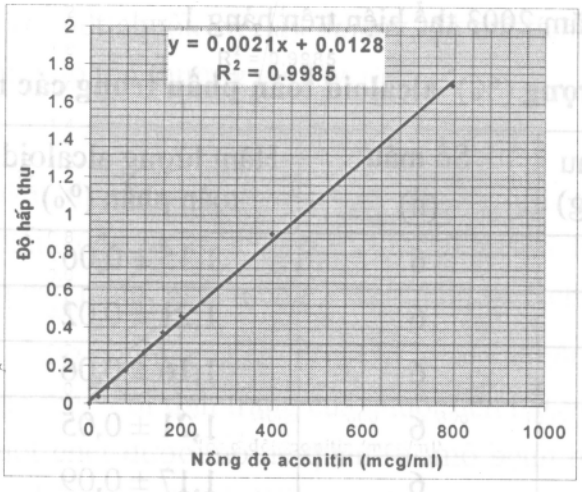
8), khi cây nở hoa rộ (tháng 9), khi cây ra quả (tháng 10) và khi cây lụi (tháng 12) trong khoảng 1,15 - 1,21%, chênh lệch nhau không nhiều (P>0,2). Như vậy, cần chú ý đến thời kỳ thu hái phụ tử để có năng suất cao. Kết quả này cũng phù hợp với công bố về hàm lượng alcaloid toàn phần trong phụ tử sống Trung Quốc ở loài *Aconitum carmichaeli* Debx. (0,82-1,56%) [10].

3.3. Định lượng diester alcaloid

Áp dụng phương pháp định lượng diester alcaloid của DĐTQ 2000, cải tiến để xây dựng đường chuẩn và tiến hành định lượng diester alcaloid của các mẫu nghiên cứu.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 20mg aconitin vào bình định mức 10ml, thêm ethanol khan để hoà tan và bổ sung vừa đủ đến vạch.

Lập đường cong chuẩn: Cho chính xác 0ml; 0,25ml; 0,50ml; 1,0ml; 1,5ml; 2,0ml; 2,5ml dung dịch chuẩn vào từng bình định mức có nút mài 25ml, thêm ethanol khan thành 2,5ml (thêm chính xác vào từng bình định mức). Pha thêm 2 dung dịch aconitin trong ethanol khan (2,5ml) có nồng độ gấp 2 và 4 lần nồng độ dung dịch chuẩn trên cho vào 2 bình định mức 25ml. Thêm chính xác 1,5ml dung dịch thử hydroxylamin hydroclorid kiềm vào từng bình định mức, lắc đều, bảo ôn 10 phút trong nước ở nhiệt độ 60 - 65^{0}C, để nguội, thêm 13ml dung dịch thử sắt perclorat, lắc đều, để yên 5 phút, cho thêm chính xác 8ml dung dịch thử acid percloric, hoà loãng đến vạch bằng dung dịch thử sắt perclorat, lắc đều, để yên 15 phút, thực hiện phương pháp đo phổ hấp thụ tử ngoại, đo ở bước sóng 520nm, lập đường cong chuẩn với tung độ là độ hấp thụ và hoành độ là nồng độ của dung dịch. (Hình 3).



Hình 3. Đường cong chuẩn định lượng diester alcaloid tính theo aconitin

Định lượng diester alcaloid trong các mẫu phụ tử sống.

Cân chính xác khoảng 5g bột thô phụ tử sống, cho vào bình nón có nút mài, thêm 50ml ether và 4ml amoniac, đậy kín, lắc, để qua đêm, lọc, bã cho 50ml ether, lắc liên tục trong 1 giờ, rửa bã 3 lần bằng ether, mỗi lần 15ml, lọc, dịch lọc và dịch rửa gộp lại, đun cho bay hơi ở nhiệt độ thấp đến khô thu được cắn, cắn hoà tan bằng 2ml cloroform, rửa bình đựng cắn bằng 3ml cloroform, gộp dịch cloroform cho vào bình gạn, dùng H_2SO_4 0,1N chiết 3 lần, mỗi lần 5ml, gộp dịch acid rửa bằng 10ml cloroform, dùng dung dịch amoniac điều chỉnh trị số pH đến 9, dùng cloroform chiết 3 lần mỗi lần 10ml, gộp dịch cloroform, rửa bằng 20ml nước cất, để tách lớp, thu lớp dịch cloroform để bay hơi ở nhiệt độ thấp đến khô được cắn, cắn dùng lượng ethanol khan để hoà tan và rửa cốc đựng chuyển vào bình định mức 5ml bổ sung ethanol khan đến vạch, lắc kỹ. Lấy chính xác 2,5ml dung dịch trên cho vào bình định mức 25ml và 2,5ml dung dịch ethanol khan vào bình định mức khác để làm mẫu trắng. tiếp tục thực hiện như phần lập đường cong chuẩn.

Dựa vào đường cong chuẩn xác định được nồng độ diester alcaloid tính theo aconitin (mcg/ml), từ đó tính được hàm lượng diester alcaloid trong các mẫu nghiên cứu theo aconitin.

Kết quả định lượng diester alcaloid trong phụ tử sống thu hoạch vào các thời điểm khác nhau năm 2003 thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. **Hàm lượng (%) diester alcaloid các mẫu phụ tử**

TT	Thời điểm thu hoạch (Tháng)	Số mẫu (n)	Hàm lượng diester alcaloid (%)	P	P (từng cặp tháng)			
					Tháng	P	Tháng	P
1	7	6	0,21 ± 0,02	< 0,001	7- 8	< 0,001	8- 10	< 0,005
2	8	6	0,28 ± 0,005		7- 9	< 0,005	8- 12	> 0,5
3	9	6	0,27 ± 0,03		7- 10	< 0,001	9- 10	< 0,01
4	10	6	0,34 ± 0,04		7- 12	< 0,02	9- 12	> 0,5
5	12	6	0,28 ± 0,05		8- 9	> 0,2	10- 12	< 0,05

Bảng 2 cho thấy, hàm lượng diester alcaloid trong phụ tử sống Sa Pa dao động khá lớn, khác nhau có ý nghĩa thống kê (P< 0,001) thấp nhất vào tháng 7 (0,21%), cao nhất vào tháng 10 (0,34%), đều cao hơn trong phụ tử Trung Quốc (0,07-0,17%) [10]. Sự khác nhau này có thể do vùng trồng khác nhau. Diester alcaloid là nhóm có độc tính mạnh, trong quá trình chế biến bị thủy phân thành

các sản phẩm có độc tính thấp hơn. Hàm lượng diester alcaloid khá lớn có thể là nguyên nhân dẫn đến độc tính cao của phụ tử sống. Do đó cần đặc biệt lưu ý định lượng diester alcaloid trong phụ tử chế Sa Pa và quy định giới hạn diester alcaloid trong phụ tử chế.

IV. KẾT LUẬN

4.1. Về thực vật

Qua nghiên cứu đặc điểm hình thái thực vật cây ô đầu Sa Pa, đối chiếu với khóa phân loại thực vật năm 2001 của Trung Quốc [8], chúng tôi xác định cây ô đầu hiện đang được trồng ở Sa Pa có tên khoa học là ***Aconitum carmichaelii*** **Debx.** hoặc ***Aconitum carmichaelii*** **Debx. var.** ***carmichaelii***, họ Mao lương (*Ranunculaceae*).

Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu này cũng khẳng định các mẫu cây ô đầu đã thu được ở huyện Sa Pa trước kia, hiện đang lưu trữ tại Viện Dược liệu vẫn thuộc loài trên chứ không phải là loài *A. fortunei* Hemsl.

4.2. Về hoá học

Bằng các phản ứng định tính đã sơ bộ xác định trong phụ tử Sa Pa ngoài alcaloid còn có chất béo, carotenoid, sterol, coumarin, acid hữu cơ, đường khử, acid amin.

Alcaloid trong phụ tử sống Sa Pa có hấp thụ cực đại ở bước sóng $\lambda = 231$nm.

Hàm lượng alcaloid toàn phần trong phụ tử sống Sa Pa dao động không nhiều: Từ 1,15% (Tháng 7) đến 1,21% (Tháng 8, 10), tương đương phụ tử sống Trung Quốc.

Hàm lượng diester alcaloid trong phụ tử sống ở Sa Pa dao động khá lớn: Từ 0,21% (Tháng 7) đến 0,34% (Tháng 10), cao hơn trong phụ tử sống Trung Quốc.

Cần xác định thời điểm thu hoạch cho năng suất cao, xây dựng tiêu chuẩn phụ tử sống, phụ tử chế và quy định hàm lượng alcaloid toàn phần, diester alcaloid.

Lời cảm ơn: *Chúng tôi xin chân thành cảm ơn GS. Vũ Văn Chuyên (Trường đại học Dược Hà Nội), TS. Nguyễn Văn Tập, CN. Ngô Văn Trại, TS. Phạm Văn Thanh (Viện Dược liệu), Ban Giám đốc và cán bộ Viện Dược liệu, Ban Giám đốc và cán bộ Công ty Cổ phần Traphaco đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành công trình nghiên cứu này.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phùng Hoà Bình, Nguyễn Trọng Thông, Bùi Hồng Cường,(2003), Nghiên cứu phương pháp chế biến và một số tác dụng sinh học của vị thuốc phụ tử Sapa. Tạp chí Dược học, số 2/2003, Tr. 21-4.
2. Bộ Y tế,(2002), Dược điển Việt Nam III. NXB. Y học 2002. Tr. 437-8; 440-1.
3. Võ Văn Chi,(1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB. Y học 1997. Tr. 883.
4. Phạm Hoàng Hộ,(1999), Cây cỏ Việt Nam, Quyển I. NXB. Trẻ 1999. Tr. 325.
5. Trần Đình Lý (chủ biên),(1993), 1900 loài cây có ích ở Việt Nam. Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật-Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia. Hà Nội 1993. Tr.185.
6. Nguyễn Nghĩa Thìn, Nguyễn Thị Thời,(1998), Đa dạng thực vật có mạch vùng núi cao Sa Pa – Phansipan. NXB. Đại học Quốc gia Hà Nội 1998. Tr.65
7. Viện Dược liệu,(2003). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập II. NXB Khoa học và Kỹ thuật. Tr. 490-5.
8. Flora of China ,(2001). Volume 6. Science press (Beijing) - Missouri Botanical Garden Press (St. Louis) 2001. P 149-59, 200-1.
9. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (English Edition 2000). Volume I. P.153-6.
10. 肖培根主编 李大鹏 杨世林副主编[2002]。新编中药志第一卷化学工业出版社 北京2002:536-660.

KHẢO SÁT MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP CHẾ BIẾN PHỤ TỬ CHẾ VÀ CHIẾT XUẤT CAO PHỤ TỬ SA PA

[1]Bùi Hồng Cường , Phùng Hòa Bình [2], Nguyễn Trọng Thông [3], Chu Thế Ninh [1], Vũ Chí Nguyễn [4] và cs.

(1) Công ty Cổ phần TRAPHACO – (2) Trường đại học Dược Hà Nội

(3) Trường đại học Y Hà Nội – (4) Bệnh viện Y học cổ truyền Bộ Công an.

SUMMARY

Studies on processing of Radix Aconiti carmichaelii lateralis planted in Sa Pa (Lao Cai) by traditional methods were carried out. Radix Aconiti were soaked in the sodium and magnesium chloride solutions until having only slightly pungent and numb taste or complete loss of this taste (for about 10 days) (PTMg, PTNa, PTMgNa); HPP was processed by method described in Pharmacopoeia of the People's Republic of China; CN was extracted with water; CC was extracted with ethanol 70^0. Analysis of the chemical composition showed that contents of total alcaloids, diester alcaloids and aconitine were reduced; Aconitine was not found in both Extractum Aconiti. Radix Aconiti which was processed by different procedures exhibited different cardiotonic action. The assay of acute toxicity showed that no mouse was dead in the oral dose of 360g PTNa, CN per kg body weight of mouse, LD_{50} of HPP was 105,6g per kg body weight of mouse

Key words: *Phụ tử, ô đầu, Radix Aconiti processing, Radix Aconiti carmichaelii lateralis, diester alcaloids, aconitine.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ trước đến nay có nhiều tài liệu đã nêu một số phương pháp chế biến phụ tử như chế diêm phụ, hắc phụ, bạch phụ,... Nhân dân Sa Pa đã trồng cây ô đầu và thường chế biến thành phụ tử để làm thuốc theo kinh nghiệm, do vậy không đảm bảo an toàn. Gần đây, chúng tôi đã bước đầu nghiên cứu một số phương pháp chế biến phụ tử và chiết xuất cao phụ tử từ cây ô đầu Sa Pa (*Aconitum carmichaelii* Debx.) [1], [2].

Trong công trình này, chúng tôi khảo sát một số phương pháp chế biến phụ tử chế, so sánh với phương pháp cổ truyền (chế hắc phụ phiến) và chiết xuất cao phụ tử theo hai phương pháp (chiết với nước và cồn), đồng thời khảo sát ảnh hưởng của sự chế biến đến hàm lượng alcaloid toàn phần, diester alcaloid, aconitin và tác dụng sinh học của chế phẩm, từ đó góp phần xây dựng phương pháp chế biến phụ tử và chiết xuất cao phụ tử đạt độ an toàn, hiệu quả cao hơn.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Phụ tử sống (PTS) thu hoạch theo các tháng theo thời kỳ sinh trưởng của cây ô đầu trồng tại Sa Pa (*Aconitum carmichaelii* Debx.), loại tạp, rửa sạch, sấy ở 60°C đến khô.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu chế biến và chiết xuất

- *Chế biến phụ tử chế:* PTS ngâm với các dung dịch (DD) muối theo các công thức khác nhau đến khi hết "nhân trắng đục", luộc, thái phiến, ngâm rửa đến khi còn vị tê nhẹ: Chế với DD $MgCl_2$ (PTMg); NaCl (PTNa); hỗn hợp $MgCl_2$ và NaCl (PTMgNa).

- *Chế hắc phụ phiến (HPP):* Theo phương pháp Dược điển Trung Quốc 2000.

- *Chế cao phụ tử:* Theo 2 phương pháp:

+ Chiết với nước theo phương pháp nấu cao và cô đến đậm độ nhất định. Độ ẩm không quá 20% (Cao nước – CN).

+ Chiết với cồn 70^0 theo phương pháp ngâm nhỏ giọt và cô đến đậm độ nhất định. Độ ẩm không quá 20% (Cao cồn - CC).

2.2.2. Nghiên cứu về hoá học alcaloid (alc)

- Định tính alcaloid (alc) bằng các thuốc thử (TT) chung tại Khoa Hoá thực vật - Viện Dược liệu.

- Phân tích alc bằng phương pháp (PP) quang phổ tử ngoại trên máy UV-vis Spectrophotometer U- 2010 (Hitachi) tại Công ty Cổ phần Traphaco theo Dược điển Trung Quốc (DĐTQ) 2000 [4].

- Định lượng alc toàn phần bằng PP acid-base theo DĐTQ 2000 [4] tại Khoa Hoá thực vật Viện Dược liệu.

- Định lượng diester alcaloid bằng PP đo độ hấp thụ trên máy UV-vis Spectrophotometer U- 2010 (Hitachi) tại Công ty Cổ phần Traphaco theo DĐTQ 2000 [4].

- Định lượng aconitin bằng phương pháp HPLC.

2.2.3. Nghiên cứu tác dụng sinh học tại Bộ môn Dược lý - Trường đại học Y Hà Nội

Thử tác dụng trên tim ếch cô lập theo PP Straub: Tim ếch cô lập được nuôi trong 2ml dung dịch Ringer lactat. Ghi hoạt động của tim trên trụ ám khói. Hoà tan MNC vào DD nuôi tim ở các nồng độ (C) khác nhau. Theo dõi biên độ tim, tần số tim trong 5 phút kể từ khi cho thuốc. So sánh biên độ, tần số tim trước và sau khi thử thuốc bằng test T.

Thử độc tính cấp: Chuột nhắt trắng cả 2 giống trọng lượng 18-22g được chia thành các lô, mỗi lô 10 con. Sau khi nhịn ăn 12 giờ, vẫn uống nước đầy đủ, chuột được uống thuốc thử với liều tăng dần. Theo dõi tình trạng chung của chuột trong 7 ngày và tỷ lệ chuột chết trong 72 giờ. Xác định LD_{50} theo PP Litchfield-Wilcoxon.

Xử lý số liệu theo PP thống kê. Kiểm định khác biệt giữa hai giá trị trung bình bằng test T, trợ giúp bởi phần mềm Microsoft Excel. Khoảng tin cậy của giá trị trung bình $\mu = \overline{X} \pm SD$ [3].

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Nghiên cứu chế biến

3.1.1. Chế biến phụ tử chế, hắc phụ phiến

3.1.1.1. Chế biến phụ tử chế: PTS ngâm vào dung dịch muối theo các công thức:

+ *PTMg:* PTS 400 g, $MgCl_2.6H_20$ 350 g, nước 700 g;

+ *PTNa:* PTS 400 g, NaCl 350 g, nước 700 g;

+ *PTMgNa:* PTS 400 g, $MgCl_2.6\ H_20$ 200 g, NaCl 150 g, nước 700 g.

Trong quá trình ngâm cần kiểm tra mức độ ngấm dung dịch muối vào nhân củ phụ tử, đến khi thấy hết nhân trắng đục, nếm còn vị tê nhẹ (khoảng 10 ngày). Rửa sạch, cho ngập nước nấu sôi 60 phút. Thái phiến dọc củ dày 2-3 mm, ngâm nước 12-14 giờ. Rửa bằng nước đến khi còn vị tê nhẹ (không đáng kể), để ráo, sấy 60^0C đến khô hoàn toàn được phụ tử chế (PTC). Đóng túi polyetylen, bảo quản nơi khô, mát.

3.1.1.2. Chế biến hắc phụ phiến (HPP)

Ngâm phụ tử tươi vào dung dịch $MgCl_2$ theo công thức:

Phụ tử tươi 1000 g, $MgCl_2.6H_2O$ 400 g, nước 200 g

Ngâm trong 3-5 ngày. Vớt ra đun sôi với dịch ngâm đến khi phụ tử chín mềm tới lõi. Thái dọc củ thành phiến dày 3-5mm. Ngâm với nước 12-14h, rửa 2-3 lần với nước. Để ráo, sấy nhẹ (khoảng 60°C) đến khô se. Tẩm dịch đường đỏ, dầu hạt cải. Tủ 12-14h. Hấp khoảng 20 phút. Sấy ở 60°C đến khô (độ ẩm không quá 12%).

Hiệu suất chế biến thể hiện ở bảng 1.

***Bảng1.* Hiệu suất chế biến PTC, HPP**

TT	Mẫu NC	n	Hiệu suất chế biến	p
1	PTMg	9	79,63± 5,66	>0,5
2	PTNa	9	80,50± 5,37	
3	PTMgNa	9	80,83 ± 5,00	
4	Hắc phụ phiến	5	42,8 ± 0,84	

Nhận xét

PTC có màu trắng ngà, khô cứng, giòn, còn vết vỏ củ màu nâu đen. PTMg có vị chát, tê nhẹ, PTNa có vị mặn, tê nhẹ, PTMgNa có vị mặn, chát, tê nhẹ. Hắc phụ phiến vỏ ngoài nâu đen, mặt cắt có màu vàng sẫm, nhuận bóng, đục mờ. Thể chất cứng, chắc, mùi thơm nhẹ, vị chát tê nhẹ.

Sự khác nhau về hiệu suất chế biến theo 3 công thức PTMg, PTNa, PTMgNa không có ý nghĩa thống kê.

Chế biến phụ tử theo PP cổ truyền và theo nhân dân ở Sa Pa dùng nguyên liệu là củ tươi chỉ áp dụng ở quy mô nhỏ. Chúng tôi dùng phụ tử khô sau sơ chế đáp ứng được trong sản xuất với quy mô lớn. Có nhiều cách chế biến nhưng chúng tôi tham khảo phương pháp cổ truyền (bạch phụ, hắc phụ). Ngâm phụ tử trong dung dịch NaCl và $MgCl_2$, vị tê giảm do aconitin bị hoà tan trong dịch ngâm, đồng thời bị thuỷ phân thành benzoylaconin, aconin nên độc tính giảm. Quy trình chế biến đơn giản, thuận lợi cho sản xuất quy mô lớn hơn nhằm phục vụ cho các cơ sở y học cổ truyền. NaCl là phụ liệu thông dụng, nên chủ động trong sản xuất.

3.1.2. Chế cao phụ tử

3.1.2.1. Phương pháp 1: Chiết bằng nước thu được cao nước (CN).

- Chuẩn bị nguyên liệu: Phụ tử khô, đồ đến mềm (30 phút), thái phiến dày 2-3mm, sấy 60°C đến khô.

- Quy trình chế cao đặc phụ tử chia làm hai giai đoạn:

+ Giai đoạn 1: Chiết xuất 4 lần.

- Lần 1: Nấu 1 kg phụ tử phiến với 6 lít nước. Tính từ lúc bắt đầu sôi cứ sau 15 phút kiểm tra mức độ tê một lần, sau 2 giờ sôi rút dịch chiết 1.
- Lần 2: Bổ sung 5 lít nước nấu sôi 2 giờ, lần 3,4 bổ sung 4 lít nước nấu sôi 1 giờ thu được dịch chiết 2, 3, 4.
- Gộp các dịch chiết 1, 2, 3, 4.

+ Giai đoạn 2: Cô dịch chiết đến dạng cao đặc.

- Hỗn hợp dịch chiết để lắng qua đêm, ở nơi mát. Gạn lấy dịch trong, lọc qua 1 lớp vải, cô đến dạng cao lỏng 1:1.
- Loại tạp: Thêm vào 1 lít cao lỏng (1:1) 1 lít cồn 96°, để lắng qua đêm, gạn lấy dịch trong, lọc, ép bã. Bã được chiết lại lần 2 bằng 1 lít cồn 60°, gạn lấy dịch trong. Lọc, ép bã, bã chiết lần 3 bằng 0,5 lít cồn 60° gạn lấy dịch trong, lọc, ép bã.

  Gộp dịch lọc, loại cồn, cô cách thuỷ đến thể chất cao đặc.

3.1.2.2. Phương pháp 2: Chiết với cồn thu được cao cồn (CC).

- Chuẩn bị nguyên liệu: Phụ tử khô, xay, rây qua rây 1,2mm (Bột thô).

- Quy trình:

+ Giai đoạn 1: Chiết với dung môi cồn 70° bằng phương pháp ngấm kiệt.

+ Giai đoạn 2: Tập trung dịch chiết. Cất thu hồi dung môi. Cô đến thể chất cao đặc.

Hiệu suất chế của cao nước và cao cồn được trình bày ở bảng 2.

***Bảng 2.* Hiệu suất chế cao phụ tử**

Mẫu nghiên cứu	Số mẫu (n)	Độ ẩm $\overline{H} \pm SD$	Hiệu suất chế $\overline{X} \pm SD$
Cao nước	3	15,3 ± 2,87	12,25 ± 1,64
Cao cồn	3	17,5 ± 1,08	12,6 ± 0,21

3.2. Nghiên cứu hoá học

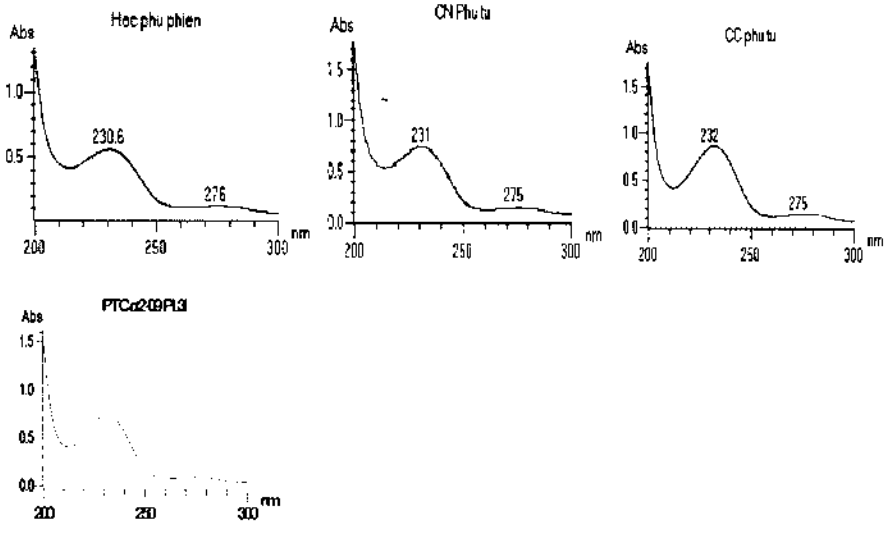
3.2.1. Định tính alcaloid

3.2.1.1. Định tính bằng các thuốc thử chung của alcaloid

Các mẫu (PTS, PTMg, PTNa, PTMgNa, HPP, cao) và các dịch ngâm (DN) đều cho phản ứng dương tính với các TT chung của alcaloid (Mayer, Bouchardat, Dragendorff).

3.2.1.2. Phân tích bằng phổ hấp thụ tử ngoại

Lấy 4g bột thô PTC, hắc phụ phiến hoặc lượng cao tương đương 4g dược liệu thêm 30ml ether và 5ml DD amoniac, lắc trong 20 phút, lọc. Dịch lọc cho vào bình gạn thêm 20 ml DD H_2S0_4 0,5N lắc mạnh, để tách lớp, gạn lấy dịch acid, pha loãng đến nồng độ thích hợp, quét phổ UV từ 300 – 200nm.



(a) **(b)** **(c)** **(d)**

Hình 1. Phổ UV alcaloid trong phụ tử chế PTNa (a), HPP (b), CN (c), CC(d).

Kết quả: Phổ UV alcaloid PTC, hắc phụ phiến, cao nước, cao cồn đều có độ hấp thụ tối đa ở bước sóng 231nm và 274nm, thể hiện ở hình 1. Kết quả này phù hợp với tiêu chuẩn của DĐTQ (PTC có hấp thụ cực đại ở 2 bước sóng 231 và 274nm) [4], có thể dùng kết quả này để định tính alc trong PTC và cao phụ tử Sa Pa.

3.2.2. Định lượng alcaloid toàn phần

Cân chính xác khoảng 10g bột PTC, HPP loại trung bình hoặc lượng cao tương đương 10g dược liệu đã xác định độ ẩm cho vào bình nón có nút mài 150ml. Thêm 50ml hỗn hợp ether - cloroform (3:1) và 4ml dung dịch thử

amoniac . Đậy nắp, lắc kỹ, để qua đêm, lọc thu dịch. Rửa bã bằng 50ml hỗn hợp ether - cloroform (3:1) lắc liên tục trong 1 giờ, lọc, thu dịch lọc, rửa lần 2,3,4 bằng hỗn hợp ether - cloroform (3:1) mỗi lần 15ml, lọc, thu dịch lọc. Gộp dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi cách thuỷ đến khô. Hoà tan cắn bằng 5ml hỗn hợp ether - cloroform (3:1), bốc hơi cách thuỷ tới khô. Hoà tan cắn bằng 5ml ethanol. Thêm 15ml H_2SO_4 0,02N và 15ml nước cất, 3 giọt chỉ thị đỏ methyl. Chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,02N đến khi xuất hiện màu vàng. Mỗi ml dung dịch H_2SO_4 0,02N tương đương 12,9 mg aconitin [4]. Kết quả thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. **Hàm lượng (%) alcaloid toàn phần của các mẫu nghiên cứu**

TT	Mẫu	n	Hàm lượng alcaloid toàn phần (%)	
			tính theo dược liệu khô	tính theo cao khô
1	PTS	12	1,19 ± 0,05	
2	PTMg	15	0,14 ± 0,04	
3	PTNa	15	0,17 ± 0,04	
4	PTMgNa	15	0,17 ± 0,03	
5	HPP	12	0,43±0,022	
6	CN	9	0,42±0,061	3,43 ± 0,58
7	CC	9	0,68±0,03	5,48 ± 0,14

Nhận xét

Hàm lượng alcaloid toàn phần trong các mẫu PTC đều thấp hơn trong PTS cho thấy trong quá trình chế biến alcaloid trong PTS đã tan vào DN (định tính các DN có phản ứng dương tính với các TT chung của alc).

Hàm lượng alcaloid toàn phần trong PTMg thấp hơn PTNa và PTMgNa và đều thấp hơn trong HPP. Cao cồn có hàm lượng alcaloid toàn phần cao hơn trong cao nước có thể khi nấu cao nước, một phần alcaloid bị phân hủy hoặc còn lại trong bã dược liệu nhiều hơn so với phương pháp ngâm nhỏ giọt bằng cồn.

3.2.3. Định lượng diester alcaloid (diester alc)

DD chuẩn: Cân chính xác khoảng 20mg aconitin vào bình định mức 10ml, thêm ethanol khan để hoà tan và bổ sung vừa đủ đến vạch.

Lập đường cong chuẩn: Cho chính xác 0ml; 0,25ml; 0,50ml; 1,0ml; 1,5ml; 2,0ml; 2,5ml DD chuẩn vào từng bình định mức có nút mài 25ml, thêm ethanol

khan thành 2,5ml (thêm chính xác vào từng bình định mức). Pha thêm 2 DD aconitin trong ethanol khan (2,5ml) có nồng độ gấp 2 và 4 lần nồng độ DD chuẩn trên cho vào 2 bình định mức 25ml. Thêm chính xác 1,5ml DD thử hydroxylamin hydrochlorid kiềm vào từng bình định mức, lắc đều, bảo ôn 10 phút trong nước ở nhiệt độ 60-65^{0}c, để nguội, thêm 13ml DD thử sắt perclorat, lắc đều, để yên 5 phút, cho thêm chính xác 8ml DD thử acid percloric, pha loãng đến vạch bằng DD thử sắt perclorat, lắc đều, để yên 15 phút, thực hiện PP đo độ hấp thụ ở bước sóng 520nm, lập đường cong chuẩn với tung độ là độ hấp thụ và hoành độ là nồng độ của DD.

Định lượng diester alc trong các mẫu PTS, PTC, HPP, cao phụ tử: Cân chính xác khoảng 5g bột thô PTS, 10g bột thô PTC, HPP, lượng cao tương đương 10g dược liệu cho vào bình nón có nút mài, thêm 50ml ether và 4ml amoniac, đậy kín, lắc, để qua đêm, lọc, cho thêm vào bã 50ml ether, lắc liên tục trong 1 giờ, rửa bã 3 lần bằng ether, mỗi lần 15ml, lọc, dịch lọc và dịch rửa gộp lại, đun cho bay hơi ở nhiệt độ thấp đến khô thu được cắn. Hoà tan cắn bằng 2ml cloroform, rửa bình đựng cắn bằng 3ml cloroform, gộp dịch cloroform cho vào bình gạn, dùng H_2SO_4 0,1N chiết 3 lần, mỗi lần 5ml, gộp DD acid rửa bằng 10ml cloroform, dùng DD amoniac điều chỉnh trị số pH đến 9, dùng cloroform chiết 3 lần mỗi lần 10ml, gộp dịch cloroform, rửa bằng 20ml nước cất, để tách lớp, thu lớp dịch cloroform để bay hơi ở nhiệt độ thấp đến khô được cắn. Hoà tan cắn bằng ethanol khan và rửa cốc đựng chuyển vào bình định mức 5ml, bổ sung ethanol khan đến vạch, lắc kỹ. Lấy chính xác 2,5ml DD trên cho vào bình định mức 25ml và 2,5ml ethanol khan vào bình định mức khác để làm mẫu trắng. Tiếp tục thực hiện như phần lập đường cong chuẩn đã nêu trên. Dựa vào đường cong chuẩn xác định được nồng độ diester alc tính theo aconitin (mcg/ml), từ đó tính được hàm lượng diester alc trong các mẫu nghiên cứu theo aconitin. Kết quả thể hiện ở bảng 4.

***Bảng 4.* Hàm lượng (%) diester alc của các mẫu nghiên cứu**

TT	Mẫu	n	Hàm lượng diester alcaloid (%)	
			Tính theo dược liệu khô	Tính theo cao khô
1	PTS	12	0,28 ± 0,03	
2	PTMg	12	0,017 ± 0,005	
3	PTNa	15	0,025 ± 0,008	
4	PTMgNa	11	0,023± 0,006	

5	HPP	12	0,05± 0,003	
6	CN	9	0,04± 0,012	0,32 ± 0,09
7	CC	9	0,12± 0,009	0,81 ± 0,02

Nhận xét

Hàm lượng diester alcaloid trong các mẫu PTC, HPP và cao phụ tử đều thấp hơn trong PTS chứng tỏ phần lớn diester alcaloid đã bị thuỷ phân trong quá trình chế biến và do đó PTC, HPP, cao phụ tử đã giảm độc nhiều.

Hàm lượng diester alcaloid trong PTMg thấp hơn PTNa và PTMgNa và đều thấp hơn trong HPP; trong CC cao hơn CN có thể độc tính của dạng CC và HPP còn cao.

3.2.4. Định lượng aconitin

Chúng tôi đã xây dựng phương pháp định lượng aconitin trong phụ tử Sa Pa bằng HPLC, phương pháp này có độ chính xác cao (RSD = 2,61%), độ đúng tốt (tỷ lệ thu hồi 93,3%), độ tuyến tính đã được khảo sát trong một khoảng nồng độ rộng (0,12-6,24mg%). Ứng dụng phương pháp đã xây dựng để định lượng aconitin trong một số mẫu nghiên cứu, kết quả thể hiện ở bảng 5.

***Bảng 5.* Hàm lượng aconitin trong các mẫu nghiên cứu**

TT	Mẫu	Thời điểm thu hoạch PTS	Số mẫu n	Hàm lượng aconitin (mg%) $\overline{X} \pm SD$
1	PTS	Tháng 7	6	5,4 ± 0,4
2		Tháng 8	6	7,0 ± 0,1
3		Tháng 9	6	12,5 ± 2,6
4		Tháng 10	6	12,5 ± 0,6
5		Tháng 11	6	11,5 ± 0,9
6	HPP		6	2,3 ± 0,36
7	PTNa		6	1,3 ± 0,05
8	CN		6	0
9	CC		6	0

Nhận xét

Hàm lượng aconitin trong PTS Sa Pa dao động nhiều qua các thời kỳ phát triển của cây, trong các mẫu PTC, hàm lượng aconitin giảm nhiều so với PTS chứng tỏ phần lớn aconitin đã bị thủy phân và ta vào dịch ngâm, trong cao phụ tử không còn aconitin chứng tỏ đã bị thuỷ phân hoàn toàn trong quá trình nấu, cô cao.

3.3. Nghiên cứu tác dụng sinh học

Mẫu nghiên cứu: PTC nấu 3 lần với nước, mỗi lần sôi 1 giờ. Gộp các dịch chiết, cô đến cao lỏng 1:1, loại tạp bằng cồn 96^0, cô cách thuỷ đến đặc, hoà tan lại bằng nước đến cao lỏng 1:1.

3.3.1. Thử tác dụng trên tim ếch cô lập

Kết quả thể hiện ở bảng 6.

***Bảng 6.* Ảnh hưởng của các mẫu nghiên cứu lên tần số và biên độ tim ếch cô lập (n=8)**

MNC	C (g/l)	Tần số (nhịp/phút)			Biên độ (mm)			
		Trước (I)	Sau (II)	P_{T-S}	Trước (I)	Sau (II)	Tăng (%)	P_{T-S}
PTMg	10	42,0±12,4	40,9±12,7	>0,1	16,7±4,1	19,6±6,0	17,4	>0,05
	20	31,3±8,7	32,6±7,6	>0,2	15,5±3,0	20,8±4,8	34,2	<0,05
	40	40,3±1,7	40,6±2,2	>0,5	14,4±2,0	20,0±2,8	38,9	<0,005
	80	39,1±5,8	38,8±5,3	>0,5	15,9±3,7	17,6±4,2	10,7	>0,1
PTNa	10	41,6±9,6	41,1±10,3	>0,5	14,5±5,8	15,9±5,9	9,7	>0,05
	20	40,9±9,3	40,3±10,0	>0,2	12,8±1,9	15,5±2,4	21,1	<0,01
	40	38,1±7,4	38,4±6,7	>0,5	16,8±4,6	24,7±9,3	47,0	<0,05
	80	39,9±11,3	41,1±10,0	>0,2	15,7±6,6	31,1±8,0	98,1	<0,001
PTMgNa	10	36,0±8,8	35,4±8,7	>0,1	14,7±5,4	15,9±4,5	8,2	> 0,05
	20	45,6±7,0	46,3±7,0	>0,1	16,5±2,0	22,4±3,9	35,7	< 0,005
	40	50,8±7,3	49,3±5,2	>0,2	9,0±1,0	14,2±1,7	57,8	<0,001
	80	36,5±6,7	36,1± 6,5	>0, 5	16,0±3,7	15,1±3,8	- 5,6	> 0,2
HPP	4	49,6±13,9	50±13,7	>0, 5	14,1±5,2	14,6±0,44	3,4	>0,2
	10	54±,8	53,9±8,4	>0, 5	13,7±4,9	15,5±5,69	13,1	< 0,005
	20	49,9±14,8	50,1±15,4	>0, 5	9,15±3,89	10,41±4,68	13,8	> 0,05
	40	55,4±14,9	55,8±14,0	>0, 5	15,8±6,8	17,5±5,8	10,8	0,2

CN	0,2	50,5±10,2	49,6±10,0	>0,1	16,5±5,8	16,6±6,3	0,6	> 0,9
	0,4	50,9±11,7	49,5±10,8	>0,2	10,8±5,1	12,5± 6,6	15,7	> 0,1
	1	47,1±12,4	48,6±11,9	>0,1	13,5±2,4	15,4±2,8	14,1	0,005
	2	42,5±6,6	45,1±6,1	0,005	17,8±5,3	19,5±5,8	9,6	<0,01
	4	45,8±13,9	49,2±14,5	<0,05	11,3±3,7	10,0±2,5	-11,5	> 0,1
CC	0,2	48,5±12,7	50,8±20,0	>0,5	10,9±2,2	10,7±3,2	-1,8	>0,5
	0,4	52±12,2	52,2±12,5	>0,5	12,9±5,6	12,6± 5,2	-2,3	>0,5
	1	42,1±9,1	41,4±9,6	>0,5	17,5±6,6	19,1±6,5	9,1	>0,05
	2	40,4±14,9	42,1±14,0	>0,1	16,5±4,4	16,3±4,1	-1,2	>0,5
	4	43±5,4	44,5±5,9	=0,1	16,8±5,2	17,6±4,5	4,5	>0,5

Ghi chú: P_{T-S}: P trước và sau khi thử thuốc

Nhận xét

Các MNC làm thay đổi tần số trên tim ếch cô lập không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) trừ CN ở nồng độ 2 và 4g/l làm tăng biên độ có ý nghĩa thống kê.

Cả 3 mẫu PTC (PTMg, PTNa, PTMgNa) đều làm tăng biên độ tim ở nồng độ 20g/l và 40g/l sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). PTNa nồng độ 80g/l làm tăng biên độ tim sau khi nhỏ thuốc đến 98,1% sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). HPP ở nồng độ 10g/l làm tăng biên độ tim có ý nghĩa thống kê, ở các nồng độ 4g/l, 20g/l, 40g/l sự khác biệt không có ý nghĩa. CN làm tăng biên độ tim ở 2 nồng độ 1g/l và 2g/l có ý nghĩa thống kê. Ở tất cả các nồng độ thử CC, biên độ và tần số tim trước và sau khi nhỏ thuốc thay đổi không có ý nghĩa thống kê.

Các MNC đều không gây loạn nhịp.

PTC là vị thuốc quý trong y học cổ truyền, được dùng với công năng quan trọng hồi dương cứu nghịch (tương đương cấp cứu truỵ tim mạch cấp trong y học hiện đại). Đã có nhiều công trình nghiên cứu cho thấy PTC có tác dụng cường tim. Theo nghiên cứu của chúng tôi, các mẫu PTC, HPP, CN đều có tác dụng cường tim, riêng CC không thể hiện tác dụng cường tim ở tất cả các liều thử. So sánh kết quả trên tim ếch cô lập của các mẫu PTC, HPP và cao phụ tử chúng tôi chọn PTNa, HPP và CN để nghiên cứu tiếp về độc tính cấp.

3.3.2. Thử độc tính cấp

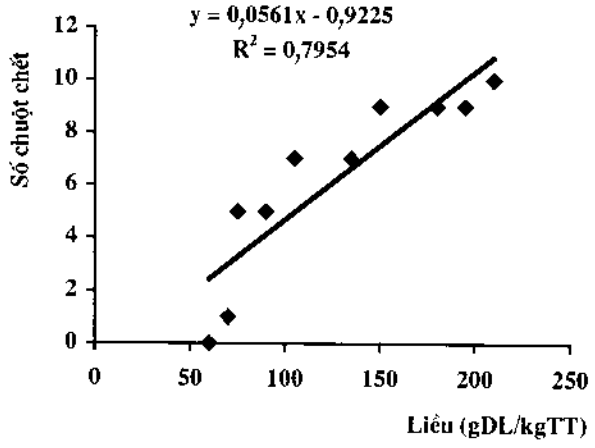
- Cho chuột uống DD chế phẩm thử độc tính cấp của PTNa, CN với các liều tăng dần tương ứng từ 200 đến 360g DL/kgtt. Theo dõi trong 72 giờ không thấy chuột nào chết ở tất cả các lô, chuột ăn uống và hoạt động bình thường trong cả tuần. Vì chuột không thể uống với thể tích cao hơn 0,6ml/10gtt, nên chúng tôi chưa xác định được LD_{50} của PTC (PTNa) và CN theo đường uống chứng tỏ thuốc không có độc tính cấp ở liều thử.

- Cho chuột uống dung dịch chế phẩm thử độc tính cấp của hắc phụ phiến với các liều tăng dần từ 45 – 210g DL/kgtt. Theo dõi trong 1 tuần và đếm số chuột chết ở từng liều. Lập bảng và vẽ đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa liều thử với số chuột chết.

Kết quả trình bày ở bảng 7 và hình 2.

***Bảng 7.* Kết quả thử độc tính cấp của hắc phụ phiến**

Thứ tự	Liều (g/kgTT)	Số chuột thử	Số chuột chết
1	60	10	0
2	70	10	1
3	75	10	5
4	90	10	5
5	105	10	7
6	135	10	7
7	150	10	9
8	180	10	9
9	195	10	9
10	210	10	10



Hình 2. Đồ thị biểu diễn sự tương quan tuyến tính giữa liều thử HPP (gDL/kgTT) với số chuột chết

Căn cứ vào phương trình hồi quy tính được LD_{50} = 105,6gDL/kgTT.

Từ những kết quả trên, chúng tôi đề nghị phương pháp chế biến phụ tử chế, cao phụ tử và dự thảo tiêu chuẩn một số điểm chính sau:

- *Công thức chế biến phụ tử chế:* Các mẫu PTC đều làm tăng biên độ tim ếch ở nồng độ 20g/l, 40g/l, mức độ tăng biên độ sau khi thử thuốc so với trước khi thử thuốc của PTNa, PTMgNa khá cao. PTNa không có độc tính cấp ở liều thử. Theo kết quả đã nghiên cứu, phụ tử Sa Pa chế với DD $MgCl_2$+NaCl không có độc tính cấp ở liều 320gDl/kgtt [1]. Từ các kết quả trên, chúng tôi xây dựng dự thảo phương pháp chế biến phụ tử ngâm với dung dịch muối gồm 2 công thức PTNa, và PTMgNa.

- *Cao phụ tử:* Cao cồn có hàm lượng alcaloid toàn phần cao nhưng hàm lượng diester alcaloid cũng cao hơn nhiều so với cao nước, cao cồn không có tác dụng cường tim ở các liều thử trong khi đó cao nước có tác dụng ở nồng độ 1 và 2g/l. Do đó chúng tôi chọn phương pháp chế cao nước để xây dựng dự thảo quy trình sản xuất cao phụ tử.

- *Xây dựng tiêu chuẩn phụ tử chế, cao phụ tử:* Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu, tham khảo tài liệu [4], [5], chúng tôi đề xuất dự thảo tiêu chuẩn phụ tử chế, cao phụ tử một số điểm chính:

Định tính: Chế phẩm có phản ứng với thuốc thử chung của alcaloid. Phổ UV có hấp thụ cực đại ở bước sóng 231nm và 274nm.

Định lượng: Hàm lượng alcaloid toàn phần của PTC không được thấp hơn 0,10%, hàm lượng diester alcaloid không được cao hơn 0,05% tính theo aconitin, hàm lượng aconitin không được cao hơn 0,01% (định lượng bằng HPLC). Đối với cao phụ tử: Hàm lượng alcaloid toàn phần không được thấp hơn 2,5%, hàm lượng diester alcaloid không được cao hơn 0,5%, cao phụ tử không được có aconitin.

IV. KẾT LUẬN

Chế biến phụ tử theo phương pháp: Ngâm phụ tử với các DD muối $MgCl_2$ và NaCl, luộc chín, thái phiến, sấy khô và theo phương pháp chế biến hắc phụ phiến (DĐTQ). Chế cao phụ tử theo phương pháp nấu cao nước và chiết xuất bằng cồn 70^0. Các mẫu nghiên cứu đều chứa alcaloid, phổ tử ngoại alcaloid của PTC, HPP, cao phụ tử đều có hấp thụ cực đại ở bước sóng 231nm và 274nm, có thể sử dụng để định tính. Hàm lượng alcaloid toàn phần của PTC 0,14 - 0,17%, của HPP là 0,43%, của CN là 3,34%, CC là 5,48%. Hàm lượng diester alcaloid của PTS là 0,017 - 0,025%, HPP là 0,05%, CN là 0,32%, CC là 0,81%. Hàm lượng aconitin của PTS là 5,4-12,5mg%, của HPP là 2,3mg%, của PTNa là 1,3%. Cao phụ tử không có aconitin. Phụ tử chế có tác dụng gây tăng biên độ tim ếch rõ rệt ở nồng độ 20 và 40g/l, HPP có tác dụng ở nồng độ 10g/l, CN ở nồng độ 1 và 2g/l, CC không có tác dụng ở các liều thử. Các mẫu nghiên cứu đều không gây loạn nhịp. PTC với NaCl và CN không có độc tính cấp ở liều thử tối đa 360 gDL/kgtt chuột, LD_{50} của HPP là 105,6gDL/kgTT. Cần tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện phương pháp chế biến và tiêu chuẩn của phụ tử chế, cao phụ tử, ứng dụng vị thuốc này vào phòng và trị bệnh.

Lời cảm ơn: *Chúng tôi xin chân thành cảm ơn GS.TS. Phạm Thanh Kỳ (Trường đại học Dược Hà Nội), TS. Nguyễn Duy Thuần, TS. Phạm Văn Thanh, PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm (Viện Dược liệu), Ban Giám đốc và cán bộ Viện Dược liệu, Ban Giám đốc và cán bộ Công ty Cổ phần Traphaco đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành công trình nghiên cứu này.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phùng Hoà Bình, Nguyễn Trọng Thông, Bùi Hồng Cường, (2003), Nghiên cứu phương pháp chế biến và một số tác dụng sinh học của vị thuốc phụ tử Sa Pa.

Tạp chí Dược học, số 2/2003, trang 21-24.

2. Phùng Hoà Bình, Nguyễn Trọng Thông, Bùi Hồng Cường, Phạm Thị Thường, Nguyễn Kim Phượng & cs., (2004), Nghiên cứu phương pháp chế biến, tác dụng trên tim thỏ cô lập và độc tính cấp của cao phụ tử Sa Pa (Lào Cai). Tạp chí Dược học, số 8/2004, trang 12-14.

3. Đỗ Trung Đàm, (2003), Sử dụng Microsoft Excel trong thống kê sinh học. NXB.Y học Hà Nội

4. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (English Edition 2000). Volum I. P.153-6.

5. 肖培根主编，李大鹏，杨世林 副主编（2002）。
新编中药志。第一卷。化学工业出版社，北京2002：536—660.

TÁC ĐỘNG CỦA CAO MỀM CHIẾT CỒN TỪ RAU ĐẮNG BIỂN TRÊN KHẢ NĂNG HỌC TẬP VÀ GHI NHỚ

(*Bacopa monnieri* (L.) Wettst, *Scrophulariaceae*)

Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Thanh Duyên, Trần Mỹ Tiên
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

Effects of ethanol extract from *Bacopa monnieri* on learning and memory of mice

Bacopa monnieri (Brahmi in Sanskrit means Creator) is what is known in Ayurvedic (ancient Indian) medicine as a 'rasayana' - a plant that helps prevent aging and degeneration. It is proving to be extremely effective as a brain

stimulant - improving memory and cognitive abilities and helping to treat nervous tension, depression and stress.

The present study investigated the effects of *Bacopa monnieri* ethanol extract on scopolamine-induced impairment of learning and memory by using Morris water maze and passive avoidance tests (step-down method). The results demonstrated that *Bacopa monnieri* ethanol extract at the doses of 50-100 mg/kg as well as *Ginkgo biloba* standardized extract (EGb 731) had the improving effects on scopolamine-induced impairment of learning and memory.

Keywords: *Bacopa monnieri*, scopolamine-induced impairment of learning and memory, Morris water maze, passive avoidance test.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong Y học cổ truyền Ấn Độ (Ayuverda), người Ấn Độ xưa đã biết dùng cây rau đắng biển (*Bacopa monnieri*) để làm thuốc bổ thần kinh, tăng cường trí nhớ, trị bệnh động kinh. Họ còn gọi rau đắng biển với một cái tên hết sức trân trọng – Brahmi (đặt theo từ Brahma: Đó là vị chúa trời của đạo Hindu). *Bacopa monnieri* (liều dùng 300 mg) sau 5-12 tuần sử dụng trên người khỏe mạnh làm tăng tốc độ nhận thức thông tin (được đánh giá bằng trắc nghiệm IT), làm tăng chỉ số học tập và củng cố trí nhớ (đánh gía bằng phương pháp AVLT), gia tăng khả năng lưu giữ lại thông tin mới và cải thiện các tình trạng lo lắng.

Nền Y học cổ truyền Việt Nam cũng có nhiều bài thuốc hay được đúc kết từ những kinh nghiệm sử dụng dân gian cộng với nguồn tài nguyên thực vật rất đa dạng và phong phú (số cây cỏ dùng làm thuốc trên 3.200 loài, thuộc gần 1.200 chi, hơn 300 họ) trong đó rau đắng biển chỉ được dùng chủ yếu như là một loại rau thực phẩm do tính mát, lợi tiểu. Những nghiên cứu trong nước về cây thuốc này chỉ mới dừng lại ở các nghiên cứu về hóa thực vật, chưa có những nghiên cứu về tác dụng sinh - dược học để phát triển ứng dụng trong phục vụ sức khỏe cộng đồng. Do đó, mục đích nghiên cứu của đề tài này là tiến hành khảo sát tác dụng của cao rau đắng biển trên một số thực nghiệm gây suy giảm trí nhớ.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu nghiên cứu

Rau đắng biển trồng ở huyện Bình Chánh, thành phố Hồ Chí Minh có tỉ lệ tươi : khô (10:1). Bột dược liệu được kiểm định theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam III và được chiết bằng cồn 45° theo phương pháp ngấm kiệt với tỉ lệ dung môi : dược liệu (10:1). Dịch chiết được cô giảm áp và cô cách thủy cho ra

dạng cao mềm theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam III được gọi là: **cao rau đắng.** Hiệu suất chiết: 58,97%. Độ ẩm của cao: 18,9%. Hàm lượng saponin toàn phần trong cao (theo phương pháp cân Namba): 22,96%.

Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng đực (chủng Swiss albino, trọng lượng trung bình 20 ± 2 g) được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh và được để ổn định ít nhất một tuần trước khi thử nghiệm. Thể tích cho uống hay tiêm là 10 ml/kg thể trọng chuột.

Thực nghiệm Morris Water Maze (mê cung nước)

Thực nghiệm: Sử dụng một bể bơi được chia làm 4 phần. Một cái phao được đặt tại một góc cố định trong bể. Chuột được cho bơi trong 7 ngày, mỗi ngày bơi 4 lần tại 4 xuất phát điểm trong bể bơi, mỗi lần tối đa 60 giây. Chuột sẽ cố gắng bơi tìm đến phao nhằm tránh né hoạt động bơi. Cao rau đắng được cho uống hàng ngày một giờ trước thực nghiệm Morris water maze. Các lô thử nghiệm gây suy giảm trí nhớ đều được tiêm phúc mạc (i.p) scopolamin liều 1 mg/kg vào ngày bơi thứ 2. Cao rau đắng được cho uống một giờ trước khi tiêm scopolamin.

Chỉ tiêu quan sát:

- Từ ngày bơi thứ 1 đến ngày thứ 6: Ghi nhận thời gian T kể từ lúc chuột được thả vào bể bơi đến khi chuột nhảy lên phao. Trung bình thời gian T của 4 lần bơi từ 4 xuất phát điểm trong bể bơi (T1, T2, T3, T4) được gọi là tiềm thời tránh né được sử dụng để đánh giá khả năng học tập - nhận thức của chuột.
- Ngày bơi thứ 7: Ghi nhận thời gian chuột bơi trong vùng có đặt phao. Trung bình thời gian của 4 lần bơi từ 4 xuất phát điểm trong bể bơi được gọi là thời gian bơi trong vùng có phao được sử dụng để đánh giá khả năng ghi nhớ của chuột.

Thực nghiệm step-down

Thiết bị:

Gồm một hộp plexiglas có kích thước 30 x 30 x 40 cm. Sàn đáy hộp là những thanh inox có đường kính 0,3 cm đặt song song với nhau (khoảng cách 1 cm), và một dòng điện 0,4 mA chạy qua các thanh này khi khởi động thiết bị. Một bục đế

cao su có Φ = 4 cm đặt ở giữa sàn thanh inox. Thiết bị được chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang có công suất 15W suốt thời gian thử nghiệm.

Tiến hành:

- Giai đoạn huấn luyện: mỗi chuột được đặt nhẹ nhàng trên đế cao su (một lần duy nhất). Khi chuột bước xuống, đặt hoàn toàn 4 chân lên sàn ta bật công tắc cho dòng điện 0,4 mA chạy qua trong 4 – 8 giây để gây sốc.
- Giai đoạn thực nghiệm: một ngày sau giai đoạn huấn luyện, đặt chuột lại trên đế cao su sau khi đã uống nước cất hoặc cao thử nghiệm trước 1 giờ hoặc sau khi tiêm scopolamin 30 phút. Khi chuột bước xuống thử nghiệm kết thúc. Ghi nhận tiềm thời bước xuống sàn thiết bị. Nếu chuột không bước xuống thì tiềm thời tối đa cho mỗi con là 300 giây.

Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình: M ± SEM (sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-Way ANOVA với độ tin cậy 95% (P < 0,05).

Kết quả nghiên cứu

Thực nghiệm mê cung nước

** Khả năng học tập - nhận thức*

- Cao rau đắng chưa thể hiện tác dụng làm tăng khả năng học tập - nhận thức trên chuột bình thường.
- Trên chuột tiêm scopolamin 1 mg/kg

- Ở lô chứng tiêm scopolamin, tiềm thời tránh né ở ngày 2 tăng 36,60% so với ngày 1, đạt ý nghĩa thống kê. Có nghĩa là scopolamin đã thể hiện tác động làm giảm khả năng nhận thức của chuột.
- Tiềm thời tránh né ở lô cao rau đắng liều 100 mg/kg giảm 47,01% ở ngày thứ 4 đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng tiêm scopolamin. Tương tự, thuốc đối chiếu tanakan cũng có tiềm thời tránh né giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng.

Nhận định: *Cao rau đắng liều 100 mg/kg đã thể hiện tác dụng cải thiện khả năng học tập - nhận thức của chuột bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin.*

** Khả năng ghi nhớ*

- Cao rau đắng liều 50 mg/kg và 100 mg/kg đều không thể hiện tác dụng tăng cường trí nhớ trên chuột bình thường.

– Trên chuột tiêm scopolamin 1 mg/kg

- Thời gian bơi trong vùng có phao ở lô chứng scopolamin giảm 30,7% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Điều này chứng tỏ chuột đã bị suy giảm trí nhớ do tác động của scopolamin.
- Thời gian bơi trong vùng có phao ở lô cao rau đắng liều 50 mg/kg (tăng 39,69%) đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng, trong khi liều 100 mg/kg thì có tăng (20,77%) nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê. Thời gian bơi trong vùng có phao ở lô tanakan cũng tăng (39,69%) đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng (bảng 1).

***Nhận định**: Cao rau đắng liều 50 mg/kg thể hiện rõ tác dụng cải thiện khả năng ghi nhớ trên chuột bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin.*

***Bảng 1.* Thời gian bơi trong vùng có phao ở các lô thử nghiệm**

Lô TN N = 8-10	Liều mg/kg	Thời gian bơi (giây)
Đối chứng sinh lý	-	10,03 ± 1,32
Đối chứng scopolamin	-	6,88 ± 0,31#
Cao rau đắng + scopolamin	50	17,22 ± 1,76*
	100	12,39 ± 0,51*
Tanakan + scopolamin	40	16,68 ± 1,35*

** : P < 0,05 so với lô đối chứng tương ứng.*

#: P < 0,05 so với lô đối chứng sinh lý.

Thực nghiệm step - down

- Lô đối chứng tiêm scopolamin liều 1 mg/kg có tiềm thời bước xuống sàn giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Điều đó chứng tỏ chuột đã bị giảm khả năng ghi nhớ do tác dụng của scopolamin.
- Trong mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin 1 mg/kg, cả hai liều cao rau đắng đều có tiềm thời bước xuống sàn tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng (liều 50 mg/kg tăng 43%, liều 100 mg/kg tăng 41,43%). tanakan liều 40 mg/kg cũng có tác dụng làm tăng khả năng ghi nhớ trên chuột đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng (tăng 50%) (bảng 2).

Nhận định: *Cao rau đắng đã thể hiện được tác dụng làm tăng khả năng ghi nhớ ở chuột.*

Bảng 2. **Tiềm thời bước xuống sàn của các lô thử nghiệm**

Lô TN N = 8-10	Liều (mg/kg)	Tiềm thời bước xuống sàn (giây)	
		Scopolamin (-)	Scopolamin (+)
Đối chứng	-	55,22 ± 17,40	4,75 ± 0,56 #
Cao rau đắng	50	145,89 ± 45,38*	8,33 ± 1,18*
	100	147,89 ± 38,34*	8,11 ± 1,25*
Tanakan	40	158,00 ± 36,44*	9,50 ± 2,03*

**: P< 0,05 so với lô chứng tương ứng*

#: P< 0,05 so với lô chứng sinh lý

II. KẾT LUẬN

Kết quả từ các thử nghiệm trên cho thấy cao rau đắng ở hai liều 50 mg/kg và 100 mg/kg đều thể hiện tác dụng lên khả năng học tập-nhận thức và ghi nhớ của chuột bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin 1 mg/kg trong cả hai thực nghiệm Morris water maze và step-down.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, (2002), Dược điển Việt Nam III – NXB. Y học Hà Nội.
2. Hsieh M.T., Peng W.H., Wu C.R., Wang W.H., (2000), – The ameliorating effects of the cognitive-enhancing Chinese herbs on scopolamine-induced amnesia in rats – Phytother. Res., 14(5), 375-7.
3. Nathan PJ, Clarke J, Lloyd J, (2001), – The acute effects of an extract of *Bacopa monnieri (Brahmi)* on cognitive function in healthy normal subjects – Hum Psychopharmacol, 16(4), 345-351.
4. Roodenrys S, Booth D, Bulzomi S, Phipps A, Micallef C, Smoker J, (2002), - Chronic effects of Brahmi (*Bacopa monnieri*) on human memory – Neuropsychopharmacology, 27(2), 279-281.
5. Rudi D'Hooge, Peter P. De Deyn, (2001), - Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory- Brain Research Reviews, 36, 60-90.

6. Sloley B.D., Pang P.K., Huang B.H., Ba F., Li F.L., Benishin C.G., (1999), – *American ginseng extract reduces scopolamine-induced amnesia in a spatial learning task* – J. Psychiatry Neurosci., 24(5), 442-452.
7. Stough C, Lloyd J, Clarke J, Downey LA, (2001), – *The chronic effects of an extract of Bacopa monnieri (Brahmi) on cognitive function in healthy human subjects* – Psychopharmacology, 156(4):481-484.
8. Viện Dược liệu, (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam* (tập II), NXB.Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 668-670.
9. Võ Văn Chi , (1999), – Từ điển cây thuốc Việt Nam – NXB. Y học, trang 22,31, 944-946.

TÁC ĐỘNG CHỐNG OXY HÓA *IN VITRO* CỦA RAU ĐẮNG BIỂN (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst, *Scrophulariaceae*)

Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Vũ Hoàng Phi, Võ Duy Huấn
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

In vitro* antioxidant activity of *Bacopa monnieri

The previous data indicated that *Bacopa monnieri* has potential to modulate the activities of cytochrome P450 and superoxide dismutase (SOD) thereby possibly allowing the brain to be prepared to act under adverse conditions such as oxidative stress. The present study was performed to investigate the *in vitro* antioxidant activity of *Bacopa monnieri* using DPPH test and thiobarbituric acid-reactive substances measurement (MDA test). The results showed that *Bacopa monnieri* ethanol extract as well as its total saponin produced free radical scavenging activity in DPPH test (free radical scavenging index reached 90% at the concentration of 100 microgram/ml for both). In MDA test, the antioxidant

activity of *Bacopa monnieri* saponin was two times stronger than the respective extract at the concentration of 100 microgram/ml.

Keywords: *Bacopa monnieri*, DPPH, malonyldialdehyde, antioxidant activity.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những nghiên cứu trên thế giới cho thấy dịch chiết methanol của rau đắng biển (*Bacopa monnier)* có tác dụng làm giảm sự độc tế bào gây bởi hydrogen peroxyd và làm giảm sự tổn thương DNA trong nguyên bào sợi của người. Với liều 20 và 40 mg/kg dùng liên tục trong 7 ngày, bacopasid làm gia tăng hoạt tính của superoxyd dismutase (SOD) và cytocrom P450 trong não chuột [4]. Ở Việt Nam, rau đắng biển (còn gọi là sam trắng) mọc hoang ở ven bờ ruộng, bãi cỏ, đất cát đồng bằng, được thu hái quanh năm và thường được dùng ăn như rau sống hoặc nấu chín có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, lợi tiểu, tiêu thũng, nhuận tràng, khai vị kích thích, chống co thắt, thông hơi, trợ thần kinh và trợ tim [7,8]. Chưa có những nghiên cứu trong nước sử dụng nguồn nguyên liệu dễ trồng và rẻ tiền này trong định hướng các chế phẩm hoặc thực phẩm chức năng có tác dụng hỗ trợ điều trị những bệnh liên quan đến gốc tự do.

Sự mất cân bằng giữa hệ thống chống oxy hóa nội sinh trong cơ thể sinh vật với các gốc tự do hoạt động theo chiều hướng làm gia tăng sự sản sinh các gốc tự do gây ra các stress oxy hóa, được xác định là một trong những bệnh căn của các bệnh lý suy giảm chức năng hệ thần kinh TW. Do đó, đề tài "*Nghiên cứu chiết xuất dạng cao có hoạt tính sinh học từ rau đắng biển Bacopa monnieri* L., họ *Scrophulariaceae*" với mục đích nghiên cứu khảo sát tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của cao chiết xuất từ rau đắng biển.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Rau đắng biển trồng ở huyện Bình Chánh, Thành phố Hồ Chí Minh, được kiểm định theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam III [2] và được chiết bằng cồn 45° theo phương pháp ngấm kiệt tạo dạng cao mềm được gọi là **cao rau đắng.** Hiệu suất chiết: 58,97%. Độ ẩm của cao: 18,9%. Hàm lượng saponin toàn phần trong cao (theo phương pháp cân Namba): 22,96%.

Các mẫu thử khác dùng trong nghiên cứu:

- Cao EtOH, cao MeOH, saponin toàn phần trong dược liệu và saponin toàn phần trong cao được chiết xuất theo phương pháp Namba [5].

- Mỗi mẫu thử được tiến hành nghiên cứu ở các nồng độ: 200 µg/ ml, 100µg/ ml, 50µg/ ml, 25 µg/ ml và 12,5 µg/ ml.

2.2. Phương pháp đánh bắt gốc tự do bằng thử nghiệm DPPH [1]

Các chất nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa theo cơ chế dập tắt gốc tự do sẽ làm giảm màu của 1,1-diphenyl-2- picrylhydrazyl (DPPH). Xác định khả năng này bằng cách đo quang ở bước sóng có hấp thu cực đại tại λ = 515 nm.

0,5 ml mẫu thử pha loãng ở các nồng độ khác nhau bằng MeOH cho phản ứng với đồng thể tích dung dịch DPPH 1 mM. Hỗn hợp sau khi pha được để ở nhiệt độ phòng 30 phút. Đo quang ở bước sóng λ = 515 nm.

2.3. Phương pháp xác định sản phẩm của quá trình peroxy hoá lipid (định lượng MDA) [3,6]

Xác định khả năng ức chế peroxy hóa lipid thông qua việc xác định hàm lượng malonyl dialdehyd (MDA) là sản phẩm của quá trình peroxy hóa lipid màng tế bào. MDA có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric để tạo thành phức hợp trimethin (màu hồng) có đỉnh hấp thu cực đại ở λ = 532 nm. Cường độ màu của dung dịch tỷ lệ với hàm lượng MDA.

0,1 ml mẫu thử ở các nồng độ thử nghiệm được cho phản ứng với 0,5 ml dịch đồng thể não và thêm đệm phosphat vừa đủ 2 ml. Ủ hỗn hợp phản ứng ở 37°C trong 15 phút và dừng phản ứng bằng 1 ml acid tricloacetic 10%. Sau khi ly tâm lấy dịch trong cho phản ứng với 1ml acid thiobarbituric 0,8% trong 15 phút ở nhiệt độ 100°C. Làm lạnh và tiến hành đo quang ở bước sóng λ = 532nm.

Tính toán kết quả

Công thức tính % hoạt tính chống oxy hóa (HTCO):

$$HTCO\% = [(ODC - ODT)/ ODC] \times 100 ,$$

trong đó:

ODC: mật độ quang của mẫu chứng;

ODT: mật độ quang của mẫu thử.

Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình của 3 lần đo: M ± SEM (sai số chuẩn của giá trị trung bình).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả khảo sát tác dụng chống oxy hóa in vitro bằng test DPPH

- Mẫu saponin toàn phần/dược liệu và mẫu saponin toàn phần/cao có hoạt tính dập tắt gốc tự do mạnh và tương đương nhau (Bảng 1). Ở nồng độ 100 µg/ml, hoạt tính chống oxy hóa của saponin toàn phần/dược liệu là 92,73% và saponin toàn phần/cao 94,02%.

Bảng 1. **Hoạt tính chống oxy hóa của saponin trong test DPPH**

Mẫu	Nồng độ (µg/ml)	Mật độ quang (trung bình 3 lần đo)	HTCO%
Đối chứng	0	1,087 ± 0,010	
Saponin toàn phần (cao)	12,5	0,737 ± 0,002	32,20
	25	0,437 ± 0,004	59,80
	50	0,130 ± 0,019	88,04
	100	0,065 ± 0,001	94,02
Saponin toàn phần (dược liệu)	12,5	0,675 ± 0,049	37,90
	25	0,331 ± 0,005	69,55
	50	0,090 ± 0,006	91,73
	100	0,079 ± 0,001	92,73

- Đối với cao toàn phần, phân đoạn EtOH và phân đoạn MeOH thể hiện hoạt tính dập tắt gốc tự do tương đương nhau (Bảng 2). Ở nồng độ 200 µg/ml, hoạt tính chống oxy hóa đạt 89,79% (cao toàn phần); 90,71% (phân đoạn EtOH) và 89,88% (phân đoạn MeOH).

Bảng 2. **Hoạt tính chống oxy hóa của mẫu cao toàn phần và các phân đoạn trong test DPPH**

Mẫu	Nồng độ (µg/ml)	Mật độ quang (trung bình 3 lần đo)	HTCO%
Đối chứng	0	1,087 ± 0,010	
Cao toàn phần	12,5	1,024 ± 0,039	5.80
	25	0,878 ± 0,016	19,23
	50	0,751 ± 0,003	30,91
	100	0,499 ± 0,010	54,09
	200	0,111± 0,025	89,79

Phân đoạn EtOH	12,5	0,983 ± 0,015	9,57
	25	0,831 ± 0,001	23,55
	50	0,655 ± 0,014	39,74
	100	0,286 ± 0,008	73,69
	200	0,101 ± 0,009	90,71
Phân đoạn MeOH	12,5	0,954 ± 0,009	12,24
	25	0,822 ± 0,025	24,38
	50	0,705 ± 0,033	35,14
	100	0,258 ± 0,023	76,24
	200	0,110 ± 0,036	89,88

3.2. Kết quả khảo sát tác dụng chống oxy hóa *in vitro* bằng định lượng MDA trong não chuột nhắt trắng

- Mẫu saponin toàn phần/cao và saponin toàn phần/dược liệu có tác động ức chế sự hình thành MDA tỷ lệ thuận với nồng độ mẫu (Bảng 3). Saponin toàn phần/cao với hoạt tính chống oxy hóa 72,93% thể hiện tác động mạnh hơn so với saponin toàn phần/dược liệu (gấp hai lần ở cùng nồng độ 100 µg/ml) vì lượng saponin chiết được trong cao nhiều hơn trong dược liệu.
- Cao toàn phần, phân đoạn EtOH, phân đoạn MeOH có tác động ức chế sự hình thành MDA tỉ lệ thuận với nồng độ mẫu (Bảng 4). Cao toàn phần và phân đoạn EtOH có hoạt tính chống oxy hóa lần lượt là 44,51%; 40,56% thể hiện tác động ức chế hình thành MDA tương đương. Phân đoạn MeOH có tác động chống oxy hóa mạnh hơn cao toàn phần và phân đoạn EtOH với hoạt tính chống oxy hóa là 72,68% (ở cùng nồng độ 200 µg/ml).

Bảng 3. **Hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu saponin trong phương pháp định lượng MDA**

Mẫu	Nồng độ (µg/ml)	Mật độ quang (trung bình 3 lần đo)	HTCO%
Đối chứng	0	0,484 ± 0,000	
Saponin toàn phần (cao)	12,5	0,446 ± 0,002	8,88
	25	0,439 ± 0,003	27,27
	50	0,400 ± 0,004	41,53
	100	0,321 ± 0,007	72,93

Saponin toàn phần (dược liệu)	12,5	0,441 ± 0,011	7,85
	25	0,352 ± 0,008	9,30
	50	0,283 ± 0,000	17,36
	100	0,131 ± 0,003	33,68

Bảng 4. **Hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu cao toàn phần và phân đoạn chiết trong phương pháp định lượng MDA**

Mẫu	Nồng độ (µg/ml)	Mật độ quang (trung bình 3 lần đo)	HTCO%
Chứng	0	0,355 ± 0,000	
Cao toàn phần	12,5	0,291 ± 0,009	18,03
	25	0,279 ± 0,003	21,41
	50	0,224 ± 0,010	36,90
	100	0,239 ± 0,017	32,68
	200	0,179 ± 0,007	44,51
Phân đoạn EtOH	12,5	0,269 ± 0,006	24,23
	25	0,259 ± 0,002	27,04
	50	0,248 ± 0,002	30,14
	100	0,233 ± 0,002	34,37
	200	0,211 ± 0.017	40,56
Phân đoạn MeOH	12,5	0,209 ± 0,004	41,13
	25	0,208 ± 0,008	41,41
	50	0,163 ± 0,008	54,09
	100	0,134 ± 0,001	62,25
	200	0,097 ± 0,002	72,68

IV. BÀN LUẬN

- Cao toàn phần chiết cồn 45^0 có hoạt tính chống oxy hóa khá cao và saponin toàn phần thể hiện tác dụng mạnh nhất (ở khoảng nồng độ bằng ½ nồng độ của cao toàn phần) nên việc sử dụng cồn 45^0 để chiết cao làm nguyên liệu nghiên cứu và sản xuất là một giải pháp tiện dụng và saponin là nhóm hoạt chất có tác dụng quyết định tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của cao.

- Trong test DPPH sàng lọc chất chống oxy hóa theo cơ chế dập tắt gốc tự do, các mẫu cao và saponin thể hiện rõ tác dụng chống oxy hóa của dược liệu. Trong định lượng MDA, khả năng chống oxy hóa của các mẫu cao và saponin ở mức độ thấp hơn so với test DPPH ở cùng nồng độ tương ứng. Do đó, có thể nhận định rằng: Hoạt tính chống oxy hóa của rau đắng biển theo cơ chế dập tắt gốc tự do (free radical scavenging activity) trên một chất hóa học có gốc tự do đơn thuần như DPPH hơn là tác động trên quá trình peroxy lipid (anti-lipid peroxidation) của mô não của chuột (thử nghiệm *ex vivo*).

V. KẾT LUẬN

Kết quả từ các thử nghiệm trên cho thấy cao rau đắng có tác dụng chống oxy hóa *in vitro* theo cơ chế dập tắt gốc tự do.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amarowiez R., Pegg R.P., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., Weil J.A., (2004), *ete* Radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the *Canadian prairies*, Food Chemistry, 84, 551-562.
2. Bộ Y tế, (2002), Dược điển Việt Nam III – NXB. Y học Hà Nội
3. Cheseman K.H., (1985), Studies on lipid peroxidation in normal and tumor tissues, J. Biol. Chem., 235, 507–514.
4. Chowdhuri D.K., Parmar D., Kakkar P., Shukla R., Seth P.K., Srimal R.C., (2002), Antistress effects of bacosides of *Bacopa monnieri*: modulation of Hsp70 expression, superoxide dismutase and cytochrome P450 activity in rat brain, Phytother. Res., 16(7), 639-45.
5. Namba T., Yosingaki M., (1974), Fundamental studies on the Evaluation of the Crude Drug III chemical and Biochemical Evaluation of Ginseng and Related Crude Drugs, Yakugata Zasshi, 94(2), 252–260.
6. Stroev E. A., Makarova V. G., (1989), Determination of lipid peroxidation rate in tissue homogenate laboratory, Manual in Biochemistry, 243–256.
7. Viện Dược liệu, 2004, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam (tập II), NXB. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 668-670.
8. Võ Văn Chi, 1999, *Từ điển cây thuốc Việt Nam* – NXB. Y học, trang 22, 31, 944-946.

TÁC ĐỘNG CHỐNG STRESS CỦA CAO MỀM CHIẾT CỒN TỪ RAU ĐẮNG BIỂN (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst, *Scrophulariaceae*)

Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Thanh Duyên, Hồ Việt Anh
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

Antistress effect of ethanol extract from *Bacopa monnieri*

In Ayurvedic medicine, *Bacopa monnieri* (Brahmi) has been used as a memory-enhancing, a potent neurotonic, adaptogen, and tranquilizer. The antistress effect of bacosides was revealed in adult male Sprague Dawley rats by administering oral doses of 20 and 40 mg/kg for 7 consecutive days. The present study investigated the effects of ethanol extract from *Bacopa monnieri* on locomotor activity in normal mice and on pentobarbital sleeping time in social isolated mice. The results demonstrated that *Bacopa monnieri* extract (100 mg/kg per oral) had no effect on locomotor activity of mice at single dose but decreased either horizontal activity or vertical activity of mice after 7-day administration. On the other hand, *Bacopa monnieri* extract (25 mg/kg, 7-day oral administration) exhibited the antistress effect on social isolated stress-induced decrease in pentobarbital sleeping time.

Keywords: *Bacopa monnieri*, locomotor activity, isolation stress, pentobarbital sleep.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các kết quả khảo sát về thành phần hóa học của cây rau đắng biển (*Bacopa monnieri*) gần đây ở Ấn Độ và các nước khác cho thấy cây có hoạt chất chính là hợp chất saponin triterpen có khả năng chống oxy hóa, chống stress và cải thiện trí nhớ. Những nghiên cứu cho thấy điều trị trước 7 ngày bằng rau đắng biển với liều 40-80 mg/kg sẽ làm giảm sự gia tăng các chỉ tiêu gây bởi stress cấp tính hoặc mãn tính như chỉ số loét dạ dày, trọng lượng tuyến thượng thận, hàm

lượng glucose trong máu, alanin aminotransferase (ALT), aspartat aminotransferase (AST), creatin kinase (CK).

Ở Việt Nam, chưa có những nghiên cứu trong nước sử dụng nguồn nguyên liệu dễ trồng và rẻ tiền này trong định hướng các chế phẩm hoặc thực phẩm chức năng có tác dụng hỗ trợ điều trị các bệnh lý do stress oxy hóa hoặc do lão hóa. Những nghiên cứu trong nước về cây thuốc này chỉ mới dừng lại ở các nghiên cứu về hóa thực vật, chưa có những nghiên cứu về tác dụng sinh - dược học để phát triển ứng dụng trong phục vụ sức khỏe cộng đồng. Do đó, mục đích nghiên cứu của đề tài này là tiến hành khảo sát một số tác dụng dược lý của cao rau đắng biển như tác dụng trên tính vận động tự nhiên và tác động chống stress.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Rau đắng biển trồng ở huyện Bình Chánh, Thành phố Hồ Chí Minh được kiểm định theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam III [2] và được chiết bằng cồn 45° theo phương pháp ngấm kiệt thành dạng cao mềm được gọi là **cao rau đắng.** Hiệu suất chiết: 58,97%. Độ ẩm của cao: 18,9%. Hàm lượng saponin toàn phần trong cao (theo phương pháp cân Namba): 22,96%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định độc tính cấp của thuốc [1,3]

Độc tính cấp đường uống của thuốc được xác định bằng cách theo dõi số chuột nhắt sống và chết trong thời gian 48 giờ sau khi cho chuột uống một liều duy nhất, đồng thời ghi nhận trạng thái cùng những biểu hiện bất thường của chuột sau khi dùng thuốc. Nếu có chuột chết thì phải thử với các liều uống khác nhau để từ đó tính ra LD_{50}, là liều làm chết 50% số con vật thí nghiệm trong những điều kiện nhất định.

2.2.2. Khảo sát trên tính vận động tự nhiên [5]

Mục đích: Đánh giá tác dụng của thuốc trên hệ thần kinh trung ương (thăm dò tác dụng hưng phấn hay ức chế) biểu hiện bằng sự tăng hay giảm số lần vận động của súc vật thử nghiệm.

Tiến hành: Thực nghiệm được tiến hành trên thiết bị Activity Cages Model 7431 của hãng Ugo Basile (Italy). Thời gian thử nghiệm cho một lần đo là 60 phút. Chia chuột thành 2 lô: lô chứng uống nước cất, lô thử uống cao thử nghiệm

(một liều duy nhất) rồi đặt chuột vào máy. Để chuột ổn định trong 5 phút, sau đó cho thiết bị vận hành. Ghi nhận số lần vận động ngang và đứng của mỗi nhóm chuột tại các thời điểm 0, 30 và 60 phút. Thực hiện đo theo phác đồ tương tự sau khi cho chuột uống cao thử nghiệm 7 ngày (7 liều uống).

2.2.3. Khảo sát tác dụng chống stress [4]

Thực nghiệm stress cô lập:

Stress cô lập được báo cáo là một trong những stress tâm lý tiêu biểu gây sự rút ngắn thời gian ngủ ở súc vật thử nghiệm (giảm 30% thời gian ngủ so với nhóm bình thường).

Động vật được chia làm 2 nhóm :

- Nhóm bình thường: Được nuôi theo nhóm 8-10 chuột.
- Nhóm stress: Được nuôi cô lập từng con trong thời gian 4 tuần.

Động vật thử được uống nước hoặc nguyên liệu thử 1 giờ trước khi tiêm phúc mô pentobarbital natri (liều 50 mg/kg). Thời gian ngủ của pentobarbital được ghi nhận từ lúc mất phản xạ thăng bằng cho đến khi hồi phục lại phản xạ này. Tác dụng chống stress được ghi nhận khi thuốc thử nghiệm phục hồi lại mức độ bình thường của giấc ngủ barbital bị rút ngắn bởi stress.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Độc tính cấp đường uống

Theo dõi sau 48 giờ cho thấy, chuột ăn uống và hoạt động bình thường, có biểu hiện bị tiêu chảy, không ghi nhận được phân suất tử vong. Đến ngày hôm sau thì hết bị tiêu chảy.

Do đó, cao rau đắng không thể hiện độc tính cấp đường uống ở liều tối đa cho uống có thể bơm được qua kim là 11,87 g cao/kg thể trọng. Từ kết quả về độc tính, chúng tôi sơ bộ chọn liều thử cho các thực nghiệm tiếp theo là 50 mg/kg và 100 mg/kg.

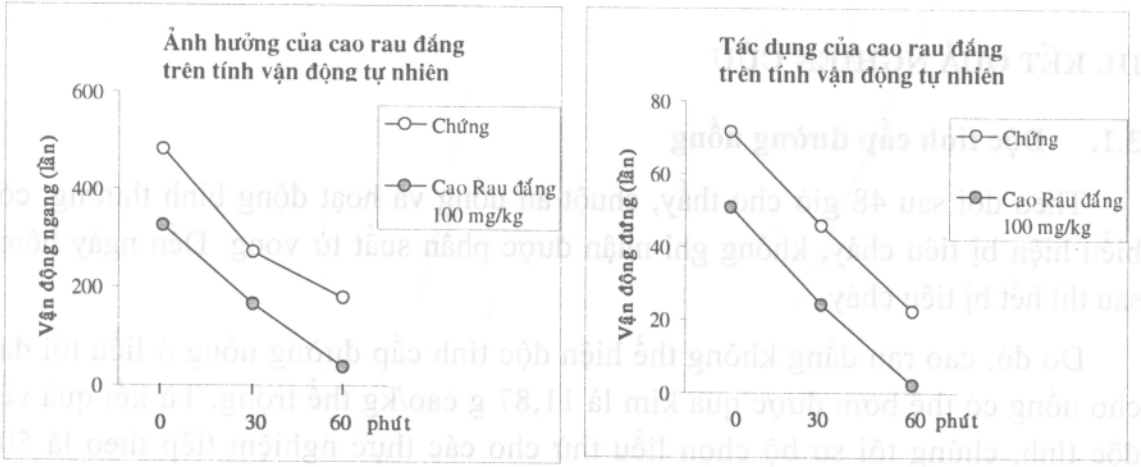
3.2. Tác dụng trên tính vận động tự nhiên

- Sau khi uống một liều duy nhất (100 mg/kg)
- Lô thử cao rau đắng có số lần vận động tự nhiên (ngang và đứng) trung bình không thay đổi đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng (Bảng 1).
- Sau khi uống 7 ngày (liều mỗi ngày 100 mg/kg)

- Kết quả thực nghiệm cho thấy so với lô đối chứng cao rau đắng làm giảm rõ rệt số lần vận động tự nhiên (ngang và đứng) của chuột (đạt ý nghĩa thống kê) (Hình 1).

***Bảng 1.* Ảnh hưởng của cao rau đắng trên tính vận động tự nhiên sau một liều uống duy nhất**

Lô TN N = 10-12	Liều mg/kg	Thời gian (phút)	Vận động ngang (lần)	Vận động đứng (lần)
Đối chứng	-	0	482,0 ± 31,3	71,2 ± 8,8
	-	30	271,1 ± 31,2	45,7 ± 13,6
	-	60	177,4 ± 34,9	22,3 ± 6,7
Cao rau đắng	100	0	496,2 ± 23,0	76,4 ± 6,9
		30	279,9 ± 28,4	46,9 ± 9,9
		60	208,1 ± 31,9	34,2 ± 8,8



Hình 1. Ảnh hưởng của cao rau đắng trên tính vận động tự nhiên sau 7 ngày uống

3.3. Tác dụng chống stress

Cao rau đắng ở hai liều 25 và 100 mg/kg được cho uống 7 ngày trước thử nghiệm pentobarbital đều không ảnh hưởng đến thời gian ngủ của pentobarbital trên chuột bình thường. Chuột nhắt trắng bị stress cô lập trong 4

tuần có thời gian ngủ pentobarbital bị rút ngắn, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bình thường. Cao rau đắng liều 25 mg/kg được cho uống 7 ngày trước thử nghiệm pentobarbital có tác dụng phục hồi thời gian ngủ pentobarbital bị rút ngắn bởi stress đưa trở về giá trị bình thường, đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng. Liều 100 mg/kg chưa thể hiện tác dụng đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng.

***Bảng 2.* Tác động của cao rau đắng trên thời gian ngủ pentobarbital ở chuột bình thường và chuột bị stress**

Lô TN N = 10 -12	Liều (mg/kg)	Bình thường	Stress cụ lớp
		Thời gian ngủ (phút)	
Đối chứng		94,76 ± 3,92	64,50 ± 4,20#
Cao rau đắng	25	94,50 ± 8,42	94,78 ± 9,66*
	100	103,38 ± 5,55	71,64 ± 5,73

# P < 0,05 so với lô đối chứng bình thường (t-test: t = 5,212, P < 0,001)

* P < 0,05 so với lô đối chứng tương ứng (One-way ANOVA: F = 4,87, P = 0,016).

IV. KẾT LUẬN

Cao chiết cồn từ rau đắng biển không thể hiện độc tính cấp đường uống, với liều 25 mg/kg điều trị trước 7 ngày có tác dụng phục hồi thời gian ngủ pentobarbital bị rút ngắn bởi stress đưa trở về giá trị bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, (1998), Hướng dẫn nghiên cứu đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền Việt Nam, Chiến lược phát triển Khoa học - Công nghệ ngành Y tế đến năm 2020, trang 140 - 145, 158 – 162.
2. Bộ Y tế, (2002), Dược điển Việt Nam III – NXB. Y học Hà Nội
3. Đỗ Trung Đàm, (1996), Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, NXB. Y học Hà Nội, trang 7 - 11.
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, số 6, trang 25-27.

5. Pulok K. Mukherjee, (2002), Quality control of herbal drugs, Business Horizons Pharmaceutical Publishers, 571 - 575.
6. Viện Dược liệu, (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tập II, 668-670.
7. Võ Văn Chi, (1999), Từ điển cây thuốc Việt Nam – NXB. Y học, trang 22, 31, 944-946.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA CÂY SÀI ĐẤT (*Wedelia calendulacea* Less.)

Nguyễn Thị Xuân Hoa, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, *- Viện Dược liệu -*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sài đất (*Wedelia calendulace* Less.), họ Cúc (Asteraceae) là cây thuốc dân gian có từ lâu đời, mọc hoang ở nhiều nơi trên đất nước ta. Những công bố từ trước đến nay cho thấy trong sài đất có dầu hoà tan, tanin, caroten, clorophyll, saponin, phytosterol, sáp, nhựa, gôm và đường. Các tác giả Ấn Độ làm phản ứng alkaloid cho kết quả âm tính, trong khi đó, các tác giả Trung Quốc lại thông báo có alkaloid trong dược liệu [2],[3]. Những nghiên cứu cụ thể hơn về sài đất còn cho thấy trong sài đất có acid norwedelic, norwedelolacton, wedelolacton và 3 saponin có phần genin là acid oleanolic với hai dây nối đường [4], [5], [6]. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi đưa ra những kết quả nghiên cứu sơ bộ về thành phần hóa học của dược liệu này, nhằm hiểu biết sâu hơn về các nhóm chất trong cây sài đất.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Cây sài đất được thu hái ở khu vực Văn Điển-Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phân tích sơ bộ thành phần hoá học có trong dược liệu sài đất dựa vào các phản ứng định tính và phương pháp sắc ký lớp mỏng [1].

- Phân tích định lượng flavonoid và saponin bằng phương pháp cân.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

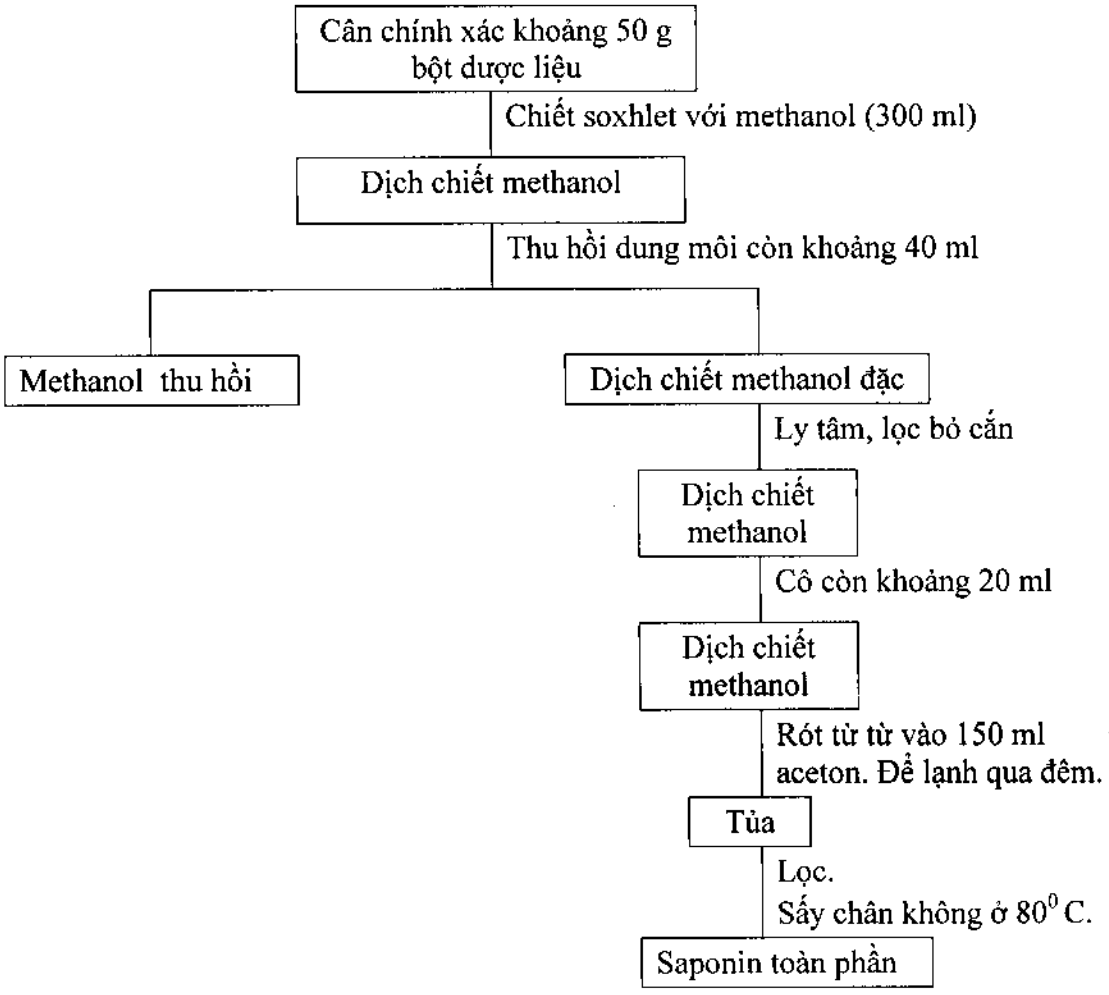
3.1. Phân tích sơ bộ thành phần hoá học có trong dược liệu sài đất

Các kết quả phản ứng định tính sơ bộ bằng phương pháp hoá học cho thấy trong dược liệu nghiên cứu có các thành phần hoá học như sau: flavonoid, alcaloid, coumarin, saponin triterpenoid, tanin, đường khử, chất béo, sterol, caroten.

3.2. Nghiên cứu về saponin

3.2.1. Định lượng saponin toàn phần

SƠ ĐỒ 1. CHIẾT XUẤT SAPONIN



Cân rồi tính ra hàm lượng saponin toàn phần theo công thức:

$$\text{Saponin tp} = \frac{a \times 100}{A(100 - X)}$$

trong đó: a: lượng cắn khô saponin;

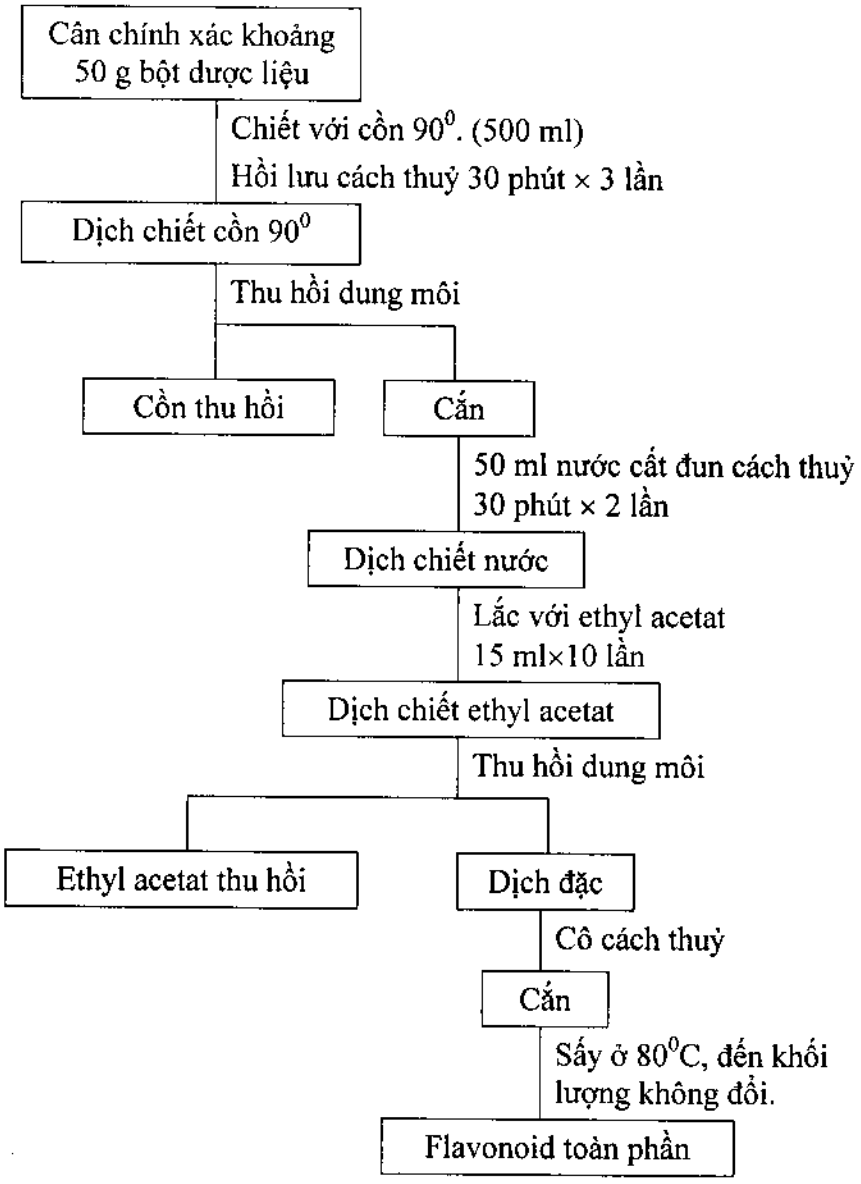
A: khối lượng dược liệu đem định lượng;

X: hàm ẩm của dược liệu.

Tiến hành làm 5 lần, tính toán theo phương pháp thống kê cho hàm lượng saponin toàn phần trong dược liệu là **12,10%.**

3.2.2. Phân tích saponin bằng sắc ký lớp mỏng

SƠ ĐỒ 2. CHIẾT XUẤT FLAVOVOID



Tủa saponin toàn phần sau khi tinh chế nhiều lần hoà tan trong methanol để chấm sắc ký.

* Khai triển sắc ký lớp mỏng bằng các hệ dung môi:

Hệ I: Ethyl acetat – acid acetic – nước (8:2:1)

Hệ II: *n*- buthanol – acid acetic băng – nước (4:1:5)

Hệ III: *n*-buthanol – ethanol – nước (4:1:4)

* Thuốc thử hiện màu: Acid sulfuric 20% trong methanol. Sau khi phun thuốc thử sấy bản mỏng ở 110^0C trong 10 phút.

* Kết quả khảo sát trên sắc ký lớp mỏng hệ 1 cho thấy trong hỗn hợp saponin toàn phần của sài đất xuất hiện ít nhất 15 vết.

3. 3. Nghiên cứu về flavonoid

3.3.1. Định lượng flavonoid toàn phần

Cân rồi tính ra hàm lượng flavonoid toàn phần theo công thức:

$$\text{Flavonoid tp} = \frac{a \times 100}{A(100 - X)} x100$$

trong đó: a: lượng cắn khô flavonoid;

A: khối lượng dược liệu đem định lượng;

X: hàm ẩm của dược liệu.

Tiến hành làm 5 lần, tính toàn theo phương pháp thống kê cho hàm lượng flavonoid toàn phần trong dược liệu là: **0,99%.**

3.2.2. Phân tích flavonoid bằng sắc ký lớp mỏng

* Khai triển sắc ký lớp mỏng bằng hệ dung môi:

Cloroform : ethyl acetat : acid formic (5:4:1)

* Thuốc thử hiện màu: mắt thường, UV_{365}, UV_{254}, hơi amoniac

* Kết quả khảo sát trên sắc ký lớp mỏng cho thấy trong hỗn hợp flavonoid toàn phần của sài đất xuất hiện ít nhất 11 vết (ảnh 2).

3.4. Nghiên cứu coumarin

Định tính flavonoid trong cắn coumarin toàn phần thấy kết quả dương tính.

Cắn coumarin toàn phần được hòa tan trong methanol để chấm sắc ký so sánh với flavonoid toàn phần trên cùng một bản mỏng.

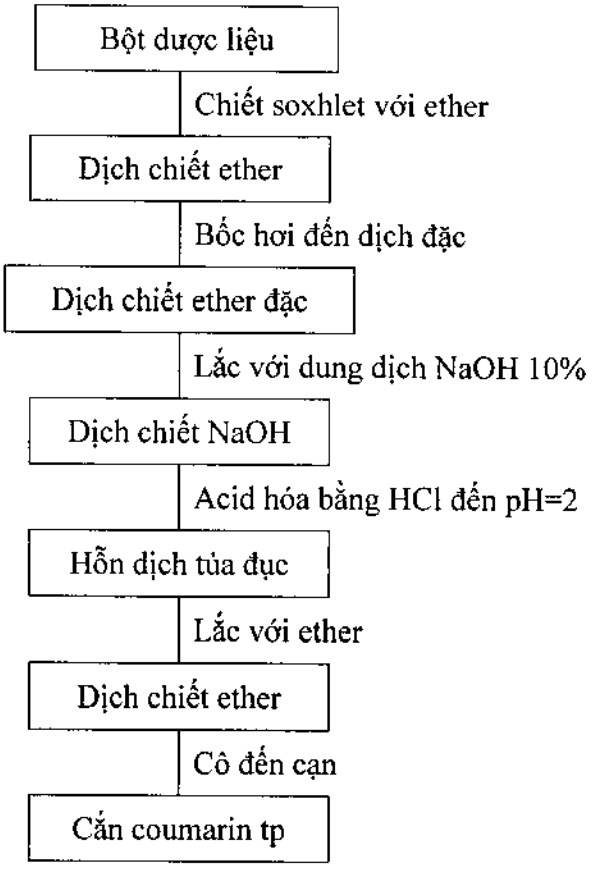
Hệ dung môi khai triển: Cloroform : ethyl acetat : acid formic (5:4:1)

Thuốc thử hiện màu: - Hơi amoniac.

- Thuốc thử diazo.

Kết quả sắc ký lớp mỏng được ghi trong bảng 1 (ảnh 3).

SƠ ĐỒ 3. CHIẾT COUMARIN TOÀN PHẦN



Bảng 1. **Kết quả sắc ký lớp mỏng flavonoid toàn phần và coumarin toàn phần**

TT	Flavonoid toàn phần				Coumarin toàn phần			
	Hơi amoniac		Thuốc thử diazo		Hơi amoniac		Thuốc thử diazo	
	R_f	Màu sắc	R_f	Màu sắc	R_f	Màu sắc	R_f	Màu sắc
1	0	Xám	0	Xám	0	Xám	0	Xám
2	0,05	Xanh nâu	0,05	Xanh nâu				

3					0,09	Xanh	0,09	Xanh
4	0,15	Nâu	0,15	Nâu			0,15	Xám
5					0,20	Nâu	0,20	Xám
6	0,24	Xám	0,24	Xám				
7							0,28	Xám
8	0,34	Nâu	0,34	Nâu	0,34	Nâu	0,34	Xám
9	0,47	Cam	0,47	Cam nâu	0.47	Cam nâu	0,47	Cam
10							0,50	Hồng
11	0,59	Vàng nâu	0,59	Vàng nâu	0,59	Vàng xám	0,59	Vàng
12					0,70	Xanh		
13	0,76	Vàng	0,76	Vàng	0,76	Vàng	0,76	Vàng

- ***Nhận xét***

Sắc ký lớp mỏng so sánh flavonoid toàn phần và coumarin toàn phần cho thấy một số vết 9, 11, 13 luôn xuất hiện, có cùng Rf, có màu sắc giống nhau và hiện màu với cả hai thuốc thử của flavonoid và coumarin, điều này phù hợp với kết quả định tính cắn coumarin toàn phần cho phản ứng flavonoid dương tính. Chứng tỏ, trong sài đất có những chất vừa có tính chất của flavonoid vừa có tính chất của coumarin được gọi là coumestan.

IV. KẾT LUẬN

Thành phần hóa học của sài đất bao gồm flavonoid, alcaloid, coumarin, saponin triterpenoid, tanin, đường khử, chất béo, sterol, caroten. Xác nhận sự có mặt của alcaloid trong sài đất phù hợp với ý kiến của tác giả Trung Quốc.

Saponin toàn phần chiếm khoảng 12% trong dược liệu khô. Sắc ký lớp mỏng saponin toàn phần trên 3 hệ dung môi khác nhau cho thấy có ít nhất 15 vết chất.

Flavonoid toàn phần chiếm gần 1%. Sắc ký lớp mỏng flavonoid toàn phần cho thấy có ít nhất 11 vết chất. Trong đó, một số vết vừa là flavonoid vừa là coumarin được gọi là coumestan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu (1985), Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc, NXB. Y học.
2. Đỗ Tất Lợi (1999), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Y học Hà Nội, tr. 86-87.
3. National institute of Materia medica (1999), Selected medicinal plant in Viet Nam, Vol II, Science and technology publishing house, Ha noi.
4. Nguyen Ngoc Suong, Do Ngoc Tin, Nguyen Kim Phi Phung, Nguyen Cong Hao. (1998), Tap chi hoa hoc, 36(1), pp.87-88.
5. Govindachari, T.R., Tuticorin R., Premila, Manakkals. (1985), Phytochemistry, 24 (12), pp. 3068-9.
6. Govindachari, T.R & Primila, M.S. (1991), Indian Journal of Chemistry, 30B, pp. 466-468.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA DƯỢC LIỆU SÀI ĐẤT (*WEDELIA CALENDULACEA* LESS.)

Nguyễn Thị Xuân Hoa, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn

Viện Dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sài đất là một cây thuốc sẵn có trong nước, từ lâu nhân dân ta đã dùng làm thuốc để chữa bệnh viêm nhiễm có hiệu quả. Một số tài liệu trên thế giới có nói đến tác dụng bảo vệ gan của sài đất [1], [3], [4]. Ở Việt Nam, chưa có công trình khoa học nào nghiên cứu về việc dùng sài đất chữa bệnh gan. Công trình này chứng minh tác dụng bảo vệ gan của sài đất trong nước và hy vọng mở rộng thêm phạm vi ứng dụng của sài đất trong việc phòng và chữa bệnh.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Dịch chiết 1/1 từ phần trên mặt đất của cây sài đất

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

2.2.1. Xác định hoạt tính chống oxy hoá (HTCO) in vitro (theo phương pháp của Blagadarov và cs.) [5]

* Nguyên tắc: Tiến hành peroxyd hoá chất lipid sẽ tạo ra một sản phẩm trung gian là malonyl dialdehyd (MDA). Xác định MDA bằng cách cho phản ứng với acid thiobarbituric tạo phức trimethin có màu hồng và đo màu ở λ_{Max} = 530 - 532 nm.

* Tiến hành: Tạo lượng MDA từ peroxyd hoá lipid: Ủ hỗn hợp 2 ml tween 80, 0,2 ml dung dịch $FeSO_4$ 10^{-3} M; 0,2 ml dung dịch acid ascorbic 10^{-2} M và 0,2 ml dung dịch thử ở 40^0C trong 48 giờ. Định lượng MDA bằng cách tạo phức màu: Lấy 2 ml dung dịch ủ trên thêm 1 ml dung dịch acid tricloracetic 30%, lắc kỹ, ly tâm lấy dịch trong. Lấy 2 ml dịch trong thêm 2 ml acid thiobacbituric 0,25%. Đo màu ở λ = 530 - 532 nm.

* Tính toán:

$$\% \text{ HTCO} = \frac{D_{tr} - D_{th}}{D_{tr}}$$

trong đó: D_{tr} : mật độ quang của mẫu trắng;

D_{th}: mật độ quang của mẫu thử.

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê.

2.2.2. Xác định hoạt tính chống oxy hoá in vivo bằng việc xác định hàm lượng MDA ở gan (theo phương pháp Stroev E.A và Makarova V.G (1989)) [2]

* Nguyên tắc: Dựa vào sản phẩm của quá trình peroxyd hoá lipid có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric tạo phức màu hồng.

* Tiến hành: Chuột có trọng lượng từ 20-22g, chia thành các lô như sau:

- Lô chứng gây bệnh: Gây viêm gan bằng dung dịch CCl_4 10% pha trong dầu olive. Tiêm phúc mạc 3 lần, tiêm lần trước cách lần sau 2 ngày với liều tiêm 0,2 ml cho 20 gam trọng lượng chuột.

- Lô gây bệnh và thử thuốc: Gây bệnh như lô trên và song song cho uống thuốc với liều 10 gam dược liệu cho 1 kg trọng lượng chuột, uống 8 ngày liền kể từ hôm bắt đầu gây bệnh.

- Lô chứng sinh lý: Tiêm dầu olive với số lần và thể tích tương đương 2 lô trên.

Lô chứng gây bệnh và chứng sinh lý: Cho uống nước cất với cùng số lần và thể tích tương đương lô thử thuốc.

Sau 8 ngày giết chuột, lấy gan rửa sạch bằng nước muối sinh lý. Cân chính xác 100 mg gan. Sau đó thêm 5 ml dung dịch đệm tris Ph = 7,4, nghiền kỹ. Hút 2 ml dịch sau khi nghiền, thêm vào đó 0,2 ml dung dịch $FeSO_4$ 10^{-3}M, 0,2 ml dung dịch acid ascorbic 10^{-2}M. Ủ hỗn hợp trên ở 37^0C trong 15 phút. Sau đó thêm vào 1 ml acid tricloacetic 30%, lắc kỹ, ly tâm ở 4200 vòng/phút. Lấy 2 ml dịch trong sau ly tâm, thêm vào đó 0,2 ml dung dịch HCl 0,5N và 2 ml dung dịch acid thiobarbituric 0,25%. Lắc kỹ, đun ở nhiệt độ 100^0C trong 15 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng, đo mật độ quang ở bước sóng λ = 532 nm.

2.2.3. Xác định hoạt độ enzym GPT (theo kỹ thuật của Reiman, Frankel)

* Nguyên tắc: Cơ chất 2-oxoglutarate và *L*-alanin phản ứng với nhau được xúc tác bởi GPT trong huyết thanh. Sản phẩm cuối cùng của phản ứng là NAD^+, đo mật độ quang NAD^+ ở bước sóng λ=365 nm biết được hàm lượng GPT trong huyết thanh.

Quá trình phản ứng xảy ra như sau:

2-oxoglutarat + *L*-alanin $\xleftrightarrow{GPT}$ *L*-glutamat + pyruvat

Pyruvat + NADH + H^+ $\xleftrightarrow{LDH}$ Lactat + NAD^+

* Tiến hành: Dùng thí nghiệm 2.2.2, trước khi lấy gan, lấy máu chuột, ly tâm ở 4200 vòng/phút trong 15 phút, lấy huyết thanh định lượng GPT.

2.2.4. Xác định bilirubin

* Nguyên tắc: Liên kết albumin bilirubin được giải phóng bằng một chất phân giải. Cho bilirubin phản ứng với dicloroanilin để tạo màu đỏ. Sau đó đo mật độ quang ở λ=546 nm. Từ đó tính ra hàm lượng bilirubin.

* Tiến hành: Cũng trong thí nghiệm 2.2.3, lấy một phần huyết thanh định lượng bilirubin.

2.2.5. Xác định hình ảnh tổ chức học giải phẫu bệnh lý gan

Quan sát đại thể và vi thể của tổ chức gan.

2.2.6. Xác định tác dụng lợi mật ở chuột nhắt (theo phương pháp Rudi)

* Tiến hành: Dùng chuột nhắt trắng khoẻ mạnh, không phân biệt đực cái trọng lượng 30-32 gam là loại chuột nhắt đạt tiêu chuẩn thí nghiệm do trung tâm vaccin của Viện Vệ sinh dịch tễ cung cấp.

Cho chuột uống thuốc trước 3 ngày, ngày thứ 4: cho uống thuốc, sau 30 phút, mổ bụng, thắt ống mật chủ, khâu vết mổ lại, sau 30 phút, giết chuột, bóc tách mật. Mật bóc tách được thấm vào giấy lọc rồi cân tươi ngay được m_1 (mg). Rạch túi mật, cho mật chảy ra hết rồi thấm vào giấy lọc, cân lại được m_2 (mg). Lượng mật của mỗi con là :

$$m = m_1 - m_2 \quad (mg)$$

Lượng mật tăng (L%) tính theo công thức:

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) *in vitro*

Từ dịch chiết cồn 1/1 pha loãng thành các nồng độ khác nhau, cho tham gia vào peroxyd hóa, đo lượng MDA và tính %HTCO. Kết quả được ghi ở bảng 1và bảng 2.

Bảng 1. **Hoạt tính chống oxy hoá ở các nồng độ khác nhau**

Số mẫu	Hoạt tính chống oxy hoá (%) ở các nồng độ pha loãng							
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/192	1/256
3	64	76,9	82,5	82,8	83,7	74,9	45,2	32

Bảng 2. **Hoạt tính chống oxy hoá *in vitro* (với n = 7) xác định từ nồng độ có hoạt tính tối ưu**

Mẫu	Nồng độ	Số mẫu	% HTCO	P
Cao toàn phần	1/64	7	83,1 ± 5,7	< 0,001

3.2. Xác định hoạt tính chống oxy hoá *in vivo* bằng việc xác định hàm lượng MDA ở gan

Kết quả nghiên cứu của dịch chiết sài đất trên hoạt tính chống oxy hoá *in vivo* được ghi ở bảng 3.

Bảng 3. **Sự thay đổi hàm lượng MDA của gan chuột**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	DMDA	Giảm so với gây bệnh (%)
1	Chứng SL	10	0,343 ± 0,008	
2	Chứng BL	9	0,514 ± 0,020	
3	Uống cao toàn phần	12	0,385 ± 0,010	25,1% t= 6,8 P < 0,001

3.3. Xác định hoạt độ enzym GPT

Kết quả nghiên cứu của dịch chiết sài đất trên hoạt tính của GPT được ghi ở bảng 4.

Bảng 4. **Hàm lượng GPT trong huyết thanh của chuột thực nghiệm**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	GPT (U/ L)	Giảm so với gây bệnh (%)
1	Chứng SL	10	35,44 ± 1,62	
2	Chứng BL	8	140,13 ± 16,64	
3	Uống cao toàn phần	11	92,32 ± 15,21	34,1 t = 2,1 P < 0,05

3.4. Xác định bilirubin

Kết quả nghiên cứu trên bilirubin được ghi ở bảng 5.

Bảng 5. **Sự thay đổi hàm lượng bilirubin trong huyết thanh chuột**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	Bilirubin (µmol/ l)	Giảm so với gây bệnh (%)
1	Chứng SL	10	1,94 ± 0,14	
2	Chứng BL	10	2,98 ± 0,28	
3	Uống cao toàn phần	11	2,67 ± 0,40	10,4 t = 0,6 P > 0,5

3.5. Xác định hình ảnh tổ chức học giải phẫu bệnh lý gan

Chuột có trọng lượng từ 20-22g, được nuôi trong cùng điều kiện. Gây viêm hoại tử gan bằng cách tiêm CCl_4 10% trong dầu thực vật. Đồng thời cho chuột uống thuốc cần thử. Sau 8 ngày giết chuột lấy gan, cắt và nhuộm vi phẫu gan để quan sát dưới kính hiển vi. Kết quả được ghi ở bảng 6.

Bảng 6. **Kết quả xét nghiệm vi thể gan chuột thực nghiệm**

Chuột sinh lý	Chuột bệnh lý (tiêm CCl_4)	Chuột bệnh lý uống cao toàn phần
- Tế bào gan không thoái hóa, không có ổ hoại tử, khoảng cửa không có xâm nhập viêm. Các tĩnh mạch cửa và tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy không có xung huyết. Gan bình thường.	- Các tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy và tĩnh mạch cửa dãn rộng, đặc biệt là tĩnh mạch khoảng cửa. Khoảng cửa có xâm nhập viêm rõ. Trong nhu mô gan có các ổ hoại tử, thoái hóa hốc của tế bào gan và xâm nhập tế bào viêm.	- Tĩnh mạch cửa dãn nhẹ, tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy không dãn, khoảng cửa xâm nhập viêm nhẹ. Tế bào gan có một số nơi thoái hóa nhỏ và xâm nhập viêm.
KL: Khoảng cửa không viêm, không xung huyết.	KL: Dãn tĩnh mạch; hoại tử + tế bào viêm.	KL: 1 ổ thoái hóa tế bào + viêm.

3.6. Xác định tác dụng lợi mật ở chuột nhắt

Kết quả thử tác dụng lợi mật của dịch chiết sài đất được ghi ở bảng 7.

Bảng 7. **Kết quả thử tác dụng lợi mật**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	Lượng mật (mg)	% tăng so với lô chứng sinh lý
1	Chứng SL	10	15,2 ± 1,9	
2	Uống cao toàn phần	11	28,7 ± 3,6	88,8 t = 3,2 P < 0,001

IV. KẾT LUẬN VÀ BÀN LUẬN

- Năm 1989, Sharma AK và cs đã đưa ra kết luận là dịch chiết cồn của toàn bộ cây sài đất thể hiện hiệu lực bảo vệ cao chống lại sự phá hại gan trên mô hình gây viêm gan bằng carbon tetraclorid *in vivo* và làm tăng lưu lượng mật ở chuột cống [1].

- Năm 1994, Lin SC và cs. đã nghiên cứu hiệu lực bảo vệ gan của sài đất trên ba mô hình gây độc cho gan là tetraclorua carbon, acetaminophen trên chuột nhắt và *D*(+)-galactosamin trên chuột cống đã kết luận: sài đất làm giảm enzym transaminase, tiến triển tốt về mặt tổ chức học [4].

Những kết quả chúng tôi nghiên cứu là phù hợp với các tác giả trên. Sài đất có tác dụng làm giảm hàm lượng MDA (25,1%), men GPT (34,1%), và cải thiện về mặt tổ chức học trên mô hình gây bệnh bằng carbon tetraclorid. Cũng trên mô hình đó, hàm lượng bilirubin trong huyết thanh giảm (10,4%). Ngoài ra, cao toàn phần của sài đất còn có tác dụng lợi mật rõ rệt (88,8%) và hoạt tính chống oxy hóa mạnh (83,1%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sharma AK, Anand KK, Pushpangadan P, Chandon BK, Chopra CL, et al. (1989), "Hepatoprotective effects of *Wedelia calendulacea*", J. Ethnopharmacol, 25, pp. 93-102.
2. Stroev E. A., Makarova V. G. (1989), Determination of lipid peroxydation rate in tissue homogenates. Laboratory manual in biochemistry. Moscow,pp. 243-256.
3. Emmanuel S., Amalraj T. & Ignacimuthu S. (2001), "Hepatoprotective effect of coumestans isolated from the leaves of *Wedelia calendulacea* Less. in paracetamol induced liver damage", (information in internet, http://www. Gcom.net.au/steve)
4. Lin SC , Lin CC, Lin YH, Shynn SJ. (1994), "Hepatoprotective effects of Taiwan folk medicine: *Wedelia chinensis* on three hepatotoxin-induced hepatotoxicity", Am Journal Chin Med -, 22 (2), pp. 155-68.
5. Благодоров С.Г. и авторы (1987), Метод определения антиоксидантной активности, Хим-фарм. Журнал, H^0 3.

PHÂN LẬP VÀ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA ACID OLEANOLIC TỪ SÀI ĐẤT (*WEDELIA CALENDULACEA* LESS.)

Nguyễn Thị Xuân Hoa, Phạm Văn Thanh,
Phạm Kim Mãn, Nguyễn Thị Minh Khai - *Viện Dược liệu*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Như chúng tôi đã đưa tin trong bài "Nghiên cứu thành phần hóa học của cây sài đất" (Tạp chí Dược liệu, tập 8, số 2, 2003), trong sài đất chứa saponin triterpenoid chiếm khoảng 12% tính theo dược liệu khô. Năm 1991, Govindachari và cs. đã phân lập được 3 saponin có phần genin là acid oleanolic [8]. Theo tài liệu nước ngoài, acid oleanolic có nhiều tác dụng sinh học như chống viêm, điều trị bệnh đái tháo đường, điều trị viêm gan [3], [4], [5], [6], [7]. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi thông báo về việc phân lập acid oleanolic từ sài đất và chứng minh tác dụng bảo vệ gan của sản phẩm này.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

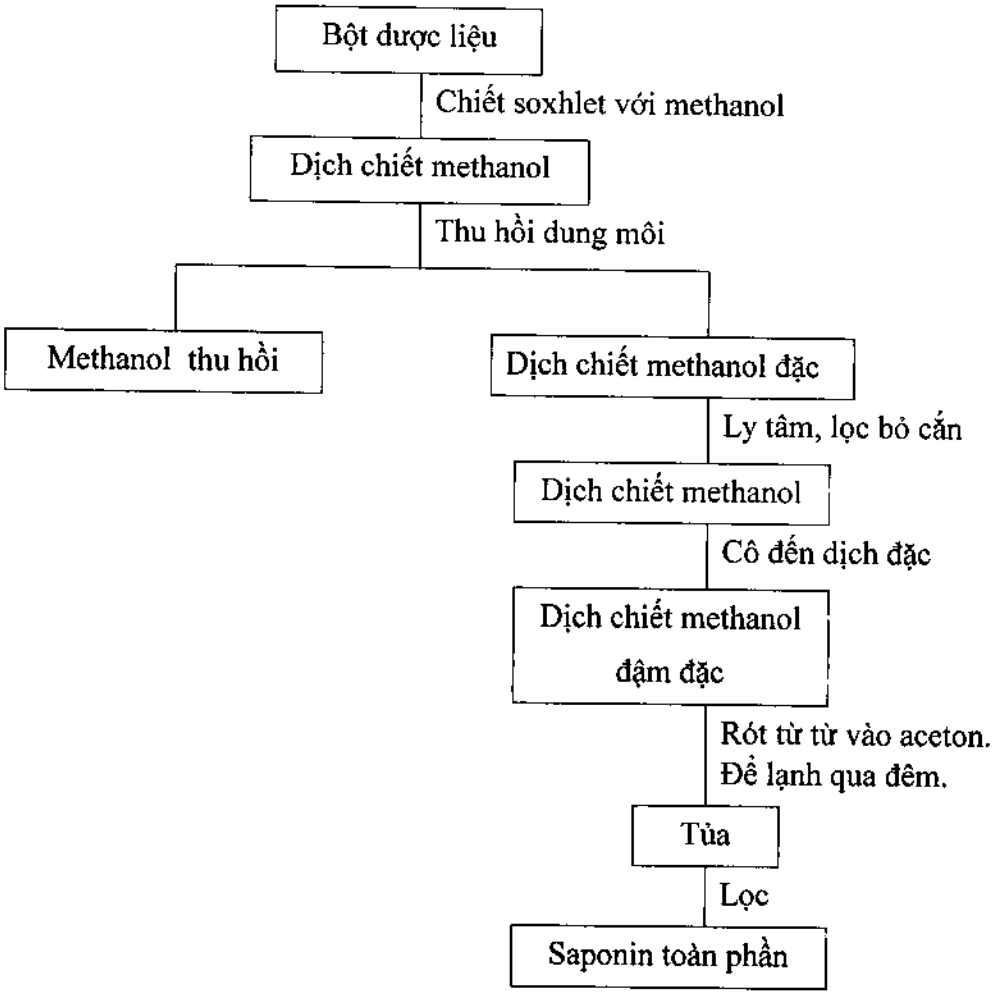
2.1. Nguyên liệu

Cây sài đất được thu hái ở khu vực Văn Điển - Hà Nội

2.2. Chiết xuất và phân lập [1]

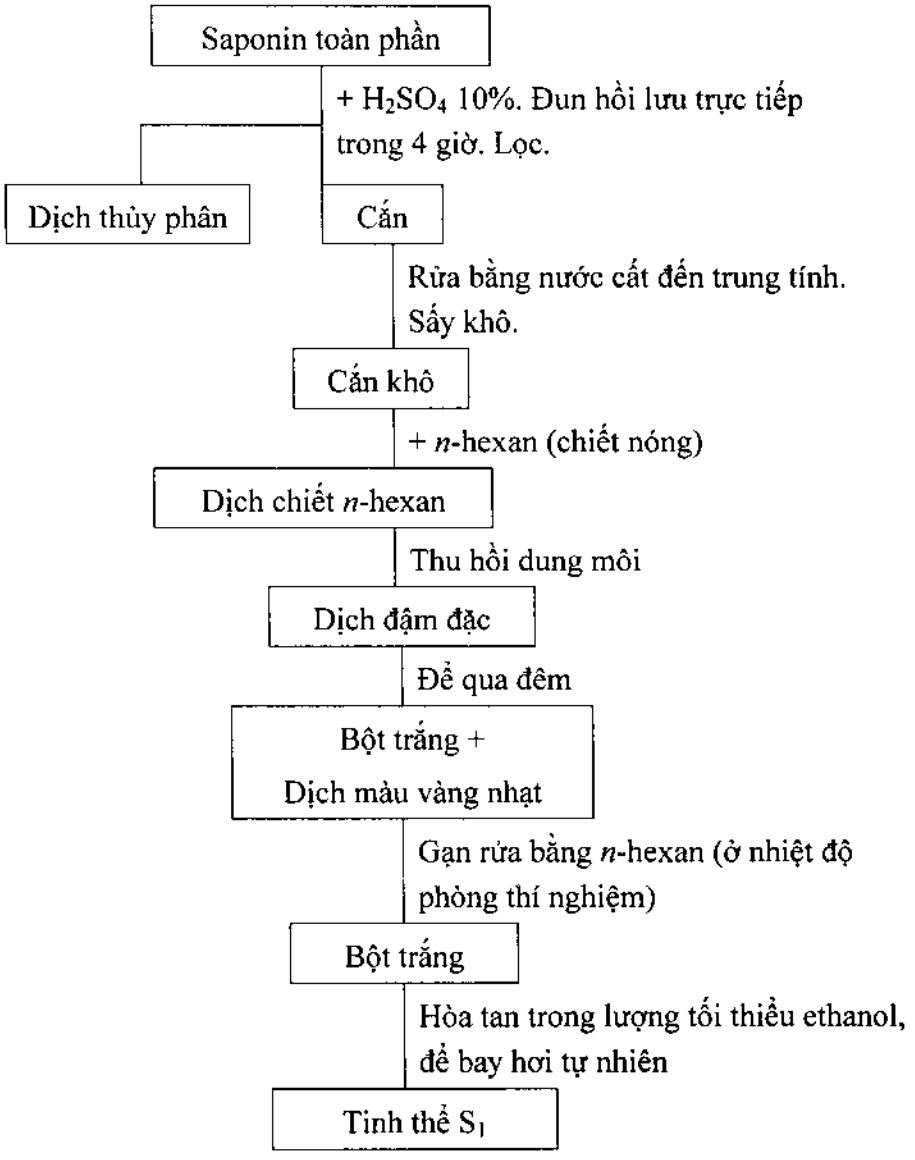
Quy trình chiết saponin toàn phần

SƠ ĐỒ 1: Chiết xuất saponin toàn phần



Lấy 120 g saponin toàn phần (được chiết từ 1 kg dược liệu) cho vào bình cầu dung tích 500 ml, đổ vào đó 400 ml dung dịch acid sulfuric 10%. Đun hồi lưu trực tiếp trong 4 giờ. Lọc lấy cặn. Rửa cặn cho đến khi dịch rửa trung tính. Sấy cặn cho khô. Cho cặn khô vào bình cầu 250 ml. Chiết với *n*-hexan 3 lần, mỗi lần 150ml. Dịch chiết *n*-hexan tập trung lại và thu hồi dung môi đến cạn, thu được 500 mg chất bột màu trắng gọi là S_1.

SƠ ĐỒ 2: Chiết xuất và phân lập S_1



2.3. Xác định hoạt tính chống oxy hoá *in vivo* bằng việc xác định hàm lượng MDA ở gan (theo phương pháp Stroev E.A và Makarova V.G (1989)) [2]

* Nguyên tắc: Dựa vào sản phẩm của quá trình peroxyd hoá lipid có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric tạo phức màu hồng.

* Tiến hành: Chuột có trọng lượng từ 20 - 22g, chia thành các lô như sau:

- Lô chứng gây bệnh: Gây viêm gan bằng dung dịch CCl_4 10% pha trong dầu olive. Tiêm phúc mạc 3 lần, tiêm lần trước cách lần sau 2 ngày với liều tiêm 0,2 ml cho 20 gam trọng lượng chuột.

- Lô gây bệnh và thử thuốc: Gây bệnh như lô trên và song song cho uống thuốc với liều 400 mg/kg chuột, uống 8 ngày liền kề từ hôm bắt đầu gây bệnh.

- Lô chứng sinh lý: Tiêm dầu olive với số lần và thể tích tương đương 2 lô trên.

Lô chứng gây bệnh và chứng sinh lý: Cho uống nước cất với cùng số lần và thể tích tương đương lô thử thuốc.

Sau 8 ngày giết chuột, lấy gan rửa sạch bằng nước muối sinh lý. Cân chính xác 100 mg gan. Sau đó thêm 5 ml dung dịch đệm tris pH=7,4, nghiền kỹ. Hút 2 ml dịch sau khi nghiền, thêm vào đó 0,2 ml dung dịch $FeSO_4$ 10^{-3}M, 0,2 ml dung dịch acid ascorbic 10^{-2}M, ủ hỗn hợp trên ở 37^0C trong 15 phút. Sau đó thêm vào 1 ml acid tricloacetic 30%, lắc kỹ, ly tâm ở 4200 vòng/phút. Lấy 2 ml dịch trong sau ly tâm, thêm vào đó 0,2 ml dung dịch HCl 0,5N và 2 ml dung dịch acid thiobarbituric 0,25%. Lắc kỹ, đun ở nhiệt độ 100^0C trong 15 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng, đo mật độ quang ở bước sóng λ= 532 nm.

2.4. Xác định hoạt độ enzym GPT (theo kỹ thuật của Reiman, Frankel)

* Nguyên tắc: Cơ chất 2-oxoglutarat và *L*-alanin phản ứng với nhau được xúc tác bởi GPT trong huyết thanh. Sản phẩm cuối cùng của phản ứng là NAD^+, đo mật độ quang NAD^+ ở bước sóng λ=365 nm biết được hàm lượng GPT trong huyết thanh.

Quá trình phản ứng xảy ra như sau:

2-oxoglutarat + *L*-alanin $\xleftrightarrow{GPT}$ *L*-glutamat + pyruvat

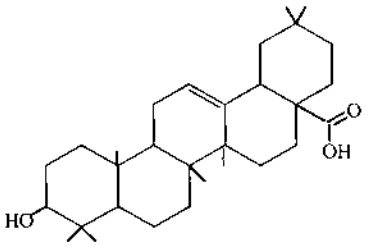
Pyruvat + NADH + H^+ $\xleftrightarrow{LDH}$ Lactat + NAD^+

* Tiến hành: Dùng thí nghiệm 2.3, trước khi lấy gan, lấy máu chuột, ly tâm ở 4200 vòng/phút trong 15 phút, lấy huyết thanh định lượng GPT.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nhận dạng sản phẩm S_1

Dựa trên điểm chảy, dữ liệu phổ UV, IR, MS có so sánh với mẫu chuẩn. Chất S_1 thu được là acid oleanolic.



Công thức cấu tạo của acid oleanolic

- Tính chất: Chất S_1 dạng tinh thể hình kim, kết tinh trong ethanol, dễ tan trong methanol, nhất là methanol nóng. Tan trong cồn cao độ. Không tan trong nước. Điểm chảy: 298^{0}C.

- Phổ tử ngoại: Có λ_{Max}(MeOH): 242 nm và 220 nm trùng với λ_{Max}(MeOH) của acid oleanolic chuẩn của Hàn Quốc.

- Phổ hồng ngoại: Được đo dưới dạng viên nén với KBr có các đỉnh hấp thụ mạnh đặc trưng cho các nhóm chức:

3454 cm^{-1}: Đặc trưng cho nhóm phenol (-OH).

2943,7 cm^{-1}: Đặc trưng cho nhóm hydrocarbon no (-CH_3, -CH_2-).

1696 cm^{-1}: Đặc trưng cho nhóm carboxyl (-COOH).

1500-650 cm^{-1}: Đặc trưng cho các liên kết hydro và carbon.

- Phổ khối: Pic ion phân tử [M^+] có m/z = 456, tương ứng với công thức phân tử là: $C_{30}H_{48}O_3$. Pic của các mảnh vỡ có m/z lần lượt là: 438, 410, 300, 258, 248, 203, 189, 147, 133, 105, 69 là những pic có tần số lớn, trùng với m/z của những pic trên phổ acid oleanolic chuẩn có trong dữ liệu phổ của Wiley 275.1.

3.2. Xác định hoạt tính chống oxy hoá *in vivo* bằng việc xác định hàm lượng MDA ở gan

Kết quả nghiên cứu tác dụng của acid oleanolic với liều (400 mg/kg chuột) trên hoạt tính chống oxy hoá *in vivo* được ghi ở bảng 1.

Bảng 1. **Sự thay đổi hàm lượng MDA của gan chuột**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	DMDA	Giảm so với gây bệnh (%)
1	Chứng SL	10	0,130 ± 0,030	
2	Chứng BL	8	0,680 ±0,054	
3	uống acid oleanolic	13	0,377 ± 0,041	44,6 t = 4,4 p < 0,001

3.3. Xác định hoạt độ enzym GPT

Kết quả nghiên cứu tác dụng của acid oleanolic với liều (400 mg/kg chuột) trên hoạt độ của GPT được ghi ở bảng 2.

Bảng 2. **Hoạt độ hàm lượng GPT trong huyết thanh của chuột thực nghiệm**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	GPT (U/L)	Giảm so với gây bệnh (%)
1	Chứng SL	10	42,80 ± 8,43	
2	Chứng BL	8	149,24 ± 47,45	
3	Uống acid oleanolic	13	109,93 ± 20,79	26,3 t = 0,895 p > 0,05

IV. KẾT LUẬN

Lần đầu tiên ở Việt Nam chúng tôi thông báo kết quả phân lập và xác định acid oleanolic trong sài đất. Với những nghiên cứu về acid oleanolic chiết được từ sài đất, chúng tôi chứng minh chúng có tác dụng chống oxy hóa làm giảm hàm lượng MDA trên tổ chức gan và có xu hướng làm giảm hàm lượng GPT trong huyết thanh của chuột nhắt được gây viêm gan cấp bằng mô hình gây độc bởi tetraclorua carbon.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu,(1985), Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc, NXB. Y học.
2. Stroev E. A., Makarova V. G.,(1989), Determination of lipid peroxydation rate in tissue homogenates. Laboratory manual in biochemistry. Moscow,pp. 243-256.
3. Giner-Larza EM, Manez S, Recio MC, Giner RM, Prieto JM, Cerda-Nicolas M, Rios JL. (2001), "Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from Pistacia, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity.", Eur. J. Pharmacol., 428(1),p. 137-43.

4. Matsuda H, Murakami T, Shimada H, Matsumura N, Yoshikawa M, Yamahara J. (1997), "Inhibitory mechanisms of oleanolic acid 3-O-monodesmosides on glucose absorption in rats.", Biol. Pharm. Bull., 20(6), p. 717-9.

5. Jeong HG. (1999), " Inhibition of cytochrome P450 2E1 expression by oleanolic acid: hepatoprotective effects against carbon tetrachloride-induced hepatic injury.", Toxicol. Lett., 105(3), p. 215-22.

6. Liu J, Liu Y, Klaassen CD. (1995), " Protective effect of oleanolic acid against chemical-induced acute necrotic liver injury in mice", Zhongguo. Yao. Li. Xue. Bao., 16(2), p. 97-102.

7. Astudillo L, Rodriguez JA, Schmeda-Hirschmann G. (2002), "Gastroprotective activity of oleanolic acid derivatives on experimentally induced gastric lesions in rats and mice.", J. Pharm. Pharmacol., 54(4), p. 583-8.

8. Govindachari, T.R & Primila, M.S. (1991), "Triterpenoid saponins from Wedelia calendulacea Less. ", Indian Journal of Chemistry, 30B, pp. 466-468.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA PHẦN CHỨA COUMESTAN PHÂN LẬP TỪ SÀI ĐẤT

(*Wedelia calendulacea* Less., *Asteraceae*)

Nguyễn Thị Xuân Hoa, Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn -Viện Dược liệu-

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những bài báo khác chúng tôi đã đề cập đến tác dụng bảo vệ gan từ dịch chiết toàn phần của dược liệu sài đất với mục đích đưa ra những nghiên cứu sâu hơn về bộ phận hoạt chất của dược liệu này. Trong phạm vi bài này, chúng tôi nghiên cứu phân lập coumestan từ sài đất và thử tác dụng bảo vệ gan của sản phẩm đó.

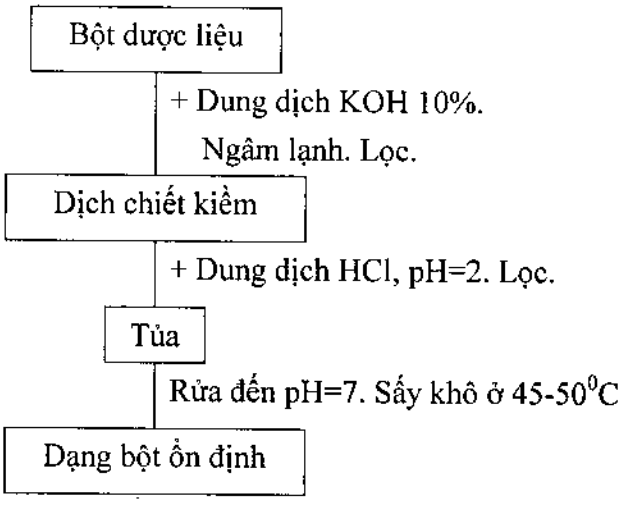
II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Cây sài đất được thu hái ở khu vực Văn Điển - Hà Nội.

2.2. Chiết và phân lập coumestan theo phương pháp thông thường về hóa học [1]

SƠ ĐỒ 1. Chiết sản phẩm chứa coumarin từ sài đất



Định tính coumarin trong dạng bột cho phản ứng dương tính.

Chiết coumarin toàn phần từ dạng bột này và sắc ký lớp mỏng so sánh với flavonoid toàn phần của sài đất thấy có một số vết vừa có mặt ở coumarin toàn phần, vừa có mặt ở flavonoid toàn phần. Gọi dạng bột này là "phần chứa coumestan".

2.3. Xác định hoạt tính chống oxy hoá (HTCO) *in vitro* (theo phương pháp của Blagadarov và cs.) [4]:

* Nguyên tắc: Tiến hành peroxyd hoá chất lipid sẽ tạo ra một sản phẩm trung gian là malonyl dialdehyd (MDA). Xác định MDA bằng cách cho phản ứng với acid thiobarbituric tạo phức trimethin có màu hồng và phổ hấp thụ cực đại ở λ = 530 - 532 nm.

* Tiến hành: Tạo lượng MDA từ peroxyd hoá lipid: Ủ hỗn hợp 2 ml tween 80, 0,2 ml dung dịch $FeSO_4$ 10^{-3} M; 0,2 ml dung dịch acid ascorbic 10^{-2} M và 0,2 ml dung dịch thử ở 40^{0}C trong 48 giờ. Định lượng MDA bằng cách tạo phức màu: Lấy 2 ml dung dịch ủ trên thêm 1 ml dung dịch acid tricloracetic 30%, lắc

kỹ, ly tâm lấy dịch trong. Lấy 2 ml dịch trong thêm 2 ml acid thiobacbituric 0,25%. Đo màu ở λ = 530 - 532 nm.

* Tính toán: Từ hàm lượng MDA xác định, tính ra phần trăm bị peroxyd hoá và tính ngược lại là số phần trăm không bị peroxyd hoá được gọi là hoạt tính chống oxy hoá (HTCO). Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê.

2.4. Xác định hoạt tính chống oxy hoá *in vivo* bằng việc xác định hàm lượng MDA ở gan (theo phương pháp Stroev E.A và Makarova V.G (1989)) [2]

* Nguyên tắc: Dựa vào sản phẩm của quá trình peroxyd hoá lipid có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric tạo phức màu hồng.

* Tiến hành: Chuột có trọng lượng từ 20-22g, được nuôi trong cùng điều kiện. Gây viêm hoại tử gan bằng cách tiêm CCl_4 10% trong dầu thực vật. Đồng thời cho chuột uống thuốc cần thử. Sau 8 ngày giết chuột thật nhanh, lấy gan rửa sạch bằng nước muối sinh lý. Cân chính xác 100 mg gan. Sau đó thêm 5 ml dung dịch đệm tris pH=7,4, nghiền kỹ. Hút 2 ml dịch sau khi nghiền, thêm vào đó 0,2 ml dung dịch $FeSO_4$ 10^{-3}M, 0,2 ml dung dịch acid ascorbic 10^{-2}M. ủ hỗn hợp trên ở 37^0C trong 15 phút. Sau đó thêm vào 1 ml acid tricloacetic 30%, lắc kỹ, ly tâm ở 4200 vòng/phút. Lấy 2 ml dịch trong sau ly tâm, thêm vào đó 0,2 ml dung dịch HCl 0,5N và 2 ml dung dịch acid thiobarbituric 0,25%. Lắc kỹ, đun ở nhiệt độ 100^0C trong 15 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng, đo quang ở bước sóng λ=532 nm. Từ đó tính ra hàm lượng MDA.

2.5. Xác định hoạt độ các men GPT (theo kỹ thuật của Reiman, Frankel)

* Nguyên tắc: Cơ chất 2-oxoglutarat và *L*-alanin phản ứng với nhau được xúc tác bởi GPT trong huyết thanh. Sản phẩm cuối cùng của phản ứng là NAD^+, đo mật độ quang NAD^+ ở bước sóng λ=365 nm biết được hàm lượng GPT trong huyết thanh.

Quá trình phản ứng xảy ra như sau:

2-oxoglutarat + *L*-alanin $\xleftrightarrow{GPT}$ *L*-glutarat + pyruvat

Pyruvat + NADH + H^+ $\xleftrightarrow{LDH}$ Lactat + NAD^+

* Tiến hành: Chuột có trọng lượng từ 20-22g, được nuôi trong cùng điều kiện. Gây viêm hoại tử gan bằng cách tiêm CCl_4 10% trong dầu thực vật. Đồng thời cho chuột uống thuốc cần thử. Sau 8 ngày cắt tiết chuột lấy máu, ly tâm ở 4200 vòng/phút trong 15 phút, lấy huyết thanh định lượng GPT.

2.6. Xác định bilirubin

* Nguyên tắc: Liên kết albumin bilirubin được giải phóng bằng một chất phân giải. Cho bilirubin phản ứng với dicloroanilin để tạo màu đỏ. Sau đó đo quang ở λ=546 nm. Từ đó tính ra hàm lượng bilirubin.

* Tiến hành: Chuột có trọng lượng từ 20-22g, được nuôi trong cùng điều kiện. Gây viêm hoại tử gan bằng cách tiêm CCl_4 10% trong dầu thực vật. Đồng thời cho chuột uống thuốc cần thử. Sau 8 ngày cắt tiết chuột lấy máu, ly tâm ở 4200 vòng/phút trong 15 phút, lấy huyết thanh định lượng bilirubin.

2.7. Xác định hình ảnh tổ chức học giải phẫu bệnh lý gan

Quan sát đại thể và vi thể của tổ chức gan.

2.8. Xác định tác dụng lợi mật ở chuột nhắt (theo phương pháp Rudi)

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) *in vitro*

Từ phần chứa coumestan pha loãng thành các nồng độ khác nhau, cho tham gia vào peroxyd hóa, đo lượng MDA và tính %HTCO. Kết quả được ghi ở bảng 1 và bảng 2.

***Bảng 1.* Hoạt tính chống oxy hoá ở các nồng độ khác nhau**

Số mẫu	Hoạt tính chống oxy hóa (%) ở các nồng độ pha loãng								
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
3	21,3	27,1	32,1	50	**65,5**	48,1	46,3	40,7	26,1

***Bảng 2.* Hoạt tính chống oxy hoá *in vitro* (với n = 7) xác định rõ nồng độ có hoạt tính tối ưu**

Mẫu	Nồng độ	Số mẫu	Hoạt tính chống oxy hoá	P
Phần chứa coumestan	1/16	7	64,8 ± 4,9	< 0,001

3.2. Xác định hoạt tính chống oxy hoá in vivo bằng việc xác định hàm lượng MDA ở gan

* Tiến hành: Dùng các lô chuột như sau:

- Lô chứng gây bệnh: Gây viêm gan bằng dung dịch CCl_4 10% pha trong dầu olive. Tiêm phúc mạc 3 lần, tiêm cách ngày với liều tiêm 0,2 ml cho 20 gam trọng lượng chuột.

- Lô gây bệnh và thử thuốc: Gây bệnh như lô trên và song song cho uống thuốc với liều 10 gam dược liệu cho 1 kg trọng lượng chuột, uống 8 ngày liền.

- Lô chứng sinh lý: Tiêm dầu olive với số lần và thể tích tương đương 2 lô trên.

Lô chứng gây bệnh và chứng sinh lý: Cho uống nước cất với thể tích tương đương lô thử thuốc.

Ngày thứ 8: Cả 3 lô chuột được giết chết thật nhanh, lấy gan rửa sạch bằng nước muối sinh lý. Định lượng MDA theo phương pháp Shibayama (1989), Yoshikav và cs. (1991). Kết quả được ghi ở bảng 3.

***Bảng 3.* Sự thay đổi hàm lượng MDA của gan chuột**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	DMDA	Giảm so với gây bệnh (%)
1	Đối chứng SL	10	0,343	
2	Đối chứng BL	9	0,514	
3	Uống phần chứa coumestan	12	0,416	28,6 t = 3,58 (P < 0,002)

3.3. Xác định hoạt độ enzym GPT

Chuột có trọng lượng từ 20-22g, được nuôi trong cùng điều kiện. Gây viêm hoại tử gan bằng cách tiêm CCl_4 10% trong dầu thực vật. Đồng thời cho chuột uống thuốc cần thử. Sau 8 ngày cắt tiết chuột lấy máu, ly tâm ở 4200 vòng/phút trong 15 phút, lấy huyết thanh định lượng GPT. Kết quả được ghi ở bảng 4.

***Bảng 4.* Hàm lượng GPT trong huyết thanh của chuột thực nghiệm**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	GPT (U/ L)	Giảm so với gây bệnh (%)
1	Chứng SL	9	49,57 ± 4,6	
2	Chứng BL	13	131,23 ± 9,64	
3	Uống phần chứa coumestan	8	111,5 ± 15,54	15,0 t = 1,12 P < 0,5

3.4. Xác định bilirubin

Chuột có trọng lượng từ 20-22g, được nuôi trong cùng điều kiện. Gây viêm hoại tử gan bằng cách tiêm CCl_4 10% trong dầu thực vật. Đồng thời cho chuột uống thuốc cần thử. Sau 8 ngày cắt tiết chuột lấy máu, ly tâm ở 4200 vòng/phút trong 15 phút, lấy huyết thanh định lượng bilirubin. Kết quả được ghi ở bảng 5.

Bảng 5. **Sự thay đổi hàm lượng bilirubin trong huyết thanh chuột**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	Bilirubin (µmol/ l)	Giảm so với gây bệnh (%)
1	Chứng SL	10	2,25 ± 0,15	
2	Chứng BL	10	3,87 ± 0,30	
3	Uống phần chứa coumestan	11	3,0 ± 0,23	22,5 t = 2,12 P < 0,05

3.5. Xác định hình ảnh tổ chức học giải phẫu bệnh lý gan

Chuột có trọng lượng từ 20-22g, được nuôi trong cùng điều kiện. Gây viêm hoại tử gan bằng cách tiêm CCl_4 10% trong dầu thực vật. Đồng thời cho chuột uống thuốc cần thử. Sau 8 ngày giết chuột lấy gan, cắt và nhuộm vi phẫu gan để quan sát dưới kính hiển vi. Kết quả được ghi ở bảng 6.

Bảng 6. **Kết quả xét nghiệm vi thể gan chuột thực nghiệm**

Chuột sinh lý	Chuột bệnh lý (Tiêm CCl_4)	Chuột bệnh lý uống phần chứa coumestan
- Tế bào gan không thoái hóa, không có ổ hoại tử, khoảng cửa không có xâm nhập viêm. Các tĩnh mạch cửa và tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy không có xung huyết. Gan bình thường.	- Các tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy và tĩnh mạch cửa dãn rộng, đặc biệt là tĩnh mạch khoảng cửa. Khoảng cửa có xâm nhập viêm rõ. Trong nhu mô gan có các ổ hoại tử, thoái hóa hốc của tế bào gan và xâm nhập tế bào viêm.	- Tế bào gan thoái hóa nhẹ ở một số vùng, bào tương có hốc nhỏ. Không có các ổ hoại tử tế bào. Tĩnh mạch cửa dãn nhẹ, xâm nhập viêm rất nhẹ gồm limpho và vài bạch cầu đa nhân.
KL: Khoảng cửa không viêm, không xung huyết.	KL: Dãn tĩnh mạch; hoại tử + tế bào viêm.	KL: Khoảng cửa dãn rất nhẹ, tế bào không hoại tử.

3.6. Xác định tác dụng lợi mật ở chuột nhắt

* Tiến hành: Dùng chuột nhắt trắng khoẻ mạnh, không phân biệt đực cái trọng lượng 30-32 gam là loại chuột nhắt đạt tiêu chuẩn thí nghiệm do trung tâm vaccin của Viện Vệ sinh dịch tễ cung cấp.

Cho chuột uống thuốc trước 3 ngày, ngày thứ 4: cho uống thuốc, sau 30 phút, mổ bụng, thắt ống mật chủ, khâu vết mổ lại, sau 30 phút, giết chuột, bóc tách mật. Mật bóc tách được thấm vào giấy lọc rồi cân tươi ngay được m_1 (mg). Rạch túi mật, cho mật chảy ra hết rồi thấm vào giấy lọc, cân lại được m_2 (mg). Lượng mật của mỗi con là :

$$m = m_1 - m_2 \quad (mg)$$

Lượng sinh mật (L) tính theo công thức:

$$L\% = \frac{m_2 - m_c}{m_c} \times 100$$

Bảng 7. **Kết quả thử tác dụng lợi mật**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột	Lượng mật (mg)	% tăng so với lô chứng sinh lý
1	Chứng SL	10	15,2 ± 1,9	
2	Uống phần chứa coumestan	10	24,6 ± 3,5	61,8 t = 2,35 (P < 0,05)

IV. KẾT LUẬN VÀ BÀN LUẬN

Năm 2001, S Emmanuel và cs. đã nghiên cứu phân đoạn chiết coumestan từ sài đất có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây nhiễm độc gan bằng paracetamol. Các tác giả này kết luận là coumestan làm giảm rõ rết sự tăng ngưỡng enzym trong huyết thanh do gan bị tổn thương bởi paracetamol [3].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi trên phân đoạn chứa coumestan về tác dụng bảo vệ gan thấy rằng: Coumestan có tác dụng làm giảm hàm lượng MAD trong gan, GPT và bilirubin trong huyết thanh và cải thiện rõ rệt về mặt tổ chức học trên mô hình gây độc gan bằng carbon tetraclorid ở chuột nhắt. Ngoài ra, coumestan có tác dụng lợi mật trên chuột nhắt và có hoạt tính chống oxy hóa tốt. Đây cũng là những nội dung mới lần đầu tiên được công bố.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu (1985), Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc, NXB. Y học.
2. Stroev E. A., Makarova V. G. (1989), Determination of lipid peroxydation rate in tissue homogenates. Laboratory mamal in biochemistry. Moscow,pp. 243-256.
3. Emmanuel S., Amalraj T. & Ignacimuthu S. (2001), "Hepatoprotective effect of coumestans isolated from the leaves of *Wedelia calendulacea* Less. in paracetamol induced liver damage", (information in internet, http://www. Gcom.net.au/steve).
4. Благодоров С.Г. и автры (1987), Метод определения антиоксидантной активности, Хим-фарм. Журнал, H^0 3.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA RỄ CỦ SÂM BÁO TRỒNG TẠI THANH HÓA

(Hibiscus sagittifolius* var. *septentrionalis* Gag., *Malvaceae)

[1]Đào Thị Vui [2]Nguyễn Thượng Dong, [3]Nguyễn Trọng Thông, [2]Phạm Văn Thanh *- (1) Trường đại học Dược Hà Nội, (2) Viện Dược liệu, (3)Trường đại học Y Hà Nội*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sâm Báo là cây thuốc mọc hoang ở vùng núi Báo tỉnh Thanh Hoá và một số tỉnh khác như Phú Yên, Đắc Lắc, Gia Lai...Hiện nay còn được trồng trong một số vườn thuốc gia đình. Từ lâu, cây sâm Báo đã được nhân dân địa phương trồng và sử dụng để điều trị các bệnh ho, rối loạn tiêu hoá và làm thuốc bổ. Liều thường dùng 12-20 g/ngày có khi dùng tới 40 g/ngày. Tuy nhiên cho tới nay, trên thế giới cũng như trong nước có rất ít tài liệu nghiên cứu về cây thuốc này. Với mong muốn phát triển nguồn dược liệu địa phương và tạo ra thuốc mới phục vụ cộng đồng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu *thành phần hóa học và tác dụng dược lý của chế phẩm chiết từ rễ củ cây sâm Báo trồng tại Thanh Hóa.*

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu

- Rễ củ cây sâm Báo trồng tại Hợp tác xã (HTX) 19/8 thôn Đông Trung xã Hà Bình huyện Hà Trung tỉnh Thanh Hóa. Rễ củ sâm Báo được thu hoạch vào tháng 12 năm 2003, rửa sạch đất cát, cạo bỏ vỏ ngoài, phơi se rồi sấy khô ở nhiệt độ 50-60^{oC}.

- Các chế phẩm chiết từ rễ củ sâm báo dùng nghiên cứu tác dụng dược lý: dịch chiết nước (SBN), dịch chiết cồn 70^{O}(SBC), dịch chiết methanol 90^{O} (SBM), chất nhày (CN).

2.1.2. Động vật thực nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng Swiss trọng lượng 20 ± 2 g do Viện Vệ sinh dịch tễ Hà Nội cung cấp. Chuột cống trắng trọng lượng 140-180 g do Viện Quân y 103 cung cấp. Động vật thí nghiệm cả hai giống, khỏe mạnh, được nuôi tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường đại học Dược Hà Nội 3-5 ngày trước khi thí nghiệm.

2.1.3. Thiết bị – hóa chất

- Máy đo độ ẩm Prescica (Thuỵ Sĩ).
- Máy đo đường huyết Omnitest sensor của hãng B.Braun- Đức .
- Máy ghi 1 kênh và bể nuôi cơ quan cô lập của hãng Ugo Basile Italy.
- Hoá chất và dụng cụ thí nghiệm đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu về hóa học

2.2.1.1. Nghiên cứu sơ bộ thành phần hóa học

Định tính các nhóm chất hóa học có trong sâm Báo dựa vào thuốc thử chung và thuốc thử đặc hiệu của từng nhóm hợp chất.

2.2.1.2. Chiết xuất và định lượng coumarin

Chiết xuất coumarin bằng phương pháp acid base, tính kết quả theo phương pháp cân.

2.2.1.3. Chiết xuất và định lượng chất nhày

Chiết CN bằng cồn 25^{o} sau đó kết tủa bằng chì acetat. Tính kết quả theo phương pháp cân [1].

2.2.2. Nghiên cứu tác dụng dược lý

2.2.2.1. Tác dụng tăng cường thể lực

• *Ảnh hưởng của sâm Báo đến khả năng bơi gắng sức của chuột*

Cặp chì vào đuôi chuột với trọng lượng bằng 5% trọng lượng chuột. Xác định thời gian bơi trước và sau khi dùng dịch chiết sâm Báo 2 tuần, có so sánh với nhóm chứng [4,6].

• *Ảnh hưởng của sâm Báo đến khả năng bám của chuột*

Cặp chì vào đuôi chuột với trọng lượng bằng 5% trọng lượng chuột. Xác định thời gian bám của chuột trên trụ quay trước và sau khi dùng sâm Báo 2 tuần, có so sánh với nhóm chứng [4,6].

• *Ảnh hưởng của sâm Báo đến trọng lượng chuột*

Cân trọng lượng chuột trước và sau khi dùng sâm Báo 2 tuần, có so sánh với nhóm chứng [4].

2.2.2.2. Tác dụng hạ đường huyết

Định lượng glucose máu (GM) trước và sau khi dùng sâm Báo trên chuột bình thường và trên chuột gây tăng GM bằng streptozocin (STZ) [5], có so sánh với nhóm chứng và thuốc insulin và gliclazid.

2.2.2.3. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày:

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày của dịch chiết nước rễ củ sâm báo theo mô hình thắt môn vị của Shay [7] cải tiến: Chuột nhịn ăn 24 giờ, mổ bụng, thắt môn vị. Sau 20 giờ giết chuột, cắt lấy dạ dày, đo thể tích dịch vị toàn phần, xác định độ acid và mức độ tổn thương dạ dày.

2.2.3. Nghiên cứu độc tính cấp

Chia chuột nhắt thành từng lô, mỗi lô 10 con được uống sâm Báo nước (SBN) theo liều tăng dần từ 100g/kg đến 180g/kg, với lượng thuốc hằng định mỗi lần 0,2ml/10g cân nặng, ngày uống 3 lần, mỗi lần cách nhau 2 giờ.

Theo dõi tình trạng chung của chuột và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong 72 giờ. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc. Những chuột chết được mổ để quan sát mô bệnh học [9]. Tính LD_{50} của SBN theo phương pháp Litchfield- Wilcoxon.

2.2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test Student và test trước sau (Avant-Après). Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$. Biểu diễn kết quả M± SEM. Sử dụng phần mềm microsoft excel 2000, phương pháp kiểm định phi tham số SPSS trong xử lý thống kê.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Thành phần hóa học

3.1.1. Định tính các nhóm hợp chất tự nhiên

Chúng tôi đã xác định các nhóm chất chính trong sâm Báo dựa vào các phản ứng với thuốc thử chung và thuốc thử đặc hiệu của từng nhóm chất. Kết quả được trình bày trong bảng 3.1.

***Bảng 3.1.* Kết quả định tính các nhóm chất chính trong dược liệu**

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Sơ bộ kết luận
1	Flavonoid	Phản ứng cyanidin	+	Có ít
		Phản ứng với kiềm	+	
		Phản ứng với $FeCl_3$	-	
2	Alcaloid	Thuốc thử Mayer	-	Không có
		Thuốc thử Dragendoff	-	
		Thuốc thử Bouchardat	-	
3	Acid amin	Phản ứng ninhydrin 2%	++	Có
4	Coumarin	Phản ứng đóng mở vòng lacton	+++	Có nhiều
		Phản ứng diazo hóa	+++	
		Vi thăng hóa	+	
5	Glycosid tim	Phản ứng Lieberman	-	Không có
		Phản ứng Legal	-	
		Phản ứng Bajet	-	
6	Saponin	Phản ứng tạo bọt	-	Không có
		Phản ứng phá huyết	-	
		Phản ứng với H_2SO_4	-	

7	Tanin	Phản ứng với gelatin 1%	-	Không có
8	Antraglycosid	Phản ứng Borntraeger	-	Không có
9	Chất béo	Để lại vết mờ trên giấy lọc	-	Không có
10	Acid hữu cơ	Phản ứng với Na_2CO_3		
11	Đường khử	Phản ứng với thuốc thử FehlingA + FehlingB	+++	Có
12	Chất nhày		++++	Có

(-) Phản ứng âm tính. (+) Dương tính nhẹ. (++) Dương tính vừa. (+++) . Dương tính rất rõ (++++).

Trong rễ củ sâm Báo có coumarin, flavonoid, đường khử, chất nhày, acid amin và acid hữu cơ. Trong đó nhiều nhất là *chất nhày, đường khử và coumarin.*

3.1.2. Chiết xuất và định lượng một số nhóm hoạt chất chính

3.1.2.1. Chiết xuất và định lượng coumarin

Chiết coumarin bằng cồn 90°. Dịch chiết cất thu hồi dung môi đến dịch đặc. Kiềm hóa bằng NaOH 10%. Loại tạp bằng ether dầu. Dịch kiềm acid hóa bằng dung dịch HCl đến pH=2. Dịch acid lắc với ether. Tập trung dịch chiết ether, cất thu hồi dung môi đến cắn rồ sấy khô ở 45-50 ^{oC}. Kết quả trình bày ở bảng 3.2.

***Bảng 3.2.* Hàm lượng coumarin trong rễ củ sâm Báo**

Mẫu số	Khối lượng dược liệu (g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng coumarin $_{TP}$ (g)	Hàm lượng coumarin$_{TP}$ (%)
1	22,06	9,38	0,18	0,90
2	22,26	9,38	0,185	0,92
3	19,06	9,12	0,16	0,92
4	22,16	9,48	0,18	0,90
5	20,18	9,62	0,17	0,91
TB				**0,91**

Kết luận: hàm lượng coumarin trong sâm Báo là 0,91%.

3.1.2.2. Chiết xuất và định lượng chất nhày (CN)

Chiết chất nhày bằng cồn 25° ở nhiệt độ 50-55^{oC} đến kiệt. Dịch chiết cất thu hồi dung môi dưới áp xuất giảm đến dịch đặc. Thêm chì acetat đến hết tủa. Lọc, rửa và sấy tủa đến khối lượng không đổi, cân. Kết quả được trình bày ở bảng 3.3.

***Bảng 3.3.* Hàm lượng chất nhày trong sâm Báo**

Mẫu số	Khối lượng dược liệu (g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng coumarin $_{TP}$ (g)	Hàm lượng CN (%)
1	5,15	7,33	1,29	26,7
2	5,6	7,49	1,35	26,1
3	5,78	7,57	1,49	27,9
4	8,12	11,03	1,92	26,6
5	8,06	11,56	1,6	26,1
TB				**26,7**

Kết luận: Hàm lượng chất nhày trong sâm báo là 26,7%.

3.2. Tác dụng dược lý của sâm Báo

3.2.1 Tác dụng tăng cường thể lực

Các thí nghiệm đều được tiến hành trên 4 lô chuột

Lô 1 (chứng): uống dung dịch NaCl 0,9% , 0,2 ml/10g chuột;

Lô 2 (sâm Triều Tiên): uống sâm Triều Tiên 5 g/kg, 0,2 ml/10g chuột;

Lô 3 (SBN): uống SBN 10g/kg, 0,2 ml/10g chuột;

Lô 4 (SBC): uống SBC 10g/kg , 0,2 ml/10g chuột.

Xác định thời gian bơi gắng sức, thời gian bám trên trụ quay và trọng lượng của chuột trước và sau 2 tuần dùng thuốc. Kết quả trình bày ở bảng 3.4; 3.5; 3.6.

***Bảng 3.4.* Ảnh hưởng của sâm Báo trên thời gian bơi gắng sức của chuột**

Lô thử	Thời gian bơi của chuột (phút)		Tăng so với trước %	Tăng so với chứng %	P so với chứng
	Trước	Sau			
Lô chứng (n=13)	2,82 ± 0,13	3,57 ± 0,23	26,4		–
Sâm Triều Tiên (n=13)	2,99 ± 0,20	5,94 ± 0,51	98,6	57,1	$p_1<0,01$
SBN (n=12)	2,55 ± 0,11	5,98 ± 0,54	134,2	85,3	$p_1<0,01$ $p_2>0,05$
SBC (n=13)	2,65 ± 0,19	4,53 ± 0,25	70,8	35,1	$p_1<0,05$ $p_2<0,05$

P_1: giá trị p so với lô chứng. P_2: giá trị p so với lô sâmTriều Tiên.

Kết quả bảng 3.4 cho thấy, thời gian bơi gắng sức của các lô chuột sau 2 tuần đều tăng lên. Lô SBN tăng cao nhất 134,2%, lô SBC tăng 70,8%, trong khi đó lô đối chứng chỉ tăng tăng 26,4%, sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,01$). Tác dụng kéo dài thời gian bơi của chuột uống SBN tương đương với sâm Triều Tiên ($P > 0,05$).

***Bảng 3.5.* Ảnh hưởng của sâm Báo đến thời gian bám của chuột**

Lô thử	Thời gian bám (giây)		Tăng so với trước %	Tăng so với chứng %	P so với chứng
	Trước	Sau			
Lô chứng (n=13)	39,54 ± 2,37	72,23 ± 5,36	82,7		
Sâm Triều Tiên (n=13)	40,85 ± 3,46	105,54 ± 10,61	158,4	41,4	$P_1< 0,05$
SBN (n=12)	41,25±2,60	94,92 ± 7,99	130,1	26,0	$p_1<0,05$, $p_2>0,05$
SBC (n=13)	46,46 ± 3,80	91,69 ± 8,01	97,4	8,0	$p_1>0,05$, $p_2>0,05$

Kết quả bảng 3.5 cho thấy, thời gian bám của chuột trên trụ quay sau 2 tuần đều tăng lên, thời gian bám của lô SBN tăng 130,1%, lô đối chứng chỉ tăng 82,7% và khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Thời gian bám của chuột ở lô SBN tương đương với lô sâm Triều Tiên ($P > 0,05$). Tuy nhiên thời gian bám của lô SBC chỉ tăng 8% so với lô đối chứng và khác không có ý nghĩa ($P > 0,05$).

***Bảng 3.6.* Ảnh hưởng của sâm Báo đến trọng lượng chuột**

Lô thử	Trọng lượng chuột (gam)		Tăng so với trước %	Tăng so với chứng (%)	P so với chứng
	Trước	Sau			
Lô chứng (n=13)	19,02 ± 0,37	23,65 ± 0,78	124,3	100	
Sâm Triều Tiên (n=13)	20,15 ± 0,37	23,97 ±0,80	119,0	95,7	$p_1>0,05$
SBN (n=12)	20,18 ± 0,28	25.23 ± 0,8	125,0	100,6	$p_1>0,05$ $p_2>0,05$
SBC (n=13)	19,77±1,41	23,33 ± 2,24	118,0	94,9	$p_1>0,05$ $p_2>0,05$

Bảng 3.6 cho thấy trọng lượng chuột ở tất cả các lô sau 2 tuần dùng thuốc đều tăng, nhưng sự tăng không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($P>0,05$). Như vậy, cả SBN và SBC đều không ảnh hưởng tới sự tăng trọng lượng chuột.

3.2.2. Tác dụng trên đường huyết

3.2.2.1. Tác dụng của SBM trên GM ở chuột bình thường

- *Tác dụng của SBM dùng đường tiêm lên GM chuột bình thường*

Trước hôm thí nghiệm chuột vẫn được ăn uống bình thường. Ngày thí nghiệm chuột được chia thành 4 lô, mỗi lô 8 con.

Lô 1 (chứng): tiêm màng bụng dung dịch NaCl 0,9%, 0,1ml/10 g chuột;

Lô 2 (insulin): tiêm màng bụng dung dịch insulin 1UI/kg,0,1ml/10g chuột;

Lô 3 (gliclazid): uống gliclazid 30 mg/kg; 0,1 ml/10 g chuột;

Lô 4 (SBM): tiêm màng bụng dung dịch SBM 20 g/kg, 0,1ml/10 g chuột.

Định lượng GM tại các thời điểm 0 giờ (ngay trước khi dùng thuốc) và 2, 4, 6 giờ sau khi dùng thuốc. Riêng lô insulin, vì thuốc có tác dụng nhanh nên GM được xác định ở các thời điểm: 0; 0,5 và 1 giờ sau khi dùng thuốc

***Bảng 3.7.* Ảnh hưởng của SBM tiêm màng bụng trên chuột bình thường**

Lô thử	Nồng độ glucose máu (mmol/l)					
	0 giờ	30 phút	1 giờ	2 giờ	4 giờ	6 giờ
Chứng	6,56 ±0,21			5,59 ±0,24	6,44 ±0,24	6,53 ±0,18
Insulin P/chứng	6,42 ±0,12 > 0,05	4,0 ±0,22 < 0,001	2,82 ±0,32 < 0,05	5,87±0,24 >0,05		
Gliclazid P/chứng	6,57 ±0,27 > 0,05			4,98 ±0,27 < 0,001	3,96 ±0,22 < 0,001	5,84 ±0,17 < 0,05
SBM P/chứng	6,80±0,16 . > 0,05			6,67 ±0,12 > 0,05	6,49 ±0,19 > 0,05	6,82 ±0,20 > 0,05

Bảng 3.7 cho thấy lô insulin, GM giảm mạnh, sau 30 phút đã có tác dụng và mạnh nhất sau khi tiêm 1 giờ. Lô gliclazid, tác dụng mạnh nhất sau 4giờ dùng thuốc. SBM dùng theo đường tiêm màng bụng liều 20g/kg, không có tác dụng hạ GM trên chuột bình thường ở tất cả các thời điểm nghiên cứu (p>0,05).

- *Tác dụng của SBM đường uống trên GM chuột bình thường*

  Chuột được chia thành 2 lô, mỗi lô 9 con.

  Lô 1(chứng): uống NaCl 0,9%, 0,1 ml/10g;

  Lô 2 (SBM): uống SBM 20 g/kg, 0,1 ml/10g.

Định lượng glucose máu trước và sau 7 ngày uống thuốc liên tục. Kết quả được trình bày ở bảng 3.8.

***Bảng 3.8.* Ảnh hưởng của SBM đường uống trên GM chuột bình thường**

	Nồng độ glucose máu	
	Trước khi dùng thuốc	Sau 7 ngày dùng thuốc
Chứng	7,24 ± 0,16	7,34 ± 0,15
SBM	7,41 ± 0,15 p > 0,05	7,16 ± 0,19 p > 0,05

Bảng 3.8 cho thấy, sau 7 ngày dùng thuốc liên tục, SBM dùng đường uống không làm hạ GM trên chuột bình thường.

3.2.2.2. Tác dụng của SBM trên chuột gây tăng GM bằng STZ:

- *Tác dụng của SBM đường tiêm đến GM trên chuột gây tăng GM bằng STZ.*

Riêng lô chứng trắng tiêm dung môi pha STZ, các lô còn lại đều tiêm STZ. Sau 72 giờ tiêm STZ 150 mg/kg, chuột đã được gây tăng GM, định lượng nồng độ GM, loại bỏ những con có nồng độ GM quá thấp. Sau đó chuột được chia thành 4 lô, mỗi lô 8 con.

Lô 1 (chứng trắng): tiêm màng bụng dung dịch NaCl 0,9%; 0,1ml/10g chuột;

Lô 2 (chứng STZ): tiêm màng bụng dung dịch NaCl 0,9%; 0,1 ml/10g chuột;

Lô 3 (insulin):tiêm màng bụng dung dịch insulin 1UI/kg;0,1 ml/10g chuột;.

Lô 4 (gliclazid): uống gliclazid 30 mg/kg; 0,1 ml/10 g chuột;

Lô 5 (SBM): tiêm màng bụng SBM 20 g/kg; 0,1 ml/10 g chuột.

Định lượng GM ở các thời điểm 2, 4, 6 giờ sau khi dùng thuốc. Riêng lô insulin. GM được định lượng sau 1 và 2 giờ. Kết quả được trình bày ở bảng 3.9.

***Bảng 3.9.* Ảnh hưởng của SBM tiêm màng bụng trên chuột tăng GM bằng STZ**

Lô thử	Nồng độ glucose máu (mmol/*l*)					
	Trước tiêm STZ	Sau tiêm STZ hoặc dung môi				
		Trước dùng thuốc	Sau dùng thuốc			
			1 giờ sau	2 giờ sau	4 giờ sau	6 giờ sau
Chứng trắng	7,53±0,31	7,7±0,45		7,82±0,58	7,65±0,4	
Chứng STZ % thay đổi	7,97±0,18	21,98±0,85		27,7±0,85 +26,0	25,5±1,05 + 16,0	23,6±0,95 +7,3
Insulin % thay đổi	7,39±0,30	21,18±1,80	5,30±0,11 -75,0	13,03±2,02 -38,5		
P/chứng	> 0,05	> 0,05	< 0,001	< 0,001		
Gliclazid % thay đổi	8,18±0,34	21,93±1,24		26.34±1,81 +15,4	21,23±1,95 -3,0	19,33±2,0 -12,6

P/chứng	> 0,05	> 0,05		> 0,05	<0,05	< 0,05
Sâm báo % thay đổi	7,72±0,21	21,9±1,68		18,42±0,96 -15.9	13,29±1,25 -39,3	13,65±1,68 -25,9
P/chứng	> 0,05	> 0,05		< 0,001	< 0,001	< 0,001

(-) Đường huyết giảm so với trước khi dùng thuốc. (+) Đường huyết tăng so với trước khi dùng thuốc.

Bảng 3.9 cho thấy, sau khi tiêm STZ (150mg/kg) 72 giờ, nồng độ GM tăng khoảng 3 lần so với bình thường. SBM làm hạ GM trên chuột gây tăng GM bằng STZ, mức hạ 39,3% so với trước khi dùng thuốc, mạnh nhất sau khi tiêm 4 giờ và sai khác có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,001$). Trong khi đó, gliclazid chỉ làm hạ GM 12,6% sau 6 giờ dùng thuốc.

- *Tác dụng của SBM đường uống đến GM trên chuột gây tăng GM bằng STZ.*

Chuột được chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con

Lô 1 (chứng trắng): tiêm dung môi + uống NaCl 0,9%, 0,1ml/10g chuột.

Lô 2 (chứng STZ): tiêm STZ + uống NaCl 0,9%, 0,1ml/10g chuột.

Lô 3 (SBM): tiêm STZ + uống SB 20g/kg, 0,1ml/10g chuột.

Định lượng GM bình thường, sau đó tiêm STZ (150mg/kg), lô chứng trắng tiêm dung môi pha STZ. Sau đó hàng ngày cho chuột uống thuốc, trong 3 ngày. Ngày thứ 3 định lượng lại GM. Kết quả được trình bày ở bảng 3.10.

***Bảng 3.10.* Ảnh hưởng của SBM đường uống trên chuột tăng GM bằng STZ**

Lô thử	Glucose máu (mmol/l)		Tăng so với trước (%)	Giảm so với chứng STZ (%)
	Trước tiêm STZ	Sau tiêm STZ		
Lô chứng trắng	7,11 ± 0,23	7,44 ± 0,34	4,6	
Lô chứng STZ	7,5 ± 0,18 $p_1 > 0,05$	23,6 ± 1,46 $p_1 < 0,001$	214,7	
Lô SBM	7,29 ± 0,23 $p_1 > 0,05$	8,7 ± 0,73 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	19,3	63,1

p_1 giá trị p so với lô chứng trắng,. p_2 giá trị p so với lô chứng STZ.

Nhận xét: Lô chứng STZ, GM tăng 214,7% so với trước khi tiêm STZ. Lô SBM, GM chỉ tăng nhẹ (19,3%), giảm so với chứng STZ 63,1%. sự tăng GM so với lô đối chứng trắng không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Như vậy SBM dùng đường uống có tác dụng chống tăng GM trên chuột tiêm STZ hay bảo vệ tế bào tụy.

3.2.3. Tác dụng bảo vệ dạ dày

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày của sâm Báo theo mô hình thắt môn vị của Shay cải tiến.. Thí nghiệm trên 3 chuột cống trắng trọng lượng 140-180

Lô 1(chứng): uống nước muối sinh lý, 1ml/100g thể trọng;

Lô2 (SBN): uống SBN liều 10g/kg, 1ml/100g thể trọng;

Lô 3 (CN): uống CN chiết từ sâm Báo 2,67g/kg (tương đương 10g sâm Báo), 1ml/100g chuột.

Tất cả chuột được uống thuốc thử hoặc nước muối sinh lý liên tục 4 ngày. Ngày thứ 5 sau khi đã để chuột nhịn ăn 24 giờ, mổ bụng, thắt môn vị và tiếp tục cho uống thuốc. 20 giờ sau mổ bụng cắt dạ dày đo thể tích dịch vị, xác định độ acid dịch vị và đánh giá chỉ số loét. Kết quả được trình bày ở bảng 3.11.

Bảng 3.11. **Tác dụng bảo vệ dạ dày của SBN và CN**

Chỉ số nghiên cứu	Lô chứng n=11	Lô SBN n=11	Lô CN n=10
Thể tích dịch vị (ml)	9,3 ± 0,4	8,3 ± 0,5	8,5 ± 0,7
% giảm so với chứng		10,5	8,8
P so với chứng		>0,05	>0,05
Độ acid tự do	5,9 ± 0,3	4,8 ± 0,3	3,7 ± 0,4
% giảm so với chứng		20,5	37,4
P so với chứng		<0,05	<0,01
Độ acid toàn phần	9,4 ± 0,4	8,1 ± 0,3	7,3±0,5
% giảm so với chứng		13,8	22,9
P so với chứng		<0,05	<0,01
Tổng số điểm loét	8,0 ± 1,5	3,3 ± 1,2	3,7±1,3
% giảm so với chứng		59,1	54,2
P so với chứng		<0,05	<0,05
Tỉ lệ % chuột có loét	90,9	45,5	60,0
% giảm so với chứng		50,0	34,0

Bảng 3.11 cho thấy, SBN và CN chỉ làm giảm nhẹ thể tích dịch vị nhưng không có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng. Tuy nhiên, cả 2 mẫu thử đều làm giảm lượng acid dịch vị: SBN làm giảm 20,5% lượng acid tự do và 13,8% lượng acid toàn phần; tương ứng CN làm giảm 37,4% và 22,9 % so với lô chứng, sự giảm lượng acid tự do của cả SBN và CN so với lô đối chứng có ý nghĩa thống kê. Hơn nữa, cả SBN và CN đều có tác dụng làm giảm đáng kể tỉ lệ chuột bị loét và mức độ loét (SBN giảm 50,0 % và 59,1%;CN giảm 34,0 % và 54,2%) so với lô đối chứng.

3.3. Nghiên cứu độc tính cấp của sâm Báo

Chia chuột thành từng lô, mỗi lô 10 con. Chuột được uống SBN theo liều tăng dần từ 100g/kg đến 180g/kg cân nặng (liều cao nhất có thể cho uống), theo dõi 72 giờ không thấy có chuột chết ở tất cả các lô thí nghiệm. Vì vậy chưa xác định được LD_{50} trên chuột nhắt theo đường uống. Qua quan sát, tất cả các lô chuột vẫn ăn, uống, hoạt động và bài tiết bình thường trong suốt 7 ngày theo dõi. Liều 180g/kg chuột nhắt trắng tương đương trên người là 15 g/kg (tính theo hệ số 12). Như vậy, nếu so sánh với liều thường dùng trên người theo kinh nghiệm dân gian là 0,4 g/kg thì liều gấp 37,5 lần vẫn chưa gây độc. Mẫu thử sâm Báo có độc tính cấp thấp.

IV. KẾT LUẬN

4.1. Về hóa học

- Đã xác định được trong rễ củ sâm Báo trồng tại Thanh Hóa có chứa *coumarin, flavonoid, đường khử, chất nhày, acid amin và acid hữu cơ.* Trong đó, nhiều nhất là chất nhày, đường khử và coumarin.

- Kết quả định lượng thu được hàm lượng chất nhày chiếm 26,7%; coumarin chiếm 0,91%.

4.2. Về tác dụng dược lý

- Tác dụng tăng cường thể lực: Liều 10 g/kg chuột nhắt, uống liên tục trong 2 tuần cả SBN và SBC đều làm tăng thời gian bám của chuột nhắt trên trụ quay, tăng thời gian bơi gắng sức nhưng không làm tăng trọng lượng của chuột so với trước khi uống thuốc. Liều 10 g/kg, SBN có tác dụng tương đương với sâm Triều Tiên 5 g/kg và mạnh hơn SBC.

- Tác dụng trên GM: Trên chuột bình thường, chế phẩm sâm Báo không làm hạ GM. Trên chuột gây tăng GM bằng STZ, SBM tiêm màng bụng có tác dụng làm hạ GM mạnh nhất sau khi tiêm 4 giờ (giảm 39,3% so với lô không dùng sâm Báo). Khi dùng đường uống liên tục 3 ngày, ngay sau khi tiêm STZ, SBM làm giảm GM 63,1% so với chứng STZ không uống sâm Báo, đưa giá trị GM trở về gần mức bình thường (P>0,05 so với lô trắng không tiêm STZ).

- Tác dụng trên dạ dày: Trên mô hình gây loét dạ dày bằng cách thắt môn vị, SBN liều 10/kg và CN 2,67 g/kg (tương đương 10 g/kg sâm Báo) làm giảm tỉ lệ chuột có loét và giảm mức độ tổn thương so với lô đối chứng: SBN làm giảm tỉ lệ chuột có loét 50,0% và giảm mức độ tổn thương 59,1% còn CN giảm 54,2% và 34,0%.

4.3. Về độc tính: SBN liều 180g/kg chuột nhắt (là liều cao nhất có thể cho uống), không thể hiện độc tính cấp, vì vậy không xác định được LD_{50}. Chuột khỏe mạnh bình thường không có biểu hiện khác lạ so với lô chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Việt nam III,(2002), NXB. Y học, trang 454-455.
2. Đậu Xuân Cảnh, Phạm Thị Minh Đức,(2003), Tác dụng của hải mã và hải mã nhân sâm lên trọng lượng chuột và trọng lượng một số cơ quan sinh dục ở chuột đực. Tạp chí Nghiên cứu Y học, phụ bản tập 20 số 4 trang 98-104.
3. Viện Dược liệu, công trình nghiên cứu khoa học (1987-2000). NXB. Khoa học Kỹ thuật, trang 439- 440.
4. Vũ Văn Điền, Đặng Thị Thanh Hoan,(2004), Nghiên cứu về hoá học và tác dụng sinh học của bài thuốc đương quy bổ huyết thang M. Tạp chí Dược học số 3+4/2004, trang 17-20.
5. Archana Sachdewa, L.D.Khemani,(2003), Effect of Hibiscus rosasinensis L. ethanol flower extract on blood glucose and lipid profile in streptozocin induce diabetes in rats. Journal of Ethnopharmacology 89, 61-66.
6. Castiella M, et al., (1990), Neuropharmacological activity of Prunus spinosa stem extract in mice, Phytotherapy research, vol. 4 No. 3, 1990, 101-105.
7. Gerhard Vogel. H,(2002), Drug Discovery and evaluation. Pharmacological Assays, Spinger Verlag Berlin Heidelberg Newyork, 867-868.

8. Ilhan Gurgiiz, Osman Ustun, Erdem Yesilada, Ekrem, Osman Kustsal,(2003), Antiulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. Journal of Ethnopharmacology 88, 2003, 93-97.

9. World Health Organization,(1993), Guidelines for toxicity investigation of herbal medicines. Working group on the safety and efficacy of herbal medicine, 36-40.

KHẢO SÁT HÌNH THÁI-GIẢI PHẪU VÀ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CÁC CÂY SÂM BỐ CHÍNH MỌC HOANG VÀ ĐƯỢC TRỒNG

***(Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr.)**

Phan Văn Đệ, Ngô Văn Tuấn, Trần Công Luận -
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh - Viện Dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Bố Chính là cây thuốc bổ được sử dụng từ lâu ở nước ta và được ghi vào Dược điển Việt Nam III (2002) với tên khoa học *Hibiscus sagittigfolius* (Kurz) Merr. var. *quinquelobus* Gagnep. để chỉ loài sâm Bố Chính mọc hoang có hoa đỏ và được trồng phổ biến ở nước ta hiện nay.

Trên thực tế, các cây sâm Bố Chính mọc hoang và được trồng sử dụng làm thuốc ở các địa phương mang nhiều tên gọi khác nhau, có hình thái ngoài không hoàn toàn giống nhau (dạng cây, biến đổi của lá, màu sắc hoa) và hầu hết chưa có khảo sát về thành phần hóa học của rễ củ là bộ phận dùng chính của cây.

Vì vậy, việc nghiên cứu so sánh hình thái - giải phẫu các cây có nguồn gốc hoang dại hay được trồng ở các địa phương để có sự phân biệt và chuẩn hoá danh pháp sâm Bố Chính trong Dược điển, đồng thời phân tích sơ bộ thành phần hoá học làm cơ sở cho việc kiểm nghiệm tiêu chuẩn hoá nguyên liệu là việc làm cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu: Các mẫu sâm Bố Chính dùng trong nghiên cứu so sánh hình thái - giải phẫu là các mẫu cây tươi và tiêu bản khô, rễ củ dùng trong phân tích thành phần hóa học được thu thập từ các tỉnh Thanh Hoá, Bình Thuận, Bình Phước, Phú Yên, thành phố Hồ Chí Minh. Đồng thời các mẫu cây cũng được gieo trồng từ hạt hoặc từ rễ củ để theo dõi song song cho đến khi cây ra hoa kết quả.

Phương pháp: Dùng phương pháp mô tả, hình thái- giải phẫu học so sánh, sử dụng các khoá phân loại hiện có trong Thực vật chí Việt Nam, Trung Quốc về họ Bông (Malvaceae) để định loại; tham khảo tư liệu và khảo sát các mẫu tiêu bản lưu trữ của cây sâm Bố Chính tại Bảo tàng Thực vật thành phố Hồ Chí Minh.

Trong phân tích thành phần hóa học áp dụng phương pháp chiết xuất phân đoạn, định tính riêng biệt cho từng nhóm hợp chất bằng các phản ứng hoá học đối với các nhóm hợp chất tự nhiên có trong dược liệu và kết hợp phương pháp sắc ký lớp mỏng với các hệ khai triển benzen : aceton (9 : 1) và quan sát dưới tia UV ở bước sóng 365 nm trước và sau khi phun dịch KOH 5% trong cồn; $CHCl_3$: MeOH (9:1), $CHCl_3$:MeOH:H_2O (30:20:10, lớp dưới), dùng thuốc thử vanillin – sulfuric 1% trong cồn để phát hiện.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Trên 6 mẫu khảo sát bao gồm sâm Bố Chính Phú Yên (SBC-PY), sâm Bố Chính Bình Thuận (SBC-BT), sâm Bố Chính Bình Phước (SBC-LN), sâm Bố Chính Tp. Hồ Chí Minh (SBC-KD), sâm Bố Chính Thanh Hoá được gọi là sâm Báo với 2 mẫu hoa vàng và hoa đỏ (SB-HV, SB-HĐ). Đã tiến hành mô tả so sánh hình thái ngoài và giải phẫu các bộ phận rễ , thân, lá và soi bột dược liệu. Các đặc điểm hình thái và giải phẫu của các mẫu được mô tả tóm tắt trong bảng 1 và 2.

***Bảng 1.* Các đặc điểm về hình thái**

	SBC-PY	SBC-BT	SBC-LN	SBC-KD	SB-HV	SBC-HĐ
Hình thái	-Thân thảo, hơi mọc trườn, có lông -Nhiều phiến hình tim, ít khi	-Thân thảo, mọc đứng, rất nhiều lông dài -Nhiều phiến lá hình mũi mác có	-Thân thảo, mọc trườn, có lông -Nhiều phiến lá hình mũi	-Thân thảo, mọc đứng, có lông - Nhiều phiến lá có 5 thùy xẻ	-Thân thảo, mọc đứng, hơi trườn, có lông - Nhiều phiến lá hình mũi	-Thân thảo, mọc đứng, hơi trườn, có lông - Nhiều phiến lá hình mũi

	thùy 5, với 5 gân chính	gốc rộng với 5 gân chính	mác, gốc rất hẹp với 3 gân chính	sâu, 5 gân chính	mác, gốc rộng, 5 gân chính	mác, gốc rộng, 5 gân chính
	- Hoa màu hồng phấn, đường kính hoa 9- 9,2cm.	- Hoa màu vàng tươi, đường kính 8,8-9,2cm.	- Hoa màu vàng nhạt, đường kính hoa 5-6cm.	- Hoa màu đỏ nhạt, đường kính 8,8-9cm.	- Hoa màu vàng nhạt, đường kính 7-8cm.	- Hoa màu vàng nhạt, đường kính 7-8cm.
	- Cánh hoa tròn.	- Cánh hoa tròn	- Cánh hoa tròn.	- Cánh hoa thuôn dài.	-Cánh hoa thuôn dài.	-Cánh hoa thuôn dài.
	- Tâm hoa có màu đỏ cam.	-Tâm hoa có màu đỏ máu.	-Tâm hoa có màu đỏ máu.	-Tâm hoa có màu vàng nhạt.	-Tâm hoa có vòng màu cam-	-Tâm hoa có vòng màu cam-
	- Cột nhị màu vàng đậm, dài 12-14mm	- Cột nhị màu vàng tươi, dài 14-16mm.	- Cột nhị màu vàng đậm, dài 8-10mm	- Cột nhị màu vàng đậm, dài 13-14mm.	-Cột nhị màu vàng đậm, dài 10-12mm.	-Cột nhị màu vàng đậm, dài 10-12mm.
	- Hạt phấn đường kính 10-15µm; gai đơn thẳng, dài 1,25-1,75µm.	-Hạt phấn 8,75-16,25µm; gai cong nhọn, dài 2,25-2,75µm.	- Hạt phấn 11,25-12,5µm; gai cong nhọn, dài 1,5-2,0µm.	- Hạt phấn 11,25-12,5µm; gai đơn thẳng, dài 0,75-1,75µm.	- Hạt phấn 11,5-12,5µm; gai cong nhọn đôi khi chẻ đôi, dài 1,0-1,25 µm.	- Hạt phấn 11,5-12,5µm; gai cong nhọn đôi khi chẻ đôi, đài 1,0-1,25 µm.
	- 5 núm nhụy rời, màu đỏ nhung.	- 5 núm nhụy dính nhau, màu vàng tươi.	- 5 núm nhụy rời, màu đỏ sẫm.	- 5 núm nhụy rời, màu đỏ tươi.	- 5 núm nhụy rời, màu trắng	- 5 núm nhụy rời, màu trắng
	-Quả nang, hình trứng, cao 2-4cm, có lông	- Quả nang, hình trứng, cao 2,5-4,5-4cm, có nhiều lông.	- Quả nang, hình trứng, cao 2,4-4,5cm, có lông	- Quả nang, hình trứng, cao 2,4-4,4cm, có lông	- Quả nang, hình trứng, cao 2,5-3,4cm, có lông.-	- Quả nang, hình trứng, cao 2,5-3,4cm, có lông.-
	- Rễ hình trụ, màu vàng nhạt, có nhiều vân ngang, lõi chắc màu trắng, mang nhiều rễ phụ	- Rễ hình trụ to, màu vàng nhạt, có nhiều vân ngang, lõi chắc màu trắng, ít phân nhánh,ít rễ phụ.	-Rễ hình trụ, màu vàng nhạt, có nhiều vân ngang, lõi chắc màu trắng, mang nhiều rễ phụ	- Rễ hình trụ, màu vàng nhạt, có nhiều vân ngang, lõi chắc màu trắng, mang nhiều rễ phụ	- Rễ hình trụ, màu vàng nhạt, có vân ngang, lõi chắc màu trắng, mang nhiều rễ phụ	- Rễ hình trụ, màu vàng nhạt, có vân ngang, lõi chắc màu trắng, mang nhiều rễ phụ

Bảng 2. **Các đặc điểm về giải phẫu và soi bột dược liệu**

	SBC-PY	SBC-BT	SBC-LN	SBC-KD	SB-HV	SB-HĐ
Vi phẫu thân	- Mô dày góc liên tục quanh thân. - Chùy libe hình thang, kết tầng 2 hoặc 3. - Gỗ 2 ít. - Mô mềm tủy có nhiều túi tiết ly bào.	- Mô dày góc liên tục quanh thân. - Chùy libe hình chữ nhật, kết tầng 2. - Gỗ 2 nhiều -Mô mềm tủy có ít túi tiết ly bào.	- Mô dày góc liên tục quanh thân. - Chùy libe hình chữ nhật, kết tầng 1hoặc 2. - Gỗ 2 nhiều. - Mô mềm tủy có nhiều túi tiết ly bào.	- Mô dày góc không liên tục quanh thân. -Chùy libe hình thang, kết tầng 4. - Gỗ 2 nhiều. - Mô mềm tủy có ít túi tiết ly bào.	- Mô dày góc liên tục quanh thân. -Chùy libe hình chữ nhật, kết tầng 2. - Gỗ 2 nhiều-- -Mô mềm tủy có nhiều túi tiết ly bào.	- Mô dày góc liên tục quanh thân. -Chùy libe hình thang, kết tầng 1 hoặc 2. - Gỗ 2 ít. - Mô mềm tủy có nhiều túi tiết ly bào.
Vi phẫu lá	- Biểu bì có lớp cutin mỏng. - 10 - 13 bó libe gỗ. - Nhiều oxalat calci hình cầu gai ở vùng libe. - Nhiều túi tiết ly bào.	- Biểu bì có lớp cutin mỏng. - 7 -13 bó libe gỗ. - Ít oxalat calci hình cầu gai ở vùng libe. - Nhiều túi tiết ly bào.	- Biểu bì có lớp cutin dày. - 10 -14 bó libe gỗ. - Rất nhiều oxalat calci hình cầu gai ở vùng libe và mô mềm. - Nhiều túi tiết tiêu ly bào.	- Biểu bì có lớp cutin dày. - 15- 17 bó libe gỗ. (+2 bó libe gỗ phụ). - Có nhiều oxalat calci hình cầu gai ở vùng libe. - Nhiều túi tiết ly bào và tiêu ly bào.	- Biểu bì có lớp cutin mỏng. -7- 13 bó libe gỗ. - Có nhiều oxalat calci hình cầu gai ở vùng libe. - Ít túi tiết ly bào.	- Biểu bì có lớp cutin dày. -15- 20 bó libe gỗ. (+2 bó libe gỗ phụ). - Có nhiều oxalat calci hình cầu gai ở vùng libe. - Nhiều túi tiết ly bào .

Vi phẫu rễ	- Bần 4 – 6 lớp. - Ít túi tiết tiêu ly bào ở mô mềm vỏ. - Gỗ 2 ít. - Mô mềm gỗ ít hóa gỗ. - Nhiều oxalat calci hình cầu gai ở mô mềm tũy.	- Bần 10 – 15 lớp. - Nhiều túi tiết tiêu ly bào ở mô mềm vỏ. - Gỗ 2 ít. - Mô mềm gỗ ít hóa gỗ. - Ít oxalat calci hình cầu gai ở mô mềm tũy.	- Bần 3-4 lớp. - Ít túi tiết tiêu ly bào ở mô mềm vỏ. - Gỗ 2 nhiều - Mô mềm gỗ hóa gỗ nhiều. - Ít oxalat calci hình cầu gai ở mô mềm tũy. - Trụ bì hóa mô cứng.	- Bần 6 -10 lớp. -Nhiều túi tiết tiêu ly bào ở mô mềm vỏ. - Gỗ 2 ít. - Mô mềm gỗ ít hóa gỗ. - Ít oxalat calci hình cầu gai ở mô mềm tũy.	- Bần 6 -8 lớp. - Nhiều túi tiết tiêu ly bào ở mô mềm vỏ. - Gỗ 2 nhiều. - Mô mềm gỗ hóa gỗ nhiều. - Ít oxalat calci hình cầu gai ở mô mềm tũy.	- Bần 3 -5 lớp. - Nhiều túi tiết tiêu ly bào ở mô mềm vỏ. - Gỗ 2 nhiều. - Mô mềm gỗ hóa go nhiềuã. - Ít oxalat calci hình cầu gai ở mô mềm tũy.
Soi bột rễ củ	-Hạt tinh bột có kích thước 0,75- 2,0µ m. - Calci oxalat cầu gai 3,0- 3,75µm. - Mạch mạng rộng 2,5 – 3,0 µ m. - Mạch điểm 3,5 – 3,75 µm.	-Hạt tinh bột có kích thước 1,25 - 2,5 µm. - Calci oxalat cầu gai 2,25- 3,75 µm. - Mạch mạng rộng 3,5 – 3,75 µm. - Mạch điểm 4,75 – 5,75µ m.	-Hạt tinh bột có kích thước 1,0- 2,25µ m. - Calci oxalat cầu gai 2,25- 3,75µ m. - Mạch mạng rộng 3,0 – 3,75 µm. - Mạch điểm 3,75 – 5,0 µm. - Tế bào mô cứng rộng 3,0 – 3,75µm	-Hạt tinh bột có kích thước 1,25- 2,0µ m. - Calci oxalat cầu gai 3,25- 3,75µm. - Mạch mạng rộng 3,75 – 4,25 µm. - Mạch điểm 2,5 – 2,75 µm.	-Hạt tinh bột có kích thước 1,25- 1,75 µm. - Calci oxalat cầu gai 2,75- 3,75 µm. - Mạch mạng rộng 2,5 – 3,5 µmµ. - Mạch điểm 3,5 – 4,0µ m. -Mạch vạch 2,5 – 2,75µm.	-Hạt tinh bột có kích thước 0,75- 2,75 µm. - Calci oxalat cầu gai 3,0- 3,75 µm. - Mạch mạng rộng 3,0–3,5µ m. - Mạch điểm 3,5 – 3,75 µm. - Mạch vạch 2,5- 2,75µm.

Nhận xét: 6 mẫu nghiên cứu cho thấy cây sâm Bố Chính có những đặc điểm:

- Dạng cây thảo, mọc đứng hay trườn, phân nhánh nhiều hoặc ít, lông che chở hình sao 3- 4 cạnh nhiều hay ít thay đổi theo môi trường sống.

- Lá có sự đa hình về dạng lá: từ hình trứng hình tim, xẻ thùy, hình mũi mác hay mũi tên.

- Hoa có màu đỏ, màu hồng hay vàng (hoa màu vàng chỉ gặp ở các cây mọc hoang có lá hình mác, hình mũi tên).
- Quả hình trứng nhọn có 5 cạnh, có lông.
- Hạt hình thận, màu nâu hoặc nâu đen, có những vân hình cung.
- Rễ củ có hình trụ dài, đôi khi chẻ 2 hoặc mang nhiều rễ phụ.

Việc khảo sát hình thái bên ngoài cho thấy sự đa hình về dạng cây, dạng lá và màu sắc của hoa, không có sự khác biệt lớn khi khảo sát vi học các bộ phận rễ, thân, lá, bột rễ củ nhưng có thể phân thành 2 nhóm:

- Hoa sắc vàng với phiến lá dạng mũi mác, mũi tên: sâm Bố Chính Lộc Ninh, sâm Bố Chính Bình Thuận, sâm Báo Thanh Hóa hoa vàng.
- Hoa sắc đỏ hay hồng với phiến lá có 3- 5 thùy: sâm Bố Chính TP. HCM, sâm Bố Chính Phú Yên. sâm Báo Thanh Hóa hoa đỏ là dạng trung gian giữa 2 nhóm.

Sâm Bố Chính Lộc Ninh có dạng cây thảo, mọc trườn, lá hình mũi mác hẹp dài, hoa màu vàng cũng có gặp ở vùng rừng thưa rụng lá huyện Chư Prông tỉnh Gia Lai và giống với mẫu thu thập của F. Evrard (No 875, 23 -04-1922 -*Hibiscus sagittifolius* Kurz.) ở Lộc Ninh - Bù Đốp còn lưu mẫu ở Bảo tàng thực vật thành phố Hồ Chí Minh.

Theo danh pháp cũ trước đây các nhà thực vật (Gagnepain, 1923) đã phân biệt 2 loài thứ *Hibiscus sagittifolius* Kurz var. *quinquelobus* Gagnep. và *H. sagittifolius* var. *septentrionalis* Gagnep. Theo danh pháp hiện hành, sâm Bố Chính dựa vào đặc điểm của đài hoa được chuyển sang chi *Abelmoschus* Medik. và xu hướng chung xem sâm Bố Chính có tên khoa học là *Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr. (*A. esquirolii* (Levl.) S. H. Hu, *A. moschatus* Medikus *subsp. tuberosus* (Span.) Borss. Waalk.).

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học kết hợp với sắc ký lớp mỏng của 6 mẫu rễ củ sâm Bố Chính thu thập ở các địa phương khác nhau đều có các thành phần: Saponin, triterpenoid, coumarin, chất nhày, acid béo, chất khử, polyphenol. Trong đó, saponin và triterpenoid lần đầu tiên được phát hiện.

III. KẾT LUẬN

1. Đã khảo sát chi tiết, so sánh các đặc điểm hình thái-giải phẫu các bộ phận rễ, thân, lá, soi bột dược liệu của 6 mẫu sâm Bố Chính mọc hoang và được trồng góp phần bổ sung vào tiêu chuẩn hóa dược liệu và xác định các lòai sâm Bố Chính ở các địa phương khác nhau.
2. Đã khảo sát sơ bộ thành phần hóa học của rễ củ 6 mẫu sâm Bố Chính bằng các phản ứng hóa học và sắc ký lớp mỏng. Saponin và triterpenoid là một phát hiện mới so với trước đây.
3. Dựa trên những khảo sát về thực vật học và sơ bộ đánh giá về thành phần hóa học cho thấy sự đa dạng về hình thái nhưng không có sự khác biệt rõ rệt về lòai, có sự tương đồng về thành phần hóa học vì thế điều này phù hợp với nhận định chung về tên loài *A. sagittifolius* (Kurz) Merr. và bổ sung thêm các nguồn dược liệu khác đạt yêu cầu Dược điển Việt Nam trong đó có sâm Bố Chính Lộc Ninh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Dược liệu, (2004), *Giáo trình phương pháp nghiên cứu dược liệu*, Trường đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, 29 – 45.
2. Bùi Trần Minh Phương, Trần Công Luận, (1997), Sơ bộ khảo sát thành phần hóa học của rễ cây sâm Bố Chính trồng ở Bạc Liêu, luận văn tốt nghiệp dược sĩ đại học.
3. Dược Điển Việt Nam, (2002), in lần thứ ba, NXB. Y học, 454-455.
4. Feng Guomei, (1984), Malvaceae.Fl. Reipubl. Popularis Sin., 49 (2): 1-102
5. Gagnepain F. (1922), Flore general de L'Indochine, T. I, fasc. 3, 434-435.
6. Petelot A., (1952), Les plantes medicinales du Cambodge, du Laos et du Vietnam, T.I, CNRS, 109 – 110.
7. Phạm Hoàng Hộ, (1991), Cây cỏ Việt Nam, I (2), Montreal, 652-674.
8. Viện Dược liệu, (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, II, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, 690-693.
9. Võ Văn Chi, (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học, 1028.

MỘT SỐ TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA SÂM BỐ CHÍNH VÀ THẬP TỬ HARMAND THU HÁI Ở LỘC NINH (BÌNH PHƯỚC)

Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Thái Thảo, Lương Kim Bích,
Trần Đình Hợp, Trần Công Luận
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

Pharmacological effects of *Hibiscus sagittifolius* Kurz. var. *quinquelobus* Gagnep. and *Decaschistia harmandii* Pierre (Malvaceae) grown in Loc Ninh (Binh Phuoc Province)

Hibiscus sagittifolius Kurz. var. *quinquelobus* Gagnep. and *Decaschistia harmandii* Pierre (*Malvaceae*) have been used in ethnomedicine as tonic drugs like ginseng plants. These medicinal plants have widely grown in large scale in Loc Ninh-Binh Phuoc Province and the present study aimed to scientifically verify some ethnopharmacological effects of these plants. The data revealed that ethanol extracts of these plants produced more significant effects than water extracts. Ethanol extract of *Decaschistia harmandii* had enhancing effect on physical strength and increased body weight of mice at the oral doses of 25-50 mg/kg after 7-day administration. Ethanol extract of *Hibiscus sagittifolius* had enhancing effect on physical strength at the oral dose of 50 mg/kg after 14-day administration and it increased body weight of mice at the oral doses of 25-50 mg/kg after 7-day administration.

Keywords: *Hibiscus sagittifolius*, *Decaschistia harmandii*, physical strength, body weight

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong Y học cổ truyền Việt Nam, không chỉ riêng những cây thuốc thuộc họ Nhân sâm (*Araliaceae*) mà những dược thảo khác cũng có tác dụng bồi dưỡng cơ thể, tăng lực, chống oxy hóa. Một số nghiên cứu cho biết họ Bông (*Malvaceae*) ở Việt Nam có 32 loài được dùng làm thuốc, trong đó có một số cây có rễ giống hình người hoặc có tác dụng bồi bổ cơ thể mà nhân dân cũng

gọi là sâm như: Sâm Bố Chính và "sâm ruộng"ù. Tháng 4/2004, Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh phối hợp với Sở Khoa học - Công nghệ tỉnh Bình Phước thu hái hai mẫu trên mọc hoang ở Lộc Ninh được nhân dân trong vùng sử dụng để tăng lực, giải nhiệt, làm trà để tăng cường sức khỏe. Sâm Bố Chính được ghi vào Dược điển Việt Nam năm 1983 với tên khoa học *Hibiscus sagittifolius* Kurz. var. *quinquelobus* Gagnep. chủ trị cơ thể suy nhược, ăn ít, ngủ kém...; và cây "sâm ruộng" đã được Trung tâm Sâm và Dược liệu xác định là thập tử harmand (*Decaschistia harmandii* Pierre) [6]. Tuy nhiên tác dụng dược lý của hai dược liệu trên chưa được khoa học thực nghiệm chứng minh. Để góp phần khẳng định tác dụng của vị thuốc và làm tiền đề cho những ứng dụng lâm sàng chúng tôi tiến hành đề tài "*Nghiên cứu một số tác dụng dược lý của sâm Bố Chính và thập tử harmand ở huyện Lộc Ninh, tỉnh Bình Phước*".

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Cao cồn: Chiết xuất bột dược liệu bằng phương pháp ngấm kiệt qua 2 phân đoạn cồn 95^0 và cồn 45^0 theo tỉ lệ 1:5 cho mỗi loại dung môi. Trộn hỗn hợp 2 dịch chiết này, cô thu hồi cồn dưới áp suất giảm và tiếp theo cô cách thủy để cho ra dạng cao mềm (theo quy định Dược điển Việt Nam III, phụ lục 1.1) [2].

Cao nước: Dược liệu được sắc với nước ở nhiệt độ sôi theo tỉ lệ 1:10 (dược liệu: dung môi) và được cô cách thủy để cho ra dạng cao mềm (theo quy định Dược điển Việt Nam III, phụ lục 1.1) [2].

Bảng 1. **Hàm lượng chất nhụy trong các mẫu cao (Dược điển Việt Nam III)**

Cao toàn phần		Hàm lượng chất nhầy (%)
Sâm bố chính	Cao cồn	20,10
	Cao nước	35,40
Thập tử Harmand	Cao cồn	13,37
	Cao nước	18,32

Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng đực (chủng Swiss albino, 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 20 ± 2 gam) được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp.Hồ Chí Minh và được để

ổn định ít nhất 3 ngày trước khi thử nghiệm. Thể tích cho uống là 0,1 ml/10 g thể trọng (tối đa là 0,2 ml/ 10g thể trọng đối với thử độc tính cấp bất thường đường uống).

2.2. Xác định độc tính cấp của thuốc [1,4]

Độc tính cấp đường uống của thuốc được xác định bằng cách theo dõi số chuột nhắt sống và chết trong thời gian 48 giờ sau khi cho chuột uống một liều duy nhất, đồng thời ghi nhận trạng thái cùng những biểu hiện bất thường của chuột sau khi dùng thuốc. Nếu không có chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu có chuột chết thì phải thử lại với các liều uống khác nhau để từ đó tính ra LD_{50}, là liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm trong những điều kiện nhất định.

2.3. Nghiệm pháp chuột bơi kiệt sức của Brekhman [3]

Chuột được mang vào đuôi gia trọng bằng 5% thể trọng, cho chuột bơi trong thùng nước có dung tích 20 lít, đường kính 30 cm; chiều cao cột nước 25 cm; nhiệt độ 29 ± 1^0C. Chuột được cho bơi lần 1, thời gian bơi tính từ khi chuột được thả vào thùng nước, bơi đến khi chìm khỏi mặt nước 20 giây và không trồi lên được nữa, lúc đó vớt chuột ra lau khô (T_0). Cho chuột nghỉ 5 phút, chia lô thí nghiệm: lô chứng (uống nước cất) và các lô thử (uống các cao thử nghiệm). Sau khi cho chuột uống 60 phút, cho chuột bơi lần 2 (T_{60}). Ghi nhận thời gian bơi lần 2. Tiếp tục cho chuột uống nước cất và cao thử liên tục (mỗi ngày vào một giờ nhất định) đến ngày thứ 7 và ngày thứ 14, sau khi uống thuốc thử 60 phút, tiến hành cho chuột bơi lần 3 ($T_{7ngày}$) và lần 4 ($T_{14ngày}$).

Khảo sát ảnh hưởng của các cao thử nghiệm trên thể trọng chuột trong thực nghiệm bơi kiệt sức của Brekhman [5]

- Xác định thể trọng của chuột trước trước tiến hành cho chuột bơi lần 1 (m_0).

- Cho chuột uống nước cất và các cao thử nghiệm liên tục (mỗi ngày vào một giờ nhất định) đến ngày thứ 7 và ngày thứ 14, xác định thể trọng của chuột sau khi uống các cao thử nghiệm 60 phút $m_{7ngày}$ và $m_{14ngày}$

2.4. Đánh giá kết quả

Áp dụng chương trình MS - EXCEL trong tính toán số liệu và xử lý thống kê bằng phép kiểm Student *t*-test và one way ANOVA với độ tin cậy 95% ($P < 0,05$) theo phần mềm kiểm định SigmaStat – 98.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả khảo sát độc tính cấp đường uống

Qua theo dõi ở các lô cho thấy, chuột ăn uống và hoạt động bình thường, không ghi nhận được tỷ lệ tử vong sau 48 giờ quan sát.

Kết luận: Cao cồn, cao nước của sâm Bố Chính và thập tử harmand không thể hiện độc tính cấp đường uống ở liều tối đa cho uống có thể bơm được qua kim cong cho uống thuốc (theo bảng 2). Từ kết quả về độc tính, đồng thời dựa vào liều tham khảo có tác dụng của các các cây thuốc bổ thuộc họ Nhân sâm chúng tôi sơ bộ chọn liều thử cho các thực nghiệm tiếp theo: 0,50 g/kg thể trọng và 0,25 g/kg thể trọng.

Bảng 2. **Liều tối đa cho uống trong thử nghiệm độc tính cấp đường uống**

Cao toàn phần		Liều uống (g cao/kg thể trọng)	Liều uống (g dược liệu/kg thể trọng)
Sâm Bố Chính	Cao cồn	25	355
	Cao nước	10	99
Thập tử harmand	Cao cồn	30	259
	Cao nước	15	195

3.2. Kết quả khảo sát tác động tăng lực

a. Sâm Bố Chính (Bảng 3)

- Sau 60 phút: Thời gian bơi của các lô không thay đổi đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Như vậy sâm Bố Chính không thể hiện tác dụng tăng lực tức thời.
- Sau 7 ngày: Thời gian bơi sau 7 ngày của các lô thử không thay đổi đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng.
- Sau 14 ngày: Cao cồn liều 0,25 g/kg có thời gian bơi tăng 38,49%; liều 0,50 g/kg tăng 68,75% so với lô chứng. Cao nước liều 0,25 g/kg có thời gian bơi tăng 6,35%; liều 0,50 g/kg tăng 20,16% so với lô chứng.

b. Thập tử harmand (Bảng 4)

- Sau 60 phút: Thời gian bơi của các lô thử không thay đổi đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Như vậy thập tử harmand không thể hiện tác dụng tăng lực tức thời.

- Sau 7 ngày: Thời gian bơi của cao cồn liều 0,50 g/kg tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng.
- Sau 14 ngày: thời gian bơi của cao cồn liều 0,50 g/kg tăng 79,12% so với lô chứng (đạt ý nghĩa thống kê).
- Ba lô thử còn lại có thời gian bơi không thay đổi đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng.

***Bảng 3.* Thời gian bơi của chuột ở các lô thử sâm Bố Chính**

Lô	n	Liều (g /kg)	T_0 (phút)	T_{60} (phút)	$T_{7ngày}$ (phút)	$T_{14ngày}$ (phút)
Đối chứng	13	0	41,31 ± 4,15	18,77 ± 1,99 #	43,38 ± 4,36	43,77 ± 4,52
Cao cồn	14	0,25	40,87 ± 4,40	23,53 ± 2,23 #	48,93 ± 6,42	53,33 ± 4,87
	15	0,50	41,71 ± 3,91	20,57 ± 2,22 #	60,00 ± 8,38	74,71 ± 9,51 #*
Cao nước	12	0,25	39,33 ± 4,10	19,25 ± 4,04 #	42,92 ± 3,49	43,58 ± 4,50
	12	0,50	40,42 ± 2,29	21,25 ± 3,25 #	48,08 ± 5,72	54,00 ± 6,29

# P< 0,05: so sánh với T_0 * P< 0,05: so sánh với lô chứng tương ứng

***Bảng 4.* Thời gian bơi của chuột ở các lô thử thập tử harmand**

Lô	n	Liều (g /kg)	T_0 (phút)	T_{60} (phút)	$T_{7ngày}$ (phút)	$T_{14ngày}$ (phút)
Đối chứng	18	0	39,78 ± 2,99	18,44 ± 1,87#	40,78 ± 3,01	46,56 ± 6,06
Cao cồn	10	0,25	41,40 ± 5,06	20,20 ± 2,87 #	49,80 ± 6,92	62,60 ± 5,74 #
	12	0,50	40,58 ± 3,99	22,67 ± 3,21 #	60,25 ± 8,54 #*	78,42 ± 7,61#*
Cao nước	10	0,25	40,70 ± 4,26	18,90 ± 2,31 #	44,90 ± 7,47	45,70 ± 4,13
	12	0,50	40,58 ± 4,00	18,83 ± 1,68 #	45,75 ± 4,93	47,00 ± 4,92

# P< 0,05: so sánh với T_0 * P< 0,05: so sánh với lô chứng tương ứng

3.3. Khảo sát ảnh hưởng của cao thử nghiệm trên thể trọng chuột trong thực nghiệm chuột bơi kiệt sức của Brekhman

a. Sâm Bố Chính

- Cao cồn: Ở hai liều 0,25 g/kg và 0,5 g/kg chuột đều có thể trọng tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sau 7 ngày, 14 ngày uống.
- Cao nước: Ở liều 0,25 g/kg và liều 0,50 g/kg chưa thể hiện tác dụng tăng trọng sau các ngày thử nghiệm.

Bảng 5. **Trọng lượng trung bình của chuột (trong thực nghiệm chuột bơi kiệt sức của Brekhman) ở các lô thử sâm Bố Chính**

Lô	n	Liều (g/kg)	m_0 (g)	$m_{7ngày}$ (g)	$m_{14ngày}$ (g)
Đối chứng	13	-	20,15 ± 0,50	22,23 ± 0,61 #	24,23 ± 0,53#
Cao cồn	14	0,25	21,33 ± 0,49	24,00 ± 0,29 #*	26,47 ± 0,32 #*
	15	0,50	21,36 ± 0,44	24,43 ± 0,44 #*	28,07 ± 0,49 #*
Cao nước	12	0,25	20,83 ± 0,53	22,83 ± 0,60 #	24,58 ± 0,47 #
	12	0,50	20,42 ± 0,62	22,83 ± 0,56 #	24,92 ± 0,38 #

# P< 0,05: so sánh với m_0

* P< 0,05: so sánh với lô đối chứng tương ứng

b. Thập tử harmand

- Cao cồn: Ở liều 0,5 g/kg chuột có thể trọng tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sau 7 ngày, 14 ngày uống.
- Cao nước: Ở liều 0,25 g/kg và liều 0,50 g/kg chưa thể hiện tác dụng tăng trọng sau các ngày thử nghiệm.

Bảng 6. **Trọng lượng trung bình của chuột (trong thực nghiệm chuột bơi kiệt sức Brekhman) ở các lô thử thập tử harmand**

Lô	n	Liều (g /kg)	m_0 (g)	$m_{7ngày}$ (g)	$m_{14ngày}$ (g)
Chứng	18	0	20,72 ± 0,40	22,50 ± 0,50 #	23,94± 0,73 #
Cao cồn	10	0,25	21,20 ± 0,59	23,90 ± 0,57 #	25,30 ± 0,60 #
	12	0,50	21,58 ± 0,23	25,00 ± 0,44 #*	26,83 ± 0,52#*
Cao nước	10	0,25	21,40 ± 0,73	23,80 ± 0,68 #	24,70 ± 1,07 #
	12	0,50	21,00 ± 0,44	23,50 ± 0,54 #	25,17 ± 0,47 #

# P< 0,05: so sánh với m_0

* P< 0,05: so sánh với lô chứng tương ứng

IV. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

- Những nghiên cứu gần đây về hóa thực vật trên sâm Bố Chính ở Lộc Ninh cho thấy sự hiện diện của các saponin triterpen (công bố mới), được xem là nhóm hợp chất có tác dụng quyết định những tác dụng dược lý điển hình của các cây thuốc họ Nhân sâm (*Araliaceae*), trong đó có tác dụng tăng lực, chống nhược sức. Điều này gợi mở hướng nghiên cứu tiếp tục trên dạng cao cồn và những hợp chất chủ yếu hiện diện trong cao cồn của các nguyên liệu sâm bố chính và thập tử harmand như: triterpenoid, coumarin và chất béo.
- Phối hợp hai kết quả của tác động tăng lực và tăng trọng, có thể rút ra nhận định rằng cách sử dụng theo kinh nghiệm dân gian dùng phương pháp sắc-hãm với nước của các nguyên liệu sâm bố chính và thập tử harmand chưa thể thấy rõ hiệu lực bổ-tăng trọng hoặc tăng lực ở những khoảng liều thấp.

Kết quả thử nghiệm trên là bước khởi đầu thăm dò những tác dụng dược lý tiêu biểu của họ Nhân sâm trên hai cây thuốc mang tên "sâm": sâm Bố Chính và thập tử harmand. Cao chiết cồn thể hiện tác dụng tăng lực và tăng trọng điển hình hơn cao chiết nước với thời gian sử dụng sau 7 - 14 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, (1998), Hướng dẫn nghiên cứu đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền Việt Nam, Trong: Chiến lược phát triển Khoa học - Công nghệ ngành Y tế đến năm 2020, trang 140 - 145, 158 – 162.
2. Bộ Y tế, (2002), Dược điển Việt Nam III phụ lục 1.1, phụ lục 5.16, phụ lục 7.5, phụ lục 7.6.
3. Brekhman I.I, (1976), *Eleutherococcus senticosus*, The New medicinal herb of the Araliaceae Family, In: Proceeding II- International Pharmacological Meeting, Prague, Vol. 7, 97 – 102.
4. Đỗ Trung Đàm, (1996), Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, trang 7 - 11.
5. Pulok K. Mukherjee, 2002, Quality control of herbal drugs, Business Horizons Pharmaceutical Publishers, 571 - 575.
6. Trần Quang Vinh, (2004), Điều tra khảo sát đặc điểm sinh học, vi học và xác định thành phần hóa học từ rễ cây thập tử harmand *(Decaschistia harmandii Pierre, Malvaceae)*, Khóa luận Cử nhân Khoa học Đại học Khoa học tự nhiên, trang 38 - 39, 62 - 78.

NGHIÊN CỨU SỰ TĂNG TRƯỞNG VÀ TÍCH LŨY HOẠT CHẤT CỦA SÂM VIỆT NAM TRỒNG Ở TRÀ LINH – QUẢNG NAM

Trần Công Luận[1], Võ Thị Thu Thuỷ[1], Phan Văn Đệ[1], Đỗ Thanh Phú[1], , Đặng Ngọc Phái[2]

(1) Trung tâm Sâm và Dược Liệu Tp. Hồ Chí Minh - Viện Dược liệu, (2) Sở Y tế Quảng Nam

SUMMARY

Study on the growth of plant and the accumulation of some main components of cultivated Vietnamese ginseng at Tra Linh of Quang Nam province.

Bảng 6. **Trọng lượng trung bình của chuột (trong thực nghiệm chuột bơi kiệt sức Brekhman) ở các lô thử thập tử harmand**

Lô	n	Liều (g /kg)	m_0 (g)	$m_{7ngày}$ (g)	$m_{14ngày}$ (g)
Chứng	18	0	20,72 ± 0,40	22,50 ± 0,50 #	23,94± 0,73 #
Cao cồn	10	0,25	21,20 ± 0,59	23,90 ± 0,57 #	25,30 ± 0,60 #
	12	0,50	21,58 ± 0,23	25,00 ± 0,44 #*	26,83 ± 0,52#*
Cao nước	10	0,25	21,40 ± 0,73	23,80 ± 0,68 #	24,70 ± 1,07 #
	12	0,50	21,00 ± 0,44	23,50 ± 0,54 #	25,17 ± 0,47 #

# P< 0,05: so sánh với m_0

* P< 0,05: so sánh với lô chứng tương ứng

IV. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

- Những nghiên cứu gần đây về hóa thực vật trên sâm Bố Chính ở Lộc Ninh cho thấy sự hiện diện của các saponin triterpen (công bố mới), được xem là nhóm hợp chất có tác dụng quyết định những tác dụng dược lý điển hình của các cây thuốc họ Nhân sâm (*Araliaceae*), trong đó có tác dụng tăng lực, chống nhược sức. Điều này gợi mở hướng nghiên cứu tiếp tục trên dạng cao cồn và những hợp chất chủ yếu hiện diện trong cao cồn của các nguyên liệu sâm bố chính và thập tử harmand như: triterpenoid, coumarin và chất béo.
- Phối hợp hai kết quả của tác động tăng lực và tăng trọng, có thể rút ra nhận định rằng cách sử dụng theo kinh nghiệm dân gian dùng phương pháp sắc-hãm với nước của các nguyên liệu sâm bố chính và thập tử harmand chưa thể thấy rõ hiệu lực bổ-tăng trọng hoặc tăng lực ở những khoảng liều thấp.

Kết quả thử nghiệm trên là bước khởi đầu thăm dò những tác dụng dược lý tiêu biểu của họ Nhân sâm trên hai cây thuốc mang tên "sâm": sâm Bố Chính và thập tử harmand. Cao chiết cồn thể hiện tác dụng tăng lực và tăng trọng điển hình hơn cao chiết nước với thời gian sử dụng sau 7 - 14 ngày.

Studying on the growth of plant and the accumulation of some main components of Vietnamese ginseng root shows that there are an enhanced linear accumulation of the aerial part, root mass, and the saponin component from their first year of life onwards. However, the major development of weight of roots occurs between the 3rd and 4thyear of life and the highest yield of saponin is at the 5th year of life. Therefore the best time for harvesting the roots is at the end of August of the 5th year after gathering seeds.

Key words: Panax vietnamensis Ha et Gruvsh., cultivated Vietnamese ginseng

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Việt Nam (SVN), còn được gọi là sâm đốt trúc, sâm Khu 5, sâm Ngọc Linh, củ ngải rọm con là một loài sâm quý hiếm và đặc hữu của nước ta. Chúng mọc hoang dại ở vùng núi Ngọc Linh thuộc 2 tỉnh Kon Tum và Quảng Nam ở độ cao 1500 – 2000 m và được phát hiện từ năm 1973. Cho đến nay qua nhiều công trình nghiên cứu cho thấy SVN có nhiều mặt tương đồng với sâm Triều Tiên (STT) về thành phần hoá học cũng như các tác dụng dược lý đặc trưng của sâm như tăng lực, chống nhược sức, sinh thích nghi...[1]. Ngoài ra sự hiện diện của hợp chất saponin chính yếu majonosid R2 cùng với 26 saponin dammaran mới đã làm cho SVN còn có nhưng tác dụng đặc thù so với STT như kháng khuẩn, chống stress tâm lý [1-4].Vì vậy, ở nước ta SVN trở thành đối tượng đầy triển vọng phục vụ cho ngành dược. Tuy nhiên, cây SVN có vùng phân bố rất hẹp, rất khó phát triển vùng trồng trong khi sâm tự nhiên ngày càng hiếm [5]. Mặc dù các ngành chức năng đã có chủ trương khoanh vùng bảo vệ, nhưng do giá trị kinh tế cao, nguồn sâm tự nhiên của Việt Nam vẫn bị khai thác đến mức báo động. Hơn nữa môi trường sống của SVN ngày càng bị thu hẹp do nạn khai thác rừng bừa bãi của con người. Với những lý do đã nêu trên, việc trồng trọt cây SVN là hết sức cấp bách nhằm duy trì nguồn giống của loài sâm quý này và tiến tới việc tạo nguồn nguyên liệu ổn định và có giá trị thương phẩm cao.

Hiện nay SVN đang được trồng dưới tán rừng tự nhiện ở trại trồng sâm thuộc xã Trà Linh – Quảng Nam và đã có thu hoạch để bán ở dạng nguyên liệu (sâm thương phẩm) nhưng việc khảo sát về sự phát triển và tích lũy hoạt chất của SVN trồng chưa mang tính hệ thống.Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu vấn đề trên một cách có hệ thống hơn, đồng thời dựa trên quy trình định lượng saponin toàn phần mà Trung tâm Sâm và Dược liệu đã xây

dựng để tiến hành khảo sát sự tích lũy hoạt chất của SVN qua các năm tuổi nhằm xác định thời điểm thu hái sâm hợp lý và đạt hiệu quả kinh tế.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

275 cây SVN từ 1-3 tuổi được thu thập vào tháng 5/2000 và 30 cây SVN từ 4-6 tuổi được thu thập vào tháng 5/2001 tại trại trồng sâm ở Trà Linh - Quảng Nam. Các mẫu nguyên liệu được cân đo tại chỗ, phơi ở nơi thoáng mát.

Thân rễ và rễ củ SVN thương phẩm do Sở Y tế Quảng Nam cung cấp, vào tháng 5/2000.

Thân rễ và rễ củ SV tự nhiên do TTS & DL cung cấp. Mẫu thu thập ở Kon Tum vào những năm 90.

Các mẫu nguyên liệu được sấy ở 60^0C, sau đó xay thành bột và xác định độ ẩm [6].

***Bảng 1.* Độ ẩm trong các mẫu nguyên liệu**

Mẫu	Độ ẩm (%)
S1 (Sâm 1năm tuổi)	11,51
S2 (" 2 ")	12,62
S3 (" 3 ")	8,81
S4 (" 4 ")	12,98
S5 (" 5 ")	12,72
S6 (" 6 ")	13,79
Sâm TN (tự nhiên)	11,14
Sâm TP (thương phẩm)	10,81

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Dụng cụ, thiết bị

- Máy đo quang UV-Vis Heλiosγ (Unicam Limitted – Anh), độ dày cuvette 1cm. Đo ở λ_{max}= 544nm
- Máy quang phổ cách tử DOC.8 dùng trong phân tích khoáng đa vi lượng. Hệ chiếu sáng 3 thấu kính. Độ rộng khe máy: 10 micromet. Cường độ 12A cho phổ 1 (xác định chất dễ bay hơi), cường độ 18.20A cho phổ 2 (xác định chất khó bay hơi).
- Chất chuẩn Ginsenosid-Rg_1 (Nacalai Tesque,inc. Kyoto, Japan) và các hoá chất đạt tiêu chuẩn dùng trong phân tích.

2.2.2. Khảo sát các chỉ tiêu về sự tăng trưởng của SVN trồng qua các năm tuổi

Đo đếm và dùng thống kê để xác định các chỉ tiêu tăng trưởng như chiều cao thân, chiều dài cuống lá kép, số lá kép, tỉ lệ nở hoa, trọng lượng thân rễ trên các mẫu nguyên liệu tươi.

2.2.3. Xác định thành phần đa vi lượng

Theo phương pháp định lượng gần đúng và kết qủa được tính theo % khối lượng tro hoá của mẫu khảo sát. Thực hiện tại Trung tâm Phân tích thí nghiệm thuộc Liên đoàn Địa chất 6 Tp. Hồ Chí Minh.

2.2.4. Định lượng saponin toàn phần bằng phương pháp đo quang

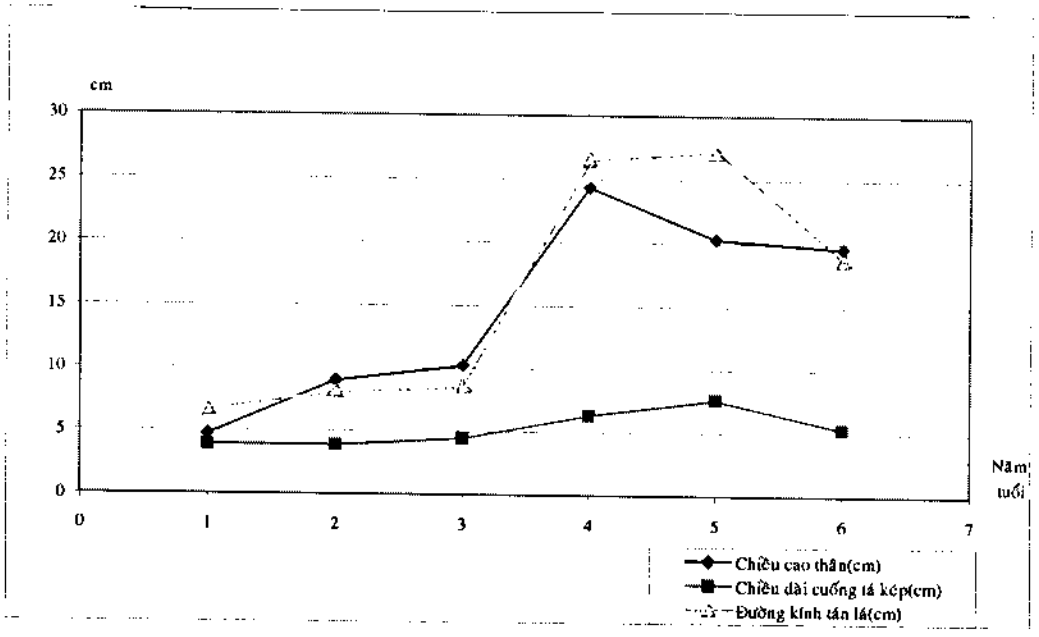
Định lượng saponin TP theo phương pháp đo quang của Hiai [7] và có bổ sung phần tinh khiết hoá saponin qua sắc ký giấy và thời gian ổn định mẫu trước khi đo quang theo quy trình xây dựng của TT. Sâm & Dược liệu Tp.Hồ Chí Minh [1]. Thực hiện trên 2 mẫu cho mỗi loại sâm trồng, mỗi mẫu khảo sát được lập lại 6 lần cùng 1 nồng độ. Tính toán và xử lý thống kê bằng Excel [8] trên cơ sở đối chiếu với đường cong chuẩn ginsenosid-Rg1 được xây dựng trong cùng phương pháp với phương trình hồi quy: $y = 4,205x - 0,0029$ ($R^2 = 0,9929$) trong khoảng tuyến tính từ 0,02 –0,16 mg của chất chuẩn.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

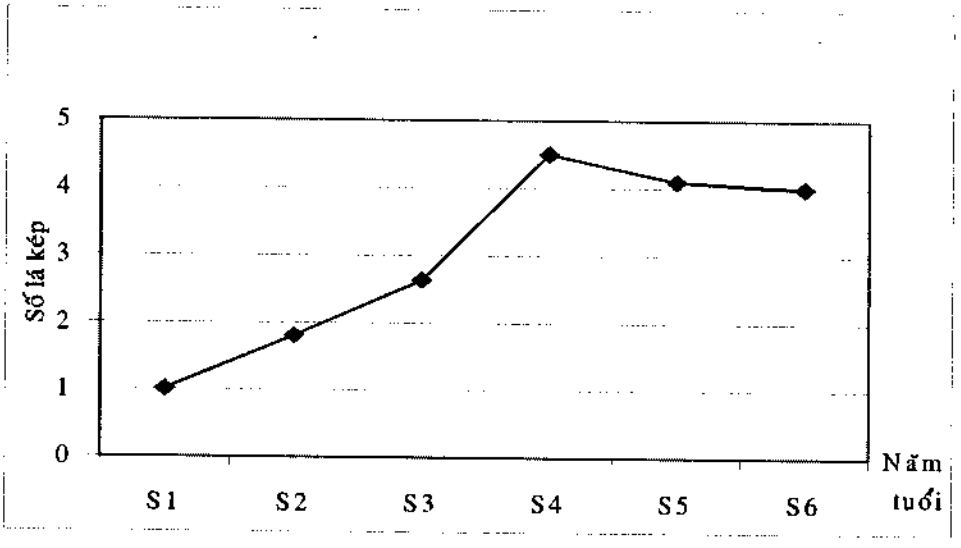
3.1. Kết quả khảo sát sự tăng trưởng của SVN trồng qua các năm tuổi

Bảng 2. **Sự tăng trưởng của các SVN trồng (số liệu trung bình)**

Mẫu	Chiều cao thân (cm)	Chiều dài cuống lá kép (cm)	Đường kính tán lá (cm)	Số lá kép	Hoa (%)	Trọng lượng rễ củ (g)
S1	4,69	3,87	6,63	1,01	-	0,52
S2	9,01	3,85	8,12	1,81	3,15	2,86
S3	10,19	4,43	8,56	2,64	36,25	6,01
S4	24,3	6,3	26,5	4,5	60	49,26
S5	20,3	7,6	27,1	4,1	100	60,06
S6	19,6	5,3	18,8	4	80	71,88

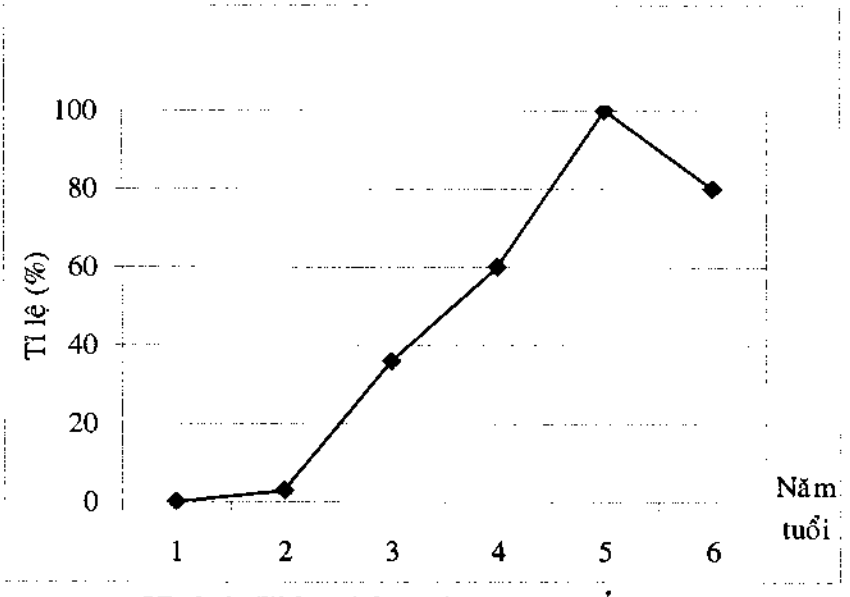


Hình 1. Tăng trưởng của các bộ phận trên mặt đất



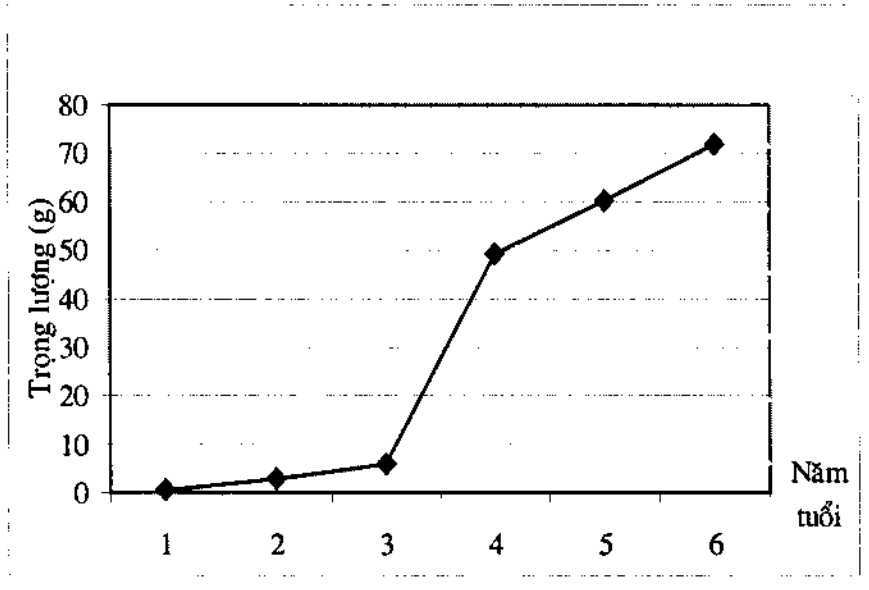
Nhận xét

Biểu đồ hình 1 và 3 cho thấy chiều cao thân, đường kính tán lá, số lá kép có chiều hướng tăng mạnh vào năm thứ 3 đến năm thứ 4. Khá ổn định vào năm thứ 4 – 5. Chiều dài cuống lá kép thay đổi không đáng kể qua các năm tuổi. nhìn chung, sinh khối phần trên mặt đất giảm đáng kể vào năm thứ 6.



Hình 3. Tỉ lệ nở hoa theo năm tuổi (%)

Nhận xét: Biểu đồ (hình 3) cho thấy tỉ lệ nở hoa tăng khá đều, bắt đầu nở hoa từ năm thứ 2 và đến năm thứ 5 đạt 100%. Năm thứ 6 có tỉ lệ nở hoa giảm.



Hình 4. Trọng lượng rễ củ theo năm tuổi (g)

Nhận xét: Trọng lượng trung bình của thân rễ và rễ củ (hình 4) tăng dần theo năm tuổi, nhưng tăng mạnh từ năm thứ 3 đến năm thứ 4 (tăng gấp 5 lần). Từ năm thứ 4 đến năm thứ 6, trọng lượng tăng chậm lại, nhưng vẫn tăng tuyến tính.

3.2. Xác định các nguyên tố khoáng đa vi lượng của SVN

Bảng 3. **Tỉ lệ % các nguyên tố khoáng đa vi lượng của các mẫu SVN**

Nguyên tố	%						
	S2	S3	S4	S5	S6	Sâm TN	Sâm TP
Al	0,3	0,5	1,5	1	0,05	0,7	0,5
Si	0,07	0,1	0,15	0,1	0,03	1	0,07
Mg	3	>3	>3	3	1	>3	>3
Ca	5	>5	>5	3	1	>5	5
Ba	0,015	0,02	0,05	0,05	0,01	0,05	0,015
Fe	0,3	0,7	1	1	0,02	0,3	0,3
V	0,001	0,0005	0,0005	0,0005	-	-	0,0003
Mn	0,05	0,05	0,05	0,05	0,03	0,1	0,05
Ti	0,05	0,1	0,3	0,3	0,01	0,05	0,05
Ni	0,001	0,015	0,015	0,002	-	0,002	0,002
Cr	0,001	0,0005	0,001	0,005	-	0,002	0,002
Sn	0,0003	0,0003	0,0005	0,0005	0,0005	0,0003	0,0003
Cu	0,005	0,005	0,005	0,005	0,002	0,003	0,005
Pb	0,002	0,005	0,003	0,005	-	0,001	-
Zn	-	-	-	0,003	-	-	-
Ga	0,0003	0,0005	0,0005	0,0002	-	0,0002	0,0001
Zr	0,001	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001	0,002
P	0,2	0,2	0,2	0,3	0,15	0,1	0,3
Na	0,2	0,3	0,3	0,007	0,03	0,5	0,1
La	-	-	0,003	-	0,003	-	-

Nhận xét

Kết quả phân tính các nguyên tố khoáng đa vi lượng (bảng 3) cho thấy:

Trong các mẫu khảo sát phát hiện được 20 nguyên tố khoáng đa và vi lượng. Trong đó có các nguyên tố có tác dụng sinh học như Ca, P, Mg, Na, Fe, Mn, Cr,

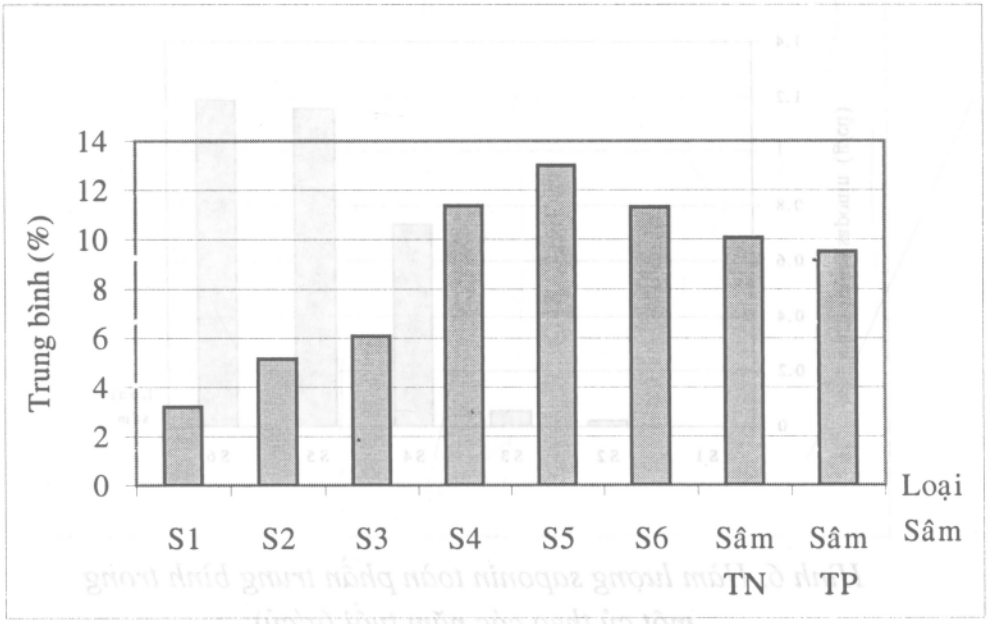
Cu, Zn, Ni, Al. Một số nguyên tố có hàm lượng tương đối cao trong tất cả các mẫu khảo sát như Ca, Mg, Al, Fe, Na, P.

Hàm lượng các nguyên tố khoáng giữ ổn định hoặc tăng ít trong những năm từ 2 đến 4. Vào năm thứ 6, hầu hết hàm lượng các nguyên tố khoáng đều có xu hướng giảm mạnh.

3.3. Kết quả định lượng saponin toàn phần trong các mẫu SVN

Bảng 4. **Bảng tổng hợp hàm lượng saponin trung bình (% tính theo khối lượng khô tuyệt đối) của các loài sâm**

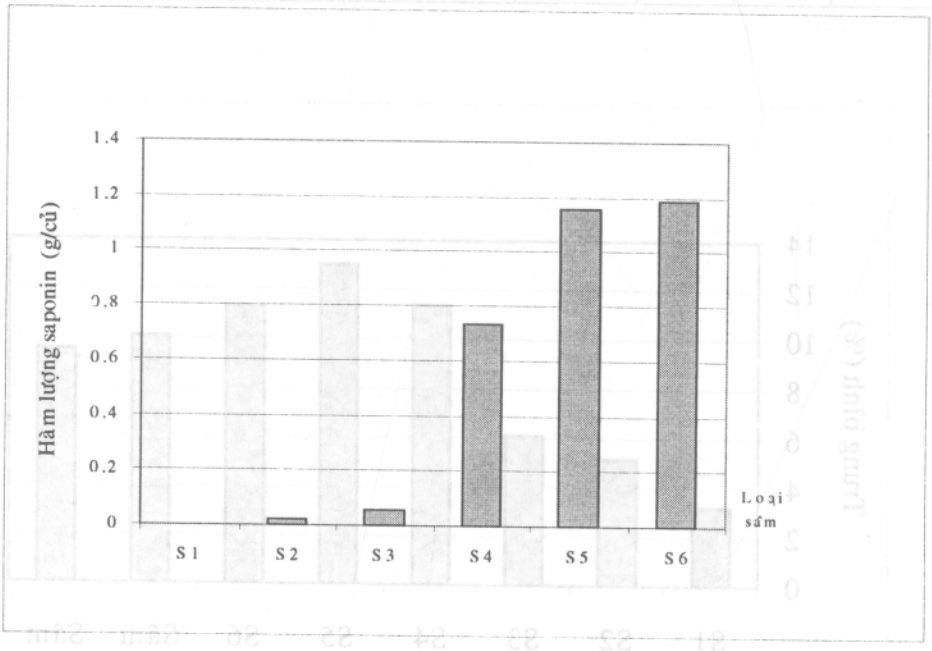
Loài sâm	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Sâm TN	Sâm TP
%	3,2	5,17	6,093	11,35	13	11,3	10,08	9,5



Hình 5. Hàm lượng saponin trung bình (% theo khối lượng khô kiệt)

***Bảng 5.* Lượng saponin toàn phần trung bình trong 1 của (g/củ)**

Loài sâm	% saponin toàn phần trung bình	Trọng lượng khô kiệt trung bình của 1 củ (g/củ)	Hàm lượng saponin toàn phần trung bình trong 1 củ (g/củ)
S1	2,90	0,077	0,0022
S2	4,82	0,42	0,0202
S3	6,38	0,91	0,0581
S4	10,10	7,25	0,7322
S5	11,72	9,87	1,1568
S6	10,03	11,86	1,1896



Hình 6. Hàm lượng saponin toàn phần trung bình trong một củ theo các năm tuổi (g/củ)

Nhận xét

Biểu đồ (hình 5) cho thấy hàm lượng saponin trung bình (%) tăng dần từ năm 1 đến năm thứ 5. Đến năm thứ 6 thì % saponin toàn phần giảm, có thể đây là giai đoạn cây chỉ tích lũy các chất dinh dưỡng, do đó trọng lượng khô trung bình của rễ củ tăng nhiều hơn so với lượng saponin mới được tổng hợp thêm và tỷ lệ % saponin trung bình giảm hơn so với năm thứ 4 và 5. Tuy nhiên, khối lượng trung bình saponin toàn phần được tích lũy trong mỗi củ vẫn tăng (bảng 5, hình 6).

Lượng saponin toàn phần tăng nhanh từ năm thứ 3 lên năm thứ 4 (1,2291g). Từ năm thứ 4 đến năm thứ năm tăng tương đối cao (0,4602g). Năm thứ 5 đến năm thứ 6 tăng không đáng kể (0,051g).

IV. KẾT LUẬN

- Các chỉ tiêu khảo sát về sự tăng trưởng ở phần trên mặt đất của sâm trồng qua các năm tuổi diễn ra mạnh nhất từ năm thứ 3-4.

- Phần dưới mặt đất (thân rễ và rễ củ) có sinh khối tăng dần đến năm thứ 6 và có mức tăng mạnh nhất từ năm thứ 3-4.

- Cây SVN bắt đầu có hoa từ năm thứ 2 và hoạt động sinh sản tăng đều từ năm thứ 3 đến năm thứ 5, sau đó có chiều hướng giảm ở năm thứ 6 .

- Hoạt chất saponin và các nguyên tố khoáng phần dưới mặt đất được tích lũy nhiều nhất từ năm thứ 4-5.

- Sự tích lũy các nguyên tố khoáng đa-vi lượng và hàm lượng % saponin toàn phần của phần dưới mặt đất đều giảm ở năm thứ 6.

- Sự tích lũy hoạt chất saponin tăng vọt từ năm thứ 3 lên năm thứ 4, hàm lượng saponin toàn phần tăng không đáng kể ở những năm còn lại. Điều này cũng tương tự như sự tích lũy saponin trong STT qua các năm trồng, nhưng giai đoạn tăng vọt về hoạt chất lại xảy ra từ năm thứ 4 lên năm thứ 5 [9].

- Ở SVN thì hàm lượng % saponin toàn phần cao nhất là ở năm thứ 5 và hàm lượng saponin toàn phần trung bình trong một củ có cao hơn ở sâm 6 năm tuổi, nhưng không đáng kể so với saponin toàn phần trung bình trong một củ ở sâm 5 tuổi.Tuy nhiên hiện tượng giảm sút các nguyên tố đa vi lượng và hàm lượng % saponin toàn phần trong sâm 6 năm tuổi cần tiếp tục theo dõi thêm. Vì hiện nay sâm được trồng dưới tán rừng tự nhiện nên điều kiện về địa hình không đồng đều và chế độ chăm sóc chưa phù hợp cho từng năm tuổi .

- Sâm tự nhiên thu hái ở Kon Tum trong những năm 90 và sâm thương phẩm do Sở Y tế Quảng Nam cung cấp vào năm 2000 có hàm lượng saponin toàn phần tương tự nhau và thấp hơn so với hàm lượng saponin của sâm trồng từ 4 năm tuổi trở lên. Điều này cho thấy muốn thu được sâm TP có chất lượng tốt cần phải xác định được độ tuổi thích hợp và thời vụ thích hợp cho việc thu hoạch.

Chúng tôi đề nghị thời gian sau thu hạt vào cuối mùa thu của sâm trồng 5 năm tuổi là thời gian thu hái nhằm đáp ứng chỉ tiêu của loại sâm TP đồng thời đảm bảo được nguồn giống cho các mùa trồng trọt sau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nham, N. T., (1989), *Herba Polonica*, Tom XXXV, Supplement II.
2. Duc,N.M., Kasai, R., Yamasaki,K., Nham, N.T and Tanaka, O., (1997), Proceedings of Pharma Indochina, 273-283;
3. Huong, N.T.T., Nham N. T, Matsumoto K., Yamasaki K., Watanabe H., (1999), Pharmacological research on traditional herbal medicine, Watanabe H., Shibuya T., Eds., Harwood Academic Publiher, Amsterdam, 77-92;
4. Tran L.Q., Adnyana I.K., Tezuka Y., Nagaoka T., Tran K.Q., Kadota S., (2001), J.Nat. Prod. 64, 456-461;
5. Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Viết Tựu, Võ Văn Chín, (1998), Tạp chí Dược liệu, tập 3, số 1, 1998, 3-7;
6. Dược điển Việt Nam, (1971), Tập I. NXB. Y học, 71;
7. S. Hiai, H. Oura, Y. Odaka and T. Nakajima, (1975), Planta Medica, vol. 28;
8. Đặng Văn Giáp, (1997), Phân tích dữ liệu khoa học bằng chương trình MS- Excel. NXB. Giáo dục, 48- 66;
9. Soldati, F. and. Tanaka, O., (1984), Planta Medica. 351-352.

TÁC DỤNG BẢO VỆ GAN CỦA SÂM VIỆT NAM TRONG TỔN THƯƠNG GAN THỰC NGHIỆM BẰNG ETHANOL

Nguyễn Thị Thu Hương, Bùi Thị Kim Cúc
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

Protective effect of Vietnamese ginseng on ethanol-induced hepatotoxicity

At the dose of 3.6 g/kg, EtOH induced the increase in lipid peroxidation after 15 days of administration and reached the peak on day 30th. At the dose of 1.8 g/kg, EtOH induced the increase in lipid peroxidation after 30 days of

administration. Treatment with Vietnamese ginseng root extract (100 mg/kg, p.o.) as well as leaves extract (600 mg/kg, p.o.) for 15 days from the 16th day of EtOH intoxication significantly attenuated the EtOH-induced increase of malonyl dialdehyde (MDA) content in the liver homogenate, whereas they had no effect on the MDA content in the liver homogenate of EtOH-untreated control animals. The standard drugs silymarin (100 mg/kg, p.o.) or vitamin E (25 mg/kg, p.o.) also produced similar effects on the EtOH-induced increase of MDA content in the liver.

Keywords: Vietnamese ginseng, ethanol-induced hepatotoxicity, malonyl dialdehyde

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xơ gan là bệnh rất thường gặp ở nước ta cũng như trên thế giới, chiếm hàng đầu trong các bệnh về gan mật. Trong đó, tổn thương gan bằng ethanol là nguyên nhân gây xơ gan hay gặp nhất. Tập quán uống rượu và các thức uống có cồn trong cộng đồng ngày càng nhiều là nguyên nhân gây tổn thương gan bởi ethanol ngày càng phổ biến.

Những nghiên cứu gần đây trên thế giới đã có những công bố về tác dụng bảo vệ tế bào gan của một số cây thuốc thuộc họ Araliaceae (họ Nhân sâm) như nhân sâm (*Panax ginseng*), sâm Mỹ (*Panax qiunquefolius*), sâm Nhật (*Panax japonicus*), tam thất (*Panax notoginseng*), *Aralia elata* và ở Việt Nam là thân rễ – rễ sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*) [1,2,3,4,6,7]. Đây là tiền đề quan trọng để đề tài này tiếp tục nghiên cứu tác dụng bảo vệ tế bào gan theo hướng chống oxy hoá của sâm Việt Nam, dựa trên chỉ tiêu quan sát định lượng hàm lượng malonyl dialdehyd (MDA), sản phẩm của quá trình peroxy hoá lipid trên mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng ethanol.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Bột rễ và thân rễ sâm Việt Nam (5 năm tuổi được cung cấp bởi Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh) được kiểm định và kiểm tra độ tinh khiết theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam III. Sau đó được chiết bằng ethanol 96%, 48%, 24% và nước theo phương pháp ngấm kiệt và các dịch chiết được tập trung lại, cô giảm áp cho ra dạng cao mềm và được đông khô để cho ra bột chiết toàn phần rễ–thân rễ sâm Việt Nam (gọi tắt: ***bột***

chiết sâm Việt Nam), có hiệu suất chiết 56,2%, hàm lượng saponin toàn phần tinh khiết quy ra chuẩn ginsenosid-Rg1: 13,2%.

- Bột lá sâm Việt Nam (5 năm tuổi được cung cấp bởi Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh) được kiểm định và kiểm tra độ tinh khiết theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam III. Sau đó được chiết bằng ethanol 45% theo phương pháp ngấm kiệt và dịch chiết được cô giảm áp cho ra dạng cao mềm (gọi tắt: ***cao lá sâm Việt Nam***), có hiệu suất chiết 41,2%, hàm lượng saponin toàn phần qui ra chuẩn ginsenosid-Rg1: 14,22%.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng đực (chủng Swiss albino, trọng lượng trung bình 20 ± 2 g) được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh và được để ổn định ít nhất một tuần trước khi thử nghiệm. Thể tích cho uống hay tiêm là 10 ml/kg thể trọng chuột.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thăm dò mô hình gây tổn thương gan bằng ethanol [5]

Động vật thử nghiệm được để ổn định 1 tuần trước khi thử nghiệm, sau đó chia thành 3 nhóm, như sau:

❖ Nhóm 1: Nhóm uống ethanol trong thời gian 15 ngày. Tiến hành định lượng MDA ở ngày thứ 16.

❖ Nhóm 2: Nhóm uống ethanol trong thời gian 30 ngày. Tiến hành định lượng MDA ở ngày thứ 31.

❖ Nhóm 3: Nhóm uống ethanol trong thời gian 30 ngày và nghỉ 15 ngày. Tiến hành định lượng MDA ở ngày thứ 46.

❖ Thực hiện song song với nhóm chứng sinh lý.

2.3.2. Thăm dò tác động bảo vệ gan của sâm Việt Nam

Động vật thử nghiệm được để ổn định 1 tuần trước khi thử nghiệm, sau đó chia thành 2 nhóm, mỗi nhóm 3 lô thử nghiệm như sau:

❖ **Nhóm bình thường:** Ethanol (-)

1) Lô chứng sinh lý: Hàng ngày chuột được cho uống nước cất trong 15 ngày. Tới ngày thứ 16 tiến hành mổ chuột để xác định hàm lượng MDA.

2) Lô thử sinh lý: Hàng ngày chuột được cho uống bột chiết rễ sâm Việt Nam (liều 100 mg/kg) hay cao lá sâm Việt Nam (liều 600 mg/kg) trong 15 ngày. Tới ngày thứ 16 tiến hành mổ chuột để xác định hàm lượng MDA.

3) Lô đối chiếu sinh lý 1: Hàng ngày chuột được cho vitamin E (liều 25 mg/kg) trong 15 ngày. Tới ngày thứ 16 tiến hành mổ chuột để xác định hàm lượng MDA.

4) Lô đối chiếu sinh lý 2: Hàng ngày chuột được cho uống silymarin (liều 100 mg/kg thể trọng) trong 15 ngày. Tới ngày thứ 16 tiến hành mổ chuột để xác định hàm lượng MDA.

❖ **Nhóm gây tổn thương gan:** Ethanol (+)

1) Lô chứng bệnh lý: Hàng ngày chuột được cho uống ethanol trong 30 ngày. Đến ngày thứ 31 tiến hành mổ chuột để xác định hàm lượng MDA.

2) Lô thử bệnh lý: Hàng ngày chuột được cho uống ethanol trong 15 ngày đầu. Tới ngày thứ 16, cho uống bột chiết rễ sâm Việt Nam (VN) (liều 100 mg/kg) hay cao lá sâm Việt Nam (liều 600 mg/kg) và sau đó 30 phút cho uống ethanol. Đến ngày thứ 31 tiến hành mổ chuột để xác định hàm lượng MDA.

3) Lô đối chiếu bệnh lý 1: Hàng ngày chuột được cho uống ethanol trong 15 ngày đầu. Tới ngày thứ 16, cho uống vitamin E (liều 25 mg/kg) và sau đó 30 phút cho uống ethanol. Đến ngày thứ 31 tiến hành mổ chuột để xác định hàm lượng MDA.

4) Lô đối chiếu bệnh lý 2: Hàng ngày chuột được cho uống ethanol trong 15 ngày đầu. Tới ngày thứ 16, cho uống silymarin (liều 100 mg/kg thể trọng) và sau đó 30 phút cho uống ethanol. Đến ngày thứ 31 tiến hành mổ chuột để xác định hàm lượng MDA.

2.3.3. Tính toán kết quả

Hàm lượng MDA (nM/ g protein) được định lượng theo phương pháp đã được mô tả trong các công bố trước và được tính theo công thức:

$$X_{nM/g\ protein} = \frac{\text{Hàm lượng MDA (nM/ml dịch đồng thể) x 1000}}{\text{Hàm lượng protein (mg/ml dịch đồng thể)}}$$

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình của 3 lần đo: M ± SEM (SEM là sai số chuẩn của trị số trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-Way ANOVA. Tác dụng bảo vệ gan của các dược liệu đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $P < 0,05$ so với lô đối chứng.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả thăm dò mô hình gây tổn thương gan bằng ethanol

Việc cho uống ethanol với các liều khác nhau và thời gian cho uống khác nhau đều làm tăng hàm lượng MDA so với các lô đối chứng tương ứng (Bảng 1). Sự gia tăng MDA rõ rệt nhất ở thời gian cho uống ethanol là 30 ngày. Giữa hai liều cho uống là 1,8 g/kg và 3,6 g/kg, hàm lượng MDA có sự thay đổi không khác biệt lắm. Tuy nhiên, ethanol liều 3,6g/kg uống dài ngày sẽ dẫn đến những tổn thương nặng ở nội tạng, làm giảm thể trọng chuột và chuột chết dần trong thời gian thử nghiệm do bị suy kiệt, do đó sẽ không đủ điều kiện để tiến hành thử nghiệm dài ngày. Do đó, chúng tôi chọn liều ethanol 1,8 g/kg với thời gian cho uống là 30 ngày để gây tổn thương gan trong các thử nghiệm tiếp theo.

Bảng 1. **Hàm lượng MDA trong mô hình gây tổn thương gan bằng ethanol ở các giai đoạn cho uống khác nhau**

Lô (n = 8-10)	Liều (g/kg)	Thời gian (ngày)	Hàm lượng MDA (nM/g protein)
Đối chứng	-	15	77,264 ± 2,194
		30	78,131 ± 2,468
		45	78,834 ± 6,988
Ethanol	1,8	15	81,940 ± 9,330
		30	148,020 ± 12,550*
		45	145,724 ± 13,060*
Ethanol	3,6	15	121,805 ± 3,306*
		30	150,140 ± 12,240*
		45	148,201 ± 7,817*

* P< 0,05 so sánh với lô đối chứng tương ứng.

3.2. Kết quả thăm dò tác động bảo vệ gan của sâm Việt Nam (Bảng 2)

* Nhóm bình thường: Ethanol (-):

- Hàm lượng MDA của lô uống bột chiết rễ (100 mg/kg) và cao lá sâm Việt Nam (600 mg/kg) giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng.

- Hàm lượng MDA của lô uống vitamin E 25 mg/kg giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng.

* Nhóm bệnh lý: Ethanol (+)

- Hàm lượng MDA của lô đối chứng bệnh lý tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Điều này chứng tỏ rằng việc cho uống ethanol làm tăng rõ rệt hàm lượng MDA. Từ sự tăng cao rõ rệt hàm lượng MDA của lô đối chứng bệnh lý với lô chứng sinh lý chúng ta sẽ khảo sát được khả năng bảo vệ tế bào gan của các nguyên liệu thử (thông qua việc làm giảm hàm lượng MDA so với lô chứng bệnh lý).
- Hàm lượng MDA của lô uống bột chiết rễ (100 mg/kg) và cao lá sâm Việt Nam (600 mg/kg) giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý.
- Hàm lượng MDA của các lô đối chiếu: Lô uống silymarin 100 mg/kg, lô uống vitamin E 25 mg/kg và lô uống bột chiết nhân sâm 100 mg/kg đều giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý.
- Tóm lại, sâm Việt Nam (cả 2 nguyên liệu rễ-thân rễ và lá) có tác dụng làm giảm sự tăng hàm lượng MDA trong mô hình gây tổn thương gan bằng ethanol tương đương với:
  + Vitamin E vốn là một chất chống oxy hoá điển hình.
  + Silymarin, hoạt chất chiết xuất từ *Silybum marianum* có tác dụng bảo vệ gan điển hình.
  + Bột chiết nhân sâm.

***Bảng 2.* Hàm lượng MDA trong gan của các lô sinh lý và bệnh lý trong mô hình gây tổn thương gan bằng ethanol**

Nhóm	Lô (n = 8 - 10)	Liều (mg/kg)	Hàm lượng MDA (nM/g protein)
EtOH (-)	Đối chứng	-	77,264 ± 2,194
	Bột chiết rễ sâm VN	100	65,293 ± 3,382*
	Cao lá sâm VN	600	49,599 ± 5,740*
	Silymarin	100	64,003 ± 5,628
	Vitamin E	25	27,696 ± 0,429*
	Bột chiết nhân sâm	100	69,909 ± 6,502

EtOH (+)	Đối chứng	-	147,90 ± 12,540#
	Bột chiết rễ sâm VN	100	83,691 ± 12,461*
	Cao lá sâm VN	600	73,981 ± 8,576*
	Silymarin	100	71,419 ± 8,176*
	Vitamin E	25	76,257 ± 8,375*
	Bột chiết nhân sâm	100	73,393 ± 5,221*

* P< 0,05 so sánh với lô đối chứng tương ứng

\# P< 0,05 so sánh lô chứng bệnh lý với lô chứng sinh lý

IV. BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN

- Ethanol khi được đưa vào cơ thể bằng đường uống, chúng sẽ tạo ra các sản phẩm chuyển hoá là NADH, acetaldehyd và các gốc tự do. Chính những sản phẩm chuyển hoá và gốc tự do này là nguyên nhân gây ra sự peroxy hoá lipid và kết quả của quá trình này làm tăng MDA.
- Hai nguyên liệu thử là bột chiết rễ – thân rễ và cao lá sâm Việt Nam đều làm giảm đáng kể sự gia tăng hàm lượng MDA gây bởi ethanol, ức chế sự tăng phản ứng peroxy hoá lipid trong gan gây bởi ethanol và đưa hàm lượng MDA về mức bình thường. Điều này cho thấy sâm Việt Nam có tác dụng bảo vệ tế bào gan theo hướng chống gốc tự do.
- Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu trước trong đề tài nghiên cứu về tác dụng của bột chiết rễ – thân rễ sâm Việt Nam trong mô hình gây tổn thương gan thực nghiệm bằng carbon tetraclorid (CCl_4). Hàm lượng MDA ở lô thử bệnh lý (uống bột chiết rễ – thân rễ liều 200 mg/kg) giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý.

Từ những kết quả nghiên cứu trên chúng tôi nhận định rằng sâm Việt Nam có tác dụng bảo vệ tế bào gan theo cơ chế chống oxy hoá ở cả hai mô hình gây tổn thương gan cấp bằng CCl_4 và mô hình gây tổn thương gan mạn bằng ethanol. Sâm Việt Nam có tác dụng tích cực đối với cơ địa bệnh lý và cả cơ địa bình thường thông qua việc làm giảm hàm lượng MDA trong gan. Điều này có ý nghĩa lớn trong việc dự phòng và điều trị các bệnh về tổn thương gan do các gốc tự do.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Deng H. L., Zhang J T., Anti -lipid peroxidative effect of ginsenoside-Rb_1 and Rg_1, Chin. Med. J., 104, 395-398.
2. Hikino H., Kiso Y., Kinouchi J., Sanada S., Shoji J., (1985), Antihepatotoxic actions of ginsenoside from Panax ginseng roots, Planta Med., 57, 62-64.
3. Nguyen Thi Thu Huong, Kinzo Matsumoto, Ryoji Kasai, Kazuo Yamasaki, Hiroshi Watanabe, (1998), In vitro antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components, Biol. Pharm .Bull., 21, 278-298.
4. Kitts D.D., Wijewickreme A. N., Hu C., (2000), Antioxidant properties of a North American ginseng extract, Mol. Cell. Biochem., 203,1-10.
5. Maria Francisca MOLINA, Isabel SANCHEZ-REUS, Irene IGLESIAS, and Juana BENEDI, (2003), Quercetin, a Flavonoid Antioxidant, Prevents and Protects against Ethanol-Induced Oxidative Stress in Mouse Liver, Biol. Pharm. Bull., 26(10), 1398 – 1402.
6. Prasain J. K., Kadota S., Basnet P., Hase K., Namba T., (1996), Hepatoprotective effects of Panax notoginseng : Ginsenoside- Re and – Rg_1 as its active constituents in D - galactosamine/lipopolycharide-induced liver injury, Phytomedicine, 2, 297-303.
7. T. D. Nguyen, (2002), Panax vietnamensis protects mice against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity without any modification CYP2E1 gene expression, Planta Med., 66, 711-719.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA SÂM VIỆT NAM (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv. *Araliaceae*) VÀ ĐINH LĂNG (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms, *Araliaceae*) TRÊN TRÍ NHỚ

Nguyễn Thị Thu Hương, Lương Kim Bích, Đoàn Thị Ngọc Hạnh
Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

Effects of *Panax vietnamensis* and *Polyscias fruticosa* on learning and memory

Effects of *Panax vietnamensis* extract and *Polyscias fruticosa* extract on learning and memory were investigated in Swiss albino male mice that were subjected to scopolamine-induced impairment of learning and memory. The escape latency and the swimming time in platform area were recorded according to the water maze method of Morris. *Panax vietnamensis* extract at the oral dose of 100 mg/kg, as well as *Ginkgo biloba* extract (80 mg/kg) improved the learning and memory impairment induced by scopolamine. *P. fruticosa* extract at the oral dose of 100 mg/kg also produced the improvement effect on scopolamine-induced impairment of learning and memory.

Keywords: Morris water maze, learning and memory, *Panax vietnamensis* extract, *Polyscias fruticosa* extract.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các cây thuốc thuộc họ Nhân sâm (*Araliaceae*) mà tiêu biểu là nhân sâm (*Panax ginseng* C.A. Meyer) đã được biết đến như những vị thuốc có tác dụng bồi bổ cơ thể, tăng lực, chống nhược sức, chống stress, cải thiện nhận thức, trí nhớ và phục hồi hoạt động não bộ trong một số bệnh lý thần kinh do lão hóa như bệnh Alzheimer, Parkinson, thiếu máu cục bộ não. Những nghiên cứu trên thực nghiệm và lâm sàng các dạng chế phẩm phối hợp giữa nhân sâm và bạch quả (*Ginkgo biloba)* (chế phẩm gincosan) hay nhân sâm và ngũ vị tử (*Schisandra chinensis)* (chế phẩm S-113M) đã chứng minh tác động cải thiện trí nhớ và phục hồi hoạt động não bộ của các dược liệu trên [5,6,7,8,9]. Hợp chất saponin (ginsenosid) và các ginsenosid-Rb1, -Rg1, -Rg2 được xác định là những hoạt

chất quyết định tác dụng cải thiện trí nhớ của nhân sâm trên các mô hình thực nghiệm gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin, ethanol hay bằng sốc điện.

Ở Việt Nam, sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., *Araliaceae*) và đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms, Araliaceae) là những dược liệu đặc hữu của họ Nhân Sâm đang được tập trung nghiên cứu [1,2,3,4]. Với mục đích khảo sát tác dụng cải thiện trí nhớ của sâm Việt Nam và đinh lăng, chúng tôi hướng đến mục tiêu cụ thể là thăm dò tác động cải thiện trí nhớ của sâm Việt Nam và đinh lăng trên mô hình gây suy giảm khả năng học tập và ghi nhớ bằng scopolamin trong phương pháp mê cung bơi (Water maze) của Morris.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Bột rễ và thân rễ sâm Việt Nam (5 năm tuổi được cung cấp bởi Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh) được kiểm định và kiểm tra độ tinh khiết theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam III. Sau đó được chiết bằng ethanol 96%, 48%, 24% và nước theo phương pháp ngấm kiệt và các dịch chiết được tập trung lại, cô giảm áp thành dạng cao mềm và được đông khô để cho bột chiết toàn phần rễ - thân rễ sâm Việt Nam (gọi tắt: **bột chiết sâm Việt Nam**), có hiệu suất chiết 56,2%, hàm lượng saponin toàn phần tinh khiết quy ra chuẩn ginsenosid – Rg1: 13,2%.
- Rễ và lá đinh lăng: Được kiểm định và kiểm tra độ tinh khiết theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam III, sau đó được trộn theo một tỷ lệ nhất định và được chiết xuất bằng phương pháp ngấm kiệt qua 2 phân đoạn cồn 96° và cồn 45°. Trộn hỗn hợp 2 dịch chiết này và cô cách thủy thành dạng cao toàn phần phối hợp lá và rễ (gọi tắt: **cao đinh lăng**), có hiệu suất chiết 15%, có hàm lượng saponin toàn phần tính theo chuẩn acid oleanolic: 1,0 %.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng đực (chủng Swiss albino, trọng lượng trung bình 20 ± 2 g) được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh và được để ổn định ít nhất một tuần trước khi thử nghiệm. Thể tích cho uống hay tiêm là 10 ml/kg thể trọng chuột.

2.3. Phương pháp Morris Water Maze (mê cung nước) [10]

Sử dụng một bể bơi được chia làm 4 phần. Một cái bục phao được đặt tại một góc cố định trong bể. Chuột được cho bơi trong 7 ngày, mỗi ngày bơi 4 lần tại 4 xuất phát điểm trong bể bơi, mỗi lần tối đa 60 giây. Chuột sẽ cố gắng bơi tìm đến bục phao nhằm tránh né hoạt động bơi.

- Ngày 1: Để phao nhô lên khỏi mặt nước để huấn luyện chuột.
- Ngày 2 đến ngày 6: Để phao chìm xuống khỏi mặt nước.
- Ngày 7: Rút phao ra khỏi bể bơi.

Chỉ tiêu quan sát:

- Từ ngày bơi thứ 1 đến ngày thứ 6: Ghi nhận thời gian T kể từ lúc chuột được thả vào bể bơi đến khi chuột nhảy lên phao. Trung bình thời gian T của 4 lần bơi từ 4 xuất phát điểm trong bể bơi (T1, T2, T3, T4) được gọi là tiềm thời tránh né được sử dụng để đánh giá khả năng học tập - nhận thức của chuột.
- Ngày bơi thứ 7: Ghi nhận thời gian chuột bơi trong vùng có đặt phao. Trung bình thời gian của 4 lần bơi từ 4 xuất phát điêm trong bể bơi được gọi là thời gian bơi trong vùng có bục phao được sử dụng để đánh giá khả năng ghi nhớ của chuột.

2.4. Thực nghiệm gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin và tác dụng của các mẫu thử

Bột chiết sâm Việt Nam, cao toàn phần đinh lăng hoặc thuốc đối chiếu được cho uống:

- 6 ngày trước khi tiêm scopolamin (**Điều trị dự phòng**) hoặc
- 6 ngày trước khi tiêm scopolamin và tiếp tục 7 ngày sau khi tiêm scopolamin (**Điều trị song song**).
- Động vật thí nghiệm được chia thành hai nhóm:
- Nhóm không tiêm scopolamin (nhóm sinh lý).
- Nhóm tiêm phúc mạc scopolamin liều 1 mg/kg (nhóm bệnh lý).

Thực hiện song song với lô đối chứng (uống nước cất) và lô thuốc đối chiếu: cho chuột uống cao chiết bạch quả liều 80 mg/kg (chế phẩm O.P.CAN của Công ty Cổ phần Dược phẩm OPC).

2.5.Chỉ tiêu đánh giá

- Ghi nhận tiềm thời tránh né: Nếu tiềm thời tránh né tăng so với ngày đầu tiên (ngày 1) trong cùng lô và so với lô chứng ở cùng ngày tương ứng ➔ scopolamin có tác dụng làm giảm khả năng học tập-nhận thức.
- Ghi nhận thời gian bơi trong vùng có phao: Nếu thời gian bơi trong vùng có phao giảm so với lô chứng ➔ scopolamin có tác dụng làm giảm khả năng ghi nhớ.

- Các mẫu thử cải thiện sự suy giảm khả năng học tập hoặc khả năng ghi nhớ gây bởi scopolamin sẽ được ghi nhận là có tác dụng trên trí nhớ.

2.6. Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình: M ± SEM (sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-Way ANOVA. Tác dụng cải thiện trí nhớ của các nguyên liệu đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $P < 0,05$ so với lô đối chứng.

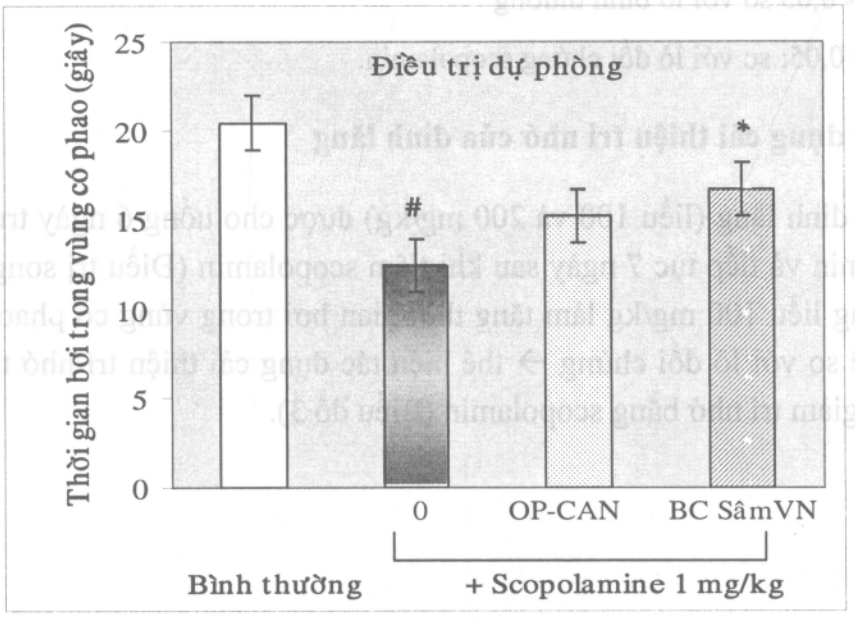
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tác dụng cải thiện trí nhớ của sâm Việt Nam

Trong điều trị dự phòng, bột chiết sâm Việt Nam liều 100 mg/kg làm tăng thời gian bơi trong vùng có phao đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng, thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ trong điều trị dự phòng (Biểu đồ 1).

Trong điều trị song song, bột chiết sâm Việt Nam và O.P.CAN làm tăng thời gian bơi trong vùng có phao đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng, thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin (Biểu đồ 2).

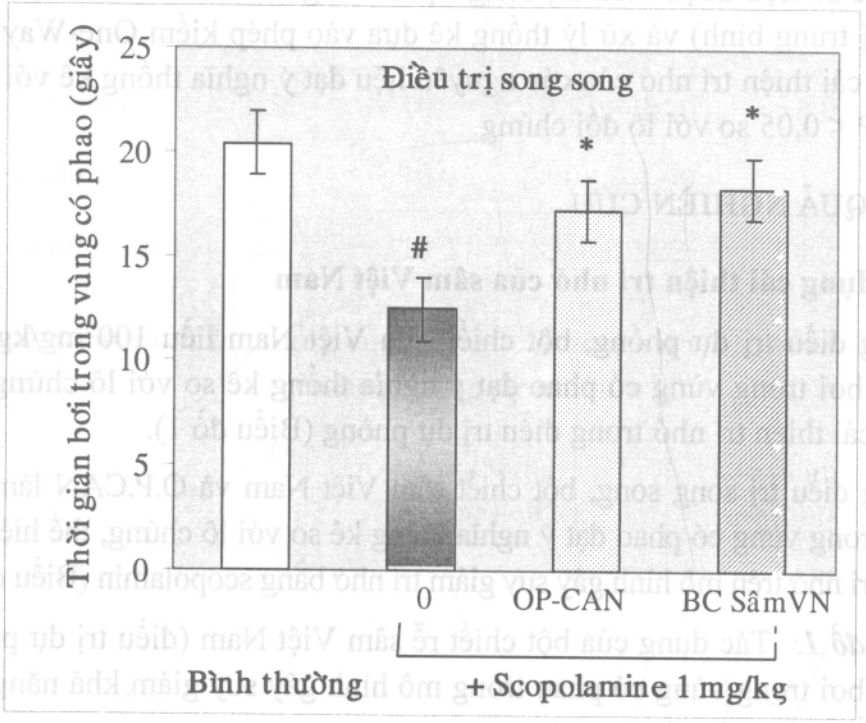
Biểu đồ 1: Tác dụng của bột chiết rễ sâm Việt Nam (điều trị dự phòng) trên thời gian bơi trong vùng có phao trong mô hình gây suy giảm khả năng học tập - ghi nhớ bằng scopolamin



# P< 0,05 so với lô bình thường

* P< 0,05: so với lô đối chứng scopolamin

Biểu đồ 2 : Tác dụng của bột chiết rễ sâm Việt Nam (điều trị song song) trên thời gian bơi trong vùng có phao trong mô hình gây suy giảm khả năng học tập - ghi nhớ bằng scopolamin



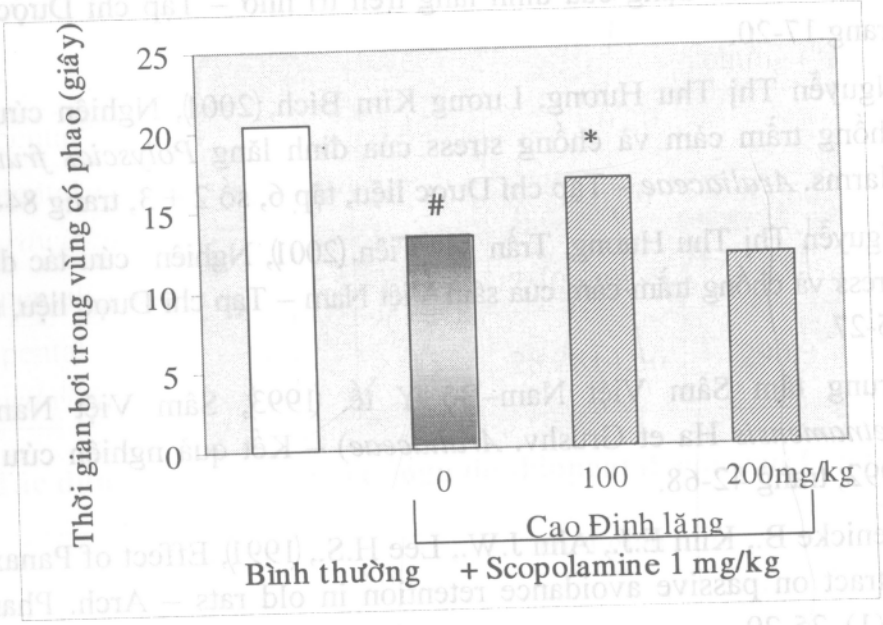
# P< 0,05 so với lô bình thường

* P< 0,05: so với lô đối chứng scopolamin.

3.2. Tác dụng cải thiện trí nhớ của đinh lăng

Cao đinh lăng (liều 100 và 200 mg/kg) được cho uống 6 ngày trước khi tiêm scopolamin và tiếp tục 7 ngày sau khi tiêm scopolamin (Điều trị song song). Cao Đinh lăng liều 100 mg/kg làm tăng thời gian bơi trong vùng có phao đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng → thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin (Biểu đồ 3).

Biểu đồ 3: Tác dụng của cao đinh lăng trên thời gian bơi trong vùng có phao trong mô hình gây suy giảm khả năng học tập - ghi nhớ bằng scopolamin



# P< 0,05 so với lô bình thường

* P< 0,05: so với lô đối chứng scopolamin

IV. KẾT LUẬN

- Bột chiết rễ sâm Việt Nam liều 100mg/kg thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin trong cả hai phác đồ điều trị dự phòng và điều trị song song.
- Cao đinh lăng liều 100mg/kg thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin trong phác đồ điều trị song song.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Ứng Long, Nguyễn Khắc Viện, (1985), Một số kết quả nghiên cứu bước đầu tác dụng của đinh lăng trên trí nhớ – Tạp chí Dược học số 1, trang 17-20.
2. Nguyễn Thị Thu Hương, Lương Kim Bích, (2001), Nghiên cứu tác dụng chống trầm cảm và chống stress của đinh lăng *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. *Araliaceae* – Tạp chí Dược liệu, tập 6, số 2 + 3, trang 84-86.
3. 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, số 6, trang 25-27.
4. Trung tâm Sâm Việt Nam–Bộ Y tế, (1993), Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv. *Araliaceae*) – Kết quả nghiên cứu từ 1978-1992, trang 42-68.
5. Jaenicke B., Kim E.J., Ahn J.W., Lee H.S., (1991), Effect of Panax ginseng extract on passive avoidance retention in old rats – Arch. Pharm. Res., 14(1), 25-29.
6. Kennedy D.O., Scholey A.B., (2003), Ginseng potential for the enhancement of cognitive performance and mood – Pharmacol. Biochem. Behav., 75(3), 687-700.
7. Lyubimov I.I., Borzenkov V.M., Chepurnova N.E., Chepurnov S.A., (1997), The effect of a polysaccharide fraction of ginseng root on learning and memory in rats (using a active escape response as a example) – Neurosci. Behav. Physiol., 27(5), 555-558.
8. Nobuyoshi Nishiyama, Pen-Jiang Chu, Hiroshi Saito, (1996), An Herbal Prescription, S-113m, Consisting of Biota, Ginseng and Schizandra, Improves Learning Performance in Senescence Accelerated Mouse - Biol. Pharm. Bull., 19(3), 388-393.
9. Persson J., Bringlov E., Niosson L.G., Nyberg L., (2004), The memory-enhancing effects of Ginseng and Ginkgo biloba in healthy volunteers – Psychopharmacology, 172(4), 430-434.
10. Rudi D'Hooge, Peter P. De Deyn, (2001), Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory- Brain Research Reviews, 36, 60-90.

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA LÁ SÂM VIỆT NAM

Panax vietnamensis Ha et Grushv. Araliaceae

Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Thị Thu Hương
Trung tâm Sâm & Dược liệu Tp.Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu

SUMMARY

Study on Pharmacological effects of Vietnamese ginseng leaves

Vietnamese ginseng leaves have the effect on the central nervous system , shortening pentobarbital-induced sleeping time in small doses and lengthening pentobarbital- induced sleeping time in large doses. Vietnamese ginseng leaves extract (600, 1200mg/kg p.o) and its total saponin (200mg/kg p.o) significantly reverse the stress-induced decrease in pentobarbital sleep to the normal level. In the other hand, Vietnamese ginseng leaves extract and its total saponin have the invigorating and antioxidant effects.

Key words: Vietnamese ginseng, Pentobarbital sleep,.Invigoration effect, antioxidant effect, antistress effect.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Việt Nam là một trong những cây thuốc họ Nhân sâm (*Araliaceae*) tiêu biểu của Việt Nam và đã được nghiên cứu từ năm 1978 về sinh thái, thực vật, thành phần hóa học và tác dụng dược lý với bộ phận dùng chính là thân rễ và rễ củ. Vì là cây thuốc quý nên việc nghiên cứu tất cả các bộ phận của cây nhằm tận dụng nguồn nguyên liệu quý hiếm cũng là vấn đề được đặt ra [1].

Vào năm 1998 - 2001, trong Chương trình hợp tác nghiên cứu với Trường đại học Hiroshima - Nhật Bản, việc nghiên cứu thành phần hoá học của lá sâm Việt Nam đã được thực hiện [2]. Đó là tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo về dược lý cơ bản. Bên cạnh việc nghiên cứu một số tác dụng dược lý điển hình của họ Nhân sâm, đề tài này được thực hiện chủ yếu định hướng vào tác dụng của lá

sâm Việt Nam trên một số bệnh lý phổ biến của thời đại công nghiệp và đô thị hoá ngày nay như stress, lão hoá ...

Công trình nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích nghiên cứu một số tác dụng dược lý cơ bản của lá sâm Việt Nam dưới dạng cao chiết đã được tiêu chuẩn hóa gồm các tác dụng:

- Tác dụng trên hệ thần kinh trung ương
- Tác dụng chống stress.
- Tác dụng tăng lực.
- Tác dụng chống oxy hóa

Từ đó tìm ra liều có tác dụng, xác định hoạt chất có tác dụng dược lý của lá sâm Việt Nam.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Nguyên liệu nghiên cứu là lá cây sâm Việt Nam 5 năm tuổi được tiến hành chiết xuất theo phương pháp ngấm kiệt với cồn 45° cho ra dạng cao đặc (cao lá). Thử nghiệm còn được thực hiện trên saponin toàn phần của lá sâm Việt Nam (saponin), notoginsenosid-Fc, một saponin có hàm lượng cao trong lá sâm Việt Nam. Dùng cao thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam (cao rễ) làm đối chiếu.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng khoẻ mạnh, giống Swiss albino trọng lượng: 20 ± 2 gam/con do Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh cung cấp và được để ổn định ít nhất một tuần trước khi thử nghiệm.

3.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thử nghiệm tác dụng trên hệ thần kinh trung ương [3]

Thử nghiệm này nhằm thấy rõ tác dụng kích thích hay ức chế hệ thần kinh trung ương của nguyên liệu thử, biểu hiện bằng rút ngắn hay kéo dài thời gian ngủ do barbital gây ra.

Động vật thử nghiệm là chuột nhắt trắng, trọng lượng 20 ± 2 g, được chia làm 2 lô thử nghiệm:

- Lô đối chứng: Uống nước cất.
- Lô thử: Uống thuốc thử nghiệm.

Động vật được cho uống thuốc thử nghiệm trước một giờ, hoặc tiêm phúc mạc thuốc thử nghiệm trước 30 phút. Sau đó, tiêm phúc mạc pentobarbital với liều 50 mg/kg. Thời gian ngủ của chuột được ghi nhận từ lúc mất phản xạ đứng thẳng lên được cho đến khi phục hồi lại phản xạ này.

2.3.2. Thực nghiệm stress cô lập và ảnh hưởng của stress lên giấc ngủ gây bởi barbital [4]

Động vật được chia thành 2 nhóm:

- Nhóm bình thường: Được nuôi 8 -10 chuột trong một nhóm.
- Nhóm stress: Được nuôi cô lập từng con trong thời gian 4 tuần.

Động vật được cho uống nước hoặc nguyên liệu thử 1 giờ trước khi tiêm phúc mạc barbital (pentobarbital liều 50 mg/kg). Thời gian ngủ của barbital được ghi nhận từ lúc mất phản xạ đứng thẳng lên được cho đến khi hồi phục lại phản xạ này.

Tác dụng chống stress được đánh giá khi thuốc thử nghiệm làm hồi phục lại giấc ngủ barbital bị rút ngắn bởi stress về lại mức độ bình thường.

2.3.3. Thử nghiệm tác dụng tăng lực [3]

Dùng nghiệm pháp chuột bơi kiệt sức của Brekhman.

Ghi nhận thời gian bơi lần 1 và lần 2 ở các lô thử và so sánh thống kê với lô chứng. Tác dụng tăng lực được đánh giá khi % thời gian bơi lần 2/lần 1 của lô thử lớn hơn % thời gian bơi lần 2/lần 1 của lô đối chứng.

2.3.4.Thử nghiệm tác dụng chống oxy hóa [5]

Tách não chuột và nghiền đồng thể trong dung dịch đệm phosphat (pH = 7,4) theo tỉ lệ 1:10 ở nhiệt độ 0 - 5°C. Lấy 1ml dịch đồng thể, thêm vào 0,2ml các nồng độ mẫu thử + 0,8ml đệm phosphat và ủ ở 37°C trong 15 phút (tự oxy hóa) hoặc ủ ở 37°C trong 5 phút với hệ Fenton ($FeSO_4$ 0,1 mM H_2O_2 15 mM theo tỉ lệ 1:1). Kết thúc phản ứng bằng 1ml acid tricloacetic 10%, ly tâm lấy dịch trong cho phản ứng với 1ml acid thiobarbituric 0,8% ở 100°C trong 15 phút và đo màu ở λ = 532 nm

❖ Tính toán kết quả

▪ Hàm lượng MDA được tính theo công thức:

X = (OD thử /OD chuẩn) x Nồng độ MDA chuẩn (nM/ml)

- Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) được tính theo công thức:

$$HTCO(\%) = (CMDA_{Chứng} - CMDA_{Thử})/CMDA_{Chứng} \times 100$$

OD: Mật độ quang

C: Nồng độ

2.4. Đánh giá kết quả

Các số liệu được tính trung bình X ± SEM (sai số chuẩn của trị số trung bình) và được xử lý thống kê dựa vào phép kiểm t - Student và Anova với độ tin cậy 95%.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Thử nghiệm trên hệ thần kinh trung ương

- Ở các liều thấp 60 mg/kg và 120 mg/kg cao lá sâm Việt Nam có tác động rút ngắn thời gian ngủ của pentobarbital ở động vật thí nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.
- Thử nghiệm được thực hiện với những liều cao dần và ở liều cao là 1800 mg/kg, cao lá sâm Việt Nam lại thể hiện tác dụng ức chế thần kinh trung ương, kéo dài thời gian ngủ của động vật gây bởi pentobarbital, còn ở liều 600 mg/kg và 1200 mg/kg thời gian ngủ ở động vật thử nghiệm không khác biệt với lô chứng (bảng 1).
- So sánh với thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam có tác dụng ức chế hệ thần kinh trung ương ở khoảng liều 2000 mg/kg và kích thích hệ thần kinh trung ương ở khoảng liều 10 - 100 mg/kg cho thấy có sự tương đồng trong tác dụng trên hệ thần kinh trung ương: ức chế thần kinh trung ương ở liều cao và kích thích thần kinh trung ương ở liều thấp.

***Bảng 1.* Tác động của cao lá sâm Việt Nam lên thời gian ngủ gây bởi pentobarbital**

Lô thử nghiệm	Liều (mg/kg)	Số thử nghiệm	Thời gian ngủ (phút)
Chứng	--	10	79,20 ± 4,65
Thử 1	60	10	58,70 ± 4,61*
Thử 2	120	10	67,60 ± 3,92*
Thử 3	600	10	73,40 ± 3,90

Thử 4	1200	10	83,90 ± 3,26
Thử 5	1800	10	120,80 ± 4,02*

* P < 0,05.

3.2. Thử nghiệm tác dụng trên stress cô lập

- Tương tự như cao rễ sâm Việt Nam trên stress cô lập, cao lá sâm Việt Nam liều 600, 1200 mg/kg đều thể hiện tác dụng phục hồi thời gian ngủ bị rút ngắn do stress, đưa trở về trạng thái bình thường. Trong khi đó hợp chất notoginsenosid-Fc lại không thể hiện tác động này chứng tỏ notoginsenosid-Fc không phải là hợp chất quyết định tác dụng này.
- Và ở liều 200 mg/kg tác động chống stress của saponin toàn phần lá sâm Việt Nam thể hiện rất rõ đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Như vậy, trong thành phần saponin của lá sâm Việt Nam có hoạt chất chống stress.
- Với sâm Việt Nam, cả rễ và lá, liều có tác dụng chống stress thì không ảnh hưởng lên thời gian ngủ ở nhóm không bị stress. Điều này cho thấy tính thích nghi của sâm Việt Nam trong tác động chống stress hơn hẳn những thuốc tổng hợp có tác dụng tương đương (diazepam).
- Trong cao rễ sâm Việt Nam, majonosid-R2 đã được chứng minh là hoạt chất có tác dụng chống stress [4]. Đó là một saponin có cấu trúc vòng ocotillol. Điểm lại thành phần hóa học của lá sâm Việt Nam, trong nhóm saponin có cấu trúc vòng ocotillol cũng có saponin chiếm tỉ lệ khá cao mà lại là một vina-ginsenosid. Điều này cho ta suy nghĩ về hướng nghiên cứu tiếp theo trên thực nghiệm chống stress để tìm ra hoạt chất hay nhóm hoạt chất chống stress trong lá sâm Việt Nam.

Bảng 2. **Tác dụng của các nguyên liệu thử trên thời gian ngủ của pentobarbital trong mô hình stress cô lập**

Lô TN	Liều TN (mg/kg)	Số TN	Thời gian ngủ (phút)	
			Nhóm bình thường	Nhóm stress
Đối chứng	--	9	65,22 ± 4,90	49,10 ± 8,23 #
Cao lá	600	9	76,44 ± 6,16	67,33 ± 4,21 *
Cao rễ củ-	1200	9	76,11 ± 5,02	69,00 ± 6,75 *
thân rễ	200	9	70,56 ± 8,95	73,56 ± 4,75 *

Đối chứng	--	10	70,40 ± 3,88	53,20 ± 3,88 #
Saponin	100	10	71,50 ± 3,10	54,10 ± 3,68
	200	10	73,20 ± 4,22	70.50 ± 5.63*
Đối chứng	--	10	71,00 ± 3,97	52,40 ± 3,78#
N-Fc	5	10	70,50 ± 2,62	47,50 ± 2,90
	10	10	69,30 ± 3,75	47,20 ± 3,60
	20	10	72,40 ± 5,31	47,00 ± 3,97
Diazepam	0,05	10	72,40 ± 4,29	64,10 ± 4,27
	0,50	10	83,80 ± 3,37 *	72,70 ± 3,13 *

# $P < 0.05$: so sánh giữa nhóm stress và nhóm bình thường.

* $P < 0.05$: so sánh giữa nhóm chứng và nhóm dùng thuốc.

3.3. Thử nghiệm tác dụng tăng lực

Ở những liều thử nghiệm là 600, 1200, 1800 mg/kg thời gian bơi lần 2 ở các lô thử đều không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với thời gian bơi lần 1. Do vậy, có sự phục hồi sinh lực, giữ nguyên thời gian vận động sau khi dùng cao lá sâm Việt Nam với tỉ lệ % thời gian bơi lần 2/lần 1 cao hơn so với lô chứng.

So với thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam, tác dụng tăng lực thể hiện ở những liều nhỏ (5-100 mg/kg). Ở đây, liều thể hiện tác dụng ở lá và thân rễ-rễ củ không tương đương nhau và liều ở lá khá cao so với thân rễ-rễ củ. Điều này có thể là do sự phối hợp đưa đến tác dụng của các thành phần có trong cao lá khác với thành phần hoạt chất trong cao thân rễ-rễ củ hay cũng có thể là do cơ chế tác động khác nhau.

Bảng 3. **Thời gian bơi lần 1 và lần 2 của các lô thử nghiệm**

Lô TN	Liều TN (g/kg)	Số TN	Thời gian bơi (phút)		% thời gian bơi lần 2/lần 1
			Lần 1	Lần 2	
Đối chứng		10	52,40 ± 5,18	33,30 ± 2,37*	63,55
Thử 1	600	10	48,70 ± 3,80	38,70 ± 4,52	79,47
Thử 2	1200	10	47,40 ± 5,16	37,00 ± 5,32	78,06
Thử 3	1800	10	52,80 ± 3,77	45,70 ± 3,78	86,55

* $P < 0,05$

3.4. Kết quả khảo sát tác dụng chống oxy hóa của lá sâm Việt Nam

- Kết quả ở bảng 4 và bảng 5 cho thấy saponin và cao lá sâm Việt Nam (nồng độ 5 - 100 µg/ml) ức chế sự tạo thành MDA, một sản phẩm sinh ra trong quá trình peroxy hoá lipid trong mô não. Tác động này tương tự như trolox, một đồng phân của vitamin E (nồng độ 100 µg/ml) là một chất chống oxy hóa điển hình.
- Hợp chất notoginsenosid-Fc ở nồng độ 25 - 100 µg/ml lại không thể hiện tác dụng ức chế sự hình thành MDA ở cả 2 mô hình thử nghiệm: tự oxy hóa và có hệ fenton xúc tác, chứng tỏ notoginsenosid-Fc không phải là hoạt chất quyết định tác dụng này.
- Với nghiên cứu trước đây [6], saponin của thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam cho tác dụng ức chế sự hình thành MDA ở nồng độ 50 - 500 µg/ml, chứng tỏ saponin của lá sâm Việt Nam cho tác dụng ở nồng độ thấp hơn. Cần khảo sát tiếp theo trên thực nghiệm *in vivo* dưới ảnh hưởng của stress tâm lý và tìm ra hoạt chất chống oxy hóa của lá sâm Việt Nam để phát triển những công dụng tiếp theo của nó trong tương lai.

Bảng 4. **Kết quả khảo sát tác dụng chống oxy hóa của lá sâm Việt Nam (tự oxy hóa)**

Mẫu thử (n = 6)	Nồng độ TN (µg/ml)	Mật độ quang	Hàm lượng MDA (nM/ml)	HTCO (%)
Đối chứng	0	0,545	20,889 ± 0,250	--
Cao lá	5	0,474	18,164 ± 0,457*	13
	25	0,390	14,950 ± 0,155*	28
	50	0,279	10,709 ± 0,261*	49
	100	0,119	4,543 ± 0,132*	78
Đối chứng	0	0,570	20,982 ± 0,538	--
Saponin	5	0,386	14,189 ± 0,705	32
	25	0,368	13,554 ± 0,418	35
	50	0,277	10,194 ± 0,180*	51
	100	0,131	4,811 ± 0,112*	77

Đối chứng N.Fc	0	0,636	22,099 ± 0,516	--
N.Fc	5	0,556	19,334 ± 0,593*	13
	25	0,692	24,048 ± 0,559	-8
	50	0,588	20,431 ± 1,072	8
	100	0,655	22,767 ± 0,556	-3
Trolox	100	0,072	2,461 ± 0,148*	89

* P< 0,05

Bảng 5. **Kết quả khảo sát tác dụng chống oxy hóa của lá sâm Việt Nam (hệ Fenton)**

Mẫu thử (n = 6)	Nồng độ TN (g/ml)	Mật độ quang	Hàm lượng MDA (nM/ml)	HTCO (%)
Đối chứng	0	0,702	25,401 ± 0,179	--
Cao lá	25	0,343	12,393 ± 0,479*	51
	50	0,161	5,829 ± 0,217*	77
	100	0,071	2,580 ± 0,147*	90
Đối chứng	0	0,783	28,716 ± 0,514	--
Saponin	25	0,272	9,973 ± 0,117*	65
	50	0,127	4,651± 0,156*	88
Đối chứng	0	0.702	25,401 ± 0,179	--
N-Fc	50	0,650	23,515 ± 0,237	7
	100	0,711	25,727 ± 1,563	-1,2
Trolox	100	0,122	4,159 ± 0,313*	86

* P< 0,05

IV. KẾT LUẬN

1. Cũng như tác dụng của thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam, tác dụng của lá sâm Việt Nam trên hệ thần kinh trung ương phụ thuộc vào liều thử nghiệm, kích thích thần kinh trung ương ở liều thấp và ức chế thần kinh trung ương ở liều cao.

Đó là một trong những tác dụng cơ bản và điển hình của một số cây thuộc họ Nhân Sâm.

2. Cao lá sâm Việt Nam ở các liều thử nghiệm 600, 1200 mg/kg, saponin toàn phần ở liều 200 mg/kg có tác dụng phục hồi thời gian ngủ bị rút ngắn bởi stress đưa trở về trạng thái bình thường. Ở liều này, nó không gây ảnh hưởng trên thời gian ngủ của pentobarbital ở chuột bình thường. Hợp chất notoginsenosid-Fc ở các liều thử nghiệm lại không thể hiện tác động chứng tỏ notoginsenosid-Fc không phải là hợp chất quyết định tác dụng này.

3. Cao lá sâm Việt Nam ở các liều thử nghiệm 600, 1200, 1800 mg/kg có tác dụng chống nhược sức, hồi phục thể lực cho các hoạt động quá sức, mệt mỏi.

4. Ở cả hai trường hợp tự oxy hóa và có hệ xúc tác Fenton, cao lá sâm Việt Nam và saponin toàn phần lá sâm Việt Nam đều thể hiện tác động chống oxy hóa, ức chế sự hình thành MDA và saponin toàn phần lá sâm Việt Nam có tác dụng chống oxy hóa mạnh hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, (1998), Chiến lược phát triển Khoa học & Công nghệ của ngành Y tế Việt Nam đến năm 2020, 42, 43, 46, 47.
2. Võ Duy Huấn, (2002), Ph.D Thesis, Falcuty of Pharmacology, Hiroshima Medical and Pharmaceutical University, 2-25, 60-63;
3. Robert A., Turner., (1965), Screening method in pharmacology;
4. Nguyễn Thị Thu Hương., (1997), Ph.D Thesis, Falcuty of Pharmacology, Toyama Medical and Pharmaceutical University, 8-9, 63-66;
5. Stroev E. A., Makarova V. G., (1989), Determination of lipid peroxidation rate in tissue homogenate laboratory manual in bio-chemistry, Moscow., 243-256;
6. Nguyen Thi Thu Huong, Matsumoto K., Kasai R., Yamasaki K., Watanabe H., 1998, Biol. Pharm. Bull., 978-981.

TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA CAO CHIẾT TỪ RỄ HAI LOÀI *VALERIANA* Ở VIỆT NAM

Nguyễn Kim Phượng, Nguyễn Duy Thuần, Đỗ Trung Đàm,
Đỗ Thị Phương, Nguyễn Trang Thuý, Phạm Nguyệt Hằng

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các loài thuộc chi *Valeriana* không những đã được dùng trong y học cổ truyền của nhiều nước mà trong y học hiện đại chúng cũng có 1 vị trí đáng kể. Người ta đã dùng nó thay thế cho thuốc an thần tổng hợp và nhận thấy chúng có nhiều ưu điểm hơn như không gây nghiện và ít tác dụng phụ

Ở châu Âu, loài *Valeriana officinalis* L được đánh giá là 1 trong 10 thảo dược phổ biến và có doanh thu cao nhất trên thị trường dược phẩm. Các chế phẩm được biết đến như: Valerian NattR, valdispertR Perte, trà thuốc, cồn thuốc.... mà trong thành phần có chứa các hoạt chất chiết từ *Valeriana* đã được xuất hiện ngày càng nhiều trên thị trường

Ở Việt Nam, trong quá trình điều tra cây thuốc, Viện Dược liệu đã phát hiện hai cây thuộc chi này là *Valeriana hardwickii* và *Valeriana jatamansi*. Cả hai cây này đã được cộng đồng các dân tộc H'mông, Dao, Tày dùng làm thuốc từ lâu.Trong thực tế, một số nước cũng đã nghiên cứu và sử dụng các chế phẩm từ 2 loài này. Rễ loài *Valeriana jatamansi* cũng đã được đưa vào Dược điển Ấn Độ.

Với mục tiêu tìm ra một loại thuốc có tác dụng an thần mới từ dược liệu trong nước, chúng tôi đã nghiên cứu các tác dụng dược lý theo hướng an thần từ hai loài này, mà thành phần chính có tác dụng của nó là các sesquiterpen và các iridoid. Nội dung nghiên cứu như sau:

1. Xác định tác dụng kéo dài giấc ngủ
2. Xác định tác dụng trên hoạt động vận động tự nhiên
3. Xác định tác dụng trên học tập phản xạ có điều kiện
4. Xác định độc tính bán trường diễn của cao toàn phần

II. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

2.1.1. Động vật thí nghiệm

+ Chuột cống trắng đực và cái khoẻ mạnh còn non, trọng lượng 50- 60 g.
+ Chuột nhắt trắng, trưởng thành, khoẻ mạnh, cả chuột đực và chuột cái, trọng lượng 20- 22 g.
+ Thỏ trưởng thành, khoẻ mạnh, cả thỏ đực và thỏ cái, trọng lượng 2,0 - 2,2 kg.

2.1.2. Vật liệu nghiên cứu

+ Mẫu thử: Cao toàn phần được chiết bằng cồn và loại tạp từ rễ của 2 loài *V. hardwickii* và *V. jatamansi.*
+ Hoá chất và thiết bị nghiên cứu: Thiopental dược dụng, kit thuốc thử định lượng sinh hoá, kit thuốc thử xét nghiệm huyết học, máy định lượng sinh hoá bán tự động Scout, máy phân tích máu Sysmex, máy ghi, máy biến năng đẳng trương, máy gây phản xạ có điều kiện và một số thiết bị khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu tác dụng an thần qua hoạt động vận động tự nhiên của chuột nhắt trắng

Thí nghiệm được thử trên chuột nhắt trắng đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, sử dụng cả chuột đực và cái, trọng lượng từ 20 – 22 gam.

Áp dụng phương pháp lồng rung: Đây là phương pháp theo dõi hoạt động vận động tự nhiên của chuột. Lồng rung được thiết kế bằng 1 hộp nhựa mờ, hộp nhựa này được treo trên 1 trụ được cắm trực tiếp vào 1 lò so đủ độ nhạy sao cho chỉ 1 chuyển động cực nhỏ của chuột cũng đủ gây ra sự rung của lồng. Lồng được nối với 1 máy biến năng đẳng trương và máy ghi, mọi hoạt động di chuyển của chuột sẽ biểu hiện bằng sự rung của lồng và được máy ghi ghi lại.

Ghi độ hoạt động của chuột trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc. Mỗi lần ghi trong 5 phút để lấy trị số trung bình. Theo dõi sự biến động về hoạt động của chuột trước khi uống và 30 phút sau khi uống. So sánh sự biến động về độ hoạt động của chuột giữa lô chứng và lô thử thuốc. Thuốc nghiên cứu có tác dụng an thần khi độ hoạt động của lô thử thuốc giảm hơn so với độ hoạt động của lô đối chứng

2.2.2. Nghiên cứu tác dụng an thần của cao chiết qua sự kéo dài thời gian ngủ của chuột nhắt trắng đã được gây ngủ bằng thuốc ngủ thiopental

Áp dụng phương pháp Dua P. R. [1]

Thí nghiệm được thử trên chuột nhắt trắng đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, sử dụng cả chuột đực và cái, trọng lượng từ 20 – 22 gam.

Đây là phương pháp dùng để đánh giá tác dụng an thần của thuốc qua sự kéo dài thời gian ngủ của chuột đã được gây ngủ bằng thuốc ngủ barbituric. Chuột của 2 lô thử và chứng được gây ngủ bằng cách tiêm dung dịch thiopental. Lô chuột đối chứng được uống nước, lô chuột thử uống cao chiết từ *Valeriana* trước khi tiêm thiopental 20 phút. Theo dõi thời gian ngủ của từng con. So sánh thời gian ngủ trung bình của chuột lô thử thuốc với lô đối chứng. Nếu thuốc có tác dụng an thần thì thời gian ngủ của lô thuốc sẽ kéo dài hơn lô đối chứng

2.2.3. Nghiên cứu tác dụng an thần trong thử nghiệm học tập phản xạ có điều kiện trên chuột cống trắng

Thí nghiệm được tiến hành trên chuột cống trắng còn non, khoẻ mạnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, sử dụng cả chuột đực và chuột cái, trọng lượng từ 50 – 60 g [2] [3].

Dùng máy gây phản xạ có điều kiện để hình thành phản xạ có điều kiện trên chuột thí nghiệm. Máy gây ra 3 tác nhân kích thích là: Kích thích bằng âm thanh và ánh sáng (kích thích có điều kiện), kích thích bằng điện (kích thích không điều kiện). Cường độ của các kích thích này ổn định trong suốt quá trình thí nghiệm. Lồng phản xạ có 2 ngăn, khi bị kích thích, chuột sẽ từ ngăn bên này chạy lẩn trốn sang ngăn bên kia. Thời gian từ khi bị kích thích đến khi chạy trốn của từng chuột và số lần lẩn tránh của từng chuột sẽ được hệ thống tự động của máy ghi lại.

Nếu thuốc có tác dụng ức chế thần kinh, an thần thì thời gian chịu kích thích của lô thử thuốc sẽ dài hơn lô chứng, tức là thời gian để hình thành phản xạ trên chuột của lô thuốc sẽ dài hơn lô chứng. Đồng thời, thời gian dập tắt phản xạ (lưu giữ phản xạ) của lô thuốc sẽ ngắn hơn lô chứng. Nếu thuốc có tác dụng kích thích thì ngược lại.

2.2.4. Xác định độc tính bán trường diễn của cao toàn phần đã loại tạp chiết từ rễ V. jatamansi

Thí nghiệm này dùng để đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến chức năng gan, thận, thượng thận, chức năng tạo máu của thỏ thí nghiệm sau khi uống thuốc 1

tháng. Liều thử tương đương 3 g dược liệu/ kg (liều cao gấp 10 lần liều dự kiến dùng trên người tính theo kg thể trọng)

Các chỉ số được dùng để đánh giá:

- Chức phận tạo máu được đánh giá thông qua:

+ Số lượng bạch cầu

+ Số lượng hồng cầu

+ Tỷ lệ huyết sắc tố

- Chức năng gan được đánh giá thông qua các xét nghiệm:

Định lượng hàm lượng protein toàn phần, định lượng hoạt độ các enzym ALT (GPT) và AST (GOT) trong huyết thanh.

- Chức năng thận được đánh giá thông qua các xét nghiệm:

Định lượng hàm lượng urea, creatinin trong huyết thanh.

- Xét nghiệm mô bệnh học của gan, thận, thượng thận sau khi kết thúc thí nghiệm để đánh giá tổn thương thực thể của thuốc.

2.2.5. Xử lý kết quả

Các kết quả nghiên cứu được biểu thị bằng trị số trung bình ± sai số chuẩn (M ± SE). Đánh giá mức độ có ý nghĩa của sự khác nhau giữa các lô dựa vào test t - Student, dùng Microsoft- Excel [4]

III. KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

3.1. Tác dụng của thuốc trên hoạt động vận động tự nhiên của chuột

Bảng 1. **Tác dụng của cao *V. hardwickii* trên hoạt động tự nhiên**

STT	Lô	Liều uống g dl/kg	Số chuột thí nghiệm	Số điểm hoạt động	Tỷ lệ giảm hoạt động (%)	P
1	Đối chứng		10	24,60±2,29		< 0,001
	V.hardwickii	2,5	10	10,75±1,68	56,3	
2	Đối chứng		10	26,34±2,76		< 0,001
	V.hardwickii	5	10	8,09 ± 1,87	69,29	

Bảng 2. **Tác dụng của cao *V. jatamansi* trên hoạt động tự nhiên**

STT	Lô	Liều uống g dl/kg	Số chuột thí nghiệm	Số điểm hoạt động	Tỷ lệ giảm hoạt động (%)	P
1	Đối chứng		10	25,56 ± 2,96		< 0,002
	V. jatamansi	2,5	10	10,73 ± 2,70	58,05	
2	Đối chứng		10	24,98 ± 1,99		< 0,001
	V. jatamansi	5	10	8,94 ± 2,22	64,21	

Bảng 3. **So sánh tác dụng của 2 loài *V. jatamansi* và *V. hardwickii* trên hoạt động tự nhiên**

STT	Mẫu thử	Liều uống (g dược liệu/kg)	Tỷ lệ giảm hoạt động so chứng (%)
1	*V. hardwickii*	2,5	56,3
2	*V. jatamansi*	2,5	58,05
3	*V. hardwickii*	5	69,29
4	*V. jatamansi*	5	64,21

Nhận xét

- Cao cồn đã loại tạp từ 2 loài *V. jatamansi* và *V. hardwickii* đều có tác dụng an thần qua sự giảm hoạt động tự nhiên của chuột lô thử thuốc so với lô chứng. Sự giảm này có ý nghĩa thống kê.

- Tác dụng giảm hoạt động tự nhiên của chuột ở cả 2 loài tương đương nhau ở cả 2 liều 2,5g dược liệu /kg và 5 g dược liệu /kg.

3.2. Tác dụng kéo dài thêm thời gian ngủ do thiopental

Tác dụng của cao cồn 2 loài *Valeriana* với liều 2,5 g/kg và 5 g/kg trên thời gian ngủ do thiopental ở chuột nhắt trắng được trình bầy trên bảng 4, 5 và 6.

Bảng 4.* Tác dụng kéo dài thời gian ngủ do thiopental của cao *V. hardwickii

TT	Lô thử	Liều uống (g dược liệu/kg)	Số chuột thử	Thời gian ngủ		P
				Phút	Tỷ lệ tăng so với chứng (%)	
1	Thiopental		12	5,27 ± 0,20		< 0,05
	Thiopental + *V. hardwickii*	2,5	15	8,2 ± 0,79	55,60	
2	Thiopental		12	7,40 ± 0,65		< 0,001
	Thiopental + *V. hardwickii*	5	15	28,28±4,36	290,27	

Bảng 5.* Tác dụng kéo dài thời gian ngủ do thiopental của cao *V. jatamansi

TT	Lô thử	Liều uống (g dược liệu/kg)	Số chuột thử	Thời gian ngủ		P
				Phút	Tỷ lệ tăng so với chứng(%)	
1	Thiopental		12	5,3 ± 0,20		< 0,05
	Thiopental + *V. jatamansi*	2,5	15	7,60 ±0,85	44,20	
2	Thiopental		12	7,40± 0,65		< 0,001
	Thiopental + *V. jatamansi*	5	15	32,40±4,40	338,38	

Bảng 6.* So sánh thời gian kéo dài giấc ngủ (%) của 2 loài *V. jatamansi* và *V. hardwickii

STT	Mẫu thử	Liều uống (g dược liệu/kg)	Tỷ lệ tăng thời gian ngủ so chứng(%)
1	*V. hardwickii*	2,5	55,60
2	*V. jatamansi*	2,5	44,20
3	*V. hardwickii*	5	290,27
4	*V. jatamansi*	5	338,38

Nhận xét

- Cao cồn chiết từ rễ của 2 loài *V. jatamansi* và *V. hardwickii* đều có tác dụng an thần biểu hiện qua sự kéo dài giấc ngủ do thiopental so với lô chứng. Sự tăng này có ý nghĩa thống kê

- Tác dụng kéo dài thời gian ngủ so với lô chứng tăng khi cho chuột uống tăng liều, cụ thể:

+ Loài *V. hardwickii*: ở liều 2,5 g dược liệu/kg, thời gian ngủ tăng 55,60%. Nhưng khi liều tăng lên 5 g dược liệu/kg, thời gian ngủ tăng lên là 290,27%.

+ Loài *V. jatamansi*: ở liều 2,5 g dược liệu/kg, thời gian ngủ tăng 44,20%. Nhưng khi liều tăng lên 5 g dược liệu/kg, thời gian ngủ tăng lên là 338,38%.

3.3. Tác dụng an thần của cao chiết từ loài V. jatamansi qua học tập phản xạ có điều kiện trên chuột cống trắng

Bảng 7. **Số ngày để chuột hình thành được phản xạ có điều kiện**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột thí nghiệm	Số ngày để chuột hình thành phản xạ	P
1	Chứng	10	2,80 ± 0,44	P>0,05
2	Loài *V. jatamansi* (liều 3 g dl /kg)	6	3,33 ± 0,56 Tăng 17,86% so chứng	

Bảng 8. **Số ngày để chuột dập tắt được phản xạ có điều kiện (số ngày chuột lưu giữ được phản xạ đã hình thành)**

STT	Lô thí nghiệm	Số chuột thí nghiệm	Số ngày chuột lưu giữ được phản xạ	P
1	Đối chứng	10	2,70 ± 0,40	P <0,05
2	Loài *V. jatamansi* (liều 3 g dl/kg)	6	1,33 ± 0,21 Giảm 51,85 % so chứng	

Nhận xét

Từ bảng 7,8 cho thấy khi cho chuột uống cao cồn chiết từ rễ loài *V. jatamansi* với liều tương đương 3 g dược liệu/kg đã làm cho chuột phải tăng thời gian để hình thành phản xạ có điều kiện là 17,86% so với chứng và

làm giảm thời gian lưu giữ phản xạ có điều kiện đã hình thành là 51,85 % so với đối chứng.

3.4. Độc tính bán trường diễn của cao cồn đã loại tạp chiết từ rễ loài V. jatamansi

Bảng 9. **So sánh các chỉ số sinh hoá và huyết học trước khi dùng thuốc với sau một tháng dùng thuốc và một tháng sau khi ngừng thuốc giữa lô đối chứng và lô dùng thuốc**

	Lô thỏ chứng			Lô thỏ thử cao chiết từ rễ loài V. jatamansi		
	Trước khi uống thuốc n = 6 (1)	Sau khi uống thuốc 1 tháng n = 6 (2)	Sau 1 tháng ngừng uống n = 6 (3)	Trước khi uống thuốc n = 7 (4)	Sau khi uống thuốc 1 tháng n = 7 (5)	Sau 1 tháng ngừng uống n = 7 (6)
Cân nặng (kg)		1,93±0,04	1,96±0,07 $P_{1,3} > 0,05$	1,80±0,04 $P_{1,4} > 0,05$	1,80±0,04 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	1,90±0,07 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Hồng cầu (triệu/mm^3)		5,90±0,04	5,54±0,25 $P_{1,3} > 0,05$	5,46±0,19 $P_{1,4} > 0,05$	5,22±0,21 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	5,56±0,22 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Bạch cầu (nghìn/mm^3)	6,95±0,42	7,82±0,39 $P_{1,2} > 0,05$	7,73±0,27 $P_{1,3} > 0,05$	5,84±0,70 $P_{1,4} > 0,05$	7,20±0,54 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	7,43±0,41 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Hemoglobin (g/dl)	12,05±0,19	12,03±0,31 $P_{1,2} > 0,05$	11,48±0,30 $P_{1,3} > 0,05$	11,91±0,32 $P_{1,4} > 0,05$	11,08±0,39 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	11,96±0,32 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$

AST (GOT) (U/l)	36,50±3,16	36,77±3,93 $P_{1,2} > 0,05$	38,44±2,58 $P_{1,3} > 0,05$	36,89±2,70 $P_{1,4} > 0,05$	40,17±3,65 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	39,44±1,22 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
ALT (GPT) (U/l)	54,36±2,84	53,80±5,14 $P_{1,2} > 0,05$	51,33±3,00 $P_{1,3} > 0,05$	51,17±2,89 $P_{1,4} > 0,05$	50,90±3,67 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	51,06±3,22 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Creatimin (µmol/l)	109,80±4,10	116,88±6,29 $P_{1,2} > 0,05$	118,16±4,03 $P_{1,3} > 0,05$	126,78±2,89 $P_{1,4} > 0,05$	120,78±2,90 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	124,57±3,26 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Ure (µmol/l)	37,94±2,26	36,00±1,79 $P_{1,2} > 0,05$	35,88±0,81 $P_{1,3} > 0,05$	37,56±1,76 $P_{1,4} > 0,05$	34,49±2,13 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	33,49±1,87 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$
Protein toàn phần (g/dl)	7,84 ± 0,17	7,67 ± 0,22 $P_{1,2} > 0,05$	7,90 ± 0,18 $P_{1,3} > 0,05$	7,59 ± 0,27 $P_{1,4} > 0,05$	7,68 ± 0,23 $P_{4,5} > 0,05$ $P_{2,5} > 0,05$	7,39 ± 0,14 $P_{4,6} > 0,05$ $P_{3,6} > 0,05$

Xét nghiệm mô bệnh học: Thuốc không gây ảnh hưởng đến tổ chức tế bào gan, thận thượng thận

IV. KẾT LUẬN

Cao chiết bằng cồn đã xử lý loại tạp từ rễ của 2 loài *Valeriana* có ở Việt Nam có tác dụng an thần đã được chứng minh bằng các tác dụng dược lý như sau:

+ Cả 2 loài *V. jatamansi* và *V. hardwickii* đều có tác dụng kéo dài giấc ngủ trên chuột đã được gây ngủ bằng thuốc ngủ barbituric .Tác dụng có ý nghĩa thống kê khi dùng liều tương đương 2,5 g dược liệu/kg, tác dụng tăng khi liều tăng (5 g dược liệu/kg).

+ Cả 2 loài *V. jatamansi* và *V. hardwickii* đều có tác dụng ức chế hoạt động vận động tự nhiên của chuột. Độ giảm hoạt động tự nhiên của chuột có ý nghĩa thống kê khi dùng liều tương đương 2,5 g dược liệu/kg và khi tăng liều lên 5 g dược liệu/kg tác dụng tăng không đáng kể. ở liều tương đương 2,5g dl /kg và 5 g dl/kg độ giảm hoạt động tự nhiên của chuột là tương đương nhau

+ Tác dụng trên học tập phản xạ có điều kiện: Cao cồn từ rễ loài *V. jatamansi* khi cho chuột uống liều tương đương 3 g dược liệu /kg có tác dụng ức chế quá trình hình thành phản xạ có điều kiện trên chuột, đã làm kéo dài thời gian để hình thành phản xạ có điều kiện là 17,86% so với lô chứng, nhưng chưa có ý nghĩa thống kê. Đồng thời ở liều 3 g dược liệu/kg cũng làm rút ngắn thời gian lưu giữ phản xạ có điều kiện đã được hình thành trên chuột là 51,85% (có ý nghĩa thống kê)

+ Cao cồn chiết từ rễ loài *V. jatamansi* khi cho thỏ uống với liều tương đương 3 g dược liệu/kg, (liều này gấp 10 lần liều dự kiến sẽ sử dụng trên người tính theo kg thể trọng, liều dự kiến sẽ dùng trên người là 0,3 g dược liệu/kg) và uống kéo dài trong 30 ngày không gây độc cho thỏ thí nghiệm trên các chức năng gan, thận, tạo máu. Các chỉ số hoá sinh và huyết học giữa lô chứng và lô thuốc không khác nhau có ý nghĩa. Các chỉ số hoá sinh và huyết học sau khi uống 30 ngày và sau khi ngừng uống thuốc 30 ngày so với trước khi uống của lô thỏ thử thuốc cũng không khác nhau. Không có sự ảnh hưởng đến cấu trúc tế bào gan, thận, thượng thận của thỏ ở cả 2 lô thí nghiệm. Trong quá trình thí nghiệm, thỏ không giảm cân, ăn uống và hoạt động bình thường.

Cao cồn đã loại tạp từ rễ loài *V. jatamansi* an toàn cho người sử dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dua P.R. , Effect on hexobarbital sleeping time in mice, trong Dhavan B.N. and Srmal R.C. The use of pharmacological techniques for the evalution of natural products, UNESCO 1984 (printed at Lucknow Publishing House), 25 – 31.
2. Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Thị Phượng (2001),Tác dụng của cafein và clopromazin trên phản xạ có điều kiện, Tạp chí Dược liệu Tập 6, số 2-3, 87- 90
3. Myers (1959) Avoidance learning as function of conditioned reflexes, J.physiol,52 : 381-386
4. Đỗ Trung Đàm (2003), Sử dụng Microsoft – Excel trong thống kê sinh học, NXB. Y học, Hà Nội.

NGHIÊN CỨU SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG HẠ ĐƯỜNG HUYẾT CỦA CÂY TRI MẪU (*ANEMARRHENA ASPHODELOIDES* BUNGE, *LILIACEAE*)

Phạm Văn Thanh, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Thị Xuân Hoa, Nguyễn Kim Phượng, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Trang Thúy, Đỗ Thị Hà, Vũ Thúy Lan, Nguyễn Ngọc Chi, Vũ Kim Thu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tri mẫu là cây có nhiều ở Trung Quốc và đã được nghiên cứu di thực vào Việt Nam, là cây thảo sống lâu năm, thân rễ của tri mẫu là dược liệu được dùng nhiều trong y học cổ truyền, nhiều công dụng của tri mẫu đã được chứng minh. Người ta thấy rằng cao methanol của tri mẫu có hoạt tính chống nấm mạnh, nyasol là chất kháng nấm mạnh đã được phân lập. Các hợp chất saponin steroid phân lập từ tri mẫu có tác dụng trên sự ngưng tập tiểu cầu và sự tan ở máu người, do vậy tri mẫu cũng được dùng làm thuốc chống huyết khối ở thời kỳ sau nhồi máu cơ tim. Các hợp chất norlignan của tri mẫu thể hiện hoạt tính ức chế

hyaluronidase và có tác dụng ức chế sự giải phóng histamin, người ta đã sử dụng hoạt tính này để sử dụng tri mẫu làm thuốc chống dị ứng. Tri mẫu còn có nhiều tác dụng khác như hạ sốt, an thần, và hạ đường huyết.

Hiện nay tỉ lệ người mắc bệnh đái tháo đường trên thế giới và ở Việt Nam đều tăng nhanh. Để kiểm chứng tác dụng hạ đường huyết cũng như sử dụng tri mẫu trong điều trị bệnh đái tháo đường, việc nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng hạ đường huyết của tri mẫu là việc làm cần thiết có ý nghĩa thực tiễn cao.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Là thân rễ phơi hay sấy khô của cây tri mẫu, được cắt đoạn và xay bằng máy xay cánh búa qua sàng cỡ 0,1 - 0,2cm để làm nguyên liệu chiết xuất dùng cho phân tích hóa học và thử tác dụng hạ đường huyết.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu hóa học

* Việc phân tích định tính thành phần hóa học dựa vào các phản ứng hóa học đặc trưng, phản ứng màu, kết tủa và trên sắc ký lớp mỏng [1], [2], [3].

* Phương pháp định lượng:

Định lượng saponin: Cân chính xác khoảng 25g bột dược liệu, xác định độ ẩm và chiết bằng Soxhlet với methanol cho đến khi dịch chiết trong không màu và không cho phản ứng với H_2SO_4 đặc. Dịch chiết methanol được thu hồi dung môi dưới áp suất giảm còn khoảng 20 ml, để nguội cho từ từ vào đó 200ml aceton, vừa cho vừa khuấy, để ở tủ lạnh qua đêm, gạn lấy tủa. Tủa để ngoài không khí cho bay hết aceton rồi lại hòa vào methanol và tủa như trên. Phần tủa sấy ở 60^0 C cho đến khô. Cân và tính hàm lượng saponin theo công thức:

$$\text{saponin}_{tp} = \frac{a \times 100}{A\,(100 - X)} \times 100$$

trong đó: a : khối lượng saponin thô TP (g);

A : khối lượng dược liệu (g);

X : độ ẩm của dược liệu (%)

Định lượng flavonoid: Cân chính xác khoảng 25g bột dược liệu đã sấy khô, xay nhỏ và xác định độ ẩm, chiết bằng cồn 90^0 hồi lưu 30 phút, lọc, chiết như vậy 3 lần (dịch lọc lần cuối lên phản ứng cyanidin màu rất nhạt). Tập trung dịch chiết

thu hồi và cô đến còn cắn. Thêm 25ml nước cất vào cắn, khuấy và đun cách thủy 15-20 phút cho tan rồi lọc, làm như vậy 2 lần. Cho dịch lọc của 2 lần vào bình gạn dung tích 150ml. Lắc với 50ml ethylacetat (lắc như vậy 10 lần). Tập trung dịch ethylacetat lại, thu hồi và cô đến cắn. Cắn sấy trong tủ sấy chân không ở 60 ^{0}C đến khô. Ghi khối lượng của cắn và tính ra hàm lượng flavonoid toàn phần (theo công thức tương tự như trên).

2.2.2. Nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết [4]

- *Chuẩn bị mẫu thử*: Dược liệu được chiết với nước hoặc cồn 80^0, tỷ lệ dược liệu so với dung môi là 1/6, chiết cách thủy 1 giờ 30 phút một lần, chiết 3 lần. Các dịch chiết tập trung lại bốc hơi hay thu hồi dung môi dưới áp suất giảm đến cao lỏng 1/1.

- Thử tác dụng hạ đường huyết trên chuột gây đái tháo đường thực nghiệm.

+ Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng có trọng lượng từ 30 - 35g (để đảm bảo lấy đủ được lượng máu 2 lần trước khi gây đái tháo đường và sau khi thử thuốc) là chuột thuần chủng của Viện Vệ sinh dịch tễ, nuôi tiếp ở nhà chăn nuôi của Viện khoảng 4- 5 ngày để chuột thích nghi với điều kiện sống mới. Khi chuột đã ổn định, lấy máu chuột để kiểm tra đường huyết nhằm chọn được những chuột có đường huyết bình thường sử dụng trong nghiên cứu.

Sau khi đã chọn được chuột chia làm 2 lô: lô thử thuốc và lô đối chứng.

Trước khi gây tăng đường huyết, cho chuột của lô thử thuốc uống trước 2 ngày với liều 10g dược liệu/kg chuột. Ngày thứ 3 gây tăng đường huyết với cả 2 lô và tiếp tục cho lô thử thuốc uống thuốc và lô chứng uống nước với thể tích tương đương, uống tiếp 8 ngày.

Đến ngày thứ 8 sau khi gây tăng đường huyết lấy máu để định lượng đường ở cả 2 lô: Lô thử thuốc và lô đối chứng.

Phương pháp gây tăng đường huyết: Áp dụng mô hình gây tăng đường huyết bằng alloxan monohydrat, liều gây tăng do Khoa Dược lý sinh hoá chỉnh lý (60mg/kg).

Dung dịch alloxan monohydrat được tiêm vào tĩnh mạch đuôi chuột.

Phương pháp định lượng đường huyết:

- Phương pháp dùng men (GOD-PAP method).

Nguyên tắc: Phản ứng oxy hóa 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 510 nm.

(màu đỏ tím)

$$2H_2O_2 + 4\text{aminophenazon} + \text{phenol} \xrightarrow{POD} \text{Quinoneimin} + 4\,H_2O$$

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả định tính

3.1.1. Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học bằng các phản ứng đặc trưng

Bảng 1. **Sự có mặt của các nhóm chất**

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận
1	Flavonoid	-Phản ứng cyanidin -Phản ứng với kiềm: +Amoniac +NaOH 10% -Phản ứng với dung dịch $FeCl_3$ 5%	+ + + + + + + +	Có flavonoid
2	Glycosid tim	-Phản ứng Liberman -Phản ứng Baljet -Phản ứng Legal -Phản ứng Keller- Kiliani	+++ – – –	Không có glycosid tim
3	Alcaloid	-Với thuốc thử Dragendoff -Với thuốc thử Mayer -Với thuốc thử Bouchardat	+ + +	Có alcaloid
4	Coumarin	-Phản ứng đóng mở vòng lacton -Phản ứng diazo hóa	+++ ++	Có coumarin
5	Saponin	-Hiện tượng tạo bọt -Tính phá huyết -Phân biệt saponin triterpen và sterolic	+++ +++	Có saponin sterolic

6	Anthranoid	-Phản ứng với NaOH 10%	+++	Có anthranoid
7	Tanin	-Phản ứng với $FeCl_3$ 5% -Phản ứng với Gelatin 1%	++ –	Không có tanin
8	Acid hữu cơ	-Phản ứng với Na_2CO_3 dạng tinh thể	_	Không có acid hữu cơ
9	Phytosterol	-Phản ứng Liberman	++	Có sterol
10	Chất béo	-Để lại vết loang không khô	+	Có ít chất béo
11	Carotenoid	-Với H_2SO_4 10%	–	Không có carotenoid
12	Polysaccharid, Protein	-Tủa trong cồn cao độ	++	Có polysacchari, protein

3.1.2. Kết quả phân tích flavonoid trên sắc ký lớp mỏng

***Bảng 2.* Với hệ dung môi toluen: EtOAc: aceton : acid formic (7/2/2/1)**

TT	Hệ dung môi TEAF	Hiện màu với các thuốc thử		
	Rf	UV 365	UV254	NaOH 1%/ cồn UV 365
1	0,00	Vàng	Nâu đậm	Nâu đậm
2	0,07	Vàng	Nâu	Vàng đậm
3	0,15	Vàng	Nâu	Vàng đậm
4	0,53	Xanh phát quang	Không màu	Xanh phát quang
5	0,58	Vàng	Không màu	Vàng đậm
6	0,62	Vàng	Nâu đất	Vàng đậm
7	0,68	Vàng đậm	Không màu	Vàng đậm
8	0,83	Xanh phát quang	Xanh phát quang	Xanh phát quang

Nhận xét: Với hệ TEAF flavonoid xuất hiện 8 vết.

Bảng 3. **Với hệ dung môi toluen : EtOAc : acid formic (5/4/1)**

TT	Hệ dung môi TEF	Hiện màu với các thuốc thử		
	Rf	UV365, Hơi NH_3	UV 254	NaOH 1%/ cồn UV365
1	0,00	Vàng	Nâu tối	Vàng đậm
2	0,12	Nâu vàng	Nâu tối	Nâu
3	0,23	Xanh phát quang	Không màu	Xanh phát quang
4	0,42	Xanh phát quang	Không màu	Xanh phát quang
5	0,63	Vàng	Nâu đất	Vàng đậm
6	0,75	Nâu nhạt	Nâu nhạt	Nâu đậm
7	0,84	Vàng nhẹ	Nâu	Xanh tối

Nhận xét: Với hệ dung môi toluen : ethylacetat : acid formic (5:4:1) xuất hiện 7 vết.

3.1.3. Kết quả phân tích saponin trên sắc ký lớp mỏng

Bảng 4. **Với hệ dung môi *n*-hexan – cloroform – aceton (4/2/1)**

TT	Rf	Hiện màu với a.phosphomolypdic/ $MeOH/H_2SO_4$	TT	Rf	Hiện màu với a.phosphomolypdic/ $MeOH/H_2SO_4$
		Màu sắc			Màu sắc
1	0,03	Xanh đậm	8	0,65	Xanh mờ
2	0,14	Xanh đậm	9	0,71	Xanh mờ
3	0,25	Xanh mờ	10	0,75	Xanh đậm
4	0,31	Xanh mờ	11	0,78	Xanh mờ
5	0,37	Xanh mờ	12	0,81	Xanh mờ
6	0,47	Xanh đậm	13	0,84	Xanh mờ
7	0,52	Xanh đậm	14	0,88	Xanh mờ

Nhận xét: Với hệ dung môi này, xuất hiện tới 14 vết.

Bảng 5. **Với hệ dung môi ethylacetat - ethanol (9:1)**

STT	Rf	Hiện màu với a.phosphomolypdic/ $MeOH/H_2SO_4$	STT	Rf	Hiện màu với a.phosphomolypdic/ $MeOH/H_2SO_4$
		Màu sắc			Màu sắc
1	0,00	Xanh mờ	5	0,66	Xanh mờ
2	0,26	Xanh mờ	6	0,77	Xanh mờ
3	0,36	Xanh mờ	7	0,86	Xanh mờ
4	0,52	Xanh đậm	8	0,96	Xanh đậm

Nhận xét: Với hệ dung môi ethylacetat - ethanol tuyệt đối (9:1) có ít nhất 9 vết.

3.2. Kết quả định lượng flavonoid và saponin toàn phần của tri mẫu

Bảng 6. **Kết quả định lượng flavonoid toàn phần**

Mẫu số	Khối lượng mẫu định lượng(g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng flavonoid toàn phần thu được(g)	Hàm lượng flavonoid tính ra %
1	25,00	12,96	0,74	3,40
2	25,00	12,96	0,61	2,78
3	25,00	12,96	0,65	2,98
Trung bình	**25,00**	**12,96**	**0,67**	**3,05**

Bảng 7. **Kết quả định lượng saponin**

Mẫu số	Khối lượng mẫu định lượng (g)	Độ ẩm (%)	Khối lượng saponin toàn phần thu được (g)	Hàm lượng saponin tính ra %
1	25,00	12,96	4,10	18,84
2	25,00	12,96	5,42	24,72
3	25,00	12,96	3,67	16,85
Trung bình	**25,00**	**12,96**	**4,38**	**20,14**

Nhóm alcaloid cũng tiến hành định lượng theo phương pháp cân nhưng vì hàm lượng rất thấp chỉ khoảng 0.02% nên chỉ định lượng một lần không định lượng tiếp.

3.3. Kết quả thử tác dụng hạ đường huyết

Bảng 8. **Kết quả hạ đường huyết của cao tri mẫu chiết bằng nước**

Lô thử nghiệm	Liều thử thuốc quy ra dược liệu	Số chuột thử nghiệm	Tỷ lệ % tăng đường huyết sau khi tiêm alloxan 8 ngày	Mức % giảm đường huyết của lô thử thuốc so với lô chứng	P
Lô đối chứng	Lượng nước cất tương đương	14	303,22±26,92	18,45	0,25
Lô thử thuốc	10 g dược liệu /kg	13	247,27±24,34		

Nhận xét: Tác dụng hạ đường huyết cao tri mẫu chiết bằng nước là yếu (giảm 18.45%) P ở mức 0.25 (chưa đạt).

Bảng 9. **Kết quả thử tác dụng hạ đường huyết của cao tri mẫu chiết bằng cồn 80^0**

Lô thử nghiệm	Liều thử thuốc quy ra dược liệu	Số chuột thử nghiệm	Tỷ lệ % tăng đường huyết sau khi tiêm alloxan 8 ngày	Mức % giảm đường huyết của lô thử thuốc so với lô chứng	P
Lô đối chứng	Lượng nước cất tương đương	14	303,27±26,92	36,39	0,002
Lô thử thuốc	10 g dược liệu/kg	12	192,88±17,38		

Nhận xét tác dụng hạ đường huyết của cao tri mẫu chiết bằng cồn 80^0C là tốt, giảm 36,39% với P = 0,002

IV. KẾT LUẬN

- Thân rễ tri mẫu có các nhóm chất chính sau: Flavonoid, alcaloid, coumarin, saponin sterolic, anthranoid, sterol, polysaccharid, protein.

- Trong đó hàm lượng flavonoid là 3,05% và hàm lượng saponin là 20,14%.

- Phân tích flavonoid trên sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi toluen : EtOAc : aceton : acid formic (7/2/2/1)và thuốc hiện màu là acid phosphomolypdic/MeOH/ H_2SO_4 có 8 vết.

Với hệ dung môi toluen :EtOAc : acid formic có 7 vết.

- Phân tích saponin trên sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi *n*-hexan: cloroform: aceton (4/2/1) hiện màu bằng thuốc thử acid phosphomolypdic/MeOH/H_2SO_4 có 14 vết.

Với hệ dung môi EtOAc : ethanol tuyệt đối (9/1) có 8 vết.

- Tác dụng hạ đường huyết trên mô hình gây đái tháo đường bằng alloxan trên chuột nhắt trắng của cao tri mẫu chiết bằng nước thì yếu ,đường huyết của lô thử thuốc giảm 18.45% so với lô đối chứng với giá trị P = 0,25 chưa có ý nghĩa thống kê.

- Tác dụng hạ đường huyết của cao tri mẫu chiết bằng cồn 80^0 khá tốt, đường huyết của lô thử thuốc giảm 36,39% so với lô đối chứng với P = 0,002 có ý nghĩa thống kê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Bàn (1996), Phân tích sàng lọc Hóa thực vật.
2. Bộ môn Dược liệu Trường đại học Dược Hà Nội (1998), Bài giảng Dược liệu Tập I, Tập II.
3. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu (1985), Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc NXB. Y học Hà Nội.
4. Vũ Đình Vinh, Đặng Hanh Phức, Đỗ Đình Hồ, Kỹ thuật y sinh hóa Trường Đại học Quân y NXB. Quân đội nhân dân, Trang 222- 407.
5. Chen W, Qiao C., (2000), The morphological variation in species of *Anemarrhera asphodeloides*. Zhong Yao Cai. Jun; 23 (6): 311- 4
6. Iida Y, Yonemura H, Oh KB, Saito M, Matsuoka H., (1999), Sensitive screening of antifungal compuonds from acetone extracts of medicinal plant with a Bio cell Tracer. Yakugaku Zasshi - Dec; 119 (12) : 964- 71

7. Ichiki H, Miura T, Kubo M, Ishihara E, Komatsu Y, Tanigawa K, Okada M, (1998), New antidiabetic compounds, magiferin and its glucoside. Biol pharm Bull , Dec; 21 (12): 1389- 90

8. Ma B, Wang B, Dong J, Yan X, Zhong H, Tu, (1997), A Plante Med. Aug; 63(4): 376- 9

9. Wangsheng Chen, Lianna Sun, Ziyang Lou, Chuan Zhang, Studies on total flavones from Anemarnhana Rhizoma as a new drug to treat type II di- AGFD 132.

10. Park HJ, Lec JY, Moon SS, Hwang BK, (2003), Iosolation and anti oomycete activity of nyasol from anemarnbena asphodeloides rhizome Ph. Phytochemistry Nov; 64(5) : 997- 1001.

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH TÊN KHOA HỌC, DẤU VÂN TAY HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA MỘT SỐ LOÀI NẤM ĐA NIÊN THUỘC CHI *GANODERMA* VÀ CHI *PHELLINUS*

Bùi Thị Bằng, Đàm Nhận, Nguyễn Kim Bích,
Nguyễn Chiến Binh, Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Kim Phượng,
Đỗ Thị Phương, Mai Thị Minh, Nguyễn Thị Nụ, Nguyễn Minh Tâm *-Viện Dược liệu*
Trần Công Yên, Nguyễn Thị Quỳ và ctv. *- Đại học Khoa học Tự nhiên*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gần đây, nhu cầu sử dụng nấm "cổ linh chi" tăng đột biến ở Việt Nam (VN). Viện Dược liệu đã phân tích sơ bộ thành phần hoá học của hàng chục mẫu nấm đa niên (NĐN) với tên "nấm cổ linh chi" theo yêu cầu của khách hàng. Kết quả bước đầu cho thấy, thực tế dưới tên "nấm cổ linh chi" là nhiều loại nấm khác nhau về hình dáng, màu sắc, trọng lượng và thành phần hoá học.

Trên thực tế, một số loài NĐN đã được nghiên cứu và sử dụng ở nước ngoài làm thuốc. Như vậy NĐN ở Việt Nam có thể cũng có những tác dụng sinh học tương tự như tác dụng bảo vệ gan, tăng cường miễn dịch, ức chế sự phát triển của

tế bào ung thư, dùng trong hỗ trợ điều trị bệnh viêm gan mạn hoạt động và hỗ trợ điều trị ung thư phối hợp với hoá trị liệu.

Thực tế cho thấy NĐN ở Việt Nam rất phong phú và đa dạng, cần được nghiên cứu một cách hệ thống và toàn diện. Tuy nhiên, trong khuôn khổ một đề tài cấp cơ sở chúng tôi chỉ giới hạn nội dung nghiên cứu về phân tích sơ bộ thành phần hoá học và thăm dò một số tác dụng sinh học đang được quan tâm nhiều đó là tác dụng bảo vệ gan và tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư.

II. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Là các mẫu NĐN lưu hành trên thị trường (mua tại Tp. Hồ Chí Minh và Hà Nội) hoặc do các khách hàng cung cấp và các mẫu NĐN do TS. Nguyễn Bá Hoạt và cs. thu hái tại tỉnh Kon Tum.

Tên khoa học của các mẫu nấm do TS. Đàm Nhận xác định.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Xác định tên khoa học một số mẫu NĐN.
- Xác định các đặc trưng hoá học (3 nhóm chất: Terpenoid, chất khử và acid amin) của một số loài nấm thuộc chi *Ganoderma* và *Phellinus* bằng phương pháp SKLM.
- Thử tác dụng bảo vệ gan của một số loài NĐN .
- Thử tác dụng trên tế bào ung thư sarcoma 180 (*in vivo*).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp xác định các đặc trưng hoá học

Các đặc trưng hoá học của các loài nấm nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Hoá phân tích –Tiêu chuẩn – Viện Dược liệu.

Các đặc trưng hoá học của các loài nấm nghiên cứu được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM) với các hệ dung môi và thuốc thử hiện màu sau:

- *Định tính các hợp chất triterpenoid:*

Hệ dung môi: Toluen : ethyl acetat : aceton : acid formic (15 : 4 : 4 : 2).

Thuốc thử: Vanillin – acid phosphoric

Libermann – Burchard

- *Định tính các hợp chất khử:*

Hệ dung môi: Toluen : ethyl acetat : aceton : acid formic (15 : 4 : 4 : 2).

Thuốc thử: Tetrazolium blue.

- *Định tính acid amin:*

Hệ dung môi: *n*-butanol : acid acetic : nước (4 : 1 : 5)

Thuốc thử ninhydrin

2.3.2. Phương pháp thử tác dụng của NĐN trên men gan GPT và bilirubin

Thí nghiệm được thực hiện tại Khoa Dược lý – Sinh hoá - Viện Dược liệu.

Gây viêm gan bằng CCl_4 [6].

Chuột thí nghiệm được chia lô như sau:

- Lô đối chứng bệnh lý được gây viêm gan bằng dung dịch CCl_4 pha trong dầu olive. Tiêm phúc mạc vào ngày thứ 1 và ngày thứ 5.
- Lô gây bệnh và thử thuốc: Gây bệnh như lô trên và song song cho uống cao nước của NĐN (3 loài) với liều ~ 10 g dược liệu khô/kg chuột, uống 8 ngày liền.
- Lô đối chứng sinh học: Tiêm dầu olive với số lần và thể tích tương đương 2 lô trên.
- Lô đối chứng bệnh lý và chứng sinh học: Cho uống nước cất với thể tích tương đương lô thử thuốc.

Ngày thứ 8: Sau khi cho uống nước hoặc mẫu thử một giờ, tiến hành lấy máu chuột để định lượng các thông số sau:

– Men gan GPT được định lượng bằng phương pháp dùng *L*-alanin. Kít do Hãng Human cung cấp.

– Bilirubin được định lượng bằng phương pháp so màu. Kít do hãng Human cung cấp. Thực hiện trên máy định lượng sinh hoá bán tự động Scout.

Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học.

2.3.3.Phương pháp nghiên cứu tác dụng trên tế bào ung thư sarcoma 180 [1]

Nghiên cứu tác dụng của NĐN trên tế bào ung thư được tiến hành tại Bộ môn Tế bào Mô phôi - Khoa Sinh học - Đại học Khoa học tự nhiên (Hà Nội).

** Đối tượng nghiên cứu:*

- Chuột nhắt trắng dòng Swiss:50 con, giống đực, trọng lượng từ 20 đến 23 g/con, được nuôi dưỡng bằng thức ăn tổng hợp do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.
- Dòng tế bào ung thư rắn sarcoma 180, phát triển trên đùi chuột.
- Cao nước chiết xuất từ nấm *Phellinus sp.* được thử với 3 liều: Thấp (~10 g dược liệu/kg chuột); trung bình (~ 20 g dược liệu/kg chuột) và liều cao (~ 40 g dược liệu/kg chuột).

** Phương pháp nghiên cứu:*

- Cân trọng lượng chuột để chia đều cho 5 lô thí nghiệm, mỗi lô 10 con.
- Cấy vào đùi chuột 10^6 tế bào ung thư sarcoma 180.
- Thời gian thí nghiệm: 28 ngày, kể từ ngày cấy truyền ung thư đến lúc mổ chuột để xét nghiệm.
- Chuột uống thuốc hàng ngày x 13 lần, kể từ ngày thứ nhất sau cấy truyền ung thư đến ngày thứ 14.
- Cân chuột trước khi mổ để xác định trọng lượng trung bình của mỗi chuột trong từng lô.
- Phẫu thuật chuột theo phương pháp thường quy.
- Bóc tách các u đùi và xác định trọng lượng bằng cân kỹ thuật hiện số Satorius, chính xác tới 0,001 g.
- Lấy các mẫu máu để xác định các chỉ tiêu huyết học trên máy Sysmex (Nhật Bản), 18 chỉ tiêu.
- Sinh khối u = trọng lượng trung bình của một u (gam).
- Tỷ số phát triển u được tính theo công thức:

$$GR\ \% = \frac{\text{Trọng lượng u điều trị}}{\text{Trọng lượng u đối chứng}} \times 100\%$$

- Tỷ số ức chế u: IR = 100% - GR.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định tên khoa học một số mẫu NĐN

Chúng tôi đã thu thập được gần 100 mẫu NĐN, bao gồm các mẫu do TS. Nguyễn Bá Hoạt và cs. cung cấp; hoặc do người sử dụng yêu cầu kiểm nghiệm và các mẫu do các chủ hàng chuyên kinh doanh NĐN cung cấp. Về hình dáng kích thước, trọng lượng, mầu sắc chúng rất khác nhau. Theo yêu cầu của khách hàng, TS. Đàm Nhận đã xác định được tên khoa học của 6 loài thuộc 3 chi khác nhau: Chi *Ganoderma*, chi *Phellinus* và chi *Fomes*, cụ thể là các loài sau:

- *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (nấm cổ linh chi)
- *G. capense* (L. Loyd) Pat.
- *G. lobatum* (Schw) Atk.
- *G. hainanense*
- *Fomes* sp.
- *Phellinus* sp.

3.2. Xác định "dấu vân tay hoá học" của một số mẫu NĐN

Dựa theo Tiêu chuẩn cơ sở "Nấm linh chi (*G. lucidum*)" của Viện Dược liệu chúng tôi đã chọn 3 nhóm chất terpenoid, acid amin và chất khử làm "dấu vân tay" để xác định các nhóm chất đặc trưng của 100 mẫu NĐN. Kết quả cho thấy sắc ký đồ SKLM của các mẫu NĐN có thể chia làm 3 nhóm chính (bảng 1). Ngoài ra, trong quá trình phân tích chúng tôi nhận thấy các mẫu NĐN thuộc nhóm III có các vết có màu vàng tương ứng với flavonoid – các vết này khá nhiều về số lượng và có màu rất đậm - đặc trưng cho các loài thuộc chi *Fomes*. Vì vậy, chúng tôi đã chọn 4 nhóm chất làm đặc trưng SKLM cho các loài NĐN (bảng 2).

Bảng 1. **Đặc điểm sắc ký đồ SKLM của NĐN**

Đặc điểm sắc ký đồ SKLM	Terpenoid		Chất khử		Acid amin	
	Số lượng mẫu	Tỷ lệ %	Số lượng mẫu	Tỷ lệ %	Số lượng mẫu	Tỷ lệ %
Nhóm I: Các vết tương ứng với terpenoid và chất khử có gam màu và số lượng vết cũng như độ đậm của vết tương tự như *G. lucidum*	26	26	26	26	8	8

Các loài đã xác định được tên khoa học: • *G. capens* • *G. amberinens* • *G. hainanense* Zhao. Xu & Zhang. • *G. applanatum*						
Nhóm II: Các vết tương ứng với terpenoid và chất khử có gam màu tương tự như *G. lucidum* nhưng ít hơn về số lượng vết và độ đậm của các vết. Đã xác định được tên khoa học 1 loài: • *G. lobatum*	20	20	28	28	0	0
Nhóm III: Các vết tương ứng với terpenoid và chất khử có gam màu khác *với G. lucidum* và số lượng vết nhiều hơn, màu đậm hơn. Có nhiều vết có màu vàng đậm – tương tự như các vết flavonoid. Đã xác định được tên chi của 2 loài: • *Phellinus sp.* • *Fomes sp.*	54	54	46	46	0	0

Kết quả khảo sát trên đây cho thấy có sự khác nhau về thành phần của các nhóm chất đã khảo sát trong các mẫu NĐN. Các nhóm chất này có thể là "dấu vân tay" để sơ bộ nhận dạng chúng (bảng 1). Trong số các loài NĐN đã xác định được tên khoa học chỉ có nấm cổ linh chi (*G. applanatum* (Pers.) Pat.) là có thể có acid amin (màu của vết rất nhạt). Ba loài linh chi đa niên khác (*G. Capense* (L. Loyd) Pat.; *G. hainanense và G. lobatum* (Schw) Atk) đều không phát hiện được acid amin. Các loài thuộc chi *Fomes* và chi *Phellinus* có nhiều vết có màu sắc tương ứng với flavonoid - đây là sự khác biệt rõ nhất giữa các loài thuộc chi *Fomes* và chi *Phellinus* so với chi *Ganoderma*. Sự khác nhau này của sắc ký đồ SKLM có thể sử dụng làm "dấu vân tay" để góp phần nhận dạng và phân biệt các loài NĐN thuộc 3 chi này.

***Bảng 2.* Các nhóm chất đặc trưng của một số loài nấm**

Loài nấm	Terpenoid	Chất khử	Acid amin	Flavonoid
Ganoderma lucidum	++++	+++	+++	-
G. applanatum (Pers.) Pat.	++	++	+	-
G. Capense (L. Loyd) Pat.	++	++	-	-
G. hainanense	++	++	-	-
G. lobatum (Schw) Atk	+	+	-	-
Fomes sp.	+	+	-	++++
Phellinus sp.	+	+	-	+++

3.3. Tác dụng của NĐN trên men gan và bilirubin

Đã thử tác dụng của cao nước điều chế từ 3 loài đại diện cho 3 chi:

- Mẫu 1: *Fomes sp.*
- Mẫu 2: *Phellinus sp.*
- Mẫu 3: *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.

***Bảng 3.* Hoạt độ của men gan GPT trong huyết thanh chuột thí nghiệm**

TT	Lô thí nghiệm	Số chuột	GPT (U/ L)	Tăng, giảm so với lô chứng bệnh lý (%)	P
1	Đối chứng sinh học	10	32,02 ± 1,59		
2	Đối chứng bệnh lý	18	254,63 ± 12,17	Tổng số bệnh lý 7,95 lần	$P_{1.2} = 5{,}6.10^{-13}$
3	CCl_4+ Mẫu 1	18	282,49 ± 16,65	↑ 10,94	$P_{2.3} = 0{,}2202$
4	CCl_4+ Mẫu 2	17	131,52 ± 16,01	↓ 48,34	$P_{2.4} = 9{,}9.10^{-7}$
5	CCl_4+ Mẫu 3	19	172,07 ± 15,65	↓ 32,42	$P_{2.5} = 0{,}00021$

Bảng 4. **Hàm lượng bilirubin trong huyết thanh chuột thí nghiệm**

TT	Lô thí nghiệm	Số chuột	Bilirubin (µmol/l)	Tăng, giảm so với lô đối chứng bệnh lý (%)	P
1	Đối chứng sinh học	10	1,669 ± 0,07		
2	Đối chứng bệnh lý	18	4,350 ± 4,759		$P_{1.2} = 1,59.10^{-13}$
3	CCl_4+ Mẫu 1	18	4,759 ± 0,331	↑ 9,4	$P_{2.3} = 0,3922$
4	CCl_4+ Mẫu 2	17	3,155 ± 0,211	↓ 27,47	$P_{2.4} = 1,76.10^{-13}$
5	CCl_4+ Mẫu 3	19	3,302 ± 0,185	↓ 24,09	$P_{2.5} = 1,77.10^{-13}$

Liều cho chuột uống ~ 10 g/ kg/ ngày.

Nhận xét

- Mẫu 1 không thấy có biểu hiện làm giảm độ tăng cao hoạt độ của men gan GPT và hàm lượng bilirubin trong huyết thanh chuột nhắt trắng gây bởi CCl_4.
- Mẫu 2 và mẫu 3 làm giảm độ tăng cao GPT và bilirubin trong huyết thanh chuột nhắt trắng gây bởi CCl_4 có ý nghĩa thống kê. Kết quả cho thấy cao nước của *Phellinus* sp. *(mẫu 2) và của Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (mẫu 3) có tác dụng bảo vệ gan. Trong đó, mẫu 2 có tác dụng bảo vệ gan tốt hơn mẫu 3.

3.4. Tác dụng của *Phellinus* sp. trên dòng tế bào ung thư sarcoma 180

3.4.1. Tác dụng của NĐN lên sự phát triển u rắn sarcoma 180

Kết quả thử tác dụng của nấm *Phellinus* sp. lên sự phát triển u rắn sarcoma 180 ở chuột nhắt trắng Swiss được trình bày ở bảng dưới đây.

***Bảng 5.* Tác dụng của nấm *Phellinus sp.* lên sự phát triển u rắn sarcoma 180**

STT	Các chỉ tiêu	Lô đối chứng ung thư	Lô thử liều 1 (~ 10 g/kg)	Lô thử liều 2 (~ 20g/kg)	Lô thử liều 3 (~ 40 g/kg)
1	Số chuột	10	9	10	10
2	Tổng trọng lượng u của lô (g)	68,23	70,66	56,56	68,75
3	Trọng lượng trung bình một u (g)	6,82	7,85	5,66	6,88
4	Tỷ số phát triển u (GR%)	100	115,10	82,99	108,87
5	Tỷ lệ ức chế u (IR%)	0	-15,10	17,01	-8,87
6	Trọng lượng trung bình chuột mang u trước khi mổ (g/con)	33,5	34,4	32,5	33,5
7	Trọng lượng trung bình chuột đã cắt bỏ u (g)	26,7	26,6	26,8	28,7

Nhận xét

- *Về sinh khối u*
  - Việc cấy ghép tế bào u rắn sarcoma 180 vào đùi chuột đã đạt kết quả 100%, riêng ở lô thử liều 1 có 1 chuột đã phát triển u nhưng bị chết trước khi mổ xét nghiệm.
  - Liều thấp (1) và liều cao (3) của nấm *Phellinus sp.* đã làm tăng sinh khối u so với đối chứng.
  - Liều trung bình (2) của nấm *Phellinus sp.* đã làm giảm sinh khối u so với đối chứng.
- *Về tỷ số phát triển u (GR%)*

Dưới tác dụng của liều trung bình tỷ số phát triển u thấp hơn so với chứng và có giá trị bằng 82,89% so với lô đối chứng. Tuy nhiên, nếu theo thang đánh giá

hoạt tính kháng u của H. Itokawa (1989) thì cao nước của nấm *Phellinus sp.* chưa thể hiện hiệu lực kháng u sarcoma 180.

- *Về tỷ số ức chế u (IR%)*

Chỉ có liều trung bình là ức chế u (17,01%).

- *Tác dụng đối với trọng lượng trung bình của chuột bị ung thư*

Trọng lượng trung bình của chuột bị ung thư, đã cắt bỏ u, sau 28 ngày thí nghiệm hầu như không thay đổi so với lô đối chứng ung thư.

3.4.2. Tác dụng của NĐN lên các chỉ số sinh lý máu ngoại vi của chuột nhắt trắng Swiss mang u đùi sarcoma 180

Kết quả phân tích tự động 18 chỉ số sinh lý máu ngoại vi của chuột nhắt trắng Swiss mang u đùi sarcoma 180 được trình bày ở bảng 6.

***Bảng 6.* Các chỉ số sinh lý máu ngoại vi của chuột nhắt trắng Swiss mang u đùi sarcoma 180**

TT	Chỉ số	Lô đối chứng sinh học	Lô đối chứng ung thư	Lô thử liều 2
1	WBC ($x10^9/l$) (bạch cầu)	9,68	55,15	61,60
2	NEUT (%)	55,00	88,00	90,23
3	LYMPH(%) (bạch cầu lympho)	44,50	11,33	8,50
4	MONO (%)	0,015	0,96	1,13
5	EO (%)	0,065	0,00	0,10
6	BASO (%)	0,015	0,00	0,00
7	RBC ($x10^{12}/l$) (hồng cầu)	9,88	7,12	7,43
8	HGB (g/*l*) (hemoglobin)	141,00	106,00	111,33
9	HCT (%) (thể tích khối hồng cầu)	45,56	36,00	38,20
10	MCV (f*l*)	46,20	50,66	51,63
11	MCH (pg)	14,30	14,80	15,06
12	MCHC (g/*l*)	309,50	294,00	291,33
13	RDW (%)	16,15	19,80	15,46
14	PLT ($x10^9/l$) (tiểu cầu)	634,00	1034,33	955,00
15	PDW (f*l*)	7,45	7,27	8,26
16	MPV (f*l*)	7,25	7,00	7,60
17	P-LCR (%)	8,00	4,43	10,33
18	RET ($x10^{12}/l$)	0	0	0

Ghi chú: g/*l* = giga/lit = $10^9/l$

fl = femtolit = 10^{-15} *l*

pg = picogam = 10^{-12} gam

Nhận xét

Cao nước của nấm *phellinus* sp. có xu hướng làm tăng nhẹ một số chỉ số của máu ngoại vi chuột bị ung thư, như số lượng hồng cầu; hemoglobin; thể tích khối hồng cầu.

Làm giảm số lượng tiểu cầu ở chuột bị ung thư. số lượng tiểu cầu trong máu ngoại vi chuột bị ung thư đã tăng đột ngột lên 63% so với chuột khoẻ mạnh. Trên thực tế, máu chuột bị ung thư đặc quánh hơn chuột bình thường và rất chóng đông khi lấy ra khỏi cơ thể chuột bị ung thư.

Đánh giá chung

Cao nước chiết xuất từ nấm *Phellinus sp.* với liều trung bình đã làm giảm tỷ số phát triển u sarcoma 180 ở đùi chuột, nhưng với hiệu lực thấp.

IV. BÀN LUẬN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

D*ấu vân tay hoá học của NĐN*

Kết quả khảo sát sắc ký đồ SKLM của 3 nhóm chất terpenoid, chất khử và acid amin của NĐN cho thấy đặc trưng hoá học SKLM của 3 chi *Ganoderma, Fomes* và *Phellinus* khá rõ ràng.

Chi *Ganoderma*: Có từ 2 đến 3 nhóm chất đã khảo sát với màu sắc đặc trưng:

Terpenoid có các vết chính màu xanh tím than xen kẽ các vết phụ màu tím nhạt.

Chất khử: Màu tím đến tím đỏ.

Acid amin: Màu hồng.

Chi *Fomes*: Có 2 nhóm chất:

Terpenoid có các vết màu xanh tím than, màu tím, đỏ cam xen kẽ nhiều vết màu vàng. đặc trưng của chi này là vết đỏ cam.

Chất khử có các vết màu vàng xẫm đến nâu.

Acid amin: Không có

Chi *Phellinus:* Có 2 nhóm chất:

Terpenoid có các vết màu tím xen kẽ các vết màu vàng.

Chất khử có các vết màu vàng xẫm đến nâu.

Acid amin: không có.

Dựa vào kết quả khảo sát sắc ký đồ SKLM chúng tôi đã sơ bộ định hướng "dấu vân tay" bằng SKLM của 2 loài là *G. applanatum* và *G. lobatum* (bảng 2).

- *Tác dụng sinh học*

Lựa chọn đối tượng và nội dung nghiên cứu: Như đã trình bày trong phần tổng quan, một số loài nđn được thế giới sử dụng làm thuốc hỗ trợ điều trị ung thư và viêm – xơ gan là *G. applanatum*, *Phellinus linteus*. hai loài NĐN này đã được dùng phối hợp với các loài nấm khác như nấm linh chi (*G. lucidum*), nấm hương, nấm vân chi .... để làm thuốc tăng cường miễn dịch, hỗ trợ sức khoẻ cho bệnh nhân ung thư, hội chứng suy giảm miễn dịch, bệnh xơ gan, ung thư gan. kết quả đã được ghi nhận trên lâm sàng [2, 3, 4, 5]. Các thương gia Hàn Quốc đã sang Việt Nam tìm kiếm nguồn dược liệu *Phellinus linteus*.

Ở Việt Nam trong những năm qua, các mẫu nấm đưa đến kiểm nghiệm tại Viện Dược liệu thường là các mẫu nấm được bán trên thị trường cho người dân để tự chữa bệnh cho mình và cho người thân. Qua khảo sát thị trường Hà Nội và thị trường Tp. Hồ Chí Minh chúng tôi đã gặp hầu hết các mẫu nấm này được bày bán tại cửa hàng hoặc có tại các kho nấm của các nhà buôn. số lượng nhiều nhất là các loài thuộc chi *Fomes*. Trên thị trường các mẫu nấm này được gọi là "hoàng chi". ngoài ra cũng gặp nhiều cửa hàng bán loài tương tự như *Phellinus linteus* của Hàn Quốc.

Vì vậy, chúng tôi đã chọn 3 đối tượng đại diện cho 3 chi để thử tác dụng sinh học: *G. applanatum, Phellinus sp.* và *Fomes sp.* (hoàng chi). Các nội dung nghiên cứu cũng được lựa chọn dựa vào kinh nghiệm sử dụng của nước ngoài, là các tác dụng bảo vệ gan và ức chế tế bào ung thư.

**** Tác dụng bảo vệ gan***

Kết quả trình bày ở bảng 3, 4 cho thấy mẫu dược liệu "hoàng chi" không những không làm giảm, mà lại làm tăng men gan GPT và bilirubin ở chuột gây viêm gan cấp bằng CCl_4. Hai mẫu *G. applanatum* và *Phellinus sp.* có tác dụng bảo vệ gan khá tốt, thể hiện trên tác dụng làm giảm có ý nghĩa thống kê hoạt độ men gan GPT và hàm lượng bilirubin trong gan chuột bị gây tổn thương bằng CCl_4.

**** Tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư***

Thử nghiệm *in vivo* trên dòng tế bào sarcoma 180, cao nước chiết xuất từ nấm *Phellinus sp.* với liều trung bình đã làm giảm tỷ số phát triển u sarcoma 180 ở đùi chuột, nhưng với hiệu lực thấp. Tác dụng đáng ghi nhận của cao nước *Phellinus sp.* là làm giảm số lượng tiểu cầu bị tăng quá mức và làm tăng nhẹ hồng cầu, hemoglobin bị giảm nhiều khi chuột bị cấy truyền tế bào u rắn sarcoma 180. Tác dụng này có thể hỗ trợ cho chuột bị ung thư kéo dài thời gian sống thêm.

Tổng hợp lại cho thấy loài *G. applanatum* và *Phellinus sp.* là có triển vọng hơn cả trong bảo vệ tế bào gan bị gây tổn thương bởi CCl_4. Kết quả này cũng phù hợp với kết qủa nghiên cứu và kinh nghiệm sử dụng của nước ngoài. Hai loài này cần được tiếp tục nghiên cứu trên viêm gan mạn và xơ gan.

V. KẾT LUẬN

Đã khảo sát đặc trưng hoá học của một số loài nấm thuộc các chi *Ganoderma, Fomes* và *Phellinus*. Đã xác định "dấu vân tay hoá học" của 3 chi bằng SKLM và của 2 loài nấm *G. applanatum* và *G. lobatum* với 3 nhóm chất "chỉ điểm" là terpenoid, chất khử và acid amin.

Cao nước của 2 loài nấm *G. applanatum* và *Phellinus sp.* có tác dụng làm giảm có ý nghĩa thống kê hoạt độ của men gan GPT và hàm lượng bilirubin trong gan chuột bị gây tổn thương bởi CCl_4.

Cao nước của *Phellinus* sp. với liều ~ 20 g dược liệu/kg chuột cấy truyền tế bào u rắn sarcoma 180 đã làm giảm tỷ số phát triển u ở đùi chuột (bằng 82,89% so với lô đối chứng).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Beverly A.Teicher. 1997, Anticancer drug development guide: Preclinical Screening, clinical trials and approval. Humana Press Totowa, New Jersay.
2. Elkekawa T. et al., 1968, Antitumor action of some *Basidomycetes*, especially *Phellinus linteus*. GANN, 59: 155 – 157.
3. Eoh.G.T., S.B. Han et al., 1992, "Immunostimulating activity of *Phellinus linteus* extract to B lymphocytes" Arch. Pharm. Res. 15(4): 379 – 381.
4. Ekim H. et al., 1996, Stimulation of Humoral and Cell mediated immunity by polysaccharide Mushroom *Phellinuslinteus*. Int.J. Immunopharmac. 18(5): 295 – 303.
5. Elee JH et al., 1996, Immunostimulating activity and characterization of polysaccharide from Mycelium of *Phellinus linteus*. J. of microbiology and Biotechnology, 6(3): 213 – 218.
6. Turner R.A.(1965) Screening methods in pharmacology, vol.1, test for hamatotoxicy, p. 299 – 300.

TÁC DỤNG HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ U BÁNG SARCOMA TRÊN CHUỘT CỦA NẤM CỔ LINH CHI *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.

Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Bá Hoạt, Đàm Nhận, Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Thanh Sơn, Nguyễn Thị Nụ và ctv. - Viện Dược liệu

Trần Công Yên, Nguyễn Thị Quỳ và ctv. Trường đại học Khoa học tự nhiên

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gần đây nhu cầu sử dụng nấm cổ linh chi (NCLC) tăng đột biến ở Việt Nam vì có nhiều thông tin về tác dụng điều trị ung thư của loại nấm này. Viện Dược liệu đã thu thập hàng trăm mẫu nấm bán trên thị trường cũng như trong tự nhiên

để nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy trong số đó rất ít mẫu nấm là NCLC. Thực chất dưới tên NCLC là rất nhiều loại nấm khác nhau về loài, hình dáng, kích thước và thành phần hoá học.

Kinh nghiệm sử dụng các sản phẩm từ các loài nấm linh chi, trong đó có loài nấm cổ linh chi cho thấy chúng có tác dụng làm giảm các tác dụng phụ độc hại của các thuốc hoá chất dùng trong điều trị ung thư. Nhờ vậy tình trạng sức khoẻ được cải thiện và thời gian sống thêm sau điều trị bằng hoá chất hoặc tia xạ được kéo dài thêm Trên thế giới, loài NCLC cũng đã bắt đầu được nghiên cứu và cũng được dùng phối hợp với các loài nấm khác trong hỗ trợ điều trị ung thư, viêm gan mạn hoạt động có kết quả [1, 2, 3].

Nấm cổ linh chi [*Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.] đã được phát hiện ở Việt Nam. Vì vậy, Viện Dược liệu đã nghiên cứu tác dụng hỗ trợ điều trị ung thư của loài nấm cổ linh chi trên mô hình gây u báng sarcoma 180 ở chuột.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Cao nước (89n) và cao ethanol (89c) chiết xuất từ nấm cổ linh chi [*Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.] là nguyên liệu nghiên cứu của đề tài. Mỗi chế phẩm thử hai liều: 1200 mg/kg và 2400 mg/kg.
- Mẫu nấm cổ linh chi đã được TS. Nguyễn Bá Hoạt phát hiện tại xã Mang Ri, huyện Dakto, tỉnh Kon Tum năm 2004. Tên khoa học của mẫu nấm do TS. Đàm Nhận xác định.
- Chuột nhắt trắng dòng Swiss: 110 con, giống đực, trọng lượng từ 18 đến 22g/con, được nuôi dưỡng bằng thức ăn tổng hợp do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.
- Dòng tế bào u báng sarcoma 180 từ Phòng thí nghiệm Ung thư học thực nghiệm, Khoa Sinh học, Trường đại học Khoa học Tự nhiên.
- Cisplatin "EBEWE" nhập của Áo.
- Địa điểm thí nghiệm: Khoa Sinh học, Trường đại học Khoa học Tự nhiên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thí nghiệm 1* : Nghiên cứu khả năng hỗ trợ điều trị u báng sarcoma 180

Chuột thí nghiệm – 60 chuột Swiss giống đực được chia thành 6 lô, trong đó:

- 1 lô đối chứng sinh học (ĐCSH): không cấy truyền tế bào u báng (TBUB) và không điều trị.

- 1 lô đối chứng u báng (ĐCUB): cấy truyền TBUB và không điều trị.
- 1 lô chuột cấy truyền TBUB được đều trị bằng cisplatin.
- 3 lô chuột cấy truyền TBUB điều trị phối hợp cisplatin với các chế phẩm NCLC.

Trình tự tiến hành thí nghiệm

+ Cân trọng lượng của chuột để chia đều cho các lô.

+ Tiêm truyền vào xoang bụng (ip.) mỗi chuột 10^6 tế bào u báng sarcoma 180 (trừ lô đối chứng sinh học - ĐCSH).

+ Ngày thứ 5 sau cấy truyền u báng, bắt đầu điều trị.

+ Ngày thứ 15 sau cấy truyền, mổ chuột để xác định các chỉ tiêu ung thư học thực nghiệm (định lượng và so sánh).

Các chỉ tiêu ung thư học thực nghiệm cần khảo sát

+ ***Sinh khối u:*** là tổng số tế bào u báng của một u báng, được tính theo công thức sau:

$$B = V.[n].$$

trong đó: B là sinh khối u (Biomass); V là thể tích u báng tính bằng ml và [n] là mật độ tế bào ung thư trong 1 ml, được xác định nhờ buồng đếm hiển vi Thomas.

+ ***Tỷ số phát triển u*** được tính theo công thức:

$$GR\% = \frac{B \text{ điều trị}}{B \text{ đối chứng}} \times 100\%$$

GR%(Growth Ratio) càng nhỏ chứng tỏ hiệu lực kháng u của chế phẩm càng mạnh.

+ ***Tỷ số ức chế u*** được tính theo công thức:

$$IR\% = (100 - GR)\%$$

Chú ý: Khi IR% (Inhibited Ratio) có giá trị (-) có nghĩa là chế phẩm được thử ở liều lượng đó đã kích thích u phát triển hơn so với u bình thường không điều trị- điều mà ta không mong muốn.

+ ***Các chỉ tiêu sinh lý máu ngoại vi*** của chuột thí nghiệm được xác định trên máy phân tích tự động Sysmex 18 chỉ số.

+ ***Trọng lượng chuột thí nghiệm*** được xác định bằng cân Satorius của Anh.

* *Thí nghiệm 2* : Nghiên cứu tác dụng hỗ trợ cisplatin kéo dài thời gian sống thêm của chuột sau khi loại bỏ u báng sarcoma 180.

- 50 chuột nhắt trắng Swiss đực được chia thành 5 lô.

- Toàn bộ 50 chuột được cấy truyền xoang bụng 10^6 TBUB/con .

- Ngày thứ 10 sau cấy u, u đã phát triển tương đối lớn thì chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con và trích bỏ hết u ở từng chuột.

- Cisplatin EBEWE và các chế phẩm nấm linh chi được dùng cùng liều lượng như ở thí nghiệm 1.

- Dựa vào nhật ký chuột chết hàng ngày ở từng lô có thể tính được % số chuột còn sống sót ở từng lô, từng ngày, trong suốt 45 ngày thí nghiệm.

- Tính thời gian sống trung bình của chuột ở từng lô bằng cách tính trung bình cộng thời gian sống của 10 chuột ở mỗi lô, đơn vị tính là ngày.

- Tính thời gian sống thêm của chuột ở các lô có điều trị hậu phẫu theo công thức:

$$ILS = \frac{Ts - Cs}{Cs} \times 100\%$$

Trong đó ILS (Increase in Life Span) là % thời gian sống thêm; Ts là thời gian sống trung bình của chuột bị ung thư được điều trị; Cs là thời gian sống trung bình của chuột bị ung thư không điều trị .

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng hỗ trợ cisplatin điều trị u báng của nấm cổ linh chi

Khả năng hỗ trợ điều trị ung thư của các chế phẩm NCLC: 89n, 89c với các liều khác nhau, được trình bày trong các bảng 1 và 2.

***Bảng 1.* Tác dụng hỗ trợ điều trị u báng sarcoma 180 của NCLC**

TT	Lô thí nghiệm (n = 10)	Thể tích u (ml)	Mật độ TBUB ($x10^6$ /ml)	Sinh khối u ($x10^6$ TBUB)	Tỷ số phát triển u (GR%)	Tỷ số ức chế u (IR%)
1	ĐCSH (Chuột khoẻ mạnh)	-	-	-	-	-
2	ĐCUB (không điều trị)	1,7±0,1	375±6,5	637±15,0	100,00	0,00

3	UB+tiêm ip. Cisplatin 8mg/kg	0 (rửa 1ml)	1,2±0,1	1,2±0,1	0,20	99,80
4	UT+cis Pt+ 89n-1200mg/kg.p.os.	0 (rửa 1ml)	6,2±0,3	6,2±0,3	0,97	99,03
5	UT+cis Pt+ 89n-2400mg/kg.p.os.	0 (rửa 1ml)	7,8±0,4	7,8±0,4	1,22	98,78
6	UT+cis Pt+ 89c-1200mg/kg.p.os.	1,1±0,1	7,8±0,1	8,6±0,1	1,35	98,65

Nhận xét

** Sinh khối u (B)*

- Sinh khối u phụ thuộc chủ yếu vào thể tích u báng của chuột. Bảng 1 cho thấy có 3 lô chuột được tiêm **cisplatin** (riêng lẻ hoặc phối hợp với các chế phẩm NCLC: 89n 1200; 89n 2400 và 89c 1200) đều làm cho u báng không phát triển, khi mổ chuột hầu hết phải rửa xoang bụng để lấy TBUB. Do đó sinh khối u của chúng chỉ từ 1,2x 10^6 đến 8,6x 10^6 TBUB. Trong đó, chế phẩm 89n-1200 làm giảm sinh khối u nhiều nhất.

** Tỷ số phát triển u (GR%) và tỷ số ức chế u (IR%)*

- Trong số các lô chuột cấy truyền u báng được điều trị bằng các chế phẩm NCLC thì có 3 lô (89n.1200; 89n 2400 và 89c 1200) có tỷ số phát triển u rất thấp (từ 0,97 đến 1,35%), đạt hiệu lực kháng u (+++) mức cao nhất theo thang đánh giá hoạt tính kháng u H.Itokawa. 1989.

- Mục tiêu điều trị ung thư phối hợp giữa các chế phẩm NCLC với **cisplatin** "EBEWE" của Austria đã đạt hiệu quả tốt.

** Một số chỉ tiêu huyết học máu ngoại vi*

Trên thực tiễn lâm sàng, khi điều trị ung thư duy nhất bằng **cisplatin** sẽ gây hiệu ứng phụ là suy giảm các loại tế bào máu và suy giảm miễn dịch của cơ thể bệnh. Trong thí nghiệm này chúng tôi cũng thấy rõ điều đó ở bảng 2.

***Bảng 2.* Tác dụng của NCLC lên một số chỉ tiêu huyết học của chuột cấy truyền TBUB sau điều trị bằng cisplatin**

TT	Lô TN	HC (x10^{12}/L)	BC (x10^9/L)	TC (x10^9/L)	BCTT (%)	LYMPHO (%)	MONO (%)
1	ĐCSH	8,11	7.23	726.8	76,5	11.6	7,1
2	ĐCUB	7,30	17.23	951	91,0	7,0	2,0

3	Cisplatin 8mg/kg	5,00	4.95	303	90,0	5,0	5,0
4	CisPt+ 89n-1200	6,91	4,22	546,5	87,0	12,1	0,9
5	CisPt+ 89n-2400	7,08	12,05	339,0	88,0	11,0	1,0
6	CisPt+ 89c-2400	7,37	6,85	579,4	82,0	12,0	6,3

HC= Hồng cầu BCTT= Bạch cầu trung tnh (Neutrophils)

BC= Bạch cầu LYMPHO= Bạch cầu lympho (Lymphocytes)

TC= Tiểu cầu MONO= Bạch cầu đơn nhân (Monocytes)

Sau khi tiêm một liều duy nhất **cisplatin** 8mg/kg vào xoang bụng chuột bị u báng, chuột bệnh được uống liên tục 10 lần trong 10 ngày các chế phẩm NCLC liều lượng khác nhau, đã cho kết quả đáng khích lệ, cụ thể:

** Sự phục hồi số lượng hồng cầu*

- Khi chuột bị cấy truyền tế bào u báng (Lô 2) số lượng hồng cầu bị giảm đi gần 10% so với chuột khỏe mạnh (8,11-7,3 T/L). Khi chuột cấy truyền tế bào u báng được điều trị bằng **cisplatin** (lô 3), số lượng hồng cầu lại giảm đi 31,5% so với lô đối chứng ung thư không điều trị (7,3- 5 T/L).

- Khi chuột cấy truyền tế bào u báng được điều trị phối hợp **cisplatin** + các chế phẩm NCLC thì số lượng hồng cầu đều được phục hồi đáng kể so với khi chỉ điều trị duy nhất bằng **cisplatin**.

** Sự phục hồi số lượng bạch cầu*

- Khi chuột bị cấy truyền tế bào u báng (Lô 2), tương tự như khi bị viêm nhiễm nặng, số lượng bạch cầu tăng lên đột ngột (237,8% so với chuột khỏe mạnh).

- Khi được điều trị bằng **cisplatin** (Lô 3), số lượng bạch cầu bị giảm nhiều so với cả chuột khỏe mạnh (Lô 1) và chuột cấy truyền tế bào u báng (Lô 2).

- Khi chuột cấy truyền tế bào u báng được điều trị phối hợp **cisplatin** + các chế phẩm NCLC thì đã có sự phục hồi số lượng bạch cầu so với khi chỉ điều trị duy nhất bằng **cisplatin** (trừ số 89c1200).

** Sự phục hồi số lượng tiểu cầu*

- Bình thường, khi chuột bị cấy truyền tế bào u báng, số lượng tiểu cầu tăng lên mạnh mẽ làm cho máu bị keo dính hơn, dễ bị đông máu hơn.

- Khi được điều trị bằng **cisplatin** (Lô 3) số lượng tiểu cầu bị giảm một cách đột ngột, chỉ còn bằng 41,7% so với chuột khỏe mạnh (Lô 1).

- Sau khi được điều trị phối hợp giữa **cisplatin** + các chế phẩm NCLC thì 2 lô chuột có số lượng tiểu cầu tăng lên rõ rệt so với khi chỉ điều trị bằng **cisplatin** là 89n 1200 và 89c 1200).

Nhìn chung, sau khi chuột ung thư được điều trị bằng **cisplatin**, số lượng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu đều giảm rõ rệt so với chuột khỏe mạnh. Các chế phẩm NCLC trong thí nghiệm này được dùng để điều trị phối hợp với **cisplatin** (hỗ trợ **cisplatin**) đã có hiệu quả phục hồi rõ rệt các chỉ tiêu huyết học nói trên trở về giá trị bình thường.

** Sự phục hồi và tăng cường số lượng bạch cầu lympho*

- Khi chuột bị cấy truyền tế bào u báng, số lượng bạch cầu lympho giảm xuống còn 60,3% so với chuột khỏe mạnh, khi được điều trị bằng **cisplatin** lại giảm xuống còn 43,1% so với chuột khỏe mạnh. Rõ ràng chuột bệnh sau điều trị **cisplatin** đã suy giảm miễn dịch tới hai lần liên tiếp.

- Sau khi được điều trị phối hợp giữa **cisplatin** với các chế phẩm NCLC thì đã có 2 lô chuột bệnh có tỷ lệ % bạch cầu lympho vượt lô chuột đối chứng khỏe mạnh. Trong đó, đáng chú ý hơn cả là cả chế phẩm 89n.1200 và 89c1200 đã làm tỷ lệ % bạch cầu lympho ở chuột được điều trị phối hợp vượt lô chuột khỏe mạnh bình thường và tăng gấp 2,4 lần so với lô chỉ điều trị bằng **cisplatin**.

- Dù cho cơ chế của hiện tượng trên chưa được sáng tỏ, song bản thân nó, cùng sự phục hồi số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu nói trên, sẽ là tiền đề cho những hy vọng ở thí nghiệm 2.

3.2. Kết quả thí nghiệm 2

Tác dụng của một số chế phẩm NCLC hỗ trợ **cisplatin** kéo dài thời gian sống thêm của chuột bị cấy truyền TBUB được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Tác dụng của NCLC hỗ trợ cisplatin kéo dài thời gian sống thêm của chuột bị cấy truyền TBUB

Lô S TT	1-Trích bỏ u không điều trị (ĐC-1)		2-Trích bỏ u+cis Pt (ĐC-2)		3-Trích bỏ u+cis Pt+89n-1200		4-Trích bỏ u+cis Pt+89n-2400		Trích bỏ u+cis Pt+89c-1200	
	Ngày sống	% sống sót	Ngày sống	% sống sót	Ngày sống	% sống sót	Ngày sống	% sống sót	Ngày sống	% sống sót
1	8	80	8	90	9	90	9	90	9	90
2	8	80	10	80	11	60	11	80	11	70
3	11	70	11	60	11	60	12	70	11	70
4	12	50	11	60	11	60	20	60	12	60
5	12	50	12	50	12	40	26	50	13	50
6	13	40	16	40	12	40	32	40	14	30
7	15	10	19	20	13	30	45	40	14	30
8	15	10	19	20	14	20	45	40	30	20
9	15	10	26	10	20	10	45	40	45	20
10	18	0	27	0	21	0	45	40	45	20
TB	12,70		15,90		13,40		29,00		20,40	
ILS %		0.00		25,20		5.51		128,35		60,63

Nhận xét

Mục tiêu của thí nghiệm 2 là nghiên cứu tác dụng của một số chế phẩm NCLC hỗ trợ **cisplatin** kéo dài thời gian sống thêm của chuột sau khi loại bỏ u báng.

Bảng 3 cho thấy, lô trích bỏ u không điều trị chỉ sống trung bình được 12,7 ngày (con sống lâu nhất là 18 ngày). Lô trích bỏ u được điều trị duy nhất bằng **cisplatin** sống trung bình được 15,9 ngày (con sống lâu nhất là 27 ngày), tăng 25,2% thời gian sống thêm so với lô không điều trị hậu phẫu.

Các kết quả nghiên cứu còn cho thấy, khoảng từ ngày thứ 5 sau điều trị phối hợp thì phần lớn các chế phẩm NCLC thể hiện rõ tác dụng của chúng trong việc kiềm chế tốc độ chết của chuột.

Bảng 3 cho thấy tương quan về thời gian sống thêm (ILS%) giữa các lô thí nghiệm. Các lô được điều trị hỗ trợ bằng các chế phẩm NCLCL có % thời gian sống thêm vượt trội so với lô chỉ điều trị bằng **cisplatin**.

Bảng 3 cho thấy, nếu coi % thời gian sống thêm của chuột ung thư điều trị duy nhất bằng **cisplatin** là 0% thì 2 chế phẩm NCLC dưới đây đã hỗ trợ cisplatin làm tăng % thời gian sống thêm đáng kể ở chuột:

Chế phẩm 89n-2400 làm tăng 103% (còn 40% chuột sống sau 45 ngày).

Chế phẩm 89c-1200 làm tăng 33% (còn 10% chuột sống sau 45 ngày).

Bởi nhiều lý do khách quan, thí nghiệm này chỉ tiến hành được đến ngày thứ 45, trong lúc 2 lô chuột vẫn còn sống sót từ 10% đến 40%.

IV. KẾT LUẬN

1. Tác dụng của các chế phẩm nấm cổ linh chi (89n-1200, 89n-2400, 89c-1200) khi điều trị phối hợp với **cisplatin** ở chuột ung thư không loại bỏ u đã có kết quả khả quan: làm giảm tỷ số phát triển u xuống còn từ 0,97% đến 1,35%, hay nói cách khác đã ức chế sinh khối u từ 98,65% đến 99,03%, đều đạt hiệu lực kháng u (+++) bậc cao nhất theo thang đánh giá hoạt tính kháng u của H.ITOKAWA (1989).
2. So với điều trị riêng bằng **cisplatin** (làm suy giảm chức năng tạo máu), các chế phẩm NCLC nói trên đã làm tăng thêm số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu và tỷ lệ bạch cầu lympho của chuột bệnh.
3. Trong điều trị sau khi đã loại bỏ u báng, 2 chế phẩm: 89n- 2400, 89c-1200 đã có tác dụng hỗ trợ **cisplatin** làm tăng thời gian sống thêm của chuột bệnh từ 33 đến 103% so với điều trị riêng bằng **cisplatin** 8mg/kg.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Acharya K. et al. (2005). Antioxidant and nitric oxide synthase activation properties of *Ganoderma applanatum*. Indian J. Exp. Biol. 43(10): 926-9.
2. Nakashima S., Umeda Y., Kanada T. (1971). Effect of polysaccharides from *Ganoderma applanatum* on immune responses. I. Enhancing effect on the induction of delayed hypersensitivity in mice. Microbiol. Immunol. 23(6): 501-13.
3. Yang M. et al. (2005). Efects of the polysaccharaides isolated from *Ganoderma applanatum* (PGA) on the level of PGE2 and gastric mucosal blood flow and gastric mucus secretion of rats with gastric mucosa injury. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 34(15): 1176-8.

TÁC DỤNG HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ U BÁNG SARCOMA 180 TRÊN CHUỘT CỦA MỘT LOÀI NẤM LINH CHI *Ganoderma lobatum* (Sch.W.) Atk.

Nguyễn Thượng Dong, Bùi Thị Bằng, Đàm Nhận, Nguyễn Trang Thuý,
Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Thị Nụ và ctv. - Viện Dược liệu
Trần Công Yên, Nguyễn Thị Quỳ và ctv.- Trường đại họcKhoa học tự nhiên

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kinh nghiệm sử dụng các sản phẩm từ các loài nấm, trong đó có các loài nấm linh chi cho thấy chúng có tác dụng làm giảm tác dụng phụ độc hại của các thuốc hoá chất dùng trong điều trị ung thư. Nhờ vậy tình trạng sức khoẻ được cải thiện và thời gian sống thêm sau điều trị bằng hoá chất hoặc tia xạ được kéo dài thêm

Kết quả của nhiều nghiên cứu cũng đã chứng minh tác dụng ức chế tế bào ung thư của một số loài nấm linh chi (*Ganoderma lucidum; G. tsugae; G. applanatum*) thông qua cơ chế kích thích miễn dịch [1, 3, 4, 5].

Nấm linh chi *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. – là một loài nấm linh chi đa niên còn ít được nghiên cứu ở trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Vì vậy, Viện Dược liệu đã tiến hành nghiên cứu tác dụng hỗ trợ điều trị ung thư của loài nấm linh chi này trên mô hình gây u báng sarcoma 180 ở chuột.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Cao nước (88n) và cao ethanol (88c) chiết xuất từ *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. (GL) là nguyên liệu nghiên cứu. Mỗi chế phẩm thử 2 liều: 1200 mg/kg và 2400mg/kg thể trọng chuột.
- *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. do ThS. Phạm Hồng Phi – Bệnh viện Ninh Bình cung cấp. Tên khoa học của mẫu nấm do TS. Đàm Nhận xác định.
- Chuột nhắt trắng dòng Swiss: 180 con, giống đực, trọng lượng từ 18 đến 22g/con, được nuôi dưỡng bằng thức ăn tổng hợp do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.
- Dòng tế bào u báng sarcoma 180 từ Phòng thí nghiệm Ung thư học thực nghiệm, Khoa Sinh học, Trường đại học Khoa học Tự nhiên.

- Cisplatin "EBEWE" nhập của Áo.
- Địa điểm thí nghiệm: Khoa Sinh học, Trường đại học Khoa học Tự nhiên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

** Thí nghiệm 1* : Nghiên cứu khả năng hỗ trợ điều trị u báng sarcoma 180

Chuột thí nghiệm – 90 chuột Swiss giống đực được chia thành 9 lô, trong đó :

- 1 lô đối chứng sinh học (ĐCSH) : không cấy truyền tế bào u báng (TBUB) và không điều trị.
- 1 lô đối chứng u báng (ĐCUB) : cấy truyền TBUB và không điều trị.
- 1 lô chuột cấy truyền TBUB được đều trị bằng cisplatin.
- 3 lô chuột cấy truyền TBUB được điều trị riêng bằng các chế phẩm 88n và 88c.
- 3 lô chuột cấy truyền TBUB điều trị phối hợp cisplatin với các chế phẩm 88n và 88c.

Trình tự tiến hành thí nghiệm

+ Cân trọng lượng của chuột để chia đều cho các lô.

+ Tiêm truyền vào xoang bụng (i.p.) mỗi chuột 10^6 tế bào u báng sarcoma 180 (trừ lô đối chứng sinh học - ĐCSH).

+ Ngày thứ 5 sau cấy truyền u báng, bắt đầu điều trị.

+ Ngày thứ 15 sau cấy truyền, mổ chuột để xác định các chỉ tiêu ung thư học thực nghiệm (định lượng và so sánh).

Các chỉ tiêu ung thư học thực nghiệm cần khảo sát

+ ***Sinh khối u:*** Là tổng số tế bào u báng của một u báng, được tính theo công thức sau:

$$B = V.[n].$$

trong đó: B là sinh khối u (Biomass); V là thể tích u báng tính bằng ml và [n] là mật độ tế bào ung thư trong 1 ml, được xác định nhờ buồng đếm hiển vi Thomas.

+ ***Tỷ số phát triển u*** được tính theo công thức:

$$GR\% = \frac{\text{B điều trị}}{\text{B đối chứng}} \times 100\%$$

GR%(Growth Ratio) càng nhỏ chứng tỏ hiệu lực kháng u của chế phẩm càng mạnh.

+ ***Tỷ số ức chế u*** được tính theo công thức:

$$IR\% = (100 - GR)\%$$

Chú ý: Khi IR% (Inhibited Ratio) có giá trị (-) có nghĩa là chế phẩm được thử ở liều lượng đó đã kích thích u phát triển hơn so với u bình thường không điều trị- điều mà ta không mong muốn.

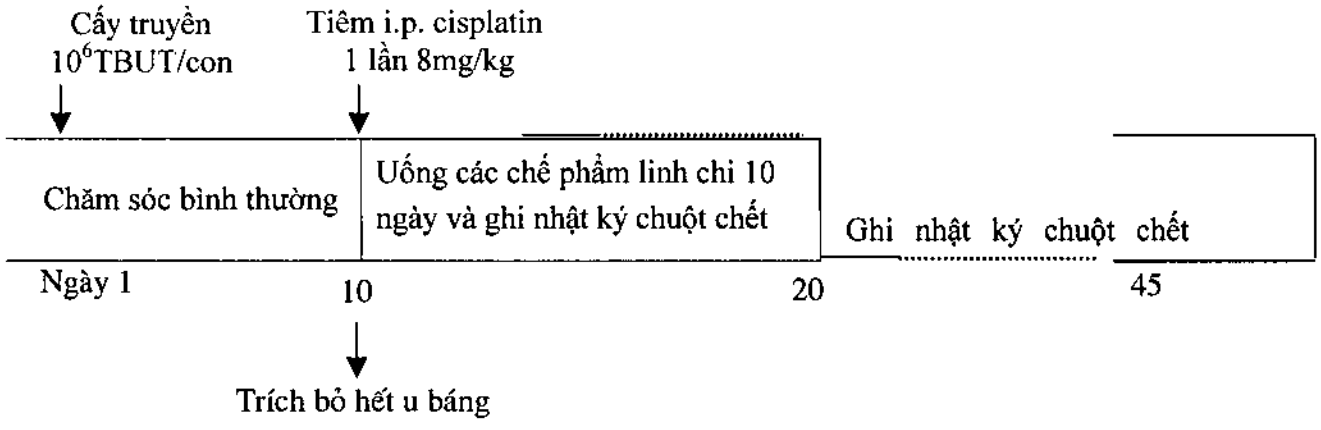
+ ***Các chỉ tiêu sinh lý máu ngoại vi*** của chuột thí nghiệm được xác định trên máy phân tích tự động Sysmex 18 chỉ số.

+ ***Trọng lượng chuột thí nghiệm*** được xác định bằng cân Satorius của Anh.

* *Thí nghiệm 2* : Nghiên cứu tác dụng hỗ trợ cisplatin kéo dài thời gian sống thêm của chuột sau khi loại bỏ u báng sarcoma 180.

- 50 chuột nhắt trắng Swiss đực được chia thành 5 lô.
- Toàn bộ 50 chuột được cấy truyền xoang bụng 10^6 TBUB/con (Hình 1).
- Ngày thứ 10 sau cấy u, u đã phát triển tương đối lớn thì chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con và trích bỏ hết u ở từng chuột.
- Cisplatin EBEWE và các chế phẩm 88n và 88c được dùng cùng liều lượng như ở thí nghiệm 1.

Sơ đồ thí nghiệm 2 được tóm tắt như sau:



Hình 1. Sơ đồ điều trị phối hợp sau khi loại bỏ u báng để nghiên cứu tác dụng kéo dài thời gian sống thêm của chuột bệnh

- Dựa vào nhật ký chuột chết hàng ngày ở từng lô có thể tính được % số chuột còn sống sót ở từng lô, từng ngày, trong suốt 45 ngày thí nghiệm.

- Tính thời gian sống trung bình của chuột ở từng lô bằng cách tính trung bình cộng thời gian sống của 10 chuột ở mỗi lô, đơn vị tính là ngày.

- Tính thời gian sống thêm của chuột ở các lô có điều trị hậu phẫu theo công thức:

$$ILS = \frac{Ts - Cs}{Cs} x100\%$$

Trong đó ILS (Increase in Life Span) là % thời gian sống thêm; Ts là thời gian sống trung bình của chuột bị ung thư được điều trị; Cs là thời gian sống trung bình của chuột bị ung thư không điều trị .

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu thí nghiệm 1

Khả năng điều trị và hỗ trợ điều trị ung thư của một số chế phẩm 88n, 88c với các liều khác nhau, được trình bày trong các bảng 1 và 2.

***Bảng 1.* Tác dụng điều trị và hỗ trợ điều trị u báng sarcoma 180 của nấm GL**

TT	Lô thí nghiệm (n = 10)	Thể tích u (ml)	Mật độ TBUB ($x10^6$ /ml)	Sinh khối u ($x10^6$ TBUB)	Tỷ số phát triển u (GR%)	Tỷ số ức chế u (IR%)
1	ĐCSH (Chuột khoẻ mạnh)	-	-	-	-	-
2	ĐCUB (Không điều trị)	1,7±0,1	375±6,5	637±15,0	100,00	0,00
3	UB+ tiêm ip. cisplatin 8mg/kg	0 (rửa 1ml)	1,2±0,1	1,2±0,1	0,20	99,80
4	UB+88n-1200mg/kg	1±0,1	167±2,0	167±2,0	26,20	73,80
5	UB+88n-2400mg/kg	1,5±0,2	235±5,1	352±11,6	55,30	44,70

6	UB+*cis* Pt + 88n-1200mg/kg	0 (rửa 1ml)	2,1±0,1	2,1±0,07	0,33	99,67
7	UB+*cis* Pt + 88n-2400mg/kg	0 (rửa 1ml)	3,6±0,5	3,6±0,44	0,57	99,43
8	UB+88c-1200mg/kg	2,6±0,2	189±3,0	492±13,4	77,24	22,76
9	UB+*cis* Pt+ 88c-1200mg/kg	0 (rửa 1ml)	3,9±0,5	3,9±0,49	0,61	99,39

Nhận xét kết quả nghiên cứu thí nghiệm 1

Sinh khối u (B)

- Sinh khối u phụ thuộc chủ yếu vào thể tích u báng của chuột. Bảng 1 cho thấy có 4 lô chuột được tiêm cisplatin (riêng lẻ hoặc phối hợp với các chế phẩm nấm GL) đều làm cho u báng không phát triển, khi mổ chuột hầu hết phải rửa xoang bụng để lấy TBUB. Do đó sinh khối u của chúng chỉ từ $1,2 \times 10^6$ đến $3,9 \times 10^6$ TBUB.

- Chế phẩm 88n-1200 làm giảm sinh khối u nhiều nhất.

Tỷ số phát triển u (GR%) và tỷ số ức chế u (IR%)

- Trong số các lô chuột cấy truyền u báng được điều trị riêng bằng các chế phẩm nấm GL thì chỉ có lô 88n.1200 đạt hiệu lực kháng u (++) theo thang đánh giá hoạt tính kháng u H.Itokawa. 1989. Còn hai lô 88n.2400 đạt hiệu lực kháng u (+). Lô 88c.1200 không có hoạt tính kháng u.

- Mục tiêu điều trị ung thư phối hợp giữa các chế phẩm nấm linh chi với cisplatin "EBEWE" của Austria đã đạt hiệu quả tốt.

Một số chỉ tiêu huyết học máu ngoại vi

Trên thực tiễn lâm sàng, khi điều trị ung thư duy nhất bằng **cisplatin** sẽ gây hiệu ứng phụ là suy giảm các loại tế bào máu và suy giảm miễn dịch của cơ thể bệnh nhân. Trong thí nghiệm này chúng tôi cũng thấy rõ điều đó ở bảng 2.

Bảng 2. Tác dụng của nấm GL lên một số chỉ tiêu huyết học của chuột cấy truyền TBUB sau điều trị bằng cisplatin

TT	Lô TN	HC ($x10^{12}$/l)	BC ($x10^9$/l)	TC ($x10^9$/l)	BCTT (%)	LYMPHO (%)	MONO (%)
1	ĐCSH	8,11	7.23	726.8	76,5	11.6	7,1
2	ĐCUB	7,30	17.23	951	91,0	7,0	2,0
3	cisplatin 8mg/kg	5,00	4.95	303	90,0	5,0	5,0
4	88n-1200	6,66	11,23	1017,3	80.2	16.3	3.5
5	88n-2400	7,07	12,13	1078,0	85,0	12,1	2,9
6	cisPt+ 88n-1200	6,71	7.88	525,0	82,0	13,2	4,8
7	cisPt+ 88n-2400	7,78	5,60	505,0	83,2	15,7	1,0
8	88c-1200	7,93	5,40	886,5	90,3	8,4	1,3
9	cisPt+ 88c-1200	7,12	16,13	609,6	83,3	13,3	3,6

HC= Hồng cầu BCTT= Bạch cầu trung tính (Neutrophils)

BC= Bạch cầu LYMPHO=Bạch cầu lympho (Lymphocytes)

TC= Tiểu cầu MONO= Bạch cầu đơn nhân (Monocytes)

Ghi chú: Hầu như không gặp bạch cầu ưa acid và bạch cầu ưa kiềm

Sau khi tiêm một liều duy nhất cisplatin 8mg/kg vào xoang bụng chuột bị u báng, chuột bệnh được uống liên tục 10 lần trong 10 ngày các chế phẩm nấm GL liều lượng khác nhau, đã cho kết quả đáng khích lệ, cụ thể:

Sự phục hồi số lượng hồng cầu

- Khi chuột bị cấy truyền tế bào u báng (Lô 2) số lượng hồng cầu bị giảm đi gần 10% so với chuột khỏe mạnh (8,11-7,3 T/L). Khi chuột cấy truyền tế bào u báng được điều trị bằng cisplatin (lô 3), số lượng hồng cầu lại giảm đi 31,5% so với lô đối chứng ung thư không điều trị (7,3- 5 T/L).

- Khi chuột cấy truyền tế bào u báng được điều trị phối hợp **cisplatin** + các chế phẩm nấm GL thì số lượng hồng cầu đều được phục hồi đáng kể so với khi chỉ điều trị duy nhất bằng cisplatin.

+ Cao nhất là lô 7 (CisPt+ 88n.2400) đạt 155,6% (bằng 95,9% số lượng hồng cầu ở chuột khỏe mạnh).

Sự phục hồi số lượng bạch cầu

- Khi chuột bị cấy truyền tế bào u báng (Lô 2), tương tự như khi bị viêm nhiễm nặng, số lượng bạch cầu tăng lên đột ngột (237,8% so với chuột khỏe mạnh).

- Khi được điều trị bằng cisplatin (Lô 3), số lượng bạch cầu bị giảm nhiều so với cả chuột khỏe mạnh (Lô 1) và chuột cấy truyền tế bào u báng (Lô 2).

- Khi chuột cấy truyền tế bào u báng được điều trị phối hợp cisplatin + các chế phẩm nấm GL thì đã có sự phục hồi số lượng bạch cầu so với khi chỉ điều trị duy nhất bằng cisplatin.

+ Thấp nhất là lô 6 (CisPt+ 88n.1200) đạt 102%.

+ Cao nhất là Lô 9 (CisPt+ 88c-1200) đạt 159,2%.

Sự phục hồi số lượng tiểu cầu

- Bình thường, khi chuột bị cấy truyền tế bào u báng, số lượng tiểu cầu tăng lên mạnh mẽ làm cho máu bị keo dính hơn, dễ bị đông máu hơn.

- Khi được điều trị bằng cisplatin (Lô 3) số lượng tiểu cầu bị giảm một cách đột ngột, chỉ còn bằng 41,7% so với chuột khỏe mạnh (Lô 1).

- Sau khi được điều trị phối hợp giữa cisplatin + các chế phẩm nấm GL thì toàn bộ 3 lô chuột đều có số lượng tiểu cầu tăng lên rõ rệt so với khi chỉ điều trị bằng cisplatin:

+ Cao nhất là lô 9 (CisPt + 88c-1200) đạt 201% (bằng 83,9% số lượng tiểu cầu ở chuột khỏe mạnh).

Nhìn chung, sau khi chuột ung thư được điều trị bằng cisplatin, số lượng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu đều giảm rõ rệt so với chuột khỏe mạnh. Các chế phẩm nấm linh chi trong thí nghiệm này được dùng để điều trị phối hợp với cisplatin (hỗ trợ cisplatin) đã có hiệu quả phục hồi rõ rệt các chỉ tiêu huyết học nói trên trở về giá trị bình thường.

Riêng đối với bạch cầu trung tính và bạch cầu đơn nhân thì không thấy có sự thay đổi rõ quy luật.

Sự phục hồi và tăng cường số lượng bạch cầu lympho

- Khi chuột bị cấy truyền tế bào u báng, số lượng bạch cầu lympho giảm xuống còn 60,3% so với chuột khỏe mạnh, khi được điều trị bằng cisplatin lại giảm xuống còn 43,1% so với chuột khỏe mạnh. Rõ ràng chuột bệnh sau điều trị cisplatin đã suy giảm miễn dịch tới hai lần liên tiếp.

- Sau khi được điều trị phối hợp giữa cisplatin với các chế phẩm nấm GL thì hầu hết số lô chuột bệnh có tỷ lệ % bạch cầu lympho vượt lô chuột đối chứng khỏe mạnh. Trong đó, đáng chú ý hơn cả là cả chế phẩm 88n.2400 đã làm tỷ lệ % bạch cầu lympho ở chuột được điều trị phối hợp tăng lên gấp hơn 3 lần so với chuột chỉ được điều trị bằng cisplatin và gấp 1,4 lần so với chuột khỏe mạnh bình thường.

- Dù cho cơ chế của hiện tượng trên chưa được sáng tỏ, song bản thân nó, cùng sự phục hồi số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu nói trên, sẽ là tiền đề cho những hy vọng ở thí nghiệm 2.

3.2. Kết quả thí nghiệm 2

Tác dụng của một số chế phẩm nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. hỗ trợ **cisplatin** kéo dài thời gian sống thêm của chuột bị cấy truyền TBUB được trình bày trong bảng 3.

***Bảng 3.* Tác dụng của nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. hỗ trợ cisplatin kéo dài thời gian sống thêm của chuột bị cấy truyền TBUB**

Lô	1-Trích bỏ u không điều trị (ĐC-1)		2-Trích bỏ u+cis Pt (ĐC-2)		3-Trích bỏ u+cis Pt+88n-1200		4-Trích bỏ u+cis Pt+88n-2400		Trích bỏ u+cis Pt+88c-1200	
STT	Ngày sống	% sống sót	Ngày sống	% sống sót	Ngày sống	% sống sót	Ngày sống	% sống sót	Ngày sống	% sống sót
1	8	80	8	90	11	70	9	80	9	90
2	8	80	10	80	11	70	9	80	11	70
3	11	70	11	60	11	70	11	40	11	70
4	12	50	11	60	15	60	11	40	12	60

5	12	50	12	50	27	40	11	40	13	50
6	13	40	16	40	27	40	11	40	14	30
7	15	10	19	20	42	30	12	30	14	30
8	15	10	19	20	45	30	13	10	30	20
9	15	10	26	10	45	30	13	10	45	20
10	18	0	27	0	45	30	45	10	45	20
TB	**12,70**		**15,90**		**27,90**		**14,50**		**20,40**	
ILS %		**0,00**		**25,20**		**119,69**		**14,17**		**60,63**

Nhận xét: Các thí nghiệm điều trị hậu phẫu có ý nghĩa thực tiễn rất lớn, vì đại đa số bệnh nhân ung thư nhập viện đều ở giai đoạn muộn, phải phẫu thuật cắt bỏ khối u. Một phác đồ điều trị hậu phẫu hợp lý, nhằm chống tái phát và kéo dài thêm tuổi thọ, là nhiệm vụ cực kỳ quan trọng với thầy thuốc và bệnh nhân.

Cisplatin là một dược phẩm điều trị ung thư rất có hiệu quả, đã được sử dụng phổ biến trên thế giới hơn ba chục năm qua, với phổ điều trị rộng và hiệu lực kháng u cao. Kết quả ở thí nghiệm 1 cũng chứng tỏ điều đó. Dù cisplatin điều trị riêng hay phối hợp với các chế phẩm nấm linh chi, đều cho kết quả rất tốt đẹp: tỷ số phát triển u rất thấp (từ 0,2% đến 1,35%) đạt hiệu lực kháng u (+++) mức cao nhất theo thang đánh giá hoạt tính kháng u của H.ITOKAWA (1989).

Tuy nhiên, hầu hết các nhà bào chế cisplatin trên thế giới đều cảnh báo về những tác dụng phụ của cisplatin như rối loạn chức năng thận (có thể vô niệu), suy chức năng tuỷ xương (giảm hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu) suy giảm miễn dịch, rối loạn chức năng tiêu hoá, rối loạn chức năng gan, tăng acid uric trong máu, rối loạn điện giải, rối loạn điện tâm đồ, rụng tóc, rối loạn sản sinh tinh trùng và trứng, v.v... Tất cả những tác dụng phụ nêu trên làm suy giảm chất lượng sống của người bệnh và đương nhiên sẽ làm giảm thời gian sống thêm sau điều trị.

Mục tiêu của thí nghiệm 2 đã nêu rõ là: Nghiên cứu tác dụng của một số chế phẩm nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. hỗ trợ cisplatin kéo dài thời gian sống thêm của chuột bị ung thư hậu phẫu. Đó chính là vấn đề mấu chốt và mục tiêu cuối cùng của điều trị ung thư, nhằm kéo dài tuổi thọ cho bệnh nhân.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3 cho thấy, lô trích bỏ u không điều trị chỉ sống trung bình được 12,7 ngày (con sống lâu nhất là 18 ngày). Lô trích bỏ u được

điều trị duy nhất bằng cisplatin sống trung bình được 15,9 ngày (con sống lâu nhất là 27 ngày), tăng 25,2% thời gian sống thêm so với lô không điều trị hậu phẫu.

Các kết quả nghiên cứu còn cho thấy khoảng từ ngày thứ 5 sau điều trị hậu phẫu phối hợp thì phần lớn các chế phẩm nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. thể hiện rõ tác dụng của chúng trong việc kiềm chế tốc độ chết của chuột.

Bảng 3 cho thấy tương quan về thời gian sống thêm (ILS%) giữa các lô thí nghiệm. Các lô được điều trị hỗ trợ bằng các chế phẩm nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. có % thời gian sống thêm vượt trội so với lô chỉ điều trị hậu phẫu bằng cisplatin.

Bảng 3 cho thấy, nếu coi % thời gian sống thêm của chuột ung thư điều trị hậu phẫu duy nhất bằng cisplatin là 0% thì 2 chế phẩm nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. dưới đây đã hỗ trợ cisplatin làm tăng % thời gian sống thêm đáng kể ở chuột hậu phẫu:

Chế phẩm 88n-1200 làm tăng 95% (còn 30% chuột sống sau 45 ngày).

Chế phẩm 88c-1200 làm tăng 36% (còn 20% chuột sống sau 45 ngày).

Bởi nhiều lý do khách quan, thí nghiệm này chỉ tiến hành được đến ngày thứ 45, trong lúc 2 lô chuột vẫn còn sống sót từ 10% đến 40%.

IV. KẾT LUẬN

1. Hiệu lực kháng u của nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. điều trị sớm, riêng lẻ, là không rõ ràng và không cao. Trong đó chỉ có chế phẩm 88n, liều uống 1200 mg/kg, trong 10 ngày là có hiệu lực kháng u (++), ức chế 73,8% khối u; chế phẩm 88n-2400 có hiệu lực kháng u (+); chế phẩm còn lại 88c không có hiệu lực kháng u.
2. Tác dụng của các chế phẩm nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. (88n-1200, 88n-2400, 88c-1200 khi điều trị phối hợp với cisplatin ở chuột ung thư không loại bỏ u đã có kết quả khả quan: làm giảm tỷ số phát triển u xuống còn từ 0,33% đến 0,61%, hay nói cách khác đã ức chế sinh khối u từ 99,39% đến 99,67%, đều đạt hiệu lực kháng u (+++) - bậc cao nhất theo thang đánh giá hoạt tính kháng u của H.ITOKAWA (1989).
3. So với điều trị riêng bằng cisplatin (làm suy giảm chức năng tạo máu), các chế phẩm nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk. nói trên đã làm tăng thêm số

lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu va tỷ lệ bạch cầu lympho của chuột bệnh.

4. Trong điều trị sau khi loại bỏ u báng, 2 chế phẩm nấm *G. lobatum* (Sch.W.) Atk.: 88n- 1200, 88c-1200 đã có tác dụng hỗ trợ **cisplatin** làm tăng thời gian sống thêm của chuột bệnh từ 36 đến 95% so với điều trị riêng bằng cisplatin 8mg/kg.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cao QZ., Lin ZB. (2004). Anti-tumor and anti-angiogenic activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide. Acta Pharmacol. Sin., 25(6): 833-8.
2. Gao Y., Gao H., Chang E., Tang W., Xu A, Yang H., Huang M., LanJ., Li X., Duan WW., Xu C., Zhou S. (2005) Antitumor ativity and underlying mechanism of Ganopoly, the refined polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*, in mice. Immunol. Invest., 34(2): 171 –98.
3. Hong KJ, Dunn DM, Shen CL., Pence BC. (2004). Effects of *Ganoderma lucidum* on apoptotic and anti-inflammatory function in HT-29 human colonic carcinoma cells. Phytother Res., 18(9): 768 – 70.
4. Lin YL., Liang YC, Lee SS, Chiang BL. (2005). Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* induced activation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells by the NF-kappa B and P38 mitogen-activated protein kinase pathways. J Leukoc Biol. (Epub ahead of print).
5. Wang G. et al.(1993) Antitumor active polysaccharide from the Chinese mushroom Songshan lingzhi, the fruiting body of *Ganoderma tsugae*. Biosci Biotechnol Biochem, 57(6):894-900.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA NẤM VÂN CHI [*Trametes versicolor* (L.) Fr. Pilat.]

Bùi Thị Bằng, Đinh Thị Mai Hương, Nguyễn Thị Nụ *– Viện Dược liệu*
Phan Thị Thu Anh *- Đại học Y Hà Nội*
Lê Mai Hương *– Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên*
Nguyễn Thị Quỳ *- Đại học Khoa học tự nhiên Hà Nội*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm vân chi [*Trametes versicolor* (L.) Fr. Pilat. syn. *Coriolus versicolor* (L.) Fr. Quel] được dùng trong y học cổ truyền làm thuốc tăng cường thể lực. Ngoài ra, nấm vân chi (NVC) còn được dùng để trị một số bệnh như viêm đường hô hấp trên, viêm đường tiết niệu, viêm gan, dùng cho người suy giảm hệ miễn dịch, người có khối u.

Từ NVC, Nhật Bản và Trung Quốc đã sản xuất thuốc trị ung thư đường tiêu hoá krestin (PSK) hoặc PSP. Các sản phẩm PSK và PSP đã được chứng minh có tác dụng làm tăng các hoạt động thực bào; làm tăng số lượng tế bào lympho T; kích thích tế bào chế tiết interleukin-II; hạn chế được tác dụng diệt bạch cầu của hóa chất; ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư tuyến tiền liệt. Kết quả kiểm tra trên hàng nghìn ca ung thư trên lâm sàng đã cho thấy PSP có hiệu quả phối hợp tốt với hóa trị liệu và xạ trị liệu (chỉ số Karmofsky đạt > 60%) trên nhiều loại ung thư như ung thư dạ dày, ung thư thực quản, ung thư phổi ... Ngoài ra, PSP còn làm giảm các tác dụng phụ của trị liệu hoá chất và xạ trị, cải thiện các triệu chứng bệnh lý.

Nấm vân chi đã được ghi nhận ở Việt Nam khá sớm như một đại diện nấm phá gỗ mạnh [Trịnh Tam Kiệt, 1998]. Nhưng chỉ trong mấy năm gần đây, NVC mới được chú ý nghiên cứu làm thuốc ở Việt Nam. Khoa Công nghệ sinh học - Viện nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt đã thành công trong việc đưa NVC ngoài tự nhiên vào môi trường nuôi cấy. Trường đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh đã nghiên cứu đặc điểm hình thái và sơ bộ thành phần hoá học 3 mẫu NVC trồng tại trại Nấm Tp. Hồ Chí Minh. Tại Hội chợ Công nghệ toàn quốc năm 2003, Phòng

Y học thiên nhiên (Phân viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên - Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia) đã giới thiệu thuốc trị ung thư từ NVC của Trung Quốc. Đã bán hết thuốc ngay trong 2 ngày đầu của Chợ Công nghệ, chứng tỏ được nhiều người quan tâm và có nhu cầu sử dụng thuốc bào chế từ NVC.

Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học, phương pháp chiết xuất và tác dụng sinh học của các chế phẩm từ NVC Việt Nam, nhằm tạo ra thuốc hỗ trợ điều trị ung thư phục vụ nhu cầu của người bệnh. Nội dung nghiên cứu gồm:

+ Phân tích sơ bộ thành phần hoá học của nấm vân chi.

+ Nghiên cứu phương pháp điều chế polysaccharid từ NVC.

+ Tác dụng của NVC trên phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào T với hồng cầu cừu.

+ Thử tác dụng của nấm vân chi trên hệ miễn dịch (*in vivo*).

+ Thử tác dụng của NVC trên một số dòng tế bào ung thư (*in vitro*).

+ Tác dụng của nấm vân chi trên tế bào ung thư sarcoma 180 (*in vivo*).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Nấm vân chi Nhật Bản do ông Tanaka cung cấp: (NVC.1).
- Nấm vân chi Hàn Quốc: Mua tại Seoul, Hàn Quốc: (NVC.2).
- Nấm vân chi Trung Quốc trồng tại Thanh Hoá do Trung tâm Kỹ thuật bảo vệ rừng số 2 (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn) (NN và PT) cung cấp: (NVC.3).
- Nấm vân chi Việt Nam được thu hái tại Thôn Lạc Bông, Xã Ngọc Lây, Huyện Đắc Tô, Kon Tum do TS. Nguyễn Bá Hoạt phát hiện và do KS. Lê Thanh Sơn (khoa Tài nguyên dược liệu VDL cung cấp). Tên khoa học do TS. Đàm Nhận xác định là *Trametes versicolor* (L.) Fr. Pilat.: (NVC.4) .
- Nấm vân chi do ThS. Cồ Đức Trọng – GĐ Trung tâm Nấm linh chi và nấm dược liệu Tp. Hồ Chí Minh cung cấp: (NVC.5).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* *Phương pháp phân tích sơ bộ thành phần hoá học của NVC:* Sắc ký lớp mỏng và điện di.

* *Phương pháp điều chế polysaccharid (PS):* PS được chiết từ NVC bằng nước nóng, tủa bằng ethanol từ dịch chiết nước.

* *Phương pháp thử tác dụng ức chế tế bào ung thư in vitro:* Thử tác dụng ức chế tế bào ung thư được tiến hành tại Phòng Sinh học thực nghiệm (Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên - Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia) theo phương pháp gây độc trực tiếp tế bào *in vitro* của Viện nghiên cứu Ung thư Quốc gia Mỹ.

Dòng tế bào ung thư:

Dòng Hep-G2 (hepatocellular carcinoma - ung thư gan).

Dòng FL (Fibril sarcoma of uteus – ung thư màng tử cung).

Mẫu chứng: Dùng chất chuẩn có khả năng diệt tế bào *ellipticin.*

* *Phương pháp thử tác dụng trên hệ miễn dịch:*

Gây suy giảm miễn dịch thực nghiệm theo mô hình của Phan Thị Phi Phi và cs. [1, 2]:

Nhóm đối chứng: Chuột được tiêm phúc mạc cyclophosphamid (CP) một lần với liều 250 mg/kg thể trọng của chuột. Ngày thứ 6 giết chuột để đánh giá một số thông số miễn dịch.

Nhóm dùng thuốc: Chuột được tiêm phúc mạc CP đồng thời với uống polysaccharid liều 150 mg/kg thể trọng. Ngày thứ 6 giết chuột để đánh giá một số thông số miễn dịch.

Các thông số đánh giá gồm:

+ Trọng lượng tuyệt đối của lách.

+ Trọng lượng tuyệt đối của tuyến ức.

+ Số lượng bạch cầu: tổng số bạch cầu

+ Công thức bạch cầu (số lượng bạch cầu trung tính, bạch cầu toan, bạch cầu mono, bạch cầu lympho, bạch cầu NK (tế bào diệt tự nhiên)).

+ Tỷ lệ tế bào tạo quầng dung huyết.

+ Phản ứng bì với $\{OA[Al(OH)_3]\}$

+ Tỷ lệ tế bào tạo hoa hồng mẫn cảm với hồng cầu cừu

Xử lý kết quả thí nghiệm: Các kết quả nghiên cứu được kiểm định bằng các phương pháp thống kê toán học như t-test, Anova.

** Phương pháp nghiên cứu tác dụng trên tế bào ung thư sarcoma 180 [7]*

Nghiên cứu tác dụng của NĐN trên tế bào ung thư được tiến hành tại Bộ môn Tế bào mô phôi - Khoa Sinh học - Đại học Khoa học tự nhiên (Hà Nội) do PGS.TS Nguyễn Thị Quỳ thực hiện.

Cách tiến hành

- Chuột nhắt trắng dòng Swiss: 30 con, giống đực, trọng lượng trung bình 23 g/con, được nuôi dưỡng bằng thức ăn tổng hợp do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp.
- Dòng tế bào ung thư sarcoma 180, được cấy truyền tạo u báng ở bụng chuột.
- Polysaccharid toàn phần và cao cồn chiết xuất từ nấm NVC4 được cho chuột uống với liều ~ 5 g dược liệu/kg/lần/ngày x 10 ngày sau khi cấy truyền.
- Thời gian thí nghiệm: 10 ngày, kể từ ngày cấy truyền ung thư đến lúc mổ chuột để xét nghiệm.
- Phẫu thuật chuột theo phương pháp thường quy.
- Sinh khối u = thể tích trung bình của một u báng (ml).
- Tỷ số phát triển u được tính theo công thức:

$$GR\ \% = \frac{\text{Thể tích u điều trị}}{\text{Thể tích u đối chứng}} \times 100\%$$

- Tỷ số ức chế u ở lô thí nghiệm so với lô đối chứng: IR = 100% - GR.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phân tích sơ bộ so sánh thành phần hoá học NVC

Các mẫu NVC nguồn gốc khác nhau được phân tích sơ bộ thành phần hoá học bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM) và bằng các phản ứng hoá học cho thấy NVC có các nhóm chất: Đường khử, polysaccharid, protein, coumarin.

3.2. Nghiên cứu phương pháp điều chế polysaccharid (PS) từ NVC

Sau khi khảo một số điều kiện chiết xuất như nhiệt độ, thời gian chiết, tỷ lệ ethanol:dịch chiết, thời gian tủa v.v... đã xây dựng phương pháp chiết xuất PS từ NVC.3 và NVC.4.

Kết quả chiết xuất 3 mẻ NVC.3 và NVC.4 đạt hiệu suất: NVC.3 = 5,6% và NVC.4 = 4,5%

3.3. Phân tích thành phần hoá học của NVC bằng phương pháp điện di trên gel

NVC.1 đã được nghiên cứu tại Nhật bản với PS là thành phần có tác dụng chống ung thư. NVC.4 là NVC thu hái tại VN. Được biết protein là thành phần gắn kết với PS làm thành PS liên kết protein – có hoạt tính ức chế sự phát triển của tế bào ung thư.

Vì vậy, chúng tôi tiến hành so sánh thành phần protein của 2 loại nấm vân chi Việt Nam (NVC.4) và Nhật Bản (NVC.1) để tìm hiểu sự giống và khác nhau trong thành phần protein của chúng. Từ đó, có thể dự đoán thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của PS chiết xuất từ NVC.4. Kết quả phân tích phân đoạn protein chiết xuất từ 2 loại nấm vân chi Việt Nam và Nhật Bản bằng phương pháp điện di trên gel cho thấy PS chiết xuất từ NVC.1 và NVC.4 có thành phần gần giống nhau. Các PS liên kết protein phần lớn có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng nhỏ hơn 120 kDa. Trọng lượng phân tử của thành phần chính vào khoảng 100 kDa – phù hợp với tài liệu công bố.

3.4. Tác dụng của một số loài nấm trên phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào T với hồng cầu cừu (HCC)

Phản ứng tạo hoa hồng mẫn cảm với hồng cầu cừu là nghiệm pháp *in vitro* đánh gía tác dụng kích thích tế bào lympho T của các chế phẩm. Số lượng tế bào lympho T tạo hoa hồng với HCC càng nhiều thì tác dụng kích thích tế bào lympho T của chế phẩm càng cao. Kết quả thu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Tác dụng của NVC trên phản ứng tạo hoa hồng của lympho bào T**

Loài nấm	Chế phẩm	% số hoa hồng tăng so với chứng	
		Ta	Tt
NVC1 (Nhật Bản)	Polysaccharid	+60,0	+65,5
NVC2 (Hàn Quốc)	Polysaccharid	+70,5	+60,0
NVC.3 (Việt Nam)	Polysaccharid	+55,2	+50,2
Krestin từ NVC Nhật Bản	PSP	+66,7	+80,0

Ghi chú: Ta - Đọc kết quả 5 phút sau khi cho HCC vào mẫu thử.
Tt - Đọc kết quả 16 giờ sau khi cho HCC vào mẫu thử.
(+) – tác dụng kích thích.
(-) – Tác dụng ức chế.

Nhận xét: Nấm vân chi Việt Nam cũng thể hiện tác dụng kích thích gần tương đương tác dụng của NVC Nhật Bản và Hàn Quốc và của thuốc krestin – bào chế từ NVC tại Nhật Bản đang sử dụng trong điều trị ung thư.

3.5. Tác dụng của polysaccharid chiết xuất từ NVC.4 trên hệ miễn dịch

- *Trọng lượng tuyệt đối của lách và tuyến ức*

Nhận xét: Trọng lượng lách và tuyến ức của chuột nhóm tiêm CP + uống PS có tăng nhẹ nhưng không có ý nghĩa thống kê.

- *Số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu (bảng 2)*

Bảng 2. **Kết quả xét nghiệm số lượng bạch cầu tổng số và công thức bạch cầu**

Chỉ tiêu theo dõi	Nhóm 1: tiêm CP	Nhóm 2: tiêm CP + PS	$P_{(2,1)}$
Số chuột trong nhóm	7	13	
Bạch cầu tổng số x 10^2	34,33 ± 17,47	35,66 ± 24,79	< 0,0001
Bạch cầu trung tính	758 ± 361	1.302 ± 1050	<0,05
Bạch cầu toan	55,6 ± 57,6	40 ± 52	
Bạch cầu mono	81 ± 57	62,9 ± 55	
Bạch cầu lympho	2370 ± 1241	1557 ± 761	
Bạch cầu NK	193 ± 245	102 ± 72	

Nhận xét: Số lượng bạch cầu tổng số và số lượng bạch cầu trung tính ở nhóm 2 (CP + PS) tăng đáng kể. Sự khác biệt giữa 2 nhóm có ý nghĩa thống kê.

- *Phản ứng bì với $\{OA[Al(OH)_3]\}$ và Tỷ lệ tế bào tạo hoa hồng mẫn cảm với hồng cầu cừu*

Nhận xét: Đường kính phản ứng bì có xu hướng giảm ở nhóm 2 (CP + PS).

- *Tác dụng trên phản ứng tạo hoa hồng của tế bào lympho T (bảng 3).*

Bảng 3. **Tỷ lệ tế bào tạo hoa hồng mẫn cảm với hồng cầu cừu (% trên tổng số tế bào lympho T)**

Các nhóm	Số chuột trong nhóm (n)	Tỷ lệ tế bào tạo hoa hồng (% trên tổng số tế bào lympho T)	P (2,1)
Nhóm 1 (tiêm CP)	7	2,85 ± 2,67	
Nhóm 2 (tiêm CP + uống PS)	13	5,91 ± 2,06	< 0,005

Nhận xét: Tỷ lệ tế bào lympho T tạo hoa hồng với hồng cầu cừu ở nhóm chuột tiêm CP + uống PS tăng đáng kể so với nhóm chuột tiêm CP. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê P < 0,005.

- ***Đánh giá kết quả thu được***

Kết quả thử nghiệm trên mô hình gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid cho thấy polysaccharid chiết xuất từ nấm vân chi ở Việt Nam có các tác dụng sau:

+ Tăng số lượng bạch cầu tổng số (P < 0,0001, t = 11,39).

+ Tăng số lượng bạch cầu trung tính (P < 0,05 , t = 3,35).

+ Tăng tỷ lệ số lượng tế bào lympho T tạo hoa hồng với hồng cầu cừu (< 0,005, t = 2,917).

Kết quả thu được cho thấy PS chiết xuất từ NVC4 của Việt Nam có một số tác dụng tương tự như PS của nấm vân chi Nhật Bản: Hạn chế tác dụng phụ giảm số lượng bạch cầu của CP và hoạt hoá tế bào lympho T.

3.6. Tác dụng của NVC trên một số dòng tế bào ung thư (*in vitro*)

Bảng 4. **Tác dụng của NVC trên tế bào ung thư gan và ung thư màng tử cung**

Số TT	Tên mẫu NVC	Tế bào ung thư gan HEP-2		Tế bào ung thư màng tử cung FL	
		Tỷ lệ tế bào sống (% so với chứng)	Tỷ lệ tế bào bị ức chế (% so với chứng)	Tỷ lệ tế bào sống (% so với chứng)	Tỷ lệ tế bào bị ức chế (% so với chứng)
1	NVC.3: cao nước	79,2 ± 1,5	20,8	96,0 ± 3,6	4,0
2	NVC.3: cao cồn	85,6 ± 2,7	14,4	93,7 ± 0,9	6,3

3	NVC.4: cao nước	100,5 ± 0,7	0	100,5 ±0,7	0
4	NVC.4: cao cồn	64,3 ± 1,3	35,7	27,6 ± 3,2	72,4
	Chứng (+)	2,52 ± 0,00	97,48	1,15 ± 1,06	98,85
	DMSO	100	0	100	0
5	NVC.5: Cao nước	89,9 ± 1,7	10,1	74,2 ± 2,6	25,8
6	NVC.5: Cao cồn	97,3 ± 0,5	0,7	87,9 ± 2,9	12,1
	Chứng (+)	2,05 ± 0,06	97,95	2,2 ± 0,05	97,8
	DMSO	100	0	100	0

Bảng 4 cho thấy cao cồn NVC.4 ức chế 35,7% số lượng tế bào ung thư gan và 72,4% tế bào ung thư màng tử cung. Đây là mẫu nấm vân chi có độc tính tế bào cao nhất trong số 3 mẫu nấm vân chi đã thử. Đối với cao nước NVC.4 kết quả ngược lại, cao nước NVC.4 hoàn toàn không có độc tính đối với cả 2 dòng tế bào ung thư đã thử.

Cao nước NVC.3 lại có độc tính tế bào cao hơn cao cồn NVC.3. Điều này cho thấy 2 loại NVC có thể có thành phần khác nhau.

Như đã biết PSK, PSP chiết xuất từ NVC.1 có tác dụng ức chế tế bào ung thư thông qua kích thích hoạt động của hệ thống miễn dịch. NVC.4 có thành phần protein tương tự như NVC.1 thì tác dụng ức chế tế bào ung thư cũng có thể theo cơ chế kích thích miễn dịch - tức là gián tiếp diệt tế bào ung thư thông qua kích thích hoạt động của các tế bào miễn dịch - lympho T, B, NK.

Vì vậy, cần thử nghiệm tác dụng của PS từ NVC.4 trên chuột cấy tế bào ung thư để chứng minh giả thiết này. Cho đến nay chưa có nghiên cứu chứng minh tác dụng của NVC Việt Nam trên tế bào ung thư. Nếu kết quả như dự kiến thì NVC.4 là nguồn nguyên liệu cho sản xuất thuốc hỗ trợ điều trị ung thư.

3.7. Tác dụng của NVC.4 trên tế bào ung thư sarcoma 180 (*in vivo*)

Polysaccharid (PS) chiết xuất từ NVC.4 có tác dụng tăng cường miễn dịch trên mô hình gây suy giảm miễn dịch bằng CP nhưng không có độc tính trên tế bào ung thư gan HEP-2 và tế bào ung thư màng tử cung. Trong khi đó cao cồn của NVC.4 lại có độc tính tế bào tương đối cao. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành thử tác dụng của cả 2 chế phẩm PS và cao cồn của NVC.4 trên chuột cấy tế bào ung thư sarcoma 180. Kết quả thu được trình bày trong bảng 5 cho thấy PS và cao cồn của NVC.4 đều có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư sarcoma 180 với tỷ số ức chế u so với lô chứng không điều trị là 51,83 và

38,64% tương ứng. Đặc biệt, trong lô chuột điều trị bằng PS đã có 1/10 chuột tế bào ung thư không phát triển được.

Kết quả rất phù hợp với kết quả thử tác dụng trên hệ miễn dịch. Có thể nghĩ rằng PS chiết xuất từ NVC.4 ức chế tế bào ung thư thông qua hệ miễn dịch tương tự như PSK của Nhật Bản và PSP của Trung Quốc.

IV. BÀN LUẬN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

- Tác dụng trên hệ miễn dịch

Kết quả khảo sát tác dụng của PS chiết xuất từ NVC có nguồn gốc khác nhau lên phản ứng tạo hoa hồng của tế bào lympho T với hồng cầu cừu (*in vitro*) cho thấy PSK của NVC.1 (do GS.Tanaka cung cấp), PS của NVC Hàn Quốc (NVC.2) (mua tại Hàn Quốc) và PS của NVC.3 tương tự nhau. PS của NVC.1 làm tăng 60% số lượng tế bào lympho T tạo hoa hồng với hồng cầu cừu. Tương tự như vậy, NVC.2 – tăng 70,5 % và NVC.3 – tăng 55,2% số lượng tế bào lympho T tạo hoa hồng với hồng cầu cừu. Mẫu thuốc bột krestin của Nhật Bản sản xuất (do GS. Tanaka cung cấp) làm tăng 66,7% số lượng tế bào lympho T tạo hoa hồng với hồng cầu cừu.

Kết quả thử trên chuột nhắt trắng trên mô hình gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid cho thấy PS chiết xuất từ NVC.4 có các tác dụng sau:

- Tăng số lượng bạch cầu với $P < 0,0001$
- Tăng số lượng hoa hồng mẫn cảm với $P < 0,005$
- Tăng bạch cầu trung tính với $P < 0,05$

Như vậy thuốc có tác dụng tăng cường miễn dịch: Làm tăng số lượng bạch cầu, tăng chức năng của lympho bào T thể hiện qua tăng % tế bào lympho tạo hoa hồng mẫn cảm. Ngoài ra, thuốc còn có tác dụng tăng cường đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu thể hiện ở tăng cố lượng bạch cầu đa nhân trung tính với P có ý nghĩa thống kê.

Kết quả thu được trên đây cho thấy nấm vân chi Việt Nam có triển vọng làm thuốc điều trị ung thư, tương tự như nấm vân chi Nhật Bản.

- Tác dụng của PS và cao cồn của NVC.4 trên chuột cấy truyền tế bào ung thư (thử in vivo)

PS và cao cồn của NVC.4 đều có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư sarcoma 180 với tỷ số ức chế u so với lô chứng không điều trị là 51,83 và 38,64% tương ứng. Đặc biệt trong lô chuột điều trị bằng PS đã có 1/10 chuột không có tế bào ung thư phát triển sau cấy truyền sarcoma 180. Đây là loài nấm có tỷ số ức chế u cao nhất trong số các loài nấm linh chi, cổ linh chi mà Viện

Dược liệu đã nghiên cứu trong thời gian vừa qua. Kết quả này rất đáng quan tâm, vì cao nước NVC.4 không có độc tính tế bào nhưng lại có tỷ số ức chế u cao trên thử nghiệm *in vivo*. Loài NVC.4 là loài nấm vân chi được thu hái tại Việt Nam. Khả năng nhân giống và nuôi trồng trong tự nhiên hoặc bán hoang dại có thể thực hiện được.

NVC là nguyên liệu bào chế thuốc trị ung thư dạ dày và đường tiêu hoá đã được chứng minh bằng thực nghiệm và trên lâm sàng ở nước ngoài. Ở Việt Nam đã bắt đầu chú ý nghiên cứu nhưng chưa có công trình nào nghiên cứu về tác dụng trên tế bào ung thư và chưa ai nghiên cứu ra thuốc. Những kết quả nghiên cứu của đề tài trong 3 năm cho thấy có thể triển khai tiếp tục nghiên cứu tạo nguyên liệu và dạng bào chế thuốc. Đặc biệt, sau khi phát hiện NVC.4 có thành phần PSP tương tự như NVC Nhật Bản và hiệu suất chiết PSP cũng khá cao (4,5%) thì nhận định này càng có triển vọng.

V. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

1) Cao nước chiết xuất từ NVC Việt Nam không thể hiện độc tính tế bào trên thử nghiệm *in vitro* với các dòng tế bào ung thư gan và ung thư màng tử cung.

   Cao cồn có tác dụng ức chế tế bào ung thư gan và ung thư màng tử cung trên thử nghiệm *in vitro*, 35,7% và 72,4% tương ứng.

2) Đã nghiên cứu phương pháp chiết xuất polysaccharid từ NVC.4 với hiệu suất 4,5% so với dược liệu khô.

3) Polysaccharid chiết xuất từ NVC.4 có tác dụng tăng cường miễn dịch trên mô hình gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid, thể hiện trên 3 tác dụng:

   - Tăng số lượng bạch cầu với $P < 0,0001$
   - Tăng số lượng hoa hồng mẫn cảm với $P < 0,005$
   - Tăng bạch cầu trung tính với $P < 0,05$.

4) Polysaccharid và cao cồn của NVC.4 đều có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư sarcoma 180 với tỷ số ức chế u so với lô đối chứng không điều trị là 51,83 và 38,64% tương ứng. Polysaccharid có triển vọng làm thuốc hỗ trợ điều trị ung thư.

5.2. Kiến nghị

Đề nghị tiếp tục nghiên cứu các nội dung sau:

- Tạo nguồn nguyên liệu NVC.4.

- Nghiên cứu quy trình chiết xuất PS quy mô pilot.
- Nghiên cứu thuốc hỗ trợ ung thư đường tiêu hoá từ PS của NVC.4.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Triệu An và các tác giả khác, (1982), *Những kỹ thuật cơ bản dùng trong miễn dịch học*, Hà Nội 1982.
2. Đào Kim Chi, Đỗ Đức Vân, Phan Thị Phi Phi và cs., (1999), "Nghiên cứu tác dụng điều trị ung thư tiêu hoá của Glycin-futamin". Trường đại học Dược Hà Nội.
3. Trương Thị Đẹp, Vũ Nguyên Nguyễn Oanh, (2003), Phân biệt đặc điểm hình thái – cấu trúc và sơ bộ phân tích thành phần hoá học của 3 mẫu nấm vân chi – *Trametes spp.*. Tạp chí Y học thực hành Tp. Hồ Chí Minh. 7(4): 181 – 185.
4. Lê Xuân Thám, Trần Hữu Độ, (1999), Bổ sung vào nhóm nấm chống ung thư ở Việt Nam: Nấm vân chi (*Trametes vesicolor* (L.) Fr. Pilat.). Tạp chí Dược học số 2, 13 – 16.
5. Bomford M. Phytotherapy Research, (1988), vol. 2, No 4,: 159 – 164.
6. Babitskatya U.G. et al., (2000), Polysaccharides of some medicinal mushrooms: Protein and composition. Inter. Journal of Medicinal Mushrooms, 2: 51 – 54.
7. Beverly A.Teicher, (1997), Anticancer drug development guide: Preclinical Screening, clinical trials and approval. Humana Press Totowa, New Jersay.
8. Chang S.T., (1993), Mushroom biology. The impact on mushroom production and mushroom products. Proceedings of the First Inter. Conference on mushroom biology and mushroom. Hong Kong , August.
9. Hsieh TC. Wu JM, (2001), Oncology, 18(1): 81-88.
10. Jondal et al., (1972), J. Exp. Med., 136: 207- 215.
11. Kondo and Torisu, (1985), In basic mechanism and clinical treatment of tumor metastasis. New York, 623.
12. Liu W.K. et al., (1993), Immunomodulatory activity of mushroom mycelial extracts. Proceedings of the first Inter. Conference on mushroom biology and mushroom. Hong Kong, August.
13. Trinh Tam kiet. Checklist of macrofungi of Vietnam. Feddes Repertorium 109(3-4); 257-277, Berlin.
14. Sakasami H. et al., (1989), Biochem. Biophys. Res. Comm. vol. 162, No 2: 579 – 603.

THỬ NGHIỆM LÂM SÀNG ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG HỖ TRỢ MIỄN DỊCH CỦA THUỐC ANGALA TRÊN BỆNH NHÂN UNG THƯ VÚ ĐANG ĐIỀU TRỊ HOÁ CHẤT

Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan, Lê Minh Phương, *- Viện Dược Liệu*
Phan Thị Phi Phi, Phạm Văn Bình *- Đại học Y Hà Nội*
Nguyễn Bá Đức, Nguyễn Tuyết Mai, Lê Thanh Đức, Trần văn Công, Đỗ Anh Tú, Trần Thắng, Nguyễn Thị Thoa và cs. *- Bệnh viện K Hà nội.*
Lê Văn Thảo, Nguyễn Phương Dung, Nguyễn Hương Giang và cs. *- Bệnh viện U Bướu Hà Nội.*
Lại Phú Thưởng, Vũ Hô và cs. *- Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên .*
TS. Lê Văn Don *- Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc và cả một số nước châu Âu, châu Mỹ đã phát huy kinh nghiệm đó để tìm các hợp chất thiên nhiên hy vọng có tác dụng chữa trị một số bệnh "nan y" như ung thư, HIV/AIDS, viêm gan virus..., đặc biệt chú trọng các chất *điều hoà miễn dịch.*

Về mặt lâm sàng học, ngày nay các tình trạng bệnh lý liên quan đến suy giảm miễn dịch (MD), đặc biệt là suy giảm MD thứ phát rất phổ biến như : nhiễm trùng cấp, mạn tính và tái phát; nhiễm độc hoá chất, thuốc trừ sâu; nhiễm HIV/AIDS; bỏng; suy dinh dưỡng, điều trị bằng tia xạ và các thuốc chống ung thư v.v...Việc điều trị có hiệu quả các bệnh lý trên không thể không sử dụng phối hợp các thuốc kích thích miến dịch (KTMD). Hoạt chất của các thuốc KTMD thảo mộc là polysaccharid, saponin, lectin, flavonoid, alcaloid..

Gần đây, polysaccharid của đương quy đã được chứng minh có nhiều tác dụng sinh học khác nhau: KTMD, tăng sinh huyết trong tuỷ xương,chống ung thư, kéo dài thời gian sống của chuột cấy tế bào cổ trướng Ehrlich, kích thích sản sinh interferon, chống phóng xạ...Bằng thực nghiệm các nhà nghiên cứu Nhật Bản đã khẳng định polysaccharid chiết xuất từ đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kit.) là thuốc hỗ trợ miễn dịch đầy triển vọng [6 - 10].

Thuốc kích thích miễn dịch angala được Viện Dược liệu nghiên cứu từ đương quy di thực *Angelica acutiloba* Kit. [1]. Thuốc angala đã được thử nghiệm lâm sàng đánh giá tác dụng hỗ trợ miễn dịch trong điều trị bệnh nhân ung thư vú bằng hoá chất theo hai giai đoạn của quy chế 371/QĐ-BYT trên 62 bệnh nhân (giai đoạn 2) và trên 180 bệnh nhân tại ba bệnh viện (giai đoạn 3). Kết quả cho thấy: Angala có tác dụng hỗ trợ miễn dịch và hệ tạo huyết; thuốc có thể có tác dụng giảm độc với gan, thận; thuốc không có độc tính hay tác dụng phụ [2-3].

Dưới đây là báo cáo kết quả phần thử nghiệm lâm sàng giai đoạn 3 để đánh giá tác dụng hỗ trợ miễn dịch của thuốc thông qua đề tài nhánh mã số KHCN 11-05B-01 được tiến hành từ tháng 7 năm 2001 đến tháng 2 năm 2004.

Mục tiêu của đề tài

- Xác định tác dụng hỗ trợ miễn dịch của thuốc angala trên bệnh nhân ung thư vú (BNUTV) đang điều trị bằng hoá chất

- Đánh giá tính an toàn của thuốc angala.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng

BN UTV đang điều trị hoá chất, tia xạ tại 3 bệnh viện: Bệnh viện K Hà Nội, Bệnh viện U bướu Hà Nội, Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên từ năm 2002 đến năm 2004 với các tiêu chuẩn sau:

+ Bệnh lý giải phẫu: Ung thư biểu mô tuyến vú.

+ Các chỉ số huyết học, sinh hoá lúc trước điều trị trong giới hạn bình thường.

+ Thể trạng chung tốt, 70% trở lên theo thang điểm đánh giá của Karnofsky.

+ Điều trị hoá chất hoặc bổ trợ (tiêu diệt di căn vi thể sau phẫu thuật triệt căn) hoặc cho giai đoạn muộn (bệnh đã di căn lan tràn không thể điều trị tại chỗ, hoá chất nhằm tiêu diệt u và các ổ di căn đại thể). Tia xạ được áp dụng sau hóa chất ở các bệnh nhân điều trị bổ trợ.

+ Bệnh nhân tình nguyện tham gia nghiên cứu, theo đủ thời gian điều trị và theo dõi.

2. 2. Phương pháp

- BN được chia ngẫu nhiên vào một trong 2 nhóm:

+ Nhóm dùng thuốc (nhóm A): Điều trị hoá chất, kết hợp với angala liều 500 mg/ lần × 2 lần/ ngày, sau bữa ăn. Bắt đầu vào ngày nghỉ truyền hoá chất đầu tiên của đợt I, trong 90 ngày.

+ Nhóm chứng (nhóm B): Chỉ điều trị hoá chất.

- Đánh giá trước điều trị: BN được đánh giá lâm sàng về triệu chứng cơ năng, dấu hiệu thực thể. Các xét nghiệm chẩn đoán hình ảnh giúp đánh giá giai đoạn bệnh. Công thức máu là xét nghiệm thường quy. Để đánh giá chức năng gan chúng tôi cho BN xét nghiệm hai men gan chủ yếu là amino-aspartatat-transferase (AST) và amino-alanin-transferase (ALT). Chức năng thận được đánh giá bằng nồng độ ure và creatinin huyết. Các xét nghiệm này được làm tại các bệnh viện tiến hành nghiên cứu.

- Đánh giá trong khi điều trị: Sau mỗi đợt hoá chất, hoặc sau tia xạ, bệnh nhân được đánh giá lại về lâm sàng trong đó gồm độc tính với thuốc hoá chất, tác dụng phụ với tia xạ, các thay đổi về công thức máu, chức năng gan thận.

- Trong mỗi nhóm nói trên, BN trong các phân nhóm có xét nghiệm miễn dịch được xét nghiệm TCD_4, TCD_8, TCD_3 trước và sau 3 đợt hoá chất. Các xét nghiệm MD được làm tại Khoa MD thuộc Quân y viện (QYV) 108 và Bộ môn MD thuộc Trường đại học Y khoa Hà nội.

- Phương phắp thống kê: Các đặc điểm BN của hai nhóm được so sánh bằng phép thử χ^2 với các biến rời rạc trong đó có thể áp dụng phép thử chính xác của Fisher 1 phía với hai tham số trong đó có giá trị kỳ vọng <5 hoặc hiệu chỉnh Yates. Phép thử ANOVA và Wilcoxon hai mẫu dành cho các biến liên tục. Các chỉ số trước và sau khi dùng thuốc được kiểm định theo phép thử Student. Mức ý nghĩa thống kê của giá trị p là < 0,05.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm bệnh nhân

Tất cả có 180 BN tham gia ở 3 bệnh viện. Trong đó 80 BN ở Bệnh viện K, 60 BN ở Bệnh viện U bướu Hà Nội và 40 BN ở Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên.

Tuổi trung bình 47, thấp nhất 24, cao nhất 67, phân bố đều hai nhóm (p = 0,225). Các đặc điểm về u vú nguyên phát, giai đoạn bệnh TNM, bệnh lý giải phẫu, số hạch di căn và thể trạng của BN được trình bày trong bảng1. Các đặc điểm về bệnh tật không có sự khác biệt đáng kể giữa hai nhóm

($p < 0,05$). Thể giải phẫu bệnh hay gặp trong nghiên cứu là UT biểu mô thể ống xâm lấn với 87,5% ở nhóm A và 82,5% ở nhóm B. Việc xếp độ mô học chỉ thực hiện ở một số BN với độ 2 chiếm đa số. Số hạch nách di căn là một yếu tố tiên lượng. Bằng nhiều nghiên cứu trên hàng ngàn BN, người ta đã chỉ ra các BN có dưới 3 hạch di căn có tiên lượng tốt hơn so với BN có từ 4 đến 10 hạch di căn. Các BN có trên 10 hạch di căn có tiên lượng xấu nhất. Đặc điểm này cân đối giữa hai nhóm. So sánh phương sai của hai nhóm cho thấy sự khác biệt giữa hai nhóm là không đáng kể.

3.2 Thay đổi về các chỉ số cận lâm sàng

- *Phương pháp điều trị:*

Phác đồ hoá chất được sử dụng là AC (Doxorubicin kết hợp với cyclophosphamid) cho cả bổ trợ sau mổ và khi tái phát, di căn. Tia xạ sau mổ được áp dụng cho các trường hợp khối u lớn, di căn hạch nách nhiều Liều tia từ 46-50 Gy tại thành ngực và hạch vùng và bắt đầu sau 4 đợt hoá chất. Khi đó BN đã dùng hết thuốc angala và hoàn tất xét nghiệm tế bào miễn dịch lần 2 vì vậy điều trị tia xạ ít ảnh hưởng đến các thông số này.

Các chỉ số xét nghiệm trước và sau 3 đợt điều trị hoá chất được trình bày trong bảng 1.

- *Thay đổi các chỉ số huyết học*

- Hồng cầu và huyết sắc tố: Hồng cầu của các bệnh nhân trong 2 nhóm khi bước vào điều trị đều có số lượng tương đương, trung bình 4,13 triệu/mm^3, thấp hơn so với trị số bình thường (4,2- 6,3 triệu/mm^3), hầu hết các bệnh nhân đều có thiếu máu nhẹ. Sau 3 đợt hoá chất ở nhóm dùng angala giảm 0,03 triệu/mm^3, sự khác biệt không có ý nghĩa về thống kê ($p = 0,7539$). Nói cách khác số lượng hồng cầu ở nhóm này hầu như không giảm. Trái lại, ở nhóm chứng hồng cầu giảm nhiều hơn (0,29 $p < 0,0001$). Giá trị p cho chúng ta biết ở nhóm này hồng cầu giảm thực sự.

Bệnh nhân ở cả hai nhóm có lượng huyết sắc tố trung bình đều thấp với 12,8g/d*l* (giá trị bình thường 12-16 g/*l*). Ở nhóm dùng angala, lượng huyết sắc tố trung bình giảm không đáng kể, 0,1 g/d*l* với khoảng tin cậy 95% cho sự chênh lệch (KTC 95%);$p = 0,5232$ Trong khi ở nhóm không dùng angala, huyết sắc tố giảm có ý nghĩa thống kê (2,1 g/d*l* với KTC 95%; $p < 0,0001$).

-Bạch cầu và các thành phần: Hầu hết các bệnh nhân được điều trị hoá chất luôn hạ bạch cầu, đặc biệt là bạch cầu đa nhân trung tính (BCĐNTT). Trong khi đó vai trò của các tế bào này rất quan trọng cho sự đề kháng của cơ thể với các tác nhân gây bệnh, nhất là các nhiễm trùng.

Số lượng bạch cầu, BCĐNTT, lympho bào ở cả hai nhóm khi vào nghiên cứu đều ở mức bình thường, cho phép điều trị hoá chất. Số lượng bạch cầu trung bình ở nhóm dùng angala là 6,4 nghìn/mm^3 và ở nhóm chứng là 6,6 nghìn/mm^3 (giá trị bình thường 4,1- 10,9 nghìn/mm^3). Số lượng trung bình của BCĐNTT và lympho bào ở nhóm dùng angala tương ứng là 4,2 và 2,2 nghìn/mm^3, ở nhóm không dùng là 4,4 và 2,2 nghìn/mm^3 (giá trị bình thường của BCĐNTT là 2,0-7,8 nghìn/mm^3 và của lympho bào là 0,6- 4,1 nghìn/mm^3).

Trong quá trình điều trị, bạch cầu ở nhóm dùng angala giảm 1,0 nghìn/mm^3, p = 0,0007. Ở nhóm không dùng angala, bạch cầu giảm 2,1 nghìn/mm^3, p < 0,0001. Như vậy nhóm dùng angala tuy số lượng BC có giảm nhưng mức độ giảm ít hơn nhóm không dùng. Cả hai nhóm không có trường hợp nào bạch cầu giảm nặng ở mức đe doạ tính mạng.

Bệnh nhân trong nghiên cứu không thuộc hệ tạo máu, bạch cầu giảm thường đi cùng với giảm BCĐNTT. Trong nhóm chứng, BCĐNTT giảm nhiều (2,2 nghìn/mm^3; p <0,0001). Nhóm dùng angala, BCĐNTT trước và sau 3 đợt chênh nhau 0,7 nghìn, với p= 0,0004.

Số lượng lympho bào cũng giảm ở cả 2 nhóm với giá trị p có ý nghĩa thống kê.

Bảng 1. **Các chỉ số cận lâm sàng trước và sau 3 đợt hoá chất**

Nhóm bệnh nhân / Chỉ tiêu xét nghiệm		Nhóm dùng angala (A)			Nhóm không dùng (B)		
		x ± s	Giảm sau 3 đợt H/C	Giá trị p (t-test)	x ± s	Giảm sau 3 đợt H/C	Giá trị p (t-test)
Hồng cầu (triệu/mm^3)	Trước điều trị	4,13 ± 0,42	-0,03	0,7593	4,06 ± 0,41	0,29	< 0,0021
	Sau 3 đợt H/C	4,16 ± 0,44			3,77 ± 0,37		
Huyết sắc tố (g/dl)	Trước điều trị	12,8 ± 1,2	- 0,1	0,5232	12,6 ± 1,3	2,1	< 0,0001
	Sau 3 đợt H/C	12,9 ± 1,0			10,5 ± 1,1		

Bạch cầu (nghìn/mm^3)	Trước điều trị	6,4 ± 1,9	1,0	0,0007	6,5 ± 2,1	2,1	< 0,0001
	Sau 3 đợt H/C	5,4 ± 1,7			4,5 ± 1,4		
Bạch cầu ĐNTT (nghìn/mm^3)	Trước điều trị	4,3 ± 1,2	0,7	0,0004	4,4 ± 1,5	2,2	< 0,0001
	Sau 3 đợt H/C	3,5 ± 1,7			2,2 ± 1,2		
Lympho bào (nghìn/mm^3)	Trước điều trị	2,2 ± 0,7	0,4	0,0004	2,3 ± 0,5	0,5	< 0,0001
	Sau 3 đợt H/C	1,8 ± 0,4			1,8 ± 0,6		
Tiểu cầu (nghìn/mm^3)	Trước điều trị	268 ± 98	22	0,1704	271 ± 106	24	< 0,0001
	Sau 3 đợt H/C	267 ± 92			238 ± 93		
T_{CD4} (tế bào/mm^3)	Trước điều trị	577 ± 232	9	0,0095	549 ± 183	112	< 0,0001
	Sau 3 đợt H/C	568 ± 167			437 ± 213		
T_{CD8} (tế bào/ mm^3)	Trước điều trị	619 ± 304	- 135	0,2362	717 ± 297	265	0,0124
	Sau 3 đợt H/C	754 ± 336			452 ± 203		
T_{CD3} (tế bào/mm^3)	Trước điều trị	1528 ± 603	191	0,3265	1565 ± 544	643	0,0026
	Sau 3 đợt H/C	1337 ± 448			922 ± 464		
AST (u/l)	Trước điều trị	31 ± 9	- 3	0,3482	32 ± 11	- 5	0,0356
	Sau 3 đợt H/C	34 ± 12			37 ± 13		
ALT (u/l)	Trước điều trị	27± 13	-1	0,6230	25 ± 14	- 3	0,3364
	Sau 3 đợt H/C	28± 12			28 ± 16		

Ure (mmol/l)	Trước điều trị	5,2 ± 1,6	0,7	0,0524	4,7 ±1,6	0,3	0,3805
	Sau 3 đợt H/C	4,5 ± 1,4			4,4 ± 1,5		
Creatinin (µmol/l)	Trước điều trị	81 ± 10	3	0,2123	79 ± 10	- 1	0,6145
	Sau 3 đợt H/C	78 ± 12			80 ± 15		

Ghi chú: - H/C : Hoá chất - ĐNTT: Đa nhân trung tính

Kết quả trên cũng tương tự như khi tiến hành trên bệnh nhân HIV/AIDS (Học viện Quân y): Sau 3 tháng điều trị, số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu, bạch cầu trung tính ở nhóm dùng angala cao hơn, tỷ lệ bệnh nhân có huyết sắc tố nhỏ hơn giới hạn bình thường thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng. Sau 6 tháng, ngoài các chỉ tiêu trên, bạch cầu lympho ở nhóm dùng angala cũng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng [4, 5].

- ***Tiểu cầu:*** Trước điều trị, số lượng tiểu cầu của hai nhóm gần như tương đương (nhóm dùng angala 258 ± 78 nghìn/mm^3, nhóm chứng 271 ± 106 nghìn/mm^3), (giá trị bình thường 140- 440 nghìn/mm^3). Sau 3 đợt điều trị, số lượng tiểu cầu trung bình của cả hai nhóm đều giảm, với p không có ý nghĩa thống kê ở nhóm dùng angala, p = 0,1704 và p < 0,0001 ở nhóm không dùng angala.

• *Thay đổi các chỉ số tế bào miễn dịch*

Do kinh phí nghiên cứu có hạn nên ở mỗi nhóm bệnh chỉ một nửa bệnh nhân được làm xét nghiệm về miễn dịch.

- ***TCD_4:*** Số lượng tế bào TCD_4 trung bình lúc trước điều trị của nhóm dùng angala có cao hơn nhóm chứng một chút (577 ± 232 so với 549 ± 183). Qua các đợt hoá chất, cả hai nhóm đều giảm về số lượng TCD_4. Khi xem xét đến mức độ giảm, TCD_4 giảm ở nhóm dùng angala (9; KTC 95%) ít hơn nhiều so với nhóm chứng (112; KTC 95%).p < 0,0001 ở nhóm không dùng angala.

- ***TCD_8:*** Trước điều trị, số lượng TCD_8 trung bình của nhóm không dùng angala cao hơn nhóm dùng thuốc (717 so với 619) nhưng sau điều trị số lượng TCD_8 ở nhóm không dùng thuốc thấp hơn nhóm dùng (385,539 so với 412,533). Sự khác biệt giữa trước và sau điều trị ở nhóm dùng thuốc angala không có ý nghĩa (p = 0,2362) trong khi ở nhóm không dùng thuốc, CD_8 giảm rõ rệt (p = 0,0124).

- ***TCD_3:*** Đây cũng là thành phần quan trọng của hệ miễn dịch. Số lượng trung bình lúc trước điều trị ở nhóm dùng angala thấp hơn nhóm chứng (1528 so với 1565). Sau điều trị 3 đợt hoá chất, ở nhóm dùng thuốc chỉ giảm 191 với p = 0,3265, trong khi nhóm chứng số lượng giảm nhiều (634) với p = 0,0026.

Thực tế kháng thuốc của các vi khuẩn gây bệnh hiện nay càng đặt ra yêu cầu chỉ định rộng rãi hơn các thuốc KTMD trong các bệnh nhiễm trùng. Dùng phối hợp các thuốc kháng sinh với các thuốc KTMD đã có hiệu quả hơn dùng kháng sinh đơn thuần. Đặc biệt trong điều trị ung thư, các thuốc KTMD đã khẳng định tác dụng hỗ trợ của mình. Dùng phối hợp các thuốc KTMD với hoá chất và tia xạ làm phục hồi nhanh hơn số lượng các loại bạch cầu trong máu, giảm nguy cơ nhiễm trùng cơ hội, hạn chế di căn rõ rệt, kéo dài thời gian sống của người bệnh. Trên lâm sàng, MD trị liệu đã trở thành trị liệu hỗ trợ không thể thiếu trọng điều trị các bệnh ung thư. Ngày nay, với sự gia tăng số lượng bệnh nhân ung thư, nhu cầu thuốc KTMD ngày càng lớn. Một số thuốc KTMD ngoại nhập có giá thành rất cao; trong khi thời gian điều trị ung thư kéo dài, nên đa số người bệnh không có khả năng mua thuốc.

Qua nghiên cứu các nhà khoa học nhận thấy polysaccharid của đương quy (*Angelica acutiloba* Kit.; *A. sinensis* Oliv. Diels.) có tác dụng hỗ trợ trong điều trị kết hợp với kháng sinh, tia xạ và hoá chất [6 - 10]. Ưu điểm nổi bật của polysaccharid so với các nhóm chất KTMD khác là chúng có độc tính rất thấp. angala là thuốc kích thích miễn dịch do Viện Dược liệu nghiên cứu điều chế từ phân đoạn polysaccharid phân lập từ dịch chiết nước của đương quy Nhật Bản (Đề tài KHCN 11-05-02-01 thuộc chương trình KHCN 11 - 1996-2000) [1, 2, 3].

3.3. Các chỉ số đánh giá chức năng gan và thận

Gan là nơi chuyển hoá của nhiều loại hoá chất. Chức năng gan tốt mới chuyển hoá được các thuốc thành các dẫn chất mong muốn (độc tính giảm, tác dụng đến cơ quan đích tốt hơn). Mặt khác thuốc hoá chất cũng có tác dụng độc đối với gan. Khi điều trị hoá chất các men gan có thể bị tăng. AST trung bình ở nhóm A tăng không đáng kể trong khi ở nhóm B giá trị này tăng đáng kể (3 u/*l*; p>0,05 so với 5u/*l*; p<0,05). Tuy ALT của cả hai nhóm đều tăng không có ý nghĩa thống kê nhưng ở nhóm A, giá trị trung bình của thông số này tăng ít hơn (1 u/*l* so với 3 u/*l*).

Thận là cơ quan giúp đào thải hoá chất sau khi thuốc đã phát huy tác dụng trên tế bào ung thư. Nồng độ ure và creatinin trong máu tăng thường là do thận bài tiết kém và ngược lại, nồng độ giảm chứng tỏ thận đào thải các chất thừa tốt hơn. Ure máu trung bình ở cả hai nhóm giảm không có ý nghĩa thống kê nhưng

nhóm A giảm nhiều hơn ở nhóm B (0,7 mmol/*l* so với 0,3 mmol/*l*). Sự thay đổi creatinin huyết ở cả hai nhóm không đáng kể (p>0,05) nhưng ở nhóm A, giá trị trung bình của chất này giảm còn ở nhóm B, giá trị này tăng. Kết quả trên gợi ra rằng, angala có thể có vai trò trong việc hỗ trợ chức năng gan, thận tốt hơn ở BN đang điều trị hoá chất

Tóm lại: sau 3 tháng điều trị ở 3 bệnh viện, ở nhóm chứng, hồng cầu, huyết sắc tố giảm rõ rệt và có ý nghĩa thống kê; ở nhóm dùng angala, các chỉ số này giảm ít hơn và không có ý nghĩa thống kê. Bạch cầu, bạch cầu trung tính, bạch cầu lympho, ở cả hai nhóm đều giảm có ý nghĩa thống kê; tuy nhiên , ở nhóm dùng angala các chỉ số này giảm ít hơn. Số lượng TCD_4 là tiêu chuẩn chính để đánh giá đáp ứng kích thích miễn dịch của thuốc. Trong quá trình dùng hoá trị liệu số lượng tế bào TCD_4 giảm có ý nghĩa thống kê ở cả hai nhóm của cả ba bệnh viện, nhưng giảm nhiều hơn ở nhóm chứng

3.4. Các độc tính của hoá chất

Trên đã đề cập đến các tác động trên hệ tạo huyết cũng như với gan thận của thuốc angla. Các độc tính khác với hoá chất trên lâm sàng biểu hiện ở hai nhóm có tỷ lệ tương đương và không khác biệt về thống kê (p>0,05, bảng 2). Các độc tính này thường gặp khi điều trị hoá chất. Tạm ngừng hoá chất hoặc dùng các thuốc hỗ trợ có thể làm giảm bớt các độc tính này. Angala không làm tăng thêm độc tính nào của các thuốc hoá chất. Thử nghiệm giai đoạn III cũng thấy tỷ lệ BN xuất hiện các độc tính này tương đương ở cả nhóm dùng angala và nhóm chứng.

***Bảng 2.* Các độc tính ngoài hệ tạo huyết của hoá chất**

Độc tính (độ 2 trở lên)	Nhóm dùng angala (A) (%)	Nhóm không dùng (B) (%)	Giá trị p
Rụng tóc	77,5	82,5	0,58
Nôn	67,5	72,5	0,63
Ăn kém	85	92,5	0,24 (Fisher)
Viêm miệng	7,5	5	0,5 (Fisher)
Ỉa chảy	10	10	0,64 (Fisher)
Táo bón	2,5	5	0,5(Fisher)
Suy tim	0	0	-
Mệt mỏi	45	52,5	0,5
Sút cân	22,5	25	0,79

3.5. Tác dụng phụ của angala

Trong nghiên cứu này cũng như các nghiên cứu trước, chúng tôi chưa gặp BN nào xuất hiện các triệu chứng, dấu hiệu gợi ý tác dụng phụ của angala. Tác dụng phụ về lâu dài chưa thể xác định được. Nhận xét đó cũng phù hợp với nhận định của Trần Việt Tiến và cs. (Học viện Quân y): Angala với liều 1g/ngày dùng cho bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS có suy giảm miễn dịch mức độ nhẹ và vừa, theo dõi trong 6 tháng, không thấy tác dụng phụ cả về lâm sàng và xét nghiệm [4, 5].

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng đánh giá tác dụng hỗ trợ của thuốc KTMD angala trong điều trị bệnh nhân ung thư vú bằng hoá chất cho thấy angala có tác dụng hỗ trợ miễn dịch và hệ tạo huyết; thuốc không có độc tính hay tác dụng phụ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Lê Kim Loan, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Minh Châu, Nguyễn Văn Tài, Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Kim Phượng, (2001), Nghiên cứu thuốc kích thích miễn dịch từ rễ củ cây đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kit.). Công trình NCKH Viện Dược liệu (1987 - 2000), NXB. KH-KT, 266-270.
2. 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., 2001, Kết quả thử tác dụng kích thích miễn dịch của angala trên lâm sàng. Công trình NCKH Viện Dược liệu (1987 - 2000), NXB. KH-KT, 266-270.
3. Nguyễn Gia Chấn, Bùi Thị Bằng, Nguyễn Bá Đức, Nguyễn Tuyết Mai, Trần Văn Công, Đỗ Anh Tú và cs., 2000, Thử nghiệm lâm sàng viên angala chiết xuất từ cây đương quy, hỗ trợ trên bệnh nhân ung thư vú đang điều trị tia xạ, hoá chất. Tạp chí Thông tin Y Dược, chuyên đề ung thư 8/2000, tr.319-322.
4. Trần Việt Tiến, Nguyễn Văn Mùi, Phạm Mạnh Hùng và cs., (2003), Đánh giá tác dụng hỗ trợ điều trị của angala ở bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS. Tạp chí Y dược học quân sự, 28(5), 112 - 116.

5. Trần Việt Tiến, (2004), Biểu hiện lâm sàng, thay đổi một số chỉ tiêu miễn dịch và tác dụng hỗ trợ điều trị của angala ở bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS tại Hà Nội. Tóm tắt luận án Tiến sỹ Y học, 16 - 23.

6. Kumazawa Y. et al., (1982), Immunostimulating polysaccharide separated from hot water extract of *Angelica acutiloba* Kit. Immunology 47(1): 75-83.

7. Kumazawa Y. et al., (1985), Lymphocyte activation by a polysaccharide fraction separated from hot water extracts of *Angelica acutiloba* Kit. J. Pharmacobiodyn. 8(6), 417-24.

8. Ohno N. et al., (1983), Biochemical and physiochemical characterization of a mitogen obtained from an Oriental crud drug Tohki (A. acutiloba Kit.). J. Pharmacobiodyn. 6 (12), 903-12.

9. Yamada H. et al., (1990), Studies on polysaccharides from *Angelica acutiloba* Kit. Part. 13. - Structure charactierization and antitumor activity of a pectic polysaccharide from *Angelica acutiloba* Kit. Planta Med., 56(2), 182-6.

10. Yamato T. et al., (1982), Immunostimulating polysaccharide separated from hot water extract of *A. acutiloba* Kit. J. Immunology, 47(1), 75-83.

NGHIÊN CỨU THUỐC ĐIỀU TRỊ RỐI LOẠN TUẦN HOÀN NÃO TỪ CÁC DƯỢC LIỆU XUYÊN KHUNG, ĐƯƠNG QUY VÀ HY THIÊM

Đoàn Thị Nhu, Phạm Kim Mãn, Nguyễn Ngọc Chi,
Đỗ Trung Đàm, Nguyễn Kim Phượng, Phạm Thanh Trúc,
Đinh Thị Thuyết, Nguyễn Thị Dung – Viện Dược liệu
Cung Thị Tý – Viện Huyết học và Truyền máu
Trần Cẩm Vinh – Bệnh niện 103

SUMMARY

Study of the drug for the therapy of cerebral circulatory disorder from the medicinal plants Ligusticum wallichii, Angelica acutiloba and Siegesbeckia orientalis

As raw materials for the drug production, the medicinal plants *Ligusticum wallichii, Angelica acutiloba* and *Siegesbeckia orientalis* were demonstrated to have the following pharmacological effects antiplatelet aggregation, anticoagulant and hypotensive. These pharmacological properties should contribute to the therapy of cerebral circulatory disorders.

The drug ligustan being produced from the above medicinal plants was shown to have very low acute toxicity and to cause no unfavourable influence on hepatic, renal and hepatopoiestic functions in the trial of subchronic toxicity.

The drug production process and the drug quality standard of ligustan were elaborated. The clinical trial of ligustan for the therapy of cerebral circulatory disorders is being in progress.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các rối loạn tuần hoàn não và tai biến mạch máu não đang ngày càng tăng ở nước ta. Trong tai biến mạch máu não, tỷ lệ nhồi máu não hay thiếu máu cục bộ não chiếm khoảng 70 - 80%, và tỷ lệ chảy máu não chiếm khoảng 20 - 30%. Việc nghiên cứu chế tạo các thuốc điều trị rối loạn tuần hoàn não từ nguồn nguyên liệu thực vật trong nước trên cơ sở kết hợp kinh nghiệm của y

dược học cổ truyền với lý luận và phương pháp nghiên cứu của y học hiện đại sẽ có thể đem lại kết quả tốt.

Nghiên cứu này nhằm các mục tiêu sau đây:

1. Nghiên cứu các tác dụng dược lý thực nghiệm: Chống đông máu, chống kết tập tiểu cầu, gây hạ huyết áp của cao chiết từng dược liệu và cao chiết hỗn hợp 3 dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm.
2. Nghiên cứu độc tính cấp tính và bán trường diễn của chế phẩm thuốc ligustan bào chế từ 3 dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm.
3. Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất thí điểm chế phẩm ligustan.
4. Xây dựng tiêu chuẩn chất lượng của chế phẩm ligustan.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Các phương pháp nghiên cứu dược lý thực nghiệm các tác dụng: Chống đông máu, chống kết tập tiểu cầu *in vitro,* tác dụng gây hạ huyết áp và tác dụng trên thụ thể alpha-adrenergic *in vivo* trên mèo.
2. Các phương pháp nghiên cứu độc tính cấp tính trên chuột nhắt trắng và độc tính bán trường diễn trên thỏ.
3. Các phương pháp xây dựng quy trình sản xuất thí điểm thuốc ligustan.
4. Các phương pháp xây dựng tiêu chuẩn chất lượng chế phẩm ligustan.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu dược lý

3.1.1. Nghiên cứu tác dụng chống đông máu in vitro

Những chế phẩm sau đây đã được nghiên cứu tác dụng *in vitro* trên một số xét nghiệm hoặc trên tất cả 5 xét nghiệm về đông máu.

- Xuyên khung A, đương quy A và hy thiêm A là những cao cồn 40° của từng dược liệu chiết ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường.
- Cao hỗn hợp A là cao cồn 40° của hỗn hợp 3 dược liệu chiết ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường.
- Xuyên khung B, đương quy B và hy thiêm B là những cao cồn 40° chiết hồi lưu nóng trong cách thuỷ của từng dược liệu.

- Cao hỗn hợp B là cao cồn 40° của hỗn hợp 3 dược liệu chiết hồi lưu nóng trong cách thuỷ.
- Cao hỗn hợp C là cao cồn 80° của hỗn hợp 3 dược liệu chiết hồi lưu nóng trong cách thuỷ.

Thuốc được pha loãng với dung dịch NaCl 0,9% và trộn với huyết tương để có nồng độ thích hợp của thuốc trong huyết tương, rồi ủ huyết tương có thuốc trong thời gian 30 phút.

1) Tác dụng trên độ đông máu chung (Thời gian phục hồi calci, hay thời gian Howell)

Kết quả nghiên cứu tác dụng của cao cồn 40° chiết bằng phương pháp ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường của từng dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và của hỗn hợp 3 dược liệu trên độ đông máu chung (trên toàn bộ các yếu tố của hệ đông máu) với xét nghiệm thời gian phục hồi calci được trình bày ở *Bảng 1*.

Những kết quả thí nghiệm cho thấy cao cồn 40° chiết bằng phương pháp ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường của từng dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và của hỗn hợp 3 dược liệu đã có tác dụng chống đông máu rõ rệt trong nghiên cứu đánh giá tổng quát tác dụng của thuốc trên toàn bộ các yếu tố của quá trình đông máu. Cao xuyên khung, cao đương quy và cao hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng gần tương đương, cao hy thiêm có tác dụng hơi yếu hơn. Cường độ tác dụng của thuốc tăng lên khi tăng nồng độ thuốc trong huyết tương.

***Bảng 1.* Tác dụng trên độ đông máu chung (Thời gian Howell)**

Thuốc thử	Nồng độ	Số mẫu	Thời gian phục hồi calci		P
			Giây	% so với chứng	
Đối chứng	-	20	83±0,6	100	
xuyên khung A	1:20	20	155±1,3	186	< 0,05
	1:10	20	180±1,2	216	< 0,001
	1:5	20	377±1,4	454	< 0,001
Đối chứng	-	20	83±0,6	100	
đương quy A	1:20	20	160±1,6	192	< 0,05
	1:10	20	190±1,5	228	< 0,001
	1:5	20	387±2,0	466	< 0,001

Đối chứng	-	20	83±0,6	100	
hy thiêm	1:20	20	150±1,0	180	< 0,05
A	1:10	20	150±0,9	180	< 0,05
	1:5	20	319±1,1	384	< 0,001
Đối chứng	-	20	83±0,6	100	
XK+ĐQ+HT	1:20	20	150±0,8	180	< 0,05
A	1:10	20	174±0,7	209	< 0,05
	1:5	20	327±0,9	448	< 0,001

2) Tác dụng trên quá trình đông máu ngoại sinh (thời gian prothrombin hay thời gian Quick)

Kết quả nghiên cứu tác dụng của cao cồn 40° chiết bằng phương pháp ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường của từng dược liệu và của hỗn hợp 3 dược liệu, của cao cồn 40° và cao cồn 80° của hỗn hợp 3 dược liệu chiết hồi lưu trong cách thuỷ trên toàn bộ các yếu tố của quá trình đông máu ngoại sinh với xét nghiệm thời gian prothrombin được trình bày ở *Bảng 2*.

Những kết quả thí nghiệm cho thấy cao cồn 40° chiết bằng phương pháp ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường của từng dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và của hỗ hợp 3 dược liệu đã có tác dụng chống đông máu rõ rệt trong nghiên cứu đánh giá tác dụng của thuốc trên toàn bộ các yếu tố của quá trình đông máu ngoại sinh (các yếu tố II, V, VII và X). Cao xuyên khung, cao đương quy, cao hỗn hợp có tác dụng gần tương đương, cao hy thiêm có tác dụng hơi yếu hơn.

Cao cồn 40° và 80° chiết hồi lưu nóng của hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng ức chế đường đông máu ngoại sinh mạnh hơn nhiều so với cao cồn 40° chiết ngấm kiệt ở nhiệt độ thường của hỗn hợp 3 dược liệu. Ở nồng độ thuốc 1/10 trong huyết tương, hai cao này ức chế hoàn toàn đường đông máu ngoại sinh, huyết tương không đông trong xét nghiệm về thời gian prothrombin. Khi giảm nồng độ thuốc, huyết tương có đông và thời gian prothrombin kéo dài hơn nhiều so với chứng. Ở nồng độ rất thấp 1/50, thuốc không có tác dụng, không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa lô thử thuốc và lô đối chứng.

Cường độ tác dụng kéo dài thời gian prothrombin của các chế phẩm tăng lên khi tăng nồng độ thuốc trong huyết tương.

Bảng 2. **Tác dụng trên đường đông máu ngoại sinh (thời gian prothrombin)**

Thuốc thử	Nồng độ	Số mẫu	Thời gian prothrombin		P
			Giây	% so với chứng	
Đối chứng	-	20	17±0,3	100	
Xuyên khung A	1:20	20	30±0,5	187	< 0,05
	1:10	20	40±0,6	250	< 0,001
	1:5	20	55±0,7	343	< 0,001
Đối chứng	-	20	17±0,4	100	
Đương quy A	1:20	20	29±0,5	170	< 0,05
	1:10	20	41±0,6	241	< 0,001
	1:5	20	49±0,5	288	< 0,001
Đối chứng	-	20	17±0,3	100	
Hy thiêm A	1:20	20	24±0,4	141	< 0,05
	1:10	20	35±0,6	205	< 0,001
	1:5	20	40±0,5	235	< 0,001
Đối chứng	-	20	17±0,4	100	
XK+ĐQ+HT A	1:20	20	26±0,5	162	< 0,05
	1:10	20	40±0,6	250	< 0,001
	1:5	20	50±0,3	312	< 0,001
Đối chứng	-	10	17±0,3	100	
XK+ĐQ+HT B	1:50	10	17,1±0,3	100	> 0,05
	1:10	5	Không đông (ức chế hoàn toàn)		
Đối chứng	-	10	17±0,3	100	
XK+ĐQ+HT C	1:50	10	17,4±0,4	102	> 0,05
	1:10	5	Không đông (ức chế hoàn toàn)		

3) Tác dụng trên quá trình đông máu nội sinh (Thời gian thromboplastin một phần hoạt hoá, hay thời gian cephalin kaolin) (APTT)

Kết quả nghiên cứu tác dụng của các chế phẩm trên các yếu tố đông máu theo con đường nội sinh với xét nghiệm thời gian thromboplastin một phần hoạt hoá (APTT) được trình bày ở *Bảng 3*.

Những kết quả thí nghiệm cho thấy cao cồn 40° chiết ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường của từng dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và của hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng chống đông máu rõ rệt do tác dụng trên toàn bộ các yếu tố đông máu theo con đường nội sinh. Cao xuyên khung có tác dụng tương đối mạnh hơn so với 3 chế phẩm kia.

Cao cồn 40° và cao cồn 80° chiết hồi lưu nóng trong cách thuỷ của hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng ức chế đường đông máu nội sinh mạnh hơn nhiều so với cao cồn 40° chiết ngấm kiệt ở nhiệt độ thường của hỗn hợp 3 dược liệu.

Ở nồng độ thuốc 1/10 trong huyết tương, hai cao này ức chế hoàn toàn đường đông máu nội sinh, huyết tương không đông trong xét nghiệm về thời gian thromboplastin một phần hoạt hoá. Khi giảm nồng độ thuốc, huyết tương có đông và thời gian thromboplastin một phần hoạt hoá kéo dài hơn nhiều so với chứng. Ở nồng độ rất thấp 1/50, thuốc không có tác dụng, không có sự khác biệt ý nghĩa giữa lô thử thuốc và lô chứng.

Cường độ tác dụng kéo dài thời gian thromboplastin một phần hoạt hoá của các chế phẩm tăng lên khi tăng nồng độ thuốc trong huyết tương.

***Bảng 3.* Tác dụng trên đường đông máu nội sinh (xét nghiệm APTT)**

Thuốc thử	Nồng độ	Số mẫu	Thời gian thromboplastin một phần hoạt hoá		P
			Giây	% so với chứng	
Đối chứng	-	20	50±0,4	100	
Xuyên khung A	1:20	20	80±0,5	160	< 0,05
	1:10	20	111±0,5	222	< 0,001
	1:5	20	172±0,4	344	< 0,001
Đối chứng	-	20	50±0,4	100	
Đương quy A	1:20	20	95±0,3	190	< 0,05
	1:10	20	100±0,5	200	< 0,001

	1:5	20	160±0,3	320	< 0,001
Đối chứng	-	20	50±0,4	100	
Hy thiêm	1:20	20	70±0,6	140	< 0,05
A	1:10	20	79±0,3	158	< 0,05
	1:5	20	150±0,3	300	< 0,001
Đối chứng	-	20	50±0,4	100	
XK+ĐQ+HT	1:20	20	80±0,5	160	< 0,05
A	1:10	20	108±0,3	216	< 0,001
	1:5	20	160±0,4	320	< 0,001
Đối chứng	-	10	58,1±1,6	100	
XK+ĐQ+HT	1:50	10	60,1±1,8	103	> 0,05
B					
	1:10	5	Không đông (ức chế hoàn toàn)		
Đối chứng	-	10	58,1±1,6	100	
XK+ĐQ+HT	1:50	10	60,4±1,7	104	> 0,05
C					
	1:10	5	Không đông (ức chế hoàn toàn)		

4) Tác dụng trên giai đoạn tạo fibrin (Thời gian thrombin)

Kết quả nghiên cứu tác dụng của các chế phẩm trên giai đoạn tạo fibrin với xét nghiệm thời gian thrombin được trình bày ở *Bảng 4*.

***Bảng 4.* Tác dụng trên giai đoạn tạo fibrin (Thời gian thrombin)**

Thuốc thử	Nồng độ	Số mẫu	Thời gian thrombin		P
			Giây	% so với chứng	
Đối chứng	-	20	21±0,1	100	
Xuyên khung	1:20	20	31±0,8	147	< 0,05
A	1:10	20	39±0,9	185	< 0,05
	1:5	20	48±0,2	228	< 0,001

Đối chứng	-	20	21±0,1	100	
Đương quy	1:20	20	30±0,5	136	< 0,05
A	1:10	20	33±0,4	150	< 0,05
	1:5	20	46±0,6	209	< 0,001
Đối chứng	-	20	21±0,1	100	
Hy thiêm	1:20	20	25±0,8	119	< 0,05
A	1:10	20	28±0,6	133	< 0,05
	1:5	20	41±0,1	195	< 0,001
Đối chứng	-	20	21±0,1	100	
XK+ĐQ+HT	1:20	20	28±0,3	133	< 0,05
A	1:10	20	30±0,2	142	< 0,05
	1:5	20	40±0,4	190	< 0,001
Đối chứng	-	10	39,6±0,7	100	
XK+ĐQ+HT	1:50	10	48,2±0,7	122	< 0,001
B	1:10	5	Không đông (ức chế hoàn toàn)		
Đối chứng	-	10	39,6±0,7	100	
XK+ĐQ+HT	1:50	10	42,2±0,8	106	> 0,05
C	1:10	5	Không đông (ức chế hoàn toàn)		

Những kết quả thí nghiệm cho thấy cao cồn 40° chiết ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường của từng dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và của hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng rõ rệt trên giai đoạn sau cùng của quá trình đông máu là giai đoạn tạo fibrin, làm kéo dài rõ rệt thời gian thrombin, và như vậy làm giảm tốc độ tạo thành fibrin, và làm giảm đông máu. Cao xuyên khung và cao đương quy có tác dụng hơi mạnh hơn so với cao hy thiêm và cao hỗn hợp 3 dược liệu.

Cao cồn 40° và cao cồn 80° chiết hồi lưu nóng trong cách thuỷ của hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng ức chế quá trình tạo fibrin, làm giảm tốc độ tạo thành fibrin

và do đó giảm đông máu mạnh hơn nhiều so với cao cồn 40° chiết ngấm kiệt ở nhiệt độ thường của hỗn hợp 3 dược liệu.

Ở nồng độ thuốc 1/10 trong huyết tương, hai cao này ức chế hoàn toàn sự tạo thành fibrin, huyết tương không đông trong xét nghiệm thời gian thrombin. Khi giảm nồng độ thuốc, huyết tương có đông và thời gian thrombin kéo dài hơn nhiều so với chứng. ở nồng độ rất thấp 1/50, cao cồn 40° và cao cồn 80° chiết hồi lưu nóng của hỗn hợp 3 dược liệu vẫn có tác dụng kéo dài thời gian thrombin, tuy ở mức độ yếu.

Cường độ tác dụng kéo dài thời gian thrombin của các chế phẩm tăng lên khi tăng nồng độ thuốc trong huyết tương.

5) Tác dụng trên độ ngưng tập tiểu cầu

Kết quả nghiên cứu tác dụng của các cao cồn chiết hồi lưu nóng trên độ ngưng tập tiểu cầu được trình bày ở *Bảng 5*.

Những kết quả thí nghiệm cho thấy cao cồn 40° chiết hồi lưu nóng trong cách thuỷ của từng dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm, và của hỗn hợp 3 dược liệu, và cao cồn 80° chiết hồi lưu nóng trong cách thuỷ của hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng ức chế ngưng tập tiểu cầu khá mạnh, làm giảm đáng kể độ ngưng tập tiểu cầu.

Ở nồng độ thuốc 1/50 trong huyết tương, các chế phẩm có tác dụng ức chế ngưng tập tiểu cầu theo thứ tự hoạt tính giảm là: cao cồn 40° xuyên khung 88,4%, cao cồn 80° của hỗn hợp 3 dược liệu 87,6%, cao cồn 40° đương quy 80%, cao cồn 40° của hỗn hợp 3 dược liệu 63,8%, cao cồn 40° hy thiêm 35,8%. Cao cồn xuyên khung và cao cồn 80° của hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng mạnh nhất.

Ở nồng độ thuốc 1/10 trong huyết tương, tất cả các chế phẩm nêu trên đều có tác dụng ức chế hoàn toàn ngưng tập tiểu cầu. Sau khi cho thêm adenosin diphosphat vào huyết tương để gây ngưng tập tiểu cầu và theo dõi trong phạm vi thời gian quy định trên máy đo, tiểu cầu hoàn toàn không ngưng tập.

Bảng 5. **Tác dụng trên độ ngưng tập tiểu cầu**

Thuốc thử	Nồng độ	Số mẫu	Độ ngưng tập tiểu cầu		P
			%	Tỷ lệ % giảm so với chứng	
Đối chứng	-	10	64,77±3,3		
Xuyên khung B	1:50	10	7,5±1,4	88,4	< 0,001
	1:10	5	Không ngưng tập (ức chế hoàn toàn)		
Đối chứng	-	10	64,7±3,3		
Đương quy B	1:50	10	12,9±2,3	80,0	< 0,001
	1:10	5	Không ngưng tập (ức chế hoàn toàn)		
Đối chứng	-	10	64,7±3,3		
Hy thiêm B	1:50	10	41,5±3,7	35,8	< 0,001
	1:10	5	Không ngưng tập (ức chế hoàn toàn)		
Đối chứng	-	10	64,7±3,3		
XK+ĐQ+HT B	1:50	10	23,4±3,2	63,8	< 0,001
	1:10	5	Không ngưng tập (ức chế hoàn toàn)		
Đối chứng	-	10	64,7±3,3		
XK+ĐQ+HT C	1:50	10	8,0±1,6	87,6	< 0,001
	1:10	5	Không ngưng tập (ức chế hoàn toàn)		

3.1.2. Nghiên cứu tác dụng trên huyết động lực

Những chế phẩm sau đây đã được nghiên cứu tác dụng trên huyết động lực ở mèo:

- Cao cồn 40° chiết bằng ngấm kiệt ngược dòng ở nhiệt độ thường của từng dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm.

- Cao cồn 40° chiết hồi lưu nóng trong cách thuỷ của hỗn hợp 3 dược liệu.

1) Tác dụng trên huyết áp

Kết quả thí nghiệm cho thấy dịch chiết các dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và hỗn hợp 3 dược liệu đều có tác dụng gây hạ huyết áp mèo được gây mê. Khi tiêm tĩnh mạch cho mèo cao lỏng của mỗi dược liệu với liều quy ra dược liệu khô 0,7 – 1 g/kg thể trọng mèo, huyết áp hạ 15 – 20% so với mức huyết áp bình thường ban đầu.

Mức độ hạ huyết áp phụ thuộc vào liều. Tác dụng hạ huyết áp xuất hiện nhanh và tương đối kéo dài.

2. Tác dụng trên thụ thể nhận alpha-adrenergic

So sánh mức tăng huyết áp mèo gây bởi liều tiêm tĩnh mạch 0,05 ml dung dịch 0,1% adrenalin cho 1 kg mèo, ở những thời điểm trước và 30 giây hoặc một phút sau khi tiêm tĩnh mạch cho mèo cao lỏng của mỗi dược liệu hoặc của hỗn hợp 3 dược liệu với liều quy ra dược liệu khô 0,7-1,0 g/kg, thấy cao lỏng của từng dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và của hỗn hợp 3 dược liệu đã không ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính gây tăng huyết áp của adrenalin.

Kết quả thí nghiệm chứng minh tác dụng gây hạ huyết áp của xuyên khung, đương quy và hy thiêm không do ức chế các thụ thể nhận adrenalin alpha. Có khả năng sự hạ huyết áp này là do tác dụng trực tiếp trên cơ trơn mạch máu gây giãn mạch và giảm sức kháng của mạch máu.

Bảng 6. **Tác dụng trên huyết áp**

Thuốc thử	Liều g/kg	Số mèo	Huyết áp (mmHg)			P
			Bình thường	Sau tiêm thuốc	Tỷ lệ % giảm	
Xuyên khung A	0,7	5	120 ± 2,12	92 ± 2,05	23,33	<0,05
Đương quy A	0,7	5	116 ± 2,05	91 ± 1,98	21,55	<0,05
Hy thiêm A	0,7	5	120 ± 2,09	96 ± 2,10	20,00	<0,05
XK+ĐQ+HY B	0,7 1,0	5 5	118 ± 2,10 120 ± 2,14	92 ± 2,06 90 ± 2,08	22,03 25,00	<0,05 <0,05

3.2. Kết quả nghiên cứu độc tính

3.2.1. Độc tính cấp tính

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp tính của chế phẩm ligustan được trình bày ở *Bảng 7*.

LD_{50} (uống) = 265 ± 11 g/kg

Liều gây chết 50% động vật thí nghiệm LD_{50} của chế phẩm ligustan bào chế từ 3 dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm, cho bằng đường uống trên chuột nhắt trắng là 265 ± 11 g/kg, chứng tỏ thuốc có độc tính cấp tính rất thấp.

***Bảng 7.* Độc tính cấp tính của chế phẩm ligustan**

Nhóm	Liều (quy ra dược liệu) g/kg	Số chuột thử	Số chuột chết	Hiệu số giữa 2 liều kế tiếp (d)	Số chuột chết trung bình của 2 liều kế tiếp (a)	Tích số a.d	Tỷ lệ chuột chết %
1	150	5	0	-	-	-	
2	180	8	0	-	-	-	
3	210	8	1	30	0,5	15	12,5
4	240	8	3	30	2	60	37,5
5	270	8	4	30	3,5	105	50,0
6	300	8	6	30	5	150	75,0
7	350	8	8	50	7	350	100,0

3.2.2. Độc tính bán trường diễn

Các kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của chế phẩm ligustan bào chế từ 3 dược liệu được trình bày ở *Bảng 8*.

Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn cho thấy chế phẩm ligustan chế từ 3 dược liệu: xuyên khung, đương quy và hy thiêm không ảnh hưởng đến các chức năng gan, thận và chức phận tạo máu của động vật thí nghiệm được cho uống thuốc dài ngày, với liều 10g dược liệu/kg/ngày (gấp 20 lần liều dự kiến dùng cho người tính theo 1 kg thể trọng).

Bảng 8. **Ảnh hưởng của chế phẩm ligustan bào chế từ 3 dược liệu trên các thông số hoá sinh và huyết học của máu thỏ**

Thông số	Lô chứng (nước cất) n=5		Chế phẩm ligustan (liều quy ra dược liệu 10g/kgx30ngày) n=6	
	Trước đợt uống	Sau đợt uống	Trước đợt uống	Sau đợt uống
Cân nặng (kg)	1,99±0,06	1,84±0,02 P > 0,05	1,91±0,05	1,85±0,13 P > 0,05
Bạch cầu (nghìn/mm^3)	6,80±0,85	6,12±0,67 P > 0,05	7,12±0,36	6,75±0,36 P > 0,05
Hồng cầu (triệu/mm^3)	4,85±0,15	4,89±0,11 P > 0,05	4,89±0,24	4,82±0,14 P > 0,05
Huyết sắc tố (g/lít)	96,02±2,22	99,82±1,92 P > 0,05	97,46±1,67	100,82±1,48 P > 0,05
Ure (mg/dl)	37,65±1,52	39,20±4,14 P > 0,05	39,91±1,14	37,58±2,08 P > 0,05
Creatinin (mg/dl)	1,76±0,08	1,88±0,05 P > 0,05	1,86±0,05	1,83±0,03 P > 0,05
GOT (IU/lít)	44,14±3,69	46,19±4,80 P > 0,05	47,28±4,74	44,74±2,00 P > 0,05
GPT (IU/lít)	100,32±10,19	107,13±18,12 P > 0,05	87,75±2,84	89,47±3,83 P > 0,05
Protein toàn phần (g/dl)	7,20±0,08	7,15±0,27 P > 0,05	7,19±0,12	6,94±0,06 P > 0,05

3.2.3. Kết luận về nghiên cứu dược lý và độc tính của ba dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm

Những kết quả nghiên cứu dươc lý và độc tính cho thấy các dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và hỗn hợp 3 dược liệu có những tác dụng đặc trưng như sau:

a) Tác dụng chống đông máu rõ rệt, cụ thể:

- Gây kéo dài thời gian phục hồi calci, thể hiện các tác dụng chống đông trên quá trình đông máu chung.

- Gây kéo dài thời gian prothrombin, thể hiện có tác dụng chống đông trên quá trình đông máu ngoại sinh.

- Gây kéo dài thời gian thromboplastin một phần hoạt hoá, thể hiện có tác dụng chống đông trên quá trình đông máu nội sinh.

- Gây kéo dài thời gian thrombin, thể hiện có tác dụng chống đông trên giai đoạn sau cùng của quá trình đông máu là giai đoạn tạo fibrin.

- Gây giảm độ ngưng tập tiểu cầu, thể hiện có tác dụng ức chế trên hiện tượng đầu tiên của sự hình thành cục đông máu.

b) Tác dụng gây hạ huyết áp rõ rệt, tác dụng hạ áp xuất hiện nhanh và tương đối kéo dài.

c) Chế phẩm ligustan tỏ ra có độ an toàn cao trong thử nghiệm về độc tính cấp tính và bán trường diễn.

d) Tác dụng chống đông máu: Xuyên khung có tác dụng mạnh nhất trong 3 dược liệu, và cao cồn chiết hồi lưu nóng với cồn 80° của hỗn hợp 3 dược liệu có tác dụng mạnh hơn so với cao cồn chiết với cồn thấp độ hơn, và với phương pháp chiết ở nhiệt độ thường.

3.3. Kết quả nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ

Trên cơ sở khảo sát hoạt tính sinh học của chế phẩm thu được với kỹ thuật chiết xuất và dung môi có nồng độ khác nhau, đã nghiên cứu xây dựng quy trình chiết xuất và bào chế viên nén bao phim ligustan từ hỗn hợp 3 dược liệu: xuyên khung, đương quy và hy thiêm để dự phòng và điều trị rối loạn tuần hoàn não. Đã xây dựng được quy trình sản xuất bao gồm những nội dung như sau:

- Đặc điểm thành phẩm: Công thức, tính chất
- Đặc điểm nguyên phụ liệu: Tiêu chuẩn nguyên phụ liệu
- Sơ đồ các giai đoạn sản xuất.
- Máy móc thiết bị.
- Mô tả quá trình sản xuất: Chuẩn bị, làm viên nén, bao đường, đóng gói
- Kỹ thuật an toàn và vệ sinh vô trùng.
- Phương pháp kiểm soát, kiểm nghiệm.

3.4. Kết quả nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn chất lượng của thuốc

Đã nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn chất lượng của thuốc ligustan, và đã xây dựng được bản Dự thảo tiêu chuẩn cấp cơ sở bao gồm những nội dung sau:

a) Chất lượng nguyên phụ liệu: Chất lượng các dược liệu xuyên khung, đương quy, hy thiêm và các phụ liệu, dung môi.

b) Chất lượng thành phẩm gồm những đặc điểm về:

- Hình thức, màu sắc
- Giảm khối lượng do sấy khô
- Độ đồng đều khối lượng
- Độ tan rã
- Độ nhiễm khuẩn
- Phân tích định tính
- Định lượng các chất chiết được trong ethanol

c) Phương pháp thử

- Phần lớn các tiêu chuẩn chất lượng được kiểm tra theo những phương pháp ghi trong Dược điển Việt Nam II.
- Định tính các dược liệu bằng sắc ký lớp mỏng, đã mô tả chi tiết phương pháp thử định tính phát hiện các dược liệu.
- Đóng gói, ghi nhãn, bảo quản.

V. KẾT LUẬN

Trên cơ sở thừa kế kinh nghiệm quý báu của y dược học cổ truyền, chúng tôi đã nghiên cứu 3 dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm làm nguyên liệu chế tạo thuốc ligustan dùng để dự phòng và điều trị thiểu năng tuần hoàn não, thiếu máu cục bộ (nhũn não), điều trị di chứng và dự phòng tái phát xuất huyết não, và đã đạt được các kết quả chính như sau:

1. Chứng minh 3 dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm có những tác dụng dược lý: Làm giảm độ ngưng tập tiểu cầu, chống đông máu (ức chế sự đông máu chung, ức chế các giai đoạn đông máu nội sinh, ngoại sinh và tạo fibrin) và làm giảm huyết áp. Tác dụng giảm huyết áp không do ức chế các thụ thể alpha nhận adrenalin, mà có thể do tác dụng trực tiếp trên cơ trơn mạch máu gây giãn mạch và giảm sức kháng của mạch máu. Những tác dụng dược lý này

góp phần vào hiệu lực dự phòng và điều trị những bệnh về mạch máu não của thuốc ligustan nêu trên.

2. Chứng minh thuốc ligustan chiết xuất từ hỗn hợp 3 dược liệu có độc tính cấp tính rất thấp và không ảnh hưởng đến chức năng gan, thận và chức phận tạo máu trong thí nghiệm độc tính bán trường diễn trên động vật uống thuốc dài ngày. Do đó có thể sử dụng thuốc ligustan trong liệu pháp dài hạn để dự phòng và điều trị những bệnh về mạch máu não, và có thể dùng an toàn ở người cao tuổi.

3. Trên cơ sở khảo sát hoạt tính sinh học của chế phẩm thu được với các kỹ thuật chiết xuất khác nhau, đã xây dựng quy trình sản xuất viên bao đường ligustan từ hỗn hợp 3 dược liệu: xuyên khung, đương quy và hy thiêm với những nội dung theo quy định.

4. Đã xây dựng dự thảo tiêu chuẩn chất lượng cấp cơ sở và phương pháp kiểm tra chất lượng của viên bao phim ligustan với những nội dung theo như quy định.

5. Đề tài "Nghiên cứu thuốc điều trị rối loạn tuần hoàn não từ các dược liệu: xuyên khung, đương quy và hy thiêm" đã đạt đầy đủ các mục tiêu đề ra cho đề tài: "Nghiên cứu tiền lâm sàng về tác dụng điều trị rối loạn tuần hoàn não".

Đề tài đang được chuyển sang giai đoạn thử nghiệm lâm sàng để đánh giá hiệu lực của thuốc ligustan bào chế từ hỗn hợp 3 dược liệu xuyên khung, đương quy và hy thiêm trong liệu pháp điều trị nhồi máu não hay thiếu máu cục bộ não sau giai đoạn cấp, điều trị di chứng và dự phòng tái phát xuất huyết não.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Đăng (Bộ môn Thần kinh Đại học Y Hà Nội), (1998), Tai biến mạch máu não, Báo cáo khoa học ở buổi sinh hoạt khoa học kỹ thuật của Hội Dược học.
2. Nguyễn Văn Đồng, (1995). Nghiên cứu tác dụng tới chuyển hoá lipid và quá trình đông máu của một số dược liệu, Luận án phó tiến sĩ khoa học y dược, Trường đại học Dược Hà Nội, Hà Nội.
3. Đỗ Tất Lợi, (1986), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội; 86-73, 504-505, 659-661.
4. Q.B. Mei, J.Y. Tao, B.Cui, (1991), Advances in the pharmacological studies of radix *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels (Chinese Dangqui), Chinese Med.J., 104 (9): 776-781.

   Med. Aromat. Plants Abstr., 1992, 14 (4): 373 (9204-2257).
5. W. Peng, S.F. Duan, (1987), Hemodynamic and hemorrheologic effect of ligustrazini in chronic obstructive pulmonary disease with cor pulmonale, Chinese Med. J., 100 (12): 965-970.

   Med. Aromat. Plants Abstr., 1989, 11 (5): 432 (8905-1831).
6. World Health Organization, Regional office for the Western Pacific, (1986), Report Scientific Group on Herbal Medicine Research, Tokyo, Japan, 10-12 March: 116-117.
7. WHO, Regional office for the Western Pacific, (1993), Research guidelines on safety and efficacy of herbal medicines, Manila, Philippines.
8. Yu Zhen, Chen Keji, (1987), Effect of Chuan-Xiong granule on platelet aggregation, plasma beta-thromboglobulin, platelet factor IV, thromboxane B2 and 6-keto-prostaglandin F1 alpha in coronary heart disease patients, Chinese J. Integr. Tradit. West. Med., 7 (1): 8-11.

   Med. Aromat. Plants Abstr., 1990, 12 (1): 16 (9001-0068)
9. L. Zhao, A. M. Lin, Z. Z. Piao, (1991), Clinical and experimental study on cerebral thrombosis treated with antithrombotic Ximaining, Chinese J. Integrat. Trad. West. Med., 11 (6): 327-330.

   Med. Aromat. Plants Abstr., 1993, 15 (1): 24 (9301-0157).
10. X. X. Zhuang, (1991), The protective effect of *Angelica* injection on arrhythmia during myocardial ischemia reperfusion in rat, Chinese J. Integr. Trad. West. Med., 11 (6): 360-361.

    Med. Aromat. Plants Abstr., 1993, 15 (1): 37-38 (9301-0232).

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ VIÊN FAMLERGIC CHỮA DỊ ỨNG

Phạm Thanh Trúc, Nguyễn Kim Bích và cs. *- Viện Dược liệu*

Nguyễn Quang Việt *- Sở Y tế Đường sắt Hà Nội*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những công trình nghiên cứu dị ứng ở Việt Nam trong 30 năm qua cho thấy số người mắc bệnh dị ứng tăng nhanh trong những năm gần đây, gồm nhiều loại với nhiều nguyên nhân khác nhau [1, 2]. Để điều trị bệnh dị ứng người ta dùng chủ yếu các loại thuốc kháng histamin, các loại thuốc ức chế miễn dịch như các loại corticoid... Nói chung, các thuốc này tỏ ra có hiệu quả trong các phác đồ điều trị dị ứng nhưng mặt trái là gây ra nhiều tác dụng phụ.

Trong đề tài "*Nghiên cứu tác dụng dược lý và dạng bào chế của bài thuốc chữa dị ứng từ dược liệu*", chúng tôi chọn những vị dược liệu thường có mặt trong những thang thuốc chống dị ứng, tiêu độc, chống viêm được dùng theo kinh nghiệm dân gian, bao gồm lá khế (*Folium Averrhoa*), kim ngân hoa *(Flos Lonicera),* thổ phục linh (*Rhizoma Smilacis glabrae*), mã đề (*Folium Plantaginis*) [4,6]. Đề tài đã được nghiên cứu toàn diện về phương pháp chiết xuất hoạt chất, tác dụng dược lý. độc tính cấp, xác định liều LD_{50}, độc tính bán mạn. nghiên cứu dạng bào chế, tiêu chuẩn nguyên liệu, bán thành phẩm, thành phẩm đồng thời theo dõi tuổi thọ thuốc. Trong bài này chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu bào chế viên dị ứng dưới tên viên M2 hay viên famlergic gồm nghiên cứu sinh khả dụng chế phẩm (*in vitro*) trên cơ sở xây dựng phương pháp đo độ hòa tan một trong những chất có tác dụng sinh học chủ yếu, có mặt trong thành phần chế phẩm nghiên cứu. Quy hoạch thực nghiệm và tối ưu hóa công thức theo phương pháp thiết kế mạng thần kinh nhân tạo sử dụng phần mềm Modde 5.0, Anna và Optim để lựa chọn công thức bào chế tối ưu [7,8]. Hiện việc nghiên cứu SKD, chọn lựa công thức tối ưu khi nghiên cứu bào chế là một trong những nghiên cứu thường quy, song đối với viên bào chế từ cao dược liệu nhiều thành phần, mà các thành phần này chưa làm tinh khiết cũng như chưa xác định

được cấu trúc của nó thì những nghiên cứu này của chúng tôi là những nghiên cứu khởi đầu ở Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu và trang thiết bị

- *Các dược liệu*: Kim ngân (hoa), thổ phục linh (thân rễ), mã đề (lá): Đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam 3. Khế (lá): Đạt tiêu chuẩn cơ sở Viện Dược liệu.

- *Các dung môi, hóa chất, các tá dược, chất chuẩn rutin*: đạt tiêu chuẩn DĐVN 3 hoặc BP 93. *Opadry 01-S-73354* : TC nhà sản xuất.

- *Thiết bị:*

- Tủ sấy chân không
- Máy dập viên Korsch (Đức)
- Nồi bao viên (Nhật)
- Máy bao phim FC- 50 (Việt Nam)
- Máy đo độ hòa tan LOGAN (Mỹ), thiết bị kiểu cánh khuấy
- Máy đo mật độ vết CAMAG TLC Scanner 3 (Thụy Sĩ)
- Cân đo độ ẩm Precisa HA 60 (Thụy Sĩ)
- Máy thử độ rã LOGAN (Mỹ)

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương pháp bào chế viên nén

Phương pháp dập thẳng: Viên bào chế từ cao M2, gọi là viên M2 hay viên Famlergic. Công thức cơ bản cho một viên nén M2 được xây dựng như sau:

Cao khô M2 * -- 240mg và Tá dược -- 30mg

(*Cao khô M2 gồm: Cao khô kim ngân 70mg ≈ 830 mg dược liệu, cao khô lá khế 72 mg ≈ 830 mg dược liệu, cao khô thổ phục linh 68 mg ≈ 830 mg dược liệu, cao khô mã đề 30 mg ≈ 415 mg dược liệu).

2.2. Xác định độ hòa tan của flavonoid từ viên nén

Bằng trắc nghiệm hòa tan theo nguyên tắc thử độ hoà tan Dược điển Việt Nam 3 với các điều kiện sau:

+ Máy thử độ hòa tan Logan (Mỹ), thiết bị kiểu cánh khuấy.

+ Tốc độ khuấy: 100 vòng/phút

+ Nhiệt độ môi trường hòa tan: $37^0 \pm 0,1^0C$

+ Môi trường hòa tan: 1000ml dung dịch đệm phosphat pH 6,8

2.3. Định lượng flavonoid hòa tan

Trong môi trường hòa tan bằng máy đo mật độ vết CAMAG TLC- Scanner 3.

2.4. Xây dựng công thức tối ưu cho viên nén

+ Sử dụng phầm mềm Modde 5 để thiết kế thí nghiệm và phân tích kết quả với thông số độc lập là tỷ lệ các tá dược được dùng và thông số phụ thuộc là tỷ lệ % flavonoid hòa tan từ viên.

+ Tìm công thức tối ưu dựa trên mạng thần kinh nhân tạo (dùng phần mềm Optim) với thông số đầu ra là phần trăm giải phóng hoạt chất flavonoid sau khoảng thời gian nhất định.

2.5. Phương pháp bao màng mỏng

* Viên nén được bao cách ly bằng loại Opadry 02- S- 5147 (loại chống ẩm, không màu). Sau đó viên được phun một lớp phim màu đều trên mặt viên bằng Opadry 01-S-73354.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Xây dựng công thức viên nén

Công thức cho 1.000viên (Đơn vị: g)

Bảng 1. **Khảo sát, xây dựng công thức bào chế**

Công thức Thành phần	1	2	3	4	5	6	7
Cao M2 (độ ẩm < 5%)	240	240	240	240	240	240	240
Tinh bột	7,2	7,2	7,2	7,2		8,5	
Calci carbonat					7,2		7,2
Avicel		6		6			6
NaCMC	4						
Na.starch glycolat			6		6	8	
Talc	16,8	16,8	16,8		16,8	8	16,8

Aerosil	2					5,2	
Mg. stearat				16,8			
Na.lauryl sulfat						0,3	

Ở tất cả các công thức, sau khi viên dập xong, được tiến hành kiểm nghiệm một số chỉ tiêu chung của viên nén như hình thức, giảm khối lượng do sấy khô, khối lượng trung bình viên, kết quả thu được gần tương tự nhau, tuy có sự khác nhau đôi chút về độ rã.

II. NGHIÊN CỨU SINH KHẢ DỤNG *IN VITRO*

Trên cơ sở các viên nén có tương đương bào chế đã xây dựng ở trên, chúng tôi xây dựng phương pháp đánh giá độ hòa tan một trong những thành phần có hoạt tính sinh học của viên M2 để lựa chọn công thức bào chế tối ưu.

2.1. Lựa chọn đối tượng khảo sát

Trên cơ sở các phép thử định tính và thăm dò định lượng các chế phẩm nghiên cứu nhận thấy trong số các hoạt chất chính như flavonoid, saponin, irridoid glycosid... của các vị thuốc có trong thành phần viên M2 (hoặc cao) thì flavonoid chiếm đa số, phần flavonoid này chủ yếu là của kim ngân hoa, nên trong các thử nghiệm định hướng nghiên cứu nhóm chất này, một thành phần có thể xác định và so sánh định lượng bằng kỹ thuật đo mật độ vết trên máy Camag-Scanner 3.

2.2. Cách tiến hành

- Chuẩn bị mẫu đối chiếu: Dung dịch rutin trong methanol, có nồng độ 1 µg/µl.

- Chuẩn bị mẫu thử:

+ Dịch chiết phân đoạn với ethylacetat và butanol của viên M2:

Hòa 0,56 g bột viên M2 đã nghiền mịn (tương đương với 0,5g cao M2) trong 5 ml nước, lắc lần lượt với 20 ml ethylacetat, sau đó lắc tiếp với 20 ml butanol, thời gian 30 phút. Gạn lấy riêng từng phần dịch chiết ethylacetat (ETAC) và butanol (BuOH) và cô đến cạn, hòa cắn thu được trong 10 ml methanol. Dung dịch này được dùng để chấm trên lớp mỏng.

+ Các mẫu thử khác là các dịch chiết phân đoạn của ETAC hoặc BuOH với các dược liệu: Tiến hành cũng như trên, nhưng thay 0,56 g bột viên M2 bằng số lượng các bột dược liệu tương ứng như kim ngân hoa, thổ phục linh, lá khế mỗi

loại lấy 6 g bột dược liệu để chiết, số lượng này tương đương với số lượng dược liệu trong 0,56 g bột viên M2. Hệ dung môi khai triển: hệ *n*-butanol : acid acetic: nước (10 : 1 : 1). Thuốc thử hiện màu: dd. Fe_3Cl 5%. Lượng chấm: 6µl.

- Triển khai SKLM: Trên bản mỏng silicagel G Merck đã được hoạt hoá ở 100^0-105^0C trong một giờ, chấm 9 vết gồm 8 mẫu thử, 1 mẫu đối chiếu rutin. Sau khi bản mỏng đã được khai triển cao khoảng 8- 10cm, lấy kính ra, để bay hơi hết dung môi. Sau khi phun thuốc thử sắt III clorid 5%. Đo mật độ hấp thụ của vết ở bước sóng 650 nm.

- *Nhận xét:* Sắc ký đồ cho thấy thành phần flavonoid được phát hiện trong viên M2 chủ yếu là của kim ngân hoa.

2.3. Đo mật độ hấp thụ của thành phần flavonoid trong viên M2 trên máy Camag-TLC-Scanner 3

- *Chuẩn bị mẫu*: Hòa 0,56g bột viên M2 (tương đương với 0,5 g cao M2) trong 5 ml nước, lắc với 20 ml ethylacetat, thời gian 30 phút. Gạn lấy phần dịch chiết ethylacetat và cô đến cạn. Hòa cắn thu được trong 10 ml methanol. Dung dịch này dược dùng để chấm trên lớp mỏng, lượng chấm 6 µl (tương đương với 300 µg cao).

- *Hệ dung môi khai triển, thuốc thử hiện màu, chế độ đo*:

Tương tự như trên.

Bảng 2. **Kết quả đo mật độ hấp thụ các vết của viên M2**

Vết	Giá trị Rf	Mật độ hấp thụ vết (AU) tính theo chiều cao của pic		Mật độ hấp thụ vết (AU) tính theo diện tích của pic	
		AU	% AU so với tổng số	AU	% AU so với tổng số
1	0,75	236,6	53,46	13836,1	57,54
2	0,54	68,1	15,39	3823,7	15,90
3	0,39	137,9	31,16	6387,9	26,56

Nhận xét

Vết 1, Rf = 0,75, có mật độ hấp thụ lớn nhất, chiếm trên 57% so với tổng số (được gọi *là flavonoid K1*) và thành phần này được lựa chọn để khảo sát độ hòa tan.

III. KHẢO SÁT VÀ HÒA TAN FLAVONOID K1

3.1. Nguyên tắc

+ Thử nghiệm trong cùng một điều kiện khảo sát: Chấm cùng một lượng mẫu thử như nhau, trên cùng một lớp mỏng, triển khai cùng hệ dung môi, phun cùng loại và cùng lượng thuốc thử hiện màu.

+ Để đơn giản và thuận tiện cho việc so sánh và đánh giá kết quả thí nghiệm, chúng tôi tiến hành so sánh mật độ hấp thụ vết giữa các mẫu thử với nhau, căn cứ trên mật độ hấp thụ của 1 thành phần chính trên sắc ký đồ (flavonoid K1: vết 1, Rf = 0,75, có mật độ hấp thụ chiếm trên 57% so với tổng số).

+ Để kết quả được đánh giá một cách có hệ thống và có mối liên hệ giữa các lần thí nghiệm độc lập với nhau, chúng tôi tiến hành đo mật độ hấp thụ vết của các mẫu thử và quy ước biểu thị các kết quả đó theo lượng µg rutin tương ứng. Lựa chọn rutin làm chất quy chiếu vì:

- Rutin là một chất đại diện cho nhóm flavonol thuộc nhóm flavonoid.

- Là một đơn chất có tính ổn định, nên đảm bảo kết quả có độ lặp lại ở các lần thí nghiệm khác nhau.

- Có cùng màu với mẫu thử: Trên sắc ký đồ, sau khi phun thuốc thử $FeCl_3$ vết rutin thể hiện màu xanh, tương đương với màu của mẫu thử.

3.2. Phương pháp tiến hành

Đo mật độ vết trên SKLM bằng máy Camag- TLC Scanner 3 kết hợp với phần mềm Wincat để đo và xử lý số liệu.

a/Pha dung dịch đối chiếu rutin

Cân chính xác 0,1g rutin chuẩn đã sấy khô (trong chân không) tới khối lượng không đổi, cho vào một bình định mức 100ml. Hòa tan trong 70ml methanol (TT) bằng cách làm ấm trên cách thủy. Để nguội, thêm methanol vừa đủ 100ml, lắc kỹ (dd. có nồng độ 1mg rutin/ml).

b/ Xây dựng đường chuẩn

- Có mối tương quan tuyến tính mật độ hấp thụ vết và hàm lượng của rutin đối chiếu. Phương trình hồi quy:

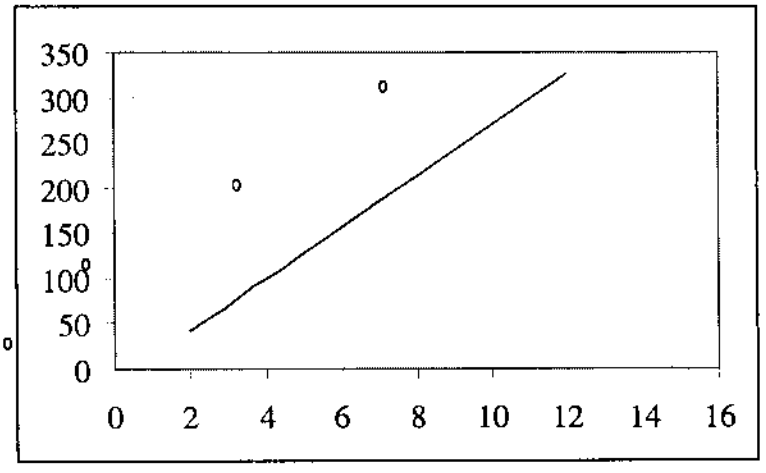
$$y = 28,28 x - 14,07$$

trong đó: y: mật độ hấp thụ vết (AU)

$$R = 0,9926$$

x: hàm lượng (ag) rutin đối chiếu.

- Mật độ hấp thụ vết (AU) đo dưới bước sóng 650 nm của rutin đối chiếu phụ thuộc tuyến tính trong khoảng từ 2 -12 µg/µl.



Hình 1. Đường chuẩn của rutin trong methanol

c/ Kết quả xác định mật độ hấp thụ vết (AU) của flavonoid K1 trong viên M2

Để xác định mật độ hấp thụ vết (AU) flavonoid K1 trong viên, chúng tôi tiến hành chạy SKLM viên nén công thức 5 (mẫu viên được chọn ngẫu nhiên trong tổng số 7 mẫu viên được bào chế). Chạy SKLM 6 lần, mỗi lần chạy 1 bản mỏng chấm 4 vết.

* Chuẩn bị mẫu thử: chọn ngẫu nhiên 5 viên nén, nghiền mịn, thêm 50ml nước cất, đun cách thủy cho tan hoàn toàn. Thêm 6ml acid acetic băng, cho vào bình gạn, thêm 25ml ethyl acetat, lắc trên máy 30 phút, tốc độ 240 vòng/phút, làm như vậy 3 lần, gộp dịch chiết acetat của 3 lần, cho vào bát sứ, cô dịch chiết trên cách thủy. Cắn hoà tan trong 20ml methanol để chấm sắc ký

* Chuẩn bị mẫu đối chiếu: Pha dung dịch rutin có nồng độ 1àg / 1àl (chuẩn bị như trong xây dựng đường chuẩn rutin).

* Tiến hành:

+ Hệ dung môi khai triển: *n*-butanol: acid acetic: nước (10:1:1)

+ Thuốc thử hiện màu: Dung dịch sắt (III) clorid 5% trong ethanol 96%

+ Lượng chấm:

- Mẫu đối chiếu: Chấm 4 vết, gồm 2, 4, 8, 12 µl dd. rutin (tương ứng với 2, 4, 8, 12 µg rutin).

- Mẫu thử: chấm 4 vết, mỗi vết 6 µl.

* Kết quả: Trên bản mỏng tách rõ được 3 chất tương ứng với flavonoid K1, có Rf = 0,75; flavonoid K2, có Rf = 0,54; flavonoid K3, có Rf=0,39, trong đó *flavonoid K1, có Rf=0,75* được chọn làm chất để định lượng. Kết quả đo được trình bày trong bảng 3.

***Bảng 3.* Kết quả xác định hàm lượng flavonoid (trong 6 µl của 5 viên)**

Lần TN	Flavonoid K1 trong 6 µl (Rf=0,75)	
	Mật độ hấp thụ vết	Hàm lượng (µg)
1	265,74	9,9
2	266,54	9,9
3	267,38	10,0
4	265,30	9,9
5	268,25	10,0
6	266,50	9,9
Trung bình		**9,9±0,05**

(P = 0,95; t_{α}= 2,57; n = 6)

Từ kết quả định lượng trên có thể tính được hàm lượng flavonoid K1 trong 1 viên theo công thức:

$$X\ (mg) = (M \times 20) : (V \times 5)$$

trong đó :

X - hàm lượng flavonoid K1 trong 1viên;

M - lượng flavonoid K1 của mẫu thử đo được tính theo rutin (μg);

V - lượng chấm mẫu thử (μl).

Kết quả hàm lượng flavonoid K1(có Rf=0,75) trong 1 viên là 6,6 mg, chiếm 2,4% .

3.3. Xác định tốc độ giải phóng hoạt chất của các mẫu viên nghiên cứu

Với mục đích chọn ra viên có tốc độ và mức độ hòa tan một trong những thành phần có hoạt tính sinh học cao là flavonoid K1, chúng tôi tiến hành thăm dò xác định độ hòa tan flavonoid của 7 công thức viên đã bào chế:

- Cách tiến hành: Cho 5 viên nén M2 vào một bình chứa 1.000 ml dung dịch đệm, (tiến hành đồng thời 6 bình), nhiệt độ môi trường hòa tan $37^0 \pm 0,1^0$C, tốc độ khuấy 100 vòng/phút.

Sau từng khoảng thời gian 30 phút, 45 phút, hút chính xác 50ml dung dịch để tiến hành xác định hàm lượng flavonoid K1.

Phương pháp xác định hàm lượng flavonoid K1 tương tự như mục 2, chỉ khác cắn ethyl acetat được hòa tan trong 1ml methanol để chấm sắc ký.

Kết quả được thể hiện trong bảng 4 (các số liệu lấy kết quả trung bình của 6 lần thử).

Bảng 4. **Lượng flavonoid K1 giải phóng theo thời gian**

Công thức viên	Lượng flavonoid K1 giai phóng sau 30 phút (%)	Lượng flavonoid K1 giải phóng sau 45 phút (%)
Công thức 1	74,2	99,2
Công thức 2	84,8	100
Công thức 3	74,2	99,3
Công thức 4	78,8	99,1
Công thức 5	71,2	99,5
Công thức 6	45,5	69,7
Công thức 7	74,2	99,8

Nhận xét

Qua bảng trên thấy lượng flavonoid K1 giải phóng của các mẫu (trừ công thức 6) gần như nhau, và hầu như được giải phóng hết sau 45 phút. Vì vậy, để có thể so sánh chọn công thức bào chế tối ưu, chúng tôi lấy kết quả đo độ hòa tan flavonoid K1 sau 30 phút để khảo sát.

3.4. Tối ưu hóa công thức bào chế viên nén

Để khảo sát ảnh hưởng của tá dược đến phần trăm giải phóng dược chất từ viên nén, các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp thiết kế hợp tử tại tâm với các biến độc lập là: Avicel, talc, tinh bột sắn; biến phụ thuộc là phần trăm giải phóng hoạt chất sau 30 phút.

Các mức và khoảng biến thiên của các biến độc lập được trình bày ở bảng 5.

***Bảng 5.* Các mức của biến độc lập**

Thành phần tá dược	Ký hiệu	Mức trên	Mức dưới	Mức cơ sở
Avicel (mg)	X_1	10	5	7,5
Talc (mg)	X_2	18	12	15
Tinh bột sắn (mg)	X_3	10	5	7,5

(*các thành phần được tính cho một viên nén*).

Thông số tối ưu hóa là phần trăm giải phóng hoạt chất từ viên nén sau 30 phút (Y). Với sự trợ giúp của phần mềm Modde 5.0, các thí nghiệm được bố trí như bảng 6.

***Bảng 6.* Các công thức thực nghiệm**

Công thức	X_1	X_2	X_3
Công thức 8	5,01	12,99	12
Công thức 9	9,99	12,99	7,02
Công thức 10	5,01	18	6,99
Công thức 11	9,99	18	2,01
Công thức 12	5,01	15,495	9,495

Công thức 13	9,99	15,495	4,515
Công thức 14	7,5	12,99	9,51
Công thức 15	7,5	18	4,5
Công thức 16	7,5	15,495	7,005
Công thức 17	7,5	15,495	7,005
Công thức 18	7,5	15,495	7,005

Mỗi mẫu được bào chế với số lượng khoảng 2080 viên (tương đương với 500g cao M2). Sau đó tiến hành đo độ hoà tan flavonoid K1 sau 30 phút, xác định hàm lượng flavonoid K1 bằng đo mật độ hấp thụ vết trên SKLM đối chiếu với rutin

Kết quả được trình bày trong bảng 7.

Bảng 7. **Lượng flavonoid K1 giải phóng sau 30 phút (trong 6µl, chất quy chiếu rutin)**

Công thức	Hàm lượng flavonoid K1 (µg)	Tỷ lệ flavonoid K1 giải phóng (%)
Công thức 8	6,6	66,6
Công thức 9	7,8	78,6
Công thức 10	7,6	76,9
Công thức 11	8,9	**89,7**
Công thức 12	8,6	87,0
Công thức 13	7,9	80,0
Công thức 14	8,4	84,9
Công thức 15	8,2	82,5
Công thức 16	7,2	72,9
Công thức 17	7,3	73,7
Công thức 18	7,2	72,7

** Phân tích kết quả dựa trên mạng thần kinh nhân tạo*

Phân tích kết quả với sự trợ giúp của phần mềm ANNA. Chương trình có 2 đơn vị xử lý thông tin vào cho 2 biến độc lập là avicel, talc; 1 đơn vị xử lý thông tin ra cho biết % hoạt chất giải phóng sau 30 phút. Số đơn vị ẩn: 3 đơn vị do máy tự chọn. Số lần luyện: 1.000 lần.

Kết quả đã chọn được công thức tối ưu (Công thức 19), dự kiến % hoạt chất giải phóng là 89,7%: X_1 = 10,2 mg; X_2 = 15,0 mg; X_3 = 4,8 mg

***Công thức 19* cho 1 viên :** Cao khô M2 : 240 mg, Tinh bột : 4,8 mg

Avicel : 10,2 mg, Talc : 15,0 mg

Để kiểm tra đã tiến hành bào chế viên nén theo công thức 19 cho kết quả % flavonoid K1 giải phóng sau 30 phút là 89,5 ± 1,7%. Chúng tôi đã tiến hành bào chế theo công thức này ở quy mô pilot, 3 mẻ x 10 kg viên, để xây dựng quy trình bào chế.

Các viên nén sau dập, được bao cách ly bằng Opadry 02-S-5147 màu trắng, chống ẩm, sau đó viên được phun một lớp phim màu .

Các viên bao phim được tiến hành đo phần trăm flavonoid K1 giải phóng sau 30 phút cho kết quả 89,1±1,5% (như vậy màng bao mỏng, thân nước không ảnh hưởng đáng kể đến tốc độ flavonoid K1 giải phóng).

IV. BÀN LUẬN

1. Về nghiên cứu bào chế viên nén

Phương pháp xát hạt ướt không thể áp dụng được trong nghiên cứu này vì đặc điểm cao khô là rất dễ hút ẩm, tạo thành khối đặc, bết rất khó phân tán thành hạt nhỏ để dập viên. Vì vậy chúng tôi lựa chọn kỹ thuật bào chế là phương pháp dập thẳng, vì tỷ lệ tá dược chiếm không cao nên việc lựa chọn tá dược rất cân nhắc, làm sao cho viên đảm bảo độ chắc, không dính chày nhưng đồng thời cũng cần giải phóng hoạt chất tốt, vì vậy trong công thức bào chế chúng tôi chú ý phối hợp các tá dược rã.

Đề tài đã xây dựng 7 công thức bào chế, có sự khác nhau về thành phần và tỉ lệ các tá dược dính, rã, trơn. Sau khi viên dập xong ở mỗi một công thức, được kiểm nghiệm bán thành phẩm theo tiêu chuẩn chung trong chuyên luận viên nén về hình thức, độ đồng đều khối lượng, độ rã, giảm khối lượng do làm khô... Kết quả sơ bộ nhận thấy các mẫu viên nghiên cứu đều tương đương bào chế. Mỗi

công thức tiến hành bào chế thử với cỡ mẫu khoảng 4166 viên (tương đương với 1000 g cao khô).

2. Về nghiên cứu sinh khả dụng

Xây dựng phương pháp xác định độ hòa tan thành phần có tác dụng sinh học (flavonoid K1) trong viên M2.

Do điều kiện chưa nghiên cứu đầy đủ các thành phần có tác dụng sinh học, cũng như tìm sự liên quan giữa tác dụng và các thành phần hoạt chất trong bài thuốc, song để có thể xây dựng phương pháp xác định độ hòa tan, chúng tôi chọn đối tượng phân tích là flavonoid, là hoạt chất chính và chiếm đa số. Qua tài liệu và khảo sát sơ bộ chúng tôi nhận thấy phần flavonoid này ở trong viên chủ yếu là của kim ngân hoa [10], vì vậy chúng tôi nghiên cứu tập trung xác định hàm lượng một trong 3 flavonoid có hàm lượng cao hơn cả của kim ngân hoa (được gọi là flavonoid K1). Thành phần này có thể xác định và so sánh về mặt định lượng bằng kỹ thuật đo mật độ vết trên máy Camag- TLC- Scanner 3.

Do chưa tinh chế và xác định được cấu trúc hóa học của hợp chất flavonoid K1 nên chưa có một chất chuẩn để so sánh. Để kết quả được đánh giá một cách có hệ thống và có mối liên hệ giữa các lần thí nghiệm độc lập với nhau, tiến hành đo mật độ hấp thụ vết của các mẫu thử và quy ước biểu thị các kết quả đó theo lượng µg rutin tương ứng.

Đề tài cũng ứng dụng phương pháp SKLM kết hợp với phần mềm Wincat đo trực tiếp mật độ quang của vết, đây là điểm mới khác với các phương pháp đo độ hấp thụ tử ngoại trước đây (chủ yếu đo trong dung dịch).

Tương quan giữa hàm lượng rutin chuẩn và mật độ quang là tương quan tuyến tính trong khoảng nồng độ từ 2 - 12 µg, để xác định tính chính xác của phương pháp chúng tôi nghiên cứu độ lặp lại của phương pháp.

Kết quả cho biết khi chiết bằng ethyl acetat, chạy hệ *n*-butanol: acid acetic: nước (7:1:1) đã tách tốt được 3 chất của hoa kim ngân không lẫn với các flavonoid trong lá khế và thổ phục linh trong đó chất có Rf=0,75 có hàm lượng lớn nhất (chiếm tỷ lệ 2,4% so với trọng lượng viên).

3. Về kết quả nghiên cứu tốc độ giải phóng hoạt chất

Với mục đích bào chế viên nén có tốc độ hòa tan hoạt chất tốt nhất, chúng tôi đã nghiên cứu thử thăm dò tốc độ hòa tan flavonoid K1 sau các khoảng thời gian nhất định: 30 phút, 45 phút và chọn độ hòa tan sau 30 phút để so sánh.

Nghiên cứu khảo sát tốc độ giải phóng hoạt chất của 7 mẫu công thức viên, nhằm xác định những tá dược ảnh hưởng chính đến độ hòa tan hoạt chất trong viên.

Kết quả nghiên cứu cho thấy : sau 30 phút, các công thức có tốc độ giải phóng hoạt chất khác nhau. Như vậy với cùng hoạt chất là cao M2, vai trò của các tá dược khác nhau đã ảnh hưởng đến tốc độ giải phóng hoạt chất: Trong công thức 4 sự có mặt của magnesi stearat đã làm giảm độ hòa tan hoạt chất của viên so với công thức 2 dùng bột talc (công thức 4 chỉ khác công thức 2 loại tá dược trơn mà tốc độ giải phóng hoạt chất kém hơn công thức 2 đến 10% ở phút thứ 30). Công thức 6, trong thành phần tá dược, ngoài tá dược rã còn có chất diện hoạt (natri laurylsulfate), viên có độ rã nhanh nhất (7 phút), song kết quả đo độ hòa tan lại ngược lại. Điều này có thể giải thích lượng chất diện hoạt cho vào quá ít, chưa thể hiện được vai trò của mình, kết quả này cũng nói lên mặc dù độ rã là giai đoạn khởi đầu quan trọng cho quá trình sinh dược học của viên nén sau khi uống, nhưng có viên rã nhanh chưa chắc dược chất đã được hòa tan và hấp thu nhanh [5]. Công thức 6, viên có độ rã 7 phút mà độ hòa tan của hoạt chất lại thấp nhất (45% sau 30 phút). Công thức 2, có độ rã 14 phút, nhưng độ hòa tan của hoạt chất lại cao hơn cả (84,8 % sau 30 phút). Qua đó chúng ta nhận thấy không phải chỉ là thời gian rã, mà chính mức độ rã mới là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tốc độ hòa tan dược chất, vì mức độ rã liên quan đến diện tích bề mặt tiếp xúc của dược chất với môi trường hòa tan.

Kết quả nghiên cứu cho thấy : sau 30 phút, viên của công thức 2 có tốc độ giải phóng hoạt chất cao nhất (84,8%), như vậy dùng tinh bột sắn phối hợp với avicel làm tá dược rã đã làm tăng độ hòa tan dược chất.

4. Về tối ưu hóa công thức bào chế

Để đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ các tá dược đến tốc độ giải phóng dược chất từ viên, chúng tôi sử dụng phương pháp dựa trên mạng thần kinh nhân tạo, có tổng các biến độc lập không đổi. Phương pháp này thích hợp cho khảo sát công thức viên nén vì với khối lượng viên không đổi, nếu thay đổi lượng một thành phần tá dược sẽ làm thay đổi lượng của các tá dược khác. Với sự trợ giúp của phần mềm ANNA phân tích kết quả để lựa chọn công thức tối ưu dựa trên mạng thần kinh nhân tạo là thích hợp nhất (R=0,9926). Kết quả nghiên cứu khảo sát lại tốc độ giải phóng hoạt chất flavonoid K1 của công thức tối ưu (công thức 19) cũng chỉ ra rằng kết quả hòa tan thực tế gần với kết quả tính toán theo mô hình.

Hiện nay nghiên cứu sinh khả dụng, chọn lựa công thức tối ưu khi nghiên cứu bào chế là một trong nghiên cứu thường quy, song đối với viên bào chế từ cao dược liệu nhiều thành phần, thì việc tách, tinh chế, xác định cấu trúc chúng cũng không dễ dàng. Điều này đồng nghĩa với việc khó khăn không dễ vượt để có thể nghiên cứu sinh khả dụng của thuốc bào chế từ dược liệu. Bước đầu để có thể lựa chọn công thức tối ưu khi nghiên cứu bào chế, chúng tôi đề xuất phương pháp xác định tốc độ giải phóng một trong những thành phần có tác dụng sinh học như đã trình bày ở trên. Hy vọng rằng, trên cơ sở nghiên cứu của chúng tôi, những nghiên cứu sau này sẽ đi sâu và hoàn thiện thêm về mặt phương pháp cũng như lý luận.

5. Về phương pháp bao màng mỏng

Màng bao HPMC là polyme rất dễ tan nên không ảnh hưởng đến quá trình giải phóng dược chất. Sau khi bao viên, kết quả thử hòa tan cũng cho thấy màng bao không ảnh hưởng tới độ hòa tan của hoạt chất.

V. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu dạng bào chế thích hợp là viên bao film, trên cơ sở xây dựng phương pháp xác định hàm lượng hoạt chất flavonoid K1(là flavonoid chủ yếu trong viên) bằng phương pháp SKLM kết hợp với phần mềm Wincat.

Đã nghiên cứu sinh khả dụng bằng cách xây dựng phương pháp đánh giá độ hòa tan một trong thành phần có hoạt tính sinh học của viên bào chế, phân tích ảnh hưởng của tá dược đến tốc độ giải phóng hoạt chất từ viên nén và *xác định công thức tối ưu* dựa trên mạng thần kinh nhân tạo .

Đã xây dựng được quy trình sản xuất ổn định ở quy mô pilot.

Đã bao màng film viên nén, giúp che giấu được mùi vị khó chịu của cao dược liệu, hình thức đẹp, dễ uống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Nguyễn Năng An (1998), Chuyên đề dị ứng học, NXB. Y học.
2. Đào Văn Chinh, Dị ứng thuốc. Bách khoa thư bệnh học, Tập 1, trang 130.
3. Dược điển Việt Nam in lần thứ 3 (2000), NXB. Y học, Hà Nội.
4. Đỗ Tất Lợi (2001), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Y học Hà Nội.
5. Võ Xuân Minh (1996), Sinh dược bào chế các dạng thuốc thể rắn để uống, tài liệu sau đại học-chuyên đề kỹ thuật bào chế và sinh dược học, Trường đại học Dược Hà Nội.
6. Viện Dược liệu (1993), Cây thuốc Việt Nam, NXB.Khoa học và Kỹ thuật.

Tiếng Anh

7. D.Zupancic Bozic, F.Frecer, F.Kozjek (1997), "Optimization of diclofenac sodium dissolution from sustained release formulation using an artificial neural network", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 5, p.163-169
8. Jinichi Takahara, Kozo Takayama, Tsuneji Nagai (1997), "Multi-objective simultaneous optimization technique based on an artificial neural network in sustained release formulation", Journal of controlled Release, 49, p. 11-20
9. Il-Moo chang et al., (1996), Natural products research in Korea, Seoul National University press, P. 369-370.
10. Tae L et al., (2003), "Anti - inflamatory effect of Lonicera japonica in proteinase-activated receptor 2-mediated paw edema", Clin Chim Acta, 330(1-2), p.165-71.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DƯỢC LÝ CỦA THUỐC ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN MẠN CUGAMA

(Đề tài nhánh KC10.07.04)

Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Kim Phượng, Trịnh Thị Điệp, Lê Kim Loan, Đinh Thị Mai Hương, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Thị Nụ và ctv. - Viện Dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thuốc điều trị viêm gan mạn (VGM) do siêu vi B phải có các tác dụng sau: Bảo vệ tế bào gan, giảm men gan và bilirubin, chống viêm gan, phục hồi chức năng gan và diệt virus viêm gan (thông qua tác dụng tăng cường miễn dịch, kích thích sản xuất kháng thể chống lại kháng nguyên HBsAg hoặc tác dụng ức chế ADN polymerase của virus viêm gan B (VGB), ức chế sự nhân lên của virus VGB. Trên thực tế chưa có thuốc điều trị VGM kết hợp được cả hai tác dụng bảo vệ gan và diệt virus VGB. Các thuốc tân dược điều trị VGM do siêu vi B thường có nhiều tác dụng độc hại, làm suy giảm sức đề kháng của người bệnh và giá rất cao. Vì vậy, việc nghiên cứu tìm kiếm các thuốc nguồn gốc thảo mộc vẫn là trọng tâm nghiên cứu các thuốc điều trị VGM do siêu vi B ở Việt Nam và nhiều nước trên thế giới.

Thuốc cugama được nghiên cứu dựa trên kết quả sàng lọc tìm vị thuốc có tác dụng điều trị VGM của Viện Dược liệu. Thuốc được bào chế từ hỗn hợp sylimarin chiết xuất từ quả cúc gai [*Sylibum marianum* (L.) Gaertn.] di thực ở Việt Nam và cao tinh chế từ mã đề (*Plantago asiatica* L.) - một cây thuốc đã được chứng minh có tác dụng ức chế sự nhân lên của ADN virus VGB [3, 4].

Thuốc cugama đã được nghiên cứu toàn diện từ chiết xuất, dược lý, độc tính, dạng bào chế đến các tiêu chuẩn dược liệu, bán thành phẩm và thuốc. Dưới đây là kết quả nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc cugama dùng làm thuốc điều trị VGM do siêu vi B.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Hỗn hợp flavonolignan (sylimarin) chiết xuất từ quả cúc gai [*Sylibum marianum* (L.) Gaertn.] thu hái tại Sa Pa và Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

- Cao tinh chế chiết xuất từ phần trên mặt đất của cây mã đề (*Plantago asiatica* L.) thu hái tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

Hai sản phẩm sylimarin và cao tinh chế mã đề được phối hợp theo tỷ lệ 2: 1 (khối lượng/khối lượng) trong các nghiên cứu về dược lý, độc tính và công thức bào chế thuốc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan bằng CCl_4

Thí nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng khoẻ mạnh (20 - 22g/con do Viện Vệ sinh dịch tễ cung cấp) không phân biệt đực cái, theo phương pháp của Turner có cải tiến [12]. Kít định lượng GPT, bilirubin, *L*-alanin do Hãng Human sản xuất. Bột thuốc cugama được nghiền trong cối sứ với nước cất đến độ đậm đặc thích hợp và cho uống với liều tương đương 15 g dược liệu.

* *Tiến hành:* Chuột thí nghiệm được chia làm 3 lô:

+ Lô chuột đối chứng sinh lý: Cho uống nước cất và tiêm dầu ôliu.

+ Lô chuột đối chứng bệnh lý: Tiêm 0,1 ml dung dịch CCl_4 trong dầu ô liu (tỷ lệ 1 : 9) /100 g chuột. Tiêm vào các ngày 1, 3, 5.

+ Lô thử thuốc: Uống thuốc từ ngày 1→8 và tiêm CCl_4 như lô gây bệnh. Đến ngày thứ 8, sau khi cho uống thuốc 1,5 giờ, chuột được lấy máu để tách huyết thanh và tiến hành định lượng GPT và bilirubin.

Men GPT được định lượng bằng phương pháp dùng *L*-alanin. Bilirubin được định lượng bằng phương pháp so màu. Thực hiện trên máy định lượng sinh hoá bán tự động Scout.

Kết quả thí nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình cộng trừ sai số chuẩn (M ± SE) và đánh giá thống kê giữa các lô bằng nghiệm pháp "t" của Student.

2.2.2. Nghiên cứu tác dụng ức chế xơ gan và chống peroxy hoá trên mô hình gây xơ gan bằng CCl_4 [6]

Mô hình xơ gan theo phương pháp của Maros và cộng sự. Trên động vật thí nghiệm nếu tiêm CCl_4 liều thấp trong ít ngày sẽ dẫn đến tổn thương gan. Nếu tiêm CCl_4 dài ngày thì tổn thương gan tiến triển, dẫn đến xơ gan. Xơ gan là kết quả của qúa trình tăng tổng hợp và tích tụ collagen ở gan.

Thí nghiệm được kéo dài 12 tuần trên chuột cống trắng khoẻ mạnh, trọng lượng 90 - 100 g/con do Học viện Quân y cung cấp.

* Chuột được chia làm 3 lô:

+ Lô 1: Chứng sinh lý – chuột không gây xơ.

+ Lô 2: Chứng gây bệnh – gây xơ. Tiêm dưới da dung dịch CCl_4 trong dầu ô liu, 2 lần một tuần, trong 12 tuần. Nồng độ CCl_4 và liều dùng tuỳ theo thời gian:

- Tuần đầu: Tỷ lệ CCl_4 : dầu ô liu là 4 : 1, liều tiêm 0,20 ml/lần/100 g chuột.
- 4 tuần sau: Tỷ lệ CCl_4 : dầu ô liu là 4 : 2, liều tiêm 0,30 ml/lần/100 g chuột.
- 4 tuần cuối: Tỷ lệ CCl_4 : dầu ô liu là 3 : 2, liều tiêm 0,40 ml/lần/100 g chuột.

+ Lô 3: Lô gây xơ + thử thuốc: Cách gây xơ như lô 2, nhưng sau 4 tuần cho chuột uống thuốc hàng ngày với liều tương đương 15 gam dược liệu khô/kg chuột.

Sau 12 tuần: Lấy máu chuột để định lượng men GPT và bilirubin/huyết thanh. Thực hiện trên máy định lượng sinh hoá bán tự động Scout. Lấy gan chuột làm các xét nghiệm sau:

+ Định lượng collagen gan biểu thị cho xơ gan. Tiến hành theo phương pháp Newman-Logan [8]. Nguyên tắc của phương pháp: Thuỷ phân gan để giải phóng ra hydroxyprolin (HP). Cho HP phản ứng với thuốc thử paradimethyl aminobenzaldehyd sẽ sinh ra một chất có màu. Đo quang ở bước sóng 557 nm. So sánh với đồ thị chuẩn HP, từ đó suy ra hàm lượng collagen gan (1mmol HP tương đương 1 mg collagen).

+ Định lượng MDA (malonyl dialdehyd) trong gan là thông số biểu thị cho quá trình peroxy hoá màng tế bào gan. Xác định MDA trong gan bằng cách lấy gan ra, nghiền đồng thể, ly tâm để lấy dịch nổi, rồi cho phản ứng

với acid thiobarbituric tạo phức màu hồng. Đo cường độ màu ở bước sóng 532 nm để xác định hàm lượng MDA trong mẫu thử. Thuốc có tác dụng chống oxy hoá thì lượng MDA hình thành trong gan ít hơn so với lô chứng. Hoạt tính chống oxy hoá được tính theo hàm lượng MDA giảm theo % so với lô chứng (HTCO).

+ Xét nghiệm giải phẫu mô bệnh học gan (đại thể và vi thể) thực hiện bằng phương pháp quan sát trực tiếp bằng mắt thường và bằng cách cắt tiêu bản, nhuộm màu, rồi soi trên kính hiển vi có độ phóng đại cao.

2.2.3. Nghiên cứu tác dụng lợi mật

Tác dụng lợi mật được nghiên cứu trên chuột lang theo phương pháp của Turner R. A [10]. Đã xác định các thông số sau:

- Lưu lượng mật.
- Cắn khô của mật.
- Định lượng bilirubin trong dịch mật.

2.2.4. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp tính

Tác dụng chống viêm cấp tính được tiến hành theo phương pháp gây phù thực nghiệm bằng carragenin. Thí nghiệm được tiến hành trên chuột cống trắng, không phân biệt đực cái, cân nặng 100 – 120 g. Thể tích chân chuột được xác định bằng máy đo biến đổi thể tích của hãng Ugo Basill trước (V_0) và 3 giờ sau khi gây viêm (V_3). Tác nhân gây viêm là dung dịch 1% carragenin/dung dịch NaCl 9‰. Tiêm 0,1 ml dung dịch carragenin vào dưới da gan bàn chân phải sau của chuột. Để đánh giá tác dụng phòng ngừa, cả tác dụng điều trị, thuốc thử được cho uống 3 lần:

+ 1 giờ 30 phút trước khi gây viêm.

+ 30 phút trước khi gây viêm.

+ 30 phút sau khi gây viêm.

Chuột được uống thuốc bằng kim cong đầu tù bơm thẳng vào dạ dày chuột. Tổng liều tương đương 15g dược liệu/kg. So sánh độ phù của bàn chân chuột trước khi gây viêm và 3 giờ sau khi gây viêm.

2.2.5. Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn tính

Áp dụng phương pháp gây u hạt thực nghiệm của Ducrot Julou và cs.

Liều thử tương đương 10g dược liệu/kg/ngày x 5 ngày.

- Amian sấy tiệt trùng 120^0C/2 giờ.
- Dụng cụ mổ vô trùng.
- U hạt được cân bằng cân phân tích có độ chính xác 10^{-4}.
- Chuột cống trắng trưởng thành, cân nặng 110 - 130g được chia làm 3 lô :
  + 1 lô đối chứng.
  + 1 lô tham chiếu uống prednisolon.
  + 1 lô thử thuốc.

Tiến hành thí nghiệm

- Ngày thứ nhất: Gây mê chuột, mổ và cấy viên amian có khối lượng 30mg vào dưới da vùng lưng chuột, khâu vết mổ và rắc thuốc để tiệt trùng.
- Ngày 2, 3 và 4: Lô đối chứng uống nước, các lô thử thuốc cho uống thuốc.
- Ngày thứ 5: Sau khi uống thuốc liều cuối cùng được 5 giờ, giết chuột bằng cloroform, bóc tách khối u và cân khối lượng khối u.

So sánh khối lượng khối u giữa lô chứng và lô thuốc. Nếu thuốc có tác dụng chống viêm thì khối lượng khối u sẽ nhỏ hơn khối lượng khối u của lô chứng.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tác dụng bảo vệ gan, chống oxy hoá và ức chế xơ gan của thuốc cugama

- ***Tác dụng bảo vệ gan***

Kết quả nghiên cứu độc tính cho thấy thuốc cugama có độc tính thấp. Không xác định được LD_{50} của thuốc, chuột uống đến liều tương đương 480 g dược liệu/kg thể trọng chuột nhưng không có chuột chết. Vì vậy, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu tác dụng ức chế collagen và xơ gan của thuốc cugama trên mô hình gây viêm gan mạn và xơ gan bằng CCl_4. Kết quả đánh giá tác dụng của thuốc trên men gan GPT, bilirubin, tác dụng chống oxy hoá và trên hàm lượng collagen được trình bày ở bảng 1. Kết quả cho thấy thuốc cugama có tác dụng giảm men gan GPT, giảm hàm lượng collagen trong gan và tác dụng chống oxy hoá rất tốt. Kết quả có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng bệnh lý.

Bảng 1. **Tác dụng của thuốc cugama trên chuột nhắt trắng bị gây viêm gan mạn bằng CCl_4**

Chỉ tiêu	Lô gây bệnh (1)	Lô thử thuốc (2)	% tăng giảm so với lô (1)	P1,2
GPT (u/*l*)	78,63 ± 5,89 n = 9	53,29 ± 1,67 n = 9	↓ **32,23**	**< 0, 001**
Bilirubin (µmol/*l*)	1,83 ± 0,11	1,66 ± 3,52	↓ **9,29**	< 0,25
HTCO (%)	0,690±0,014	0,499±0,017	↓ **27,69**	**< 0,05**
Colagen (mg/100 g gan tươi)	195,3 ± 15,1	149,9 ± 9,1	↓ **23,25**	**< 0,05**

- ***Tổ chức học tế bào gan***

- Đại thể: Nhìn đại thể các lô thí nghiệm cho thấy:

+ Lô đối chứng sinh lý: Gan mịn, mặt gan nhẵn bóng màu nâu đỏ

+ Lô đối chứng bệnh lý: Toàn bộ gan đều bị xơ, có nhiều hạt nhỏ nổi lên mặt gan, gan to, xốp, mật độ chắc.

+ Lô thử thuốc: Mặt gan rỗ, gan vẫn bị tổn thương nhưng có nhiều con tình trạng gan có được cải thiện hơn, mật độ tương đối mềm, gan to, màu vàng sẫm.

- Vi thể: (PGS.TS. Trần Văn Hợp - Đại học Y Hà Nội đọc kết quả vi thể)

+ Lô chứng sinh lý: Tất cả các mẫu gan đều có cấu trúc bình thường: cấu trúc bè gan nguyên vẹn, khoảng cửa rõ, tế bào gan bình thường.

Chuột số 8: Các bè gan: Tế bào đều không thoái hoá. Khoảng cửa không có xâm nhập viêm, không có tăng sinh liên kết xơ khi nhuộm Van Genson.

Kết luận

Gan bình thường.

Chuột số 9: Tế bào gan không thoái hoá, không hoại tử. Khoảng cửa không có xâm nhập viêm, không có tăng sinh xơ khi nhuộm Van Genson.

Kết luận

Gan bình thường.

+ ***Lô chứng bệnh lý:*** Nhiều chỗ cấu trúc bè gan bị phá vỡ hoàn toàn, tế bào gan bị hoại tử, thoái hoá, giữa các bè gan xuất hiện những vạch xơ, tăng sinh nhiều mạch máu.

Chuột số 1: Tế bào gan thoái hoá mỡ diện rộng lan toả, các hốc mỡ từ nhỏ đến lớn, trong đó có nhiều tế bào gan căng tròn, nhân bị đẩy lệch về một phía. Các đám tế bào còn lại có một số tế bào nhân đông, nhân lớn.

Nhuộm Van Genson: Tăng liên kết nhẹ ở khoảng cửa và khoảng giữa các tiểu thuỳ, chưa tạo thành hình ảnh xơ gan.

Kết luận

Thoái hoá mỡ rất nặng, lan rộng toàn gan (90% số tế bào gan).

- Tăng sinh liên kết xơ nhẹ ở giữa khoảng cửa và tiểu thuỳ.

Chuột số 3: Tỷ lệ tế bào bị tổn thương nặng và tế bào ít hoặc không bị tổn thương cân đối nhau. Tế bào tổn thương chủ yếu là thoái hoá mỡ, hốc mỡ đều và nhỏ hoặc trung bình. Không có tế bào thoái hoá mỡ hốc lớn.

Kết luận

Tế bào gan thoái hoá mỡ mức độ vừa (60% số tế bào gan) tạo thành ổ rải rác toàn gan. Không tăng sinh liên kết xơ.

+ ***Lô thử thuốc cugama:*** Gan vẫn còn bị tổn thương, tuy nhiên mức độ nhẹ hơn so với chứng gây bệnh. Xen kẽ những bè gan bị phá huỷ là những bè gan tương đối nguyên vẹn, xơ cũng có nhưng ít.

Chuột số 22: Tế bào gan có thoái hoá mỡ, hốc mỡ lớn. Số lượng các tế bào thoái hoá mỡ ít, nằm rải rác xen kẽ các tế bào gan bình thường. Hầu hết tế bào gan bình thường. Các khoảng cửa không có xâm nhập viêm và không tăng sinh liên kết xơ khi nhuộm Van Genson.

Kết luận

Thoái hoá mỡ ở một số tế bào gan, còn lại hầu hết bình thường. Không có viêm và tăng sinh liên kết xơ.

Chuột số 23: Có một số tế bào gan thoái hoá mỡ, hốc, tập trung thành ổ nhỏ hoặc rải rác. Một số tế bào toan tính, nhân đông, không có xâm nhập viêm và không tăng sinh liên kết xơ.

Kết luận

Thoái hoá mỡ, hốc ở một số té bào gan tạo ổ nhỏ. Không có hình ảnh xâm nhập viêm và tăng sinh liên kết xơ khi nhuộm Van Genson.

+ Qua đại thể và vi thể thấy thuốc cugama có tác dụng bảo vệ gan, về mặt giải phẫu bệnh học nhận thấy thuốc có tác dụng cải thiện rõ rệt.

- ***Tác dụng trên colagen***

Hàm lượng colagen trong gan biểu thị mức độ xơ gan. Kết quả ở bảng 1 cho thấy thuốc cugama có tác dụng làm giảm 23,25% lượng l trong gan so với lô đối chứng không được điều trị. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả này phù hợp với kết qủa xét nghiệm tổ chức học tế bào gan nêu trên (đại thể và vi thể).

- ***Tác dụng chống oxy hoá***

Kết quả ở bảng 1 cho thấy hàm lượng MDA trong gan chuột được điều trị bằng thuốc cugama giảm 27,69% so với lô đối chứng. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Như vậy, tác dụng bảo vệ tế bào gan của các chế phẩm phối hợp giữa mã đề và cúc gai có thể thông qua tác dụng chống oxy hoá. Cơ chế chống oxy hoá cũng được dùng để giải thích cho tác dụng bảo vệ gan của chế phẩm chiết xuất từ dược liệu. Thuốc có tác dụng bảo vệ gan là nhờ tác dụng bảo vệ màng tế bào, ngăn cản hấp thu chất độc vào tế bào, ức chế quá trình peroxy hoá lipid, bắt giữ gốc tự do, kích thích sinh tổng hợp protein làm phục hồi nhanh chóng hệ enzym trong tế bào, kích thích tái tạo tế bào bị tổn thương. Phối hợp silymarin với các chế phẩm chiết xuất từ mã đề đã không làm giảm tác dụng chống oxy hoá của silymarin. Đây cũng là điểm thuận lợi cho việc tạo ra một thuốc vừa có tác dụng bảo vệ gan (của silymarin) vừa có thể có tác dụng ức chế sự nhân lên của virus VGB (của mã đề). Tuy nhiên, hiện chưa chứng minh tác dụng chống virus VGB của thuốc cugama trên thực nghiệm tiền lâm sàng. Tác dụng này chỉ có thể chứng minh trên lâm sàng.

3.2. Tác dụng lợi mật

Trong điều trị viêm gan hoàng đản, lợi mật là một tác dụng hỗ trợ cho điều trị tiến triển nhanh hơn. Vì vậy thử tác dụng lợi mật là cần thiết đối với thuốc điều trị viêm gan. Kết quả thu được cho thấy lưu lượng mật ở lô dùng thuốc, trước khi bơm thuốc vào tá tràng lưu lượng mật chảy ra trung bình cho 100 g chuột trong 30 phút là 0,27 ± 0,03 ml. Nhưng sau khi dùng thuốc, lưu lượng mật

tăng lên đến 0,37 ± 0,03 ml bằng 137 % so với trước thuốc, sự tăng lượng mật này có ý nghĩa thống kê (P < 0,05) (bảng 2).

Bảng 2. **Tác dụng lợi mật của thuốc cugama**

Lô thí nghiệm	Lưu lượng mật trong 30 phút (ml)		% so với ban đầu	% lô thuốc so với đối chứng	Hàm lượng cắn khô của mật (mg/ml dịch mật)	
	Trước thuốc hoặc NaCl (1)	Sau thuốc hoặc NaCl (2)			Trước thuốc hoặc NaCl (1)	Sau thuốc hoặc NaCl (2)
Đối chứng	0,34 ± 0,03	0,30 ± 0,02	88	100	12,9± 0,6	11,3±0,6
Cugama	0,27 ± 0,03	0,37± 0,03	137	123	11,9±11,7	11,7±0,3

Về hàm lượng cắn khô (mg) trong 1 ml dịch mật sau khi thử thuốc và trước thuốc hàm lượng cắn khô xấp xỉ nhau, sự tăng này không có ý nghĩa thống kê. Điều đó chứng tỏ sau khi dùng thuốc, lưu lượng mật tăng rõ rệt nhưng chất lượng mật biểu hiện bằng hàm lượng cắn khô không thay đổi.

Hàm lượng bilirubin ở lô chứng trước khi bơm NaCl là 11,70 ± 1,02 mmol/l và sau đó là 10,62 ± 1,40 mmol/l, hơi giảm, nhưng không có ý nghĩa thống kê (P > 0,5).

Ở lô thử thuốc, trước khi dùng thuốc cugama, hàm lượng bilirubin là 12,84 ± 1,50 mmol/l, sau khi dùng thuốc là 12,24 mmol/l, như vậy hàm lượng bilirubin ở lô thử thuốc không thay đổi (P > 0,05).

Kết luận

Thuốc cugama có tác dụng lợi mật rõ rệt, trong đó chất lượng mật biểu hiện bằng hàm lượng cắn khô và hàm lượng bilirubin vẫn không thay đổi.

3.3. Tác dụng chống viêm mạn

Tác dụng chống viêm mạn của thuốc cugama được thử trên u hạt thực nghiệm ở chuột cống trắng. Một mẩu sợi amian có trọng lượng 30 mg ± 0,01 được vê tròn và được sấy tiệt trùng trong tử sấy ở nhiệt độ 160^{0}C trong 2 giờ,

được cấy dưới da ở lưng chuột. Phẫu thuật được tiến hành trong điều kiện vô trùng.

Thuốc được cho uống ngay sau khi cấy sợi amian và cho điều trị trong 5 ngày liền với liều của bột thuốc cugama tương đương 15 g và ~ 25 g dược liệu. Chiều ngày thứ 5 giết chuột bằng cloroform, tách bóc các khối u và cân ngay. Khối lượng trung bình của khối u của chuột thử thuốc được so sánh với chuột đối chứng. Tác dụng chống viêm được biểu thị bằng tỷ lệ % giảm khối lượng của khối u. Kết qủa thu được trình bày ở bảng 3.

***Bảng 3.* Tác dụng chống viêm mạn của thuốc cugama**

TT	Lô chuột	Khối lượng trung bình của u hạt (mg)	Giảm khối lượng u so với lô chứng (%)	P
1	Lô đối chứng n = 5	284,9 ± 18,3		
2	Cugama (liều ~ 15g dl/kg) n = 5	219,3 ± 25,4	23,02	$P_{1,2} > 0,05$
3	Cugama (liều ~ 25g dl/kg) n = 5	193,7 ± 24,8	32,0	$P_{1,3} < 0,05$

Nhận xét

Thuốc cugama với liều thử ~ 25g dược liệu/kg chuột có tác dụng chống viêm trên mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng amian, làm giảm 32,0% trọng lượng của khối u (kết quả có ý nghĩa thống kê).

3.4. Tác dụng chống viêm cấp của thuốc cugama

Thử tác dụng chống viêm cấp được tiến hành trên chuột cống trắng cân nặng 100 – 140 g, không phân biệt đực, cái. Tác nhân gây viêm là nhũ dịch carragenin 1%, tiêm dưới da gan bàn chân chuột 0,1 ml/con. Đo thể tích chân chuột trước khi gây viêm (Vo) và 3 giờ sau khi gây viêm (V1) – là thời điểm độ phù chân chuột tối đa.

So sánh độ phù chân chuột trước và sau khi gây viêm, giữa lô thử thuốc với lô đối chứng.

Kết quả thu được trình bày ở bảng 4.

***Bảng 4.* Tác dụng trên độ phù chân chuột của thuốc cugama**

TT	Lô thí nghiệm	Số chuột/lô	Liều thử (g dược liệu/kg)	Độ phù chân chuột (%)	Tỷ lệ giảm phù (%)	$P_{1,2}$
1	Đối chứng (1)	5	-	29,49	-	
2	Thuốc cugama (2)	5	15	25,95	12,0	>0,05
3	Đối chứng (1)	5	-	39,31	-	
4	Thuốc cugama (2)	5	25	27,36	29,71	<0,05

Nhận xét

Thuốc cugama có tác dụng giảm độ phù chân chuột với cả 2 liều thử tương đương 15 và 25 g dược liệu/kg chuột nhưng chỉ có liều 25 g/kg sự khác nhau có ý nghĩa thống kê.

IV. BÀN LUẬN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Thuốc điều trị viêm gan mạn hoạt động (VGMHĐ) được chia làm hai nhóm chính: Nhóm chống virus và nhóm tăng cường miễn dịch.

Thuốc tân dược có hiệu lực điều trị và được sử dụng hiện nay là interferon alpha, lamivudin có nhiều tác dụng phụ và rất đắt tiền, không phù hợp với khả năng kinh tế của người bệnh.

Cho đến nay số thuốc được nghiên cứu và được phép sử dụng chưa nhiều nhưng bước đầu cho thấy thuốc thảo mộc không chỉ có tác dụng hỗ trợ điều trị mà còn tham gia trực tiếp vào quá trình điều trị, như thuốc haina từ cây cà gai leo, dihacharin từ cây diệp hạ châu, bài thuốc LIV-94, VG-99, xirô hebevera... Kết qủa thử lâm sàng cho thấy các thuốc này có tác dụng làm giảm các marker

viêm gan mạn như HBsAg, HBeAg và tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh cũng như số lượng virus HBG giảm rõ rệt so với lô đối chứng.

- ***Nghiên cứu lập công thức cho bài thuốc hỗ trợ điều trị VGMHĐ***

Mục tiêu của đề tài là nghiên cứu một thuốc hỗ trợ điều trị VGMHĐ từ các dược liệu thảo mộc đã được chứng minh là có tác dụng điều trị viêm gan hoặc đã được sử dụng trong YHCT làm thuốc điều trị viêm gan siêu vi khuẩn. Silymarin chiết xuất từ quả cúc gai và mã đề chính là hai trong số ít dược liệu đáp ứng các điều kiện trên. Điều này được tái khẳng định bằng kết quả thử sàng lọc tác dụng bảo vệ gan của 10 dược liệu so sánh với silymarin. Trong số 10 dược liệu đã và đang tham gia vào các bài thuốc điều trị viêm gan và một số bệnh về gan, chỉ có cao nước của lá cây bàn tròn, rễ cây nhó đông, cây rau đắng là có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây viêm gan cấp bằng CCl_4. Trong số các chế phẩm điều chế từ mã đề (cao nước, cao cồn 50%, cao cồn 80%, cao tinh chế) chỉ có cao tinh chế tác dụng bảo vệ gan.

Thuốc hỗ trợ điều trị VGMHĐ nghiên cứu trong đề tài này chủ yếu được dựa trên kết quả nghiên cứu khoa học của nước ngoài và kinh nghiệm sử dụng dược liệu của YHCT.

Silymarin là hoạt chất chiết xuất từ quả cây cúc gai di thực trồng tại Sa Pa (Lào Cai) và Hà Nội, đã được chứng minh có thành phần hoá học tương tự như thành phần hoá học của silymarin chiết xuất từ hạt cúc gai trồng tại Bungaria tức là gồm 3 chất silybin, silychristin, silydianin và một số thành phần phụ là các flavonoid. Ở nước ngoài silymarin đã được nhiều công trình nghiên cứu chứng minh là có tác dụng bảo vệ gan do tác dụng bảo vệ màng tế bào, ngăn cản hấp thụ chất độc vào tế bào, ức chế quá trình peroxy hoá lipid, bắt giữ gốc tự do, kích thích sinh tổng hợp protein làm phục hồi nhanh chóng hệ enzym trong tế bào, kích thích tái tạo tế bào bị tổn thương [5, 7, 9]. Hiện nay có nhiều biệt dược bào chế từ silymarin đang lưu hành trên thị trường làm thuốc bảo vệ gan: Legalon, carsil, silymar ... Kết qủa nghiên cứu của đề tài đã chứng minh tác dụng bảo vệ gan của silymarin chiết xuất từ quả cúc gai di thực vào Việt Nam.

Dược liệu mã đề được sử dụng trong YHCT của nhiều nước làm thuốc lợi tiểu, chống phù thũng, chống viêm, chống viêm gan siêu vi khuẩn. Thành phần hoá học của mã đề gồm nhiều thành phần, trong đó các thành phần có tác dụng chống viêm mạnh, bảo vệ gan, ức chế sự nhân lên của ADN virus VGB là các iridoid glycosid (aucubin, catalpol). Ngoài ra, tham gia vào bảo vệ tế bào gan,

chống oxy hoá còn có các acid hữu cơ (acid cafeic, acid clorogenic, acid oleanolic....) và các flavonoid quercetin, baicalein... [1, 2, 3, 4]. Kết quả nghiên cứu sàng lọc tìm các chế phẩm có tác dụng bảo vệ gan của chúng tôi đã chứng minh cao tinh chế chiết xuất từ mã đề có tác dụng bảo vệ gan, làm giảm men gan và bilirubin do CCl_4 gây ra.

Kết quả thử phối hợp một số chế phẩm trên tác dụng bảo vệ gan cho thấy chỉ có chế phẩm silymarin với cao tinh chế mã đề (tỷ lệ 2 : 1) là có tác dụng bảo vệ gan. Vì vậy, hỗn hợp của 2 chế phẩm này được tiếp tục nghiên cứu làm thuốc hỗ trợ điều trị VGMHĐ cugama. Dự định tác dụng của bài thuốc sẽ kết hợp các tác dụng đã nêu ở trên của silymarin và mã đề, cụ thể là bảo vệ gan, ức chế xơ hoá gan và ức chế sự phát triển của virus VGB.

Kết quả thử tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây viêm gan cấp cũng như tác dụng ức chế hình thành và tích tụ collagen trong gan cho thấy thuốc cugama có tác dụng làm giảm 23,25% hàm lượng collagen trong gan so với lô đối chứng (hàm lượng collagen biểu thị cho mức độ xơ gan). Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê. Thuốc cugama còn thể hiện tác dụng chống oxy hoá mạnh, làm giảm 27,69% hàm lượng MDA trong gan so với lô chứng. Sự khác nhau cũng có ý nghĩa thống kê (bảng 1). Kết quả này phù hợp với kết quả xét nghiệm đại thể và vi thể gan chuột được điều trị bằng thuốc cugama. Trên hình ảnh chụp cấu tạo vi thể gan chuột được điều trị bằng cugama chỉ nhận thấy thoái hoá mỡ ở một số tế bào gan, còn lại hầu hết tế bào gan bình thường. Khi nhuộm Van Genson không có tăng sinh liên kết xơ. Trong khi đó ở gan chuột bệnh lý rất nhiều tế bào gan bị tổn thương nặng nề, thoái hoá mỡ hốc lớn. Khi nhuộm Van Genson thấy rõ hình ảnh xơ gan. Kết quả này cho thấy triển vọng của thuốc cugama trong điều trị viêm và ức chế xơ gan giai đoạn đầu.

Các thí nghiệm tiếp theo trên động vật thực nghiệm cho thấy thuốc cugama còn có tác dụng chống viêm cấp, chống viêm mạn và tác dụng lợi mật – là những tác dụng hỗ trợ nhưng không thể thiếu trong điều trị viêm gan siêu vi B (bảng 2, 3, 4).

Các kết quả thu được trên đây cho thấy thuốc cugama có các tác dụng dược lý đáp ứng yêu cầu của thuốc hỗ trợ điều VGMHĐ, cụ thể là các tác dụng giảm men gan, chống oxy hoá, bảo vệ gan, ức chế tạo collagen gan, chống viêm cấp và mạn tính, độc tính rất thấp.

Để chứng minh tác dụng ức chế virus VGB cần phải tiến hành thử nghiệm trên virus VGB nhưng hiện nay chưa có điều kiện tiến hành các thí nghiệm này ở trong nước. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tác dụng của cugama trên hệ miễn dịch. Nếu thuốc có tác dụng kích thích cơ thể sản xuất kháng thể chống lại kháng nguyên thì có thể thuốc có khả năng ức chế virus VGB, làm âm tính hoá phản ứng HBsAg (+). Như vậy, có thể dự đoán tác dụng của thuốc trên virus VGB một cách gián tiếp. Kết quả thử tác dụng trên mô hình gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid cho thấy thuốc cugama có tác dụng:

- Tăng số lượng bạch cầu với $P < 0,05$, trong đó số lượng lympho bào B tăng với $P < 0,02$.

- Tăng tạo quầng dung huyết so với lô đối chứng với $P < 0,001$.

Như vậy, thuốc có tác dụng chủ yếu đối với lympho bào B (số lượng bạch cầu tăng, trong đó số lượng lympho bào tăng là lympho bào B) và tạo quầng dung huyết tăng có ý nghĩa thống kê, thể hiện thuốc có tác dụng tăng chức năng sinh kháng thể.

Thuốc cugama đã được nghiên cứu hoàn chỉnh từ quy trình chiết xuất, dược lý, độc tính, bào chế đến tiêu chuẩn hoá. Thuốc được bào chế dưới dạng viên nén bao phim. Tiêu chuẩn thuốc cugama đã được Viện Kiểm nghiệm thẩm định. Hiện đang xin phép thử lâm sàng thuốc cugama trên bệnh nhân VGMHĐ.

V. KẾT LUẬN

Thuốc cugama bào chế từ hỗn hợp sylimarin chiết xuất từ quả cúc gai di thực và cao tinh chế từ mã đề (tỷ lệ 2:1) đã được chứng minh bằng thực nghiệm trên động vật có các tác dụng sau:

- Bảo vệ gan,
- Chống oxy hoá,
- Ức chế colagen gan,
- Lợi mật,
- Chống viêm cấp và mạn tính,
- Kích thích sản xuất kháng nguyên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, (1999), Danh mục thuốc thiết yếu YHCT. Tạp chí Dược học, số 11: 17-21.
2. Viện Dược liệu, (2003), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ thuật, mã đề, Tập II: 203.
3. Chang IM. Et al., (1985), Plants with liver-protective activities, advances in Chinese medicinal materials research. World Scientific publ. Co., Singapore, 269-285.
4. Chang IM., United State Patent 5,929,038.,(1999), Pharmaceutical preparation which inhibit hepatitis B virus (HBV) replication, July 27.
5. Ferency P. et al., (1989), Randomized controlled trial of syli arin treatment in patients with cirrhosis of the liver. J. Hepatol., 9 (1): 105 – 113.
6. Maros T. L., (1971), On the anti-cirrhotic effect of certain biologically active shortchain thioaminoacids. Arzneimittel-Frorsch, 21 (2): 257-361.
7. Magliulo E. et al., (1987), Result of a double blind study on the effect of sylimarin in the treatment of acute viral hepatitis, carried out at two medical centers. Med. Klin. 73: 1060 – 1065.
8. Newman E., Logan A., (1849), The determination of hydroxyprolin. Arch. Biol. Chem. 24, 289- 292.
9. Kahol et al., (2001), United State Patent 5,929,038, Process for isolation of hepatoprotective agent silymarin from the seeds of the plant *Silybum marianum*. October 30.
10. Pesson M. et al., (1995), Choleretic agents: Screening methods in pharmacology. Ed. Turner RA., Academic Press, New Your – London, 229 – 230.
11. Rand RN. Dispasqua A., (1962), Determination of bilirubin by dichloroaniline method. Clin. Chem. 8: 570 – 537.
12. Turner RA., (1965), Test for hepatotoxicity. Screening methods in pharmacology. Academic Press, New York and London. Vol. I: 299 – 300.
13. Winter CA. et al., (1962), Carragenin – induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Pro. Soc. Exp. Bil. Med. 111, 542-547.

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM NÔNG, SINH HỌC CÁC GIỐNG ÍCH MẪU Ở VIỆT NAM

Trịnh Thanh, Nguyễn Văn Thuận,
Hoàng Văn Định, Trần Danh Việt
Viện Dược liệu

SUMMARY

Assessment of *Leonurus helerophyllus* genotypes for agricultural and biogical characters in Vietnam.

14. *Leonurus heterophyllus* genotyps were evaluated with different agricultural and biological characters in reseach center of medicinal plants Thanhtri Hanoi.

Growing duration of *L. helerophyllus* was recorded from beginning of flower bud to the ripen of the seeds: 55-120 days, however some genotypes – only 100 days. The character plant high was ranging from 110-120 cm and concentrated in interval 140cm-190cm.

The individual yield – varying from 14.14g to 30.34 grams

Key words: 14. *Leonurus heterophyllus* genotyps

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

. Cây ích mẫu còn gọi là nguyệt mẫu thảo, sung uất, phản hồn đơn, ích minh, xú thảo, sung uý, chói đen: *Leonurus heterophyllus* Sweet, họ Hoa môi (*Lamiaceae).* Nhu cầu sử dụng hàng năm lớn, vì vậy cây ích mẫu có khả năng đem lại hiệu quả kinh tế cao. Chọn tạo giống ích mẫu có năng suất cao, chất lượng tốt, có khả năng thích ứng trồng trên nhiều loại đất là nhu cầu sản xuất hiện nay.

Ích mẫu là cây thân thảo sống 1 năm, cây cao từ 1 - 2 m, thân hình vuông có đường lõm dọc, lá mọc ngay từ gốc chia 5 - 7 thuỳ, mỗi thùy có 2 - 3 răng cưa, mặt lá màu xanh sẫm, mặt dưới màu xanh nhạt, 2 mặt đều có lông nhung ngắn. Cuống

lá dài 17 cm, hoa màu tím hồng hay màu hồng mọc ở nách lá, quả non màu xanh nhạt, chín màu nâu sẫm, toàn thân cây lá hoa, hạt đều dùng làm thuốc.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Mẫu giống ích mẫu được chọn lọc sơ bộ và các mẫu giống đang được trồng ở một số vùng sản xuất.

Bảng 1. **Các thông tin về vật liệu nghiên cứu**

TT	Ký hiệu	Mẫu giống đã được chọn lọc	TT	Ký hiệu	Mẫu giống đang sản xuất
1	LC1	Mẫu chọn lọc 1	8	H02	Hạt thu thập của vùng Hà Nội
2	CL2	Mẫu chọn lọc 2	9	TH1	Hạt thu ở Thanh Hoá, quả chín tháng 9
3	CL3	Mẫu chọn lọc 3	10	TH2	Hạt thu ở Thanh Hoá, quả chín tháng 6
4	CL4	Mẫu chọn lọc 4	11	HT	Hạt ở Hà Tây
5	CL5	Mẫu chọn lọc 5	12	HD1	Hạt ở Hải Dương, quả chín tháng 6
6	CL6	Mẫu chọn lọc 6	13	HD2	Hạt ở Hải Dương, quả chín tháng 9
7	CL7	Mẫu chọn lọc 7	14	HN	Hạt của TT Hà Nội

2. 2. Địa điểm nghiên cứu

Tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội - Viện Dược liệu.

2. 3. Nội dung nghiên cứu

+ Đánh giá thời gian sinh trưởng;

+ Đánh giá các chỉ tiêu năng suất: Chiều cao cây và năng suất cá thể.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

- Nền thí nghiệm: Phân chuồng hoai mục 13,5 tấn/ha; đạm urê 405 kg/ha; lân supe 405 kg/ha; kali sulfat 54 kg/ha.

- Mật độ trồng 20 x 30cm.

- Ngày gieo hạt: 16/10/2003

- Ngày trồng: 6/12/2003

- Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh 3 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm: 6,6m^2 (2,2 x 3m). Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê IRRISTAT.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá thời gian sinh trưởng phát triển của các mẫu giống

Bảng 2. **Thời gian sinh trưởng phát triển của cây ích mẫu (ngày)**

TT	Mẫu giống	Thời gian hồi xanh sau trồng	Thời gian từ trồng đến xuất hiện lá thứ nhất	Thời gian từ trồng đến ra cành cấp 1	Thời gian từ trồng đến ra hoa rộ	Thời gian quả chín rộ
1	CL1	12 ± 2	14 ± 2	20 ± 2	90 ± 2	120 ± 2
2	CL2	12 ± 2	14 ± 3	21 ± 2	90 ± 2	120 ± 2
3	CL3	12 ± 2	14 ± 3	20 ± 3	90 ± 2	120 ± 2
4	CL4	12 ± 2	14 ± 2	22 ± 4	90 ± 2	120 ± 2
5	CL5	12 ± 2	14 ± 2	20 ± 4	90 ± 2	120 ± 2
6	CL6	12 ± 2	14 ± 3	23 ± 2	90 ± 2	120 ± 2
7	CL7	12 ± 2	14 ± 2	21 ± 4	90 ± 2	120 ± 2
8	H02	12 ± 2	14 ± 3	20 ± 3	70 ± 2	90 ± 2
9	TH1	12 ± 2	14 ± 2	20 ± 4	70 ± 2	90 ± 2
10	TH2	12 ± 2	14 ± 3	22 ± 5	75 ± 2	95 ± 2
11	HT	12 ± 2	14 ± 3	21 ± 4	75 ± 2	95 ± 2
12	HD1	12 ± 2	14 ± 3	23 ± 3	90 ± 2	120 ± 2
13	HD2	12 ± 2	14 ± 3	20 ± 4	90 ± 2	120 ± 2
14	HN	12 ± 2	14 ± 2	20 ± 3	90 ± 2	120 ± 2

Nhận xét

Thời gian bắt đầu xuất hiện nụ hoa đến khi quả chín khoảng 25 - 30 ngày. Các giống có thời gian sinh trưởng ngắn, khoảng 90 - 95 ngày là giống H02; TH1; TH2; HT, các giống còn lại đều đạt 120 ngày. Để thu dược liệu, các mẫu giống cần thời gian từ 70 – 90 ngày. Điều này rất có ý nghĩa trong thực tiễn sản xuất, có thể có các giống ngắn ngày và dài ngày phục vụ cho công tác chọn tạo giống ích mẫu phù hợp với thời gian và điều kiện canh tác của từng địa phương.

3.2. Sự phát triển về chiều cao của các mẫu giống ích mẫu

Chiều cao cây là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá giống, đối với các cây thu hoạch thân lá thì chiều cao cây là yếu tố cực kỳ quan trọng trong việc cấu thành năng suất cây trồng. Với cây ích mẫu, dược liệu là toàn bộ các bộ phận trên mặt đất nên chiều cao cây đang là vấn đề được quan tâm của các nhà chọn giống cây thuốc.

3.2.1. Tốc độ phát triển chiều cao của các mẫu giống

Bảng 3. **Sự tăng trưởng chiều cao các giống ích mẫu (cm)**

TT	Mẫu giống	29/12	5/1	12/1	19/1	26/1	4/2	11/2	18/2	25/2	1/3	8/3
1	CL1	23,63	29,88	38,76	55,88	80,51	100,87	127,84	144,16	159,27	173,98	178,78
2	CL2	24,10	30,75	38,26	51,84	78,43	102,76	123,98	142,78	157,71	165,20	168,91
3	CL3	24,12	30,83	37,82	47,25	69,71	86,06	119,24	126,67	146,51	156,16	156,16
4	CL4	31,04	39,70	49,87	70,68	100,76	124,82	142,11	161,51	173,18	183,62	184,44
5	CL5	26,43	33,75	40,80	53,73	79,04	100,48	127,42	143,07	155,87	170,98	171,73
6	CL6	26,23	33,35	43,16	56,48	83,57	106,07	125,49	150,53	162,84	180,47	182,98
7	CL7	23,84	30,76	35,07	50,54	72,53	93,02	128,04	137,87	150,38	159,87	165,80
8	H02	22,62	29,62	36,58	57,02	82,66	103,71	125,40	149,71	161,91	178,13	180,02
9	TH1	27,61	38,76	46,95	70,37	91,24	110,44	137,49	144,56	156,42	159,47	163,64
10	TH2	28,07	35,96	44,64	64,63	89,06	110,67	131,04	151,04	162,27	168,16	169,82
11	HT	27,40	33,21	42,92	65,47	90,00	111,29	124,22	152,24	165,78	175,71	179,11
12	HD1	26,60	32,24	44,17	65,78	87,60	107,28	129,06	144,55	158,06	163,44	165,67
13	HD2	27,87	31,98	41,00	59,70	76,13	97,68	123,67	131,62	160,51	140,18	141,67
14	HN	18,77	25,61	30,77	45,65	69,67	90,60	124,13	135,93	153,28	169,77	175,04
$LSD_{0,05}$												3,15
CV%												7,4

Bảng 2 cho thấy sự phát triển chiều cao của các mẫu giống là không đồng đều, ở lần đo đầu tiên ngày 29 tháng 12 chiều cao trung bình của các mẫu giống từ 26,43 đến 28,08cm. Ở lần đo ngày 26/1 tốc độ phát triển các các mẫu giống tăng rõ rệt và có sự phân định rõ, ở mẫu giống số 3 chỉ tăng 31,9cm trong khi các mẫu giống đều tăng trung bình 35 - 50 cm, đặc biệt các mẫu giống số 4 và 9 đều từ 45- 51cm. ở lần đo ngày 11/2, chiều cao của các mẫu giống thay đổi một cách rất nhanh, từ 40 - 55cm, như vậy trung bình cứ một ngày cây ích mẫu cao được 3- 3,5cm.

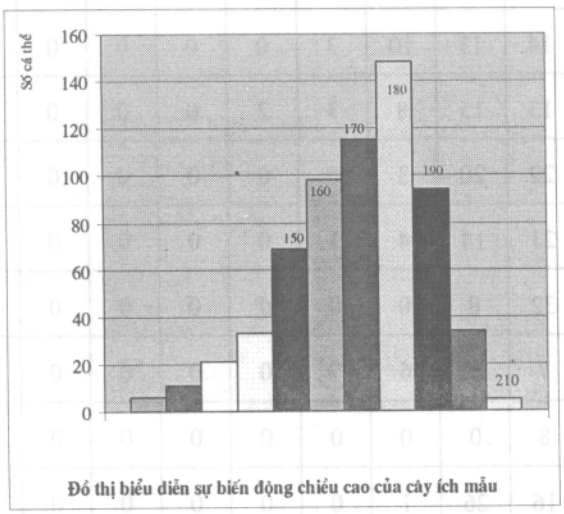
Các lần đo tiếp theo hầu hết các giống đều sinh trưởng và phát triển chậm lại và lúc này cây bắt đầu ra hoa kết hạt. Các mẫu giống đều có chiều cao trên 150cm duy chỉ mẫu giống số 13 cao 141,67cm, các mẫu giống có chiều cao trên 180cm ở các mẫu giống số 4, 6, 8; đạt cao nhất 184,44cm ở mẫu giống số 4.

3.2.2. Khoảng biến động chiều cao các mẫu giống

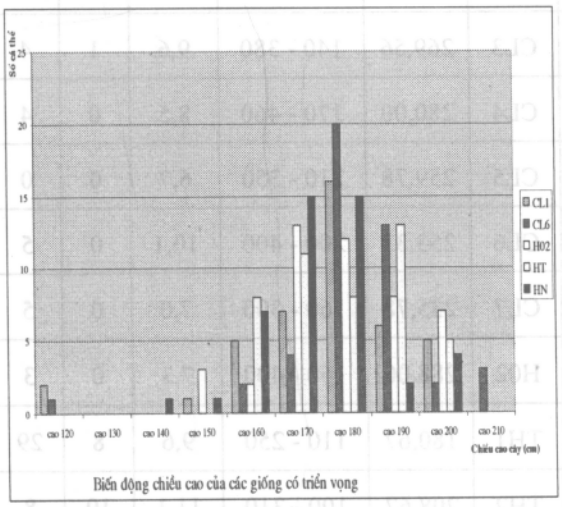
Bảng 3. **Mức độ biến động chiều cao cây các giống ích mẫu (cm)**

TT	Mẫu giống	Chiều cao cây cm	Khoảng biến động	CV%	Số cá thể đạt chiều cao (cm)										
					110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210
1	CL1	178,78	122 - 198	9,3	0	2	0	0	1	5	7	16	6	5	0
2	CL2	168,91	130 - 198	6,9	0	0	2	6	9	12	9	6	1	0	0
3	CL3	156,16	128 - 178	6,9	0	0	6	5	11	13	4	6	8	0	0
4	CL4	184,44	123 - 209	7,4	0	2	0	0	1	0	4	15	12	9	2
5	CL5	171,73	140 - 189	6,8	0	0	0	2	3	8	10	19	3	0	0
6	CL6	182,98	122 - 210	8,0	0	1	0	0	0	2	4	20	13	2	3
7	CL7	165,80	145 - 195	7,5	0	0	0	1	12	13	4	9	5	0	0
8	H02	180,02	150 - 203	5,5	0	0	0	0	3	2	13	12	8	7	0
9	TH1	163,64	127 - 190	10,9	0	0	4	6	5	7	9	7	7	0	0
10	TH2	169,82	102 - 200	12,1	1	1	1	1	5	6	11	7	11	1	0
11	HT	179,11	157 - 201	6,9	0	0	0	0	0	8	11	8	13	5	0
12	HD1	165,67	102 - 194	11,6	2	0	0	1	5	12	12	8	5	0	0
13	HD2	141,67	106 - 200	13,5	3	5	8	10	13	3	2	0	0	1	0
14	HN	175,04	145 - 205	7,2	0	0	0	1	1	7	15	15	2	4	0

Bảng 3 cho thấy chiều cao của ích mẫu biến động khá cao từ 110 – 210 cm nhưng tập trung chủ yếu khoảng 140 – 190 cm. Các mẫu giống có khoảng biến động hẹp là mẫu CL7 (140 – 190 cm), HT (160 – 200 cm). Còn lại các mẫu khác biến động tương đối lớn. Phân tích về sự biến động chiều cao của cây ích mẫu được thể hiện qua đồ thị H1.



Đồ thị biểu diễn sự biến động chiều chiều cao của các mẫu giống ích mẫu



Đồ thị biểu diễn sự biến động của các mẫu giống có triển vọng

Nhìn vào đồ thị cho thấy loài ích mẫu có sự biến động về chiều cao rất khác nhau, khoảng biến động lớn. Đây chính là nguồn gen quý cho các nhà chọn giống có thể chọn lọc các loại kiểu cây cao hay thấp phù hợp hay không phù hợp với điều kiện canh tác.

3.3. Khối lượng cá thể của các mẫu giống

Khối lượng là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá năng suất các cây lấy toàn bộ cây để sử dụng. Vì vậy, năng suất cá thể là một trong những chỉ tiêu quan trọng trong phần nghiên cứu của đề tài. Thu ở mỗi ô thí nghiệm 15 cây ngẫu nhiên và tiến hành cân toàn cây và tính khối lượng. Qua bảng 4 cho thấy năng suất cá thể của các mẫu giống là rất khác nhau, dao động từ 90 - 650g và chủ yếu tập trung vào hai khoảng 180 – 200 g/cá thể và 225g – 275 g/cá thể. Kết quả nghiên cứu cho thấy các mẫu giống HN, H02; CL4; CL1; CL2; CL3 đều cho năng suất trên 260 g/cá thể.

Bảng 4. **Biến động năng suất dược liệu của các mẫu giống (g)**

TT	Mẫu giống	Năng suất	Khoảng biến động	CV%	Khối lượng cây (g)										
					125	175	225	275	325	375	425	475	525	575	625
1	CL1	269,33	150 - 400	9,2	2	7	13	13	6	4	0	0	0	0	0
2	CL2	263,56	130 - 360	7,7	2	9	10	12	11	1	0	0	0	0	0
3	CL3	269,56	140 - 380	9,6	1	4	14	13	10	3	0	0	0	0	0
4	CL4	280,00	170 - 460	8,5	0	4	13	15	8	3	2	0	0	0	0
5	CL5	259,78	210 - 350	6,7	0	0	22	20	3	0	0	0	0	0	0
6	CL6	253,33	200 - 400	10,1	0	5	21	14	4	1	0	0	0	0	0
7	CL7	235,78	160 - 300	7,0	0	5	32	8	0	0	0	0	0	0	0
8	H02	288,00	160 - 400	7,3	0	3	7	22	6	7	0	0	0	0	0
9	TH1	180,67	110 - 250	9,6	8	29	8	.0	0	0	0	0	0	0	0
10	TH2	208,67	100 - 310	11,1	10	8	16	26	1	0	0	0	0	0	0
11	HT	249,11	190 - 360	12,3	0	7	17	18	2	1	0	0	0	0	0
12	HD1	253,78	160 - 420	10,3	0	10	15	13	3	3	1	0	0	0	0
13	HD2	141,78	90 - 190	16,7	28	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	HN	303,56	190 - 650	12,6	0	3	16	13	7	0	0	0	1	2	3

3.4. Thảo luận

Thời gian sinh trưởng phát triển của các giống ích mẫu chia thành hai nhóm giống, nhóm có thời gian phát triển ngắn (khoảng 90 - 95 ngày) là các giống H02; TH1; HT; TH2 và các giống còn lại đều đạt 120 ngày. Để thu dược liệu các mẫu giống cần thời gian từ 70 – 90 ngày.

Chiều cao của ích mẫu biến động từ 110 – 210 cm, phần lớn khoảng 140 – 190 cm. Các mẫu giống có khoảng biến động hẹp là mẫu CL7 (140 – 190 cm), HT (160 – 200cm), chứng tỏ các giống hiện đang sản xuất và đang chọn lọc là chưa thuần.

Năng suất cá thể dao động từ 141,78 - 303,56 g, thực tế có cá thể chỉ đạt 90g song cũng có cá thể đạt tới 650g. Như vậy, khả năng sinh trưởng, phát triển và tích luỹ chất khô của các cá thể cũng rất khác nhau.

Sơ bộ nhận xét thấy rằng hiện nay cây ích mẫu chưa được chọn giống một cách khoa học. Các mẫu giống đang được trồng đều có độ biến động nhiều về các chỉ số như chiều cao cây, khối lượng cá thể. Do đó, chọn tạo các giống cây ích mẫu năng suất cao, thời gian sinh trưởng phù hợp với cơ cấu mùa vụ của các vùng đất là rất cần thiết.

IV. KẾT LUẬN

- Năng suất của ích mẫu biến động nhiều (từ 90 - 650g/cá thể), nhưng khá tập trung từ 175g – 275 g chứng tỏ nguồn gen về năng suất tương đối phong phú.

- Chiều cao cây của các mẫu nghiên cứu có sự biến động khá lớn 141,67 – 182,89 cm. Từ những nguồn gen có biến động lớn này các nhà chọn giống có thể chọn lọc ra các giống ích mẫu phù hợp với hình thức và cơ cấu cây trồng.

- Các giống ích mẫu có thời gian sinh trưởng và phát triển rất khác nhau (thời gian từ khi trồng đến thu dược liệu 70 – 95 ngày, thu hạt giống 90 – 120 ngày) nên có thể từ nguồn vật liệu khởi đầu này chọn được các giống phù hợp với điều kiệu canh tác và thời vụ để đưa cây ích mẫu vào chuyển đổi cơ cấu cây trồng.

- Đã thu các mẫu giống CL1; CL2; CL3; CL5; HN; H02 để tiếp tục theo dõi và nghiên cứu chọn giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Đình Long, (1997), Chọn giống cây trồng. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
2. Nguyễn Hồng Minh, (1999), Di truyền học. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
3. Luyện Hữu Chỉ, (1997), Giống cây trồng. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Trần Đình Long, (1997), Giáo trình cao học Nông nghiệp - Chọn giống cây trồng. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
5. Nguyễn Văn Hiển, (2000), Chọn giống cây trồng. NXB. Giáo dục,. Hà Nội.

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA MỘT SỐ MẪU GIỐNG CÂY LÃO QUAN THẢO (*GERANIUM NEPALENSE* KUDO) TRỒNG TẠI TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU CÂY THUỐC HÀ NỘI, VỤ 2002 - 2003

Phạm Văn Ý, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Duy Thuần,
Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Bá Hoạt
Viện Dược liệu

SUMMARY

Study on some development and growth characters of three varieties of *Geranium nepalense* in Hanoi.

Three different varieties of *Geranium nepalense* Kudo such as: short day, middle day, and long day were planted to compare with each other in experimental field conducted at the research center of medicinal plants Thanh Tri - Ha Noi in 2000 - 2001 season showed that:

Middle day variety was perfomed with 180 days in growth, 86 cm high, and 271 gram fresh weight per plant. It was the lushest of the three varieties on the growing and fresh yield. On the breeding purpose the seed yield of middle day variety may be obtainable about 42 kgram per hectare.

Middle day variety can be assessed as suitable for the Hong river delta conditions.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vị thuốc lão quan thảo là thân lá phơi hoặc sấy khô của cây lão quan thảo (*Geranium nepalense* Kudo), có tác dụng hoạt huyết bổ gân xương, trừ phong thấp. Dịch chiết lão quan thảo có tác dụng kháng khuẩn đường ruột, chống viêm cấp và mãn tính. Nó còn có tác dụng ức chế sự phát triển của khối u. Lão quan thảo được sản xuất dưới dạng viên nén geranin để chữa ỉa chảy, kiết lỵ, thương hàn và rối loạn tiêu hoá [3], [4].

Nhằm đáp ứng nhu cầu sản xuất ổn định và ngày càng mở rộng về diện tích và sản lượng, đề tài nghiên cứu chọn giống cây lão quan thảo đã được tiến hành và đã phân lập được một số mẫu giống trong năm 1999 - 2000 [5]. Nghiên cứu đánh giá về năng suất dược liệu của một số mẫu giống vụ 2001-2002 [6]. Nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng, phát triển và đánh giá năng suất hạt giống của một số mẫu giống lão quan thảo trong vụ đông xuân 2002 - 2003 được trình bày trong bài báo này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

* Vật liệu nghiên cứu là hạt giống của các mẫu giống đã thu được tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

* Phương pháp nghiên cứu:

+ Hạt giống sau khi thu hoạch được phơi khô, làm sạch, loại bỏ tạp chất và hạt lép, lửng, bảo quản trong kho lạnh.

+ Thí nghiệm trồng trọt được tiến hành tại Trung tâm nghiên cứu Cây thuốc Hà Nội, vụ 2002 - 2003.

+ Các công thức nghiên cứu:

- Giống ngắn ngày ký hiệu là I
- Giống trung bình ký hiệu là II
- Giống dài ngày ký hiệu là III

+ Bố trí nghiệm theo phương pháp thí nghiệm ngẫu nhiên, 3 lần nhắc lại.

+ Diện tích ô thí nghiệm $12m^2$

+ Các chỉ tiêu theo dõi gồm có:

1. Khối lượng 1000 hạt (g);
2. Khối lượng hạt (g/cây);
3. Năng suất hạt (kg/ô);
4. Chiều cao cây (cm);
5. Số nhánh (nhánh);
6. Khối lượng cá thể (g/cây);
7. Năng suất dược liệu (kg/ô).

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

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá năng suất hạt của các mẫu giống

Bảng1. **Năng suất và một số yếu tố tạo thành năng suất hạt giống cây lão quan thảo**

Giống	Khối lượng 1000 hạt (g)	Khối lượng hạt/ cây (g)	Năng suất hạt giống	
			(kg/ô)	(kg/ha)
I	2,33 ± 0,08	2,12 ± 0,32	0,113 ± 0,001	94,16
II	2,39 ± 0,13	1,33 ± 0,37	0,051 ± 0,008	42,50
III	2,53 ± 0,11	0,68 ± 0,23	0,031 ± 0,006	25,83

Bảng 1 cho thấy sự chênh lệch về khối lượng 1000 hạt ở các giống không đáng kể, nhưng khối lượng hạt trên cây có sự sai khác rõ ràng. Khối lượng hạt trên cây của giống ngắn ngày cao nhất (2,12 g) do đó đã làm cho năng suất hạt của giống này đạt cao nhất (94,16 kg/ha). Khối lượng hạt trên cây của giống dài ngày thấp nhất (0,68g). Nguyên nhân là do cây ra hoa muộn vào cuối tháng 5 và đầu tháng 6, thời tiết khô và nhiệt độ cao của mùa hè đã ảnh hưởng đến sự ra hoa và đậu quả làm cho năng suất hạt giống thấp (25,83 kg/ha). Giống này không có khả năng sản xuất hạt giống ở đồng bằng. Giống trung bình cho năng suất hạt giống đạt (42,50 kg/ha). Với năng suất hạt như vậy, khả năng nhân giống ở đồng bằng là hoàn toàn có thể.

3.2. Xác định năng suất dược liệu của các mẫu giống nghiên cứu

Bảng 2. **Đặc điểm sinh trưởng và năng suất dược liệu của cây lão quan thảo**

Giống	Chiều cao cây (cm)	Số nhánh/ cây (nhánh)	Khối lượng cây tươi (g/ cây)	Năng suất dược liệu khô	
				(kg/ô)	(tạ/ha)
I	57,5 ± 5,9	5,2 ± 1,2	155,6 ± 20,4	1,86 ± 0,35	15,50
II	86,1 ± 4,6	8,2 ± 1,6	271,5 ± 35,7	3,25 ± 0,62	27,08
III	37,2 ± 7,7	19,4 ± 5,5	170,3 ± 43,6	2,05 ± 0,60	17,08

Bảng 2 cho thấy giống trung bình là giống sinh trưởng mạnh nhất, có chiều cao cây cao nhất, đạt tới 86 cm. Trong khi đó giống dài ngày có thời gian sinh trưởng dài nhất nhưng chiều cao cây thấp nhất (37cm). Chúng tôi cho rằng đây là giống sinh trưởng chậm, cây ra ngồng muộn vào cuối tháng 3, đầu tháng 4 vì vậy sang tháng 5, nhiệt độ lên cao, cường độ ánh sáng lớn của mùa hè đã hạn chế sự phát triển chiều cao cây, điều đó cũng có nghĩa là hạn chế sự sinh trưởng và phát triển của giống này khi trồng ở đồng bằng Bắc Bộ.

Theo dõi số nhánh trên cây cho thấy cũng có sự sai khác rõ ràng giữa các giống. Ở đây giống ngắn ngày có số nhánh ít nhất (5,2), giống dài ngày có số nhánh nhiều nhất (19,4) và giống trung bình có số nhánh là 8,2. Kết quả nghiên cứu trên cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu vụ 2001-2002 [6].

Chỉ tiêu quan trọng ảnh hưởng đến năng suất dược liệu là khối lượng cá thể. Trong 3 mẫu giống nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy: Giống trung bình cho khối lượng cá thể cao nhất (271 g/cây) và đã làm cho năng suất dược liệu đạt cao nhất (3,25 kg/ô). Giống ngắn ngày có khối lượng cá thể thấp nhất (155 g/cây), do đó đã làm cho năng suất dược liệu thấp (1,86 kg/ô). Giống dài ngày có khối lượng cá thể đạt 170 g/ cây và có năng suất đạt 2,05 kg/ô.

Rõ ràng trong 3 mẫu giống cây lão quan thảo trồng ở đồng bằng thì giống trung bình là giống cho năng suất dược liệu cao nhất, tính ra năng suất có thể đạt được 2,7 tấn dược liệu/ha.

IV. KẾT LUẬN

Trong 3 mẫu giống cây lão quan thảo được trồng so sánh tại Trung tâm nghiên cứu Cây thuốc Hà Nội cho thấy: Giống trung bình là giống sinh trưởng mạnh nhất, có chiều cao cây cao nhất, khối lượng cá thể lớn nhất và cho năng suất dược liệu cao nhất. Năng suất hạt giống của giống này có thể thu được khoảng 42 kg/ha, hoàn toàn đáp ứng khả năng nhân gống cho sản xuất. Đây là giống có khả năng phù hợp với đặc điểm đất đai và khí hậu vùng đồng bằng sông Hồng. Cần được tiếp tục nghiên cứu đánh giá và khảo nghiệm trên diện tích lớn hơn để có kết luận chắc chắn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Đình Long, (1997), Chọn giống cây trồng, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội .
2. Klein R.M, Klein D.T – (1979), Phương pháp nghiên cứu thực vật – NXB. Khoa học và Kỹ thuật - Hà Nội.
3. Mai Lê Hoa, Nguyễn Thượng Dong và cs,- (2001). Kết quả nghiên cứu tác dụng sinh học của loài *Geranium nepalense var. Thunbergii (Sieb et Zucc.)* Kudo - Công trình nghiên cứu khoa học Viện Dược liệu (1987 - 2000) NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
4. Nguyễn Bá Hoạt, (2002), Nghiên cứu phát triển một số cây thuốc tham gia chuyển đổi cơ cấu cây trồng huyện vùng cao Sa Pa - Lao Cai, Luận án tiến sỹ Nông nghiệp, Hà Nội.
5. Phạm Văn Ý, Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Văn Mai, Nguyễn Thị Dung, (2001), Nghiên cứu phân lập và chọn lọc cây lão quan thảo (*Geranium nepalense* Kudo), Công trình nghiên cứu khoa học Viện Dược liệu (1987 - 2000) NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
6. Phạm Văn Ý, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Duy Thuần, Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Văn Thuận – (2003), Nghiên cứu đánh giá một số mẫu giống cây lão quan thảo (*Geranium nepalense* Kudo) trồng tại Trung tâm nghiên cứu Cây thuốc Hà NộI, vụ 2001-2002, Tạp chí Dược học - số 1/2003.

KẾT QUẢ SƠ BỘ VỀ PHÂN TÍCH CHẤT LƯỢNG ĐẤT Ở MỘT SỐ VÙNG TRỒNG CÂY DƯỢC LIỆU

Ngô Quốc Luật, Nguyễn Duy Thuần,
Nguyễn Công Vinh

SUMMARY

Some chemical characteristics of soils grown the medicine plants in deferent ecobiological zones

Medicine plants have been being grown for long time in Vietnam. They play an important role for human health and national tradition medicine. There are many species and distributed in different eco-biological zones.

In order to apply a suitable fertilization and cultivation technologies for development of medicine plant cultivation with higher benefited and qualification, a survey on the properties of soil grown medicine species was carried out in Sa Pa, Lao Cai, Hanoi, Hai Duong, Thanh Hoa and Da Lat.

The results of survey and chemical soil analyst showed that medicine species in Vietnam are planted in many soil types and distributed in whole country. These soils have light acidic reaction. The values of pH ware ranged from 5.5 to 6.0.

They are mainly poor in the total nutrition's (N, P and K), except soil samples taken from SaPa zones are rich in nitrogen. Soil samples taken from Hanoi and Thanh Hoa are poorest in nutrition's.

Liming with the rate of 500-1000kg/ha, the rate of 120-180kgN/ha, 60-120kgP_2O_5/ha and 90-120kg K_2O/ha were recommended for grower. The low rate of nitrogen should be applied for soils taken from SaPa.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phát triển trồng trọt cây thuốc để tạo nguồn nguyên liệu ổn định là một trong những chiến lược quan trọng về phát triển y dược học dân tộc kết hợp với y học hiện đại của Đảng và Nhà nước ta hiện nay. Trồng cây thuốc ở Việt Nam đã có

từ lâu đời, các loài cây thuốc bản địa, cũng như các loài cây thuốc di thực nhập nội vào nước ta đã được phát triển phong phú về chủng loại và số lượng, đáp ứng một phần nhu cầu ngày càng cao trong bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

Cũng như những cây trồng khác, cây thuốc phụ thuộc nhiều vào tính chất, điều kiện sinh thái nơi chúng sinh trưởng và phát triển. Trong các điều kiện sinh thái, đất trồng là yếu tố có tác động nhiều đến năng suất và chất lượng của cây, "đất nào, cây ấy".

Hiểu biết về tính chất của đất là một cơ sở khoa học, nhằm đảm bảo cho quá trình thâm canh sản xuất cây thuốc. Hiện nay ngoài nguồn dược liệu khai thác tự nhiên, cây thuốc còn được trồng trên các vùng sinh thái khác nhau. Yêu cầu đặt ra là phải nắm bắt được đặc tính của đất trồng để làm cơ sở khoa học cho việc thâm canh sản xuất cây thuốc tạo ra sản phẩm có năng suất cao, chất lượng tốt. Đó là xuất phát điểm để chúng tôi triển khai nghiên cứu đề mục "Phân tích chất lượng đất ở một số vùng trồng cây dược liệu", nằm trong đề tài nhánh KC.10.07.02, thuộc đề tài cấp Nhà nước KC.10.07, thuộc Chương trình KC.10 ***"Khoa học công nghệ phục vụ, chăm sóc và bảo vệ sức khỏe cộng đồng".***

Để tiến hành nghiên cứu chúng tôi đã điều tra, thu thập và lấy mẫu để phân tích một số chỉ tiêu chất lượng đất, ở các vùng khác nhau Hải Dương, Sa Pa, Thanh Hóa, Đà Lạt và Hà Nội.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Điều tra lấy mẫu đất

Mẫu đất được lấy tại các điểm nghiên cứu thuộc đề tài nghiên cứu KC.10.07.02. Các mẫu đất được lấy theo đường chéo góc, mỗi mẫu lấy 9 điểm trên 2 đường chéo, trộn đều lấy mẫu hỗn hợp. Tại mỗi điểm được lấy 2 độ sâu 0-20 và 20-40 cm.

Bảng 1. **Các vùng lấy mẫu và đặc điểm loại đất**

Vùng lấy mẫu đất	Loại cây dược liệu	Mẫu đất		Đặc điểm loại đất
		Ký hiệu	Độ sâu(cm)	
Hải Dương	Cây ngưu tất	A1 A2	00-20 20-40	Đất phù sa sông Hồng

	Cây ích mẫu	B1 B2	00-20 20-40	Đất phù sa sông Hồng
Hà Nội	Cây cúc gai dài	HN1 HN2	00-20 20-40	Đất phù sa sông Hồng
	Cây lão quán thảo và ích mẫu	C2.1 C2.2	00-20 20-40	Đất phù sa sông Hồng
	Các loại cây thuốc khác	ĐT1 ĐT2	00-20 20-40	Đất phù sa sông Hồng
Sa Pa – Lào Cai	Cây actisô	A1 A2	00-20 20-40	Đất mùn feralit núi cao
	Cây lão quán thảo	L1 L2	00-20 20-40	Đất feralit núi cao
	Cây cúc gai dài	S1 S2	00-20 20-40	Đất feralit núi cao
Thanh Hóa	Cây ngưu tất	A1 A2	00-20 20-40	Đất phù sa sông Mã
	Cây ích mẫu	B1 B2	00-20 20-40	Đất phù sa sông Mã
	Cây ngưu tất và cây ích mẫu (HàTrung)	TH1(H.Tr) TH2(H.Tr)	00-20 20-40	Đất dốc tụ
Đà Lạt – Lâm Đồng	Cây actisô	A1 A2	00-20 20-40	Đất feralit trên đá badan
	Cây actisô	B1 B2	00-20 20-40	Đất feralit trên đá badan

2.2. Phương pháp phân tích

Phân tích các chỉ tiêu được tiến hành tại Phòng nghiên cứu Sử dụng đất - Viện Thổ nhưỡng Nông hóa.

Các chỉ tiêu phân tích theo phương pháp sau:

pHKCl (1:5) đo trên máy pH meter

Độ chua thuỷ phân	chuẩn độ
Al^{+++} di động	chuẩn độ
C tổng số	Walkley Black
N tổng số	Kejldalh
P_2O_5 tổng số	so màu
K_2O tổng số	Quang kế ngọn lửa
Lân dễ tiêu	Bray 2
Kali dễ tiêu	Quang kế ngọn lữa
Ca^{++}, Mg^{++} trao đổi	Đo trên hấp phụ nguyên tử (AAS)

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Độ chua của đất

Bảng 2. **Kết quả phân tích độ chua đất**

TT	Ký hiệu mẫu	pH_{KCl} (1:5)	Độ chua, meq / 100gđất	
			Độ chua thuỷ phân	Al^{+++} trao đổi
1	Hải Dương A1	4,56	0,162	0,333
2	Hải Dương A 2	4,45	0,162	0,166
3	Hải Dương B 1	4,75	0,121	0,166
4	Hải Dương B 2	5,10	0,121	0,250
5	Hà Nội 1 – Silybum	6,20	0,121	0,250
6	Hà Nội 2 – Silybum	6,35	0,121	0,166
7	Hà Nội C 2.1	6,50	0,262	0,250
8	Hà Nội C 2.2	6,55	0,323	0,333
9	Hà Nội ĐT1	5,60	0,330	0,834
10	Hà Nội ĐT2	5,75	0,166	0,712

11	Sa Pa A1	3,95	1,535	0,915
12	Sa Pa A 2	4,15	1,616	0,832
13	Sa Pa L1	5,10	0,323	0,166
14	Sa Pa L 2	5,05	0,121	0,208
15	Sa Pa S 1	5,35	0,121	0,166
16	Sa Pa S 2	5,50	0,121	0,250
17	Thanh Hoá A1	5,60	0,162	0,333
18	Thanh Hoá A 2	5,65	0,121	0,416
19	Thanh Hoá B 1	5,85	0,162	0,416
20	Thanh Hoá B 2	5,95	0,242	0,333
21	Thanh Hoá 1 (Hà Trung)	5,20	0,330	1,076
22	Thanh Hoá 2 (Hà Trung)	5,10	0,166	0,834
23	Đà Lạt A1	5,80	0,162	0,250
24	Đà Lạt A2	5,40	0,162	0,333
25	Đà Lạt B1	5,55	0,121	0,416
26	Đà Lạt B 2	5,60	0,162	0,250

Độ pH của đất thể hiện phản ứng của đất. Phản ứng này ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp đến sinh trưởng của cây. Đất quá chua hay quá kiềm đều tác hại đến hệ rễ, kìm hãm sức hấp thụ dinh dưỡng của cây. Kết quả phân tích được trình bày ở Bảng 2. Phân cấp đánh giá pH đất cho thấy hầu hết đất trồng cây thuốc tại các điểm nghiên cứu đều có giá trị pH thuộc giới hạn chua đến chua nhiều. Trong các nhóm đất, đất ở Sa Pa chua nhất, pH 3,95 - 4,15, tiếp đến là đất trồng cây thuốc ở Hải Dương có pH 4,45 - 5,10. Đất trồng HN1(Silybum), HN2 (Silybum) đất nghiên cứu cây thuốc ở Hà Nội C2 có phản ứng đất ít chua nhất, giá trị pH trong khoảng 6,2 - 6,55 thuộc loại đất trung tính.

Độ chua thuỷ phân (CTP) và độ chua trao đổi thể hiện qua hàm lượng Al^{+++} trao đổi trong các mẫu đất cũng thay đổi theo điều kiện từng vùng khác nhau. Trong số các mẫu phân tích, mẫu đất lấy ở Sa Pa có độ chua thuỷ phân và hàm lượng nhôm trao đổi cao hơn cả, tiếp đến là lấy đất ở Thanh Hóa 1, 2 (Hà Trung). Các mẫu đất lấy ở Hà Nội 1 (Silybum), Hà Nội 2 (Silybum) và Hà nội C2.1,

C2.2, thuộc hệ thống sông Hồng có phản ứng đất trung tính, nên hàm lượng nhôm trao đổi và độ chua thuỷ phân có phần thấp hơn so với các nhóm đất khác.

Xét về mức độ yêu cầu bón vôi cải tạo đất thì các mẫu đất ở Hải Dương, Sa Pa, Hà Trung – Thanh Hoá cần bón nhiều nhất. Nếu đất có hàm lượng sét cao (đất thịt nặng) có thể bón 600 kg đến 1,0 - 1,5 tấn vôi bột/ha/năm, trong vòng 2 - 3 năm liền, sau đó 1 - 2 năm mới bón tiếp, không nên bón đều liên tục. Nếu đất có thành phần cơ giới nhẹ (cát) có thể bón 5 - 6 tạ/ha/năm. Tuy nhiên, cũng có thể áp dụng kỹ thuật bón liên tục các năm để bổ sung dinh dưỡng calci, magnesi cho cây hàng năm, nhưng lượng bón cần ít hơn ở mỗi năm.

3.2. Hàm lượng các chất tổng số

Bảng 3. **Hàm lượng của một số chất tổng số trong đất**

TT	Ký hiệu mẫu	Hàm lượng tổng số (%)				Tỷ lệ C/N
		C	N	P_2O_5	K_2O	
1	Hải Dương A1	1,34	0,14	0,13	0,57	9,57
2	Hải Dương A2	1,11	0,12	0,13	0,52	9,41
3	Hải Dương B1	1,22	0,13	0,19	0,67	9,10
4	Hải Dương B2	1,79	0,13	0,23	0,67	13,36
5	Hà Nội 1 – Silybum	1,66	0,12	0,13	0,74	13,50
6	Hà Nội 2 – Silybum	0,83	0,11	0,12	1,31	7,43
7	Hà Nội C 2.1	1,36	0,14	0,13	1,40	9,72
8	Hà Nội C 2.2	1,27	0,11	0,12	1,41	11,30
9	Hà Nội ĐT1	1,03	0,10	0,31	0,97	10,82
10	Hà Nội ĐT2	0,84	0,07	0,24	1,20	12,48
11	SaPa A1	6,78	0,30	0,23	0,74	22,45
12	SaPa A2	6,08	0,34	0,21	0,55	17,78
13	SaPa L1	6,4	0,24	0,28	0,37	26,56
14	SaPa L2	3,84	0,24	0,29	0,34	16,34
15	SaPa S1	3,71	0,25	0,32	0,24	15,08
16	SaPa S2	4,22	0,24	0,3	0,31	17,96

17	Thanh Hoá A1	1,24	0,11	0,03	0,05	11,10
18	Thanh Hoá A2	0,86	0,08	0,03	0,08	10,20
19	Thanh Hoá B1	1,46	0,14	0,12	0,47	10,40
20	Thanh Hoá B2	1,45	0,12	0,07	0,09	11,80
21	Thanh Hoá 1 (Hà Trung)	2,06	0,12	0,3	0,06	16,74
22	Thanh Hoá 2 (Hà Trung)	1,74	0,09	0,2	0,06	19,52
23	Đà Lạt A1	1,73	0,24	0,43	0,03	7,35
24	Đà Lạt A2	3,26	0,25	0,5	0,02	13,10
25	Đà Lạt B1	2,24	0,11	0,14	0,02	19,99
26	Đà Lạt B 2	1,66	0,09	0,1	0,02	18,49

Các chất tổng số trong đất nói lên tiềm năng cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng, chúng phản ánh độ phì nhiêu tiềm tàng của đất. Một số yếu tố tổng số chính được phân tích và trình bày ở bảng 3.

Hàm lượng chất hữu cơ tổng số (C%) có trong các mẫu đất lấy ở Thanh Hoá, Hà Nội C2.1, C2.2 đạt mức nghèo. Trong đó, đất ở Thanh Hóa A1, Thanh Hóa A2, và đất lấy ở Đà Lạt (mẫu B1 và B2) có hàm lượng chất hữu cơ thấp nhất. Hàm lượng carbon tổng số trong chất hữu cơ đất đạt giá trị 1,66 - 2,06%. Điều đáng ngạc nhiên ở đây là các mẫu đất lấy ở Sa Pa có hàm lượng carbon của chất hữu cơ rất cao. Đặc biệt các mẫu Sa Pa A1, Sa Pa A2, Sa Pa L1, carbon tổng số trên 6%, ngang với đất rừng nguyên thuỷ hay đất rừng ẩm nhiệt đới.

Đạm tổng số trong đất phần lớn mẫu nghiên cứu thuộc đất trung bình đến hơi nghèo. Các mẫu phân tích đều có hàm lượng N tổng số đạt dưới 0,2%, trừ mẫu đất lấy ở Sa Pa A1, A2, hàm lượng N tổng số lên trên 0,2-0,3 %.

Tỷ lệ C/N phản ánh khả năng phân giải, tích luỹ chất hữu cơ của đất. Hầu hết các đất có tỷ lệ C/N dao động trong khoảng 9 - 15. Khoảng dao động này cho thấy sự phân giải hữu cơ tương đương với quá trình tích luỹ trong đất. Các mẫu lấy ở Sa Pa có tỷ lệ C/N khá cao, trên 15 - 20, có mẫu lên tới 26,56. Chứng tỏ đất ở đây có quá trình phân giải chất hữu cơ diễn ra chậm hơn sự tích luỹ. Điều này có thể do đất ở đây phân bố ở độ cao khá, có khí hậu lạnh là yếu tố quyết định ảnh hưởng đến quá trình tích luỹ hữu cơ của đất. Trong điều kiện khí hậu lạnh kìm hãm sự khoáng hóa, phân giải hữu cơ diễn ra chậm. Tuy nhiên, hữu cơ đất

phát triển trong điều kiện khí hậu lạnh này chủ yếu là hữu cơ thô, chất lượng mùn kém. Do đó cần có những biện pháp canh tác thích hợp để tạo điều kiện oxy hoá để tăng quá trình khoáng hóa được tốt hơn để khai thác độ phì nhiêu tự nhiên vốn có của đất.

Lân tổng số ở các mẫu Sa Pa A1, Sa Pa A2 đạt mức khá. Số còn lại đạt mức nghèo lân tổng số. Điều này cũng có thể cho nhận định rằng lân là một trong những yếu tố hạn chế dinh dưỡng đối với cây trồng nói chung trên các vùng sinh thái, đặc biệt đối với những đất trồng cây lấy rễ làm dược liệu.

Kali tổng số tất cả đạt mức nghèo đến rất nghèo, trừ các mẫu Hà Nội ĐT1, Hà Nội ĐT2 và Hà Nội C2.2 có hàm lượng kali tổng số khá hơn, nhưng cũng chỉ đạt mức trung bình. Vì vậy, trong các nguyên tố dinh dưỡng chính đã phân tích kali là yếu tố hạn chế lớn, tiếp đến là lân. Để đảm bảo chất lượng cây thuốc tốt hơn cần có biện pháp cân đối dinh dưỡng trong quá trình đầu tư phân bón cho cây.

3.3. Các cation trao đổi và lân, kali dễ tiêu trong đất

Khả năng trao đổi cation của đất được phản ánh gián tiếp qua kết quả phân tích 2 cation trao đổi chính trong đất là Ca^{++} và Mg^{++} (Bảng 4).

Bảng 4. **Các cation trao đổi và chất dễ tiêu**

TT	Ký hiệu mẫu	meq/100gđất		mg/100gđất	
		Ca^{++}	Mg^{++}	P_2O_5	K_2O
1	Hải Dương A1	3,88	2,72	16,74	4,52
2	Hải Dương A2	3,49	2,33	16,05	4,52
3	Hải Dương B1	4,27	3,10	21,74	7,53
4	Hải Dương B2	3,10	2,72	23,47	4,52
5	Hà Nội 1 - Silybum	6,60	3,49	12,16	7,53
6	Hà Nội 2 - Silybum	5,43	3,49	10,73	6,03
7	Hà Nội C 2.1	6,21	3,10	11,73	7,53
8	Hà Nội C 2.2	6,60	3,10	10,31	6,03
9	Hà Nội ĐT1	8,60	5,16	5,62	12,05
10	Hà Nội ĐT2	10,32	6,88	5,12	6,03

11	Sa Pa A1	2,33	1,94	6,00	27,11
12	Sa Pa A2	1,94	1,94	3,26	16,57
13	Sa Pa L1	2,72	2,33	5,53	15,06
14	Sa Pa L2	2,33	1,94	4,76	15,06
15	Sa Pa S 1	3,10	2,72	5,53	7,53
16	Sa Pa S 2	3,10	2,33	5,64	7,53
17	Thanh Hoá A1	1,55	1,16	8,19	1,51
18	Thanh Hoá A 2	1,94	1,16	8,48	3,01
19	Thanh Hoá B 1	5,04	2,72	18,27	12,05
20	Thanh Hoá B 2	3,10	2,33	22,96	4,52
21	Thanh Hoá 1 (Hà Trung)	10,32	8,60	12,84	7,53
22	Thanh Hoá 2 (Hà Trung)	8,60	6,88	8,84	6,03
23	Đà Lạt A1	2,72	3,10	27,49	12,05
24	Đà Lạt A2	2,33	1,16	27,75	6,03
25	Đà Lạt B 1	1,94	1,55	6,89	4,52
26	Đà Lạt B 2	1,55	1,16	9,89	4,52

Cation Ca^{++} và Mg^{++} trao đổi dao động trong phạm vi khá rộng, tuỳ thuộc vào loại đất khác nhau. So sánh giữa các đất lấy ở các vùng khác nhau thấy có sự biến động lớn về các cation trao đổi. Đất trồng cây dược liệu lấy ở Hải Dương, các cation này thay đổi từ 3,1 đến 4,2 meq (Ca^{++})/100g đất và cation Mg^{++} đạt giá trị 2,3-3,1 meq/100g đất. Các mẫu HN1 (Sylibum), HN2 (Sylibum) và Hà Nội C1.1, Hà Nội C1.2 có hàm lượng các ion trao đổi này khá cao. Ion Ca^{++} phân tích được hầu hết trên 5meq/100g đất, ion Mg^{++} thay đổi trong phạm vi trên 6 meq/100g đất. Trong các vùng sinh thái khác nhau thì đất lấy ở Đà Lạt có khả năng trao đổi các cation thấp nhất, tiếp đến là đất lấy ở SaPa, khá nhất là đất lấy ở Thanh Hóa và Hà Nội ĐT1, Hà Nội ĐT2.

Lân dễ tiêu phân tích theo phương pháp Bray 2, kết quả cho thấy hầu hết các đất có hàm lượng lân dễ tiêu đạt mức giàu. Có một số mẫu đạt trung bình được lấy ở Sa Pa và đạt mức thấp như mẫu lấy ở Sa Pa, Thanh Hóa. Các mẫu có hàm lượng lân dễ tiêu nghèo như Sa Pa A2, Đà Lạt B2.

Kali dễ tiêu trong đất thay đổi khá rộng trên các vùng sinh thái khác nhau. Kết quả thu được dao động trong phạm vi 1,51 đến 27,1 mg K_2O/100g đất. Các mẫu đất ở Thanh Hoá A1, A2 và B 2 có hàm lượng kali trao đổi thấp nhất.

IV. KẾT LUẬN

Trên các vùng sinh thái khác nhau, các loại đất trồng cây thuốc có sự khác nhau về tính chất hoá học. Phản ứng của đất phần lớn chua ít . Do đó nhu cầu bón vôi là không cao. Các đất có giá trị pH khoảng 5,6 đến trên 6 có thể không cần bón vôi, hoặc chỉ cần bón lượng vôi thấp từ 3 - 5 tạ/ha/vụ. Đất có giá trị pH thấp dưới 5 cần bón lượng khoảng 500 - 1000 kg vôi bột/ha.

Các chỉ tiêu đặc trưng cơ bản phản ánh tiềm năng dinh dưỡng (N, P_2O_5 và K_2O) của đất đối với cây thuốc phần lớn nghèo. Ngoại trừ các mẫu đất lấy ở Sa Pa có hàm lượng đạm tổng số trung bình đến khá cao. Đất lấy ở Hà Nội và Thanh Hóa có hàm lượng thấp hơn. Đây là những điểm cần lưu ý đạm đối với các cây thuốc, nhất là cây thu hoạch lá và thân làm dược liệu. Lượng đạm có thể bón thay đổi, tuỳ theo cây và mức độ đạm có trong đất ở mỗi vùng sinh thái. Đất ở Sa Pa có hàm lượng đạm tổng số khá cao, có thể bón lượng đạm ít, tránh lốp đổ trong lúc các yếu tố khác được đầu tư thấp. Trong đầu tư đạm cần chú ý ưu tiên cho cây lấy lá, thân. Hàm lượng lân và kali tổng số nghèo đến trung bình, lượng bón có thể thay đổi, tùy thuộc các loại đất ở các vùng trồng khác nhau. Lưu ý cây lấy củ cần ưu tiên kali nhiều hơn các cây trồng khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Bộ, (1993), Hiệu lực phân kali bón cho cây ngũ cốc ăn hạt trên các loại đất có hàm lượng kali tổng số khác nhau. Tuyển tập công trình NCKHKTNN, NXB. Nông nghiệp, tr. 108 - 114.
2. Hội khoa học Đất, (2000), Đất Việt Nam, NXB. Nông nghiệp.
3. Nguyễn Tử Siêm, Thái Phiên, (1998), Cải thiện độ phì nhiêu thực tế đất chua vùng đồi núi. Canh tác bền vững trên đất dốc ở Việt Nam, NXB. Nông nghiệp, tr.175-182.

ẢNH HƯỞNG CỦA HORMON THỰC VẬT TỚI QUÁ TRÌNH PHÁT SINH HÌNH THÁI CỦA CÂY VÂN MỘC HƯƠNG (*SAUSSUREA LAPPA* CLARKE) *IN VITRO*

Tạ Như Thục Anh

Viện Dược liệu

SUMMARY

Effect of plant regulator on morphogenesis of Saussurea lappa* Clarke *invitro.

Shoot tip were induced to develop into plantlets in medium cotaining MS-mineral and BAP or Kin or TDZ with concentration 1; 2; 3 mg/l All BAP, Kin, TDZ stimulate rate of propagation. Only TDZ have effect on shoot regeneration from callus. Explant display highest callus formation frequency on medium containing 2,4D or α-NAA. IBA was necessary for root formation.

Key words: *Saussurea lappa* Clarke ; organogenesis; medicinal plant.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vân mộc hương (*Saussurea lappa Clarke*) hay còn gọi là quảng mộc hương thuộc họ Cúc (*Asteraceae*) là cây thuốc đã được nhập giống từ Trung Quốc và di thực trồng trọt thành công ở Việt Nam. Theo kinh nghiệm y học cổ truyền, vân mộc hương được dùng làm thuốc chữa các bệnh đường tiêu hóa như đi lỏng, lỵ, đau bụng, nôn mửa, trướng bụng, khó tiêu, ngộ độc thức ăn và một số bệnh khác

Những năm gần đây, nhu cầu về vân mộc hương trong nước và trên thế giới ngày càng tăng, trong khi nguồn dược liệu này trong tự nhiên ngày càng cạn kiệt và diện tích trồng vân mộc hương đang dần bị thu hẹp. Nguyên nhân có tình trạng này là giống vân mộc hương bị thoái hóa, có chiều hướng ra hoa sớm, năng suất giảm, vì vậy làm giảm hiệu quả kinh tế đối với người trồng trọt. Do đó, việc phục tráng và thiết lập hệ thống sản xuất giống vân mộc hương có chất lượng cao là một nhu cầu cần thiết. Cho đến nay chưa có công trình nghiên cứu nào giải

quyết vấn đề này để ứng dụng vào sản xuất. Mặt khác, nếu nhập giống mới thì sau một thời gian nhất định chúng cũng bị thoái hóa do tác động của môi trường và các yếu tố. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu phục tráng giống để góp phần xây dựng hệ thống sản xuất giống vân mộc hương có chất lượng cao bắt nguồn từ nuôi cấy *in vitro*. Trên cơ sở đó chúng tôi tiến hành *"Nghiên cứu ảnh hưởng của hormon sinh trưởng thực vật tới quá trình phát sinh hình thái của cây vân mộc hương (Saussurea lappa* Clarke) *in vitro"* nhằm phục vụ cho công tác phục tráng này.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Cây vân mộc hương được nhập giống từ Trung Quốc, được thuần hóa và trồng rộng rãi ở Lào Cai. Giống vân mộc hương đang được lưu giữ tại Trạm nghiên cứu Cây thuốc Sa Pa - Viện Dược liệu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

+ Hạt được gieo vào đĩa Petri, các chồi được lấy từ hạt nảy mầm sau 10 đến 15 ngày. Mẫu nuôi cấy là các chồi và phần thân, lá, hypocotyl để nhân nhanh và tạo mô sẹo.

+ Mẫu được xử lý khử trùng bằng hóa chất và đưa vào nuôi cấy trong những điều kiện sau:

+ Môi trường nuôi cấy: Môi trường Murashige Skoog (1962) có cải tiến, được hấp dưới áp suất 0,8 kg/ cm^2 trong 40 phút.

+ Điều kiện nuôi cấy: Nhiệt độ phòng nuôi 25°C ±2; cường độ ánh sáng 2000 lux; độ ẩm 70%; thời gian chiếu sáng 14 giờ sáng/10 giờ tối.

Các thí nghiệm được bố trí kiểu ngẫu nhiên đầy đủ. Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của các chất thuộc nhóm cytokinin tới hệ số nhân chồi

Ở giai đoạn đầu, các chồi được đưa vào môi trường khởi động chỉ phát triển thành một chồi từ một mẫu. Vì vậy, để nghiên cứu ảnh hưởng của các chất thuộc nhóm cytokinin tới hệ số nhân chồi chúng tôi đã bổ sung vào môi trường nuôi

cấy BAP, TDZ, Kin theo các nồng độ 1,0; 2,0; 3,0 mg/l. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Ảnh hưởng của cytokinin đến số lượng chồi và sự sinh trưởng của cây**

Chỉ tiêu theo dõi CT	Số chồi/cây	Chiều cao TB/cây (cm)	Số lá TB/cây (lá)
1. MS + 1,0 mg/l TDZ	8,35	3,12	2,12
2. MS + 2,0 mg/l TDZ	12,6	2,75	2,75
3. MS + 3,0 mg/l TDZ	10,5	2,58	1,68
4.MS + 1,0 mg/l BAP	6,0	2,86	4,12
5. MS + 2,0 mg/l BAP	7,5	2,12	4,4
6. MS + 3,0 mg/l BAP	6,5	2,73	3,3
7. MS + 1,0 mg/l Kin	4,0	2,65	3,5
8. MS + 2,0 mg/l Kin	5,0	1,8	3,0
9. MS + 3,0 mg/l Kin	3,0	2,35	3,6

Bảng 1 cho thấy: Cả ba loại cytokinin (BAP, Kin, TDZ) đều có tác dụng kích thích hình thành chồi của vân mộc hương ở các mức độ khác nhau, mạnh nhất là TDZ, sau đó là BAP và yếu nhất là kinitin.

Tỷ lệ hình thành chồi tăng khi tăng nồng độ của các chất sinh trưởng tăng tới 2,0 mg/l, sau đó lại giảm đi với nồng độ 3,0 mg/l. Điều này chứng tỏ ở nồng độ 2,0 mg/l cân bằng chất điều hòa sinh trưởng đã nghiêng về hướng tạo chồi, kích thích hình thành chồi (12,5 ở CT 2 và 10,5 ở CT 3).

Như vậy, ở nồng độ 2,0 mg/l TDZ có tác dụng kích thích hình thành chồi mạnh nhất.

3.2. Ảnh hưởng của 2,4-D và α-NAA đến sự hình thành mô sẹo

Trong đường hướng tái sinh gián tiếp, mẫu nuôi cấy không tái sinh chồi ngay mà trước hết phát triển thành khối mô sẹo (callus). Sau đó các tế bào mô sẹo mới tái sinh thành cây thông qua con đường phôi hóa soma (Somatic embryogenesis) hoặc cơ quan hóa (organogenesis). Vì vậy, hệ số nhân của

con đường này vô cùng lớn. Để tạo nguồn nguyên liệu này, chúng tôi đã nghiên cứu bổ sung 2,4-D và α-NAA với các nồng độ từ 0,5m/l đến 2mg/l. Kết quả cho thấy ở bảng 2.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của 2,4-D và α-NAA đến sự hình thành mô sẹo**

CT	Môi trường	Tỉ lệ tạo mô sẹo sau (%)					
		10 ngày		20 ngày		30 ngày	
		Lá	Thân	Lá	Thân	Lá	Thân
1a	$MS_{\frac{1}{2}}$ + 0,5 mg/*l* α-NAA	0	0	69	77	100	97
1b	MS + 1,0 mg/*l* α-NAA	0	0	75	60	100	98
1c	MS + 1,5 mg/*l* α-NAA	0	0	77	57	100	98
1d	MS + 2,0 mg/*l* α-NAA	0	0	86	50	100	97
2a	MS + 0,5 mg/*l* 2,4-D	63	86	100	100	-	-
2b	MS + 1,0 mg/*l* 2,4-D	86	83	100	100	-	-
2c	MS + 1,5 mg/*l* 2,4-D	91	80	100	100	-	-
2d	MS + 2,0 mg/*l* 2,4-D	93	67	100	100	-	-

Như vậy:

Cả hai loại auxin (α-NAA; 2,4-D) đều có tác dụng kích thích hình thành mô sẹo với tỉ lệ khác nhau. 2,4-D có tác dụng mạnh hơn α-NAA và thời gian hình thành mô sẹo ở môi trường có 2,4-D là ngắn hơn.

Ở giai đoạn này bổ sung 2,4-D với nồng độ 1,0 mg/*l* vào môi trường phản biệt hóa sẽ kích thích tạo mô sẹo mạnh nhất và nhanh nhất.

Mô sẹo sơ cấp từ lá được cắt ra và tiếp tục nuôi ở môi trường có bổ sung α-NAA và 2,4-D có nồng độ 0,5 ; 1,0 ; 1 ; 1,5 và 2,0 mg/*l*. Kết quả được trình bày ở bảng 3, 4.

Bảng 3. **Ảnh hưởng của α-NAA tới sự phát triển của mô sẹo**

CT	Môi trường	Trọng lượng mô sẹo (trung bình 10 mẫu)		Tăng sinh (%)		Trạng thái
		Ban đầu (g)	Sau 10 tuần (g)	Khối lượng (g)	Tỷ lệ (%)	
1	MS + 0,5 mg/*l* α-NAA	0,287	0,459	0,172	59,9	Rắn xanh đậm
2	MS + 1,0 mg/*l* α-NAA	0,28	0,515	0,232	82,9	Rắn xanh
3	MS + 1,5 mg/*l* α- NAA	0,291	0,764	0,473	162,5	Rắn xanh nhạt
4	MS + 2,0 mg/*l* α- NAA	0,295	1,05	0,755	255,9	Vàng nhạt

Ở đây, ta thấy tốc độ phát triển của mô sẹo tăng dần lên theo hướng tăng nồng độ α-NAA. Trọng lượng mô sẹo tăng sau 10 tuần nuôi cấy cao nhất ở nồng độ 2 mg/l α-NAA (0,755 g) và thấp nhất ở nồng độ 0,5 mg/l α-NAA (0,172 g). Trạng thái của mô chuyển dần từ mầu xanh đậm sang xanh nhạt và vàng.

Bảng 4. **Ảnh hưởng của 2,4-D tới sự phát triển của mô sẹo**

CT	Môi trường	Trọng lượng mô sẹo (trung bình 10 mẫu)		Tăng sinh		Trạng thái
		Ban đầu (g)	Sau 10 tuần (g)	Khối lượng (g)	Tỷ lệ (%)	
1	MS + 0,5 mg/*l* 2,4-D	0,285	3,246	2,961	1038,9	Xốp trắng
2	MS + 1,0 mg/*l* 2,4-D	0,295	2,063	1,768	599,3	Xốp trắng
3	MS + 1,5 mg/*l* 2,4-D	0,289	1,909	1,620	560,6	Xốp đen
4	MS + 2,0 mg/*l* 2,4-D	0,286	1,787	1,510	527,9	Xốp đen

Kết quả nghiên cứu ở bảng 4 cho thấy: Khi nồng độ 2,4-D tăng dần ở các công thức thí nghiệm, trọng lượng mô sẹo sau 10 tuần lại giảm dần. Tỷ lệ tăng sinh ở môi trường có 0,5 mg/l 2,4-D là cao nhất (1038,9%) và ở môi trường 2,0 mg/l 2,4-D là thấp nhất (527,9%). Mô sẹo bị hóa đen và chết ở các môi trường có chứa 2,0 mg/l 2,4-D. Điều này có thể do nồng độ 2,4-D cao quá đã gây ức chế sinh trưởng của mô sẹo, làm mô sẹo bị đen và chết đi vì thế tỷ lệ tăng sinh bị giảm.

Tóm lại, nồng độ 2,0 mg/l α-NAA thích hợp nhất để nhân nhanh mô sẹo. Đây là môi trường có cân bằng cytokinin/auxin ở mức trung bình so với các môi trường khác trong thí nghiệm.

3.3. Tái sinh chồi từ mô sẹo

Mô sẹo được đưa vào các môi trường để tái sinh thành chồi. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. **Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến sự tái sinh chồi từ mô sẹo**

CT	Môi trường	Tỷ lệ hình thành chồi (%)	Số chồi/100 g mô sẹo
1	MS + 1 mg/*l* BAP	0	0
2	MS + 2 mg/*l* BAP	0	0
3	MS + 3 mg/*l* BAP	0	0
4	MS + 1 mg/*l* TDZ	5	1,2
5	MS + 2 mg/*l* TDZ	30	12,1
6	MS + 3 mg/*l* TDZ	20	15,2

Số chồi hình thành sau 45 ngày nuôi như trên là rất ít, vì vậy chưa thể khẳng định được môi trường phù hợp để tái sinh cây. Tuy nhiên có thể rút ra nhận xét là BAP không có tác dụng đối với việc tái sinh chồi. Còn TDZ đã tạo được cảm ứng tái sinh chồi. Môi trường có triển vọng hơn cả để tái sinh chồi là môi trường số 5, số 6. Các chồi thu được bằng con đường tái sinh gián tiếp được dùng để làm nguyên liệu chọn lọc các cá thể có đặc tính mong muốn cho sản xuất và được nhân nhanh, tạo cây hoàn chỉnh và đưa ra ngoài làm nguồn cây giống theo yêu cầu. Theo nguyên lý, auxin đặc biệt là 2,4-D có vai trò quyết định trong việc hình

thành phôi, còn cytokinin không đóng vai trò quan trọng trong quá trình phôi hóa nhưng lại quyết định sự tái sinh chồi (cơ quan hóa, Pierik, 1987). Từ đó có thể suy ra rằng quá trình tái sinh chồi từ mô sẹo của vân mộc hương diễn ra theo con đường cơ quan hóa/hình thành chồi phụ (organogenesis/adventituous shoot formation). Hơn nữa, bằng trực quan có thể thấy rõ điều này.

3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ĐHST tới sự ra rễ của cây vân mộc hương

Các chồi thu được ở giai đoạn nhân nhanh đều chưa có rễ. Khi chồi đạt đến một kích thước nhất định (0,5-1 cm), mẫu được chuyển sang môi trường tạo rễ. Ở đây chúng tôi đã bổ sung α-NAA; 2,4-D; IBA vào môi trường nuôi cấy. Kết quả thu được như sau:

Bảng 6. **Ảnh hưởng của auxin tới sự ra rễ của vân mộc hương**

CT	Môi trường	Tỷ lệ ra rễ sau cấy 21 ngày(%)	Số rễ TB/cây (cái)	Chiều dài rễ TB (cm)
0	MS	0	0	0
1	MS+1,0mg/*l* α-NAA	0	0	0
2	MS+2,0 mg/*l* α-NAA	0	0	0
3	MS+3,0 mg/*l* α-NAA	0	0	0
4	MS + 1,0 mg/*l* IBA	18	3	1,3
5	MS + 2,0 mg/*l* IBA	30	4	1,1
6	MS + 3,0 mg/*l* IBA	67	5	0,8
7	MS + 1,0 mg/*l* 2,4-D	0	0	0
8	MS + 2,0 mg/*l* 2,4-D	0	0	0
9	MS + 3,0 mg/*l* 2,4-D	0	0	0

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, ở các nồng độ 1,0; 2,0; 3,0 mg/*l* chỉ có IBA có tác dụng tới sự hình thành rễ của cây vân mộc hương.

Ở nồng độ 3,0mg/*l* IBA có tác dụng kích thích ra rễ mạnh nhất.

Nói tóm lại ở giai đoạn tạo rễ, môi trường thích hợp nhất là 3 mg/l IBA.

IV. KẾT LUẬN

* Cả ba loại cytokinin (BAP, Kin, TDZ) đều có tác dụng kích thích chồi của vân mộc hương với các mức độ khác nhau, mạnh nhất là TDZ, sau đó là BAP và yếu nhất là kinetin.

* Chỉ có TDZ có tác dụng kích thích tái sinh thành chồi từ mô sẹo.

* Cả α-NAA và 2,4-D đều có tác dụng kích thích hình thành mô sẹo với tỷ lệ khác nhau. 2,4-D có tác dụng mạnh hơn α-NAA và thời gian hình thành mô sẹo ở môi trường có 2,4-D là ngắn hơn.

- Bổ sung 2,4-D với nồng độ 1,0 mg/*l* vào môi trường phản biệt hóa để tạo mô sẹo là thích hợp nhất.

- Nồng độ 2,0 mg/*l* α-NAA thích hợp nhất để nhân nhanh mô sẹo, tạo nguyên liệu tái sinh cây.

* Ở các nồng độ 1,0; 2,0; 3,0 mg/*l* chỉ có IBA có tác dụng tới sự hình thành rễ của cây vân mộc hương.

- Nồng độ 3,0mg/*l* IBA có tác dụng kích thích ra rễ mạnh nhất

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích, Bùi Xuân Chương, (1980), Sổ tay cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học Hà Nội 542.
2. Bản tin dược liệu, (2004), tập III số 2, 61.
3. Bản tin dược liệu, (2002), số 1, tr3.
4. Bộ Y tế, 1983, Dược điển Việt Nam, in lần thứ nhất tập 2, NXB. Y học, Hà Nội, tr 240-242.
5. Bhojwani S.S, (1980), Factors affecting in vitro stage of micropropagation. Plant physiol., 65 (Suppl.) 90 (Abst).
6. Pierik R.L.M, (1987), In vitro culture of higher plant, 69.

sản xuất dược liệu actisô an toàn ». Trong bài viết này xin được giới thiệu «Ảnh hưởng của phân bón đến năng suất dược liệu actisô trồng ở Đà Lạt - Lâm Đồng ».

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp lô chính, lô phụ. Các công thức thí nghiệm được nhắc lại 4 lần, diện tích ô thí nghiệm là 30 m^2. Gồm 6 công thức phối hợp giữa hai yếu tố thí nghiệm A và B :

- Lô chính : Yếu tố A = nền phân hữu cơ /ha.

  A1 = 40 m^3, A2 = 60 m^3

- Lô phụ : Yếu tố B = Nền phân hoá học /ha.

  B1 = 400 N - 300 P_2O_5.

  B2 = 400 N - 400 P_2O_5

  B3 = 500 N - 300 P_2O_5

  B4 = 500 N - 400 P_2O_5

Nền phân chung của thí nghiệm:

- Phân Kali: 300 kg K_2O/ha (KCl).
- Phân vi lượng: Loại có chứa Mg, Mn, Cu, Fe, Mo.
- Phân lân hữu cơ vi sinh: 300kg/ha.

Phương thức bón:

- Bón lót: Toàn bộ vôi và lân HCVS, 1/2 phân chuồng, lân.
- Bón thúc: Chia đều N và kali còn lại bón 5 lần (ngừng bón trước khi có bông), phân chuồng và lân bón khi thúc lần 2.
- Phân vi lượng phun 4-5 ngày trước mỗi đợt thu lá, trước thu hoa và 2 tuần trước thu rễ, thân.

Các biện pháp chăm sóc khác được áp dụng đồng đều cho các công thức thực nghiệm và theo quy trình phổ biến tại địa phương.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Do thí nghiệm tiến hành trong thời vụ muộn, cây actisô sinh trưởng và phát triển trong thời gian ngắn (6 tháng), nên sinh trưởng còn hạn chế và cho năng suất thấp. Tuy nhiên, cây trổ bông đều và tỷ lệ trổ bông cao (90%).

Bảng 1. **Ảnh hưởng của các yếu tố thí nghiệm phân bón đến sức sinh trưởng, mức độ nhiễm bệnh, chiều cao cây, năng suất tươi của lá, bông, thân và rễ cây actisô (Thời vụ muộn 10/2001-2002)**

Công thức	SST (1-9đ)	ĐĐ (1-9đ)	CCC (cm)	NS lá (tấn/ha)	NS bông (tấn/ha)	NS thân (tấn/ha)	NS rễ (tấn/ha)
A1 = 40	6	4	52	35,70	13,87	7,56	12,50
A2 = 60	6	4	53	37,84	15,30	7,95	11,88
Prob			*ns*	*0,20*	*0,86*	*Ns*	*Ns*
B1=400-300	6	4	52	34,60b	13,70c	7,55b	11,86
B2=400-400	6	4	51	35,51b	13,78bc	7,64b	12,60
B3=500-300	6,5	4	54	39,35a	15,20ab	7,13b	12,22
B4=500-400	6,5	4	54	37,63ab	15,68a	8,70a	12,09
Prob			*Ns*	*0,71*	*0,01*	*0,02*	*ns*

Ghi chú: * SST: Sức sinh trưởng (1-9đ).

1đ - Sinh trưởng quá kém.

9đ - Sinh trưởng rất tốt.

* ĐĐ: Mức độ nhiễm bệnh đốm đen lá (1-9đ):

1đ - Cây nhiễm bệnh rất nhẹ (< 10% diện tích lá bị bệnh)

9đ - Cây bị nhiễm bệnh rất nặng, bộ lá hầu như bị cháy đen.

* CCC: Chiều cao cây.

* NS: Năng suất

* Trong cùng cột, các giá trị trung bình có cùng chữ cái không khác biệt nghĩa.

Kết quả trình bày ở bảng 1 cho thấy sức sinh trưởng, khả năng nhiễm bệnh đốm đen lá, chiều cao cây và năng suất rễ giữa các công thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Hay nói cách khác các công thức thí nghiệm phân bón không

có ảnh hưởng tới chiều cao cây và năng suất rễ. Điều này có thể giải thích, sau khi cây bén rễ điều kiện khí hậu khô lạnh, cây phát dục, ra hoa sớm đã ảnh hưởng trực tiếp tới sự phát triển chiều cao cây và hạn chế sự phát triển của bộ rễ.

Nhìn chung sức sinh trưởng và các công thức thí nghiệm bón phân chuồng ở mức 60 m^3/ha cho năng suất lá, bông, thân cao hơn ở mức 40 m^3/ha. Tuy nhiên, sự khác biệt năng suất thân không có ý nghĩa thống kê.

Khi so sánh 4 nền phân hoá học với nhau thấy: Bón phân đạm ở mức 400kg kết hợp với bón lân ở hai mức 300 kg và 400 kg cho năng suất lá và bông kém hơn một cách khác biệt so bón với phân đạm ở mức 500 kg kết hợp với bón lân ở hai mức 300 kg và 400 kg. Điều đó chứng tỏ khi tăng mức đạm từ 400 kg lên 500 kg đã làm tăng năng suất lá và bông actisô một cách rõ rệt. Tuy nhiên, sự cân đối giữa lượng đạm và lân cũng ảnh hưởng đáng kể tới sự sinh trưởng và phát triển của cây actisô. Khi bón đạm ở mức 500 kg/ha kết hợp với bón lân ở mức 300 kg/ha cây sinh trưởng lá và cây con mạnh, do đó năng suất lá và cây con đạt cao nhất 39,35 tấn/ha. Cây trong các công thức thí nghiệm bón ở nền phân hoá học trên có thân cao nhưng nhỏ vì vậy năng suất thân thấp nhất chỉ đạt 7,13 tấn/ha. Cùng bón mức đạm như nhau (500 kg/ha) nhưng kết hợp với bón lân ở mức 400 kg cho năng suất bông 15,68 tấn/ha và năng suất thân 8,7 tấn/ha cao hơn hẳn ba nền phân còn lại. Như vậy tùy thuộc vào mục đích sử dụng các bộ phận của cây mà sử dụng các loại phân bón một cách hợp lý để đạt được năng suất và hiệu quả kinh tế cao.

Bảng 2. **Sức sinh trưởng, mức độ nhiễm bệnh, chiều cao cây, năng suất (tính theo trọng lượng tươi) của lá, bông, thân và rễ actisô thí nghiệm phân bón, vụ muộn tháng 10/2001 - 2002**

Công thức	SST (1- 9đ)	ĐĐ (1-9đ)	CCC (cm)	NS lá (tấn/ha)	NS bông (tấn/ha)	NS thân (tấn/ha)	NS rễ (tấn/ha)
A1B1	6	4	49	32,85c	12,97c	6,53d	12,07
A1B2	6	4	51	34,33bc	13,58c	7,75bc	13,15
A1B3	6,5	4	55	38,83ab	14,47bc	7,00cd	12,32
A1B4	6,5	4	54	36,81abc	14,47bc	8,96a	12,47
A2B1	6,5	4	56	36,35abc	14,42bc	8,57ab	11,65

A2B2	6	4	50	36,69abc	13,97bc	7,52c	12,06
A2B3	6	4	53	39,87a	15,94ab	7,26cd	12,12
A2B4	6,5	4	54	38,45ab	16,88a	8,43ab	11,70
CV (%)	-	-	8,6	8,88	9,33	7,18	7,74

Ghi chú: Như bảng 1.

Bảng 2 cho thấy, sự tương tác giữa nền phân hữu cơ và nền phân hoá học cho hiệu quả rất khác nhau. Nền phân 40 m^3 phân chuồng + 400 kg N + 300 kg P_2O_5 cho chiều cao cây cũng như năng suất lá, cây con, bông và thân thấp nhất (chiều cao chỉ đạt 49 cm, năng suất lá 32,85 tấn/ha, năng suất bông 12,97 tấn/ha và năng suất thân 6,53 tấn/ha). Nền phân 60 m^3 phân chuồng + 500 kg N + 300 kg P_2O_5 cho năng suất lá, cây con cao nhất đạt 39,87 tấn/ha. Nền phân 60 m^3 phân chuồng + 500 kg N + 400 kg P_2O_5 cho năng suất bông cao nhất đạt 16,88 tấn/ha. Nền phân 40 m^3 phân chuồng + 500 kg N + 400 kg P_2O_5 cho năng suất thân cao nhất đạt 8,96 tấn/ha.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Khi tăng lượng phân chuồng từ 40 - 60 m^3/ha có tác dụng làm tăng năng suất lá và bông, nhưng không làm tăng năng suất thân và rễ.

- Bón phân đạm ở mức 500 kg/ha cho năng suất lá, bông và thân cao hơn hẳn so với bón phân đạm ở mức 400 kg/ha.

- Bón 500 kg N kết hợp với 300 kg P_2O_5 có hiệu quả cao trong việc sản xuất lá và có hiệu quả tương đối cao trong việc sản xuất bông actisô.

- Bón 500 kg N kết hợp với 400 kg P_2O_5 có hiệu quả cao trong việc sản xuất bông và thân actisô và có hiệu quả tương đối cao trong việc sản xuất lá actisô.

- Sự phối hợp các loại phân bón ở các mức khác nhau cho hiệu quả rất khác nhau:

+ Công thức thí nghiệm bón 60m^3 phân chuồng + 500kgN + 300kg P_2O_5 cho năng suất lá cao nhất đạt 39,87 tấn/ha.

+ Công thức thí nghiệm bón 60m^3 phân chuồng + 500kgN + 400kg P_2O_5 cho năng suất bông cao nhất đạt 16,88 tấn/ha.

+ Công thức thí nghiệm bón 40m^3 phân chuồng + 500kgN + 400kg P_2O_5 cho năng suất thân cao nhất đạt 8,96 tấn/ha.

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ PHẨM EM ĐẾN NĂNG SUẤT HẠT GIỐNG VÀ DƯỢC LIỆU NGƯU TẤT (*ACHYRANTHES BIDENTATA* BLUME)

Ngô Quốc Luật, Lê Khúc Hạo

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm 1980, giáo sư, tiến sỹ Teruo Higa đã đưa ra luận điểm vi sinh hữu hiệu (EM) đối với nông nghiệp cứu thế thiên nhiên. Do vậy nhóm các vi sinh vật (VSV) có ích đã được nuôi cấy và sử dụng như một phương thức tăng điều kiện đất đai chống bệnh do vi sinh vật và tăng cường hiệu quả sử dụng chất hữu cơ của cây trồng. Công nghệ này được chứng minh rất hữu hiệu. Hiệu quả của chế phẩm EM được thể hiện ở các mặt sau:

- Thúc đẩy sự nảy mầm, ra hoa, ra quả, sự chín của thực vật.
- Cải tạo về lý học, hoá học và sinh học của môi trường đất và ngăn chặn đất sinh ra bệnh và sâu hại.
- Làm tăng cường tính hiệu quả của chất hữu cơ như là các loại phân bón.

EM không phải là chất kích thích sinh trưởng, hoặc thuốc trừ sâu có nguồn gốc hoá học, mà là một chất cấy các vi khuẩn làm chức năng điều khiển sinh học nhưng không để lại tồn dư độc hại trong sản phẩm khi thu hoạch.

Để tìm hiểu tác động của EM đến một số cây thuốc chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: "*Ảnh hưởng của chế phẩm EM đến năng suất hạt giống và dược liệu ngưu tất*".

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống ngưu tất của Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.
- Chế phẩm EM_0 do Trung tâm Phát triển Công nghệ Việt - Nhật cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành thí nghiệm trên diện tích 120 m^2 với 4 công thức, 3 lần nhắc lại:

- Đối chứng: Phun nước lã
- Nồng độ: 0,1%
- Nồng độ: 0,2%
- Nồng độ: 0,3%

Các thí nghiệm được thực hiện vào 2 thời vụ, theo quy trình trồng cây ngưu tất của Viện Dược liệu, với định kỳ 10 ngày phun 01 lần.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3. 1. Ảnh hưởng của chế phẩm EM đến năng suất hạt giống ngưu tất

Bảng 1. **Ảnh hưởng của chế phẩm EM đến năng suất hạt giống ngưu tất**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số cành/cây (cành)	N/suất hạt/ô (g)	Tỷ lệ mọc (%)
CT-I (ĐC)	70,5	6,3	3,41	64,0
CT-II	86,0	8,5	5,04	69,0
CT-III	91,6	11,6	5,73	76,0
CT-IV	96,0	13,0	3,85	71,0

Bảng 1 cho thấy tác động của EM đối với chiều cao, số cành của ngưu tất giống theo chiều thuận. Khi nồng độ EM tăng từ 0 - 0,3 % thì chiều cao cây tăng từ 70,5 - 96,0 cm và số cành tăng lên 13 cành/cây. Như vậy, EM đã kích thích sự sinh trưởng của cây.

Đối với năng suất hạt giống, nồng độ EM 0,2 % cho năng suất cao nhất 5,73 g/ô; khi nồng độ EM lên 0,3 % năng suất bắt đầu giảm. Tỷ lệ mọc của hạt cũng tương tự, cao nhất của công thức 3 nồng độ EM là 0,2 % theo chúng tôi đây là sự cân bằng giữa sinh trưởng và phát triển của cây. Những cây lấy hạt khi sinh trưởng mạnh về chiều cao, ra nhiều cành thường có số hạt trên cành thấp, nhiều hạt lép, non dẫn đến năng suất hạt, tỷ lệ mọc của hạt kém.

3.2. Ảnh hưởng của chế phẩm EM đến năng suất dược liệu ngưu tất

Từ tháng 10/2001 đến tháng 3/2002, chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm ảnh hưởng của chế phẩm EM đến năng suất dược liệu cây ngưu tất. Kết quả thu được thể hiện trên bảng 2.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của chế phẩm EM đến năng suất dược liệu ngưu tất.**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài củ (cm)	Đường kính củ (cm)	N/s cá thể tươi (g)	N/s cả ô (kg khô/ô)
CT-I (ĐC)	67,0	24,1	0,45	12,0	2,40
CT-II	79,0	28,2	0,91	17,0	3,51
CT-III	87,0	26,2	0,86	16,0	3,30
CT-IV	91,0	25,0	0,65	15,0	3,10

Bảng 2 cho thấy, cũng như trồng lấy hạt giống, khi xử lý EM đối với ngưu tất thu dược liệu, chiều cao cây tỷ lệ thuận với nồng độ EM.

EM có tác dụng rõ rệt đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của dược liệu ngưu tất. Trong đó, ở công thức 2 và 3 cho năng suất cao nhất và tương đương nhau, và năng suất có chiều hướng dừng lại với công thức 4.

IV. KẾT LUẬN

Sau một vụ tiến hành xử lý EM đối với cây ngưu tất trồng lấy hạt giống và dược liệu, bước đầu nhận xét như sau:

- Chế phẩm EM đã có tác động rõ rệt đối với cây ngưu tất, EM đã kích thích quá trình sinh trưởng và phát triển của cây dẫn đến nâng cao năng suất hạt giống và dược liệu cây ngưu tất.

- Nồng độ EM thích hợp với cây lấy hạt giống là 0,2 %. Cây lấy dược liệu là từ 0,1 - 0,2 %.

Đề nghị

1. Tiếp tục nghiên cứu khảo nghiệm trên cây ngưu tất với mức độ và diện tích lớn hơn.

2. Nghiên cứu thăm dò và mở rộng thí nghiệm trên các loài cây thuốc khác để ứng dụng vào thực tiễn sản xuất.

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

Phạm Văn Ý và cs. *- Viện Dược liệu*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiên cứu đặc điểm sinh học của hạt giống không những giúp cho việc lựa chon thời vụ gieo trồng hợp lý mà còn góp phần làm giảm giá thành sản xuất cây giống nhờ việc làm tăng tỷ lệ và rút ngắn thời gian mọc mầm của hạt.

Nhiệt độ là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự mọc mầm của hạt giống. Mỗi loại cây trồng khác nhau có những yêu cầu nhiệt độ mọc mầm khác nhau. Người ta đã xác định được nhiệt độ tối thiểu để hạt hành mọc mầm là 2^0C, cà rốt là 5^0C và của các loại rau mùa nóng là 15^0C [1].v.v...

Đối với cây thuốc, đã xác định được nhiệt độ mọc mầm tối ưu của hạt giống cúc gai là 25^0C, hạt giống vân mộc hương là 30^0C và hạt giống lão quan thảo là 20^0C [6].

Để tiếp tục tìm hiểu về vấn đề này, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu *Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của các cây thuốc đương quy, bạch chỉ, kim tiền thảo và cà gai leo.*

Những cây thuốc này đã và đang có nhu cầu sử dụng trong nước và xuất khẩu, hoặc đang nghiên cứu tạo thuốc mới để phòng và chữa bệnh hiểm nghèo, như thuốc HAINA chiết xuất từ cây cà gai leo dùng để điều trị viêm gan B mạn hoạt động, có tác dụng giảm nhanh các triệu chứng lâm sàng, transaminase và bilirubin về bình thường nhanh hơn[4], hoặc thuốc kim tiền thảo dùng để phòng và điều trị bệnh sỏi thận đã được người tiêu dùng biết đến, thuốc angala chiết xuất từ cây đương quy có tác dụng hỗ trợ trong điều trị ung thư bằng hoá chất và trị xạ, có tác dụng bổ trợ cho cơ thể phục hồi sớm các dòng tế bào máu, bạch cầu, tiểu cầu và các tế bào lympho T, tăng cường miễn dịch cho cơ thể [5].

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Hạt giống đương quy (*Angelica acutiloba* Kitagawa) do Trạm nghiên cứu Cây thuốc Sa Pa cung cấp.

- Hạt giống bạch chỉ (*Angelica dahurica* Benth.et Hook.), hạt giống kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium* (Osb.) Merr.) và hạt cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour.) của Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

- Hạt giống kim tiền thảo được xử lý bằng hoá chất trước khi tiến hành thí nghiệm.

- Các loại hạt giống được gieo trên giấy lọc bão hoà nước, trong hộp Petri.

Mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần gieo 100 hạt. Nhiệt độ xử lý là: 15^0C, 20^0C, 25^0C, 30^0C và 35^0C.

- Tỷ lệ nảy mầm được theo dõi vào các thời điểm: 3, 6, 9, 12 và 15 ngày sau khi gieo.

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

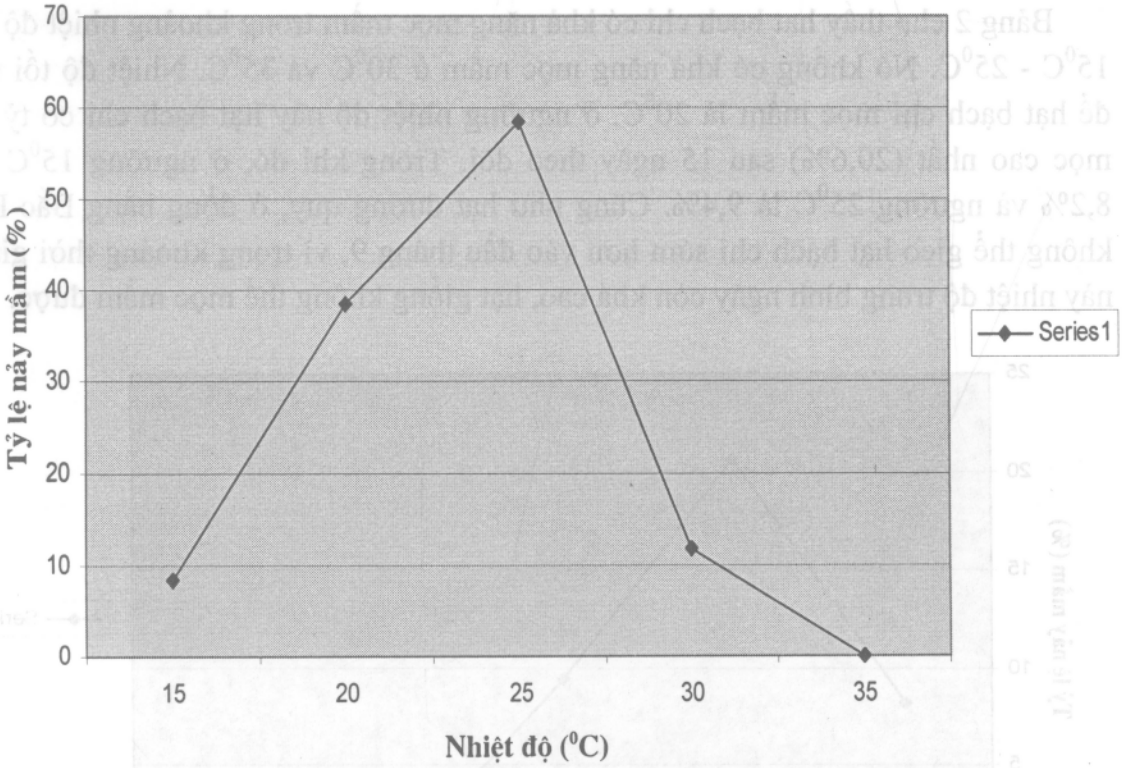
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nghiên cứu về hạt giống đương quy (*Angelica acutiloba* Kitagawa)

Bảng 1. **Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của hạt giống đương quy**

Nhiệt độ (^{0}C)	Tỷ lệ mọc mầm của hạt giống (%)				
	3 ngày	6 ngày	9 ngày	12 ngày	15 ngày
15	0	0	0	2,0	8,5±2,1
20	0	0	14,6±3,2	34,3±3,3	38,3±3,1
25	0	18,4±3,6	36,2±4,1	52,6±4,6	58,4±4,3
30	0	0	8,6±2,2	9,9±2,5	11,9±2,7
35	0	0	0	0	0

Bảng 1 cho thấy hạt đương quy không thể mọc mầm sau 3 ngày ở tất cả các ngưỡng nhiệt độ nghiên cứu. Nó có khả năng mọc mầm trong khoảng nhiệt độ từ 15 - 30^{0}C, nhiệt độ tối ưu để hạt đương quy mọc mầm là 25^{0}C (đồ thị 1), sau 6 ngày hạt đã bắt đầu mọc mầm, trong khi đó ở các ngưỡng khác chưa mọc. Tỷ lệ mọc mầm đạt cao nhất là 58% sau 15 ngày, cao hơn hẳn so với các công thức khác. Ở ngưỡng nhiệt độ 20^{0}C và 30^{0}C sau 9 ngày hạt bắt đầu mọc mầm, nhưng ở ngưỡng 15^{0}C phải mất 12 ngày. Kết quả còn cho thấy hạt đương quy không thể mọc mầm ở nhiệt độ 35^{0}C. Điều này đã chứng minh cho thực tế là ở đồng bằng Bắc Bộ không thể gieo hạt đương quy sớm hơn vào đầu tháng 9, nếu như muốn gieo sớm để kéo dài thời gian sinh trưởng sinh dưỡng, tăng khả năng tích luỹ chất khô, cần phải có biện pháp xử lý nhiệt độ thích hợp.



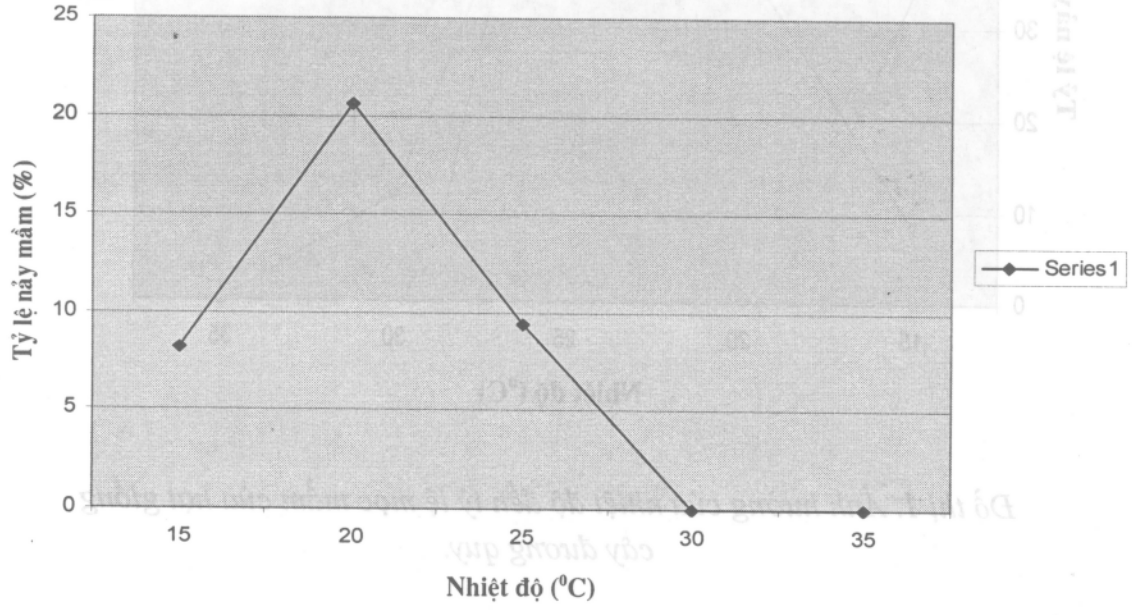
Đồ thị 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây đương quy.

3.2. Nghiên cứu về hạt giống cây bạch chỉ (*Angelica dahurica* Benth.)

Bảng 2. **Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây bạch chỉ**

Nhiệt độ (^{0}C)	Tỷ lệ mọc mầm của hạt giống (%)				
	3 ngày	6 ngày	9 ngày	12 ngày	15 ngày
15	0	0	0	0	8,2±2,5
20	0	0	0	8,0±2,2	20,6±3,1
25	0	0	0	4,6±1,5	9,4±2,5
30	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0

Bảng 2 cho thấy hạt bạch chỉ có khả năng mọc mầm trong khoảng nhiệt độ từ 15^{0}C - 25^{0}C. Nó không có khả năng mọc mầm ở 30^{0}C và 35^{0}C. Nhiệt độ tối ưu để hạt bạch chỉ mọc mầm là 20^{0}C, ở ngưỡng nhiệt độ này hạt bạch chỉ có tỷ lệ mọc cao nhất (20,6%) sau 15 ngày theo dõi. Trong khi đó, ở ngưỡng 15^{0}C là 8,2% và ngưỡng 25^{0}C là 9,4%. Cũng như hạt đương quy, ở đồng bằng Bắc Bộ không thể gieo hạt bạch chỉ sớm hơn vào đầu tháng 9, vì trong khoảng thời gian này nhiệt độ trung bình ngày còn khá cao, hạt giống không thể mọc mầm được.



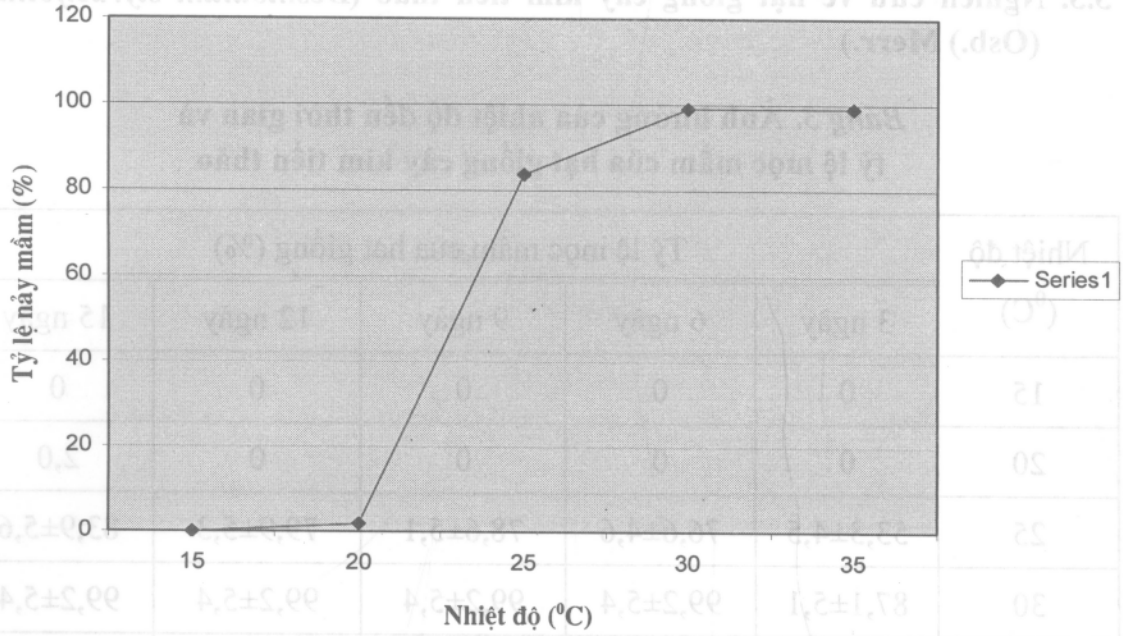
Đồ thị 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây bạch chỉ

3.3. Nghiên cứu về hạt giống cây kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium* (Osb.) Merr.)

Bảng 3. **Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây kim tiền thảo**

Nhiệt độ (^{0}C)	Tỷ lệ mọc mầm của hạt giống (%)				
	3 ngày	6 ngày	9 ngày	12 ngày	15 ngày
15	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	2,0
25	53,3±4,5	76,6±4,6	78,6±5,1	79,9±5,3	83,9±5,6
30	87,1±5,1	99,2±5,4	99,2±5,4	99,2±5,4	99,2±5,4
35	87,2±5,7	99,2±5,2	99,2±5,2	99,2±5,2	99,2±5,2

Bảng 3 cho thấy: Sau 15 ngày, hạt kim tiền thảo không thể mọc mầm ở 15^{0}C, nó có thể mọc mầm được ở 20^{0}C nhưng tỷ lệ rất thấp (2%). Nhiệt độ thích hợp để hạt kim tiền thảo mọc mầm là từ 25^{0}C - 35^{0}C (trong các khoảng nhiệt độ nghiên cứu). Tuy nhiên, nhiệt độ tối ưu để hạt kim tiền thảo mọc mầm là 30^{0}C -35^{0}C (đồ thị 3) . Ở trong khoảng nhiệt độ này, chỉ sau 3 ngày hạt đã mọc hơn 87% và sau 6 ngày đã mọc xong hoàn toàn. Ở ngưỡng 25^{0}C, tỷ lệ mọc thấp hơn rất nhiều 53% sau 3 ngày và 83% sau 15 ngày. Ở nhiệt độ thấp, tỷ lệ mọc mầm thấp và thời gian mọc mầm kéo dài. Đối với hạt kim tiền thảo, không nên gieo hạt vào cuối mùa thu đầu mùa đông, vì trong khoảng thời gian này nhiệt độ thường thấp, làm ảnh hưởng đến thời gian và tỷ lệ nảy mầm của hạt. Đây là yếu tố quan trọng trong việc xác định thời vụ nghiên cứu và trồng cây kim tiền thảo để tránh sự lãng phí về hạt giống, vật tư nông nghiệp và sức lao động.



Đồ thị 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây kim tiền thảo

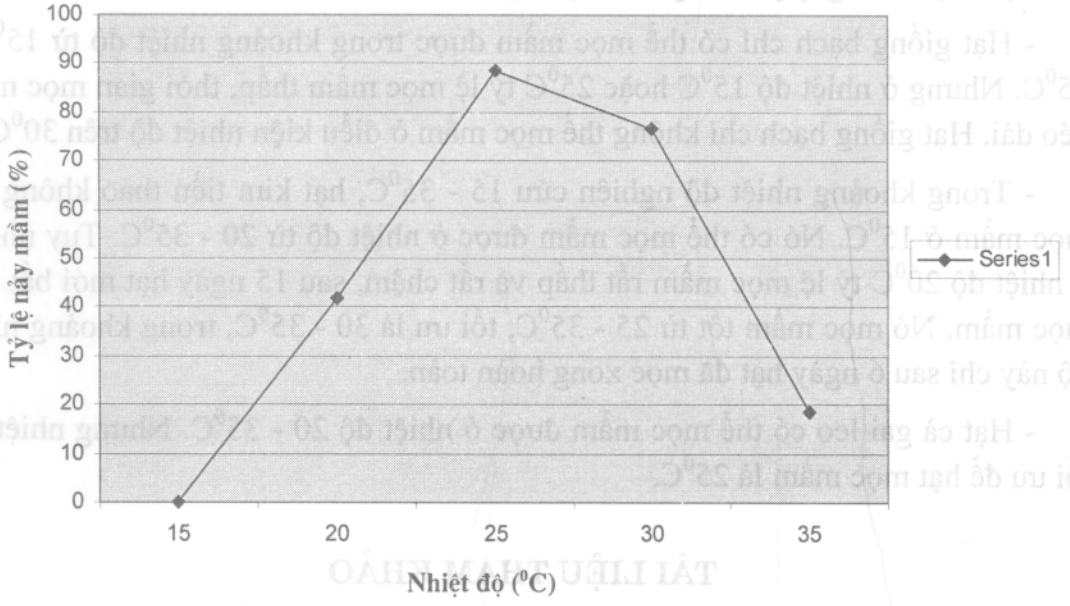
3.4. Nghiên cứu về hạt cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour.)

Bảng 4. **Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây cà gai leo**

Nhiệt độ (⁰C)	Tỷ lệ mọc mầm của hạt giống (%)				
	3 ngày	6 ngày	9 ngày	12 ngày	15 ngày
15	0	0	0	0	0
20	0	0	1,3	4,6	41,9±3,5
25	0	8,0±2,2	72,0±4,2	83,3±4,3	88,6±5,2
30	0	29,3±3,1	71,3±4,4	75,9±4,6	76,5±4,3
35	0	4,0	8,6±2,5	13,2±2,5	18,5±3,1

Bảng 4 cho thấy: Cũng như hạt kim tiền thảo, hạt cà gai leo không thể mọc mầm ở 15⁰C (sau 15 ngày theo dõi). Nó có khả năng mọc mầm trong khoảng nhiệt độ từ 20⁰C - 35⁰C. Tuy nhiên, nhiệt độ tối ưu để hạt cà gai leo mọc mầm là 25⁰C (đồ thị 4). Trong khoảng nhiệt độ này chỉ sau 6 ngày hạt đã bắt đầu mọc

mầm, và sau 15 ngày có tỷ lệ mọc mầm cao nhất (88,6%). Trong khi đó ở ngưỡng nhiệt độ 20^{0}C là 41,9% và ở ngưỡng 35^{0}C là 18,5%.



Đồ thị 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tỷ lệ mọc mầm của hạt giống cây cà gai leo

Tóm lại: Qua việc nghiên cứu đặc điểm sinh học của một số loại hạt giống cây thuốc, chúng tôi nhận thấy: Mỗi loại hạt giống có những yêu cầu nhiệt độ mọc mầm khác nhau. Những loại hạt giống của những cây có nguồn gốc ôn đới, thường có yêu cầu nhiệt độ thấp hơn hạt giống của những cây có nguồn gốc nhiệt đới. Cụ thể ở đây, hạt giống bạch chỉ và hạt giống đương quy có nhiệt độ mọc thấp hơn hạt giống kim tiền thảo và hạt giống cà gai leo. Tuy nhiên mỗi loại cây trồng cũng có ngưỡng nhiệt độ tối ưu khác nhau. Nếu nhiệt độ quá nóng hoặc quá lạnh đều ảnh hưởng đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của hạt.

Xác định được nhiệt độ tối ưu với từng loại hạt giống có ý nghĩa to lớn trong việc dịch chuyển thời vụ bằng cách xử lý nhiệt độ để gieo trái vụ, nhằm mang lại hiệu quả cao trong công nghệ sản xuất cây giống, cung cấp cho quá trình sản xuất giống hoặc sản xuất dược liệu hàng hoá.

IV. KẾT LUẬN

- Hạt giống đương quy có thể mọc mầm tốt trong khoảng nhiệt độ từ 20 - 25^{0}C (nhiệt độ nghiên cứu từ 15 - 35^{0}C và thời gian theo dõi là 15 ngày).

Tuy nhiên, nhiệt độ tối ưu để hạt đương quy mọc mầm là 25^{0}C. Nhiệt độ lạnh là 15^{0}C hoặc nhiệt độ nóng là 30^{0}C đều ảnh hưởng đến thời gian và tỷ lệ nảy mầm của hạt. Hạt đương quy không thể mọc mầm được ở điều kiện nhiệt độ 35^{0}C.

- Hạt giống bạch chỉ có thể mọc mầm được trong khoảng nhiệt độ từ 15^{0}C - 25^{0}C. Nhưng ở nhiệt độ 15^{0}C hoặc 25^{0}C tỷ lệ mọc mầm thấp, thời gian mọc mầm kéo dài. Hạt giống bạch chỉ không thể mọc mầm ở điều kiện nhiệt độ trên 30^{0}C.

- Trong khoảng nhiệt độ nghiên cứu 15 - 35^{0}C, hạt kim tiền thảo không thể mọc mầm ở 15^{0}C. Nó có thể mọc mầm được ở nhiệt độ từ 20 - 35^{0}C. Tuy nhiên, ở nhiệt độ 20^{0}C tỷ lệ mọc mầm rất thấp và rất chậm, sau 15 ngày hạt mới bắt đầu mọc mầm. Nó mọc mầm tốt từ 25 - 35^{0}C, tối ưu là 30 - 35^{0}C, trong khoảng nhiệt độ này chỉ sau 6 ngày hạt đã mọc xong hoàn toàn.

- Hạt cà gai leo có thể mọc mầm được ở nhiệt độ 20 - 35^{0}C. Nhưng nhiệt độ tối ưu để hạt mọc mầm là 25^{0}C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mai Phương Anh, Trần Văn Lài, Trần Khắc Thi, (1996), Rau và nghề trồng rau, NXB. Nông nghiệp.
2. R.M.Klein và D.T.Klein, 1979, Phương pháp nghiên cứu thực vật, tập 1, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
3. Vũ Văn Vụ, Hoàng Đức Cự, Vũ Thanh Tâm, Trần Văn Lài, (1993), Sinh lý thực vật, Giáo trình cao học, NXB. Nông nghiệp.
4. Nguyễn Minh Khai và cs., (2001), Nghiên cứu điều chế thuốc HAINA điều trị viêm gan B mãn hoạt động từ cà gai leo (*Solanum hainanense* Hance), Kỷ yếu công trình, Viện Dược liệu, NXB. Khoa học và Kỹ thuật.
5. Nguyễn Gia Chấn và cs., (2001), Kết quả thử tác dụng kích thích miễn dịch của thuốc angala trên lâm sàng - Kỷ yếu công trình, Viện Dược liệu, NXB. Khoa học và Kỹ thuật.
6. Phạm Văn Ý, (2001), Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian và tỷ lệ mọc mầm của một số loại hạt giống cây thuốc di thực - Tạp chí Dược liệu, tập 6, số 6/2001.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG LÊN TỶ LỆ NẢY MẦM CỦA MỘT SỐ LOẠI HẠT GIỐNG CÂY THUỐC

Nguyễn Thị Thư và cs. - Viện Dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vào đầu thế kỷ 20, khi nghiên cứu bệnh lúa von, các nhà khoa học đã phát hiện ra chất sinh trưởng thực vật tồn tại tự nhiên *(Euchikurossawa 1926) do nấm ký sinh giberella fuzikurroi gây ra* gọi là *giberellin.* Yabuta (1934) đã kết tinh được chất có hoạt tính kích thích sinh trưởng này gọi là acid giberellic *(GA_3).*

Những năm trước đây chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của giberellin (GA_3) lên tỷ lệ nảy mầm của các loại hạt xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees.), sả hoa hồng (*Cymbopogon martini* Stapf. var. motia), trạch tả (*Alisma plantago-aquatica* L.), đương quy (*Angelica acutiloba* Kitagawa), lão quan thảo (*Geranium nepalense* Sieb et Zucc. var. *thunberghii*), cát cánh (*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.) và đã thu được kết quả nhất định. Năm 2002, chúng tôi tiếp tục hướng nghiên cứu trên với đề tài :

"Nghiên cứu ảnh hưởng của chất giberellin (GA_3), nước oxy già (H_2O_2), QN_1 lên tỷ lệ nảy mầm của hạt bạch chỉ (*Angelica dahurica*), kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium*) và hạt ngưu tất (*Achyranthes bidentata*)"

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNGPHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Nghiên cứu ảnh hưởng của 3 chất kích thích sinh trưởng H_2O_2 , QN_1,GA_3 (ký hiệu I, II, III) ở nồng độ 2g/lít và thời gian xử lý là 24 giờ tới tỷ lệ nảy mầm của 3 loại hạt trên.

2 .2. Phương pháp nghiên cứu

- Số lượng hạt xử lý mỗi mẫu là 200 hạt. Mỗi 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, dùng công thức so sánh 2 tỷ lệ.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Năm 1999 đề tài nghiên cứu ảnh hưởng của 3 nồng độ và 4 thời gian xử lý chất GA_3 đối với hạt xuyên tâm liên đã cho kết quả tốt. Chất GA_3 đã làm tăng tỷ lệ mọc của hạt xuyên tâm liên lên 15,5% so với đối chứng. Năm 2000, với 3 nồng độ và 4 thời gian xử lý trên chúng tôi nghiên cứu ảnh hưởng đối với hạt hương nhu trắng, trạch tả và sả hoa hồng.

Chất kích thích sinh trưởng GA_3 sau khi xử lý hạt sả hoa hồng, hương nhu trắng, trạch tả đã làm tăng tỷ lệ mọc lần lượt là 38,82%; 43,8% và 80,47 % so với đối chứng.

Thời gian xử lý khác nhau dẫn đến tỷ lệ mọc của hạt khác nhau như sau:

- Hạt hương nhu trắng thời gian xử lý III (sau 48 giờ) tăng tỷ lệ mọc cao nhất 71.63 % so với đối chứng.

- Hạt sả hoa hồng - thời gian xử lý II (sau 24 giờ) cho tỷ lệ mọc cao nhất tăng 72,64% so với đối chứng.

- Hạt trạch tả - thời gian xử lý IV (sau 72 giờ) cho kết quả cao nhất tăng 25% so với đối chứng.

- Năm 2001, chất kích thích sinh trưởng GA_3 sau khi xử lý hạt cát cánh, lão quan thảo đã làm tăng tỷ lệ mọc lần lượt là 15% và17,5% so với đối chứng.

- GA_3 đã làm tăng số lượng hoa, quả/cây, khối lượng quả tươi/ôTN và khối lượng hạt/ô TN. của cát cánh (thu số liệu lúc cây ra hoa, quả đợt 1)

Thời gian xử lý khác nhau không dẫn đến tỷ lệ mọc của hạt khác nhau.

- GA_3 không làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt Đương quy mà trái lại còn làm giảm tỷ lệ mọc của hạt .

* Kết quả xử lý hạt ngưu tất năm 2002.

Hạt ngưu tất thu tháng 7/2002. Ngày 29/8/2002 xử lý hạt với 3 chất kích thích sinh trưởng H_2O_2 , QN_1,GA_3 (ký hiệu I, II, III) nồng độ 2 g/*l*, thời gian xử lý 24 giờ (so với đối chứng IV). Kết quả theo dõi tỷ lệ mọc của hạt trong phòng thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. **Tỷ lệ nảy mầm của hạt ngưu tất trong phòng**

Công thức	Thời gian xử lý	Thời gian bắt đầu mọc (ngày)	Tỷ lệ mọc (%)	Chênh lệch (%) so với ĐC
I	29/8/2002	4	79,0±1,0	+27,0
II	29/8/2002	4	75,0±1,0	+23,0
III	29/8/2002	4	60,3±1,15	+8,3
IV	29/8/2002	4	52,0±2,6	

Hạt ngưu tất sau khi xử lý với 3 chất kích thích sinh trưởng H_2O_2 , QN_1, GA_3 (ký hiệu I ,II ,III) chất GA_3 ở nồng độ 2 g/lít, trong thời gian 24 giờ đã làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt lần lượt ở công thức I là 27%, công thức II là 23% và công thức III là 8,3% so với đối chứng và tăng (%) lên so với đối chứng lần lượt ở các công thức là 54,92%, 44,23% và 15,38%.

Kết quả theo dõi tỷ lệ sống của cây ngưu tất sau khi mọc mầm được trồng ra bầu cho đến khi ra lá thật thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. **Tỷ lệ sống của hạt ngưu tất**

Công thức	Thời gian xử lý	Thời gian bắt đầu ra lá thật (ngày)	Tỷ lệ sống (%)	Chênh lệch (%) so với ĐC
I	5/9/2002	6	93,0±2,0	-2,6
II	5/9/2002	6	92,3±0,5	-3,3
III	5/9/2002	6	95,6±2,0	0,0
IV	5/9/2002	6	95,6±0,5	

Tỷ lệ sống của hạt sau khi xử lý nảy mầm đến khi ra lá thật ở các công thức từ 92,3% đến 95,56%, cả 2 công thức I, II đều giảm so với đối chứng là 2,11 và 3,46% và công thức III có tỷ lệ sống bằng tỷ lệ sống của công thức đối chứng.

**** Kết quả xử lý hạt kim tiền thảo***

Hạt kim tiền thảo sau khi xử lý với 3 chất kích thích sinh trưởng H_2O_2, QN_1,GA_3 (ký hiệu I ,II ,III) ở nồng độ 2 g/*l*, trong thời gian 24 giờ cho kết quả ở bảng 3.

Bảng 3. **Tỷ lệ nảy mầm của hạt kim tiền thảo trong phòng**

Công thức	Thời gian xử lý	Thời gian bắt đầu mọc (ngày)	Tỷ lệ mọc (%)	Chênh lệch (%) so với ĐC
I	13/9/2002	11	17,0±1,73	-2,6
II	13/9/2002	11	25,3±1,52	+5,7
III	13/9/2002	11	23,0±2,00	+3,4
IV	13/9/2002	11	19,6±1,52	

Bảng 3 cho thấy hạt kim tiền thảo sau khi xử lý chất kích thích đều bắt đầu nảy mầm sau 11 ngày ở các công thức. Tỷ lệ nảy mầm của hạt ở công thức I (xử lý hạt với nước oxy già) làm giảm tỷ lệ nảy mầm xuống 2,6% so với đối chứng. Công thức II (xử lý hạt với QN_1) làm tăng tỷ lệ mọc của hạt lên 5,7% và công thức III tăng 3,4% so với đối chứng.

Tỷ lệ sống của hạt kim tiền thảo sau khi xử lý nảy mầm đến khi ra lá thật ở các công thức thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. **Tỷ lệ sống của cây ở các công thức**

Công thức	Thời gian trồng ra bầu	Thời gian bắt đầu ra lá thật (ngày)	Tỷ lệ sống (%)	Chênh lệch (%) so với ĐC
I	25/9/2002	15	94,66±1,52	+1,36
II	25/9/2002	15	95,30±1,52	+2,00
III	25/9/2002	15	96,66±1,52	+3,36
IV	25/9/2002	15	93,30±0,52	

Kết quả bảng 4 cho thấy

- Hạt kim tiền thảo sau khi xử lý nảy mầm cho đến khi ra lá thật là 15 ngày. Tỷ lệ sống của hạt trung bình ở các mẫu xử lý không có sự sai khác nhau ở 3 công thức xử lý (94,66 ; 95,3 và 96,66). Nhưng ở cả 3 công thức đều có tỷ lệ sống của cây cao hơn đối chứng lần lượt là : 1,36%; 2,0% và 3,36% .

**** Kết quả xử lý hạt bạch chỉ đồng bằng***

Hạt bạch chỉ đồng bằng thu tháng 8/2002. Ngày 27/9/2002, sau khi xử lý với 3 chất kích thích sinh trưởng H_2O_2 , QN_1,GA_3 (ký hiệu I ,II ,III) ở nồng độ 2 g/lít, trong thời gian 24 giờ, hạt bắt đầu nảy mầm sau 17 ngày và cho kết quả ở bảng 5.

***Bảng 5*. Thời gian nảy mầm của hạt bạch chỉ đồng bằng**

Công thức	Thời gian xử lý	Thời gian bắt đầu mọc (ngày)	Tỷ lệ mọc (%)	Chênh lệch (%) so với ĐC
I	27/9/2002	17	24,00±2,00	+10,67
II	27/9/2002	17	26,00±2,00	+12,67
III	27/9/2002	17	23,00±1,52	+9,67
IV	27/9/2002	17	13,33±1,52	

Hạt bạch chỉ đồng bằng sau khi xử lý với 3 chất kích thích sinh trưởng H_2O_2, QN_1,GA_3 (ký hiệu I ,II ,III) ở nồng độ 2g/*l*, trong thời gian 24 giờ đã làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt lên lần lượt ở công thức I là 10,67%, công thức II là 12,67% và công thức III là 9,673% so với đối chứng và tăng (%) lên so với đối chứng lần lượt ở các công thức là : 80,04%, 95,04% và 72,54%.

Kết quả theo dõi tỷ lệ sống của cây bạch chỉ đồng bằng sau khi mọc mầm được trồng ra bầu cho đến khi ra lá thật thể hiện ở bảng 6.

***Bảng 6.* Tỷ lệ sống của cây ở các công thức**

Công thức	Thời gian trồng ra bầu	Thời gian bắt đầu ra lá thật (ngày)	Tỷ lệ sống (%)	Chênh lệch (%) so với ĐC
I	15/10/2002	30	93,66±1,15	+1,66
II	15/10/2002	30	95,66±0,57	+3,66
III	15/10/2002	30	97,00±1,00	+5,00
IV	15/10/2002	30	92,00±1,00	

Kết quả bảng 6 cho thấy hạt bạch chỉ đồng bằng sau khi xử lý nảy mầm đến khi ra lá thật là 30 ngày. Tỷ lệ sống của hạt trung bình ở các mẫu xử lý không có sự sai khác nhau ở cả 3 công thức (93,66; 95,66 và 97,66). Nhưng ở 3 công thức đều có tỷ lệ sống của cây cao hơn đối chứng lần lượt 1,66%; 3,66 và 5,00% .

IV. KẾT LUẬN

+ Với hạt ngưu tất:

- Cả ba chất kích thích sinh trưởng trên đều làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt ngưu tất lần lượt 15,38%; 54,2% và 44,23%. Nước oxy già làm tăng tỷ lệ mọc của hạt ngưu tất cao nhất (54,2% so với đối chứng).
- Cả ba chất kích thích sinh trưởng trên đã không làm tăng tỷ lệ sống của hạt ngưu tất. Cả ba công thức I, II, III đều có tỷ lệ sống của cây tương đương nhau trên 90% không có sự sai khác so với đối chứng.

+ Với hạt kim tiền thảo:

- Nước oxy già đã làm giảm tỷ lệ nảy mầm của hạt xuống 13,87%. Hai chất QN_1 và GA_3 làm tăng tỷ lệ mọc của hạt lần lượt 29,8% và 17,3%.
- Các chất kích thích sinh trưởng trên đã không làm tăng tỷ lệ sống của hạt. Cả ba công thức I, II, III đều có tỷ lệ sống của cây tương đương nhau trên 90% không có sự sai khác so với đối chứng.

+ Với hạt bạch chỉ:

- Cả ba chất kích thích sinh trưởng trên đều làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt lần lượt 72,54%; 80,04% và 95,04%. Chất QN_1 làm tăng tỷ lệ mọc của hạt bạch chỉ cao nhất (95,04% so với đối chứng).
- Các chất kích thích sinh trưởng trên đã không làm tăng tỷ lệ sống của hạt. Cả ba công thức I, II, III đều có tỷ lệ sống của cây tương đương nhau trên 90%, không có sự sai khác so với đối chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tạp chí khoa học của hội làm vườn Mỹ, (1986), PKV, research journal.
2. Nandp on progressive horticulture (1985).
3. Luận văn tốt nghiệp đại học tại Bungaria, (1984), Phạm Thị Yên.
4. Sinh lý học thực vật - giáo trình cao học.
5. Tạp chí Khoa học và Đời sống - $N^0$4/2001.
6. Tạp chí Hoá học, (2001), 39 tháng 3.
7. Tạp chí Hoá học (2002), 40 tháng 1.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI VỤ, MẬT ĐỘ VÀ PHÂN BÓN ĐẾN NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG DƯỢC LIỆU ĐƯƠNG QUY (*ANGELICA ACUTILOBA* KITAGAWA)

Phạm Văn Ý, Nguyễn Văn Thuận, Bùi Thị Bằng - *Viện Dược liệu*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đương quy là một trong những vị thuốc bắc quan trọng, được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền để bồi bổ cơ thể và chữa bệnh phụ nữ. Nó có thể dùng độc vị hoặc phối hợp với các vị thuốc khác. Ở Trung Quốc, đương quy được sử dụng hàng ngàn năm trước đây, và hiện nay cùng với sự phát triển của công nghiệp dược, nó được bào chế dưới nhiều loại sản phẩm khác nhau, đáp ưng nhu cầu tiêu dùng ngày càng cao của con người. Ở Nhật Bản, người ta chế biến và sử dụng vị thuốc đương quy để tăng cường miễn dịch cho cơ thể. Ở Việt Nam, những năm gần đây Viện Dược liệu đã chiết xuất và bào chế thuốc từ đương quy để phối hợp với phương pháp hoá trị liệu và xạ trị trong điều trị ung thư, thuốc có tác dụng bổ trợ cho cơ thể phục hồi sớm các dòng tế bào bạch cầu, tiểu cầu và các tế bào lympho T.

Khi xã hội càng phát triển, nhu cầu đòi hỏi về chất lượng sản phẩm càng cao, nhất là những mặt hàng liên quan trực tiếp đến sức khoẻ con người như nông sản, thực phẩm, thuốc nam, thuốc bắc... Tuy nhiên, do chú trọng về lợi nhuận, người sản xuất muốn có năng suất cao, nên đã đầu tư thâm canh tối đa, sử dụng ồ ạt các loại hoá chất như phân hóa học, thuốc trừ sâu bệnh, chất điều hoà sinh trưởng..., làm ô nhiễm không chỉ môi trường canh tác mà còn cả các sản phẩm sản xuất ra.

Chất lượng dược liệu không chỉ được đánh giá bởi các hàm lượng hoạt chất có trong dược liệu, mà còn được đánh giá bởi mức độ tồn dư của các yếu tố gây hại cho sức khoẻ con người, như hàm lượng nitrat, kim loại nặng và các vi khuẩn gây bệnh... Để nâng cao năng suất và chất lượng dược liệu đương quy, chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm "*Nghiên cứu ảnh hưởng của thời vụ, mật độ và phân bón đến năng suất và chất lượng dược liệu đương quy*".

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là giống đương quy di thực từ Nhật Bản 2N đã được chọn lọc từ quần thể đương quy Nhật Bản *Angelica acutiloba* Kitagawa, được trồng để lấy hạt giống ở Trạm nghiên cứu Cây thuốc Sa Pa. Phân chuồng đã được ủ hoai mục, phân hoá học gồm có đạm urê, supelân và kali clorua.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thí nghiệm đồng ruộng được tiến hành ở Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.
- Thí nghiệm phân tích đánh giá các chỉ tiêu dược liệu sạch, được tiến hành tại các phòng thí nghiệm tiên tiến thuộc Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng (Bộ Khoa học và Công nghệ), Trung tâm Kiểm dịch thực vật sau nhập khẩu (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn) và Khoa Phân tích tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.
- Thí nghiệm 3 yếu tố được bố trí theo phương pháp: Split - Split - Plot, diện tích ô thí nghiệm 12 m^2, nhắc lại 3 lần.
- Các thí nghiệm được bón lót 20 tấn phân chuồng, 150 kg P_2O_5 và 100 kg K_2O/ha.
- Xử lý kết quả thí nghiệm theo chương trình IRRISTAT 4.0 trong Windows.
- Các chỉ tiêu theo dõi gồm có:

1. Chiều cao cây (cm);
2. Số lá;
3. Đường kính củ (cm);
4. Chiều dài củ (cm);
5. Tỷ lệ ngồng (%);
6. Khối lượng củ (g/củ);
7. Năng suất củ khô (kg/ô, kg/ha);
8. Hàm lượng nitrat (NO_3) trong dược liệu (mg/kg);
9. Hàm lượng kim loại nặng trong dược liệu (mg/kg);
10. Vi sinh vật gây ảnh hưởng đến sức khỏe con người.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

Nghiên cứu về sự sinh trưởng thân lá, kết quả ở bảng 1 cho thấy: Nhìn chung sự biến động về chiều cao cây và số lá ở các công thức không lớn. Nhưng tỷ lệ cây ra ngồng thì giảm dần theo thời vụ. Có nghĩa là càng gieo muộn thì tỉ lệ cây ra ngồng càng thấp, tuy nhiên trong mỗi thời vụ sự biến động không rõ ràng giữa các công thức nghiên cứu về khoảng cách trồng và mức độ phân bón.

Nghiên cứu về sự phát triển của rễ củ, kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy sự chênh lệch về chiều dài củ của các công thức không nhiều. Nhưng sự biến động về đường kính và khối lượng củ thì có sự sai khác rõ ràng giữa các công thức nghiên cứu, đặc biệt là về khoảng cách trồng. Khoảng cách trồng dầy cho khối lượng củ và đường kính củ nhỏ hơn ở khoảng cách trồng thưa, về phân bón ở mức 100N cho khối lượng củ thấp hơn ở mức phân bón 200N và 300N. Trong 2 mức phân bón 200N và 300N có khối lượng củ chênh lệch không đáng kể. Về thời vụ trồng cho thấy càng trồng muộn khối lượng củ càng thấp.

Đánh giá về năng suất, kết quả nghiên cứu ở bảng 3 cho thấy trong ba năm nghiên cứu, thời vụ gieo tốt nhất là 15/10, càng trồng muộn năng suất củ càng thấp. Về khoảng cách trồng cho thấy ở khoảng cách trồng 20 x 10cm và 20 x 20cm cho năng suất cao hơn khoảng cách trồng 30 x 20cm. Tuy nhiên sự chênh lệch giữa khoảng cách 20 x 10 cm và 20 x 20 không nhiều. Để tiết kiệm cây giống có thể trồng ở khoảng cách 20 x 20cm. Mặt khác, ở khoảng cách trồng quá dầy (20 x 10) khối lượng củ nhỏ, đường kính củ nhỏ đã ảnh hưởng đến tiêu chuẩn thương phẩm dược liệu đương quy.

Về phân bón: Ở mức bón 100N có năng suất thấp hơn mức bón 200N và 300N. Tuy nhiên, sự chênh lệch giữa mức bón 200N và mức 300N là không lớn, nằm trong phạm vi sai số. Điều đó có nghĩa là khi bón với lượng phân bón cao thì cây đương quy cũng không có khả năng sử dụng trong quá trình sinh trưởng để tạo ra năng suất vì vậy không cần thiết bón đến 300 kgN/ha, sẽ gây lãng phí về phân bón.

Bảng 1. **Ảnh hưởng của thời vụ, khoảng cách trồng và phân bón đến sự sinh trưởng thân lá của cây đương quy**

Thời vụ	Khoảng cách (cm)	Lượng phân (kgN/ha)	Chỉ tiêu đánh giá		
			Chiều cao cây (cm)	Số lá	Tỷ lệ ngồng (%)
15/10	20 X 10	100	44,4	6,6	20,1
		200	47,0	7,0	22,3
		300	46,8	7,8	23,5
	20 X 20	100	47,2	9,8	22,7
		200	48,2	10,0	20,8
		300	44,8	9,0	19,7
	20 X 30	100	45,2	7,6	20,8
		200	51,2	9,0	19,5
		300	46,4	9,2	18,1
30/10	20 X 10	100	46,6	8,2	15,5
		200	45,8	6,8	16,1
		300	43,4	7,0	16,7
	20 X 20	100	46,0	6,0	15,9
		200	42,2	6,6	14,6
		300	45,4	7,8	15,2
	20 X 30	100	44,6	8,2	16,1
		200	45,2	8,6	15,9
		300	45,6	8,4	15,0
14/11	20 X 10	100	48,6	7,0	10,2
		200	46,6	8,4	9,7
		300	43,2	6,4	10,3

	20 X 20	100	50,0	7,0	10,5
		200	42,4	8,0	8,6
		300	43,6	7,4	9,8
	20 X 30	100	41,6	7,4	10,0
		200	40,4	8,2	7,6
		300	42,0	7,4	8,9

Bảng 2. **Ảnh hưởng của thời vụ, khoảng cách trồng và phân bón đến sự sinh trưởng rễ củ của cây đương quy**

Thời vụ	Khoảng cách (cm)	Lượng phân (kgN/ha)	Chỉ tiêu đánh giá		
			Chiều dài củ (cm)	Đường kính củ tươi (cm)	Khối lượng củ tươi (g/củ)
15/10	20 X 10	100	22,7	2,9	66,18
		200	20,7	3,3	74,09
		300	21,5	3,4	73,77
	20 X 20	100	22,3	3,6	112,36
		200	21,1	3,7	127,27
		300	21,9	3,9	131,82
	20 X 30	100	22,6	4,5	142,13
		200	23,0	4,8	159,07
		300	22,5	4,6	157,73
30/10	20 X 10	100	21,7	2,6	58,64
		200	22,5	2,7	63,91
		300	21,8	2,5	66,18
	20 X 20	100	22,8	3,1	97,55
		200	22,0	3,0	108,73
		300	20,8	3,3	110,91

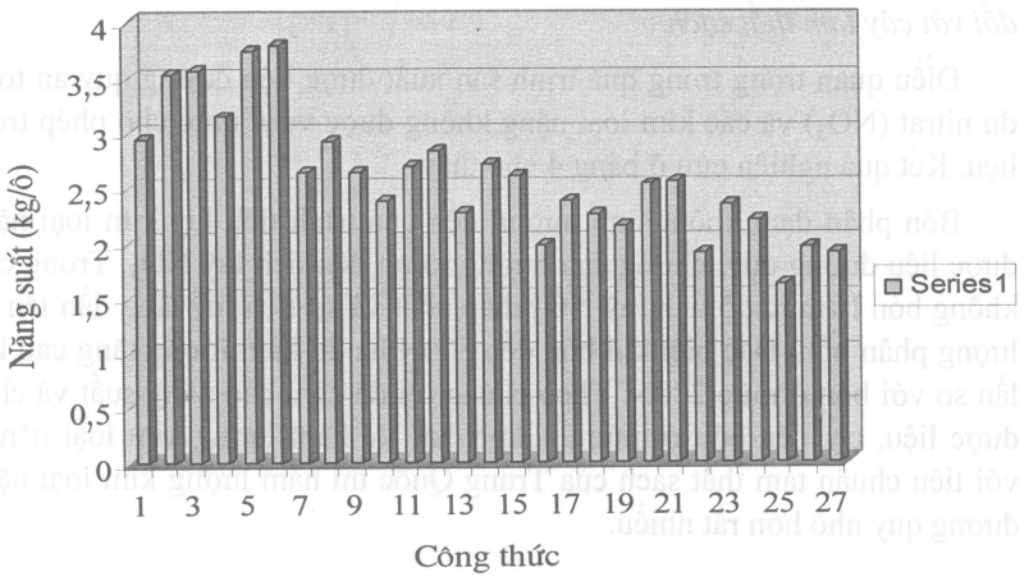
	20 X 30	100	21,3	3,5	115,47
		200	21,5	3,4	133,33
		300	21,0	3,6	141,73
14/11	20 X 10	100	20,1	2,3	45,00
		200	19,2	2,5	52,55
		300	18,6	2,4	53,32
	20 X 20	100	17,8	2,9	81,45
		200	19,7	2,7	93,00
		300	17,8	2,8	95,82
	20 X 30	100	18,5	3,1	94,43
		200	19,8	3,1	109,47
		300	20,1	3,2	106,40

Bảng 3. **Ảnh hưởng của thời vụ, khoảng cách trồng và lượng phân bón đến năng suất dược liệu cây đương quy qua các năm (diện tích ô TN = 12m^2)**

Công thức	Vụ 2001 - 2002		Vụ 2002 - 2003		Vụ 2003 - 2004	
	(kg/ô)	(kg/ha)	(kg/ô)	(kg/ha)	(kg/ô)	(kg/ha)
1	2,95	2.458	2,91	2.425	2,88	2.400
2	3,53	2.941	3,26	2.716	3,96	3.300
3	3,56	2.966	3,24	2.700	3,99	3.325
4	3,15	2.625	2,47	2.058	3,19	2.658
5	3,75	3.125	2,80	2.333	3,96	3.258
6	3,80	3.166	2,90	2.416	4,01	3.341
7	2,64	2.200	2,13	1.775	2,32	1.933
8	2,93	2.441	2,38	1.983	2,79	2.325
9	2,65	2.208	2,36	1.966	2,81	2.341
10	2,38	1.983	2,58	2.150	2,48	2.066
11	2,70	2.250	2,81	2.341	3,03	2.525
12	2,84	2.366	2,91	2.425	3,23	2.691

13	2,27	1.891	2,10	1.750	2,37	1.975
14	2,72	2.266	2,32	1.933	2,78	2.316
15	2,61	2.175	2,37	1.975	2,67	2.225
16	1,97	1.641	1,73	1.441	1,83	1.525
17	2,38	1.983	2,02	1.683	2,25	1.875
18	2,25	1.875	2,12	1.776	2,34	1.950
19	2,15	1.791	1,98	1.650	2,17	1.808
20	2,53	2.188	2,31	1.925	2,66	2.216
21	2,56	2.133	2,34	1.950	2,56	2.133
22	1,90	1.583	1,79	1.491	1,98	1.650
23	2,34	1.950	2,04	1.700	2.43	2.025
24	2,20	1.833	2,02	1.683	2,38	1.983
25	1,62	1.350	1,41	1.157	1,74	1.45
26	1,96	1.633	1,79	1.491	1,92	1.600
27	1,91	1.591	1,74	1.450	1,95	1.625
CV %	9,5	-	4,1	-	6,6	-
LSD 5 %	0,411	-	0,156	-	0,290	-

Biểu đồ 1. **Ảnh hưởng của thời vụ, khoảng cách trồng và lượng phân bón đến năng suất dược liệu cây đương quy**



Biểu đồ 1 cho thấy: Công thức 5 và 6 cho năng suất dược liệu cao nhất, còn sự chênh lệch về năng suất giữa 2 công thức này là không đáng kể. Công thức 5 và 6 đều được gieo hạt vào ngày 15/10 và trồng với khoảng cách 20 x 20 cm, nhưng công thức 5 được bón phân đạm ở mức 200N còn công thức 6 ở mức 300N. Nghiên cứu ảnh hưởng của lượng phân bón đến tồn dư kim loại nặng, hàm lượng nitrat và sự nhiễm khuẩn trong rễ củ cây đương quy, kết quả được chỉ ra ở bảng 4.

***Bảng 4.* Ảnh hưởng của lượng phân bón đến tồn dư kim loại nặng và hàm lượng nitrat trong rễ củ cây đương quy**

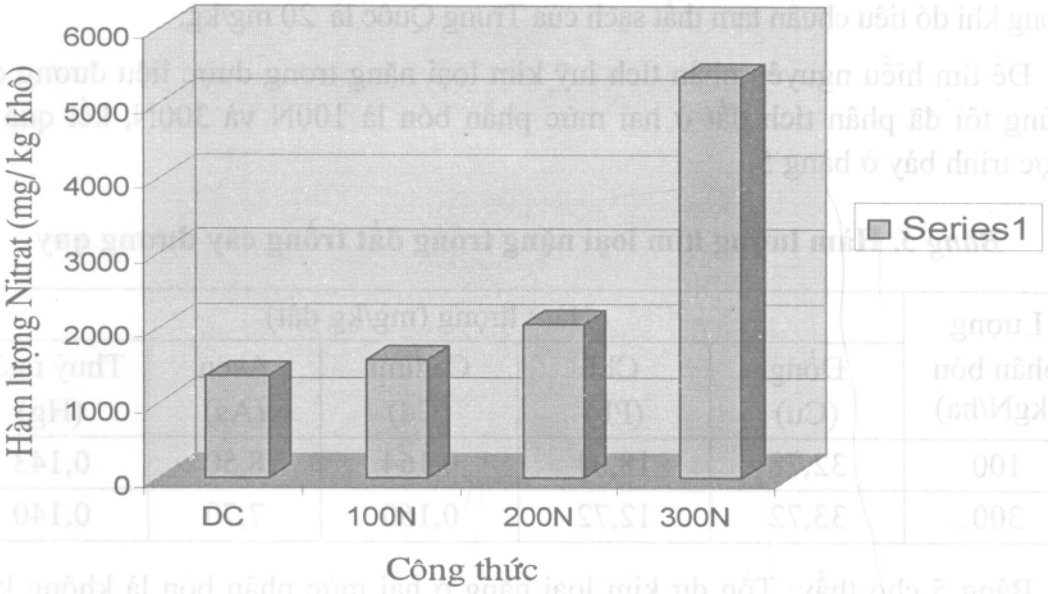
Lượng phân bón (kgN/ha)	Hàm lượng (mg/kg dược liệu khô)					
	Đồng (Cu)	Chì (Pb)	Cadimi (Cd)	Asen (As)	Thuỷ ngân (Hg)	Nitrat (NO_3)
Không bón	1,62	0,11	0,032	0,63	0,115	1.364,00
100	4,26	0,05	0,068	1,33	0,125	1.564,00
200	4,68	0,06	0,120	1,05	0,172	2.064,00
300	2,82	< 0,05	0,022	0,83	0,102	5.367,96
DĐTQ *	**15-20**	**2-2,5**	**0,5-0,8**	**1,0-1,2**	**0,5-1,0**	-

Ghi chú: DĐTQ Dược điển Trung Quốc, hàm lượng kim loại nặng cho phép đối với cây tam thất sạch.*

Điều quan trọng trong quá trình sản xuất dược liệu đương quy an toàn là tồn dư nitrat (NO_3) và các kim loại nặng không được vượt mức cho phép trong dược liệu. Kết quả nghiên cứu ở bảng 4 cho thấy:

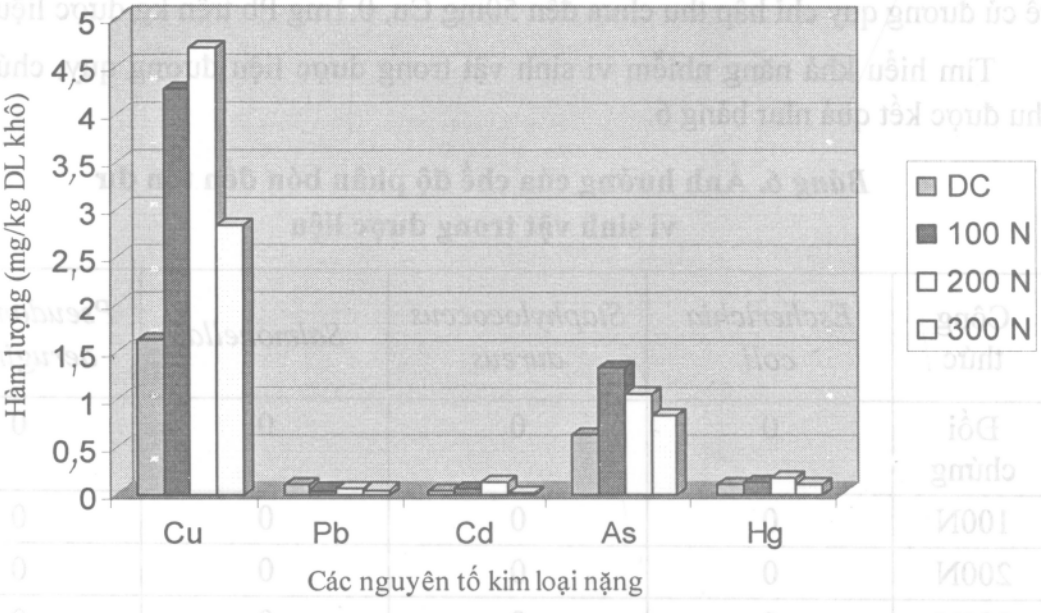
Bón phân đạm không ảnh hưởng đến quá trình tích luỹ kim loại nặng trong dược liệu đương quy, nhưng ảnh hưởng rõ rệt đến tích luỹ NO_3. Trong công thức không bón N mức độ tích luỹ NO_3 thấp nhất và sự tích luỹ tăng dần lên theo liều lượng phân bón. Đặc biệt khi bón đến 300N/ha thì hàm lượng tăng cao lên hơn 2 lần so với bón ở mức 200N. Theo chúng tôi để đảm bảo năng suất và chất lượng dược liệu, chỉ nên bón ở mức 200kgN/ha. Về hàm lượng kim loại nặng nếu so với tiêu chuẩn tam thất sạch của Trung Quốc thì hàm lượng kim loại nặng trong đương quy nhỏ hơn rất nhiều.

Biểu đồ 2. **Ảnh hưởng của lượng phân bón đến sự tích luỹ nitrat trong rễ củ đương quy**



Biểu đồ 2 một lần nữa khẳng định bón phân ở mức 300N đã tạo khả năng tích luỹ nitrat trong dược liệu đương quy cao nhất. Như vậy bón phân ở mức 300N, cây đương quy không sử dụng để tạo ra năng suất mà chỉ tích luỹ lại NO_3 trong rễ củ.

Biểu đồ 3. **Hàm lượng kim loại nặng trong rễ củ đương quy**



Biểu đồ 3 cho thấy: Hàm lượng kim loại nặng không phụ thuộc vào liều lượng phân đạm được bón. Mức độ tồn dư Cu trong rễ củ đương quy cao nhất trong năm nguyên tố được phân tích, tuy nhiên vẫn chưa đến 5 mg/kg dược liệu khô tuyệt đối. Trong khi đó tiêu chuẩn tam thất sạch của Trung Quốc là 20 mg/kg.

Để tìm hiểu nguyên nhân tích luỹ kim loại nặng trong dược liệu đương quy, chúng tôi đã phân tích đất ở hai mức phân bón là 100N và 300N, kết quả thu được trình bày ở bảng 5.

***Bảng 5.* Hàm lượng kim loại nặng trong đất trồng cây đương quy**

Lượng phân bón (kgN/ha)	Hàm lượng (mg/kg đất)				
	Đồng (Cu)	Chì (Pb)	Cadimi (Cd)	Asen (As)	Thuỷ ngân (Hg)
100	32,78	18,04	0,164	8,50	0,143
300	33,72	12,72	0,160	7,70	0,140

Bảng 5 cho thấy: Tồn dư kim loại nặng ở hai mức phân bón là không khác nhau, có nghĩa là bón N không làm thay đổi kim loại nặng trong đất. Kết quả nghiên cứu cũng thấy tồn dư kim loại nặng trong đất rất cao nhưng sự hấp thu kim loại nặng trong cây đương quy rất thấp. Chúng tôi cho rằng, cây đương quy hấp thu những nguyên tố vi lượng có chọn lọc và ở mức độ nhất định để sinh trưởng và phát triển mà không phụ thuộc vào hàm lượng kim loại nặng chứa trong đất. Cụ thể trong một kg đất, có chứa trên 30mg Cu, gần 20mg Pb, nhưng rễ củ đương quy chỉ hấp thu chưa đến 50mg Cu, 0,1mg Pb trên kg dược liệu khô.

Tìm hiểu khả năng nhiễm vi sinh vật trong dược liệu đương quy, chúng tôi thu được kết quả như bảng 6.

***Bảng 6.* Ảnh hưởng của chế độ phân bón đến tồn dư vi sinh vật trong dược liệu**

Công thức	*Escherichia coli*	*Staphylococcus aureus*	*Salmonella*	*Pseudomonas aeruginosa*
Đối chứng	0	0	0	0
100N	0	0	0	0
200N	0	0	0	0
300N	0	0	0	0

Kết quả bảng 6 cho thấy tất cả các công thức nghiên cứu đều không có vi sinh vật trong dược liệu. Điều đó cũng nói lên địa bàn triển khai thí nghiệm đã đáp ứng được yêu cầu cho việc nghiên cứu và trồng đương quy sạch.

Tìm hiểu ảnh hưởng của liều lượng phân bón đến chất lượng dược liệu đương quy theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam, kết quả nghiên cứu ở bảng 7 cho thấy: Hầu hết các chỉ tiêu nghiên cứu đều đạt tiêu chuẩn chất lượng Dược điển Việt Nam, có 2 chỉ tiêu là tạp chất lạ và các bộ phận khác của cây có cao hơn chút ít, nhưng dễ khắc phục vì đó là quá trình làm sạch bên ngoài. Các mức phân bón khác nhau không những không ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu đương quy mà còn cho hàm lượng chất chiết được (bằng ethanol nóng) cao hơn nhiều so với công thức đối chứng (không bón) và có chất lượng tương đương với đương quy trồng ở vùng trồng rau sạch.

***Bảng 7.* Ảnh hưởng của liều lượng phân bón đến chất lượng dược liệu đương quy**

Các chỉ tiêu đánh giá (Theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam)	Công thức nghiên cứu				
	ĐC không bón	Bón 100N	Bón 200N	Bón 300N	Vùng rau sạch
Kích thước rễ củ	K. đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ ẩm: < 15 %	10,85	13,51	8,69	10,85	14,65
Tro toàn phần: < 6 %	4,7	4,8	4,7	4,3	5,4
Tro không tan trong acid: < 4,5 %	0,8	0,6	0,8	0,6	1,3
Các bộ phận khác của cây: < 0,2 %	1,5	0,5	0,5	0,5	1,0
Tỷ lệ tạp chất lạ: < 1 %	2,0	1,2	2,0	2,3	4,1
Chất chiết được bằng ethanol ≥ 35 %	36,50	53,19	52,31	48,19	48,97
Chất chiết được bằng ether~ coumarin	1,44	1,42	1,52	1,34	2,18

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Từ những kết quả nghiên cứu trên đây, có thể kết luận như sau:

- Thời vụ gieo trồng tốt nhất là 15 tháng 10, càng gieo muộn, năng suất cây trồng càng giảm.

- Khoảng cách trồng cây đương quy 20 x 10cm và 20 x 20cm cho năng suất dược liệu chênh lệch không đáng kể, nhưng cao hơn hẳn khoảng cách 20 x 30cm. Tuy nhiên ở khoảng cách 20 x 10cm có khối lượng và đường kính củ nhỏ hơn nhiều so với khoảng cách 20 x 20cm và 20 x 30cm.

- Bón phân ở mức 200N và 300N có năng suất cao tương đương nhau và cao hơn hẳn bón ở mức 100N. Bón phân ở mức 300N tồn dư NO_3 trong dược liệu cao hơn hẳn ở mức bón 100N và 200N.

- Tồn dư kim loại nặng trong dược liệu không phụ thuộc vào liều lượng phân bón và hàm lượng kim loại nặng chứa trong đất. Tồn dư kim loại nặng trong dược liệu đương quy thấp hơn rất nhiều so với tiêu chuẩn tam thất sạch của Dược điển Trung Quốc.

- Liều lượng phân bón không ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đường Hồng Dật, (1977), Nông nghiệp sạch với bảo vệ thực vật, NXB. Nông nghiệp.
2. Đường Hồng Dật, (1978), Những nghiên cứu bảo vệ thực vật, NXB. Khoa học và Kỹ thuật.
3. Nguyễn Văn Uyển, (1995), Vùng rau sạch một mô hình nông nghiệp cấp bách, NXB. Nông nghiệp.
4. Trần Khắc Thi, (1993), Kỹ thuật trồng một số rau xuất khẩu, NXB. Nông nghiệp.
5. Lê Kim Loan và ctv.,(1996), Tác dụng của đương quy Nhật Bản (*A. acutiloba* Kit.) đối với sự tạo hoa hồng E của lympho bào T máu ngoại vi người. Tạp chí Dược liệu, 1 (2), 52 – 55.
6. Lê Kim Loan và ctv., (1998), Tinh dầu lá đương quy Nhật Bản (*A. acutiloba* Kit.) trồng tại Thanh Trì, Hà Nội, T.C. Dược liệu, 1, 12 – 14
7. Viện Dược liệu, (1993), Tài nguyên cây thuốc Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 415 – 603.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA KHOẢNG CÁCH TRỒNG VÀ LIỀU LƯỢNG PHÂN BÓN NPK TỔNG HỢP LÊN NĂNG SUẤT DƯỢC LIỆU ÍCH MẪU

Lê Khúc Hạo, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Duy Thuần

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong công tác nghiên cứu về cây trồng làm thuốc, nghiên cứu xây dựng vùng trồng có vai trò đặc biệt quan trọng, nó xác định các vùng sinh thái phù hợp cho các loại cây thuốc sinh trưởng phát triển cho năng suất cao, chất lượng tốt, đồng thời bảo đảm hiệu quả kinh tế cao cho sản xuất các cây thuốc hàng hoá.

Trước nhu cầu đòi hỏi đó đề tài KC 10.07.02 *"Xây dựng quy trình sản xuất dược liệu ích mẫu tại Hà Nội"* được đặt ra nhằm xây dựng vùng trồng cho một số cây thuốc thiết yếu cung cấp nguyên liệu làm thuốc, phục vụ khám chữa bệnh trong nước và nhu cầu xuất khẩu.

Trong các cây thuốc được chọn, cây ích mẫu (*Leonurus heterophullus* Sweet) là một trong các cây được nghiên cứu xây dựng vùng trồng và quy trình sản xuất ở một số địa phương như Hà Nội, Thanh Hoá. Đây là cây có nguồn gốc hoang dại do bị khai thác kiệt quệ nên cần phải nghiên cứu trồng trọt để cung cấp cho sản xuất thuốc.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Hạt giống ích mẫu dùng trong thí nghiệm do Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội cung cấp.

Phân bón NPK tổng hợp.

2.2. Phương pháp thí nghiệm

Thí nghiệm tổng hợp gồm hai yếu tố: Khoảng cách trồng và phân bón gồm 9 công thức, 3 lần nhắc lại. Gồm 27 ô thí nghiệm, diện tích nghiên cứu vụ

2001 – 2002 là 360 m^2, 1ô thí nghiệm là 8 m^2. Diện tích nghiên cứu vụ 2002 – 2003 và 2003- 2004 là 720m^2, 1ô thí nghiệm là 15 m^2.

***Bảng 1.* Cách bố trí các thí nghiệm**

Công thức	Khoảng cách	Lượng phân NPK (kg/ha)
1	20 × 10 cm	1500
2		2000
3		2500
4	20 × 20 cm	1500
5		2000
6		2500
7	20 × 30 cm	1500
8		2000
9		2500

- Các khâu kỹ thuật khác được tiến hành theo quy trình trồng cây ích mẫu của đề tài X8 (Viện Dược liệu).
- Các chỉ tiêu theo dõi:
  - + Ngày gieo
  - + Ngày mọc
  - + Ngày trồng
  - + Chiều cao cây
  - + Số cành
  - + Ngày thu hoạch
  - + Khối lượng cá thể (g/cây)
  - + Năng suất từng ô thí nghiệm
  - + Phương pháp xử lý số liệu theo các phương pháp hiện hành.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Các giai đoạn sinh trưởng của cây ích mẫu ở vườn ươm

Thí nghiệm 3 vụ (2001 – 2004) được tiến hành theo phương thức gieo vườn ươm, đánh trồng. Kết quả theo dõi thời gian sinh trưởng, phát triển tại vườn ươm được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. **Thời gian qua các giai đoạn sinh trưởng của cây ích mẫu ở vườn ươm**

Ngày gieo	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Tỷ lệ mọc (%)	Thời gian gieo - mọc (ngày)	Thời gian gieo - ra lá 1 (ngày)	Thời gian gieo - trồng (ngày)
1/11/2001	85,0	70,0	15,0	24,0	40,0
1/11/2002	87,0	75,0	14,0	24,0	45,0
1/11/2003	85,0	75,0	14,0	25,0	45,0

Bảng 1 cho thấy: Giai đoạn vườn ươm là khởi đầu cho cả quá trình dài phát triển của cây trong suốt thời gian sinh trưởng. Giai đoạn này có ảnh hưởng một phần đến năng suất cuối cùng của cây. Ở giai đoạn này, hạt ích mẫu có tỷ lệ nảy mầm trong phòng là 80- 87%, tỷ lệ mọc ngoài đồng đạt 70 - 75%, như vậy điều kiện ngoại cảnh đã ảnh hưởng rất rõ đến tỷ lệ mọc của hạt ích mẫu. Thời gian mọc của hạt từ 14- 15 ngày, thời kỳ này thời tiết bắt đầu lạnh nhiệt độ trung bình từ 18-22^{0}C, ẩm độ thấp thường dưới 75% nên đã kéo dài thời gian mọc của hạt. Thời gian từ gieo đến ra lá thật từ 24 – 25 ngày và để cây đạt tiêu chuẩn trồng từ 40 – 45 ngày. Các chỉ tiêu này đều đúng với đặc điểm của giống. Tuy nhiên, ở giai đoạn vườn ươm các yếu tố thí nghiệm chưa ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây con ích mẫu.

3.2. Ảnh hưởng của khoảng cách và liều lượng phân bón NPK tổng hợp đến các yếu tố cấu thành năng suất cây ích mẫu

Năng suất dược liệu của ích mẫu do các yếu tố cấu thành năng suất tạo nên, gồm tỷ lệ cây có thu hoạch, chiều cao cây cuối cùng, số cành còn lại trên cây khi thu hoạch, độ dài của cành, khối lượng cá thể.

Kết quả theo dõi thí nghiệm cả 3 năm được thể hiện ở bảng 2:

Bảng 3. **Ảnh hưởng của khoảng cách và liều lượng phân bón NPK tổng hợp đến các yếu tố cấu thành năng suất dược liệu ích mẫu**

Vụ	Công thức	Số cây/ôTN	Chiều cao cây cuối cùng (cm)	Số cành cấp 1/cây khi thu hoạch (cành)	Độ dài cành cấp 1 (cm)	Khối lượng cá thể tươi/cây (g)
2001-2002	1	189,0	135,0	5,6	43,3	89,0
	2	189,0	152,3	6,0	46,0	116,0
	3	189,0	147,6	6,3	45,6	118,3
	4	96,0	152,3	7,0	50,3	145,6
	5	96,0	162,3	7,6	55,6	165,6
	6	96,0	160,0	7,3	55,6	171,3
	7	66,0	128,6	8,6	57,0	181,6
	8	66,0	144,3	9,3	59,6	201,0
	9	66,0	140,3	9,6	60,3	205,0
2002-2003	1	354,0	179,3	6,0	51,0	111,0
	2	354,0	192,7	8,7	63,0	136,8
	3	354,0	187,6	9,6	66,0	143,6
	4	180,0	187,2	10,2	69,0	135,6
	5	180,0	198,3	11,4	78,0	179,3
	6	180,0	198,0	12,1	86,0	180,0
	7	126,0	191,0	13,5	87,0	240,0
	8	126,0	196,7	15,4	101,0	254,0
	9	126,0	193,8	15,4	100,0	264,0
2003-2004	1	354,0	165,0	6,0	42,8	203,4
	2	354,0	176,3	8,2	51,7	225,2
	3	354,0	170,6	8,5	53,5	230,2
	4	180,0	175,0	5,0	54,8	228,0
	5	180,0	192,3	6,0	66,1	261,0
	6	180,0	189,0	8,3	71.0	271,3
	7	126,0	149,3	7,3	81,7	290,5
	8	126,0	157,1	11,0	93,5	317,6
	9	126,0	162,6	11,5	102,8	327,1

Bảng 3 cho thấy, sau 3 vụ thí nghiệm kết quả như sau::

- Về chiều cao cây cuối cùng: Ở cùng một mức phân bón khoảng cách 20 × 20 là cao nhất, thấp nhất ở khoảng cách 30 × 20 cm. Trong cùng một khoảng cách ở mức phân bón 1 có chiều cao cây thấp nhất, còn ở mức phân 2 và 3 cho chiều cao lớn hơn và tương đương nhau.

- Số cành còn trên cây khi thu hoạch cho thấy: Nếu cùng một mức phân bón, mật độ càng thưa, số cành/cây khi thu hoạch càng cao, số cành khi thu hoạch trên cây càng lớn, độ dài cành cấp 1 cũng có xu hướng tương tự.

- Khối lượng cá thể: Thể hiện rõ nhất ở khoảng cách: ở cùng một mức phân bón khoảng cách càng lớn, khối lượng cá thể càng cao. Trong cùng một khoảng cách ở mức phân 1 cho khối lượng cá thể thấp nhất, ở mức phân 2 và 3 cho khối lượng cá thể cao hơn và ở 2 mức phân này sự sai khác không đáng kể.

3.3. Ảnh hưởng của khoảng cách và liều lượng phân bón NPK tổng hợp đến năng suất dược liệu cây ích mẫu

Năng suất dược liệu ích mẫu thu được qua 3 vụ thí nghiệm được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. **Ảnh hưởng của các công thức thí nghiệm đến năng suất dược liệu ích mẫu**

Công thức	Vụ 2001- 2002		Vụ 2002- 2003		Vụ 2003- 2004	
	kg/ô	tấn/ha	kg/ô	tấn/ha	kg/ô	tấn/ha
1	2,58 a	3,225	4,66 a	3,106	4,90 a	3,266
2	2,84 ab	3,553	5,72 b	3,813	4,82 a	3,213
3	2,87 ab	3,587	5,83 bc	3,886	5,48 b	3,653
4	2,97 b	3,721	5,86 c	3,906	6,91 e	4,606
5	3,39 c	4,237	6,74 d	4,493	7,13 e	4,753
6	3,41 c	4,262	6,83 d	4,553	7,16 e	4,773
7	2,75 ab	3,475	5,36 ab	3,573	5,81 bc	3,873
8	2,95 ab	3,687	5,92 cd	3,946	6,12 cd	4,080
9	2,98 b	3,725	6,05 cd	4,033	6,24 d	4,160
CV%	6,8		9,4		3,2	

Ghi chú: Số liệu được xử lý theo chương trình IRRISTART (nc)

Bảng 3 cho thấy: Yếu tố tổng hợp quyết định cho năng suất toàn ô thí nghiệm trong 9 công thức đã chỉ ra:

+ Cùng mức phân bón, ở khoảng cách 20 × 10 cm cho năng suất thấp nhất, cao nhất ở khoảng cách 20 × 20 cm.

+ Trong cùng một khoảng cách, ở mức phân 1 cho năng suất thấp nhất, ở mức phân 2 và 3 cho năng suất cao hơn và tương đương nhau.

Về tổng thể công thức 5 với khoảng cách 20 × 20 cm lượng phân bón là 2000kg/ha cho năng suất 3,39 – 7,13kg/ô và công thức 6 với khoảng cách 20 × 20 cm và lượng phân bón là 2500kg/ha cho năng suất 3,41- 7,16kg/ô là cao nhất. Đồng thời 2 công thức này sai khác nhau không đáng kể.

(Theo xử lý thống kê ở các năm đều xếp cùng hạng)

Nếu xét về lĩnh vực hiệu suất đầu tư thì công thức 5 là tốt nhất, còn công thức 6 phải đầu tư thêm 500kgNPK/ha nhưng năng suất tăng không đáng kể so với công thức 5.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Sau 3 vụ triển khai thí nghiệm, chúng tôi có những kết luận sau:

- Cây ích mẫu hoàn toàn phù hợp với điều kiện sinh thái của khu vực Hà Nội, nếu gieo trồng vào tháng 11 năm trước và thu hoạch vào tháng 4 năm sau và được bón phân đầy đủ có thể đạt năng suất trên 3 tấn/ha.
- Trong 9 công thức thí nghiệm đã chỉ ra rằng với khoảng cách 20 × 20 cm và lượng phân NPK tổng hợp 2000kg/ha cho năng suất và hiệu quả cao nhất.

4.2. Đề nghị

- Trên cơ sở các nghiên cứu trước đây về cây ích mẫu ở Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội - Viện Dược liệu, kết hợp với các nghiên cứu trong 3 vụ vừa qua, chúng tôi đã có đủ dữ liệu cơ bản để xây dựng quy trình sản xuất dược liệu ích mẫu tại Hà Nội thuộc vùng trồng đồng bằng sông Hồng.

- Đề nghị Hội đồng Khoa học Viện góp ý kiến để có thể phổ biến chính thức sử dụng quy trình cho vùng trồng đồng bằng sông Hồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi, (1999), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Y học.
2. Viện Dược liệu, (1993), Tài nguyên cây thuốc Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
3. Võ Minh Kha, (1995), Bước đi và các giải pháp để thực hiện hệ thống ding dưỡng cây trồng phối hợp cân đối tiến tới sản xuất nông nghiệp bền vững ở Việt Nam, Hội thảo Chiến lược phân bón với đặc điểm đất Việt Nam, Hà Nội.
4. Ban tuyên huấn đào tạo cán bộ dược liệu Trung Quốc, (1965), Kỹ thuật trồng và chế biến dược liệu- NXB. Y học, Hà Nội.
5. Viện Dược liệu, (1979), Kỹ thuật trồng cây thuốc. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
6. Trần Toàn, (1995), Khảo cứu xây dựng quy trình trồng cây ích mẫu, Báo cáo khoa học chương trình y học cổ truyền (X8).

MỘT SỐ KẾT QUẢ BAN ĐẦU VỀ SỬ DỤNG PHÂN BÓN THỂ LỎNG ĐẾN NĂNG SUẤT MỘT SỐ CÂY THUỐC

Lê Khúc Hạo

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ ngàn xưa trong sản xuất nông nghiệp ở Việt Nam đã lưu truyền câu ngạn ngữ "Nhất nước, nhì phân, tam cần, tứ giống". Qua đó chúng ta thấy tầm quan trọng của phân bón trong sản xuất nông nghiệp. Tuy phân bón đóng vai trò lớn trong việc nâng cao năng suất và chất lượng cây trồng, nhưng việc sử dụng phân bón như thế nào, chủng loại phân, cách bón, thời kỳ bón để nâng cao hệ số sử dụng phân là vấn đề cần phải quan tâm. Hiện nay, hệ số sử dụng phân bón còn thấp (phân đạm khoảng

40-50%).Mặt khác, có nơi bón nhiều phân hoá học, mất cân đối đã làm ô nhiễm môi trường, làm giảm phẩm chất nông sản, hỏng kết cấu đất.

Gần đây, để đảm bảo cung cấp thêm nguồn phân bón trong sản xuất nông nghiệp, nhiều doanh nghiệp phân bón đã nghiên cứu sản xuất và đưa ra thị trường các loại phân trộn, phân khoáng, phân vi sinh ... có chất lượng làm tăng năng suất cây trồng. Bên cạnh đó, thị trường phân bón nhập nội cũng rất lớn đáp ứng được yêu cầu đa dạng, phong phú của người sản xuất.

Năm 2002, Viện Sinh thái nông nghiệp thuộc Trường đại học Nông nghiệp I đã tiến hành khảo nghiệm phân bón thể lỏng Úc trên một số cây trồng như cải ngọt, lúa, cây hoa, chè đã cho thấy phân thể lỏng Úc có ảnh hưởng tốt đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của các cây trồng khảo nghiệm, sản phẩm đạt tiêu chuẩn sản phẩm an toàn.

Để có cơ sở đưa loại phân bón thể lỏng Úc (sản xuất tại Trung Quốc) vào sản xuất dược liệu chúng tôi tiến hành đề tài "Tìm hiểu ảnh hưởng của phân bón thể lỏng Australia đến năng suất một số cây dược liệu" nhằm xác định tác động hiệu quả của phân bón thể lỏng úc trên một số cây thuốc lấy củ và lấy lá.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Phân thể lỏng Australia được nhập nội ở hai dạng A và B do Công ty Cổ phần Châu Giang - Thành phố Hồ Chí Minh nhập, đã được Viện Sinh thái nông nghiệp khảo nghiệm.

- Đối tượng cây thuốc

+ *Các cây trồng lấy lá: Mã đề, ích mẫu*

+ *Các cây trồng lấy củ: Bạch chỉ, ngưu tất*

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 1/2003 - 12/2004

- Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội - Viện Dược liệu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Các cây trồng lấy lá, sử dụng phương pháp phun qua lá với 3 cây thuốc và 1 đối chứng, nhắc lại 3 lần. Lượng phun: 1000 *l*/ha, 15 ngày phun một lần. Tỷ lệ 1A/2B. Diện tích thí nghiệm 100 m^2/cây.

Đối chứng : Nền + nước lã

CT1 : Nền + phun nồng độ 0,5 %

CT2 : Nền + phun nồng độ 1,0 %

CT3 : Nền + phun nồng độ 1,5 %

- Các cây trồng lấy củ, sử dụng phương pháp tưới vào gốc với lượng dung dịch tưới 2000 *l*/ha. Định kỳ 15 ngày tưới 1 lần. Tỷ lệ phân 1A/1B với 1 công thức đối chứng và 3 công thức thí nghiệm lại 3 lần.

- Đối chứng nền + tưới nước lã

- CT 1 : Nền + tưới nồng độ 0,5%

- CT 2 : Nền + tưới nồng độ 1,0 %

- CT3 : Nền + tưới nồng độ 1,5 %

Ghi chú:

- Nền gồm phân chuồng bón lót với lượng 20 tấn/ha. Các kỹ thuật canh tác khác theo quy trình của Viện Dược liệu.

- Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp thí nghiệm đồng ruộng hiện hành. Diện tích nghiên cứu mỗi cây là 120 m^2.

- Các chỉ tiêu theo dõi:

- Chiều cao cây
- Số lá, số cành
- Dài lá, dài cành
- Chiều dài củ
- Đường kính củ
- Khối lượng củ
- Năng suất ô thí nghiệm

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả thí nghiệm trên cây mã đề được trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội

Kết quả thu được ở bảng 1.

Bảng 1. **Ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đến sinh trưởng, phát triển của cây mã đề**

Chỉ tiêu cây thuốc	Số lá/cây	Chiều dài lá (cm)	Rộng lá (cm)
Đối chứng	4,0	15,6 ± 1,54	6,27 ± 0,55
I	4,6	23,0 ± 0,81	8,20 ± 0,28
II	5,6	24,6 ± 0,47	9,66 ± 0,21
III	6,0	22,8 ± 0,40	9,50 ± 0,60

Bảng 1 cho thấy phân bón thể lỏng có tác động rõ ràng ràng đến số lá, chiều dài, rộng lá của cây mã đề, các công thức có phun phân có số lá tăng từ 0,6 - 2,0 lá/cây. Chiều dài lá tăng 7,0 - 9,0 cm và chiều rộng lá tăng từ 2,6 - 3,0 cm so với đối chứng. Như vậy các công thức có phun thuốc; có số lá nhiều hơn , lá dài và rộng hơn. Trong đó công thức 2 phun phân lỏng nồng độ 1A/1B : 1/100 cho các chỉ tiêu tốt hơn.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đến một số chỉ tiêu thu hoạch của mã đề**

Công thức	P cá thể gam tươi/cây (lứa 1)	Năng suất (kg/ô)				
		Lứa 1	Lứa 2	Lứa 3	Lứa 4	Lứa 5
Đối chứng	6,0	5,10	6,6	2,1	13,60	6,0
I	7,0	6,00	6,8	3,0	15,80	5,73
II	7,3	6,56	8,4	3,5	18,46	5,35
III	7,4	6,53	8,3	3,5	18,33	5,33

Bảng 2 cho thấy :

- Phân bón thể lỏng, ảnh hưởng rõ rệt đến các chỉ tiêu khi thu hoạch của mã đề.

- Sử dụng phân thể lỏng làm khối lượng có thể mã đề tăng từ 1,0 - 1,4 g tươi/cây. Năng suất các lứa cắt đều tăng dẫn đến năng suất tổng thể tăng từ 2,2 - 4,86 kg khô/ô. Đồng thời ở những công thức phun thuốc đều cho tỷ lệ tươi/ khô thấp hơn so với đối chứng. Trong đó, công thức 3 cho các chỉ tiêu tốt nhất.

3.2. Kết quả thí nghiệm trên cây bạch chỉ

Các kết quả nghiên cứu đối với cây bạch chỉ được thể hiện ở bảng 3 và 4.

Bảng 3. **Ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của bạch chỉ**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá còn khi thu hoạch	Số cây ngồng/ô
Đối chứng	41,0 ± 1,6	3.00±0,0	5,0
I	48,0±1,0	3,33±0,4	5,3
II	51,0±3,2	3,66±0,4	6,6
III	50,0±1,6	3,60±0,4	7,2

Bảng 3 cho thấy kết quả sử dụng phân bón thể lỏng tưới cho bạch chỉ đưa đến sự khác nhau về chiều cao. Các công thức có tưới phân chiều cao tăng từ 4,0 - 10,0 cm, số cây lên ngồng cũng tăng từ 0,3 - 2,0 cây/ ô. Riêng số lá còn /cây khi thu hoạch tăng không đáng kể.

Bảng 4. **Ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đến một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất cây bạch chỉ**

Công thức	Dài củ (cm)	Đường kính (cm)	P củ (g)	Năng suất (kg/ô)	Tỷ lệ củ loại 1 (%)
Đối chứng	16,5	1,5	16,6	8,45±0,35	24,0
I	18,3	2,0	23,3	9,05±1,5	44,5
II	19,0	2,3	28,3	9,85±0,85	42,0
III	19,0	2,1	26,6	9,65±0,80	36,8

Bảng 4 cho thấy:

- Khi dùng phân thể lỏng tưới cho bạch chỉ đã tác động đến chiều dài, đường kính củ, trọng lượng và năng suất củ. Cụ thể: Khi tưới phân chiều dài củ tăng lên từ 1,8 - 2,5 cm. Đường kính củ tăng từ 0,5 - 0,8 cm. Dẫn đến khối lượng củ tăng từ 6,7 - 11,7 gam. Năng suất ô tăng từ 0,6 kg - 1,4 kg/ô thí nghiệm.

Riêng tỷ lệ củ loại I khi tưới phân lỏng tăng từ 12,8-20,5%. Song trong 3 công thức tưới phân công thức có nồng độ cao tỷ lệ loại I lại giảm (do nhiều dinh dưỡng củ phát triển mạnh, phân nhánh nhiều).

- Trong tất cả 3 công thức tưới phân công thức 2 cho các chỉ tiêu khi thu hoạch cũng như năng suất củ cao nhất.

*** Vụ 2004**

3.3. Kết quả thí nghiệm trên cây ngưu tất

Kết quả thí nghiệm trên cây ngưu tất trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội được thể hiện ở bảng 5 và 6.

***Bảng 5.* Ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đến sinh trưởng, phát triển của cây ngưu tất**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số đôi cành	Chiều dài củ (cm)	Đường kính củ (cm)
Đối chứng	59,0±1,0	5,6	22,5±2,8	0,48±0,15
I	65,0±2,8	6,0	24,3±1,4	0,79±0,3
II	69,0±3,1	6,0	26,8±2,5	1,0±0,1
II	66,0±3,1	6,0	26,7±1,8	1,0±0,1

Bảng 5 cho thấy chiều cao cây diễn biến từ 59,0 - 69,0 cm. Trong đó, công thức II cho chiều cao cây cao nhất 69,0 cm.

Về số lá: Biến động từ 5,6 – 6,0 đôi lá. Tuy nhiên, giữa các công thức không có sai khác đáng kể.

Chiều dài củ ngưu tất ở các công thức thí nghiệm biến động từ 22,5 - 26,8 cm. Trong đó, thấp nhất là công thức đối chứng 22,5cm. Công thức có chiều dài củ lớn nhất là công thức II, III: 26,7 – 26,8 cm.

Đường kính củ của các công thức đạt từ 0,48 – 1,0 cm. Trong đó, công thức II, III đạt đường kính củ lớn nhất.

***Bảng 6.* Ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đến khối lượng cá thể và năng suất củ ngưu tất**

Công thức	Khối lượng cá thể (g.củ)	Năng suất ô thí nghiệm (kg/ô)
Đối chứng	10,0±0,25	4,5±0,4
I	11,3±0,30	5,0±0,2
II	12,0±0,45	5,3±0,5
II	12,3±0,40	5,5±0,5

Bảng 6 cho thấy: Khối lượng cá thể của ngưu tất ở các công thức thí nghiệm đạt 10,0 – 12,3 cm trong đó cao nhất là công thức III đạt 12,3 g/củ.

Năng suất ô thí nghiệm đạt từ 4,5 – 5,5 kg/ô trong đó công thức III cũng đạt mức cao nhất: 5,5 kg/ô.

Kết quả bảng 5 và 6 cho thấy, phân thể lỏng Úc ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng, phát triển và năng suất cây ngưu tất. Trong đó, công thức III (dùng 2000 lít dung dịch đã pha nồng độ 1,5% tưới vào gốc/ha) cho năng suất cao nhất.

3.4. Kết quả thí nghiệm trên cây ích mẫu

***Bảng 7.* Ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đến sinh trưởng thân lá ích mẫu**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số cành có lá	Chiều dài cành (cm)
Đối chứng	146,0 ± 13,3	6,3 ± 0,81	50,0 ± 2,0
I	150,0 ± 12,7	7,6 ± 0,88	64,0 ± 2,4
II	165,0 ± 10,5	8,0 ± 0,99	70,2 ± 3,7
III	163,0 ± 9,5	8,3 ± 0,80	72,0 ± 2,0

Bảng 7 cho thấy chiều cao cây ích mẫu diễn biến từ 146,0-165,0 cm trong đó cao nhất là công thức II: 165,0cm. Số cành biến động từ 6,3 – 8,3. Trong đó, công thức II và III số cành có lá cao: 8,0 – 8,3 cành. Chiều dài các cành có lá từ 50,0 – 72,0 cm. Công thức II và III có chiều dài các cành cao: 70,2-72,0 cm.

***Bảng 8.* Ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đến khối lượng cá thể và năng suất cây ích mẫu**

Công thức	Khối lượng cá thể (g/cây)	Năng suất ô (kg/ô)
Đối chứng	16,3 ± 17,7	9,23 ± 0,47
I	18,3 ± 12,0	9,53 ± 0,50
II	21,6 ± 15,0	10,66 ± 0,40
III	21,3 ± 13,0	10,20 ± 0,46

Bảng 8 cho thấy: Khối lượng cá thể của cây ích mẫu biến động từ 16,3 – 21,6 g/cây qua các công thức thí nghiệm. Trong đó, cao nhất là công thức II đạt 21,6 g/cây. Cao nhất là năng suất công thức II.

Bảng 7 và 8 cho thấy các công thức pha phân thể lỏng Úc đều ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây ích mẫu. Trong đó công thức II (phun 1000 lít dung dịch đã pha nồng độ 1% trên 1 ha) cho kết quả tốt nhất.

IV. KẾT LUẬN

- Phân bón thể lỏng của Úc (sản xuất tại Trung Quốc) được Công ty Châu Giang thành phố Hồ Chí Minh nhập về Việt Nam, đã được Cục Khuyến nông, Lâm - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn giao cho Viện Sinh học Nông nghiệp (Trường đại học Nông nghiệp I) khảo nghiệm rộng rãi trên các cây rau, lúa, hoa, chè đều cho kết quả tốt. Các kết quả phân tích đã kết luận đây là loại phân bón an toàn cho sản phẩm rau sạch .

- Tìm hiểu ảnh hưởng của phân bón thể lỏng đối với cây thuốc, cho thấy phân bón có tác động tốt đến quá trình sinh trưởng, phát triển của cả 4 loài cây thuốc và đều cho năng suất cao hơn đối chứng.

- Đối với cây mã đề dùng phân bón thể lỏng của Úc nồng độ 1% tỷ lệ phân 1A/2B phun vào lá cây với lượng dung dịch đã pha 1000 lít/ha cho kết quả tốt nhất.

- Đối với cây bạch chỉ dùng nồng độ 1% tỷ lệ phân 1A/1B tưới vào gốc cây với lượng 2000 lít/ha dung dịch đã pha.

- Đối với cây ngưu tất: Dùng phân bón thể lỏng Úc nồng độ 1,5% với tỷ lệ phân 1A/1B, lượng bón 2000 lít dung dịch/ha, tưới vào gốc cho kết quả tốt nhất.

- Đối với cây ích mẫu: Dùng nồng độ 1,0%, tỷ lệ phân 1A/2B phun 1000 lít dung dịch/ha là tốt nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu hướng dẫn, sử dụng phân thể lỏng Úc - Tổng Đại lý phía Bắc VINARECO.

2. Công ty Cổ phần Châu Giang - Thành phố Hồ Chí Minh. Báo cáo gửi Phó Thủ Tướng Nguyễn Công Tạn và Lãnh đạo Cục khuyến nông, khuyến lâm - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

3. Viện Sinh học Nông nghiệp, (2002), Báo cáo kết quả khảo nghiệm phân bón thể lỏng Úc (sản xuất tại Trung Quốc) đối với sinh trưởng, phát triển và năng suất một số cây trồng.

4. Viện Dược liệu - Tài liệu kỹ thuật trồng cây thuốc.

SẢN XUẤT HẠT GIỐNG NGƯU TẤT (*ACHYRANTHES BIDENTATA* BLUME) CHẤT LƯỢNG CAO

Nguyễn Văn Thuận, Phạm Thị Thu Thủy, Hoàng Văn Định

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây ngưu tất (Niu Xi) (*Achyranthes bidentata* Blume), họ Rau dền (*Amaranthaceae*) có nguồn gốc phân bố từ Đông Á, Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn Độ v.v... Việt Nam nhập nội giống ngưu tất từ Tứ Xuyên - Trung Quốc vào những năm 70 của thế kỷ trước. Sau nhiều năm thuần hóa cây ngưu tất đã thích nghi hoàn toàn với điều kiện khí sinh thái của đồng bằng Bắc Bộ và các tỉnh trung du miền Bắc nước ta. Cây ngưu tất có thể sản xuất dược liệu và sản xuất giống tốt ở điều kiện khí hậu của đồng bằng Bắc Bộ. Gần đây, do giống đã nhập nội lâu năm, quy trình chọn lọc duy trì giống không được thực hiện nghiêm túc. Mặt khác, một số nước trên thế giới đã sản xuất hạt ngưu tất ngoài ý nghĩa để gieo trồng sản xuất dược liệu, còn để chế biến tinh bột như một số hạt ngũ cốc khác, vì hạt ngưu tất có rất nhiều thành phần dinh dưỡng đặc biệt là một số khoáng chất cần cho cơ thể con người.

Đề tài "*Sản xuất hạt giống ngưu tất chất lượng cao*" đã được thực hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mầm giống được chọn lọc từ giống sản xuất tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội - Viện Dược liệu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Theo quy trình sản xuất hạt giống ngưu tất của Trung tâm Cây thuốc Hà Nội - Viện Dược liệu.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Bảng 1. **Tình hình sinh trưởng và phát triển của cây ngưu tất cho hạt**

Chỉ tiêu theo dõi / Địa điểm trồng	Chiều cao sau khi trồng (cm)				
	10 ngày	30 ngày	50 ngày	70 ngày	90 ngày
Thanh Trì - Hà Nội	Mầm cây giống bắt đầu đâm chồi	25	40	60 Hạt chín, thu hoạch hạt	
Tam Đảo - Vĩnh Phúc	Mầm cây giống chưa đâm chồi	38	60	70	85 Hạt chín, thu hoạch hạt

Bảng 1 cho thấy: Giai đoạn đầu cây mầm ở Tam Đảo sinh trưởng chậm hơn so với cây mầm ở Hà Nội, nhưng sau khi đâm chồi 30 ngày cây mầm ở Tam Đảo đã cao tới 38 cm, ở Thanh Trì (Hà Nội) cũng chỉ đạt 25 cm. Ở thời điểm sau khi trồng 50 ngày, chiều cao cây ở Hà Nội chỉ đạt 40 cm, còn ở Tam Đảo (Vĩnh Phúc) cây đã cao tới 60 cm. Tương tự, sau 70 ngày số liệu đó là 60 và 70 cm. Đặc biệt sau 70 ngày cây ngưu tất ở Thanh Trì đã chín, có nghĩa là thời gian thời gian sinh trưởng của cây chỉ kéo dài 70 - 75 ngày. Ở Tam Đảo hạt giống chín phải mất 90 ngày. Điều này rất quan trọng nó ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng hạt giống.

Chiều dài bông hạt và khối lượng 1000 hạt là chỉ tiêu cấu thành năng suất rất quan trọng đối với năng suất hạt giống ngưu tất. Số liệu của 2 chỉ tiêu này được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. **Chiều dài bông, khối lượng 1000 hạt của hạt giống ngưu tất trồng ở 2 địa điểm khác nhau**

Chỉ tiêu theo dõi / Giống	Chiều dài bông (cm)	Khối lượng 1000 hạt (g)
Hạt giống sản xuất tại Thanh Trì - Hà Nội	16	2,08
Hạt giống sản xuất tại Tam Đảo - Vĩnh Phúc	22	3,34

Bảng 2 cho thấy cả chỉ tiêu chiều dài bông và khối lượng 1000 hạt của hạt giống sản xuất tại Tam Đảo đều hơn hẳn hạt giống sản xuất tại Hà Nội.

Chất lượng hạt giống được đánh giá bởi một chỉ tiêu quan trọng nữa tỷ lệ nẩy mầm và thời gian cần thiết để hạt nẩy mầm.

***Bảng 3.* Tỷ lệ và thời gian nẩy mầm của hạt giống ngưu tất sản xuất ở 2 vùng sinh thái khác nhau**
(Hạt giống đưa vào thử tỷ lệ nẩy mầm ngày 22/8/2005)

Chỉ tiêu theo dõi / Giống	Tỷ lệ nẩy mầm (%) sau:				Tỷ lệ nẩy mầm của giống (%)	Năng suất hạt giống/ $1m^2$ (kg)
	5 ngày	6 ngày	7 ngày	8 ngày		
Hạt giống sản xuất tại Hà Nội	5	17,3	13	4,7	40	0,025
Hạt giống sản xuất tại Tam Đảo	13,7	23	25,7	18	80,4	0,089

Bảng 3 cho thấy: Thời gian cần thiết cho hạt ngưu tất sản xuất tại 2 vùng sinh thái khác nhau đều cần 8 ngày để hạt nẩy mầm hết. Nhưng tỷ lệ nẩy mầm của 2 mẫu hạt giống hoàn toàn khác nhau. Hạt giống sản xuất tại Tam Đảo nẩy mầm lên tới 80,4%, hạt sản xuất tại Hà Nội chỉ đạt 40%, như vậy sản xuất hạt giống ngưu tất ở Tam Đảo có tỷ lệ nẩy mầm cao hơn hẳn so với sản xuất ở Thanh Trì – Hà Nội.

Năng suất hạt giống ngưu tất ở Tam Đảo đạt tới 0,089 kg/$1m^2$, hạt giống ngưu tất sản xuất tại Hà Nội chỉ đạt 0,025 kg/$1m^2$.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Hạt giống ngưu tất sản xuất tại Tam Đảo hơn hẳn hạt giống ngưu tất sản xuất tại Hà Nội: Thời gian sinh trưởng dài hơn từ 15 ngày đến 1 tháng, chiều cao cây, chiều dài bông, khối lượng 1000 hạt, tỷ lệ nẩy mầm của hạt đến năng suất hạt trên diện tích trồng đều có số liệu tốt hơn.

- Đề nghị được triển khai thí nghiệm so sánh các chỉ tiêu về dược liệu đặc biệt là năng suất và chất lượng dược liệu do 2 loại hạt giống trên tạo ra.

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG VƯỜN GIỐNG BA KÍCH VÀ XÂY DỰNG LUẬN CHỨNG KINH TẾ TRỒNG BA KÍCH (*MORINDA OFFICINALIS* HOW) TRONG MÔ HÌNH VƯỜN GIA ĐÌNH VƯỜN TRANG TRẠI

Nguyễn Chiều, Lê Thanh Sơn
Phạm Xuân Luôn, Nguyễn Văn Ngót

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhu cầu ba kích trong và ngoài nước hiện nay rất lớn, nhưng nguồn ba kích tự nhiên đã cạn kiệt đến mức cần đặt vấn đề bảo vệ. Biện pháp bảo vệ tốt nhất là di thực vào trồng trọt. Nếu trồng thuần trên đất canh tác thì hiệu quả sử dụng đất thấp vì ba kích phải lâu năm mới cho thu hoạch. Do đó, chúng tôi chọn phương án trồng xen ba kích trong các mô hình vườn gia đình vườn trang trại nhằm mục tiêu xây dựng vườn giống làm cơ sở bảo tồn và phát triển ba kích, xây dựng luận chứng kinh tế cho việc trồng ba kích trong các mô hình vườn gia đình, vườn trang trại.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phương pháp nghiên cứu sinh thái địa thực vật. Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng; phương pháp toán xử lý các kết quả thực nghiệm.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Điều kiện tự nhiên

Nhiệt độ không khí tương đối trung bình hàng năm 21,3°C đến 23,6°C. Lượng mưa trung bình hàng năm 1687mm - 1746mm. Độ ẩm không khí trung bình hàng năm 85-87%.

Vườn trồng ở Chân Mộng, Đoan Hùng, Phú Thọ trên quả đồi trung bình, độ dốc khoảng 15°. Gần 100% cây trong vườn là cây kinh tế mới trồng chưa cây nào cho khai thác. Cây chủ yếu là cà phê. Thêm vào đó có trám, keo tai tượng, xoài, quế... Độ chiếu sáng gần 100%. Đất feralit đỏ vàng, độ pH 6,4-6,7. Vườn ở

Thành Vân, Thạch Thành, Thanh Hoá gần như bãi bằng bồi tụ chân núi, độ dốc 1-3°. Đất feralit đỏ sẫm, độ pH 6 -6,7. Vườn trồng thuần vải, đã 20 năm tuổi. Độ chiếu sáng trung bình 60 %.

Ba kích trồng xen giữa các hàng cà phê, hàng vải. Các cây cách nhau 1-1,5m (ở chân ruộng) và từ 2,5m trở lên (ở Thành Vân). Phân sử dụng là phân chuồng và phân vi sinh. Thời gian trồng là tháng 9/1999. Tưới nước khi vườn bị khô hạn. Làm cỏ theo định kì 1 năm 2 lần. Khi ngọn cây vươn dài, cắm cho mỗi cây 1 giá leo.

3.2. Tình hình sinh tưởng của ba kích

3.2.1. Sự ra chồi của ba kích

Ba kích ra 2 vụ chồi trong năm là vụ xuân và vụ hè - thu. Vụ xuân chồi ở đầu cành, chồi mau già, đến cuối năm cũng chỉ dài 4 - 8cm. Vụ hè - thu chồi ra ở nách lá, mỗi cành ra nhiều chồi. Bắt đầu từ tháng 5. Từ đó đến cuối năm luôn có chồi non và bánh tẻ, ít có chồi già. Chồi dài 40-100cm. Loại chồi này làm tăng nhanh sinh khối trên mặt đất của cây.

Sau khi trồng 14 tháng. Phần lớn các cây đã tạo thành bụi nhỏ. Số liệu đo đếm về chiều cao của cây như bảng 1.

Bảng 1. **Chiều cao cây ba kích sau 14 tháng tuổi (cm)**

Chỉ tiêu / Vườn	n	Min	Max	$\overline{X}$
Chân Mộng	136	30	250	128
Thành Vân	250	25	280	138

Sau khi trồng 14 tháng, ở vườn Chân Mộng, cây cao 30-250cm, trung bình đạt 128cm. Có 95% số cây đã bám vào giá leo và phân nhiều cành tạo thành bụi. Ở Thành Vân cây cao 25-280cm, trung bình đạt 138cm. Có 98% số cây cuốn vào giá leo. Tốc độ sinh trưởng ở cả 2 vườn tương đối nhanh, tuy nhiên không đều nhau. Ở Thành Vân đa số cây có chiều cao lớn hơn. Bằng phân tích phương sai thấy sự sai khác giữa chiều cao trung bình ($\overline{x}$) ở 2 vườn có ý nghĩa thống kê ở $P<0,01$. Lý do khác nhau này có thể là do vườn ở Chân Mộng đất dốc mà lại bị chiếu sáng nhiều hơn, đất khô hơn, cây sinh trưởng chậm hơn.

3.2.2. Sự phát triển hệ rễ ba kích

Sau khi trồng 14 tháng (khi kết thúc đề tài) các cây ở cả 2 vườn đều có rễ nạc, mập. Số rễ cấp I ở các cây đếm được từ 3-6, rễ dài 7 - 40cm, đường kính rễ 0,3 - 0,8cm. Đường kính hệ rễ 30 - 80cm. Một số cây bắt đầu phân rễ cấp II. Phần lớn rễ ba kích ăn xiên ngang tỏa rộng ở tầng đất mặt.

3.2.3. Nghiên cứu giống từ hom thân

Bước đầu thử nghiệm nhân giống từ hom thân có sử dụng chế phẩm giâm cành của Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ quốc gia. Viện Công nghệ sinh học với ba công thức: Công thức I: Đối chứng. Công thức II: Chế phẩm giâm cành pha loãng 50/50. Công thức III: Chế phẩm giâm cành để nguyên. Mỗi công thức nhắc lại 2 lần. Mỗi lần 120 hom. Kết quả như sau:

Sau 14 ngày, 100% số hom còn sống ở cả 3 công thức. Một số hom thành sẹo ở mặt cắt, một số hom có những nốt sần nhỏ, chuẩn bị ra rễ. Những hom không ra rễ chết dần cho đến hết sau 33 ngày.

Ở công thức I sau 24 ngày, chưa có hom nào ra rễ. Ở I_1 đã chết 28%. Sau 33 ngày tỉ lệ cây giống ở I đạt 4,65%. Ở công thức II và III hom ra rễ sớm hơn và đạt tỉ lệ cao hơn. Ở công thức II đạt 48,57%. Ở công thức III là 34,16%.

Các số liệu trên cho thấy công thức II đạt tỷ lệ cây giống cao nhất. Tuy nhiên cần nghiên cứu tiếp để có kết quả tốt hơn.

3.2.4. Xây dựng vườn giống

Chúng tôi sử dụng hai vườn vừa trồng, bao gồm cả phần trồng ở Chân Mộng từ 1997 để làm vườn giống.

Ở vườn Chân Mộng đã tỉa bớt cà phê ở những chỗ dầy; chặt hết các cây keo tai tượng để tránh hại cho ba kích. Sau khi tỉa cây như trên, làm sạch cỏ trong vườn và thay toàn bộ giá leo cho ba kích. Giá leo mới to hơn, cao từ 1,5m trở lên. Vườn ở Thanh Vân chỉ tỉa bớt một số cành vải ở chỗ tán quá rậm và thay giá leo mới.

Mua thêm giống trồng giặm vào những chỗ cây Ba kích bị chết hoặc cây quá còi cọc, cây bị sâu cắn cụt. Rào lại vườn cho kín để bảo vệ. Đã xây thêm bể chứa nước để tưới cho cây ở vườn Chân Mộng. Mua thêm bình tưới nước cho cây, chuẩn bị dụng cụ phun thuốc trừ sâu...

3.2.5. Luận chứng kinh tế

Đầu tư cho một sào vườn gia đình

Tiền mua giống	: 500.000đ
Tiền mua phân bón	: 50.000đ
Tiền công chăm sóc	: 450.000đ
Tổng cộng	:1.000.000d

Phần thu

Thu	: 253 kg (rễ tươi)
Bán	: 2.788.000đ (11.000đ/kg)
Lãi thu được	: 1.788.000d

Từ một vườn tạp hoang hoá không có giá trị về kinh tế cây ba kích trồng vào đây đã đem lại lợi ích đáng kể cho người nông dân.

IV. BÀN LUẬN

Trồng bán tự nhiên ba kích trong vườn gia đình, vườn trang trại làm cây thu hoạch phụ trong tổng thể các cây kinh tế đã trồng ở vườn là một tư tưởng mới trong phương hướng phát triển dược liệu của ngành Dược trong chương trình phủ xanh đất trồng đồi trọc. Rất cần được khuyến khích. Ưu điểm của phương thức này là có thể áp dụng ở quy mô nhỏ từ các gia đình đến quy mô lớn ở nông trường, lâm trường. Đây là phương thức khai thác tổng hợp tài nguyên mà ba kích tham gia để sử dụng hợp lý cả chiều sâu và bề mặt đất và chiều cao của không gian.

Kết quả nghiên cứu giống từ hom thân là đáng tin cậy. Tuy nhiên, cần nghiên cứu tiếp và thử nghiệm với nhiều loại chất kích thích khác để chọn được chất cho tỷ lệ cây giống cao phục vụ cho sản xuất. Cần nghiên cứu so sánh năng suất rễ cây trồng là giống từ hạt và giống từ hom thân. Đây là việc quan trọng trong sản xuất.

Yêu cầu về giống ba kích hiện tại tương đối lớn, trong khi đó ba kích đậu quả rất kém. Quả bị rụng dần, đến khi thu hoạch còn lại rất ít trên cây. Khi quả chín phần lớn số hạt trong quả bị thối và lép. Những vấn đề này cần được nghiên cứu để đưa năng suất hạt ba kích tăng cao. Cần phải điều tra sâu bệnh phá hoại quả và hạt ba kích.

V. KẾT LUẬN

1. Hoàn toàn có khả năng di thực cây ba kích từ hoang dã vào trồng trọt ở các mô hình vườn gia đình, vườn trang trại.

2. Đã xây dựng được hai vườn cây giống với tổng diện tích 2,4ha. Cây giống bắt đầu cho thu hoạch hạt giống nhưng sản lượng và năng suất quá thấp.

3. Đã thu hoạch vườn thí nghiệm, hạch toán lỗ lãi thành luận chứng kinh tế trên đúng diện tích đã trồng. Cần nghiên cứu nhiều nữa để xây dựng luận chứng kinh tế cho từng vùng lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. Nguyễn Chiều, (1995), Khảo cứu xây dựng quy trình trồng ba kích, Báo cáo Khoa học tại Hội nghị Trồng trọt, Trung tâm nghiên cứu Trồng cây thuốc, Viện Dược liệu
2. Nguyễn Chiều, (1999), Nghiên cứu sản xuất giống cây ba kích từ hạt, Tạp chí Dược học số 7, trang 18.
3. Rumsiki L.Z. (1971), Phương pháp toán học xử lý các kết quả thực nghiệm - bản dịch của Hoàng Hữu Như và Nguyễn Bách Văn ,NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1972.
4. Tô Cẩm Tú và những người khác, (1999), Thiết kế và phân tích thí nghiệm (Quy hoạch hoá thực nghiệm), NXB. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

NGHIÊN CỨU CÁC BIỆN PHÁP TĂNG NĂNG SUẤT HẠT GIỐNG TẠO GIỐNG TỪ HOM THÂN VÀ TRỒNG VƯỜN GIỐNG BA KÍCH

Nguyễn Chiều, Lê Thanh Sơn, Phạm Thanh Huyền, Phạm Văn Luôn, Nguyễn Văn Ngót và ctv. - Viện Dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Có một số kết quả nghiên cứu trước đây (1, 2, 3, 4) cho thấy đã ổn định được việc di thực cây ba kích từ hoang dã vào trồng trọt. Đã trồng được một số vườn ba kích, bước đầu tạo vùng nguyên liệu và vùng giống. Tuy nhiên, năng suất hạt giống ba kích rất thấp do cây ra hoa kết quả kém. Quả và hạt ba kích thường bị sâu bệnh làm cho thối và lép nhiều. Số hạt chắc và lành chỉ còn lại rất ít, không đủ cung cấp cho nhu cầu hiện tại. Do đó, việc nghiên cứu các biện pháp tăng năng suất hạt giống, sản xuất giống từ hom thân và trồng thêm vườn giống BA kích là rất cấp thiết.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phương pháp nghiên cứu sinh thái địa thực vật; phương pháp thí nghiệm đồng ruộng; phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật; phương pháp toán thống kế xử lý các kết quả thực nghiệm.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các biện pháp tăng năng suất hạt giống

3.1.1. Biện pháp tăng cường phân bón gốc

Trên nền phân chuồng, chúng tôi tăng thêm phân NPK lâm thao (5:10:3) bón vào gốc. Thí nghiệm bố trí trong 4 công thức: Công thức I: 5 kg phân chuồng + 0,1 kg NPK; công thức II: 5 kg phân chuồng + 0,2 kg NPK; công thức III. 4 kg phân chuồng + 0,3 kg NPK; công thức IV: đối chứng: 5 kg phân chuồng, không có NKP. Kết quả khối lượng quả và hạt thu được như ở bảng 1.

So sánh khối lượng quả trung bình trên các cây ở các công thức bằng phân tích phương sai, tính được F= 0,1215 (P:0,94). Ở P = 0,05 có F = 2,92; giá trị này lớn hơn 0,1215 tức sự khác nhau về khối lượng quả trung bình trên các cây ở các công thức không có ý nghĩa ở P = 0,05. Do vậy có thể kết luận phân NPK không có tác dụng làm tăng khối lượng quả ba kích.

***Bảng 1.* Khối lượng quả và hạt trung bình trên các cây (gam)**

Chỉ tiêu thống kê / Công thức	Khối lượng quả (g)				Khối lượng quả (g)			
	n	Min.	Max.	$\overline{X}$	n	Min.	Max.	$\overline{X}$
I	6	23	38	30,33	6	7,89	13,04	10,4
II	12	12	39	28,25	12	4,12	13,38	9,69
III	9	16	38	29,33	9	5,94	13,04	10,06
IV	8	18	28,75	28,75	8	6,17	12,69	9,86

Tương tự với khối lượng hạt, tính được F= 0,123. Ta có F0,05= 2,91 do 0,123 < 2,91 nên sự khác nhau cũng không có ý nghĩa, tức là NPK bón gốc cũng không có tác dụng tăng khối lượng hạt ba kích.

3.2.2. Biện pháp dùng chất kích thước ra hoa kết quả

Chất kích thích sử dụng là growmore 6:30:30. Thí nghiệm được bố trí 4 công thức, trên nền phân bón lá phân chuồng.

Công thức I: 5 kg phân chuồng + phun thuốc và tưới nước;

Công thức II: 5 kg phân chuồng, không phun thuốc, có tưới nước;

Công thức III: 5 kg phân chuồng, không tưới nước, không phun thuốc;

Công thức IV: đối chứng.

Thí nghiệm này ngoài đánh giá tác dụng của thuốc kích thích còn so sánh vai trò của nước đối với năng suất cây trồng. Thuốc kích thích được phun vào cuối tháng II, đầu tháng III. Phun 3 lần, mỗi lần cách nhau 7 ngày. Chỉ tiêu theo dõi là tỷ lệ cây ra hoa kết quả, khối lượng quả và hạt trên các cây. Kết quả thu được như sau:

3.2.2.1. Tỷ lệ cây ra hoa kết quả ở các công thức

Chúng tôi tính toán tỷ lệ cây có hoa, có quả trung bình ở các công thức và trình bày ở bảng 2.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy tỷ lệ cây có hoa giảm dần từ công thức I (92%) đến công thức đối chứng (79,16%). Tỷ lệ cây có quả cho thu hoạch giảm dần từ công thức 1 (70%) đến công thức IV (25,83%).

***Bảng 2.* Tỷ lệ cây có hoa, quả ở các công thức**

Chỉ tiêu thống kê / Công thức	Cây có hoa					Cây có quả				
	n	Tỷ lệ (%)	Min.	Max.	$\bar{X}$	n	Tỷ lệ (%)	Min.	Max.	$\bar{X}$
I	111	92	27	29	27,75	84	70	20	23	21
II	100	83,33	21	28	25,00	64	53,33	13	19	16
III	98	81,66	23	27	24,50	40	33,33	7	12	10
IV	95	79,16	22	22	23,75	31	25,83	7	9	7,75

So sánh công thức I và công thức II qua giá trị trung bình tính được T_{diff} = 1,491. Với P = 0,95 có T = 1,96 lớn hơn 1,491 do đó sự chênh lệch về số cây có hoa giữa 2 công thức không có ý nghĩa, tức là thuốc growmore không làm tăng tỷ lệ cây có hoa. So sánh số cây có quả trung bình ở 2 công thức trên, tính được T_{diff} = 3,3976. Ở P = 0,95 có T = 1,96. Giá trị này bé hơn 3,3976 do đó sự khác nhau về số cây có quả ở 2 công thức có ý nghĩa tức là thuốc growmore có tác dụng làm tăng tỷ lệ cây có quả.

So sánh công thức II và công thức III cho phép đánh giá tác dụng của nước đến tỷ lệ cây ra hoa đậu quả. Với chỉ tiêu cây có hoa, tính được Tdiff. = 0,247. Ở P = 0,95 có T0,95 = 1,96 lớn hơn 0,247 do đó sự sai khác về số cây có hoa giữa 2 công thức không có ý nghĩa. Với chỉ tiêu cây có quả tính được Tdiff = 3,565. Ở P = 0,95 có T = 1,96. Giá trị này nhỏ hơn 3,565 do đó sự khác nhau về tỷ lệ cây

đậu quả ở hai công thức có ý nghĩa tức là nước cũng có tác dụng tăng tỷ lệ đậu quả của cây.

So sánh cả ba công thức trên với công thức IV, sự khác nhau về tỷ lệ cây ra hoa đậu quả đều có ý nghĩa.

Tón lại, thuốc growmore không làm tăng tỷ lệ cây có hoa nhưng làm tăng tỷ lệ cây đậu quả, có thể là do tỷ lệ P trong thuốc cao. Thêm vào đó, nước cũng làm tăng tỷ lệ cây đậu quả.

3.2.2.2. Khối lượng quả và hạt trên các cây ở các công thức

Sau khi thu hoạch quả, lọc chọn lấy hạt làm giống được, đã tính toán và trình bày ở bảng 3.

***Bảng 3*. Khối lượng quả và hạt trên các cây**

Chỉ tiêu thống kê / Công thức	Khối lượng quả (g)				Khối lượng quả (g)			
	n	Min.	Max.	$\overline{X}$	n	Min.	Max.	$\overline{X}$
I	84	12,5	37,5	31,15	84	4,3	12,88	10,35
II	64	12,5	40	27,07	64	4,3	13,74	9,55
III	40	7,5	37,5	22,04	40	2,57	12,88	7,58
IV	31	7,5	40	19,76	31	2,57	13,70	6,99

Với các số liệu ở bảng 3, so sánh khối lượng quả trung bình trên các cây ở công thức I và II, tính được T = 3,0518. T0,95 = 1,96 nhỏ hơn 3,0518 do đó sự sai khác khối lượng quả ở 2 công thức có ý nghĩa. Vậy thuốc growmore làm tăng khối lượng quả trên cây. So sánh tương tự giữa công thức II và III. Với chỉ tiêu khối lượng quả tính được là T = 3,115. Ở P= 0,85, I = 1,96 nhỏ hơn 3,115 do vậy sự chênh lệch khối lượng quả trung bình trên các cây ở 2 công thức có ý nghĩa, tức là nước cũng đóng vai trò làm tăng năng suất của cây. Với chỉ tiêu khối lượng hạt, tính được T = 3,141; T0,95 = 1,96 nhỏ hơn 3,141 do đó sự chênh lệch khối lượng hạt trên các cây có ý nghĩa, tức là nước làm tăng năng suất hạt.

So sánh công thức III với công thức IV thấy sự chênh lệc quả và hạt đều không có ý nghĩa.

Các so sánh trên đây cho thấy thuốc growmore có tác dụng làm tăng năng suất quả và hạt của ba kích.

3.3. Biện pháp phòng trừ sâu bệnh

3.3.1. Côn trùng và sâu bệnh hại

Đã phát hiện hai loại rệp muội: *Aphis sacchari* Zehnt và *A. gosypii* Glover hút dịch ở chồi và lá non. Tác hại không lớn vì chỉ gặp rất ít. Các loại côn trùng phát hiện được cũng ít gây hại tới ba kích như dế mèn lớn *Brachytupes portentosus* Licht, mối - *Macrotermet* sp.

Các loại sâu gồm: Sâu sa - *Agrius convolvulii* L. Mức độ gặp ít, loài này cắn lá và cả cành non. Diệt trừ bằng ofatox 400 EC. Sâu chùm *Andraca bipunctata* Wolker cũng gặp rất ít; có thể diệt trừ bằng cymerin pha nước với nồng độ 0,1% phun trực tiếp. Sâu róm là nguy hại hơn cả, gồm các loài thuộc chi *Euproctis* spp. Trị các loài này bằng fatox pha nước phun trực tiếp khi có nhiều sâu hoặc đã phát triển thành dịch.

3.3.2. Bệnh hại ba kích

3.3.2.1.Bệnh gỉ sắt

Bệnh do nấm *Hemileia vastatrix* Berk et Brom gây ra cả ở lá và quả ba kích. Qua các mẫu điều tra đã xác định tỷ lệ cây nhiễm bệnh trong vườn giống (2ha) là 56,25%. Tỷ lệ cành bị bệnh ở các cây nhiễm bệnh là 15,64%.

a. Bệnh trên lá:

Điều tra trên 51 cành của 17 cây ghi nhận trong 490 lá điều tra, có 271 lá bị bệnh chiếm 53,3%. Số lá bị bệnh trên các cành ngọn là 32,84%, ở giữa là 42,8%, ở gốc là 24,35%. Ở tầng giữa cây bị bệnh nhiều nhất.Hiện tượng này có thể là do tầng ngọn và tầng gốc, cây có ít lá thưa thớt, làm cho độ thoáng lớn, lá ít bị bệnh. Trái lại ở tầng giữa có nhiều cành nhiều lá rậm rạp, không thoáng, lá bị bệnh nhiều.

Xét riêng từng cây, thấy tỷ lệ bệnh khá lớn. Thấp nhất là 27,5%. Cao nhất là 90% (tỷ lệ bệnh tính theo công thức : Tổng cành (lá) bị bệnh/tổng cành (lá) theo dõi x 100). Có 2 cây có tỷ lệ bệnh dưới 30%; 15 cây có tỷ lệ bệnh từ 36 - 90%; 9 cây có tỷ lệ bệnh từ 50% trở lên.

Để đánh giá được mức độ bệnh nặng hay nhẹ, chúng tôi đã căn cứ vào tổng diện tích các vết bệnh so với diện tích lá để xác định cấp bệnh và chỉ số bệnh.

Cấp bệnh được phân theo viện bảo vệ thực vật. Chỉ số bệnh tính theo công thức của Townsend - Heuberger.

Kết quả tính được mức độ bệnh biểu hiện trên lá các cây phần lớn ở cấp 1 và 2. Cấp 1 là bệnh nhẹ, lá vẫn hoạt động bình thường. Ở cấp 2 đã có một số lá bị vàng, cây bắt đầu có biểu hiện ốm yếu. Có 9 cây lá bị bệnh đến cấp 3 là cấp bệnh nặng; cây bắt đầu rụng lá. Một số cây trong đó có nguy cơ ngừng hoạt động, có chỉ số bệnh tương đối cao (44 - 68%). Mức độ bệnh được xác định là đáng báo động.

b. Bệnh gỉ sắt trên quả

Bệnh gỉ sắt làm cho quả bị nhỏ, quả bị khô và thối ngay trên cành. Quả ba kích nhỏ, mặt lại sần sùi, không khảo sát kỹ được như với lá. Chúng tôi chỉ thống kê số cụm quả bị thối và mức độ thối của quả.

Điều tra ở 172 cụm quả, có 48 cụm bị bệnh ở các mức độ khác nhau chiếm 27,9%. Trong đó 10 cụm khô mất 1/4; 18 cụm mất 1/3; 13 cụm mất 1/2; 7 cụm khô hoàn toàn. Trị bệnh gỉ sắt: Dùng dithan - 80wp pha với nước ở nồng độ 0,25 phun trực tiếp vào cây bị bệnh vào tháng 2, tháng 8 và tháng 10.

3.3.2.2. Bệnh thối nhũn quả

Có nhiều loại nấm nhỏ gây bệnh thối nhũn quả, khi quả rơi xuống đất, xung quanh mọc các tọi nấm trắng bao lấy quả và lan ra cả đất. Các loại nấm gây bệnh loại này thường là các loài *Fusarium, Collectotrichum, Phytophthora*... Để trị chung các loại nấm này, dùng chế phẩm aliette 80wp pha với nước ở nồng độ 0,3% phun ngay từ lúc quả còn bánh tẻ để phòng bệnh.

3.3.2.3. Bệnh thối, lép hạt

Đây là loại bệnh phá hại nhiều nhất. Tỷ lệ hạt thối đen và lép hạt thu được trong các lô thí nghiệm từ 52% đến 54,99%. Trung bình cho toàn vườn là gần 53,4%. Đây là so sánh về khối lượng, còn về số hạt thì hạt lép và thối chiếm 75 -80%, vì hạt thối và lép nhẹ hơn hạt chắc và lành nhiều lần.

Chúng tôi chưa xác định được tác nhân gây bệnh này chỉ dự đoán là loại bào tử nấm hoặc vi khuẩn nào đó có cuộc sống chuyên hoá rất cao, xâm nhập qua đường vòi nhụy vào bầu hoa từ khi hoa đang thụ phấn, chờ cho đến khi hạt phát triển thì gây bệnh. Vì vậy, chưa xác định được biện pháp phòng trừ.

3.3.2.4. Bệnh thối cổ rễ

Bệnh thối cổ rễ do nấm *Rhizoctonia solani* Kuhn gây ra cả ở cây non và cây trưởng thành. Bệnh này phá hại rất lớn. Cây con 5-6 tháng tuổi có thể bị tiêu diệt

đến 90%. Để phòng trừ bệnh này cần xử lý đất trước khi gieo hạt và trồng bằng Dazomét. Khi cây con mắc bệnh dùng dung dịch validacin 3-5% phun trực tiếp. Khi cây trưởng thành mắc bệnh dùng rovran dạng bột thấm nước 50% pha nước ở nồng độ 0,1 - 0,2% phun hoặc tưới vào gốc cây.

Kết quả trên đây cho thấy phòng trừ sâu bệnh cũng là một trong những biện pháp chủ yếu để đảm bảo năng suất cao.

3.4. Nghiên cứu giống từ hom thân

3.4.1. Thí nghiệm lựa chọn hoá chất

Đã thử nghiệm với IAA (acid indol acetic), NAA (acid α - naphthyl acetic) và IBA (acid indol butyric). Các chất này pha ra 4 nồng độ thành 4 công thức : I: 100 ppm; II: 250 ppm; III : 500ppm; IV: 1000ppm. Mỗi công thức nhắc lại 4 lần, mỗi lần 40 hom. Hom giống lấy từ cây ba kích 3 năm tuổi, lựa lấy các cành bánh tẻ, khoẻ mạnh, không sâu bệnh. Mỗi hom 2 đốt, có đủ 2 lá. Hom cắt ra nhúng gốc hom vào dung dịch thí nghiệm 2 - 5 giây, để ráo mặt cắt, giâm vào luống đã làm sẵn ở vườn ươm. Thời vụ giâm: tháng 2. Kết quả thu được ghi ở bảng 4.

***Bảng 4.* Tỷ lệ hom ra rễ ở các công thức (hom)**

Công thức / Nhắc lại	IAA				NAA				IBA			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1	16	15	11	14	16	14	18	18	30	27	22	19
2	15	14	9	11	14	15	18	16	31	16	23	17
3	16	16	9	14	13	13	19	14	32	28	25	20
4	17	15	7	13	13	14	17	16	28	27	25	16
T.L.C(%)	40	37,5	22,5	32,5	14	35	45	40	75	67,5	59,37	45

Bảng 4 cho thấy với IAA tỷ lệ hom ra rễ từ 22,5 đến 40%. Với NAA đạt 35 - 45%. Với IBA đạt 45 - 75%.

So sánh số hom ra rễ trung bình ở các công thức trên qua phân tích phương sai tính được F = 49,425. Ở P = 0,01 có F = 4,61, nhỏ hơn 49,425 nên sự khác nhau về số hom ra rễ ở các công thức của 3 chất trên có ý nghĩa thống kê ở P < 0,01. Kết quả so sánh cho thấy chất kích thích ra rễ tốt nhất trong 3 chất thử nghiệm là IBA.

3.4.2. Thí nghiệm lặp lại chọn nồng độ cho ra rễ cao nhất của IBA

Thí nghiệm vẫn bố trí 4 công thức với 4 nồng độ như trên. Kết quả đạt được như ở bảng 5.

Bảng 5. Tỷ lệ cây giống đạt được ở các công thức (cây)

Công thức / Nhắc lại	I	II	III	IV
1	28	26	22	25
2	30	29	22	23
3	30	28	23	24
4	29	24	20	24
Tỷ lệ (%)	73,12	66,87	54,37	60

Bảng 5 cho thấy ở công thức I (nồng độ 100 ppm) đạt tỷ lệ cao nhất: 73,12%. So sánh số cây đạt được ở các công thức bằng phân tích phương sai, tính được F = 21,6. ở P = 0,01 có F = 5,99 nhỏ hơn 21,6 do đó sự khác nhau về tỷ lệ cây đạt được ở các công thức có ý nghĩa thống kê, tức tỷ lệ lớn nhất ở công thức I là chắc chắn.

3.5. Trồng vườn giống mới

Để nhanh chóng tạo ra vùng giống, đã trồng bổ sung 3 vườn giống trong đó có 2 vườn ở đồi trọc, 1 vườn trồng xen với những cây kinh tế khác. Mỗi vườn có diện tích 1 mẫu Bắc Bộ. Vườn ở đồi trọc, các cây trồng cách nhau 1,8m. Ở vườn trồng xen, các cây cách nhau 1,5 - 2,1m. Hố trồng ba kích được bón lót 2 kg phân chuồng và 0,5 kg phân NPK Lâm Thao. Mỗi hố trồng 1 cây cấy giống cao trung

bình 30cm. Vườn được chăm sóc đầy đủ, được giữ ẩm thường xuyên, làm cỏ và bón phân bổ sung 2 lần trong năm. Trong điều kiện trồng và chăm sóc như trên, tỷ lệ cây sống ở các vườn đạt 95 - 97%. Sau 20 tháng tuổi, có 5% số cây có hoa. Chiều cao trung bình các cây ở cả 3 vườn từ 117 cm đến 124cm. Cây sinh trưởng tương đối đều nhau trừ những cây bị sâu cắn (ít).

Kết quả trên đây cho thấy hoàn toàn có khả năng trồng ba kích ở vùng đồi trung du Phú Thọ, Tuyên Quang, Hà Tây...

3.6. Bàn luận

Trong các biện pháp đã lựa chọn, biện pháp dùng chất kích thích ra hoa kết quả và phương pháp phòng trừ bệnh hại là chủ yếu. Trong đó biện pháp phòng trừ bệnh là quan trọng nhất. Về biện pháp này còn cần tiếp tục nghiên cứu sâu hơn nữa, nhất là với bệnh thối đen và lép hạt. Để đạt kết quả tốt cần kết hợp nghiên cứu bảo vệ thực vật với nghiên cứu quá trình sinh học thụ phấn hoa và kết quả của ba kích.

IV. KẾT LUẬN

1. Xác định được biện pháp chủ yếu làm tăng năng suất hạt giống ba kích là dùng chất kích thích ra hoa kết quả growmore 6:30:30 và biện pháp phòng trừ sâu bệnh. Trong đó biện pháp phòng trừ sâu bệnh là quan trọng.

2. Trồng thành công 3 mẫu Bắc Bộ vườn giống với 6000 cây giống.

3. Đã nghiên cứu bổ sung về sản xuất giống từ hom thân. Bước đầu xác định dùng chất IBA pha ở nồng độ 100ppm cho tỷ lệ cây giống cao nhất, có thể áp dụng trong sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Chiều, (1999), Nghiên cứu sản xuất cây giống từ hạt ba kích, Tạp chí Dược học, số 7, trang 18.
2. Nguyễn Chiều, (2000), Nghiên cứu xây dựng vùng giống ba kích và xây dựng luận chứng kinh tế trồng ba kích (*Morinda Officinalis* How) trong mô hình vườn gia đình, vườn trang trại (Báo cáo nghiệm thu đề tài cấp Bộ).
3. Nguyễn Chiều, (2001), Kết quả bước đầu nghiên cứu trồng ba kích ở Phú Thọ, Tạp chí Dược học, số 1, trang 6.

4. Nguyễn Chiều và Lê Thanh Sơn, (2002), Nghiên cứu trồng ba kích (*Morinda Officinalis* How) trong mô hình vườn gia đình, vường trang trại. Tạp chí Dược học số 10, trang 8.
5. Tô Cẩm Tú và những người khác, (1999), Thiết kế và phân tích thí nghiệm (Quy hoạch hoá thực nghiệm), NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
6. Viện Bảo vệ thực vật, (1997), Phương pháp nghiên cứu Bảo vệ thực vật, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, tập 1.

NGHIÊN CỨU PHỤC TRÁNG GIỐNG CÁT CÁNH (*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A.DC) PHỤC VỤ SẢN XUẤT DƯỢC LIỆU TRÊN ĐỊA BÀN BẮC TRUNG BỘ

Trần Thị Lan, Hoàng Thị Sáu
Trung tâm Nghiên cứu Dược liệu Bắc Trung Bộ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi *Platycodon A*. DC. chỉ có một loài duy nhất đó là cây cát cánh thuộc dạng thân thảo, sống lâu năm. Cát cánh là một vị thuốc chữa ho, hen suyễn, viêm phế quản. Ngoài ra, còn dùng chữa mụn nhọt và chế thuốc mỡ dùng bôi ngoài. Cát cánh phân bố chủ yếu ở vùng ôn đới ẩm Đông Bắc Á và được trồng lâu đời ở Trung Quốc. Cây được du nhập vào Việt Nam cách đây khoảng 40 năm [1]. Ban đầu cây được đưa về trồng thử tại vùng núi cao Sa Pa, Bắc Hà có khí hậu ẩm mát, cây tỏ ra thích nghi sinh trưởng phát triển tốt, chiều cao của cây có thể đạt đến 1m. Sau đó cây được chuyển dần về đồi núi thấp rồi chuyển về trồng ở đồng bằng. Việc trồng cây cát cánh ở đồng bằng, chưa có tài liệu nào đưa ra số liệu cụ thể về tình hình sinh trưởng cũng như năng suất dược liệu cát cánh. Hiện nay, giống cát cánh rất khan hiếm và có nguy cơ bị thoái hóa. Mặt khác, nhu cầu sử dụng vị thuốc này trên địa bàn tỉnh Thanh Hóa qua số liệu điều tra vào tháng 7/2004 là rất lớn [2]. Vì vậy, cần nghiên cứu phục tráng giống cát cánh, tiến tới xây dựng quy trình kỹ thuật sản xuất hạt giống

cát cánh tại Thanh Hóa đáp ứng đủ lượng giống cho sản xuất dược liệu phục vụ nhu cầu sử dụng thuốc ngày càng cao.

MỤC TIÊU CỦA ĐỀ TÀI

- Xây dựng được kỹ thuật sản xuất hạt giống cát cánh trong điều kiện thổ nhưỡng khí hậu tại Thanh Hoá, từ đó mở rộng diện tích sản xuất ở vùng Bắc Trung bộ.
- Đáp ứng đủ nguồn giống phục vụ cho sản xuất dược liệu trong năm tiếp theo ở quy mô từ 500 m^2 tiến tới quy mô lớn 1 – 2 ha.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng hạt giống, mầm củ cát cánh có nguồn gốc di thực từ cây 2 năm tuổi tại Vườn Bảo tồn (Trung tâm nghiên cứu Dược liệu Bắc Trung Bộ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Công thức thí nghiệm

Trồng 3 khoảng cách (CT1, CT2, CT3) trên cùng nền phân chuồng, phân đạm, phân lân, phân kali

* Sơ đồ bố trí thí nghiệm theo phương pháp thí nghiệm đồng ruộng khối ngẫu nhiên đầy đủ (CRBD) [3].

Giải BV

CT1	CT 2	CT3
CT 3	CT 1	CT 2
CT 3	CT 2	CT1

Giải BV

2.2.2. Chỉ tiêu nghiên cứu

+ Các chỉ tiêu về sinh trưởng sinh dưỡng:

- Chiều cao cây khi ra hoa(cm)
- Số lá/thân chính (lá)
- Số nhánh/cây (nhánh)
- Đường kính gốc

+ Các chỉ tiêu về sinh trưởng sinh thực

- Ngày gieo, ngày mọc
- Ngày ra hoa, ngày thu hoạch
- Thời gian từ khi trồng đến ra hoa
- Thời gian từ khi ra hoa đến khi đậu quả và thu hoạch
- Mùa ra hoa, mùa quả
- Số quả/cây

Qua số liệu về thời gian sinh trưởng của cây, xây dựng chu kỳ sinh trưởng đặc trưng của cây cát cánh.

+ Các chỉ tiêu về chất lượng hạt làm giống và dược liệu

- Số lượng quả/cây (tỷ lệ hạt chắc)
- Số hạt/quả (tỷ lệ hạt chắc)
- Trọng lượng 1000 hạt (g)
- Kích thước hạt (cm)
- Tỷ lệ củ I
- Năng suất cá thể (chiều dài củ; đường kính củ; khối lượng củ tươi)
- Tỷ lệ củ tươi/khô (%).
- Năng suất ô thí nghiệm (Khối lượng củ tươi/ô thí nghiệm)

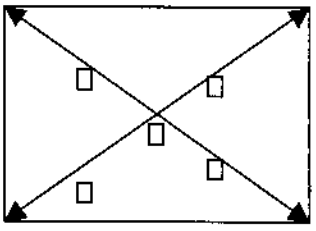
2.2.3. Phương pháp xác định các chỉ tiêu nghiên cứu

* Đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển và năng suất dược liệu

– Theo hai đường chéo của mỗi ô thí nghiệm [3].

– Mỗi ô có 5 điểm đánh giá, mỗi điểm đánh giá ≥ 6 cây, ô thí nghiệm thuộc điểm, đại diện cho mỗi ô thí nghiệm (theo các ô vuông trong sơ đồ).

– Thời gian đánh giá sinh trưởng 1 lần/tháng.



* Đánh giá chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển và năng suất dược liệu theo Giáo trình Chọn giống của Bộ môn Di truyền giống Trường đại học Nông nghiệp Hà Nội. NXB. Bộ Giáo dục và Đào tạo, 2000. [4]

* Đánh giá chất lượng dược liệu cát cánh theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam 3 [5].

2.3. Phương pháp xử lý số

Theo chương trình IRRISTAT [6].

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tập hợp hạt giống và khảo sát địa điểm trồng

Hạt giống cát cánh, thu thập từ nguồn giống cây thuốc bảo tồn tại Trung tâm nghiên cứu Dược liệu Bắc Trung Bộ, tiến hành gieo thử và xác định tỷ lệ nảy mầm (bảng 1).

Bảng 1. **Khả năng nảy mầm của hạt cát cánh**

Loại hạt	Ngày gieo	Ngày mọc	Thời gian từ gieo- mọc (ngày)	Tỷ lệ mọc (%)
Hạt tươi	22/10/04	1-8/11/04	10-15	78%
	2/11/04	11-20/11/04	9-18	71%
Hạt khô	18/10/04	30/10/04	12-20	63%
	5/11/04	20/11/04	15-20	67%

Bảng số liệu trên cho thấy gieo hạt cát cánh tươi cho tỷ lệ nảy mầm của hạt cao hơn, đạt từ 71-78%; còn gieo hạt cát cánh phơi khô tỷ lệ mọc thấp hơn, đạt 63-67%. Thời gian từ khi gieo đến khi mọc đối với hạt cát cánh tươi cũng ngắn hơn so với loại hạt cát cánh khô.

Sau khi tập hợp đủ hạt giống, tiến hành triển khai thí nghiệm ngoài đồng ruộng:

- Thí nghiệm được tiến hành vào tháng 12/2004
- Địa điểm: Trung tâm nghiên cứu Dược liệu Bắc Trung Bộ
- Vật liệu thí nghiệm: Hạt cát cánh và mầm củ từ cây 2 năm tuổi
- Phương thức gieo: Hạt cát cánh sau khi thu về đem phơi khô đến tháng 12 đem gieo trồng. Gieo thẳng trên mặt luống.

  Thời gian gieo: 28/12/04

  Thời gian mọc: 18/01/05

  Thời gian trồng: 24/03/05

***Bảng 2.* Thời gian hạt mọc và tỷ lệ mọc của hạt**

Ngày gieo	Ngày mọc	Ngày trồng	Thời gian từ gieo - bắt đầu mọc (ngày)	Thời gian từ gieo mọc đều (ngày)	Thời gian từ gieo đến trồng (ngày)
28/12/04	18/01/05	24/03/05	20	23	85-90

Cát cánh là cây ưa khí hậu ôn hoà, nhiều ánh sáng, nhiều mùn và thoát nước, không ngập úng. Hạt cát cánh nảy mầm trong điều kiện nhiệt độ từ 20-30°C cho nên có thể gieo trồng vào tháng 9 - 12. Thời gian từ khi gieo cho đến khi mọc là 20 ngày, đến khi cây mọc đều là 23 ngày. Thời gian từ khi gieo cho đến khi đưa cây ra trồng là 85 - 90 ngày.

3.2. Đánh giá quá trình sinh trưởng, phát triển của cây

- *Tốc độ tăng trưởng chiều cao cây*

***Bảng 3.* Ảnh hưởng cảa mật độ đến chiều cao cây**

Chỉ tiêu / Thời gian / Mật độ trồng	Chiều cao cây (cm)			
	13/05/05	13/06/05	13/07/05	13/08/05
m1	20,14	29	30,29	32,86
m2	17,71	25,86	29,57	31,57
m3	18,14	26	31,14	32,57

Bảng 3 cho thấy, chiều cao cây trong thời kỳ đầu của quá trình sinh trưởng (giai đoạn 2-3 tháng sau khi trồng) ở cả 3 mật độ đều sinh trưởng phát triển mạnh, trung bình tăng từ 8 – 9 cm/tháng. Trong thời gian này cây vừa sinh trưởng dinh dưỡng, vừa sinh trưởng sinh thực. Từ tháng thứ tư trở đi, cây phát triển chậm lại, chỉ còn 1 – 4 cm/tháng, gần như không thay đổi và tập trung cho quá trình ra hoa kết quả. Chiều cao cây dao động từ 31,57 - 32,86 cm. Nhìn chung, chiều cao cây chênh lệch không đáng kể ở cả 3 mật độ trồng.

** Tốc độ tăng trưởng đường kính gốc*

***Bảng 4.* Ảnh hưởng của mật độ đến đường kính gốc**

Chỉ tiêu / Thời gian TD / Mật độ trồng	Đường kính gốc (cm)			
	13/05/05	13/06/05	13/07/05	13/08/05
m1	0,25	0,37	0,46	0,49
m2	0,32	0,5	0,56	0,58
m3	0,28	0,48	0,54	0,60

Bảng 4 cho thấy, đường kính gốc của cây cát cánh tăng dần qua từng thời kỳ sinh trưởng, trung bình tăng từ 0,12 - 0,2cm/tháng. Từ tháng thứ 4 trở đi, đường kính gốc tăng chậm lại và đạt kích thước trung bình cuối cùng dao động từ 0,49 - 0,60 cm, trong đó cây trồng ở mật độ thưa nhất (m3) thì đường kính gốc là to nhất 0,65 cm/gốc và giảm dần khi mật độ trồng dày hơn 0,58cm (m2) và 0,49cm (m3). Như vậy, trồng với mật độ càng dầy thì đường kính gốc của cây càng nhỏ.

* *Khả năng phân cành*

***Bảng 5.* Ảnh hưởng của mật độ đến khả năng phân cành**

Chỉ tiêu / Thời gian TD / Mật độ trồng	Số nhánh cấp I (nhánh)			
	13/05/05	13/06/05	13/07/05	13/08/05
m1	2,38	3,86	4,71	5,60
m2	3,14	6,00	6,12	6,43
m3	1,71	4,23	5,03	5,47

Hoa cát cánh được hình thành ở đầu ngọn hoặc đầu cành nên số nhánh/cây có ảnh hưởng tới sự hình thành quả. Bảng 5 cho thấy, cây trồng ở 3 mật độ khác nhau cú khả năng phân cành cấp I của cây chênh lệch nhau không nhiều dao động từ 0,83 - 0,96 cành/cây. Đối với cát cánh chiều cao của cây thấp, bộ phận trên mặt đất chiếm diện tích không nhiều cho nên có thể trồng ở mật độ m1 vẫn đảm bảo khả năng phân cành của cây.

3.3. Quá trình sinh trưởng sinh thực

Ngày trồng: 24/3/05

Ngày bắt đầu ra hoa: 24/4/05

Ngày bắt đầu có quả: 2/5/05

Thời gian ra hoa: 24/4/05 - 8/7/05

Thời gian ra quả: 2/5/05 - 18/8/05

***Bảng 6.* Đánh giá quá trình sinh trưởng sinh thực của cát cánh**

Ngày trồng	Thời gian từ trồng - bắt đầu ra hoa	Thời gian từ trồng-bắt đầu ra quả	Thời gian từ trồng - bắt đầu thu quả	Thời gian từ trồng - thu dược liệu
24/3/05	30 -35(ngày)	35-40 (ngày)	120-150 (ngày)	180-200 (ngày)

Bảng 6 cho thấy thời gian trồng cát cánh có thể tiến hành vào mùa xuân, sau khi trồng khoảng 30-35 ngày cây bắt đầu ra hoa, thời kỳ này cây vừa sinh trưởng sinh dưỡng vừa sinh trưởng sinh thực. Thời gian ra hoa thường kéo dài 3 tháng, sau 6 - 7 ngày thì hoa bắt đầu héo và đế hoa phát triển thành quả. Như vậy, thời gian hình thành quả là rất sớm, 35-40 ngày sau trồng. Tuy nhiên thời gian từ quả cho đến khi quả chín là dài 2-3 tháng (120-150 ngày sau khi trồng). Lúc này cần phải chú ý thu hái quả kịp thời vì quả chín rải rác.

***Bảng 7.* Ảnh hưởng của mật độ đến sự hình thành quả**

Chỉ tiêu / Thời gian TD / Mật độ trồng	Số quả/cây (quả)			
	13/05/05	13/06/05	13/07/05	13/08/05
m1	1,86	6,14	7,28	8,57
m2	0,51	3,33	6,34	8,14
m3	0,85	4,23	5,29	6,41

Bảng 7 cho thấy, ở 3 mật độ trồng khác nhau thì số lượng quả thu/cây cũng khác nhau, nhưng không nhiều. Trồng ở mật độ m1 thì số lượng quả thu được trung bình là 8,57 quả/cây, trồng ở mật độ m2 thì số lượng quả thu được trung bình là 8,14 quả/cây và trồng ở mật độ m3 thì số lượng quả đạt là 6,41 quả/cây. Qua đó cho thấy trồng cát cánh lấy hạt có thể trồng ở mật độ m1 cho năng suất hạt vẫn cao.

***Bảng 8.* Đánh giá chất lượng hạt và năng suất dược liệu**

STT	Số lượng hạt/quả	P củ tươi/cây (g)	P_{1000}hạt (g)	P hạt thu được(g)
1	70	10	0,824	100
2	50	4		
3	56	8		
4	108	6		
5	77	13		
6	91	16		
7	57	4		
8	54	7		
9	63	6		
10	74	4		
Trung bình	67	7,8		

Mục tiêu của đề tài là phục tráng lại giống cát cánh nhằm tạo ra số lượng hạt giống để mở rộng diện tích trồng trong những năm tiếp theo đáp ứng nhu cầu dược liệu cát cánh cao hiện nay. Bảng 8 cho thấy, số lượng hạt cát cánh/quả rất nhiều từ 50 - 108 hạt/quả, trung bình từ 67 hạt/quả. Trọng lượng 1000 hạt là 0,824 (g), tổng số lượng hạt thu được là 100 g hạt. Như vậy triển vọng có thể tạo ra được số lượng cây giống lớn. Tuy nhiên, hiện nay số lượng hạt giống thu được còn ít, cần thiết phục tráng lại dần dần nhằm tăng số lượng hạt làm giống.

Giai đoạn cuối của chu kỳ sinh trưởng vào cuối thu đầu đông, lúc này bộ phận thân lá trên mặt đất tàn lụi dần, có thể tiến hành thu hoạch củ làm dược liệu. Song, củ cát cánh của cây 1 năm rất nhỏ, trọng lượng củ thấp trung bình là 7,8 g/củ tươi và đạt cao nhất là 13 g/củ tươi. Do đó, cần theo dõi đánh giá tiếp năng suất củ của cây trồng 2 năm hay 3 năm.

IV. KẾT LUẬN

Qua một năm theo dõi đánh giá quá trình sinh trưởng, phát triển của cây cát cánh, với những kết quả thu được có thể đi đến một số nhận xét:

- Nhân giống cát cánh có thể sử dụng hạt chắc hoặc mầm củ giâm và phương thức gieo hạt tốt nhất là gieo thẳng trên mặt luống.
- Hạt cát cánh rất dễ nảy mầm, thời gian nảy mầm nhanh 15 - 20 ngày.
- Trong thời kỳ đầu của quá trình sinh trưởng (2-3 tháng sau trồng) cây cát cánh sinh trưởng phát triển thân lá mạnh. Khoảng 1 tháng sau trồng thì cây bắt đầu ra hoa, sau 6-8 ngày thì hoa bắt đầu héo và đế hoa phát triển thành quả. Trong thời gian này cây vừa sinh trưởng sinh dưỡng vừa sinh trưởng sinh thực.
- Hoa nở rải rác, mùa hoa kéo dài 3 tháng, mùa quả cũng kéo dài 3 tháng.
- Thu hái quả khi quả bắt đầu chuyển sang màu vàng xám. Việc thu hái quả cần phải kịp thời vì quả chín rải rác. Sau khi thu hạt cần phơi khô và bảo quản trong lọ nơi khô ráo.
- Cát cánh trồng để lấy hạt nên trồng ở mật độ m1 đảm bảo sinh trưởng tốt và cho năng suất hạt cao. Số lượng hạt thu được là 100g hạt.
- Khi cây bắt đầu tàn lụi, có thể tiến hành thu hoạch củ làm dược liệu. Tuy nhiên, theo kết quả thu được thì dược liệu củ của cây 1 năm tuổi nhỏ, trung bình đạt 7,8 g/củ tươi.
- Sâu bệnh đối với cây cát cánh chủ yếu là bệnh thối củ rễ vì vậy cần chú ý trồng cây nơi cao ráo, thoát nước tránh để ngập úng, cần nhổ bỏ kịp thời những cây bị bệnh để tránh lây lan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi, (1999), Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, 932.
2. Trung tâm nghiên cứu Dược liệu Bắc Trung Bộ - Kết quả điều tra tình hình cung ứng dược liệu và thuốc Nam Bắc ở Thanh Hoá năm 2002 - 2003 (Báo cáo khoa học nội bộ).
3. Phạm Chí Thành, (1976), Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng, NXB. Nông nghiệp, Tr 54 – 55
4. Bộ môn di truyền - Chọn giống cây trồng. Trường đại học Nông nghiệp I Hà Nội, (2000), Giáo trình Chọn giống cây trồng. NXB. Giáo dục.
5. Bộ Y tế, (2002), Dược điển Việt Nam 3.
6. Phạm Tiến Dũng, (2003), Xử lý kết quả thí nghiệm trên máy vi tính bằng IRRISTAT 4.0 trong Windows , NXB. Nông nghiệp.

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ BIỆN PHÁP KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH CÂY KIM NGÂN (*Lonicera japonica* Thunb.)

Trần Danh Việt

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb.) còn gọi là cây nhẫn đông; thuộc họ Cơm cháy (*Caprifoliaceae*) thích nghi với nhiều vùng khí hậu và đất đai khác nhau, có thể trồng ở miền núi, trung du và đồng bằng, những nơi có khí hậu mát và ôn hòa. Theo các tài liệu cổ kim ngân có vị ngọt, hơi đắng, tính mát, không độc, kinh nghiệm trong nhân dân sử dụng kim ngân trong các bài thuốc chữa các bệnh hạ sốt, mụn nhọt, mẩn ngứa, dị ứng, tả, lỵ, thanh nhiệt giải độc, sát trùng rất tốt.

Ở nước ta, cây kim ngân nhân giống chủ yếu bằng hom mầm. Trung tâm Cây thuốc Hà Nội cũng đã trồng cây này với một diện tích nhỏ để bảo tồn lưu giữ nguồn gen. Việc nghiên cứu đưa cây kim ngân vào trồng trọt là một vấn đề hết sức cần thiết, vì vậy chúng tôi đã tiến hành đề tài "*Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật nhân giống vô tính cây kim ngân (Lonicera japonica* Thunb.)

II. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb) thuộc họ Cơm cháy (*Caprifoliaceae*).

Các đoạn cành kim ngân dùng trong thí nghiệm được lấy tại Vườn Bảo tồn cây thuốc của Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

Hóa chất sử dụng: IIM; giá thể: nền đất và nền cát.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thí nghiệm thời vụ giâm cành: Giâm trên nền đất, loại cành bánh tẻ có 2 mắt. Gồm 5 thời vụ sau:

+ Thời vụ 1: 15/8/2004

+ Thời vụ 2: 30/8/2004

+ Thời vụ 3: 15/9/2004

+ Thời vụ 4: 30/9/2004

+ Thời vụ 5: 15/10/2004

- Thí nghiệm giâm cành trên 2 nền đất và cát: Cành già, cành bánh tẻ, cành non gồm các loại 2 mắt, 3 mắt và 4 mắt. Tổng cộng 9 công thức trên một nền giâm, mỗi công thức 30 hom giâm.

- Thí nghiệm ảnh hưởng thuốc kích thích ra rễ IIM (nồng độ 0,001%). Giâm trên 2 nền đất và cát. Cành già, cành bánh tẻ, cành non có 2 mắt. Tổng cộng có 3 công thức trên một nền giâm, mỗi công thức 30 hom giâm.

2.3. Các chỉ tiêu theo dõi

- Thời gian nảy mầm
- Thời gian ra rễ.
- Tỷ lệ nảy mầm.
- Tỷ lệ ra rễ của hom giâm.
- Tỷ lệ hom sống.
- Chiều cao cây, số lá.

Các thí nghiệm đều được tiến hành ở Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của thời vụ đến tỷ lệ nảy mầm, ra rễ và sống của cành giâm

Kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. **Ảnh hưởng của thời vụ đến tỷ lệ nảy mầm, ra rễ và sống của cành giâm**

Công thức (Thời vụ)	Thời gian bắt đầu nảy mầm (ngày)	Thời gian bắt đầu ra rễ (ngày)	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Tỷ lệ sống (%)
15/8/04	06	10	91	85	80
30/8/04	06	11	90	84	80
15/9/04	07	12	86	82	77
30/9/04	07	13	82	80	75
15/10/04	08	14	80	75	70

Bảng 1 cho thấy: Thời gian để cành giâm bắt đầu nảy mầm ở thời vụ tháng 8 nhanh hơn các thời vụ kia từ 1- 2 ngày, sau 6 ngày thời vụ T8 đã bắt đầu nảy mầm còn ở TV T9 và TV 15/10 sau 7- 8 ngày mới nảy mầm. Thời gian bắt đầu ra rễ ở TV T8 cũng nhanh hơn, sau 10- 11 ngày cành giâm đã ra rễ còn ở TV T9 là 12- 13 ngày và đến TV 15/10 thì tới 14 ngày mới ra rễ. Tỷ lệ nảy mầm và ra rễ ở TV T8 cũng tốt hơn, ở TV 15/8 tỷ lệ nảy mầm là 91% và tỷ lệ ra rễ là 85%, ở TV 30/8 tỷ lệ nảy mầm cũng đạt 90% và 84% ra rễ. Từ thời vụ T9 bắt đầu giảm dần; TV 15/9 tỷ lệ nảy mầm là 86% và ra rễ là 82%, TV 30/9 tỷ lệ nảy mầm còn 82%, ra rễ đạt 80%. Sang đến TV 15/10 thì tỷ lệ nảy mầm chỉ còn 80% và ra rễ là 75%. Cành giâm sau khi đã nảy mầm ra rễ và đến khi mầm đã sinh trưởng phát triển thì tỷ lệ sống của TV T8 đạt cao nhất là 80% còn TV 15/9 là 79%, TV 30/9 là 75%, thấp nhất là TV 15/10 là 70%.

Nhìn chung, chúng tôi nhận thấy trong khoảng thời gian giâm từ tháng 8 đến tháng 10, càng về sau tỷ lệ nảy mầm, ra rễ và sống của cành giâm càng kém.

3.2. Ảnh hưởng của thời vụ đến sự sinh trưởng chiều cao của mầm kim ngân sau khi giâm

Kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của thời vụ đến sự sinh trưởng chiều cao của mầm kim ngân sau khi giâm**

Công thức (Thời vụ)	Sau 15 ngày (cm)	Sau 20 ngày (cm)	Sau 25 ngày (cm)	Sau 30 ngày (cm)
15/8/04	0,8	1,5	5,2	16,8
30/8/04	0,8	1,4	5,1	16,5
15/9/04	0,7	1,2	4,2	15,6
30/9/04	0,6	1,2	3,9	15,0
15/10/04	0,6	1,0	3,8	14,7

Bảng 2 cho thấy: Cành kim ngân sau 15 ngày giâm ở các thời vụ mầm đã phát triển đến 0,6 - 0,8cm, TV T8 đạt 0,8cm còn các thời vụ sau mầm mọc chậm hơn chút ít, TV 15/10 chỉ đạt 0,6cm. Tiếp đến sau 20 ngày giâm TV T8 mầm vẫn phát triển nhanh hơn đạt 1,4- 1,5cm còn TV T9 đạt 1,2cm, TV 15/10 chỉ đạt 1,0cm. Sau 25 ngày giâm TV T8 đã đạt 5,1 và 5,2cm, TV T9 đạt 3,9cm và 4,2cm còn TV 15/10 chỉ đạt 3,8cm. Đến giai đoạn sau 30 ngày giâm lúc này cành giâm phát triển rất nhanh, TV T8 đã đạt 16,5cm còn TV T9 đạt 15,0 cm và 15,6cm, còn TV T10 cũng đạt tới 14,7cm.

Nhìn chung, ở các thời vụ giâm thì TV T8 cành giâm phát triển nhanh hơn. Tuy nhiên, đến giai đoạn sau 30 ngày giâm, lúc này có thể đánh mầm đi trồng được thì sự chênh lệch giữa các mầm cũng không nhiều, TV giâm 15/8 đạt 16,8cm còn thời vụ giâm muộn nhất 15/10 cũng đạt 14,7cm.

3.3. Ảnh hưởng của tuổi cành, số mắt và giá thể đến tỷ lệ nảy mầm, ra rễ và sống của cành giâm

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3 cho thấy: Các đoạn cành giâm khác nhau và nền giâm khác nhau đã ảnh hưởng đôi chút đến thời gian nảy mầm và ra rễ của cành giâm. Cành bánh tẻ có thời gian nảy mầm ra rễ tốt hơn cả, sau 7 ngày đã bắt đầu nảy mầm và sau 10 ngày đã ra rễ, chậm nhất là cành già sau 9 ngày mới nảy mầm và sau 11 ngày cành mới ra rễ. Giâm cành trên nền cát ra rễ nhanh hơn nền đất ở các công thức cành giâm, ở cành bánh tẻ giâm trên nền cát sau 10 ngày đã ra rễ còn giâm trên nền đất sau 12 ngày mới thấy ra rễ, ở cành già ra rễ sau 11 ngày trên nền cát còn ở nền đất sau 13 ngày mới ra rễ.

Cùng đoạn cành giâm nhưng ở các công thức cắt cành giâm 2 mắt, 3 mắt, 4 mắt không nhận thấy sự sai khác về thời gian bắt đầu nảy mầm, ra rễ của cành giâm.

Về tỷ lệ nảy mầm và tỷ lệ ra rễ ở cành giâm bánh tẻ là tốt nhất, giâm trên nền đất đạt tỷ lệ nảy mầm từ 75- 86%, nền cát đạt 86- 96%, trong đó ở nền cát thì đoạn giâm 3 mắt đạt tỷ lệ nảy mầm cao nhất 96%. Cành non và cành già tỷ lệ nảy mầm kém hơn, ở cành non trên nền đất đạt 70- 80%, nền cát 80- 93%, ở cành già nền đất đạt 65- 86%, nền cát đạt 90- 93%. Tỷ lệ ra rễ của cành bánh tẻ giâm trên nền đất đạt 71- 80%, nền cát đạt 83- 94%, ở đoạn giâm 3 mắt trên nền cát đạt tỷ lệ ra rễ cao nhất là 94%. Tỷ lệ ra rễ của cành già ở nền đất là 60- 81%, nền cát 85- 89%, cành non đạt nền đất là 65- 70%, nền cát 77- 89%. Trong các đoạn cắt thì ở đoạn cành 3 mắt tỷ lệ ra rễ vẫn cao nhất ở các công thức.

Tỷ lệ sống của cành giâm bánh tẻ đạt: nền đất từ 70- 76%, nền cát từ 82- 93%. Cành non trên nền đất đạt 65- 68%, nền cát từ 76- 88%. Cành già trên nền đất đạt 60- 80%, nền cát đạt 82- 85%. Các đoạn cắt 3 mắt ở các công thức vẫn cho tỷ lệ sống cao nhất, trên nền cát cành non đạt 88%, bánh tẻ đạt 93%, cành già đạt 85%. Tuy nhiên ở nền đất tỷ lệ sống của các đoạn khác nhau, chênh lệch không nhiều ở các công thức và không ổn định như ở cành non đoạn 2 mắt đạt cao nhất là 68%, thấp nhất 4 mắt đạt 65%, cành bánh tẻ cao nhất, đoạn 2 mắt đạt 78%, thấp nhất đoạn 4 mắt đạt 70%. Nhưng ở cành già sự chênh lệch rất rõ rệt, đoạn 3 mắt cao nhất đạt 80 còn đoạn 2 mắt và 4 mắt chỉ đạt 60 và 61%.

***Bảng 3.* Ảnh hưởng của tuổi cành, số mắt và giá thể đến tỷ lệ nảy mầm, ra rễ và sống của cành giâm**

Công thức		Ngày giâm	Thời gian bắt đầu nảy mầm (ngày)		Thời gian bắt đầu ra rễ (ngày)		Tỷ lệ nảy mầm (%)		Tỷ lệ ra rễ (%)		Tỷ lệ sống (%)	
			Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát
Cành non	2 mắt	15/9/04	08	07	12	10	80	86	70	82	68	81
	3 mắt		08	07	12	10	73	93	68	89	67	88
	4 mắt		08	07	12	10	70	80	65	77	65	76

Cành bánh tẻ	2 mắt	15/9/04	07	07	12	10	86	90	80	88	78	88
	3 mắt		07	07	12	10	80	96	77	94	76	93
	4 mắt		07	07	12	10	75	86	71	83	70	82
Cành già	2 mắt	15/9/04	09	08	13	11	70	90	65	85	64	82
	3 mắt		09	08	13	11	86	93	81	89	80	85
	4 mắt		09	08	13	11	65	92	60	87	60	84

3.4. Ảnh hưởng của tuổi cành, số mắt và giá thể đến sự sinh trưởng chiều cao của mầm kim ngân sau khi giâm

Bảng 4. **Ảnh hưởng của tuổi cành, số mắt và giá thể đến sự sinh trưởng chiều cao của mầm kim ngân sau khi giâm**

Công thức		Sau 15 ngày (cm)		Sau 20 ngày (cm)		Sau 25 ngày (cm)		Sau 30 ngày (cm)	
		Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát
Cành non	2 mắt	0,5	0,7	1,0	1,5	4,0	5,8	14,5	16,5
	3 mắt	0,5	0,7	0,9	1,7	3,8	5,7	15,3	15,7
	4 mắt	0,5	0,7	0,9	1,4	3,9	5,5	14,1	15,8
Cành bánh tẻ	2 mắt	0,7	0,9	1,2	1,8	4,2	6,2	15,6	16,8
	3 mắt	0,7	0,9	1,1	2,0	4,1	6,8	16,1	17,2
	4 mắt	0,7	0,9	1,0	1,7	4,0	6,1	15,2	16,3
Cành già	2 mắt	0,4	0,5	0,8	1,4	3,8	6,0	16,3	16,2
	3 mắt	0,4	0,5	0,9	1,6	3,6	5,8	16,5	17,6
	4 mắt	0,4	0,5	0,8	1,4	3,5	5,7	16,1	17,0

Kết quả nghiên cứu ở bảng 4 cho thấy: Các công thức khác nhau đã có ảnh hưởng tới sự phát triển của mầm kim ngân, ở cành bánh tẻ mầm phát triển nhanh nhất, sau 15 ngày ở nền đất đạt 0,7cm, nền cát đạt 0,9cm. Cành non kém hơn ở nền đất đạt 0,5cm và nền cát đạt 0,7cm. Cành già kém nhất trên

nền cát đạt 0,4cm và nền cát là 0,5cm. Giữa hai nền giâm cho thấy ở nền cát cành giâm phát triển nhanh hơn đôi chút, ở các đoạn cắt mắt khác nhau thì chưa thấy sự khác biệt.

Sau 20 ngày giâm sự phát triển của mầm kim ngân chỉ tăng thêm rất nhỏ ở tất cả các công thức và sau 25 ngày giâm ở các công thức đã đạt: Cành non trên nền đất từ 3,8- 4,0cm, trên nền cát đạt 5,5- 5,8cm. Cành bánh tẻ trên nền đất đạt 4,0- 4,2cm, trên nền cát đạt 6,1- 6,8cm. Cành già trên nền đất đạt 3,5- 3,8cm, trên nền cát đạt 5,8- 6,0cm. Như vậy là sau 25 ngày giâm giữa các công thức đã có sự thay đổi ở các đoạn cắt mắt khác nhau, tuy nhiên độ chênh lệch không lớn, chỉ dao động từ 1- 3cm, chỉ có ở công thức cành bánh tẻ đoạn 3 mắt trên nền cát đạt cao nhất là 6,8cm còn thấp nhất là 4 mắt chỉ đạt 6,1cm.

Sau 30 ngày giâm cành kim ngân phát triển rất nhanh, ở cành non giâm trên nền đất đạt từ 14,1- 15,3cm, trên nền cát đạt 15,7- 16,5cm. Cành bánh tẻ trên nền đất đạt 15,2- 16,1cm, trên nền cát đạt 16,3- 17,8cm. Cành già trên nền đất đạt 16,1- 16,5cm, nền cát đạt 17,5- 18,2cm.

Nhìn chung, sau 30 ngày giâm cành kim ngân đã có thể đánh trồng được, chúng tôi thấy giữa các công thức về các đoạn mắt khác nhau không ảnh hưởng nhiều đến sự phát triển mầm. Tuy nhiên nền giâm và cành giâm khác nhau đã ảnh hưởng rõ rệt, cành bánh tẻ và giâm trên nền cát thì mầm kim ngân phát triển tốt nhất, ở nền cát cao nhất là 17,8cm còn nền đất đạt 16,3cm; công thức kém nhất là ở cành non, trên nền cát cao nhất chỉ đạt 16,5cm và nền đất đạt 5,3cm.

3.5. Ảnh hưởng của thuốc kích thích ra rễ IIM đến tỷ lệ nảy mầm, ra rễ và sống của cành giâm

Thời gian bắt đầu nảy mầm giữa công thức có xử lý thuốc và không xử lý thuốc không thấy ảnh hưởng, chỉ có nền giâm khác nhau và cành giâm khác nhau có ảnh hưởng 1 chút, ở cành bánh tẻ giâm trên nền cát thì mầm nảy nhanh hơn. Nhưng thuốc kích thích đã có ảnh hưởng rõ rệt tới thời gian ra rễ, ở tất cả các công thức có xử lý thuốc đều ra rễ nhanh hơn so với đối chứng và ở trên nền cát nếu có xử lý thuốc thì càng ra rễ nhanh hơn.

Tỷ lệ nảy mầm và ra rễ ở các công thức có xử lý thuốc cũng tốt hơn so với đối chứng. Cành non tỷ lệ nảy mầm trên nền đất đạt 79%, đối chứng đạt 76%, nền cát đạt 82%, đối chứng đạt 78%. Cành bánh tẻ tỷ lệ nảy mầm trên nền đất đạt 86%, ĐC đạt 82%, nền cát đạt 90%, ĐC đạt 83%. Cành già tỷ lệ nảy mầm trên nền đất đạt 70%, ĐC đạt 67%, nền cát đạt 73%, ĐC chỉ đạt 70%. Tuy các công

thức có xử lý thuốc thấy tỷ lệ nảy mầm có cao hơn nhưng chỉ trên cùng nền giâm, ở công thức ĐC giâm trên nền cát tỷ lệ nảy mầm cũng xấp xỉ công thức có xử lý thuốc giâm trên nền đất, độ chênh lệch cũng không đáng kể.

Về tỷ lệ ra rễ thì ở các công thức có xử lý thuốc được tác động đáng kể cao hơn hẳn so với ĐC, ở cành non giâm trên nền đất đạt 75%, ĐC đạt 70%, trên nền cát đạt 80%, ĐC là 73%. Cành bánh tẻ trên nền đất đạt 84%, ĐC đạt 80%, trên nền cát đạt 89%, ĐC là 80%. Cành già trên nền đất đạt 67%, ĐC là 65%, trên nền cát đạt 70%, ĐC là 68%.

Tỷ lệ sống ở cành bánh tẻ đạt cao nhất, trên nền đất có xử lý thuốc đạt 80%, ĐC đạt 75%, nền cát đạt 85% và ĐC là 76%, còn ở cành già đạt kém nhất, trên nền đất có xử lý thuốc đạt 65% và ĐC là 62%, trên nền cát đạt 68% và ĐC đạt 65%.

***Bảng 5.* Ảnh hưởng của thuốc kích thích ra rễ IIM đến tỷ lệ nảy mầm, ra rễ và sống của cành giâm**

Công thức		Ngày giâm	Thời gian bắt đầu nảy mầm (ngày)		Thời gian bắt đầu ra rễ (ngày)		Tỷ lệ nảy mầm (%)		Tỷ lệ ra rễ (%)		Tỷ lệ sống (%)	
			Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát
Cành non	Xử lý thuốc	30/9/04	08	07	12	11	79	82	75	80	72	78
	Đối chứng		08	07	14	12	76	78	70	73	66	70
Cành bánh tẻ	Xử lý thuốc	30/9/04	07	06	11	10	86	90	84	89	80	85
	Đối chứng		07	06	13	12	82	83	80	80	75	76
Cành già	Xử lý thuốc	30/9/04	08	07	13	12	70	73	67	70	65	68
	Đối chứng		08	07	14	14	67	70	65	68	62	65

3.6. Ảnh hưởng của thuốc kích thích ra rễ IIM đến sự sinh trưởng chiều cao của mầm kim ngân sau khi giâm

Bảng 6. **Ảnh hưởng của thuốc kích thích ra rễ IIM đến sự sinh trưởng chiều cao của mầm kim ngân sau khi giâm**

Công thức		Sau 15 ngày (cm)		Sau 20 ngày (cm)		Sau 25 ngày (cm)		Sau 30 ngày (cm)	
		Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát	Nền đất	Nền cát
Cành non	Xử lý thuốc	0,6	0,7	1,3	1,6	4,2	4,7	16,0	17,0
	Đối chứng	0,5	0,6	0,9	1,2	3,5	4,1	14,2	15,5
Cành bánh tẻ	Xử lý thuốc	0,7	0,9	0,5	1,8	4,6	5,1	17,0	18,0
	Đối chứng	0,6	0,7	0,2	1,5	3,9	4,5	15,0	15,5
Cành già	Xử lý thuốc	0,5	0,6	1,2	1,4	4,1	4,6	15,0	16,0
	Đối chứng	0,4	0,4	0,8	1,0	3,2	4,0	14,0	15,0

Kết quả nghiên cứu ở bảng 6 cho thấy: Các công thức đã có sự khác biệt đôi chút sau 15 ngày giâm, ở cành bánh tẻ đạt tỷ lệ cao nhất, trên nền đất đạt 0,7cm, ĐC đạt 0,6cm, trên nền cát đạt 0,9cm, ĐC là 0,7cm. Sau 20 ngày cành giâm chỉ phát triển thêm chút ít, sau 25 ngày giâm ở cành non trên nền đất có xử lý thuốc đạt 4,2cm, ĐC là 3,5cm, trên nền cát đạt 4,7cm, ĐC là 4,1cm. Cành bánh tẻ trên nền đất đạt 4,6cm, ĐC đạt 3,9cm, trên nền cát đạt 5,1cm, ĐC đạt 4,5cm. Cành già trên nền đất đạt 4,1cm, ĐC là 3,2cm, trên nền cát đạt 4,6cm, ĐC đạt 4,0cm. Như vậy là sau 25 ngày giâm ở cành bánh tẻ giâm trên nền cát có xử lý thuốc đạt cao nhất là 5,1cm, thấp nhất là ở cành già đạt 4,6cm, ĐC cao nhất đạt 4,5cm là ở cành bánh tẻ.

Sau 30 ngày cành giâm phát triển nhanh và mạnh, ở cành non trên nền đất đạt 16,0cm và ĐC là 14,2cm, trên nền cát đạt 17,0cm và ĐC là 15,5cm. Cành

bánh tẻ trên nền đất đạt 17,0cm và ĐC là15,0cm, trên nền cát đạt 18,0cm và ĐC là 15,5cm. Cành già trên nền đất đạt 15,0cm và ĐC là 14,0cm, trên nền cát đạt 16,0cm và ĐC là15,0cm.

Nhìn chung sau 30 ngày giâm cành bánh tẻ đạt sự sinh trưởng cao nhất, trên nền đất đạt 17,0cm và nền cát là 18,0cm còn công thức thấp nhất là cành già trên nền đất đạt 15,0cm và nền cát là 16,0cm.

IV. KẾT LUẬN

- Trong 5 thời vụ nghiên cứu, thời vụ giâm 15/8 là tốt nhất, cành giâm ra mầm và rễ nhanh, tỷ lệ nảy mầm, tỷ lệ ra rễ và tỷ lệ sống cao, mầm phát triển nhanh sau 30 ngày đạt 16,8cm.
- Cành bánh tẻ giâm trên nền cát có thời gian nảy mầm và ra rễ nhanh, tỷ lệ nảy mầm, tỷ lệ ra rễ, tỷ lệ sống cao nhất. Sự sinh trưởng phát triển của cành bánh tẻ giâm trên nền cát cũng tốt hơn.
- Các đoạn cắt 2 mắt, 3 mắt, 4 mắt không ảnh hưởng nhiều đến tỷ lệ nảy mầm, ra rễ và sống của cành giâm.
- Các công thức có xử lý thuốc đã tác động làm cành giâm ra rễ nhanh hơn so với đối chứng, nhưng không nhiều, do vậy để giảm bớt chi phí trong sản xuất không nhất thiết phải sử dụng thuốc kích thích ra rễ.

V. ĐỀ NGHỊ

- Tiếp tục giâm cành kim ngân ở các thời vụ khác để xác định thời vụ tối ưu giâm cành có tỷ lệ sống cao nhất.

- Tiếp tục nghiên cứu các chỉ tiêu đã làm để khẳng định tính chính xác của kết quả đã nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Dược liệu, (1993), Tài nguyên cây thuốc Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 609.
2. Võ Văn Chi, (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học, tr. 233.

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG NHÂN GIỐNG VÀ BẢO TỒN NGŨ GIA BÌ HƯƠNG VÀ NGŨ GIA BÌ GAI Ở VIỆT NAM

Phạm Thanh Huyền[1], Nguyễn Văn Tập[1], Lê Thanh Sơn[1], Ngô Đức Phương[1], Cù Hải Long[1], Đinh Văn Mỵ[1], Nguyễn Bá Hoạt[1], Nguyễn Nghĩa Thìn[2].

(1) Viện Dược liệu, (2) Trường đại học Khoa học tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, điển hình là Trung Quốc từ lâu đời người ta sử dụng một số loài thuộc chi *Acanthopanax* Miq. để làm thuốc như tế trụ ngũ gia bì - *Acanthopanax gracilistylus* W.W.Smith và tam diệp ngũ gia bì - *A. trifoliatus* (L.)Merr.[10]. Các sản phẩm từ loài *A. senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms (*Eleutherococcus senticosus* Maxim. - còn gọi là Siberian ginseng) đã thâm nhập vào thị trường Mỹ từ những năm 1970. Ở Liên Xô trước đây, sản phẩm của loài này được sản xuất theo quy mô công nghiệp, làm thuốc để bồi bổ sức khoẻ, chống mệt mỏi và chống chứng căng thẳng thần kinh (stress) [8, 10].

Ở Việt Nam, theo kinh nghiệm của nhân dân một số loài ngũ gia bì được sử dụng nhiều để làm thuốc. Vỏ rễ và vỏ thân của cây ngũ gia bì hương - *Acanthopanax gracilistylus* W.W.Smith và ngũ gia bì gai - *A. trifoliatus* (L.) Merr. được dùng làm thuốc bổ, mạnh gân cốt, tăng trí nhớ, chữa đau lưng, tê chân, trẻ em chậm biết đi, dùng để bồi bổ cho phụ nữ sau khi sinh...[2, 3, 5]. Lá của cả hai loài này cũng được dùng dưới dạng "trà thuốc" giúp ăn ngon, ngủ yên giấc... Do sự phân bố hạn chế ngũ gia bì hương) và khai thác quá mức (ngũ gia bì gai), làm cho trữ lượng của hai loài cây này giảm sút trong tự nhiên. Chúng được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam và Danh lục Đỏ cây thuốc Việt Nam [1, 6].

Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài "*Nghiên cứu khả năng nhân giống và bảo tồn ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai ở Việt Nam*"

II. VẬT LIỆU, ĐỊA ĐIỂM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Hom giống ngũ gia bì hương thu thập tại thị trấn Phó Bảng và một số điểm phân bố khác thuộc huyện Đồng Văn, tỉnh Hà Giang; Hạt và hom giống ngũ gia bì gai thu thập tại vùng Ô Quý Hồ, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai và xã Quyết Tiến, huyện Quản Bạ, tỉnh Hà Giang.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Các thí nghiệm nghiên cứu nhân giống, trồng và bảo tồn thực hiện tại Vườn Thí nghiệm thuộc Trạm nghiên cứu Trồng cây thuốc Sa Pa - Viện Dược liệu.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Các thí nghiệm nhân trồng thực hiện theo phương pháp thí nghiệm đồng ruộng và kỹ thuật trồng cây thuốc [4, 7].

Cụ thể như sau:

+ Nhân giống vô tính bằng hom: Chọn thân và cành có đường kính khác nhau (từ 0,4 - 1,5 cm), chặt thành từng đoạn dài 15 - 20 cm. Đất vườn ươm được lên luống cao 30 cm, trộn thêm 70 % cát vàng và 30 % phân chuồng mục. Đặt hom nghiêng khoảng 30^{o}, lấp đất để hở đầu 2 - 3 cm, các hom cách nhau 10 x 15 cm, phủ cỏ khô. Thường xuyên tưới nước để giữ ẩm. Sau một năm, các cây ở vườn ươm được chuyển ra trồng ở vườn để theo dõi sự sinh trưởng và phát triển.

+ Nghiên cứu tỷ lệ nảy mầm của hạt: Hạt được gieo trên cát ẩm tại Sa Pa - Lào Cai.

- Nghiên cứu bảo tồn ngoại vi theo hướng dẫn của IUCN [9].

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Tên khoa học của các đối tượng nghiên cứu

- Ngũ gia bì hương - *Acanthopanax gracilistylus* W.W.Smith

- Ngũ gia bì gai - *Acanthopanax trifoliatus* var. *setosus* Li

3.2. Nghiên cứu khả năng nhân giống và bảo tồn

3.2.1. Nghiên cứu khả năng nảy mầm của hạt

- Ngũ gia bì hương: Từ năm 1999 đến nay, khi thực hiện khảo sát chúng tôi không thu được quả ngũ gia bì hương (vì quả thường rụng khi còn non). Do vậy, không tiến hành nghiên cứu khả năng nảy mầm của hạt được.

- Ngũ gia bì gai: Hạt của ngũ gia bì gai có kích thước nhỏ, trọng lượng trung bình 1000 hạt khô là 9,27 gam.

Vào cuối tháng 12 hàng năm (từ năm 2000 đến 2004) tiến hành gieo hạt, tổng số 5000 hạt được gieo trên cát ẩm ở Sa Pa. Kết quả, sau khoảng 20 ngày hạt bắt đầu nảy mầm và kết thúc sau 32 ngày. Tỷ lệ nảy mầm thấp, chỉ đạt trung bình 35 %.

3.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của đường kính hom đến tỷ lệ mọc chồi và ra rễ của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai

* Bố trí thí nghiệm

Căn cứ vào cấp đường kính để chia làm 4 công thức thí nghiệm khác nhau: Công thức 1: hom có đường kính 0,4 - 0,6 cm; công thức 2: hom có đường kính 0,7 - 0,9 cm; công thức 3: hom có đường kính 1,0 - 1,2 cm; công thức 4: hom có đường kính 1,3 - 1,5 cm. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Mối tương quan giữa đường kính hom lúc trồng và khả năng mọc chồi, ra rễ của ngũ gia bì hương và ngũ gai bì gai giai đoạn vườn ươm**

Loài	Ngũ gia bì hương				Ngũ gia bì gai			
Đường kính hom (cm)	0,4-0,6	0,7- 0,9	1,0-1,2	1,3-1,5	0,4-0,6	0,7-0,9	1,0-1,2	1,3-1,5
Số hom mọc chồi mới/tổng số hom thí nghiệm	123 /150	144/153	126/132	128/144	125/149	147/154	145/150	132/147
Tỷ lệ (%)	82,00	94,11	95,45	88,89	83,89	95,45	96,67	89,98
Số hom ra rễ / tổng số hom thí nghiệm	63/150	78/153	87/132	104/144	65/149	113/154	113/150	117/147
Tỷ lệ (%)	42,00	50,98	65,90	72,22	43,62	73,38	75,33	79,59

Kết quả bảng 1 cho thấy, tỷ lệ mọc chồi của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai tương đối cao, còn tỷ lệ ra rễ không cao. Ứng với các đường kính hom khác nhau cho tỷ lệ ra chồi và ra rễ khác nhau.

* Ngũ gia bì hương: Với hom có đường kính từ 0,4 - 0,6 cm cho tỷ lệ ra chồi đạt 82 %. Hai công thức thí nghiệm cho tỷ lệ ra chồi cao đạt 94,11 - 95,45 % tương ứng với hom có đường kính 0,7 - 0,9 cm và 1,0 - 1,2 cm. Trong khi đó, với hom có đường kính 1,3 - 1,5 cm lại cho tỷ lệ ra rễ cao nhất (72,22 %) và hom có đường kính 0,4 - 0,6 cm cho tỷ lệ ra rễ thấp nhất. (42,00 %).

* Ngũ gia bì gai: Qua thí nghiệm cho thấy kết quả cũng tương tự như ngũ gia bì hương, tuy nhiên tỷ lệ mọc chồi và ra rễ của ngũ gia bì gai cao hơn ngũ gia bì hương. Tỷ lệ ra chồi thấp nhất là 83,89 % và cao nhất đạt tới 96,67 %. Tỷ lệ ra rễ thấp nhất đạt 43,62 % và cao nhất là 79,59 %.

Bằng phương pháp kiểm tra tính độc lập và so sánh nhiều tỷ lệ cho thấy, kích thước đường kính hom và tỷ lệ mọc chồi (hoặc ra rễ) có mối liên quan với nhau. Với các hom có kích thước khác nhau sẽ cho tỷ lệ ra chồi và ra rễ khác nhau. Các hom có đường kính nhỏ từ 0,4 - 0,6 cm (có vị trí gần ngọn) cho tỷ lệ ra chồi và ra rễ thấp nhất (tỷ lệ ra rễ dưới 50 %). Như vậy, kết quả thực nghiệm cho thấy, việc sử dụng các hom có đường kính nhỏ sẽ không thu được kết quả tốt. Để tiến hành nhân giống bằng hom nên sử dụng các hom có kích thước đường kính từ 0,7 - 1,5 cm.

3.2.3. Sự sinh trưởng và phát triển của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai trong giai đoạn nhân trồng

* Sự phát sinh chồi (giai đoạn vườn ươm)

Sau khoảng 40 ngày các hom bắt đầu ra chồi, sự ra chồi ở hai loài này khác nhau về số lượng chồi/hom. Đối với ngũ gia bì hương, tỷ lệ hom mọc ra 1 chồi chỉ chiếm 48,89 %; số chồi/hom có thể lên tới 2, 3, 4, thậm chí là 5. Trong khi đó, ngũ gia bì gai chủ yếu chỉ phát sinh 1 chồi/hom (chiếm 78,14 %). Chính sự phát sinh chồi nhiều hay ít có thể sẽ tác động đến sự sinh trưởng và phát triển của cây.

* Sự phát triển lá (giai đoạn vườn ươm)

Kết quả theo dõi sự biến động số lượng lá của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai cho thấy, cả hai loài này phát triển lá chủ yếu từ tháng thứ 3 đến tháng thứ 9. Vào khoảng tháng thứ 8, 9 số lượng lá của ngũ gia bì hương giảm dần (vì tháng

10 cây rụng lá). Còn số lượng lá của ngũ gia bì gai giảm muộn hơn, vào tháng thứ 10, 11 (vì tháng 12 cây mới rụng lá).

* Sự tăng trưởng về chiều cao (giai đoạn vườn ươm)

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

***Bảng 2.* Tốc độ tăng trưởng chiều cao của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai trong 12 tháng trồng ở vườn ươm**

Tuổi cây	Chiều cao trung bình (cm)	
	Ngũ gia bì hương	Ngũ gia bì gai
3 tháng	4,77 ± 1,59	11,92 ± 3,17
6 tháng	14,88 ± 6,04	34,81 ± 3,25
9 tháng	17,32 ± 5,73	47,15 ± 9,42
12 tháng	22,77 ± 7,80	63,10 ± 14,51

Trong giai đoạn ở vườn ươm, từ tháng thứ 3 đến tháng thứ 6 cây sinh trưởng và phát triển mạnh. Chiều cao của cây vào tháng thứ 6 tăng 3,12 lần so với tháng thứ 3 (ngũ gia bì hương) và tăng 2,92 lần (ngũ gia bì gai). Từ tháng thứ 6 đến tháng thứ 9 chiều cao của ngũ gia bì hương chỉ tăng 1,16 lần còn ngũ gia bì gai tăng 1,35 lần. Còn từ tháng thứ 9 đến tháng thứ 12 cây chỉ tăng 1,31 lần (ngũ gia bì hương), tăng 1,34 (ngũ gai bì gai). Như vậy, giai đoạn từ tháng thứ 6 đến tháng thứ 9 cả hai cây sinh trưởng chậm hơn nhiều so với giai đoạn từ tháng thứ 3 đến tháng thứ 6.

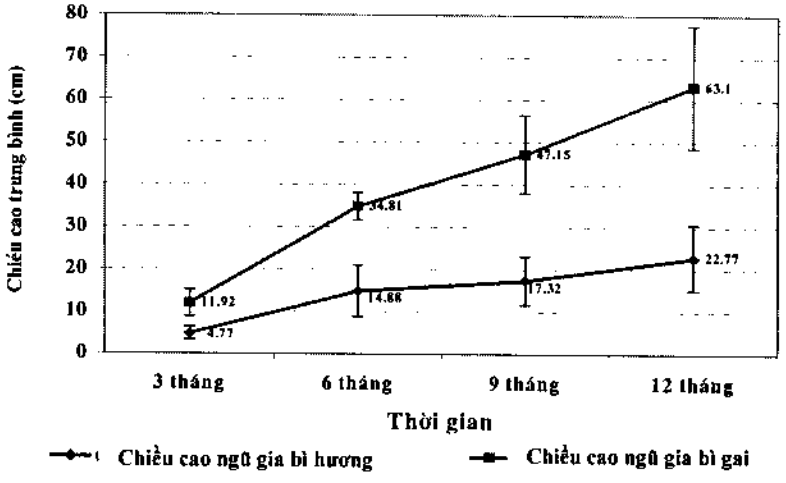
Bên cạnh đó, tốc độ tăng trưởng của ngũ gia bì gai nhanh hơn hẳn so với ngũ gia bì hương. Vào tháng thứ 3, cây ngũ gia bì hương chỉ cao 4,77 cm trong khi cây ngũ gia bì gai cao tới 11,92 cm (gấp 2,77 lần). Sau 12 tháng trồng trong vườn ươm cây ngũ gia bì hương có chiều cao trung bình là 22,77 cm; còn ngũ gia bì gai cao trung bình tới 63,10 cm (gấp 2,77 lần). Quan sát thực tế cho thấy, các cây ngũ gia bì gai sau 12 tháng trồng trong vườn ươm có thể cao tới 150 cm, còn ngũ gia bì hương cao 89 cm. Kết quả này có thể giải thích vì ngũ gia bì gai đã tồn tại ở Sa Pa (Lào Cai), ngũ gia bì hương mới được đưa vào trồng nhằm mục đích bảo tồn.

* Sự tăng trưởng về đường kính thân (giai đoạn vườn ươm)

Song song với việc theo dõi về sự tăng trưởng chiều cao, chúng tôi tiến hành theo dõi sự tăng trưởng về đường kính thân của hai loài nghiên cứu. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Tốc độ tăng trưởng đường kính thân của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai sau 12 tháng trồng ở vườn ươm**

Tuổi cây	Đường kính trung bình của thân (mm)	
	Ngũ gia bì hương	Ngũ gia bì gai
3 tháng	1,0 ± 0,2	1,3 ± 0,2
6 tháng	1,9 ± 0,5	2,8 ± 0,3
9 tháng	2,4 ± 0,4	3,9 ± 0,4
12 tháng	3,3 ± 0,5	4,6 ± 0,5



Hình 1. Tốc độ tăng trưởng đường kính thân của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai trong 12 tháng nhân trồng ở vườn

Nói chung, tốc độ tăng trưởng của đường kính thân trong năm đầu tiên trồng chậm. Cũng giống như tốc độ tăng trưởng của chiều cao, tốc độ tăng trưởng của đường kính thân của ngũ gia bì gai nhanh hơn ngũ gia bì hương. Sau 12 tháng trồng, đường kính thân của ngũ gia bì hương chỉ đạt 3,3 mm còn ngũ gia bì gai đạt 4,6 mm.

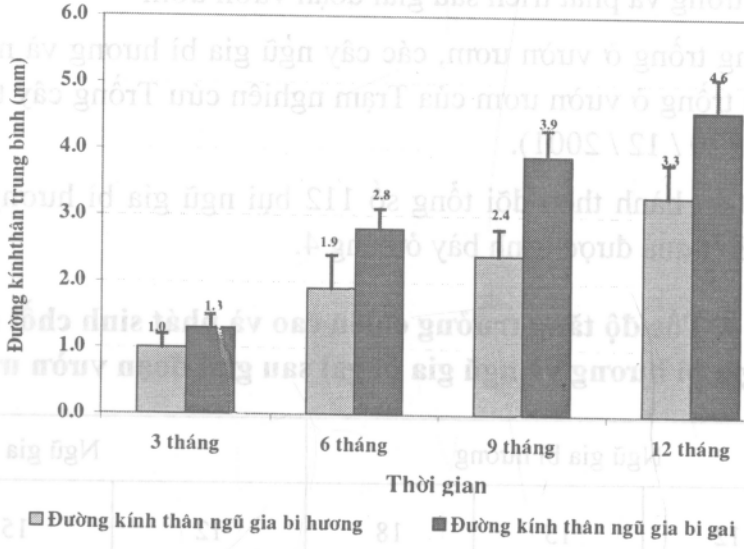
* Sự sinh trưởng và phát triển sau giai đoạn vườn ươm

Sau 12 tháng trồng ở vườn ươm, các cây ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai được chuyển ra trồng ở vườn ươm của Trạm nghiên cứu Trồng cây thuốc Sa Pa - Viện Dược liệu (20 / 12 / 2001).

Chúng tôi tiến hành theo dõi tổng số 112 bụi ngũ gia bì hương và 112 bụi ngũ gia bì gai. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

***Bảng 4.* Tốc độ tăng trưởng chiều cao và phát sinh chồi của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai sau giai đoạn vườn ươm**

Loài	Ngũ gia bì hương			Ngũ gia bì gai		
Tuổi cây (tháng)	12	15	18	12	15	18
Đường kính thân (mm)	3,3 ± 0,5	3,4 ± 0,4	3,6 ± 0,6	4,6 ± 0,5	4,8 ± 0,5	5,1 ± 0,6
Chiều cao (cm)	22,77±7,80	23,98±8,12	25,27±6,65	63,10±14,51	64,24±14,80	66,78±15,58
Số cây phát sinh chồi mới / tổng số cây thí nghiệm	0 / 112	72 / 112	78 / 112	0 / 132	63 / 132	65 / 132
Tỷ lệ (%)	0,00	64,29	69,64	0,00	47,73	49,24
Số cây phát sinh nhánh cấp II / tổng số cây thí nghiệm	0 / 112	19 / 112	25 / 112	0 / 132	79 / 132	101 / 132
Tỷ lệ (%)	,0,00	16,96	22,32	0,00	67,42	76,51
Hệ số phát sinh chồi trung bình / cây	1,81±0,18	2,30±1,27	2,49±1,97	1,39±0,21	1,80±1,08	1,86±1,29



Hình 2. Tốc độ tăng trưởng đường kính thân của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai trong 12 tháng nhân trồng ở vườn

* Ngũ gia bì hương: Sau 6 tháng trồng, đường kính thân của cả hai loài tăng không đáng kể, chỉ tăng 0,3 mm. Tốc độ tăng trưởng chiều cao cũng chậm hơn nhiều so với giai đoạn vườn ươm. Giai đoạn từ 12 - 18 tháng tuổi, cây cao thêm 2,50 cm. Trong khi đó có tới 64 % (sau 15 tháng) và 70 % (sau 18 tháng) tổng số cây phát sinh nhánh mới. Sau 18 tháng trồng, các cây ngũ gia bì hương đã trở thành những bụi cây, hệ số phát sinh chồi trung bình / cây đạt 2,49. Tuy nhiên, tỷ lệ phát sinh nhánh cấp II không nhiều, chỉ có 16,96 % (sau 15 tháng) và 22,32 (sau 18 tháng) tổng số cây có nhánh cấp II.

* Ngũ gia bì gai

Cũng giống như ngũ gia bì hương, giai đoạn từ 12 - 18 tháng tuổi cây sinh trưởng chậm, chỉ phát triển cao thêm 3,48 cm; đường kính thân chỉ tăng 0,3 mm. Ở giai đoạn này tỷ lệ cây phát sinh chồi mới ít hơn ngũ gia bì hương, đạt 47,73 % (sau 15 tháng) và 49,24 % (sau 18 tháng). Nhưng tỷ lệ phát sinh nhánh cấp II nhiều hơn, đạt 67,42 % (sau 15 tháng) và 76,51 % (sau 18 tháng).

3.2.4. Kết quả bảo tồn

* Đã bảo tồn tại chỗ 126 khóm ngũ gia bì hương, vốn có từ xưa tại Trung tâm Khoa học Giống cây trồng Phó Bảng - Hà Giang. Cây được bảo vệ chặt chẽ, không bị xâm hại, hàng năm tiến hành làm cỏ, vun gốc, theo dõi, tình hình sinh trưởng phát triển. Những cây ngũ gia bì hương ở đây là nguồn giống ban đầu cung cấp cho nghiên cứu bảo tồn và phát triển cây thuốc trong tương lai.

* Từ năm 1999 đến nay, đã xây dựng thành công hai vườn bảo tồn ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai với diện tích gần 200 m^2. Tổng số gồm 112 cây ngũ gia bì hương và 112 cây ngũ gia bì gai. Hiện nay, đang tiếp tục triển khai nhân giống hàng trăm cây ngũ gai bì hương và ngũ gia bì gai ở Sa Pa - Lào Cai và Phó Bảng - Hà Giang. Các cây đều sinh trưởng và phát triển tốt.

3.3. Bước đầu xây dựng qui trình nhân trồng bảo tồn hai loài ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai

Từ những kết quả đạt được, bước đầu chúng tôi xây dựng qui trình nhân trồng và bảo tồn hai loài như sau:

Tạo cây giống: Qua thực nghiệm cho thấy, cách tạo cây giống của ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai tương tự như nhau.

Thời gian giâm cành: Từ tháng 12 tới tháng giêng hàng năm, khi cây rụng hết lá.

Tạo hom: Chọn cành và thân có đường kính từ 0,7 - 1,5 cm (không nên chọn cành non quá hay già quá). Dùng kéo cắt thành các đoạn dài từ 15 - 20 cm, cần chú ý không làm dập nát.

Làm đất vườn ươm: Chọn nơi đất ẩm, không bị che bóng hoặc che bóng ít. Làm đất tơi nhỏ, lên luống cao 20 - 30 cm.

Cách đặt hom: Các hom đặt nghiêng khoảng 30°, lấp đất và lèn chặt gốc, để hở đầu khoảng 2 cm. Khi đặt hom phải dựa vào chiều cong của gai (chiều cong của gai quay xuống phía dưới). Sau khi lấp đất cần phủ rơm, rạ hay cỏ khô (để giữ ẩm và tránh sương muối), tưới nước. Sau khoảng 40 ngày cây sẽ ra chồi.

Chăm sóc cây giống ở vườn ươm: Nhìn chung cây giống ở vườn ươm ít cần chăm sóc, chỉ chú ý nhổ cỏ, vun gốc và tưới nước.

Kết quả theo cách làm này, tỷ lệ giâm cành tạo cây giống khá cao, từ 82 - 96%.

Cách trồng:

Nơi trồng: Ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai thuộc loại cây bụi, có nhiều gai. Cây có khả năng đẻ nhánh và phân cành nhiều. Vì vậy, nơi trồng thích hợp nhất là bờ rào vườn, nương rẫy hay những nơi ẩm gần chân núi đá vôi. Mặt khác, hai cây này vốn là những cây có đặc tính của cây ở vùng cận nhiệt đới, nên ở Việt Nam vùng trồng thích hợp nhất là vùng núi cao (khoảng 1400 - 1500 m) trở lên như ở Sa Pa, Bát Sát, Bắc Hà (Lào Cai); Đồng Văn, Quản Bạ, Mèo Vạc (Hà Giang) hay Sìn Hồ, Tủa Chùa (Lai Châu).

Cách trồng: Cây giống được 1 năm tuổi đánh ra trồng. Chú ý khi đào cây cần tránh làm đứt rễ. Đất lên thành luống, bổ hố cách nhau 50 cm, đặt cây giống vào hố, lấp đất, dẫm chặt, tưới nước.

Thời gian trồng: Từ tháng 12 đến tháng 1 năm sau (đây cũng là thời gian thích hợp để trồng những cây ở vùng núi cao).

Chăm sóc:

Bón phân: Hiện nay với những nghiên cứu còn hạn chế nhằm mục đích bảo tồn nên chưa sử dụng phân bón. Tuy nhiên, để tạo điều kiện cho cây sinh trưởng và phát triển tốt có thể bón bằng phân chuồng mục hay mùn núi.

Làm cỏ, vun gốc: Cần phải làm thường xuyên, nhất là mùa mưa ẩm.

Tưới nước: Cũng như chăm sóc ở vườn ươm, vào mùa khô cần tưới nước cho cây trồng để giữ ẩm (nhất là năm đầu tiên).

IV. KẾT LUẬN

(1) Kết quả nghiên cứu nhân giống cho thấy, phương pháp nhân giống vô tính ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai bằng hom thân là phương pháp nhân giống có hiệu quả, cho tỷ lệ ra chồi và ra rễ cao.

- Ngũ gia bì hương: Cho tỷ lệ ra chồi từ 82 - 88, 89% và tỷ lệ ra rễ cao nhất đạt 72,22%.

- Ngũ gia bì gai: Cho tỷ lệ ra chồi từ 83,89 - 96,97% và tỷ lệ ra rễ cao nhất là 79,59%.

(2) Đã bước đầu xây dựng quy trình nhân trồng bảo tồn hai loài ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai, với một số đặc điểm chính như sau:

- Thời gian lấy mẫu và giâm hom: Từ tháng 12 năm trước đến tháng Giêng năm sau.

- Kích thước hom: Chiều dài từ 15 - 20 cm; đường kính từ 0,7 - 1,5 cm.

- Thời gian đưa cây ra trồng: Từ tháng 12 năm trước đến tháng Giêng năm sau (sau một năm ở vườn ươm).

Các cây được nhân trồng sinh trưởng và phát triển tốt trong điều kiện tự nhiên ở Sa Pa - Lào Cai.

(3) Đã xây dựng thành công 2 vườn bảo tồn ngoại vi (ex-situ) ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai với diện tích gần 200 m^2 ở Sa Pa - Lào Cai. Điều này đã

bước đầu khẳng định về công tác bảo tồn ngoại vi của hai loài này hoàn toàn có triển vọng tốt.

(4) Với việc nhân trồng đơn giản, việc phát triển ngũ gia bì hương và ngũ gia bì gai vừa có ý nghĩa bảo tồn những loài cây thuốc có nguy cơ bị tuyệt chủng, vừa tạo thêm nguồn nguyên liệu làm thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, (1996), Sách Đỏ Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, phần II, tr. 29 - 31.
2. Võ Văn Chi, (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học Hà Nội, tr. 850 - 851.
3. Phạm Hoàng Hộ, (2000), Cây cỏ Việt Nam, NXB. Trẻ, quyển II, tập 2, tr. 488 - 525.
4. Viện Dược liệu, (1976), Kỹ thuật trồng cây thuốc, NXB. Y học Hà Nội.
5. Viện Dược liệu, (2003), Cây thuốc và động vật làm thuốc, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, tập 2, tr. 410 - 415.
6. Nguyễn Văn Tập, (2001), Áp dụng khung phân hạng mới của IUCN-1994 để đánh giá tình trạng bị đe doạ đối với các loài cây thuốc cần bảo tồn ở Việt Nam. Tạp chí Dược liệu, 6 (2 + 3), tr. 42 - 45.
7. Phạm Chí Thành, 1976, Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng, NXB. Nông nghiệp Hà Nội.
8. Farnworth N. R., Kinghorn A. D., Soejarto D. D., Waller D. P. (1985), Siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus*): current status as an adaptogen. In: Wagner H., Hikino H.,Farnworth N. R. (eds.), Economic and Medicinal Plant Research, Academic Press, Vol. 1, pp. 155 - 215.
9. IUCN. (1993), Guidelines on the conservation of Medicinal Plants, pp. 31 - 37.
10. Đại học Y khoa Trung Quốc, (1996), Trung dược từ hải, NXB. Khoa học và Kỹ thuật Y dược Trung Quốc, quyển II (Tiếng Trung Quốc).

NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT TRỒNG VÀ QUY HOẠCH PHÁT TRIỂN SÂM NGỌC LINH Ở KON TUM

Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Văn Thuận, Lê Thanh Sơn,
Nguyễn Xuân Trường, Đào Hùng,
Nguyễn Văn Bút, Nguyễn Văn Mậy, Mang Ngọc Tiến

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhân sâm (*Panax ginseng*) là cây thuốc đã được sử dụng trên 4000 năm, nhiều huyền thoại gắn liền với nhân sâm như một vị thuốc thần kỳ chữa được bách bệnh. Các công trình nghiên cứu khoa học ngày nay đã chứng minh giá trị phòng và chữa bệnh, bồi bổ sức khoẻ tuyệt vời của nhân sâm. Nhân sâm đã được sử dụng rộng rãi trên toàn thế giới, được trồng sản xuất lớn trên nhiều nước như Triều Tiên, Trung Quốc, Nga, Canada, Nhật Bản... Việc phát hiện ra cây sâm Ngọc Linh ở Việt Nam là một đóng góp mới cho khoa học. Kết quả nghiên cứu về hoá học, dược lý, lâm sàng đã chứng minh giá trị sâm Ngọc Linh sánh ngang với nhân sâm, mở ra triển vọng khai thác nguồn lợi thiên nhiên này ở Việt Nam. Rất đáng tiếc công tác bảo tồn gìn giữ cây thuốc quý hiếm này đã không được chú trọng sớm, nên đến nay sâm Ngọc Linh rất hiếm gặp trong tự nhiên. Việc đầu tư nghiên cứu nhân giống và nuôi trồng sâm Ngọc Linh không chỉ có ý nghĩa bảo tồn gìn giữ nguồn gen mà còn có giá trị kinh tế xã hội cao.

Sở Khoa học và Công nghệ Kon Tum đã đầu tư cho Viện Dược liệu thực hiện đề tài "*Nghiên cứu hoàn htiện quy trình sản xuất giống, kỹ thuật trồng và quy hoạch phát triển cây sâm Ngọc Linh tại Kon Tum*" nhằm xây dựng quy trình trồng để phát triển cây sâm Ngọc Linh ở nơi xuất xứ huyện Đắc Tô tỉnh Kon Tum.

II. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Cây sâm giống 18 tháng tuổi được gieo từ hạt thu được của cây sâm có từ 4 năm tuổi trở lên tại Trung tâm nghiên cứu Sâm Trà Linh, Trà My, Quảng Nam.

- Địa điểm trồng cây tại chốt 3, xã Măng Ri, huyện Đăc Tô, tỉnh Kon Tum.
- Toàn bộ mùn núi, vật liệu làm rào bảo vệ, đều được khai thác từ rừng tự nhiên tại địa điểm trồng sâm.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Tập trung trồng vườn sâm giống 1ha tại chốt 3 xã Măng Ri, huyện Đắc Tô.
- Xây dựng quy trình sơ bộ trồng cây sâm dưới tán rừng tự nhiên.
- Xây dựng quy trình nhân giống cây cây sâm Ngọc Linh từ hạt.
- Quy hoạch vùng trồng sâm tại vùng núi Ngọc Linh, Kon Tum.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiêm hoàn chỉnh (Randomized complete Block Design) ba lần nhắc lại.

Số liệu được xử lý thống kê theo Phạm Chí Thành (1976)

- Chiều cao cây được đo từ gốc lên đến điểm phân nhánh trên cùng (cm)
- Đường kính tán (cm) được đo theo quy tắc 4 phương và lấy trung bình.
- Tỷ lệ nẩy mầm được đếm khi hạt đã nẩy mầm đầy đủ (%).
- Số cây có hoa được đếm những cây có hoa hữu hiệu.
- Số hạt kết quả và chín được đếm và thu nhiều lần.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nghiên cứu thời vụ trồng

Cây sâm con 18 tháng tuổi được trồng vào 2 thời vụ trong năm. Thời vụ 1 trồng tháng 10//2001, thời kỳ cây sâm chuẩn bị rụng lá, ngủ đông vào cuối mùa mưa ở Tây Nguyên.

Thời vụ 2 trồng tháng 4/2002, thời kỳ cây sâm thức dậy sau ngủ đông, sinh trưởng mạnh và bắt đầu mùa mưa có điều kiện để tưới ẩm cho cây sau khi trồng.

Bảng 1. **Thời vụ trồng ảnh hưởng đến các chỉ tiêu sinh trưởng của cây sâm Ngọc Linh (2001 – 2002)**

Chỉ tiêu theo dõi Thời vụ trồng	Tỷ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây sau 6 tháng trồng (cm)	Chiều cao cây sau 1 mùa sinh trưởng (cm)	Độ rộng tán cây sau 1 mùa sinh trưởng (cm)	Tỷ lệ cây có hoa sau 24 tháng trồng (%)
Tháng 10 năm 2001	86,49±3,15	8,70±0,8	26,56±1,91	15,3±1,44	21,43±4,5
Tháng 4 năm 2002	91,29±6,30	14,93±0,5	21,90±1,15	13,30±2,91	12,60±1,95

Qua bảng trên ta thấy tỷ lệ sống của cây sâm 18 tháng tuổi sau khi trồng là khá cao, tuy nhiên cây giống được trồng vào đầu mùa mưa (tháng 4) có tỷ lệ sống cao hơn chút ít so với trồng vào cuối mùa mưa.

Bảng 2. **Thời vụ trồng ảnh hưởng đến các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển của cây sâm Ngọc Linh (2002-2003)**

Chỉ tiêu theo dõi Thời vụ trồng	Tỷ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây sau 6 tháng trồng (cm)	Chiều cao cây sau 1 mùa sinh trưởng (cm)	Độ rộng tán lá sau 1 mùa sinh trưởng (cm)	Tỷ lệ cây có hoa sau 24 tháng trồng (%)
Tháng 10 năm 2002	84,72±4,13	8,73±0,50	25,92±2,78	17,36±0,11	19,16±6,44
Tháng 4 năm 2003	92,5±4,57	14,33±1,5	25,20±2,44	20,86±3,16	13,76±4,0

Bảng 2 cho thấy tỷ lệ sống của cây sâm trồng vào tháng 4 luôn ở mức cao hơn so với cây trồng vào tháng 10, nhưng tỷ lệ cây ra hoa lại thấp hơn.

3.2. Mật độ, khoảng cách trồng cây sâm Ngọc Linh

Thời vụ tháng 10/2001 đã bố trí thí nghiệm nghiên cứu với 3 khoảng cách trồng khác nhau. Hàng cách hàng 20 cm và cây cách cây lần lượt là 25 cm, 30 cm, 35cm ,kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Ảnh hưởng của khoảng cách trồng lên các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển của cây sâm Ngọc Linh (sau 24 tháng trồng)**

Chỉ tiêu / Công thức thí nghiệm	Chiều cao cây (cm)	Độ rộng tán lá (cm)	Tỷ lệ cây có hoa (%)	Số quả chín trên cây có hoa
20 cm x 25 cm	24,73±1,28	24,16±0,89	19,13±1,01	8,53±0,11
20 cm x 30 cm	26,72±0,45	25,26±2,15	25,63±1,11	13,72±1,50
20 cm x 35 cm	22,84±1,27	24,12±0,87	28,60±2,2	11,56±0,75

Bảng 3 cho ta thấy: Sau 24 tháng trồng ở khoảng cách 20 x 30cm cây sâm sinh trưởng thuận lợi nhất, chiều cao cây khá cân đối với độ rộng của tán lá. Số cây có hoa và số hạt kết quả được trên cây cũng cao nhất. Khoảng cách trồng 20 x 30cm đối với cây sâm bước đầu tỏ ra khá thích hợp.

Tháng 4/2002. Cũng ở 3 khoảng cách trồng như trên, chúng tôi bố trí thí nghiệm ở thời vụ trồng tháng 4.

Bảng 4. **Khoảng cách trồng ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây sâm Ngọc Linh**

Chỉ tiêu / Công thức thí nghiệm	Chiều cao cây (cm)	Độ rộng tán lá (cm)	Tỷ lệ cây có hoa (%)	Số quả chín trên cây có hoa
20 cm x 25 cm	25,36±1,00	21,46±0,83	13,06±3,15	6,56±0,85
20 cm x 30 cm	25,46±0,70	26,90±1,25	16,93±1,40	11,46±0,94
20 cm x 35 cm	26,43±1,96	24,32±2,34	14,73±1,28	6,10±1,83

Thí nghiệm thời vụ tháng 4 cũng cho kết quả tương tự thời vụ tháng 10 là khoảng cách 20 x 30 cm là thích hợp.

3.3. Chế độ phân bón đối với cây sâm Ngọc Linh

Thí nghiệm đã nghiên cứu 3 mức bón mùn núi khác nhau đó là 130 m^3/ha, 150 m^3/ha và 170 m^3/ha.

Bảng 5. **Ảnh hưởng của liều lượng mùn núi đến tình hình sinh trưởng và phát triển của cây sâm Ngọc Linh**

Chỉ tiêu / Liều lượng mùn núi	Chiều cao cây (cm)	Độ rộng tán lá (cm)	Tỷ lệ cây có hoa (%)	Số quả chín trên cây có hoa
130 m^3/ha	24,46±0,90	25,33±0,21	21,62±2,94	7,96±0,57
150 m^3/ha	27,60±1,20	26,66±0,56	25,30±0,52	8,12±0,55
170 m^3/ha	32,50±2,05	27,30±1,10	25,26±1,05	8,40±0,20

Khối lượng mùn núi càng tăng (từ 130 m^3/ha đến 170 m^3/ha), các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển của cây sâm Ngọc Linh càng tăng, chiều cao cây đạt 24,4cm khi lượng mùn núi bón cho cây sâm ở mức độ 130 m^3/ha nhưng chiều cao cây sẽ tăng lên 32,50cm khi lượng mùn núi đạt 170 m^3/ha.

3.4. Chế độ chiếu sáng

Bảng 6. **Chế độ chiếu sáng ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây sâm Ngọc Linh**

Chỉ tiêu / Chế độ chiếu sáng	Chiều cao cây (cm)	Độ rộng tán lá (cm)	Tỷ lệ cây có hoa (%)	Số quả chín trên cây có hoa
Chiếu sáng 50%	23,53±2,05	20,30±1,31	11,43±0,96	4,60±0,52
Chiếu sáng 25%	23,56±1,41	21,14±1,08	12,13±0,47	6,20±0,10
Chiếu sáng 10%	30,40±1,95	25,56±1,20	25,23±2,90	8,25±1,05

Qua 3 chế độ chiếu sáng 50%; 25%; 10% chúng ta thấy ở chế độ chiếu sáng 10% tức ánh sáng trực xạ chiếu vào ruộng sâm chỉ có 10% còn 90% là ánh sáng khúc xạ cho kết quả tốt nhất sơ bộ kết quả trên cho thấy ruộng sâm cần có chế độ che bóng từ 75 – 90%. Nếu độ che bóng thấp (dưới 50%) lá cây sâm sẽ chuyển màu vàng, mỏng lá và cuối cùng là tự khô héo và chết.

3.5. Nghiên cứu sản xuất giống sâm Ngọc Linh từ hạt

Đối với sâm Ngọc Linh, thời điểm thu hái hạt và phương thức gieo hạt với một lớp cùi vỏ dầy như thế đòi hỏi cần được nghiên cứu xử lý. Vì thế 2 biện pháp kỹ thuật cơ bản đó là: Thời điểm thu hái và biện pháp xử lý đối với lớp cùi vỏ hạt.

Đối với thời điểm thu hái chúng tôi đã nghiên cứu 3 thời điểm thu hái:

Thời điểm 1: Thu hái khi quả bắt đầu chuyển từ mầu xanh thẫm sang màu xanh vàng – Công thức I.

Thời điểm 2: Thu hái,khi quả chín đạt màu đỏ tươi – Công thức II.

Thời điểm 3: Khi vỏ quả có màu đỏ thẫm (tức chuyển từ đỏ tươi, chín sang màu đỏ thẫm)– Công thức III.

Lớp cùi vỏ dầy của quả sâm cũng có thể giúp hạt sâm có được quá trình hút nước, chuyển hoá các hoạt động nội quan để nảy mầm được tốt hơn. 4 công thức thí nghiệm để nghiên cứu quá trình này của hạt sâm đã được tiến hành.

Phương thức 1: Quả sâm sau khi thu hoạch về Không đãi vỏ, để nguyên gieo ngay xuống đất – gọi là không đãi vỏ gieo ngay.

Phương thức 2: Quả sâm thu hoạch về đãi sạch vỏ, phơi khô hạt và gieo – gọi là đãi sạch vỏ phơi khô gieo.

Phươngthức 3: Quả sâm khi thu hoạch về ủ lại 10 ngày, đãi sạch vỏ và đem gieo.

Phương thức 4: Quả sâm khi thu hoạch về chỉ ủ 5 ngày, đãi sạch vỏ rồi đem gieo.

Kết quả nghiên cứu về thời điểm thu hái hạt sâm và phương thức gieo hạt sâm được thể hiện ở bảng 7.

***Bảng 7.* Kết quả nghiên cứu thời điểm thu hoạch và phương thức gieo hạt sâm Ngọc Linh**

Chỉ tiêu theo dõi / Công thức thí nghiệm		Thời gian nảy mầm (ngày)	Tỷ lệ nảy mầm (%)
Công thức I	Không đãi vỏ - gieo ngay	152	6,03
	Đãi sạch vỏ phơi khô hạt – gieo	140	1,00
	Ủ hạt 10 ngày, đãi vỏ – gieo	172	6,03
	Ủ 5 ngày, đãi vỏ – gieo	175	8,8
Công thức II	Không đãi vỏ - gieo ngay	148	75,8
	Đãi sạch vỏ phơi khô hạt – gieo	146	17,6
	Ủ hạt 10 ngày, đãi vỏ – gieo	180	68,5
	Ủ 5 ngày, đãi vỏ – gieo	178	83,9

Công thức III	Không đãi vỏ - gieo ngay	170	76,4
	Đãi sạch vỏ phơi khô hạt – gieo	172	6,6
	Ủ hạt 10 ngày, đãi vỏ – gieo	190	53,9
	Ủ 5 ngày, đãi vỏ – gieo	198	60,5

Kết quả ở bảng 7 cho thấy: Thời điểm thu hoạch hạt giống sâm tốt nhất khi quả sâm đã chín có màu đỏ tươi, chấm đen ở quả đã định hình và được phân biệt rất rõ, vỏ ngoài của quả trông rất bóng, sáng, mảy (đầy, béo) hạt cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất, cây mầm mọc lên khoẻ nhất và tốc độ sinh trưởng của cây sâm gieo từ loại hạt này khỏe nhất. Tuy nhiên, thời gian nảy mầm chỉ ở mức độ trung bình từ 146 – 180 ngày.

Đối với phương thức gieo hạt: Hạt sâm Ngọc Linh thu hoạch về đem ủ từ 5 đến 10 ngày rồi đãi sạch vỏ, đem gieo là tốt nhất

Hai phương pháp sắp hạt lúc gieo: Rải hạt thành một lớp mỏng, khoảng cách giữa các hạt không xác định tuỳ theo phân bố ngẫu nhiên. Phân rải hạt đều thẳng hàng hạt cách hạt từ 1 – 3cm

Ba môi trường hay giá thể gieo hạt được quan sát là :

- Sử dụng đất núi bình thường để làm giá thể gieo hạt.
- Sử dụng mùn núi làm giá thể gieo hạt.
- Sử dụng cát non làm nền để gieo hạt.

Kết quả thí nghiệm về 2 phương pháp bố trí hạt và 3 môi trường (giá thể) để gieo hạt sâm được thể hiện ở bảng 8.

***Bảng 8.* Giá thể và phương thức gieo hạt ảnh hưởng đến thời gian và tỷ lệ nảy mầm của hạt sâm**

Chỉ tiêu theo dõi / Công thức thí nghiệm		Thời gian nẩy mầm (ngày)	Tỷ lệ nẩy mầm (%)
Đất núi	Rải đều hạt	180 – 210	38,2
	Sắp xếp theo thứ tự 1 – 3cm	180 – 210	46,32

Mùn núi	Rải đều hạt	170 – 190	45,48
	Sắp xếp theo thứ tự 1 – 3cm	165 – 195	51,64
Cát non	Rải đều hạt	150 – 170	42,38
	Sắp xếp theo thứ tự 1 – 3cm	168 - 180	40,66

Bảng 8 cho thấy hạt sâm gieo trong môi trường đất núi có thời gian nảy mầm dài nhất từ 180 – 210 ngày. Trong khi đó ở 2 môi trường còn lại là mùn núi và cát non đều tương tự giống nhau từ 150 – 180 ngày nên rút ngắn hơn so với gieo trong đất núi bình thường từ 30 – 40 ngày.

Tỷ lệ nẩy mầm của hạt sâm gieo trong 3 giá thể đều không có sai khác nhiều, tuy nhiên khi gieo trong giá thể mùn núi có tỷ lệ nảy mầm cao hơn cả.

Thí nghiệm nghiên cứu độ sâu gieo hạt sâm cũng đã được bố trí với 3 mức độ: 1 – 3cm, 5- 7cm và 9 – 10cm:

***Bảng 9.* Độ sâu gieo hạt ảnh hưởng đến thời gian và tỷ lệ nảy mầm của hạt sâm**

Chỉ tiêu theo dõi Công thức thí nghiệm	Thời gian nảy mầm (ngày)	Tỷ lệ nảy mầm của hạt (%)	Ghi chú
Gieo sâu 1 – 3cm	190 – 230	32,66	Gieo xong phủ một lớp lá, che phủ tự nhiên bằng cây rừng
Gieo sâu 5 – 7cm	150 – 180	52,34	
Gieo sâu 9 – 10cm	160 – 180	48,26	

Hạt sâm gieo ở độ sâu 5 – 7cm cho kết quả tốt nhất, thời gian cần thiết cho hạt nẩy mầm chỉ cần 150 – 180 ngày là mọc hết, trong khi đó tỷ lệ nẩy mầm của hạt đạt 52,34%.

3.6. Quy hoạch phát triển cây sâm Ngọc Linh đến năm 2020 ở Kon Tum

Khu vực quy hoạch vùng trồng sâm nằm ở phía đông bắc huyện Đăk Glei và phía bắc huyện Đăc Tô tỉnh Kon Tum gồm các xã Tê Xăng, Măng Ri, Ngọc Yêu, Ngọc Lây, ĐakNa, Mường Hoong, Ngọc Linh. Có toạ độ địa lý:

Từ $16^0$38' đến $16^0$84' độ vĩ bắc

Từ $107^0$99' đến $108^0$40' độ kinh đông

Diện tích: Tổng diện tích tự nhiên của khu vực dự kiến quy hoạch trồng sâm là 66.830 ha. Diện tích quy hoạch là diện tích rừng chưa bị khai thác kiệt chiếm 25% diện tích tự nhiên của toàn vùng khoảng 16.700 ha

- Nhiệt độ trung bình: 18^0C
- Độ ẩm trung bình: 82% - 87%
- Lượng mưa trung bình: Từ 2.100 mm đến 2.800 mm
- Chọn đất dưới tán rừng cây lá rộng hoặc hỗn giao lá rộng lá kim, trong đó cây lá rộng là chủ yếu. Rừng chưa bị khai thác kiệt, tầng cây gỗ có độ tán che trên 75%.
- Đất trồng sâm cần có độ dốc dưới 25^0.

Quy hoạch sản xuất:

- Xác định các điều kiện đọ cao, thảm rừng, đọ dốc, đát đai, chế độ nước mùa mưa lũ để chọn vùng trồng sâm cụ thể. Mỗi vùng có diện tích thực tế trồng được sâm từ 10 ha trở lên.
- Quy hoạch khu Trung tâm Bảo tồn và Phát triển Sâm Việt Nam như Trại Sâm Măng Ri và các xã phụ cần Đắc Tô - Đắc Lây. Vùng quy hoạch khoảng 1.200 – 1.500 ha độ cao từ 1.700 – 2.200 m.

Giai đoạn 1: 2005 – 2010 phát triển vườn giống và hệ thống sản xuất giống ở khu trung tâm bảo tồn và phát triển. Xây dựng một số mô hình hộ trồng sâm ở 2 xã ngọc Lây và Măng Ri.

Giai đoạn 2: 2010 – 2015 xây dựng mô hình trồng sâm trong hộ nông dân ở tất cả các xã quy hoạch theo hướng xây dựng mô hình trình diễn để tập huấn đào

tạo. Mỗi xã tổ chức 1 – 3 điểm trồng sâm, tổ chức hướng hộ tự nguyện trồng sâm, liên kết quản lý bảo vệ theo mô hình trang trại.

Giai đoạn 3: 2016 – 2020 khuyến cáo nhân dân trong vùng quy hoạch trồng tập trung theo các nhóm tự nguyện, quản lý theo mô hình trang trại. Trồng phân tán theo hướng xã hội hóa toàn dân trồng sâm. Hướng dẫn sản xuất cây giống cho các cụm sản xuất tập trung để cộng đồng tự sản xuất cây giống cho mục tiêu trồng phân tán.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Đã xây dựng quy trình kỹ thuật trồng cây sâm Ngọc Linh dưới tán rừng tự nhiên, với 2 thời vụ trồng trong năm là tháng 4 và tháng 10. Khoảng cách trồng cây sâm Ngọc Linh tốt nhất là 20x30 cm. Lượng mùn núi cần bón cho 1ha cây sâm từ 150 - 170m^3. Cây sâm trồng dưới tán rừng được che phủ 75-90%.

Quy trình nhân giống bằng hạt của cây sâm Ngọc Linh : Thu quả để làm giống tốt nhất khi quả đã có màu đỏ tươi, chấm đen trên quả xuất hiện đầy đủ vỏ quả bóng, mẩy. Quả thu xong cần ủ 5 - 10 ngày mới đem gieo. Giá thể hoặc môi trường để gieo hạt tốt nhất là mùn núi. Độ sâu gieo hạt phù hợp nhất là 4 - 5cm. Hạt nên gieo theo hàng, hạt nọ cách hạt kia từ 2 - 3 cm.

Mô hình trồng sâm Ngọc Linh trong các hộ nông dân tại xã Ngọc Lây đã được thí điểm và có hiệu quả. Tổ chức tập huấn kỹ thuật, cung cấp giống cây sâm, chỉ đạo kỹ thuật chặt chẽ và thường xuyên kiểm tra đôn đốc để người dân thấy được quyền lợi của mình đối với việc trồng sâm thì mô hình sẽ phát huy kết quả tốt. Xây dựng vườn sâm giống tổng số cây sâm đưa từ Quảng Nam sang trồng tại Kon Tum 62.354 cây sâm trên diện tích 1.135 ha.

Đề xuất quy hoạch vùng phát triển cây sâm Ngọc Linh tại huyện Đắc Tô và Đắc Lây của tỉnh Kon Tum khoảng 1200-1500 ha đất rừng có thể cải tạo và trồng sâm Ngọc Linh.

Đề nghị Nhà nước, Chính quyền tỉnh Kon Tum cần có kế hoạch đầu tư mở rộng diện tích trồng sâm dưới tán rừng tự nhiên và sớm nghiên cứu phương thức trồng sâm dưới mái che nhân tạo ở cả quy mô tập trung và quy mô đưa vào các hộ nông dân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phan Văn Đệ, (2003), Kết quả nghiên cứu sinh học và trồng trọt cây sâm Việt Nam. Hội thảo Bảo tồn và Phát triển Sâm Việt Nam: 43-53.

2. Nguyễn Minh Đức, (2003), Thành phần saponin sâm Việt Nam thiên nhiên và trồng trọt.Giá trị sâm Việt Nam theo quan điểm hoá phân loại và dược lý học. Hội thảo Bảo tồn và Phát triển Sâm Việt Nam.:P.125133.

3. Pham Hoàng Hộ, (1972), Cây cỏ miền Nam Việt Nam.BGD-SG.Q1:989.

4. Nguyễn Bá Hoạt, (1999), Những dẫn liệu về hình thái cây sâm mới phát hiện ở Việt Nam. Thông báo Dược liệu số 1:5-9.

5. Nguyễn Thị Thu Hương, (2003), Kết quả nghiên cứu dược lý sâm Việt Nam. Hội thảo Bảo tồn và Phát triển Sâm Việt Nam:.P.76-90.

6. Trần Công Luận, (2003), Kết quả nghiên cứu về hoá học sâm Viêt Nam. Hội thảo Bảo tồn Phát triển Sâm Việt Nam: P.62-75.

7. Duc,N.M; Nham, N.T;Kasai, R.et al., (1993), Saponins from Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) collected in central Vietnam. I. Chem. Pharm. Bull. 41:2010-2014.1993.-II. Chem.Pharm.Bull.42:115-122;1994.

8. Follett, J. (1993), Ginseng - *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*.in Proceeding of Ruakura Agricultura Research centre. P:1-5.

9. Grushvitzky, I.V.; Skvortsova,N.T.; Ha,T.D. (1990), The genus Panax (*Araliaceae*) in the flora of Vietnam.Bot.Zhur.75:884-888.

10. Ha,T.D; Grushvitzky,I.V. (1985), A new species of the genus Panax (*Araliaceae*) from Vietnam.Bot.Zhur. 70:518-522.

11. Nham,N.T; De,P.V.; Luan,T.C.;et al., (1995), Pharmacognostical and chemical studies on Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv. Araliaceae).J.Jap.Bot.70:1-10.

12. Proctor, J.T.A.;Bailey,W.G. (1989), Ginseng: industry,botany and culture.Horticultural Reviews 9:187-236.

13. Shibata, S. et al., (1985), Chemistry and pharmacology of Panax. Economic and Medicinal Plant Research, Volume 1 , Academic Press 1985. pg. 218. London. Academic Press

14. Tanaka,O. (1990), Recent studies on glycosides from plant drugs of Himalaya and south-western China:Chemogeographical correlation of Panax species. Pure Appl.Chem.62:1281-1284.

15. Wang, J. (1982), Quantitative determination of saponins in the roots of *Panax notoginseng, P. ginseng and P. quinquefolius*. Yaozue Tongbao. 17: 244-45.

16. American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) Where to find it, how to identifip it, Grow it By George Bryant.

XÂY DỰNG MỘT SỐ QUY TRÌNH SẢN XUẤT DƯỢC LIỆU SẠCH VÀ CHẾ BIẾN SẠCH ĐỂ BÀO CHẾ MỘT SỐ CHẾ PHẨM CHẤT LƯỢNG CAO

Nguyễn Văn Thuận, Bùi Thị Bằng, Phạm Văn Ý, Lê Kim Loan, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Thị Thư, Lê Khúc Hạo và cs. - *Viện Dược liệu*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới, tính đến năm 2003, kim ngạch thương mại của thế giới về thuốc thảo mộc đạt trên 80 tỷ đô la Mỹ. Cũng theo thông báo của Tổ chức Y tế Thế giới phần lớn các thuốc thảo mộc được sử dụng trên toàn thế giới đều bị hạn chế về điều kiện vệ sinh an toàn trong nuôi trồng và chế biến. Môi trường, đất trồng, nước tưới, phân bón và các hóa chất sử dụng nhằm tăng năng suất cây trồng đều có ảnh hưởng. Các loại hóa chất, vật liệu dùng để chế biến các thuốc thảo mộc đều chưa được kiểm định để đánh giá là vô hại hay không đối với sức khỏe con người và đối với môi trường.

Để khắc phục tình trạng trên đối với dược liệu, đề tài "*Xây dựng một số quy trình sản xuất dược liệu sạch và chế biến sạch để bào chế một số chế phẩm chất lượng cao*" mã số KC 10.02 được Bộ Khoa học và Công nghệ giao cho Viện Dược liệu thực hiện từ năm 2001 đến 2005.

Đề tài đã được triển khai nghiên cứu trên 5 đối tượng cây thuốc đương quy (*Angelica acutiloba* Kitagawa), bạch chỉ (*Angelica dahurica* Benth et Hook),

ngưu tất (*Achiranthes bidentata* Blume), actisô (*Cynara scolymus* L.) và cúc hoa (*Chrysanthemum indicum* L.)

II. PHƯƠNG PHÁP VÀ NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.1. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm nông nghiệp được bố trí theo các phương pháp thường quy, mới và tiêu chuẩn như: Phương pháp khối ngẫu nhiên đầy đủ, phương pháp khối ngẫu nhiên, phương pháp ô chính, ô phụ...

Các thí nghiệm phân tích hóa học đánh giá các chỉ tiêu dược liệu sạch được tiến hành theo các phương pháp tiên tiến như quang phổ hấp thụ nguyên tử, quang phổ tử ngoại sắc ký khí, sắc ký cao áp v.v..

Các phương pháp chế biến được tiến hành theo các phương pháp cổ truyền, các phương pháp đang được áp dụng rộng rãi và các phương pháp tiên tiến của thế giới.

Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng dược liệu như: Giảm khối lượng do sấy khô, tỷ lệ vụn nát, tro toàn phần, tro không tan trong acid, giới hạn nhiễm khuẩn, tỷ lệ tạp chất lạ. v.v... thực hiện theo các quy định của Dược điển Việt Nam 3.

Số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê theo chương trình IRRISTAT 4.0.

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu các biện pháp kỹ thuật để xây dựng quy trình trồng đương quy, bạch chỉ, ngưu tất, actisô và cúc hoa an toàn

- Thời vụ gieo trồng
- Phân bón và phương pháp bón phân
- Khoảng cách mật độ trồng
- Nước tưới và chế độ nước tưới
- Phòng trừ sâu bệnh và sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV)
- Chế độ luân canh

2.2.2. Phân tích đánh giá các chỉ tiêu dược liệu an toàn

- Xác định hàm lượng nitrat (NO_3) có trong dược liệu.
- Xác định giới hạn tỷ lệ cho phép một số kim loại nặng tồn dư trong dược liệu như cadimi, thủy ngân, chì, đồng, asen.

- Xác định giới hạn cho phép sự tồn tại của một số vi khuẩn ảnh hưởng xấu đến sức khoẻ người sử dụng: *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella, Pseudomonas aeruginosa.*
- Xác định giới hạn cho phép và mức độ tồn dư của một số hóa chất sử dụng trong chế biến dược liệu như SO_2.
- Định lượng hàm lượng hoạt chất chính của các loại dược liệu nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đối với cây đương quy

Đã xây dựng được quy trình trồng cây đương quy cho dược liệu sạch với tiêu chuẩn:

Số thứ tự	Kim loại nặng	Mức cho phép mg/kg
1	Asen (As)	1,0 - 1,2
2	Cadimi (Cd)	0,4 -0,5
3	Chì (Pb)	1,5 - 2,0
4	Thuỷ ngân (Hg)	0,4 - 0,6
5	Đồng (Cu)	5,0 - 10,0

- Hàm lượng NO_3 nhỏ hơn hoặc bằng 3g/kg dược liệu khô
- Không có vi sinh vật và các ký sinh vật gây hại cho người
- Không có tồn dư các loại thuốc bảo vệ thực vật

Các giải pháp kỹ thuật

- Thời vụ
- Đất trồng và khoảng cách trồng
- Phân bón và phương pháp bón phân
- Tưới nước và nước tưới
- Phòng trừ sâu bệnh
- Thu hoạch và sơ chế biến

Đã xây dựng được các phương pháp phân tích dược liệu sạch cho cây đương quy như: Hàm lượng NO_3, cadimi, thủy ngân, asen, chì, đồng.

Phương pháp phân tích dư lượng các loại thuốc bảo vệ thực vật

Phương pháp phân tích hoạt chất chính trong dược liệu đương quy là coumarin.

Các phương pháp chế biến dược liệu sạch: Phương pháp xông khói, ngâm và lăn trong nước nóng 70^0C, phương pháp sấy khô...

Tiêu chuẩn đầy đủ dược liệu đương quy sạch đã được xây dựng.

3.2. Đối với cây bạch chỉ

Quy trình trồng cây bạch chỉ cho dược liệu sạch bao gồm các giải pháp kỹ thuật: Thời vụ gieo trồng, khoảng cách mật độ trồng, phân bón và phương pháp bón phân, các chế độ luân canh, nước tưới, phòng trừ sâu bệnh, thu hoạch và sơ chế biến... để dược liệu đạt tiêu chuẩn sạch.

STT	*Kim loại nặng*	Mức cho phép mg/kgDL khô
1	Asen (As)	1,0 - 1,2
2	Cadimi (Cd)	0,4 - 0,6
3	Chì (Pb)	1,5 - 2,0
4	Thủy ngân (Hg)	0,5 - 1,0
5	Đồng (Cu)	8,0 - 12,0

- Hàm lượng $NO_3 \leq 7$mg/kg dược liệu khô
- Không có bất kỳ dư lượng loại thuốc BVTV nào
- Không có 4 chủng vi sinh vật và ký sinh vật gây hại cho người

Xây dựng quy trình chế biến dược liệu bạch chỉ sạch: Chế biến bạch chỉ bằng phương pháp xông sinh giới hạn.

Xác định các phương pháp phân tích các chỉ tiêu dược liệu sạch của dược liệu bạch chỉ.

Xây dựng tiêu chuẩn sạch dược liệu bạch chỉ.

3.3. Đối với cây ngưu tất

Quy trình trồng cây ngưu tất cho dược liệu sạch có các biện pháp kỹ thuật:

Thời vụ gieo trồng, khoảng cách mật độ trồng, phân bón, các chế độ luân canh, nước tưới, phòng trừ sâu bệnh, thu hoạch và sơ chế biến...

Tiêu chuẩn dược liệu sạch cây ngưu tất:

STT	*Kim loại nặng*	Mức cho phép mg/kgDL khô
1	Asen (As)	≤ 1
2	Cadimi (Cd)	≤ 1
3	Chì (Pb)	≤ 5
4	Thủy ngân (Hg)	≤ 0,5
5	Đồng (Cu)	≤ 10

- Dư lượng SO_2: Không quá 5 mg trong 100 gam dược liệu khô tuyệt đối.
- Không có dư lượng các loại thuốc BVTV.
- Không có 4 chủng vi sinh vật và ký sinh vật gây hại cho người

Xây dựng quy trình chế biến dược liệu sạch cây ngưu tất bằng hai phương pháp: Phương pháp không xông sinh và phương pháp xông sinh

Xây dựng được phương pháp phân tích hóa học và xây dựng tiêu chuẩn dược liệu sạch cây ngưu tất.

3.4. Cây actisô

Nghiên cứu quy trình trồng cây actisô cho dược liệu sạch được nghiên cứu tại hai địa điểm là Đà Lạt - Lâm Đồng và Sa Pa - Lào Cai và được áp dụng các biện pháp kỹ thuật như chế độ tưới nước và nước tưới, phương pháp bón phân và chế độ phân bón, phòng trừ sâu bệnh, thời vụ trồng, mật độ khoảng cách trồng...

Xây dựng được 2 quy trình trồng cây actisô đạt tiêu chuẩn dược liệu sạch phù hợp với 2 vùng là Đà Lạt và Sa Pa.

Số thứ tự	Kim loại nặng	Mức cho phép mg/kg
1	Asen (As)	≤ 1
2	Cadimi (Cd)	0,5 - 1,0
3	Chì (Pb)	≤ 5
4	Thuỷ ngân (Hg)	≤ 0,5
5	Đồng (Cu)	≤ 10

- Không có tồn dư của thuốc bảo vệ thực vật
- Không có 4 chủng vi sinh vật gây hại cho người sử dụng

Xây dựng phương pháp phân tích hóa học và xây dựng tiêu chuẩn sạch dược liệu actisô

Xây dựng quy trình chế biến dược liệu actisô đạt tiêu chuẩn sạch:

- Quy trình chế biến bằng phương pháp phơi khô
- Quy trình chế biến cao đặc từ lá actisô tươi.
- Quy trình chế biến cao khô từ lá actisô tươi.

3.5. Cây cúc hoa

Các biện pháp kỹ thuật đã sử dụng trong nghiên cứu quy trình trồng cây cúc hoa đạt tiêu chuẩn dược liệu sạch như: Phương pháp nhân giống, nghiên cứu thời vụ mật độ khoảng cách trồng, dạng phân bón và liều lượng bón phân, nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc bảo vệ thực vật, chế độ luân canh ...

Số thứ tự	Kim loại nặng	Mức cho phép mg/kg
1	Asen (As)	0,8 - 1,0
2	Cadimi (Cd)	0,4 - 0,6
3	Chì (Pb)	1,5 - 2,0
4	Thuy ngân (Hg)	0,4 - 0,6
5	Đồng (Cu)	10,0 - 12,0

- Hàm lượng NO_3 <=3g/kg dược liệu khô.

- Không có dư lượng thuốc hoá học bảo vệ thực vật.

- Hàm lượng kim loại nặng và độc tố dưới mức cho phép.

Xây dựng phương pháp phân tích hóa học và xây dựng tiêu chuẩn dược liệu sạch cây cúc hoa.

Xây dựng 2 quy trình chế biến dược liệu sạch cây CẻC hoa

- Chế biến cúc hoa bằng phương pháp không xông sinh

- Chế biến cúc hoa bằng phương pháp xông sinh

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Sau 3 năm (3 thời vụ) nghiên cứu xây dựng quy trình trồng cây thuốc sạch, quy trình chế biến dược liệu sạch và xây dựng tiêu chuẩn dược liệu sạch cho 5 loại cây thuốc đương quy, bạch chỉ, ngưu tất, actisô và cúc hoa. Các quy trình trên được áp dụng cho các địa phương có vùng sinh thái thích hợp với các loại cây trồng như đương quy, bạch chỉ, ngưu tất, actisô và cúc hoa là vùng đồng bằng Bắc Bộ và một số tỉnh trung du phía Bắc. Cây actisô ở hai địa phương là Sapa – Lào Cai và Đà Lạt - Lâm Đồng. Nếu áp dụng quy trình này ở các địa phương khác cần có quá trình khảo nghiệm và nghiên cứu thêm.

- Đã nghiên cứu các phương pháp chế biến cho năm loại dược liệu như sấy khô, sấy khô có xử lý bằng nước ozon hoặc xử lý bằng rượu, xông sinh, xông khói, ngâm lăn dược liệu trong nước nóng, nấu cao, sao chín, sao tẩm rượu, sao tẩm muối.

- Đã xây dựng được hai phương pháp định lượng flavonoid trong cúc hoa và coumarin trong bạch chỉ làm cơ sở cho việc kiểm tra chất lượng dược liệu sau chế biến.

- Đã khảo sát đánh giá chất lượng của các sản phẩm sau chế biến trên một số chỉ tiêu như các chỉ tiêu quy định trong các chuyên luận tương ứng của Dược điển Việt Nam 3, hàm lượng một số thành phần hoá học, các chỉ tiêu dược liệu an toàn, độc tính và một số tác dụng sinh học.

- Theo dõi điều kiện bảo quản các sản phẩm sau chế biến.

- Trên cơ sở so sánh đánh giá chất lượng của các sản phẩm sau chế biến và theo dõi độ ổn định của chúng đã xây dựng được phương pháp chế biến cho mỗi loại dược liệu.

+ Đương quy được chế biến theo 2 phương pháp: Sấy khô có xử lý dược liệu tươi bằng nước ozon và xông sinh với tỷ lệ sinh 1,5kg/tạ dược liệu trong 24 giờ.

+ Actisô chế biến theo 3 phương pháp: Chế biến lá khô bằng cách sấy khô và nấu cao đặc, cao khô.

+ Cúc hoa chế biến bằng phương pháp xông sinh với tỷ lệ sinh là 1kg/tạ trong 4 giờ.

+ Bạch chỉ chế biến bàng phương pháp xông sinh với tỷ lệ sinh là 1kg/tạ, thời gian xông sinh 24 giờ

+ Ngưu tất chế biến bằng 2 phương pháp sấy khô ở 60-70^{0}C và xông sinh với tỷ lệ sinh 1,5kg/tạ dược liệu, thời gian xông sinh 24 giờ.

- Đã xây dựng dự thảo TCCS cho các sản phẩm sau chế biến

4.2. Đề nghị

* Đề nghị các cấp có thẩm quyền công nhận và cấp chứng chỉ sở hữu trí tuệ cũng như phổ biến các văn bản:

-Quy trình trồng cây thuốc sạch cho 5 loại cây thuốc đương quy, bạch chỉ, ngưu tất, actisô và cúc hoa

-Quy trình chế biến dược liệu sạch cho 5 loại dược liệu đương quy, bạch chỉ, ngưu tất, actisô và cúc hoa.

-Công nhận và ban hành tiêu chuẩn dược liệu sạch cho 5 tiêu chuẩn dược liệu sạch của các loại dược liệu đương quy, bạch chỉ, ngưu tất, actisô và cúc hoa.

* Bộ Y tế, Bộ Khoa học và Công nghệ cho đề tài được tiếp tục khảo nghiệm các quy trình trồng và chế biến dược liệu sạch của 5 loại cây thuốc bằng dự án P sản xuất thử nghiệm.

Tiếp tục nghiên cứu trồng cây thuốc sạch cho một số cây thuốc tiếp theo trong thời gian tới.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH TRỒNG CÂY BẠCH CHỈ (*ANGELICA DAHURICA* BENTH. ET HOOK.) CHO DƯỢC LIỆU AN TOÀN

Lê Khúc Hạo, Nguyễn Văn Thuận

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây bạch chỉ là một cây thuốc quan trọng có nguồn gốc từ Tứ Xuyên – Trung Quốc. Việt Nam đã đi thực cây bạch chỉ từ năm 1958. Hiện nay bạch chỉ có thể trồng sản xuất dược liệu và sản xuất giống tại đồng bằng Bắc Bộ, vùng đồi núi thấp của một số tỉnh thuộc Bắc Bộ.

Quy trình kỹ thuật trồng, sơ chế biến dược liệu cây bạch chỉ đã được Viện Dược liệu xây dựng và chuyển giao cho áp dụng ở các vùng sản xuất từ lâu. Thời gian gần đây việc lạm dụng các loại phân hoá học, thuốc trừ sâu bệnh, thuốc kích thích sinh trưởng, sử dụng các loại nước tưới không đúng tiêu chuẩn nhằm đưa năng suất cây bạch chỉ lên cao đã dẫn đến tình trạng dược liệu bạch chỉ không đảm bảo tiêu chuẩn dược liệu sạch, dược liệu an toàn mà Tổ chức Y tế Thế giới đã khuyến cáo cũng như nhu cầu nâng cao chất lượng sản xuất thuốc ngày càng đòi hỏi. Đề tài KC-10-02 đã được triển khai nghiên cứu nhằm " *Xây dựng quy trình trồng cây bạch chỉ* (*Angelica dahurica* Benth. et Hook.) *cho dược liệu an toàn*".

II. NỘI DUNG, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Các giải pháp được tiến hành:

- Thời vụ gieo trồng
- Phân bón và phương pháp bón phân
- Khoảng cách mật độ trồng
- Chiều cao luống trồng
- Sâu bệnh và biện pháp phòng trừ
- Nước tưới và chế độ tưới nước

2.2. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

Sử dụng hạt bạch chỉ tiêu chuẩn của Trung tâm Cây thuốc Hà Nội

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm ba yếu tố: Thời vụ, mật độ khoảng cách trồng và phân bón được bố trí theo ô chính, ô phụ, 3 lần nhắc lại

Các thí nghiệm từng yếu tố riêng rẽ được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên, 3 lần nhắc lại.

Số liệu được xử lý thống kê theo phần mềm IRISTART 4.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả tiến hành thí nghiệm tổng hợp thời vụ, phân bón và khoảng cách

Bảng 1. **Ảnh hưởng của các công thức thí nghiệm đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất bạch chỉ**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây	Chiều dài củ (cm)	Đường kính củ (cm)	Khối lượng cá thể g/củ tươi	Năng suất khô/ôthí nghiệm kg/ô
I_{1a}	32,0±1,2	4,0	19,8±1,1	1,35±0,05	45,1±3,9	1,67±0,11
I_{1b}	40,6±1,5	4,3	21,0±0,8	1,75±0,04	78,7±2,8	2,70±0,19
I_{1c}	40,6±1,2	4,6	20,0±0,8	1,46±0,05	59,0±4,4	2,43±0,10
I_{2a}	46,6±1,0	4,6	21,4±0,8	1,71±0,07	82,5±5,1	2,18±0,10
I_{2b}	57,0±4,0	5,0	23,1±0,6	1,21±0,08	136,0±8,0	1,81±0,16
I_{2c}	50,0±2,5	5,6	22,2±0,7	1,76±0,04	96,0±8,8	2,49±0,22
I_{3a}	45,0±3,0	5,3	20,8±0,8	1,80±0,04	94,8±7,5	2,30±0,20
I_{3b}	50,0±2,5	5,6	22,8±0,3	2,29±0,06	147,0±9,1	2,68±0,21
I_{3c}	47,0±2,0	6,0	21,9±0,7	1,96±0,10	110,0±7,7	2,37±0,10
II_{1a}	42,6±3,0	4,3	19,8±1,3	1,53±0,04	59,9±5,0	2,17±0,17

II_{1b}	54,3±2,7	4,6	23,0±1,3	2,00±0,01	83,3±7,0	3,00±0,32
II_{1c}	51,0±2,0	4,6	21,7±1,8	1,73±0,04	64,3±4,9	2,52±0,31
II_{2a}	45,0±3,0	5,3	23,3±1,8	1,96±0,02	989,1±0,0	2,94±0,10
II_{2b}	60,0±4,0	5,6	24,5±1,6	2,26±0,12	142,5±9,2	3,16±0,10
II_{2c}	49,3±2,6	5,4	21,2±1,9	1,86±0,16	992,1±1,0	3,02±0,15
II_{3a}	46,0±3,9	5,6	24,0±1,8	2,03±0,10	98,5±8,5	2,32±0,29
II_{3b}	53,3±1,0	6,0	25,4±1,3	2,71±0,15	155,0±4,0	2,91±0,47
II_{3c}	48,1±1,6	6,2	23,5±1,0	2,20±0,12	112,5±6,3	2,66±0,11
III_{1a}	31,3±2,0	4,0	15,8±0,6	1,27±0,09	33,6±8,4	1,70±0,10
III_{1b}	40,3±1,1	4,3	19,1±0,2	1,62±0,09	56,0±4,8	2,33±0,19
III_{1c}	38,1±1,5	4,6	16,6±1,2	1,40±0,01	41,0±7,1	2,18±0,22
III_{2a}	42,3±3,6	4,6	17,5±0,8	1,45±0,14	64,1±2,5	1,89±0,16
III_{2b}	52,6±2,3	5,3	20,4±1,5	1,96±0,09	100,6±8,9	2,41±0,10
III_{2c}	51,0±1,8	5,6	18,9±0,8	1,58±0,15	66,7±5,8	2,28±0,21
III_{3a}	41,3±2,4	5,3	17,8±0,8	1,66±0,13	69,1±7,7	1,09±0,20
III_{3b}	47,1±2,0	6,0	21,0±0,9	2,21±0,10	131,3±6,5	2,19±0,10
III_{3c}	46,0±1,3	6,0	18,3±1,0	1,77±0,08	82,5±4,3	1,46±0,10

Ghi chú: I; II; III: Các thời vụ

1; 2; 3: Các khoảng cách

a; b; c: Các mức phân

Bảng 1 cho thấy: Công thức II_{2b} cho kết quả tốt nhất, chiều cao cây đạt 60,0cm. Công thức I_{2b} cho kết quả tiếp theo 57,0cm. Công thức III_{1a} cho kết quả kém nhất 31,3cm. Điều đó chứng tỏ tổ hợp 2b có ảnh hưởng tốt đến chiều cao cây bạch chỉ.

Chỉ tiêu chiều dài củ, công thức II_{3c} cho kết quả tốt nhất, chiều dài củ đạt 25,4cm tiếp theo là các công thức II_{2c} 24,5cm và II_{3b} đạt 24cm. Công thức III_{1a} vẫn đạt kết quả thấp nhất 15,8cm chiều dài củ.

Chỉ tiêu quan trọng là năng suất dược liệu trên ô thí nghiệm

3.2. Sâu bệnh trên cây bạch chỉ và biện pháp phòng trừ

Thí nghiệm gồm ba công thức sử dụng ba loại thuốc trừ sâu:

- Thuốc sherba 10 EC (là thuốc hoá học được phép sử dụng), với lượng 0,3l/ha
- Thuốc tập kỳ 18 EC (là thuốc trừ sâu sinh học) , với lượng 0,6l/ha
- Phun nước lã (đối chứng)

Hiệu lực trừ sâu của thuốc được tính theo công thức Henderson-Tilton.

* Diễn biến tình hình sâu, bệnh hại trên cây bạch chỉ dược liệu vụ 2001 - 2002

Bảng 2. **Thời gian và mức độ xuất hiện của sâu, bệnh hại trên cây bạch chỉ**

Loài hại	Tháng					
	1	2	3	4	5	6
Sâu xám	2,5±0,7	2,7±1,2	2,2±1,3	-	-	-
Sâu xanh	-	-	1,5±0,7	1,7±0,5	-	-
Rệp	+++	++++	+++	+	-	-
Bệnh đốm lá	-	-	-	+	++	+++

- Sâu được tính theo đơn vị con/m^2
- Rệp được tính theo thang 5 cấp.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy bạch chỉ sau khi đưa ra trồng bị sâu và rệp gây hại nặng vào tháng 1 đến tháng 3, bệnh hại xuất hiện từ cuối tháng 4 và gây hại vào tháng 6, đây cũng là thời gian chuẩn bị thu hoạch vì vậy chúng tôi chỉ chọn thuốc để xử lý sâu và rệp hại trên cây bạch chỉ dược liệu.

Bảng 3. **Hiệu lực của thuốc trong các công thức thí nghiệm**

Công thức	Độ hữu hiệu sau 3 ngày (%)			Độ hữu hiệu sau 7 ngày (%)		
	Sâu xám	Sâu xanh	Rệp	Sâu xám	Sâu xanh	Rệp
I	32,7	58,7	67,3	35,7	61,3	75,3
II	26,3	51,2	65,8	27,2	55,8	72,7

Cây bạch chỉ khi còn trên ruộng thường bị sâu, rệp và bệnh gây hại nặng, vào tháng 1, 2, 3; cần được phát hiện và xử lý kịp thời. Đối với sâu xanh, rệp hại có thể sử dụng thuốc sherpa 10 EC, hoặc thuốc sinh học tập kỳ 1,8EC để trừ diệt; nếu kết quả phân tích dư lượng thuốc trong hạn cho phép, chúng tôi sẽ tiếp tục tiến hành tìm các liều lượng xử lý đối với cây để có thể dùng luân phiên các loại thuốc ít độc hại cho cây bạch chỉ sản xuất.

3.3. Thí nghiệm chiều cao luống

Bảng 4. **Ảnh hưởng của chiều cao luống đến phát triển thân lá bạch chỉ**

Chiều cao luống (cm)	Số lá trung bình/cây	Chiều cao TB của cây (cm)
20	5	32,2
30	6	40,9
40	6	40,5

Bảng trên cho thấy số lá, chiều cao cây ở công thức cao 30cm, 40cm tốt hơn luống có độ cao 20cm.

Bảng5. **Ảnh hưởng chiều cao luống đến năng suất bạch chỉ**

Chỉ tiêu theo dõi / Công thức	Chiều dài củ (cm)	Đường kính củ (cm)	Trọng lượng củ (g)	Năng suất ô (kg)
I – 20cm	24,03±0,20	2,22±0,15	120,8±3,45	45,0
II- 30cm	27,90±1,23	2,13±0,08	146,4±9,02	52,8
III- 40cm	20,20±0,84	2,25±0,03	1451±8,80	51,1

Bảng 6 cho thấy luống cao 30 cm cho năng suất cao hơn luống cao 40 cm nhất là so với độ cao 20 cm.

IV. KẾT LUẬN

Qua vụ đầu tiên tiến hành triển khai các thí nghiệm chúng tôi sơ bộ có các kết luận sau:

- Thí nghiệm tổng hợp, phân bón, khoảng cách đối với bạch chỉ đã chỉ ra rằng: Thời vụ 2 ở khoảng cách 20 x 20 cm và mức phân bón 20 tấn phân chuồng + 150N + 100P + 100K_2O (II_{2b}) cho năng suất cao nhất.

- Thí nghiệm sâu, bệnh hại cho thấy: Cây bạch chỉ sinh trưởng, phát triển tốt, các loại thuốc được phun đều có hiệu lực rõ đối với một số loại sâu hại bạch chỉ và có thể sử dụng luân phiên để phòng trừ trong sản suất.

- Thí nghiệm độ cao luống: Đã xác định ở độ cao luống 30cm và 40cm các chỉ tiêu và năng suất cao hơn luống cao 20 cm. Trong đó chiều cao luống 30cm là cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đường Hồng Dật, (1997), Nông nghiệp sạch với bảo vệ thực vật, NXB. nông nghiệp.
2. Nguyễn Văn Uyên, (1995), Vùng rau sạch một mô hình cấp bách, NXB. Nông nghiệp.
3. Lê Khúc Hạo, Nguyễn Bá Hoạt, (1995), Hồi cứu xây dựng quy trình trồng cây bạch chỉ. Báo cáo nghiệm thu đề tài X8.
4. Nguyễn Văn Thuận và cs. Tiêu chuẩn giống đương quy, bạch chỉ, bạc hà, ngưu tất. Báo cáo nghiệm thu đề tài KY 02-05.
5. Ngô Quốc Luật, (1986), Bệnh u loét bạch chỉ. Báo cáo khoa học..

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH TRỒNG CÂY NGƯU TẤT (*Achyranthes bidentata* Blume) CHO DƯỢC AN TOÀN

Nguyễn Thị Thư, Nguyễn Văn Thuận,
Phạm Thị Lượt, Nguyễn Xuân Trường

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong số hàng chục loài cây thuốc được nhập nội, cây ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Bl.) là một trong những cây thuốc có ý nghĩa quan trọng được di thực từ Trung Quốc vào nước ta từ năm 1960. Rễ củ ngưu tất là một vị thuốc quý và có mặt trong hầu hết các bài thuốc Đông y của y học cổ truyền. Ngưu tất có tác dụng bổ gan, thận, mạnh gân cốt, điều kinh, tán huyết, trị các chứng bệnh phong tê thấp, viêm khớp xương, tác dụng giảm chất béo, tăng khả năng miễn dịch...[5]. Ngoài ra, từ rễ củ ngưu tất người ta còn chiết xuất ra các hợp chất có nhiều tác dụng khác nhau như saponin, echysteron, nokoteron, muối kali...[17].

Ở Việt Nam, ngay từ những năm 1960 đã nghiên cứu và di thực thành công cây ngưu tất và đưa ra phát triển sản xuất. Tuy nhiên, những nghiên cứu mới chỉ hướng về xây dựng các biện pháp kỹ thuật nhằm tăng năng suất là chính. Ngày nay, với sự phát triển của khoa học công nghệ, nhu cầu của con người ngày một tăng. Sản phẩm làm ra không những phải đạt năng suất cao mà còn phải có chất lượng tốt. Nhiều khái niệm rau sạch, rau an toàn, rau chất lượng cao ra đời cùng với hàng loạt công trình nghiên cứu. Đề tài "***Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất dược liệu ngưu tất (Achyranthes bidentata* Bl.) *an toàn***" trong vụ đông xuân 2002; 2003; 2004 tại vùng Thanh Trì - Hà Nội nhằm sản xuất dược liệu an toàn nói chung và ngưu tất nói riêng, đảm bảo tốt cho sức khoẻ người tiêu dùng là hết sức cần thiết và cấp bách.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1.Vật liệu nghiên cứu

Hạt ngưu tất thí nghiệm, sử dụng hạt tiêu chuẩn sản xuất tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội

Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

Công thức thí nghiệm: Thí nghiệm nghiên cứu tổng hợp 3 yếu tố – thời vụ, mật độ khoảng cách, phân bón được bố trí theo phương pháp ô chính, ô phụ 3 lần nhắc lại

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm đồng ruộng một nhân tố được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên 3 lần nhắc lại.

Thí nghiệm tổng hợp 3 yếu tố (3^3) được bố trí theo phương pháp ô chính ô phụ(Split plot design-SPD).

Độ ẩm của hạt và dược liệu được phân tích trên máy Santorious MA-30.

Các thí nghiệm phân tích đánh giá các chỉ tiêu dược liệu sạch đều được tiến hành tại các cơ sở, phòng thí nghiệm tiến tiến nhất thuộc Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường, Chất lượng (Bộ Khoa học và Công nghệ); Trung tâm Kiểm dịch thực vật sau nhập khẩu (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn).

Số liệu được xử lí qua máy tính theo chương trình IRRISTAT 4.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời vụ, mật độ và liều lượng phân bón đến năng suất, chất lượng củ ngưu tất

Năng suất thu được trên ô thí nghiệm và trên ha được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. **Ảnh hưởng của thời vụ, mật độ và liều lượng phân bón đến năng suất củ ngưu tất**

Năng suất CT	Năng suất củ tươi/ô TN (kg)				Năng suất củ khô/ha. (kg)			
Năm	2002	2003	2004	TB.	2002	2003	2004	TB.
T1.1	4,79	2,60	3,34	3,58	2.490,8	1.205,6	1.824,5	1.840,30
2	5,82	8,33	6,70	6,95	2.933,2	3.805,6	3.209,3	3.316,03
3	5,86	7,60	7,25	6,90	2.712,3	2.950,9	3.763,7	3.142,30

4	3,98	2,33	4,01	3,44	1.801,2	1.036,1	2.171,7	1.669,67
5	5,58	7,40	7,56	6,85	2.501,4	2.829,9	4.061,8	3.131,03
6	5,22	6,26	6,75	6,08	2.419,8	2.477,1	3.452,1	2.783,00
7	4,05	2,46	3,85	3,45	1.732,8	1.082,4	1.960,7	1.591,97
8	6,30	6,20	6,51	6,34	2.947,5	2.747,4	3.066,2	2.920,37
9	5,11	6,40	6,65	6,05	2.573,9	2.605,7	3.491,2	2.890,27
T2.1	3,91	3,00	3,06	3,32	1.927,0	1.380,0	1.658,0	1.655,00
2	5,72	5,26	3,03	4,67	2.794,6	2.321,9	1.524,0	2.213,50
3	5,58	5,53	3,34	4,82	2.590,7	2.393,7	1.597,9	2.194,10
4	4,53	3,33	3,01	3,62	2.103,2	1.465,2	1.713,5	1.760,63
5	5,55	4,93	2,82	4,43	2.576,7	2.126,9	1.414,0	2.039,20
6	5,53	5,66	2,72	4,64	2.567,5	2.344,8	1.562,1	2.158,13
7	5,08	2,86	2,70	3,55	2.540,0	1.229,8	1.328,7	1.699,50
8	6,17	4,86	3,62	4,88	3.129,0	2.027,3	1.781,5	2.312,60
9	5,81	4,86,	3,82	4,82	2.905,0	2.027,3	1.877,2	2.269,83
T3.1	2,75	3,06	2,62	2,81	1.001,0	1.507,2	1.312,2	1.273,47
2	2,40	4,06	2,63	3,03	873,6	1.676,7	1.112,4	1.220,90
3	3,00	4,20	2,73	3,31	1.028,5	1.992,0	1.395,8	1.472,10
4	2,90	3,13	2,63	2,89	973,5	1.465,7	1.251,8	1.230,33
5	3,05	3,26	2,30	2,87	958,5	1.450,7	915,7	1.108,30
6	3,55	4,53	2,18	3,42	1.166,4	1.860,5	833,0	1.286,63
7	2,87	2,73	1,95	2,52	943,0	1.325,2	884,1	1.050,77
8	2,75	2,66	1,95	2,45	1.001,7	1.158,6	7.56,3	972,20
9	2,86	3,26	2,15	2,76	1.074,5	1.247,1	808,0	1.043,20

SE= 0,24	SE = 0,42	SE = 0,36
CV = 9,5	CV = 6,3	CV = 6,6
LSD(05)= 0,69	LSD(05) = 1,19	LSD(05) = 1,02

Bảng 1 cho thấy:

Năng suất củ tươi thu được trên ô thí nghiệm và năng suất củ khô/ha trung bình trong 3 năm ở 3 thời vụ là khác nhau. Thời vụ 1 cho năng suất củ cao nhất (1.591-3.316kg/ha), tiếp đến thời vụ 2 (1.655-2.269kg/ha) và thấp nhất là thời vụ 3 (972-1.472kg/ha).

+ Trong 3 khoảng cách trồng khoảng cách trồng dày (5x5cm) cho năng suất cao nhất, tiếp đến là khoảng cách 2 (10x5cm) và thấp nhất là mật độ trồng thưa (15x5cm) ở cả 3 thời vụ.

+ Trong 3 mức phân bón, trong cả 3 thời vụ, 3 mật độ trồng: thấp nhất là công thức không bón phân, nhì là công thức có mức bón 3 và cao nhất là công thức bón mức 2 (20 tấn phân chuồng + 200 kg N + 150 kg P_2O_5 + 100 kg K_2O,).

Trồng với mức mật độ 2 triệu cây/ha (10x5cm) cũng đã lợi dụng được ưu thế của mật độ và cho năng suất thực thu cao thể hiện ở công thức 5 đạt 3.131,03kg/ha.

Kết quả đánh giá chất lượng dược liệu ngưu tất theo các liều lượng phân bón khác nhau cho cây trồng

Bảng 2. **Hàm lượng nitrat và kim loại nặng trong rễ củ ngưu tất (mg/kg dược liệu khô tuyệt đối)**

(Thí nghiệm năm 2002 - 2004 tại Trung tâm Hà Nội)

STT	Công thức phân bón	Nitrat (mg/kg dl. khô)	Asen (mg/kg dl.khô)	Cadimi (mg/kg dl.khô)	Chì (mg/kgdl.khô)	Đồng (mg/kg dl.khô)	Thuỷ ngân (mg/kg dl. khô)
1	CT1	1.348,43	0,29	0,31	0,37	4,18	0,052
3	CT2	1.991,81	0,27	0,33	0,69	4,81	0,027
4	CT3	1.451,13	0,31	0,51	0,56	4.27	0,026
5	NT.H.Yên	2.489,95	0,78	1,13	1,24	4.15	0,051

6	NT.T.Quốc		1,15	1,21	0,47	4,73	0,062
	Đất						
7	CT1	-	13,37	1,05	27,40	36,32	-
8	CT2	-	14,45	1,24	27,40	45,64	-
9	CT3	-	14,77	1,34	27,75	47,67	-
	Trung bình		**14,21**	**1,24**	**27,54**	**44,21**	

Ghi chú: Công thức bón phân

CT1 - Không bón phân

CT2 - Bón 20 tấn phân chuồng + 200 kg N + 150 kg P_2O_5 + 100 kg K_2O

CT3 - Bón 30 tấn phân chuồng + 100 kg N + 150 kg P_2O_5 + 100 kg K_2O

+ Kết quả bảng 2 cho thấy:

Hàm lượng nitrat trong dược liệu khô có chiều hướng tăng tỷ lệ thuận với lượng phân đạm bón cho cây, cụ thể :

Công thức bón 200N (CT2) tăng 643,38mg/kgDL khô hơn công thức không bón phân. Trong khi công thức bón 100N (CT3) chỉ cao hơn công thức không bón phân là 103,0mg/kg dược liệu khô.

Hàm lượng nitrat trong dược liệu khô tuyệt đối ở công thức bón đạm 200N (CT2) và 100N (CT3) đều thấp hơn hàm lượng nitrat tồn dư trong củ ngưu tất của Hưng Yên đang được bán rộng rãi trên thị trường Việt Nam.

Hàm lượng kim loại nặng trong rễ củ ngưu tất ở các công thức phân bón không có sự sai khác rõ nét nhưng đều thấp hơn nhiều so với hàm lượng kim loại nặng trong rễ củ ngưu tất của Hưng Yên và của Trung Quốc đồng thời chúng đều ở mức dưới ngưỡng giới hạn cho phép của tiêu chuẩn dược liệu sạch thế giới (WHO).

Liều lượng phân đạm có làm tăng hàm lượng kim loại trong đất nhưng không đáng kể.

Dư lượng kim loại nặng trong đất không ảnh hưởng đến tồn dư kim loại nặng trong dược liệu ngưu tất sạch.

3.2. Ảnh hưởng của luân canh cây trồng lên quá trình sinh trưởng, phát triển và năng suất dược liệu ngưu tất

Chỉ tiêu chiều cao cây: Công thức luân canh thứ 3 cho chiều cao cây ngưu tất cao nhất đạt 65,51cm. Công thức 1 cho kết quả thấp nhất chỉ đạt 54,99cm.

Chỉ tiêu chiều dài củ: Cả 3 công thức luân canh đều không có sự sai khác rõ rệt ở chỉ tiêu này.

Chỉ tiêu đường kính củ: Công thức luân canh 2 cho kết quả cao nhất đạt 0,90cm, hai công thức còn lại cho kết quả tương đương.

Chỉ tiêu khối lượng củ tươi: Công thức thí nghiệm 2 cho kết quả cao nhất đạt khối lượng củ tươi trung bình cả 3 năm 23,53g, trong lúc đó hai công thức còn lại chỉ đạt 18,22g và 19,55g.

Chỉ tiêu năng suất củ tươi trên ô thí nghiệm: Công thức 2 cho kết quả cao nhất trung bình cả 3 năm nghiên cứu đạt 13,93kg.

Với ngưu tất công thức luân canh số 2 là tốt nhất.

3.2. Ảnh hưởng của cây trồng luân canh lên quá trình sinh trưởng, phát triển và năng suất dược liệu ngưu tất

Chỉ tiêu chiều cao cây: Công thức luân canh thứ 3 cho chiều cao cây ngưu tất cao nhất đạt 65,51cm. Công thức 1 cho kết quả thấp nhất chỉ đạt 54,99cm.

Chỉ tiêu chiều dài củ: Cả 3 công thức luân canh đều không có sự sai khác rõ rệt ở chỉ tiêu này.

Chỉ tiêu đường kính củ: Công thức luân canh 2 cho kết quả cao nhất đạt 0,90cm, hai công thức còn lại cho kết quả tương đương.

Chỉ tiêu khối lượng củ tươi: Công thức thí nghiệm 2 cho kết quả cao nhất đạt khối lượng củ tươi trung bình cả 3 năm 23,53g, trong lúc đó hai công thức còn lại chỉ đạt 18,22g và 19,55g.

Chỉ tiêu năng suất củ tươi trên ô thí nghiệm: Công thức 2 cho kết quả cao nhất trung bình cả 3 năm nghiên cứu đạt 13,93kg.

Với ngưu tất công thức luân canh số 2 là tốt nhất.

3.3. Ảnh hưởng của chiều cao luống đến năng suất và chất lượng dược liệu của cây ngưu tất vụ đông xuân 2002, 2003

Chiều cao luống là một trong các biện pháp kỹ thuật tác động trực tiếp đến các yếu tố cấu thành năng suất cũng như năng suất củ ngưu tất.Với mong muốn

làm tăng năng suất cũng như chất lượng thương phẩm củ ngưu tất chúng tôi tiến hành nghiên cứu thí nghiệm chiều cao luống, kết quả thu được như sau:

Chỉ tiêu chiều cao cây: Không có sự sai khác rõ rệt giữa 3 công thức nghiên cứu của chỉ tiêu này.

Chỉ tiêu chiều dài củ: Công thức 3 cho chiều dài củ dài nhất trong cả 3 năm nghiên cứu, đạt trung bình 31,15cm.

Chỉ tiêu đường kính củ: Công thức thí nghiệm thứ 3 không những có chiều dài củ dài nhất mà đường kính củ cũng được xác định là lớn nhất đạt 0,99cm.

Chỉ tiêu khối lượng cá thể: Có sự sai khác rất rõ rệt giữa 3 công thức thí nghiệm chiều cao luống về khối lượng cá thể. Công thức 3 có khối lượng cá thể lớn nhất đạt 29,27g. Trong lúc đó công thức 1 và công thức 2 chỉ đạt 19,78 và 21,74g.

Chỉ tiêu, năng suất củ tươi trên ô thí nghiệm phản ảnh năng suất dược liệu ngưu tất trên diện tích trồng, công thức chiều cao luống 3 đạt kết quả cao nhất 13,86 kg 2 công thức 1 và 2 cho kết quả 12,2 kg và 12,67 kg.

3.4. Ảnh hưởng của biện pháp tưới nước đến năng suất, chất lượng củ ngưu tất vụ đông xuân 2003, 2004

Cả 3 công thức tưới nước đều gieo hạt ngày 30/10 năm 2003 và 2004 trên luống. Hạt nảy mầm sau 10 ngày, ra lá thật sau 15-20 ngày, ra ngồng khi cây được 2 tháng tuổi và thu hoạch dược liệu khi cây được 4 tháng tuổi. Các công thức tưới nước không ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng, phát triển của cây ngưu tất.

Bảng 3. **Ảnh hưởng của chế độ tưới nước đến năng suất, chất lượng củ ngưu tất**

Chỉ tiêu TD / Công thức	Chiều cao cây (cm)			Chiều dài củ (cm)			Đường kính củ (cm)			Tỷ lệ khô/ tươi (%)			Khối lượng củ tươi i(g)		
	2003	2004	TB	2003	2004	TB	2003	2004	TB	2002	2003	TB	2002	2003	TB
TN1	71,04 ± 3,39	64,3 ±2,5	67,67 ± 2,95	27,45 ± 0,42	25,16 ± 0,85	26,31 ± 0,63	0,87 ±0,12	0,83 ±0,13	0,85 ±0,12	30,75 ±1,15	30,75 ±1,2	30,75 ±1,17	12,64 ±5,95	16,72 ±5,78	14,68 ±5,87
TN2	68,73 ±3,40	60,8 ± 1,7	64,76 ± 2,55	25,64 ± 0,56	25,36 ± 0,06	25,5 ± 0,31	0,78 ±0,09	0,8 ±0,06	0,79 ±0,07	31,15 ±0,10	31,19 ±1,1	31,17 ± 0,6	10,77 ±1,32	12,23 ± 2,45	11,50 ±1,83
TN3	64,66 ±3,28	61,5 ± 1,9	63,08 ± 2,59	23,70 ± 0,55	25,08 ± 1,22	24,39 ± 0,85	0,69 ±0,01	0,79 ±0,08	0,74 ±0,04	30,49 ±0,80	30,86 ±0,9	30,67 ± 0,85	7,96 ±1,68	11,82 ±1,56	9,89 ±1,62

3.5. Kết quả nghiên cứu BVTV đối với cây ngưu tất

Bảng 4. Ảnh hưởng của các biện pháp BVTV lên các chỉ tiêu theo dõi của cây ngưu tất

Chỉ tiêu	Chiều cao cây				Chiều dài củ (cm)				Đường kính củ (cm)				Năng suất củ/ô TN (kg)				Năng suất củ TB 3 năm (kg)
Năm / CT.	02	03	04	TB.	02	03	04	TB	02	03	04	TB.	02	03	04	TB.	
1	59,1 ±0,71	59,53 ±0,78	57,03 ±0,56	58,55 ±1,09	29,3± 0,90	28,4± 0,86	26,9± 0,29	28,20 ±0,98	0,99± 0,04	1,106± 0,062	1,003± 0,055	1,033± 0,055	12,06 ±0,24	10,23 ±0,71	12,8± 0,72	11,69 ±1,08	3769,907
2	58,7 ±0,43	58,36 ±0,73	56,75 ±0,59	57,93 ±0,85	29,2 ±0,57	28,1 ±0,50	26,75 ±0,60	28,01 ±1,00	0,96± 0,02	1,106± 0,094	1,019± 0,040	1,028± 0,050	11,86 ±0,24	10,43 ±1,14	12,73 ±0,66	12,00 ±1,35	3791,267
3	-	58,53 ±0,71	56,37 ±0,61	56,37 ±1,08	-	29,5 ±0,92	27,32 ±0,41	28,09 ±0,44	-	1,007± 0,160	0,980± 0,024	1,025± 0,045		9,93± 0,41	13,13 ±0,55	11,53 ±1,60	3674,02
4	59,5 ±0,78	57,43 ±0,44	56,06 ±1,93	57,66 ±1,41	28,7 ±0,26	27,9 ±0,59	27,67 ±0,22	28,09 ±0,44	0,96± 0,03	0,998± 0,026	1,109± 0,034	1,019± 0,640	11,73 ±0,65	9,60± 0,69	12,56 ±0,22	11,29 ±1,24	3660,40

Kết quả bảng 4 cho thấy: sau khi xử lý sâu bệnh hại trên cây ngưu tất với 3 công thức I, II và III (sherpa, tập kỳ và trebon), đã không làm ảnh hưởng tới sự sinh trưởng và phát triển cây ngưu tất, không làm giảm năng suất cá thể cũng như năng suất tổng thể củ ngưu tất.

+ Kết quả phân tích tồn dư thuốc bảo vệ thực vật trong dược liệu ngưu tất được thể hiện ở bảng 5.

***Bảng 5.* Tồn dư thuốc bảo vệ thực vật trong dược liệu ngưu tất trong 3 năm 2002, 2003, 2004**

STT	Công thức	Cypermethrin Abamectin
1	Sherpa	Không có
2	Tập kỳ	Không có
3	Trebon	Không có

** Abamectin là hoạt chất của thuốc trừ sâu tập kỳ 5EC (0,08)*

*** Cypermethrin là hoạt chất của thuốc trừ sâu sherpa 50EC (0,1).*

Sử dụng phun 3 loại thuốc hoá học trên theo nồng độ khuyến cáo khi mật độ sâu dày và phun trước khi thu hoạch 20 ngày đã không để lại tồn dư thuốc bảo vệ thực vật trong dược liệu ngưu tất.

IV. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu đã thu được chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

+ Thời vụ, mật độ và liều lượng phân bón trong phạm vi thí nghiệm không ảnh hưởng đến thời gian sinh trưởng của cây ngưu tất .Thời gian sinh trưởng của cây ở các công thức đều đạt từ 125-130 ngày.

+ Các công thức có mật độ trồng dày (4 triệu cây/ha) và bón phân đầy đủ (công thức 2 và 3-30 tấn phân chuồng+100N; 20 tấn phân chuồng + 200N) cho chiều cao cây cuối cùng hơn hẳn so với các công thức có mật độ trồng thưa (2 triệu và 1,33 triệu cây/ha) và không bón phân (công thức 4 và7) .

Khả năng phân cành ở các công thức có mật độ trồng thưa và lượng đạm bón nhiều (công thức 8 và 9-1,33 triệu cây/ha; 20,30 tấn phân chuồng + 100,200N),

cao hơn ở các công thức có mật độ trồng dày và lượng đạm bón ít (công thức 1 và 3).

+ Thời vụ, mật độ và phân bón có ảnh hưởng sâu sắc đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của cây ngưu tất.

+ Năng suất trung bình trong 3 năm ở thời vụ 1(15/10) là cao nhất.

+ Trong cùng một thời vụ công thức có mật độ trồng dày cho năng suất cao hơn trồng thưa.

+ Năng suất của các công thức phân bón mức 2 (30 tấn phân chuồng + 100N) ở công thức 2, 5, 8 và mức 3 (20 tấn phân chuồng+200N)(công thức 3,6,9) cho năng suất tương đương nhau ở cả 3 mật độ đạt cao nhất ở thời vụ 1 từ 2700-3300 kg/ha. Tăng hơn công thức đối chứng (không bón phân) từ 1200-1500 kg/ha.

+ Các công thức phân bón đều có hàm lượng nitrat trong dược liệu khô tuyệt đối thấp hơn so với ngưu tất của Hưng Yên đang tiêu thụ trên thị trường.Và thấp hơn so với tiêu chuẩn của củ tam thất sạch của Trung Quốc cũng như tiêu chuẩn của một số sản phẩm nông nghiệp sạch như cà rốt, củ cải v.v.

Kết quả phân tích hàm lượng kim loại nặng trong củ ngưu tất khô của các công thức đều đạt ở mức thấp hơn nhiều so với củ ngưu tất của Hưng Yên đang tiêu thụ trên thị trường và so với củ ngưu tất của Trung Quốc và đều ở dưới ngưỡng giới hạn cho phép của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO).

Kết quả kiểm nghiệm dược liệu ngưu tất sạch: Các chủng vi sinh vật gây hại đều không tồn tại trong các công thức nghiên cứu trong các năm 2003,2004.

Kết quả phân tích dư lượng thuốc BVTV đều không tồn tại trong củ ngưu tất trong tất cả các công thức thí nghiệm.

Công thức phân bón 2 và 3 ở các thời vụ và mật độ khác nhau đã cho củ ngưu tất đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam 3.

+ Đối với thí nghiệm luân canh, kết quả thu được cho thấy: Công thức luân canh 2 (cây trồng trước là diệp hạ châu) là công thức luân canh tối ưu và cho năng suất, phẩm chất ngưu tất cao nhất.

+ Thí nghiệm chiều cao luống- công thức 3 (luống cao 50cm)cho năng suất tăng 10,96% so với công thức 2(40cm).Tuy vậy trong sản xuất đại trà mức luống cao 40cm người sản xuất dễ chấp nhận hơn.

+ Thí nghiệm tưới nước- công thức 1(tưới bằng vòi phun dùng nước giếng khoan) đã tạo được độ ẩm thích hợp cho sinh trưởng phát triển và thu được năng suất ,chất lượng củ ngưu tất cao nhất.

+ Thí nghiệm sâu bệnh- ngưu tất là một cây dược liệu có khả năng chống chịu sâu bệnh cao; Trong điều kiện thời tiết khí hậu vụ đông xuân 2002,2003 và 2004 với các biện pháp phòng trừ kịp thời nên sâu bệnh không gây ảnh hưởng lớn đến năng suất, chất lượng dược liệu của cây.Các công thức phòng trừ sâu bệnh (sherpa và tập kỳ) đều cho hiệu quả phòng trừ cao và không để lại tồn dư thuốc BVTV trong dược liệu.

+ Từ các kết quả nghiên cứu trên chúng tôi đã xây dựng được quy trình sản xuất dược liệu ngưu tất sạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ban huấn luyện đào tạo cán bộ dược liệu Trung Quốc, (1965), Kỹ thuật nuôi trồng và chế biến dược liệu. NXB. Nông nghiệp. Trang (Tr.) 284, 285.
2. Bộ môn cây lương thực, (2002), Giáo trình cây lương thực - Tập I, II. NXB Nông nghiệp Hà Nội.
3. Bộ môn dược học cổ truyền - Trường đại học Dược Hà Nội, (1998), Dược học cổ truyền. Tr. 105, 106.
4. Bộ Y tế, Vụ Y học cổ truyền, Viện Dược liệu, (1995), Quy trình kỹ thuật trồng một số cây thuốc. Hà Nội . Tr. 7, 24, 25.
5. Đỗ Tất Lợi, (1968), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
6. Đường Hồng Dật, (1997), Nông nghiệp sạch với bảo vệ thực vật, NXB. Nông nghiệp.
7. Hoàng Minh Châu, (1998), Cẩm nang sử dụng phân bón, Trung tâm thông tin KHKT hoá chất Hà Nội .
8. Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Quang Thạch, Trần Văn Phẩm, (2000), Giáo trình sinh lý thực vật. NXB. Hà Nội, Tr. 80, 122.
9. Lý Nhạc, Dương Hữu Tuyền, Phùng Đăng Chinh, (1987), Giáo trình canh tác học. NXB .Nông nghiệp, Hà Nội, Tr. 40 - 43.
10. Nguyễn Bá Hoạt, (1996), Nghiên cứu khả năng phát triển cây thuốc thuộc huyện Sa Pa - Lào Cai. Hà Nội.
11. Nguyễn Thị Thư, (1996), Chọn lọc, phục tráng và quy trình kỹ thuật gieo trồng thích hợp cho giống ngưu tất mới trong điều kiện miền Bắc Việt Nam, Luận án thạc sĩ KHNN, Hà Nội.

12. Nguyễn Văn Bình, Vũ Đình Chính, Nguyễn Thế Côn, Lê Song Dự, Đoàn Thị Thanh Nhàn, Bùi Xuân Sửu, (1996), Giáo trình cây công nghiệp. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội: Tr. 30, 67.

13. Nguyễn Văn Thuận, Nguyễn Thị Thư, Trần Toàn và cs., (1995), Tiêu chuẩn giống cho đương quy, bạch chỉ, ngưu tất và bạc hà, Hà Nội.

14. Nguyễn Xuân Viên, (1999), Đông dược thực hành. NXB. Đồng Nai. Tr. 122

15. Phạm Chí Thành. 1988, Giáo trình phương pháp thí nghiệm đồng ruộng. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.

16. Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Kim Phượng. Nghiên cứu tác dụng hạ cholesteron máu của chế phẩm bidentin bào chế từ rễ ngưu tất. *Thông báo Dược liệu tập 23. Số 3 - 4.* Tr. 48 -50, 91.

17. Phạm Kim Mãn, (1978), Nghiên cứu saponin và sapogenin trong một số cây thuốc Việt Nam. *Kỹ thuật Y dược II.* Tr. 16.

NGHIÊN CỨU TRỒNG THUỶ CANH DỪA CẠN THU RỄ

Nguyễn Trần Hy, Nguyễn Bích Thu và cs.

I. MỞ ĐẦU

Năm 1980, Trung tâm nghiên cứu Phát triển Rau châu Á (AVRCD) ở Đài Loan đã đưa ra hệ thống thuỷ canh tĩnh của hai tiến sĩ Hideo Imai và Davi Midmore. Với trang thiết bị đơn giản rẻ tiền và hiệu quả như hộp xốp, nilon đen, rọ nhựa, trấu hun, công nghệ này thoả mãn mọi yêu cầu sinh lý cho cây sinh trưởng tốt trong dung dịch dinh dưỡng, đặc biệt tạo ra các bộ rễ cây thuỷ canh to, khoẻ hơn nhiều so với cây trồng trong đất.

Điều này gợi ý chúng tôi đề ra phương hướng nghiên cứu ứng dụng thuỷ canh trồng các loại cây dược liệu thu rễ.

Dừa cạn là loại cây được liệu quý, thành phần hoạt chất quan trọng là các alcaloid, hàm lượng ở rễ cao hơn nhiều so với ở thân lá.

Theo các tác giả nghiên cứu cây dừa cạn,trong chương trình KY.O2 cho biết: Alcaloid tổng số ở lá chỉ có từ 0,37% – 1,15%, ở thân 0,46%, ở rễ chính từ 0,7% - 2,4% và đặc biệt ở rễ phụ là 0,9% - 3,7%.

Vinblastin là alcaloid quan trọng, có ở lá 0,013% - 0,063%, ở thân cành 0,0015%, song ở rễ là 0,23%.

Do đó, nếu áp dụng trồng thuỷ canh cây dừa cạn để thu được nhiều rễ có hoạt chất cao, chúng ta có thể đưa ra một hướng tạo nguồn dược liệu quý có năng suất hoạt chất cao, sản phẩm dược liệu sạch, nâng cao giá trị thương phẩm của dược liệu.

Trên cơ sở đó chúng tôi đã tiến hành đề tài "N*ghiên cứu thủy canh dừa cạn thu rễ*".

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Hạt giống dừa cạn lấy từ các cây lưu giữ tại Trung tâm Cây thuốc Hà Nội – Viện Dược liệu có phẩm chất cao.
- Bộ vật liệu trồng thuỷ canh do dự án R&D Đại học Quốc gia (ĐHQG) nhập về và chế tạo tại Việt Nam.

2.1. Thí nghiệm so sánh môi trường thuỷ canh

- Sử dụng hai loại môi trường do dự án R &D ĐHQG sản xuất và môi trường dinh dưỡng cơ bản + vi lương pha chế tại Viện Dược liệu
- Mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại dùng loại hộp xốp 30 lít trồng 5 cây điểm chéo góc. Công thức đối chứng là chậu đất.

2.2. Thí nghiệm so sánh tỷ lệ nảy mầm

- Thực hiện trên hộp xốp 15 lít. Mỗi công thức 20 rọ, mỗi rọ gieo 5 hạt. Công thức đối chứng là bầu đất mỗi bầu gieo 5 hạt.
- Là thí nghiệm chậu vại, nên việc theo dõi đo đếm trên toàn bộ các cá thể, số liệu thể hiện là trị số trung bình mẫu.

2.3. Thí nghiệm tạo rễ tái sinh

Bổ sung thêm α NAA 1ppm.

2.4. Phân tích định tính alcaloid bằng sắc ký lớp mỏng trên màng mỏng silicagel G với dung môi cloroform – ethylacetat (1:1) với thuốc thử hiện màu đặc trưng Munier.

Định lượng alcaloid tổng số bằng phương pháp so màu trên máy quang phổ CARY – 1 E ở bước sóng 616mm.

III. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1 Nghiên cứu trồng thuỷ canh dừa cạn

Bảng 1. **Tổng hợp một số chỉ tiêu sinh trưởng và năng suất (60 ngày)**

Chỉ tiêu	Môi trường thuỷ canh		Đối chứng đất
	Viện dược liệu	Đại học Quốc gia	
Tỷ lệ mọc mầm sau 14 ngày (%)	73,33	72,89	30,22
Số lá trung bình trên thân chính	25,20	25,42	24,47
Chiều cao cây trung bình (cm)	45,18	45,83	44,60
Phân cành cấp 1	2,20	2,40	1,80
Khối lượng thân lá			
• Tươi (g/cây)	186,61	187,96	161,10
• Khô (g/cây)	55,42	52,68	45,32
Khối lượng bộ rễ			
• Tươi (g/cây)	45,86	46,62	6,50
• Khô (g/cây	2,29	2,37	0,96
Hệ số khô /tươi	0,05	0,05	0,15
Chiều dài trung bình của bộ rễ (cm)	55,81	56,88	13,37

Nhận xét:

• Hạt dừa cạn gieo trong điều kiện thuỷ canh mọc mầm thuận lợi hơn nhiều so với bầu đất với tỷ lệ gấp hơn 2 lần.

• Khả năng sinh trưởng trọng lượng thân lá của cây thuỷ canh đều cao hơn đối chứng với sai khác không đáng kể (10%) và điều này cũng cũng ít có ý nghĩa vì hàm lượng hoạt chất alcaloid ở thân lá dừa cạn rất thấp (0,37% - 1,15% ở lá và 0,36% ở thân).

- Cây dừa cạn trồng thuỷ canh có bộ rễ đặc biệt phát triển mạnh cả về chiều dài (gấp 4 lần) và trọng lượng so với đối chứng (trọng lượng tươi gấp 7 lần, trọng lượng khô gấp 2,5 lần).

Đánh giá cảm quan bên ngoài nhận thấy bộ rễ thuỷ canh xum xuê sạch sẽ không bám bẩn như trồng trong đất. Chứng tỏ bộ rễ phát triển mạnh cả về chiều dài và số lượng rễ.

- So sánh hai công thức môi trường thí nghiệm đều có các chỉ tiêu xấp xỉ nhau cho thấy chúng ta có thể chủ động pha chế được môi trường không phải phụ thuộc vào dự án R&D ĐHQG.

3.2. Nghiên cứu tái sinh bộ rễ thuỷ canh

Khái niệm tái sinh trong trồng trọt là chỉ việc tăng thêm một thời vụ thu hoạch sản phẩm mà không phải trồng cấy lại. Bấy lâu nay trong nông nghiệp mới đề cập kỹ thuật tái sinh các bộ phận trên mặt đất : như để chồi thuốc lá tái sinh, chăm sóc vụ lúa chét sau khi gặt ... trong quá trình nghiên cứu trồng thuỷ canh cây dừa cạn, chúng tôi phát hiện thấy một khả năng tái sinh ngược đó là cho phép nuôi tiếp cây trong dung dịch sau khi đã thu hoạch bộ rễ của nó để rồi một thời gian sau lại thu hoạch tiếp bộ rễ tái sinh.

Bảng 2. **Sự hình thành bộ rễ tái sinh sau cắt 50 ngày**

Hạng mục	Chiều dài TB (cm)	Khối lượng tươi TB (g/cây)	Khối lượng khô TB (g/cây)	Tỷ lệ khô/tươi
Rễ sơ cấp (60ngày)	56,88	46,62	2,37	0,051
Rễ tái sinh môi trường không có NAA	11,90	36,68	2,01	0,052
Rễ tái sinh môi trường có NAA 1ppm	13,40	54,60	3,05	0,056

Nhận xét :

- Bộ rễ dừa cạn tái sinh chỉ phát triển mạnh về chiều "chiều ngang" (về số lượng rễ) chứ không phát triển về chiều dài như rễ sơ cấp.

α NAA 1ppm có tác dụng rõ làm tăng bộ rễ tái sinh cả về kích thước và khối lượng. Chất lượng bộ rễ tái sinh cũng được cải thiện tốt hơn thông qua chỉ số khô tươi tăng dần. Tóm lại có thể nhận thấy việc tạo bộ rễ tái sinh có một ý nghĩa tốt, không phải trồng lại cây, rút ngắn được giai đoạn từ gieo hạt đến trồng cây, chỉ sau 50 ngày cây dừa cạn thuỷ canh lại cho thu hoạch rễ một lần nữa. Về phương diện sinh lý cây trồng thì bộ rễ tái sinh được tạo nên khi cây dừa cạn có tuổi sinh lý cao gấp đôi nếu ở thế hệ F1, gấp 3 nếu ở F2.... có ý nghĩa dự báo về khả năng tích luỹ hoạt chất trong rễ có xu hướng tăng dần. Phần nghiên cứu hoá học dưới đây sẽ phần nào lý giải điều đó.

3.3. Nghiên cứu đánh giá hoạt chất rễ dừa cạn thuỷ canh

a. *Phân tích đính tính* : Nghiên cứu định tính hoạt chất alcaloid rễ dừa cạn thuỷ canh bằng sắc khí lớp mỏng silicagel với thuốc thử Munier (ảnh) cho thấy

- Có ít nhất 6 vết hiện màu da cam trên mẫu chiết ra từ rễ cây dừa cạn thuỷ canh và đối chứng trong đất. Trong đó có hai vết Rf tương ứng với chất chuẩn ajmalicin và ajmalin. Như vây chất lượng hoạt chất định tính giữa rễ dừa cạn thuỷ canh và đối chứng trồng ở đất là như nhau.
- Do điều kiện chưa có chất chuẩn của các alcaloid quý hiếm như vincamin, vinblastin ... nên chưa thể kết luận chính xác về sự có mặt của các vết còn lại trên sắc ký đồ
- Trong phân tích sắc ký lớp mỏng rễ dừa cạn thuỷ canh tái sinh chúng tôi cũng thu được kết quả tương tự

b. Phân tích định lượng alcaloid

***Bảng 3.* Kết quả phân tích alcaloid toàn phần**

Rễ thuỷ canh		Rễ trồng đất		Rễ tái sinh 50 ngày
60 ngày	75 ngày	60 ngày	75 ngày	Sau cắt hoặc 110 ngày sau trồng
1,26	1,29	1,48	1,52	1,45

Nhận xét :

- Tuổi cây càng cao tích tuỹ alcaloid ở rễ càng tăng. Quy luật này đúng cả ở trong điều kiện thuỷ canh cũng như ở trong đất
- Trong điều kiện thuỷ canh, hàm lượng alcaloid toàn phần có thấp hơn đối chứng trồng đất một chút song so với khối lượng rễ thu được cao gấp nhiều

lần thì tổng năng suất hoạt chất bình quân thu được của cây dừa cạn thuỷ canh vẫn còn cao hơn.

- Hơn nữa, kỹ thuật thuỷ canh lại cho phép tiếp tục nuôi cây để 50 ngày sau lại cho thu hoạch bộ rễ tái sinh có năng suất cao và hàm lượng hoạt chất tăng không thua kém trồng trong đất, với chi phí hầu như không đáng kể, chỉ cần thời gian. Trên thực tế, sau khi thí nghiệm kết thúc chúng tôi vẫn tiếp tục theo dõi và thu tiếp các bộ rễ tái sinh F2 với kết quả phân tích hết sức khả quan alcaloid toàn phần đạt 1,45% - 1,50%.

IV. KẾT LUẬN

4.1. Trồng cây dừa cạn thuỷ canh làm tăng tỷ lệ mọc mầm của hạt, cây có sinh trưởng thân lá tốt hơn đối chứng trồng đất.

4.2. Sau 60 ngày trồng, sự phát triển mạnh mẽ của bộ rễ dừa cạn thuỷ canh đều cho các chỉ số về chiều dài và klhối lượng hơn hẳn đối chứng (trọng lượng tươi tăng gấp 7 lần, khô tăng gấp 2,5 lần). Dược liệu sạch, có giá trị thương phẩm cao.

4.3. Kỹ thuật thuỷ canh cho phép thu hoạch tiếp bộ rễ tái sinh với năng suất và chất lượng cao hơn. Việc bổ sung αNAA 1ppm vào môi trường thuỷ canh có ảnh hưởng tốt tới quá trình hình thành bộ rễ tái sinh.

4.4. Kết quả phân tích định tính cho thấy thành phần alcaloid toàn phần của rễ dừa cạn thuỷ canh là không thay đổi so với đối chứng trồng đất. Do khối lượng bộ rễ thuỷ canh thu được cao hơn nhiều lần so với với trồng đất đã làm tăng năng suất hoạt chất bình quân trên cây dừa cạn. Điều đó có ý nghĩa mở ra công nghệ tạo nguồn được liệu mới.

4.5. Có thể chủ động môi trường dinh dưỡng thuỷ canh cơ bản phối hợp với vi lượng không phải phụ thuộc vào dự án R&D Hồng Kông.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Đình Lương, (1995), Thuỷ canh R&D Hydroponic, Hà Nội.
2. Nguyễn Quang Thạch, Hoàng Minh Tấn, (1994), Giáo trình sinh lý thực vật, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội
3. Nguyễn Quang Thạch, Báo cáo kết quả đề tài cấp Bộ (1996 – 1998), Bộ Giáo dục và Đào tạo, Hà Nội tháng 5-1999.
4. Trồng trọt không dùng đất trong nghề làm vườn – Tài liệu trồng trọt và BVTV – FAO, Trung tâm Thông tin NN và CNTP, Hà Nội 1992.
5. Tài liệu cây thuốc Việt Nam, (1993), Viện Dược liệu (chương trình KY02) NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

NGHIÊN CỨU NHÂN TRỒNG VÀ PHÁT TRIỂN SÌ TO – *VALERIANA JATAMANSI* JONES Ở SA PA - LÀO CAI

Phạm Thanh Huyền,Đinh Văn My,
Nguyễn Duy Thuần và cs.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sì to (Nữ lang nhện) - *Valeriana jatamansi* Jones thuộc họ Nữ lang (Valerianaceae) là cây thuốc quý được người dân địa phương ở Sa Pa - Lào Cai sử dụng nhiều. Chúng được dùng làm thuốc an thần trong trường hợp trẻ em bị sốt cao, quấy khóc, chống co thắt, chữa bệnh tim, bồi bổ sức khỏe và dùng cho phụ nữ sau khi sinh...[2, 3, 4, 5, 9, 10]. Do trữ lượng ít, phân bố hẹp, nên trong nhiều năm nay loài cây này được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam và Danh lục Đỏ cây thuốc Việt Nam [1, 6].

Trong vài năm gần đây, Viện Dược liệu đã tiến hành nghiên cứu sơ bộ về mặt sinh học, hóa học cũng như tác dụng sinh học của loài Sì to [4]. Những kết quả ban đầu đạt được rất có triển vọng và đang được tiếp tục nghiên cứu.

Nhằm bảo tồn và phát triển loài cây thuốc quý này, chúng tôi tiến hành thực hiện "Nghiên cứu nhân trồng và phát triển sì to - *Valeriana jatamansi* Jones ở Sa Pa - Lào Cai"

II. VẬT LIỆU, ĐỊA ĐIỂM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Cây sì to trồng ở Sa Pa (Lào Cai). Hạt giống thu thập vào tháng 5 hàng năm.

- Phân bón NPK.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Các thí nghiệm nghiên cứu nhân giống, trồng được thực hiện ở xã Bản Khoang, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm tiến hành theo Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng (Phạm Chí Thành, 1976) và Kỹ thuật trồng cây thuốc (Viện Dược liệu, 1976) [7, 8].

Cụ thể như sau:

+ Nhân giống vô tính bằng tách nhánh:Tiến hành thu hoạch sì to vào cuối tháng 8. Các nhánh sì to được tách ra và trồng ngay.

+ Bố trí thí nghiệm: Các nhánh sì to được trồng với khoảng cách là 30x30 cm, theo 5 công thức thí nghiệm dựa vào lượng phân bón NPK được bón khi trồng. Công thức 1: 0 kg NPK/ha (đối chứng); Công thức 2: 600 kg NPK/ha; Công thức 3: 800 kg NPK/ha; Công thức 4: 1000 kg NPK/ha; Công thức 5: 1200 kg NPK/ha.

+ Nghiên cứu tỷ lệ nảy mầm của hạt: Hạt của loài Si to được thu vào cuối tháng 5 ở xã Bản Khoang, Sa Pa, Lào Cai. Hạt được phơi khô và gieo trên cát ẩm.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Nghiên cứu tỷ lệ nảy mầm của hạt

Vào trung tuần tháng 6 hàng năm (từ năm 2000 đến 2003) tiến hành gieo hạt, tổng số hạt đã được gieo là 5000 hạt. Hạt được gieo trên cát ẩm ở Sa Pa - Lào Cai. Sau khoảng 60 ngày theo dõi, toàn bộ số hạt đều không nảy mầm (0 %).

Như vậy có thể nhận thấy rằng, khả năng nhân giống sì to bằng hạt là khó thực hiện. Trong khi đó, loài Sì to lại có khả năng mọc chồi khỏe. Do vậy, các nghiên cứu tiếp theo của chúng tôi đi sâu nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống và trồng sì to bằng phương pháp nhân giống vô tính (tách nhánh).

3.2. Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón NPK đến quá trình sinh trưởng và phát triển của sì to

- Nguồn giống:Vào khoảng cuối tháng 8 tiến hành thu hoạch sì to. Các nhánh con được tách ra từ các khóm sì to gồm phần gốc mang rễ, phần thân cao từ 10 - 20 cm.

- Kết quả: Sau 30 ngày được trồng, các cây Sì to mọc chồi mới. Tiến hành đánh giá ảnh hưởng của phân bón NPK đến sự sinh trưởng và phát triển của Sì to. Kết quả thể hiện ở bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1. **Ảnh hưởng của bón NPK đến sự ra hoa, kết quả của sì to**

Công thức	Lượng NPK (kg/ha)	Tổng số khóm theo dõi	TS khóm có hoa (tỷ lệ %)	TS khóm có quả (tỷ lệ %)
1	0 (đối chứng)	200	192 (96,00%)	178 (89,00%)
2	600	195	189 (96,92%)	175 (89,74%)
3	800	203	196 (96,55%)	182 (89,66%)
4	1000	201	195 (97,01%)	181 (90,05%)
5	1200	180	173 (96,11%)	161 (89,94%)

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, sự sai khác về tỷ lệ ra hoa, kết quả ở các công thức không đáng kể, tỷ lệ ra hoa đều đạt từ 96 - 97 % và tỷ lệ kết quả là 89 - 90 %. Sự sai khác giữa các công thức 2, 3, 4, 5 so với công thức 1 (đối chứng) không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Như vậy có thể thấy rằng, lượng phân bón NPK không ảnh hưởng đến quá trình ra hoa, kết quả của sì to.

Tuy nhiên, sau nhiều năm theo dõi, chúng tôi nhận thấy cây Sì to ra hoa, kết quả nhiều nhưng quả thường lép. Vì vậy, hạt được gieo không nảy mầm.

Bảng 2. **Ảnh hưởng của bón NPK đến sự tăng trưởng chiều cao và đẻ nhánh của sì to**

Công thức	Lượng NPK (kg / ha)	Tổng số khóm theo dõi	Chiều cao khóm (cm)	Số nhánh đủ tiêu chuẩn làm giống/khóm
1	0 (đối chứng)	200	22,20 ± 7,80	7,22 ± 2,21 (7)
2	600	195	24,31 ± 7,92	9,77 ± 2,73 (10)
3	800	203	27,50 ± 8,65	9,93 ± 3,05 (10)
4	1000	201	28,61 ± 8,12	10,85 ± 3,71 (11)
5	1200	180	23,46 ± 8,56	8,54 ± 3,46 (8)

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, sau 12 tháng trồng, ở công thức 1 (đối chứng) cây cao trung bình 22, 20 cm. So với công thức không bón phân NPK thì chiều cao của sì to cũng tăng lên, tăng 2,11 cm (công thức 2); 5,30 cm (công thức 3); 6,41 cm (công thức 4). Tuy nhiên, sự sai khác giữa các công thức không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Cũng giống như các thí nghiệm về chiều cao của cây, sau 12 tháng trồng mỗi khóm sì to có khoảng 7 nhánh (đủ tiêu chuẩn làm giống - xem hình 2). Số nhánh đủ tiêu chuẩn / khóm ở công thức 4 (1000 kg NPK / ha) là cao nhất (khoảng 11 nhánh), sau đó là công thức 2 và 3 (10 nhánh). Còn tiếp tục tăng lượng phân bón lên 1200 kg NPK/ha thì số nhánh/khóm lại giảm đi. Và sự sai khác giữa các công thức cũng không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Kết quả thực tế cho thấy, lượng phân bón NPK không ảnh hưởng đến tỷ lệ ra hoa, kết quả, tăng trưởng chiều cao và đẻ nhánh của sì to.

Bên cạnh các nghiên cứu về sự sinh trưởng và phát triển của Sì to, chúng tôi tiến hành đánh giá ảnh hưởng của lượng phân bón đến chiều dài và khối lượng thân rễ tươi của sì to. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Sau 12 tháng trồng, chiều dài trung bình của thân rễ là 19,05 cm ; tương ứng với khối lượng là 160,10 g (công thức đối chứng). Có những khóm chiều dài thân rễ đạt tới 30 cm và khối lượng là 250 g. Kết quả thí nghiệm cho thấy, chiều dài và khối lượng thân rễ cũng tăng theo tỷ lệ thuận với lượng phân bón NPK. Tăng rõ rệt ở công thức 3 và công thức 4, Chiều dài và khối lượng ở công thức 4 (1000 kg NPK/ha) đạt cao nhất, so với đối chứng chiều dài thân rễ dài hơn tới 2,87 cm

và khối lượng thân rễ tăng lên là 52,35 g. Tiến hành so sánh các giá trị trung bình bằng t-test cho thấy, khi sử dụng phân bón NPK chiều dài thân rễ có tăng nhưng sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05).

Bảng 3. **Ảnh hưởng của bón NPK đến chiều dài và khối lượng thân rễ của sì to**

Công thức	Lượng NPK (kg/ha)	Chiều dài thân rễ/khóm (cm)	Khối lượng thân rễ tươi/khóm (gam)
1	0 (đối chứng)	19,05 ± 3,52	160,10 ± 16,45
2	600	19,13 ± 4,30	187,22 ±16,82
3	800	20,50 ± 4,96	203,78 ± 18,07
4	1000	22,03 ± 5,14	212,45 ± 17,50
5	1200	19,46 ± 3,97	171,34 ±16,21

Còn so sánh giá trị trung bình của khối lượng thân rễ tươi / khóm của công thức 1 và 2; 1 và 3; 1 và 5 cho thấy sự sai khác cũng không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05). Còn sự sai khác giữa công thức 1 và 4 có ý nghĩa thống kê (P < 0,05). Như vậy, lượng phân bón NPK có ảnh hưởng đến khối lượng thân rễ tươi / khóm. Như vậy có thể thấy rằng, lượng phân bón NPK sử dụng thích hợp và cho khối lượng thân rễ cao nhất là 1000 kg/ha. Tuy nhiên, đây mới chỉ là những kết quả bước đầu, cần tiếp tục tiến hành các thí nghiệm nghiên cứu về lượng phân bón, năng suất dược liệu trên quy mô lớn.

3.3. Kỹ thuật nhân trồng Sì to bằng phương pháp nhân giống vô tính (tách nhánh)

Sau 5 năm khảo sát, từ những kết quả thực tiễn thu được chúng tôi bước đầu xây dựng một số biện pháp kỹ thuật nhân trồng sì to như sau:

(1) Tạo cây giống

- Thời gian thu hoạch cây làm giống: cuối tháng 8, đầu tháng 9 hàng năm.

- Các nhánh con được tách ra từ khóm sì to sau khi thu hoạch, bao gồm phần gốc mang rễ, phần thân cao từ 15 - 20 cm (cây giống đủ tiêu chuẩn) được sử dụng trồng ngay. Còn các nhánh không đủ tiêu chuẩn được trồng trong vườn ươm, sau khoảng 20 - 30 ngày cây giống phát triển đủ rễ mới trồng.

(2) Làm đất

Chọn nơi đất ẩm, không bị che bóng hoặc che bóng ít. Làm đất tơi nhỏ, lên luống cao khoảng 20 - 30 cm, đào hố sâu 10 - 15 cm.

(3) Cách trồng

Cây giống được đặt vào hố đã đào, nèn chặt gốc, tưới nước. Khoảng cách giữa các cây bước đầu thực hiện là 30x30 cm (cần tiến hành các thí nghiệm về khoảng cánh trồng các cây nhằm hoàn thiện quy trình trồng).

(4) Chăm sóc

- Bón phân: Sau khi làm đất, dùng phân chuồng bón lót. Trong quá trình trồng sử dụng phân bón NPK với khối lượng 1000 kg/ha.

- Làm cỏ, vun gốc: Cần phải làm thường xuyên, nhất là mùa mưa ẩm.

- Tưới nước: Thường xuyên tưới nước, đảm bảo độ ẩm cho đất. Tránh bị ngập úng cây sẽ bị thối gốc.

(5) Thu hoạch và bảo quản

Vào cuối tháng 8, đầu tháng 9 tiến hành thu hoạch sì to. Nhổ các khóm sì to. Tách riêng phần thân rễ và phần trên mặt đất.

+ Toàn bộ phần trên mặt đất được tách thành các nhánh để làm giống. Chú ý khi tách tránh làm tổn thương đến các nhánh để đảm bảo chất lượng cây giống.

+ Phần thân rễ rửa sạch, sấy khô (khoảng 30 ^{0}C) hoặc phơi trong bóng râm đến khô. Dược liệu sau khi phơi sấy cần được đóng gói trong túi nilon, để nơi khô ráo, tránh ẩm mốc.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

(1) Cho đến nay, nhân giống sì to bằng hạt là khó khăn, việc nhân trồng sì to trên quy mô lớn vẫn sử dụng phương pháp nhân giống vô tính bằng tách nhánh.

(2) Đã bước đầu xây dựng một số biện pháp kỹ thuật nhân trồng sì to như sau: Tạo cây giống, làm đất, cách trồng, chăm sóc, thu hoạch và bảo quản.

(3) Đã nhân trồng và phát triển sì to trên diện tích 10.000 m^2.

(4) Cung cấp 30 kg dược liệu khô phục vụ nghiên cứu hóa học, dược lý và bào chế.

4.2. Đề nghị

Để nhân trồng và phát triển sì to trên quy mô lớn phục vụ yêu cầu sản xuất cần có những nghiên cứu chuyên sâu hơn nữa để hoàn thiện quy trình nhân trồng loài cây thuốc quý này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường, Sách Đỏ Việt Nam, (1986), NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, phần II, tr. 291.
2. Võ Văn Chi, (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học Hà Nội, tr. 880.
3. Bùi Xuân Chương, (1974), Tạp chí Dược học, số 6, tr. 18 - 19.
4. Phạm Thanh Huyền, Đinh Văn My, (2002), Bước đầu nghiên cứu về thành phần loài và một số đặc điểm sinh học của các loài *Valeriana* L. (Valerianaceae) hiện có ở Việt Nam, Tạp chí Dược liệu, tập 7, số 4, tr. 99 - 103.
5. Đỗ Tất Lợi, (1999), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, tr. 792 - 794.
6. Nguyễn Văn Tập 1994, "Áp dụng khung phân hạng mới của IUCN để đánh giá tình trạng bị đe doạ đối với các loài cây thuốc cần bảo tồn ở Việt Nam", Tạp chí Dược liệu, 2001, 6 (2 + 3), tr. 42 - 45 và 6 (4) tr. 97 - 100.
7. Phạm Chí Thành, (1976), Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
8. Viện Dược liệu, (1976), Kỹ thuật trồng cây thuốc, NXB. Y học, Hà Nội.
9. Kirtikarr K.R. & Basu B.D., (1998), Indian Medicinal Plants, pp. 1309 - 1313.
10. Perry M.H., (1978), Medicinal Plant of East and Southeast Asia, pp. 423 - 424.

ĐÁNH GIÁ NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG DƯỢC LIỆU CỦA CÂY ĐƯƠNG QUY NHẬT VÀ CÂY TRINH NỮ HOÀNG CUNG TRỒNG TRÊN GIÁ THỂ ĐẤT NHÂN TẠO

Ngô Quốc Luật, Đào Mạnh Hùng
Bùi Thị Bằng, Nguyễn Thị Dung

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ nhiều năm nay Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng các chế phẩm nông hoá đã nghiên cứu giá thể đất nhân tạo (GTĐNT) phục vụ cho việc trồng trọt các loại cây. Đề tài đã được Hội đồng KHCN Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn công nhận là TBKT năm 2000. Trung tâm cũng đã phối hợp với nhiều cơ quan, đơn vị ứng dụng thành công cho một số loại cây trồng khác nhau như rau, hoa quả cho đảo xa bờ. Cỏ, cây cảnh cho khuôn viên công trình công cộng, nhà cao tầng và đã trồng thăm dò một số loài cây dược liệu. Ưu điểm của giá thể là có thành phần phù hợp với yêu cầu dinh dưỡng của từng loại cây trồng, xốp , thoát nước, có khả năng giữ ẩm cao và đặc biệt có thể điều khiển được thành phần, hàm lượng dinh dưỡng, hạn chế được sự thừa, thiếu của các nguyên tố, dễ tạo ra được các sản phẩm an toàn. GTĐNT rất thích hợp cho việc nuôi trồng các cây trồng có giá trị cao, cây dược liệu. Năm 2000 chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thử nghiệm trồng một số cây lấy củ, lấy lá làm dược liệu trên các GTĐNT và đã cho những kết quả khả quan.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Cây trinh nữ hoàng cung - *Crinum latifolium* L. (TNHC). Cây giống được tách từ cây mẹ một năm trước, trồng vào ngày 27/3.

- Cây đương quy Nhật Bản - *Angelica acutiloba* (Sieb.et.Zucc) Kitagawa (ĐQNB). Hạt được gieo vào ngày 20/11.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thí nghiệm được bố trí trong nhà lưới với 3 công thức và 3 lần nhắc lại.

- Cây thí nghiệm được trồng trong bầu chứa GTĐNT, công thức đối chứng là đất phù sa sông Hồng và lượng phân hữu cơ ít.

- Trong quá trình trồng thí nghiệm không bón thêm một loại phân nào khác.

- Tính chất nguyên liệu chính sử dụng làm giá thể: Thành phần các GTĐNT (nguyên liệu chính để tạo giá thể) là các chất hữu cơ dễ tìm, không độc hại như: Than bùn xử lý men, bèo dâu khô, đất phù sa sông Hồng, trấu, các chất phụ gia và lượng nhỏ NPK. Các chất hữu cơ được xử lý, kiểm nghiệm nguyên liệu và công đoạn phối trộn, hiệu chỉnh theo phương pháp của Trung tâm Nghiên cứu Ứng dụng các chế phẩm nông hoá - Viện Thổ nhưỡng Nông hoá.

- Tính chất các giá thể:

Giá thể	pH KCl	Tổng số (%)			CEC (meq/100g)
		N	P_2O_5	K_2O	
1	4,90	1,46	0,33	0,85	46,8
2	5,60	1,86	0,30	0,89	48,2

Các công thức nghiên cứu:

+ *Công thức 1:*

- Than bùn xử lý lên men 67%
- Bèo dâu phylamin 5,5%
- Đất phù sa sông Hồng 20%
- Trấu 7,5%
- NPK + vi lượng ít

+ *Công thức 2:*

- Than bùn xử lý lên men 60%
- Bèo dâu tách phylamin + Bèo dâu chưa tách phylamin (để giữ ẩm) 12,5%
- Đất phù sa sông Hồng 20%

- Trấu 7,5%
- NPK + Vi lượng ít

+ Công thức 3 (Đối chứng):

- Đối chứng (dùng đất phù sa sông Hồng và phân chuồng hữu cơ).

Phân tích chất lượng dược liệu:

a) Cây đương quy Nhật Bản: Phân tích chất tan trong nước và chất tan trong cồn 50°. Mẫu được lấy khi thu hoạch dược liệu, rửa sạch và phơi khô.

b) Cây trinh nữ hoàng cung: Định tính và định lượng alcaloid toàn phần. Lấy lá trưởng thành theo từng lứa cắt khi thu hoạch dược liệu.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Cây trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium L.*)

Số liệu của bảng 1 cho thấy: Chiều dài lá và chiều cao cây của hai công thức trồng trong GTĐNT cao hơn so với cây ở công thức đối chứng, chiều cao cây của công thức I là gần 70 cm, CT 2 gần 74 cm, còn công thức đối chứng chỉ dài 65,8 cm. Chiều dài lá của CT1 gần 67 cm, CT2 gần 71 cm, riêng ĐC chỉ dài 60,4 cm).

Theo dõi về tốc độ đẻ nhánh, bảng 1 cũng đã chỉ ra cây TNHC sau khi trồng 4 tháng thì bắt đầu đẻ nhánh (Trồng 27/3 - đẻ nhánh 27/7/2001), trong đó CT1 là 1,2 nhánh, CT2 là 0,8 nhánh và CT3 đối chứng cao nhất là 2,4 nhánh. Nhưng sau 3 tháng (kể từ khi cây bắt đầu đẻ nhánh) đến 27/10/2001 ta thấy tốc độ đẻ nhánh của 2 công thức trồng trên GTĐNT rất cao. CT1 từ 1,2 nhánh lên 6 nhánh tăng gấp 5 lần; CT2 từ 0,8 nhánh lên 4,4 nhánh tăng gấp 5,5 lần. Trong lúc đó công thức 3 đối chứng tốc độ đẻ nhánh rất thấp từ 2,4 lần 4,8 nhánh, chỉ tăng được 2 lần.

Kết quả nghiên cứu này có thể áp dụng cho việc nhân nhanh giống cây con TNHC theo phương pháp nhân vô tính tách mầm.

Bảng 1. **Sự sinh trưởng và phát triển của cây TNHC qua các tháng**

Lứa cắt	Các chỉ tiêu theo dõi											
	Công thức I				Công thức II				Công thức III (Đ.Chứng)			
	Số lá (cm)	Dài lá (cm)	Cao cây (cm)	Đẻ nhánh	Số lá (cm)	Dài lá (cm)	Cao cây (cm)	Đẻ nhánh	Số lá (cm)	Dài lá (cm)	Cao cây (cm)	Đẻ nhánh
27/3/2001	1,0	-	12,0	-	1,0	-	15,8	-	1,0	-	13,8	-
27/4/2001	2,8	18,5	25,0	-	2,6	19,6	25,5	-	3,0	17,0	23,0	-
28/5/2001	6,2	27,7	31,0	-	6,8	33,0	36,3	-	7,4	34,2	38,0	-
27/6/2001 (20/8 thu lá)	7,6	41,2	46,4	-	9,4	42,8	50,0	-	8,9	43,2	49,2	-
27/7/2001	6,6	54,7	61,6	1,2	6,6	57,5	67,3	0,8	6,2	53,1	58,7	2,4
27/8/2001	4,4	59,0	68,4	2,8	4,2	59,0	72,2	2,5	4,0	57,1	66,0	3,8
27/9/2001 (27/9 thu lá)	7,4	66,5	69,7	4,6	7,7	70,7	73,6	3,6	7,0	60,4	65,8	4,6
27/10/2001	6,0	59,2	66,7	6,0	5,8	59,5	67,3	4,4	5,2	55,7	62,9	4,8

Năng suất dược liệu của các lứa cắt lá cây TNHC: Trọng lượng tươi gam/ô thí nghiệm, trọng lượng tươi gam/cây và trọng lượng tươi gam/lá của công thức 1 và 2 cao hơn so với công thức đối chứng.

Bảng 2. **Năng suất dược liệu của các lứa cắt trên cây TNHC**

Lứa cắt	Các chỉ tiêu theo dõi											
	Công thức I				Công thức II				Công thức III (Đ.Chứng)			
	Số lá/Ô TN	TL tươi (g/Ô TN)	TL tươi (g/cây)	TL tươi (g/lá)	Số lá/Ô TN	TL tươi (g/Ô TN)	TL tươi (g/cây)	TL tươi (g/lá)	Số lá/Ô TN	TL tươi (g/Ô TN)	TL tươi (g/cây)	TL tươi (g/lá)
Lứa 1 (1/7/2001) sau trồng 3 tháng	57	320	21,33	6,60	77	620	41,33	8,05	90	640	42,70	7,10
Lứa 2 (20/3/2001) sau 40-45 ngày	74	920	61,33	12,43	67	1010	67,33	15,07	57	700	46,70	12,28
Lứa 3 (27/9/2001) sau 37-40 ngày	80	1400	93,33	17,50	80	1500	100,00	18,75	76	1010	67,33	13,29
Lứa 4 (12/11/2001) sau 40 ngày	78	1200	80,00	15,38	77	1200	80,00	15,58	60	750	50,00	12,50

Bảng 3. **Kết qủa phân tích lá TNHC vụ 2000 - 2001 tại Trung tâm NCCT Hà Nội**

Ngày thu mẫu	Công thức	Hàm lượng alcaloid toàn phần (% so với D.liệu khô tuyệt đối)
20 - 8 - 2001	1	0,38
	2	0,39
	3	0,53
27 - 9- 2001	1	0,29
	2	0,32
	3	0,39

Qua số liệu phân tích ở bảng 3 ta thấy: Hàm lượng alcaloid toàn phần (% so với dược liệu khô tuyệt đối) của lá TNHC trồng trên GTĐNT thấp hơn CT3 (đối chứng).

Thí nghiệm nghiên cứu về các lứa cắt (thu hoạch). Được thể hiện trong bảng sau.

Bảng 4. **Nghiên cứu lứa cắt lá cây trinh nữ hoàng cung**

Lứa cắt	Công thức	Trọng lượng lá tươi (gam/15 cây)	Thời gian lứa cắt (thu hoạch)
1.7.2001	1 2 3	320 620 640	Thu hoạch sau khi trồng 3 tháng
20.8.2001	1 2 3	920 1010 700	Thu hoạch sau cắt lứa I là 40 - 45 ngày
27.9.2001	1 2 3	1.400 1.500 1010	Thu hoạch sau cắt lứa II là 37 - 40 ngày
12.11.2001	1 2 3	1.200 1.200 750	Thu hoạch sau cắt lứa III là 40 ngày
Tháng 12	-	-	-

Bảng 4 cho thấy, cắt lứa thứ nhất trọng lượng lá tươi của CT3 (đối chứng) cao hơn 2 CT1 và CT2 (trồng trên GTĐNT). Có hiện tượng đó là vì thời gian đầu mới trồng cây trong giai đoạn bén rễ, hồi xanh, nên trọng lượng lá thu được, chưa thể hiện sự sai khác so với công thức đối chứng. Đến các lứa cắt thứ 2 và tiếp các lứa cắt tiếp theo, số liệu ở bảng 4 chứng minh CT1 và CT2 trồng trên GTĐNT đều cao hơn so với công thức đối chứng (Cao nhất là CT2). Cũng qua số liệu bảng trên ta thấy cây TNHC trồng trên GTĐNT có thể cho chúng ta thu

hoạch từ 5 - 6 lứa cắt/năm. (Nếu trồng cây vào tháng 11 - 12 năm trước có thể thu hoạch nhiều lứa cắt hơn).

3.2. Cây đương quy nhật Angenlica acutiloba (*Sieb.et.Zuuc*) Kitagawa

Vật liệu trồng thí nghiệm: Hạt đương quy gieo ngày 20/11.

- Ngày trồng thí nghiệm: 27/3.
- Địa điểm trồng tại : Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

3.2.1. Đánh giá sự sinh trưởng và phát triển của cây đương quy Nhật

Qua theo dõi số liệu,các chỉ tiêu nghiên cứu được thể hiện ở bảng 5.

***Bảng 5.* Sinh trưởng và phát triển cây đương quy Nhật Bản**

Ngày theo dõi TN	Các chỉ tiêu theo dõi					
	Công thức I		Công thức II		Công thức III	
	Số lá (cm)	Cao cây (cm)	Số lá (cm)	Cao cây (cm)	Số lá (cm)	Cao cây (cm)
27/3/2001	3,3	14	2,9	12,8	2,8	12,7
27/4/2001	4,2	19,3	4,2	19,7	4,5	19,6
27/5/2001	5,3	25,2	5,4	25,7	5,4	24,6
27/6/2001	6,5	29,6	6,0	27,6	5,6	25,6
27/7/2001	7,7	28,7	6,3	28,2	5,7	24,2
27/8/2001	6,7	25,4	6,5	27,9	6,5	23,8
27/9/2001	6,6	26	6,5	26,9	6,0	23,8
16/10/2001	T. hoạch	T. hoạch	T. hoạch	T. hoạch	-	-

Số liệu bảng 5 chỉ ra: Số lá của CT1 là 7,7 cm cao hơn CT2 và CT3 (chỉ đạt 6,5 cm),về cao cây CT1 cao nhất 29,6 cm, đến CT2 28,2 cm, còn CT3 đối chứng là thấp nhất, chỉ đạt 25,5 cm. Như vậy về mặt sinh trưởng và phát triển của cây ĐQNB được trồng trên GTĐNT cao hơn so với công thức đối chứng.

3.2.2. Nghiên cứu về các chỉ tiêu cho năng suất của cây đương quy Nhật

Ngày thu hoạch củ: 16/10/2001, rữa sạch phơi khô và tiến hành đo đếm số liệu. Các chỉ tiêu được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. **Năng suất củ đương quy Nhật Bản trồng trên GTĐNT vụ 2000-2001 tại Trung tâm NCCT Hà Nội**

Công thức	Chỉ tiêu theo dõi					
	Trọng lượng củ (g)		Chiều dài củ (cm)		Đường kính củ (cm)	
	Tươi	Khô	Tươi	Khô	Tươi	Khô
Công thức 1	50	16,2	14,5	9,5	3,6	2,2
Công thức 2	35,7	9,3	12,8	8,5	2,6	1,7
Công thức 3	40	9	10	7	2,2	1,6

Số liệu bảng 6 ở các công thức trên cho thấy, chỉ tiêu về trọng lượng củ, chiều dài củ, đường kính củ của CT1 là cao hơn cả, tiếp đến là CT2, còn CT3 đối chứng thấp nhất so với 2 công thức được trồng trên GTĐNT.

3.2.3. Chất lượng dược liệu đương quy Nhật trồng trên GTĐNT thời vụ 2000 - 2001 tại Trung tâm NCCT Hà Nội

Chúng tôi đã phân tích hàm lượng chất tan trong nước và hàm lượng chất tan trong cồn 50 độ (% so với dược liệu khô tuyệt đối). Kết quả phân tích chất lượng được thể hiện ở bảng sau.

Bảng 7. **Chất lượng củ Đương quy trồng trên GTĐNT thời vụ 2000 – 2001**

Công thức	Chỉ tiêu theo dõi	
	Hàm lượng chất tan trong nước (% so với D.liệu khô tuyệt đối)	Hàm lượng chất tan trong cồn 50 độ (% so với D.liệu khô tuyệt đối)
1	44,33	36,31
2	33,13	40,21
3	39,09	33,52

Số liệu bảng 7 cho thấy hàm lượng chất tan trong nước của CT1 là cao nhất, rồi đến CT3 (đối chứng), riêng CT2 là thấp nhất. Hàm lượng chất tan trong cồn 50 độ thì CT2 là cao nhất (40,21 %), đến CT1 (36,31 %), còn công thức đối chứng thấp nhất. Như vậy, số liệu trên đã chứng tỏ chất lượng dược liệu đương quy Nhật trồng trên GTĐNT cao hơn so với đối chứng.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

1. Sự sinh trưởng, phát triển của cây trinh nữ hoàng cung và cây đương quy Nhật Bản trồng trên GTĐNT cao hơn so với công thức đối chứng.

2. Năng suất dược liệu các lứa cắt, cũng như tốc độ để nhánh của cây TNHC trồng trên GTĐNT cao hơn so với đối chứng. Cây TNHC trong một năm có thể thu hoạch từ 4 - 6 lứa cắt (Từ 30 - 45 ngày/lứa).

3. Hàm lượng alcaloid toàn phần của cây TNHC trồng trên GTĐNT thấp hơn so với công thức đối chứng.

4. Năng suất dược liệu, cũng như hàm lượng chất tan trong cồn 50 độ (% so với dược liệu khô tuyệt đối) của cây đương quy Nhật Bản trồng trên GTĐNT cao hơn so với đối chứng.

4.2. Đề nghị

1. Những kết quả nghiên cứu trên đã chỉ ra được một số vấn đề có ý nghĩa quan trọng công tác NCKH, tuy nhiên TN mới triển khai ở diện hẹp, nghiên cứu trong nhà lưới. Cần tiếp tục nghiên cứu ở diện rộng trên đồng ruộng sản xuất đại trà, có kết luận về hiệu quả kinh tế để áp dụng cho sản xuất.

2. Phương pháp trồng cây TNHC trên GTĐNT có thể áp dụng trong nhân nhanh giống cây con, vì có tốc độ đẻ nhánh cao, tạo nhanh giống tốt cây TNHC để cung ứng kịp thời cho nhu cầu sản xuất lớn trong nước.

3. Năng suất và chất lượng dược liệu cây đương quy Nhật đều cao hơn so với đối chứng. Do vậy cần tiếp tục nghiên cứu theo phương pháp trồng trên GTĐNT ở diện rộng, đánh giá hiệu quả kinh tế và có thể xây dựng quy trình sản xuất dược liệu theo phương pháp mới song song với phương pháp sản xuất truyền thống đã có.

NGHIÊN CỨU SÂU BỆNH HẠI TRÊN MỘT SỐ CÂY THUỐC QUAN TRỌNG

Ngô Quốc Luật

SUMMARY

Studying on the pests and diseases of some important medicinal plants

Forty-three species of insects and mites belonging to 21 families and four orders have been found associated with seven species of medicinal plants (Angelica dahurica Benth. et, Atractyloides macrocephala Koidz, *Crinum latifolium* L., *Datura metel* L., *Phylanthus amarus* L., *Geranium nepalense Kudo, Silybum marianum* L.*) at the Research Center for Medicinal Plants – Hanoi in the winter-spring crop 2003-2004. In addition, 22 species of pathogens including fungi, bacteria and virus were also recognized. Some unknown pathogens remained to be identified.*

The density and damage caused by some main insects and pathogens such as Spodoptera litura Farb.; Argyrogramma agnata Standinger; Homona coffearia Nietnex, Noctuidae; Erwinia carotovora; Alternaria sp... have been investigated. Initial study on the chemical control method has been conducted. Further investigation is need in 2004-2005 seasons to determine other causal agents and effective control for the studied medicinal plants.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong lịch sử sản xuất nông nghiệp nói chung và cây thuốc nói riêng trước đây cũng như hiện nay, sâu bệnh đã gây nhiều tác hại nghiêm trọng. Theo điều tra và tính toán của nhiều nước trên thế giới về những thiệt hại do sâu bệnh gây ra, hàng năm trên thế giới thiệt hại do sâu là 29 tỷ USD bằng 13,8 % sản lượng nông nghiệp, thiệt hại do bệnh gây ra là 24,8 tỷ USD bằng 11,6% sản lượng, do cỏ dại gây ra là 20,4 tỷ USD bằng 9,5% sản lượng. Tổng thiệt hại do sâu bệnh và cỏ dại gây ra là 75 tỷ USD hay là 35% khả năng mùa màng. Nếu đem so với sản lượng thực tế của thế giới là 140 tỷ USD thì thiệt hại trên đang chiếm 54%. Hơn 1/3 của cải con người làm ra trong nông nghiệp bị sâu bệnh phá mất.

Cây làm thuốc bị sâu bệnh hại, có dại tấn công và gây ra những thiệt hại nghiêm trọng, làm ảnh hưởng không nhỏ đến năng suất và chất lượng dược liệu. ở Trung Quốc các vùng trồng nhân sâm đều bị nhiễm loài sâu bệnh phá hoại, làm giảm trên 30% sản lượng. Cây bạch truật được trồng rất nhiều với số lượng lớn cũng bị nhiều loại sâu bệnh tấn công như: bệnh nấm hạch, bệnh khô lá, bệnh đốm lá, bệnh thối rễ, bệnh chết cứng, bệnh vân vòng. Sâu xám, rệp, mối xông gốc... Cây bạc hà (Mentha arvensis L.) bị sâu xám, bọ nhảy, ong bạc hà, rệp, sâu đo. Cây bạch chỉ bị bệnh đốm lá, đốm đen, nứt rễ....rệp, sâu đục quả...Cây địa hoàng bị nhện đỏ, sâu xanh, sâu bọ ngài đêm, bệnh gỉ sắt, bệnh cuốn lá xanh. Cây xuyên khung, thường bị sâu đục thân phá hoại có thể từ 20-30%, thậm chí lên đến 75% thời kỳ cây đang phát triển trên ruộng sản xuất. Tuy nhiên khi đã khai thác và thâm canh cây làm thuốc để cho năng suất và chất lượng dược liệu cao thì kỹ thuật trồng và bảo vệ cây thuốc đòi hỏi càng chặt chẽ đúng như qui luật chung về khai thác cây trồng nông nghiệp. Bởi vì các loài dịch hại luôn tồn tại và sự gây hại của chúng càng lớn khi các biện pháp thâm canh như bón phân, trồng thuần được áp dụng.

Từ những yếu tố khách quan đó, Viện Dược liệu đã được Bộ Y tế cho phép triển khai đề tài: *"Nghiên cứu biện pháp phòng trừ sâu bệnh trên một số cây thuốc quan trọng*". Đề tài đã được thực hiện giai đoạn 1. Dưới đây là kết quả chính đã đạt được.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nội dung nghiên cứu:

- Điều tra thu thập và giám định các loại sâu bệnh hại trên đồng ruộng tại Trung tâm nghiên cứu Cây thuốc (Hà Nội), Ngọc Linh (Kon Tum), Tam Đảo (Vĩnh Phúc), Sa Pa (Lào Cai), Nghĩa Trai (Hưng Yên).

- Xác định diễn biến số lượng và sự gây hại của một số loài sâu bệnh chính gây hại.

- Đối tượng nghiên cứu là 7 loại cây dược liệu đang được trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội và các nơi khác [Bạch chỉ - *Angelica dahurica* Benth.et, Hook., bạch truật - *Atractylodes macrocephala* Koidz, trinh nữ hoàng cung - *Crinum latifolium* L., cà độc dược - *Datura metel* L., diệp hạ châu - *Phyllanthus amarus* L., lão quan thảo - *Geranium nepalense* Kudo, cúc gai dài - *Silybum marianum* (L.)].

Phương pháp nghiên cứu:

- Điều tra thu thập thành phần sâu bệnh hại tiến hành theo phương pháp tự do (Cục Bảo vệ thực vật (BVTV) 1995) tại các địa điểm: Sa Pa, Lào Cai, Thanh Trì, Hà Nội, Nghĩa Trai, Hưng Yên và Chốt 3 Ngọc Linh, Kon Tum. Toàn bộ mẫu sâu bệnh hại được xử lý theo các phương pháp của Viện BVTV và Trường đại học Nông nghiệp I. Giám định được các chuyên gia của hai Bộ môn Côn trùng và Bệnh cây Nông dược Trường đại học Nông nghiệp I thực hiện theo các khóa phân loại sâu bệnh hại 1980 - 2002. Mẫu sâu bệnh được làm ảnh và lưu trữ tại Bộ môn Côn trùng, Trường đại học Nông nghiệp I, Hà Nội.

- Diễn biến số lượng và tỷ lệ sâu bệnh hại chính theo phương pháp 5 điểm chéo góc quy định về cây công nghiệp của Cục Bảo vệ thực vật (1995).

- Thời gian điều tra: 9/2003 - 9/2004.

- Các số liệu của thí nghiệm đều được xử lý thống kê theo chương trình IPRISTAT.

III. KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần sâu hại cây thuốc vụ đông xuân 2003-2004 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội

Kết quả nghiên cứu cho thấy trên 7 loại cây thuốc điều tra có tổng số 43 loài côn trùng và nhện gây hại thuộc 21 họ và 4 bộ. Trong đó, bộ cánh vảy có 13 loài chiếm tỷ lệ lớn nhất (31,41%), bộ cánh cứng có 11 loài (26,83%), bộ cánh nửa có 8 loài (19,51%), bộ cánh đều có 4 loài (9,76%), bộ cánh thẳng có 3 loài (7,32%), bộ cánh tơ và bộ hai cánh chỉ có một loài (2,44%).

Trên 7 loại cây thuốc, thì cúc gai dài và lão quan thảo bị số loài côn trùng gây hại nhiều nhất (17 loài), tiếp theo là bạch chỉ (15 loài), bạch truật (8 loài), trinh nữ hoàng cung (7 loài), cà độc dược (4 loài). Cây diệp hạ châu có 3 loài.

Trong 43 loài côn trùng và nhện hại xuất hiện, 7 loài (17,07%) có mức độ phổ biến cao, 11 loài (26,83%) có mức độ phổ biến trung bình, 23 loài (56,10%) có mức độ phổ biến thấp. Trong 7 loài có mức độ phổ biến cao thì 3 loài (sâu khoang, sâu đo, sâu cuốn lá) là những loài sâu hại chính, thường xuyên xuất hiện gây hại trên các cây: cúc gai dài, bạch chỉ và bạch truật.

Ngoài côn trùng hại, nhóm nhện nhỏ cũng là đối tượng gây hại nguy hiểm trên cây thuốc. Trong số này có nhện đỏ son (*Tetranychus cinnabarinus* K.) và

nhện trắng (*Polyphagotarsonemus latus* B.) thường xuất hiện với mật độ khá cao.

3.2. Thành phần bệnh hại trên cây thuốc vụ đông xuân 2003 - 2004 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội

Qua số liệu thống kê cho thấy có 22 loại bệnh thuộc 3 lớp nấm, 1 nhóm vi khuẩn, 1 virus gây khảm lá và một số tác nhân gây bệnh khác chưa xác định được nguyên nhân. Trong 22 loại bệnh đó, nấm là tác nhân gây bệnh chủ yếu chiếm tỷ lệ cao nhất (68,18%), tiếp theo là vi khuẩn. Bộ Moniliales có 9 loại chiếm tỷ lệ cao nhất (60%). Trên 8 loại cây thuốc điều tra thì 100% cây đều bị nhiễm bệnh, trong đó bạch truật xuất hiện nhiều bệnh nhất (7 loại), tiếp theo là cúc gai dài, trinh nữ hoàng cung (3 loại), cà độc dược, bạch chỉ, lão quan thảo, diệp hạ châu (2 loại). Riêng cây sâm Ngọc Linh có 1 loại bệnh hại, triệu chứng bên ngoài giống bệnh gỉ sắt.

Trong tổng số 22 loại bệnh thì có 3 cây (bạch truật, lão quan thảo và cúc gai dài) bị bệnh đốm lá *Alternaria* sp. (13,64%) có mức độ phổ biến cao, 9 loại (40,91%) có mức độ phổ biến trung bình và 10 loại (45,45%) có mức độ phổ biến thấp.

3.3. Diễn biến mật độ và sự gây hại của một số loài gây hại chính

3.3.1. Sâu khoang *Spodoptera litura Farb*

Kết quả điều tra diễn biến mật độ sâu khoang trên cây cúc gai được trình bày ở bảng sau. Sâu khoang xuất hiện từ khi trồng cho tới khi thu hoạch.

Diễn biến mật độ sâu khoang (*Spodoptera litura* Farb) trên cây cúc gai dài

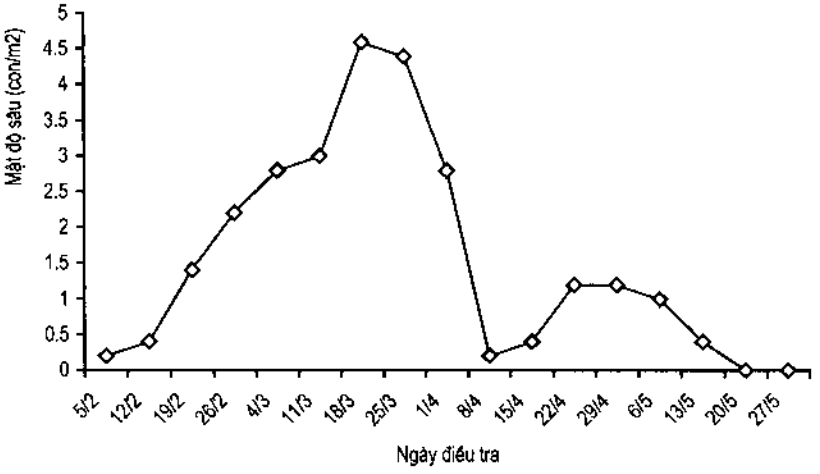
Ngày điều tra	Giai đoạn sinh trưởng	Mật độ sâu (con/m^2)	Nhiệt độ (^{0}C)	Ẩm độ (%)
29/1	8-12 lá	0,2	13,3	86
4/2	8-12 lá	0,4	14,9	86
10/2	12-20 lá	0,6	12,4	75
16/2	15-20 lá	0,8	19,6	70
22/2	15-20 lá	1,8	21,7	86

28/2	Lá đan xen nhau	2,4	20,1	94
5/3	Phủ kín luống	1,2	19,4	56
11/3	Phủ kín luống	4,4	20,8	59
17/3	Phủ kín luống	6,8	18,7	70
23/3	Cây ra nụ	15,2	22,0	86
29/3	Cây ra hoa	3,2	18,2	94
4/4	Ra hoa rộ	2,4	21,9	90
10/4	Kết quả	1,6	20,5	77
16/4	Kết quả, vào hạt	0,4	25,0	84
22/4	Quả chín	1,2	25,3	83
28/4	Thu quả đợt 1	4,6	26,9	90
4/5	Thu quả đợt 2	1,8	28,6	84
Trung bình		2,88 ±1,87	20,56	80,59

Khi cây còn nhỏ, vào cuối tháng 1, đầu tháng 2 mật độ sâu thấp 0,2 con/m^2. Sau đó khi nhiệt độ tăng, mật độ sâu khoang cũng tăng lên 2,4 con/m^2 khi cây ở giai đoạn lá đan xen nhau và đạt cao nhất 15,2 con/m^2 khi cây có nụ. Ở giai đoạn này, do mật độ sâu tăng nên hầu hết lá bụi trụi chỉ còn gân lá. Sang giai đoạn cây ra hoa, kết quả mật độ sâu giảm xuống 0,4 con/m^2.

3.3.2. Sâu đo (Argyrogramma agnata Staudinger) trên cây bạch chỉ

Sâu đo (*Argyrogramma agnata* Staudinger) là loài xuất hiện thường xuyên và gây hại chủ yếu trên bạch chỉ. Hình 1 trình bày diễn biến mật độ sâu đo trong vụ xuân hè 2004. Như vậy khi cây có 2-3 lá kép mật độ của chúng là 0,2 con/m^2, đến lúc 7-8 lá thật mật độ đạt cao nhất 4,6 con/m^2. Mật độ sâu lại giảm xuống 0,4 con/m^2 từ ngày 20/5 cho đến khi kết thúc điều tra ngày 27/5.

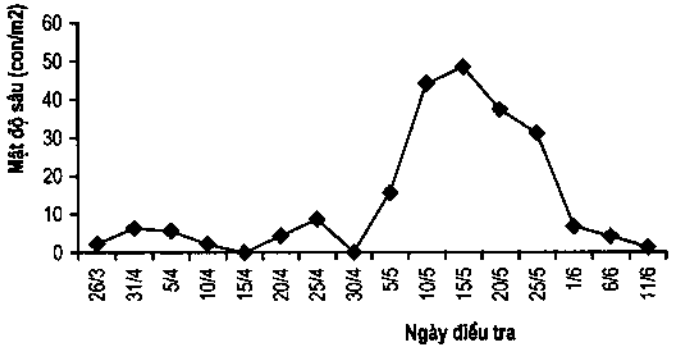


Hình 1. Diễn biến mật độ sâu đo (Argyrogramma agnata St.) trên cây bạch chỉ

3.3.3. Diễn biến mật độ sâu cuốn lá (Homona coffearia Nietner, Noctuidae) trên cây bạch truật

Bạch truật bị nhiều sâu bệnh phá hại, trong đó có sâu cuốn lá là loài gây hại chủ yếu, làm giảm năng suất và chất lượng dược liệu. Sâu cuốn lá nhả tơ kéo 2 mép lá (đối với lá già) hoặc kéo các lá xung quanh (đối với các lá ở trên ngọn) thành tổ và nằm trong đó gây hại. Sâu ăn trụi phần biểu bì trên và thịt lá, chừa lại lớp biểu bì dưới và gân lá, làm giảm năng suất và chất lượng dược liệu.

Kết quả điều tra diễn biến mật độ sâu cuốn lá được trình bày tại hình 2.

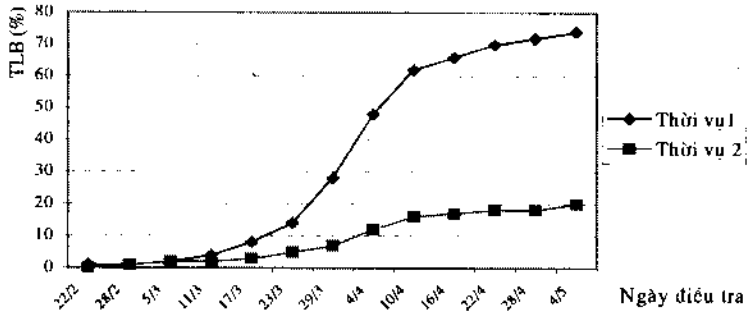


Hình 2. Diễn biến mật độ sâu cuốn lá (Homona coffearia Nietner, Noctuidae) trên cây bạch truật

Hình 2 cho thấy sâu cuốn lá bắt đầu xuất hiện ngày 26/3 khi cây ở giai đoạn phân cành cấp 2 với mật độ 2,2 con/m^2, sau đó tăng lên 6,4 con/m^2 ở giai đoạn cây bắt đầu ra nụ. Sau đó mật độ giảm còn 0 con/m^2. Mật độ sâu tăng mạnh lần thứ 2 và đạt cao nhất 48,6 con/m^2 khi cây ở giai đoạn ra nụ đợt 2. Ở giai đoạn gần thu hoạch, cây lụi dần do đó mật độ sâu giảm còn 1,2 con/m^2 tại ngày 11/6.

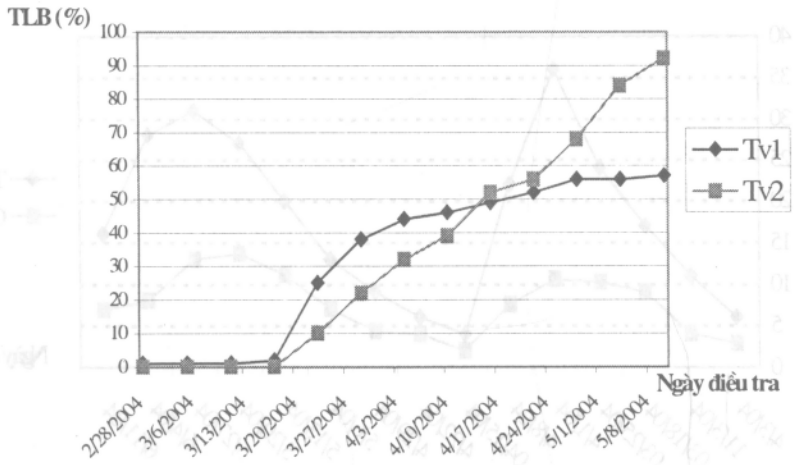
3.3.4. Diễn biến bệnh thối vi khuẩn (Erwinia carotovora) và héo vi khuẩn trên cây cúc gai dài.

Cúc gai dài bị nhiều bệnh hại trong đó có hai bệnh hệ thống là thối vi khuẩn (*Erwinia carotovora*) và héo xanh vi khuẩn xuất hiện với tỷ lệ rất cao ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất và sản lượng dược liệu. Bị hại bệnh này gây hại cây không cho thu hoạch. Kết quả điều tra được trình bày tại hình 3 và hình 4.



Hình 3. Diễn biến tỷ lệ (%) bệnh thối vi khuẩn (Erwwinia carotovora) trên cúc gai dài

Bệnh thối vi khuẩn xuất hiện từ 22/2 khi cây ở giai đoạn phủ kín luống cho đến khi cây thu hoạch quả. Trên 2 thời vụ khác nhau tỷ lệ bệnh hại có khác nhau. Chúng tôi tiến hành theo dõi diễn biến tỷ lệ bệnh thối trên 2 thời vụ khác nhau. Thời vụ 1 gieo từ ngày 15/10/2004, thời vụ 2 gieo ngày 15/11. Bệnh thối vi khuẩn xuất hiện chủ yếu trên thời vụ 1 bắt đầu ngày 22/2 với tỷ lệ bệnh 1%, sau đó tỷ lệ bệnh tăng dần theo nhiệt độ, ẩm độ và giai đoạn sinh trưởng của cây. Ở giai đoạn thu hoạch, tỷ lệ bệnh lên tới 74%. Ở thời vụ 2, bệnh xuất hiện muộn hơn (28/2) và với tỷ lệ thấp hơn, chỉ 20% ở giai đoạn thu hoạch quả đợt 2 (giảm 3,7 lần so với thời vụ 1), do đó ít ảnh hưởng đến năng suất hơn.



Chú thích:

Tv 1: thời vụ 1

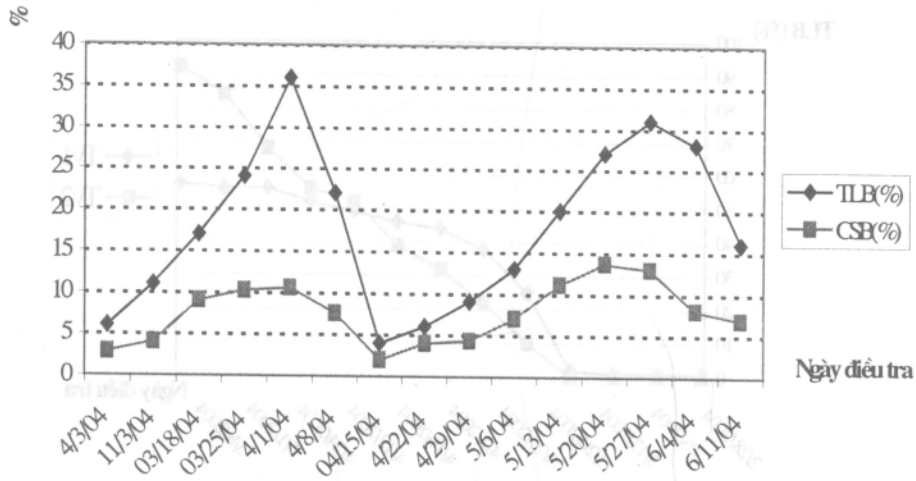
Tv 2: thời vụ 2

Hình 4. Diễn biến bệnh héo xanh trên cúc gai dài

Đối với bệnh héo vi khuẩn cũng xuất hiện trên thời vụ 1 sớm hơn, chỉ 57% ở vào giai đoạn thu hoạch quả, bệnh bắt đầu xuất hiện trên thời vụ 1 ngày 28/2 với tỷ lệ 1% sau đó không tăng cho đến ngày 17/3 bệnh xuất hiện với tỷ lệ 2% và tăng dần lên 57% ở giai đoan thu hoạch quả đợt 2. Trên thời vụ 2, bệnh xuất hiện với thời gian muộn hơn vào ngày 21/3 với tỷ lệ 10% ở giai đoạn ra nụ. Sau đó tỷ lệ bệnh tăng dần theo ẩm độ và giai đoạn sinh trưởng của cây. Ở giai đoạn thu hoạch quả đợt, tỷ lệ bệnh là 87% (tăng 1,53%) so với thời vụ 1. Bệnh thường chỉ xuất hiện sau những trận mưa với tỷ lệ rất cao. Nếu không kịp thời khai thoát nước bệnh lây lan rất nhanh. Ở thời vụ 3 gieo ngày (15/12) bệnh héo vi khuẩn xuất hiện rất muộn và với tỷ lệ hại không đáng kể, ít ảnh hưởng đến năng suất dược liệu.

3.3.5. Diễn biến bệnh đốm lá (Alternaria sp.) trên bạch truật

Trong điều kiện thời tiết vụ đông xuân 2003 - 2004 thành phần bệnh hại trên cây bạch truật là phong phú. Trong số này bệnh đốm lá gây hại chủ yếu với tỷ lệ cao. Ban đầu, vết bệnh thường có màu tím sau chuyển dần sang màu nâu bạc. Bệnh thường xuất hiện trên các lá non, lan từ mút lá vào, giữa vết bệnh và mô lá không có viền. Kết quả điều tra diễn biến tỷ lệ bệnh đốm lá được trình bày trong hình 5.



Hình 5. Diễn biến tỷ lệ bệnh đốm (Alternaria sp.*) trên bạch truật*

Qua hình 5 chúng tôi thấy thời gian đầu phun định kỳ 1 tuần 1 lần thuốc phòng trừ nấm như hợp chất vi lượng TS 96, gicarbon F75, BTN nấm bệnh chưa xuất hiện. Đến đầu tháng 3 khi ngừng phun thuốc phòng, nấm bệnh bắt đầu xuất hiện, ngày ngày 4/3 với tỷ lệ 6%, chỉ số bệnh thấp 2,86%. Khi ẩm độ không khí cao, diện tích lá tăng là điều kiện thuận lợi cho nấm bệnh phát triển, do đó tỷ lệ bệnh tăng dần và cao nhất là 36% ở giai đoạn cây bắt đầu ra nụ tương ứng với chỉ số bệnh 10,56%. Sau khi tiến hành ngắt búp và nụ đợt 1 tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh bắt đầu giảm. Ở giai đoạn ngắt búp và nụ đợt 2 (do bệnh chủ yếu tập trung trên các lá non) nên tỷ lệ bệnh chỉ còn 4% với chỉ số bệnh tương ứng là 2%. Tỷ lệ bệnh lại tiếp tục tăng dần khi cây ở giai đoạn nhú mầm và ra nụ, đồng thời do nhiệt độ tăng, nên tỷ lệ bệnh tăng rất cao 31% ở giai đoạn cây kết quả với chỉ số bệnh tương ứng 13,00%. Ở giai đoạn cây lụi dần, diện tích lá non giảm do đó tỷ lệ bệnh lại giảm từ 31% xuống 16% ở giai đoạn cây lụi dần với chỉ số bệnh tương ứng là 6,89%. Như vậy, diễn biến tỷ lệ bệnh đốm lá phụ thuộc vào giai đoạn sinh trưởng của cây và nhiệt, ẩm độ không khí.

IV. KẾT LUẬN

+ Trên 7 cây thuốc trồng ở Hà Nội và vùng phụ cận bước đầu đã điều tra thấy có 43 loài sâu và 21 loài bệnh hại.

+ Có 7 loài côn trùng và nhện hại nghiêm trọng là sâu khoang, sâu cuốn lá, bọ xít xanh, bọ xít gai, nhện trắng, sâu xanh bướm trắng và sâu xanh.
+ Có 3 loài bệnh hại quan trọng là bệnh đốm lá, bệnh héo xanh và bệnh thối vi khuẩn.
+ Trong vụ xuân hè sự phát sinh gây hại của sâu và bệnh hại mạnh là cuối tháng 3 đến hết tháng 4. Nhìn chung, mật độ sâu và tỷ lệ bệnh phụ thuộc vào sự gia tăng dần của nhiệt độ, thời gian phát triển của cây (đa số sâu bệnh hại nhiều khi cây có nụ ra hoa).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Bảo vệ thực vật, (1995), Điều tra thu thập thành phần sâu bệnh hại.
2. Võ Văn Chi,(1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB. Y học.
3. Đường Hồng Dật, (1979), Những nghiên cứu về bảo vệ thực vật, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
4. Nguyễn Văn Đĩnh, (2003), Nhện hại cây trồng và biện pháp phòng chống, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội;
5. Phan Thúy Hiền, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Xuân Trường và cs., (2000), Điều tra đánh giá thành phần bệnh hại trên cây bạch truật tại Sa Pa, Lào Cai, Tạp chí Dược liệu, Tập 5, số 4.
6. Viện Bảo vệ thực vật, (1997), Phương pháp nghiên cứu BVTV Tập 1, NXB. Nông nghiệp.
7. Viện Bảo vệ thực vật, (2000), Phương pháp nghiên cứu BVTV Tập 3, NXB. Nông nghiệp.

NGHIÊN CỨU NẤM BỆNH *SCLEROTIUM ROLFSII* HẠI CÂY BẠCH TRUẬT VÀ KHẢO SÁT MỘT SỐ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Ngô Quốc Luật, Vũ Thị Tuyết Mai,
Lê Phúc Hạo

SUMMARY

Sclerotium rolfsii associated with Atractyloides macrocephala Koidz. *and initial study on some control measures.*

There are a number of diseases associated with Atractyloides macrocephala Koidz. *cultivated for medicinal materials and seeds. Stem base rot caused by Sclerotium rolfsii was found as the most devastating disease. Sclerotium rolfsii isolated from A. macrocephala grows best on PGA medium with the most sclerotia produced at pH = 6. Sclerotium rolfsii usually develops well and produces the most sclerotia at 30^0C. However, Sclerotium rolfsii isolated from A. macrocephala is able to develop well at higher temperatures from 30-35^{oC}.*

Trichoderma viride, a biological product, can inhibit the growth of S. rolfsii at 85.49% effect. Trichoderma viride can be applied to control this fungus in the field. Sclerotium rolfsii can also be killed using Ridomil 0.05% with 100% effect after 3 days of growth.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm *Sclerotium rolfsii* gây bệnh héo rũ gốc mốc trắng (HRGMT) là một trong những bệnh nguy hiểm nhất trên cây trồng cạn Việt Nam. Bệnh nhanh chóng làm cây chết và làm mất năng suất ở cả phần trên mặt đất (hoa, quả) và phần dưới mặt đất (thối củ). Khi thời tiết nắng nóng và ẩm ướt, khí hậu thay đổi đột ngột, mưa nắng thất thường làm cho bệnh héo rũ gốc mốc trắng tăng lên đáng kể.

Nấm *S. rolfsii* là loài nấm có phổ ký chủ rộng, gây hại cho nhiều cây trồng khác nhau như cà chua, lạc, đậu tương, khoai tây, mía, bông... Nấm có thể gây

hại ở nhiều bộ phận khác nhau của cây trồng, ở nhiều giai đoạn sinh trưởng, từ cây con đến khi cây ra hoa, tạo quả.

Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Kim Vân và cs. (2000) thì khi cây trồng mới bị bệnh thường bị héo rũ vàng, giai đoạn cuối cây bị đổ rạp xuống và chết. Trên cây bị bệnh, phần gốc thân và phần mặt đất xung quanh hình thành những hạch nhỏ có màu trắng khi non, màu nâu khi già. Nấm *S. rolfsii* là loài gây hại chủ yếu và đặc biệt nguy hiểm ở Việt Nam, nấm có khả năng bảo tồn dưới dạng hạch nên việc phòng trừ rất khó khăn.

Bạch truật (*Atractylodes macrocephala* Koidz) là cây thuốc quý được Viện Dược liệu nhập từ Trung Quốc vào Việt Nam từ nhiều năm nay và đang là một trong những dược liệu đầu vị không thể thiếu được trong các bài thuốc quan trọng, trở thành hàng hóa và được trồng trên diện tích rộng ở nhiều địa phương trong nước. Tuy vậy, trong quá trình trồng trọt cây bạch truật bị rất nhiều sâu bệnh phá hại trong đó bệnh là một trong những nguyên nhân chủ yếu gây mất ổn định năng suất, chất lượng dược liệu cũng như chất lượng và năng suất hạt giống hàng năm. Đặc biệt bệnh HRGMT do nấm *S. rolfsii* gây hại trên cây bạch truật là một bệnh hại nguy hiểm nhất, gây ra thiệt hại đáng kể. Nếu cây bị bệnh nặng, nấm bệnh sẽ lây lan rất nhanh và làm thất thu hoàn toàn sản phẩm từ cây trồng.

Cuối năm 2003 Viện Dược liệu được Bộ Y tế đồng ý cho tiến hành nghiên cứu đề tài về sâu bệnh hại của một số cây thuốc quan trọng, trong đó có cây bạch truật. Chúng tôi đã nghiên cứu và phân lập được các thành phần sâu bệnh hại trên cây bạch truật, đã phát hiện được nấm bệnh HRGMT (*S. rolfsii*) là một trong những loại nấm bệnh gây hại nguy hiểm nhất. Để chủ động việc phòng chống có hiệu quả, chúng tôi đã đi sâu nghiên cứu nấm bệnh *S. rolfsii* gây hại trên cây bạch truật và khảo sát một số biện pháp phòng trừ.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nội dung nghiên cứu

- Điều tra thu thập mẫu, giám định và mô tả triệu chứng các loại bệnh hại trên các vùng trồng cây thuốc (Hà Nội, Hưng Yên và Lào Cai).

- Điều tra diễn biến bệnh HRGMT do nấm *S. rolfsii* gây hại trên cây bạch truật vụ hè thu 2004 tại Thanh Trì - Hà Nội, Văn Giang - Hưng Yên và Sa Pa - Lào Cai.

-Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của nấm *S. rolfsii* trong phòng thí nghiệm.

-Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng, pH, và nhiệt đến sự sinh trưởng phát triển của *Isolate* nấm *S. rolfsii* từ cây bạch truật và so sánh với *Isolate* nấm *S. rolfsii* từ cây lạc, đậu tương, cà chua, phong lan.

-Thí nghiệm thử nghiệm hiệu lực của thuốc hoá học, chế phẩm sinh học, nấm đối kháng *Trichoderma viride* đối với nấm *S. rolfsii* trong phòng thí nghiệm.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

** Phương pháp nghiên cứu ngoài đồng ruộng*

-Phương pháp điều tra thu thập thành phần bệnh hại tiến hành (Theo Cục BVTV 1995) [2].

-Tại các địa điểm: Sa Pa - Lào Cai, Thanh Trì - Hà Nội, Văn Giang - Hưng Yên. Toàn bộ mẫu bệnh hại được xử lý theo các phương pháp của Viện BVTV và Trường đại học Nông nghiệp I. Giám định được các chuyên gia của hai Bộ môn Côn trùng và Bệnh cây Nông dược Trường đại học Nông nghiệp I thực hiện theo các khóa phân loại sâu bệnh hại 1980 - 2002. Điều tra định kỳ 7 ngày một lần.

-Diễn biến số lượng và tỷ lệ sâu bệnh hại chính theo phương pháp 5 điểm chéo góc quy định về cây công nghiệp của Cục Bảo vệ thực vật (1995) [2].

** Phương pháp nghiên cứu trong phòng:*

-Chế tạo môi trường: Môi trường PGA (khoai tây không gọt vỏ 250g, đường glucose 20g, agar 20g, nước cất 1000ml); Môi trường SPA (Sucrose pepton agar); Môi trường PCA (potato carrot agar); Môi trường WA (agar 20g ; 100ml nước cất); Môi trường CLA (agar lá cẩm chướng).

-Phương pháp giám định, chẩn đoán bệnh: Giám định nấm gây bệnh theo tài liệu của H.L Barnett và Barry B.Hurter (1998) [11].

-Phương pháp phân lập nấm bệnh: Phân ly nấm bệnh được tiến hành theo Kirali - clement do Vũ Khắc Nhượng, Hà Minh Trung dịch (1983), Cester, W. Burgess và các cộng sự (2001), Nguyễn Văn Tuất (1997), Backhouse D và CTV (1995). [7], [8].

-Nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng, phát triển của nấm *Sclerotium rolfsii* gây hại bạch truật: Nghiên cứu đặc điểm hình thái và sự phát triển của nấm *S. rolfsii*

trên môi trường PGA, SPA, PCA, WA, nhiệt độ: 25^0C, 30^0C, 35^0C và pH5, pH6, pH7, pH8.

-Nghiên cứu hiệu lực của nấm đối kháng *Trichoderma viride* với nấm *Sclerotium rolfsii* trên môi trường PGA.

-Tính hiệu lực thuốc theo công thức Abbott.

-Phương pháp xử lý số liệu: Theo chương trình IRRISTAT.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Giám định thành phần bệnh nấm hại trên cây bạch truật

Đã giám định được thành phần bệnh hại trên cây bạch truật gồm có 7 loại, dưới đây nêu 6 loại cụ thể:

* Nấm *Sclerotium rolfsii*: Tản nấm xốp như bông, không màu, mọc đâm tia. Sợi nấm đa bào, không màu, trên sợi nấm có mấu lồi, phân nhánh nhiều, t^0C thích hợp 30^0C. Hạch nấm hình tròn khi non màu trắng và chuyển dần sang màu vàng và cuối cùng là màu nâu, đường kính hạch nấm từ 0,5 – 1,2 mm. Số lượng hạch hình thành 1136 hạch. Vị trí hình thành: đỉnh sợi nấm.

Sự xuất hiện bệnh lúc đầu trên mặt đất xung quanh gốc cây có những sợi nấm trắng giống như sợi chỉ, mọc chi chít, dần dần lan rộng ra xung quanh gốc cây và lớp đất sâu 10 – 15 cm. Xung quanh cổ rễ, 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.

Diễn biến nấm bệnh héo rũ gốc mốc trắng do nấm *S. rolfsii* (HRGMT) gây hại trên cây bạch truật ở cả Văn Giang và Sa Pa, tỉ lệ bệnh dao động từ 5.5% - 38% ở Văn Giang, và từ 16% - 20% ở Sa Pa. Tại Văn Giang (Hưng Yên) bạch truật trồng ở đất trũng có tỉ lệ bệnh cao hơn so với chân đất cao. Tại chân đất trũng, lúc đầu tỉ lệ bệnh chỉ là 8,4% và tăng dần đến ngày 23/7 tỉ lệ bệnh đạt 16% và vào ngày 30/7 tỉ lệ bệnh tăng nhanh đạt 38%. Vào thời điểm này thời tiết khí hậu rất thất thường, ngày nắng nhiệt độ cao và giảm dần về đêm lại có mưa. Đây cũng là một trong những nguyên nhân làm tỉ lệ bệnh HRGMT gây hại cây bạch truật tăng lên đáng kể. Tại chân đất cao, tỉ lệ bệnh đợt điều tra đầu tiên là 5,5% sau đó tăng dần đạt 22% ở đợt điều tra cuối cùng, đây cũng là thời điểm thu hoạch củ. Trong khi đó tại Sa Pa trên vùng trồng bạch truật để làm giống vào thời điểm chúng tôi điều tra ngày 14/10, tỉ lệ bệnh

HRGMT cũng đạt 20% ở chân đất trũng và 16% ở chân đất cao. Bệnh HRGMT gây hại cây bạch truật lây lan nhanh trên đồng ruộng vào thời điểm phát triển củ đến khi thu hoạch. Tại Văn Giang bệnh hại nghiêm trọng làm ảnh hưởng lớn tới năng suất, chất lượng củ, những củ bị bệnh thường bị thối, hỏng, không có giá trị sử dụng. Ở Sa Pa bệnh làm củ thối, chết cây, giảm chất lượng hạt giống và củ giống. Chính vì vậy, nhiều hộ nông dân trồng cây bạch truật tại Văn Giang (Hưng Yên) cũng như ở Sa Pa bị thiệt hại về kinh tế do bệnh gây ra phát sinh vào tháng 6 và phát triển mạnh vào cuối tháng 6 - giữa tháng 7 tại Văn Giang - Hưng Yên và vào tháng 8 - tháng 10 tại Sa Pa - Lào Cai. Bệnh hại nặng trên cây bạch truật trồng năm thứ 2 và năm thứ 3 lấy hạt giống ở Sa Pa, bệnh gây thối cổ rễ rồi lan xuống củ. Bệnh lây lan rất nhanh, làm chết cây hàng loạt.

* *Nấm Rhizoctonia solani*

Có tản nấm trắng, xốp như bông. Sợi nấm đa bào, màu trắng xám, tế bào sợi nấm dài, có vách ngăn gần chỗ phân nhánh, phân nhánh vuông góc. Hạch nấm màu tối, dẹt, bề mặt thô. Vị trí hình thành đỉnh sợi nấm. Bệnh gây hại ngay sau khi hạt mới nẩy mầm, gây hiện tượng chết mầm. Bạch truật dễ bị nhiễm bệnh nhất là giai đoạn cây con có 2 - 3 lá thật. Ở gốc thân sát mặt đất rễ, cổ rễ bị thâm đen, teo thắt lại, cây 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, nhanh bao bọc quanh cổ rễ. Bộ phận bị bệnh ở cổ rễ thối nhũn hình thành một lớp nấm màu trắng xám, khi nhổ cây lên thường bị đứt ở gốc thân và cổ rễ. Bạch truật được trồng ở Hà Nội vào trung tuần tháng 11 là thời điểm thuận lợi cho nấm *Rhizoctonia solani* phát triển và gây hại. Qua quan sát, chúng tôi đã tìm thấy nấm hình thành và hạch nấm tồn tại trên đồng ruộng ở khu vực bị bệnh.

* *Nấm Pestalozia sp.*

Có tản nấm trắng kem, có nhiều ổ dịch bào tử màu đen nổi trên bề mặt môi trường. Sợi nấm đa bào, phân nhánh nhiều, không màu. Đĩa cành màu nâu chuyển dần sang màu đen, bào tử phân sinh hình thoi dài, thẳng hoặc hơi cong có 3 - 4 màng ngăn ngang, 2 ngăn ngoài cùng ở 2 đầu không màu, còn tế bào ở giữa màu xám sẫm, trên đỉnh tế bào có 3 lông toẻ ra. Kích thước: 25 - 35 x 5 - 8µm.

* Nấm *Curvularia* sp.

Có tản nấm xanh đen. Sợi nấm và biến thái đa bào, phân nhánh nhiều, màu nâu đậm. Cành bào tử mọc đơn hoặc cụm (từ 3-10 cành), đa bào, màu nâu đậm,

đỉnh hơi tròn, kích thước: 70 - 220 x 6 -8μm. Đa bào có 1 - 5 ngăn ngang, đa số 3 ngăn, hơi cong hình vai ngựa.

* Nấm *Alternaria alternata*: Có tản nấm xanh đen. Sợi nấm đa bào, phân nhánh nhiều, màu nâu đậm. Cành bào tử phân sinh không phân nhánh, mọc riêng rẽ, hình gậy thẳng hoặc hơi cong, hình quả chuỳ, màu nâu nhạt đến màu nâu tối, có từ 3 - 5 vách ngăn dọc ở tế bào thứ 2 và tế bào thứ 3. Bào tử thường hình thành chuỗi, có vòi ngắn.

* *Nấm Fusarium solani*

Bạch truật bị bệnh vào tháng 5, kéo dài suốt mùa mưa đến khi thu hoạch củ tháng 7 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội, Văn Giang - Hưng Yên và vào tháng 10 tại Sa Pa - Lào Cai. Bệnh lây lan làm chết cây trong mùa mưa, khi nhổ lên củ đã bị thối. Bệnh hại nghiêm trọng ở những chân ruộng trũng, khó thoát nước. Bạch truật bị bệnh, rễ thường bị đứt, kém phát triển, cắt ngang rễ, củ thấy có màu nâu nhạt. Bệnh nặng, củ bị thối, lá ngả màu vàng.

3.2. Thành phần bệnh hại cây bạch truật điều tra tại Thanh Trì - Hà Nội, Văn Giang - Hưng Yên, Sa Pa - Lào Cai

Bảng 1. **Thành phần bệnh hại trên cây bạch truật vụ hè - thu 2004**

Bệnh hại	Nguyên nhân gây bệnh	Bộ phận bị hại	Địa điểm lấy mẫu
1. Lở cổ rễ	*Rhizoctonia solani*	Gốc thân, rễ	Sa Pa, Thanh trì.
2. Thối củ	*Fusarium solani*	Củ, rễ	Văn Giang, Sa Pa, Thanh Trì
3. Đốm nâu, cháy lá	*Pestaloria sp.*	Thân, lá	Sapa, Văn Giang
4. Đốm vòng	*Alternaria alternata*	Thân, lá	Văn Giang
5. Đốm đen	*Curvularia sp.*	Lá	Văn Giang
6. Héo rũ gốc mốc trắng (HRGMT)	*Sclerotium rolfsii*	Rễ, thân	Sapa, Văn Giang
7. Thối mục gốc	*Botryodiplodia*	Gốc thân, cổ rễ	Sa Pa, Văn Giang

Qua giám định và phân lập thành phần bệnh hại trên cây bạch truật ở một số vùng trồng như đã nêu trên, cho thấy nấm *S. rolfsii* là một trong những bệnh gây

hại nguy hiểm nhất đối với cây bạch truật. Trước đòi hỏi của sản xuất và nhiệm vụ đặt ra của đề tài bảo vệ thực vật cấp Bộ về nghiên cứu phòng trừ một số bệnh hại trên cây thuốc, chúng tôi tiến hành nghiên cứu sâu nấm *S. rolfsii* hại cây bạch truật tại các vùng trồng cây thuốc ở Thanh Trì (Hà Nội), Văn Giang (Hưng Yên), và Sapa (Lào Cai). Sau đây là kết quả nghiên cứu về đặc điểm sinh học của nấm *S.rolfsii* hại trên cây bạch truật.

3.3. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của nấm *S. rolfsii* hại trên cây bạch truật

3.3.1. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến sự sinh trưởng của nấm S. rolfsii

Mỗi loài nấm đều có khả năng sinh trưởng, phát triển khác nhau trên các loại môi trường khác nhau. Để tìm hiểu khả năng sinh trưởng của nấm *S.rolfsii* gây hại trên cây bạch truật so sánh với các isolate *S.rolfsii* từ các cây cà chua, lạc, đậu tương và phong lan trên các môi trường dinh dưỡng chúng tôi tiến hành nuôi cấy nấm trên 4 loại môi trường WA, PCA, PSA, PGA ở 25^0C với chế độ ánh sáng 12 giờ chiếu sáng và 12 tối/1 ngày. Kết quả thu được như sau:

So sánh sự phát triển của isolate bạch truật trên 4 loại môi trường trên với 5 loại *Isolate* mà chúng tôi phân lập được cho thấy: Đường kính tản nấm và số lượng hạch hình thành trên các môi trường dinh dưỡng có sự biến động lớn. Trên môi trường PGA isolate trên cây bạch truật có đường kính tản nấm lớn nhất và số lượng hạch sinh ra nhiều nhất, tiếp đến là môi trường PCA có 528 hạch nấm hình thành và môi trường WA chỉ có 11 hạch. Trên môi trường PSA, *Isolate* của nấm *S. rolfsii* phát triển tốt hơn trên môi trường WA nhưng trên môi trường PSA hạch nấm chưa hình thành còn trên môi trường WA thì hình thành rất ít như *Isolate* trên cây bạch truật, số lượng hạch chỉ bằng gần 1/100 lần số lượng hạch ở môi trường PGA. Riêng trên cây phong lan môi trường WA cũng chưa có hạch nấm. So sánh các *Isolate S. rolfsii* trên các loại môi trường cho thấy *Isolate S. rolfsii* từ cây bạch truật phát triển tốt trên môi trường PGA như các *Isolate* từ cà chua và phong lan, riêng *Isolate* từ cây lạc và đậu tương phát triển tốt trên môi trường PCA.

3.3.2. Ảnh hưởng của pH môi trường đến sự sinh trưởng của nấm S.rolfsii

Nhiều tài liệu nghiên cứu trong và ngoài nước đều khẳng định các cây trồng chịu ảnh hưởng lớn của độ pH đất. Như vậy độ pH đất có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển của nấm *S.rolfsii* hay không và ngưỡng pH nào thích hợp nhất

với loài nấm này. Để làm sáng tỏ vấn đề này chúng tôi tiến hành nuôi cấy các *Isolate* của nấm *S.rolfsii* từ bạch truật và các cây trồng khác ở các ngưỡng pH khác nhau: pH5, pH6, pH7, pH8 trên môi trường PGA. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 2.

***Bảng 2.* Ảnh hưởng của pH môi trường đến sự sinh trưởng của nấm *S. rolfsii* trên môi trường PGA**

pH	*Isolate* nấm *S.rolfsii* trên cây	Đường kính tản nấm sau cấy (mm)			Số lượng hạch nấm hình thành sau 2 tuần cấy
		1 ngày	**2 ngày**	**3 ngày**	
5	Bạch truật	18,33	50,66	70,00[a]	920
	Phong lan	14,67	38,67	62,33[b]	200
	Cà chua	10,67	30,33	55,33[c]	1096
	Lạc	9,67	28,33	54,67[c]	816
	Đậu tương	1,33	32,33	55,67[c]	736
6	Bạch truật	21,33	60,33	85,00[a]	1320
	Phong lan	15,67	40,33	64,33[b]	92
	Cà chua	12,00	32,67	56,33[b]	848
	Lạc	14,67	37,67	61,33[b]	792
	Đậu tương	15,00	35,67	59,67[b]	936
7	Bạch truật	15,67	42,33	57,67[c]	824
	Phong lan	14,67	38,33	60,33[b]	80
	Cà chua	8,33	27,67	52,67[d]	744
	Lạc	13,33	35,67	62,33[b]	712
	Đậu tương	18,33	41,33	66,67[a]	520

8	Bạch truật	11,33	31,33	52,67[b]	632
	Phong lan	9,67	33,33	54,33[b]	28
	Cà chua	8,67	26,00	51,33[b]	648
	Lạc	7,67	28,0	49,33[b]	640
	Đậu tương	12,67	35,33	63,00[a]	88

Số liệu bảng trên cho thấy các *Isolate* mà chúng tôi phân lập được trên cây bạch truật đều sinh trưởng và phát triển được ở 4 ngưỡng pH khác nhau nhưng phát triển thuận lợi hơn ở pH = 6, rồi đến pH = 5, pH = 7, pH = 8. Điều đó chứng tỏ rằng *isolate* mà chúng tôi phân lập được trên cây bạch truật, phong lan, cà chua, lạc phát triển tốt trên môi trường hơi chua - trung tính.

Như vậy nấm *S. rolfsii* phân lập trên cây bạch truật có khả năng thích nghi với khoảng pH rộng, do đó chúng phân bố ở hầu khắp các vùng canh tác, khi ở khoảng pH thích hợp nhất chúng sẽ phát triển, lây lan nhanh và làm thiệt hại đáng kể đến cây bạch truật trồng ở Văn Giang và Sa Pa, làm thối củ, giảm năng suất và chất lượng hạt giống.

3.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng của nấm S.rolfsii trên môi trường PGA

Nhiệt độ thích hợp với ẩm độ cao là những yếu tố quan trọng đối với sự sinh trưởng, phát triển của nấm. Nhiệt độ góp phần quyết định sự xuất hiện, phát sinh, phát triển của bệnh trên đồng ruộng. Để tìm hiểu ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng của nấm loài *S. rolfsii* và biết được ngưỡng nhiệt độ nào thích hợp nhất với *isolate* trên cây bạch truật chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm ở các mức nhiệt độ: 25^0C, 30^0C và 35^0C trên môi trường PGA. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3.* Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm *S. rolfsii

Nhiệt độ	Isolate nấm *S. rolfsii* trên cây	Đường kính tản nấm sau cấy (mm)			Số lượng hạch nấm hình thành sau 2 tuần
		1 ngày	2 ngày	3 ngày	
25°C	Bạch truật	22,00	53,33	80,33[a]	708
	Phong lan	15,00	49,33	68,67[c]	62
	Cà chua	20,67	50,67	75,33[b]	744
	Lạc	17,00	50,33	71,33[b]	536
	Đậu tương	14,67	47,67	73,67[b]	564
30°C	Bạch truật	30,00	73,67	85,00[a]	1264
	Phong lan	17,33	50,33	85,00[a]	36
	Cà chua	21,67	67,33	85,00[a]	976
	Lạc	18,67	58,00	85,00[a]	648
	Đậu tương	23,00	82,67	85,00[a]	480
35°C	Bạch truật	22,33	61,33	85,00[a]	848
	Phong lan	13,67	40,00	64,67[d]	56
	Cà chua	17,00	48,33	71,33[c]	528
	Lạc	15,00	45,00	62,33[d]	888
	Đậu tương	17,33	57,67	75,33[b]	1064

Bảng trên cho thấy, *isolate* trên cây bạch truật, cà chua có khả năng hình thành lượng hạch nhiều nhất ở 30^0C. *Isolate* trên cây đậu tương, lạc có số lượng hạch sinh ra là nhiều nhất ở nhiệt độ cao hơn trên cây bạch truật. Còn *isolate* phân lập trên cây phong lan có số lượng hạch sinh ra nhiều nhất ở 25^0C thấp hơn hẳn trên trên bạch truật.

Kết quả nghiên cứu trên cho thấy: Nấm *S. rolfsii* có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt và đồng đều nhất trên môi trường nhiều dinh dưỡng PGA, với khoảng nhiệt độ và pH khá rộng. Nhiệt độ, pH đất và môi trường dinh dưỡng là

những yếu tố quan trọng cùng tác động đồng thời đến sự sinh trưởng, tồn tại và khả năng xâm nhiễm, hình thành hạch của nấm *S. rolfsii*. Sự thích nghi rộng đó giải thích cho sự phân bố rộng rãi và khả năng xâm nhiễm, gây hại trên nhiều loại đất canh tác ở nhiều mùa vụ khác nhau của nấm *S. rolfsii. Isolate* của nấm *S.rolfsii* mà chúng tôi phân lập được trên cây bạch truật có khả năng sinh trưởng, phát triển và hình thành hạch nhiều nhất so với các *isolate* được phân lập trên cây cà chua, lạc, đậu tương, phong lan đặc biệt ở nhiệt độ cao, pH môi trường hơi chua. Vì vậy trong điều kiện nóng, ẩm nhiều, đất thịt nặng, thoát nước kém bệnh dễ phát sinh và lây lan nhanh.

3.3.4. Kết quả lây bệnh nhân tạo

Để biết được *isolate* của nấm *S. rolfsii* trên cây bạch truật có gây hại cho các cây trồng khác hay không và mức độ nhiễm ra sao, thời kì tiềm dục như thế nào, chúng tôi tiến hành lây bệnh nhân tạo *isolate* của nấm *S. rolfsii* phân lập trên cây bạch truật cho các cây: Bạch truật, cà chua, lạc, đậu tương, thuốc lá, dưa chuột, ích mẫu, độc hoạt, đậu xanh. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

***Bảng 4.* Kết quả lây bệnh nhân tạo**

Cây ký chủ	Số cây thí nghiệm	Số cây héo	Tỉ lệ bệnh (%)	TKTD (ngày)
Bạch truật	10	7	70	5 - 7
Độc hoạt	10	1	10	6
Ích mẫu	10	10	100	2 - 5
Dưa chuột	10	10	100	3 -5
Lạc	10	5	50	5 - 9
Đậu tương	10	7	70	4 - 7
Đậu xanh	10	10	100	4 - 6
Cà chua	10	8	80	4 - 7
Thuốc lá	10	8	80	3 -6

Qua bảng trên cho thấy: *isolate* của nấm *S.rolfsii* từ cây bạch truật có khả năng lây nhiễm trên các cây thí nghiệm với tỉ lệ bệnh từ 10 - 100%, thời kỳ tiềm dục từ 2- 9 ngày gây hại trên tất cả các cây, gây hại nặng nhất trên cây đậu xanh, ích mẫu, dưa chuột, tỉ lệ bệnh đạt 100% với thời kì tiềm dục từ 2 - 6 ngày, tỷ lệ bệnh đạt 80% ở cây thuốc lá, cây cà chua và 50%, 70% ở cây lạc và cây đậu tương. Với cây độc hoạt (họ Hoa tán) số cây bị chết ít nhất, tỉ lệ bệnh là 10% và thời kỳ tiềm dục là 6 ngày. Điều đó khẳng định rằng nếu trong cùng một điều kiện thời tiết, cùng lượng xâm nhiễm như nhau, nhưng mức độ nhiễm bệnh và thời kỳ tiềm dục của các cây khác nhau là khác nhau. Điều đó phụ thuộc vào khả năng sinh trưởng và phát triển của từng nấm và khả năng chống chịu của từng cây ký chủ, loài nào có thời kỳ tiềm dục càng ngắn thì khả năng hình thành dịch bệnh trên đồng ruộng càng cao, và việc phòng trừ bệnh càng khó khăn. Từ kết quả bảng trên còn cho thấy không nên trồng luân canh cây bạch truật với cây họ Cà, cây họ Đậu và cây trồng thuộc họ Bầu bí.

3.4. Nghiên cứu một số biện pháp phòng trừ nấm *S. rolfsii*

3.4.1 Khảo sát khả năng đối kháng của nấm Trichoderma viride đối với nấm S.rolfsii trên môi trường PGA

Để theo dõi khả năng ức chế của nấm *Trichoderma viride* đối với nấm *Sclerotium rolfsii* chúng tôi tiến hành nuôi cấy nấm *S.rolfsii* và nấm *T.viride* theo các công thức 1, 2, 3, 4, 5. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5.* Khảo sát khả năng ức chế của nấm Trichoderma viride đối với nấm *Sclerotium rolfsii

STT	Công thức	Nấm	Đường kính tản nấm sau cấy			Hiệu lực ức chế (%)
			1 ngày	2 ngày	3 ngày	
1	Đối chứng	*S.rolfsii*	18,00	52,00	85,00	
		T.viride	20,00	55,00	85,00	
2	*S.rolfsii* và *T.viride* cùng cấy cách nhau 1cm	*S.rolfsii*	12,33	17.33	12,33[a]	85,49
		T.viride	18,00	53,66	72,67	-
3	*S.rolfsii* và *T.viride* cùng cấy cách nhau 3cm	*S.rolfsii*	17,67	23,67	20,67[c]	75,57
		T.viride	19,00	53,33	64,33	

4	*S.rolfsii* cấy trước *T.viride* 1 ngày cách nhau 1cm	*S.rolfsii*	15,67	26,00	26,33[d]	72,67
		T.viride		15,33	5,.00	
5	*S.rolfsii* cấy trước *T.viride* 1 ngày cách nhau 3cm	*S.rolfsii*	18,33	28,67	29,33[e]	70,58
		T.viride		16,00	52,00	-

Bảng 5 cho thấy: Hiệu lực ức chế của nấm *T. viride* đối với nấm *S. rolfsii* ở công thức 2 đạt cao nhất là 85,49%, công thức 5 thấp nhất đạt 70,58%. Từ kết quả trên cho thấy, *T. viride* có khả năng ức chế mạnh sự phát triển của nấm *S. rolfsii*. Sau khi tản nấm *T. viride* và *S. rolfsii* tiếp giáp nhau, nấm *T.viride* phát triển mạnh mẽ lan vào tản nấm *S. rolfsii*, bao trùm và tiêu diệt nấm *S. rolfsii*. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Văn Viên, 1999 và chỉ 10 ngày sau khi cấy nấm *T. viride* sẽ chiếm chỗ và tiêu diệt nấm *S. rolfsii*.

3.4.2 Ảnh hưởng của một số thuốc hoá học đến khả năng sinh trưởng của nấm S.rolfsii trên môi trường PGA

Trong số các biện pháp phòng trừ dịch hại, biện pháp hoá học là rất quan trọng có tác dụng diệt dịch nhanh chóng mà không một biện pháp nào thay thế được khi đã hình thành dịch bệnh trên đồng ruộng. Chính vì ưu điểm nổi bật đó mà ngày càng có nhiều loại thuốc trừ nấm bệnh. Để hiểu rõ hơn về ảnh hưởng của các thuốc ridomil 68WP, topsinM 70WP, kasumin 2L, carbenzim 50WP, daconil 75WP với nấm *S. rolfsii* và tìm ra thuốc nào có khả năng ức chế, tiêu diệt nấm *S. rolfsii* và với nồng độ bao nhiêu, chúng tôi tiến hành thử thuốc trên môi trường PGA. Kết quả được trình bày ở bảng 6.

***Bảng 6.* Ảnh hưởng của thuốc hoá học đến sự sinh trưởng của nấm S. rolfsii**

STT	Loại thuốc	Nồng độ (%)	Đường kính tản nấm sau cấy (mm)			HQUC (%)
			1 ngày	2 ngày	2 ngày	
1	Topxin	0,00006	13,33	38,37	84,67	0,4
		0,0006	12,33	37,33	81,00[a]	4,7
2	Ridomil	0,0005	11,33	33,33	81,00	4,7
		0,005	12,00	29,00	64,00[c]	24,7
3	Kasumil	0,00025	13,33	34,33	82,33	3,14

		0,0025	11,33	36,67	78,33[a]	7,84
4	Carbenzim	0,0002	17,67	47,33	85,00	0,00
		0,002	12,67	38,67	82,00[a]	3,53
5	Daconil	0,0002	12,33	34,00	81,67	3,91
		0,002	12,00	31,33	67,33[b]	20,78
6	Đối chứng	-	85,00	85,00	85,00[a]	0

Như vậy trong 5 loại thuốc chúng tôi đã dùng để khảo sát ảnh hưởng tới sự phát triển của nấm *Sclerotium rolfsii* ở bảng trên, thì ridomil là thuốc tốt nhất có khả năng ức chế sự phát triển của nấm. Chính vì vậy, chúng tôi quyết định dùng thuốc ridomil cho thí nghiệm tiếp theo để tìm ra nồng độ có khả năng tiêu diệt nấm *Sclerotium rolfsii*.

3.4.3 Ảnh hưởng của thuốc ridomil tới sự sinh trưởng của nấm S. rolfsii trên môi trường PGA

Bảng 7.* Ảnh hưởng của thuốc ridomil đến sự sinh trưởng của nấm *S. rolfsii

	Nồng độ (%)	Đường kính tản nấm sau cấy (mm)			HQUC (%)
		1 ngày	2 ngày	3 ngày	
Công thức Ridomil	0,005	13,00	30,67	63,00[d]	25,88
	0,01	5,67	15,67	29,33[c]	65,49
	0,02	0,00	3,00	8,00[b]	90,58
	0,05	0,00	0,00	0,00[a]	100
Đối chứng		18,33	53,00	85,00[e]	0

Bảng 7 cho thấy: Thuốc ridomil có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *S. rolfsii* tương đối tốt. Thuốc ridomil ở 3 nồng độ 0,005%; 0,01%; 0,02% sau 3 ngày cấy đều mọc. Ở nồng độ 0,005% đường kính tản nấm sau 3 ngày là 63 mm, hiệu quả ức chế đạt 25,88%. Nhưng ở nồng độ 0,01 thì đường kính tản nấm là 29,33 mm và hiệu quả ức chế đạt 65,49%. Khi nồng độ thuốc tăng lên đến 0,02%

thì khả năng ức chế nấm mọc tương đối tốt, sau một ngày cấy nấm *S. rolfsii* chưa mọc và sau 3 ngày cấy đường kính tản nấm là 8 mm lúc này độ hữu hiệu đạt 90,58%. Tiếp tục tăng nồng độ thuốc tới 0,05% thì đã ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm *S. rolfsii* sau 3 ngày cấy và hiệu quả ức chế đạt 100%.

IV. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu bệnh hại và nấm *Sclerotium rolfsii* chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Bạch truật bị nhiễm nhiều bệnh hại: Lở cổ rễ do (*Rhizoctonia solani*), thối củ do (*Fusarium solani*), đốm nâu, cháy lá do (*Pestalozia* sp.), đốm vòng do (*Alternaria alternata*), đốm đen do (*Curvularia* sp.), héo rũ gốc mốc trắng do (*Sclerotium rolfsii*), thối mục gốc do (*Botryodiplodia*). Trong đó bệnh héo rũ gốc mốc trắng là bệnh gây chết cây làm thối củ, ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất, chất lượng dược liệu.
2. Isolate nấm *Sclerotium rolfsii* phân lập được trên cây bạch truật phát triển tốt nhất trên môi trường PGA tương đương với Isolate phân lập từ cà chua, phong lan phát triển mạnh nhất và có số lượng hạch nấm sinh ra nhiều nhất. Môi trường SPA không có khả năng cho các *isolate* của nấm *Sclerotium rolfsii* hình thành hạch sau 2 tuần cấy.
3. *Isolate* phân lập trên cây bạch truật phát triển thuận lợi ở pH = 6.
4. Nấm *Sclerotium rolfsii* có khả năng phát triển mạnh và có số lượng hạch nấm hình thành nhiều nhất ở nhiệt độ 30^0C. Riêng *Isolate* nấm *Sclerotium rolfsii* phân lập trên cây bạch truật có khoảng nhiệt độ rộng hơn, thích hợp với nhiệt độ cao hơn từ 30^0C - 35^0C.
2. Chế phẩm sinh học *trichoderma viride* có khả năng ức chế mạnh sự sinh trưởng phát triển của nấm *Sclerotium rolfsii* và hiệu lực ức chế đạt 85,49%. Như vậy có thể áp dụng biện pháp sinh học trong phòng trừ nấm *Sclerotium rolfsii*.
5. Thuốc hoá học ridomil 0,05 % có khả năng tiêu diệt nấm *Sclerotium rolfsii*, hiệu quả ức chế đạt 100% sau 3 ngày cấy nấm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ban Huấn luyện đào tạo cán bộ Trung Quốc, (2001), Kỹ thuật nuôi trồng và chế biến dược liệu - Trang 247 và 249; 832 và 833
2. Cục BVTV, (1995), Phương pháp điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, trang 89 và 102;
3. Phạm Văn Lầm (2001), Biện pháp sinh học phòng chống dịch hại. NXB. Nông Nghiệp, Hà Nội, trang 152 và 1791
4. Ngô Quốc Luật, (2001), Báo cáo kết quả nghiên cứu khoa học;
5. Ngô Quốc Luật, (1996), Nghiên cứu bệnh uloét do nấm *Plasmodiophora* sp. trên cây bạch chỉ trồng tại trại nghiên cứu cây thuốc Tam Đảo (Luận án Ths.);
6. Đoàn Thị Thanh Nhàn, (2001), Giáo trình cây thuốc – NXB. Nông Nghiệp
7. Vũ Khắc Nhượng, Hà Minh Trung, (1983), Phương pháp nghiên cứu bệnh cây – NXB. Nông Nghiệp, Hà Nội , 164 trang
8. Nguyễn Văn Tuất, (1997), Phương pháp chuẩn đoán, giám định nấm và vi khuẩn hại cây trồng, NXB. Nông Nghiệp Hà Nội, trang 55 – 78
9. Nguyễn Thị Tuấn, (1998), Báo cáo tổng kết đề tài khoa học
10. Viện Dược liệu, (2003), Phát triển Dược liệu bền vững trong thế kỷ 21
11. H.L. Barnett và Barry B. Hurter, (1998), Chuẩn đoán bệnh do virus bằng phương pháp ELISA
12. Dhingra, O.D, và Sinclair, (2001) ; J.B, (1984), Basic plant Fathology methods, Unviversidade federal de vicora, Brazil và University of Ilinois, CRC pess
13. Backhouse, D., Brown, T, Burgess. L.W. Summerel, B.A., (1995), Laboratory procedures the univitsity of sydney
14. Finholt, R.W, (1951), Improved to ximetric agar dish text for evarluation of wood preservative, Anal chem., N_0.23, p.1038.

DIỄN BIẾN MỘT SỐ BỆNH HẠI CHÍNH TRÊN CÂY BẠCH TRUẬT VÀ KHẢO SÁT BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ BỆNH THỐI GỐC MỐC TRẮNG (*SCLEROTIUM ROLFSII*) VỤ ĐÔNG XUÂN 2004 – 2005 TẠI THANH TRÌ, HÀ NỘI

Ngô Quốc Luật, Lê Khúc Hạo, Lê Khải Hoàn

SUMMARY

Three devastating diseases caused by Sclerotium rolfsii, Alternaria alternata and an unknown agent were found on Atractylodes macrocephala Koidz *cultivated in Thanh Tri, Ha Noi. Stem base rot caused by Sclerotium rolfsii occurred in April when tuber formation started, most frequently in May – June. Ring spot caused by Alternaria alternata appeared more frequently in old leaves than in young leaves and most severe in the Atractylodes grown in alluvial soil. The unidentified disease causing leaf and stem blight symptom appeared in all growth stages of the plants, affecting the photosynthesis ability.*

The results of field control experiment using Rhidomil showed that Rhidomil 68 WP was effective for controlling Sclerotium rolfsii and can be applied in field production at large scale.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bạch truật (*Atractylodes macrocephala* Koidz) là cây thuốc quý được Viện Dược liệu nhập nội từ Trung Quốc vào Việt Nam từ nhiều năm nay và một trong những thuốc đầu vị không thể thiếu được cho các bài thuốc quan trọng, nay đã trở thành cây thuốc quý được trồng nhiều và phát triển thành mặt hàng ở Việt Nam. Tuy vậy trong quá trình trồng trọt cây bạch truật bị rất nhiều sâu bệnh phá hại, trong đó bệnh hại là nguyên nhân chủ yếu gây mất ổn định năng suất, chất lượng dược liệu cũng như chất lượng và năng suất hạt giống cây trồng hàng năm.

Nghiên cứu bảo vệ thực vật (BVTV) đối với cây thuốc không nằm ngoài mục đích và yêu cầu là đạt hiệu quả cao về năng suất, chất lượng cây trồng, tránh ô

nhiễm môi trường. Sản phẩm từ cây trồng làm thuốc còn mang tính đặc thù của ngành y tế là tạo ra các loại dược liệu sạch, đảm bảo an toàn cho người sử dụng. Để đạt được điều này chúng ta cần nghiên cứu thành phần bệnh hại trên cây bạch truật, nắm được quy luật phát sinh, phát triển từ đó có thể tìm biện pháp xử lý phòng trừ hữu hiệu.

Xuất phát từ mục tiêu đó, cuối năm 2003 Viện Dược liệu được Bộ Y tế đồng ý cho tiến hành thực hiện đề tài nghiên cứu về sâu bệnh hại trên một số cây thuốc quan trọng, trong đó có cả cây bạch truật (*Atractylodes macrocephala* Koidz). Kết quả điều tra nghiên cứu đã phân lập được một số bệnh hại nguy hiểm trên cây bạch truật. Để chủ động việc phòng chống bệnh hại chính, trong vụ đông xuân 2004 - 2005 tại Thanh Trì - Hà nội, chúng tôi đã nghiên cứu khảo sát biện pháp phòng trừ nấm bệnh *Sclerotium rolfsii (S.rolfsii)* trên đồng ruộng, đây là một trong những loại nấm gây hại nguy hiểm nhất đối với cây bạch truật.

II. MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Xác định thành phần, nguyên nhân gây bệnh hại chính trên cây bạch truật và khảo sát biện pháp phòng trừ.

- Điều tra thành phần bệnh hại trên cây bạch truật tại Trung tâm Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội và một số địa phương trồng cây thuốc khác.

- Điều tra diễn biến một số bệnh hại chủ yếu trên bạch truật tại Trung tâm.

- Thu thập mẫu và giám định nguyên nhân gây bệnh.

- Khảo sát hiệu quả phòng trừ bệnh hại trên bạch truật: Thí nghiệm khảo nghiệm hiệu lực thuốc trên đồng ruộng bằng biện pháp hoá học đối với nấm *S. rolfsii* hại cây bạch truật.

III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Ngoài đồng

* *Phương pháp điều tra:* theo phương pháp của Cục Bảo vệ thực vật (1995).

- Điều tra ngẫu nhiên trên các ruộng trồng cây thuốc tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến dược liệu Hà Nội và vùng phụ cận.

- Điều tra diễn biến bệnh hại chính trên cây thuốc.

- Điều tra được tiến hành định kỳ 7 ngày một lần, theo 5 điểm chéo góc.

-Thu thập mẫu, giám định và phân loại tại Trung tâm Bệnh cây nhiệt đới Trường đại học Nông nghiệp I Hà Nội.

* *Bố trí thí nghiệm:* Tiến hành biện pháp phòng trừ nấm *Sclerotium rolfsii* trên bạch truật bằng biện pháp hoá học. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh, gồm 2 công thức được nhắc lại 3 lần (mỗi lần $5m^2$) và một công thức đối chứng.

Thuốc được sử dụng là Ridomil® 68WP, liều lượng 50g thuốc/ 10 lít nước, tương ứng với nồng độ 0,034g a.i/10 lít nước và Topsin® M70WP, liều lượng 10g thuốc/10lít nước, tương ứng nồng độ 0,007g a.i/10lít nước. Thuốc được phun ướt cả phần mặt lá và phần gốc sát mặt đất. ở công thức đối chứng phun nước sạch. Trước khi xử lý thuốc tiến hành điều tra tỷ lệ bệnh (TLB) ở mỗi công thức, sau xử lý điều tra số cây còn biểu hiện triệu chứng. Hiệu lực của thuốc được đánh giá sau phun 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày, 9 ngày, và 14 ngày.

3.2. Trong phòng thí nghiệm

-Giám định nguyên nhân gây bệnh.

-Các chỉ tiêu theo dõi: Xác định tỷ lệ bệnh; Xác định chỉ số bệnh.

-Hiệu quả phòng trừ: Tính theo Henderson Tilton.

-Xử lý số liệu theo phương pháp thống kê thông thường.

IV. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

4.1. Tình hình một số bệnh hại chính trên cây bạch truật vụ đông xuân 2004 - 2005 tại Thanh Trì - Hà Nội

Bạch truật là loài cây dược liệu có nhiều công dụng khác nhau như chống loét dạ dày, tăng tiết mật, tăng cường chức năng giải độc của gan, chống viêm, chữa đầy bụng, ăn chậm tiêu, viêm ruột mãn tính. Từ những tác dụng dược lý quan trọng trên, nên cây bạch truật đã được trồng rất phổ biến ở nhiều nơi, từ đồng bằng đến miền núi và đã mang lại thu nhập cao cho người nông dân. Tuy nhiên, trên cây bạch truật đã xuất hiện nhiều loại bệnh gây hại làm ảnh hưởng lớn tới năng suất, chất lượng dược liệu và hạt giống cây trồng. Những bệnh hại nguy hiểm đã phân lập được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. **Những bệnh hại nguy hiểm trên cây bạch truật vụ đông xuân 2004 - 2005 tại Thanh Trì - Hà Nội**

Tên bệnh	*Nguyên nhân*	*Bộ phận hại*
1. Đốm vòng	*Alternaria alternata*	Thân, lá
2. Thối gốc mốc trắng	*Sclerotium rolfsii*	Rễ, thân
3. Khô thân lá	*Chưa xác định được*	Thân, lá, hoa, quả

Để xác định rõ tình hình bệnh hại trên cây bạch truật tại Thanh Trì - Hà Nội, trong vụ đông xuân 2004 - 2005 chúng tôi tiến hành điều tra diễn biến một số bệnh hại chủ yếu trên cây bạch truật.

4.1.1. Diễn biến bệnh thối gốc mốc trắng (Sclerotium rolfsii) hại bạch truật vụ đông xuân 2004 - 2005 tại Thanh Trì - Hà Nội (Kết quả điều tra được trình bày ở bảng 2 và minh họa trên biểu đồ 1)

Bảng 2 và biểu đồ 1 cho thấy, ở cả hai điểm điều tra bệnh thối gốc mốc trắng đều bắt đầu xuất hiện vào thời kỳ cây bạch truật bước vào giai đoạn hình thành củ. Tuy nhiên tỷ lệ bệnh (TLB) và diễn biến là khác nhau giữa các vùng điều tra, TLB ở Trung tâm Nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội (TTNCT&CBCTHN) là 10,67% (5/4) trong khi đó tại Duyên Hà TLB chỉ là 1,88%. Tỷ lệ bệnh ở cả hai điểm điều tra sau đó đều tăng trong những ngày tiếp theo và đạt 19,33% tại (TTNCT&CBCTHN) (12/4), tại Duyên Hà là 6,56%. Đến ngày 19/4 tỷ lệ bệnh tại (TTNCT&CBCTHN) bắt đầu giảm do được xử lý thuốc hoá học để phòng trừ. Tại Duyên Hà mức độ hại của bệnh vẫn tiếp tục tăng và đạt tỷ lệ bệnh 12,19% (26/4), sau đó tỷ lệ bệnh có xu hướng giảm do ruộng bạch truật được phun daconil kết hợp với bón vôi đến ngày 17/5 tỷ lệ bệnh chỉ còn 2,81%. Đến ngày 24/5 tỷ lệ bệnh lại tăng lên và đạt 9,06% ngày 31/5. Trong khi đó tại (TTNCT&CBCTHN) tỷ lệ bệnh giảm xuống 2,00% ngày 3/5 thì đến ngày 10/5 bắt đầu tăng trở lại và đạt 13,33% vào ngày 31/5 khi kết thúc điều tra.

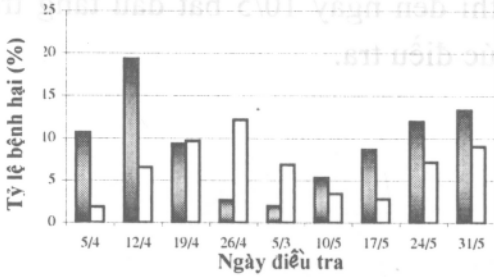
Bảng 2. **Diễn biến bệnh thối gốc mốc trắng (Sclerotium rolfsii) vụ đông xuân 2004 - 2005 tại Thanh Trì - Hà Nội**

Ngày điều tra	Tỷ lệ bệnh hại (%)		Nhiệt độ (^{0}C)	Ẩm độ (%)
	TTNCT&CBCTHN	Xã Duyên Hà, Thanh Trì		
5/4	10,67	1,88	19,4	85
12/4	19,33	6,56	21,6	82
19/4	9,33	9,69	25,5	85
26/4	2,67	12,19	24,8	86
3/5	2,00	6,88	28,3	75
10/5	5,33	3,44	29,0	83
17/5	8,67	2,81	30,8	78
24/5	12,00	7,19	30,2	76
31/5	13,33	9,06	29,1	80

4.1.2. Diễn biến bệnh khô thân lá bạch truật tại Thanh Trì - Hà Nội

Bệnh khô thân lá là một trong những bệnh gây hại phổ biến trên các ruộng trồng bạch truật. Bệnh tuy không làm chết cây nhưng lại ảnh hưởng lớn tới diện tích quang hợp, từ đó hạn chế quá trình tích luỹ dinh dưỡng để nuôi củ. Để nắm được diễn biến của bệnh này, chúng tôi đã tiến hành điều tra tại các chân đất khác nhau, kết quả thu được trình bày ở bảng 3.

Biểu đồ 1. **Diễn biến bệnh thối gốc mốc trắng tại Thanh Trì – Hà Nội**



Kết quả bảng 3 cho thấy bệnh khô thân lá hại bạch truật gây hại mạnh trên chân đất trong đê TLB cao nhất là 16,67% và chỉ số bệnh 14,40%, trong khi đó TLB cao nhất trên chân đất vùng ngoài đê là 5,00% và chỉ số bệnh 4,49%. Điều này có thể giải thích: ở vùng đất bãi ngoài đê bệnh hại nhẹ do đất ngoài đê hàng năm được bồi đắp màu mỡ và nguồn bệnh bị tiêu diệt khi có ngập, trong khi đó vùng đất trong đê được khai thác quanh năm, nguồn bệnh tích luỹ nhiều nên TLB cao và tăng nhanh.

Bảng 3.* Diễn biến bệnh khô thân lá hại bạch truật vụ đông xuân 2004 - 2005 *tại các chân đất khác nhau

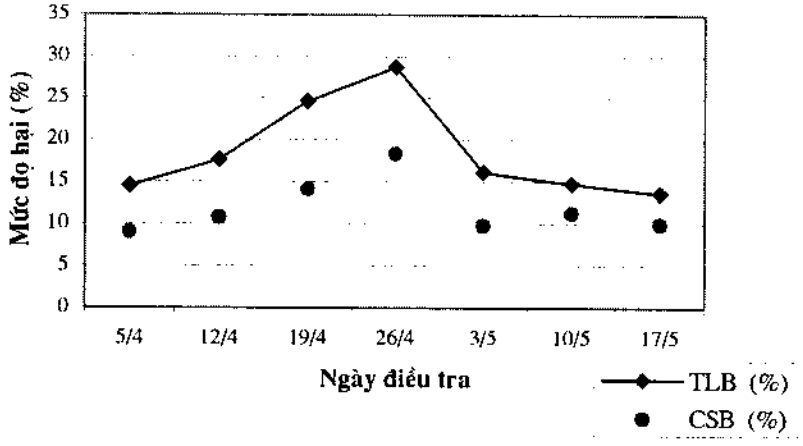
Ngày	Đất bãi ngoài đê		Đất ruộng trong đê	
	TLB (%)	CSB (%)	TLB (%)	CSB (%)
5/4	1,25	0,94	-	-
12/4	3,13	2,13	-	-
19/4	4,38	3,44	5,33	1,6
16/4	5,00	4,94	10,67	8,53
3/5	4,69	2,69	16,00	13,47
10/5	3,75	1,88	16,67	13,87
17/5	3,44	1,62	16,67	14,4

4.1.3.Diễn biến bệnh đốm vòng (Alternaria alternata) hại bạch truật vụ đông xuân 2004 - 2005 tại xã Duyên Hà - Thanh Trì (Kết quả được thể hiện ở bảng 4)

Qua bảng 4 chúng tôi nhận thấy diện tích bạch truật ở vùng này bị bệnh đốm vòng gây hại nặng. Mức độ gây hại vào ngày điều tra đầu tiên là 14,45% và chỉ số bệnh là 9,00%. Sau đó tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh tiếp tục tăng vào các ngày điều tra tiếp theo, đạt mức cao nhất cả về tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh (CSB) vào 26/4 (TLB: 28,71%, CSB: 18,32%). Sau khi tiến hành làm cỏ, bấm ngọn tỉa lá cùng với nhiệt độ tăng cao mức độ gây hại của bệnh giảm dần đến ngày 17/5 (kết thúc đợt điều tra) TLB là 13,57% và chỉ số bệnh 9,92%.

Bảng 4.* Diễn biến bệnh đốm vòng hại bạch truật vụ đông xuân 2004 – 2005 *tại xã Duyên Hà - Thanh Trì

Ngày điều tra	TLB (%)	CSB (%)	Nhiệt độ (^{0}C)	Độ ẩm (%)
5/4	14,45	9,00	19,4	85
12/4	17,58	10,74	21,6	82
19/4	24,61	14,61	25,5	85
26/4	28,71	18,32	24,8	86
3/5	16,11	9,75	28,3	75
10/5	14,75	11,25	29,0	83
17/5	13,57	9,92	30,8	78



Đồ thị 1. Diễn biến bệnh đốm vòng bạch truật tại xã Duyên Hà - Thanh Trì vụ đông xuân 2004 - 2005

4.2. Ảnh hưởng của bệnh khô thân lá đến kích thước củ bạch truật

Để đánh giá ảnh hưởng của bệnh khô thân lá tới kích thước củ bạch truật (Dược liệu) chúng tôi tiến hành đo 10 cây bệnh và 10 cây khoẻ. Kết quả thể hiện ở bảng 5.

Qua bảng 5 cho thấy bệnh khô thân la có ảnh hưởng khá lớn tới kích thước củ bạch truật. Đường kính và chiều dài củ của cây khoẻ lớn hơn gấp 1,5 lần so với củ cây bệnh. Từ đó ảnh hưởng tới trọng lượng củ. Theo chúng tôi đánh giá,

bệnh hại đã làm ảnh hưởng đến khả năng quang hợp và vận chuyển chất dinh dưỡng của cây xuống nuôi củ nên đã làm cho những cây bị nhiễm bệnh củ nhỏ đi và từ đó ảnh hưởng đến năng suất, chất lượng dược liệu.

***Bảng 5.* Ảnh hưởng của bệnh khô thân lá đến kích thước củ bạch truật**

Kích thước	Nhóm cây	
	Cây bệnh	Cây khoẻ
Đường kính (cm)	1,72 ± 0.45	2,46 ± 0,40
Chiều dài (cm)	2,85 ± 0,58	5,19 ± 0,44
Trọng lượng củ tươi (g)	150 gam	240 gam

4.3. Kết quả khảo sát biện pháp hoà học phòng trừ bệnh thối gốc mốc trắng (*Sclerotium rolfsii*) tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội vụ đông xuân 2004 – 2005

Trong nhiều biện pháp phòng trừ bệnh hại cây trồng, thuốc hoá học vẫn giữ được vai trò quan trọng, mang lại hiệu quả phòng trừ cao. Chúng tôi tiến hành khảo sát hiệu lực của 2 loại thuốc đã được chứng minh là có kết quả phòng trừ cao ở trong phòng thí nghiệm, đó là thuốc ridomil 68WP (50g/10lít nước) với hoạt chất là mancozeb (64%) và metalaxyl (4%) và thuốc topsin-M70WP (10g/10lít nước) với hoạt chất thiophanat methyl (70%), cả hai loại thuốc đều có thời gian cách ly từ 7 – 14 ngày. Kết quả thu được ở bảng 6.

***Bảng 6.* Hiệu lực của thuốc hoá học phòng trừ bệnh thối gốc mốc trắng (*S.rolfsii*) trên đồng ruộng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội vụ đông xuân 2004 – 2005**

Công thức xử lý	Hiệu lực của thuốc (%) sau xử lý									
	3 ngày		5 ngày		7 ngày		9 ngày		14 ngày	
	TLB (%)	Hiệu lực (%)	TLB (%)	Hiệu lực (%)	TLB (%)	Hiệu lực (%)	TLB (%)	Hiệu lực (%)	TLB (%)	Hiệu lực (%)
Đối chứng	16,39		16,9		17,5		20,0		21,11	
Ridomil68 WP	9,72	45,3	4,17	79,8	2,78	84,9	2,50	87,7	1,11	94,8

TopsinM70 WP	11,94	28,3	8,05	53,1	6,11	65,6	4,72	75,0	2,87	86,6
Nhiệt độ (^{0}C)	22,8		25,5		26,1		27,3		27,6	
Độ ẩm (%)	95		85		77		83		80	

Kết quả ở bảng 6 cho thấy công thức xử lý ridomil 68WP có hiệu lực phòng trừ cao sau phun 3 ngày TLB là 9,72% hiệu quả phòng trừ là 45,3%, ở công thức xử lý topsin - M70WP TLB là 11,94% hiệu lực của thuốc là 28,3%. Sau đó tiếp tục tăng lên trong những ngày sau, đến ngày thứ 14 hiệu lực đạt 94,8% với công thức xử lý bằng ridomil 68WP, trong khi đó ở công thức xử lý bằng topsin - M70WP đến 14 ngày sau phun hiệu quả phòng trừ 86,6% . Như vậy, qua kết quả thí nghiệm chúng ta nhận thấy thuốc ridomil 68 WP có hiệu quả phòng trừ cao hơn so với thuốc topsin - M70 WP. Điều này phù hợp với kết quả thử nghiệm thuốc trong phòng.

4.4. Ảnh hưởng của biện pháp phòng trừ hoá học tới năng suất củ bạch truật vụ đông xuân 2004 - 2005 tại Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội

Mục đích khi tiến hành biện pháp bảo vệ thực vật là phòng trừ dịch hại, bảo vệ năng suất và chất lượng cây trồng. Trong đó biện pháp hoá học được coi là có hiệu quả cao. Để có cơ sở lựa chọn các loại thuốc phòng trừ có hiệu quả đối với bệnh hại cây bạch truật và đảm bảo năng suất, chúng tôi tiến hành xác định năng suất thu được của các công thức. Kết quả trình bày bảng 7.

Bảng 7. **Ảnh hưởng của thuốc tới năng suất củ (dược liệu) bạch truật vụ đông xuân 2004 - 2005**

Công thức	ĐK củ (cm)	CD củ (cm)	Trọng lượng 10 củ (gam củ khô)	Tổng trọng lượng (kg củ khô/sào)
Đối chứng	2,3± 0,18	3,62± 0,32	46,7± 7,17	33,83± 9,55
Xử lý Ridomil	2,41± 0,21	3,86± 0,21	54,2± 3,59	54,83± 12,75
Xử lý TopsinM	2,15± 0,15	3,77± 0,21	48,3± 3,59	44,25± 12,91

Qua bảng 7 chúng tôi có nhận xét: ở cả hai công thức xử lý thuốc năng suất thực thu đều cao hơn so với công thức đối chứng, công thức xử lý ridomil năng suất là cao nhất 54,83 kg củ khô/sào, tiếp theo là ở công thức xử lý topsinM 44,25 kg củ khô/sào.

Kết quả xử lý thống kê cho thấy đường kính, chiều dài và trọng lượng củ của 10 cây bạch truật không có sự sai khác giữa các công thức ở mức ý nghĩa P= 95%. Tuy nhiên tổng trọng lượng củ ở ô thí nghiệm cao hơn hẳn so với đối chứng.

V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Thành phần bệnh hại trên cây bạch truật vụ đông xuân 2004 - 2005 tại Thanh Trì - Hà Nội gồm 3 loại bệnh: Thối gốc mốc trắng (*Sclerotium rolfsii)*, đốm vòng *(Alternaria alternata)* và khô thân lá.

- Bệnh thối gốc mốc trắng xuất hiện vào giai đoạn hình thành và phát triển củ (tháng 4), gây hại mạnh vào tháng 5 - 6 khi chuẩn bị thu hoạch. Bệnh khô thân lá xuất hiện gây hại trong tất cả các giai đoạn sinh trưởng và phát triển của cây đã làm ảnh hưởng lớn đến khả năng quang hợp của cây. Bệnh đốm vòng gây hại chủ yếu trên lá già và lá bánh tẻ, hại mạnh trên ruộng bạch truật ở vùng đất bãi.

- Thuốc hoá học ridomil 68WP có hiệu quả cao (>90) trong phòng trừ bệnh thối gốc mốc trắng bạch truật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ban Huấn luyện đào tạo cán bộ Trung Quốc, Kỹ thuật nuôi trồng và chế biến dược liệu - Trang 247 và 249; 832 và 833;
2. Cục BVTV, (1995), Phương pháp điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, trang 89 và 102;
3. Phạm Văn Lầm (2001), Biện pháp sinh học phòng chống dịch hại, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, trang 152 và 1791;
4. Ngô Quốc Luật, (2001), Báo cáo kết quả nghiên cứu khoa học
5. Ngô Quốc Luật, Nghiên cứu bệnh uloét do nấm *Plasmodiophora* sp. trên cây bạch chỉ trồng tại trại nghiên cứu cây thuốc Tam Đảo (Luận án Ths. 1996)

6. Đoàn Thị Thanh Nhàn, (2001), Giáo trình cây thuốc, NXB. Nông Nghiệp

7. Vũ Khắc Nhượng, Hà Minh Trung, (1983), Phương pháp nghiên cứu bệnh cây – NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, 164 trang

8. Nguyễn Văn Tuất, 1997 - Phương pháp chuẩn đoán, giám định nấm và vi khuẩn hại cây trồng, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, trang 55 – 78

9. Nguyễn Thị Tuấn, (1998), Báo cáo tổng kết đề tài khoa học.

NGHIÊN CỨU BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ SÂU, BỆNH HẠI TRÊN CÂY CÀ ĐỘC DƯỢC

Ngô Quốc Luật, Nguyễn Thị Tuấn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây, nhu cầu tiêu thụ dược liệu trên thị trường ngày càng lớn nên cây thuốc đang được người trồng quan tâm phát triển. Nhiều cây từ quy mô trồng nhỏ, lẻ trước đây, nay đã phát triển thành cây nguyên liệu hàng hoá. Trong thời gian trên đồng ruộng, cây thuốc cũng như các cây trồng khác thường bị các loại sâu, bệnh hại gây nhiều thiệt hại về năng suất và chất lượng dược liệu, trong những cây thuốc đó có cây cà độc dược. Để có biện pháp khắc phục khó khăn này, bên cạnh việc xây dựng quy trình trồng, cần tiến hành các nghiên cứu về bảo vệ thực vật để nêu ra các hướng phòng trừ đạt hiệu quả, góp phần ổn định năng suất và chất lượng dược liệu.

Mục tiêu của đề tài:

+ Điều tra thành phần sâu bệnh hại
+ Điều tra diễn biến của một số sâu bệnh hại chính.
+ Đề suất biện pháp phòng trừ với sâu hoặc bệnh gây hại chính.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Cây cà độc dược thân xanh (*Datura mentel* L.), thuộc họ: *Solanaceae*

- Các thuốc phòng trừ: sherpa 25EC; fastac 5EC và bitox 40EC.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Cây trồng thí nghiệm được bố trí theo phương pháp tuần tự, mỗi công thức khảo nghiệm hiệu lực thuốc BVTV có diện tích 15m^2.

* Vụ 2003-2004:

+ Điều tra thành phần sâu, bệnh hại

+ Điều tra diễn biến của một số sâu, bệnh hại chính trên cà độc dược theo phương pháp nghiên cứu của Viện BVTV(1997)

+ Giám định các đối tượng gây hại tại Trường ĐHNNI Hà Nội.

* Vụ 2004- 2005:

+ Khảo nghiệm hiệu lực một số thuốc BVTV trừ rệp sáp hại trên cây cà độc dược được tiến hành với 4 công thức:

- Công thức I: Fastac 5EC với liều lượng 0,6 lít/ha
- Công thức II: Sherpa 25 ECdùng với liều lượng 0,8 lít/ha
- Công thức III: Bitox 40 EC liều lượng 0,8 lít/ha
- Công thức IV: Đối chứng không phun.
- Thuốc dùng cho thí nghiệm được hoà loãng với nước lã, phun bằng bình bơm tay vào buổi chiều; lượng nước thuốc 800 lít/ha.
- Thời gian theo dõi: Sau 1 ngày và sau 3 ngày.
- Hiệu lực của thuốc được tính theo Henderson - Tilton.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm được sử dụng hạt năm 2003 và 2004 của giống cà độc dược đang trồng tại Trung tâm Cây thuốc Hà Nội; hạt được gieo trong vườn ươm vào 15/1 hàng năm, trồng ra ruộng vào 5/3. Cây được chăm sóc theo quy trình sơ bộ của Viện Dược liệu (1978).

3.1. Điều tra thành phần sâu bệnh hại

Bảng 1. **Thành phần sâu, bệnh hại trên cây cà độc dược**

13	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Thuộc họ	Vị trí hại
1	Bọ xít dài	*Leptocarisa acuta* Thunb.	Coreidae	Lá, ngọn
2	Bọ xít xanh	*Nezarra viridula* Linn.	Pentatomidae	Lá, ngọn
3	Bọ nhảy đen	*Colaphellus* sp.	Chrysomelidae	Lá
4	Nhện đỏ	*Tetranychus cinnabarinus*	Tetranychidae	Lá, ngọn
5	Nhện trắng	*Polyphagotarsonemus latus* B.	Tarsonemidae	Lá, ngọn
6	Rệp muội	*Aphis* sp.	Aphididae	Lá, ngọn
7	Rệp sáp	*Planocucus citri* R.	Pseudococcidae	Lá, ngọn, quả
8	Ruồi đục lá	*Liriomyza* sp.	Agromyzydae	Lá
9	Sâu róm	*Euproctis* sp.	Lymantridae	Lá
10	Bệnh phấn trắng	*Oidium* sp.	Moniliales	Lá, ngọn
11	Bệnh khảm lá	*Tobaco mosaic virus*		Lá

Trong quá trình sinh trưởng, cà độc dược thường bị nhiều loại sâu, bệnh khác nhau gây hại, các biểu hiện không bình thường về màu sắc thân, lá hoặc dị dạng các bộ phận trên mặt đất của cây chủ yếu là do các nguyên nhân gây hại đem lại. Sau 2 năm trồng và theo dõi tình hình sâu bệnh hại trên cây, kết quả trình bày ở bảng 1.

Bảng trên cho thấy trong thời gian cây trên ruộng trồng có tới 9 loài côn trùng và 2 loại bệnh gây hại các phần xanh trên mặt đất. Mức độ phổ biến và diễn biến của từng loại đối tượng gây hại được trình bày ở bảng 2 dưới đây.

***Bảng 2.* Diễn biến của các loài sâu, bệnh hại trên cây cà độc dược**

TT	Tên côn trùng hoặc bệnh hại	Thời gian xuất hiện và mức độ phổ biến (Các tháng trong năm)								
		2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Bọ xít dài								+	+
2	Bọ xít xanh						+	+	++	+
3	Bọ nhảy đen				+	+	+			
4	Nhện đỏ			+	+	+	+			
5	Nhện trắng					+	++	++	++	+
6	Rệp muội	+	++	+					+	+
7	Rệp sáp				+	+	++	++	+++	+++
8	Ruồi đục lá						+	+	+	
9	Sâu róm								+	+
10	B. phấn trắng	+	++	+						
11	B. khảm lá						+	++	++	+

Ghi chú: Mức độ phổ biến: + xuất hiện ít ++ xuất hiện nhiều +++ xuất hiện rất nhiều

Với kết quả điều tra thành phần sâu bệnh hại nêu trên đã giúp chúng tôi nhận biết và xác định được các đối tượng gây hại chính trên cây cà độc dược. Sự gây hại của các đối tượng chính ở thời kỳ cây sắp thu hoạch được trình bày ở bảng 3.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, rệp sáp đã gây hại tới 56,6% số lá cây được điều tra ở giai đoạn cây mang quả chín. Đây là đối tượng gây hại nặng nhất cho cây cà độc dược và được chọn để khảo nghiệm với một số loại thuốc phòng trừ.

Bảng 3. **Mức độ tác hại của các đối tượng gây hại chính**

Ngày điều tra	Giai đoạn sinh trưởng của cây	Tỷ lệ hại (%)		
		Nhện trắng	Rệp sáp	Bệnh khảm lá
10-8	Cây ra hoa	13,33	23,33	12,33
20-8	Cây có quả non và hoa	21,0	21,66	12,66
30-8	Cây có quả non và hoa	23,33	31,1	14,66
10-9	Cây có quả con và hoa	26,66	33,33	21,66
20-9	Cây có quả con, quả lớn và hoa	23,33	38,86	16,33
30-9	Cây có quả con, quả lớn và hoa	26,66	42,33	14,33
10-10	Cây có quả già,quả lớn và hoa	28,86	48,88	15,66
20-10	Cây có quả chín, quả lớn và hoa	31,1	53,33	12,66
30-10	Cây có quả chín	26,66	56,66	18,66

3.2. Khảo nghiệm tác dụng của một số thuốc trừ rệp sáp

- Rệp sáp (*Planocucus citri* R.) thuộc họ *Pseudococcidae*

- Bộ cánh đều, loại côn trùng nhỏ, thường sống quần tụ ở mặt dưới của lá, khi cây bị hại, lá cà độc dược sẽ chuyển từ xanh sang màu xanh nhạt, phía mặt trên bị biến vàng theo các đường gân và lan ra phía ngoài, lá kém mềm mại, trở nên cứng, khô và dễ rụng.

Thí nghiệm khảo nghiệm tác dụng của một số thuốc trừ rệp được thực hiện với 4 công thức, mỗi công thức có diện tích 15 m^2, nhắc lại 3 lần. Số rệp sống được kiểm tra trên 5 cây chọn ngẫu nhiên ở mỗi công thức. Kết quả được tính toán và trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. **Hiệu lực trừ rệp sáp của một số loại thuốc hoá học**

Loại thuốc	Liều lượng (lit/ha)	Hiệu lực (%) sau phun	
		1 ngày	3 ngày
Fastac 5EC	0,6	52,52	60,02
Sherpa 25 EC	0,8	58,53	68,2
Bitox 40 EC	0,8	66,45	82,12

Kết quả bảng 2 cho thấy, với liều lượng 0,8 lít/ha thuốc bitox 40EC có hiệu lực trừ rệp cao hơn hẳn so với các công thức khác, hiệu lực kéo dài tới 7 ngày. Vì vậy nên lựa chọn loại thuốc này để trừ rệp trong quy trình trồng cây cà độc dược. Ngoài ra, sherpa là thuốc tiếp theo có thể dùng thay bitox trong trường hợp phải sử dụng luân phiên.

IV. KẾT LUẬN

Cà độc dược thân xanh được trồng lấy dược liệu thường bị nhiều loài côn trùng và bệnh gây hại, có tới 9 loài côn trùng và 2 loại bệnh hại, trong số các loài đó rệp sáp, nhện trắng và bệnh khảm lá là các đối tượng gây hại chính, chúng có thời gian và mức độ gây hại nhiều hơn, vì vậy trong sản xuất cần lựa chọn các biện pháp phòng trừ hữu hiệu để hạn chế sự thiệt hại về năng suất và chất lượng của dược liệu.

Rệp sáp hại cà độc dược là loài có phổ ký chủ tương đối rộng, đã thấy trên các cây: cà gai, ba gạc; bởi vậy không nên trồng liên canh cà độc dược với các cây đã nêu. Sau mỗi vụ trồng cần tiêu huỷ triệt để các tàn dư cây của vụ trước.

Trong ba loại thuốc hoá học được sử dụng để khảo nghiệm tác dụng, thuốc bitox 40EC có hiệu lực trừ rệp sáp cao, sau đó đến thuốc sherpa 25EC. Với kết quả này chúng ta có thể chọn thuốc bitox 40EC để phòng trừ rệp sáp gây hại trên cà độc dược thân xanh đang được trồng trong sản xuất.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN SÂU BỆNH HẠI CHÍNH TRÊN CÂY CÚC GAI (*SILYBUM MARIANUM* L.) VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ

Ngô Quốc Luật, Trần Danh Việt

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây cúc gai [*Silybum marianum* (L.) Gaertn; thuộc họ Cúc (*Asteraceae*)] được di thực vào Việt Nam từ năm 1977, đến nay đã triển khai nghiên cứu, sản xuất trên diện tích lớn. Bộ phận sử dụng làm dược liệu của cây cúc gai là quả hạt. Các nhà khoa học đang rất quan tâm nghiên cứu tác dụng chữa bệnh của cây cúc gai, đặc biệt đánh giá cao về hiệu quả chữa viêm gan và bảo vệ gan chống lại sự nhiễm độc của các chất gây độc, kích thích sự tái sinh tế bào gan. Đã xác định được thành phần chính trong các bộ phận của cây là silymarin - hỗn hợp flavonolignan, ngoài ra trong quả cúc gai còn có các flavonoid, vitamin C, E, K, dầu béo và tanin. Theo kết quả nghiên cứu trong những năm gần đây của các nước Mỹ, Hung, Trung Quốc và nhiều nước khác cho thấy dịch chiết silymarin chiết xuất từ quả cúc gai có khả năng ức chế mạnh virus viêm gan B ở người. Hiện nay, nhu cầu về nguyên liệu để sản xuất thuốc từ dược liệu cúc gai rất lớn. Trong nghiên cứu phát triển trồng cúc gai đã phát hiện nhiều sâu bệnh phá hại. Quả cúc gai khi thu hoạch để làm dược liệu và chiết tách silymarin đều bị sâu đục gây hại, làm cho năng suất thu hoạch dược liệu giảm đáng kể. Nghiên cứu trong lĩnh vực bảo vệ thực vật (BVTV) trên cây cúc gai không nhiều, chưa có tài liệu nào trong nước đề cập tới vấn đề này. Xuất phát từ yêu cầu thực tế muốn phát triển nguồn nguyên liệu làm thuốc, chúng tôi đề xuất đề tài cấp Bộ nghiên cứu sâu bệnh hại cây này.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu thu thập thông tin, tài liệu có liên quan đến sâu, bệnh hại của các cây cúc gai dài (*Silybum marianum* L.).

- Điều tra, thu thập mẫu vật, phân lập và định tên, chụp ảnh các loài sâu, bệnh hại trên cây thuốc tại địa điểm nghiên cứu. Từ đó xây dựng danh mục các loài sâu bệnh hại cây thuốc.

- Điều tra tình hình phát sinh, phát triển và đánh giá mức độ tác hại của những loài sâu bệnh hại chính trên cây thuốc nghiên cứu. Đề xuất biện pháp phòng trừ tổng hợp một số loài sâu bệnh hại chính.

- Nghiên cứu khảo nghiệm biện pháp phòng trừ bằng thuốc BVTV (áp dụng một số loại thuốc phòng trừ sâu bệnh hại thường sử dụng) có tính đến khả năng an toàn cho sản phẩm và bảo vệ môi trường.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thu thập thông tin:* Tiến hành thu thập thông tin chung về các sâu bệnh hại từ các tài liệu trong và ngoài nước. Kết quả thu thập được ghi chép, đối chiếu, so sánh và tổng hợp.

* *Phương pháp điều tra nghiên cứu ngoài đồng ruộng:* Điều tra thành phần sâu bệnh hại theo phương pháp điều tra tự do (Cục BVTV 1995) tại các địa điểm nghiên cứu.

- Điều tra diễn biến số lượng và tỷ lệ sâu bệnh hại chính theo phương pháp 5 điểm chéo góc, theo phương pháp điều tra trên cây công nghiệp của Cục Bảo vệ thực vật.

- Thí nghiệm phòng trừ sâu bằng biện pháp hoá học. Bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh, nhắc lại 3 lần, mỗi ô thí nghiệm 10 m^2. Thuốc được phun vào buổi chiều lúc trời râm mát và được phun ướt mặt lá. Điều tra mật độ sâu trước khi phun, sau khi phun. Chỉ tiêu: số sâu còn sống trên từng công thức thí nghiệm. Hiệu lực của thuốc được tính bằng công thức Henderson - Tilton.

- Đối với các loại bệnh: Chọn ruộng điều tra, mỗi ruộng điều tra theo 5 điểm chéo góc. Mỗi điểm điều tra 20-25 cây, đếm số cây bị bệnh trong tổng số cây điều tra.

* *Phương pháp nghiên cứu trong phòng*: Toàn bộ mẫu sâu bệnh đã thu thập được xử lý theo các phương pháp xử lý mẫu sâu bệnh hại của Viện BVTV và Trường ĐHNN 1. Giám định mẫu được các chuyên gia của hai Bộ môn Côn trùng và Bệnh cây Nông Dược Trường ĐHNN I thực hiện theo các khóa phân loại sâu bệnh thông thường.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thành phần và mức độ gây hại chính của sâu hại trên cây cúc gai dài

Trên cây cúc gai dài có tổng số 15 loài côn trùng gây hại thuộc 7 họ và 6 bộ. Trong đó, bộ cánh vảy có 7 loài chiếm tỷ lệ lớn nhất (46,67%), tiếp theo là bộ cánh nửa có 4 loài (26,67%), bộ cánh cứng, bộ cánh thẳng, bộ cánh đều và bộ cánh tơ mỗi bộ đều chỉ có một loài (6,67%).

Trong số 15 loài côn trùng gây hại này, có 5 loài sâu hại xuất hiện phổ biến đó là sâu xám, sâu khoang, bọ xít xanh, sâu xanh bướm trắng và sâu ăn lá; có 4 loài xuất hiện ít phổ biến hơn đó là rệp muội, sâu xanh, sâu đo và bọ trĩ (bảng 1).

Bảng 1. **Thành phần sâu hại cây cúc gai dài vụ xuân hè 2004 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội**

STT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Họ	Mức độ phổ biến				
				T.2	T.3	T.4	T.5	T.6
I. Bộ cánh thẳng Orthoptera								
1	Châu chấu	*Oxya chinensis* Thunb.	Acrididae	-	+	+	+	+
II. Bộ cánh đều Homoptera								
2	Rệp muội	*Aphis sp.*	Aphididae	++	++	+	-	-
III. Bộ cánh nửa Hemiptera								
3	Bọ xít xanh	*Nezara viridula* L.	Pentatomidae	-	++	+++	+++	++
4	Bọ xít xanh vai bạc	*Piezodorus hybnevi* Gmelin	Pentatomidae	-	-	+	+	-
5	Bọ xít nâu xám		Pentatomidae	-	-	+	+	-
6	Bọ xít nửa cánh trước đỏ	*Eusarcoris sp.*	Pentatomidae	-	-	+	+	-
IV. Bộ cánh vảy Lepidoptera								
7	Sâu xám	*Agrotis ypsilon* Huffnagel	Noctuidae	+++	++	+	-	-
8	Sâu khoang	*Spodoptera litura* Fabr	Noctuidae	+	++	+++	+++	+
9	Sâu xanh	*Helicoverpa assnlta* Guenee	Noctuidae	+	+	+	-	-
10	Sâu xanh	*Helicoverpa armigera* Huhn	Noctuidae	-	+	++	++	-

11	Sâu đo	*Argyrogramma agnata* Staudinger	Noctuidae	++	++	+	+	-
12	Sâu xanh bướm trắng	*Pieris rapae* Linn.	Pieridae	+++	++	+	-	-
13	Sâu ăn lá	*Argyreus sp*	Nymphalidae	-	++	+++	+	-
V. Bộ cánh cứng Coleoptera								
14	Bọ nhảy sọc cong vỏ lạc	*Phyllotreta vittata* Fabr.	Chrysomelidae	-	+	+	-	-
VI. Bộ cánh tơ Thysanoptera								
15	Bọ trĩ	*Thrips palmi* Karnny	Thripidae	++	++	+	-	-

Ghi chú: +++ Rất phổ biến; ++ Phổ biến; + ít phổ biến; - Rất ít gặp

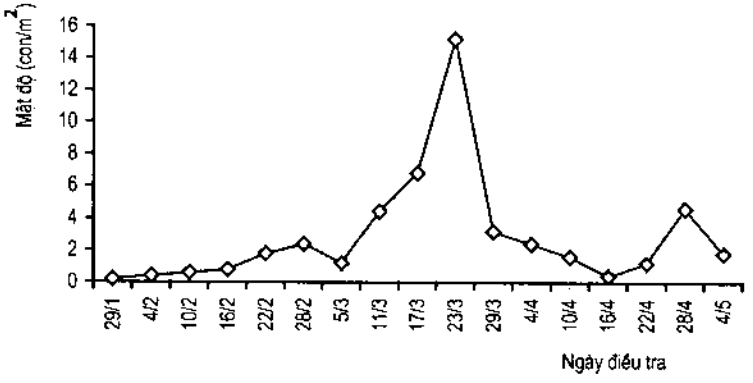
Diễn biến mật độ sâu khoang (Spodoptera litura Fabr.) gây hại trên cây CGD

Cây cúc gai dài bị nhiều loài sâu hại trong đó sâu khoang là loài gây hại chủ yếu. Chúng xuất hiện thường xuyên trên đồng ruộng từ khi trồng cho tới khi thu hoạch. Kết quả điều tra diễn biến mật độ sâu khoang trên cây cúc gai được trình bày ở bảng 2 và biểu diễn qua hình 1.

***Bảng 2.* Diễn biến mật độ sâu khoang (*Spodoptera litura* Fabr.) trên cây cúc gai dài**

Ngày điều tra	Giai đoạn sinh trưởng	Mật độ sâu (con/m^2)	Nhiệt độ (^{0}C)	Ẩm độ (%)
29/1	8-12 lá	0,2	13,3	86
4/2	8-12 lá	0,4	14,9	86
10/2	12-20 lá	0,6	12,4	75
16/2	15-20 lá	0,8	19,6	70
22/2	15-20 lá	1,8	21,7	86
28/2	L, đan xen nhau	2,4	20,1	94
5/3	Phủ kín luống	1,2	19,4	56
11/3	Phủ kín luống	4,4	20,8	59
17/3	Phủ kín luống	6,8	18,7	70
23/3	Cây ra nụ	15,2	22,0	86

29/3	Cây ra hoa	3,2	18,2	94
4/4	Ra hoa rộ	2,4	21,9	90
10/4	Kết quả	1,6	20,5	77
16/4	Kết qủa, vào hạt	0,4	25,0	84
22/4	Quả chín	1,2	25,3	83
28/4	Thu quả đợt 1	4,6	26,9	90
4/5	Thu quả đợt 2	1,8	28,6	84
Trung bình		2,88 ±1,87	20,56	80,59



Hình 1. Diễn biến mật độ sâu khoang (Spodoptera litura Fabr.) trên cây cúc gai dài

Qua bảng 2 và hình 1, cho thấy sâu khoang gây hại trên cúc gai dài xuất hiện trong suốt quá trình sinh trưởng của cây. Khi bắt đầu điều tra ngày 29/1 ở giai đoạn cây 8 – 12 lá, lúc này mật độ sâu thấp 0,2 con/m^2. Cây phát triển, diện tích lá tăng, nhiệt độ tăng, làm cho mật độ sâu khoang cũng tăng lên 2,4 con/m^2 khi cây ở giai đoạn lá đan xen nhau. Sau đó mật độ giảm xuống 1,2 con/m^2 khi nhiệt độ và ẩm độ xuống thấp. Nhiệt độ tăng, ẩm độ tăng thì mật độ sâu khoang lại tăng và đạt cao nhất 15,2 con/m^2 khi cây có nụ, ở giai đoạn này, do mật độ sâu tăng nên hầu hết phần thịt lá bị sâu ăn trụi chỉ chừa lại gân lá, làm ảnh hưởng đến diện tích quang hợp của lá cây. Giai đoạn cây ra hoa, kết quả cây tập trung dinh dưỡng vào quả, hạt nên tốc độ sinh trưởng của lá chậm lại, mật độ sâu cũng giảm xuống 0,4 con/m^2. Khi nhiệt độ và ẩm độ tăng cao, mật độ sâu lại tiếp tục tăng lên 4,6 con/m^2 ở giai đoạn thu hoạch quả lần 1. Khi cây thu hoạch quả đợt 2, mật độ sâu lúc này là 1,8 con/m^2.

Như vậy diễn biến mật độ sâu khoang phụ thuộc vào giai đoạn sinh trưởng của cây và điều kiện nhiệt, ẩm độ của môi trường.

3.2. Thành phần và mức độ gây hại của bệnh hại chính trên cây cúc gai dài

Trong vụ đông xuân 2003 - 2004 chúng tôi đã điều tra thành phần bệnh hại trên cây cúc gai dài trồng tại Trung tâm Cây thuốc Hà Nội, kết quả được thể hiện trong bảng 3.

***Bảng 3.* Thành phần bệnh hại trên cây CGD vụ đông xuân 2003 – 2004 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội**

Bệnh hại	Nguyên nhân gây bệnh	Bộ/Nhóm	Vị trí bị hại	Mức độ phổ biến
Đốm lá	*Alternaria* sp.	Moniliales	Lá	+++
Thối vi khuẩn	*Erwinia carotovora*	Gram (-)	Thân, lá	++
Tàn lụi			Toàn cây	++

Ghi chú: +++ Mức độ phổ biến cao, ++ Mức độ phổ biến trung bình - Mức độ phổ biến thấp

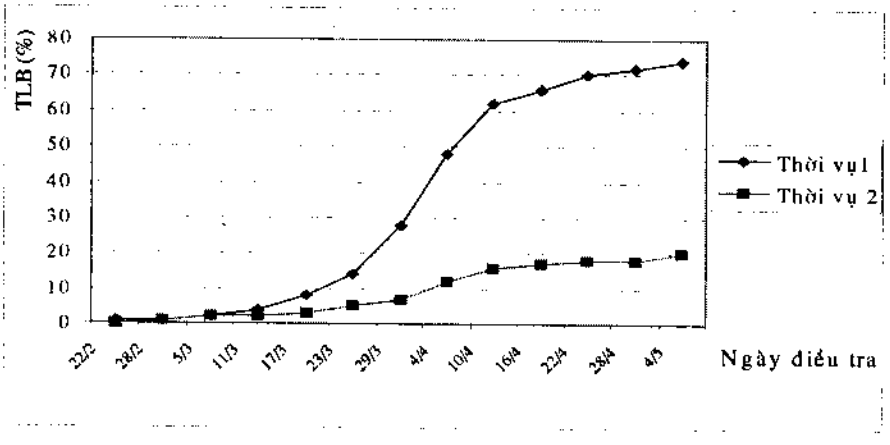
Diễn biến bệnh thối vi khuẩn (Erwinia carotovora) trên cây cúc gai dài

Cúc gai dài là một cây thuốc rất mẫn cảm với điều kiện thời tiết, đặc biệt trong những điều kiện mưa, nắng xen kẽ, bệnh xuất hiện nhiều. Cúc gai dài bị nhiều bệnh hại trong đó có hai bệnh gây hại nghiêm trọng là thối vi khuẩn (*Erwinia carotovora*) và bệnh tàn lụi xuất hiện với tỷ lệ cao ảnh hưởng đến năng suất và sản lượng dược liệu. Cây cúc gai bị các bệnh này gây hại đều không cho thu hoạch. Kết quả điều tra được trình bày ở bảng 4 và hình 2.

***Bảng 4.* Diễn biến bệnh thối vi khuẩn (*Erwinia carotovora*) qua hai thời vụ gieo trồng trên cây cúc gai dài**

Ngày điều tra	Thời vụ 1		Thời vụ 2		Nhiệt độ (°C)	Ẩm độ (%)
	Giai đoạn sinh trưởng	Tỷ lệ bệnh (%)	Giai đoạn sinh trưởng	Tỷ lệ bệnh (%)		
22/2	Phủ kín luống	1	15-20 lá	0	20,7	85
28/2	Phủ kín luống	1	Đan xen nhau	1	17,4	97

5/3	Lụi dần	2	Phủ kín luống	2	19,4	56
11/3	Lụi dần	4	Phủ kín luống	2	20,8	59
17/3	Ra nụ	8	Phủ kín luống	3	18,7	97
23/3	Ra nụ rộ	14	Ra nụ	5	22,0	92
29/3	Ra nụ	28	Ra hoa	7	18,2	89
4/4	Lụi dần	48	Ra hoa rộ	12	28,6	90
10/4	Lụi - Ra hoa	62	Kết quả	16	25,7	77
16/4	Kết quả	66	Kết quả- Vào hạt	17	25,0	84
22/4	Quả chín	70	Quả chín	18	25,3	83
28/4	Thu quả đợt 1	72	Thu quả đợt 1	18	26,9	90
4/5	Thu quả đợt 2	74	Thu quả đợt 2	20	28,6	84
Trung bình		36,62 ± 18,73		9,31 ± 4,62	22,87	83,31



Hình 2. Diễn biến về tỷ lệ bệnh thối vi khuẩn (Erwinia carotovora) trên cây cúc gai dài ở hai thời vụ gieo trồng

Từ kết quả ở bảng 4 và hình 2, cho thấy: Bệnh thối vi khuẩn xuất hiện từ 22/2 khi cây ở giai đoạn phủ kín luống cho đến khi cây thu hoạch quả. Đã tiến hành theo dõi diễn biến tỷ lệ bệnh (TLB) thối vi khuẩn trên 2 thời vụ khác nhau. Thời vụ 1 gieo từ ngày 15/10/2004, thời vụ 2 gieo ngày 15/11. Bệnh thối

vi khuẩn xuất hiện chủ yếu trên thời vụ 1 bắt đầu ngày 22/2 với tỷ lệ bệnh 1%, sau đó TLB tăng dần theo nhiệt độ, ẩm độ và giai đoạn sinh trưởng của cây. Ở giai đoạn thu hoạch, TLB lên tới 74%. Tuy nhiên, bệnh thối vi khuẩn xuất hiện với tỷ lệ cao vào giai đoạn cây có nụ, ra hoa làm cho cây không kết quả ra hạt được hoặc có kết quả nhưng hạt lép không cho thu hoạch. Ở thời vụ 2, bệnh xuất hiện muộn hơn (28/2) và với TLB thấp hơn, chỉ 20% ở giai đoạn thu hoạch quả đợt 2, (giảm 3,7 lần so với thời vụ 1) do đó ít ảnh hưởng đến năng suất hơn.

Diễn biến bệnh tàn lụi trên cây cúc gai dài

Đối với bệnh tàn lụi cũng xuất hiện trên thời vụ 1 sớm hơn, chỉ 57% ở vào giai đoạn thu hoạch quả, bệnh bắt đầu xuất hiện trên thời vụ 1 ngày 28/2 với TLB 1% sau đó không tăng cho đến ngày 17/3 bệnh xuất hiện với TLB 2% và tăng dần lên 57% ở giai đoan thu hoạch quả đợt 2. Trên thời vụ 2, bệnh xuất hiện với thời gian muộn hơn vào ngày 21/3 với TLB 10% ở giai đoạn ra nụ. Sau đó TLB tăng dần theo ẩm độ và giai đoạn sinh trưởng của cây. Ở giai đoạn thu hoạch quả đợt, TLB là 87% (tăng 1,53%) so với thời vụ 1. Bệnh thường chỉ xuất hiện sau những trận mưa với tỷ lệ rất cao. Nếu không kịp thời khai thoát nước bệnh lây lan rất nhanh. Ở thời vụ 3 gieo ngày (15/12) bệnh xuất hiện rất muộn và với TLB không đáng kể, ít ảnh hưởng đến năng suất dược liệu.

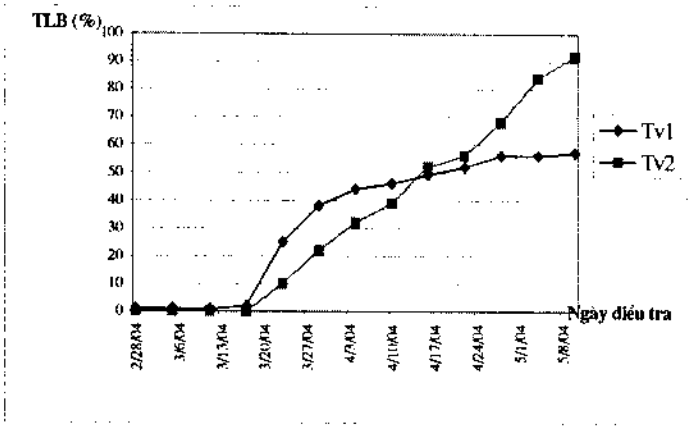
Cũng trên đồng ruộng điều tra, chúng tôi nhận thấy trên những luống trồng với mật độ khác nhau thì tỷ lệ bệnh khác nhau, trồng với mật độ dày TLB cao hơn những luống trồng với mật độ thưa.

Vậy có thể kết luận thời vụ trồng, giai đoạn sinh trưởng và mật độ có ảnh đến diễn biến tỷ lệ bệnh.

***Bảng 5.* Diễn biến bệnh tàn lụi trên cúc gai dài trồng ở thời vụ 1 và thời vụ 2 tại TTNCT&CBCTHN**

Ngày điều tra	Thời vụ 1		Thời vụ 2		Nhiệt độ (^{0}C)	Ẩm độ (%)
	Giai đoạn sinh trưởng	Tỷ lệ bệnh (%)	Giai đoạn sinh trưởng	Tỷ lệ bệnh (%)		
28/2	Phủ kín luống	1	Đan xen nhau	0	17,4	97
5/3	Lụi dần	1	Phủ kín luống	0	19,4	56
11/3	Lụi dần	1	Phủ kín luống	0	20,8	59

17/3	Ra nụ	2	Phủ kín luống	0	18,7	97
23/3	Ra nụ rộ	25	Ra nụ	10	22,0	92
29/3	Ra nụ	38	Ra hoa	22	18,2	89
4/4	Lụi dần	44	Ra hoa rộ	32	28,6	90
10/4	Lụi - Ra hoa	46	Kết quả	39	25,7	77
16/4	Kết quả	49	Kết quả-Vào hạt	52	25,0	84
22/4	Quả chín	52	Quả chín	56	25,3	83
28/4	Thu quả đợt 1	56	Thu quả đợt 1	68	26,9	90
4/5	Thu quả đợt 2	57	Thu quả đợt 2	87	28,6	84
TB		31,00		30,50	23,1	83,2



Hình 3. Diễn biến TLB tàn lụi (?) trên cúc gai dài ở 2 thời vụ gieo trồng

Ghi chú: Tv1: thời vụ 1; Tv2: thời vụ 2

Bệnh tàn lụi cũng xuất hiện trên thời vụ 1 sớm hơn, chỉ 57% ở vào giai đoạn thu hoạch quả, bệnh bắt đầu xuất hiện trên thời vụ 1 ngày 28/2 với TLB 1% sau đó không tăng cho đến ngày 17/3 bệnh xuất hiện với TLB 2% và tăng dần lên 57% ở giai đoan thu hoạch quả đợt 2. Trên thời vụ 2, bệnh xuất hiện với thời gian muộn hơn vào ngày 21/3 với TLB 1.0% ở giai đoạn ra nụ. Sau đó TLB tăng dần theo ẩm độ và giai đoạn sinh trưởng của cây. Ở giai đoạn thu hoạch quả đợt, TLB là 87% (tăng 1,53%) so với thời vụ 1. Bệnh thường chỉ xuất hiện sau những trận mưa với tỷ lệ rất cao. Nếu không kịp thời khai thoát nước bệnh lây lan rất nhanh.

Trên ruộng điều tra, chúng tôi nhận thấy những luống trồng với mật độ dày tỷ lệ bệnh cao hơn những luống trồng với mật độ thưa.

Trong vụ xuân hè 2005 tại Thanh Trì - Hà Nội, chỉ có bệnh tàn lụi gây hại cho cây cúc gai dài, bệnh này xuất hiện và gây hại nặng vào tháng 3 - 5 (bảng 6).

***Bảng 6.* Bệnh tàn lụi hại cây cúc gai dài tại Thanh Trì, Hà Nội vụ xuân hè 2005**

Bệnh	Thời gian xuất hiện và mức độ gây hại					
	Tháng 1	Tháng 2	Tháng 3	Tháng 4	Tháng 5	Tháng 6
Tàn lụi*	-	-	+++	+++	+++	-

Ghi chú: * Chưa xác định rõ nguyên nhân gây bệnh

+++ Rất phổ biến; ++ Phổ biến; + ít phổ biến; - Rất ít gặp

Bệnh gây hại mạnh, có thể làm cây tàn lụi và làm chết cả ruộng. Tỷ lệ bệnh cao nhất là 87,7% vào tháng 5 tại TTNT&CB Hà Nội.

3.3. Kết quả nghiên cứu phòng trừ sâu bệnh hại trên cây cúc gai dài

3.3.1. Ảnh hưởng của biện pháp phòng trừ bằng thuốc BVTV đến tỷ lệ đậu quả của cây cúc gai dài

Số liệu nghiên cứu được chúng tôi trình bày trong bảng 7. Kết quả chỉ ra rằng trong 2 năm nghiên cứu không có sự sai khác, trên cùng 1 công thức sự chênh lệch không đáng kể. Các công thức có phun thuốc phòng trừ vẫn cho kết quả cao hơn đối chứng.

***Bảng 7.* Ảnh hưởng của các công thức phun thuốc BVTV đến tỷ lệ đậu quả (thu dược liệu) của cây cúc gai**

Công thức		Chiều cao (cm)	Số cành	Số quả/cây	Số quả hữu hiệu/cây
Đối chứng	Năm 2004	130,88 ± 3,54	7,11± 1,23	5,66	3,44
	Năm 2005	128,66 ± 4,22	8,22± 1,22	5,66	3,55

Tập kỳ 1,8EC (0,8kg/ha)	Năm 2004	134,55 ± 4,75	9,44 ± 2,15	7,66	4,55
	Năm 2005	130,80 ± 6,72	9,22 ± 2,11	6,66	4,11
Padan 95SP (1,25kg/ha)	Năm 2004	134,66 ± 4,08	9,88 ± 2,35	7,72	4,34
	Năm 2005	135,11 ± 5,66	9,66 ± 2,33	6,44	4,44

3.3.2. Ảnh hưởng của biện pháp phòng trừ bằng thuốc BVTV đến năng suất thu dược liệu của cây cúc gai dài

***Bảng 8* Ảnh hưởng của các công thức phun thuốc BVTV đến năng suất hạt (thu dược liệu) của cây cúc gai dài**

Công thức		Khối lượng quả khô (g/cây)	Tỷ lệ hạt/quả (%)	Năng suất hạt/ô thí nghiệm (g)
Đối chứng	Năm 2004	18,33	41,44	191,55
	Năm 2005	18,00	39,88	188,33
Tập kỳ 1,8EC (0,8kg/ha)	Năm 2004	23,22	43,44	221,66
	Năm 2005	21,44	42,22	201,66
Padan 95SP (1,25kg/ha)	Năm 2004	22,33	44,55	227,33
	Năm 2005	23,00	43,44	211,66
5% LSD	Năm 2004			9,26
	Năm 2005			28,78
CV%	Năm 2004			2,63
	Năm 2005			7,1

Từ các bảng 7 và 8 chúng tôi rút ra nhận xét các công thức phun thuốc BVTV đã có ảnh hưởng tốt đến năng suất hạt cây cúc gai, ở 2 công thức phun thuốc năng suất đều cao hơn so với đối chứng, nhưng kết quả ở 2 công thức này không chênh lệch nhiều so với nhau. Không có sự sai khác nhau nhiều giữa 2 năm nghiên cứu. Tuy nhiên ở năm 2005 năng suất có sự sai khác biến động cao hơn năm 2004 được thể hiện ở hệ số CV% và 5% LSD.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Trên cây silybum đã điều tra được 15 loại sâu hại và 3 bệnh hại, trong các loại sâu bệnh hại thì sâu khoang phát triển mạnh nhất và hai bệnh thối vi khuẩn và héo xanh vi khuẩn gây nguy hại nhất.
- Các công thức phun thuốc đã có tác dụng rất rõ đối với sâu hại, nhưng đối với bệnh hại thì không có tác dụng.
- Các công thức phun thuốc đã có ảnh hưởng đến tăng năng suất hạt silybum cao hơn so với đối chứng, hai công thức phun thuốc không chênh lệch nhiều lắm về năng suất.

4.2. Đề nghị

- Cần tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về hai bệnh tàn lụi và héo xanh vi khuẩn để đề ra được phương pháp phòng trừ thích hợp.
- Cần nghiên cứu thêm một số biện pháp phòng trừ dịch hại mang tính phòng trừ tổng hợp như thời vụ, luân canh cây thuốc với cây trồng cạn, phân bón.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi, (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam – NXB. Y học, 339.
2. Wagner H., (1980), Plant constituents with antihepatotoxix. Natural products as medicinal agents, Strasbourg.
3. Trịnh Thị Điệp và cs., (2002), Bước đầu khảo sát 1 số nhóm chất và nghiên cứu chiết xuất flavonolignan từ cây cúc gai di thực trồng ở Sa Pa, Tạp chí Dược liệu, tập 7, số 3.
4. Các flavoligna của quả cúc gai dài, (2002), Bản tin dược liệu, Trung tâm thông tin thư viện, Viện Dược liệu số 4, trang 15,16.
5. Phạm Chí Thành, (1976), Giáo trình phương pháp thí nghiệm đồng ruộng, NXB. Hà Nội.
6. Phòng trừ tổng hợp sâu bệnh hại cây trồng, (1996), Nghiên cứu và ứng dụng, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
7. Phạm Tiến Dũng, Chương trình Xử lý IRRISTAT 4.0 trong Windows

SÂU BỆNH HẠI VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG TRỪ TRÊN CÂY DIỆP HẠ CHÂU ĐẮNG - *PHYLLANTHUS AMARUS* L.

Nguyễn Thị Thư, Ngô Quốc Luật

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cũng như nhiều cây thuốc khác, cây diệp hạ châu (*Phyllanthus amarus* L., họ Thầu dầu) bị sâu bệnh phá hoại, ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng dược liệu. vì vậy chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu đề tài *" Sâu bệnh hại và biện pháp phòng trừ trên cây diệp hạ châu – Phyllanthus amarus* L.".

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

+ Diệp hạ châu - *Phyllanthus amarus* L.

+ Các thành phần sâu bệnh xuất hiện trên cây diệp hạ châu

Đề tài được tiến hành từ tháng 1/2003 đến tháng 9 năm 2005, tại ruộng thí nghiệm của Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Thu thập mẫu sâu, bệnh bắt gặp trên ruộng trồng cây diệp hạ châu gửi mẫu để giám định tên thành phần sâu bệnh hại.
- Nghiên cứu diễn biến về mật độ sâu hại, tỷ lệ về bệnh hại và các yếu tố liên quan đến diễn biến dịch hại đó.
- Xác định hiệu lực của thuốc trừ sâu sherpa 50EC, trong phòng trừ sâu hại và thuốc daconil trong phòng trừ bệnh phấn trắng cây diệp hạ châu.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

* Điều tra thành phần sâu, bệnh hại theo phương pháp của Viện BVTV trên các diện tích sản xuất khác nhau. Bệnh hại được phân theo 5 cấp; sâu hại được tính theo con/m^2.

Giám định thực hiện ở Bộ môn Bệnh cây và Côn trùng học tại Viện BVTV và Trường đại học Nông nghiệp I.

* Biện pháp phòng trừ sâu bệnh:

- Phòng trừ sâu cuốn lá (*Homona coffearia* Nietner Tortricidae, Lepidoptera) bằng biện pháp thủ công và hoá học. Thínghiệm đợc bố trí theo phương pháp ngẫu nhiên hoàn chỉnh và có nhắc lại.

- Biện pháp thủ công: Sâu cuốn lá thường nhả tơ, sau đó kéo các lá xung quanh hoặc hai mép lá làm thành tổ và nằm trong gây hại. Dùng tay gỡ các lá hoặc ngắt từng tổ để bắt sâu non và nhộng đen giết. Thí nghiệm đợc nhắc lại 3 lần, mỗi lần 10m^2 và một công thức đối chứng không bắt sâu. Trước khi thực hiện biện pháp, điều tra mật độ sâu cuốn lá và tỷ lệ hại. Tiến hành thí nghiệm 2 lần liên tiếp cách nhau 5 ngày. Đánh giá hiệu quả phòng trừ bằng cách so sánh mật độ sâu hại và tỷ lệ hại với công thức đối chứng.

- Biện pháp hoá học: Sử dụng thuốc trừ sâu sherpa 50EC. Thí nghiệm gồm 3 công thức và nhắc lại 3 lần. Thuốc được phun vào buổi chiều lúc trời râm mát và phun ướt mặt lá. Trước khi phun, điều tra mật độ sâu hại, sau khi phun 3, 5, 7 và 14 ngày điều tra số sâu còn sống trên từng công thức. Hiệu lực của thuốc được đánh giá sau khi phun 3, 5, 7, 14 ngày.

- Liều lượng sử dụng thuốc trừ sâu sherpa 50EC là 50 ml thuốc/10 lít nước.

- Các chỉ tiêu theo dõi và tính toán

+ Xác định mật độ sâu

$$+ \text{Mật độ sâu (con/m}^2) = \frac{\text{Tổng số sâu điều tra}}{\text{Tổng tích (m}^2) \text{ điều tra}}$$

+ Xác định tỷ lệ bệnh

$$+ \text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số lá bị bệnh}}{\text{Tổng số lá điều tra}} \times 100$$

+ Mức độ phổ biến của loài được đánh giá bằng chỉ tiêu tần suất bắt gặp

$$\text{Tần suất bắt gặp} = \frac{\text{Số lần bắt gặp cá thể của mỗi loài}}{\text{Tổng số lần điều tra}}$$

Chú ý:

+++ Rất phổ biến (Tần suất bắt gặp trên 50%)

++ Phổ biến (Tần suất bắt gặp từ 25 - 50%)

\+ Ít phổ biến (Tần suất bắt gặp từ 5 - 25%)

\- Rất ít gặp (Tần suất bắt gặp dưới 5%)

* *Hiệu quả phòng trừ*

- Biện pháp thủ công: Hiệu quả phòng trừ được đánh giá bởi mật độ sâu hại, tỷ lệ hại sau mỗi lần thực hiện và so sánh với đối chứng.

- Biện pháp hoá học: Đánh giá hiệu lực của thuốc trừ sâu đối với sâu cuốn lá *Homona coffaria* trên đồng ruộng được tính theo công thức Henderson - Tilton.

$$\text{Hiệu lực của thuốc (\%)} = \frac{T_b \times C_a - T_a \times C_b}{T_b \times C_a} \times 100$$

Trong đó: T_a: số sâu sống ở công thức xử lý thuốc sau khi phun 3, 5, 7, 14 ngày;

T_b : số sâu sống ở công thức xử lý thuốc trước khi phun thuốc;

C_a : số sâu sống ở công thức đối chứng sau khi phun 3, 5, 7,14 ngày ;

C_b : số sâu sống ở công thức đối chứng trước khi phun thuốc.

+ Biện pháp trừ bệnh phấn trắng: Dùng thuốc daconil nồng độ 0,2 %.

Do mức gây hại của bệnh ở tất cả các công thức trước khi thực nghiệm như nhau do vậy hiệu lực thuốc được tính theo công thức của Abbolt:

$$Q\% = \frac{C_A - T_A}{C_A} \times 100$$

C_A – mức gây hại trong lô đối chứng sau khi xử lý;

T_A - mức gây hại trong lô thực nghiệm sau khi xử lý.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần sâu hại cây diệp hạ châu vụ đông xuân 2003 – 2004

Các năm 2004-2005 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

+ Điều tra tình hình sâu bệnh hại trên vườn ươm gieo cây con diệp hạ châu trong các tháng 2 và 3: Ở thời kỳ này nhiệt độ thấp tạo điều kiện thuận lợi cho các loại sâu ăn lá phát triển như cào cào xanh (5,2 con/m^2), bọ trĩ (3,3 con/m^2),sâu đo (2,7con/m^2), đều ở mức độ gây hại cấp 2. Đã phun thuốc sherpa 50EC nồng độ khuyến cáo (0,2%). Hiệu lực diệt sâu cao ngay sau khi phun 1 ngày.

+ Điều tra thành phần sâu hại cây diệp hạ châu tại Trung tâm nghiên cứu Cây thuốc Hà Nội vụ đông xuân 2003 - 2004, 2004-2005. chúng tôi tiến hành điều tra thành phần sâu hại cây diệp hạ châu. Kết quả điều tra được trình bày trong bảng 1.

***Bảng 1.* Thành phần sâu hại cây diệp hạ châu vụ đông xuân 2003- 2004, 2004-2005 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội**

TT	Sâu hại		Bộ/Họ	Mức độ phổ biến				
	Tên Việt Nam	Tên khoa học		T.2	T.3	T.4	T.5	T.6
I	Bộ cánh thẳng		*Orthoptera*					
1	Cào cào	*Atractomorpha*	*Pyrgomorphidae*	-	+	++	+	+
II	Bộ cánh đều		*Homoptera*					
2	Rệp muội	*Aphis* sp.	*Aphididae*	-	++	+	-	-
III	Bộ cánh nửa		*Hemiptera*					
3	Bọ xít xanh	*Nezara viridula* Linn	*Pentatomidae*	-	+	++	+	+
IV	Bộ cánh vảy		*Lepidoptera*					
4	Sâu xanh	*Helicoverpa armigera* Hiibner	"	-	+	++	+	-
5	Sâu đo	*Argyrogramma agnata* Staudinger	"	-	-	++	+	-
6	Sâu cuốn lá-	*Homona coffearia* Nietner	Tortricidae	-	+	++	+++	+
V	Bộ cánh cứng		Coleoptera					
7	Ban miêu đen đầu đỏ-	*Epicauta gorhami*	Meloidae	-	-	+	+	+
8	Bọ nhảy đen-	*Colaphellus* sp.	Chrysomelidae	-	+	+	-	-

Chú ý: +++ Rất phổ biến ; ++ Phổ biến ; + Ít phổ biến ; - Rất ít gặp.

Bảng 1 cho thấy trên cây diệp hạ châu có tổng số 8 loài côn trùng gây hại thuộc 6 họ của 5 bộ côn trùng. Trong đó loài sâu xanh, sâu đo có mức độ phổ biến cao trong các tháng 4, 5, đặc biệt là sâu cuốn lá có mức gây hại nặng nhất (+++ trong tháng 5).

3.2. Thành phần bệnh hại

Bảng 2. **Thành phần bệnh hại trên cây diệp hạ châu vụ đông 2003 – 2004, 2004-2005 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội**

TT	Bệnh hại	Nguyên nhân gây bệnh	Bộ/Nhóm	Vị trí bị hại	Mức độ gây hại	Mức độ phổ biến
1	Lở cổ rễ	*Rhizoctonia solani*	Mycellia sterilia	Rễ, gốc rễ	+	+
2	Vàng lá sinh lý			toàn cây	+	++
3	Phấn trắng	*Oidium* sp.	Moniliales	toàn cây	+++	+

Chú ý: +++ Mức độ phổ biến cao - Mức độ phổ biến thấp

++ Mức độ phổ biến trung bình

Bảng 2 cho thấy cây diệp hạ trồng từ tháng 2 đến tháng 12/2004 có 3 loại bệnh gây hại bệnh lở cổ rễ, phát sinh trong các tháng 3, 4 thời kỳ cây con ở mức độ trung bình, bệnh vàng sinh lý trong các tháng 4, 5 cũng ở mức độ trung bình, bệnh phấn trắng có mức độ phổ biến cao bắt đầu xuất hiện từ tháng 9 đến tháng 12 (hết thời gian sinh trưởng) của cây vụ đông muộn khi nhiệt độ ban ngày ở mức dưới 25-28^{0}C. Bệnh phấn trắng được thể hiện rõ khi toàn bộ cây được phủ một lớp bụi màu trắng. Bệnh này tuy không làm chết cây nhưng làm mất màu xanh của dược liệu đồng thời giảm năng suất, chất lượng dược liệu một cách đáng kể.

Cây diệp hạ châu bị nhiều sâu bệnh hại trong đó có sâu cuốn lá là loài gây hại chủ yếu. Sâu ăn trụi phần biểu bì trên và thịt lá chừa lại lớp biểu bì dưới và gân lá. Do đặc điểm gây hại đó mà diện tích lá quang hợp bị giảm, làm giảm năng suất và chất lượng dược liệu.

3.3.Diễn biến mật độ sâu cuốn lá

Kết quả điều tra diễn biến mật độ sâu cuốn lá được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. **Diễn biến mật độ sâu cuốn lá (*Homona coffearia*, Tortricidae, Lepidoptera) trên cây**

Ngày điều tra	Giai đoạn sinh trưởng	Mật độ sâu (con/m^2)
30/4	Phân cành cấp I	2,2
10/5	**Phân cành cấp II**	6,4
20/5	**Phân cành cấp III**	8,6
30/5	**Phân cành cấp III**	10,8
Mật độ sâu cuốn lá sau khi phun thuốc		
5/6	Bắt đầu ra hạt	3,5
10/6	Hạt bắt đầu chín	3,0
20/6	Hạt chín rộ	1,3
30/6	chuẩn bị thu hoạch	0
Trung bình		5,11 ± 3,56

Qua bảng 3 chúng tôi nhận xét: Sâu cuốn lá bắt đầu xuất hiện ngày 30/4 khi cây ở giai đoạn phân cành cấp I với mật độ 2,2 con/m^2. Ban đầu, sâu xuất hiện với tỷ lệ rất thấp sau đó mật độ sâu tăng, diện tích lá giảm nên sâu phát tán sang cây khác gây hại làm tỷ lệ hại tăng, đồng thời mật độ sâu cũng tăng lên 6,4 con/m^2 ở giai đoạn phân cành cấp II,8,6 và đỉnh cao là 10,8 con / m^2 ở giai đoạn phân cành cấp III. Ở giai đoạn cây làm hạt, mật độ sâu giảm rõ rệt. Lúc gần thu hoạch, mật độ sâu lại tiếp tục giảm và dừng điều tra ngày 30/6 mật độ sâu là 0 con/m^2.

3.4. Kết quả phòng trừ sâu cuốn lá (Homona coffearia *Nietner, Tortricidae*) trên cây diệp hạ châu trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội vụ đông xuân 2003 – 2004

Trong quá trình điều tra, chúng tôi thấy loài sâu cuốn lá (*Homona coffearia* Nietner, Tortricidae) hại trên cây diệp hạ châu là sâu hại chủ yếu và có mật độ hại cao. Chúng tôi tiến hành phòng trừ sâu cuốn lá bằng hai biện pháp thủ công và hoá học nhằm ngăn chặn sự gây hại, đồng thời để so sánh hiệu quả phòng trừ của hai biện pháp và đưa ra biện pháp phòng trừ hợp lý, có hiệu quả và an toàn đối với môi trường.

3.4.1. Biện pháp thủ công

Dựa trên đặc điểm gây hại, sâu cuốn lá thường nhả tơ sau đó gập hai mép lá hoặc cuộn các lá xung quanh lại làm tổ và nằm bên trong gây hại, hoá nhộng trong đó. Dùng tay gỡ lá và bắt sâu, nhộng giết. Thí nghiệm gồm hai lần liên tiếp cách nhau 5 ngày. Mỗi lần thực hiện gồm 3 lần nhắc lại và một công thức đối chứng. Kết quả của biện pháp được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. **Hiệu quả phòng trừ sâu cuốn lá (*Homona coffearia* Nietner, Tortricidae) trên cây diệp hạ châu bằng biện pháp thủ công**

Lần nhắc lại	Trước bắt sâu 1 ngày		Sau khi bắt sâu lần 1 (3 ngày)		Sau khi bắt sâu lần 2 (3 ngày)	
	Mật độ sâu (con/10m^2)	Tỷ lệ hại (%)	Mật độ sâu (con/10m^2)	Tỷ lệ hại (%)	Mật độ sâu (con/10m^2)	Tỷ lệ hại (%)
1	108	40,00	40	13,33	20	6,66
2	102	26,66	20	6,66	20	6,66
3	105	33,33	30	10,00	0	0,00
Trung bình	105 3	33,33 6,67	30 10	9,99 3,33	20 0	6,660
đối chứng	140	46,66	180	60,00	200	66,66

Chú ý : Thời gian thí nghiệm ngày 30/5 ; 5/6(lần 2 thực hiện sau 5 ngày kể từ lần bắt sâu đầu tiên).

Từ kết quả ở bảng 4 chúng tôi có nhận xét: Mật độ sâu trung bình của 3 lần nhắc lại trong công thức thí nghiệm của biện pháp thủ công trước khi bắt sâu lần thứ nhất là 105 con/10m^2 với tỷ lệ hại tương ứng là 33,33%. Sau khi bắt sâu lần thứ nhất (5 ngày) mật độ sâu trung bình là 30 con/10m^2 với tỷ lệ hại trung bình là 9,99% (giảm 23,34%) so với trước khi bắt sâu lần 1. Ở công thức đối chứng, sau khi bắt sâu lần thứ nhất (3 ngày) mật độ sâu tăng 40con/10m^2, tỷ lệ hại tăng 13,34 so với trước khi bắt sâu lần 1.

Tiến hành bắt sâu lần 2 (cách lần thứ nhất 5 ngày). Sau 10 ngày kể từ lần bắt sâu đầu tiên, mật độ sâu trung bình là 20 con/10m^2 (giảm 10con/10m^2), tỷ lệ hại

là 6,66 (giảm 3,33 lần) so với trước khi bắt sâu lần 2. Ở công thức đối chứng, sau khi bắt sâu lần 2 (5 ngày), mật độ sâu trung bình là 200 con/10 m^2 (tăng 20 con/m^2), tỷ lệ hại 66,66% (tăng 6,66%) so với trước khi bắt sâu lần 2.

Vậy, sau khi thực hiện liên tiếp 2 lần bắt sâu mật độ sâu đều giảm và tỷ lệ cây bị hại cũng giảm đáng kể so với công thức đối chứng. Hiệu quả phòng trừ bằng biện pháp thủ công lên tới 86,1% ở ngày thứ 10 sau khi bắt sâu lần 2. Biện pháp này mang lại hiệu quả cao cả về mặt kinh tế và độ an toàn cho môi trường.

3.4.2. Biện pháp hoá học

Tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội, chúng tôi tiến hành thử nghiệm thuốc sherpa 50 EC trừ sâu cuốn lá trừ sâu phòng trừ sâu cuốn lá hại cây diệp hạ châu, đó là thuốc trừ sâu sherpa 50 EC. Mỗi công thức được nhắc lại 3 lần. Kết quả phòng trừ bằng biện pháp hoá học được thể hiện trong bảng 5.

***Bảng 5.* Hiệu lực phòng trừ sâu cuốn lá bằng thuốc sherpa 50 EC trên cây diệp hạ châu**

Lần nhắc lại	Mật độ sâu trước xử lý thuốc (1 ngày) (con/10m^2)	Hiệu lực thuốc sau thời gian xử lý (%)					
		5 ngày		10 ngày		14 ngày	
		Số sâu sống (con/10 m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10 m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10 m^2)	Hiệu lực (%)
1	140	40	75,00	20	55,00	4	98,56
2	120	60	55,55	20	70,00	4	98,89
3	100	60	46,66	0	100	3	98,79
Đối chứng	160	180		200		187	
Hiệu lực trung bình (%)		59,07		76,66		98,75	

Qua bảng 5 chúng tôi có nhận xét: Hiệu lực trừ sâu cuốn lá của thuốc sherpa 50 EC khá cao sau các ngày xử lý thuốc. Sau 5 ngày xử lý thuốc hiệu lực trung bình của 3 lần nhắc lại là 59,07%. Hiệu lực của thuốc tăng lên ở 10 ngày sau xử lý thuốc là 76,66%.

3.5. Phương pháp phòng trừ bệnh phấn trắng

Bảng 6. **Diễn biến tình hình bệnh phấn trắng(*Oidium* sp.) trên cây diệp hạ châu năm 2004**

Thời gian theo dõi	Bộ phận gây hại	Tỷ lệ cây bệnh (%)	Cấp bệnh
5/9/2004	toàn cây	18 ±3	Cấp 1
15/9/2004	-	32 ±4	Cấp 2
25/9/2004	-	63 ±5	Cấp 3
5/10/2004	-	76 ±7	Cấp 4

Năm 2004 bệnh phấn trắng bắt đầu xuất hiện vào đầu tháng 9 ở mức gây hại thấp, bệnh tiến triển mạnh vào cuối tháng 9, đầu tháng 10 ở mức gây hại cấp 4.

* *Biện pháp phòng trừ*

5/10/2004 chúng tôi tiến hành phun thuốc daconil cho cây diệp hạ châu vụ đông bị bệnh phấn trắng cấp 4. Thuốc được phun với nồng độ 0,2%, phun ướt mặt lá vào buổi chiều râm mát. Kết quả thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. **Hiệu lực của thuốc daconil với bệnh phấn trắng**

Lần nhắc lại	Hiệu lực của thuốc sau khi phun (%)		
	7 ngày	14 ngày	21 ngày
I	75	55	45
II	80	68	55
III	78	47	40
Hiệu lực trung bình	77,66 ±2,51	56,66± 10,59	46,66 ±7,63

Kết quả bảng 7 cho thấy: Daconil có tác dụng làm giảm mức độ gây hại của bệnh phấn trắng với hiệu lực của thuốc cao nhất (77,66%) ngay sau khi phun 7 ngày . Tuy vậy hiệu lực của thuốc giảm 21% sau 14 ngày phun và giảm 31% sau 21 ngày.

IV. KẾT LUẬN

- Trên cây DHC có 8 loài sâu hại thuộc 6 họ của 5 bộ côn trùng khác nhau, trong đó loài sâu cuốn lá thuộc bộ cánh vảy có mức độ gây hại cao nhất trong giai đoạn sinh trưởng mạnh của cây (tháng 4,5).
- Có tổng số 3 loại bệnh gây hại, trong đó loại bệnh phấn trắng gây hại ở mức phổ biến cao, bệnh xuất hiện từ tháng 9 đến tháng 12 hàng năm trên diện tích vụ đông muộn.
- Phòng trừ sâu cuốn lá bằng biện pháp thủ công cho thấy: Hiệu quả phòng trừ đạt 81,1% ở 10 ngày sau khi tiến hành bắt sâu lần 2 (thích hợp với diện tích sản xuất không quá lớn). Khi sử dụng thuốc hoá học sherpa 50EC trong phòng trừ sâu cuốn lá ta thấy thuốc có hiệu lực 76,66, áp dụng khi diện tích sản xuất đủ lớn.
- Phòng trừ bệnh bệnh phấn trắng bằng thuốc daconil có hiệu lực 77,66% ngay sau khi phun 7 ngày, thu hoạch dược liệu sau khi phun 20 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, (2003), Hội nghị Dược liệu toàn quốc lần thứ nhất "Phát triển dược liệu bền vững trong thế kỷ 21". Hà Nội 3/2003, trang 20-35.
2. Nguyễn Thượng Dong., (2002), Bảo tồn nguồn gen, giống và kinh nghiệm sử dụng cây thuốc y học cổ truyền. Tạp chí Dược liệu, tập7, số 6.
3. Nguyễn Thượng Dong, (1996), Nghiên cứu công nghệ, mục tiêu trong nghiên cứu khoa học về dược liệu. Tạp chí Dược liệu, tập 1.
4. Lê Trần Đức. Cây thuốc Việt Nam. NXB. Nông nghiệp.
5. Phan Quý Hiền, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Xuân Trường và cs., (2000), Điều tra đánh giá thành phần bệnh hại trên cây bạch truật tại Sa Pa- Lào Cai. Tạp chí Dược liệu, tập 5, số 4.
6. Hướng dẫn bảo vệ tái sinh khai thác dược liệu. NXB. Y học -1978
7. Hội thảo khoa học, (1997), Bảo tồn đa dạng sinh học cây thuốc cổ truyền. Hà Nội.
8. Kỹ thuật nuôi trồng và chế biến dược liệu, (1980), NXB. Nông nghiệp
9. Nguyễn Văn Lan, Kỹ thật trồng một số cây dược liệu, NXB. Nông thôn, tập 1.

10. Đỗ Tất Lợi, (1995), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB. Y học, trang 1025.

11. Ngô Quốc Luật, Trần Danh Việt, (2003), Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất dược liệu cây cúc gai tại Hà Nội để xây dựng vùng trồng vụ (2002-2003). Bộ Y tế, Viện Dược liệu.

12. Đoàn Thị Thanh Nhàn, (2001), Giáo trình cây thuốc. NXB. Nông nghiệp.

13. Nguyễn Thị Tuấn, (1999), Nghiên cứu thành phần bệnh hại trên cây mã đề và biện pháp phòng trừ. Tạp chí Dược liệu, tập 7, số 2/1999. Báo cáo tổng kết đề tài khoa học 1998.

14. Viện Dược liệu, (2003), Hội nghị đánh giá công tác tư liệu hoá nguồn gen cây thuốc, 2003

15. Viện Dược liệu, (1979), Kỹ thuật trồng cây thuốc. NXB. Y học,

16. Viện Dược liệu, Công trình nghiên cứu khoa học (1987- 2000), NXB. Khoa học và Kỹ thuật

17. Trần Danh Việt, Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật nhằm nâng cao khả năng nhân giống của cây diệp hạ châu. Báo cáo tốt nghiệp lớp cây trồng K40, Trường đại học Nông nghiệp I - Hà nội.

SÂU BỆNH HẠI TRÊN CÂY LÃO QUÁN THẢO

Ngô Quốc Luật, Phạm Văn Ý

Viện Dược liệu

ABSTRACT

Geranium nepalense Kudo *was introduced to Vietnam in 1990. After many years of cultivation, G. nepalense has suffered from the association with pests. 19 insect species and 2 diseases have been identified with time of infection, disease incidence and severity. Polyphagotarsonemus latus B. was the most devastating pest which caused leaf curl and distortion resulting in the reduction of yield and quality of G. nepalense.*

It was shown from the results of an experiment on chemical control measure that both Kelthame 18.5 EC and Ortus 5 EC were effective. However, Kelthame 18,5 EC was clearly more effective than Ortus 5 EC and could be used widely for controlling P. latus in field production of G. nepalense.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lão quán thảo - *Geranium nepalense* Kudo, họ Mỏ hạc *Geraniaceae* (LQT), cây được nhập từ Nhật Bản vào Việt Nam từ năm 1990, đã được trồng, nghiên cứu di thực tại các vùng núi cao như Sa Pa, Bắc Hà (Tỉnh Lào Cai), Tam Đảo (Vĩnh Phúc) và một số tỉnh vùng núi phía Bắc như huyện Đồng Văn (Hà Giang), Tân Lạc (Hoà Bình),... Bộ phận sử dụng là thân và lá, vị thuốc lão quan thảo có tác dụng hoạt huyết, bổ gân cốt, trừ phong thấp. Thành phần chính trong cây là tanin (13-20%), flavonoid (2-3%). Dịch chiết trong cồn 70° là geranin toàn phần có tác dụng kháng khuẩn đường ruột, mạnh nhất đối với chủng *Shigella, E. coli, Salmonella*. Nó còn có tác dụng chống viêm cấp và mạn tính, ức chế sự phát triển của khối u rõ rệt.

Từ năm 1990, cây lão quan đã được trồng thử tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến Cây thuốc Hà Nội. Chúng tôi đã nghiên cứu về quy trình trồng trọt, nghiên cứu giống để phát triển sản xuất đại trà tại vùng núi và đồng bằng phía bắc. Là một loài cây mới nhập nội từ Nhật Bản vào Việt Nam, qua một thời gian nghiên cứu và sản xuất, nhận thấy tình hình sâu bệnh đã bắt đầu xuất hiện phá hại đáng kể và có chiều hướng gia tăng, nhất là các loài sâu, rệp đã làm cho cây biến dạng như xoăn lá, vàng lá, năng suất dược liệu thu hoạch giảm. Đây là một trong những cây thuốc quan trọng đã thành mặt hàng xuất khẩu hàng năm ra nước ngoài. Để đánh giá được thành phần sâu bệnh hại trên cây lão quán thảo và khảo nghiệm một số biện pháp phòng trừ, hạn chế tác hại do sâu bệnh gây nên, đề tài cấp Bộ nghiên cứu về bảo vệ thực vật (BVTV) trên một số cây thuốc quan trọng, đã tiến hành triển khai trên đối tượng cây lão quán thảo cùng một số cây thuốc quan trọng khác. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở phần sau.

II. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU, ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cây lão quán thảo - *Geranium nepalense* Kudo, họ Mỏ hạc *Geraniaceae*, đang được trồng tại Trung tâm nghiên cứuTrồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

2.2. Thời gian nghiên cứu

Đề tài được thực hiện 2004 - 2005.

2.3. Địa điểm nghiên cứu

- Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

- Bộ môn Côn trùng - Bệnh cây Trường đại học Nông nghiệp I Hà Nội.

2.4. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

**** Nội dung nghiên cứu***

- Nghiên cứu điều tra thành phần sâu bệnh hại và mức độ hại phổ biến.

- Thu thập mẫu sâu bệnh và giám định nguyên nhân gây hại, xác định tên khoa học sâu bệnh hại.

- Khảo sát biện pháp phòng trừ nhện trắng bằng thuốc hoá học.

- Xác định hiệu lực của thuốc hoá học trừ nhện.

**** Phương pháp nghiên cứu***

- Điều tra thành phần và diễn biến một số sâu bệnh hại chính: Tiến hành điều tra theo phương pháp tự do, không cố định điểm điều tra trên các ruộng trồng cây thuốc. Điều tra 7 ngày/lần, điều tra trên một khu ruộng đại diện, chọn 10 - 15 điểm, mỗi điểm 1m^2 theo phương pháp 5 điểm chéo góc. Tại mỗi điểm điều tra kết hợp, điều tra bằng mắt, dùng dụng cụ thu bắt sâu hại về phòng giám định tên.

- Bố trí thí nghiệm: Đối với thí nghiệm phòng trừ nhện trên cây lão quán thảo, sử dụng thuốc thí nghiệm Ortus 5SC để khảo sát biện pháp phòng trừ. Thí nghiệm gồm 3 công thức, đối chứng phun nước lã. Thuốc được phun vào buổi chiều khi trời râm mát, phun ướt mặt lá. Trước khi phun điều tra mật độ nhện hại, sau khi phun 1,3,5 ngày điều tra số nhện còn sống trên từng công thức thí nghiệm.

- Các chỉ tiêu theo dõi và tính toán: Xác định tỷ lệ thiệt hại. Hiệu quả phòng trừ. Mức độ phổ biến được đánh giá bằng chỉ tiêu tần suất bắt gặp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thành phần sâu hại trên cây lão quán thảo trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc (Thanh Trì, Hà Nội)

Bảng 1. **Thành phần côn trùng hại và mức độ hại trên cây lão quán thảo trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội**

TT	Côn trùng hại (Tên VN)	Tên khoa học	Bộ/Họ	Bộ	Mức độ phổ biến				
					T2	T3	T4	T5	T6
1	Châu chấu	*Oxya chinensis* Thunb	Acrididae	Bộ cánh thẳng Orthoptera	-	+	+	+	+
2	Cào cào	***Atractomorpha chinensis Bolivar***	Acrididae	Bộ cánh thẳng Orthoptera	-	-	+	+	-
3	Dế dũi	*Gryllotalpa orientalis* F.	Gryllotalpidae	Bộ cánh thẳng Orthoptera	-	++	+	-	-
4	Rệp muội	*Aphis* sp.	Aphididae	Bộ cánh đều Homoptera	++	++	+	-	-
5	Bọ xít gai	*Cletus puctiger* Dallas	Coreidae	Bộ cánh nửa Hemiptera	-	+	+++	++	+
6	Sâu xám	*Agrotis ypsilon* Huffnagel	Noctuidae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	+++	++	+	-	-
7	Sâu khoang	*Spodoptera litura* Fabr	Noctuidae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	+	++	+++	+++	+
8	Sâu xanh	*Helicoverpa assnlta* Guenee	Noctuidae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	+	+	+	-	-

9	Sâu xanh	*Helicoverpa armigera* Hiibner	Noctuidae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	-	+	++	++	-
10	Sâu đo	*Chalciope geometrica* Warren	Noctuidae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	-	-	++	+	-
11	Sâu cuốn lá	*Homona coffearia* Nietner	Tortricidae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	-	+	++	+++	+
12	Sâu xanh bướm trắng	*Pieris rapae* Linn	Peridae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	+++	++	+	-	-
13	Sâu róm nâu	*Euproctis* spl	Lymantridae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	-	-	+	+	-
14	Bà mụ	*Syntomus sperbius* Fabr	Amatidae	Bộ cánh vảy Lepidoptera	-	+	+	-	-
15	Ban miêu đen đầu đỏ	*Epicauta gorhami*	Meloidae	Bộ cánh cứng Coleoptera	-	-	+	+	-
16	Bọ lá 4 chấm trắng	*Monolepta signata*	Chrysomelidae	Bộ cánh cứng Coleoptera	-	+	+	+	-
17	Bọ trĩ	*Thrips palmi* Karnny	Thripidae	Bộ hai cánh Diptera	++	++	+	-	-
18	Nhện trắng	*Polyphagotarsonemus latus* B.	Tarsonemidae	Nhện nhỏ Acarina	-	+	++	++	++
19	Nhện đỏ son	*Tetranychus cinnabarinus*	Tetranychidae	Nhện nhỏ Acarina	-	-	-	+	+

Ghi chú: +++ Rất phổ biến, ++ Phổ biến, + ít phổ biến, - Rất ít gặp

Kết quả nghiên cứu ở bảng 1 cho thấy, trên cây lão quán thảo trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội – Viện Dược liệu, thời vụ 2004 – 2005 đã xuất hiện 19 loài côn trùng hại thuộc các bộ/họ khác nhau. Mức độ hại phổ biến trong các tháng cũng khác nhau. Các loại côn trùng hại phổ biến là rệp muội, bọ xít gai, sâu xám, sâu khoang, sâu xanh, sâu cuốn lá, bọ trĩ. Đặc biệt nguy hiểm hơn cả và đáng quan tâm để tìm biện pháp phòng chống là loài nhện trắng (*Polyphagotarsonemus latus* B.) gây hại đáng kể từ tháng 3 đến tháng 6, lá cây lão quán thảo là nguyên liệu dùng làm thuốc, nhện trắng chích hút sẽ làm quăn nhỏ lại, cây sinh trưởng còi cọc đã làm ảnh hưởng không nhỏ đến năng suất và chất lượng dược liệu, nếu bị hại nặng cây trồng sẽ thất thu sản phẩm.

3.2. Thành phần bệnh hại trên cây lão quán thảo trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc (Thanh Trì, Hà Nội)

Bảng 2. **Thành phần bệnh hại trên cây lão quan thảo trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội**

Số thứ tự	Bệnh hại	Nguyên nhân gây bệnh	Bộ/Nhóm	Ví trí bị hại	Mậc độ phổ biến
1	Cháy lá	*Alternaria* sp.	*Moniliales*	L,	+++
2	Đốm nâu	*Cladosporium* sp.	*Moniliales*	L,	++

Ghi chú: +++ Mức độ phổ biến cao, ++ Mức độ phổ biến trung bình, - Mức độ phổ biến thấp, Chưa xác định chắc chắn

Kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy, bệnh hại trên cây lão quán thảo xuất hiện ít hơn so với các loài côn trùng hại, chỉ có 2 loại bệnh phát sinh đó là bệnh cháy lá *(Alternaria* sp.) và bệnh đốm nâu *(Cladosporium* sp.), thuộc bộ/nhóm Moniliales. Tuy nhiên, 2 loại bệnh này gây hại không đáng kể và không ảnh hưởng nhiều đến sinh trưởng và phát triển của cây LQT.

Qua kết quả điều tra nghiên cứu và kết quả đánh giá về mức độ tác hại của các loài sâu bệnh gây hại trên cây LQT, chúng tôi nhận thấy nguy hiểm hơn cả, có thể làm giảm năng suất và chất lượng sản phẩm là loài nhện trắng (*Polyphagotarsonemus latus* B.). Chúng tôi đã tập trung nghiên cứu, bố trí thí nghiệm khảo sát một loại thuốc hoá học phòng trừ loại nhện này. Kết quả được thể hiện ở phần sau.

3.3. Nghiên cứu biện pháp phòng trừ nhện trắng (*Polyphagotarsonemus latus* B.) bằng thuốc hoá học

Bảng 3. **Ảnh hưởng của thuốc hoá học và hiệu lực phòng trừ nhện trắng hại cây LQT**

Công thức	Mật độ nhện trước khi phun (con/cây)	Sau phun 1 ngày		Sau phun 3 ngày		Sau phun 5 ngày	
		Số nhện sống (con/cây)	Hiệu lực (%)	Số nhện sống (con/cây)	Hiệu lực (%)	Số nhện sống (con/cây)	Hiệu lực (%)
Ortus 5SC	170,5	99,0	41,9	76,5	55,1	78,5	54,0
Đối chứng	158,8	156,3	0	163,5	0	161,7	0

Bảng 3 cho thấy, hiệu lực phòng trừ của thuốc khảo nghiệm có tác dụng đáng kể về sự hạn chế gây hại của nhện trắng trên cây LQT so với đối chứng. Số liệu bảng trên đã nói lên rằng thuốc khảo nghiệm ortus 5SC. Sau 1 ngày phun thấy tác dụng rõ rệt và sau 5 ngày phun thì hiệu lực của thuốc ortus 5SC đạt 54% và đối chứng bằng 0 %. Kết quả nghiên cứu đã cho phép đi đến kết luận đối với nhện trắng gây hại trên cây LQT, chúng ta có thể kiểm soát và phòng trừ hữu hiệu, nếu như được phát hiện sớm và phun thuốc kịp thời. Trong sản xuất chúng tôi cũng đã áp dụng thành công biện pháp phòng trừ này và có hiệu quả.

IV. KẾT LUẬN

Cây LQT nhập vào Việt Nam từ năm 1990, qua nhiều năm trồng trọt đã xuất hiện 19 loài sâu và 2 loại bệnh gây hại khác nhau. Thời gian, tỷ lệ hại và mức độ gây hại nặng nhẹ cũng khác nhau. Đặc biệt nguy hiểm là loài nhện trắng (*Polyphagotarsonemus latus* B.) gây hại, làm cây biến dạng giảm năng suất và chất lượng sản phẩm.

Khảo sát biện pháp phòng trừ nhện trắng (*Polyphagotarsonemus latus* B.) bằng thuốc hoá học cho thấy, hai loại thuốc kelthan 18,5EC và ortus 5SC đều có hiệu lực phòng trừ so với đối chứng, nhưng thuốc kelthan 18,5EC có hiệu lực cao hơn, có thể đưa loại thuốc này áp dụng phòng trừ nhện hại vào sản xuất đại trà cây LQT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục BVTV, (1995), Phương pháp điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
2. Phạm Văn Lầm (2001), Biện pháp sinh học phòng chống dịch hại, NXB. Nông nghiệp Hà Nội.
3. Ngô Quốc Luật, (2001), Báo cáo kết quả nghiên cứu khoa học.
4. Đoàn Thị Thanh Nhàn, (2001), Giáo trình cây thuốc, NXB. Nông Nghiệp.
5. Vũ Khắc Nhượng, Hà Minh Trung, (1983), Phương pháp nghiên cứu bệnh cây – NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
6. Nguyễn Văn Tuất, (1997), Phương pháp chuẩn đoán, giám định nấm và vi khuẩn hại cây trồng, NXB. Nôngnghiệp, Hà Nội.
7. Chử Mạnh Khương "Điều tra thành phần sâu hại, thiên địch của chúng trên cây thuốc, nghiên cứu đặc tính sinh học, sinh thái và biện pháp phòng trừ sâu ăn lá Brithys crini Fabricius (trên cây TNHC vụ đông xuân năm 2000 - 2001 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội". Báo cáo tốt nghiệp lớp BVTV K42, Trường đại học Nông nghiệp I - Hà Nội.
8. Dương Thị Nhài. "Điều tra thành phần dịch hại và diễn biến một số loài sâu bệnh hại chính trên cây thuốc vụ Đông xuân 2003 - 2004 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội". Báo cáo tốt nghiệp lớp BVTV 45B, Trường đại học Nông nghiệp I, Hà Nội.

DIỄN BIẾN MẬT ĐỘ SÂU ĂN LÁ *BRITHYS CRINI* HẠI CÂY TRINH NỮ HOÀNG CUNG VÀ SO SÁNH HIỆU LỰC CỦA MỘT SỐ LOẠI THUỐC PHÒNG TRỪ

Ngô Quốc Luật, Đặng Văn Ngân,
Nguyễn Văn Đĩnh

SUMMARY

Crinum latifolium L. is known as one of precious medicinal plants. It has been used in Vietnam traditional remedies. Recently, scientists have reported that C. latifolium extract can be used to prevent cancer, especially prostate cancer, uterus and breast fibroma. Brithys crini, a phyllophagous insect, has been found destroying all parts of C. latifolium at Hanoi Research Center for Medicinal Plants (National Institute of Medicinal Materials). Current studies have been conducted on the development and density of B. crini eating C. latifolium. The effect of some pesticides was compared in the summer-autunm crop in 2004. B. crini occurred from the first day of survey (23/7) when C. latifolium had about 6-8 leaves. B. crini increased dramatically in the next survey and reduced in the first leaf harvest when there are about 3-5 leaves on the plants. The density continued reducing in the following survey when the plant had 4-6 leaves and increasing when the plant had 5-7 leaves. When the number of leaves reached 6-8, B. crini density rapidly increased. After second harvest and controlling using Padan 95 SP, B. crini density reduced quickly and they nearly disappeared until last survey on 26/11. After 7 days of application, Tap ky 1.8 EC was more effective than Padan 95 SP and combination of Conphai 10 WP and Sokupi 0.36 AS. The residues of Padan 95 SP and Bassa 45 EC were examined on C. latifolium. The result showed that the leaves harvested were safe.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam nhân dân ta đã sử dụng lá cây trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium* L. *Amaryllidaceae*) để chữa trị các bệnh u...và gần đây các nhà khoa

học phát hiện cây trinh nữ hoàng cung (TNHC) là một dược liệu quý có thể chiết ra một loại thuốc chống ung thư nhất là ung thư tuyến tiền liệt, u xơ tử cung, u xơ vú. Hiện có nhiều đơn vị nghiên cứu của Việt Nam đang đi sâu tìm hiểu về cây này. . ở viện Sinh học Nhiệt đới, Giáo sư-Tiến sỹ Nguyễn Công Hào đã nghiên cứu và phát hiện được chất 1,2 beta epoxy ambdlin lâu nay thấy ở hoa, nay có cả ở lá của TNHC. Hoạt chất này có khả năng chống ung thư, chống phân bào. Nhóm nghiên cứu của tiến sỹ Nguyễn Thị Ngọc Trâm đã xác định 43 alkaloid trong lá sau khi cây ra hoa và 23 alkaloid ở thời kỳ ra hoa. Nhóm nghiên cứu của Tiến sỹ Trần Thị Việt Hoa xác định thành phần hoá học cho thấy trong lá cây có các alkaloid carotenoid, saponin, acid uronic và coumarin. Hàm lượng alkaloid toàn phần xác định được từ 0,18 – 0,34%. Luận án tiến sỹ của Võ Thị Bạch Huệ đã có nhiều khám phá mới về tác dụng của TNHC trong chữa bệnh và một số xí nghiệp đang sử dụng các kết quả nghiên cứu để sản xuất ra các thuốc mới. Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội (Viện Dược liệu) qua nhiều năm nghiên cứu về sâu bệnh hại trên cây TNHC đã phát hiện ra nhiều loại bệnh và sâu phá hại, đặc biệt nghiêm trọng là loài sâu ăn tạp phá hại trên diện tích lớn trồng đại trà, nếu không có biện pháp phòng trừ hữu hiệu sẽ gây tác hại thất thu sản phẩm lớn. Được phép của Bộ Y tế cho tiến hành nghiên cứu đề tài điều tra thành phần sâu bệnh hại trên một số cây thuốc quan trọng và tìm biện pháp phòng trừ, trong đó có cây TNHC. Chúng tôi đã tiến hành triển khai nghiên cứu một số vấn đề nêu trên, sau đây là kết quả nghiên cứu.

II. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Cây TNHC - *Crium latifolium* L. trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

- Đề tài được thực hiện thời vụ hè – thu 2004 tại Trung tâm nghiên cứu trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội và Bộ môn Côn trùng - Bệnh cây Trường đại học Nông nghiệp I Hà Nội.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu diễn biến mật độ sâu hại *Brithys crini* và các yếu tố liên quan.

- Thu thập và giám định tên sâu hại.

- Xác định hiệu lực của thuốc trừ sâu padan 95SP, tập kỳ 1,8EC, conphai 10WP và sokupi 0,36AS.

- So sánh hiệu lực phòng trừ của 3 loại thuốc với nhau để tìm ra loại thuốc có hiệu lực cao và an toàn đối với người và môi trường.

- Xác định dư lượng của thuốc padan 95SP và bassa 45EC trong dược liệu cây trinh nữ hoàng cung.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

+ Thí nghiệm ngoài đồng

- Điều tra thành phần và diễn biến một số sâu hại chính: Tiến hành điều tra theo phương pháp tự do, không cố định điểm điều tra trên các ruộng trồng cây thuốc. Điều tra 7 ngày/lần, điều tra trên một khu ruộng đại diện, chọn 10 - 15 điểm, mỗi điểm 1m^2 theo phương pháp 5 điểm chéo góc. Tại mỗi điểm điều tra kết hợp, điều tra bằng mắt, dùng dụng cụ thu bắt sâu hại về phòng giám định tên.

+ Bố trí thí nghiệm

- Đối với thí nghiệm phòng trừ sâu ăn lá (*Brithys crini*) trên cây TNHC bằng việc sử dụng 3 loại thuốc trừ sâu (padan 95SP, tập kỳ 1,8EC, hỗn hợp conphai 10WP và sokupi 0,36AS). Thí nghiệm gồm 3 công thức: Một công thức phun padan 95 SP, một công thức phun tập kỳ 1,8 EC, một công thức phun hỗn hợp conphai 10WP và sokupi 0,36AS. Mỗi công thức 10 m^2, được nhắc lại 3 lần và một công thức đối chứng phun nước lã. Thuốc được phun vào buổi chiều khi trời râm mát, phun ướt mặt lá. Trước khi phun điều tra mật độ sâu hại, sau khi phun 1,3,5,7 ngày điều tra số sâu còn sống trên từng công thức thí nghiệm.

- Đối với thí nghiệm xác định dư lượng thuốc padan 95SP và bassa 45EC: Phun thuốc padan 95SP và thuốc bassa 45EC với liều lượng cao nhất cho phép, cách ly theo đúng thời gian khuyến cáo của công ty sản xuất thuốc, sau đó thu hái lá dược liệu TNHC mang giám định tại Cục Bảo vệ thực vật Hà Nội.

+ Các chỉ tiêu theo dõi và tính toán

- Xác định tỷ lệ thiệt hại.

- Hiệu quả phòng trừ.

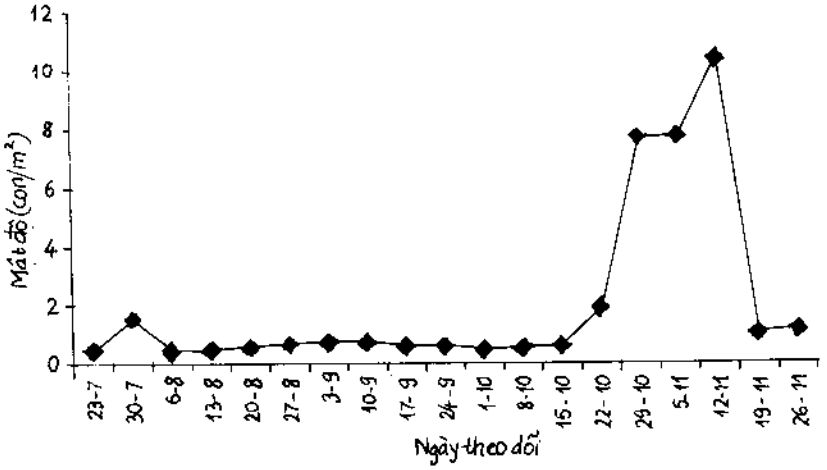
- Mức độ phổ biến được đánh giá bằng chỉ tiêu tần suất bắt gặp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Diễn biến mật độ sâu ăn lá Brithys crini trên cây trinh nữ hoàng cung

Cây TNHC (*Crrinum latifolium* L.) là cây thảo, có thân củ hình cầu, đường kính củ 10 – 20 cm. Thân giả ngắn, nhỏ. Lá có bản rộng hình giải, gân lá hình cung gần song song, phiến lá rộng 6 - 11cm, dài 60 - 90 cm, mép lá hơi ráp. Cây ra hoa vào tháng 3 - 4. Cây dễ trồng, nhân giống bằng các thân cành (củ) tách ra. Bộ phận được dùng làm dược liệu là lá cây, thu hái quanh năm.

Trong vụ hè thu 2004 cây TNHC tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội bị nhiều loài côn trùng gây hại mạnh, trong đó sâu hại chính là sâu ăn lá (*Brithys crini*). Chúng xuất hiện liên tục trong suốt thời gian điều tra và gây hại nặng trên đồng ruộng. Để theo dõi diễn biến mật độ của loài sâu này, chúng tôi đã tiến hành điều tra và kết quả được trình bày và minh hoạ ở đồ thị 1.



Đồ thị 1. Diễn biến mật độ của sâu ăn lá Brithys crini trên cây TNHC

Qua đồ thị 1 cho thấy: Sâu ăn lá (*Brithys crini*) gây hại trên cây TNHC xuất hiện từ ngày bắt đầu điều tra (23/7) khi cây có 6 - 8 lá. Mật độ của sâu tăng đột ngột trong lần điều tra tiếp theo. Sau đó lại giảm khi quá trình thu hoạch lá (lần 1) chỉ còn 3 - 5 lá. Tiếp tục mật độ của sâu giảm trong lần điều tra tiếp theo, khi cây có 4 - 6 lá. ở giai đoạn cây có 5 - 7 lá mật độ sâu lại tăng lên và tăng cao khi cây có từ 6 - 8 lá.

Sau thu hoạch lá lần 2 và sử dụng thuốc padan 95 SP thì mật độ sâu giảm xuống rất thấp, gần như không còn xuất hiện tới khi kết thúc quá trình điều tra vào ngày 26-11.

3.2. Kết quả phòng trừ sâu ăn lá (*Brithys crini*) trên cây trinh nữ hoàng cung

Trên cây TNHC trồng tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội vụ hè thu 2004. Trong suốt quá trình điều tra, chúng tôi nhận thấy loài sâu ăn lá cây (*Brithys crini)* gây hại là loài sâu hại phổ biến, có mặt liên tục và phá hoại nặng trong giai đoạn gần thu hoạch lá. Trung tâm Nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội (Viện Dược liệu) đã nghiên cứu đặc tính sinh học, sinh thái của sâu và đã có khuyến cáo người sản xuất cần sử dụng thuốc sinh học tập kỳ 1,8 EC để phòng trừ. Trong giai đoạn tiếp tục nghiên cứu của đề tài, chúng tôi khảo sát hiệu lực phòng trừ của một số loại thuốc: Thuốc trừ sâu padan 95SP, conphai 10WP kết hợp với sokupi 0,36AS và lặp lại thuốc sinh học tập kỳ 1,8 EC để tiến hành nghiên cứu phòng trừ sâu ăn lá, nhằm ngăn chặn sự gây hại của chúng, đồng thời để so sánh hiệu quả của các thuốc trừ sâu với nhau. Sau đây là kết quả về hiệu lực phòng trừ sâu của các loại thuốc nêu trên.

3.2.1. Hiệu lực phòng trừ sâu ăn lá (Brithys crini) bằng thuốc hoá học padan 95SP

Sử dụng thuốc hoá học để diệt trừ sâu hại vẫn giữ một vai trò quan trọng chưa thể thay thế trong quy trình của biện pháp phòng trừ dịch hại tổng hợp (IPM). Sử dụng thuốc hoá học mang lại hiệu quả phòng trừ cao, nhất lá khi dịch hại bùng phát. Tại ruộng trồng cây trinh nữ hoàng cung, khi mật độ sâu cao (trên 10 con/m^2) chúng tôi đã tiến hành biện pháp bằng cách phun thuốc hoá học padan 95SP theo liều lượng khuyến cáo và theo dõi diễn biến mật độ sâu ăn lá. Hiệu lực của thuốc được theo dõi đánh giá sau 1 ngày, 3 ngày, 5 ngày và 7 ngày sau phun. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Hiệu lực phòng trừ sâu ăn lá (*Brithys crini*) trên cây TNHC bằng thuốc padan 95SP**

Lần nhắc lại	Mật độ sâu trước khi phun (con/10m^2)	01 ngày sau phun thuốc		03 ngày sau phun thuốc		05 ngày sau phun thuốc		07 ngày sau phun thuốc	
		Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)
1	97	21	78,35	16	83,50	13	86,59	13	85,66
2	102	20	80,39	18	82,35	16	84,31	16	83,21
3	57	12	78,94	11	80,70	9	84,21	9	83,10
Đối chứng	46	46		46		46		43	
Hiệu lực trung bình		79,22		82,18		85,03		83,99	

Qua bảng 1 chúng tôi nhận xét: Hiệu lực trừ sâu ăn lá của thuốc trừ sâu padan 95SP khá cao sau các ngày xử lý thuốc. Sau một ngày hiệu lực trung bình của 3 lần nhắc lại là 79,22%. Hiệu lực của thuốc tiếp tục tăng ở 3 ngày sau xử lý thuốc (82,18%) và tăng cao ở 5 ngày sau xử lý thuốc 85,03%. Nhưng ở 7 ngày sau xử lý thuốc, hiệu lực của thuốc giảm xuống, chỉ còn 83,99%.

Như vậy thuốc padan 95SP có hiệu lực cao nhất ở ngày thứ 5 sau phun và giảm dần hiệu lực ở 7 ngày sau phun. Có hiện tượng đó là do thuốc padan 95SP dễ bị phân huỷ trong môi trường trồng cây thuốc. Kết quả được khẳng định khi kiểm tra dư lượng tồn đọng trên dược liệu TNHC của padan 95SP do Cục Giám định BVTV phân tích.

3.2.2. Hiệu lực phòng trừ sâu ăn lá (Brithys crini) bằng thuốc tập kỳ 1,8EC

Mấy năm gần đây, thuốc sinh học được sử dụng rộng rãi nhằm thay thế thuốc hoá học trong phòng trừ sâu hại cây trồng, đảm bảo một số tác động không có lợi của thuốc hoá học tới môi trường tự nhiên và con người. Thuốc trừ sâu sinh học tập kỳ 1,8EC là thuốc trừ sâu thế hệ mới nhất hiện nay, hoạt chất chính

cuả thuốc là abamectin được chiết xuất từ vi khuẩn *Steptomyces avermitiliss*. Thuốc có khả năng thấm sâu, gây độc đường ruột và tiếp xúc, thuốc tác động lên hệ thần kinh của côn trùng. Thời gian cách ly của thuốc từ 2 - 3 ngày. Theo tài liệu của Viện Di truyền Nông nghiệp, thuốc tập kỳ 1,8EC không gây ô nhiễm môi trường, không gây nguy hiểm cho người và động vật máu nóng.

Khi xử lý thuốc chúng tôi đã phun với liều lượng cho phép cao nhất là 8ml thuốc cho một bình 10 lít (liều lượng thấp nhất là 4ml thuốc cho một bình 10lít nước), tương ứng với 0,0144g ai/10 lít nước. Thuốc phun vào buổi chiều ngày 14/11, trời râm, mát. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2.* Hiệu lực phòng trừ sâu ăn lá (*Brithys crini*) trên cây TNHC bằng thuốc *tập kỳ 1,8EC

Lần nhắc lại	Mật độ sâu trước khi phun (con/10m^2)	01 ngày sau phun thuốc		03 ngày sau phun thuốc		05 ngày sau phun thuốc		07 ngày sau phun thuốc	
		Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)
1	97	20	79,38	6	93,81	3	96,90	3	96,90
2	68	13	80,88	6	91,17	3	95,58	3	95,58
3	101	20	80,19	10	90,09	6	94,05	6	94,05
Đối chứng	39	39		39		39		39	
Hiệu lực trung bình		80,15		91,69		95,51		95,51	

Qua bảng 2 chúng tôi rút ra nhận xét: Thuốc trừ sâu sinh học Tập Kỳ 1,8EC có hiệu quả phòng trừ sâu rất cao sau các ngày xử lý thuốc. Sau một ngày hiệu lực trung bình của 3 lần nhắc lại là 80,15%. Hiệu lực của thuốc tăng cao ở ngày thứ 3 sau phun (91,69%) và tiếp tục tăng ở ngày thứ 5 sau phun (95,51%) và được giữ nguyên ở 7 ngày sau khi phun thuốc. Loại thuốc sinh học này có hiệu quả phòng trừ cao là do thuốc có khả năng thấm sâu, nhanh vào các mô lá, chồi non, do vậy nó còn có tác dụng kéo dài.

3.2.3. Hiệu lực phòng trừ sâu ăn lá (Brithys crini) bằng thuốc hỗn hợp thuốc conphai 10WP và sokupi 0,36AS

Thuốc thảo mộc là phương án để thay thế dần cho thuốc hoá học đảm bảo cho lợi ích người sản xuất và người tiêu dùng. Thuốc conphai 10WP và sokupi 0,36AS là loại thuốc trừ sâu thảo mộc mới nhất hiện nay, do Công ty trách nhiệm hữu hạn Trường Thịnh sản xuất. Chúng tôi đã sử dụng hỗn hợp thuốc conphai 10WP và sokupi 0,36AS phun cho cây TNHC. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

***Bảng 3.* Hiệu lực phòng trừ sâu ăn lá (*Brithys crini*) trên cây TNHC bằng thuốc conphai 10WP và sokupi 0,36AS**

Lần nhắc lại	Mật độ sâu trước khi phun (con/10m^2)	01 ngày sau phun thuốc		03 ngày sau phun thuốc		05 ngày sau phun thuốc		07 ngày sau phun thuốc	
		Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)	Số sâu sống (con/10m^2)	Hiệu lực (%)
1	89	39	56,17	22	75,08	15	82,13	15	82,13
2	78	33	57,69	18	76,92	14	80,97	14	80,97
3	83	33	60,24	16	80,72	14	82,12	14	82,12
Đối chứng	53	53		53		50		50	
Hiệu lực trung bình		58,03		77,57		81,74		81,74	

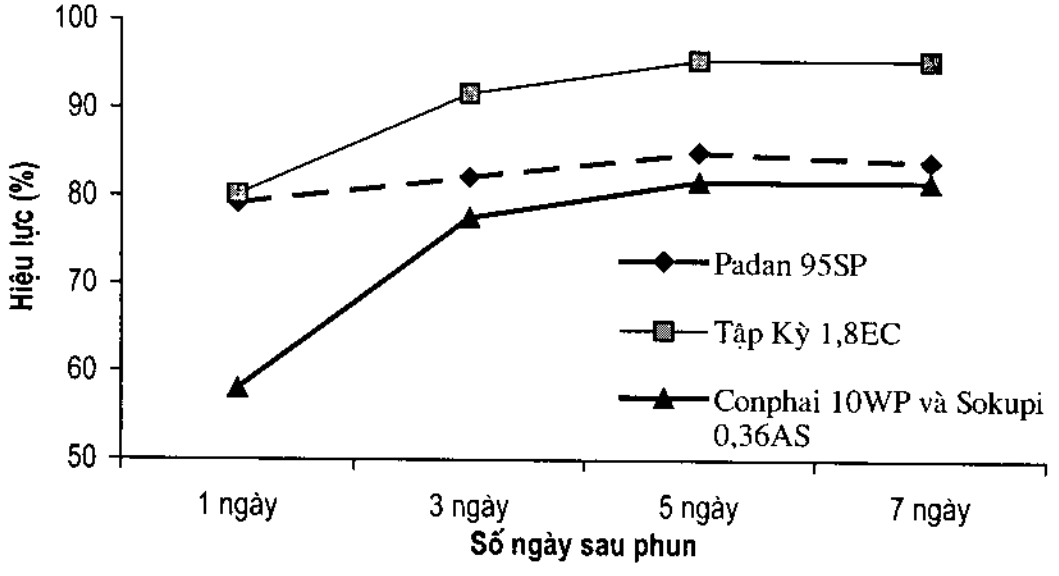
Qua bảng 3 chúng tôi rút ra nhận xét: Thuốc thảo mộc conphai 10WP và sokupi 0,36AS có hiệu quả phòng trừ sâu ăn lá cao. Trong một ngày sau xử lý thuốc, hiệu lực trung bình của 3 lần nhắc lại là 58,03%, qua 3 ngày sau phun hiệu lực đạt 77,57%, qua 5 ngày sau xử lý hiệu lực của thuốc đạt 81,74% và trong 7 ngày sau phun là 81,74%. Hiệu lực của thuốc ở 3 ngày sau phun và 5 ngày sau phun tiếp tục tăng, nhưng ở 7 ngày sau phun hiệu lực của thuốc bị giảm xuống.

3.3 So sánh hiệu lực của ba loại thuốc trừ sâu ăn lá (Brithys crini) của thuốc padan 95SP, tập kỳ 1,8EC, hỗn hợp conphai 10WP và sokupi 0,36AS

Sau 7 ngày tiến hành thí nghiệm, chúng tôi tiến hành so sánh hiệu lực của 3 loại thuốc trừ sâu đối với sâu ăn lá TNHC sau 1, 3, 5, 7 ngày xử lý thuốc. Kết quả được trình bày ở bảng 4 và đồ thị 2.

Bảng 4. **So sánh hiệu lực (%) của ba loại thuốc padan 95SP, tập kỳ 1,8EC và hỗn hợp thuốc conphai 10WP và sokupi 0,36AS**

Tên thuốc	Hiệu lực thuốc (%) sau khi phun			
	1 ngày	3 ngày	5 ngày	7 ngày
Padan 95SP	79,22	82,18	85,03	83,99
Tập kỳ 1,8EC	80,15	91,69	95,51	95,51
Conphai 10WP và sokupi 0,36AS	58,03	77,57	81,74	81,7



Đồ thị 2. So sánh hiệu lực (%) của 3 loại thuốc trên cây TNHC.

Qua bảng 4 và đồ thị 2 chúng tôi có nhận xét: Hiệu lực của 3 loại thuốc đều rất cao. Cao nhất là thuốc trừ sâu sinh học tập kỳ 1,8EC có hiệu lực kéo dài, đến thuốc trừ sâu hoá học padan 95SP và cuối cùng là thuốc trừ sâu thảo mộc conphai 10WP và sokupi 0,36 AS. Thuốc conphai 10WP và sokupi 0,36 AS có hiệu quả không bằng so với thuốc trừ sâu hoá học padan 95SP, nhưng lại có hiệu lực kéo dài hơn thuốc padan 95SP.

Thuốc tập kỳ 1,8EC sau khi phun đã thấm sâu nhanh vào các mô lá, chồi non do đó thuốc có hiệu lực cao và tác dụng kéo dài đối với các loại côn trùng trích hút và côn trùng gây hại phần thịt lá, như sâu ăn lá trinh nữ hoàng cung (*Britiys crini*). Còn thuốc hoá học padan 95SP dễ bị phân huỷ trong môi trường, thường người dân sử dụng nhiều lần để phòng trừ sâu hại, nên sâu có thể bị nhờn, ít mẫn cảm với thuốc, những con bị trúng độc với liều lượng thấp có thể phục hồi trở lại. Thuốc conphai 10WP và sokupi 0,36AS là thuốc thảo mộc nên sau khi phun thuốc không thể nhanh chóng diệt sâu như hai loại thuốc trên, nhưng thuốc lại thấm sâu vào các mô lá, chồi non, do đó nó có tác dụng kéo dài như thuốc trừ sâu Tập Kỳ 1,8EC.

3.4. Kiểm tra dư lượng tồn đọng của thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) (Padan 95SP và Bassa 45EC) trên dược liệu lá TNHC thí nghiệm tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội

Để đảm bảo sản phẩm dược liệu sản xuất ra an toàn phục vụ người bệnh, cần thiết phải kiểm tra sự tồn dư cho phép của thuốc BVTV trong sản phẩm. Chúng tôi đã tiến hành kiểm tra thuốc hoá học padan 95SP và bassa 45EC trên dược liệu lá TNHC, là những loại thuốc được người dân trồng cây thuốc thường hay sử dụng để phòng chống lại sâu nhện hại. Thuốc padan 95SP và bassa 45EC được phun theo liều lượng khuyến cáo sử dụng với thời gian cách ly khuyến cáo là 7 ngày. Sau khi kiểm định tại Cục giám định Hà Nội. Qua kết quả kiểm định cho thấy: Dư lượng tồn đọng của thuốc BVTV trên lá dược liệu sau thời gian cách ly như khuyến cáo của các nhà sản xuất là an toàn đối với người sử dụng, dưới mức cho phép kiểm định đối với hàng hoá là rau sạch. Từ đó cho thấy, nếu sử dụng đúng liều lượng và nồng độ và thời gian cách ly như khuyến cáo, chúng ta sẽ thu hoạch được sản phẩm dược liệu sạch an toàn và hiệu quả.

IV. KẾT LUẬN

+ Diễn biến mật độ sâu ăn lá *Brithys crini* hại cây TNHC có sự thay đổi theo từng thời gian cùng với sự có mặt của cây trồng trên đồng ruộng và phụ thuộc vào điều kiện khí hậu thời tiết từng năm. So sánh kết quả hai thời vụ khác nhau cho thấy diễn biến mật độ sâu hại vụ đông - xuân 2000 - 2001 cao hơn hẳn so với vụ hè - thu 2004: Vào tháng 11 là 10,33 con/m^2, còn vào tháng 2 là 474,8 con/m^2, tháng 4 là 152,80 con/m^2.
+ Hiệu lực phòng trừ của 3 loại thuốc thí nghiệm đều rất cao. Cao nhất là thuốc trừ sâu sinh học tập kỳ 1,8EC có hiệu lực kéo dài, tiếp đến là thuốc

trừ sâu hoá học padan 95SP và cuối cùng là thuốc trừ sâu thảo mộc conphai 10WP và sokupi 0,36 AS. Thuốc conphai 10WP và sokupi 0,36AS hiệu quả phòng trừ không bằng so với thuốc padan 95SP, nhưng lại có hiệu lực kéo dài hơn thuốc padan 95SP. Hiệu lực phòng trừ của thuốc tập kỳ 1,8 EC sau 7 ngày xử lý cao hơn 2 loại thuốc còn lại. Kết quả này cho phép khuyến cáo tới các nhà trồng trọt có thể lựa chọn sử dụng các loại thuốc trên để phòng trừ sâu *Brithys crini* hại cây TNHC.

+ Kiểm tra dư lượng thuốc BVTV (padan 95SP và bassa 45EC) cho thấy: Dư lượng tồn đọng của thuốc BVTV trên dược liệu cây TNHC sau thời gian cách ly như khuyến cáo của các nhà sản xuất là an toàn đối với người sử dụng, dưới mức cho phép kiểm định đối với hàng hoá là rau sạch. Nếu sử dụng đúng liều lượng và nồng độ và thời gian cách ly như khuyến cáo, chúng ta sẽ thu hoạch được sản phẩm dược liệu sạch an toàn và hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Đĩnh, Nhện hại cây trồng và biện pháp phòng chống, NXB. Hà Nội

2. Nguyễn Văn Đĩnh, (2003), Giáo trình Nhện hại cây trồng

3.Viện Bảo vệ thực vật (1997), Phương pháp nghiên cứu Bảo vệ thực vật, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội

4. Lê Trần Đức, Cây thuốc Việt Nam, NXB. Nông nghiệp

5. Đoàn Thị Thanh Nhàn, (2001), Giáo trình Cây thuốc, NXB. Nông nghiệp,

6. Nguyễn Bình, Giới thiệu cây trinh nữ hoàng cung, Tạp chí Dược liệu, tập III, T1/1998, trang 30;

7. Ngô Quốc Luật, (1996), Nghiên cứu bệnh u loét do nấm *Plasmodiophora* sp. trên cây bạch chỉ tại trại thuốc Tam Đảo. Luận án thạc sĩ

8. Phan Thuý Hiền, Ngô Quốc Luật, Nguyễn Thị Tuấn, Nguyễn Xuân Trường và cs. Điều tra đánh giá thành phần bệnh hại trên cây bạch truật tại Sa Pa - Lào Cai. Tạp chí Dược liệu, tập 5, số 4/2000, trang 100 – 104;

9. Chử Mạnh Khương - "Điều tra thành phần sâu hại, thiên địch của chúng trên cây thuốc, nghiên cứu đặc tính sinh học, sinh thái và biện pháp phòng trừ sâu ăn lá Brithys crini Fabricius (trên cây TNHC vụ đông xuân năm

2000 - 2001 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội". Báo cáo tốt nghiệp lớp BVTV K42, Trường đại học Nông nghiệp I - Hà Nội

10. Dương Thị Nhài, "Điều tra thành phần dịch hại và diễn biến một số loài sâu bệnh hại chính trên cây thuốc vụ Đông xuân 2003 - 2004 tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội". Báo cáo tốt nghiệp lớp BVTV 45B, Trường đại học Nông nghiệp I - Hà Nội
11. A. Husain - Economic aspects of Exploitaion of Medicinal plants. In: O. Kerele, V. Heywood and H. Synge the Consertion of Medicinal plants. Cambridge University Press. P. 125 – 140
12. A.S.Islam - Utilization of Indigenus Medicinal plants and their Conservation in Bangladesh. In: O. Kerele, V. Heywood. H. Synge. The Conservation of Medicinal plants, Cambridge University Press, 1991. P 330 – 335
13. Boohong Sowthavong - Natures Element. NAMAP. Abimonthly news letter of the Asian network on Medicinal and Aromatic plants. No 36. April, 1999;Narong Chomchalow. Editorial SOS. NAMAP. Abimonthly news letter of the Asian network on Medicinal and Aromatic plants. No 32. August, 1998.

XÂY DỰNG THỬ NGHIỆM TRÁNH NÉ THỤ ĐỘNG ĐỂ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA SÂM VIỆT NAM TRÊN TRÍ NHỚ

Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Thị Thu Hương
Trung tâm Sâm & Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

Memory recall was examined using the step-down passive avoidance task. The apparatus was designed and used for experiments. Tanakan, standardized ginkgo biloba extract (Egb 761) at the doses of 40 mg/kg and 80 mg/kg were evaluated on memory impairment induced by scopolamine (at the dose of 1 mg/kg) in mice, as a positive control. Vietnamese ginseng extract and its total saponins (at the doses of 50 mg/kg and 100 mg/kg) had the improving effects on scopolamine-induced impairment of learning and memory.

Keywords: Vietnamese ginseng, scopolamine, learning and memory

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cuộc sống hiện đại và môi trường ngày càng bị ô nhiễm nặng nề đã làm cho con người phải chống chọi lại với stress và phát sinh ra nhiều bệnh tật như bệnh mạch vành, tăng cholesterol ở người trung niên, bệnh đái tháo đường, tăng huyết áp... và đây cũng là những yếu tố nguy cơ của sa sút trí tuệ, bệnh Alzheimer, là những bệnh liên quan đến người cao tuổi.

Suy giảm trí nhớ là dấu hiệu báo trước của sa sút trí tuệ. Suy giảm trí nhớ tăng theo tuổi tác (75% số người trên 70 tuổi) vì có liên quan đến những biến đổi của một số chất hóa học trong hệ thần kinh trung ương và là một hiện tượng bình thường do quá trình lão hóa. Suy giảm trí nhớ dài hạn sẽ dẫn đến mất trí nhớ, suy giảm chức năng hoạt động về trí tuệ đưa đến bệnh Alzheimer, nhận thức sai lầm hoặc không nhận thức được, bệnh nhân trở thành người lệ thuộc hoàn toàn và tử vong thường do bệnh nhiễm trùng. Nguyên nhân gây bệnh này chưa được biết rõ

nhưng các độc tố từ môi trường, các virus hoạt tính chậm làm giảm thiểu lưu lượng máu tới não, các rối loạn trong vận chuyển cholestesrol và cả đột biến gen đều có thể gây bệnh [1].

Ngày nay, trên thế giới đã có nhiều công trình nghiên cứu về tác dụng cải thiện trí nhớ của các thuốc tổng hợp hay các hợp chất tự nhiên với nhiều phương pháp khác nhau như tránh né chủ động, tránh né thụ động và mê cung nước [2]

Tác dụng này cũng được nghiên cứu trên các cây thuốc thuộc họ *Araliaceae*. Những nghiên cứu về tác dụng trên trí nhớ của sâm Triều Tiên, sâm Mỹ, sâm Trung Quốc đã được thực hiện trên mô hình động vật bị gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin hay bằng sốc điện [3,4,5].

Công trình hợp tác nghiên cứu giữa Viện nghiên cứu Y học tự nhiên - Toyama, Nhật Bản và Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh cho thấy kết quả khả quan về tác dụng của sâm Việt Nam trên sự suy giảm trí nhớ của động vật sử dụng thử nghiệm tránh né thụ động trên dụng cụ gây sốc điện. Tuy nhiên, thí nghiệm này chưa được xây dựng tại Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh.

Mục tiêu của đề tài là xây dựng mô hình thực nghiệm đã và đang áp dụng trên thế giới vào điều kiện phòng thí nghiệm Việt Nam để thăm dò và sàng lọc tác động học tập và ghi nhớ của các thuốc dược liệu hay các thuốc tổng hợp khác. Tác dụng này cũng dùng để điều trị suy giảm trí nhớ, nhận thức, sa sút trí tuệ dạng Alzheimer là những bệnh lý còn ít được quan tâm tại các nước đang phát triển và ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng cuộc sống nhằm chăm sóc sức khỏe toàn diện và nâng cao chất lượng cuộc sống của bệnh nhân có nguy cơ sa sút trí tuệ.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. *Bột rễ và thân rễ sâm Việt Nam* (5 năm tuổi được cung cấp bởi Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh) được kiểm định và kiểm tra độ tinh khiết theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam III. Sau đó, chiết bằng ethanol 96%, 48%, 24% và nước theo phương pháp ngấm kiệt và các dịch chiết được tập trung lại, cô giảm áp cho dạng cao mềm và được đông khô để cho ra bột chiết toàn phần rễ - thân rễ sâm Việt Nam (gọi tắt: Bột chiết sâm Việt Nam), có hiệu suất

chiết 56,2%, hàm lượng saponin toàn phần tinh khiết quy ra chuẩn ginsenosid-Rg_1 là 13,2%.

2.1.2. Chế phẩm tanakan (Beaufour Ipsen Pharma) dạng dung dịch uống chiết suất từ lá *Ginkgo biloba* đã được tiêu chuẩn hóa (EGb 761) chuẩn độ chứa 24% hétérosid ginkgo và 6% ginkgolid-biobalid.

2.2. Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng đực chủng Swiss albino 5 - 6 tuần tuổi trọng lượng trung bình là 20 ± 2 g được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh và được để ổn định ít nhất 1 tuần trước khi thử nghiệm.

2.3. Phương pháp thử nghiệm [6]

2.3.1. Mục đích

Thăm dò tác dụng của nguyên liệu thử trên khả năng học tập - nhận thức và ghi nhớ. Trong mô hình này, scopolamin được dùng để gây suy giảm trí nhớ trên động vật thử nghiệm.

2.3.2. Thiết bị thử nghiệm

- Thiết bị thử nghiệm gồm 1 hộp có kích thước 30x30x40 cm. Đáy hộp gồm 25 thanh thép không gỉ (đường kính mỗi thanh là 0,3 cm) được đặt song song với nhau và khoảng cách giữa mỗi thanh là 1cm. Một đế cao su có kích thước Φ = 4cm đặt ở giữa sàn thanh thép không gỉ. Hộp được chiếu sáng bằng đèn 40 W trong suốt thời gian thử nghiệm.

- Thực nghiệm gồm 2 giai đoạn:

▪ Giai đoạn huấn luyện: Mỗi chuột được đặt nhẹ nhàng trên đế cao su. Khi động vật bắt đầu bước xuống và đặt toàn bộ chân xuống sàn, cho dòng điện 0,4 mA chạy qua những thanh thép không gỉ trong 4 giây để gây sốc.

▪ Giai đoạn thử nghiệm: 24 giờ sau khi huấn luyện, chuột được đặt trở lại trên đế cao su và ghi nhận thời gian từ lúc đặt chuột trên đế cao su cho đến khi chuột vật bước xuống sàn. Thời gian đó được gọi là tiềm thời bước xuống (step-down latency). Tiềm thời tối đa là 300 giây.

- Động vật được cho uống nước cất hoặc thuốc thử nghiệm. Scopolamin được tiêm phúc mạc 30 phút trước khi thử nghiệm. Khả năng học tập và ghi nhớ của thuốc thử nghiệm được đánh giá dựa vào tiềm thời bước xuống của lô thử so với lô chứng.

2.4. Đánh giá kết quả

Tiềm thời bước xuống được biểu thị bằng trị số trung bình và sai số chuẩn của trị số trung bình (M ± SEM). Các số liệu được phân tích và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm t-student. Các số liệu đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($P < 0.05$).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thiết kế bộ thiết bị thử nghiệm

Bộ thiết bị thử nghiệm gồm 3 phần: 1 hộp khối chữ nhật, 1 hộp biến thế và 1 đèn chiếu sáng.

- Hộp khối chữ nhật có kích thước 30x30x40 cm. Đáy hộp gồm 25 thanh thép không gỉ (Φ=0,3 cm) được đặt song song với nhau và khoảng cách giữa mỗi thanh là 1cm. Các thanh này được nối với những sợi dây điện đưa đến hộp biến thế.

- Hộp biến thế dùng đưa dòng điện đến các thanh thép không gỉ để gây sốc điện lên động vật. Có thể điều chỉnh được dòng điện từ 0,1-1,0 mA và thời gian từ 1-10 giây.

- Đèn chiếu sáng là một bóng đèn tròn có công suất 40W dùng để chiếu sáng hộp thử nghiệm trong suốt thời gian thử nghiệm.

3.2. Thăm dò mô hình gây suy giảm khả năng học tập và ghi nhớ bằng scopolamin

Bảng 1. **Tiềm thời bước xuống của các lô thử nghiệm**

Lô	Liều (mg/kg)	Tiềm thời bước xuống (giây)
Đối chứng	-	64,60 ± 7,45
Scopolamin	0,5	51,00 ± 8,10
Scopolamin	1,0	39,80 ± 5,05*

* $P < 0,05$ so với lô đối chứng

Nhận xét

Scopolamin liều 0,5mg/kg làm giảm tiềm thời bước xuống ở động vật thử nghiệm nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê trong khi ở liều 1mg/kg tiềm thời bước xuống giảm so với lô chứng đạt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%. Vì vậy, scopolamin liều 1mg/kg được chọn dùng gây mô hình suy giảm khả năng học tập và ghi nhớ cho các thử nghiệm kế tiếp.

3.3. Tác dụng cải thiện trí nhớ của biệt dược tanakan trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin

Bảng 2. **Tiềm thời bước xuống của các lô thử nghiệm**

Lô	Liều (mg/kg)	Tiềm thời bước xuống (giây)
Đối chứng sinh lý	-	64,60 ± 7,45
Scopolamin	1	39,80 ± 5,05#
Tanakan +Scopolamin	40	158,00 ± 21,94*
	80	229,00 ± 23,25*

# $P < 0,05$ so với lô đối chứng sinh lý

* $P < 0,05$ so với lô đối chứng scopolamin tương ứng

Nhận xét

Với liều cho uống 40 mg/kg và 80 mg/kg, tanakan làm tăng tiềm thời bước xuống so với lô chứng scopolamin, thể hiện tác dụng cải thiện khả năng học tập và ghi nhớ bị gây suy giảm bằng scopolamin đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($P<0,05$).

3.4. Thăm dò tác dụng cải thiện trí nhớ của sâm Việt Nam

3.4.1. Bột chiết thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam

Bột chiết thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam được thử ở 2 liều 50 mg/kg và 100 mg/kg

- Cho uống 30 phút trước khi tiêm scopolamin (điều trị tức thời).
- Cho uống 7 ngày trước khi tiêm scopolamin (điều trị dự phòng).

Bảng 3. **Tác dụng của bột chiết thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam trong mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin**

Lô	Liều (mg/kg)	Tiềm thời bước xuống (giây)	
		Tức thời	Sau 7 ngày
Đối chứng sinh lý	-	64,60 ± 7,45	68,00 ± 4,74
Scopolamin	1	39,80 ± 5,05	51,40 ± 4,23#
Sâm Việt Nam	50	133,70 ± 20,77	101,90 ± 15,55*
+ Scopolamin	100	221,56 ± 22,83	205,70 ± 27,21*

# P < 0,05 so với lô đối chứng sinh lý

* P < 0,05 so với lô đối chứng scopolamin tương ứng

Nhận xét

Bột chiết thân rễ và rễ củ sâm Việt Nam với liều cho uống là 50 mg/kg và 100 mg/kg làm tăng tiềm thời bước xuống ở động vật thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% ở cả 2 trường hợp dùng tức thời và sau 7 ngày dùng thuốc. Điều này chứng tỏ bột chiết sâm Việt Nam có tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin khi điều trị tức thời cũng như khi điều trị dự phòng.

3.3.2. Saponin sâm Việt Nam

Được cho uống liều 50 mg/kg và 100 mg/kg (điều trị tức thời).

Bảng 4. **Tiềm thời bước xuống ở các lô thử nghiệm**

Lô	Liều (mg/kg)	Tiềm thời bước xuống (giây)
Đối chứng sinh lý	-	64,60 ± 7,45
Scopolamin	1	39,80 ± 5,05#
Saponin sâm Việt Nam	50	160,40 ± 27,70*
+ Scopolamin	100	168,20 ± 20,29*

# P < 0,05 so với lô đối chứng sinh lý

* P < 0,05 so với lô đối chứng scopolamin tương ứng

Nhận xét

Ở 2 liều 50mg/kg và 100mg/kg, saponin sâm Việt Nam làm tăng tiềm thời bước xuống ở súc vật thử nghiệm chứng tỏ thuốc thử nghiệm thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin.

IV. KẾT LUẬN

- Đã thiết kế và hoàn thành bộ thiết bị cho thử nghiệm tránh né thụ động để nghiên cứu tác dụng cải thiện trí nhớ theo các thông số quy định.

- Xác định mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin với liều 1 mg/kg. Ở liều này scopolamin làm giảm tiềm thời bước xuống so với lô chứng đạt ý nghĩa thống kê.

- Xác định tác dụng học tập và ghi nhớ của biệt dược tanakan trên mô hình thực nghiệm với liều 40 mg/kg và 80 mg/kg. Với các liều này, tanakan có thể dùng làm đối chiếu cho các thử nghiệm sau này.

- Đã xác định tác dụng cải thiện trí nhớ của bột chiết sâm Việt Nam liều 50 mg/kg và 100 mg/kg trên mô hình gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin liều 1 mg/kg trong cả 2 trường hợp điều trị tức thời cũng như khi điều trị dự phòng.

- Ngoài ra, saponin sâm Việt Nam ở liều 50 mg/kg và 100 mg/kg (điều trị tức thời) cũng thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ qua việc làm tăng tiềm thời bước xuống của động vật thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Quang Thường, (2000), Sự liên quan của gốc tự do trong các chuyển hoá và bệnh tật ở não. Tạp chí Dược học, 27-28: 291-292.

2. Petkov VD., Belcheva S., Petkov VV., (2003), Behavioral effects of *Gingo biloba* L.,Panax ginseng C.A.Mey. and Gincosan. Am. J. Chin. Med., 31(6): 841-855.

3. Hsieh MT., Peng WH., Wu CR., Wang WH., (2000), The ameliorating effects of the cognitive-enhancing Chinese herbs on scopolamine-induced amnesia in rats. Phytother. Res., 14(5):375-377.

4. Sloley BD., Pang PK., Huang BH., Ba F., Li FL., Benishin CC., Greenshow AJ., Shan JJ., (1999), American ginseng extract reduces scopolamine-induced amnesia in a spatial learning task. J. Psychiatry Neurosci., 24(5): 442-452.

5. Petkov VD., Kehayov R., Belcheva S., Konstantinova E., Petkov VV., Getova D., Markovska V., (1993), *Memory effects of standadized extracts of Panax ginseng (G115), Gingo biloba (GK501) and their combination gincosan (PHL-00701).* Planta Med., 59(2):106-114.

6. Atef A.Abdel-Hafez et al., (1998), *Effects of Paeoniflorin derivatives on scopolamine-induced amnesia. Using a passive avoidance task in mice; Structure-activity relationship.* Biol.Pharm.Bull., 21:1174-1179.

ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP GC-MS ĐỂ PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN HOÁ HỌC TINH DẦU CHIẾT XUẤT TỪ MỘT SỐ DƯỢC LIỆU VIỆT NAM

Nguyễn Bích Thu, Nguyễn Duy Thuần,
Đào Trọng Tuấn, Nguyễn Thị Nụ *- Viện Dược liệu*

SUMMARAY

Samples of the O. gratissimum L., *O. sanctum* L., *P. lolot* C.DC., *P. betle* L., *P nigrum* L., *C. japonica* Thunb., *C. grandis* L. *were harvested in 3 provinces: Ha Noi, Hai Duong, Gia Lai. The composition of the essential oils from several parts: leaves, stems, fruits of the trees was investigated. Qualitative and quantitative analysis of each sample was carried out by GC-MS2010.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phương pháp GC-MS đã được áp dụng từ nhiều năm nay ở nhiều nước trên thế giới để phân tích định tính và định lượng các thành phần chính trong tinh dầu.

Ưu điểm của phương pháp là nhanh, độ nhạy cao. Nhiều nước phát triển ở châu Âu, châu Mỹ và một số nước châu Á đã áp dụng phương pháp GCMS phân tích thành phần hóa học đặc trưng của tinh dầu và tạo atlas GCMS của tinh dầu, góp phần tiêu chuẩn hóa tinh dầu và kiểm tra chất lượng tinh dầu.

Xuất phát từ điều kiện trang thiết bị của Viện và để phục vụ tốt hơn công tác nghiên cứu của Viện, chúng tôi thực hiện đề tài "*Ứng dụng phương pháp GC-MS để phân tích thành phần hoá học tinh dầu chiết xuất từ một số dược liệu Việt Nam*" với các mục tiêu sau:

- Chọn những điều kiện tối ưu để phân tích các tinh dầu có các thành phần cấu tạo khác nhau.
- Phát triển hệ thống sắc ký khí khối phổ nghiên cứu định tính, định lượng các thành phần hóa học đặc trưng trong tinh dầu của một số dược liệu: hương nhu, các loài *citrus*, các loài *piper* có ở Việt Nam.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Đối tượng nghiên cứu và thời gian lấy mẫu:

- Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.): Phần trên mặt đất của cây hương nhu trắng, trồng ở Hà Nội và Hải Dương. Được thu hái vào tháng 5/2005.

- Hương nhu tía (*Ocimum sanctum* L.) : Phần trên mặt đất của cây hương nhu tía, trồng ở Hà Nội và Hải Dương. Được thu hái vào tháng 5/2005.

- Lá lốt (*Piper lolot* C.DC.): Lá của cây lá lốt, trồng ở Hà Nội và Hải Dương. Được thu hái vào tháng 4/2005.

- Trầu không (*Piper betle* L.): Lá của cây trầu không, trồng ở Hà Nội và Hải Dương. Được thu hái vào tháng 5/2005.

- Hồ tiêu (*Piper nigrum* L.): Quả của cây hồ tiêu, trồng ở Pleiku - Gia Lai. Lấy mẫu vào tháng 3/2005.

- Quất (*Citrus japonica* Thunb.): Vỏ của quả cây quất, trồng ở Hà Nội và Hải Dương. Được thu hái vào tháng 4/2005.

- Bưởi (*Citrus grandis* L.): Vỏ quả của cây bưởi Diễn, trồng ở Canh Diễn, được thu hái vào tháng 12/2004 và của cây bưởi Môlô, trồng ở Hải Dương, được thu hái vào tháng 5/2005.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chế tạo tinh dầu

- Cất tinh dầu bằng phương pháp cất kéo hơi nước với dụng cụ định lượng tinh dầu cải tiến.

- Hàm lượng tinh dầu toàn phần được tính trên dược liệu khô tuyệt đối.

2.2.2. Phương pháp xác định thành phần hóa học của tinh dầu:

- Máy móc, thiết bị: Máy sắc ký khí khối phổ GC-MS 2010

Cột DB-5 MS (30cm×0,25mm);

Khí mang heli;

Tỷ lệ m/z từ 40-200;

Tỷ số chia đầu và cột tách: 1/2;

- Chương trình nhiệt độ với các dược liệu chi *Ocimum:*

Nhiệt độ ban đầu 50^0C giữ trong 2 phút.

Tốc độ tăng nhiệt: tăng 3^0C/phút, tăng đến 100^0C giữ trong 4 phút;

tăng 16^0C/phút, tăng đến 180^0C giữ trong 3 phút.

Nhiệt độ buồng tiêm mẫu 150^0C.

- Chương trình nhiệt độ với các dược liệu chi *Piper*:

Nhiệt độ ban đầu 50^0C giữ trong 1 phút.

Tốc độ tăng nhiệt: tăng 10^0C/phút, tăng đến 100^0C giữ trong 4 phút;

tăng 16^0C/phút, tăng đến 200^0C giữ trong 2 phút.

Nhiệt độ buồng tiêm mẫu 100^0C.

- Chương trình nhiệt độ với các dược liệu chi *Citrus*:

Nhiệt độ ban đầu 55^0C giữ trong 2 phút.

Tốc độ tăng nhiệt: tăng 4^0C/phút, tăng đến 95^0C giữ trong 2 phút;

tăng 15^0C/phút, tăng đến 150^0C giữ trong 2 phút.

Nhiệt độ buồng tiêm mẫu 100^0C.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khảo sát thành phần hóa học tinh dầu các loài Citrus

Kết qủa xác định hàm lượng tinh dầu có trong các mẫu nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. **Hàm lượng tinh dầu có trong vỏ quả quất và vỏ quả bưởi**

Tên mẫu nghiên cứu	Vỏ quả quất	Vỏ quả bưởi
Hàm lượng tinh dầu (%)	7,59	4,72

Kết qủa phân tích định tính và định lượng các thành phần hóa học chính trong tinh dầu vỏ quả quất, vỏ quả bưởi được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. **Thành phần hóa học tinh dầu các loài *Citrus***

TT	Thành phần	Hàm lượng (%) trong tinh dầu vỏ quả quất	Hàm lượng (%) trong tinh dầu vỏ quả bưởi
1	α- Pinen	0,30	0,38
2	β- Pinen	0,51	1,71
3	β- Phellandren	-	0,41
4	l- Limonen	95,69	95,84
5	β- myrcen	1,48	1,66
6	Linalol	0,22	-
7	Anethol	0,31	-
8	Caryophyllen	0,79	-
9	Neryl acetat	0,23	-
10	*trans*- caryophyllen	0,17	-
11	Germacren D	0,31	-

Nhận xét:

Kết quả cho thấy các thành phần chính có trong vỏ quả bưởi và vỏ quả quất tương đối giống nhau với 3 thành phần có hàm lượng cao là *l*- limonen, β- pinen và β- myrcen. Trong đó, *l*- limonen chiếm tỷ lệ cao nhất 95,69% trong vỏ quả quất và 95,84 trong vỏ quả bưởi.

Kết quả này cũng tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu mà tác giả Nguyễn Mạnh Pha đã công bố. Theo Nguyễn Mạnh Pha hàm lượng limonen trong tinh dầu vỏ quả bưởi chiếm từ 41,45% đến 93,59%, trong tinh dầu vỏ quả quất là 88,4% [4].

3.2. Khảo sát thành phần hóa học tinh dầu các loài *Piper*

Kết qủa xác định hàm lượng tinh dầu có trong các mẫu nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. **Hàm lượng tinh dầu có trong lá lốt, lá trầu không và quả hồ tiêu**

Tên mẫu nghiên cứu	Lá lốt	Trầu không	Hồ tiêu
Hàm lượng tinh dầu (%)	0,65	2,33	2,35

Nhận xét

Hàm lượng tinh dầu toàn phần có trong các mẫu hồ tiêu nghiên cứu đạt tiêu chuẩn quy định trong Dược điển Việt Nam III: Hàm lượng tinh dầu không dưới 1%.

Kết qủa phân tích định tính và định lượng các thành phần hóa học chính trong tinh dầu lá lốt, lá trầu không, hồ tiêu được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. **Thành phần hóa học tinh dầu một số loài *Piper***

TT	Thành phần	Hàm lượng (%) trong tinh dầu lá lốt	Hàm lượng (%) trong tinh dầu lá trầu không	Hàm lượng (%) trong tinh dầu hồ tiêu
1	α- Pinen	12,02	-	6,81
2	δ- 3- Caren	-	-	37,68
3	Sapinen	3,59	-	0,86
4	β- Pinen	23,18	-	13,06

5	*l*- Phellandren	-	-	1,25
6	β- Myrcen	0,89	-	2,83
7	δ- 4- Caren	-	-	0,36
8	*l*- Limonen	2,80	-	2 4,31
9	Linalol	1,18	-	0,42
10	*cis*- Ocimen	2,21	-	0,64
11	α- Cubeben	3,53	-	-
12	β- Elemen	1,74	0,69	0,29
13	Caryophyllen	8,01	4,13	10,04
14	α- Humulen	1,44	0,92	0,51
15	Germacren D	1,95	5,51	-
16	Geranyl acetat	-	-	0,16
17	Eugenol	-	25,99	-
18	*trans*- Methyl isoeugenol	6,13	30,84	-
19	γ- Elemen	5,31	-	-
20	α- Copaen	-	0,48	0,77
21	Biscyclogermacren	-	2,94	-
22	Nerolidol	2,37	-	-
23	Eucalyptol	-	0,58	-
24	Chavicol	-	1,29	-
25	Chavicyl acetat	-	5,57	-
26	α- Eudesmol	0,58	-	-
27	Occidentalol acetat	-	0,89	-
28	4- Cromanol	-	17,39	-
29	α- Cadinol	-	0,58	-
30	Aromadendren	12,10	-	-

Nhận xét

Kết quả trên cho thấy trong tinh dầu lá lốt có chứa nhiều thành phần khác nhau với 15 thành phần có hàm lượng >1%, nếu so với tinh dầu trầu không và hồ tiêu. Ba loại tinh dầu này có thành phần chung đáng lưu ý là caryophyllen với hàm lượng cao. Các thành phần chính khác là: β- pinen (23,18%) trong tinh dầu lá lốt, *trans*-methyl-isoeugenol (30,84%) trong tinh dầu lá trầu không, δ-3-caren (37,68%) trong tinh dầu hồ tiêu.

So với các kết quả nghiên cứu trước đây thì kết quả thực tế lần này có một số điểm khác biệt: Thành phần chính trong tinh dầu lá lốt là β-pinen chứ không phải là β-caryophylen [6], hàm lượng thành phần chính eugenol trong tinh dầu lá trầu không cao hơn rất nhiều (gấp 2 lần) và hàm lượng thành phần chính δ-3-caren trong tinh dầu hồ tiêu cũng rất cao so với kết quả mà tác giả Hoàng Văn Lựu đã công bố [2]. Sự khác biệt này một phần có thể là do có sự khác nhau về vùng địa lý thu hái nguyên liệu.

3.3. Khảo sát thành phần hóa học tinh dầu các loài *ocimum*

Kết qủa xác định hàm lượng tinh dầu có trong các mẫu nghiên cứu được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. **Hàm lượng tinh dầu có trong hương nhu trắng và hương nhu tía**

Tên mẫu nghiên cứu	Hương nhu trắng	Hương nhu tía
Hàm lượng tinh dầu (%)	2,57	0,92

Nhận xét: Hàm lượng tinh dầu toàn phần có trong các mẫu hương nhu trắng nghiên cứu đạt tiêu chuẩn quy định trong Dược điển Việt Nam III: Hàm lượng tinh dầu không dưới 1%.

Kết qủa phân tích định tính và định lượng các thành phần hóa học chính trong tinh dầu hương nhu trắng, hương nhu tía được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. **Thành phần hóa học tinh dầu một số loài *Ocimum***

TT	Thành phần	Hàm lượng (%) trong tinh dầu hương nhu trắng	Hàm lượng (%) trong tinh dầu hương nhu tía
1	α- Pinen	7,43	-
2	cis- β- Ocimen	0,37	-
3	1- Limonen	-	0,28
4	α- Copaen	1,31	-
5	β- Elemen	1,10	7,09
6	β- Caryophylen	3,46	22,55
7	α- Humolen	0,44	1,47
8	Caryophyllen oxid	-	0,51
9	*D*- Germacren	6,82	-
10	Germacren A	-	0,56
11	Linalol	0,35	-
12	Borneol	-	0,37
13	Hedycaryol	-	0,48
14	*trans*- Anethol	0,8	-
15	α- Amorphen	0,39	-
16	Eugenol	76,62	66,32
17	γ- Cadinen	0,90	-

Nhận xét

Kết quả trên cho thấy các mẫu hương nhu trắg và hương nhu tiá nghiên cứu đều thuộc nhóm giàu eugenol với hàm lượng rất cao trong tinh dầu toàn phần. Điểm khác biệt ở đây là các mẫu tinh dầu hương nhu trắg đều cho tỷ lệ α- pinen vµ *D*- germacren khá cao trong khi trong tinh dầu hương nhu tiá không có. Kết quả phân tích này cũng tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu đã công bố [6].

IV. KẾT LUẬN

- Đề tài đã áp dụng phương pháp sắc ký khí khối phổ để phân tích thành phần hóa học của một số tinh dầu và đã thu được một số kết quả ban đầu. Đề tài sẽ tiếp tục nghiên cứu với số lượng mẫu lớn hơn để thu được "dấu vân tay sắc ký khí khối phổ đặc trưng của từng tinh dầu".

- Các mẫu vỏ quả quất nghiên cứu có hàm lượng tinh dầu toàn phần là 7,59%, thành phần chính là *l*- limonen chiếm 95,69%.

- Mẫu vỏ quả bưởi nghiên cứu có hàm lượng tinh dầu toàn phần là 4,72%, thành phần chính là *l*- limonen chiếm 95,84%.

- Các mẫu lá lốt nghiên cứu có hàm lượng tinh dầu toàn phần là 0,65%, thành phần chính là β-pinen chiếm 23,18%.

- Các mẫu lá trầu không nghiên cứu có hàm lượng tinh dầu toàn phần là 2,33%, thành phần chính là *trans*-methylisoeugenol chiếm 30,84%.

- Các mẫu quả hồ tiêu nghiên cứu có hàm lượng tinh dầu toàn phần là 2,35%, thành phần chính là δ-3-caren chiếm 37,68%.

- Các mẫu hương nhu trắng nghiên cứu có hàm lượng tinh dầu toàn phần là 2,57%, thành phần chính là eugenol chiếm 76,62%.

- Các mẫu hương nhu tía nghiên cứu có hàm lượng tinh dầu toàn phần là 0,92%, thành phần chính là eugenol chiếm 66,32%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, (2002), Dược điển Việt Nam III, NXB. Y học, trang: 311-2, 383-5, 396-7,380.
2. Hoàng Văn Lựu, (2003), Thành phần hóa học của tinh dầu cây hồ tiêu *Piper nigrum* L., và tinh dầu trầu không *Piper betle* L., ở Nghệ An, Tạp chí Dược học, số 11, trang:15-7.
3. Lã Đình Mỡi và cs., (2001), Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam, NXB. Nông nghiệp, tập 1, trang: 66-77, 154-63.
4. Nguyễn Mạnh Pha, (1993), Luận án phó tiến sĩ y dược, Trường đại học Dược Hà Nội.
5. Nguyễn Thị Tâm, 2003, Thực tập dược liệu, Bộ môn Dược liệu- Trường đại học Dược Hà Nội, trang: 27-31.
6. Viện Dược liệu, (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ thuật, trang: 108, 274, 977, 1027, 1029/ tập 1, trang: 127, 542, 1007/ tập 2.

ĐỊNH LƯỢNG ARTEMISININ TRONG DƯỢC LIỆU THANH CAO HOA VÀNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐO MẬT ĐỘ HẤP THỤ VẾT SẮC KÝ LỚP MỎNG

Nguyễn Kim Bích, Trịnh Thị Nga - Viện Dược liệu

SUMMARY

A TLC densitometrical method was used to detemination of artemisinin in *Artemisia annua* L. The TLC on silicagelG F254, Merck, with benzen: ethylacetat (95:5) as mobile phase, detection by spraying with anisaldehyde - sulphuric acid reagent. Quantitation of artemisinin by densitometry at λ 500nm, scanner speed at 20 mm/s. The experimental results showed that the method is accurate, precise, able to be effectively aplied to quality coltrol of the raw material

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Artemisinin được chiết xuất từ dược liệu lá thanh cao hoa vàng *Artemisia annua* L. là nguồn nguyên liệu chủ yếu và quan trọng để sản xuất thuốc điều trị bệnh sốt rét. Dược liệu thanh cao hoa vàng được trồng ở Việt Nam có hàm lượng artemisinin từ 0,5 - 1%, chất lượng dược liệu có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chiết. Do vậy việc kiểm tra, đánh giá hàm lượng artemisin trong dược liệu phục vụ cho nghiên cứu và chiết xuất đạt hiệu quả là cần thiết. Các phương pháp định lượng artemisinin đã được ghi trong một số Dược điển gồm có: Phương pháp đo mật độ hấp thụ ở bước sóng 290 nm sản phẩm trung gian sau thuỷ phân của artemisinin trong môi trường kiềm (1), (4), phương pháp sắc ký lỏng cao áp (4).Tuy nhiên, để đánh giá định lượng một thành phần thuộc nhóm terpenoid trong dược liệu bằng các kỹ thuật trên, vẫn còn có mặt bị hạn chế. Với mục đích, muốn khai thác kỹ thuật mới, có thể áp dụng trong phân tích định lượng artemisinin trong dược liệu, góp phần bổ sung phương pháp định lượng có hiệu quả và có thể áp dụng được tại cơ sở Viện để kiểm tra và đánh giá chất lượng dược liệu. Chúng tôi đã tiến hành xây dựng phương pháp định lượng

artemisinin trong dược liệu thanh cao hoa vàng, bằng phương pháp đo mật độ hấp thụ vết sắc ký lớp mỏng trên máy CAMAG- TLC- SCANNER3.

II. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

2.1. Thiết bị và hoá chất thí nghiệm

* Thiết bị:

+ *Máy TLC- CAMAG- SCANNER3*
+ Máy chấm kính tự động CAMAG- LINOMAT 5
+ Cân phân tích có độ chính xác 0,1mg
+ Máy sấy kính CAMAG- TLC-HEATER III

* *Hoá chất:*

+ Silicagel G F254nm Merck, bản tráng sẵn, hoạt hoá 105^0 C trước khi dùng
+ Methanol
+ Benzen
+ Ethylacetat
+ Thuốc thử anisaldehyd/ acid sulfuric

2.2. Định lượng artemisinin trong dược liệu

a. Chuẩn bị mẫu

- *Mẫu thử:* 1g dược liệu dược chiết bằng cách đun hồi lưu trên cách thuỷ với 20ml ether dầu x 2 lần, thời gian 1giờ, gộp dịch chiết và cô trên cách thuỷ đến cạn, hoà cắn thu được trong 1ml clroform và thêm methanol vừa đủ 10ml, lọc dịch chiết thu được qua giấy lọc, bỏ 1ml dịch đầu, lấy 2ml dịch tiếp theo, được dung dịch mẫu thử chấm sắc ký.

- *Mẫu đối chiếu:* Dung dịch artermisinin 0,1% trong methanol (1mg/ml).

b. Chấm mẫu: Tiến hành chấm mẫu trên máy chấm sắc ký tự động Linomat5. Mẫu thử chấm 3 vết mỗi vết 4µl hoặc 6µ, mẫu đối chiếu chấm 5 vết gồm 2, 4, 4, 6 và 8µl.

b. Hệ dung môi khai triển: benzen : ethylacetat (95 : 5).

c. Phát hiện: Tạo sản phẩm dẫn xuất hoá bằng cách phun thuốc thử anisaldehyd/ acid sulfuric, sấy kính ở nhiệt độ 100°C, thời gian 5 phút.

Tiến hành đo mật độ hấp thụ vết ở bước sóng 500 nm, tốc độ quét 20 mm/giây.

d. Tính kết quả: Tính kết quả đo theo diện tích pic. Hàm lượng atermisinin trong mẫu thử dược liệu thanh cao hoa vàng được tính theo công thức :

$$X\% = \frac{m.25.100}{V.1000.P.(1-B)}$$

trong đó:

m : kết quả mẫu thử đo được (μg), là kết quả trung bình của 3 lần nhắc lại;

V: lượng chấm của mẫu thử (μl);

P : lượng mẫu dược liệu đem cân (g);

B : độ ẩm dược liệu (%).

2.3. Kết quả và biện luận

2.3.1 Xác định khoảng tuyến tính, hệ số tương quan r và phương trình hồi quy

Tiến hành đo mật độ hấp thụ của một thang chuẩn artemisinin theo phương pháp như đã nêu ở mục 2.2. Kết quả được ghi ở bảng 1, hình 1.

***Bảng 1.* Kết quả biểu thị mối tương quan giữa lượng artemisinin (μg) và mật độ hấp thụ (AU) tương ứng, đo ở bước sóng 500nm**

Lượng artemisinin (μg)	Mật độ hấp thụ tương ứng (AU) tính theo diện tích pic	Hệ số tương quan r và phương trình hồi quy
2	6437,75	Phương trình hồi quy bậc 1:
4	9807,18	Y = 3246,683 + 1599,012 X
6	12532,73	r = 0,99859
8	16189,31	Sdv = 2,39 %

Nhận xét

Hai đại lượng khảo sát có phụ thuộc tuyến tính rõ rệt, với hệ số tương quan r = 0,99859. Khoảng tuyến tính được xác định từ 2 – 8μg.

2.3.2. Xác định độ lặp lại

Tiến hành thí nghiệm với số lần nhắc lại 6 lần của mẫu thử, theo phương pháp như đã ghi ở mục 2.2. Kết quả được ghi ở bảng 2.

Bảng 2. **Khảo sát độ lặp lại của phương pháp**

Số thí nghiệm	Lượng atermisinin đo được (μg)	Xử lý số liệu thống kê n = 6, P = 0,95
1	5,453	*Kết quả trung bình: X = 5,694*
2	5,544	Độ lệch chuẩn: SD = 0,255
3	5,456	Độ lệch chuẩn tương đối : SDV = 4,487%
4	5,947	Sai số tương đối : 4,701%
5	6,053	
6,	5,703	

Kết quả khảo sát cho thấy, phương pháp có sai số tương đối đạt 4,70 1%.

2.3.3.Xác định độ đúng

Tiến hành xác định độ đúng bằng phương pháp thêm bằng cách trộn hỗn hợp mẫu chuẩn và mẫu thử đã được biết trước theo tỷ lệ khác nhau. Tiến hành theo phương pháp như đã ghi ở mục 2.2. Tính kết quả theo phần trăm thu hồi. Kết quả được ghi ở bảng 3.

Bảng 3. **Kết quả xác định độ đúng của phương pháp**

Số thí nghiệm	Lượng atermisinin có sẵn (μg)	Lượng atermisinin thêm vào (μg)	Lượng atermisinin tổng số đo được (μg)	Lượng thu hồi tính theo tỉ lệ %
1	3,12	2,0	5,155	102,4
2	3,12	3,0	6,258	105,3
				TB : 103, 8

Kết quả khảo sát cho thấy phương pháp có độ đúng trung bình đạt 103, 8%.

III. KẾT LUẬN

Phương pháp định lượng đã xây dựng có độ lặp lại và độ đúng đạt yêu cầu cho phép của một phương phân tích định lượng. Phương pháp được tiến hành nhanh, đơn giản, không đòi hỏi phương pháp xử lý mẫu phức tạp, chi phí dung môi ít và có thể tiến hành định lượng đồng thời nhiều mẫu trên cùng một sắc ký đồ. Bởi lẽ đó phương pháp đã được áp dụng tại cơ sở để kiểm tra chất lượng dược liệu thanh cao hoa vàng phục vụ cho thu mua và sản xuất artemisinin của Viện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Việt Nam 3.
2. Dược điển Trung Quốc (2000)
3. H. Jork,W Funk, W.Fischer, H. Winner., (1986), Thin layer chromatography, Reagent and detection methods. Volume 1b.
4. WHO. Draft monographs for antimalarial. The International Pharmacopoeia thirt edition.

ĐỊNH LƯỢNG LYCORIN TRONG DƯỢC LIỆU NÁNG HOA TRẮNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐO MẬT ĐỘ HẤP THỤ VẾT SẮC KÝ LỚP MỎNG

Nguyễn Kim Bích, Trịnh Thị Nga - Viện Dược liệu

SUMMARY

A TLC densitometrical method was used to detemination of lycorin in *Crinum asiaticum* L.. The TLC on silicagelG F254, Merck, with chloroform:methanol:ammonia 25% (7:1:0,1) as mobile phase, densitometry at λ 290 nm, scanner speed at 20 mm/s for quantitation of lycorin. The experimental results showed good linearity (r=0,99346; 1 – 4 μg); precision (ε = 3,0%) and accuratcy (percentage of recovery = 98,77%)

The method was aplied to local standardization of the raw material, intermediat and their finish product.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dược liệu náng hoa trắng *Crinum asiaticum* L. hiện đang được Viện Dược liệu nghiên cứu làm thuốc điều trị bệnh u xơ tuyến tiền liệt. Thành phần hoạt chất chính đã được biết có trong dược liệu náng hoa trắng là lycorin, do vậy việc nghiên cứu phương pháp đánh giá hàm lượng lycorin trong dược liệu và các chế phẩm là cần thiết, cũng là một trong số nội dung của đề tài, phục vụ cho nghiên cứu, sản xuất và kiểm tra chất lượng dược liệu.

Các phương pháp xác định hàm lượng lycorin đã được biết như HPLC (4), HPTLC (1) và phương pháp chuẩn độ acid - bazơ, trong đó phương pháp chuẩn độ đã được áp dụng phổ biến để định lượng alcaloid toàn phần. Tuy nhiên, mức độ đánh giá định lượng bằng phương pháp này còn ở mức thấp, chưa có tính chọn lọc, còn mắc sai số nhiều do khâu xử lý mẫu phức tạp. Với mục đích, mong muốn bổ sung phương pháp phân tích định lượng bằng kỹ thuật mới, dựa trên cơ sở trang thiết bị sẵn có và có thể áp dụng được tại cơ sở Viện, chúng tôi đã tiến hành xây dựng phương pháp định lượng lycorin trong dược liệu náng hoa trắng bằng phương pháp đo mật độ hấp thụ vết sắc ký lớp mỏng trên máy CAMAG-TLC-SCANNER3.

II. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

2.1. Thiết bị và hoá chất thí nghiệm

* Thiết bị:

+ Máy TLC- CAMAG- SCANNER3
+ Máy chấm kính tự động CAMAG- LINOMAT 5
+ Cân phân tích có độ chính xác 0,1mg

* *Hoá chất:*

+ Silicagel G F254nm Merck, bản tráng sẵn, hoạt hoá 105^0 C trước khi dùng
+ Ethanol
+ Cloroform
+ Acid acetic
+ Amoniac đđ

2.2. Định lượng lycorin trong dược liệu

a. Chuẩn bị mẫu

- Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 1g dược liệu đã được tán nhỏ, cho vào bình nón miệng mài dung tích 100 - 125ml, thêm 30ml dd. acid acetic 5% trong ethanol 50%. Đậy kín bình, lắc 1giờ, để lắng 3 giờ, gạn lấy phần dịch chiết. Tiếp tục chiết với 30 ml dd acid acetic 5% trong ethanol như trên, để lắng qua đêm. Gộp dịch chiết và cô trên cách thuỷ đến cạn. Cho vào cắn thu được 1 ml dd amoniac 25% và 2 ml ethanol, khuấy đều để hoà tan rồi chuyển vào bình định mức dung tích 25ml, tráng cốc lần lượt bằng 5ml ethanol, rồi đổ vào bình định mức, lắc đều, thêm ethanol vừa đủ đến vạch, lắc đều trong 5 phút. Lọc lấy phần dịch chiết, bỏ 2ml dịch lọc đầu và lấy 2ml dịch lọc tiếp theo. Dung dịch này được dùng để chấm sắc ký

- Mẫu đối chiếu: Dung dịch 0,025 % lycorin hydroclorid trong ethanol.

b. Chấm mẫu: Tiến hành chấm mẫu trên máy chấm sắc ký tự động Linomat5, gồm có: Thang chuẩn lycorin : 5 vết : 4µl, 8µl, 8µl, 12µl và 16µl. Mẫu thử: Chấm nhắc lại 4 vết, mỗi vết chấm 10, 12 hoặc 16µl.

c. Hệ dung môi: Cloroform: methanol: amoniac đđ (70:10:1).

d. Phát hiện: Tiến hành đo mật độ hấp thụ vết trên máy SCANNER3 ở bước sóng 290 nm, tốc độ quét 20 mm/s, chế độ đo phản xạ. Đọc kết quả trên máy.

e. Tính kết quả: Tính kết quả đo theo diện tích pic. Hàm lượng lycorin trong mẫu thử được tính theo công thức:

$$X\% = \frac{m.25.100}{V.1000.P.(1-B)}$$

trong đó:

m : kết quả mẫu thử đo được (µg);

V: lượng chấm của mẫu thử (µl);

P : lượng dược liệu đem cân (g);

B : độ ẩm dược liệu.

2.3. Kết quả và biện luận

2.3.1. Xác định khoảng tuyến tính, hệ số tương quan r và phương trình hồi qui. Kết quả được ghi ở bảng 1, hình 1.

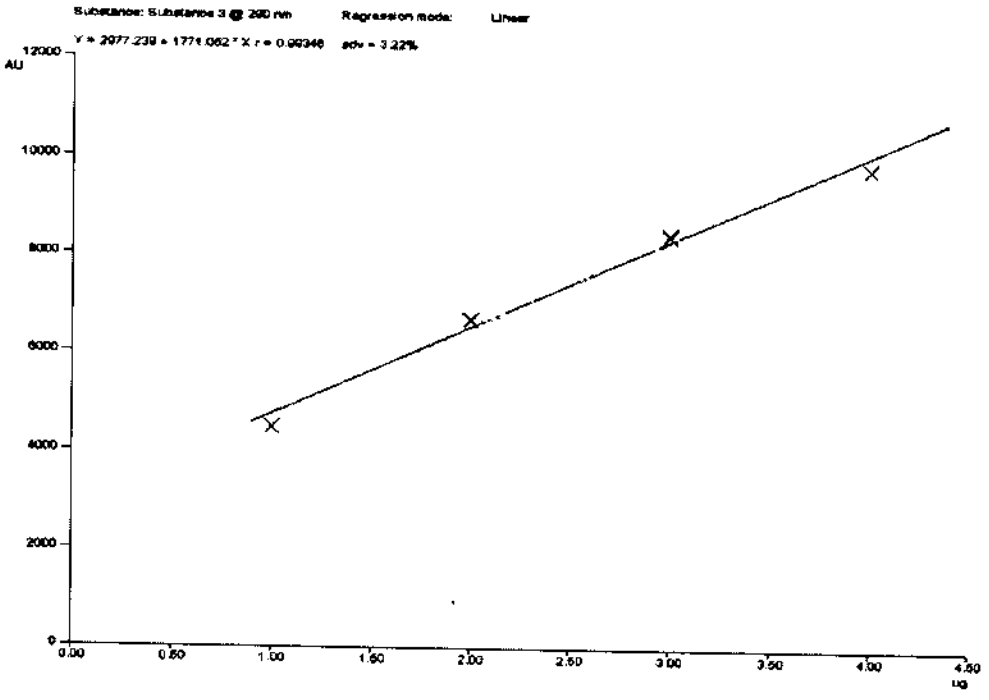
Chấm mẫu chuẩn lycorin trên lớp mỏng gồm 5 vết tương ứng với 1µg, 2µg, 2µg, 3µg và 4µg. Tiến hành theo phương pháp như đã ghi ở mục 2.2. Kết quả được ghi ở bảng 1, hình 1.

***Bảng 1.* Xác định khoảng tuyến tính**

Lượng lycorin đơn vị: µg	Diện tích pic Đơn vị: AU	Phương trình hồi quy và hệ số tương quan r
1	4464,00	Phương trình hồi qui tuyến tính bậc 1
2	6653,27	Y = 2977,239 +1771,052.X
2	6690,86	r = 0,99346 , sdv = 3,22 %
3	8387,45	
3	8435,33	
4	9798,31	

Nhận xét

Hai đại lượng khảo sát có phụ thuộc tuyến tính rõ rệt, với hệ số. Khoảng tuyến tính được xác định từ 1 - 4 µg.



Hình 1. Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ và diện tích pic của lycorin

2.3.2. Xác định độ lặp lại

Tiến hành thí nghiệm với số lần nhắc lại 6 lần của mẫu thử , theo phương pháp như đã ghi ở mục 2.2. lượng chấm 16 µl. Kết quả dược ghi ở bảng 2

Bảng 2. **Kết quả xác định độ lặp lại**

Số thí nghiệm	Kết qủa đo tính theo diện tích pic Đơn vị: µg	Xử lý số liệu thống kê n = 6, P = 0,95
1	3,231	Kết quả trung bình: X = 3,090 µg
2	3,080	Độ lệch chuẩn tương đối: SDV = 2,9 %
3	3,036	Sai số tương đối : ε = 3,0%
4	2,965	
5	3,130	
6	3,120	

Nhận xét: Phương pháp có sai số tương đối đạt 3,0%

2.3.3. Xác định độ đúng

Tiến hành xác định độ đúng bằng phương pháp thêm bằng cách trộn hỗn hợp mẫu chuẩn và mẫu thử đã được biết trước theo tỷ lệ khác nhau. Tiến hành theo phương pháp như đã ghi ở mục 2.2. Tính kết quả theo phần trăm thu hồi. Kết quả được ghi ở bảng 3.

Bảng 3. **Kết quả khảo sát xác định độ đúng của phương pháp (Kết quả đo là giá trị trung bình của 4 lần nhắc lại)**

Lượng có sẵn (µg)	Lượng thêm vào (µg)	Lượng đo được (µg)	Phần trăm thu hồi %
1. 1,547	1,0	2,565	101,80
2. 1,856	0,8	2,620	95,75
			TB : 98,77

Phương pháp đã khảo sát có độ đúng đạt trung bình 98,77%

III. KẾT LUẬN

Phương pháp định lượng đã xây dựng có độ lặp lại và độ đúng đạt yêu cầu của 1 phương phân tích định lượng. Phương pháp được tiến hành nhanh, đạt hiệu quả cao, có thể tiến hành định lượng đồng thời nhiều mẫu cùng một lúc trên sắc ký đồ.

Phương pháp xây dựng trên, đã được áp dụng trong các tiêu chuẩn cơ sở để kiểm tra và đánh giá chất lượng dược liệu, bán thành phẩm và thành phẩm từ náng hoa trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Antonio Evidente. et al., (2004), Amarbellisine, a lycorine-type alkaloid from *Amaryllis belladonna* L. growing in Egypt. Phytochemistry 65, 2113 – 2118.
2. Dược điển Trung Quốc (2000).
3. Đỗ Tất Lợi, (2001), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Y học, tr 509.
4. Mark W. et al., (1998), Purification of the alkaloid lycorine and stimultaneous analysis of ascorbic acid and lycorine by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography. Analytical Biochemistry 257, 80-88.

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CỦA DƯỢC LIỆU XÔNG SINH

(Đề tài KC10.02.07)

Lê Thị Kim Loan, Nguyễn Kim Phượng *- Viện Dược liệu*
Vũ Văn Điền *- Đại học Dược Hà Nội*
Vũ Thị Thuận, Bùi Hồng Cường, Nguyễn Huy Văn
- Công ty Cổ phần Traphaco

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xông sinh là phương pháp chế biến dược liệu được sử dụng từ rất lâu đời. Hiện nay, phương pháp này vẫn được dùng phổ biến ở các làng nghề trồng cây thuốc như Nghĩa Trai (Hưng Yên), Ninh Hiệp (Gia Lâm)..., tuy nhiên việc sử dụng diêm sinh trong chế biến còn tuỳ tiện, chưa có quy trình cụ thể như thời gian xông sinh, tỷ lệ diêm sinh dùng cho việc chế biến áp dụng cho từng loại dược liệu, đặc biệt là độc tính của dược liệu sau xông sinh có phụ thuộc vào lượng diêm sinh dùng hay không vẫn còn là câu hỏi chưa có lời giải đáp. Chính vì vậy để xây dựng quy trình chế biến cho một số dược liệu an toàn, việc nghiên cứu độc tính của dược liệu xông sinh là điều hết sức cần thiết.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Nguyên liệu để thử độc tính là cao lỏng của các loại dược liệu đương quy di thực (*Radix Angelicae acutilobae*), bạch chỉ (*Radix Angelicae dahuricae*), ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae*), cúc hoa (*Flos Chrysanthemi indici*). Những loại dược liệu này được trồng theo quy trình trồng dược liệu an toàn tại Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội (Viện Dược liệu). Mỗi loại được xông sinh với các tỷ lệ khác nhau, cụ thể:

- Đương quy di thực

+ Mẫu 1 (ĐQ1) - 1,5kg diêm sinh cho 100 kg đương quy

+ Mẫu 2 (ĐQ2) - 2kg diêm sinh cho 100 kg đương quy

+ Mẫu 3 (ĐQ3) - 3kg diêm sinh cho 100 kg đương quy

+ Mẫu 0 (ĐQ0) - mẫu không xông sinh

- Cúc hoa

+ Mẫu 1 (CH1) - 1,0 kg diêm sinh cho 100 kg dược liệu

+ Mẫu 0 (CH0) - mẫu không xông sinh

- Bạch chỉ

+ Mẫu 1 (BC1) – 1 kg diêm sinh cho 100 kg dược liệu

+ Mẫu 0 (BC0) - mẫu không xông sinh

- Ngưu tất

+ Mẫu 1 (NT1) - 1,5kg diêm sinh cho 100 kg ngưu tất

+ Mẫu 0 (NT0) - mẫu không xông

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định độc tính cấp theo phương pháp Behrens - Karber theo thông tư kèm theo quyết định 371 của Bộ Y tế và phương pháp xác định độc tính cấp [1], kết quả tính theo công thức:

$$LD_{50} = LD_{100} - (\Sigma\ a\ xd : n)$$

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Độc tính cấp của đương quy di thực

Bảng 1. **Độc tính của ĐQDT sau xông sinh**

Mẫu	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng tối đa (g/kg)	Số chuột chết
ĐQ0	15	140	0
ĐQ1	15	190	0
ĐQ2	15	140	0

Bảng 2. **Độc tính cấp của ĐQ3 (mẫu xôngsinh với tỷ lệ 3kg/100kg)**

TT	Liều uống (g/kg)	Số chuột TN (n)	Số chuột chết	Hiệu 2 liều kế tiếp (a)	Số chết trung bình 2 liều kế tiếp (b)	Tích axb	Tỷ lệ chết (%)
1	107	10	0				
2	120	10	2	13	1	132	20
3	133	10	6	13	4	528	60
4	147	10	9	14	7,5	105	90
5	160	10	10	13	9,5	123,5	100

LD_{50} = 130,65g/kg

Nhận xét

Với mẫu không sấy diêm sinh (ĐQ0) và 2 mẫu sấy diêm sinh với tỷ lệ 1,5 kg/100kg dược liệu (ĐQ1) và 2kg/100kg (ĐQ2), khi dùng cao lỏng với mức tối đa có thể cho chuột uống được, không có con nào chết. Như vậy ở cả 3 mẫu này đều không xác định được LD_{50}, chứng tỏ ở các tỷ lệ diêm sinh dùng để sấy dược liệu là 1,5 kg/100kg và 2 kg/100kg chưa thấy độc tính của dược liệu. Khi tăng tỷ lệ diêm sinh lên 3 kg/100kg dược liệu để chế biến thì độc tính của dược liệu tăng lên.

3.2. Độc tính cấp của cúc hoa

Bảng 3. **Kết quả thử độc tính cấp mẫu CH1 (tỷ lệ sinh 1%)**

TT	Liều (dl khô) g/kg	Số chuột thử	Số chuột chết	Chênh lệch giữa hai liều (d)	Số chuột chết trung bình giữa hai liều (z)	d-z
1	180	10	10			
2	160	10	8	20	9	180
3	140	10	6	20	7	140
4	120	10	5	20	5,5	110
5	100	10	1	20	3	60
6	80	10	0	20	0,5	10
Σdz = 500						

LD_{50} = 180 - 500/10 = 130 g/kg

Bảng 4. **Kết quả thử độc tính cấp của CH0 (sấy khô)**

TT	Liều (dl khô) g/kg	Số chuột thử	Số chuột chết	Chênh lệch giữa hai liều (d)	Số chuột chết trung bình giữa hai liều (z)	d-z
1	97,3	10	10			
2	86,48	10	9	10,82	9,5	102,79
3	75,68	10	6	10,8	7,5	81
4	64,86	10	5	10,82	5,5	59,51
5	54,04	10	2	10,82	3,5	37,87
6	43,24	10	0	10,8	1	10,8
Σdz = 291,97						

LD_{50} = 97,3 –291,97/10 = 68,10g/kg

Nhận xét

- LD_{50} của mẫu cúc hoa không xông sinh là 68,1g/kg.còn của cúc hoa xông sinh là 130g/kg, kết quả này cho thấy cúc hoa không xông sinh có độc tính cao hơn cúc hoa sấy diêm sinh, có thể do khi sấy diêm sinh hàm lượng tinh dầu trong dược liệu bị giảm nhiều so với dược liệu chỉ sấy khô bình thường.

3.3. Độc tính cấp của bạch chỉ

Bảng 5. **Kết quả thử độc tính cấp mẫu BC1 (tỷ lệ sinh 1%)**

TT	Liều (dl khô) g/kg	Số chuột thử	Số chuột chết	Chênh lệch giữa hai liều (d)	Số chuột chết trung bình giữa hai liều (z)	d-z
1	90	10	10			
2	80	10	9	10	9.5	95
3	66	10	4	14	6.5	91
4	54	10	1	12	2.5	30
5	40	10	0	14	0.5	7
Σdz = 223						

LD_{50} = 90 -223/10 = 67,7g/kg

Bảng 6. **Kết quả thử độc tính cấp mẫu BC0 (sấy khô)**

TT	Liều (dl khô) g/kg	Số chuột thử	Số chuột chết	Chênh lệch giữa hai liều (d)	Số chuột chết trung bình giữa hai liều (z)	d-z
1	90	10	10			
2	80	10	9	10	9.5	95
3	64	10	7	16	8	128
4	46	10	6	18	6.5	117
5	40	10	2	6	4	24
6	30	10	0	10	0,1	10
Σdz = 374						

LD_{50} = 90 -374/10 = 52,6g/kg

Nhận xét

- Cũng giống như cúc hoa, LD_{50} của mẫu bạch chỉ xông sinh 1% là 67,7g/kg, của bạch chỉ không xông sinh là 52,6g/kg, kết quả này cho thấy độc tính của dược liệu không xông sinh cao hơn dược liệu xông sinh

3.4. Độc tính cấp của ngưu tất

Tiến hành thử trên các mẫu NT1, NT0. Kết quả NT1 có LD_{50} = 76g/kg, NT0 có LD_{50} = 154,2 g/kg

Kết quả trên cho thấy dược liệu xông sinh có độc tính cao hơn dược liệu không xông sinh.

IV. KẾT LUẬN

+ Không xác định được độc tính cấp của các mẫu đương quy di thực xông sinh với các tỷ lệ 1,5 và 2 kg/tạ dược liệu, mẫu xông sinh 3 kg/100 kg dược liệu có LD_{50} = 130,65 g/kg

+ Độc tính cấp của cúc hoa xông sinh với tỷ lệ 1 kg/100 kg dược liệu là 130 g/kg, còn mẫu không xông sinh là 68,10 g/kg

+ Độc tính cấp của bạch chỉ xông sinh với tỷ lệ 1 kg/100 kg dược liệu là 67,7 g/kg, còn mẫu không xông sinh là còn mẫu không xông sinh là 52,6 g/kg.

+ Độc tính cấp của ngưu tất xông sinh với tỷ lệ 1 kg/100 kg dược liệu là 76 g/kg, còn mẫu không xông sinh là 154,2 g/kg

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Trung Đàm (1996), Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, NXB.Y học.

NGHIÊN CỨU PHÂN BIỆT CÁC CÂY SÀI ĐẤT (*WEDELIA CHINENSIS* (OSBECK) MERR.) VỚI SÀI LAN (*TRIDAX PROCUMBENS* L.) VÀ CHÈ RỪNG (*PHYLA NODIFLORA* (L.) GREENE)

Nguyễn Thị Xuân Hoa[1], Trần Công Khánh[2], Phạm Văn Thanh[1], Phạm Kim Mãn[1].

(1) Viện Dược liệu, (2)Trường đại học Dược Hà Nội

Bài báo này đưa ra những đặc điểm chi tiết về hình thái, giải phẫu bột dược liệu và phấn hoa để so sánh giữa ba loài sài đất (*Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr.; hay *W. calendulacea* Less) với sài lan hay cỏ mui (*Tridax procumbens* L.), thuộc họ Cúc và chè rừng hay cây lức (*Phyla nodiflora* (L.) Greene, họ Cỏ roi ngựa), góp phần phân biệt chúng. Những thực vật này có thể nhận biết dễ dàng bởi hình dạng của lá, chiều dài của cuống cụm hoa và màu sắc của hoa.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sài đất (*Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr., tên đồng nghĩa *W. calendulacea* Less.), họ Cúc (*Asteraceae*) là cây thuốc dân gian và mọc hoang ở nhiều nơi trên đất nước ta. Sài đất được dùng phổ biến trong nhân dân như một vị thuốc có chất kháng khuẩn, có tác dụng chữa mụn nhọt, lở ngứa, nổi mẩn, chốc đầu, đau mắt, viêm bàng quang [1]. Gần đây, trên thế giới có đề cập đến tác dụng bảo vệ gan và lợi mật của sài đất [2,3].

Với những công dụng như vậy, sài đất đã được tìm kiếm và sử dụng khá nhiều từ trước tới nay. Tuy nhiên, những năm trước đây, một số cơ sở quốc doanh dược liệu thu mua sài đất đã mua nhầm hoặc lẫn lộn với cây sài lan, còn gọi là cỏ mui (*Tridax procumbens* L., họ Cúc (*Asteraceae*)) hay cây chè rừng, còn gọi là cây lức (*Phyla nodiflora* (L.) Greene, họ Cỏ roi ngựa (*Verbenaceae*)). Một số sách về cây thuốc đã lưu ý tránh sự nhầm lẫn giữa các cây nói trên [1,4,5], nhưng những chỉ dẫn để phân biệt chúng chỉ gồm vài dòng tóm tắt về đặc điểm hình thái bên ngoài.

Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi muốn đưa ra những đặc điểm chi tiết hơn về hình thái, giải phẫu bột dược liệu và phấn hoa để so sánh giữa ba loài, góp phần phân biệt chúng, cũng như góp phần vào việc tiêu chuẩn hóa dược liệu sài đất.

II. NGUYÊN LIÊU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

+ Cây sài đất được thu hái ở vườn cây thuốc của Trung tâm nghiên cứu Trồng và Chế biến cây thuốc Hà Nội.

+ Cây sài lan được thu hái ở sân Ga Trần Quý Cáp - Hà Nội (mọc hoang).

+ Cây chè rừng được thu hái ở khu vực Thanh Oai - Hà Tây (mọc hoang).

2.2. Phương tiện và phương pháp nghiên cứu

- Đặc điểm bên ngoài: Quan sát bằng mắt, sử dụng các dụng cụ phân tích thông thường.

- Vi phẫu thân, lá được cắt bằng máy cắt và nhuộm kép theo phương pháp chung [6].

- Bột dược liệu: Quan sát, chụp ảnh bằng kính hiển vi và máy camera kỹ thuật số.

- Tiêu bản hạt phấn được làm theo phương pháp Acetolyza [6].

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Cây sài đất (*Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr.)

3.1.1. Hình dáng bên ngoài

Cây thảo sống nhiều năm, thân bò, rễ mọc từ các đốt thân, phân cành nhiều ở gốc, phần trên gần như đứng thẳng, có lông thưa. Lá mọc đối, có cuống ngắn 1-3 mm. Phiến lá hình mác rộng, dài 3-7 cm, rộng 1-2 cm, đỉnh nhọn hoặc tù, mép nguyên hoặc có 1-3 đôi răng cưa ở xa nhau. Cả hai mặt lá có lông mịn ngắn. Gân chính rõ ở mặt trên, hơi lồi ở mặt dưới. Gân bên 1-2 đôi, thường chỉ có 1 đôi ở gần gốc là rõ, không có gân mạng. Cụm hoa hình đầu, đường kính 15-20 mm, cao 10 mm. Cuống cụm hoa dài 3-10 cm, có lông thô ngắn, mọc đơn độc ở đỉnh thân hoặc ở nách lá.

Quả bế có răng dạng mào lông ở đỉnh. Đế cụm hoa hơi lồi mang 2 loại hoa, màu vàng tươi, được bao bọc bởi vòng tổng bao lá bắc gồm hai hàng, xếp xen kẽ.

Mỗi hoa có một lá bắc nhỏ đi kèm. Bầu dưới. 5 lá đài trông như 5 răng ở mép trên của bầu.

Ở hoa cái (E), tràng hoa hình lưỡi nhỏ gồm 2 phần: Phần ống dài 1-1,5 mm và phần lưỡi nhỏ dài 8 - 9 mm và rộng 4 mm, đỉnh tù, có 2 - 3 răng, khía sâu 1 mm. Có từ 12 - 18 hoa cái trên một đầu.

Ở hoa lưỡng tính (Δ), tràng hoa hình ống loe dần lên phía trên, dài 5 mm, phần rộng nhất là 1,2 mm. Phần trên cùng chia 5 thuỳ có đỉnh tù hoặc gần tròn. Phần dưới ống tràng nối với bầu thu nhỏ lại dài khoảng 1 mm.

Bộ nhị gồm 5 nhị, chỉ nhị đính vào ống tràng, rời nhau. Bao phấn dính vào nhau thành 1 ống bao quanh bộ nhụy. Bao phấn đính gốc, dài 2 mm, đỉnh tròn. Trung đới kéo dài trên bao phấn thành một phần phụ.

Bộ nhụy gồm 2 lá noãn, bầu dưới 1 ô, 1 noãn, đính noãn gốc. Một vòi nhụy, núm nhụy chia thành 2 nhánh.

3.1.2. Vi phẫu thân

Mặt cắt ngang hình tròn, từ ngoài vào trong gồm các phần như sau: Biểu bì gồm một lớp tế bào hình gần chữ nhật xếp đều đặn (1). Vòng mô dày góc xếp liên tục sát biểu bì, gồm 3 lớp tế bào (2). Mô mềm vỏ, tế bào màng mỏng(3). Trong mô mềm vỏ có rải rác nhiều khuyết. Nội bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn (4). Bó sợi xếp thành từng đám (5) ứng với các bó libe-gỗ. Libe-gỗ phát triển liên tục thành vòng, không đều (6): có những đám to, đám nhỏ, có những đám phần gỗ phát triển còn phần libe gần như không phát triển. Mô mềm tủy, gồm những tế bào tròn to, màng mỏng (7).

3.1.3. Vi phẫu lá

Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn (1). Đám mô dày góc xếp ở chỗ lồi sát biểu bì (2). Mô mềm, gồm những tế bào tròn to, màng mỏng hơi nhăn nheo (3). Bó libe-gỗ hình trứng xếp giữa gân lá (4), gồm: hai cung mô cứng ở phía trên và phía dưới ôm lấy bó libe-gỗ. Libe nằm sát ở dưới, gỗ gồm những dãy mạch xếp rất đều đặn ở phía trên.

3.1.4. Bột dược liệu

Bột màu lục xám, có nhiều sợi, mùi thơm nhẹ, vị đặc biệt.

Soi kính hiển vi thấy:

- Mảnh biểu bì .

- Lông che chở đa bào, gồm 3-4 tế bào chứa nang thạch, tế bào gốc phình to, tế bào giữa hình chữ nhật dài, tế bào đầu thuôn nhọn và ngắn. Bề mặt lông sần sùi.

- Lỗ khí gồm 3-4 tế bào bạn xung quanh theo kiểu mao lương.

- Mảnh cánh hoa gồm những tế bào hình nhiều cạnh, màng mỏng, ngoằn ngoèo. Tế bào ở mép cánh hoa có cạnh ngoài nhô lên .

- Mảnh mạch điểm và mạch xoắn.

- Mảnh bó sợi.

3.1.5. Phấn hoa

Hạt phấn hình cầu P/E = 43/40,3 = 1,07. Cấu tạo 3 rãnh-ora (NPC 345), đồng cực, chiều rộng của cực 15,55 μm. Bề mặt hạt phấn có gai nhọn, dài khoảng 3 μm. Lớp sexin dày 1,14 μm, lớp nexin dày 1,23 μm, intin dày 1,03 μm.

3.2. Cây sài lan (*Tridax procumbens* L.)

Tất cả các đặc điểm đều được phân tích chi tiết như sài đất. Những đặc điểm khác biệt với sài đất được tóm tắt trong các bảng so sánh sau.

3.3. Cây chè rừng (*Phyla nodiflora* (L.) Green)

Tất cả các đặc điểm đều được phân tích chi tiết như sài đất. Những đặc điểm khác biệt với sài đất được tóm tắt trong các bảng so sánh sau.

3.4. So sánh sự khác nhau giữa sài đất, sài lan và chè rừng

Để thuận lợi trong việc phân biệt ba loài trên, chúng tôi lập bảng so sánh sự khác nhau giữa chúng, giúp độc giả tiện theo dõi cũng như nhận biết chúng dễ dàng.

***Bảng1.* Hình dáng cây và cấu tạo hoa**

Đặc điểm	Loài		
	Sài đất	Sài lan	Chè rừng
Cây	-Thân bò, phần trên gần như thẳng đứng. - Có lông thưa	- Thân bò lan. - Nhiều lông.	- Thân bò lan. - Thân vuông nhẵn, ít lông.

Lá	- Cuống ngắn 1-3 mm. - Phiến lá hình mác rộng, hai đầu nhọn. - Mép nguyên hoặc có 1-3 đoi răng cưa ở xa nhau.	- Cuống dài 8-15 mm. - Phiến lá hình trứng, đầu thuôn nhọn. - Mép khía răng lớn và sâu, trông như chia thùy.	- Cuống ngắn - Phiến lá hình trứng ngược. Phần đầu lá tù khía răng cưa, phần dưới nguyên và men xuống cuống lá.
Cụm hoa	- Hình đầu ở đầu cành hoặc nách lá. - Có 2 loại hoa, màu vàng tươi. Nhiều hoa cái (>12 hoa)	- Hình đầu ở đầu cành. - Có 2 loại hoa. 5 hoa cái màu vàng nhạt, hoa lưỡng tính màu vàng đậm.	-Dạng bông ngắn, dày đặc ở nách lá. - Chỉ có một loại hoa hình ống, màu trắng hơi lam tím
Hoa	- Bầu dài. - 5 lá đài trông như 5 răng ở mép trên của bầu. -E: tràng hình lưỡi nhỏ. Phần lưỡi nhỏ có chiều dài gấp đôi chiều rộng. -Δ: tràng hoa hình ống chia 5 thùy.	- Bầu dưới. - Đài biến thành lông dài ngắn khác nhau (1,5-6 mm). Trên những lông đó lại có những lông ngắn, nhỏ. -E: tràng hình lưỡi nhỏ. Phần lưỡi nhỏ có chiều dài gần bằng chiều rộng. -Δ: tràng hoa hình ống chia 5 thùy.	- Bầu trên - Đài hợp hình chuông, tồn tại đến khi quả trưởng thành. -Δ, tràng hình chuông chia 5 thùy không đều nhau.
Cuống cụm hoa	- Dài 3-10 cm	- Dài tới 20 cm	- Dài 3-8 cm
Quả	- Quả bế - Không có mào lông.	- Quả bế - Có mào lông dài gấp 3 lần quả.	- Quả nang hình trứng, đài 0,7 mm, có đài bao bọc

Bảng 2. **Cấu tạo giải phẫu**

Đặc điểm	Loài		
	Sài đất	Sài lan	Chè rừng
Lông che chở	- Đa bào, 1 dãy gồm 3 – 4 tế bào chứa nang thạch.	- Đa bào, 1 dãy gồm 2 tế bào.	- Đơn bào hình chữ T có chân lông ngắn.
Mặt cắt ngang thân	- Hình tròn.	- Hình tròn.	- Hình vuông.
Mô dày góc	- Thành vuông liên tục sát biểu bì.	- Thành vong liên tục sát biểu bì.	- Xếp thành đám ở những chỗ lồi của thân.
Mô dẫn (libe-gỗ)	- Phát triển liên tục thành vòng không đều nhau.	- Phát triển thành đám riêng biệt, không đều nhau.	- Phát triển liên tục thành vòng khá đều.

Bảng 3. **Cấu tạo hạt phấn**

Đặc điểm	Loài		
	Sài đất	Sài lan	Chè rừng
Hình dạng	- Hình cầu	- Hình cầu hoặc hình cầu dẹt.	- Hình bầu dục
P (µm)	42,98 ± 0,96	38,32 ± 0,59	36,23 ± 0,54
E (µm)	40,26 ± 0,74	39,85 ± 0.67	30,60 ± 1,06
Sexin (µm)	1,143 ± 0,045	1,029 ± 0,043	1,394 ± 0,13
Nexin (µm)	1,233 ± 0,086	0,793 ± 0,043	1,608 ± 0,17
Intin (µm)	1,036 ± 0,066	0,750 ± 0,034	0,965 ± 0,11
Apocolpi (µm)	15,55 ± 0,21	17,58 ± 0,26	15,76 ± 0,21
Chạm trổ	Có gai hơi tù, dài 3,04 ± 0,23(µm)	Có gai nhọn, sắc, dài 5,15 ± 0,13(µm)	Kiểu hột cơm hay kiểu mấu lồi.
Đặc điểm miệng	3 rãnh-ora ở xích đạo	3 rãnh-ora ở xích đạo	3 rãnh-ora ở xích đạo
NPC	345	345	345

IV. KẾT LUẬN

- Đặc điểm phân bố: Sài đất, sài lan và chè rừng đều mọc hoang và bò lan, rễ mọc từ các đốt thân nên mới nhìn qua thì dễ gây nhầm lẫn. Nghiên cứu trên mẫu tươi của 3 loài này cho thấy:

- Hình dáng bên ngoài: Cụm hoa của sài đất và sài lan mang đặc điểm của họ Cúc là cụm hoa đầu. Cuống cụm hoa sài đất dài 3-10 cm, còn ở sài lan dài đến 20 cm. Cụm hoa chè rừng dạng bông dày đặc, cuống dài 3-8 cm.

Sài đất và sài lan có hai loại hoa trên một đầu. Cụm hoa sài đất có hơn 12 hoa cái, màu vàng tươi, còn ở sài lan có 5 hoa cái, màu vàng nhạt. Chè rừng chỉ có một loại hoa lưỡng tính, tràng hình chuông, chia 5 thùy không đều nhau, màu trắng hơi lam tím.

- Cấu tạo giải phẫu: Phần mô mềm vỏ của sài đất có mang khuyết. Mô dày góc của chè rừng không tạo một vòng liên tục mà xếp tập trung ở 4 chỗ lồi ứng với 4 góc của thân cây. Hệ thống libe-gỗ: Ở sài đất phát triển liên tục không đều nhau, ở sài lan phát triển không liên tục, ở chè rừng phát triển liên tục khá đều

- Bột dược liệu: Sài đất mang lông che chở đa bào, gồm 3-4 tế bào chứa nang thạch. Sài lan mang lông che chở chỉ có 2 tế bào. Chè rừng mang lông che chở đơn bào hình chữ T có chân ngắn. Ở bột sài lan còn thấy đài biến thành lông, trên những chiếc lông đó còn có nhiều lông nhỏ, ngắn.

- Hạt phấn: Sài đất và sài lan mang đặc điểm của họ Cúc: Mặt ngoài hạt phấn có gai; bề mặt hạt phấn chè rừng có mấu lồi. Cấu tạo hạt phấn của cả 3 loài đều là có 3 rãnh-ora, xếp một vòng quanh xích đạo (NPC 345).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trần Đức (1997), Cây thuốc Việt Nam, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, tr 1230.
2. Sharma AK, Anand KK, Pushpangadan P, Chandan BK, Chopra CL, Prabhakar YS, Damodaran NP.(1989), J. Ethnopharmacol. Feb. vol. 25 (1), p. 93-102.
3. Lin SC , Lin CC, Lin YH, Shynn SJ. (1994), Am. Journal Chin. Med. Vol. 22 (2), p. 155-68.
4. Nhiều tác giả (1978), Dược liệu Việt Nam, NXB. Y học, Hà Nội, p. 494-495.

5. Đỗ Tất Lợi (1999), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Y học, Hà Nội, p. 86-87.

6. Trần Công Khánh (1980), Kỹ thuật hiển vi dùng trong nghiên cứu thực vật và dược liệu, NXB. Y học, Hà Nội.

7. G.Erdtman (1969), Handbook of Palynology (An introduction to the study of pollen grains and spores), Munksgaard.

NGHIÊN CỨU
PHÁT TRIỂN DƯỢC LIỆU VÀ ĐÔNG DƯỢC Ở VIỆT NAM

CHỦ BIÊN

PGS. TS. NGUYỄN THƯỢNG DONG

Chịu trách nhiệm xuất bản	:	PGS. TS. TÔ ĐĂNG HẢI
Biên tập và sửa bài	:	ThS. NGUYỄN HUY TIẾN
		CN. NGUYỄN XUÂN QUANG
Trình bày bìa	:	HƯƠNG LAN

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT
70 Trần Hng Đạo – Hà Nội

In 300 cuốn khổ 19 x 27 cm tại Xưởng in Nhà xuất bản Thống kê.
Quyết định xuất bản số: 136 – 2006 / CXB / 173.2 – 06 / KHKT – 10 / 5 / 2006.
In xong và nộp lu chiểu tháng 5 năm 2006.

206123



Giá: 200.000đ