TRƯỜNG ĐẠI HỌC THÀNH ĐÔ

KHOA Y - DƯỢC

DƯỢC LIỆU HỌC

Tập 1

SÁCH DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SỸ ĐẠI HỌC

LƯU HÀNH NỘI BỘ

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

TRƯỜNG ĐẠI HỌC THÀNH ĐÔ

KHOA Y – DƯỢC

DƯỢC LIỆU HỌC

TẬP I

DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SỸ ĐẠI HỌC

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

LƯU HÀNH NỘI BỘ

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

MỤC LỤC

LỜI GIỚI THIỆU 3
LỜI NÓI ĐẦU 5
CHƯƠNG 1. ĐẠI CƯƠNG VỀ DƯỢC LIỆU 21
ĐỊNH NGHĨA MÔN HỌC 21
LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN MÔN DƯỢC LIỆU 22
I. Một số nền y dược học thời cổ đại 23
II. Sự hình thành và phát triển của dược học phương tây 26
III. Lịch sử phát triển của dược học Việt Nam 28
VỊ TRÍ CỦA DƯỢC LIỆU TRONG NGÀNH Y TẾ VÀ TRONG NỀN KINH TẾ QUỐC DÂN 32
THU HÁI - CHẾ BIẾN VÀ BẢO QUẢN DƯỢC LIỆU 34
I. Thu hái dược liệu 34
II. Ổn định dược liệu 36
III. Làm khô dược liệu 37
IV. Đóng gói và bảo quản dược liệu 39
CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ DƯỢC LIỆU 41
I. Cảm quan 41
II. Phương pháp soi kính hiển vi 41
III. Phương pháp dựa vào các tính chất vật lý 41
IV. Thử tinh khiết 42
V. Phương pháp hoá học 44
VI. Phương pháp phổ học 44
1. Phổ tử ngoại và khả kiến 45
2. Phổ hồng ngoại 46
3. Phổ khối lượng 46
4. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 51
5. Các loại phổ khác 53
VII. Phương pháp sắc ký 54
1. Sắc ký giấy 57
2. Sắc ký lớp mỏng 58
3. Sắc ký lỏng cao áp 60

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

4. Sắc ký khí 63
5. Điện di mao quản 66
CHIẾT XUẤT VÀ PHÂN LẬP CÁC CHẤT TỪ DƯỢC LIỆU 69
I. Chiết xuất 69
II. Phân lập các hoạt chất 74
1. Kết tinh phân đoạn 74
2. Tách phân đoạn 74
3. Thăng hoa 75
4. Chưng cất phân đoạn 75
5. Các phương pháp sắc ký 75
5.1. Sắc ký cột 75
5.2. Sắc ký lỏng áp suất trung bình 76
5.3. Sắc ký phân bố ngược dòng 77
CHƯƠNG 2. CARBOHYDRAT VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA CARBOHYDRAT 80
ĐẠI CƯƠNG VỀ CARBOHYDRAT 80
I. Định nghĩa 80
II. Tinh bột 82
1. Cấu trúc hóa học của tinh bột 82
1.1. Amylose 82
1.2. Amylopectin 83
2. Sinh tổng hợp tinh bột 84
3. Tính chất của tinh bột 85
4. Chế tinh bột 89
5. Định tính và định lượng 90
6. Công dụng 91
III. Cellulose 92
1. Cấu tạo 92
2. Các dẫn chất cellulose và công dụng 93
IV. Pectin - gôm - chất nhầy 95
1. Pectin 95
1.1. Cấu tạo 95
1.2. Tính chất của pectin 97
1.3. Định tính – định lượng 98

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

1.4. Công dụng 99
2. Gôm - chất nhầy 99
2.1. Nguồn gốc và vai trò sinh lý của gôm và chất nhầy 99
2.2. Tính chất 102
2.3. Đánh giá một dược liệu chứa gôm hoặc chất nhầy 102
2.4. Công dụng 103
V. Các polysaccharid khác 104
1. Beta glucan 104
2. Inulin - Fructan 107
DƯỢC LIỆU CHỨA CARBOHYDRAT 111
I. Dược liệu chứa tinh bột 111
Mạch nha 113
Ý dĩ 114
Sen 116
Hoài sơn 118
Trạch tả 120
II. Dược liệu chứa cellulose 121
Bông 121
III. Dược liệu chứa gôm và chất nhầy 124
Gôm arabic 124
Gôm adragant 126
Sâm bố chính 127
Bạch cập 129
Mã đề 130
Thạch 132
Tảo bẹ 134
Linh chi 135
CHƯƠNG 3. GLYCOSID (HETEROSID) 140
ĐẠI CƯƠNG VỀ GLYCOSID 140
I. Định nghĩa về glycosid 140
1. *O*-Glycosid 141
2. *C*–glycosid 143
3. *S*–glycosid 143
4. *N*–glycosid 144

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

5. Pseudoglycosid 144
II. Tính chất 144
1. Lý tính 144
2. Hoá tính 145
III. Chiết xuất 146
CHƯƠNG 4. GLYCOSID TIM VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA GLYCOSID TIM 148
ĐẠI CƯƠNG VỀ GLYCOSID TIM 148
I. Định nghĩa 148
II. Cấu trúc hóa học 149
1. Phần aglycon 149
1.1. Nhân hydrocarbon 149
1.2. Vòng lacton 150
2. Phần đường 151
III. Liên quan giữa cấu trúc và tác dụng 151
IV. Tính chất, định tính, định lượng 152
1. Tính chất 152
2. Các thuốc thử định tính và định lượng 153
3. Sắc ký 156
4. Quang phổ 157
5. Định lượng 157
6. Đánh giá bằng phương pháp sinh vật 157
7. Bảo quản 158
V. Phân bố trong tự nhiên 158
DƯỢC LIỆU CHỨA GLYCOSID TIM 159
Lá Trúc đào 159
Hạt Thông thiên 164
Strophanthus 166
Strophanthus ở Việt Nam 171
Digitalis 173
Digitalis tía 174
Digital lông 180
Hạt Đay 184
Hành biển 187

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

MỘT SỐ DƯỢC LIỆU KHÁC CHỨA GLYCOSID TIM 190
CHƯƠNG 5. SAPONIN VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA SAPONIN 191
ĐẠI CƯƠNG VỀ SAPONIN 191
I. Khái niệm chung về saponin 191
II. Cấu trúc hóa học và phân loại 192
1. Saponin triterpenoid 193
1.1. Saponin triterpenoid năm vòng 193
1.2. Saponin triterpenoid bốn vòng 197
2. Saponin steroid 200
2.1. Saponin steroid 200
2.2. Nhóm saponin steroid alkaloid 203
2.3. Các nhóm khác 204
III. Tính chất của saponin 204
III. Kiểm nghiệm dược liệu chứa saponin 205
1. Dựa trên tính chất tạo bọt 205
2. Dựa trên tính chất phá huyết 206
3. Dựa trên độ độc đối với cá 208
4. Khả năng tạo phức với cholesterol 208
5. Các phản ứng màu 208
6. Sắc ký lớp mỏng 209
7. Xác định bằng quang phổ 210
8. Định lượng 210
IV. Chiết xuất 211
V. Phân bố trong thực vật 212
VI. Tác dụng và công dụng 213
DƯỢC LIỆU CHỨA SAPONIN 215
Cam thảo 215
Viễn chí 223
Cát cánh 227
Bồ kết 231
Ngưu tất 233
Rau má 237
Ngũ gia bì chân chim 240
Nhân sâm 243

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Tam thất 251
Cổ yếm 256
Rau Đắng biển 258
Táo nhân 261
Cam thảo dây 264
Tỳ giải 266
Dứa Mỹ 269
Khúc khắc 271
Mạch môn 273
Thiên môn 275
CHƯƠNG 6. DƯỢC LIỆU CHỨA MONO VÀ DITERPENOID GLYCOSID 277
MONOTERPENOID GLYCOSID 277
I. Sơ lược cấu trúc hóa học 278
II. Phân loại 279
1. Iridoid có aglycon đủ 10 carbon 279
2. Iridoid không đủ 10 carbon 280
3. Iridoid có trên 10 carbon 281
4. Secoiridoid 282
5. Iridoid dimer 282
6. Các iridoid và secoiridoid phức tạp 282
III. Tính chất, định tính 282
1. Tính chất 282
2. Định tính 283
IV. Phân bố trong tự nhiên 284
V. Tác dụng và công dụng 285
DITERPENOID GLYCOSID 286
DƯỢC LIỆU CHỨA MONOTERPENOID GLYCOSID 287
Sinh địa 287
Dành dành 289
Lá Mơ 291
Huyền sâm 293
Đại 294

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

MỘT SỐ CÂY THUỐC KHÁC CHỨA IRIDOID GLYCOSID 296
Kim ngân 296
Cỏ roi ngựa 296
Mã đề 296
DƯỢC LIỆU CHỨA DITERPENOID GLYCOSID 297
Xuyên tâm liên 297
Ké đầu ngựa 301
Hy thiêm 302
Cỏ ngọt 304
CHƯƠNG 7. ANTHRANOID VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA ANTHRANOID 307
ĐẠI CƯƠNG VỀ ANTHRANOID 307
I. Khái niệm chung về anthranoid 307
II. Phân nhóm 309
1. Nhóm phẩm nhuộm 309
2. Nhóm nhuận tẩy 311
3. Các anthranoid dimer 312
III. Phân bố trong tự nhiên 314
IV. Tính chất 317
V. Định tính 317
1. Định tính hoá học 317
2. Định tính sắc ký 318
3. Định tính bằng phương pháp quang phổ 319
VI. Định lượng 319
1. Phương pháp cân của Daels và Kroeber 319
2. Phương pháp so màu 319
3. Phương pháp đo màu sử dụng magnesi acetat 320
4. Phương pháp thể tích của Tschirch và Schmitz 321
5. Các phương pháp khác 321
VII. Chiết xuất 321
VIII. Tác dụng và công dụng 322
DƯỢC LIỆU CHỨA ANTHRANOID 323
CÁC DƯỢC LIỆU CHỨA ANTHRANOID THUỘC CHI SENNA 323
Phan tả diệp 323
Thảo quyết minh 327

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Cốt khí muồng 329
Muồng trâu 330
Ô môi 332
DƯỢC LIỆU CHỨA ANTHRANOID THUỘC HỌ RAU RĂM - POLYGONACEAE 333
Đại hoàng 333
Cốt khí củ 339
Hà thủ ô đỏ 340
Chút chít 343
Ba kích 344
Nhàu 346
Lô hội 348
CHƯƠNG 8. FLAVONOID VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA FLAVONOID 353
ĐẠI CƯƠNG VỀ FLAVONOID 353
I. Khái niệm chung về flavonoid 353
II. Cấu trúc hóa học 354
1. Khung của flavonoid 354
2. Phân loại flavonoid 356
2.1. Euflavonoid: 356
2.2. Isoflavonoid 369
2.3. Neoflavonoid 372
2.4. Biflavonoid và triflavonoid 373
III. Tính chất - định tính - định lượng 374
1. Tính chất 374
2. Định tính 375
2.1. Định tính hóa học 375
2.2. Sắc ký 376
2.3. Quang phổ 377
3. Định lượng 378
3.1. Phương pháp cân 378
3.2. Phương pháp đo phổ tử ngoại 379
3.3. Phương pháp đo màu 379
IV. Chiết xuất 379
V. Phân bố flavonoid trong tự nhiên 380

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

VI. Tác dụng sinh học của flavonoid 381
DƯỢC LIỆU CHỨA EUFLAVONOID 384
Hoa hòe 384
NHỮNG NGUỒN DƯỢC LIỆU KHÁC ĐỂ CHIẾT RUTIN 389
Diếp cá 390
Râu mèo 392
Rau nghể 395
Núc nác 397
Hoàng cầm 399
Kim ngân hoa 401
Actisô 405
Dâu 409
Bạch quả 413
Cúc gai 416
CÁC DƯỢC LIỆU THUỘC CHI CITRUS - RUTACEAE 420
Hồng hoa 421
DƯỢC LIỆU CHỨA ISOFLAVONOID 424
Xạ can 424
Dây mật 425
Hạt củ đậu 428
DƯỢC LIỆU CHỨA NEOFLAVONOID 429
Tô mộc 429
CHƯƠNG 9. COUMARIN VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA COUMARIN 432
ĐẠI CƯƠNG VỀ COUMARIN 432
I. Khái niệm chung về coumarin 432
II. Phân loại coumarin 433
1. Coumarin đơn giản 434
2. Furanocoumarin (furocoumarin) 435
3. Pyranocoumarin (pyrocoumarin) 438
III. Đặc điểm về cấu trúc 442
IV. Tính chất 443
1. Lý tính 443
2. Hóa tính 443

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

V. Các phương pháp phân tích coumarin 444
1. Định tính 444
2. Định lượng 447
VI. Chiết xuất 447
VII. Phân bố trong tự nhiên 448
VIII. Tác dụng và công dụng 449
DƯỢC LIỆU CHỨA COUMARIN 451
Ba dót 451
Mần tưới 452
Bạch chỉ 453
Tiền hồ 457
Xà sàng 459
Ammi visnaga 461
Sài đất 461
Cỏ mực 464
Mù u 465
CHƯƠNG 10. DƯỢC LIỆU CHỨA GLYCOSID CYANOGENIC 470
ĐẠI CƯƠNG VỀ GLYCOSID CYANOGENIC 470
I. Khái niệm chung về glycosid cyanogenic 470
II. Phân loại 471
1. Các glycosid tương tự như amygdalin 471
2. Các glycosid tương tự như linamarin 472
3. Glycosid có vòng cyclopenten 472
4. Pseudocyanogenic glycosid 472
III. Định tính 473
DƯỢC LIỆU CHỨA GLYCOSID CYANOGENIC 474
Quả mơ 474
Hạt đào 476
CHƯƠNG 11. TANIN VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA TANIN 477
ĐẠI CƯƠNG VỀ TANIN 477
I. Khái niệm chung về tanin 477
II. Phân loại 478
1. Tanin thủy phân được 478
2. Tanin ngưng tụ 481

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

3. Tanin hỗn hợp 482
III. Chiết xuất 482
IV. Tính chất và định tính 482
1. Tính chất 482
2. Định tính 483
2.1. Định tính hóa học 483
2.2. Sắc ký 484
V. Định lượng 484
1. Phương pháp bột da 484
2. Phương pháp oxy hoá (Phương pháp Löwenthal) 485
3. Phương pháp tạo tủa với đồng acetat 485
4. Phương pháp đo màu với thuốc thử Folin 486
5. Phương pháp đo màu với thuốc thử phosphomolibdotungstic 486
6. Phương pháp sử dụng sắc ký lỏng cao áp 487
VI. Tác dụng và công dụng 487
DƯỢC LIỆU CHỨA TANIN 489
Ngủ bội tử 489
Ổi 490
Măng cụt 492
MỘT SỐ CÂY KHÁC CHỨA TANIN 494
TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH 495
MỤC LỤC TRA CỨU TÊN DƯỢC LIỆU 497

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

BÀI GIẢNG DƯỢC LIỆU

Tập I

SÁCH DÙNG CHO SINH VIÊN DƯỢC

MỤC TIÊU MÔN HỌC

Cung cấp cho sinh viên những kiến thức về:

1. Những hiểu biết chung cơ bản về công tác dược liệu.
2. Cấu trúc hoá học, tính chất, phương pháp định tính, định lượng của các nhóm hợp chất tự nhiên có nhiều ứng dụng thường gặp trong dược liệu (carbohydrat, glycosid tim, saponosid, iridoid glycosid, flavonosid, anthranoid glycosid, coumarin, tanin, alcaloid, tinh dầu và chất béo).
3. Nguồn gốc, phân bố và đặc điểm thực vật của những dược liệu quan trọng thông dụng.
4. Thành phần hoá học chính và các phương pháp kiểm nghiệm dược liệu bằng vi học và hoá học của các dược liệu quan trọng thông dụng.
5. Tác dụng sinh học và công dụng của những dược liệu quan trọng thông dụng.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

CHƯƠNG 1

ĐẠI CƯƠNG VỀ DƯỢC LIỆU

MỤC TIÊU HỌC TẬP: Sau khi học chương "Đại cương về dược liệu" sinh viên phải biết được:

1. *Định nghĩa của môn học.*
2. *Lịch sử của nền y học thế giới và Việt Nam gắn liền với môn học.*
3. *Vị trí của dược liệu trong ngành y tế và trong nền kinh tế quốc dân.*
4. *Công việc thu hái và bảo quản.*
5. *Các phương pháp đánh giá dược liệu.*
6. *Các phương pháp áp dụng trong chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc các chất trong dược liệu.*

ĐỊNH NGHĨA MÔN HỌC

Dược liệu học là môn học chuyên môn trong chương trình đào tạo dược sĩ đại học. Thuật ngữ "*Dược liệu học*" trong tiếng Anh là "*Pharmacognosy*" có nghĩa là các hiểu biết về thuốc do Seydler đưa ra vào năm 1815, được ghép từ 2 từ Latin (gốc Hy Lạp) là *pharmakon* (nghĩa là thuốc) và *gnosis* (nghĩa là hiểu biết).

Ngày nay, môn Dược liệu học thường được quan niệm là *khoa học về các nguyên liệu làm thuốc có nguồn gốc sinh học*[1]. Đây là môn học nghiên cứu về sinh học và hoá học những nguyên liệu dùng làm thuốc có nguồn gốc sinh vật mà trong đó các cây thuốc là đối tượng chính. Nội dung môn học sẽ cung cấp cho sinh viên những kiến thức bao gồm nguồn gốc, thành phần hoá học, kiểm nghiệm, tác dụng và công dụng của dược liệu. Yêu cầu chủ yếu là xác định được sự thật giả, đánh giá được chất lượng và hướng dẫn sử dụng dược liệu.

Trước đây, nguồn nguyên liệu tự nhiên làm thuốc tập trung chủ yếu vào các nguyên liệu trên cạn. Ngày nay, các dược liệu từ nguồn tài nguyên biển cũng rất được chú ý. Các nguồn nguyên liệu tự nhiên cung cấp các chất nội tiết

[1] Chương trình dược liệu hiện đại thường không còn đề cập tới các dược liệu có nguồn gốc khoáng vật.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

(động vật), các kháng sinh (vi sinh vật) và các cây độc, nấm độc, các cây cỏ gây dị ứng, các cây diệt côn trùng cũng được đề cập trong một số chương trình giảng dạy môn dược liệu ở một số nước. Đối tượng nghiên cứu của dược liệu học hiện nay còn là các sinh vật sử dụng trong hương liệu và mỹ phẩm.

Dược liệu học ngày nay tập trung vào nghiên cứu bốn lĩnh vực chính:

- Tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc,
- Kiểm nghiệm và tiêu chuẩn hoá dược liệu,
- Chiết xuất dược liệu,
- Nghiên cứu thuốc mới từ dược liệu.

Dược liệu có thể là tất cả các bộ phận của cây hoặc con thuốc hoặc chỉ là một hay vài bộ phận của chúng. Những chất tiết ra hay được tách chiết ra từ cây cỏ hoặc động vật như gôm, nhựa, sáp, tinh dầu, dầu mỡ cũng thuộc phạm vi dược liệu. Theo quan niệm hiện nay thì môn dược liệu không chỉ nghiên cứu nguyên liệu thô mà cả những tinh chất chiết ra từ dược liệu ví dụ hoa Hòe và rutin, lá dương Địa hoàng và digitalin, rễ Ba gạc và reserpin, Dừa cạn và vinblastin.

Không có một ranh giới rõ ràng giữa cây con làm thuốc với các loại cây khác như cây lương thực, cây công nghiệp, cây cảnh, cây gia vị... Ví dụ như Cà phê, Trà, Gừng, Quế... là các dược liệu nhưng cũng đồng thời là nguyên liệu dùng trong thực phẩm.

Là một trong những môn học chuyên môn, môn dược liệu có liên quan đến những môn học khác như thực vật, hoá hữu cơ, hoá phân tích và dược lý. Do đó sinh viên cần liên hệ kiến thức của các môn học trên khi học môn dược liệu.

LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN MÔN DƯỢC LIỆU

Kiến thức về dược liệu học có lẽ đã được quan tâm tìm hiểu ngay cả từ thời các bộ tộc nguyên thủy. Trong quá trình con người tìm kiếm thức ăn, họ tìm hiểu về cây cỏ xung quanh để nhận biết các cây dùng được làm thức ăn và những cây có độc đối với con người. Kinh nghiệm về sử dụng cây cỏ của người tiền sử ban đầu có lẽ được phát hiện một cách tình cờ khi con người tìm cách làm dịu những vết thương, những bệnh tật của cơ thể. Dần dần, trong tiến trình phát triển của lịch sử loài người, những kinh nghiệm thu được một cách ngẫu nhiên ấy được thay bằng những điều được rút ra và tích lũy lại trong quá trình *thử - sai*, các kinh nghiệm sử dụng thuốc ban đầu được truyền khẩu từ thế hệ này sang thế hệ khác rồi tới các thực nghiệm khoa học như ngày nay.

Còn rất ít những dấu vết về việc sử dụng dược liệu của loài người thời tiền sử. Tuy nhiên, người ta vẫn có thể tìm thấy những bằng chứng sử dụng dược liệu của con người. Ví dụ đã tìm thấy dấu vết của các hạt phấn hoa tại nơi chôn cất của người Neandertan (60.000 năm trước công nguyên - tcn.). Những vị

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

thuốc cổ nhất còn tìm thấy được ngày nay là của những dân cư vùng hồ ở Thụy Sĩ có niên đại khoảng 5000 - 6000 năm tcn. Trong số các dược liệu này có khoảng 200 loài định danh được và một số loài hiện nay vẫn còn được sử dụng làm thuốc.

Khi chữ viết ra đời các kinh nghiệm này được ghi vào văn tự. Các văn bản cổ xưa nhất ghi lại việc sử dụng cây thuốc còn được biết đến ngày nay là các bản đất nung của người Assyri (2700 tcn), các cuộn giấy papirus của người Ai Cập (1700 tcn). Sự ra đời của kỹ thuật in ấn, đặc biệt của các phương tiện lưu trữ hiện đại ngày nay làm cho việc ghi nhận và lưu trữ thông tin trở nên dễ dàng và an toàn hơn.

Mỗi dân tộc, mỗi quốc gia đều kế thừa và phát triển các kinh nghiệm của tổ tiên mình cũng như học hỏi, vay mượn các kiến thức y học của các dân tộc, các quốc gia khác. Các cuộc chiến tranh thôn tính xưa kia, sự giao thương và giao lưu văn hóa giữa các dân tộc, các quốc gia, giữa Đông và Tây dần dần làm cho kinh nghiệm sử dụng cây thuốc của loài người thêm phong phú.

Từ xa xưa, nghệ thuật chữa bệnh bao gồm cả Y và Dược. Các "*thầy lang*" hành nghề cả y lẫn dược. Theo thời gian, hiểu biết của con người càng ngày càng được tích lũy, nghề nghiệp của con người ngày càng được chuyên môn hóa và đi vào những lĩnh vực hẹp hơn, hai ngành Y và Dược dần dần được tách riêng. Rồi ngay cả ngành Dược chung nhất thủa ban đầu với *các hiểu biết về thuốc* cũng dần dần được phân chia thành những chuyên ngành hẹp và sâu hơn theo đà phát triển của khoa học. Dược liệu học trước kia với các hiểu biết về thuốc trở thành môn khoa học về các nguyên liệu làm thuốc như hiện nay.

I. MỘT SỐ NỀN Y DƯỢC HỌC THỜI CỔ ĐẠI

1.1. Y học Ấn Độ

Ấn Độ cổ đại có một nền y dược phát triển và có ảnh hưởng tới nhiều nước trong khu vực. Các kiến thức về y học và sử dụng cây thuốc của người Ấn Độ được đề cập sớm nhất trong kinh Vệ đà (*Ayurveda = Khoa học của đời sống*) xuất hiện khoảng 4000 - 1000 năm trước công nguyên (tcn). Những dược liệu hay dùng là trong y học Ấn Độ là: Ba gạc, Tỏi, Tiêu, Gừng, Thầu dầu, Me, Đậu khấu, Phụ tử, Ngưu hoàng, Rắn lục v.v... Y học Trung Hoa, Ai Cập, Hy Lạp cũng vay mượn nhiều dược liệu của Ấn Độ. Y học Ấn Độ về sau suy tàn dần bởi sự xâm chiếm của người Hồi giáo vào khoảng 1000 năm tcn.

Hai thầy thuốc nổi tiếng của Ấn Độ sống vào đầu công nguyên là Charaka (thế kỷ thứ 2) và Susruta (thế kỷ thứ tư) đã ghi nhận lại một số kinh nghiệm của nền y học này trong các tác phẩm của họ. Charaka kể đến 500 phương thuốc, ông nói nhiều tới các sản phẩm có nguồn gốc khoáng vật và động vật. Susruta cũng đã mô tả 760 loại dược liệu trong đó có Gai dầu (*Cannabis*), Phụ tử, Ba đậu, Quýt, Rau muối, Lựu, Thầu dầu, stibi, borat, đồng, thủy ngân, natri carbonat, bạc, vàng. Susruta đã sử dụng gai dầu và *Hyoscyamus* làm thuốc gây tê.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

1.2. Y học Assyri và Babilon

Tại vùng Lưỡng hà thuộc lưu vực của 2 con sông Tigris và Euphrates thuộc miền Tây Á một thời đã có một nền y học phát triển. Những hiểu biết hiện nay về y học Assyri và Babilon là từ các văn bản viết trên đất sét thuộc thư viện của Assur-banipal, vua Assyri giữa thế kỷ thứ 7 tcn, người đã ra lệnh thu thập các văn bản cổ của người Sumer, Akkadia và Babilon cho thư viện của mình. Trong số các văn bản còn lại ngày nay, có khoảng 800 bản là các tư liệu y học. Nội dung ghi trong các văn bản này được cho là có niên đại niên đại vào khoảng 3000 – 2000 tcn hay sớm hơn. Chúng ghi nhận khoảng 250 loài thực vật, 120 loại khoáng vật, trong đó có những loài hiện nay vẫn còn sử dụng như: A ngùy, Kỳ nham (*Hyoscyamus niger*), *Mandagora*, *Chamomile*, Thìa là, dầu Hạnh nhân, Cam thảo, Nghệ, Lựu, Anh túc, v.v... Các dạng thuốc và đường cho thuốc của người Babilon cũng khá gần với hiện đại. Thuốc đắp là một trong những dạng thuốc được sử dụng sớm nhất, thuốc thụt và thuốc uống cũng được sử dụng. Các dịch ngâm dược liệu với rượu vang và các chất lỏng khác, dịch ép dược liệu phối hợp với rượu vang là những dạng thuốc được sử dụng.

Thế kỷ 18 tcn, vua Hammurabi[1] của Babylon đã khuyến khích dân chúng trồng cây thuốc và đặt ra luật lệ hành nghề y dược.

1.3. Y học Trung Hoa

Y học Trung Hoa có lịch sử lâu đời, có lý luận chặt chẽ và gắn liền với triết học và tôn giáo. Trong suốt quá trình phát triển, ngoài những kiến thức y học của người Hán và các dân tộc sống trên đất nước Trung Hoa cổ đại, y học Trung Hoa còn chịu ảnh hưởng của các nền y học lớn khác như y học Ấn Độ, Ai Cập, A Rập và y học phương tây. Y học Trung Hoá cũng hấp thụ những kinh nghiệm chữa bệnh, cách sử dụng và dược liệu của các dân tộc, các nước láng giềng như Triều Tiên, Nhật Bản, Việt Nam, Tây Tạng v.v... Có rất nhiều dược liệu được người Trung Hoa vay mượn của các dân tộc khác mà ngày nay đã nghiễm nhiên trở thành một bộ phận của y học Trung Hoa.

Hoàng đế (2637 tcn) đã có sách nói về các phương pháp chữa bệnh theo y lý Đông phương đó là cuốn "*Nội Kinh*" hay còn được gọi là "*Hoàng đế Nội kinh*". Có rất nhiều nhà y học Trung Hoa góp phần vào việc xây dựng nền y học cổ truyền Trung Hoa. Về lĩnh vực các cây thuốc, bộ sách quan trọng và đầy đủ nhất về các dược liệu và công dụng của chúng là cuốn "*Bản thảo cương mục*" do Lý Thời Trân (1518-1593)[2] biên soạn "Bản thảo cương mục" đề cập tới 12.000 bài thuốc và phương thuốc trong đó có 1892 vị thuốc với 1094 vị dược liệu, 444 vị thuốc động vật và 354 vị thuốc khoáng vật.

1.4. Y học Ai Cập

Y học của nền văn minh Ai Cập cổ đại tồn tại ở lưu vực sông Nile cách đây hơn 5000 năm. Ngày nay, những hiểu biết về nền y học này chủ yếu là qua các bản *papyrus*[3] có

---

[1]Hammurabi, vua xứ Babilon (khoảng 1792 - 1750 tcn) được coi là người đặt ra các luật lệ để cai trị Babilon.

[2] Có tài liệu cho rằng "Bản thảo cương mục" được biên soạn vào những năm 1595 – 1597 [Lê Qùy Ngưu, Danh từ Dược học Đông y – nxb. Thuận Hóa, 1992. trg.7; Modern Phamacognosy, 1952].

[3] Papyrus (Cói Ai Cập - *Cyperus papyrus*, Cyperaceae), cây thảo cao 1 – 3 m. Được người dân Ai cập dùng chủ yếu để làm giấy gọi là *papyrus*, ngoài ra còn được dùng làm vật dụng hay để trang trí.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

niên đại vào khoảng năm 1700 tcn do G.M. Ebers[1] và E. Smith[2] và một số nhà nghiên cứu khác tìm được. Về lĩnh vực dược, quan trọng nhất là papyrus do Ebers tìm được. Papyrus này liệt kê 700 phương thuốc được người Ai Cập cổ đại sử dụng. Những dược liệu quan trọng có thể kể là *Hyoscyamus niger*, *Mandagora officinarum*, Thuốc phiện, Rễ lựu, dầu Thầu dầu, aloe, Hành, nhiều loại tinh dầu, mật súc vật v.v...

Người Ai Cập sử dụng nhiều dạng thuốc khác nhau từ thuốc nước, thuốc hoàn, thuốc mỡ, thuốc bột và cả toạ dược. Các dạng thuốc nước có thể dùng dung môi là nước, bia, rượu. Nền Y học Ai Cập cực thịnh vào khoảng 1600 tcn sau đó dần dần tan rã và đi vào phù thủy và ma thuật. Người nổi tiếng nhất trong y học Ai Cập cổ đại là Imhotep.

1.5. Y học Hy Lạp

Y học Hy Lạp đã thừa hưởng rất nhiều từ y học Ai Cập cổ đại. Tới thế kỷ thứ 6 - 5 tcn Y học Hy Lạp đạt tới thời kỳ vàng son với những tên tuổi lớn.

Một trong những nhân vật đáng được nhắc tới trước tiên là Aslepius - vua của xứ Thessaly. Asclepius rất giỏi về thuật chữa bệnh.

Hippocrates[3] (460 - 377 ? tcn) được xem như là người thầy thuốc giỏi nhất thời cổ đại. Ngoài những công trình về giải phẫu, sinh lý, ông còn đưa vào sử dụng hơn 200 cây thuốc. Ông được suy tôn là tổ sư ngành y học hiện đại phương Tây.

1.6. Y học La Mã

Văn minh La Mã thừa hưởng rất nhiều những thành tựu của văn minh Hy Lạp cả về tư tưởng, văn hóa lẫn con người. Những nhân vật nổi tiếng trong y học của văn minh La Mã có thể kể là:

Celsus[4] sống vào thế kỷ thứ nhất sau thiên chúa giáng sinh. Ông viết bộ sách "*De Medicina*" vào khoảng năm 25 – 35. Đây là một bộ sách về y khoa rất có gía trị của nền y học La Mã.

Dioscorides[5] (khoảng năm 40 - 90), nhà nghiên cứu về dược liệu đã viết tập sách "*De Materia medica*" (*Dược liệu học*) vào năm 78 tcn. Ông đã mô tả trên 600 loài cây có tác dụng chữa bệnh. Nhiều cây trong số đó vẫn đang được sử dụng trong y học hiện đại. Các khoáng vật cũng được ghi nhận.

Galen[6] (129 - 199) một thầy thuốc Hy Lạp sống tại La Mã. Ông nghiên cứu cả y lẫn dược. Đặc biệt, ông viết nhiều sách mô tả các phương pháp bào chế thuốc có nguồn gốc động vật và thực vật. Ngày nay, ngành dược phương tây coi ông là bậc tiền bối của ngành.

---

[1] Ebers, G.M (1837 - 1898), Nhà Ai Cập học người Đức, người đã phát hiện lại và đã hiệu đính tài liệu này năm 1874. Papyrus Ebers hiện đang được giữ tại thư viện Đại học Leipzig.

[2] Smith E., nhà Ai Cập học đã mua tài liệu vào năm 1862. Tài liệu này được GS. J. H. Breasted dịch năm 1920 và được Đại học Chicago xuất bản năm 1930.

[3] Hippocrates nhấn mạnh vai trò không chỉ của dinh dưỡng mà còn của lối sống tới sức khoẻ. Hypocrates tin rằng bệnh là do tác động từ môi trường chứ không phải do các thế lực siêu nhiên.

[4] Celsus A. C. người viết 8 cuốn sách về y khoa dựa trên các ý tưởng của Hippocrates.

[5] Dioscorides P. – Thầy thuốc Hy Lạp. Ông nghiên cứu nhiều về cây cỏ và các đặc tính trị bệnh của chúng.

[6] Galenus C. (129-199 ?), được xem như là người thầy thuốc giỏi nhất thời cổ đại sau Hippocrates. Có tài liệu cho rằng Galen sinh vào khoảng năm 131 và mất vào khoảng năm 200 – 210 [Doyle P.A. *Reading in Pharmacy*, J. Wiley and son, 1962, p. 130].

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Các kiến thức của Hyppocrates, Celsus, Dioscorides và Galen có ảnh hưởng rất lớn và lâu dài trong y học phương tây, cho đến tận thế kỷ thứ 15.

1.7. Các nền y học khác

Các nền văn hoá khác như của các bộ tộc Châu Mỹ, mặc dù chưa được biết đến nhiều và đã bị mai một cũng đã cũng cấp nhiều cây thuốc quí cho y học. Người Aztec ở Mexico đã biết phân biệt và sử dụng 1200 cây thuốc. Người Inca ở Peru, người Maya cũng có những kinh nghiệm rất đáng kể về việc sử dụng cây thuốc vào thời quân Tây Ban Nha xâm lược. Những nền văn minh này đã đóng góp rất nhiều dược liệu quý cho y học hiện đại: Canh kina, Ipecac, Curare, Cacao, Thuốc lá, Côca v.v...

Bên cạnh những nền y học cổ, kinh nghiệm dân gian trong điều trị bệnh của rất nhiều các dân tộc khác dù lớn hay nhỏ, từ châu Á, Phi, Nam Mỹ tới Châu Đại dương cũng đã từng đồng hành với con người trong suốt tiến trình lịch sử cũng đã và đang đóng góp vào kho tàng kiến thức y học hiện đại.

II. SỰ HÌNH THÀNH VÀ PHÁT TRIỂN CỦA DƯỢC HỌC PHƯƠNG TÂY

Ngành dược phương Tây phát triển dựa trên nền tảng kiến thức và kinh nghiệm của y dược học Hy Lạp và La Mã.

2.1. Thời Trung cổ

Sau Thời cổ đại, châu Âu bước vào Thời trung cổ (575 - 1300) với sự ảnh hưởng rất lớn của giáo hội Thiên chúa giáo. Trong suốt thời Trung cổ, Dược liệu học cũng như các môn khoa học nói chung không thể phát triển. Các tài liệu của Hippocrates, Celsus, Dioscorides, Galen trở thành kinh thánh trong y học. Điểm đáng ghi nhận trong thời kỳ này là sự xâm nhập của y học A Rập vào châu Âu. Người Saracen (một tộc người ở Bắc A Rập) đã đưa các hiệu thuốc vào Châu Âu ở thế kỷ thứ VII - VIII. Thời kỳ này có Avicen (980 - 1037) thầy thuốc A rập rất nổi tiếng ở phương Tây. Vào thế kỷ - XIII - XIV có sự ra đời của các phường hội về Dược ở Pháp.

2.2. Thời Phục hưng

Trong rất nhiều thế kỷ, việc sử dụng cây thuốc chủ yếu là dựa trên sách vở của Dioscorides, Galen v.v... Dược liệu học chỉ dừng lại ở mức độ mô tả các đặc điểm hình thái và sử dụng các dạng chế phẩm đơn giản như cao thuốc, rượu thuốc, dấm thuốc....

Đến thời Phục hưng (1300 - 1650), Paracelsus (1490? - 1541)[1] - một y sĩ người Thụy Sĩ đã đưa ra khái niệm về hoạt chất của dược liệu. Ông cũng là người đẩy mạnh việc sử dụng các khoáng vật làm thuốc tại Châu Âu. Ông kêu gọi việc sử dụng các đơn thuốc độc vị thay cho các bài thuốc gồm nhiều vị. Paracelsus cũng cho rằng các hoạt chất phải được chế tạo từ đá, các chất tinh tuý của cây thuốc cần phải được chiết xuất. Những ý tưởng đó sau này được áp dụng rộng rãi trong y dược học hiện đại Phương Tây.

---

[1] Paracelsus, tên thật là Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493?-1541), y sĩ người Thuỵ Sĩ có rất nhiều ý tưởng mới trong điều trị. Người được coi là ông tổ của sinh hoá học.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

2.3. Thời cận đại

Sau thời Phục hưng là Kỷ ánh sáng (1650 - 1750) của Thời cận đại, ngành dược bắt đầu chấp nhận các lý thuyết của Paracelsus nhưng không loại bỏ những kinh nghiệm cũ. Các vườn cây thuốc, vườn thực vật xuất hiện và đóng vai trò rất quan trọng.

Những tiến bộ của điều trị được đánh dấu bởi Dale với cuốn *Pharmacologia* (1700) nhấn mạnh mục tiêu của y học là phải dựa trên nền tảng trị liệu. Đó được coi là thời điểm dược tách ra khỏi y trong y học Phương Tây.

Sự phát triển của sinh vật học, hóa học làm cho hiểu biết về ngành dược tăng lên, Dược liệu học chuyển dần từ môn khoa học mô tả thành khoa học thực nghiệm. Hóa học ra đời, con người bắt đầu có những khái niệm về các hợp chất trong cây cỏ và động vật. Những cột mốc đáng chú ý trong sự phát triển của ngành Dược liệu học (và ngành Dược) trong thời cận đại có thể kể ra là:

- C. Linnaeus (1707 - 1778) đặt ra hệ thống danh pháp cho động vật và thực vật.
- K.W. Scheele đã chiết được các acid thực vật và những chất khác vào cuối thế kỷ 18. Khởi đầu cho việc nghiên cứu thành phần hóa học của cây thuốc.
- F. Sertürner chiết được morphin từ thuốc phiện. Sự kiện này chứng minh khái niệm chất "*tinh túy*" của Paracelsus.
- Chất gây mê đầu tiên được tổng hợp (1842), khởi đầu sự hình thành của hoá dược học, tách dần ra khỏi dược liệu.
- Schleiden năm 1857 khám phá ra rằng có thể phân biệt được các dược liệu bằng cách quan sát chúng dưới kính hiển vi và tầm quan trọng của khảo sát mô học trong chống nhầm lẫn và giả mạo các vị thuốc.
- Eijkman đưa ra khái niệm vitamin (1896).
- J. Abel đã chiết được epinephrin từ động vật (1897), chứng minh rằng có thể sản xuất các chất có tác dụng sinh lý đặc hiệu từ các tuyến nội tiết của động vật...

2.4. Sự phát triển của dược liệu học thế kỷ XX

Thời hiện đại, sự phát triển của các môn khoa học cơ bản, đặc biệt là hóa học và các phương pháp phân tích hóa lý, quang phổ đã tạo ra những công cụ mới hết sức hữu hiệu cho nghiên cứu dược liệu.

Sự ra đời của kỹ thuật sắc ký (Tsvets, 1903) làm cho việc phân tích, phân lập các chất trở nên đơn giản và hiệu quả hơn. Các phương pháp sắc ký điều chế đã giúp cho việc chiết tách các chất có hàm lượng thấp trong hỗn hợp phức tạp.

Các phương pháp phân tích dụng cụ, đặc biệt các thiết bị sắc ký ghép nối với các thiết bị quang phổ đã giúp cho việc nhận định và xác định hàm lượng các chất trong những hỗn hợp phức tạp với độ nhạy rất cao. Các thiết bị quang phổ đã giúp cho việc xác định cấu trúc các chất trở nên dễ dàng hơn, nhanh và tốn ít mẫu hơn.

Vào cuối thế kỷ 20, việc nghiên cứu các cây thuốc có định hướng bằng sự kết hợp của các thử nghiệm tác dụng sinh học với các nghiên cứu thành phần hóa học đã giúp cho việc tìm ra các chất trong cây cỏ có hoạt tính trị liệu trở nên nhanh chóng, ít tốn kém hơn và với cơ may thành công lớn hơn.

Sự phát triển của sinh học đặc biệt của sinh học phân tử đã giúp cho việc chọn lọc, nhân giống tạo ra nguồn nguyên liệu có chất lượng cao với các kỹ thuật gây đột biến, nuôi cấy mô, chuyển gen v.v...

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

III. LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA DƯỢC HỌC VIỆT NAM

Nền y dược học của dân tộc ta cũng đã có một lịch sử lâu đời. Vào khoảng 4000 năm tcn Thần Nông[1] đã dạy cho người dân sử dụng các loại ngũ cốc, thực phẩm và biết phân biệt cây cỏ có tác dụng chữa bệnh.

Vào thời Hồng-Bàng (2879 tcn) tổ tiên ta đã biết kết hợp một số dược liệu (vỏ Lựu, Ngũ bội tử, Cánh kiến) để nhuộm răng, đã có tục nhai trầu (trầu, cau, vôi) để bảo vệ răng và da dẻ hồng hào, biết uống chè vối cho dễ tiêu; dùng gừng, hành, tỏi để làm gia vị và để phòng bệnh. Từ thời Hùng Vương, người dân đã biết ủ và cất rượu dùng để uống và làm thuốc. Thời Thục An Dương Vương (257 - 179 tcn) đã biết chế tên độc bắn địch [Lê Trần Đức - Lược sử thuốc nam và y dược học dân tộc, Y học, 1990, 8]. Theo sử ghi chép, dưới thời Nam Việt - Giao Chỉ, nhiều vị thuốc đã được phát hiện: Cau, Ý dĩ, Long nhãn, Vải, Gừng gió, Quế, Trầm hương, quả Giun (sử quân tử), Hương bài, Cánh kiến (An tức hương), Mật ong, sừng Tê giác v.v...

Dưới thời Bắc thuộc (207 tcn - 905 scn), người Trung Hoa đô hộ nước ta đã lấy nhiều cây thuốc của Việt Nam về trồng như Ý dĩ, Vải, Nhãn, Sử quân tử, Nhục đậu khấu, hay thu các cống vật như Trầm hương, Cánh kiến trắng, Sừng tê giác, các loại hương liệu v.v... Cũng trong thời kỳ đó, nền y dược của ta giao lưu với y dược học Trung Hoa. Y học cổ truyền Việt nam chịu nhiều ảnh hưởng của y học cổ truyền Trung hoa, nhưng cũng có nhiều kiến thức y học Việt Nam được người Trung Hoa vay mượn và nhập vào nền y học Trung Hoa.

Dưới các triều Ngô - Đinh - Lê - Lý trong nước ta đã có nhiều thầy thuốc chuyên nghiệp chữa bệnh cho dân. Trong triều đình đã có Ty Thái y có nhiệm vụ chăm lo sức khoẻ cho hoàng gia. Các vị danh y có tiếng vào đời nhà Lý là các nhà sư Từ Đạo Hạnh, Nguyễn Minh Không.

Đến thế kỷ thứ 14 dưới đời nhà Trần (1225 - 1399) nền y dược học nước ta mới phát triển mạnh. Thời này đã có Viện Thái Y với nhiệm vụ chữa bệnh cho vua quan trong triều và trông nom cả việc cứu tế và y tế cho nhân dân, có mở khoa thi tuyển lựa lương y. Viện Thái y có tổ chức đi thu thập cây thuốc và tổ chức nhân dân trồng cây thuốc. Dưới đây là những vị danh y có nhiều cống hiến cho sự nghiệp bảo vệ sức khoẻ nhân dân và xây dựng nền y dược học nước ta.

Phạm Công Bân, còn gọi là Phạm Bân, quê ở xã Tứ Minh, huyện Cẩm Giàng, tỉnh Hải Dương (nay thuộc thành phố Hải Dương) là một danh y thời

---

[1] Vị Thần nông (Thần nông nghiệp) của người Việt cổ dạy dân trồng lúa nước. Theo truyền thuyết, Thần Nông là tổ tiên của vua Hùng. Đế Minh là cháu 3 đời của Thần Nông, Đế Minh sinh ra Kinh Dương Vương, Kinh Dương Vương sinh ra Lạc long Quân, Lạc long Quân sinh ra vua Hùng. Một số học giả văn học dân gian Trung quốc và Mỹ cũng đã chứng minh "*Thần nông là vị thần của nền văn minh lúa nước của cư dân phương Nam, ngoài nước Trung hoa cổ đạ*". [*Từ điển Bách khoa Nông nghiệp*, TT. QG Biên soạn TĐBK, 1991, 387].

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

vua Trần Anh Tông và là bố vợ Hồ Quý Ly. Với tài trị bệnh, ông được vua Trần Anh Tông (1293 - 1313) mời giữ chức Thái y lệnh chuyên chăm lo sức khoẻ cho nhà vua. Ngoài nhiệm vụ ở Viện Thái y, ông còn chữa bệnh cho dân.

Chu Văn An, (1292-1370) là một danh nho nổi tiếng đồng thời là danh y. Quê ông ở làng Văn thôn, xã Quang Liệt, huyện Thanh Đàm (Thanh Trì) nay thuộc phường Hoàng Liệt, quận Hoàng Mai, Hà Nội. Thời vua Trần Minh Tông (1314-1329), vua mời ông ra làm Tu nghiệp Quốc Tử Giám, dạy cho Hoàng thái tử Trần Vượng, sau này là vua Trần Hiến Tông (1329-1341). Đến thời Trần Dụ Tông (1341-1369), thấy quyền thần làm nhiều đều vô đạo, ông đã dâng Thất trảm sớ xin chém 7 gian thần nhưng không được vua nghe nên cáo lão từ quan về núi Phượng Hoàng (Chí Linh, Hải Dương) dạy học, làm thuốc và viết sách cho tới khi mất.

Tuệ Tĩnh, chính tên là Nguyễn Bá Tĩnh (đi tu lấy pháp danh là Tuệ Tĩnh) quê ở làng Nghĩa Phú, tổng Văn Thai, huyện Cẩm Giàng, phủ Thượng Hồng, tỉnh Hải Dương (nay là xã Cẩm Vũ, huyện Cẩm Giàng, tỉnh Hải Dương). Về năm sinh hiện chưa có tài liệu lịch sử chính xác. Theo Trương Xuân Nam [*Lịch sử ngành Dược Việt Nam*, Nxb. Y học] thì ông sinh vào năm 1330, mồ côi cha mẹ lúc 6 tuổi được các nhà sư chùa Hải Triều trong tổng nuôi ăn học. Năm 22 tuổi ông thi đậu Thái học (Tiến sĩ) dưới triều Trần Dụ Tông (1341-1369), nhưng không ra làm quan. Ông ở chùa đi tu nhưng có mục đích làm từ thiện và chữa bệnh giúp dân. Tuệ Tĩnh đã nghiên cứu cây cỏ Việt Nam, đã sưu tầm những bài thuốc giản dị thường dùng trong dân gian kết hợp kinh nghiệm trị bệnh của y học Trung Hoa để xây dựng một nền y học có tính chất dân tộc, đại chúng và sáng tạo trong thời kỳ mà thuốc Bắc rất thịnh hành.

Các tác phẩm của Tuệ Tĩnh còn lại 2 tác phẩm có giá trị là "*Hồng Nghĩa giác tự y thư*"[1] và "*Nam dược thần hiệu*". Bộ Hồng Nghĩa giác tự y thư (2 quyển) được biên soạn bằng thơ nôm để truyền bá rộng rãi y dược học dân tộc và y lý biện chứng trị liệu. Bộ sách "*Nam dược thần hiệu*" gồm 11 quyển, quyển đầu nói về dược tính của 499 vị thuốc nam, mười quyển sau, mỗi quyển nói về một khoa trị bệnh. Tư tưởng chỉ đạo của Tuệ Tĩnh về đường hướng y học là "*Nam dược trị Nam nhân*":

"*Tôi tiên sư, Kính đạo tiên sư*
Thuốc Nam Việt chữa người Nam Việt"[2]

Năm 55 tuổi (1385) ông bị bắt đi sứ sang nhà Minh, ở Trung Quốc. Tuệ Tĩnh chữa cho Tống vương phi (vợ vua Minh) khỏi bệnh sản hậu nên được phong là "*Đại y thiền sư*". Ông mất ở Trung Quốc không rõ năm nào.

---

[1] Biệt hiệu Hồng nghĩa là do Tuệ Tĩnh sinh ở làng Nghĩa Phú, phủ Thượng Hồng.

[2] Nguyễn Bá Tĩnh – Nam dược quốc ngữ phú (trong Tuệ Tĩnh toàn tập, Nxb. Y học, Hà Nội, 1998), tr. 377.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Dưới thời nhà Minh đô hộ (1400 - 1427), người Hán có chủ trương đồng hoá dân tộc ta và thủ tiêu văn hoá của ta nên trong thời kỳ này không có trước tác y học. Những thế kỷ tiếp theo lại có nhiều danh y xuất hiện:

- Thế kỷ 16 có Hoàng Đôn Hoà, một lương y nổi tiếng dưới triều Lê (Lê Thánh Tông, Lê Thế Tông). Ông đã giúp triều đình cứu chữa cho bệnh binh trong quân đội nhà Lê trong thời gian giao tranh với nhà Mạc. Ông đã chữa khỏi bệnh cho nhiều người trong vùng, trong đó có công chúa Phương Dung con vua Lê Thế Tông và được làm phò mã. Ông để lại tác phẩm "*Hoạt nhân toát yếu*" (Phép cốt yếu cứu người) gồm nhiều phương thuốc chữa bệnh. Các đời vua về sau đều có sắc phong ghi nhớ công lao của ông. Nhà nước ta cũng đã xếp hạng Di tích lịch sử miếu thờ ông tại làng Đa Sĩ (hay Đan Sĩ), Hà Đông (nay thuộc Hà Nội).
- Hải Thượng Lãn Ông (1720 - 1791) chính tên là Lê Hữu Trác, nguyên quán thôn Văn Xá, làng Liêu Xá, phủ Thượng Hồng, tỉnh Hải Dương.

Lê Hữu Trác hồi nhỏ theo cha đi học ở kinh thành Thăng Long (Hà Nội) nổi tiếng là người thông minh, học rộng, văn thơ lỗi lạc. Tuy nhiên sống dưới thời rối ren cực độ của chính quyền nhà Trịnh, ông chán ghét chiến tranh, viện cớ về Hương Sơn nuôi mẹ. Nhân thời gian nằm chữa bệnh ở nhà lương y Trần Độc ông mượn sách thuốc để đọc. Vốn là người thông minh, học rộng, càng đọc sách thuốc ông càng thấy thú vị say mê. Lại thấy làm nghề y thiết thực ích lợi cho mình, vừa có điều kiện giúp đỡ mọi người nên ông quyết chí học thuốc.

Sau mấy chục năm đúc kết kinh nghiệm thực tiễn, nghiên cứu sâu rộng kinh điển y học Trung Hoa kết hợp với y học dân tộc cổ truyền, ông biên soạn trong 26 năm bộ sách thuốc *"Hải Thượng y tông tâm lĩnh"* gồm 28 tập, 66 quyển. Trước tác của ông chẳng những được dùng để giảng dạy y học mà còn phục vụ trị bệnh cho nhân dân đương thời. Đặc biệt, Hải thượng Lãn ông đã phát huy chủ trương "*Dùng thuốc Nam chữa bệnh cho người Nam*" của Tuệ Tĩnh. Ông đã sưu tầm hơn 300 vị thuốc mới, phát hiện và nghiên cứu trên lâm sàng, tổng hợp thêm nhiều phương thuốc gia truyền công hiệu và phổ biến cho nhân dân để mọi người tự chữa các bệnh thông thường với cây nhà lá vườn sẵn có. Ông viết:

" Thuốc thang sẵn có khắp nơi
Trong vườn ngoài ruộng trên đồi dưới sông
Hàng ngàn thảo mộc thú trùng,
Thiếu gì thuốc bổ thuốc công quanh mình".

Lãn ông là một nhà y học nổi tiếng của dân tộc ta đã nêu cao đạo đức của người thầy thuốc, soi sáng cho y học nước nhà. Với những quan điểm nhân đạo và thực tế, về sau được nhân dân ta coi là một "*Đại y tôn*" của Việt Nam.

Dưới thời Tây Sơn (1788 - 1802) vì chiến tranh liên tiếp, tình hình y dược học không có gì đổi mới. Danh y thời bấy giờ có tiến sĩ Nguyễn Gia Phan đã có

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

công dập tắt được nhiều vụ dịch, cứu sống nhiều người, ông đã biên soạn cuốn *"Liệu dịch phương pháp toàn tập"*. Danh y Nguyễn Quang Tuân biên soạn cuốn "*La Khê phương dược*" gồm 13 cuốn và cuốn *"Kim ngọc quyển"* viết bằng chữ nôm ghi nhiều phương thuốc gia truyền.

Dưới thời triều Nguyễn có Trần Nguyệt Phương viết cuốn *"Nam Bang thảo mộc"* trong đó viết nhiều cây thuốc theo kinh nghiệm.

Dưới thời Pháp thuộc (1885 - 1945), thực dân Pháp tổ chức nền y tế theo lối tây y, hạn chế đông y. Tuy thế trong thời kỳ này cũng có nhiều tập sách có giá trị:

- Đinh Nho Chấn và Phạm Văn Thái biên soạn *"Trung Việt Dược tính Hợp biên"* gồm 16 cuốn viết công dụng, cách chế biến 1655 vị thuốc bắc và nam.
- Nguyễn An Nhân với tập *"Y học Tùng thư"* gồm 16 cuốn bằng tiếng Việt.
- Phó Đức Thành với tập *"Việt Nam Dược học"* gồm 5 cuốn bằng tiếng Việt.

Ngoài các tác giả người Việt, các tác giả người Pháp cũng có biên soạn một số sách viết về cây thuốc ở Đông Dương:

- Ch. Crevost và A. Petelot - Danh mục các sản phẩm Đông Dương - Các dược phẩm (*Catalogue des produits de l'Indochine - Produits médicinaux*).
- A. Petelot - Những cây thuốc của Campuchia, Lào và Việt Nam (*Les plantes médicinales du Cambodge du Laos et du Vietnam*).

Từ ngày cách mạng tháng 8 - 1945 cho đến nay, nhà nước ta rất quan tâm đến việc kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại. Trong thời kháng chiến chống Pháp và Mỹ, quân dân ta đã tận dụng nguồn dược liệu ở địa phương để bào chế ra thuốc men, tự túc được một phần quan trọng trong nhu cầu phòng bệnh và chữa bệnh. Nhiều cơ sở và tổ chức y dược học cổ truyền đã được thành lập như Viện Nghiên cứu Đông y, Viện Y dược học Dân tộc, Viện Dược liệu, Hội Đông y... Nhiều tài liệu về cây thuốc được biên soạn, đặc biệt cuốn *"Những Cây thuốc và Vị thuốc Việt Nam"* do GS.TS. Đỗ Tất Lợi biên soạn, đã được tái bản nhiều lần. Cuốn sách này được đánh giá cao không chỉ ở trong nước mà còn cả ở nước ngoài.

Thứ trưởng Bộ Y tế Vũ Công Thuyết đã viết trong lời giới thiệu bộ sách lần xuất bản đầu tiên[1] như sau: "... bộ sách đã thể hiện một công trình sưu tầm, nghiên cứu rất công phu, một khối lượng lao động rất lớn trong nhiều năm của tác giả. Nhiều công trình nghiên cứu trong nước, nhiều tài liệu nước ngoài đã được khảo sát, chọn lọc cộng với hơn 20 năm trong nghề của tác giả, một cán bộ đã có nhiều nhiệt tình và cống hiến trong việc nghiên cứu thuốc nam". Giáo sư về Dược liệu, A. P. Gammerman của Đại học Dược Leningrad đã đánh giá rất cao về bộ sách và nhận xét rằng công trình vừa có nội dung khoa học hiện đại, vừa có giá trị về y học cổ truyền phương đông. Tại

[1] Sách được nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội xuất bản lần đầu năm 1962-1965 gồm 6 cuốn.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Hội chợ sách quốc tế tại Matxcơva năm 1983, bộ sách được đánh giá là một trong bảy đầu sách quý của triển lãm. Năm 2007, bộ sách được giải thưởng đặc biệt của Hiệp hội xuất bản châu Á – Thái Bình Dương.

Giáo sư Đỗ Tất Lợi là nhà khoa học lỗi lạc, chủ nhiệm đầu tiên của Bộ môn Dược liệu, trường Đại học Y Dược Hà Nội giai đoạn sau 1945, là người đầu tiên tìm hiểu đông y và cây cỏ Việt Nam bằng ánh sáng của y học hiện đại để đưa vào giảng dạy trong chương trình đại học. Do có công đóng góp lớn cho ngành y tế Giáo sư Đỗ Tất Lợi đã được vinh dự được nhà nước trao tặng giải thưởng lớn – "*Giải thưởng Hồ Chí Minh*" đợt 1 về khoa học công nghệ năm 1997. Giáo sư Đỗ Tất Lợi sinh ngày 01 tháng 02 năm 1919 tại Phù Xá, Kim Anh, Phúc Yên (nay là Phú Minh, Sóc Sơn, Hà Nội), tạ thế ngày 03 tháng 02 năm 2008.

Từ những năm 1958, Nhà nước, Bộ Y tế đã có nhiều chỉ thị, nghị quyết nói về phương châm kết hợp y học hiện đại với y học cổ truyền, khai thác phát triển cây thuốc và động vật làm thuốc, nghiên cứu và sử dụng thuốc Nam. Các văn kiện quan trọng liên quan đến phát triển dược liệu bao gồm:

- Chỉ thị 210/TTg của Thủ tướng Chính phủ ngày 06-12-1966. Chỉ thị nêu rõ tầm quan trọng của dược liệu Việt nam trong điều trị cả trong y học cổ truyền và y học hiện đại; là nguồn lợi cho việc sản xuất trong nước và cho xuất khẩu.
- Nghị quyết 200 CP ngày 21-08-1978 của Hội đồng chính phủ về việc phát triển dược liệu trong nước.
- Quyết định 108/2002/QĐ-TTG ngày 15 tháng 8 năm 2002 của Thủ tướng chính phủ về việc phê duyệt chiến lược phát triển ngành dược trong đó chú trọng đầu tư, phát triển tiềm năng dược liệu, sản xuất nguyên liệu làm thuốc có thế mạnh, đặc biệt là từ dược liệu.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

VỊ TRÍ CỦA DƯỢC LIỆU TRONG NGÀNH Y TẾ VÀ TRONG NỀN KINH TẾ QUỐC DÂN

Thuốc phòng bệnh và chữa bệnh được điều chế từ 2 nguồn: dược liệu và hoá chất tổng hợp. Riêng dược thảo, thống kê chưa đầy đủ của Tổ chức Y tế thế giới cho thấy có hơn 21.000 loài cây cỏ được các dân tộc trên thế giới sử dụng làm thuốc. Không chỉ các nước Á Đông mà các nước phương Tây cũng tiêu thụ một lượng rất lớn dược liệu. Thống kê cho thấy rằng ở các nước có nền công nghiệp phát triển thì 1/4 số thuốc kê trong các đơn có chứa hoạt chất từ thảo mộc.

Chỉ tính riêng thị trường các nước phát triển năm 1998, doanh thu từ thuốc có nguồn gốc thảo mộc (các phytomedicine, không tính các chất tinh khiết lấy từ dược liệu) là 10 tỉ USD ở Châu Âu và 4 tỉ USD ở Mỹ. Tổng doanh thu của thuốc có nguồn gốc thảo mộc trên thế giới ước tính vào khoảng 30 tỉ USD vào năm 2000.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Nếu tính cả các loại thực phẩm chức năng, dược liệu thô thì con số này còn cao hơn nhiều. Chỉ riêng thị trường Mỹ năm 1998, con số này là 13,6 tỉ USD. Tốc độ tăng trưởng của thuốc có nguồn gốc tự nhiên, tuỳ theo vùng, tăng từ 5 - 15% mỗi năm [International Trade Forum - 3/2001]. Doanh số của dược liệu và các sản phẩm từ dược liệu hiện nay trên toàn cầu ước tính vào khoảng 82 tỉ USD [Purohit, S.S. et al. Medicinal Plant Cultivation: A Scientific Approach, Laurier Books, 2007] và dự đoán của Tổ chức Y tế thế giới có thể lên tới 5.000 tỉ vào năm 2050 [The Financial Express, Mar 03, 2004]. Nhiều biệt dược đông dược của Trung Quốc được tiêu thụ mạnh ở các nước châu Âu. Gần đây Việt Nam cũng có một số mặt hàng đông dược xuất khẩu có tín nhiệm trên thị trường nước ngoài.

Nhiều hoạt chất quan trọng như quinin, morphin, ajmalicin, vincaleucoblastin, digitalin, digoxin... đều phải chiết ra từ dược liệu mà chưa có thể đi bằng con đường tổng hợp.

Dược liệu cũng là nguồn cung cấp nguyên liệu cho việc bán tổng hợp một số thuốc. Chỉ riêng nhu cầu để bán tổng hợp các thuốc steroid, hàng năm thế giới cần khoảng 100.000 tấn củ mài có chứa diosgenin.

Dược liệu còn cung cấp các khung cơ bản để tổng hợp các thuốc mới, mở đường cho hoá dược phát triển. Ví dụ ephedrin là hoạt chất có trong cây Ma hoàng, một đã được sử dụng cách đây 4000 năm, y học hiện đại mới biết cách đây vài thế kỷ. Bắt chước thiên nhiên, hoá dược đi bằng con đường tổng hợp bằng cách ngưng tụ L-1-phenyl-1-acetyl carbinol với methylamin để có ephedrin và sau đó là các chất có cấu trúc tương tự. Dựa vào cấu trúc của quinin trong canh ki na người ta tổng hợp nhiều dẫn chất trị sốt rét khác. Dựa vào artemisinin được phân lập từ cây Thanh cao hoa vàng, các dẫn chất arteether, artemether, artesunat được bán tổng hợp cũng để điều trị bệnh sốt rét.

Hiện nay, người ta vẫn có xu hướng nghiên cứu các hoạt chất có cấu trúc mới từ dược liệu rồi từ đó bán tổng hợp các dẫn chất có hiệu quả hơn. Từ năm 1950 đến 1980 sau khi thử tác dụng chống ung thư của 40.000 loài thảo mộc, người ta đã phân lập được một số hoạt chất có tác dụng chữa được ung thư, trong đó có chất paclitaxel (taxol®) được phân lập từ cây *Taxus brevifolia* Nutt, họ Taxaceae có tác dụng chữa được ung thư, đặc biệt là ung thư buồng trứng ở thời kỳ tiến triển. Năm 1992 ở Mỹ, Canada và Pháp đã sử dụng taxol trên lâm sàng. Hiện nay, người ta nghiên cứu bán tổng hợp taxol và các dẫn chất (như docetaxen với biệt dược taxotere®) từ 10-desacetyl baccatin III, một chất có khung taxan có trong thông đỏ.

Đối với Việt Nam, dược liệu có một vị trí quan trọng. Nước ta nằm trong vùng nhiệt đới, chịu ảnh hưởng của gió mùa, nhiệt độ trung bình hàng năm là 25^{o}C, độ ẩm khá cao tạo điều kiện thuận lợi cho cây cối phát triển. Diện tích rừng chiếm 2/3 diện tích đất nước. Hệ thực vật rất phong phú và đa dạng, cả nước hiện đã biết có 12.000 loài thực vật có mạch. Trong đó có trên 4.000 loài cây thuốc. Nước ta có bờ biển trên 3.200 km chạy dài từ Bắc chí Nam nên có nhiều hải sản quý dùng làm thuốc. Nước ta lại có một số vùng có độ cao trên

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

1000m như Sapa, Đà Lạt thuận lợi cho việc di nhập một số cây thuốc vùng ôn đới như Actisô, Dương địa hoàng, Dương cam cúc, Cúc gai... Nếu biết cách khai thác và nghiên cứu nuôi trồng hợp lý thì các nguồn tài nguyên này sẽ có nhiều đóng góp cho ngành dược nước ta.

Dân tộc ta cũng như Trung Quốc, Nhật Bản, Triều Tiên và một số nước Đông Nam Á khác lại có truyền thống chữa bệnh theo lối y học cổ truyền từ lâu đời, đòi hỏi cung cấp một số lượng rất lớn về dược liệu. Trong những năm gần đây lượng thuốc Bắc ta nhập của Trung Quốc khá nhiều, nếu có kế hoạch đẩy mạnh việc trồng trọt và di thực thêm các cây thuốc thì sẽ hạn chế được sự lệ thuộc.

Về mặt kinh tế, nhà nước ta đã xếp cây thuốc vào loại cây công nghiệp cao cấp cần được phát triển như những cây công nghiệp khác. Hàng năm các công ty kinh doanh dược liệu đã biết khai thác nhiều mặt hàng dược liệu để xuất khẩu như hoa Hoè, Quế, Sa nhân, Dừa cạn, các loại tinh dầu Hồi, Quế, Tràm...

THU HÁI - CHẾ BIẾN VÀ BẢO QUẢN DƯỢC LIỆU

I. THU HÁI DƯỢC LIỆU

Chất lượng một dược liệu tốt hay xấu chủ yếu là do hàm lượng hoạt chất chứa trong dược liệu nhiều hay ít. Hoạt chất của dược liệu thay đổi bởi nhiều yếu tố: di truyền, điều kiện địa lý khí hậu, trồng trọt, thu hái, phơi sấy, bảo quản. Ở đây, chúng ta xem xét vấn đề thu hái. Nếu thu hái đúng nguyên tắc thì hàm lượng hoạt chất ta mong muốn có trong dược liệu sẽ đạt được tối đa. Cũng cần biết rằng mỗi dược liệu có thể có nhiều hoạt chất khác nhau, hàm lượng của mỗi hoạt chất có thể thay đổi tuỳ theo mùa, tuỳ theo chu kỳ phát triển của cây. Nếu thu hoạch đúng thời gian (có thể thay đổi tuỳ theo khí hậu, địa dư của mỗi vùng hay xê dịch chút ít theo thời tiết trong năm) dược liệu thu được sẽ có hoạt chất tối đa. Ví dụ:

- Bạc hà có hàm lượng tinh dầu cũng như menthol trong tinh dầu đạt tối đa lúc cây bắt đầu ra hoa. Tinh dầu ở cây còn non chủ yếu là menthon.
- Canh ki na có hàm lượng alcaloid trong vỏ cây tăng nhanh theo sự phát triển của cây và đạt tối đa vào năm thứ 7.
- Hoa hòe hái lúc còn nụ thì hàm lượng rutin cao, khi hoa nở hàm lượng rutin thấp.
- Thành phần hoạt chất cũng có thể thay đổi theo thời gian, ví dụ cây *Duboisia myoporoides* ở Queensland khi thu hoạch vào tháng 10 thì chứa 3% hyoscyamin nhưng khi thu hoạch vào tháng 4 thì chứa scopolamin với hàm lượng như trên.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Nhìn chung, nên thu hái dược liệu lúc trời nắng ráo giúp cho việc phơi sấy và bảo quản dược liệu. Các cây có tinh dầu nên thu hái vào buổi sớm trước lúc mặt trời mọc.

Sau đây là nguyên tắc chung định thời kỳ thu hoạch cho từng bộ phận của cây:

1. **Rễ và thân rễ** nên thu hoạch vào cuối thời kỳ sinh dưỡng, thường là vào thời kỳ thu đông. Tuy nhiên có trường hợp đặc biệt như rễ Bồ công anh cần hái vào giữa mùa hè vì khi ấy chứa nhiều hoạt chất. Có thể đào lúc ẩm ướt vì sau đó vẫn phải rửa sạch đất cát trước khi phơi sấy hoặc chế biến.

   Đối với cây sống nhiều năm, người ta thường thu hái vào những năm sau để rễ, củ có khối lượng lớn và hàm lượng hoạt chất cao. Nhưng cũng không nên quá lâu vì rễ hay củ sẽ hoá gỗ hoặc phải cân nhắc giữa việc tăng hàm lượng hoạt chất và thời gian bị mất.

   Hàm lượng hoạt chất giữa các phần của củ có thể không giống nhau. Trong Đại hoàng và Bạch chỉ hàm lượng hoạt chất tăng dần từ phần gần mặt đất xuống phần chót của củ.

2. **Vỏ cây** (vỏ thân, cành và vỏ rễ) thường thu hoạch vào mùa xuân là thời kỳ nhựa cây hoạt động mạnh hay cuối mùa thu, đầu mùa đông khi cây phát triển chậm lại. Việc thu hái vỏ cây phải chú ý tới việc bảo vệ cây. Thu hái vỏ rễ đồng nghĩa với làm chết cây. Vỏ cây quá già hoặc quá non thường có chất lượng thấp hơn.

3. **Lá và ngọn cây có hoa** phải hái vào thời kỳ quang tổng hợp mạnh nhất thường là lá bánh tẻ vào thời kỳ cây bắt đầu ra hoa, không nên hái khi quả và hạt đã chín. Tuy nhiên với lá Trà, người ta hái búp và lá non còn với lá Bạch đàn người ta thường hái những lá già. Với những cây thảo, người ta có thể thu hái toàn cây cả rễ hay loại bỏ rễ.

4. **Hoa** phải hái lúc trời nắng ráo, khi còn là nụ hay trước hoặc đúng vào thời kỳ hoa nở. Hái trước khi hoa nở như nụ Hòe, Đinh hương, Kim ngân. Hái khi hoa nở như Hồng hoa, Cà độc dược.

5. **Quả** được thu hái vào những thời gian khác nhau, tuỳ theo dược liệu nhưng thường là khi quả đã già hoặc chín. Quả thu hái ngay trước khi chín như mơ, hồ tiêu, chỉ xác hay khi quả chín như quả dâu, nhãn. Các loại quả nang, quả hạch, quả dĩnh thường thu hái khi đã già như Tiểu hồi, Sà sàng, Đại hồi. Một số loại quả có thể hái khi quả còn non như chỉ thực, quả cây *Conium maniculatum* L.

6. **Hạt** thường được thu hái khi quả đã già, bắt đầu khô như Sen, Ý dĩ.

Dù thu hái bộ phận nào của cây cũng nên giữ cho dược liệu được sạch sẽ, tránh các cây lạ, đất cát, rác v.v... Nếu là củ nên giũ hoặc rửa sạch đất trước khi phơi sấy. Các bộ phận to, cứng hay nhiều nước như củ, quả, thân v.v... thường được cắt nhỏ trước khi phơi sấy.

Google.com/+DạyK

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Trên đây là một số nguyên tắc chung, tuy nhiên, đối với từng dược liệu cụ thể cần chú ý theo dõi sự thay đổi hàm lượng của hoạt chất để định thời gian thu hoạch để đạt được kết quả tốt nhất.

II. ỔN ĐỊNH DƯỢC LIỆU

Dược liệu nguồn gốc thảo mộc thường chứa nhiều enzym như enzym thuỷ phân cắt các dây nối osid, enzym cắt dây nối ester, enzym đồng phân hoá, enzym oxy hoá, enzym trùng hợp hóa... Người ta đã phân lập được hàng trăm enzym khác nhau. Bản chất enzym là protein hoặc có phần cơ bản là protein, tuy nhiên cấu trúc của chúng chưa được biết một cách đầy đủ. Enzym là những chất xúc tác hữu cơ của các phản ứng xảy ra trong các tế bào của thực vật và động vật. Enzym tồn tại trong dược thảo sau khi thu hái sẽ hoạt động mạnh ở nhiệt độ 25°C đến 50°C với độ ẩm thích hợp. Chúng tác động lên các hoạt chất để chuyển thành các sản phẩm thứ cấp. Ví dụ, trong cây dương địa hoàng tía, enzym digipurpidase cắt bỏ một đơn vị glucose trong mạch đường của purpurea glycosid A và B để biến hai chất này thành glycosid thứ cấp là digitoxosid và gitoxosid tương ứng. Trong cây Hành biển, enzym scillarenase cắt bớt một glucose của scillaren A để cho proscillarin A. Các alcaloid có dây nối ester như hyoscyamin có trong lá cây belladon, Cà độc dược có thể bị enzym cắt dây nối ester để cho tropanol và acid tropic. Các glycerid thì bị enzym lipase cắt thành glycerol và acid béo. Acid ascorbic thường gặp trong thực vật thì bị enzym ascorbinodehydrogenase oxy hóa. Chất ranunculin có trong một số cây thuộc họ Mao lương, dưới tác dụng của enzym có sẵn trong cây cũng bị thuỷ phân thành protoanemonin rồi chất này lại bị dimer hoá để tạo thành chất anemonin mà người ta chỉ thấy ở cây khô. Còn nhiều ví dụ để dẫn chứng sự tác động của enzym làm biến đổi hoạt chất.

Với phương pháp làm khô sẽ trình bày ở mục sau hoặc làm lạnh hoặc nghiền dược liệu tươi với một vài hoá chất như ammonisulfat, natrichlorid thường chỉ ức chế enzym. Chúng sẽ hoạt động trở lại khi có điều kiện thích hợp. Để phá huỷ enzym làm cho chúng không hoạt động trở lại người ta đề ra các phương pháp gọi là phương pháp "ổn định".

1. Phương pháp phá huỷ enzym bằng cồn sôi

Phương pháp này cho một cồn thuốc ổn định, cách làm như sau: cắt nhỏ dược liệu tươi, thả từng ít một (để cồn vẫn tiếp tục sôi) vào cồn 95 % đang đun sôi. Lượng cồn dùng thường gấp 5 lần lượng dược liệu. Sau khi đã cho hết dược liệu, lắp ống sinh hàn đứng và giữ cho cồn sôi trong 30 - 40 phút. Để nguội, gạn lấy cồn. Dược liệu đem giã nhỏ và chiết kiệt lần hai. Như vậy ta có một dung dịch cồn hoặc cao sau khi bốc hơi cồn chứa các hoạt chất của cây tươi.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

2. Phương pháp dùng nhiệt ẩm

Hơi cồn

Dùng nồi hấp, cho vào một ít cồn 95 %, xếp dược liệu trên các vỉ chồng lên nhau. Vỉ dưới cùng nằm trên mặt cồn. Vỉ trên cùng được đậy bằng một nón kim loại để tránh cồn khi đọng lại nhỏ trên dược liệu. Đậy nồi, vòi thoát để ngỏ. Đun nhanh và dẫn hơi cồn ra xa lửa bằng một ống dẫn. Sau khi đã xả hết không khí, đóng vòi lại, làm tăng áp suất và giữ vài phút ở 1,25 atmosphe. Để nguội, mở nồi lấy dược liệu ra rồi làm khô. Phương pháp này cho ta dược liệu có màu sắc đẹp, thành phần hoá học giống như dược liệu tươi.

Hơi nước

Cách tiến hành như trên nhưng thay cồn bằng nước và giữ ở nhiệt độ 105 - 110°C trong vài phút. Phương pháp này hay dùng đối với các bộ phận dày, cứng như rễ, vỏ, gỗ, hạt nhưng có nhược điểm: tinh bột biến thành hồ, protein bị đông lại, do đó sau khi làm khô, dược liệu có trạng thái sừng làm cho việc chiết xuất hoạt chất không thuận lợi.

3. Phương pháp dùng nhiệt khô

Phương pháp này đã được sử dụng từ lâu để chế biến chè xanh bằng cách sao để phá huỷ enzym, ngược lại với việc chế chè đen bằng cách để cho enzym hoạt động. Ở quy mô công nghiệp, người ta ổn định bằng cách thổi một luồng gió nóng 80 - 110°C có khi còn nâng nhiệt độ lên 300°C hoặc hơn trong một thời gian rất ngắn đi qua dược liệu. Phương pháp này không được hoàn hảo vì trong môi trường khô enzym khó bị phân huỷ. Ngoài ra, vì làm nóng nhanh nên tạo xung quanh dược liệu một lớp mỏng khô bao phía ngoài làm cho việc làm khô tiếp theo bị khó khăn. Hơn nữa, một vài chất trong dược liệu cũng bị biến đổi như protein bị vón, tinh dầu bị bay hơi, đường bị chuyển thành caramen.

Trên đây là một số phương pháp chính để phá huỷ enzym, đảm bảo cho hoạt chất trong dược liệu sau khi làm khô được giữ nguyên vẹn như khi còn tươi. Tuy nhiên, cũng có trường hợp người ta để cho enzym hoạt động để tăng hàm lượng hoạt chất mong muốn, ví dụ muốn tăng hàm lượng diosgenin trong nguyên liệu, người ta ủ nguyên liệu tươi với nước. Muốn chiết digitoxin trong lá Dương địa hoàng thì cứ để cho enzym hoạt động.

III. LÀM KHÔ DƯỢC LIỆU

Làm khô dược liệu mục đích để bảo quản dược liệu khỏi bị nhiễm mốc, vi khuẩn, bị tác động bởi enzym và hạn chế các biến đổi hoá học có thể xảy ra trong dược liệu như bị thuỷ phân, oxy hoá, đồng phân hoá, trùng hợp hoá. Dược liệu khô thì dễ xay nghiền và vận chuyển thuận lợi. Việc làm khô liên quan đến 2 yếu tố là nhiệt độ và thông hơi. Tuỳ theo yêu cầu của mỗi dược liệu mà nhiệt độ và thời gian phơi sấy được khống chế.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

1. Phơi

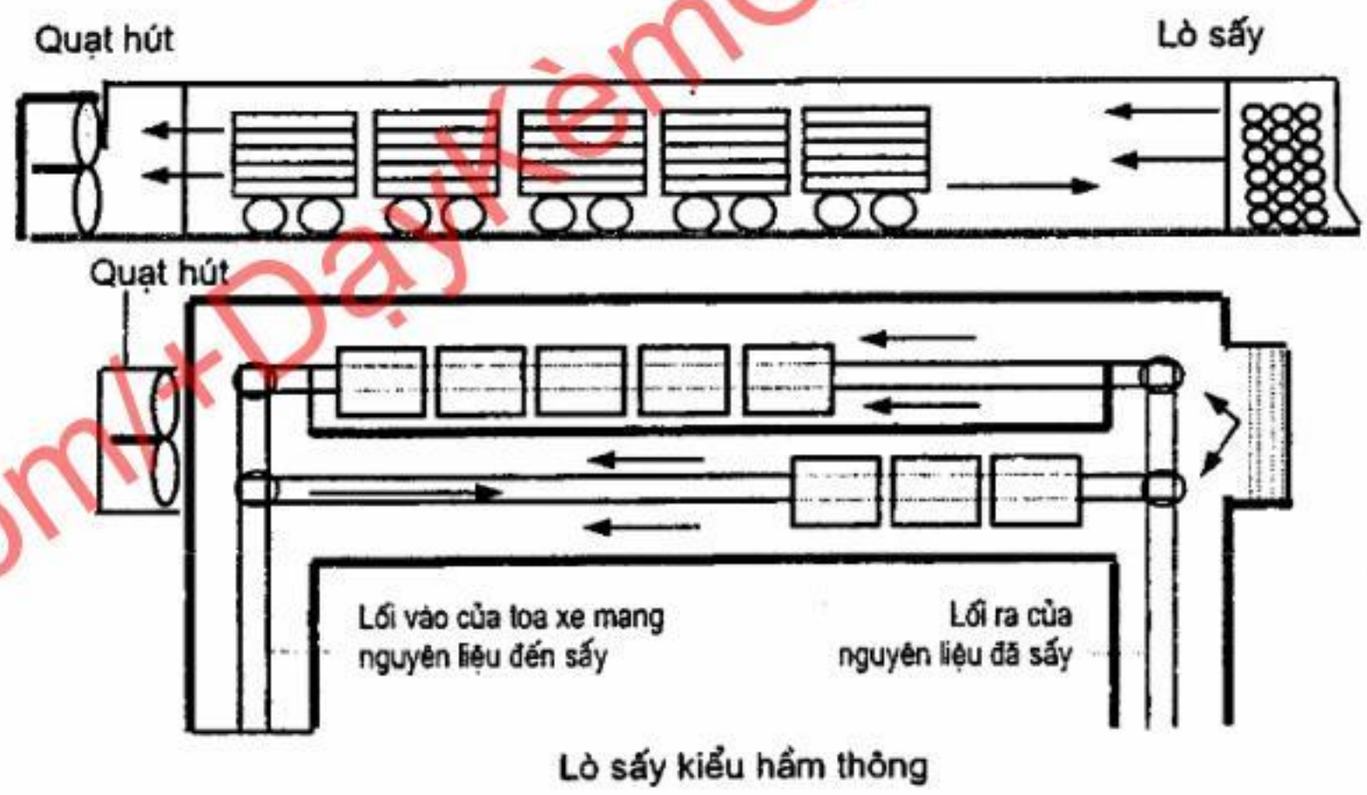
Có 2 cách phơi là phơi dưới ánh nắng mặt trời và phơi trong râm.

Phơi dưới ánh nắng mặt trời: thông thường dược liệu được trải trên các tấm liếp đặt cao khỏi mặt đất vừa để tránh lẫn đất cát vừa để thoáng khí ở cả mặt dưới lớp dược liệu. Trong quá trình phơi thường xuyên xới đảo. Thời gian phơi có thể kéo dài từ vài giờ đến vài ngày tuỳ theo lượng nước chứa trong dược liệu và thời tiết. Cách phơi này đơn giản ít tốn kém nhưng có một số nhược điểm như bị động bởi thời tiết, nhiễm bụi, thu hút ruồi nhặng đối với dược liệu có đường, một số hoạt chất trong dược liệu có thể bị biến đổi bởi tia tử ngoại.

Phơi trong râm: dược liệu được trải mỏng trên các liếp hoặc buộc thành bó nhỏ rồi treo hoặc vắt theo kiểu chữa X trên các sợi dây thép. Việc làm khô được tiến hành trong các lều chung quanh không có vách. Phơi trong râm thường được áp dụng với các dược liệu là hoa để bảo vệ màu sắc hoặc các dược liệu chứa tinh dầu.

2. Sấy

Sấy là biện pháp tuy tốn kém nhưng có lợi ở chỗ không bị động bởi thời tiết, rút ngắn thời gian làm khô, bảo vệ được một số dược liệu khỏi bị biến đổi bởi tia UV và làm khô nhanh nên làm giảm tác động của enzym. Khác với phơi, sấy phải được thực hiện trong buồng kín nhưng có lỗ thông hơi. Nhiệt độ của lò cung cấp nhiệt có thể điều chỉnh để nhiệt độ sấy có thể thay đổi từ 30 - 80°C. Lúc khởi đầu không nên để nhiệt độ cao quá vì sẽ tạo ra một lớp mỏng khô bao ngoài dược liệu làm ngăn cản sự bốc hơi nước của các lớp bên trong. Điều kiện thông hơi (thường dùng quạt hút) cũng phải theo dõi để vừa đủ đẩy hết không khí bão hoà hơi nước khỏi buồng sấy. Đối với các loại củ, rễ hoặc thân rễ thường được thái mỏng hoặc đập dập để dễ khô.



Lò sấy kiểu hầm thông

Hiện nay, đối với cây thuốc người ta hay thiết kế buồng sấy kiểu hầm thông. Thiết bị cung cấp nhiệt được đặt ở một đầu buồng sấy và ở dưới thấp, quạt gió hút ở đầu đối diện và ở phía trên cao. Trong hầm thông có các đường ray để các xe mang các khay sấy chứa dược liệu di chuyển dễ dàng. Khay sấy thường có chiều dài 1,5 m và rộng 0,80 m được làm bằng lưới kim loại hoặc bằng vải. Các khay được xếp chồng lên nhau, cách nhau vừa đủ để không khí lưu thông dễ dàng. Lúc bắt đầu sấy, người ta đặt một xe đầu tiên ở lối vào đối diện với nguồn cung cấp nhiệt. Sau đó đẩy xe thứ nhất lên và đặt xe thứ hai rồi cứ

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

tiếp tục tiến hành như vậy. Điều chỉnh nhiệt độ và thời gian để khi mỗi xe tới gần lò nhiệt thì dược liệu đã khô và cho ra khỏi lò sấy.

3. Làm khô trong tủ sấy ở áp suất giảm

Dược liệu được đặt vào tủ sấy có cửa đóng thật kín, có nhiệt kế để theo dõi nhiệt độ và đồng hồ đo áp suất. Tủ được nối với máy hút chân không. Nhờ sấy ở điều kiện áp suất giảm nên thời gian sấy nhanh và có thể sấy ở nhiệt độ thấp (25 - 40°C). Tuy nhiên, phương pháp này không áp dụng được với khối lượng dược liệu lớn, thường chỉ dùng để làm khô một số cao thuốc hoặc một số dược liệu quý mà hoạt chất dễ bị hỏng bởi nhiệt độ.

4. Đông khô

Đây là phương pháp làm khô bằng cách cho tinh thể nước đá thăng hoa. Muốn vậy, nguyên liệu được làm lạnh thật nhanh ở nhiệt độ rất thấp (–80°C) để nước chứa bên trong nguyên liệu kết tinh nhanh ở dạng tinh thể nhỏ.

Nguyên liệu được giữ ở nhiệt độ thấp trong quá trình đông khô và được đặt ở trong buồng thật kín có nối với máy hút chân không. Nước ở thể rắn trong nguyên liệu bị thăng hoa dưới áp suất giảm (10^{-5} mmHg). Với phương pháp đông khô, nguyên liệu có thể được làm khô tuyệt đối, các hoạt chất không bay hơi cũng được bảo vệ nguyên vẹn, các enzym bị ức chế nhưng có thể hoạt động trở lại ở điều kiện bình thường, cấu trúc của các mô cũng không bị biến đổi.

Phương pháp đông khô thường chỉ dùng để làm khô một số dược liệu quý như nọc rắn, sữa ong chúa hoặc trong nghiên cứu các dược liệu chứa những hoạt chất rất dễ bị biến đổi.

IV. ĐÓNG GÓI VÀ BẢO QUẢN DƯỢC LIỆU

1. Chọn lựa

Việc chọn lựa mặc dầu đã được thực hiện một phần trong quá trình thu hái, tuy nhiên sau khi sấy khô nhất thiết phải chọn lựa lại trước khi đóng gói đưa ra thị trường để đảm bảo dược liệu đạt tiêu chuẩn quy định. Một số qui định thường được đề ra về:

- Tạp chất, bao gồm các tạp chất hữu cơ (rơm rạ, vật lạ khác) hoặc vô cơ (đất, cát...).
- Các bộ phận khác với bộ phận quy định được dùng (cành lẫn với lá, rễ lẫn với thân...).
- Màu sắc, mùi vị.
- Tỉ lệ của dược liệu bị vụn nát.
- Dược liệu bị nhiễm mốc mọt.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Công việc chọn lựa chủ yếu tiến hành bằng tay, có thể dùng dụng cụ hoặc máy móc đơn giản như rây có kích thước mắt khác nhau, quạt gió ...

2. Đóng gói

Mục đích của việc đóng gói là để bảo vệ dược liệu về mọi mặt trong thời gian vận chuyển hay bảo quản.

Khi đóng gói cần phải theo đúng tiêu chuẩn về loại bao bì, kích thước, khối lượng, hình dáng. Phải có nhãn ghi rõ: Tên dược liệu, khối lượng nguyên, khối lượng cả bì, nơi sản xuất, số kiểm soát. Nếu đóng gói nhỏ có thể dùng ngay thì trên nhãn phải ghi cả công dụng, cách dùng, liều dùng, hạn dùng.

3. Bảo quản

Bảo quản dược liệu là biện pháp nhằm giữ phẩm chất và hình thức của dược liệu không bị giảm sút trước khi chúng được sử dụng.

Trong thời gian bảo quản, dược liệu chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố: nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm, sâu mọt và nấm mốc dẫn tới biến đổi màu sắc mùi vị, giảm hàm lượng hoạt chất, bị nhiễm nấm mốc, sâu mọt sinh ra các chất độc hại khác. Độ ẩm trong không khí cao là nguyên nhân chính làm giảm chất lượng dược liệu. Nếu dược liệu dễ hút ẩm thì phải đựng trong bao bì bằng nhựa tổng hợp hoặc bằng sắt và dưới đáy có để chất hút ẩm.

Nấm mốc thường gặp thuộc các chi *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*. Sâu mọt trên dược liệu hay gặp các loại: mọt gạo (*Sitophyllus oryzae*), mọt thóc đỏ (*Tribolium ferrugineum*), mọt cà phê (*Araecerus fasciculatus*), mọt thuốc (*Stegobium paniceum*)...

Muốn bảo vệ dược liệu tốt thì phải xây dựng kho chứa đúng quy cách. Kho thường được xây dựng bằng các nguyên liệu chống cháy. Kho phải mát, thoáng gió, khô ráo. Giữa các giá phải có lối đi lại. Các dược liệu phải được xếp đặt theo từng khu vực để dễ tìm, dễ kiểm soát. Các dược liệu độc như Cà độc dược, Ô đầu, Mã tiền... và các dược liệu có tinh dầu như Hồi, Đinh hương, Quế, Bạc hà... phải để riêng. Định kỳ phải theo dõi nấm mốc, sâu bọ.

Khi dược liệu bị nấm mốc thì phải xử lý như rửa, lau nước hoặc cồn rồi phơi sấy lại, nếu nhiễm nặng thì phải loại bỏ. Nếu dược liệu bị sâu mọt phương pháp đơn giản nhất là sấy ở 65^{0}C. Có thể phòng chống nấm mốc, sâu mọt bằng cách sử dụng bức xạ γ Co^{80} chiếu từ 0,25 KGy đến 1 Kgy. Quy định cho việc sử dụng này tuỳ thuộc vào từng quốc gia. Dược liệu với số lượng ít và rất dễ sâu mọt thường được đựng trong những hộp hoặc thùng sắt kín và nhỏ xuống đáy thùng một vài giọt chloroform.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ DƯỢC LIỆU

Đánh giá một dược liệu nghĩa là xác định dược liệu đó có đạt tiêu chuẩn quy định hay không. Khi đánh giá, có thể dựa vào tiêu chuẩn nhà nước được ghi trong Dược điển hoặc theo tiêu chuẩn cơ sở. Các chỉ tiêu của một tiêu chuẩn được đề ra để đảm bảo chất lượng của dược liệu và có căn cứ để giao dịch trên thị trường Tiêu chuẩn của một dược liệu thường bao gồm:

- Đặc điểm hình thái: gồm các đặc điểm cảm quan, đặc điểm vi học của dược liệu.
- Thử tinh khiết: độ ẩm, độ tro, tạp chất hay các hằng số vật lý.
- Định tính thành phần chính trong dược liệu.
- Định lượng thành phần chính hoặc hàm lượng cao chiết được của dược liệu.

I. CẢM QUAN

Phương pháp cảm quan nghĩa là dùng các giác quan của chúng ta để đánh giá, phân biệt các dược liệu. Dùng mắt để quan sát hình dáng bên ngoài, kích thước, màu sắc của dược liệu; đối với một vài dược liệu thì cần phải bẻ ra để quan sát bên trong. Dùng tay để cảm nhận thể chất, mức độ nặng nhẹ, xốp chắc, trơn hay dính của dược liệu. Mùi là đặc điểm của nhiều dược liệu chứa tinh dầu, nhựa. Vị của dược liệu có thể ngọt như cam thảo, cỏ ngọt; chua đối với dược liệu chứa acid hữu cơ; đắng như đối với các dược liệu chứa alcaloid, glycosid; cay như ớt, gừng...

II. PHƯƠNG PHÁP SOI KÍNH HIỂN VI

Phương pháp đánh giá dựa vào kính hiển vi bao gồm soi vi phẫu và soi bột. Đây là phương pháp hay dùng nhất để kiểm nghiệm dược liệu là các bộ phận của cây thuốc. Trong một vài trường hợp phương pháp này lại có ưu thế hơn phương pháp hoá học. Ví dụ, để phân biệt các loại tinh bột người ta không thể dựa vào phương pháp hoá học mà phải nhờ vào các đặc điểm hiển vi. Một vài mảnh lá trúc đào trong dạ dày tử thi được xác định dễ dàng bằng soi vi phẫu hơn là làm phản ứng tìm oleandrosid. Dùng kính hiển vi không chỉ để xác định sự giả mạo mà còn có thể ước lượng tỷ lệ chất giả mạo căn cứ vào số lượng một đặc điểm nào đó của mẫu kiểm nghiệm so sánh với mẫu đối chứng.

III. PHƯƠNG PHÁP DỰA VÀO CÁC TÍNH CHẤT VẬT LÝ

Với các dược liệu là các bộ phận của cây cỏ, nhiều trường hợp có thể phát hiện bị pha lẫn hay giả mạo bằng cách soi mặt cắt dược liệu hay bột dược liệu dưới ánh đèn phân tích tử ngoại. Có khi, trước khi soi người ta nhỏ thêm trên bột dược liệu một vài loại thuốc thử (kiềm, acid...). Một số cao dược liệu cũng cho màu sắc khác nhau, các hoạt chất cũng vậy. Ví dụ, aconitin (lơ sáng),

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

berberin (vàng), emetin (đỏ cam). Quinin cho màu xanh lơ trong dung dịch oxy acid ngay dưới ánh sáng thường và rất rõ dưới ánh đèn tử ngoại.

Việc ứng dụng các hằng số vật lý để đánh giá thường hay tiến hành đối với các dược liệu không phải là các bộ phận của cây cỏ như tinh dầu, dầu béo và các hoạt chất.

Mỗi dược liệu có các hằng số vật lý nằm trong 1 giới hạn nhất định. Khi kết quả nằm ngoài giới hạn này, dược liệu có thể kém chất lượng hay bị giả mạo, pha trộn bởi các chất khác.

Độ hòa tan: độ hoà tan của các chất thường được biểu thị bằng số *ml* dung môi tối thiểu cần để hoà tan *1g* chất đó.

Tỷ trọng: áp dụng cho các nguyên liệu là chất lỏng, đặc biệt đối với tinh dầu và dầu béo. Ví dụ, tỷ trọng ở 20°C của tinh dầu bạc hà: 0,890 - 0,922; của mật ong không dưới 1,38.

Góc quay cực riêng:

Đối với chất lỏng như tinh dầu, dầu béo, có thể đo trực tiếp năng suất quay cực của chất lỏng. Khi đó $[\alpha]_D^{25} = \frac{\alpha}{ld}$. Đối với hoạt chất rắn thì có thể pha loãng trong dung môi thích hợp. Khi đó $[\alpha]_D^{25} = \frac{\alpha \times 100}{l \times c}$. Góc quay cực và tỉ trọng được đo ở cùng một nhiệt độ (ở đây là 25°C).

(với *α: góc quay cực đo được; l: bề dày lớp chất tính bằng dm; d: tỷ trọng chất; c: nồng độ phần trăm của chất trong dung dịch).*

Chỉ số khúc xạ: áp dụng cho các nguyên liệu là các chất lỏng như tinh dầu và dầu béo. Ví dụ: chỉ số khúc xạ của tinh dầu hương nhu trắng ở 20°C là 1,510 - 1,528.

Nhiệt độ đông đặc: dùng để đánh giá các nguyên liệu lỏng như tinh dầu và dầu béo. Nhiệt độ đông đặc của hỗn hợp có thể nói lên tỉ lệ của các thành phần chính trong đó. Ví dụ, nhiệt độ đông đặc của tinh dầu Hồi được quy định phải trên +15°C. Khi ấy hàm lượng anetol trong tinh dầu sẽ trên 85%.

Nhiệt độ nóng chảy: dùng để đánh giá các nguyên liệu rắn, thường là các chất tinh khiết nhưng cũng có thể áp dụng với các hỗn hợp trong những trường hợp cụ thể, ví dụ như sáp ong. Nhiệt độ nóng chảy của sáp ong vàng là 62 - 66°C.

IV. THỬ TINH KHIẾT

1. Xác định độ ẩm

Dược liệu thường được quy định một giới hạn độ ẩm nhất định gọi là độ ẩm an toàn của dược liệu. Ở độ ẩm này hay thấp hơn, dược liệu có thể được an toàn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

trong quá trình lưu trữ. Ví dụ Dược điển III quy định độ ẩm của lá Thanh cao hoa vàng không được quá 13%, quá độ ẩm đó thì dược liệu dễ bị mốc, hư hỏng.

Trong đa số trường hợp, độ ẩm an toàn của dược liệu được quy định là không quá 13%. Để đánh giá chỉ tiêu này, người ta phải xác định độ ẩm của dược liệu. Thêm vào đó, khi định lượng hoạt chất trọng dược liệu, cũng cần phải xác định độ ẩm để qui hàm lượng về dược liệu khô tuyệt đối.

Có thể xác định độ ẩm bằng những cách sau đây:

Phương pháp sấy

- Sấy trong tủ sấy ở áp suất bình thường.
- Sấy trong tủ sấy ở áp suất giảm (có máy hút chân không).
- Làm khô trong bình hút ẩm với những chất hút ẩm mạnh như acid sulfuric đậm đặc, phosphorpentoxid và/hoặc ở áp suất giảm (có máy hút chân không).

Hai phương pháp sau thường được áp dụng với những dược liệu quý dễ bị hỏng bởi nhiệt độ và cần được thu hồi, ví dụ như sữa ong chúa, nọc rắn...

Trong thực tế, có các cân xác định độ ẩm kết hợp giữa bộ phận cân và sấy. Dược liệu được đưa lên đĩa cân và sấy khô bằng tia hồng ngoại. Khi khối lượng dược liệu không đổi giữa 2 lần cân liên tiếp trong khoảng thời gian đã định trước, quá trình sẽ kết thúc. Kết quả được tính và hiện lên màn hình của máy hay in ra giấy.

Phương pháp chưng cất

Độ ẩm trong dược liệu được xác định bằng phương pháp chưng cất đẳng phí với dung môi.

Phương pháp cất lôi cuốn đẳng phí, nghĩa là lôi cuốn nước bằng cách cất với một dung môi hữu cơ không trộn lẫn được với nước nhưng lại tạo với nước một hỗn hợp đẳng phí có nhiệt độ sôi ổn định. Phương pháp này được áp dụng đối với dược liệu chứa tinh dầu. Sau khi dịch chưng cất được ngưng tụ và để nguội, nước được tách ra và được xác định thể tích. Dung môi có thể dùng là xylen, toluen.

2. Xác định độ tro

2.1. Tro toàn phần

Tro toàn phần là khối lượng cắn còn lại sau khi nung cháy hoàn toàn một dược liệu. Để có thể so sánh được kết quả, cần phải tiến hành trong những điều kiện nhất định. Ví dụ, trong chén nung bằng sứ, đường kính 35mm, đã được nung đỏ, để nguội và cân bì, mẫu dược liệu đã được cắt hoặc tán nhỏ (1 - 5g) và được cân chính xác. Lúc đầu đốt nhẹ rồi tăng dần nhiệt độ để dược liệu cháy hết. Cần theo dõi và điều chỉnh nhiệt độ để tro, than không bị thoát ra khỏi miệng chén. Sau khi đốt, cho chén vào lò nung ở nhiệt độ 500^{0}C cho đến khi thu được khối lượng không đổi. Để tránh các dược liệu hoá gỗ tạo ra than khó đốt

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

cháy, có thể ngừng nung rồi làm ẩm bằng nước cất hoặc acid nitric đậm đặc rồi đem nung lại cho đến khi tro không còn màu đen. Tro được để nguội trong bình hút ẩm và đem cân để tính ra hàm lượng % của tro trong dược liệu.

2.2. Tro không tan trong acid hydrochloric

Thêm vào tro toàn phần 5 ml HCl 10%. Đậy chén nung bằng một mặt kính đồng hồ và đun cách thuỷ trong 10 phút. Dùng 5 ml nước cất nóng để rửa mặt kính đồng hồ và dùng nước rửa này để pha loãng dung dịch còn lại trong chén. Lọc dung dịch qua giấy lọc không tro, rửa cắn và giấy lọc bằng nước cất nóng cho đến khi nước rửa không còn phản ứng của ion chlorid nữa. Chuyển giấy lọc có chứa cắn vào chén nung ở trên, sấy khô, đốt rồi nung ở nhiệt độ 500^{0}C cho đến khối lượng không đổi. Trừ trường hợp đặc biệt (ví dụ như Mộc tặc), tro không tan trong acid biểu thị lượng đất cát (cấu tạo bởi silic oxyd) có trong dược liệu do dược liệu không được làm sạch khi thu hái, hay lẫn vào phơi sấy.

2.3. Tro sulfat

Tro sulfat là tro còn lại sau khi nhỏ acid sulfuric lên dược liệu và đem nung. Phương pháp này cho kết quả ổn định hơn phương pháp tro toàn phần vì các carbonat và oxyd được chuyển thành sulfat.

V. PHƯƠNG PHÁP HOÁ HỌC

Phần lớn các dược liệu đều có thành phần hoạt chất xác định. Các hoạt chất này có thể cho các phản ứng đặc trưng như tạo màu, kết tủa... để có thể dựa vào đó để định tính và định lượng. Ví dụ, các anthranoid thì dựa vào phản ứng Bornträger, các glycosid tim thì dựa vào các phản ứng của các dẫn chất nitro thơm. Đối với alcaloid thì dựa vào tính kiềm để định lượng bằng phương pháp acid - kiềm.

Đôi khi người ta lại dựa vào thành phần hoá học không phải là hoạt chất nhưng lại đặc trưng cho dược liệu đó để đánh giá.

Các phương pháp định tính và định lượng các nhóm hợp chất chính trong dược liệu bằng phương pháp hoá học sẽ được trình bày cụ thể trong các chương sau.

VI. PHƯƠNG PHÁP PHỔ HỌC

Phương pháp phổ học ngày nay được sử dụng rất nhiều trong phân tích và xác định các chất. Các loại phổ thường được sử dụng trong phân tích dược liệu là: Phổ tử ngoại-khả kiến (*ultra violet – visible*, UV-Vis), Phổ hồng ngoại (*infra red*, IR), Phổ khối lượng (*mass spectrometry*, MS) và Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (*nuclear magnetic resonance*, NMR). Ngoài ra, các loại phổ khác trong những chừng mực nhất định cũng được sử dụng (phổ nhiễu xạ đơn tinh thể tia X, phổ huỳnh quang, phổ cận hồng ngoại (near IR, NIR) và Raman, phổ lưỡng cực vòng và tán sắc quay...).

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Ưu điểm của các phương pháp phổ là cho biết các đặc điểm cấu trúc của các chất, giúp cho việc xác định cấu trúc các chất chưa biết hay định danh các chất đã biết bằng cách so sánh phổ với chất chuẩn. Chúng cũng được dùng trong xác định hàm lượng các chất khi so sánh độ hấp thu/cộng hưởng của mẫu định lượng với độ hấp thu/cộng hưởng của mẫu chuẩn. Tuy nhiên, trong đa số trường hợp, các phương pháp phổ chỉ ứng dụng được cho các chất tinh khiết. Khi thực hiện trên các hỗn hợp, phổ thu được không thể biện giải được nên ít có ý nghĩa thực tế. Để khắc phục nhược điểm này, việc kết hợp giữa một phương pháp phân tách (thường là sắc ký) với phương pháp phổ là hiệu quả nhất hiện nay trong phân tích, đặc biệt là trong phân tích các hợp chất tự nhiên. Các hệ thống sắc ký hiện đại (như sắc ký lỏng cao áp, sắc ký khí, điện di mao quản...) tách các chất trong một hỗn hợp phức tạp thành các chất tinh khiết, các máy quang phổ (UV, IR, MS, NMR) nhận biết và cung cấp các thông tin cấu trúc của các chất được tách ra. Việc ghép nối sắc ký - quang phổ phát huy được thế mạnh và khắc phục được nhược điểm của cả 2 loại thiết bị.

1. Phổ tử ngoại và khả kiến

Sự hấp thu năng lượng điện từ trong vùng sóng ánh sáng tử ngoại gần (190 - 400 nm) và khả kiến (400 - 780 nm) của các chất gây ra sự chuyển dịch của các điện tử từ trạng thái cơ bản lên trạng thái kích thích. Biểu đồ biểu diễn sự tương quan giữa cường độ hấp thu theo bước sóng của một chất được gọi là phổ UV - Vis của chất ấy trong những điều kiện xác định.

Các chất có các điện tử linh động như π, *p* có khả hấp thu tử ngoại trong vùng tử ngoại gần, các điện tử càng linh động có năng lượng kích thích càng thấp có bước sóng hấp thu chuyển về phía bước sóng dài hơn, về phía ánh sáng khả kiến. Các chất có ít nối đôi có hấp thu ở bước sóng ngắn dưới 220nm có ít giá trị trong việc so sánh phổ. Các chất có phổ UV-Vis có giá trị so sánh là các chất có nối đôi, hệ thống nối đôi liên hợp hay các nối đôi trong hệ thơm và các nối 3. Các nhóm hợp chất khác nhau có thể phân biệt được bởi dạng phổ, các giá trị cực đại (λ_{max}), cực tiểu (λ_{min}) hấp thu và cường độ hấp thu của chúng (biểu thị bằng độ hấp thu phân tử ε hay độ hấp thu của dung dịch 1% với bề dày lớp dung dịch là 1cm $E_{1cm}^{1\%}$). Tuy nhiên, các chất có cùng khung cơ bản ít có sự khác biệt về dạng phổ và λ_{max}, λ_{min} nên khó phân biệt với nhau.

Trong dược liệu, các nhóm chất có cấu trúc thơm như anthraquinon, flavonoid, coumarin, tannin và các hợp chất có nối đôi như alkaloid, nối đôi liên hợp như các carotennoid... có các dạng phổ tử ngoại-khả kiến đặc trưng, có thể giúp xác định các nhóm chất, hay trong một số trường hợp, để so sánh phổ định danh các chất. Các nhóm hợp chất như saponin, chất béo hấp thu tử ngoại ở vùng gần 200 nm thường chỉ được dùng như một detector để phát hiện các chất trong hệ thống sắc ký.

Do cấu trúc đơn giản, rẻ tiền nên hiện nay các quang phổ kế UV - Vis vẫn còn được dùng là detector thông dụng nhất cho sắc ký lỏng cao áp hay điện di mao quản để phát hiện, định tính và định lượng các chất trong dược liệu.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

2. Phổ hồng ngoại

Sự hấp thu hồng ngoại (IR) trong vùng hồng ngoại giữa (mid IR, MIR, 4000 - 400 cm^{-1}) là do các dao động (co giãn, cắt kéo hay đối xứng) của các liên kết trong phân tử.

Các loại liên kết khác nhau, trong mối liên hệ khác nhau với các phần còn lại của cấu trúc sẽ hấp thu ở các số sóng khác nhau. Ví dụ, liên kết –C≡C– có hấp thu trong vùng 2260-2100 cm^{-1}, nhóm OH có hấp thu trong vùng 3650-3200 cm^{-1}, nhóm carbonyl có cộng hưởng trong vùng 1765-1645 cm^{-1} ... giúp cho sự nhận định các đặc điểm cấu trúc này.

Phổ hồng ngoại thường được biểu diễn bằng độ truyền qua (T%) của bức xạ hồng ngoại theo số sóng (cm^{-1}).

So với phổ UV - Vis, phổ hồng ngoại cho nhiều thông tin cấu trúc hơn, như các thông tin về các liên kết đôi, liên kết ba, liên kết với các dị tố, các nhóm thế... có ích cho việc xác định cấu trúc các chất. Phổ IR cũng có nhiều băng hấp thu đặc trưng cho từng chất hơn, đặc biệt ở vùng điểm chỉ. Vì thế, việc so sánh phổ IR của các chất với chất chuẩn có thể giúp định danh các chất.

Trước đây, phổ kế hồng ngoại được dùng ghép nối với hệ thống sắc ký khí để định danh các chất nhưng hiện nay ít còn được dùng.

3. Phổ khối lượng

Một trong những phổ có ứng dụng nhiều nhất hiện nay trong phân tích và xác định các hợp chất tự nhiên là phổ khối lượng (*mass spectrometry*, MS, thường được gọi là phổ khối). Phổ khối cung cấp những thông tin về khối lượng của các ion sinh ra từ phân tử.

Phổ khối không xác định trực tiếp khối lượng của ion mà xác định tỉ lệ giữa khối lượng (m) và điện tích (z) của ion (m/z). Ở các phân tử nhỏ, điện tích của ion thường là 1 nên giá trị m/z của phổ khối liên quan trực tiếp tới khối lượng của ion. Với các đại phân tử, điện tích của ion có thể lớn hơn 1. Khi đó, để xác định khối lượng phân tử (M) cần phải biết số điện tích của ion.

Dưới những điều kiện nhất định, phân tử các chất bị mất đi electron tạo nên *ion phân tử* (hay còn gọi là *ion mẹ*) M^+. Ion mẹ này có thể tiếp tục bị "vỡ" ra thành các mảnh nhỏ hơn là các *ion con* và các mảnh trung hoà. Vì khối lượng của eletron rất nhỏ, có thể bỏ qua, nên khối lượng của M^+ chính là khối lượng của phân tử.

Trong cùng một điều kiện ion hoá, sự phân mảnh tạo thành các ion con từ ion mẹ sẽ tuân theo những quy luật nhất định. Các chất có cấu trúc tương tự nhau sẽ tạo ra những phân mảnh giống nhau. Từ khối lượng phân tử và các phân mảnh của phân tử, cùng với các phương pháp phổ khác người ta có thể xác định được cấu trúc của một chất chưa biết. So sánh phổ khối của một chất với phổ khối của một chất đã biết có thể giúp định danh chất đó dễ dàng và chính xác.

Khối phổ kế có thể hoạt động độc lập như một thiết bị đo phổ các chất tinh khiết hay ghép nối với các thiết bị sắc ký như sắc ký lỏng cao áp, sắc ký

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

khí, điện di mao quản... như một detector và đồng thời cung cấp các thông tin cấu trúc.

Cấu tạo của một khối phổ kế gồm có các bộ phận chính sau: (a) Đầu vào, (b) buồng ion hoá, (c) bộ phận phân tích khối, (d) detector và (e) máy tính ghi nhận xử lý, lưu trữ kết quả và điều khiển hệ thống. Các bộ phận từ (b) – (d) được đặt trong một buồng chân không sâu. Tuỳ theo từng kỹ thuật khối phổ mà cấu tạo và nguyên lý hoạt động của từng bộ phận có thể khác nhau.

3.1. Đầu vào

Sơ đồ của một khối phổ kế

Đầu vào là nơi mẫu được đưa vào máy phổ khối. Mẫu có thể được đưa vào trực tiếp hay được ghép nối với đầu ra của một hệ thống sắc ký. Mẫu có thể được đưa vào dưới dạng rắn, lỏng hay khí nhưng được ion hoá trong buồng ion hoá. Cổ điển nhất là mẫu được hoá hơi. Với các kỹ thuật ion hoá mới, mẫu có thể được ion hoá trực tiếp từ dạng lỏng hay dạng rắn. Ngày nay, việc ghép nối đã trở nên dễ dàng và khối phổ đang dần trở thành một detector phổ thông cho các hệ thống sắc ký.

3.2. Buồng ion hoá

Buồng ion hoá là nơi mẫu thử được biến thành các ion để đi vào hệ thống phân tích. Hiện nay, có nhiều kỹ thuật để biến các phân tử trung hoà thành ion. Tùy từng kỹ thuật, mức độ bị ion hoá của các phân tử có thể khác nhau, từ ion hoá mạnh cho các chất dễ bay hơi và bền tới ion hoá nhẹ nhàng cho các phân tử lớn, khó bay hơi.

Cách cổ điển nhất để ion hoá các chất là kỹ thuật bắn phá electron hay sau này còn được gọi là ion hoá bằng electron (*electron impact* hay *electron ionization*, EI). Người ta dùng một chùm electron để "bắn phá" phân tử mẫu ở trạng thái hơi. Điều kiện chuẩn để thực hiện EI là 70 eV. Phổ EI thu được ở điều kiện này có thể dùng để so sánh với phổ chuẩn để xác định các chất.

EI là phương pháp ion hoá mạnh, nhiều chất trong điều kiện này bị phân mảnh đến mức không còn nhận thấy ion M^+ nữa. Để có thể phát hiện được M^+, nhiều kỹ thuật ion hoá nhẹ nhàng hơn đã được áp dụng. Ion hoá hoá học (*chemical ionization*, CI) là một trong những kỹ thuật sớm nhất được sử dụng. Nguyên tắc của phương pháp là trong buồng ion hoá, người ta đưa vào một chất khí khác (được gọi là khí thử). Chất này sẽ bị ion hoá và ion này sẽ tác động lên mẫu để ion hoá mẫu tạo ra M^+ hay các ion cộng tương ứng. Các khí thử thường dùng trong CI là methan, isobutan hay amonia. Quá trình ion hoá mẫu thử M với khí thử là amonia xảy ra như sau:

$$NH_3 + e^- \rightarrow NH_4^+ + 2\,e^-$$

$$NH_4^+ + M \rightarrow NH_3 + [M+H]^+ \qquad \text{Phân tử proton hoá}$$

$$NH_4^+ + M \rightarrow [M+NH_4]^+ \qquad \text{Ion cộng amoni}$$

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Với CI, phổ MS thu được có số lượng các ion ít hơn và cường độ các ion cao hơn nên dễ xác định được phân tử lượng của mẫu.

EI và CI chỉ thích hợp với kỹ thuật đưa mẫu rắn (phân tích trực tiếp các mẫu tinh khiết) và khí (như GC-MS). Với dạng mẫu lỏng như trong HPLC-MS, CE-MS... các kỹ thuật ion hoá nhẹ nhàng ở áp suất thường như ion hoá phun điện (*electrospray ionization*, ESI), ion hoá hoá học ở áp suất thường (*atmospheric pressure chemical ionization*, APCI), ion hoá phun nhiệt (*thermospray ionization*, TS hay TSP) thường được sử dụng. Các chất dễ bị phân huỷ nhiệt, khó hay không bay hơi cũng có thể áp dụng tốt bởi các kỹ thuật ion hoá này.

Với ESI, dung dịch mẫu được phun thành những hạt nhỏ vào một buồng chân không dưới một điện trường mạnh. Các giọt dung dịch bị tích điện và bay hơi dung môi sẽ vỡ giọt thành các hạt nhỏ hơn và cuối cùng thành các ion. Các ion (dương hay âm) cần được phân tích sẽ được đẩy vào bộ phận phân tích khối. Các phân tử bị 'vỡ' nhẹ nhàng hơn, tạo ra ít phân mảnh và có cường độ lớn hơn. Với các polymer (với M tới vài chục ngàn đơn vị khối), điện tích của ion (z) sẽ >1 (có thể tới 20 hay hơn) do vậy vẫn có thể được phân tích trong thiết bị phổ với m/z 1000 – 2000.

APCI tạo ra các ion dương được proton hoá hay ion âm do loại bỏ proton khỏi phân tử. Dung dịch mẫu được hoá hơi bởi nhiệt độ dưới dạng phun mù và đi vào vùng plasma của các ion dung môi tạo bởi hồ quang ở áp suất khí quyển. Sự cho nhận proton xảy ra giữa mẫu và dung môi tạo nên các ion của mẫu thử.

Trong TSP, dung dịch mẫu được bơm dưới áp suất tương đối cao qua 1 mao quản được nung nóng bằng nhiệt điện. Khi ra khỏi ống mao quản, dung môi được hoá hơi hỗ trợ cho việc phun dung dịch thành các hạt mù rồi thành các ion đẩy vào bộ phận phân tích khối. TSP có thể áp dụng cho những hệ thống có tốc độ dòng cao (HPLC). Tuy nhiên, ngày nay kỹ thuật này phần lớn được thay thế bằng ESI.

Ngoài những phương pháp ion hoá trên được sử dụng nhiều trong phân tích các hợp chất phân tử nhỏ còn có nhiều kỹ thuật ion hoá khác sử dụng cho các đại phân tử. Ví dụ, kỹ thuật bắn phá nhanh bằng nguyên tử (*fast atom bombardment*, FAB), các kỹ thuật giải hấp trường (*field desorption*, FD), giải hấp laser (*laser desorption*, LD) và một trong các kỹ thuật đang được sử dụng nhiều là kỹ thật giải hấp laser hỗ trợ bởi chất nền (*matrix-assisted laser desorption ionization*, MALDI). Với MALDI, mẫu được trộn với dung dịch chất nền và được làm khô dung môi trên phiến kim loại rồi đưa vào buồng ion hoá của máy phổ khối chứ không kết nối trực tiếp được với hệ thống sắc ký.

3.3. Bộ phận phân tích khối

Nhiệm vụ của bộ phận phân tích khối là phân tách hỗn hợp các ion sinh ra bởi bộ phận ion hoá thành từng loại ion riêng biệt theo m/z để đưa các ion này tới detector để ghi nhận phổ. Có nhiều cơ chế để tách riêng các ion như sử dụng từ trường, điện trường và vận tốc của các ion... Các bộ phân tích khối đang được sử dụng trong phổ khối gồm có các loại sau: cung từ (*magnetic sector*), tứ cực (*quadrupole*), bẫy ion (*ion trap*), thời gian bay (*time of flight*) và cộng hưởng bằng gia tốc ion - biến đổi Fourier (*Fourier transform ion cyclotron resonance*, FT-ICR).

Kinh điển nhất trong các bộ phân tích khối là thiết bị sử dụng từ trường. Dưới một từ trường mạnh, quỹ đạo các ion sẽ thay đổi và khác nhau phụ thuộc vào điện tích và

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

khối lượng ion. Thay đổi từ trường sẽ thay đổi quỹ đạo các ion, lần lượt đưa chúng đi vào detector. Đây cũng là 1 trong 2 loại phân tích ion mạnh và có độ chính xác cao nhất được dùng trong các máy khối phổ phân giải cao (HR-MS).

Bộ phân tích tứ cực gồm 4 thanh kim loại có tiết diện tròn hay hyperbol đặt song song với nhau dài khoảng 100 – 200 mm. Một điện thế một chiều không đổi được điều biến bởi điện thế tần số radio được áp lên tứ cực tạo nên một điện trường trong tứ cực. Dưới tác động của điện trường, chỉ có những ion nhất định bay dọc theo tứ cực đi tới detector. Các ion khác quỹ đạo bị lệch và va vào các thanh tứ cực hoặc bay ra ngoài. Thay đổi dòng điện tần số radio trên tứ cực sẽ lần lượt cho phép các ion khác nhau bay vào detector và được ghi nhận thành phổ.

Bẫy ion có cấu tạo gồm một điện cực vòng với mặt trong có dạng hyperbol và hai điện cực chỏm nằm ở hai đầu trống của điện cực vòng cũng có dạng hyperbol. Bằng cách thay đổi điện thế các điện cực, người ta có thể điều khiển được quỹ đạo của các ion trong bẫy. Tuy nhiên, khác với tứ cực, các ion khi đi vào bẫy ion sẽ bị giữ tại đó bởi điện trường nếu điện thế của điện cực vòng và 2 điện cực chỏm không khác nhau. Thay đổi điện thế và tần số của điện cực vòng sẽ lần lượt quét các ion ra khỏi bẫy đi tới detector để ghi nhận thành phổ. Thay đổi thế của hai điện cực chỏm sẽ giữ lại một hay một vài ion nhất định trong bẫy (trong chế độ chọn lọc ion) hay gia tốc các ion (trong chế độ MS nhiều lần).

Tứ cực và bẫy ion cho phép phân tích các chất có m/z tới 5000. Độ chính xác khối của tứ cực và bẫy ion không cao (0,1 đơn vị khối) nhưng nhỏ gọn, đơn giản, dễ sử dụng và rẻ tiền hơn nên được áp dụng nhiều trong các hệ LC-MS.

Một cách khác để tách các ion ra khỏi hỗn hợp là dựa vào vận tốc của các ion. Ở cùng một mức năng lượng, vận tốc của ion phụ thuộc vào khối lượng của ion. Phân tử càng nhẹ vận tốc càng lớn. Đo lường thời gian để ion từ điểm xuất phát bay tới detector sẽ tính ra được khối lượng của ion. Do vậy, kỹ thuật này được gọi là xác định thời gian bay của ion (TOF). TOF có độ phân giải tương đối cao (tới 20.000), với số khối chính xác hơn (tới 0,0001). Khoảng phân tích khối của TOF là không giới hạn, rất hữu dụng cho việc phân tích các đại phân tử.

Một kỹ thuật mới để phân tích khối là cộng hưởng bằng gia tốc ion - biến đổi Fourier (FT-ICR). Các ion được giữ trong một buồng cộng hưởng dưới một từ trường mạnh ở bên và một điện trường theo hướng trục. Giống như trong cộng hưởng từ hạt nhân, tất cả các ion trong buồng được kích thích bởi một xung tần số radio băng rộng (10 KHz – 1MHz). Các ion sẽ hấp thu năng lượng phù hợp để cộng hưởng. Các ion cùng loại khi hấp thu năng lượng (cộng hưởng) chuyển động đồng nhất tạo ra một tần số nhất định phụ thuộc vào m/z. Tất cả các tần số của các ion tạo ra sẽ được ghi nhận dưới dạng các dao động cảm ứng tự do tắt dần theo thời gian và sau đó được biến đổi Fourier để trở thành dạng phổ khối truyền thống. FT-ICR có độ phân giải và độ chính xác khối rất cao (tới 1 ppm), khoảng phân tích khối rộng (hiện nay là m/z tới 10.000). Độ nhạy của FT-ICR cũng rất cao, giới hạn phát hiện có thể đạt tới mức attomole. Khi phối hợp với ESI, FT-ICR có thể phân tích các protein tới 15.000 đơn vị khối.

Ngoài các kỹ thuật phân tích khối đã nêu trên, còn có các loại khác đã hoặc đang được phát triển như bẫy quỹ đạo (*orbital trap*) hay dựa trên tính linh động của ion (*ion mobility*) và các kỹ thuật lai hay kết hợp giữa các loại trên.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

3.4. Detector

Là nơi tiếp nhận các ion và biến thành các tín hiệu điện để được ghi nhận thành các tín hiệu phổ khối. Có nhiều loại detector khác nhau nhưng thường là các loại ống nhân điện, ống nhân quang... các tín hiệu điện thu được từ detector sẽ được số hoá và lưu trữ dưới dạng các tập tin kỹ thuật số.

Trong phân tích phổ khối, việc xác định chính xác một ion (M^+ hay các phân mảnh) rất quan trọng cho việc xác định chất được phân tích. Một hợp chất xác định, trong những điều kiện xác định sẽ cho các ion xác định trên phổ khối. Tuy nhiên, một ion có số khối xác định trên phổ khối lại có thể xuất phát từ nhiều chất khác nhau. Trong phân tích một hỗn hợp bằng sắc ký - khối phổ, nếu điều kiện sắc ký không đảm bảo, các chất tách ra không hoàn toàn dẫn tới phổ khối thu được sẽ có các ion của các phân tử khác làm ảnh hưởng tới việc nhận định kết quả. Trong các trường hợp này, việc xác định MS thông thường (một lần) không cho được kết quả chính xác. Để khắc phục, người ta sử dụng các kỹ thuật phổ khối n lần với n thường là 2 hay đôi khi hơn. Kỹ thuật này được gọi là MS/MS hay MS^n.

Nguyên tắc của kỹ thuật này là lựa chọn một ion xác định (thường là M^+ nhưng cũng có thể là các ion con) trong các ion của lần ion hoá thứ nhất và loại bỏ tất cả các ion khác trong bộ phận phân tích ion. Các ion này sau đó được cho tiếp xúc với 1 lượng nhỏ các khí (thường là argon). Với vận tốc cao, các ion này sẽ va đập vào các phân tử khí và phân thành các mảnh nhỏ hơn. Các ion sinh ra trong lần phân mảnh thứ 2 này sẽ được phân tích và ghi nhận phổ MS. Vì phổ khối ghi nhận được chỉ từ 1 loại ion duy nhất nên không còn bị ảnh hưởng của các tạp chất trong mẫu nữa. Việc nhận định kết quả trên phổ MS/MS sẽ chính xác hơn, đặc biệt khi hàm lượng chất phân tích thấp và nằm trong hỗn hợp phức tạp.

Các thiết bị để thực hiện MS/MS có 2 loại chính là: loại phổ khối nối tiếp và bẫy ion.

Loại cổ điển nhất của phổ khối nối tiếp gồm 3 tứ cực ghép nối tiếp với nhau. Tứ cực thứ nhất làm nhiệm vụ chọn lọc ion. Các ion được chọn sẽ bay vào tứ cực thứ 2 và va đập với khí argon để phân mảnh ion lần 2. Tất cả các ion tạo ra sẽ bay vào tứ cực thứ 3 và được quét lần lượt bởi điện trường để đi tới detector và ghi nhận thành phổ. Do cấu tạo bởi 3 tứ cực nên loại này thường được gọi là *triplequad* (triple quadrupoles).

Với bẫy ion, cả 3 giai đoạn trên đều xảy ra trong bẫy theo trình tự thời gian. Vì các ion được giữ lại trong bẫy nên việc phân mảnh có thể được thực hiện thêm nhiều lần nữa (MS^n). Tuy nhiên, độ nhạy của kỹ thuật này ở các lần sau giảm đi nhanh chóng do số ion giảm. Trên thực tế, người ta thường chỉ sử dụng MS^2.

Ngoài hai thiết kế cơ bản trên, còn có các loại lai khác như: Q-Trap (kết hợp giữa tứ cực và bẫy ion), Q-Tof (kết hợp giữa tứ cực và TOF), IT-Tof (kết hợp giữa bẫy ion và TOF)... Các loại thiết bị này kết nối với GC, HPLC... hiện có mặt trên thị trường.

Một phương tiện rất hữu hiệu trong phân tích các chất, đặc biệt là trong phân tích các chất có nguồn gốc tự nhiên. Phổ khối cho nhiều thông tin về cấu trúc để xác định cấu trúc một chất mới hay định danh một chất đã biết. Phổ khối có độ nhạy cao, khoảng tuyến tính động học rộng rất thích hợp cho phân tích định lượng, đặc biệt là trong phân tích vết. Khi kết hợp với hệ thống sắc ký,

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

phổ khối có thể sử dụng như một detector phổ thông, phát hiện hầu hết các chất nhưng với chế độ chọn lọc ion nó lại là detector chọn lọc cho những chất xác định rất có ích trong việc định lượng các chất trong một hỗn hợp phức tạp. Các thiết bị phổ khối ngày càng nhạy và tin cậy hơn; giới hạn phân tích khối ngày càng mở rộng; việc sử dụng ngày càng dễ dàng và giá thành ngày càng hạ. Điều này làm cho thiết bị phổ khối dần trở thành các phương tiện phân tích thường quy trong phân tích dược liệu.

4. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cùng với phổ khối và nhiễu xạ đơn tinh thể tia X hiện là những công cụ mạnh và thường được sử dụng nhất hiện nay trong xác định cấu trúc các hợp chất hữu cơ.

Khi đặt một chất có hạt nhân có số spin (I) lẻ (^1H, ^{13}C...) được đặt trong một từ trường ngoài (B_0), các spin hạt nhân sẽ được sắp xếp lại theo hai hướng: thuận và ngược chiều với từ trường và đạt tới trạng thái cân bằng giữa hai trạng thái này với một tỉ lệ xác định của 2 trạng thái. Nếu dùng một bức xạ điện từ có tần số thích hợp chiếu xạ lên chất đó, các spin sẽ hấp thu năng lượng (cộng hưởng) và chuyển lên mức năng lượng cao (sắp xếp ngược chiều với từ trường). Khi ngưng chiếu xạ, các spin hạt nhân sẽ giải phóng năng lượng để trở về trạng thái cân bằng. Xác định năng lượng mà các hạt nhân cùng một loại nguyên tố trong phân tử hấp thu (hay giải phóng) sẽ thu được phổ cộng hưởng từ hạt nhân của các chất đó. Có 2 cách xác định năng lượng cộng hưởng này. Cách thứ nhất là xác định tần số cộng hưởng theo từng tần số trong suốt dải tần số cộng hưởng, cách này được gọi là cộng hưởng từ hạt nhân quét. Cách thứ 2 là ghi nhận đồng thời mọi tần số cộng hưởng rồi sử dụng biến đổi Fourier để tách riêng tần số cộng hưởng của từng hạt nhân. Kỹ thuật này được gọi là cộng hưởng từ hạt nhân biến đổi Fourier (*Fourier transform* - NMR, FT - NMR) và là kỹ thuật sử dụng chủ yếu hiện nay.

Nguyên thuỷ, phổ cộng hưởng từ hạt nhân là tần số cộng hưởng của các hạt nhân trong phân tử. Tuy nhiên, tần số hấp thu của hạt nhân thay đổi theo từ trường ngoài B_0. Để thuận tiện và loại bỏ ảnh hưởng của B_0 trong số liệu phổ, người ta chia sự chênh lệch tần số cộng hưởng của hạt nhân so với một chất chuẩn (thường dùng nhất là trimethyl silan, TMS) cho tần số cộng hưởng của chất chuẩn đó. Vì kết quả thu được (Hz/MHz) là rất nhỏ (phần triệu) nên người ta dùng *ppm* để thể hiện giá trị cộng hưởng của các hạt nhân. Giá trị này thường được gọi là *chuyển dịch hoá học*. Giá trị chuyển dịch hoá học của các proton thường nằm trong khoảng 0 - 14 *ppm*, còn của carbon-13 là từ 0 - 240 *ppm*.

Như đã trình bày ở trên, tần số cộng hưởng của hạt nhân phụ thuộc vào từ trường của máy. Từ trường càng cao, dải tần số dùng để kích thích các hạt nhân càng rộng, phép đo càng nhạy và chính xác, độ phân giải ngày càng cao. Do vậy, ta thường gọi phổ kế cộng hưởng từ hạt nhân 200 MHz, 300 MHz hay 500 MHz... là theo tần số dùng để kích thích các proton.

Có nhiều kỹ thuật xác định phổ cộng hưởng từ hạt nhân khác nhau được áp dụng. Mỗi kỹ thuật dùng để xác định những đặc tính cộng hưởng từ nhất

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

định của hạt nhân. Tùy vào mục đích và mức độ phức tạp của cấu trúc, người ta có thể đo 1 hay nhiều loại phổ khác nhau. Người ta có thể xác định phổ của cùng một loại hạt nhân (^1H hay ^{13}C) như trong các phổ một chiều (^1H-NMR, ^{13}C-NMR, DEPT), hay các mối tương quan giữa các loại hạt nhân trong các phổ 2 chiều (COSY, HETCOR, Long-range HETCOR, NOESY,...).

4.1. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều

Phổ proton (^1H-NMR hay proton NMR) cho biết môi trường hoá học của proton trong phân tử. Các proton có môi trường hóa học khác nhau sẽ có chuyển dịch hoá học khác nhau. Ví dụ, các proton của liên kết với carbon thơm hay liên hợp thường chuyển dịch trong vùng 6 - 8 *ppm*; các proton trong alkan thường chuyển dịch trong vùng 0 - 2 *ppm*... Phổ proton của 1 proton hay 1 nhóm proton có cùng môi trường hoá học (như 3 proton của nhóm CH_3) thể hiện trên phổ có thể là 1 đỉnh. Đỉnh này có thể là đỉnh đơn, đôi, ba... tới 7 *đỉnh thành phần* (đỉnh 7). Diện tích của mỗi đỉnh tỉ lệ với số lượng proton của đỉnh. Dựa vào diện tích đỉnh có thể biết số proton của đỉnh đó. Một thông số quan trọng khác của phổ proton là hằng số ghép (J) tính bằng Hz, cho biết tương tác của proton với các proton kế cận.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon-13 (^{13}C-NMR) cung cấp các thông tin về môi trường hoá học của carbon. Carbon lai hoá sp^3 không liên kết với dị tố chuyển dịch trong khoảng 0 - 60 *ppm*. Carbon liên kết đơn với oxy (alcol, ether) chuyển dịch trong khoảng 45 - 85 *ppm*. Carbon lai hoá sp^2 chuyển dịch trong khoảng 100 - 150 *ppm*; nếu có liên kết (đôi) với oxy có thể chuyển dịch tới 240 *ppm*. Với kỹ thuật đo phổ hiện tại, phổ NMR của carbon là những vạch đơn, mỗi vạch ứng với một carbon (hơn 1 carbon nếu chúng có chung môi trường hoá học) của phân tử.

Các kỹ thuật xác định số lượng proton trên carbon cho biết số lượng proton liên kết trên mỗi carbon. Nói cách khác, nó cho biết carbon đó là C, CH, CH_2 hay CH_3, gián tiếp cho biết số C và H trong phân tử. Kỹ thuật hiện thường được sử dụng hiện nay là DEPT (*detortionless enhancement by polarization transfer*). Trong phổ DEPT-135, carbon bậc IV không xuất hiện, carbon bậc II là các đỉnh âm, C bậc III và bậc I là các đỉnh dương. ở phổ DEPT-90, chỉ còn các C bậc III là các đỉnh dương trong phổ.

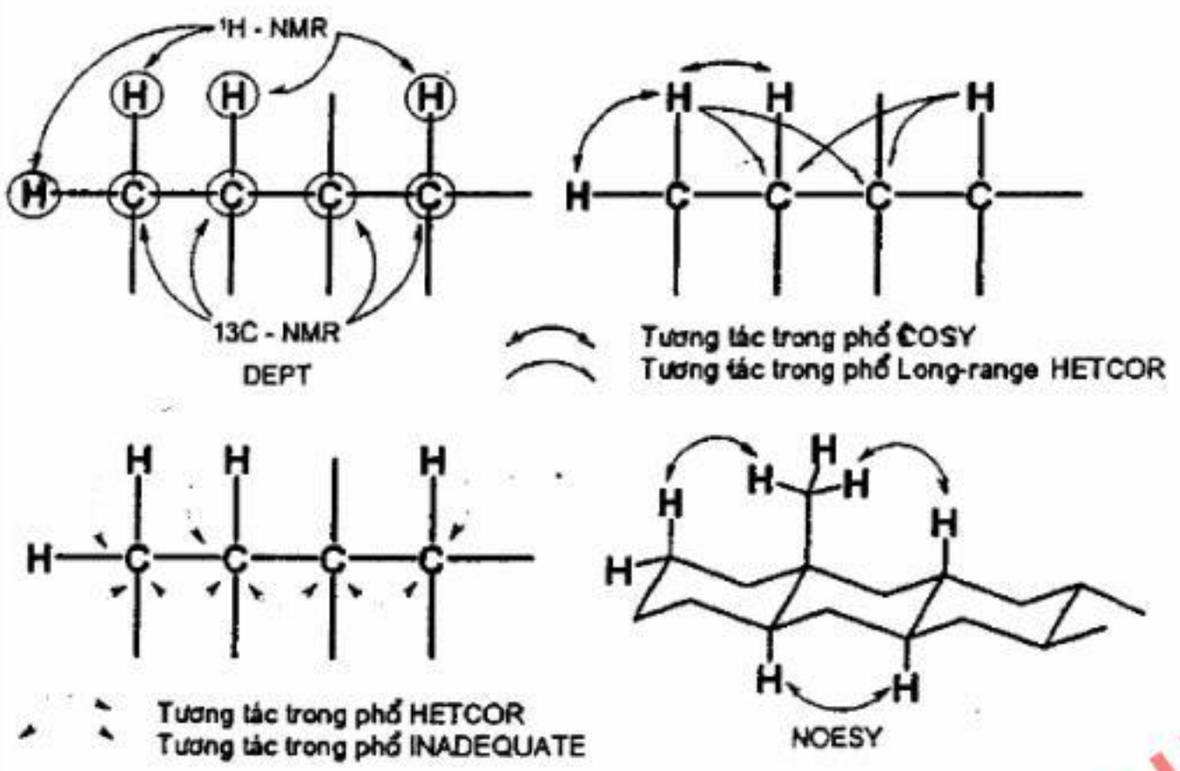
4.2. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều

Ngoài các kỹ thuật phổ một chiều, các kỹ thuật phổ hai chiều còn cho thêm các thông tin về tương tác giữa C và H gắn trực tiếp trên nó (thường dùng hiện nay là HSQC), giữa proton của các carbon kế cận nhau (phổ COSY) hay phổ tương tác dị nhân (HETCOR) giữa proton và các carbon kế cận (thường dùng hiện nay là kỹ thuật HSQC) hay xa hơn (*long-range* HETCOR, thường dùng hiện nay là HMBC); hoặc giữa các proton gần nhau trong không gian (NOESY, ROESY); hay giữa các carbon kế cận nhau (*incredible natural abundance double quantum transfer experiment*, NADEQUATE).

Vai trò của các phổ thu được từ các kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân khác nhau trong xác định cấu trúc có thể tóm tắt như sau:

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Với các kỹ thuật phổ NMR, người ta có thể biết được mối liên hệ giữa các proton và carbon trong phân tử. Kết hợp với phổ khối và các thông tin khác người ta có thể xây dựng được cấu trúc phân tử của hợp chất. Trong khá nhiều trường hợp, chỉ bằng NMR người ta cũng có thể xác định được cấu trúc và cấu hình lập thể của chất cần phân tích.

Do có rất nhiều thông tin đặc trưng về cấu trúc phân tử, việc so sánh phổ proton hay carbon một chiều của một chất với một chất đã biết cho phép xác định một chất một cách tin cậy.

Ngày nay, chỉ cần lượng mẫu ở mức *mg* hay thấp hơn đã có thể xác định cấu trúc của một chất. Khả năng này giúp ích rất nhiều trong nghiên cứu các tự nhiên, khi mà các chất rất khó phân lập và thường chỉ thu được với một lượng nhỏ.

Ngoài việc xác định cấu trúc, phổ cộng hưởng từ hạt nhân còn được dùng trong định lượng các chất trong phân tích định lượng như các phương pháp phổ khác. Tuy nhiên, do thiết bị đắt tiền nên cách thức này ít được sử dụng. Việc kết nối cộng hưởng từ hạt nhân với các thiết bị sắc ký lỏng có nhiều khó khăn. Tuy vậy, hiện đã có những hệ thống ghép nối HPLC-NMR để phân tích và xác định các chất chiết từ dược liệu.

Ngoài các phổ kế cộng hưởng từ hạt nhân dùng trong phân tích cấu trúc, kỹ thuật xác định hình ảnh cộng hưởng từ hạt nhân [*(nuclear) Magnetic Resonance Image*, MRI] cũng được sử dụng trong chẩn đoán y khoa.

5. Các loại phổ khác

Ngoài các loại phổ trên, phổ nhiễu xạ đơn tinh thể tia X (*single cristal X-ray diffraction*), phổ tán sắc quay quang (optical rotatory dispersion, ORD) và phổ lưỡng cực vòng (circular dichroism, CD) cũng được dùng trong xác định cấu trúc các chất.

Khi chiếu xạ một chùm tia X vào một lát cắt mỏng của tinh thể, các nguyên tử của phân tử các chất nằm trên các điểm nút của mạng tinh thể sẽ gây ra sự nhiễu xạ của chùm tia X tạo nên các vân giao thoa. Giải các kết quả này bằng thuật toán thích hợp sẽ thu được các số liệu về chiều dài và góc liên kết của từng nguyên tử trong phân tử. Từ đó có thể dựng lại cấu trúc không gian của phân tử. Với phổ nhiễu xạ đơn tinh thể tia X, người ta có thể biết được cấu trúc lập thể của các chất.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Với phổ CD và ORD, người ta có thể xác định cấu dạng của các trung tâm bất đối (α hay β; R hay S) của các chất quang hoạt. Việc xác định cấu hình phân tử là quan trọng vì các chất tự nhiên có hoạt tính sinh học thường chỉ là một dạng đối quang (thường là quay trái), đối quang còn lại có tác dụng yếu hay không có tác dụng.

VII. PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ

Sắc ký là một phương pháp phân tách lý – hoá trong đó các chất được tách ra khỏi một hỗn hợp dựa trên sự "*phân bố*" liên tục của chúng giữa 2 pha, một pha không chuyển động (pha tĩnh) và một pha chuyển động (pha động) dịch chuyển qua pha tĩnh theo một phương xác định.

Trong các phương pháp phân tách hiện nay, sắc ký là phương pháp hữu hiệu nhất để tách các chất ra khỏi một hỗn hợp, ngay cả những hỗn hợp phức tạp về thành phần và khác nhau về hàm lượng trong hỗn hợp như dịch chiết các hợp chất từ cây cỏ. Từ khi phương pháp sắc ký ra đời (1903) cho tới nay rất nhiều kỹ thuật sắc ký cũng như các cải tiến về pha tĩnh, thiết bị và phương pháp phát hiện đã được phát triển và áp dụng trong thực tế để phân tích định tính, định lượng và chiết tách các chất, đặc biệt là thành phần hoá học của cây cỏ.

Theo như định nghĩa, các yếu tố quan trọng nhất trong hệ thống sắc ký quyết định đến khả năng tách một hỗn hợp mẫu xác định nào đó là pha tĩnh và pha động.

Với pha tĩnh, cơ chế phân tách là một trong những yếu tố quan trọng nhất. Các pha tĩnh đang sử dụng trong sắc ký hiện nay dựa trên các cơ chế phân tách khác nhau: *phân bố*, *hấp phụ*, *rây phân tử*, *trao đổi ion*, *điện di*, *ái lực*... Trong đó, cơ chế phân bố và hấp phụ là 2 cơ chế được sử dụng chủ yếu hiện nay.

Khả năng phân tách của pha tĩnh phụ thuộc nhiều vào mức độ tiếp xúc của pha tĩnh với mẫu thử và pha động. Yếu tố này liên quan nhiều tới diện tích bề mặt riêng và mật độ của pha tĩnh. Diện tích bề mặt riêng càng lớn (kích thước tiểu phân của pha tĩnh càng nhỏ) thì khả năng phân tách của pha tĩnh càng lớn. Mật độ của pha tĩnh cao, khả năng tạo cân bằng pha càng lớn, hệ càng phân tách tốt.

Pha tĩnh thông dụng nhất dùng trong sắc ký hấp phụ hiện nay là Silica gel. Nhôm oxyd và các chất hấp phụ khác cũng được dùng nhưng ở mức độ thấp hơn rất nhiều. Sắc ký pha thuận thường dùng trong sắc ký lớp mỏng và trong các kỹ thuật sắc ký cột cổ điển hay cải tiến.

Với cơ chế phân bố, pha tĩnh có thể là (a) các chất lỏng thực sự, hay (b) 1 lớp chất lỏng tẩm hay phủ trên bề mặt của một giá mang rắn, hoặc (c) được gắn vào giá mang rắn bằng liên kết hoá học (pha liên kết – *bonded phase*). (a) thường là pha tĩnh trong sắc ký phân bố ngược dòng; (b) thường gặp trong pha tĩnh sắc ký khí và sắc ký giấy và (c) là loại phổ biến nhất hiện nay, thường dùng trong sắc ký lỏng cao áp, sắc ký lỏng quá tới hạn. Chất lỏng được sử dụng làm pha tĩnh có thể là chất phân cực (phân bố pha thuận) hay không phân cực (phân bố pha đảo). Phần lớn các phân tích HPLC hiện nay sử dụng pha đảo RP-18 với pha tĩnh là mạch hydrocarbon có 18 carbon gắn vào giá mang là Silica gel.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Với pha động, bản chất của pha động có ảnh hưởng quan trọng nhất tới quá trình phân tách của hệ sắc ký. Pha động thường là một *hệ dung môi* gồm có hai (hay nhiều hơn) dung môi phối hợp với nhau theo những tỉ lệ thích hợp. Một pha động tốt là pha động có khả năng phân tách tốt các chất nhưng không quá phức tạp về thành phần hay tỉ lệ, rẻ tiền, không độc hại và thân thiện với môi trường. Thành phần và tỉ lệ của dung môi trong pha động có thể không đổi trong suốt quá trình phân tích sắc ký (như trong sắc ký lớp mỏng, sắc ký giấy hay sắc ký lỏng cao áp đẳng dung môi – *isocratic*) hay thay đổi theo hướng tăng dần độ mạnh của hệ dung môi (rửa giải theo gradient như trong sắc ký cột các loại). Một yếu tố quan trọng khác là tốc độ của dòng pha động. Tốc độ dòng phải được tối ưu hoá để đạt được cân bằng pha với số đĩa lý thuyết của hệ thống là lớn nhất nhưng không làm tăng hiện tượng giãn rộng các băng các chất được tách ra khỏi hỗn hợp. Với sắc ký giấy, sắc ký lớp mỏng hay sắc ký cột cổ điển, chỉ cần lực mao dẫn hay áp suất thuỷ tĩnh là đủ tạo nên dòng dung môi cho phân tích, trong khi sắc ký lỏng áp suất trung bình và đặc biệt là sắc ký lỏng cao áp cần có 1 áp lực cao nhất định mới có thể có được tốc độ dòng tối ưu.

Để phát hiện các chất tách ra trong hệ thống sắc ký người ta có thể quan sát các vết tách ra dưới ánh sáng thường, ánh sáng tử ngoại hay sử dụng các thuốc thử hiện màu (như trong sắc ký lớp mỏng, sắc ký giấy) hay phát hiện các chất bằng các đặc tính vật lý của chúng (chỉ số khúc xạ, độ dẫn điện, dẫn nhiệt, phổ UV - Vis, IR, MS, NMR...) bằng các thiết bị phát hiện (*detector*) như trong các phương pháp sắc ký cột, sắc ký khí, sắc ký lỏng cao áp... Độ nhạy của phương pháp phát hiện (các detector) cũng được cải tiến để có thể phát hiện các chất có hàm lượng ngày càng thấp hơn (*ng*, *pg*, *fg*).

Với các thiết bị hiện đại, khả năng tách và độ nhạy của phương pháp sắc ký ngày càng cao, lượng mẫu cần để phân tích ngày càng nhỏ trong khi kích thước các tiểu phân pha tĩnh và kích thước cột ngày càng nhỏ và áp suất của dòng pha động ngày càng cao.

Có nhiều cách phân loại và gọi tên các phương pháp sắc ký. Ví dụ:

- Theo cơ chế của quá trình phân tách, ta có: sắc ký hấp phụ, sắc ký phân bố, sắc ký trao đổi ion, sắc ký loại cỡ (rây phân tử, lọc gel hay thấm gel), sắc ký ái lực và điện di.
- Theo pha động, người ta phân thành: sắc ký lỏng (*liquid chromatography*, LC), sắc ký khí (*gas chromatography*, GC), sắc ký lỏng quá tới hạn (*super-critical fluid chromatography*, SFC).
- Theo hình dạng của pha tĩnh người ta xếp các phương pháp sắc ký vào 2 nhóm chính là sắc ký trên mặt phẳng (*planar chromatography*, PC) trong đó có các kỹ thuật sắc ký giấy, sắc ký lớp mỏng... và sắc ký cột (*column chromatography*, CC) trong đó có các kỹ thuật sắc ký cột cổ điển, sắc ký lỏng cao áp, sắc ký khí...
- Theo áp lực đẩy dòng dung môi đi qua pha tĩnh, ta có: sắc ký lỏng áp suất thấp (*low pressure liquid chromatography*, LPLC) bao gồm các sắc ký cột cổ điển hay cải tiến, sắc ký lỏng áp suất trung bình (*medium pressure liquid chromatography*, MPLC) và sắc ký lỏng áp suất cao (*high pressure liquid chromatography*, HPLC, sắc ký lỏng cao áp)...
- Theo phương pháp khai triển sắc ký, người ta phân ra phương pháp phân tích tuyến, phương pháp thế chỗ và phân tích rửa giải.
- Trên thực tế, người ta thường gọi tên các phương pháp sắc ký theo thói quen chứ không gọi theo một cách thống nhất.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Trong nghiên cứu dược liệu, sắc ký thường được sử dụng cho các công việc sau:

Định tính

Một trong những ứng dụng quan trọng nhất của phương pháp sắc ký trong dược liệu học là định tính thành phần các chất trong dược liệu, trong dịch chiết dược liệu hay phát hiện các tạp chất, các chất giả mạo pha trộn trong dược liệu hay các thành phẩm từ dược liệu. Khi sử dụng các phổ kế làm detector, chúng cung cấp một phương tiện rất hiệu quả cho định tính các chất trong một hỗn hợp.

Có thể sử dụng phương pháp sắc ký để phát hiện các thành phần trong hỗn hợp với số lượng, Rf hay Rt, màu sắc hay đặc điểm phổ của các chất. Khi sử dụng các chất chuẩn sắc ký trong cùng điều kiện, người ta có thể xác nhận sự có mặt của một chất nào đó trong dược liệu mà không cần phải phân lập chất đó. Điều này giúp cho việc xác nhận dược liệu, tránh nhầm lẫn vì mỗi dược liệu có những thành phần hoá học nhất định, đặc trưng cho nó. Ví dụ, hoa Hòe có rutin, Trúc đào có neriolin, Mã tiền có strychnin v.v...

Các phương pháp sắc ký còn được sử dụng trong định tính *điểm chỉ* (*dấu vân tay*) các dược liệu. Với định tính điểm chỉ, thay cho chất chuẩn, người ta sử dụng một dược liệu chuẩn và tiến hành chiết xuất, sắc ký trong cùng một điều kiện với dược liệu cần kiểm nghiệm. Sự khác biệt giữa sắc ký đồ của mẫu chuẩn và mẫu thử cho phép đánh giá chất lượng dược liệu. Các thành phần lạ trên mẫu thử không có ở mẫu chuẩn có thể là dấu hiệu cho thấy dược liệu không đúng, bị pha tạp hay kém chất lượng.

Về nguyên tắc, hai mẫu dược liệu của cùng một loài phải có sắc ký đồ đồng nhất. Từ đó, có thể xác nhận được mẫu kiểm nghiệm có đúng hay không, có bị giả mạo hay pha tạp không. Trên thực tế, thành phần các chất trong các mẫu có thể có những sai biệt nhất định do các điều kiện di truyền (các chủng, dạng, thứ hay loài phụ, các loài lai, loài trồng trọt...) hay điều kiện phát triển (thổ nhưỡng, khí hậu), điều kiện thu hái (tuổi, mùa thu hái) v.v... Tuỳ thuộc vào từng loài, và yêu cầu sử dụng mà có thể chấp nhận những sự khác biệt về thành phần đến một mức độ nào đó. Nếu sự khác biệt quá lớn, đặc biệt là trên những thành phần chính, thường là do các biến thể dưới loài hay cây mọc ở các vùng có điều kiện rất cách biệt nhau thì có thể phải coi là những dược liệu riêng biệt. Định tính điểm chỉ hiện đang được sử dụng nhiều trong thực tế để kiểm nghiệm dược liệu và các thuốc có nguồn gốc tự nhiên để phát hiện giả mạo hay bị pha trộn các dược liệu khác. Nhiều chuyên luận của Dược điển Việt Nam IV có quy định sử dụng định tính điểm chỉ.

Định lượng

Các phương pháp sắc ký là một trong những phương pháp xác định hàm lượng các chất thông dụng nhất hiện nay trong phân tích hiện đại. Khác với các phép định lượng hoá học, các phương pháp sắc ký cho phép định lượng riêng

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

từng chất cụ thể trong một hỗn hợp, với điều kiện là phải có chất chuẩn tương ứng. Người ta có thể định lượng một chất hay định lượng đồng thời nhiều chất trong 1 lần định lượng nếu chọn được điều kiện thích hợp. Sắc ký lỏng cao áp, sắc ký khí, điện di mao quản là những phương pháp thông dụng nhất vì khả năng phân tách cao, độ nhạy và độ lặp lại cao. Sắc ký lớp mỏng kết hợp với mật độ quang kế hiện chỉ còn được coi là phương pháp bán định lượng.

Theo dõi thành phần các chất

Các phương pháp sắc ký là có thể dùng như là phương pháp theo dõi, đánh giá sự thay đổi thành phần (và hàm lượng) các chất trong cây thuốc trong trồng trọt, trong dược liệu trong quá trình bảo quản hay trong dịch chiết trong quá trình chiết xuất và phân tách các chất.

Phân lập các chất

Một ứng dụng khác nữa của các phương pháp sắc ký là phân lập các chất tinh khiết từ dược liệu. Các chất tinh khiết phân lập được có thể được dùng trong xác định cấu trúc, chất chuẩn cho định tính, định lượng, nghiên cứu các đặc tính dược lý hay độc tính và sử dụng làm thuốc (khi chiết xuất, phân lập ở quy mô lớn). Các phương pháp sắc ký phân lập các chất được trình bày ở phần chiết xuất và phân lập các chất.

Dưới đây là một vài phương pháp sắc ký thông dụng nhất áp dụng cho phân tích các chất từ dược liệu.

1. Sắc ký giấy

Cơ chế phân tách của sắc ký giấy chủ yếu là phân bố, trong đó pha tĩnh (thường là nước) được thấm trên một tờ giấy thấm đặc biệt gọi là giấy sắc ký. Nhờ các xoang rỗng trong sợi cellulose của tờ giấy sắc ký, nước được giữ lại trên đó làm thành pha tĩnh. Có nhiều loại giấy sắc ký khác nhau, phân biệt theo độ thấm dung môi và mức độ dày mỏng của giấy, với các mã hiệu tuỳ thuộc vào hãng sản xuất. Khi tiến hành sắc ký cần chọn loại giấy thích hợp.

Có 2 phương pháp triển khai sắc ký phẳng là sắc ký đi lên và sắc ký đi xuống tuỳ thuộc vào chiều đi của pha động. Tỷ lệ giữa khoảng cách đường đi của chất phân tích với đường đi của pha động tính từ điểm đặt chất phân tích gọi là R_f. Tỉ lệ giữa đường đi của chất phân tích với đường đi của một chất đối chiếu được gọi là R_r. so với R_f, giá trị R_r ổn định hơn nên dễ so sánh hơn. Các trị số R_f và R_r của nhiều hoạt chất quen thuộc trong dược liệu kèm theo hệ dung môi triển khai thường được ghi sẵn trong các tài liệu để tra cứu đối chiếu.

Kết quả sắc ký thu được với các vết của các chất phân tích được phân bố trên giấy sắc ký được gọi là sắc đồ. Các chất được tách ra trên sắc đồ được phát hiện và đánh giá bằng màu sắc, kích thước, hình dạng các vết hiện ra khi quan sát ở ánh sáng thường hoặc ánh sáng đèn tử ngoại trước và/hoặc sau khi phun các thuốc thử hiện màu. Để có kết luận một chất nào đó khi đối chiếu chất phân tích với chất chuẩn thường phải tiến hành trên 3 hệ dung môi khác biệt.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Trong nhiều trường hợp, để kết quả phân tách tốt hơn, người ta cần phải tiến hành sắc ký hai chiều. Muốn vậy, trên một tờ giấy vuông (60 x 60cm hoặc 40 x 40cm) người ta chấm dung dịch cần phân tích ở góc cách mép tờ giấy 4 - 6cm. Sau khi triển khai lần thứ nhất với một hệ dung môi thì chuyển tờ giấy đó sang một buồng sắc ký thứ hai, quay giấy một góc 90^0 và triển khai lần hai với dung môi thứ hai. Sau khi hiện màu, các vết sẽ phân bố trên mặt phẳng chứ không phải trên một đường thẳng.

Sắc ký giấy là 1 phương pháp sắc ký phân bố pha thuận, áp dụng tốt cho các chất phân cực từ trung bình tới mạnh như các glycosid, các hợp chất polyphenol, các acid hữu cơ phân tử nhỏ, acid amin, các monosaccharid và oligosaccharid... Ngoài việc phân tích thành phần của hỗn hợp, sắc ký giấy cũng có thể dùng để điều chế một lượng nhỏ các chất bằng cách chấm mẫu thử thành các băng. Sau khi triển khai, cắt các băng chất được tách ra rồi phản hấp phụ bằng dung môi thích hợp. Lặp lại nhiều lần thì có thể thu được lượng chất tinh khiết cần thiết.

Do khả năng phân tách hạn chế, việc thực hiện tốn nhiều thời gian nên hiện nay phương pháp này có ứng dụng hạn chế và được thay thế bằng sắc ký lớp mỏng, sắc ký lớp mỏng pha đảo hay sắc ký lỏng cao áp.

2. Sắc ký lớp mỏng

Trong sắc ký lớp mỏng, pha tĩnh được trải trên 1 mặt phẳng với 1 độ dày thích hợp từ 0,1 mm đến 0,2 mm và dung môi dịch chuyển qua pha tĩnh chủ yếu bằng lực mao dẫn. Pha tĩnh thông dụng nhất trong sắc ký lớp mỏng là Silica gel với cơ chế phân tách chính là hấp phụ. Tuy nhiên, cơ chế phân tách trong sắc ký lớp mỏng cũng có thể là sắc ký phân bố hoặc kết hợp cả hai, hoặc các cơ chế khác, tuỳ thuộc vào pha tĩnh và dung môi sử dụng. Các chất khác sử dụng làm pha tĩnh có thể là nhôm oxyd, Kieselguhr, cellulose, polyamid hay các loại Silica gel pha đảo.

Để chuẩn bị bản sắc ký phân tích, người ta trải một lớp mỏng có chiều dày 0,2 - 0,3 mm thật đều bằng tay hay bằng dụng cụ tráng sắc ký trên một tấm kính. Với bản sắc ký chế hoá, bề dày lớp tráng có thể tới 2 mm. Các chất dùng để tráng có thể là bột mịn Silica gel hoặc nhôm oxyd, Kieselguhr... Bột có thể không có thêm chất dính (dùng để tráng khô) hoặc có thể thêm chất dính (ví dụ, silicagel có trộn thêm $CaSO_4$) và thêm nước để tạo thành hỗn dịch (tráng ướt). Sau khi tráng ướt, bản mỏng được để ráo và sấy hoạt hoá trước khi sử dụng. Hiện nay, có nhiều hãng sản xuất các bản sắc ký tráng sẵn trên tấm kính, nhôm hoặc nhựa, ví dụ hãng Merck của Đức, hãng Eastman. Kodak của Mỹ. Kích thước bản sắc ký có thể thay đổi tuỳ mục đích sử dụng, nhưng không quá 20 x 20 cm. Ngoài việc nâng cao chất lượng pha tĩnh, các hãng sản xuất có thể có những cải tiến nhất định các bản tráng sẵn để cải thiện việc phân tách như *bản sắc ký vùng đậm đặc* để cải thiện việc đưa mẫu lên bản mỏng.

Với sắc ký lớp mỏng, đặc biệt là sắc ký hấp phụ, có thể sử dụng nhiều hệ dung môi khác nhau. Có thể sử dụng các dung môi với độ phân cực tăng dần (xem bảng). Muốn có dung môi với trị giá trung gian không có trong bảng trên, ta dùng hỗn hợp pha với hai dung môi theo tỉ lệ thích hợp.

Có nhiều phương thức khai triển sắc ký lớp mỏng khác nhau (như dưới lên, trên xuống, nằm ngang) trong các kiểu bình sắc ký khác nhau như trong bình đứng thông

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

thường (bình N), bình nằm ngang hay 'bình' hẹp đặc biệt (bình S). Tuy nhiên, thông dụng nhất vẫn là triển khai dung môi từ dưới lên trong bình sắc ký thông thường bởi tính đơn giản và dễ sử dụng của nó. Cũng như sắc ký giấy, sắc ký lớp mỏng hai chiều (trên bản có kích thước tối đa 20 x 20 cm) cũng được sử dụng.

Hằng số điện môi của một số dung môi sắc ký thông dụng

Dung môi	ε^0	Dung môi	ε^0
Ether dầu	0,01	Dichlor ethan	0,49
Hexan	0,01	Aceton	0,56
Heptan	0,01	Dioxan	0,56
Cyclo hexan	0,04	Butanol	0,56
Carbon tetrachlorid	0,18	Ethyl acetat	0,58
Ether isopropylic	0,28	Acetonitril	0,65
Toluen	0,29	Pyridin	0,71
Benzen	0,32	Dimethylsulfoxid	0,75
Ether ethylic	0,38	Alcol isopropylic	0,82
Chloroform	0,40	Alcol ethylic	0,88
Methylen chlorid	0,42	Alcol methylic	0,95

So với sắc ký giấy, thời gian triển khai đối với sắc ký lớp mỏng nhanh hơn, lượng mẫu phân tích cần ít hơn, khả năng phân tách cũng tốt hơn. Ngoài ra, có thể sử dụng các thuốc thử mạnh như acid sulfuric, nitric đậm đặc... để phát hiện các vết. Vì thế, sắc ký lớp mỏng là phương pháp được sử dụng chủ yếu hiện nay để phát hiện, theo dõi các chất trong hỗn hợp khi yêu cầu phân tích không đòi hỏi các phương pháp hiện đại hơn.

Một trong những cải tiến của sắc ký lớp mỏng là người ta giảm kích thước của hạt silica gel để tăng diện tích bề mặt riêng làm hiệu năng phân tách của pha tĩnh. Kích thước hạt Silica gel trung bình là 6 µm so với sắc ký lớp mỏng thông thường là 15 µm. Khi đó quãng đường và thời gian sắc ký có thể rút ngắn còn 1/2 so với sắc ký lớp mỏng thông thường mà vẫn có kết quả tách tương tự hay thậm chí tốt hơn. Các bản sắc ký như vậy được gọi là *sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao* (High performance TLC, HPTLC). Kích thước bản HPTLC thường là 5 hay 10 cm.

Đối với sắc ký lớp mỏng, diện tích và mật độ của một vết tách ra trên sắc đồ trong các điều kiện xác định thì tỷ lệ với lượng chất có trong vết đó. Vì thế, người ta có thể định lượng các chất trong hỗn hợp bằng phép đo mật độ quang so sánh với giai mẫu chuẩn được triển khai trên cùng bản sắc ký. Người ta cũng có thể cạo vùng pha tĩnh ứng với từng vết rồi giải hấp hoạt chất chứa trong đó bằng dung môi thích hợp, sau đó định lượng bằng các phương pháp thích hợp như đo huỳnh quang, đo màu hay đo độ hấp thu tử ngoại.

Để tách các hạt chất từ một hỗn hợp, người ta có thể dùng phương pháp sắc ký lớp mỏng điều chế (chế hoá) hay còn gọi là sắc ký lớp dày. Để có thể đưa nhiều mẫu hơn lên bản mỏng, bề dày lớp chất hấp phụ có thể là 0,5 - 1 mm, có thể tới 2 mm. Mẫu được đưa lên bản mỏng dưới dạng vệt dài (băng). Sau khi triển khai, định vị các băng chất tách ra bằng cách thích hợp và cạo lấy băng chất cần lấy.

Google.com/+DayKemQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

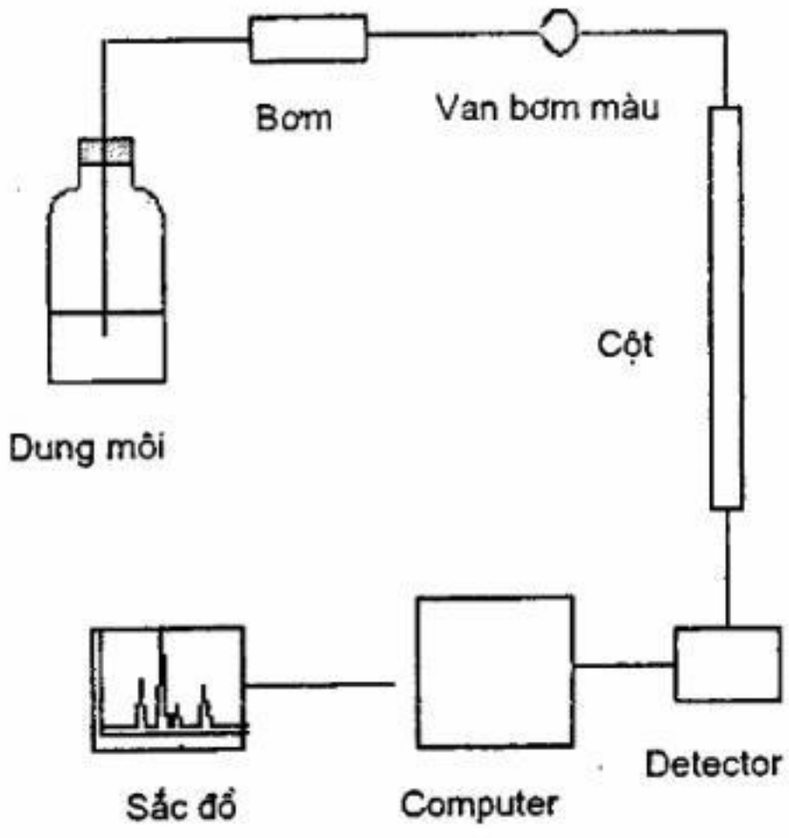
Phản hấp phụ bằng dung môi để thu lấy chất tinh khiết. Lặp lại trên vài bản sắc ký thì có thể thu được lượng mẫu cần thiết cho việc xác định cấu trúc.

Trong phân tích dược liệu, sắc ký lớp mỏng là phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất bởi khả năng phân tách tốt, linh động, dễ thực hiện và kinh tế của nó. Sắc ký lớp mỏng được sử dụng trong phân tích thành phần của các dược liệu, định tính các chất trong dược liệu, cao chiết bằng cách so sánh với chất chuẩn, định tính dược liệu bằng điểm chỉ, theo dõi quá trình chiết xuất, thăm dò các điều kiện phân tích cho sắc ký cột...

Khả năng phân tích của sắc ký lớp mỏng cũng rất đa dạng, từ những chất kém phân cực tới các chất phân cực trung bình tới mạnh. Rất nhiều các nhóm hợp chất tự nhiên có giá trị trong trị liệu có thể phân tích bằng sắc ký lớp mỏng. Tuy khả năng phân tách không cao và không nhạy bằng HPLC hay GC nhưng sắc ký lớp mỏng hiện vẫn là phương pháp rất phổ biến và hữu ích trong phân tích dược liệu. Dược điển nhiều nước (Anh, Châu Âu, Mỹ, Nhật Bản, Trung Quốc, Việt Nam...) vẫn sử dụng rộng rãi phương pháp sắc ký lớp mỏng trong kiểm nghiệm dược liệu và các chế phẩm từ dược liệu. Có nhiều bài báo và tài liệu xuất bản về sắc ký lớp mỏng áp dụng trong kiểm nghiệm dược liệu, đặc biệt là để định tính điểm chỉ dược liệu. Trong đó, cuốn "*Plant Drug Analysis - A Thin Layer Chromatography Atlas*" của Wagner H. và Bladt S. (Bản tiếng Anh do nhà xuất bản Springer Verlag ấn hành năm 1996 được xem là có giá trị nhất hiện nay.

3. Sắc ký lỏng cao áp

Trong sắc ký lỏng cao áp (HPLC), để tăng hiệu năng tách của cột sắc ký, người ta sử dụng chất nhồi cột với kích thước rất nhỏ, thường dưới 10 µm với đường kính của các xoang xốp bên trong các hạt từ 80 - 120 Å cho phân tích các phân tử nhỏ và 300 Å dùng cho phân tích các đại phân tử. Do kích thước hạt rất nhỏ, để dung môi có thể chảy qua với tốc độ dòng tối ưu (khoảng 1ml/phút với cột có đường kính trong 4,6 mm được nhồi pha tĩnh có kích thước 3,7 µm), người ta phải dùng bơm nén với áp suất cao (có thể tới 400 atm) để đẩy dòng dung môi qua cột. Vì thế nên phương pháp được gọi là sắc ký lỏng cao áp.



Sơ đồ một máy sắc ký lỏng cao áp

Các loại cột HPLC phân tích thông dụng hiện nay sử dụng các hạt nhồi có kích thước 3,7 µm. Gần đây, các hạt nhồi có kích thước hạt 1,7 µm đã được sử dụng.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Cột sắc ký loại này có hiệu năng tách cao hơn so với loại cột chứa hạt nhồi 3,7 µm nhưng cũng phải dùng áp suất cao hơn rất nhiều (tới 1000 atm) để bơm dung môi. Các máy sắc ký sử dụng áp suất cao này được gọi là sắc ký lỏng siêu cao áp (*ultra high pressure liquid chromatography*, UHPLC, hay còn được gọi là sắc ký lỏng siêu hiệu năng, *Ultra (high) performance liquid chroatography*, U(H)PLC)[1]. Khi áp lực bơm tăng lên cao sẽ ảnh hưởng tới cấu trúc pha tĩnh cũng như các vấn đề về thiết bị. Người ta cũng cải tiến hình dạng và bề mặt pha tĩnh để giảm bớt áp suất bơm dung môi. Một số cột có các pha tĩnh như vậy cũng đã có trên thị trường như cột đơn khối (monolithic) hay các hạt có cấu trúc xốp ở bề mặt nhưng đặc ở tâm... hoặc được tăng cường thêm lực chịu nén của các hạt pha tĩnh.

Các loại cột dùng cho sắc ký điều chế các chất có thể sử dụng các hạt nhồi có kích thước hạt tương tự như cột phân tích, nhưng thường được nhồi với các hạt có kích thước hơi lớn hơn (5 µm) để làm giảm áp suất bơm dung môi.

Kích thước cột sắc ký phân tích cũng thay đổi theo hiệu năng tách và nhu cầu phân tích. Đường kính trong của cột phân tích thay đổi từ 0,05 - 5 mm, thông dụng hiện nay là 4,6 mm; 3,0 mm hay 2,1 mm. Các cột dùng với mục đích điều chế có đường kính trong lớn hơn từ 7 mm với cột bán điều chế tới 100 mm hay hơn. Chiều dài cột thay đổi từ 30 mm - 300 mm.

Pha tĩnh sử dụng trong HPLC rất phong phú và đa dạng. Các cơ chế tách như phân bố, hấp phụ, rây phân tử, trao đổi ion... đều được sử dụng. Tuy nhiên, các pha tĩnh thông dụng nhất là pha tĩnh phân bố (pha đảo hay pha thuận). Các hạt nhồi của loại pha tĩnh này thường có một nhân (giá mang) là Silica gel với các nhóm OH silanol trên bề mặt được liên kết với một chất khác đóng vai trò là pha tĩnh thực sự. Loại hạt nhồi này thường được gọi là pha liên kết (*bonded phase*). Thông dụng nhất là các loại pha tĩnh RP-18, RP-8 với pha tĩnh tương ứng là một mạch hydrocarbon có 18 hay 8 carbon. Các pha tĩnh khác ít được sử dụng hơn.

Dung môi (pha động) dùng trong HPLC (pha đảo) thông dụng nhất là hỗn hợp nước - methanol hoặc nước - acetonitril với các tỉ lệ khác nhau. Để tăng khả năng phân giải các chất có khả năng phân ly, các dung dịch đệm với pH khác nhau hay các acid (acid trifluoroacetic, acetic, formic) hay các chất kiềm hữu cơ có thể được thêm vào pha động. Với các pha tĩnh sắc ký khác, đặc biệt là sắc ký hấp phụ, có thể sử dụng nhiều hệ dung môi khác nhau.

Detector

Có khá nhiều loại detector được sử dụng trong việc phát hiện các chất tách ra khỏi cột sắc ký lỏng cao áp. Các detector phát hiện sự thay đổi các đặc tính của dung dịch rửa giải như detector chỉ số khúc xạ (*reflective index*, RI), detector điện hoá (*electrochemical detector*), detector tán xạ bay hơi (*evaporating light scattering detector*, ELSD), detector UV-Vis đơn bước sóng (*UV detector*) hay detector huỳnh quang (*fluorescence detector*) cho biết có các chất ra khỏi cột vào những thời điểm nhất định. Các detector quang phổ như detector dãy diod quang (*photodiode array*, PDA), khối phổ (MS) hay cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) ngoài việc cho biết các chất ra khỏi

---

[1] UPLC là tên bảo hộ của hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng của hãng Waters. Để chỉ chung kỹ thuật này, người ta có xu hướng dùng thuật ngữ UHPLC (*ultra high pressure liquid chromatography*). Các hãng sản xuất máy sắc ký khác sử dụng các tên gọi khác như UFLC (*ultra fast liquid chromatography*) để chỉ các hệ thống HPLC phân tích nhanh, hiệu quả cao với những cải tiến về pha tĩnh và/hoặc tăng áp suất bơm đẩy dung môi.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

cột theo thời gian trên sắc ký đồ truyền thống còn cho biết thêm nhưng thông tin quan trọng khác về chất được tách ra, đó là phổ của các chất. Các thông tin này rất có ích và tăng độ tin cậy của việc nhận định các chất, so sánh với chất chuẩn. Phần lớn các detector sử dụng trong HPLC không phá huỷ các chất (ngoại trừ MS). Các hệ thống sắc ký hiện đại có thể ghép nối tiếp hay song song nhiều detector với nhau để có thêm thông tin xác định các chất.

Ứng dụng trong phân tích dược liệu

Sắc ký lỏng cao áp có rất nhiều ứng dụng trong nghiên cứu các hợp chất tự nhiên nói chung và nghiên cứu dược liệu nói riêng. Ưu điểm lớn nhất của sắc ký lỏng cao áp là có thể phân tích được rất nhiều loại hợp chất khác nhau. Tuy hiệu năng tách của sắc ký lỏng cao áp không cao bằng sắc ký khí nhưng khả năng phân tích của nó rộng hơn rất nhiều. Có thể dùng sắc ký lỏng cao áp để phân tích các chất từ chất phân cực tới không phân cực, từ các chất bay hơi tới các chất không bay hơi, từ các chất trung tính tới các chất điện ly. Tính linh hoạt của sắc ký lỏng cao áp cũng cao hơn các phương pháp khác nhờ các cơ chế tách, pha tĩnh và pha động đa dạng, phong phú. Với hiệu năng tách cao, khả năng phân tích rộng như vậy, sắc ký lỏng cao áp hiện vẫn là lựa chọn ưu tiên trong phân tích hay điều chế các chất.

Sắc ký lỏng cao áp thường được sử dụng nhất trong định lượng riêng lẻ các chất trong hỗn hợp phức tạp của dịch chiết dược liệu khi so sánh diện tích đỉnh với chất chuẩn trong cùng điều kiện phân tích. Với pha tĩnh ngày càng được hoàn thiện và đổi mới để nâng cao hiệu năng tách, detector ngày càng nhạy, sắc ký lỏng cao áp ngày nay có thể dễ dàng phân tích các chất trong hỗn hợp ở mức *ppm* tới *ppb*, thậm chí *ppt*.

Sắc ký lỏng cao áp hiện nay cũng đang được quan tâm trong phân tích điểm chỉ các chất trong hỗn hợp. Với sắc ký điểm chỉ, người ta có thể xác định nguồn gốc xuất xứ của dược liệu, phân biệt dược liệu với các loài tương cận, xác định các nguyên liệu khác pha trộn vào dược liệu, xác định các sản phẩm dược liệu nhái, giả mạo nhãn hiệu... So với sắc ký lớp mỏng, sắc ký lỏng cao áp có hiệu năng tách cao hơn nên cho các kết quả điểm chỉ chi tiết và nhiều giá trị hơn. Khi kết hợp với các thiết bị quang phổ hiện đại, sắc ký lỏng cao áp cung cấp nhiều thông tin giá trị trong việc xác định các chất. Nhiều nhà nghiên cứu hiện nay sử dụng các thiết bị ghép nối LC–MS–NMR–CD để phân tích thành phần các dịch chiết và xác định cấu trúc các chất trong hỗn hợp mà không cần tách riêng các chất.

Một ứng dụng khác của sắc ký lỏng cao áp là phân lập các chất tinh khiết (HPLC điều chế). Về nguyên tắc, sắc ký lỏng cao áp điều chế chia sẻ mọi nguyên lý của HPLC phân tích. Điểm khác biệt duy nhất là hệ thống sử dụng cột sắc ký lớn hơn, với lượng pha tĩnh nhiều hơn để có thể phân tích được nhiều mẫu hơn và các chất tách ra khỏi cột được thu lại để có được các chất tinh khiết. Theo truyền thống, các cột có đường kính trong lớn hơn 4,7 mm có thể được xem là cột bán điều chế. Các cột điều chế quy mô phòng thí nghiệm có kích thước thay đổi từ 1 cm - 10 cm. Trong quy mô công nghiệp, các cột sắc ký lỏng cao áp điều chế

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

có thể có đường kính trong tới 100 cm. So với sắc ký cột cổ điển, sắc ký lỏng cao áp có chi phí cao hơn nên thường chỉ sử dụng trong các trường hợp không tách được bằng các phương pháp sắc ký cột thông thường hay MPLC.

4. Sắc ký khí

Sắc ký khí là phương pháp sắc ký mà pha động lỏng được thay bằng một dòng khí liên tục chạy qua pha tĩnh. Các chất được tách ra khỏi hỗn hợp bởi tương tác khác nhau của chúng với pha tĩnh. Do khả năng hoà tan rất kém của chất khí, dòng khí này không đóng vai trò của một pha động thực sự trong hệ thống sắc ký. Nó chỉ làm nhiệm vụ lôi cuốn các chất trong pha hơi chạy dọc theo pha tĩnh để chúng có thể tương tác với pha tĩnh. Vì thế, dòng khí chạy trong cột sắc ký khí chỉ được gọi là khí mang. Đóng vai trò đẩy các chất ra khỏi pha tĩnh trong sắc ký khí chính là nhiệt độ. Các chất có nhiệt độ sôi khác nhau sẽ bị lưu giữ hay bị lôi cuốn bởi dòng khí mang khác nhau. Từ đó các chất tách ra khỏi nhau. Do phải được hoá hơi để có thể được lôi cuốn đi bởi dòng khí mang, chỉ những chất bay hơi mới có thể được phân tách. Vì vậy, sắc ký khí chỉ áp dụng được cho các chất có khả năng bay hơi ở nhiệt độ tiến hành sắc ký.

Cấu tạo của một hệ thống sắc ký khí hiện đại bao gồm những thành phần chính sau: (a) Khí mang và hệ thống điều chỉnh khí, (b) cổng bơm mẫu và thiết bị bơm mẫu, (c) cột sắc ký, (d) buồng cột, (e) detector và (f) máy tính dùng để điều khiển thiết bị, ghi nhận và lưu trữ kết quả.

4.1. Khí mang và hệ thống điều chỉnh khí

Các khí mang thông dụng nhất là nitơ và heli. Nitơ rẻ tiền và sẵn có hơn so với heli. Heli cho hiệu quả tách thường cao hơn. Khí mang phải không được có các khí lạ khác ảnh hưởng tới phân tích như tương tác với các chất phân tích, với pha tĩnh hay tạo nên các peak lạ trong sắc ký đồ. Độ tinh khiết của các khí thông thường phải cao hơn 99,95%. Các chất không được phép có trong khí mang là oxy, khí carbonic, hơi nước và các halogen. Chúng phải được lọc trước khi đưa vào hệ thống sắc ký bởi hệ thống lọc.

Để có được tốc độ dòng tối ưu, một hệ thống đo và điều chỉnh áp suất, lưu lượng khí được sử dụng. Hệ thống này cho phép điều chỉnh lưu lượng/áp suất dòng khí vào cột một cách chính xác theo yêu cầu phân tích.

4.2. Cổng bơm mẫu và thiết bị bơm mẫu

Là nơi mẫu dưới dạng lỏng được bơm vào hệ thống. Cổng bơm mẫu được gia nhiệt để cho tất cả các thành phần trong mẫu lỏng được hoá hơi và đi vào hệ thống. Với sắc ký khí mao quản, lượng mẫu thường không vượt quá 10 µl. Với sắc ký khí cột nhồi, lượng mẫu bơm có thể lớn hơn. Toàn bộ lượng mẫu bơm vào sau khi được hoá hơi có thể đi vào cột sắc ký (bơm mẫu không chia dòng) hay chỉ một lượng nhất định hơi đi vào cột phân tích, phần còn lại được đẩy ra ngoài (bơm mẫu chia dòng).

Có thể bơm mẫu vào cổng bơm mẫu bằng tay với một xy lanh. Người ta cũng có thể tự động hoá bằng một bộ phận bơm mẫu tự động. Trong kỹ thuật *head space*, mẫu được hoá hơi trong một chai đựng mẫu kín rồi được bơm vào hệ thống sắc ký dưới dạng khí.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

4.3. Cột sắc ký

Dạng cổ điển nhất của cột sắc ký khí là cột nhồi với một cột thuỷ tinh hay thép không rỉ hở hai đầu có đường kính trong 2 - 4 mm, dài 1 - 4 m, bên trong nhồi đầy pha tĩnh. Tuy nhiên, ngày nay phần lớn (trên 90 %) các cột sắc ký kí là cột mao quản. Cột mao quản thường được làm bằng silica nung chảy có đường kính trong từ 0,1 - 0,53 mm với chiều dài 10 - 100 m hay hơn. Các cột thông thường có đường kính trong 0,2 mm, 0,25 mm hay 0,32 mm với chiều dài 25 - 60 m. Thành trong của cột mao quản có thể tráng lên một lớp pha tĩnh lỏng với bề dày 0,2 - 5 µm (*wall coated open tubular*, WCOT) hay được phủ một lớp hạt có một lớp pha tĩnh lỏng bao quanh (*suport coated open tubular*, SCOT) hoặc một lớp pha tĩnh xốp của chất hấp phụ hay rây phân tử (*porous layer open tubular*, PLOT)... loại cột mao quản thông dụng nhất hiện nay là WCOT. So với cột nhồi, cột mao quản có hiệu năng tách cao hơn rất nhiều. Một cột mao quản 60 m có thể có 180.000 - 300.000 đĩa lý thuyết so với 4000 đĩa lý thuyết của cột nhồi (2m). Loại cột nhồi có đường kính nhỏ hơn (*microbore*; 0,75 mm) được xem như là dạng trung gian giữa cột nhồi và cột mao quản.

Pha tĩnh trong sắc ký khí cũng khá đa dạng. Các pha tĩnh rắn với cơ chế hấp phụ (silica gel, nhôm oxyd), rây phân tử hay gặp trong cột nhồi. Tuy nhiên, pha tĩnh phổ biến nhất là phạ tĩnh lỏng theo cơ chế phân bố. Pha tĩnh lỏng có thể được phủ lên một giá mang trong cột nhồi hay tráng lên thành trong của cột mao quản.

Lượng pha tĩnh trong cột càng lớn, khả năng tách và lượng mẫu có thể phân tích của cột càng cao. Trong cột nhồi, lượng pha tĩnh có thế chiếm tới 25 % khối lượng của vật liệu nhồi cột.

Các chất lỏng sử dụng làm pha tĩnh cũng khá đa dạng về nguồn gốc và độ phân cực. Hai loại pha tĩnh thông dụng nhất là dẫn chất của polysiloxan và polyethylen glycon. Các dẫn chất polysiloxan (methyl polyloxan, các hỗn hợp của methyl polysiloxan, phenyl polysiloxan và cyano polysiloxan) có độ phân cực từ kém tới trung bình. Các polyethylen glycon là pha tĩnh phân cực. Tên gọi của pha tĩnh khác nhau theo hãng sản xuất như OV, SE hay DB... cho các loại dẫn chất polysiloxan, Carbowax, CP-wax hay DB-wax... cho polyethylen glycon với các chữ số đứng sau để chỉ loại polysiloxan hay polyethylen glycon sử dụng. Các pha tĩnh khác như dầu apiezon, squalen, các alcol có độ sôi cao và những ester của chúng... cũng được sử dụng. Mỗi pha tĩnh đều có những nhiệt độ giới hạn của chúng, vượt quá nhiệt độ này sẽ làm pha tĩnh mau hư hỏng. Các dẫn chất polysiloxan, nhiệt độ thường không được quá 340 – 360^{0}C, còn với polyethylen glycon, nhiệt độ thường không được quá 250^{0}C.

4.4. Buồng cột

Nhiệt độ là một yếu tố có ý nghĩa quan trọng trong việc tách các chất của quá trình sắc ký khí. Trong suốt quá trình phân tích, nhiệt độ của cột phải đồng đều trên toàn bộ cột. Nhiệt độ cột phải ổn định, chính xác và thay đổi được theo yêu cầu phân tích. Phân tích sắc ký khí có thể được thực hiện trong điều kiện đẳng nhiệt (*isothermal*) hay nhiệt độ tăng dần theo chương trình nhiệt (*gradient*). Để đạt được điều này, toàn bộ cột sắc ký được đặt trong một khoang kín được gọi là buồng cột. Buồng cột được cách nhiệt và có các thiết bị gia nhiệt, theo dõi nhiệt độ và phân phối nhiệt, giữ cho nhiệt độ cột phân tích đồng đều, ổn định và tuân theo yêu cầu phân tích.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

4.5. Detector

Có nhiều loại detector khác nhau sử dụng trong sắc ký khí. Detector phổ biến nhất hiện nay là detector ion hoá ngọn lửa (*flame ionization detector*, FID), đây là loại detector phổ thông, phát hiện được hầu hết các chất phân tích, nhạy và có khoảng tuyến tính động học khá rộng, thích hợp cho việc định lượng. Loại này có thiết kế đơn giản và cũng tương đối rẻ tiến. Detector MS với nhiều kỹ thuật đo khác nhau ngày càng trở nên phổ biết hơn vì tính hiệu dụng của nó. Nó phát hiện được rất nhiều chất nhưng cũng là một detector rất chọn lọc khi sử dụng kỹ thuật phát hiện chọn lọc ion. Phổ khối có độ nhạy cao và khoảng tuyến tính động học lớn thích hợp cho việc định lượng. Detector MS còn cung cấp những thông tin hữu ích về khối lượng phân tử và các phân mảnh để xác định cấu trúc các chất.

Ngoài ra, còn có các detector phổ thông hay đặc hiệu khác thích hợp cho từng nhóm hợp chất. Tuy nhiên, các detector này ít phổ biến.

Để xác định một chất nào đó, ngoài thời gian lưu (t_r), người ta còn sử dụng *chỉ số lưu Kovats* (hay còn được gọi là *chỉ số Kovats* hay *chỉ số lưu*). So với t_r, chỉ số lưu Kovats ổn định hơn do bù trừ được những sai lệch do thiết bị và điều kiện phân tích. Để xác định chỉ số lưu Kovats của một chất, người ta tiến hành sắc ký chất đó với 2 chất chuẩn là hydrocarbon được chọn sao cho một chất được rửa giải trước và chất còn lại được rửa giải ra sau chất cần xác định. Chỉ số Kovats được tính dựa trên mối liên hệ (logarit) của thể tích lưu (thời gian lưu) hiệu chỉnh của chất đó với 2 chất chuẩn.

Sắc ký khí là phương pháp có hiệu năng tách rất cao, cao hơn nhiều so với HPLC. Nó có thể phân tích những hỗn hợp rất phức tạp mà HPLC không phân tích nổi.

Tuy nhiên, nhược điểm của sắc ký khí là phương pháp này chỉ có thể sử dụng cho phân tích các chất bay hơi. Các chất không bay hơi ở nhiệt độ phân tích (thường không quá 300°C) muốn phân tích được cần phải biến đổi thành dẫn chất bay hơi bằng cách ether hoá (methyl hoá, tolyl hoá, silyl hoá). Điều này làm hạn chế khả năng ứng dụng của sắc ký khí.[1] Mặc dù vẫn có thể sử dụng trong sắc ký điều chế nhưng trên thực tế, sắc ký khí gần như chỉ dùng trong phân tích định tính và định lượng.

Trong phân tích dược liệu, sắc ký khí rất thích hợp cho phân tích tinh dầu và các chất bay hơi. Đặc biệt, khi kết hợp với phổ khối kế và thư viện phổ, hệ thống GC-MS có thể phân tích và cho biết thành phần của tinh dầu và các chất bay hơi rất nhanh và hiệu quả. Các kết quả phân tích khối phổ trên hệ thống sẽ được so sánh với một cơ sở dữ liệu về khối phổ ESI-MS (được gọi là thư viện phổ) để xác định các chất phân tích.

---

[1] Sắc ký lỏng quá tới hạn (*super-critical fluid chromatography, SFC*) được xem như là trung gian giữa GC và HPLC. SFC sử dụng chất lỏng quá tới hạn (thường là CO_2) làm pha động và sử dụng cột sắc ký với pha tĩnh tương tự HPLC. Nó sắc ký được các chất không bay hơi và khả năng phân giải cao hơn HPLC. Tuy nhiên, SFC cũng có những hạn chế. Việc duy trì nhiệt độ và áp suất ổn định trong 1 hệ giữa các lần phân tích và so sánh giữa các kết quả phân tích trên các máy khác nhau có những khó khăn.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Có nhiều thư viện phổ khác nhau nhưng lớn và thường được sử dụng nhất là thư viện phổ NIST. Hiện nay là phiên bản NIST-08 của Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia, Mỹ (*National Institute of Standards & Technology*). Thư viện có 220.460 phổ khối EI-MS của 192.108 hợp chất thuộc các nhóm: (a) Thuốc, chất chuyển hoá và chất độc (b) Thuốc trừ sâu và trừ nấm, (c) các chất hữu cơ trong đất, nước và không khí, (d) aminoacid, di- và tri-peptid, (e) các tạp chất thông thường và (f) các dẫn chất phân tích của các nhóm trên. Thư viện còn có 14.802 phổ MS/MS của 5.308 ion (3.898 cation và 1.410 anion) và 224.038 chỉ số lưu Kovats của 21.847 chất trên cả cột không phân cực và phân cực.

Một ứng dụng khác hiện nay cũng được quan tâm là phân tích dư lượng các chất bảo vệ thực vật còn lại trên dược liệu, dioxin và các chất độc hại trong thực phẩm, lượng dung môi tồn dư trong thuốc, các chất ô nhiễm môi trường, độc hại cho sức khoẻ con người (các hợp chất thơm đa vòng...). Các chất này thường tồn tại với một lượng rất nhỏ trong hỗn hợp phức tạp, rất khó để phát hiện, định danh cũng như định lượng chúng bằng các phương pháp sắc ký khác.

5. Điện di mao quản

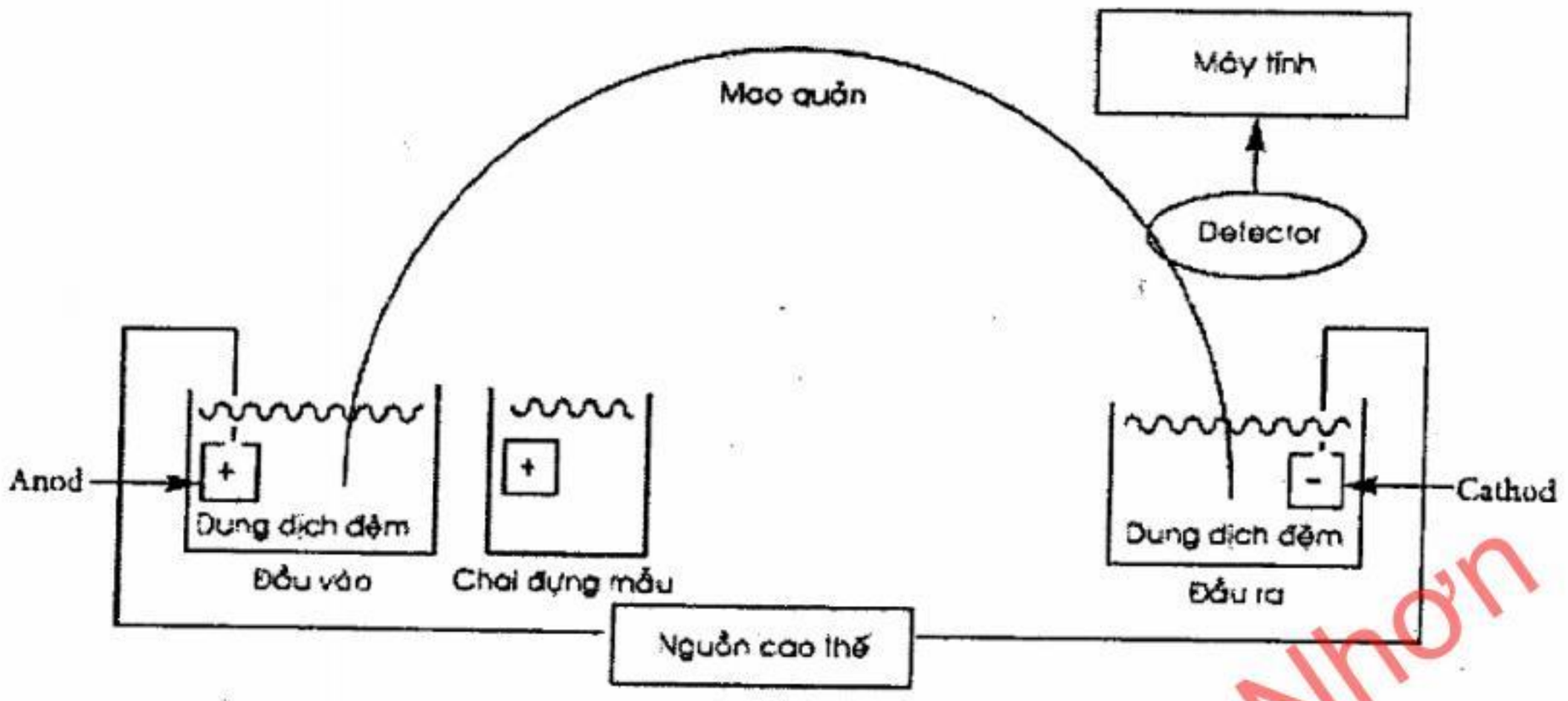
Điện di là một phương pháp phân tích dựa trên sự khác nhau về *độ linh động điện di* (*linh độ điện di, electrophoretic mobility*, μ) của hai hay nhiều chất hay tiểu phân tĩnh điện trong điện trường.

Khi một dung dịch các chất được đặt trong một điện trường, các chất phân ly thành ion hay có khả năng tạo các tiểu phân tĩnh điện sẽ dịch chuyển về phía điện cực trái dấu với nó. Tốc độ dịch chuyển của các ion trong hệ thống phụ thuộc vào độ lớn của điện trường, bản chất của chất phân tích và một số yếu tố khác của môi trường phân tích. Trong cùng một hệ, tốc độ dịch chuyển của các chất phụ thuộc vào độ linh động điện di của chất đó. Các chất có điện tích và /hoặc hình dạng và kích thước phân tử khác nhau sẽ dịch chuyển với tốc độ khác nhau trong điện trường và tách khỏi nhau trong hệ điện di.

Có 2 phương thức điện di chính là điện di trên mặt phẳng và điện di mao quản. Điện di trên mặt phẳng là phương pháp điện di được áp dụng sớm nhất. Bản điện di là một mặt phẳng được tráng bởi 1 lớp gel (tinh bột, agar, agarose hay polyacrilamid), một lớp giấy lọc hay 1 bản mỏng trải silicagel, cellulose, cellulose acetat, nitrocellulose. Tất cả được tẩm dung dịch đệm. Lớp gel, giấy hay silica gel... chỉ làm nhiệm vụ giá mang để giữ dung dịch đệm là môi trường để cho các ion dịch chuyển. Mẫu thử được đưa lên lớp gel. Hai cực của một điện trường mạnh tạo bởi dòng điện một chiều được áp trên 2 đầu đối diện của lớp gel làm các chất dịch chuyển về cực trái dấu tạo nên các băng trên bản điện di. Các băng này có thể được phát hiện bằng màu sắc trong ánh sáng thường, trong ánh sáng tử ngoại hay dùng các thuốc thử tạo màu hay tạo thành các chất phát huỳnh quang. Do hiệu ứng sinh nhiệt Joule, điện thế áp dụng trong điện di trên mặt phẳng thường chỉ trong khoảng 15 – 40 V/cm để tránh sự tăng nhiệt quá mức làm khô dung dịch đệm trên bản điện di. Có nhiều kỹ thuật khác nhau được sử dụng trong điện di trên mặt phẳng.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Sơ đồ thiết bị điện di mao quản

Trong điện di mao quản (*Electrophoresis, CE*), các chất được phân tách trong một mao quản silica nung chảy được chứa đầy dung dịch điện giải. Đường kính trong của mao quản thường từ 20 – 100 µm, chiều dài mao quản thay đổi thường là 20 - 30 cm kể từ đều vào đến detector. Chiều dài tối đa của mao quản là 100 cm. Hai đầu ống mao quản được nhúng vào 2 cốc đựng dung dịch điện giải. Ở gần một đầu của mao quản được gắn với detector. Hai đầu mao quản được nối với hai cực của nguồn điện một chiều (có thể thay đổi điện thế được) có điện thế thường vào khoảng 5 – 30 KV (có thể tới 800 V/cm). Điện thế càng lớn các chất dịch chuyển càng nhanh nhưng có thể không kịp tách ra khỏi nhau. Thay đổi điện thế có thể đạt được việc phân tách tốt trong thời gian ngắn nhất.

Trong CE, tất cả các ion đều dịch chuyển về phía cực âm (cathod) mặc dù lực điện di làm các ion dương và âm dịch chuyển ngược chiều nhau. Hiện tượng này là do dòng điện thẩm (electroosmotic flow, EOF) sinh ra trong dung dịch đệm trong lòng mao quản silica nung chảy. Dòng điện thẩm này dịch chuyển về cathod với tốc độ có thể tới 2 mm/s và phụ thuộc vào pH, độ nhớt của môi trường... và thường lớn hơn tốc độ dịch chuyển của các ion theo linh độ điện di. Như vậy, các ion dương sẽ dịch chuyển nhanh hơn tốc độ điện di vốn có của nó, các chất trung tích sẽ dịch chuyển với tốc độ của dòng điện thẩm còn các ion âm sẽ dịch chuyển chậm hơn và ngược chiều với chiều điện di. Các chất khác nhau sẽ tách ra khỏi nhau và dịch chuyển qua detector để được phát hiện và ghi lại thành điện di đồ.

Các detector sử dụng trong điện di cũng rất phong phú và có độ nhạy cao. Detector thông dụng nhất vẫn là detector tử ngoại. Detector có thể gắn trực tiếp trên mao quản, dùng mao quản như tế bào đo hay dùng các tế bào đo riêng biệt. Nhược điểm của phương pháp đo trực tiếp trên mao quản là độ nhạy thấp do quãng đường ngắn. Các detector huỳnh quang, laser, điện hoá hay dẫn điện... cũng được sử dụng. Việc kết nối máy điện di mao quản với khối phổ kế có những khó khăn nhất định về giao diện. Tuy nhiên các thiết bị CE-MS hiện đã có mặt trên thị trường, tăng khả năng ứng dụng của điện di mao quản. Kỹ thuật ion hoá trong CE-MS chủ yếu là kỹ thuật phun điện (*electro spray ionization, ESI*).

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Trong điện di mao quản, các kỹ thuật điện di sau được sử dụng:

- *Điện di vùng* (*zone electrophoresis*) là kỹ thuật đơn giản và được áp dụng rộng rãi nhất hiện nay trong cả điện di trên mặt phẳng và mao quản. Trên mao quản, kỹ thuật này được gọi là điện di mao quản vùng (*capillary zone electrophoresis*, CZE). Việc thêm vào dung dịch đệm một số chất sẽ cho các kỹ thật điện di mới như MECK, CIEF, CSE.

- *Sắc ký điện động micell* (*micellar electrokinetic chromatography*, MEKC)[1] là một phương pháp điện di trong đó mẫu thử được tách ra bởi sự phân bố khác nhau của chúng trong các micell (được xem như là một pha tĩnh giả) và dung dịch đệm (pha động). Trong MEKC, các chất hoạt động bề mặt được thêm vào dung dịch đệm ở nồng độ lớn hơn nồng độ micell tới hạn. Trong phần lớn trường hợp, MEKC được tiến hành trong môi trường kiềm. Natri dodecyl sulfat (SDS) là chất hoạt động bề mặt thường sử dụng nhất.

- *Sắc ký điện động vi nhũ tương* (*microemulsion electrokinetic chromatography*, MEEKC) có thể xem như một kỹ thuật mở rộng của MEKC. MEEKC sử dụng các vi nhũ tương (thường là dầu/nước) làm pha tĩnh giả. MEEKC linh động và hiệu quả hơn MEKC, có thể dùng cho cả chất phân ly và trung tính hay trong phân tích quang hoạt. MEEKC được dùng nhiều trong phân tích dược phẩm.

- *Sắc ký điện di mao quản* (capillary electrochromatography, CEC): là một kỹ thuật mới được phát triển gần đây sử dụng dòng điện thẩm để đưa dung môi rửa giải đi qua pha tĩnh của cột nhồi HPLC có dung môi. CEC sử dụng thiết bị điện di thông thường nhưng có thêm ưu điểm là việc ghép nối với detector khối phổ dễ dàng hơn so với điện di mao quản thông thường. Các chất trung tính cũng có thể phân tách với hiệu quả rất cao trong kỹ thuật này.

- *Điện di rây mao quản* (*capillary sieving electrophoresis, CSE*): Trong điện di rây mao quản, dung dịch đệm được thêm vào những chất có tác dụng cản trở vật lý sự di chuyển của các phân tử như polyethylen oxyd hay dextran. Các phân tử lớn như protein sẽ di chuyển chậm hơn do ma sát hay cản trở bởi các chất này. Mức độ bị cản trở phụ thuộc vào khối lượng hay bán kính thủy động của phân tử. Nếu thêm vào môi trường điện di các chất có cấu trúc mạng 3 chiều tương tự như sắc ký lọc gel ta có *Điện di gel mao quản* (*capillary gel electrophoresis, CGE*). Tuy nhiên, trong điện di mao quản, CSE cho kết quả lặp lại và tin cậy hơn, dễ thay thế sau khi điện di nên được sử dụng rộng rãi hơn trong phân tích protein. [Guttman A. J Chromatogr Sci 2003;41:449–59.]

- Ngoài các kỹ thuật trên, một số kỹ thật điện di mao quản khác cũng được sử dụng. Ví dụ như: *Điện di hội tụ đẳng điện* (*isoelectric focusing, IEF*), *Điện di đẳng tốc* (isotachophoresis, ITP)...

Điện di mao quản có hiệu lực phân tách rất cao. Một trong những yếu tố quan trọng là các chất được di chuyển đồng đều trong mao quản tạo nên các *băng* dịch chuyển chứ không phải các *vùng* dịch chuyển dạng parabol như trong sắc ký lỏng cao áp. Điều này hạn chế sự dãn rộng các băng phân tách, tạo nên các đỉnh hẹp trên điện di đồ làm cho dung lượng peak của điện di cao hơn, đồng nghĩa với độ phân giải cao hơn. Khi chọn được các điều kiện điện di thích hợp, độ phân giải của phương pháp có thể đạt được rất cao. Số đĩa lý thuyết trong một hệ điện di mao quản có thể đạt tới hàng trăm ngàn (thường là 100.000 – 250.000 đĩa lý thuyết), thậm chí hàng triệu (có thể tới

[1] Còn được gọi là sắc ký mao quản điện động micell (*micellar electrokinetic capillary chromatography*, MECC)

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

30.000.000 đĩa lý thuyết trong CGE các oligonucleotid). Do các đỉnh của các chất tách ra hẹp hơn nên chúng có cường độ lớn hơn, góp phần làm tăng độ nhạy của phương pháp. Phương pháp điện di nguyên thuỷ (điện di vùng) vốn chỉ áp dụng cho các chất ion hoá. Vì thế, trong một hỗn hợp phức tạp gồm cả các chất điện ly và trung tính, chỉ có các chất điện ly di chuyển làm cho điện di đồ trở nên đơn giản hơn, thích hợp hơn với việc định lượng. Thiết bị điện di mao quản tương đối đơn giản, việc sử dụng cũng ít tốn kém về vật tư tiêu hao hơn các phương pháp sắc ký khác.

Điện di mao quản cũng có những nhược điểm so với các phương pháp sắc ký khác. Điện di mao quản chủ yếu được dùng cho các chất có thể điện ly. Mặc dù các kỹ thuật điện di có thể phân tách được các phân tử không ion hoá nhưng việc phát triển phương pháp và áp dụng chúng trong phân tích các hợp chất tự nhiên còn tương đối hạn chế. So với sắc ký lỏng, việc chọn các điều kiện phân tích (dung dịch đệm, điện thế) cũng hạn chế và ít linh động hơn so với lựa chọn dung môi và pha tĩnh sắc ký.

Kỹ thuật điện di đã được áp dụng vào phân tích các hợp chất tự nhiên (alkaloid, acid amin...) từ khá sớm (giữa những năm 1950) với điện di trên mặt phẳng. Tuy nhiên, do không thuận tiện bằng sắc ký lớp mỏng và HPLC phát triển sau đó (1970) nên ít được sử dụng. Kỹ thuật này hiện nay chủ yếu được sử dụng trong phân tích các đại phân tử (protein, polysaccharid, vật liệu di truyền...) trong sinh hoá, lâm sàng và các lĩnh vực liên quan.

Từ khi các thiết bị điện di mao quản được thương mại hoá vào năm 1987, với các ưu điểm trong phân tích các phân tử nhỏ, điện di mao quản đã thu hút sự quan tâm của các nhà phân tích hoá hợp chất tự nhiên. Trong các hợp chất tự nhiên, các hợp chất phenol, alcaloid, các acid, acid amin rất thích hợp với phân tích điện di mao quản cả về định tính và định lượng. Các kỹ thuật điện di thường sử dụng trong phân tích dược liệu là CZE, MEKC và CEC.

CHIẾT XUẤT VÀ PHÂN LẬP CÁC CHẤT TỪ DƯỢC LIỆU

I. CHIẾT XUẤT

Chiết xuất là phương pháp sử dụng dung môi để lấy các chất tan ra khỏi các mô thực vật. Sản phẩm thu được của quá trình chiết xuất là một dung dịch của các chất tan hoà tan trong dung môi. Dung dịch này được gọi là dịch chiết. Có ba quá trình quan trọng đồng thời xảy ra trong chiết xuất là:

- Sự hoà tan của chất tan vào dung môi.
- Sự khuếch tán của chất tan trong dung môi.
- Sự dịch chuyển của các phân tử chất tan qua vách tế bào thực vật.

Các yếu tố ảnh hưởng lên ba quá trình này (bản chất của chất tan, dung môi, nhiệt độ, áp suất, cấu tạo của vách tế bào, kích thước tiểu phân bột dược liệu ...) sẽ quyết định chất lượng và hiệu quả của quá trình chiết xuất.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Nguyên liệu trước khi chiết xuất cần kiểm tra về mặt thực vật xem có đúng loài, đôi khi còn đúng thứ hay chủng mà ta cần hay không. Cần ghi rõ nơi thu hái thời gian thu hái. Tùy theo trường hợp mà đặt vấn đề thời vụ thu hái, để đảm bảo hoạt chất mong muốn có hàm lượng cao nhất. Dược liệu sau đó có thể làm khô hoặc để tươi mà chiết. Nhiều hoạt chất rất dễ bị biến đổi trong quá trình làm khô hoặc ngay khi còn tươi nếu không xử lý để diệt enzym (xem phần ổn định dược liệu). Kích thước của bột dược liệu cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới chất lượng và hiệu quả của quá trình chiết.

Có rất nhiều kỹ thuật và thiết bị chiết khác nhau được áp dụng cho hai phương pháp chiết trên như: chiết ở nhiệt độ thường (ngâm lạnh, ngấm kiệt ở nhiệt độ thường) hay nhiệt độ cao (chiết nóng, hãm, sắc, ngấm kiệt nóng); chiết với các thiết bị như soxhlet, kumagawa... tùy yêu cầu, điều kiện mà lựa chọn kỹ thuật chiết thích hợp.

Các phương pháp chiết gồm có ngâm và ngấm kiệt. Trong phương pháp ngâm dược liệu được ngâm trong 1 lượng thừa dung môi trong một thời gian nhất định để các chất tan trong dược liệu hoà tan vào dung môi. Dịch chiết sau đó được rút hết ra và dung môi mới được thêm vào và quá trình ngâm – chiết được lập lại cho tới khi lấy hết các chất khỏi dược liệu. Trong phương pháp ngấm kiệt, dung môi được dịch chuyển trong khối dược liệu theo một chiều xác định với 1 tốc độ nhất định. Trong quá trình dịch chuyển, các chất tan trong dược liệu tan vào dung môi và nồng độ dung dịch tăng dần cho tới khi bão hoà ở đầu kia của khối dược liệu. Như vậy, ngấm kiệt là 1 quá trình chiết ngược dòng với nồng độ dịch chiết tăng dần từ đầu tới cuối khối dược liệu. Dung môi mới tiếp xúc với dược liệu có lượng hoạt chất thấp nhất do vậy quá trình chiết được thực hiện hoàn toàn hơn.

Dung môi chiết cũng tùy theo từng loại hoạt chất mà chọn cho thích hợp. Về nguyên tắc, để chiết các chất phân cực (các glycosid, các muối của alcaloid, các hợp chất polyphenol...) thì phải sử dụng các dung môi phân cực. Để chiết các chất kém phân cực (chất béo, tinh dầu, carotenoid, các triterpen và steroid tự do...) thì phải sử dụng các dung môi kém phân cực. Trên thực tế, cồn với các độ cồn khác nhau là dung môi hay được dùng. Cồn có thể hoà tan được nhiều nhóm hoạt chất, không độc, rẻ tiền và dễ kiếm. Trong một vài trường hợp, dược liệu tươi được thả từ từ trong cồn sôi vừa để diệt enzym vừa để hoà tan hoạt chất.

Ngoài các kỹ thuật chiết cổ điển như trên, các kỹ thuật chiết mới như chiết với sự hỗ trợ của sóng siêu âm, vi sóng, chiết chất lỏng quá tới hạn, chiết dưới áp suất cao v.v... đã được phát triển để nâng cao hiệu quả cũng như chất lượng chiết xuất.

Chiết với sự hỗ trợ của siêu âm

Trong quá trình chiết xuất, đôi khi sóng siêu âm cũng được áp dụng để tăng hiệu quả chiết. Sóng siêu âm với tần số trên 20 KHz thường được sử dụng. Sóng siêu âm có tác dụng làm tăng sự hoà tan của chất tan vào dung môi và tăng quá trình khuyếch tán chất tan. Sóng siêu âm cường độ cao cũng có thể phá vỡ cấu trúc tế bào, thúc đẩy quá trình chiết.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Chiết với sự hỗ trợ của sóng siêu âm thường được sử dụng trong chuẩn bị mẫu phân tích thay cho phương pháp ngâm lạnh hay chiết Sohxlet cổ điển. Khi đó, người ta nhúng bình chiết vào trong 1 bể siêu âm có chứa nước, sóng siêu âm phát ra từ các đầu phát sẽ truyền qua môi trường nước và đi vào hỗn hợp chiết. Trong chiết siêu âm, hỗn hợp chiết với dung môi phân cực sẽ nóng lên. Tuy nhiên, người ta cũng có thể gia nhiệt để quá trình chiết được nhanh hơn. Trong chiết xuất ở quy mô lớn hơn, đầu phát siêu âm thường được nhúng trực tiếp vào bình chiết chứa dược liệu. Do khả năng xuyên sâu kém nên việc sử dụng thường ở quy mô phòng thí nghiệm.

Chiết với sự hỗ trợ của vi sóng

Khi chiếu bức xạ điện từ ở tần số 2450 MHz (bức xạ trong vùng vi sóng của dải sóng điện từ) vào môi trường các chất phân cực, các phân tử sẽ chịu đồng thời 2 tác động: sự dẫn truyền ion và sự quay lưỡng cực dưới tác dụng của điện trường. Cả hai tác động này làm sinh ra nhiệt trong lòng khối vật chất làm cho việc gia nhiệt nhanh và hiệu quả hơn rất nhiều so với phương pháp dẫn nhiệt truyền thống.

Trong chiết xuất, khi chiếu xạ vi sóng vào môi trường có chứa các tiểu phân dược liệu và dung môi phân cực, các phân tử dung môi và các chất phân cực sẽ dao động và nóng lên nhanh chóng làm tăng khả năng hoà tan các chất vào dung môi. Thêm vào đó, vi sóng cũng làm phá huỷ cấu trúc vách tế bào thực vật làm các chất tan giải phóng trực tiếp vào dung môi chiết làm cho quá trình chiết chuyển thành hoà tan đơn giản. Điều này làm cho việc chiết xuất nhanh hơn nhưng cũng làm cho dịch chiết nhiều tạp chất hơn.

Việc sử dụng vi sóng hỗ trợ việc chiết xuất dược liệu ở quy mô phòng thí nghiệm được áp dụng thay thế cho chiết xuất truyền thống (như chiết bằng Soxhlet) do rút ngắn thời gian chiết xuống còn từ vài chục giây tới 15 - 20 phút. Cũng đã có những thiết bị chiết vi sóng ở quy mô lớn. Chiết với sự hỗ trợ của vi.sóng cũng có nhược điểm đó là các tạp chất trong dịch chiết nhiều hơn, cần có quy trình loại tạp tiếp theo. Thiết bị chiết hỗ trợ bằng vi sóng đặc biệt thích hợp cho chưng cất tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn theo hơi nước. Thời gian chưng cất rút ngắn đáng kể, hàm lượng tinh dầu thu được thường cao hơn và chất lượng tốt hơn do thời gian tiếp xúc với nhiệt ngắn. Cũng có những báo cáo về chiết xuất các nhóm hoạt chất khác bằng phương pháp này như chiết saponin, anthraquinon, alkaloid...

Cơ quan Bảo vệ môi trường Mỹ đã chấp thuận sử dụng kỹ thuật vi sóng trong việc chuẩn bị mẫu cho phân tích các chất hữu cơ trong phân tích môi trường (EPA Method 3546).

Chiết bằng chất lỏng quá tới hạn

Những năm gần đây phương pháp chiết xuất bằng *chất lỏng quá tới hạn*[1] (*super-critical fluid extraction*, SFE) cũng được áp dụng để chiết xuất trong định tính cũng như công nghiệp các hợp chất tự nhiên.

Nguyên tắc của phương pháp này như sau: trong điều kiện áp suất bình thường, khi nâng nhiệt độ một chất lỏng tới điểm sôi của nó, chất lỏng sẽ hoá

---

[1] Có tài liệu gọi là chất lỏng *siêu* tới hạn do chữ *super-*

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

hơi. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng nhiệt độ và đồng thời tăng áp suất của hệ lên *quá* một nhiệt độ và một áp suất nhất định nào đó, người ta sẽ thu được một "*chất lỏng*" đặc biệt gọi là chất lỏng quá tới hạn. Chất lỏng này không giống với trạng thái lỏng thông thường mà mang cả đặc tính của cả chất khí và chất lỏng.

Điểm (ứng với nhiệt độ và áp suất) mà một chất chuyển từ trạng thái hơi sang trạng thái lỏng này được gọi là điểm tới hạn (*critical point*) của chất đó. Điểm tới hạn của nước có nhiệt độ tới hạn (t_c) và áp suất tới hạn (p_c) tương ứng là 374,2°C và 220,5 bar; với carbon dioxid t_c = 31,1°C và p_c = 73,8 bar, với ethanol t_c = 243,4°C và p_c = 72 bar.

Do mang cả đặc tính của chất khí và chất lỏng nên chất lỏng quá tới hạn có khả năng hòa tan các chất đồng thời có độ nhớt thấp và khả năng khuếch tán cao có thể dùng để hoà tan các chất và ứng dụng vào chiết xuất các chất trong dược liệu. Các đặc tính của chất lỏng quá tới hạn (khả năng hoà tan các chất, độ nhớt..) phụ thuộc vào nhiệt độ và áp suất. Thay đổi các điều kiện này sẽ làm thay đổi đặc tính (độ phân cực, khả năng hoà tan) của chất lỏng quá tới hạn. Trong thực tế, người ta thực hiện chiết trong điều kiện cao hơn điểm tới hạn một ít.

Chất lỏng thông dụng nhất hiện nay là CO_2 lỏng quá tới hạn. CO_2 có điểm tới hạn thấp, rẻ tiền, không độc hại và thân thiện với môi trường, có thể thu hồi, không làm tăng hiệu ứng nhà kính. Khi chiết xuất hoạt chất từ dược liệu, CO_2 lỏng quá tới hạn có lợi hơn các dung môi hữu cơ thông thường ở chỗ ít độc hại, nâng cao hiệu suất và không để lại dư lượng dung môi trong cao chiết. Ngoài ra quá trình chiết xuất có thể tiến hành ở nhiệt độ thấp nên không làm biến đổi những thành phần kém bền với nhiệt độ.

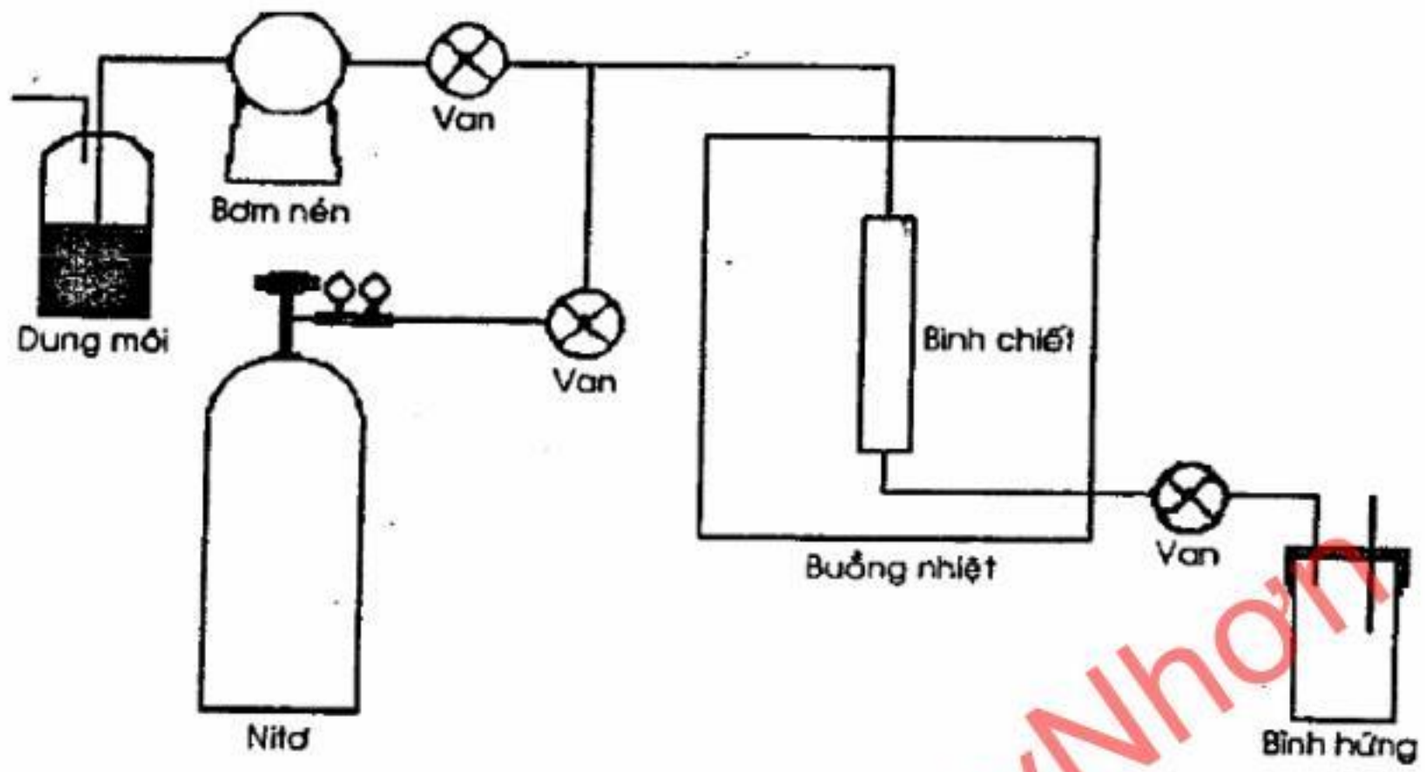
Một trong những nhược điểm của SFE là tính phân cực của CO_2 lỏng quá tới hạn. Ở các điều kiện chiết thông thường, CO_2 lỏng quá tới hạn là một dung môi kém phân cực, do đó chỉ có thể dùng để chiết các chất kém phân cực. Để cải thiện khả năng hoà tan các chất phân cực hơn, trong quá trình chiết xuất, người ta thêm vào CO_2 lỏng quá tới hạn một lượng nhất định một dung môi phân cực (như methanol) để thay đổi tính phân cực của dung môi để chiết các chất phân cực hơn.

Chiết chất lỏng quá tới hạn hiện nay được ứng dụng trong nhiều ngành ở quy mô công nghiệp (từ những năm 1978), trong nghiên cứu và phân tích kiểm nghiệm. Trong phạm vi nghiên cứu cây thuốc, tác giả đầu tiên ứng dụng phương pháp này là Stahl và cộng sự [*Planta Med.* , 1980, 40, 12]. Các nhóm hợp chất thích hợp nhất để chiết bằng chất lỏng quá tới hạn là tinh dầu, chất béo, carotenoid và các chất kém phân cực khác. Với tinh dầu, việc chiết bằng CO_2 lỏng quá tới hạn cho hiệu xuất chiết cao, thời gian chiết ngắn và không làm hư hỏng các chất nhạy cảm với nhiệt độ. Tinh dầu thu được có hương thơm gần với tự nhiên nhất. Người ta dùng carbon dioxyd và nitrogen oxyd hoá lỏng để chiết xuất nhiều loại hoạt chất trong cây như alcaloid ví dụ loại cafein trong hạt Cà phê, chiết những thành phần của hoa cây Dương cam cúc - *Matricaria chamomilla*, hoa Cúc trừ sâu – *Pyrethrum cinerariifolium*... Bằng phương pháp chiết này hiệu suất pyrethrin được nâng lên đến 50% so với phương pháp chiết bằng ether dầu. Trong phòng thí nghiệm, SFE được dùng để chiết mẫu cho phân tích dư lượng thuốc trừ sâu, các chất hữu cơ độc hại trong môi trường...

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Chiết dưới áp suất cao



Sơ đồ hệ thống chiết dưới áp suất

Một kỹ thuật chiết hiện cũng được sử dụng trong chiết xuất hiện đại là chiết dưới áp xuất cao (*pressurized liquid extraction*[1] - PLE). Khả năng hoà tan của các chất trong dung môi phụ thuộc nhiều vào nhiệt độ. Khi nhiệt độ tăng, khả năng hoà tan các chất tăng. Vì thế, trong chiết xuất, người ta có xu hướng tăng nhiệt độ để giảm lượng dung môi sử dụng và giảm thời gian chiết. Tuy nhiên, trong điều kiện bình thường, việc tăng nhiệt độ chiết có giới hạn của nó là nhiệt độ sôi của dung môi. Khi hoá hơi, dung môi không còn khả năng hoà tan các chất nữa. Để khắc phục điều này, người ta tiến hành chiết các chất dưới áp suất cao dựa vào nguyên tắc: nhiệt độ sôi của chất lỏng tăng khi áp suất tăng. Khi đó ta có phương pháp chiết chất lỏng dưới áp suất.

Khi nhiệt độ tăng lên 10°C, khả năng hoà tan của dung môi tăng lên gấp rưỡi. Trong chiết dưới áp suất, dung môi chiết được đưa tới nhiệt độ và áp suất gần với vùng tới hạn. Nhiệt độ và áp suất cao làm tăng khả năng hoà tan và khuếch tán của dung môi để cho việc chiết xuất hiệu quả hơn. Nhiệt độ chiết có thể thay đổi từ 80 - 200°C và áp suất có thể tới 150 bar tuỳ theo loại dung môi và chất cần chiết.

So với SFE, PLE có sự linh hoạt hơn trong việc lựa chọn dung môi do đó có thể chiết các chất trong một giới hạn rộng hơn về độ phân cực. Các thiết bị cũng không cần đạt áp suất cao nghiêm ngặt như SFE nên dễ dàng áp dụng thực tế trên quy mô lớn hơn.

PLE cũng đã được sử dụng chính thức trong các quy trình chuẩn bị mẫu phân tích các thuốc trừ cỏ, thuốc trừ sâu và các hydrocarbon thơm đa vòng... của cơ quan bảo vệ môi trường (EPA Method 3454).

Trong nghiên cứu và sản xuất dược liệu, PLE đã được sử dụng để chiết ở quy mô phòng thí nghiệm, chuẩn bị mẫu phân tích hay chiết các chất ở quy mô lớn. Ví dụ, chiết dioxin bằng toluen hoặc toluen + 5 % acid acetic (150°C, 150 bar), chiết chất béo trong các hạt có dầu bằng *n*-hexan (100°C, 100 bar), chiết hypericin trong *Hypericum perforatum* bằng acetonitril (100°C, 100 bar).

---

[1] Còn được gọi là Accelerated Solvent Extraction - ASE, pressurized solvent extraction - PSE, pressurized fluid extraction - PFE

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Một biến thể của PLE cũng được áp dụng trong chiết xuất dược liệu là chiết bằng nước nóng dưới áp suất (*pressurized hot water extraction*, PHWE). Do điểm tới hạn của nước khá cao nên trong PHWE người ta dùng áp suất thấp hơn nhiều (chỉ vào khoảng 20 bar) ở nhiệt độ thay đổi từ trên 100 - 200^{0}C. Đặc tính (độ phân cực) của nước thay đổi rất nhiều trong điều kiện này làm cho nước có thể chiết được các chất kém phân cực hơn. Trong PHWE, sự phân huỷ các chất có thể xảy ra.

II. PHÂN LẬP CÁC HOẠT CHẤT

Phân lập là tách riêng một chất dưới dạng tinh khiết ra khỏi một hỗn hợp. Thành phần của một dược liệu thường rất phức tạp, trong nhiều trường hợp, chỉ một hoặc vài chất trong hỗn hợp toàn phần của dược liệu được sử dụng làm thuốc, ví dụ, strychnin trong hạt Mã tiền, vincristin và vinblastin trong Dừa cạn, paclitaxen trong *Taxus*, quinin và quinidin từ Canh kina... Để tách riêng hoạt chất hoặc trong nghiên cứu muốn tách riêng các chất để xác định cấu trúc, làm chất chuẩn, nghiên cứu dược lý... người ta cần phải tiến hành phân lập từng chất dưới dạng tinh khiết.

Có nhiều phương pháp được sử dụng để phân lập các chất từ một hỗn hợp. Có các phương pháp kinh điển như các phương pháp kết tinh phân đoạn, chưng cất phân đoạn hay các kỹ thuật sắc ký hiện đại v.v...

1. Kết tinh phân đoạn

Phương pháp dựa vào độ hoà tan khác nhau của từng chất khi hoà tan hỗn hợp vào một hoặc một hỗn hợp dung môi. Trong quá trình để yên để dung môi bốc hơi từ từ, thành phần khó tan nhất sẽ tủa hoặc kết tinh trước. Lọc lấy phần tinh thể thô và kết tinh lại sẽ thu được chất tinh khiết. Phần dung dịch còn lại có thể để bay hơi dung môi và kết tinh để tách các chất khác. Có thể kết hợp việc bay hơi dung môi với giảm nhiệt độ để quá trình kết tinh hiệu quả hơn. Dung môi dùng để hoà tan/kết tinh phân đoạn thường là một dung môi nhưng cũng có thể là một hỗn hợp 2 hay 3 dung môi trong trường hợp các chất khó kết tinh. Đối với một số nhóm chất đặc biệt, để phân lập người ta tạo ra các dẫn chất ít tan ví dụ tạo muối picrat alcaloid, tạo osazon các đường để các chất dễ kết tinh hơn.

2. Tách phân đoạn

Đối với một vài nhóm chất, người ta có thể tách riêng từng phân đoạn khỏi hỗn hợp dựa vào lý hoá tính khác nhau của các chất thành phần như độ hoà tan trong các dung môi, tính acid hay base và độ mạnh của tính acid hay base. Ví dụ, một hỗn hợp muối alcaloid trong nước, khi kiềm hoá từ từ thì alcaloid có tính kiềm yếu nhất sẽ được giải phóng ra dạng tự do trước, nếu kiềm hoá tiếp thì lần lượt các alcaloid có tính kiềm mạnh hơn sẽ được tiếp tục giải phóng. Nếu ta dùng dung môi hữu cơ để chiết sau từng giai đoạn thì sẽ thu được các alcaloid khác nhau. Cũng như vậy đối với một hỗn hợp acid hữu cơ dưới dạng muối sẽ được giải phóng từng phân đoạn khi thêm từ từ acid vô cơ rồi chiết bằng dung môi hữu cơ.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

3. Thăng hoa

Một số chất hay nhóm hợp chất có thể thăng hoa được như các coumarin và anthranoid ở dạng tự do (aglycon); cafein, ephedrin, camphor, borneol... có thể được tách ra khỏi hỗn hợp hay được tinh chế bằng cách cho thăng hoa. Quá trình thăng hoa có thể được thực hiện ở áp suất thường hay áp suất giảm. Khi thăng hoa dưới áp suất giảm, nhiệt độ thăng hoa của các chất giảm làm giảm bớt tác động phân huỷ của nhiệt độ lên các chất. Với các dụng cụ thăng hoa dưới áp suất giảm có theo dõi áp suất và nhiệt độ người ta có thể thăng hoa cả những chất khó hay không thực hiện được bằng cách thăng hoa ở áp suất thường. Với dụng cụ này người ta có thể phân lập, tinh chế một số alcaloid, flavonoid...

4. Chưng cất phân đoạn

Chưng cất phân đoạn là một trong những phương pháp kinh điển dùng để tách các chất bay hơi ra khỏi một hỗn hợp dựa vào sự khác biệt nhiệt độ sôi của các chất trong hỗn hợp. Quá trình chưng cất có thể thực hiện ở áp suất khí quyển hay áp suất giảm. Phương pháp chưng cất phân đoạn được thực hiện với những bình cất có lắp cột phân đoạn và thường được nối với máy hút chân không để giảm nhiệt độ chưng cất, giảm ảnh hưởng tới các chất nhạy cảm với nhiệt độ. Nhiệt độ và áp suất được theo dõi trong quá trình chưng cất. Phương pháp này thường áp dụng để tách các chất thành phần của tinh dầu.

5. Các phương pháp sắc ký

Sắc ký điều chế là phương pháp được sử dụng rất nhiều và đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu các chất tự nhiên. Thành phần của các dịch chiết thực vật thường rất phức tạp, thường vài chục chất. Tính chất của các chất cần tách cũng rất thay đổi, từ các chất không hay rất kém phân cực tới các chất phân cực mạnh, từ các chất phân tử nhỏ tới các đại phân tử. Hàm lượng các chất trong hỗn hợp cũng rất thay đổi, từ vài % tới phần ‰ hay thậm chí thấp hơn trong một số trường hợp. Trong các trường hợp như vậy, các phương pháp phân lập cổ điển như kết tinh phân đoạn, chưng cất phân đoạn v.v... không thể đáp ứng được. Khi đó, các kỹ thuật sắc ký như sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng điều chế, sắc ký lỏng áp suất trung bình, sắc ký lỏng cao áp điều chế và sắc ký phân bố ngược dòng sẽ là các kỹ thuật được lựa chọn sử dụng. Các kỹ thuật sắc ký lớp mỏng điều chế, sắc ký lỏng cao áp điều chế, về mặt lý thuyết và thiết bị đã được đề cập tới ở phần các phương pháp đánh giá dược liệu. Dưới đây là một số kỹ thuật sắc ký khác, đặc trưng cho phân lập các chất thường sử dụng trong nghiên cứu dược liệu.

5.1. Sắc ký cột

Sắc ký cột là phương pháp sắc ký mà pha tĩnh được nhồi trong một cột hình trụ hở 2 đầu hoặc được tráng trong lòng một mao quản có đường kính trong rất hẹp. Theo nghĩa rộng, sắc ký cột bao gồm cả sắc ký cột cổ điển dùng trong điều chế các chất và sắc ký cột hiện đại thường dùng trong phân tích như

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

là HPLC, GC... ở đây chỉ trình bày các kỹ thuật sắc ký cột cổ điển. Với kích thước cột lớn, sắc ký cột cổ điển chủ yếu được dùng trong việc chiết tách và phân lập các chất.

Trong sắc ký cột cổ điển, người ta thường dùng các cột thuỷ tinh đường kính 1 - 5 cm dài 30 - 100 cm để nhồi pha tĩnh. Chất nhồi cột có kích thước từ 15 - 300 µm. Kích thước hạt càng lớn, dung môi qua cột càng dễ dàng nhưng hiệu năng tách kém. Với vật liệu nhồi cột là Silica gel dùng cho sắc ký cột, người ta thường phân ra làm 3 loại là loại mịn (15 - 40 µm), loại vừa (40 - 63 µm) và loại thô (63 - 200 µm). Lượng mẫu nạp lên cột thay đổi tùy theo tính chất phức tạp của mẫu và khả năng tách của hệ thống. Tỉ lệ mẫu / pha tĩnh thường là 1/30 - 1/100 hay hơn. Trong 1 vài kỹ thuật, tỉ lệ này có thể tăng tới 1/10.

Cột sẽ được triển khai bằng dung môi thích hợp. Dung môi có các chất được tách ra sẽ đi ra khỏi cột và được hứng thành từng phân đoạn, bằng tay hay bằng bộ hứng phân đoạn. Các phân đoạn được kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng và những phân đoạn giống nhau được gộp chung, loại dung môi để thu được chất tinh khiết. Trong trường hợp sắc ký cột khô hay cột ngược, các băng chất được tách ra không được rửa giải ra khỏi cột mà được cắt thành các "khoanh" và giải hấp bằng dung môi để thu các chất.

Trong sắc ký cột cổ điển, áp lực đẩy dòng dung môi qua cột là áp suất thuỷ tĩnh. Với cột dài và chất nhồi cột mịn, tốc độ dòng dung môi giảm có thể ảnh hưởng đến kết quả sắc ký do hiện tượng khuyếch tán. Thời gian khai triển cũng rất dài, có khi là nhiều ngày hay hơn. Để khắc phục phần nào nhược điểm này, một số kỹ thuật sắc ký cột cải tiến đã được sử dụng giúp giảm thời gian phân tách. Tuy nhiên, hiệu lực tách của cột cũng có thể giảm. Khi ấy người ta thường thu các phân đoạn đơn giản để tiếp tục phân tách trên các cột sắc ký khác. Hai kỹ thuật hay sử dụng là sắc ký cột nhanh (*flash chromatography*, FC) và sắc ký cột chân không (*vacuum liquid chromatography*, VLC). Cả hai đều sử dụng cột ngắn và đường kính lớn để tăng tốc độ dòng và tăng lượng mẫu. FC sử dụng áp suất dương thấp trên đầu cột còn VLC sử dụng áp suất âm ở cuối cột.

Trang bị cho sắc ký cột cổ điển rất đơn giản, không tốn kém nên hiện nay vẫn là phương tiện chủ yếu để tách các chất có trong thành phần hoá học của dược liệu. Hiện nay, sắc ký cột cổ điển và các kỹ thuật cải tiến của nó vẫn đóng vai trò chính trong việc chiết tách và phân lập các chất tinh khiết từ dược liệu.

5.2. Sắc ký lỏng áp suất trung bình

Để cải thiện khả năng phân tách các chất của sắc ký cột trong phân lập các chất, người ta sử dụng sắc ký cột áp suất trung bình (MPLC).

MPLC được phát triển vào những năm 1980 sử dụng các cột chịu áp lực có kích thước tương tự như sắc ký cột cổ điển nhưng nhồi pha tĩnh loại hạt mịn (15-40 µm). Cột được nhồi dưới áp suất nên có mật độ pha tĩnh cao hơn làm cho khả năng tách tốt hơn. Để có tốc độ dòng tối ưu, một áp suất không quá 40 bar, thường là 5-20 bar, tạo bởi một bơm nén được dùng để nén dòng dung môi chảy qua cột với tốc độ dòng có thể từ 3 ml/phút tới 160-200 ml/phút tuỳ theo kích thước cột. Lượng mẫu thử cho MPLC có thể thay đổi từ vài chục mg tới 100g. Mẫu thử có thể được đưa trực tiếp lên đầu cột, sau đó nối với hệ thống bơm đẩy dung môi để triển khai hay được bơm vào hệ thống qua hệ thống van bơm mẫu.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Pha tĩnh dùng trong MPLC là các pha tĩnh dùng trong sắc ký cột cổ điển (thường là silica gel) hay các loại pha đảo (RP) với kích thước tiểu phân thích hợp. Cột nạp các pha tĩnh RP có thể sử dụng lại nhiều lần. Việc thăm do và lựa chọn hệ dung môi thích hợp cho MPLC có thể được tiến hành trên sắc ký lớp mỏng. Một hệ dung môi thích hợp cho MPLC là hệ dung môi có Rf các chất cần tách vào khoảng 0,3 trên sắc ký lớp mỏng. Với pha tĩnh RP, có thể sử dụng HPLC phân tích để thăm dò hệ dung môi.

Trên thực tế, một máy MPLC hiện đại thường có một hệ thống phân phối dung môi gồm bơm có thể thay đổi tốc độ dòng và các phụ kiện (chặn xung, gradient...); một hệ thống bơm mẫu với vòng lặp và van chuyển; cột MPLC, một detector UV, một máy tính để điều khiển thiết bị và ghi nhận kết quả; và một bộ hứng phân đoạn.

So với sắc ký cột cổ điển, hiệu năng tách của MPLC cao hơn. Hiệu năng tách của MPLC là trung gian giữa sắc ký cột cổ điển và sắc ký lỏng cao áp điều chế. So với HPLC điều chế, MPLC có thể sử dụng các cột lớn hơn nên có thể tách lượng mẫu nhiều hơn. Do các cột sắc ký là tự nhồi và chất nhồi cột là loại thông thường, dung môi không đòi hỏi chất lượng đặc biệt, thiết bị không quá phức tạp nên MPLC dễ áp dụng và kinh tế hơn so với HPLC điều chế.

5.3. Sắc ký phân bố ngược dòng

Trong sắc ký cột cổ điển và MPLC, pha tĩnh sử dụng thường là các chất hấp phụ pha thuận tương đối rẻ tiền và thường chỉ sử dụng một lần. Các pha tĩnh này thích hợp với các chất từ kém phân cực tới phân cực trung bình. Trong những trường hợp phân tích các hỗn hợp phức tạp, các chất phân cực mạnh như các glycosid có mạch đường dài, các polyphenol, các alcol, acid phân tử nhỏ v.v... pha tĩnh hấp phụ thường không cho kết quả tốt. Khi ấy, người ta thường sử dụng cơ chế phân bố để tách các chất. Các pha tĩnh phân bố sử dụng trong HPLC (thường là pha đảo) rất thích hợp trong những trường hợp này. Tuy nhiên, các pha tĩnh này thường đắt tiền, chỉ sử dụng trong sử dụng trong sắc ký điều chế khi thật cần thiết. Để cải thiện khả năng phân tách các chất phân cực, người ta phát triển phương pháp sắc ký phân bố ngược dòng (Countercurrent chromatography, CCC).

Sắc ký phân bố ngược dòng là phương pháp sắc ký mà trong đó cả pha tĩnh và pha động đều ở trạng thái lỏng. Do không sử dụng giá mang rắn nên sắc ký phân bố ngược dòng loại trừ được những khó khăn thường gặp trong các phương pháp sắc ký trên pha tĩnh rắn như mất mẫu hay phân huỷ mẫu. Sắc ký phân bố ngược dòng là phương pháp có khả năng tách các chất phân cực hiệu quả, hệ dung môi dùng cho cả pha tĩnh và pha động linh hoạt, rẻ tiền và có thể tiến hành trên phân tích lượng mẫu khá lớn trong thời gian tương đối ngắn.

Khác với HPLC hay các kỹ thuật sắc ký cột trên pha tĩnh lỏng mà trong đó pha tĩnh thường được giữ trên một giá mang rắn, pha tĩnh trong sắc ký phân bố ngược dòng là một chất lỏng theo đúng nghĩa. Hai chất lỏng hay hỗn hợp chất lỏng không đồng tan này 'dịch chuyển' ngược chiều và tiếp xúc liên tục với nhau. Trong quá trình dịch chuyển, các chất trong hỗn hợp mẫu cần phân tích sẽ được hoà tan một cách cạnh tranh vào pha tĩnh và pha động. Mức độ hoà tan của chất giữa 2 pha phụ thuộc vào

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

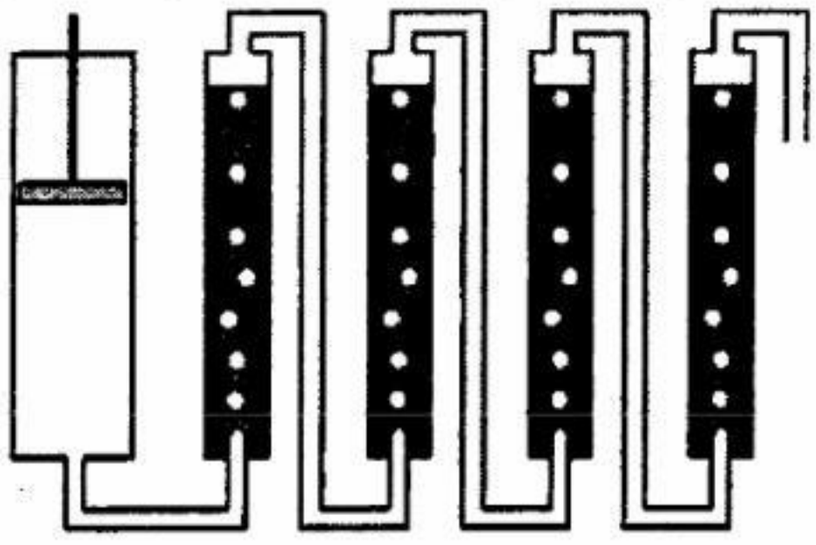
hệ số phân bố[1] của nó trong 2 pha. Các chất có hệ số phân bố khác nhau sẽ phân bố vào pha động và pha tĩnh với những tỉ lệ khác nhau và trong quá trình dịch chuyển của pha động sẽ dần dần tách ra khỏi nhau.

Trong quá trình pha động dịch chuyển, sự phân bố các chất giữa 2 pha diễn ra, các chất trong hỗn hợp mẫu (được đưa vào ở 1 đầu của pha tĩnh) sẽ dịch chuyển dần về cuối pha tĩnh và tách ra khỏi nhau. Các chất có hệ số phân bố trong pha động lớn sẽ tách ra trước trong pha động và đi ra khỏi hệ thống trước tiên. Chất có hệ số k càng lớn sẽ ra càng sớm. Các chất có hệ số phân bố trong pha tĩnh lớn hơn cũng được tách ra khỏi nhau và dịch chuyển trong pha tĩnh về phía cuối cột. Đến một thời điểm nào đó, khi các chất tan nhiều trong pha động đã được tách ra khỏi hệ thống, người ta ngừng không đưa pha động vào nữa mà dùng pha tĩnh để đẩy phần chất lỏng trong hệ thống ra. Các chất đã tách ra trong pha tĩnh cũng sẽ được hứng thành từng phân đoạn riêng biệt. Các chất tách trong hệ càng tốt khi "số đĩa lý thuyết" của hệ càng lớn, tức là khi sự tiếp xúc giữa 2 dung môi và chiều dài của "cột" (pha tĩnh) càng lớn.

Hệ dung môi sử dụng trong sắc ký phân bố ngược dòng thường là hỗn hợp của 2 hay nhiều (thường không quá 4) dung môi có khả năng hoà tan hạn chế vào nhau. Khi tỉ lệ các dung môi này vượt quá giới hạn hòa tan, chúng sẽ tách thành 2 pha với tỉ lệ của các dung môi trong mỗi pha hoàn toàn khác nhau. Hai pha này sẽ được sử dụng làm pha động và pha tĩnh trong sắc ký phân bố ngược dòng. Ví dụ, với hỗn hợp hai dung môi là n-butanol và nước ở 30°C, khi tỉ lệ hai dung môi vượt quá khả năng hoà tan vào nhau sẽ tách thành hai lớp chất lỏng riêng biệt là n-butanol bão hoà nước (với lượng nước là 7% kl/kl) và nước bão hoà n-butanol (với lượng n-butanol ~ 21% kl/kl).

Để một hỗn hợp chất lỏng có thể "đứng yên" làm pha tĩnh, người ta cần có những thiết bị đặc biệt. Thiết bị tách phân bố đơn giản nhất được sử dụng tách các hỗn hợp chất là thiết bị *Phân bố ngược dòng* (Countercurrent distribution - CCD) được L. C. Craig thiết kế vào những năm 1940. Thiết bị gồm nhiều bộ phận là những ống bằng thuỷ tinh có thiết kế đặc biệt để chứa pha tĩnh và pha động, khi vận hành có thể chuyển pha động từ ống này sang ống khác. Mỗi ống chiết được xem như một đĩa lý thuyết. Nhược điểm của thiết bị này là số đĩa không nhiều nên khả năng tách tương đối hạn chế và thiết bị tương đối cồng kềnh. Ngày nay, có một số thiết bị sắc ký phân bố ngược dòng với số đĩa lý thuyết lớn hơn, gọn và dễ sử dụng hơn đang được sử dụng trong các phòng thí nghiệm.

Sắc ký ngược dòng giọt nhỏ (Droplet countercurrent chromatography – DCCC) được Yoichiro Ito và cộng sự giới thiệu vào những năm 1970. DCCC sử dụng những ống nhỏ có đường kính trong 2 – 4 mm và chiều dài 40cm. Các ống này (khoảng 300 ống) được xếp đứng song song với nhau và nối với nhau qua hệ thống ống teflon với đầu ống này nối vào cuối ống kia. Pha động



Sơ đồ hệ thống DCCC với pha tĩnh màu sẫm trong các ống thuỷ tinh và pha động (nhẹ hơn) màu nhạt là những giọt nhỏ trong ống thuỷ tinh và trong các ống teflon

[1] Hệ số phân bố *k* của một chất tan là tỉ số giữa nồng độ chất đó trong pha tĩnh/nồng độ của nó trong pha động. Hệ số k càng lớn khi chất tan tan nhiều trong pha tĩnh. Để sắc ký phân bố hiệu quả, *k* nên gần bằng 1.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

được dịch chuyển qua pha tĩnh dưới dạng những giọt nhỏ nổi lên hay chìm xuống trong pha tĩnh (tuỳ thuộc vào pha động nặng hơn hay nhẹ hơn pha tĩnh). Nhược điểm của DCCC là tốc độ chậm và hiệu quả tách chưa cao do sự tiếp xúc kém giữa 2 pha.

Sắc ký phân bố ly tâm (Centrifugal partition chromatography - CPC) hay còn gọi là Sắc ký ngược dòng giọt nhỏ ly tâm (Centrifugal droplet countercurrent chromatography - CDCCC) cũng tương tự như DCCC nhưng dòng pha động có thể được bơm vào với tốc độ cao hơn (có thể tới 100 lần hơn so với DCCC) nhờ tác động của lực ly tâm. Thiết bị gồm các ống polymer chịu dung môi (như teflon) nối với nhau giống như DCCC nhưng được sắp xếp theo hướng từ tâm ra ngoài của 1 trục quay. Khi vận hành, các ống được quay quanh trục và lực ly tâm sẽ giữ cho pha tĩnh trong ống. Pha tĩnh được bơm vào hệ thống theo hướng từ tâm ra ngoài với pha động nặng hơn hay ngược lại với pha tĩnh nhẹ hơn. Do khả năng tiếp xúc giữa 2 dung môi tốt hơn nên CDCCC có số đĩa lý thuyết lớn hơn. Tốc độ phân tách của CPC cũng nhanh hơn so với DCCC.

Hệ thống *sắc ký phân bố ngược dòng tốc độ cao (High speed countercurrent chromatography* – HSCCC) là hệ thống được Y. Ito phát triển vào những năm 1980 và được sử dụng nhiều hiện nay trong các thiết bị sắc ký phân bố ngược dòng do hiệu quả phân bố cao và tốc độ phân tách nhanh. Cũng giống như DCCC, HSCCC sử dụng lực ly tâm để giữ một chất lỏng trong hệ thống làm pha tĩnh và chất lỏng còn lại được bơm vào hệ thống làm pha động. Thiết bị HSCCC bao gồm 1 ống nhựa teflon với 1 đầu của ống được dùng làm đầu vào còn đầu kia là đầu ra của hệ thống. Đầu vào và ra của hệ thống có thể đảo ngược tùy theo pha động là nặng hay nhẹ hơn so với pha tĩnh. Ống này được cuộn xoắn lại theo kiểu lò xo hay xoắn ốc, vừa có thể quay quanh trục của nó đồng thời được sắp xếp để có thể quay quanh 1 trục chung theo kiểu chuyển động của hành tinh quanh mặt trời. Tuỳ theo thiết kế mà thiết bị có số lượng cuộn và cách sắp đặt các cuộn có khác nhau. Trong đó, loại thiết bị có cách sắp xếp các cuộn xoắn theo 'kiểu J' phổ biến và được sử dụng nhiều nhất.

Trong phân lập các chất trong dược liệu, để việc phân lập hiệu quả hơn, đặc biệt là với các hỗn hợp phức tạp và có cấu trúc gần giống nhau, người ta thường sử dụng phối hợp các phương pháp sắc ký với các cơ chế tách khác nhau. Ví dụ, như phân tách cao chiết thành các phân đoạn đơn giản hơn bằng các phương pháp sắc ký cột cải tiến (FC, VLC) sau đó tách bằng sắc ký cột cổ điển với các loại pha tĩnh khác nhau, sắc ký rây phân tử, MPLC và HPLC điều chế. Việc áp dụng các phương pháp nên đi dần từ đơn giản tới phức tạp, từ các phương tiện, pha tĩnh rẻ tiền tới các loại có giá thành cao.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

CHƯƠNG 2

CARBOHYDRAT VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA CARBOHYDRAT

MỤC TIÊU HỌC TẬP: Sau khi học chương "Dược liệu chứa carbohydrat", sinh viên phải biết được:

1. Phân loại các carbohydrat và cấu trúc hoá học của tinh bột, cellulose và các dẫn chất, gôm, chất nhầy, pectin và các β-glucan, fructan.
2. Các phương pháp để nhận biết và đánh giá dược liệu chứa các thành phần nói trên.
3. Các dược liệu chứa carbohydrat trong giáo trình, chú trọng các dược liệu: Cát căn, Sen và Ý dĩ; Bông; Gôm arabic, Gôm adragant, Sâm bố chính, Mã đề, Thạch và Linh chi.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

ĐẠI CƯƠNG VỀ CARBOHYDRAT

I. ĐỊNH NGHĨA

Carbohydrat rất phổ biến trong giới sinh vật và là thành phần rất quan trọng của thực vật. Carbohydrat là nơi "tích trữ" năng lượng từ ánh sáng mặt trời thông qua quá trình quang hợp; tham gia vào cấu trúc tế bào cũng như biệt hóa tế bào. Carbohydrat cũng là nguồn carbon để tổng hợp các hợp chất khác và là nguồn thực phẩm quan trọng nuôi sống loài người và loài vật.

Cấu tạo của carbohydrat gồm có C, H và O trong phân tử. Đầu tiên, khi nghiên cứu những hợp chất đơn giản của nhóm này người ta thấy tỉ lệ C:H:O thường là 1:2:1 tương ứng với công thức $C_n(H_2O)_n$ nên gọi chúng là carbohydrat, ví dụ glucose $C_6H_{12}O_6$ có thể viết $C_6(H_2O)_6$. Sau này, người ta nhận thấy có ngoại lệ, một số đường không có dạng công thức chung là $C_n(H_2O)_n$ (ví dụ các methyl pentose CH_3–$(CHOH)_4$–CHO), các đường deoxy... hoặc có một số chất, tuy không phải thuộc carbohydrat nhưng vẫn có thể viết được theo công thức trên, ví dụ như acid lactic CH_3–CHOH–COOH có thể viết thành $C_3(H_2O)_3$. Do đó, để có một tên gọi chính xác, hội nghị quốc tế về danh pháp đã đề nghị gọi nhóm hợp chất này là glucid. Tuy nhiên, thuật ngữ carbohydrat vẫn còn thông dụng.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Carbohydrat và dược liệu chứa carbohydrat

Có thể định nghĩa carbohydrat hay glucid là những nhóm hợp chất hữu cơ bao gồm các monosaccharid, những dẫn chất và những sản phẩm ngưng tụ của chúng qua dây nối glycosid.

Các carbohydrat có thể chia thành 3 nhóm chính: *monosaccharid*, *oligosaccharid* và *polysaccharid*.

Monosaccharid (đường đơn) là những polyhydroxyaldehyd (aldose) và polyhydroxyceton (cetose) có mạch 3 hay nhiều hơn 3 carbon. Monosaccharid là những đường đơn không thể cho carbohydrat đơn giản hơn khi bị thủy phân. Chúng có thể tồn tại ở dạng mạch hở hay dạng mạch vòng bán acetal. Monosaccharid tồn tại trong tự nhiên có từ bốn carbon (tetrose) đến 9 carbon (nonose). Các dẫn xuất của chúng như khử hóa nhóm aldehyd thành alcol (các alditol) hay sự oxy hóa các nhóm thế tận cùng thành acid carboxylic (các acid uronic) hay thay thế 1 nhóm hydroxy bằng hydro (các đường deoxy), nhóm thiol hay amino (các glycosamin) cũng được xem như là các dẫn chất monosaccharid.

Oligosaccharid[1] là những carbohydrat khi thủy phân cho từ 2 đến 9 đơn vị đường (các đường đơn). Trên thực tế, thường chỉ gặp các oligosaccharid có từ 2 – 6 đơn vị đường. Ví dụ, maltose (4-*O*-α-*D*-glucopyranosyl-D-glucose), gentibiose (6-*O*-β-*D*-gluco-pyranosyl-*D*-glucose), cellobiose (4-*O*-β-*D*-gluco-pyranosyl-*D*-glucose), lactose (4-*O*-β-*D*-galacto-pyranosyl-*D*-glucose). Oligosaccharid có nhiều đơn vị đường đơn thường hay gặp trong các mạch đường của các heterosid, đặc biệt trong các saponin. Ví dụ, mạch đường của clematosid B, một trong những saponin của cây *Clematis mandshurica* là glc 1→4 glc 1→4 xyl 1→2 arab 1→2 arab 1→4 rham.

Polysaccharid (còn được gọi là glycan) có phân tử rất lớn gồm nhiều monosaccharid nối với nhau bằng dây nối glycosid. Số lượng các đường đơn trong một polysaccharid rất lớn từ 100 – 100.000 đơn vị với khối lượng phân tử từ $1,6 \times 10^4 - 1,6 \times 10^7$ đơn vị khối. Các polysaccharid thường được chia thành hai nhóm chính:

Homopolysaccharid (*homoglycan*): là các polysaccharid mà các đơn phân chỉ gồm một loại đường duy nhất. Ví dụ: tinh bột, cellulose cấu tạo bởi *n* phân tử glucose; inulin cấu tạo bởi *n* phân tử fructose. Tên chung của các chất này thường được ghép bởi tên gốc của đường đơn + tiếp vĩ ngữ *~an*. Ví dụ glucan[2] là tên chung để chỉ các polymer của glucose như tinh bột và cellulose; fructan để chỉ các polymer của fructose như inulin.

Heteropolysaccharid (*heteroglycan*): là các polysaccharid mà phân tử có hai hay nhiều loại đường đơn khác nhau. Nhóm này có cấu tạo phức tạp, tùy theo thành phần đường đơn mà người ta còn chia thành nhiều nhóm nhỏ như

---

[1] *Oligo~* theo tiếng Hy Lạp có nghĩa là *một ít* so với *mono~* (*một*) và *poly~* (*nhiều*).

[2] Cần phân biệt giữa *glycan* và *glycosid* (từ chữ Hy Lạp *glycos* có nghĩa là *ngọt* để chỉ các đường nói chung) với *glucan* và *glucosid* để chỉ các glycan và glycosid của đường glucose.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

pectin, gôm, chất nhầy v.v... Tên gọi chung của các chất có cùng loại đường cũng được gọi bằng tên gốc của đường + tiếp vĩ ngữ *~an*. Tuy nhiên, do có hai loại đường trở lên nên tên chính sẽ là tên gốc của đường có tỉ lệ cao nhất còn tên gốc của các đường có tỉ lệ thấp hơn sẽ được dùng làm tiếp đầu ngữ. Tỉ lệ của đường nào trong phân tử càng thấp thì nằm càng xa phần tên gốc (tức là phía đầu của tên). Ví dụ, hợp chất galactoglucomannan có tỉ lệ đường là manose > glucose > galactose. Khi tỉ lệ đường chưa được xác định người ta viết các đường theo thứ tự bảng chữ cái như là phần tiếp đầu ngữ còn tên chính sẽ là *glycan*. Ví dụ, arabinogalactomannoglycan.

Oligosaccharid và polysaccharid còn được gọi chung là các *holosid*[1] để phân biệt với các *heterosid* là những chất có cấu tạo bởi 1 phần đường và phần còn lại không phải là đường.

Carbohydrat còn có thể kết hợp với các chất phân tử lớn không phải là đường để tạo nên các peptidoglycan, proteoglycan và glycoprotein; các glycolipid và lipopolysaccharid và các glysaminoglycan.

Phần dưới đây chỉ đề cập đến phần polysaccharid.

II. TINH BỘT

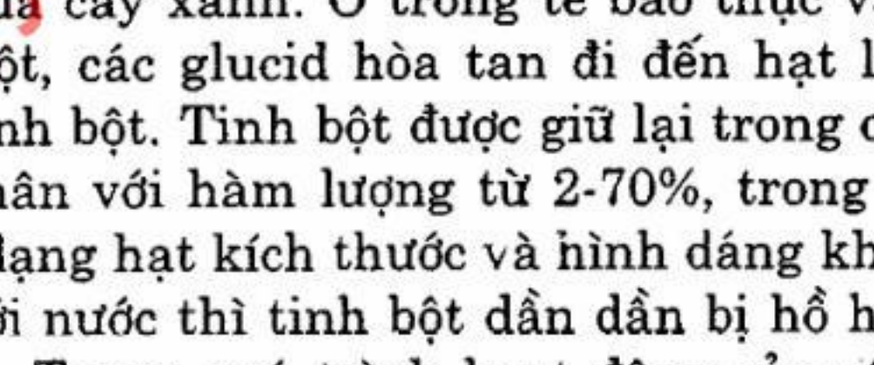
Tinh bột là sản phẩm quang hợp của cây xanh. Ở trong tế bào thực vật, hạt lạp không màu là nơi tạo ra tinh bột, các glucid hòa tan đi đến hạt lạp không màu và được để dành dưới dạng tinh bột. Tinh bột được giữ lại trong các bộ phận của cây như củ, rễ, quả, hạt, thân với hàm lượng từ 2-70%, trong lá thường không quá 1-2%. Tinh bột ở dưới dạng hạt kích thước và hình dáng khác nhau, không tan trong nước lạnh, đun với nước thì tinh bột dần dần bị hồ hóa và độ nhớt của dung dịch cũng tăng lên. Trong quá trình hoạt động của cây, tinh bột dưới tác động của enzym có sẵn trong cây bị cắt nhỏ thành những đường đơn giản ở dạng hòa tan và được chuyển đến những bộ phận khác nhau của cây.

1. Cấu trúc hóa học của tinh bột

Tinh bột được cấu tạo bởi 2 loại polysaccharid được gọi là amylose và amylopectin.

1.1. Amylose

Phân tử amylose là một chuỗi hiện nay được biết đến hàng nghìn đơn vị *α-D* glucose nối với nhau theo dây nối (1→4).



Amylose và dây nối *α-D-1→4* glucopyranosyl

[1] *Holo~* theo tiếng Hy Lạp có nghĩa là *toàn thể*, còn *hetero~* có nghĩa là *khác*.

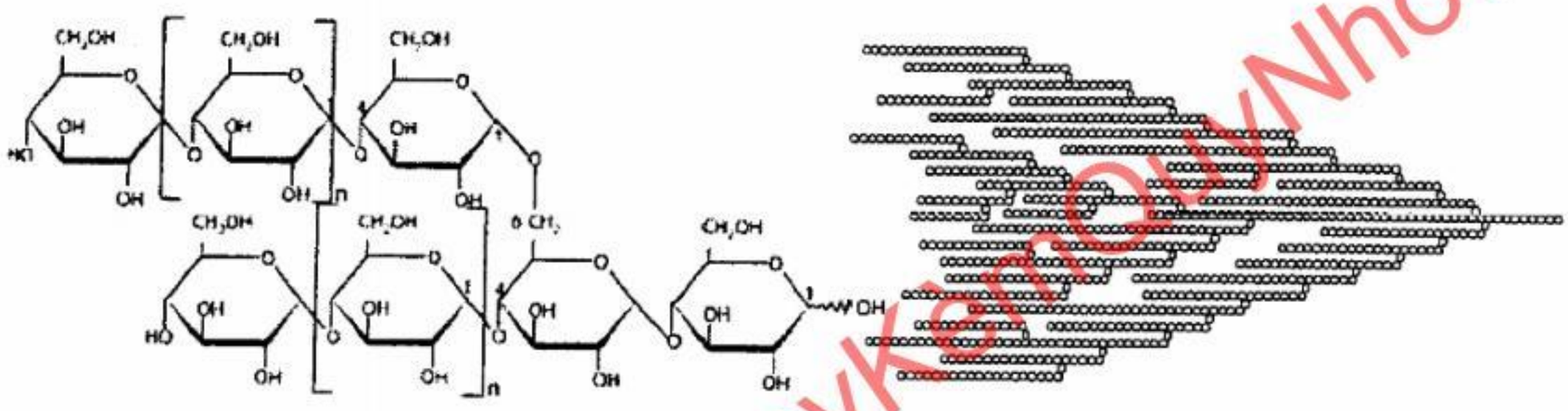
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Quan niệm trước đây cho rằng chỉ có từ 200-400 đơn vị vì do quá trình chiết xuất và phân tích, mạch đường bị đứt. Phân tử amylose là các chuỗi thẳng không phân nhánh.

Công thức lập thể của các đơn vị glucose ở dạng ghế C1 nối với nhau tạo thành những vòng xoắn, mỗi vòng có 6 đơn vị glucose.

1.2. Amylopectin

Amylopectin có phân tử lượng lớn hơn nhiều so với amylose, khoảng 10^6-10^7 gồm 5000-50.000 đơn vị glucose và phân nhánh nhiều. Các đơn vị *α-D*-glucose trong mạch cũng nối với nhau theo dây nối (1 → 4) còn chỗ phân nhánh thì theo dây nối (1→ 6).



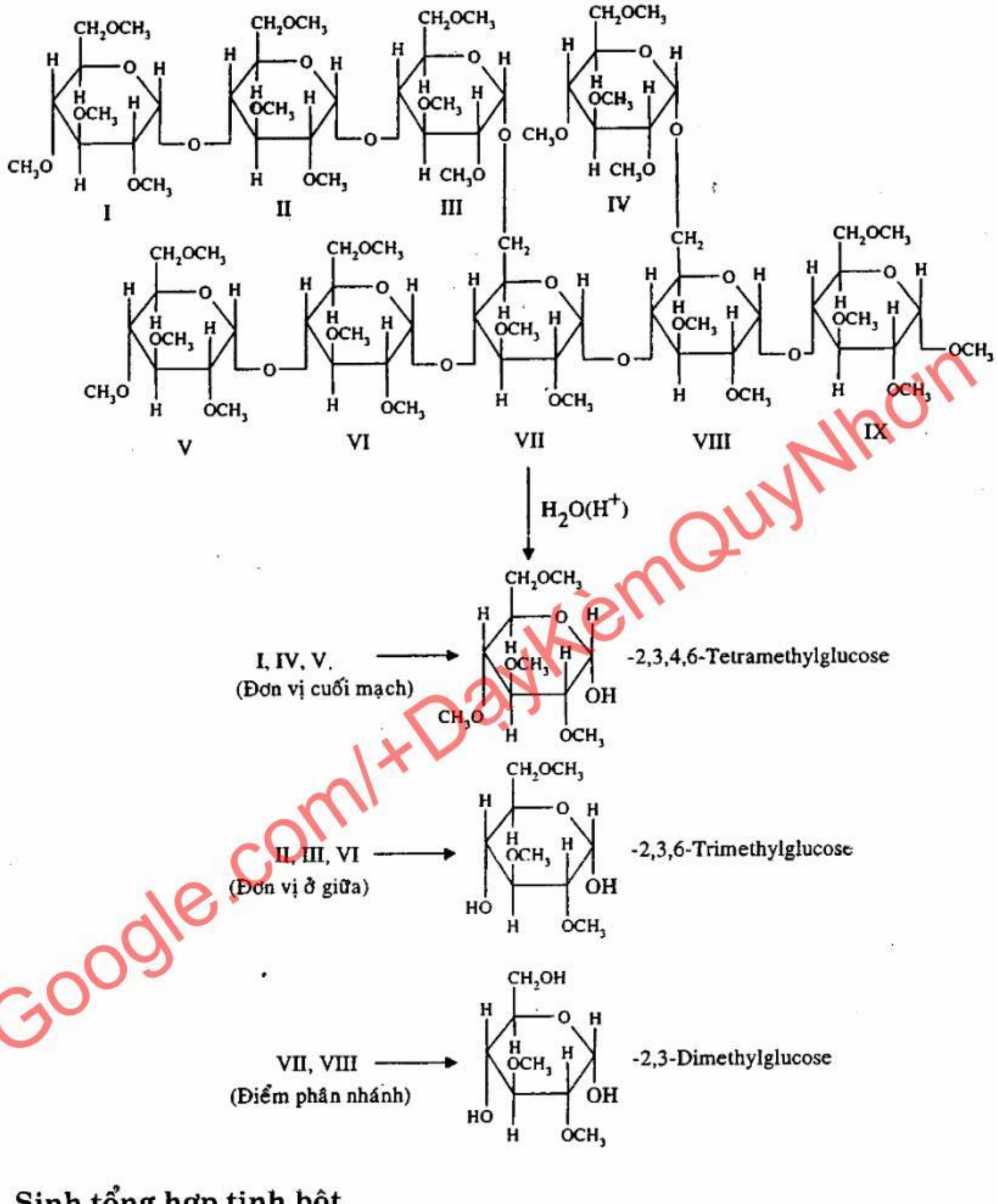
Cấu tạo của amylopectin

Để đánh giá mức độ phân nhánh, người ta methyl hóa toàn bộ các nhóm OH của phân tử amylopectin rồi sau đó thủy phân và xác định tỉ lệ các đường thu được. Mức độ phân nhánh được suy ra từ lượng 2,3-dimethylglucose thu được. Lượng 2,3,4,6-tetramethyl glucose ứng với những đơn vị đường tận cùng của mạch; còn lượng 2,3,6-trimethylglucose ứng với những đơn vị glucose trong mạch. Ngoài ra, còn có thể xác định lượng glucose đầu mạch dựa vào tính khử của amylopectin không methyl hoá. Cần nhớ rằng đây là glucose có OH bán acetal tự do. Mạch bên trong (mạch giữa 2 điểm phân nhánh) của amylopectin có khoảng 5-9 đơn vị glucose, những mạch bên ngoài có từ 10-18 đơn vị. (xem sơ đồ ở trang bên)

Trong các loại tinh bột, tỉ lệ amylose trung bình là 15-30%, còn lại là amylopectin. Tỉ lệ này tuỳ thuộc vào loài thực vật. Tuy nhiên, người ta cũng tạo ra được những chủng thực vật có nhiều amylose, ví dụ ngô, có tinh bột chứa đến 75% amylose.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



2. Sinh tổng hợp tinh bột

Amylose trong tinh bột được tạo thành có sự tham gia của các enzym gọi là "*enzym vận chuyển glycosyl*" để nối dài mạch đường. Trước tiên phải có một oligosaccharid có ít nhất 3 đơn vị glucose nối với nhau theo dây nối α-1,4. Chất cung cấp glucose tiếp để nối dài là UDP-glucose và ADP-glucose trong các nucleotid.

$$(Glucose)_n + UDP\text{-}glucose \rightarrow (Glucose)_{n+1} + UDP$$

$$(Glucose)_{n+1} + UDP\text{-}glucose \rightarrow (Glucose)_{n+2} + UDP \text{ v.v...}$$

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Amylopectin được tạo thành từ amylose có sự tham gia của một loại enzym vận chuyển gọi là Q-enzym. Bước đầu enzym này cắt một polysaccharid mà mạch có chứa ít nhất 40 đơn vị glucose làm thành hai đoạn. Một trong hai đoạn đó (đoạn mang đơn vị glucose có OH bán acetal tự do) liên kết với enzym rồi được chuyển đến một điểm thích hợp của amylose để thiết lập nên mạch nhánh α-1,6.

Khi được tổng hợp trong cây, các phân tử tinh bột được "cuộn" lại thành những hạt tinh bột có cấu trúc bán tinh thể và có hình dạng và kích thước nhất định, phụ thuộc vào loài cây.

3. Tính chất của tinh bột

3.1. Hình dạng tinh bột

Tùy theo loài cây và mức độ trưởng thành của cây mà hình dáng và kích thước thay đổi. Đây là một đặc điểm giúp ích cho việc kiểm nghiệm một dược liệu chứa tinh bột.

Khi soi dưới kính hiển vi, hạt tinh bột của các loài thực vật khác nhau có hình dạng và kích thước khác nhau. Về hình dáng, hạt tinh bột có thể hình cầu, hình trứng, hình đa giác... Các hạt tinh bột có thể rời hay đôi khi dính lại thành những hạt tinh bột kép đôi hay kép ba hoặc có khi tụ thành đám. Kích thước hạt tinh bột có thể thay đổi từ 1-100 µm. Hạt tinh bột có cấu tạo bởi nhiều lớp đồng tâm sắp xếp chung quanh một điểm gọi là rốn hạt (hay còn gọi là tễ). Các lớp này tạo nên là do hạt tinh bột lớn dần bằng cách tăng thêm các lớp ở phía ngoài. Các lớp này khác nhau ở chỉ số chiết quang và hàm lượng nước. Dưới kính hiển vi có thể thấy như những vân trên hạt. Các vân này có thể rõ hay mờ.

Sự khác nhau về cấu tạo mạng cấu trúc của hạt tinh bột làm nên sự khác biệt này. Các vân sáng của hạt tinh bột là vùng kết tinh cấu tạo bởi các dây nhánh glucose liên kết với nhau bằng dây nối α-D 1→4. các vân tối là vùng vô định hình với các dây nối 1→6 [Cui S. W. *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*; Taylor & Francis, 2005, 325-7].

Hạt tinh bột lúa mì
Quan sát dưới kính hiển vi dưới ánh sáng thường (hình lớn) và ánh sáng phân cực (hình nhỏ)

Rốn có thể là một điểm, một vạch ngắn, hình hoa thị hay một vạch dài, một vạch dài phân nhánh. Dưới kính hiển vi phân cực, hạt tinh bột có hiện tượng chữ thập đen. Tất cả các đặc điểm trên giúp cho việc xác định các hạt tinh bột, phân biệt tinh bột của các loài khác nhau và xác định các trường hợp giả mạo.

Dưới đây là một số loại hạt tinh bột hay gặp.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

3.1.1. Hạt hình trứng và hình thận

Tinh bột khoai tây chế từ củ cây Khoai tây – *Solanum tuberosum* L., thuộc họ Cà-Solanaceae. Hạt tinh bột hình trứng, rốn hạt ở đầu hẹp, các vân đồng tâm dễ nhận. Thỉnh thoảng có hạt kép 2 hoặc 3. Kích thước trung bình 50 µm nhưng cũng có hạt lớn đến 80-100 µm.

Tinh bột hoàng tinh chế từ củ cây Dong – *Maranta arundinacea* L., thuộc họ Dong-Marantaceae (đừng nhầm với các cây Hoàng tinh – *Polygonatum* spp.). Hạt hình trứng kích thước 30-60 µm.

Tinh bột Sắn (Khoai mì) chế từ cây Sắn (Khoai mì) – *Manihot esculenta* Crantz; họ Thầu Dầu-Euphorbiaceae. Hạt hình cầu phần lớn một đầu bị lẹm và hơi lõm trông như cái chuông. Rốn hạt hình sao, kích thước 3-35 µm.

Tinh bột Hoài sơn, chế từ củ của cây Củ mài – *Dioscorea persimilis* Prain và Burkill, họ Củ nâu-Dioscoreaceae. Hạt hình trứng hay hình thận, kích thước trung bình 40 µm, rốn hạt dài.

Tinh bột đậu, chế từ hạt của nhiều loại đậu – *Phaseolus* spp.; họ Đậu-Fabaceae. Hạt hình trứng hay hình thận, kích thước trung bình 35 µm, rốn hạt dài và phân nhánh.

Tinh bột sen, chế từ hạt cây Sen – *Nelumbo nucifera* Gaertn., họ Sen-Nelumbonaceae. Hạt tinh bột hình trứng hay hình thận, kích thước hạt từ 3-25 µm, rốn hạt hình vạch.

3.1.2. Hạt hình đĩa hay hình thấu kính dẹt

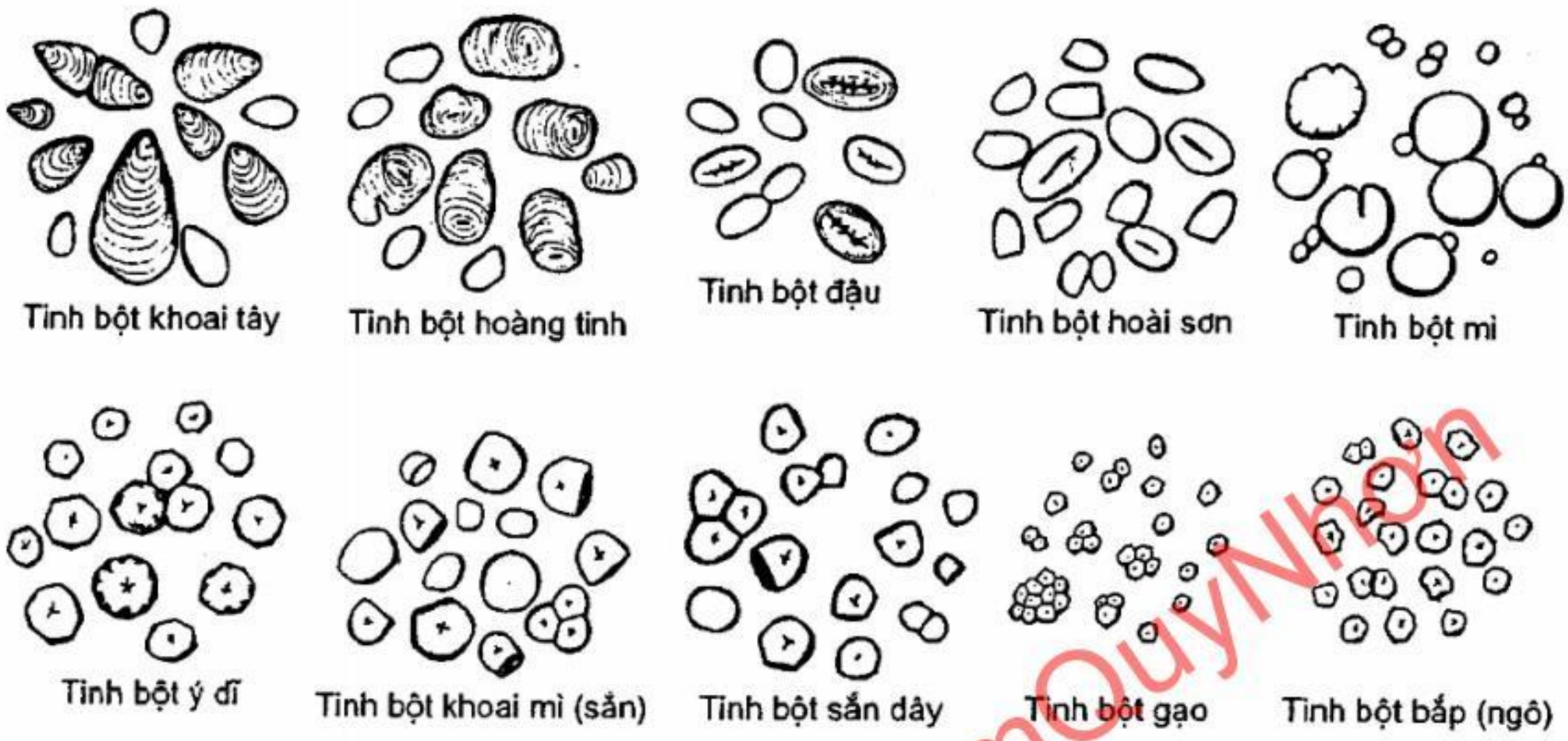
Tinh bột mì chế từ hạt của cây lúa mì – *Triticum vulgare* L., họ Lúa-Poaceae, kích thước: hạt lớn 30 µm, hạt bé 6-7 µm. Tùy theo vị trí nhìn mà thấy hình tròn hoặc hình thấu kính lồi 2 mặt. Rốn hạt là 1 điểm ở giữa hạt, nhìn không được rõ.

3.1.3. Hạt hình đa giác

Tinh bột gạo chế từ hạt cây Lúa – *Oriza sativa* L.; họ Lúa-Poaceae. Hạt đa giác, nhỏ, kích thước từ 4-6 µm, thường được kết thành đám. Rốn hạt không rõ.

Tinh bột ngô (bắp), chế từ hạt cây Ngô – *Zea mays* L.; họ Lúa-Poaceae. Hạt đa giác, rốn hạt ở giữa rất rõ, kích thước 15-30 µm.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Hình dạng một số loại hạt tinh bột

3.2. Sự hồ hóa và hòa tan tinh bột

Hạt tinh bột không tan trong nước lạnh nên hình dạng không thay đổi khi ngâm trong nước. Tuy nhiên, một lượng nước nhất định sẽ được hấp thụ vào cấu trúc của hạt tinh bột làm cho hạt tinh bột trương nở nhưng không ảnh hưởng tới cấu trúc của hạt. Mức độ trương nở tùy thuộc vào loại tinh bột. Ví dụ, thể tích trương nở của tinh bột ngô, tinh bột Khoai tây và tinh bột Lúa mì trong nước lần lượt là 9,1; 12,7 và 28,4%. Nếu làm mất nước, hạt tinh bột trở lại tình trạng ban đầu.

Khi nâng dần nhiệt độ lên, lượng nước hấp thụ vào hạt tinh bột tăng lên và các phân tử nước can thiệp vào cấu trúc của hạt tinh bột. Các liên kết hydro giữa các mạch của đại phân tử tinh bột bắt đầu đứt ra một phần, hạt tinh bột bắt đầu trương phồng lên và hạt tinh bột không thể trở lại trạng thái ban đầu.

Khi tăng nhiệt độ tới một khoảng nhiệt độ nhất định nào đó (khoảng 50-80^{0}C), cấu trúc của hạt tinh bột thay đổi mạnh và phân tử tinh bột bắt đầu tan trong nước. Nếu tiếp tục tăng nhiệt độ, đại phân tử tinh bột sẽ tan hoàn toàn vào trong nước tạo nên một dung dịch nhớt được gọi là hồ tinh bột.

Khoảng nhiệt độ mà tinh bột bắt đầu hoà tan cho tới khi tan hoàn toàn được gọi là nhiệt độ hồ hoá. Mỗi tinh bột có một khoảng nhiệt độ hồ hoá riêng. Ví dụ, tinh bột Ngô có nhiệt độ hồ hoá là 62 – 73^{0}C, tinh bột khoai tây có nhiệt độ hồ hoá là 59 – 70^{0}C còn tinh bột Lúa mì có nhiệt độ hồ hoá là 50 – 62^{0}C.

Trong dung dịch ở nhiệt độ thường, các phân tử amylose tồn tại dưới dạng những chuỗi xoắn như lò xo. Mỗi vòng xoắn như vậy có 6 đơn vị glucose. ở nhiệt độ cao, chuyển động nhiệt làm cho chuỗi xoắn này duỗi ra, khi để nguội dạng chuỗi xoắn sẽ được tái lập. Hồ tinh bột có độ nhớt cao và có tính

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

dính. Ở nồng độ cao nhất định, khi để nguội hồ tinh bột có thể tạo nên dạng gel và có tính tạo màng.

3.3. Sự thủy phân tinh bột

3.3.1. Thủy phân acid

Khi thủy phân tinh bột bằng acid thì sản phẩm cuối cùng là glucose.

$$C_6H_{12}O_6\ (C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O \rightarrow (1+n)\ (C_6H_{12}O_6)$$

Sự thủy phân qua các chặng: dextrin, erythrodextrin, achrodextrin, maltose và cuối cùng là glucose. Amylose dễ bị thủy phân hơn amylopectin vì dây nối (1→4) dễ bị cắt hơn là dây nối (1→ 6).

3.3.2. Thủy phân bằng enzym

Enzym amylase

Có 2 loại chính: α-amylase và β-amylase. Enzym α-amylase (α-1,4-glucan-4-glucano hydrolase) phổ biến trong cây, nhiều nhất là các hạt ngũ cốc nẩy mầm, ngoài ra còn có trong nấm mốc, nước bọt, dịch tụy. α-amylase chịu được nhiệt độ đến 70°C, ở nhiệt độ này thì các enzym khác mất hoạt tính. Enzym β-amylase (=β-1,4-glucan maltohydrolase) có trong Khoai lang, Đậu nành và một số hạt ngũ cốc, chỉ chịu được nhiệt độ đến 50°C nhưng chịu được môi trường acid (pH 3,3) cao hơn so với enzym α-amylase. Người ta dựa vào ảnh hưởng khác nhau về độ pH và nhiệt độ đó để tách 2 loại enzym trên. Khả năng tác dụng lên tinh bột của 2 loại enzym cũng khác nhau. Trong thực tế người ta dùng thóc nảy mầm (có chứa amylase) để làm kẹo mạch nha.

Enzym β -amylase cắt xen kẽ những dây nối α-(1→4)-glucosid để tạo thành các đường maltose bắt đầu từ phần cuối polysaccharid không có nhóm OH bán acetal, kết quả thu được gần 100% đường maltose khi tác động lên amylose. Đối với amylopectin, β-amylase chỉ cắt được các dây nối (1→ 4), khi gặp mạch nhánh có dây nối α-1→6 thì dừng lại, kết quả tạo thành maltose và dextrin, lượng maltose chỉ đạt từ 50-60%.

Enzym α-amylase cắt một cách ngẫu nhiên vào dây nối (1→4). Đối với amylose thì sản phẩm cuối cùng khoảng 90% maltose ngoài ra có một ít glucose. Đối với amylopectin, α-amylase cũng chỉ tác động đến dây nối (1→4) mà không cắt được dây nối (1→6) vì thực tế người ta tìm thấy các phân tử isomaltose (=6-*O*-α-*D*-gluco-pyranosyl-*D*-glucopyranose) trong dịch thủy phân. Enzym α-amylase tiếp tục cắt được những dextrin mà enzym β -amylase để lại để tạo thành các dextrin phân tử nhỏ hơn. Như vậy α-amylase tác dụng lên tinh bột thì sản phẩm thu được chủ yếu là maltose rồi đến glucose và dextrin phân tử nhỏ.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Tinh bột nguồn gốc khác nhau, enzym nguồn gốc khác nhau thì hiệu quả phản ứng thủy phân cũng khác nhau.

Khi sự thủy phân xảy ra thì độ nhớt của dung dịch hồ tinh bột giảm dần, khả năng khử tăng lên và phản ứng với iod chuyển dần từ xanh sang tím rồi nâu hồng.

Các enzym khác

Một số enzym trong nấm mốc (*Aspergillus niger, Rhizopus delemar*) thủy phân tinh bột rất tốt và được sử dụng trong quy trình kỹ nghệ để chuyển tinh bột thành glucose. Các enzym này cũng tác động lên dây nối (1→4). Các enzym được biết là: amyloglucosidase, glucoamylase, γ-amylase. Enzym phosphorylase có trong Đậu, Khoai tây, trong lá và các bộ phận dự trữ của thực vật bậc cao tác dụng lên tinh bột để cho glucose-1-phosphat nhưng phải có mặt của α-amylase và enzym tách nhánh như R-enzym thì sự thủy phân mới hoàn toàn.

Một số enzym khác có khả năng tác động lên dây nối (1→6) được gọi là enzym tách nhánh ví dụ: R-enzym, isoamylase (có trong nấm men bia).

4. Chế tinh bột

Chúng ta cần phân biệt bột với tinh bột. Bột mì, bột gạo khác tinh bột mì, tinh bột gạo. Muốn có bột chỉ cần nghiền nhỏ hạt ngũ cốc hay các nguyên liệu giàu tinh bột sau khi đã loại vỏ, nhưng muốn có tinh bột thì phải chế biến. Trong thành phần của bột, ngoài glucid còn có protein, lipid, muối khoáng, vitamin... còn tinh bột thì thành phần chính là glucid chỉ có một lượng nhỏ (0.5% đến 2%) phosphat, chất béo, protein và chất khoáng. Liên kết với phân tử tinh bột. Nguyên tắc chung để chế tinh bột gồm có các giai đoạn: 1) Làm nhỏ nguyên liệu để giải phóng hạt tinh bột ra khỏi các tế bào, 2) nhào với nước và lọc qua rây hoặc qua vải, lấy phần dưới rây, 3) cho lên men, 4) rửa nước rồi phơi khô.

Chế tinh Bột mì

Muốn có tinh Bột mì, ta nhào Bột mì dưới một dòng nước, nước cuốn tinh bột đi để lại gluten là một khối nhão, dính tức là phần protein. Hứng nước vào thùng, tinh bột lắng xuống và còn lẫn một ít gluten. Cho lên men để phân hủy gluten bằng cách trộn với 1 ít nước cũ. Sau khi lên men, gạn bỏ lớp nước bên trên, rửa thêm 1 vài lần bằng nước mới rồi đem sấy hoặc phơi khô.

Chế tinh Bột gạo

Ngâm gạo hay tấm với nước vôi trong 7 ngày, vớt gạo ra cho ráo nước rồi đem xay, trong lúc xay có thêm nước. Bột xay lẫn nước phải đem lọc 2 lần, lần đầu qua rây thưa, lần sau qua rây mắt mau hơn. Tinh bột qua rây còn lẫn một ít protein, cần ngâm thêm với nước vôi rồi sau đó rửa bằng nước lã, gạn lấy tinh bột rồi phơi khô.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

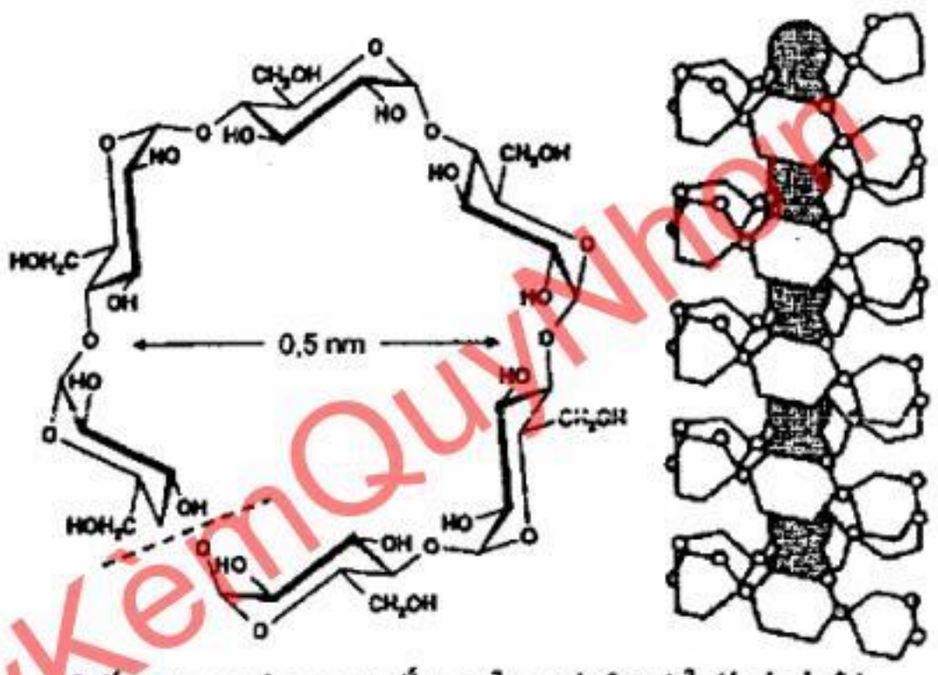
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

5. Định tính và định lượng

5.1. Định tính tinh bột

Để định tính tinh bột chỉ cần cho tác dụng với dung dịch iod trong nước, tinh bột sẽ có màu xanh tím, có thể định tính thẳng trên vi phẫu để xác định các tổ chức chứa tinh bột. Màu tạo thành giữa tinh bột và iod được giải thích do sự hấp phụ iod của phân tử tinh bột. Amylose cho với thuốc thử iod màu xanh đậm có cực đại phổ hấp thu khoảng 660 nm; còn amylopectin thì có màu tím đỏ và cực đại hấp thụ khoảng 540 nm.

Người ta cho rằng iod bị hấp phụ vào phía trong vòng xoắn ốc, mỗi vòng xoắn ứng với 6 đơn vị glucose thì có 1 phân tử iod. Những phân tử chưa đủ 6 đơn vị glucose thì không phản ứng với iod.



Cấu tạo vòng xoắn của phân tử tinh bột và sự hấp thụ phân tử iod giữa vòng xoắn

Đây là phản ứng đặc trưng để phát hiện tinh bột. Ngược lại, cũng có thể dùng dung dịch hồ tinh bột để phát hiện iod ở nồng độ 2×10^{-6}. Sự có mặt của cồn, tanin, acid nitric, clor sẽ cản trở phản ứng.

5.2. Định lượng tinh bột

5.2.1. Định lượng bằng phương pháp thủy phân acid

Thủy phân trực tiếp

Nguyên liệu (2,5-3 g) được rửa kỹ bằng nước cất nguội, sau đó thủy phân trong vài giờ bằng 200 ml H_2O và 20 ml HCl. Làm nguội và trung tính bằng NaOH. Thêm nước đến một thể tích xác định, lấy một phần chính xác rồi định lượng glucose tạo thành và suy ra lượng tinh bột.

Khối lượng tinh bột = khối lượng glucose thu được x 0,9

Phương pháp này chỉ ứng dụng cho những nguyên liệu chứa chủ yếu là tinh bột vì các glycan khác khi bị thủy phân cho ra các đường khử tương tự như tinh bột có thể ảnh hưởng tới kết quả định lượng, dẫn tới sai số.

Thủy phân bằng enzym rồi tiếp theo bằng acid

Nguyên tắc của phương pháp là dùng dịch chiết mạch nha (chứa các enzym thủy phân tinh bột) cho tác dụng lên nguyên liệu để chuyển tinh bột thành đường hòa tan (maltose và một số đường khác), sau đó dùng acid để thủy phân tiếp. Glucose tạo thành sẽ được định lượng bằng trong những phương pháp thông thường.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Phương pháp dựa trên cơ sở của Purse

Phương pháp này hiện nay được dùng để định lượng tinh bột trong nguyên liệu thực vật bao gồm các giai đoạn: loại đường bằng ethanol, hòa tan tinh bột bằng acid perchloric loãng và nguội, tách tinh bột dưới dạng phức tinh bột-iod không tan, phân hủy phức rồi thủy phân tinh bột thành glucose và định lượng glucose bằng phương pháp tạo màu với anthron (màu xanh) hoặc bằng các phương pháp khác.

5.2.2. Phương pháp không thủy phân để định lượng tinh bột

Phương pháp dùng phân cực kế

Trong phương pháp này người ta dùng dung dịch calci chlorid đặc và nóng để hòa tan tinh bột, sau đó là định lượng bằng cách đo độ quay cực a_D^{20} của dung dịch tinh bột là +200.

Phương pháp tạo phức với iod

Khi cho dung dịch tinh bột tác dụng với iod thì tạo phức có màu, có thể dùng để định lượng. Người ta dùng acid perchloric để hòa tan tinh bột rồi cho tác dụng với iod, đo màu so sánh với mẫu tinh bột tinh chế. Trong phương pháp này không cần thiết phải loại đường.

5.3. Xác định tạp chất

Để kiểm nghiệm tinh bột, ngoài chỉ tiêu định tính, Dược điển Việt Nam IV quy định kiểm tra tạp chất lạ, giới hạn acid, sắt, chất oxy hóa, sulfur dioxid, kim loại nặng, tro sulfat, độ ẩm và độ nhiễm khuẩn.

6. Công dụng

Tinh bột là thành phần chính trong lương thực. Nguyên liệu có nhiều tinh bột là các hạt ngũ cốc, các loại củ như khoai, sắn (khoai mì), củ mài, củ đao (= dong riềng – *Canna edulis* Ker. Gawl., họ Chuối hoa - Cannaceae). Có khi bộ phận dự trữ lại là thân cây ví dụ cây báng (*Arenga pinnata* Merr., họ Cau-Arecaceae).

Trong ngành dược tinh bột được dùng làm tá dược viên nén. Tinh bột còn được dùng làm nguyên liệu đầu để điều chế nhiều chất khác như maltose, glucose, ethanol, monosodium glutamat ... sử dụng trong công nghiệp và đời sống.

Trên thế giới, tinh bột được sản xuất chủ yếu là tinh bột ngô. Ở Việt nam, nguồn để chế tinh bột dùng trong nước và xuất khẩu quan trọng nhất là sắn-*Manihot esculenta Crantz*. L. Giống KM 94 cho hàm lượng tinh bột cao hiện đang được trồng rộng rãi. Giá trị xuất khẩu của 1 tấn tinh bột sắn là 200 USD và cứ 3,5 tấn sắn tươi thì cho 1 tấn tinh bột. Một số nhà máy sản xuất tinh bột sắn đã được xây dựng tại Quảng Nam, Bình Phước, Tây Ninh để xuất khẩu. Nhà máy thực phẩm Linh Xuân (TP.HCM) đã sản xuất maltodextrin từ tinh bột để cho vào sữa bột Dielac.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Các sản phẩm biến đổi từ tinh bột hiện cũng sử dụng nhiều trong thực phẩm và dược phẩm. Ví dụ như tinh bột tan, tinh bột được oxy hoá, acetyl hoá, tinh bột hydroxyethyl hoá, phosphoryl hoá, ester hoá với acid vô cơ hay tạo các liên kết chéo v.v...

Tinh bột tan là loại tinh bột được thuỷ phân một phần bởi acid vô cơ để cho dạng có thể hoà tan thành dung dịch trong suốt trong nước nóng. Thuỷ phân xa hơn bằng acid nitric sẽ thu được dextrin. Chất lượng của dextrin phụ thuộc vào mức độ thuỷ phân và màu sắc của nó. Dextrin loại tốt gồm chủ yếu là erythrodextrin và còn khoảng 15% tinh bột tan. Dextrin loại xấu hơn thường bị thuỷ phân xa hơn, có 1 phần maltose và có màu vàng sậm.

Khi cho tinh bột tác dụng với các enzyme α-amylase và cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) sẽ thu được cyclodextrin. Cyclodextrin là nhóm các oligosaccharid vòng có từ 5 đơn vị đường glucopyranose trở lên, liên kết với nhau và đóng vòng bằng dây nối α-*D* 1→4. Các cyclodextrin tự nhiên được dùng phổ biến là α-, β- và γ-cyclodextrin với số lượng đơn vị đường glucose tương ứng là 6, 7 và 8. Các CGTase có nguồn gốc từ các vi sinh vật. Các CGTase khác nhau sẽ cho hỗn hợp các cyclodextrin với tỉ lệ khác nhau. Do cấu tạo vòng, phân tử cyclodextrin có hình dạng nón cụt với xoang rỗng bên trong kém phân cực và mặt ngoài phân cực. Do phần xoang kém phân cực, cyclodextrin có thể nhận các phân tử kém phân cực nằm trong xoang, tạo thành các phức hợp. Các phức hợp này hiện nay có nhiều ứng dụng trong thực tế.

Cyclodextrin được sử dụng trong nhiều ngành như thực phẩm, mỹ phẩm, hoá nông và dược phẩm. Trong ngành dược, các cyclodextrin được dùng để tăng khả năng hoà tan các chất kém phân cực trong nước, giúp nhũ hoá các chất không phân cực (hydrocarbon, steroid, acid béo v.v...), giúp ổn định và bảo vệ các chất chống lại sự oxy hoá, tác động của UV, ổn định mùi, che dấu vị khó chịu, giúp kiểm soát sự giải phóng hoạt chất và chuyển các chất dạng lỏng thành dạng khô thích hợp cho bào chế. Trong phân tích, cyclodextrin giúp phân tách các đồng phân quang học trong các phương pháp sắc ký.

Google.com/+DayKemQuyNhon

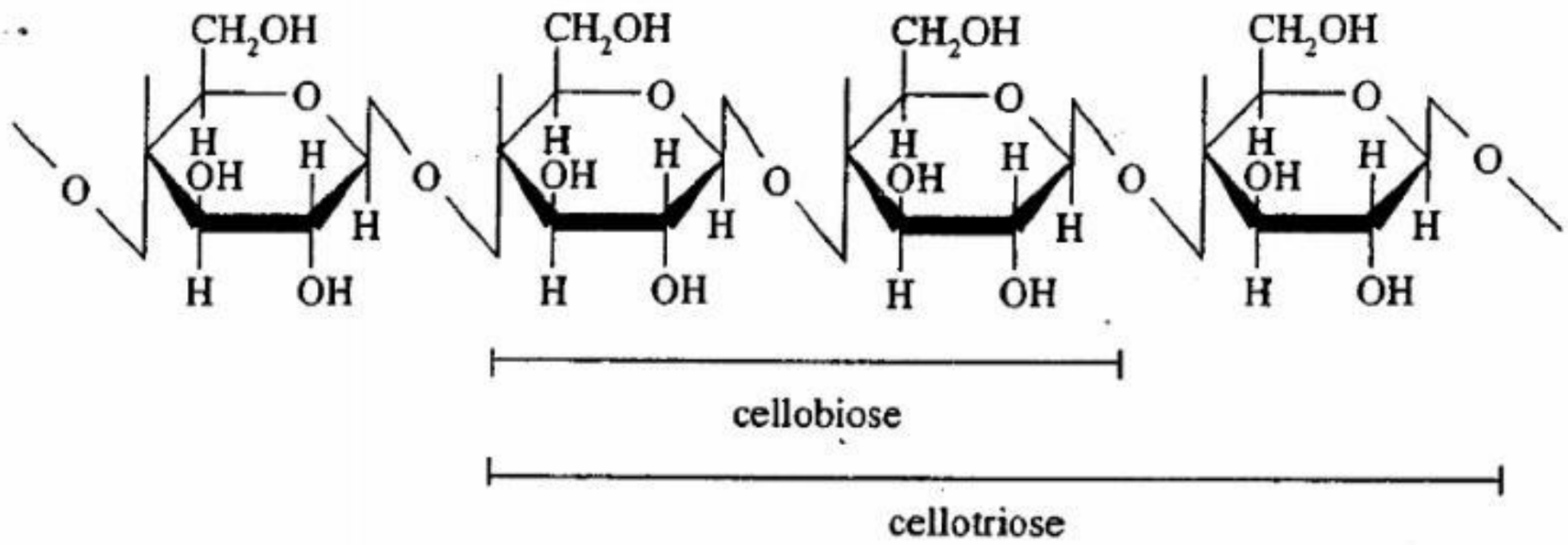
III. CELLULOSE

Cellulose là thành phần chính của vách tế bào thực vật. Gỗ chứa khoảng 5% cellulose; sợi bông vải 97-98%; sợi lanh, gai 81-90%, sợi đay 75%, thân cây họ Cói, họ Lúa 30-40%.

1. Cấu tạo

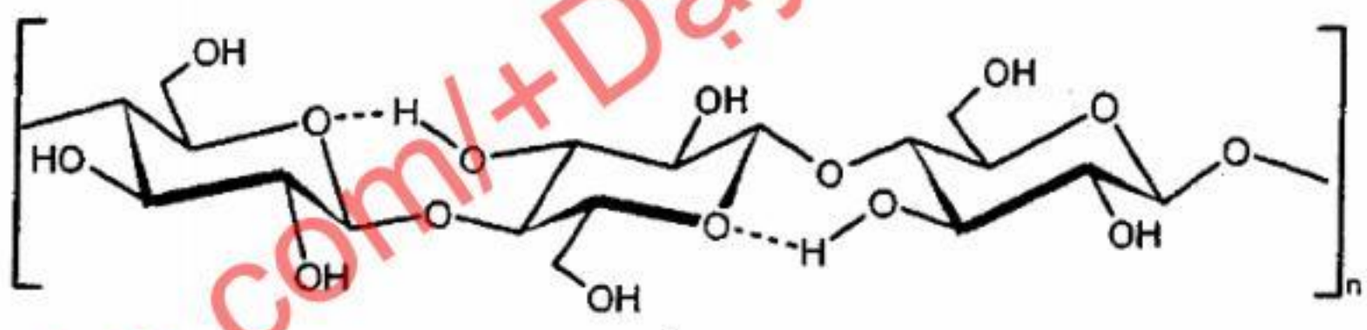
Cellulose cũng là một glucosan như tinh bột, nhưng khác tinh bột ở chỗ dây nối giữa các đơn vị glucose là β-*D*-(1→4). Khi thuỷ phân không hoàn toàn sẽ thu được cellotetraose, cellotriose, cellobiose và khi thuỷ phân hoàn toàn sẽ có glucose.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Khi thuỷ phân cellulose đã methyl hoá sẽ không thu được 2,3-dimethyl glucose chứng tỏ phân tử cellulose không phân nhánh. Khả năng khử của cellulose hết sức thấp và trong sản phẩm thuỷ phân lượng 2,3,4,6-tetramethyl glucose cũng rất ít chứng tỏ mạch của phân tử cellulose khá dài. Số lượng đơn vị glucose dao động từ 3000 đến 10.000.

Các phân tử cellulose kết hợp nhau tạo thành micel tức là bó sợi có chiều dày 50-100 Å. Các micel lại tạo thành bó microfibril với đường kính khoảng 250 Å có thể thấy được bằng kính hiển vi điện tử, còn fibril tạo thành từ các microfibril có đường kính 2000 Å và có thể quan sát được bằng kính hiển vi thường. Các sợi cellulose chính là các fibril. Các phân tử cellulose trong các micel nhờ có rất nhiều liên kết hydro nên tạo được dạng sợi bền chắc.



Cellulose không tan trong nước và dung môi hữu cơ nhưng tan được trong dung dịch Schweitzer[1] và trong dung dịch kẽm clorid đậm đặc.

2. Các dẫn chất cellulose và công dụng

Cellulose khi thuỷ phân một phần sẽ cho cellulose vi tinh thể. Đây là chất bột màu trắng, hạt bột có đường kính 10-15 μm, không tan trong nước nhưng phân tán được trong nước cho một gel ổn định. Bột cellulose vi tinh thể được dùng trong bào chế như là một tá dược đa năng. Nó được dùng làm tá dược rã vì cellulose khi gặp nước nhờ cấu trúc mao quản làm cho nước dễ thấm vào viên nén và làm viên vỡ ra. Nó còn có vai trò như tá dược dính và tá dược trơn. Bột cellulose còn được dùng làm chất phân tán và ổn định các nhũ dịch và hỗn dịch.

Khi cho cellulose tác dụng với NaOH thì hydro của nhóm alcol bậc một của các đơn vị glucose sẽ được thay thế bởi natri và tạo thành cellulose kiềm. Nếu rửa nước, cellulose được phục hồi nhưng cấu trúc của các micel có thay đổi. Quá trình này được áp dụng trong kỹ nghệ dệt làm cho sợi bóng láng và dễ bắt màu khi nhuộm.

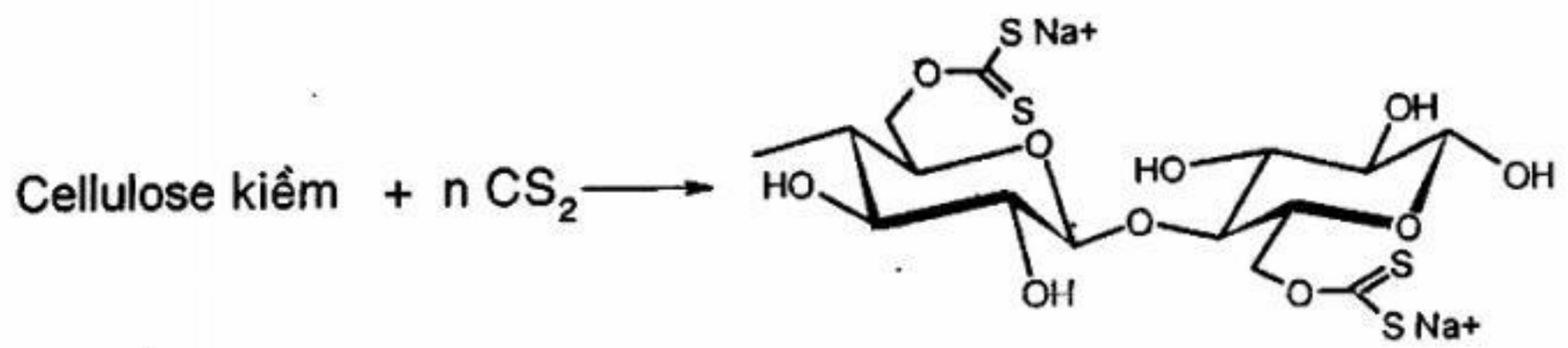
---

[1] Dung dịch Schweitzer là dung dịch hydroxyd đồng trong dung dịch amoniac, $[Cu(CH_3)_4](OH)_2$

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Khi cho tác dụng carbon disulfid lên cellulose ta thu được cellulose xanthat.

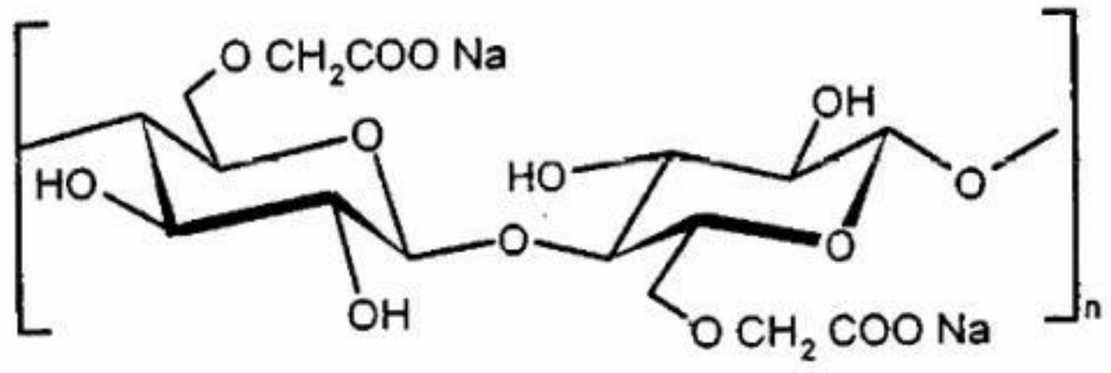


Dung dịch cellulose xanthat trong nước có độ nhớt cao, khi bị nén ép qua những lỗ nhỏ vào dung dịch acid sulfuric thì carbon disulfid sẽ bị loại, cellulose được tái sinh dưới dạng sợi nhỏ được căng và cuộn vào suốt chỉ. Đây là nguyên tắc sản xuất sợi cellulose tổng hợp.

Các nhóm OH của các đơn vị glucose trong phân tử cellulose có thể được alkyl hoá, ví dụ methyl hoá để tạo methylcellulose (MC). Việc điều chế methyl cellulose được thực hiện bằng cách xử lý cellulose với NaOH rồi cho methyl chlorid (CH_3Cl) tác dụng lên cellulose kiềm, sau đó làm kết tủa methyl cellulose bằng methanol, đem ly tâm rồi sấy khô. Tuỳ theo điều kiện phản ứng mà có tỉ lệ nhóm methoxy khác nhau. Methyl cellulose ở dạng bột màu trắng, cho với nước một dung dịch giả, có độ nhớt thay đổi tuỳ theo nồng độ, mức độ alkyl hoá, độ lớn phân tử. Các dung dịch giả ổn định từ pH 2 đến 12 nhưng kết tủa khi đun lên 60^0C. Trong bào chế, người ta dùng methylcellulose để chế các nhũ dịch và hỗn dịch, thuốc mỡ, tá dược dính và rã cho viên nén. Ngoài methyl cellulose còn có ethyl cellulose, methyl ethyl cellulose.

Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) là propylen glycol ether của methyl cellulose, trong đó nhóm hydroxypropyl và methyl đều nối vào các đơn vị anhydroglucose của cellulose theo dây nối ether. Trong bào chế, HPMC được dùng làm tá dược dính, tá dược bao film, tá dược tạo matrix cho viên nén. Nó còn được dùng để bào chế các hỗn dịch.

Natri carboxymethylcellulose (Na CMC) là dẫn chất khác của cellulose. Điều chế gồm 2 giai đoạn chính: cellulose được chuyển thành cellulose kiềm, sau đó cho monochloroacetat (Cl–CH–COONa) tác dụng. Na CMC là một chất bột trắng, hút ẩm. Với nước cũng cho dung dịch giả có độ nhớt thay đổi tùy theo nồng độ, mức độ thế nhóm CH_2COONa, độ lớn phân tử. Nếu tăng pH độ nhớt sẽ tăng, acid hoá làm giảm độ nhớt và tính ổn định của dung dịch. Nhiệt độ tăng độ nhớt sẽ giảm và không kết tủa khi đun nóng trên 60^0C như MC. Công dụng của Na CMC gần giống như công dụng của MC.



Cho cellulose tác dụng với anhydrid acetic sẽ tạo thành cellulose triacetat, tan được trong aceton và các ester. Cellulose acetat được sử dụng làm phim ảnh, nhựa dẻo, tơ acetat.

Cellulose acetophtalat (CAP) là ester của cellulose trong đó một số nhóm hydroxy bị ester hoá với acid acetic hoặc monoester hoá với acid phtalic; có một số chức alcol còn

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

ở trạng thái tự do. Nhóm carboxyl thứ hai của acid phtalic còn ở dạng tự do và có thể tạo muối. CAP là một chất bột trắng ở thể hạt, hơi có mùi của acid acetic, hầu như không tan trong nước acid, tan trong môi trường kiềm, không tan trong methanol và chloroform, tan trong aceton, ethyl acetat và trong hỗn hợp đồng thể tích của ethyl acetat và isopropanol. Ưu điểm chính của acetophtalat cellulose là không tan trong môi trường acid nên thường được dùng để bao film không tan trong dạ dày mà chỉ tan ở ruột.

Khi cho tác dụng cellulose với hỗn dịch acid nitric và acid sulfuric ta sẽ thu được cellulose nitrat. Nếu nồng độ acid loãng, ta có dinitrat cellulose tức là colodion (hay colloxylin) tan được trong hỗn hợp cồn ether. Nếu dùng acid nitric đậm đặc và acid sulfuric 95%, ta có cellulose trinitrat dưới tên là pyroxylin hay bông thuốc súng (gun-cotton) là nguyên liệu của thuốc nổ.

IV. PECTIN - GÔM - CHẤT NHẦY

Pectin, gôm và chất nhầy là các hợp chất thuộc về nhóm của các heteropolysaccharid. So với các homopolysaccharid, chúng có cấu tạo phức tạp hơn do trong thành phần cấu tạo có hai hay nhiều hơn hai loại đường đơn liên kết nhau. Vị trí của các dây nối cũng đa dạng hơn. Các đường đơn cấu tạo nên các pectin, gôm và chất nhầy thường là các đường đơn thông thường như glucose, mannose, galactose, arabinose, gulose hay các dẫn xuất uronic của chúng như acid glucuronic, acid manuronic, acid galacturonic. Cũng có thể gặp trong nhóm này các đường có nhóm OH được sulfat hoá.

Về mặt cấu tạo, người ta có thể chia thành các nhóm: nhóm heteropolysaccharid chỉ có các đường (nhóm trung tính), nhóm có thêm các acid uronic trong thành phần (nhóm acid) và nhóm có cả các đường đơn, acid uronic và gốc sulfat (nhóm acid có gốc sulfat). Các heteropolysaccharid trong thành phần có các acid uronic thường được gọi là các polyuronid.

1. Pectin

Pectin là những carbohydrat có phân tử lớn mà phần chính của phân tử cấu tạo bởi acid polygalacturonic, do đó được xếp vào nhóm "*polyuronid*". Pectin thường gặp trong các bộ phận của cây và một số loài tảo. Đặc biệt cùi (vỏ quả giữa) của một số cây họ Cam (Rutaceae) như bưởi, cam, chanh có hàm lượng pectin rất cao, có thể đến 30%.

1.1. Cấu tạo

Người ta chia làm 2 loại là pectin hòa tan, có trong dịch tế bào và protopectin là dạng không hòa tan nằm trong vách tế bào và các lớp gian bào, đóng vai trò chất "cốt" và "xi măng" giúp gia cố thêm vách tế bào thực vật.

1.1.1. Pectin hòa tan

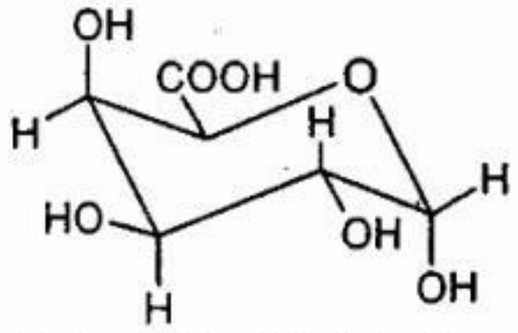
Loại này gồm có:

Acid pectic

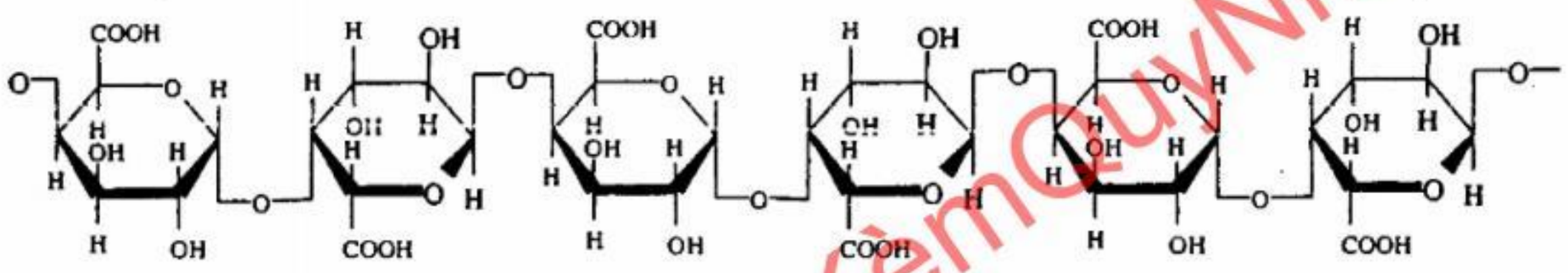
Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Về mặt cấu tạo hóa học, phân tử acid pectic là một mạch dài gồm khoảng 100 đơn vị acid D-galacturonic nối với nhau theo dây nối α-(1→4). Về mặt cấu trúc lập thể, acid α-*D*-galacturonic ở dạng ghế C1. Acid pectic ở trong cây có thể tồn tại dưới dạng muối pectat. Acid pectic là cơ sở của các chất pectic khác.



Acid β-D-galacturonic
dạng ghế C1



Acid pectic

Pectin

Pectin còn được gọi là acid pectinic. Phân tử của pectin gồm vài trăm đơn vị acid α-*D*-galacturonic nối với nhau theo dây nối α-(1→4) nhưng một phần hoặc toàn bộ các nhóm carboxyl đã được methyl ester hóa. Tùy theo mức độ ester hóa mà người ta chia ra: loại "*pectin có nhiều nhóm methoxy*" và loại "*pectin có ít nhóm methoxy*". Loại sau có dưới 40% số nhóm carboxyl bị ester hóa.

Tuy cấu trúc của pectin đã được xác định như trên, một số tài liệu còn cho rằng trong thành phần pectin còn có thể có mặt của một lượng nhỏ các ose không phải uronic, các nhóm acetyl và phosphat.

Các loài cây khác nhau chứa các pectin khác nhau về khối lượng phân tử, mức độ ester hóa và sự phân bố của các nhóm ester trong phân tử.

1.1.2. Pectin không hòa tan

Pectin không hoà tan còn được gọi là protopectin. Về mặt cấu trúc hóa học, protopectin tạo thành là do liên kết những phân tử pectin với nhau qua cầu calci, phosphat. Ngoài ra, còn có sự kết hợp với cellulose, với ose và một số thành phần khác của vách tế bào.

Nhờ có protopectin mà các quả xanh có độ cứng nhất định. Người ta cho rằng khi quả chín, dưới tác động của protopectinase các protopectin chuyển thành pectin hòa tan nên khi quả chín thì mềm ra. Tuy nhiên, chưa có chứng minh đầy đủ về sự tồn tại của một enzym đặc trưng như vậy.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

1.2. Tính chất của pectin

Pectin ở dạng bột vô định hình màu xám trắng, tan trong nước, trong formamid, trong glycerin nóng, nếu phân tử lượng của pectin càng lớn thì độ tan càng giảm. Pectin không tan trong ethanol, isopropanol, aceton nên có thể dùng các dung môi này để kết tủa. Pectin bị kết tủa bởi các muối đa hoá trị như đồng sunfat, chì nitrat hoặc acetat, sắt chlorid. Trong sản xuất người ta dùng muối nhôm để kết tủa pectin ở pH 4, tủa màu vàng lục thu được là kết tủa giữa pectin tích điện âm và nhôm tích điện dương. Pectin kết tủa bằng muối kim loại có thể tinh chế bằng cách rửa tủa với ethanol hoặc aceton đã acid hóa.

Ở nước ta, có thể điều chế pectin từ vỏ quả giữa (cùi trắng) của bưởi như sau: cùi bưởi phơi khô, tán bột 50 g, thêm 20 ml HCl 0,03 N và đun 1 giờ trên nồi cách thủy. Dịch nóng được lọc qua bông, có thể đun lần 2 với một ít nước nóng. Khi nguội, kiềm hóa nhẹ bằng ammoniac rồi bốc hơi cách thủy, nếu có điều kiện thì bốc hơi chân không còn 60 ml. Thêm vào dung dịch sánh sau khi cất 2 lần thể tích cồn, pectin kết tủa được ly tâm. Nếu muốn có pectin tinh chế, hòa tan nóng trong một lượng ít nước rồi lại tủa bằng cồn. Tủa xốp được sấy khô bằng cách trải mỏng trên kính, nhiệt độ không quá 45°C.

Dung dịch pectin 0,2-1,5% khi có mặt 65-70% saccharose và pH 3,1-3,5 thì tạo thành chất đông.

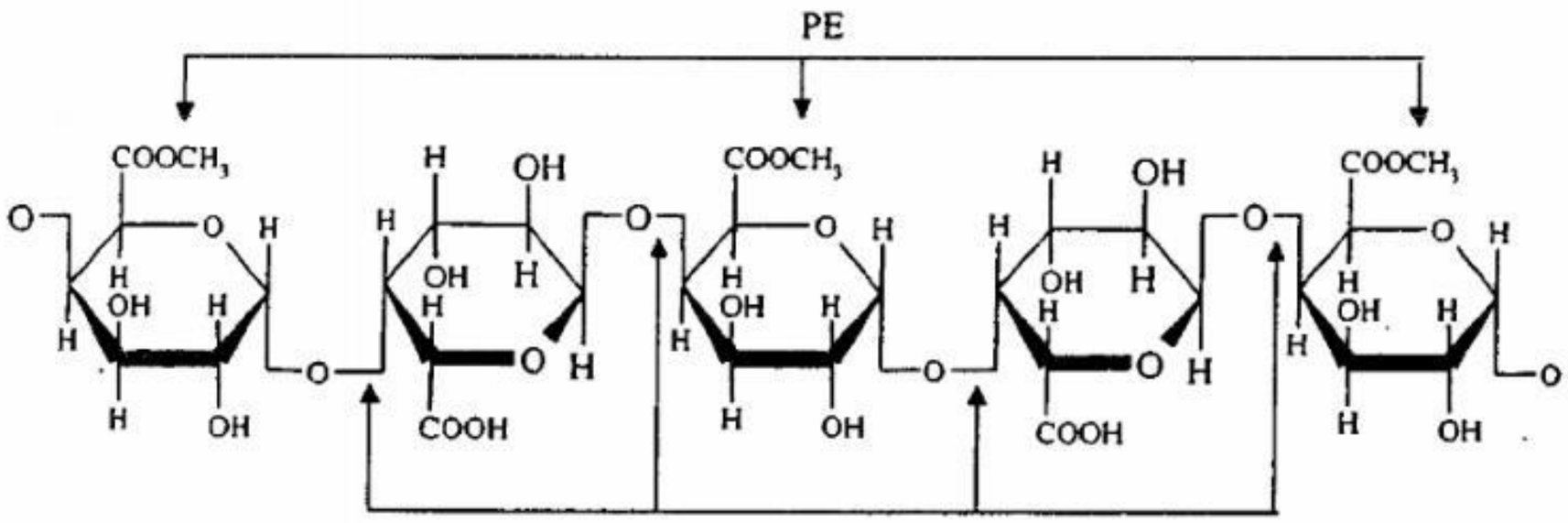
Tác động của các enzym lên pectin

Các enzym tác động lên pectin có thể chia làm 2 loại:

1. Enzym thuỷ phân nhóm ester-*Pectinesterase* (PE). Enzym này cắt nhóm ester methylic của acid pectinic để tạo thành acid pectic.

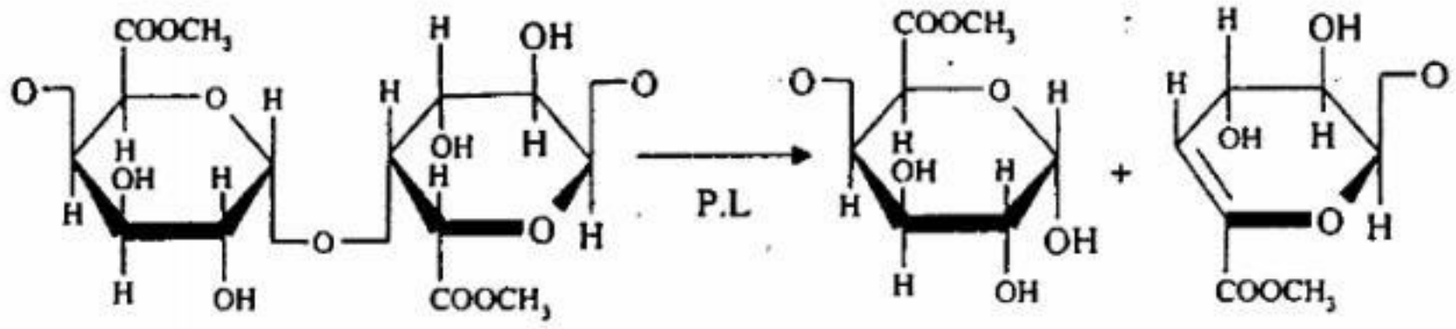
2. Enzym cắt nhỏ phân tử -enzym depolymer hóa. Loại này có thể chia ra:

– *Polymethylgalacturonase* (PMG), enzym này cắt phân tử thành từng đơn vị galacturonic. Người ta còn chia ra endopolygalacturonase là enzym cắt một cách ngẫu nhiên vào các dây nối glycosid và exopolygalacturonase là enzym cắt bắt đầu từ đầu mạch.



Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

– *Pectinlyase* (PL) là enzym cắt dây nối (1→4) và đồng thời tạo thành các sản phẩm chưa no. Người ta tìm thấy các enzym này trong một số nấm mốc như *Aspergillus niger*, *A. oryzae* và lợi dụng để loại pectin trong việc làm trong nước hoa quả, trong việc chế biến sợi thảo mộc.



Sơ đồ tác dụng của các enzym lên pectin

1.3. Định tính – Định lượng

1.3.1. Định tính với acid hydroxamic và sắt III

Định tính trên ống nghiệm

Định tính pectin dựa vào phản ứng tạo thành pectin hydroxamic acid rồi cho tác dụng tiếp với sắt ba (III) chlorid sẽ tạo thành phức kết tủa màu đỏ.

Thuốc thử: hydroxylamin, 1,4 g trong 10 ml ethanol 60%; natri hydroxyd 1,4 g trong 10 ml ethanol 60%; acid hydrochloric 1 thể tích + 2 thể tích ethanol 95%; 2,5 g sắt III trong 10 ml HCl 0,1 N pha trong ethanol 60%.

Cách tiến hành: hòa một ít chất thử vào 1ml nước, thêm 1 ml thuốc thử hydroxylamin, 1 ml natri hydroxyd rồi để yên 2 phút, thêm 1 ml dung dịch HCl và 1 ml thuốc thử sắt (III).

Định tính trên vi phẫu

Làm mất nước và mất hoạt tính các enzym bằng cách ngâm vi phẫu trong aceton. Rửa aceton 3-4 lần với methanol.

Cho vi phẫu vào một hỗn hợp gồm 1 ml hydroxylamin và 1 ml natri hydroxyd, khuấy 5 phút. Thêm 1 ml HCl-ethanol và khuấy 5 phút. Chuyển vi phẫu vào 2 ml thuốc thử sắt (III), sau 10 phút vớt ra và quan sát với kính hiển vi.

1.3.2. Định tính pectin dựa vào sự có mặt của acid galacturonic

Lấy một ít pectin hòa tan vào 3-4 ml nước, thêm vài giọt chì acetat kiềm 10% và đun trên nồi cách thủy. Đầu tiên tạo thành tủa trắng rồi dần dần có màu cam hơi đỏ.

1.3.3. Định tính dựa vào sự tạo thành chất đông

Lấy 5 g pectin, thêm 50 ml nước, để yên để pectin trương ra, thêm 25 g đường mía đã tán thành bột và đun sôi 10-15 phút. Thêm 1ml dung dịch acid citric 40%. Sau 2-3 giờ sẽ tạo thành chất đông.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

1.3.4. Định lượng

Xác định hàm lượng anhydrouronic acid bằng phương pháp so màu: mẫu kiểm nghiệm sau khi loại đường (chiết bằng ethanol) được tác dụng với dung dịch 0,5% EDTA để loại các cation hóa trị 2. Tiếp theo dùng NaOH 1 N để xà phòng hóa các nhóm ester (20°C, 30 phút), acid hóa đến pH 5,0-5,5 bằng acid acetic. Cho enzym depolymer hóa tác dụng trong 1 giờ, lọc. Cho dịch lọc tác dụng với acid sulfuric đậm đặc rồi với dung dịch 0,15% carbazol trong cồn. Đo màu ở bước sóng 520 nm. Đối chiếu với đường cong mẫu của anhydrouronic acid đi từ acid galacturonic (40 µg acid galacturonic tương ứng với 33,2 µg acid anhydrouronic acid).

Ngoài ra, còn có thể định lượng pectin bằng phương pháp cân (sau khi tủa pectin bằng các dung môi hữu cơ), phương pháp đo độ quay cực, phương pháp đo độ nhớt.

1.4. Công dụng

Pectin dùng làm thuốc cầm máu đường ruột, uống dung dịch 1-2%, 40-80ml trong 24 giờ.

Pectin còn dùng làm tác nhân nhũ hóa khi kết hợp với gôm arabic. Dung dịch pectin ổn định ở môi trường acid nhưng không ổn định ở môi trường kiềm. Khi dùng pectin nên làm ẩm với nước và nên trộn với đường hoặc glycerin để hòa tan được dễ dàng, tránh vón cục.

Trong công nghiệp thực phẩm, pectin được dùng sản xuất bánh kẹo, mứt dẻo v.v...

2. Gôm - chất nhầy

2.1. Nguồn gốc và vai trò sinh lý của gôm và chất nhầy

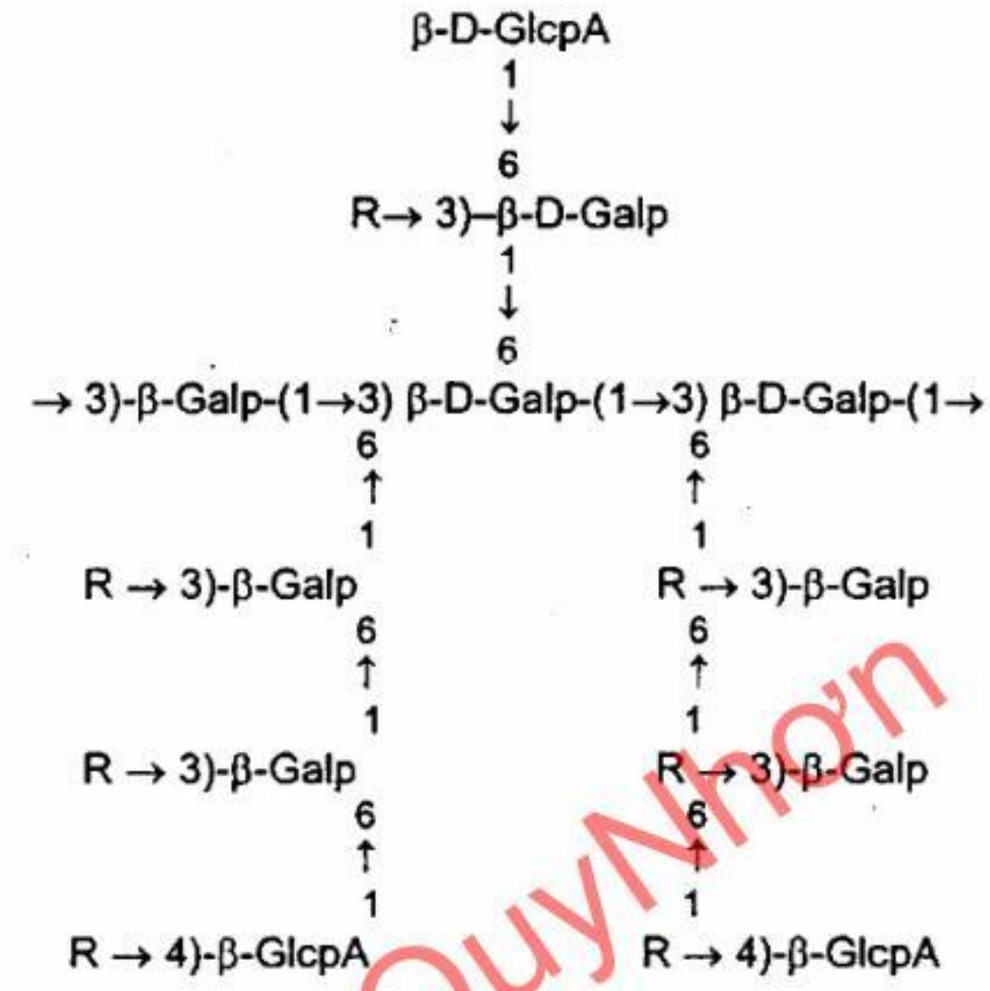
Gôm tạo thành trên cây là do sự biến đổi của màng tế bào. Thường thì sự biến đổi đó xảy ra ở những mô đã già và những mô đó chuyển thành gôm, nhưng có khi những tế bào non cũng bị biến đổi. Ở những cây thân gỗ, gôm tạo thành do sự biến đổi những tế bào phần tủy hoặc tế bào gần vùng tầng sinh gỗ rồi chảy ra ngoài theo các kẽ hở như lỗ sâu đục, vết chặt... ví dụ trường hợp cây mận. Ở những nơi khô hanh, một số cây tiết ra gôm khi mùa mưa đến ví dụ trường hợp cây *Acacia verek* mọc ở Ai Cập vùng ven sa mạc, ở đây nửa năm không mưa. Khi mưa xuống, cây tiết ra gôm ở tầng sinh gỗ. Khi khô vỏ cây nứt nẻ, gôm theo kẽ hở tiết ra ngoài. Đó là gôm arabic.

Chất nhầy là các heteropolysaccharid có trong tế bào thực vật. Một số hạt như hạt lanh, hạt một số cây họ Hoa môi, có chứa chất nhầy ở lớp ngoài của hạt, khi gặp nước sẽ hút nước và trương nở thành một lớp nhầy phía ngoài làm cho hạt giữ nước cần thiết trong quá trình nảy mầm. Có khi chất nhầy là chất dự trữ cho sự phát triển của bộ phận trên mặt đất, đó là trường hợp một số cây họ

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Lan - Orchidaceae, ví dụ cây bạch cập, mọc về mùa xuân. ở các loài tảo, chất nhầy tạo thành từ những chất gian bào do đó chất nhầy gần với pectin hơn.

Như vậy, xét về nguồn gốc, gôm có nguồn gốc bệnh lý, cây tiết ra gôm là một phản ứng đối với điều kiện không thuận lợi còn chất nhầy là thành phần cấu tạo bình thường của cây. Trong một số cây, chất nhầy chỉ có mặt trong một số tế bào của mô, ví dụ Bố chính sâm.



Một phần lặp lại của phân tử gôm arabic
R = L-Araf-(1→, L-Rhap- (1→, α-D-Galp-(1→3)-L-Araf-(1→,
hoặc ít gặp hơn: β-L-Araf-(1→3) L-Araf-(1→.

Cũng cần biết rằng, không có ranh giới thật rõ rệt giữa gôm và chất nhầy. Có thể quan niệm gôm là sản phẩm thu được dưới dạng rắn sau khi để khô từ các kẽ nứt tự nhiên hay vết rạch của cây, còn chất nhầy là sản phẩm có thể chiết ra từ nguyên liệu bằng nước.

Chúng ta cũng cần phân biệt giữa gôm và nhựa. Về hình dáng bên ngoài, nhựa giống gôm và cũng chảy ra từ kẽ nứt, lỗ sâu đục hoặc vết rạch trên cây, ví dụ nhựa Cánh kiến trắng; nhưng khi đốt cháy, nhựa có mùi thơm còn gôm có mùi giấy hay vải cháy. Nhựa không tan trong nước nhưng dễ tan trong dung môi hữu cơ, còn gôm và chất nhầy khi cho vào trong nước sẽ nở ra và tan. Về mặt hóa học, gôm và chất nhầy thuộc polysaccharid còn nhựa thuộc nguồn gốc terpen.

Theo cấu tạo hóa học, người ta có thể chia gôm và chất nhầy thành 3 nhóm:

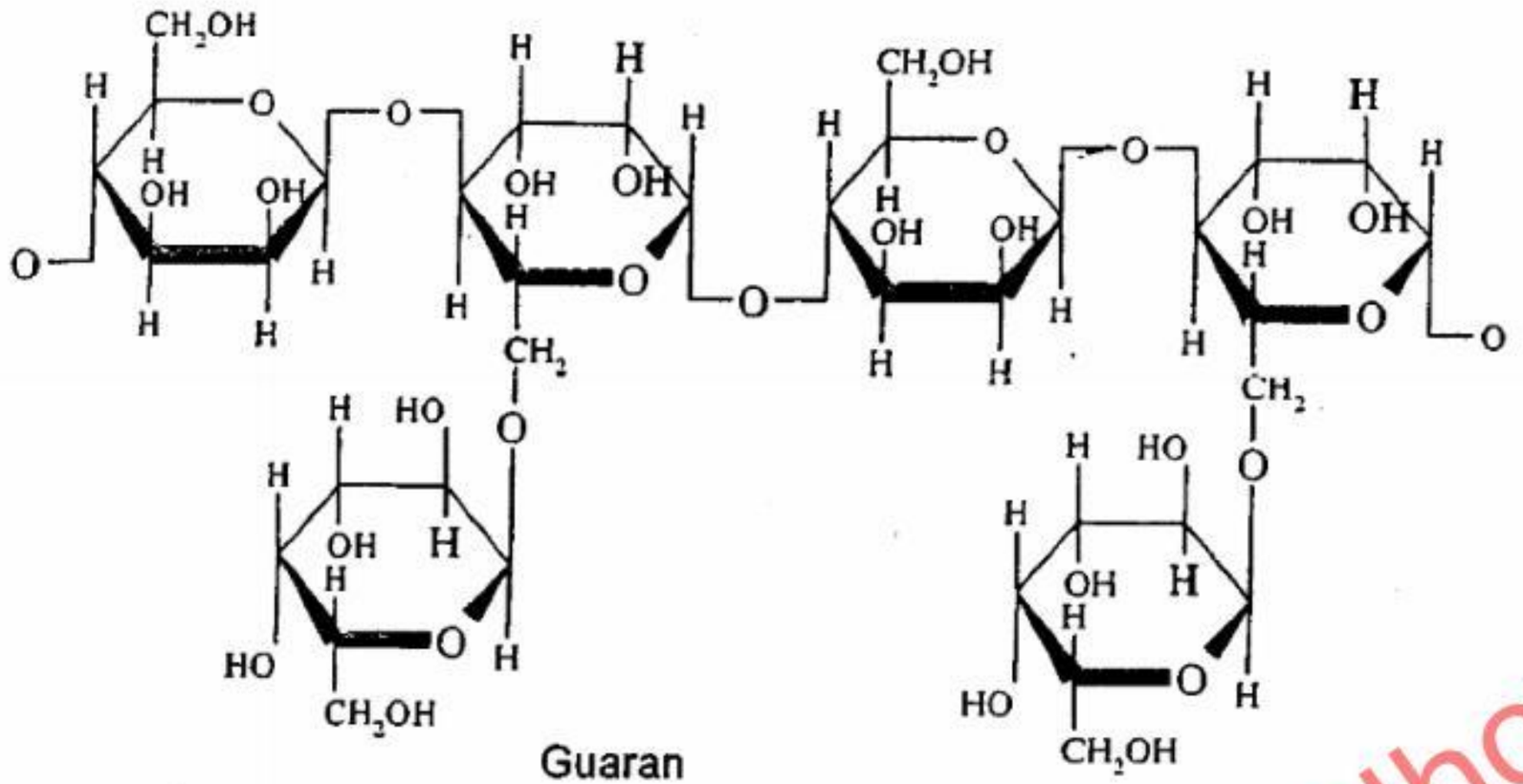
2.1.1. Nhóm trung tính

Nhóm này về mặt cấu tạo hóa học là những polymer của các đường đơn. Ví dụ như galactomannan hoặc glucomannan. Galactomannan là các polysaccharid mà phân tử gồm các gốc *D*-mannose và *D*-galactose; glucomannan là các polysaccharid mà các phân tử gồm các gốc *D*-mannose và *D*-glucose. Galactomannan của mỗi loại cây có khác nhau về tỉ lệ giữa các gốc galactose và mannose, khác nhau về cấu trúc và phân tử lượng. Mạch chính của các phân tử dài và gồm các gốc *D*-mannopyranose nối với nhau còn mạch nhánh ngắn và cấu tạo bởi đường *D*-galactopyranose.

Ví dụ, trong guaran (xem công thức) tỉ lệ giữa mannose và galactose là 2:1, phân tử có một mạch chính gồm các đơn vị mannose nối theo dây nối β-(1→4) và mạch nhánh là đơn vị galactopyranose nối theo dây nối α-(1→6). Một số galactomannan khác có tỉ lệ giữa mannose và galactose là 3:1, 6:1. Galactomannan hay gặp ở hạt một số cây họ Đậu, ví dụ galactomannan của hạt cây cốt khí - *Cassia occidentalis* L. (đã được xác định cấu trúc năm 1975).

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Guaran

Glucomannan hay gặp trong họ Hành - Liliaceae, họ Lan-Orchidaceae. Cấu trúc của loại này ít được biết.

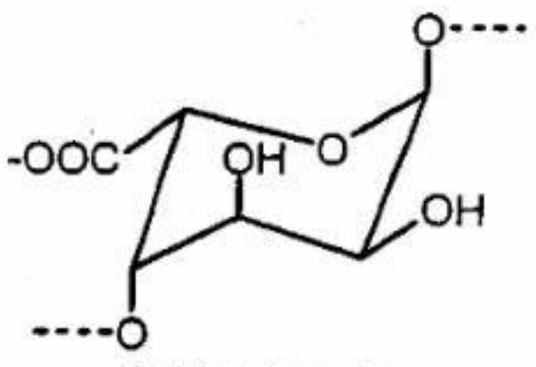
2.1.2. Nhóm acid

Các polysaccharid của nhóm này, ngoài các đường, trong thành phần còn có các acid uronic, đại diện cho nhóm là các gôm tiết ra ở thân cây, ví dụ gôm arabic. Phân tử polysaccharid của gôm arabic có phân tử lượng khoảng 250.000, phân nhánh nhiều và cấu tạo bởi các đơn vị *D*-galactopyranose, *L*-arabinose, *L*-rhamnose, acid *D*-glucuronic theo tỉ lệ 3:3:1:1. Mạch chính gồm những đơn vị *D*-galactopyranose nối theo dây nối β-(1→3).

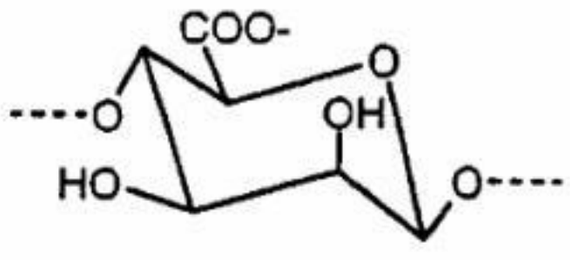
Gôm tiết ra ở thân cây mơ - *Prunus armeniaca* L. thành phần gồm có *D*-xylose, *L*-arabinose, *D*-galactose theo tỉ lệ 1:8:8 ngoài ra còn có một lượng nhỏ *D*-mannose và acid *D*-glucuronic. Khi đun nóng với nước, gôm bị thủy phân và giải phóng *L*-arabinose, tạo thành những mảnh có khối lượng phân tử bé. Phân tích cấu trúc bằng phương pháp cắt nhỏ phân tử và bằng phương pháp oxy hóa với periodat cho thấy phân tử gôm có một mạch chính gồm các đơn vị β-*D*-galactopyranose nối theo dây nối (1→6), mạch chính này mang nhiều mạch nhánh ở C-3 gồm có các đơn vị *L*-arabinofuranose, *D*-galactose và acid *D*-glucuronic. Người ta còn thấy mạch chính thỉnh thoảng có các đơn vị *L*-arabinose xen vào.

Gôm tiết ra ở thân cây ở một số loài thuộc chi *Citrus* thành phần gồm có *L*-arabinose, *D*-galactose và acid *D*-glucuronic. Tỉ lệ giữa các đơn vị đường này thay đổi tùy theo loài ví dụ gôm của cây chanh có tỉ lệ 2:5:2.

Ở một số tảo nâu cũng có polysaccharid thuộc nhóm acid: acid alginic. Acid alginic cấu tạo bởi các đơn vị acid guluronic và acid mannuronic. Dây nối giữa các acid là β-(1→4), phân tử lượng trung bình khoảng 200.000. Tỉ lệ giữa các acid uronic thay đổi tùy theo nguồn gốc.



Acid guluronic



Acid mannuronic

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Tỉ lệ giữa acid mannuronic và guluronic là 1,56 ở tảo *Macrocystis pyrifera*, 1,85 ở *Ascophyllum nodosum* và 0,45 ở *Laminaria hyperborea*. Chuỗi phân tử polysaccharid không đồng nhất. Qua sự thủy phân từng phần, người ta xác định có 3 kiểu sắp xếp trong phân tử, có đoạn là polymannuronic, hoặc polyguluronic hoặc xen kẽ giữa 2 acid mannuronic và guluronic. ở trong tảo các acid ở dạng muối hỗn hợp (Na, Mg, K, Ca).

Hàng năm thế giới sản xuất đến 10.000 tấn acid alginic.

2.1.3. Nhóm acid có thành phần gốc sulfat

Nhóm này gồm các polysaccharid trong thành phần, ngoài các acid uronic còn có một lượng nhỏ ester của nhóm OH với acid sulfuric.

Đại diện cho nhóm là thạch (agar-agar). Thạch là sản phẩm chế từ một số loài tảo biển. Thạch chứa chừng 70-80% polysaccharid, 10-20% nước, 1,5-4% chất vô cơ. Phần polysaccharid cấu tạo bởi các gốc *D*- và *L*- galactose, 3,6-anhydrogalactose, các pentose, acid glucuronic và các gốc sulfat. Thạch có cấu tạo chính gồm 2 loại polysaccharid là agarose và agaropectin.

Agarose là polysaccharid cấu tạo bởi các gốc β-*D*-galactopyranose theo dây nối (1→3) luân phiên với 3,6-anhydro-α-*L*-galactopyranose theo dây nối (1→4) (đường đôi này có tên là agarobiose) ngoài ra còn có mặt các đơn vị *D*-galactose mang nhóm 6-*O*-methyl và một lượng rất ít *D*-xylose. Agarose chiếm khoảng 55-66% và có thể tách bằng cách kết tủa với polyethylen glycol.

Agaropectin chiếm khoảng 40% của toàn bộ polysaccharid, có cấu trúc phức tạp. Thành phần có acid glucuronic, *D*-galactose, 3,4-anhydro *L*-galactose. Một phần của các đơn vị đường được ester hóa với acid sulfuric.

2.2. Tính chất

Gôm và chất nhầy hòa tan trong nước tạo thành dung dịch keo có độ nhớt cao, hoàn toàn không tan trong các dung môi hữu cơ như ether, benzen, chloroform. Độ tan trong cồn thay đổi tùy theo độ cồn và tuỳ theo loại gôm hay chất nhầy, không tan trong cồn cao độ. Độ nhớt của dung dịch thuộc nhóm trung tính ít thay đổi theo pH còn nhóm acid thay đổi theo pH. Dung dịch nước của gôm có tính dính còn chất nhầy thì không. Polysaccharid nào có cấu tạo chuỗi thẳng sẽ tạo được màng nhưng ít có tính dính, trái lại loại nào có cấu tạo phân nhánh sẽ khó tạo màng nhưng có tính dính cao.

Gôm và chất nhầy có tính quang hoạt. Gôm và chất nhầy bị tủa bởi chì acetat trung tính hoặc kiềm và khác pectin ở chỗ không bị tác động bởi enzym pectinesterase. Chất nhầy bắt màu với xanh methylen nên có thể dùng để định tính trên vi phẫu thực vật.

2.3. Đánh giá một dược liệu chứa gôm hoặc chất nhầy

Để đánh giá một dược liệu chứa gôm hay chất nhầy ta có thể dựa vào phương pháp tủa bằng cồn rồi lọc, sấy, cân. Có thể tủa bằng chì acetat. Người ta còn đánh giá bằng phương pháp đo độ nhớt.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Carbohydrat và dược liệu chứa carbohydrat

Một số dược điển quy định việc đánh giá dược liệu chứa chất nhầy dựa trên chỉ số nở: chỉ số nở là thể tích tính bằng ml mà 1 g dược liệu khi nở trong nước chiếm được. Thí nghiệm tiến hành trong những điều kiện quy định như kích thước ống đong, lượng dược liệu, độ nhỏ của dược liệu, thời gian ngâm, nhiệt độ...

Dược điển Pháp quy định phương pháp đánh giá một dược liệu chứa chất nhầy như sau: tiến hành trong một ống đong có 20 cm chiều cao và 2 cm đường kính, chia thể tích bắt đầu từ đáy. Cho 1 gam dược liệu để nguyên hay nghiền nhỏ vào ống, thêm 25 ml nước, đậy nút. Lắc nhẹ đều lúc đầu, sau đó thỉnh thoảng lắc trong vòng 1 giờ. Để yên 6 giờ ở nhiệt độ 15-20^{0}C. Thể tích tính theo ml mà dược liệu bao gồm cả chất nhầy chiếm được chính là chỉ số nở. Dược điển Việt Nam IV quy định đọc kết quả sau 3 giờ.

Để tách gôm hoặc chất nhầy trong dược liệu, có thể dựa vào độ hòa tan trong nước rồi thêm cồn cao độ để tủa, tách riêng rồi tinh chế bằng phương pháp thẩm tích.

Muốn biết thành phần monosaccharid trong cấu trúc của gôm hay chất nhầy, ta có thể tiến hành thủy phân rồi xác định các monosaccharid bằng phương pháp sắc ký. Muốn thủy phân người ta đun gôm hoặc chất nhầy với acid sunfuric 2N. Dung dịch đã thủy phân sau khi trung hòa bằng bari hydroxyd dùng để phân tích sắc ký.

2.4. Công dụng

Gôm và chất nhầy được ứng dụng trong kỹ nghệ dệt, thực phẩm... Trong bào chế, gôm thường được dùng làm chất nhũ hóa, làm tá dược. Một số dược liệu chứa chất nhầy thường có tác dụng chữa ho và làm chóng lành các vết thương, vết loét. Thạch (agar-agar) dùng để chữa táo bón và để chế môi trường nuôi cấy vi sinh.

Alginat có tính chất trương nở, không hấp thu ở ruột gây cảm giác đầy bụng nên hay dùng để chống bệnh béo phì. Trong trường hợp kẹt môn vị không nên dùng. Dung dịch keo alginat có tính dính bám và bao nên ứng dụng để trị loét và bảo vệ niêm mạc đường tiêu hóa. Calci alginat có tính cầm máu nhanh được dùng khi chảy máu cam, chảy máu răng hoặc các trường hợp chảy máu do bị thương tích.

Trong những năm gần đây nghiên cứu cho thấy nhiều chất heteropolysaccharid có tác dụng kích thích miễn dịch, chống virus, ung thư.

Trong kỹ nghệ dược phẩm, acid alginic và alginat được dùng làm tá dược rã trong viên nén, chất ổn định nhũ dịch các kem và thuốc mỡ. Tính chất nhũ hóa và giữ nước của alginat được sử dụng trong mỹ phẩm. Công nghiệp thực phẩm tiêu thụ một lượng lớn alginat. Các ngành khác như vải sợi, sơn, giấy... cũng cần đến alginat.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Các mannan, ví dụ như T-2-HN (một dẫn chất *O*-acetyl-1-3-α-*D*-mannan) trong nấm *Dictyophora indusiata*; hai glucuronoxylomannan (MEA và MHA) và glucourono-xylogluçomannan (U-3-A) trong loài mộc nhĩ *Auricular auricula-jundae* (Fr) Quel. có tác dụng chống khối u trên dòng tế bào Sarcoma 180 [Ukai S. (1983) *Chem. Phar. Bull.* 31(2),741-44]. Các polysaccharid phức hợp cũng có các tác dụng chống khối u đáng chú ý. Ví dụ như ba proteoglucan phân lập từ hệ sợi của loài *Ganoderma tsuga* là FI_O-A, FI_O-b-α và FA-1-b-α có tác dụng chống khối u mạnh trên Sarcoma 180. [Zhang J. (1994) *Biosci. Biotech. Biochem.* 59(7):1202-05]

V. CÁC POLYSACCHARID KHÁC

1. Beta glucan

1.1. Cấu tạo

β-D-glycan là những hợp chất có cấu tạo từ nhiều phân tử đường dãy *D* nối với nhau bằng dây nối *β-D*-glycosid, quan trọng hơn cả là (1,3)- *β-D*-glucan, còn 1,4 –*β-D*-glucan đã nói đến trong phần cellulose, ngoài ra còn có (1,6)-*β-D*-glucan.

Với các dẫn chất (1,3)- *β-D*-glucan, phân tử có cấu tạo có thể chỉ là 1 mạch thẳng tạo bởi các liên kết 1→3 hay có thể "phân nhánh" bởi các liên kết 1→6 hay 1→4. Người ta thường gọi chúng là các (1,3/1,6)- *β-D*-glucan hay (1,3/1,4)- *β-D*-glucan. Các nhánh thường ngắn hơn so với nhánh của tinh bột. Các (1,3)- *β-D*-glucan khác nhau bởi khối lượng phân tử, chiều dài mạch chính, mức độ phân nhánh và chiều dài mạch nhánh. Kiểu cấu tạo mạch của các (1,3)- *β-D*-glucan có sự phân biệt khá lớn theo nguồn gốc sinh vật của chúng. Các (1,3)- *β-D*-glucan của vi khuẩn thường là một mạch thẳng (ví dụ như curdlan của loài vi khuẩn *Agrobacterium biobar*). Các (1,3)- *β-D*-glucan của nấm thường là 1 mạch phân nhánh dạng xương cá với mạch nhánh ngắn nối vào mạch chính bằng dây nối 1→6, (ví dụ như schizophyllan của nấm *Schizophyllum commune*). Các (1,3)- *β-D*-glucan của nấm men có cấu tạo tương tự như của nấm nhưng có mạch nhánh dài hơn. Các (1,3)- *β-D*-glucan của thực vật bậc cao là một mạch thẳng trên đó xen kẽ giữa những đoạn mạch đường nối với nhau bằng dây nối 1→3 là những đoạn có cấu tạo 1→4 [Volman J. J. et al. (2008) *Physiology & Behavior*;94:276–284]. Tỉ lệ giữa phần có cấu tạo 1→3 và phần có cấu tạo 1→4 khác nhau tuỳ theo từng loài thực vật.

Các mạch nhánh này còn có thể kết hợp với protein tạo nên các proteopolysaccharid phức tạp ví dụ như polysaccharid-K (PSK) và PSK trong nấm vân chi (*Trametes versicolor*).

1.2. Tính chất

Dây nối β-1,3-glucan làm cho mạch polysaccharid có dạng xoắn tương tự như tinh bột. Cũng như các gôm, pectin và chất nhầy, (1,3)- *β-D*-glucan tan trong nước nóng và tan một phần trong nước lạnh. Dung dịch nước của các (1,3)-

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

β-*D*-glucan ở nồng độ cao có độ nhớt cao. Do có cấu trúc mạch xoắn dài nên dung dịch (1,3)- β-*D*-glucan trong nước cũng có tính chất tạo gel. Mức độ hoà tan và khả năng tạo gel của (1,3)-β-*D*-glucan phụ thuộc vào khối lượng phân tử và mức độ phân nhánh của chúng.

1.3. Tác dụng dược lý và công dụng

Đặc tính sinh học quan trọng được chú ý nhiều nhất của (1,3)-β-*D*-glucan là tác dụng của chúng trên hệ miễn dịch. Các nghiên cứu cho thấy nhiều (1,3)-β-*D*-glucan là những chất có tác dụng kích thích miễn dịch không đặc hiệu. (1,3)-β-*D*-glucan có tác dụng làm tăng đáp ứng miễn dịch ở các bạch cầu và các tế bào biểu mô mà tác dụng chủ yếu là bởi điều hoà sản xuất cytokin.

Các nghiên cứu *in vitro* cho thấy một số (1,3)- β-*D*-glucan có tác dụng làm gia tăng các hoạt tính chức năng của đại thực bào kích thích tiết TNFα, làm hoạt hoá chức năng kháng khuẩn của bạch cầu đơn nhân và bạch cầu trung tính [Williams DL. *Med Inflamm* 1997;6:247–50, Tzianabos AO. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:523–33.], làm tăng đáp ứng miễn dịch bởi gia tăng sản xuất cytokin tiền viêm, bùng phát oxy hoá và sản xuất chemokin [Adachi Y. et al. Biol Pharm Bull 1994;17:1554–60. Olson EJ. et al. Infect Immun 1996;64:3548–54.]. Các đặc tính này giúp cơ thể chống lại sự nhiễm khuẩn cũng như tiêu diệt các tác nhân gây bệnh. Hồng cầu người khi ủ với (1,3)- β-*D*-glucan nấm men cũng cho thấy sự gia tăng sản xuất TNFα, IL-6, IL-8 và TF [Engstad CS. et al. Int. Immunopharmacol. 2002;2:1585–97.]. Các thử nghiệm trên người bằng cách tiêm truyền PGG-glucan (betafectin) thu được từ nấm men bia *Saccharomyces cerevisiae* trên các bệnh nhân giải phẫu có nguy cơ cao có tác dụng giảm nguy cơ nhiễm trùng, mức độ sử dụng kháng sinh và rút ngắn thời gian săn sóc đặc biệt và tăng khả năng sống so với placebo là nước muối sinh lý. [Babineau TJ. et al. Arch Surg 1994;129:1204–10. Dellinger EP. tt al. Arch Surg 1999;134:977–83]

Các (1,3)- β-*D*-glucan làm tăng sản xuất đại thực bào, bạch cầu và các tế bào tiêu diệt ung thư tự nhiên của cơ thể cũng như tăng hoạt tính của các tế bào T-helper, làm tăng mức IL-1, and TNFα. Các yếu tố này có tác dụng trên việc ngăn cản sự phát triển khối u trên động vật thử nghiệm. Polysaccharid trong vân chi (*Trametes vesicolor*) sau khi uống 48 – 72 giờ có thể làm tăng hoạt tính của các tế bào miễn dịch lên tới 30 lần hay hơn.

Theo Viện nghiên cứu Ung thư Mỹ, các (1,3)- β-*D*-glucan ở dạng hòa tan gắn kết với các bạch cầu ở bổ thể của receptor 3 (CR3[1]) của vùng lectin, làm mồi cho receptor khởi đầu quá trình mất nhân gây độc tính của các bạch cầu khi bạch cầu CR3 gắn kết với khối u mặt ngoài có bổ thể 3 (iC3b). Như vậy, sự gắn kết của các (1,3)- β-*D*-glucan vào CR3 của bạch cầu sẽ kích thích bạch cầu tiêu diệt các tế bào khối u có lớp vỏ iC3b [Yan J. et al (1999) J Immunol.;163(6):3045-52].

---

[1] Còn được gọi là Mac-1, CD11b/CD18 hay αMβ2-integrin

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Các nghiên cứu tiền lâm sàng cũng cho thấy việc sử dụng các (1,3)- *β-D*-glucan của men bia với các kháng thể đơn dòng chống ung thư (mAb) cũng cải thiện việc áp chế khối u cũng như tăng thời gian sống, gợi ý cho việc sử dụng sự kết hợp này trong điều trị bệnh nhân ung thư [Yan J. et al. (2005) Expert Opin Biol Ther.;5(5):691-702]. Sử dụng (1,3)- *β-D*-glucan nấm men với Bevacizumab[1] làm gia tăng có ý nghĩa tác dụng của thuốc này. [Salvador C. et al (2008) *Clin Cancer Res.*;14(4):1239-47]

(1,3)- *β-D*-glucan cũng được nghiên cứu sử dụng cùng với các hoá chất trị ung thư làm tăng hiệu quả điều trị [Zhong W, et al. J Immunother. 2009 Sep;32(7):703-12]. Tại Nhật Bản, dịch chiết men bia chứa chủ yếu là các β-glucan được chấp thuận sử dụng từ lâu dưới dạng tiêm truyền như là liệu pháp bổ trợ cho hoá trị ung thư. Tại Mỹ, các thử nghiệm lâm sàng giai đoạn III đang được thực hiện trên những phác đồ kết hợp này.

Các *β*-glucan còn có hiệu quả rõ rệt trên sự phục hồi của các bệnh nhân sau xạ trị và hoá trị ung thư do giúp thúc đẩy sự phục hồi của tuỷ xương.

Các *β*-glucan có tác dụng hạ cholesterol trong máu do chúng kết hợp với cholesterol và các acid mật và giúp thải các chất này qua phân, ví dụ như (1,3)-β-*D*-glucan trong cám lúa mì [Bell S. et al. Cri.t.Rev. Food. Sci. Nutr. (1999) 39,189–202; Braaten J.T. et al. Eur. J. Clin. Nutr. (1994) 48, 465–74; Davidson M.H. et al. (1991) JAMA;265,1833–9]. Trong đường tiêu hoá, các β-glucan ngăn cản sự hấp thu cholesterol từ thức ăn.

Cũng như các chất xơ tan trong nước khác, (1,3)- *β-D*-glucan có tác dụng làm giảm sự tăng đường huyết, đặc biệt là sau bữa ăn do chúng làm chậm lại sự làm rỗng dạ dày dẫn tới làm cho việc hấp thu glucose điều hòa hơn, làm gia tăng sản xuất IL-1α ở các đại thực bào và tăng tiết IL-2, IFNã và IL-4 ở tế bào tuỵ [Estrada A. et al. Microbiol Immunol 1997;41:991–8]. (1,3)- *β-D*-glucan cũng như khả năng làm tăng sự nhạy cảm với insulin của các cơ quan [Braaten JT. et al. (1994) Diabet Med;11:312–8]

1.4. Nguồn β-glucan trong thiên nhiên

Các dược liệu hay thực phẩm quan trọng chứa (1,3)- *β-D*-glucan là: nấm Phục linh (*Poria cocos*), Linh chi (*Ganoderma lucidum*), nấm Đông cô (*Lentinus edodes*), *Grifola frondosa* (nấm Tọa kê, nấm Múa), nấm men bia (*Saccharomyces cerevisiae*). Ngoài ra, còn gặp trong một số loài rong biển. Trong nấm Phục linh, hàm lượng các *β*-glucan có thể tới 94% dược liệu khô. Trong cám của một số loài ngũ cốc họ lúa như lúa mạch (7%), yến mạch (5%), lúa mạch đen (2%) và lúa mì (<1%) cũng có nhiều các dẫn chất (1,3)-β-*D*-glucan.

---

[1] Kháng thể đơn dòng đã được làm thích ứng với người với tên biệt dược Avastin (Genentech/Roche) đã được FDA Mỹ chấp thuận cho sử dụng trong điều trị ung thư vú, ung thư phổi không tế bào nhỏ, ung thư ruột kết... và các ung thư ác tính di căn.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

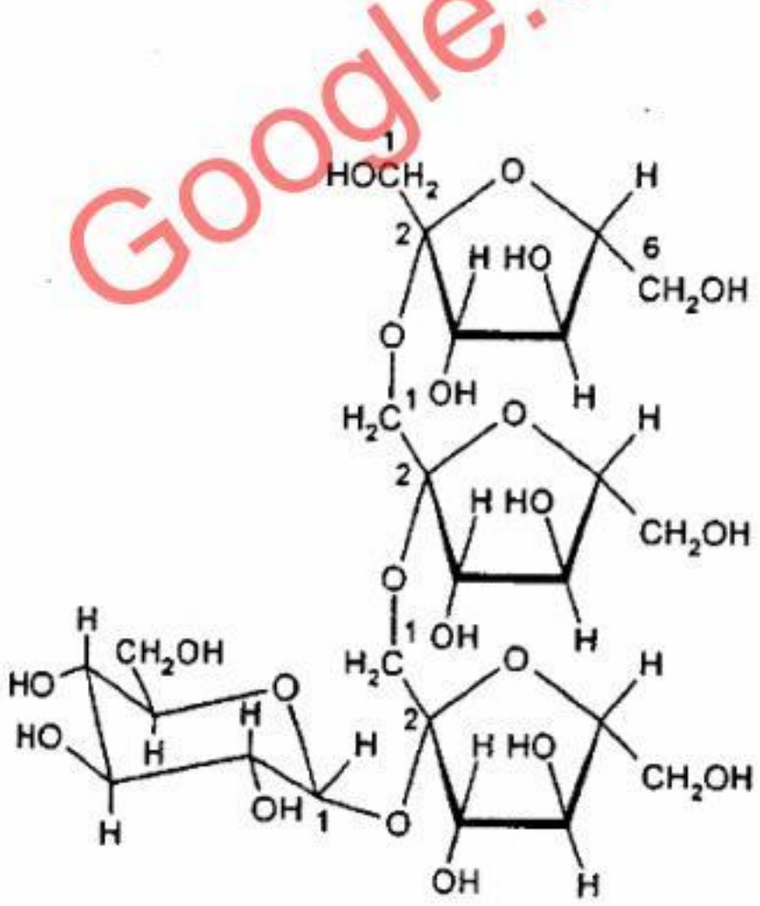
2. Inulin - Fructan

2.1. Cấu tạo

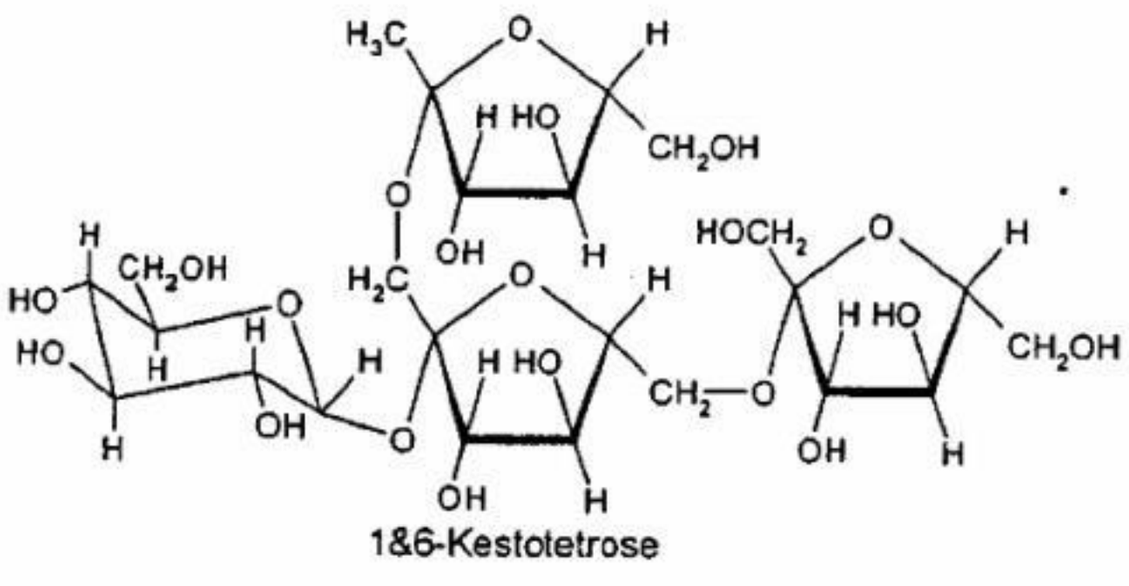
Các fructan polymer thường được biết với tên gọi là inulin. Fructan là những oligo- hay polysaccharid được cấu tạo từ các đơn vị fructofuranosyl (F) nối với nhau qua dây nối β-(2→1) với số lượng từ 2 – 60 monomer trong phân tử [L. De Leenheer. Carbohydrates as Organic Raw Materials, Vol. III, VCH, 1996, p. 67], nhưng cũng có thể tới hàng ngàn đơn vị. Các fructan thường có cấu tạo mạch thẳng chỉ gồm các đơn vị đường fructose với đơn vị đường tận cùng là fructopyranose (Fpy), nhưng cũng có thể có đơn vị đường tận cùng là glucopyranosyl (Gpy) nối vào bằng dây nối α-(1→2) (ví dụ như 1,1-kestotetraose). Tên các fructan thường được gọi như sau: các fructan không có đường glucose tận cùng được gọi là β-*D*-fructopyranosyl-[*D*-fructofuranosyl]$_{(n-1)}$-*D*-fructofuranosid, và được viết tắt là *FpyFn*. Các fructan có đường glucose tận cùng được gọi là các α-*D*-glucopyranosyl-[β-*D*-fructofuranosyl]$_{(n-1)}$-*D*-fructofuranosid và được viết tắt là *GpyFn*.

Trên thực tế, cũng gặp những trường hợp mà các fructose nối với nhau bằng dây nối β-(2→6) xen với các đường fructose nối với nhau bằng dây nối β-(2→1) (ví dụ như 1&6 kestotetraose) và C6 của đường glucose được nối thêm với đường fructose bằng dây nối β-(2→6) (ví dụ như 1&6G-kestotetraose). Các fructan cũng đôi khi phân nhánh như trường hợp của 1&6 kestotetraose. [Ian MS. Phytochemistry 63 (2003) 351–359]

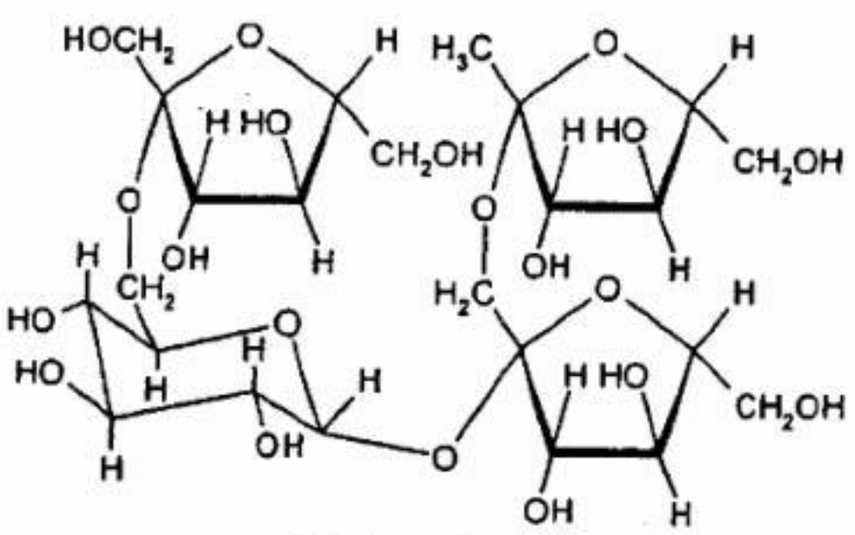
Tuỳ theo nguồn gốc mà các fructan có cấu tạo và mức độ trùng hợp khác nhau. Các fructan trong các loài ngũ cốc thường có mạch ngắn trong khi của các cây họ cúc có mạch dài hơn.



1.1-Kestotetraose



1&6-Kestotetrose



1&6$_G$-Kestotetraose

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

2.2. Tính chất

Các fructan tan khá tốt trong nước. Các fructan mạch dài kém tan hơn loại mạch ngắn và có thể tạo dạng vi tinh thể trong nước. Các vi tinh thể này không có vị riêng nhưng có thể tạo thành thể chất mịn như kem tạo cảm giác béo trong miệng nên được dùng để thay thế chất béo trong một số loại thực phẩm ăn kiêng.

Các fructan bị thuỷ phân bởi các enzym inulinase trong thực vật. Inulinase là các glycosides thuỷ phân dây nối β-2,1 của các fructan để cho các sản phẩm trung gian là các oligosaccharid và sản phẩm cuối là fructose vì thế nó là dạng tích trữ năng lượng của một số loài thực vật. Fructose là chất sinh năng lượng trong cơ thể tương tự như glucose, đồng thời là một chất có độ ngọt cao thường được dùng trong thực phẩm.

Các fructan cũng chịu tác động bởi inulin fructotransferase (tạo DFA-III), một lyase có tác dụng cắt 2 đường cuối mạch tạo nên các các oligosaccharid có mạch ngắn hơn. Disaccharid là sản phẩm của enzym này là α-*D*-fructofuranose-β-*D*-fructofuranose 1,2':2,3'-dianhydrid (DFA-III) không được cơ thể tiêu hoá nhưng có tác dụng tăng cường hấp thu các muối khoáng (Ca, Mg...) trong ruột. Enzym inulin fructotransferase (tạo DFA-I) cũng cắt fructan tương tự như inulin fructotransferase (tạo DFA-III) nhưng cho sản phẩm là một disaccharid α-*D*-fructofuranose-β-*D*-fructofuranose 1,2':2,1'-dianhydrid (DFA-I). Cả 2 disaccharid này đều không được tiêu hóa và có độ ngọt và năng lượng bằng 1/2 đường saccharose, có giá trị trong thực phẩm như các chất ngọt nghèo năng lượng.

2.3. Tác dụng dược lý và công dụng

Trong dinh dưỡng, fructan được xem như là những chất xơ tan trong nước không có giá trị dinh dưỡng do trong dạ dày và ruột non của người không có các enzym thuỷ phân các chất này. Chúng không được hấp thu ở ruột non nhưng được lên men và thoái giáng hầu như hoàn toàn ở ruột già [Wang X. et al. J. Appl. Bacteriol. 75 (1993) 373–380] bởi một số loại vi khuẩn đường ruột có ích như các *Bifidobacterium spp., Lactobacillus spp*. Bổ sung các fructan trong khẩu phần là cung cấp môi trường dinh dưỡng cho các *Bifidobacterium* phát triển giúp áp chế sự phát triển của các vi khuẩn lên men thối có hại trong ruột già [Gibson, G.R. et al. J. Nutr. 1995,125,1401-1412; Hidaka et al. Bifidobact. Microflora 1986, 5,37-50; Tomomatsu, H. Food Technol. 1994,48,61-65]. Sự lên men và phát triển của các *Bifidobacterium* còn sản sinh ra các chất acid mạch ngắn như acetic, propionic, butyric dễ dàng được hấp thu ở ruột già. Butyrat được coi như là nhiên liệu cho lớp màng nhày trong khi acetat và propionat ảnh hưởng lên các chuyển hoá carbohydrat và lipid

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

[Alles MS. et al. Am. J. Clin. Nutr. 69(1999)64]. Trong dinh dưỡng, các fructan thường được xem là các prebiotic.[1]

Fructan khi sử dụng trong dinh dưỡng có tác dụng tăng cường sự hấp thu của một số muối khoáng như calci, magnesi cần thiết cho cơ thể, đồng thời tăng cường sự tổng hợp các vitamin nhóm B. [Lopez-Molina D. et al. Phytochemistry 66 (2005)1476–1484]

Cũng như các polysaccharid không tiêu hoá được khác, fructan có ảnh hưởng lên chức năng của ruột, làm tăng tần xuất bài tiết và làm gia tăng lượng phân, đặc biệt ở các bệnh nhân táo bón. [Gibson G. R. et al. Gastroenterology 1995;108:975-982]

Các oligosaccharid của fructan còn có các tác dụng lên hệ thống miễn dịch, làm giảm sự hấp thu cholesterol và làm giảm cholesterol và lipid trong huyết tương [Coudray C. et al. 1997. Eur. J.Clin. Nutr. 51,375–380; Niness, K.R. 1999. J. Nutr.129,1402-1406].

Các fructan làm giảm lượng đường hấp thu nhưng không ảnh hưởng tới đường huyết cũng như sự tiết insulin, glucagon [Beringer A. et al. Dtsch. Z. Verdauungs Stofwechselkrankh (1995) 15:268-272]

Các nghiên cứu gần đây cho thấy các fructan có thể đóng vai trò trong việc ngăn ngừa và ức chế ung thư ruột kết và ung thư vú [Cooper P. et al. Mol. Immunol. 1986;23:903-908; Rowland I.R. et al. Carcinogenesis 1998;19:281-285]. Các fructan cũng có tác dụng ức chế sự phát triển của các khối u ác tính trên động vật thí nghiệm. Khi dùng phối hợp với các thuốc điều trị ung thư loại độc tế bào các fructan cũng tăng cường hoạt lực của các thuốc này trên chuột nhắt bị gây ung thư bởi dòng ung thư gan người di căn [Taper HS. et al. Nutr. Cancer. 2000;38(1):1-5].

Các nghiên cứu trên chuột nhắt cho thất fructan của rễ Ngưu tất (*Achiranthes bidentata*) có tác dụng kích thích hệ miễn dịch, ức chế sự phát triển và di căn của tế bào ung thư cũng như bảo vệ và phục hồi chức năng gan. [WO/2001/037844]

Fructan là những chất an toàn cho con người [Clevenger et al., J. Am. Col. Toxicol. 1988,7,643-662; Tokunaga et al. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 1986,32,111-121], không có các tác dụng phụ trên chuột cống ở liều 1,67g/kg/ngày [Tokunaga et al. J. Nutr. 1989, 119,553-559]. Việc sử dụng inulin trong khẩu phần dinh dưỡng hàng ngày ở liều 1- 2.75 g/ngày có tác dụng kích thích sự phát triển của *Bifidobacteria* [Roberfroid M.B. Br. J. Nutr. 80 (1998)197; Hidaka H. et al. Bifidobact. Microflora

---

[1] Marcel Roberfroid (2007) định nghĩa *prebiotic* là những chất có thể được lên men một cách chọn lọc làm thay đổi một cách đặc hiệu về cả thành phần và/hoặc hoạt tính của hệ vi khuẩn đường ruột mang lại cho vật chủ sức khoẻ và sự khoẻ mạnh. [J Nutr. 2007; 137: 830S]. Các vi khuẩn trong hệ tiêu hoá sử dụng các prebiotic để mang lại cho vật chủ sức khoẻ và sự khoẻ mạnh được gọi là các *probiotic*.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

5(1986)37]. Tuy nhiên, ở liều cao trên người (44-49g/ngày) có thể gây ra tiêu chảy trên một số người. [Hata Y. et al. Geriatr. Med. 23 (1985)]

Trong sinh hoá lâm sàng, người ta dùng inulin để đo thanh thải inulin xác định mức độ lọc tiểu cầu thận vì nó chỉ được lọc ở tiểu cầu mà không bị tái hấp thu và lọc ở tiểu quản thận.

2.4. Nguồn gốc fructan trong thiên nhiên

Fructan là những chất phân bố rộng rãi trong sinh vật, trong các sinh vật tiền nhân cũng như trong thực vật bậc thấp và bậc cao. Trên 36.000 loài thực vật được biết có fructan [Carpita N. C. et al. J. Plant Physiol. 1989;134:162-168].

Trong thực vật, fructan thường gặp trong các cơ quan dự trữ như củ, thân rễ nhưng cũng có thể gặp trong các bộ phân khác. Một số loài sử dụng fructan làm chất dự trữ năng lượng. Vì thế, thực vật có chứa fructan thường không có tinh bột. Trong các loài thực vật thông dụng trong cuộc sống, fructan thường gặp trong một số loài cây họ Cúc (Asteraceae) như rau Diếp xoăn (*Cichorium intybus*), Actisô, Bồ công anh, Thược dược, Hướng dương củ (*Helianthus tuberosus*), Thổ mộc hương (*Inula helenium*), Ngưu bàng (*Arctium lappa*)... ngoài ra còn gặp trong một số loài thuộc các chi như *Allium* (Hành, Tỏi, Tỏi tây...), Măng tây (*Asparagus*), *Dioscorea*, *Agave*, *Cordylin*, Chuối, Củ đậu (*Pachyrhizus erosus*) và một số loại Lúa mạch. Trong Actisô, hàm lượng inulin có thể tới 3% trong cây tươi [van Loo, J. et al. 1995. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 35, 525–552.]

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

DƯỢC LIỆU CHỨA CARBOHYDRAT

I. DƯỢC LIỆU CHỨA TINH BỘT

CÁT CĂN

Radix Puerariae

Cát căn là dược liệu chế biến từ củ Sắn dây – *Pueraria thomsonii* Benth., thuộc phân họ đậu – Faboideae, họ Đậu – Fabaceae. Một số tài liệu Trung Quốc ghi loài *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi hoặc *P. pseudohirsuta* Tang et Wang.

Đặc điểm thực vật

Sắn dây là một loại dây leo, dài có thể đến 10m, lá kép gồm 3 lá chét. Cuống lá chét giữa dài, cuống lá chét 2 bên ngắn. Lá chét có thể phân thành 2-3 thùy. Về mùa hạ trổ hoa màu xanh, mọc thành chùm ở kẽ lá. Quả loại đậu có nhiều lông. Củ dài to nặng có thể tới 20kg, nhiều xơ.

Muốn trồng người ta đào các hố sâu 50 cm, đổ phân chuồng, lấp đất xốp lại rồi giâm cành vào các hố đó. Ở nông thôn thường trồng kết hợp để làm giàn che nắng. Cũng có những vùng chuyên trồng để chế tinh bột ví dụ làng Cao Xá thuộc huyện Châu Thành tỉnh Tây Ninh mỗi năm sản xuất khoảng 20 tấn tinh bột.

Sắn dây
Pueraria thomsonii Benth.

Bộ phận dùng và chế biến

Rễ củ thu hoạch từ tháng 10 đến tháng 3-4 năm sau. Để chế vị Cát căn, trước tiên rửa sạch, bóc bỏ lớp vỏ dày bên ngoài, cắt thành khúc dài 10-15 cm. Nếu củ to nên bổ dọc để có những thanh dày khoảng 1 cm, sau đó xông diêm sinh rồi phơi hoặc sấy khô. Loại trắng ít xơ là loại tốt.

Muốn chế tinh bột sắn dây thì bóc vỏ, đem giã nhỏ hoặc xay bằng máy, cho thêm nước rồi nhào lọc qua rây thưa, loại bã, sau đó lọc lại 1 lần nữa qua rây dày hơn, để lắng, gạn lấy tinh bột rồi đem phơi hoặc sấy khô.

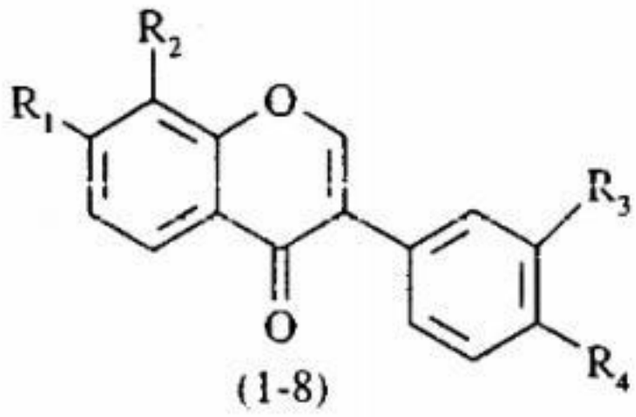
Đặc điểm vi học

Trên vi phẫu cắt ngang thấy có các đám sợi trong phần mô mềm vỏ, trong phần liber và chung quanh các mạch gỗ. Trong vi phẫu cắt dọc thấy các tế bào kèm theo sợi mang tinh thể. Hạt tinh bột hình cầu hoặc hình chuông có kích thước từ 2-20 μm.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Thành phần hóa học

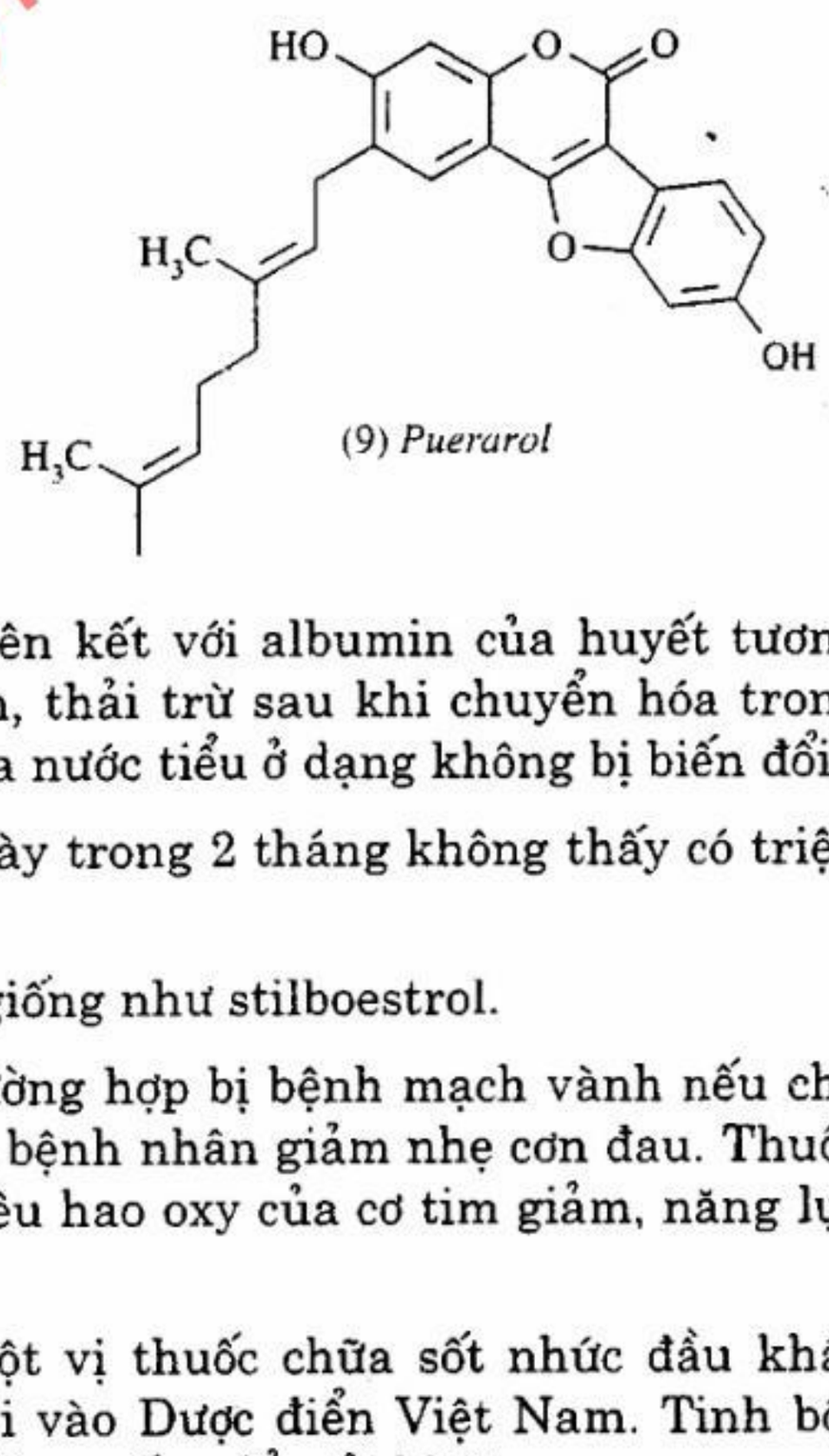
Rễ các loài *Pueraria* đều chứa tinh bột, tỉ lệ khoảng 12-15% (theo tươi). Ngoài ra còn có các chất flavonoid thuộc nhóm isoflavonoid. Từ loài *Puraria lobata* Ohwi người ta đã phân lập được các isoflavonoid là puerarin (1), daidzin (2), daizein (3), formonetin (4). Năm 1987 các nhà nghiên cứu Nhật, bằng sắc ký lỏng cao áp đã phát hiện thêm các chất pueraria glycosid là PG 1, 2, 3, 6 (5-8) và puerarol (9). Cấu trúc hóa học của PG-1, 2, 3 và 6 cũng như puerarol đã được xác định dựa trên biện luận phổ. Các glycosid ở đây đều thuộc *C*-glycosid trừ chất daidzin là *O*-glycosid và PG-6 là vừa *C*- vừa *O*-glycosid. Riêng puerarol là một chất dẫn coumestan.



(1-8)

		R_1	R_2	R_3	R_4
Puerarin	(1)	OH	-Glc	H	OH
Daidzin	(2)	O-glc	H	H	OH
Daidzein	(3)	OH	H	H	OH
Formonetin	(4)	OH	H	H	OMe
PG-1	(5)	OH	-Glc	OH	OH
PG-2	(6)	OH	-Glc^6-Xyl	H	OH
PG-3	(7)	OH	-Glc	OMe	OH
PG-6	(8)	OH	-Glc	H	O-Glc

Hoa của một số loài *Pueraria* được biết có irisolidon-7-*O*-glucosid (irisolidon = 5,7-dihydroxy-6,4-dimethoxy isoflavon) và tectoridin (= 7-*O*-glucosid của 5,7,4'–trihydroxy-6'-methoxy isoflavon).



(9) *Puerarol*

Tác dụng và công dụng .

Puerarin, hoạt chất của Cát căn, được hấp thu hoàn toàn qua ruột khi theo dõi trên những người tình nguyện bằng đường uống. Sau khi hấp thu, puerarin liên kết với albumin của huyết tương (42%), phân bố chủ yếu trong gan và thận, thải trừ sau khi chuyển hóa trong gan, chỉ 10% của liều hấp thu được thải qua nước tiểu ở dạng không bị biến đổi.

Cát căn khi cho chuột uống 2 g/kg/ngày trong 2 tháng không thấy có triệu chứng bệnh lý.

Daizein là chất có tác dụng estrogen giống như stilboestrol.

Nghiên cứu gần đây cho thấy các trường hợp bị bệnh mạch vành nếu cho uống thêm Cát căn hoặc tiêm puerarin thì bệnh nhân giảm nhẹ cơn đau. Thuốc làm giãn động mạch vành, hạ huyết áp, tiêu hao oxy của cơ tim giảm, năng lực của cơ tim nâng cao.

Theo y học cổ truyền, Cát căn là một vị thuốc chữa sốt nhức đầu khát nước, kiết lỵ, ban sởi. Cát căn đã được ghi vào Dược điển Việt Nam. Tinh bột sắn dây pha với nước sôi để nguội, thêm đường uống để giải khát.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Ngoài ra, y học cổ truyền còn dùng hoa dây sắn dây với tên *Cát hoa* để làm thuốc giã rượu.

Ở Thái Lan, loài Pueraria mirifica được sử dụng trong mỹ phẩm dưới dạng kem hay gel làm thuốc làm nở ngực bởi thành phần các isoflavonoid có tác dụng trong đó.

MẠCH NHA

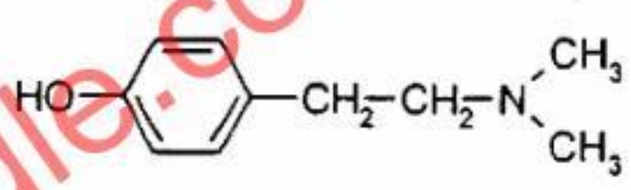
Fructus Hordei germinatus

Mạch nha là hạt (về phương diện thực vật học thì gọi là quả) nẩy mầm phơi khô của cây Đại mạch – *Hordeum vulgare* L., họ Lúa – Poaceae.

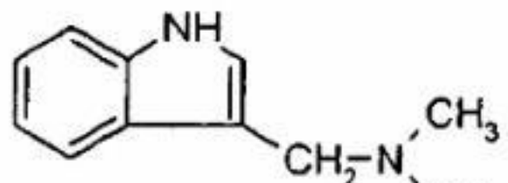
Đại mạch là một loại cây ngũ cốc, mọc hàng năm. Mỗi năm thế giới sản xuất khoảng 100 triệu tấn (Bắc Mỹ, Nga, Trung Quốc, Tây Âu). Muốn chế thành Mạch nha, người ta cho hạt nẩy mầm; khi một số mầm bắt đầu xanh, đem phơi nắng cho khô. Hạt chưa nẩy mầm là không đạt yêu cầu.

Thành phần hóa học

Cũng như các loại ngũ cốc khác, tinh bột là thành phần chính, các thành phần khác gồm có: protein, lipid, vitamin, chất khoáng. Hạt đại mạch nẩy mầm giàu các enzym. Dưới tác dụng của enzym, tinh bột chuyển thành dextrin và maltose; saccharose chuyển thành đường nghịch đảo; protein chuyển thành pepton; polypeptid thành amino acid. Do đó mạch nha là thức ăn rất dễ tiêu cho người ốm và trẻ em. Trong mầm hạt đại mạch có chứa một lượng nhỏ alcaloid (0,1-0,5%) gồm 2 chất chính là hordenin và gramin.



Hordenin



Gramin

Hordenin là một dẫn chất phenylethylamin được phân lập từ năm 1906. Muốn chế hordenin người ta cho tác dụng lên mầm hạt đại mạch dung dịch HCl loãng, sau đó kết tủa alcaloid bằng kiềm.

Muốn chế enzym dược dụng, người ta chiết đại mạch đã mọc mầm bằng nước rồi tủa bằng cách thêm 3 lần thể tích cồn 95%. Tủa tách ra đem làm khô bằng cách trải mỏng hoặc sấy ở chân không, nhiệt độ thấp. Chế phẩm chứa chủ yếu amylase, maltase.

Vi học

Hạt tinh bột hình đĩa kích thước trung bình 25-30 μm, không có rốn hạt.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Tác dụng và công dụng

Do có các enzym nên mạch nha có tác dụng giúp tiêu hóa, dùng để chữa các trường hợp ăn uống kém tiêu. Thuốc lợi sữa, ngoài ra còn chữa trẻ em đau bụng đi ngoài, lỵ, viêm ruột.

Mạch nha được ghi vào Dược điển Đông y Trung Quốc. Nước sắc Mạch nha và hoa bia (Hốt bố) sau khi cho lên men bia (dùng *Saccharomyces cerevisiae*) thì thành bia.

Hordenin có tác dụng giống giao cảm nhẹ, hơi làm tăng huyết áp, cường tim, ít độc, có tác dụng ức chế sự co bóp ruột. Hordenin cũng được dùng chữa đi ngoài, liều 0,25-1g.

Ý DĨ

Semen Coicis

Dược liệu là hạt của cây Ý dĩ (còn gọi là bo bo) - *Coix lachryma-jobi* L. var. *mayuen* (Rom. Caill.) Stapf., họ Lúa-Poaceae.

Đặc điểm thực vật, phân bố

Cây thảo sống hàng năm, cao chừng 1-1,5 m. Thân nhẵn bóng có vạch dọc. Thân có phân nhánh, các mấu phía dưới có thể mọc rễ phụ, cây mọc thành bụi. Lá hình mác dài 10-40 cm, rộng 1,5-3 cm, gân dọc nổi rõ, gân giữa to. Hoa đơn tính cùng gốc, mọc ở kẽ lá thành bông, hoa đực mọc phía trên, hoa cái phía dưới. Hoa đực có 3 nhị. Quả có mày cứng bao bọc. Cây mọc hoang ở nơi ẩm mát, có trồng ở nhiều nơi như Thanh Hóa, Nghệ An, Bình Dương và vùng Tây Nguyên.

Ý dĩ
Coix lachryma-jobi L. var. *mayuen*

Bộ phận dùng và chế biến

Hạt hình trứng dài 5-8 mm đường kính 2-5 mm, mặt ngoài màu trắng đục đôi khi còn sót lại màng vỏ chưa loại hết, mặt trong có rãnh hình máng. Chất cứng, không mùi, vị ngọt và hơi thơm, chứa nhiều tinh bột.

Thu hoạch tháng 12 - tháng 1. Cắt về đập lấy quả (thường gọi là hạt) đem phơi khô, loại bỏ quả lép rồi xay xát lấy hạt. Dược liệu rất dễ bị sâu mọt, cần để nơi khô ráo.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

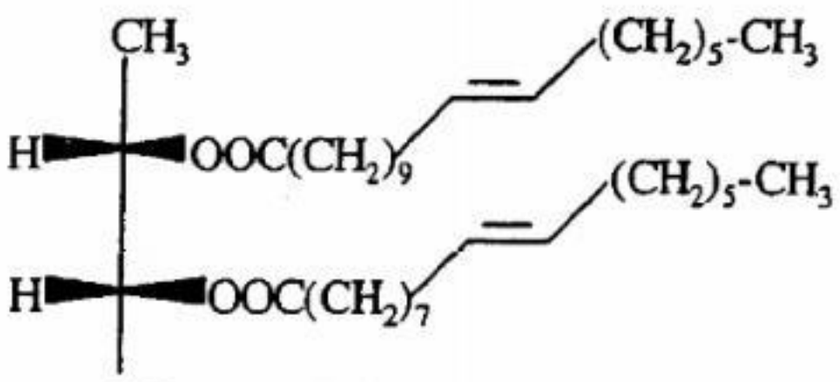
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Thành phần hóa học

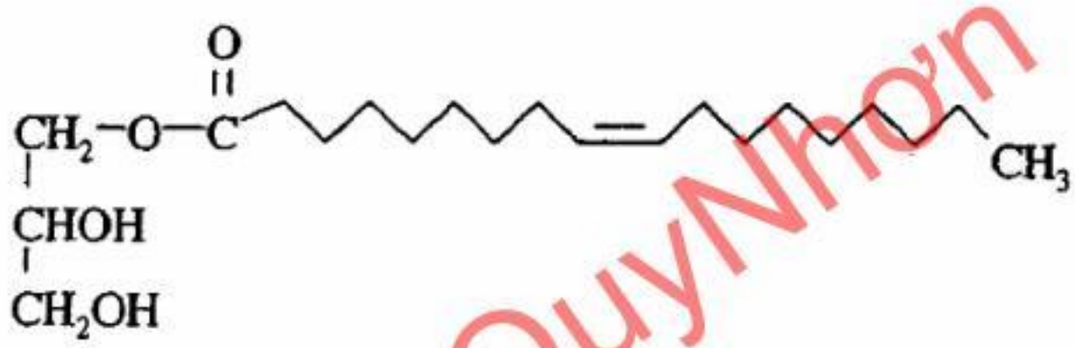
Ngoài tinh bột là thành phần cơ bản, các nhà nghiên cứu còn phân lập 2 chất có hoạt tính chống ung thư từ hạt:

Coixenolid là một chất lỏng sánh màu vàng nhạt, tan trong các dung môi hữu cơ khó tan trong nước. Đem khử thì cho tetrahydroçoixenolid. Chất này có tác dụng chống ung thư.

Chất thứ hai có tác dụng chống ung thư là α-monolinolein. Chất này được chiết từ hạt bằng methanol [H.Tokuda, Planta med.56 (1990) 653].



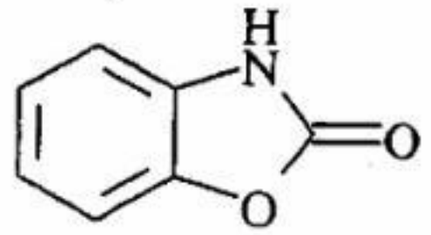
Coixenolid



α-monolinolein

Trong hạt còn có 3 glycan: Coixan A, B và C có tác dụng hạ đường huyết.

Benzoxazolon (2-benzoxazolinon) có trong lá và rễ là chất có tác dụng chống viêm rõ do ức chế sự giải phóng histamin.



Benzoxazolonn

Một số dẫn chất lignan và syringyl glycerol cũng được phân lập từ rễ.

Thử tinh khiết

Dược điển Việt Nam IV quy định: Ý dĩ có hàm lượng chất chiết được bằng ethanol nóng không dưới 5,5%, độ ẩm không quá 12%, tro toàn phần không quá 2%, tạp chất hữu cơ không quá 0,5%.

Công dụng

Trong y học cổ truyền hạt Ý dĩ được dùng làm thuốc giúp tiêu hóa, chữa tiêu chảy do chức phận tiêu hóa kém, viêm ruột, ly, làm thuốc thông tiểu trong trường hợp phù, tiểu tiện ít. Ngoài ra còn dùng để chữa viêm khớp, làm thuốc bồi dưỡng cơ thể.

Ngày dùng 10-30g dạng thuốc sắc hoặc tán thành bột làm hoàn tán với các vị thuốc khác.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

SEN

Nelumbo

Các dược liệu bao gồm nhiều bộ phận của cây Sen – *Nelumbo nucifera* Gaernt. họ Sen – Nelumbonaceae.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Cây được trồng ở nước ta trong các ao đầm. Thân rễ hình trụ mọc trong bùn gọi là ngó sen, dùng làm thực phẩm. Lá mọc lên khỏi mặt nước, cuống lá dài có gai nhỏ. Phiến lá hình đĩa to, đường kính 40-70 cm, có gân tỏa tròn. Hoa to, gồm rất nhiều cánh hoa màu trắng hoặc tím hồng, đều, lưỡng tính, nhiều nhị, bao phấn 2 ô mở bởi kẽ nứt dọc, trung đới mọc dài ra thành một phần trụ màu trắng gọi là hạt gạo, phần này có hương thơm dùng để ướp chè. Lá noãn nhiều và rời nhau đựng trong một đế hoa loe hình nón ngược. Vòi ngắn, núm nhụy chỉ nhô lên khỏi đế hoa. Mỗi lá noãn sinh ra một quả, trong đựng một hạt, hạt không có nội nhũ. Hai lá mầm nạc dày bao bọc bởi một màng mỏng. Chồi mầm (tâm sen) mang 4 lá non gập vào trong, có diệp lục.

Sen-*Nelumbo nucifera* Gaernt.

Bộ phận dùng và chế biến

Sen có nhiều bộ phận được dùng làm thuốc. Bao gồm:

Hạt sen – *Semen Nelumbinis,* là hạt còn màng lụa hồng bên ngoài, phơi khô, còn gọi là liên nhục.

Quả sen – *Fructus Nelumbinis,* là quả già phơi khô, còn gọi là Liên thạch.

Tâm sen – *Embryo Nelumbinis,* là chồi mầm phơi khô, còn gọi là Liên tâm.

Tua sen – *Stamen Nelumbinis,* là nhị hoa, còn gọi là Liên tu.

Lá sen – *Folium Nelumbinis,* là lá bánh tẻ bỏ cuống hái vào mùa hè và mùa thu, phơi khô, còn gọi là Liên diệp.

Ngoài ra, người ta còn dùng gương sen tức là đế hoa gọi là Liên phòng, ngó sen là thân rễ sen gọi là Liên ngẫu.

Dược điển Việt Nam IV ghi 3 dược liệu là tâm sen, lá sen và hạt sen.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Thành phần hóa học

Hạt

Thành phần chính của hạt là tinh bột. Hạt tinh bột hình trứng, rốn hạt hình vạch, kích thước hạt tinh bột từ 3-25 μm.

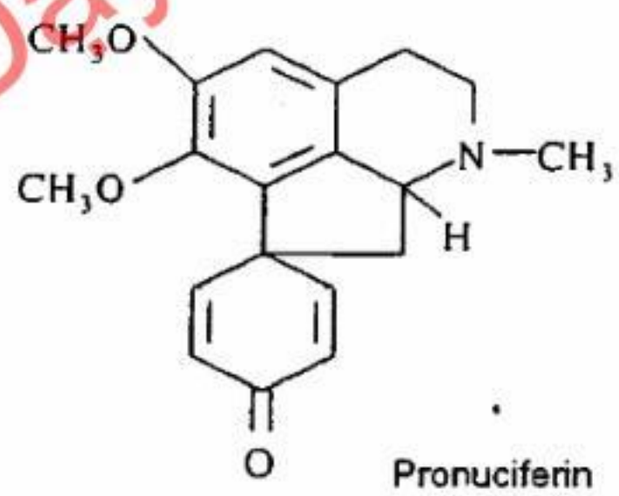
Lá

Trong lá sen có nhiều alcaloid. Alcaloid chính là nuciferin. Ngoài ra còn có anonain, roemerin, pronuciferin, N-nornuciferin, N-methyl-asimilobin, N-methyl-coclaurin, nepherin, liriodenin, dehydroroemerin, armepavin, dehydronuciferin, dehydroanonain, N- methyl-isococlaurin.

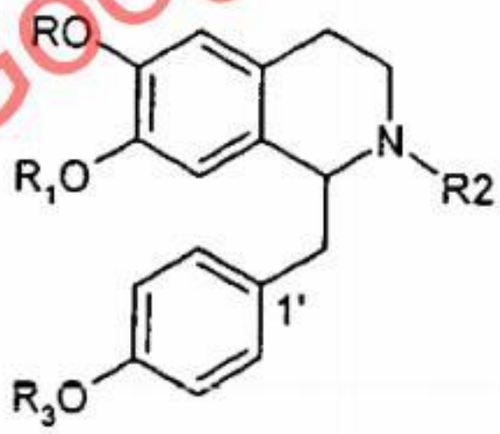
Ngoài alcaloid, lá sen còn có các flavonoid: quercetin, isoquercitrin, leucocyanidin, leucodelphinidin.

	R	R_1	R_2
Nuciferin	CH_3	CH_3	CH_3
N-nornuciferin	CH_3	CH_3	CH_3
N-methylasimilobin	H	CH_3	CH_3
Anonain	$-CH_2-$		H
Roemerin	$-CH_2-$		CH_3

Liriodenin



Pronuciferin



	R	R1	R2	R3
Armepavin	CH_3	CH_3	CH_3	H
N-Methyl-coclaurin	CH_3	H	CH_3	H
N-Methyl-isococlaurin	H	CH_3	CH_3	H
4'Methyl-N-methyl-coclaurin	CH_3	H	CH_3	CH_3

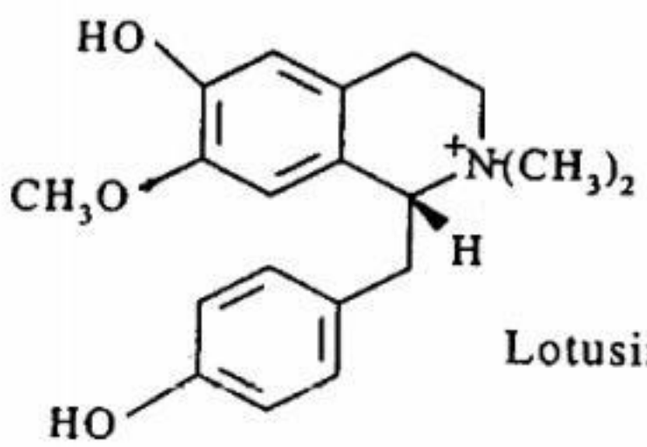
Tâm sen

Trong tâm sen có các alkaloid sau đã được biết: liensinin, isoliensinin, neferin, lotusin, demethylcoclaurin, 4'methyl-N-methyl coclaurin, N-methyl asimilobin, methyl corypallin, 1-(*p*-hydroxybenzyl)-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetra hydroisoquinolin.

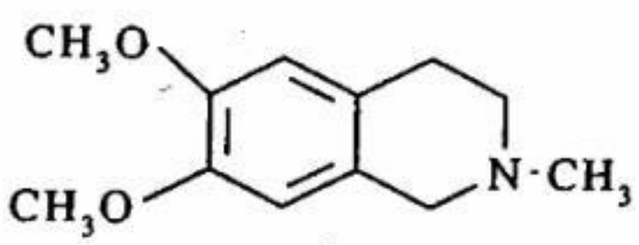
Ngoài ra, tâm sen còn có các hợp chất flavonoid.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

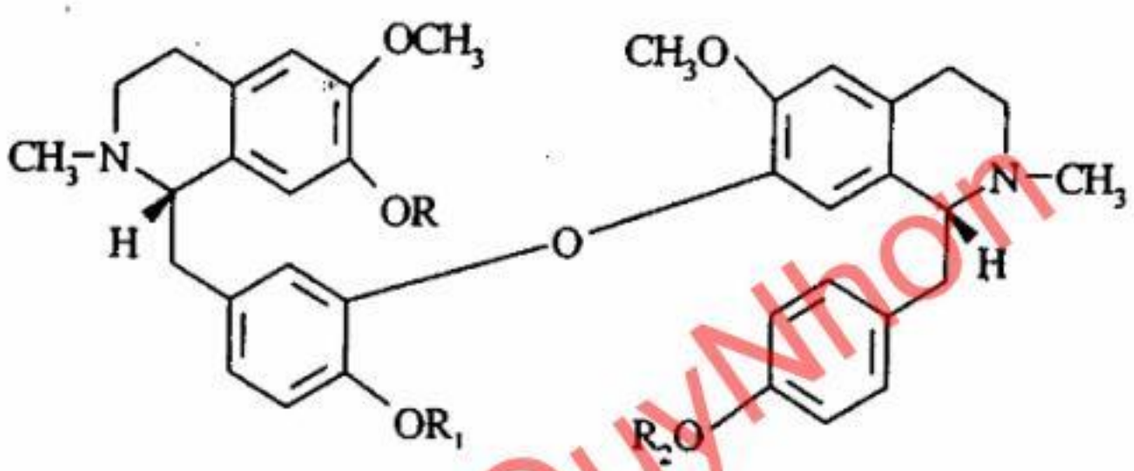


Lotusin



Methyl-corypallin

	R	R_1	R_2
Liensinin	CH_3	H	H
Isoliensinin	H	H	CH_3
Neferin	CH_3	H	CH_3



Gương sen

Trong gương sen có quercetin.

Công dụng

Hạt sen thường dùng để nấu chè ăn hoặc làm mứt. Trong y học dân tộc cổ truyền hạt sen được dùng làm thuốc bổ tỳ, thuốc chữa thần kinh suy nhược, mất ngủ, di tinh, đi tiêu lỏng. Ngày dùng 30 g.

Tâm sen là thuốc an thần, chữa mất ngủ. Ngày dùng 5 g pha trà để uống.

Lá sen cũng tác dụng như tâm sen, ngoài ra còn dùng làm thuốc cầm máu. Ngày dùng 20 g.

Gương sen và tua sen cũng dùng làm thuốc cầm máu, chữa di mộng tinh.

HOÀI SƠN

Rhizoma Dioscoreae persimilis

Hoài sơn là thân rễ đã chế biến của cây Củ mài - *Dioscorea persimilis* Prain et Burkill, Họ Củ nâu-Dioscoreaceae.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Dây leo quấn sang phải. Thân rễ phình thành củ ăn sâu xuống đất khó đào, củ hình chày dài có khi đến 1 m, có nhiều rễ con, mặt ngoài màu xám nâu bên trong có bột màu trắng. Phần trên mặt đất, ở kẽ lá thỉnh thoảng có những củ con nhỏ, những củ này có thể đem trồng được. Lá mọc đối hoặc có khi mọc so le. Lá đơn, nhẵn, hình tim đầu nhọn, có 5-7 gân chính. Hoa mọc thành bông,

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

trục bông khúc khuỷu mang nhiều hoa. Hoa đực hoa cái khác gốc. Bao hoa 6, dài bằng nhau, nhị 6, hoa cái mọc thành bông. Quả nang có 3 cánh. Cây mọc hoang ở rừng, nhân dân ta vẫn đào lấy củ ăn. Hiện nay được trồng ở nhiều nơi, nhân giống bằng củ, thu hoạch từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau.

Cây củ mài
Dioscorea persimilis Prain et Burkill

Bộ phận dùng và chế biến

Củ mài đào về rửa sạch đất, gọt vỏ, ngâm nước phèn chua 2-4 giờ, vớt ra cho vào lò sấy diêm sinh đến khi củ mềm, mang ra phơi hay sấy cho se, đem gọt và lăn thành trụ tròn. Tiếp tục sấy diêm sinh một ngày một đêm nữa rồi đem phơi hay sấy ở nhiệt độ 60°C cho tới khi độ ẩm không quá 10%. Sau khi chế biến, Hoài sơn có hình trụ tròn dài 8-20 cm, đường kính 1-3 cm,mặt ngoài trắng hay vàng ngà, vết bẻ có nhiều bột, không có xơ, rắn chắc, không mùi vị. Ta đã chế biến được vị Hoài sơn và đã xuất khẩu.

Thành phần hóa học

Hiện nay mới biết thành phần chủ yếu là tinh bột, chất nhầy.

Kiểm nghiệm

Soi bột thấy có nhiều hạt tinh bột hình trứng hay hình thận, rốn hạt dài, có vân đồng tâm; kích thước trung bình 40 µm; tinh thể calci oxalat hình kim; mảnh mô mềm gồm các tế bào thành mỏng, chứa tinh bột; mảnh mạch mạng.

Công dụng

Trong y học cổ truyền dùng làm thuốc bổ Tỳ và bổ Thận, dùng chữa tiểu đêm, di tinh, mồ hôi trộm, chóng mặt, hoa mắt, đau lưng, chữa lỵ mạn tính, tiểu đường.

Ngày dùng 12-24 g dưới dạng thuốc sắc hay thuốc bột. Hoài sơn đã được ghi vào Dược điển Việt Nam.

Theo Dược điển Trung Quốc, Sơn dược tức là Hoài sơn được chế từ *D. opposita* Thunb. Thành phần ngoài tinh bột có chứa mucin, alantoin, cholin và maltase.

Trên thị trường, Hoài sơn có thể bị giả mạo bằng nhiều loại cây khác nhau từ những cây cùng chi như Củ cọc - *Dioscorea galbara* Roxb. có màu nâu tới những cây khác xa về họ hàng thực vật như khoai mì. Cần chú ý phân biệt.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

TRẠCH TẢ

Rhizoma Alismatis

Dược liệu là thân rễ gọt vỏ phơi hay sấy khô của cây Trạch tả[1]- *Alisma plantago-aquatica* L., họ Trạch tả-Alismataceae.[2]

Đặc điểm thực vật và phân bố

Cây thảo cao 0,6 - 1 m. Lá mọc thành cụm ở gốc. Phiến lá hình trứng đỉnh nhọn. Hoa hợp thành tán, đều, lưỡng tính, có 3 lá đài màu lục, 3 cánh hoa màu trắng, 6 nhị, nhiều lá noãn rời nhau xếp xoắn ốc. Quả phức. Thân rễ trắng hình cầu hay hình con quay.

Trạch tả có mọc hoang ở các ruộng lầy Lào Cai, Bắc Thái, ngoài ra có thể trồng bằng hạt.

Thu hái chế biến

Ở cây không để lấy giống thì bấm bỏ hoa cho to củ. Mỗi năm thu hoạch 2 vụ, vụ tháng 6 và vụ tháng 12. Nhổ cả cây, cắt bỏ thân, lá, gọt sạch rễ con sấy khô. Loại đường kính trên 3 cm, khô, chắc, màu trắng ngà, nhiều bột, không mốc mọt là loại tốt.

Bột

Màu trắng ngà, mùi hơi thơm, vị hơi ngọt. Soi kính hiển vi thấy: nhiều hạt tinh bột hình trứng hay cầu, có hạt kép 2-3. Mảnh mô mềm gồm tế bào tròn chứa tinh bột. Mảnh mạch.

Thành phần hóa học

Trong Trạch tả có tinh bột 23%, iod 6,10 mg/kg, mangan 1,2 ‰.

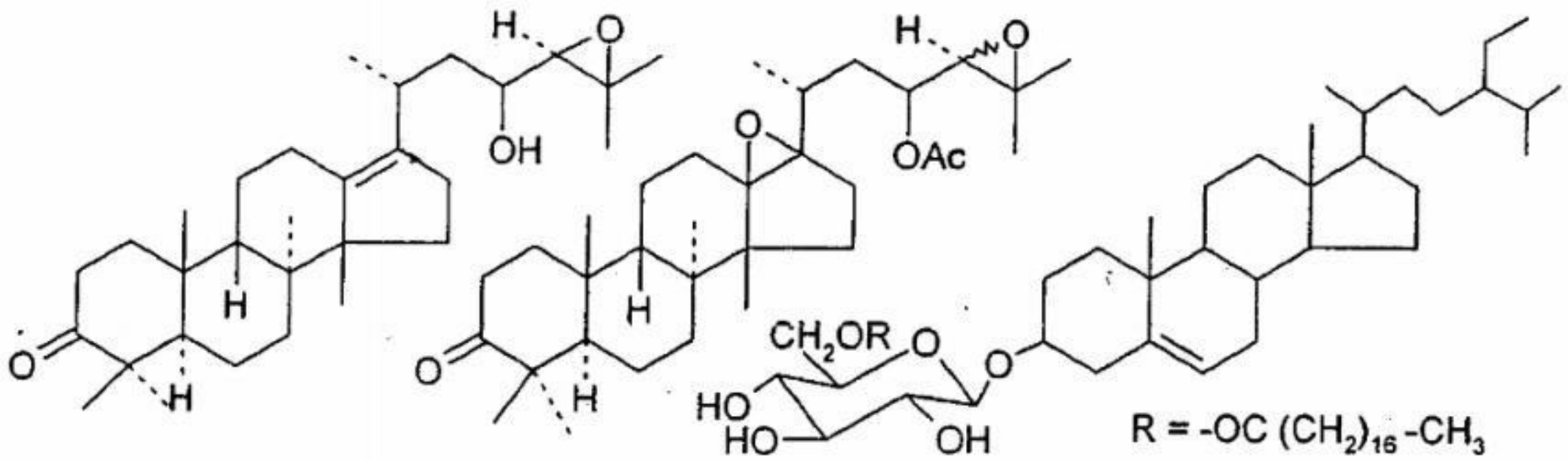
Các dẫn chất triterpenoid có cấu trúc protostan: alisol B và các dẫn chất của chất này gồm có:16-oxo (alisol C); 23-Ac; 16-*β*-hydroxy-23-acetyl; 16-*β*-methoxy-23-Ac; 16-oxo-23-acetyl; alisol D và sitosterol 3-*O*-6-stearoyl-*β*-*D* glucopyranosid.

---

[1] Trạch = đầm, ao; tả = tát cạn, ý nói vị thuốc có tác dụng thông tiểu như tát cạn nước đầm ao

[2] Trạch tả Trung Quốc sử dụng là loài *A. orientalis* (Sam.) Juzep.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Alisol B | Alisol D | Sitosterol-3-O-stearoyl-β-D-glucopyranosid

Tác dụng và công dụng

Thí nghiệm trên lâm sàng cho thấy Trạch tả tăng thải Na, Cl và urê trong nước tiểu, làm hạ cholesterol của huyết tương, bảo vệ chức năng gan.

Trong Đông y, Trạch tả được dùng làm thuốc lợi tiểu trong trường hợp tiểu tiện ít, nhiễm trùng đường tiết niệu gây đau buốt, chức phận của thận kém mà gây phù. Trạch tả còn được dùng để làm hạ cholesterol và lipid máu. Ngày dùng 6 – 12 g dưới dạng thuốc sắc.

II. DƯỢC LIỆU CHỨA CELLULOSE

BÔNG

Gossypium

Cây bông thuộc chi *Gossypium*; họ Bông - Malvaceae. Bông có nhiều thứ do lai tạo từ 4 loài chính:

- *G. herbaceum L.*
- *G. arboreum L.*
- *G. barbadense L.*
- *G. hirsutum L.*

Hai loài trên thuộc nguồn gốc châu Á. Hai loài dưới thuộc nguồn gốc châu Mỹ.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Bông thuộc loại cây nhỡ cao 1-3 m, cây mọc hàng năm hoặc nhiều năm. Lá mọc so le có cuống dài, phiến lá thường chia làm 5 thuỳ, gân lá hình chân vịt. Hoa mọc ở nách lá. Đài hoa dính liền, có một đài con gồm các lá hình tim có răng. Tràng tiền khai vặn, có 5 cánh hoa có màu sắc thay đổi: vàng, hồng, tía. Nhị nhiều, dính nhau thành ống. Quả nang hình trứng nhọn về phía trên. Có 3-5 ô, mỗi ô có 5-7 hạt. Hạt hình trứng, bao bọc bởi những sợi bông màu trắng. Cũng có loài bông có sợi màu vàng, vàng cam. Người ta đã tạo được loài bông màu xanh, màu nâu ở quy mô thí nghiệm.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Carbohydrat và dược liệu chứa carbohydrat

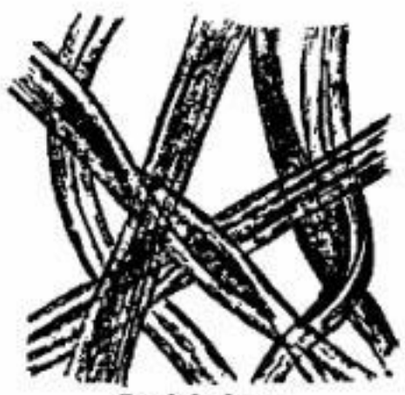
Bông-*G. herbaceum* L.

Bông-*G. arboreum* L.

Loài người đã biết trồng bông 3.000 năm tcn. Bông trồng vào tháng 1-2 và thu hoạch sau 5-6 tháng. Hàng năm thế giới sản xuất trên 10 triệu tấn. Các nước sản xuất nhiều bông là Ấn Độ, Ai Cập. Nước ta đã hình thành nhiều vùng chuyên canh bông như Daklak, Gia Lai, Kontum, Ninh Thuận, Đồng Nai, Bình Dương, Bình Phước, Tây Ninh, Phú Khánh,một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Để tăng hiệu quả kinh tế người ta thực hiện mô hình trồng xen với bắp, đậu xanh, đậu nành... Công ty bông Việt Nam cung cấp giống Bioseed 7 của Ấn Độ và một số giống bông khác cho năng suất cao hơn gấp 2-3 lần giống bông trước đây. Theo kế hoạch, nước ta cần nâng diện tích trồng bông lên 500.000 ha mới đáp ứng được nhu cầu trong nước.

Bộ phận dùng và công dụng

Sợi bông



Sợi bông

Rất nhiều sợi bông tạo thành lớp bông bên ngoài của vỏ hạt. Mỗi hạt mang từ 5.000 đến 10.000 sợi bông. Sợi bông là lông đơn bào rất dài từ 1-5 cm. Sợi dài chắc là loại tốt. Sợi dưới 25mm là loại ngắn, từ 25-30 mm là loại trung bình, từ 30-50 mm là loại dài. Soi dưới kính hiển vi sẽ thấy sợi bông rỗng ở giữa tạo thành mao quản do đó sợi bông có tính hút nước nhưng với điều kiện là phải tẩy sạch chất béo của thành tế bào lông. Sợi bông dẹt nhọn ở đầu và thỉnh thoảng có đoạn bị vặn xoắn. Nếu đặt sợi bông trong một dung dịch đồng oxyd trong ammoniac sẽ thấy sợi bông nở ra từng khúc rồi dần dần bị tan đi và chỉ còn lại phần cutin. Sợi bông nhuộm màu hồng tím với dung dịch kẽm chloroiodid. Thấm ẩm với dung dịch iod N/50, để gần khô rồi thêm acid sulfuric 80% sẽ có màu xanh. Thành phần chủ yếu của sợi bông là cellulose (chiếm đến 98%) kèm theo khoảng 1% chất vô cơ, một ít pectin, protein, chất béo.

Trong y học bông được chia làm 2 loại: bông xơ và bông hút nước.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Carbohydrat và dược liệu chứa carbohydrat

Bông xơ là bông tự nhiên đã được cán để loại hạt, đã nhặt sạch tạp chất, bật thành lớp đều và không chế biến gì thêm. Loại này không hút nước, dùng làm êm khi băng bó, dùng làm nút các ống, các bình đựng môi trường nuôi cấy vi khuẩn, nấm mốc.

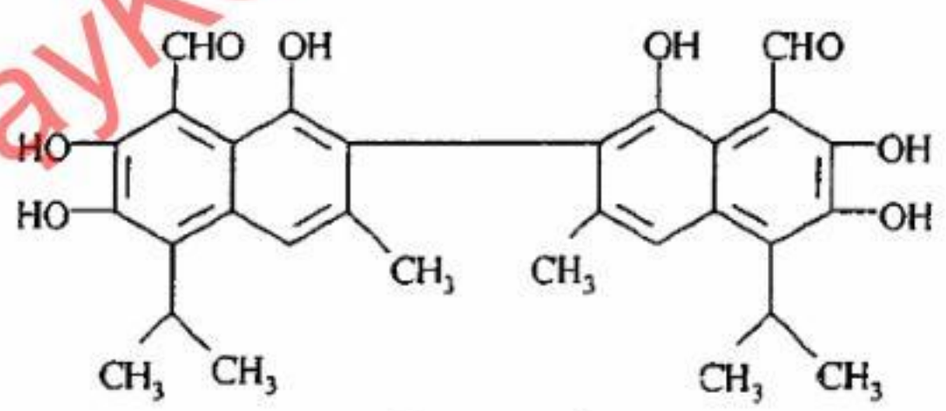
Bông hút nước là bông đã loại hết chất béo rồi tẩy trắng, bật thành lớp. Bông hút nước dùng để băng bó các vết thương, dệt gạc. Bông hút nước phải đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam về tốc độ hút nước, giới hạn chất tan trong nước, acid-kiềm, chlorid, sulfat, calci, chất béo, chất màu, độ ẩm, độ tro.

Hạt bông

Cho đến đầu thế kỷ XIX người ta chỉ lấy sợi bông, còn hạt thì bỏ đi. Ngày nay hạt được sử dụng để ép lấy dầu với tỉ lệ khoảng 15%. Dầu thuộc loại nửa khô, thành phần có những acyl glycerol của các acid béo chưa no: acid oleic 40-50%, linoleic 25-30% và các acid béo no như acid palmitic, stearic 20-30%.

Trong công nhiệp, dầu bông dùng làm xà phòng và để pha sơn. Khô dầu chứa nhiều protein (50%) trong đó có đủ các amino acid cần thiết. Trong khô dầu còn có các sắc tố: flavonoid (glycosid của quercetol và kaemferol) và đặc biệt có một sắc tố màu đỏ cam là gossypol (1% của nhân).

Chất gossypol có công thức: 2,2-bis-1,6,7-trihydroxy-3-methyl-5-isopropyl-8-aldehyd-onapthyl, có trục bất đối xứng có thể có 2 đồng phân (+) gossypol và (–) gossypol, không tan trong nước, tan trong ether và chloroform, dễ bị nhiệt phân huỷ nên dễ bị loại ra khỏi dầu và khô dầu.



Gossypol

Gossypol có độc tính với tế bào, nó kết hợp với nhóm amin của lysin trong cấu trúc protein. Thí nghiệm trên súc vật đực, người ta thấy gossypol làm giảm số lượng tinh trùng đáng kể, làm giảm lượng testosteron. Trên súc vật cái cũng có tác dụng chống thụ tinh. Thí nghiệm trên súc vật cũng thấy rằng (+)gossypol ít tác dụng nên người ta cho rằng (–) gossypol có lẽ có tác dụng tốt hơn đồng phân racemic mà người ta đã dùng trong các thí nghiệm trước đây.

Ở Trung Quốc đã có thử nghiệm trên hàng ngàn người tình nguyện thấy sau 2 tháng dùng gossypol thì lượng tinh trùng giảm rõ rệt nhưng có xuất hiện nhiều dạng bất thường. Việc dùng gossypol để hạn chế sinh đẻ còn phải được nghiên cứu nhiều vấn đề như cơ chế tác dụng, nguy cơ sinh quái thai, tác dụng phụ. Các nhà nghiên cứu Nga thấy gossypol có tác dụng ức chế khối u.

Gần đây người ta đã tạo ra được giống bông không có gossypol.

Lá bông

Lá bông chứa 5-7% acid citric, 3-4% acid malic và một số acid khác như ascorbic, lactic, pyruvic, formic. Có thể dùng làm nguyên liệu để chiết acid citric. Trong lá còn có: riboflavin, inositol, carotenoid, acid nicotinic.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Vỏ rễ

Vỏ rễ có chứa gossypol (1-2%), cây lâu năm thì lượng gossypol càng nhiều, vit.E, các catechin và một chất gây co mạch và có tác dụng thúc đẻ nhưng chưa phân lập được. Trong y học dân gian người ta có dùng vỏ rễ để làm thuốc điều kinh dưới dạng thuốc sắc. Tuy nhiên, cần thận trọng vì có gossypol độc.

Hoa

Hoa là nguồn chứa nhiều flavonoid. Có loài hàm lượng flavonoid lên đến 4,5%. Thành phần flavonoid được biết trong các loài là:

Gossypium barbadense: quercetin-3-sophorosid, quercetin-7-glucosid, quercetin-3-glucosid, quercetin và kaempferol-3-rutinosid, kaempferol-3-galactosid, gossypetin-7-glucosid.

G. herbaceum: quercetin và kaempferol-7-glucosid, quercetin-3-glucosid, gossypetin-7-glucosid.

Gossipium spp: quercetin-3'-glucosid.

III. DƯỢC LIỆU CHỨA GÔM VÀ CHẤT NHẦY

GÔM ARABIC

Gummi Arabicum

Gôm arabic là chất tiết ra và để khô từ thân và cành của cây *Acacia verek* Guill et Perr. (= *Acacia senegal* (L.) Willd.), phân họ Trinh nữ – Mimosoidae, họ Đậu, Fabaceae.

Acacia verek Guill et Perr.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Thuộc loại cây nhỡ cao 4-5 m có gai ngắn và cong. Lá kép 2 lần lông chim, cụm hoa mọc ở nách lá, tràng hoa màu trắng, quả loại đậu thẳng, dẹt, hơi thắt ở khoảng giữa các hạt.

Sudan là nơi cung cấp chính cho thị trường thế giới là (khoảng 40.000 tấn/năm), sau đó đến các vùng Tây và Nam sa mạc Sahara như Moritani, Mali, Senegal, Sad rồi đến Nigeria.

Cách thu hoạch gôm. Người ta thu hoạch gôm ở những cây từ 3 tuổi trở lên, hiệu suất cao ở những cây 5-7 tuổi. Thu hoạch vào mùa khô khi cây đã rụng lá. Gôm tiết ra từ những kẽ nứt tự nhiên, nhưng thường người ta đẽo vỏ thành từng băng (5 x 50cm) để

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

gôm chảy ra được nhiều. Gôm chảy ra, khô dần, vài ba tuần sau khi bóc vỏ thì bắt đầu lấy gôm, lúc này phần giữa cục gôm vẫn chưa rắn hẳn, qua phơi nắng hoặc qua quá trình chuyên chở gôm mới rắn hoàn toàn. Mỗi cây (5-7 tuổi) cho 500-800 g gôm.

Mô tả dược liệu

Dạng cục tròn không đều, rắn, đường kính trung bình khoảng 2-3 cm màu vàng hay màu nâu, khi khô thì có thể đập vỡ được như thủy tinh, mặt vỡ nhẵn bóng. Các cục nguyên thường có một khoang rỗng ở giữa do quá trình khô tạo ra. Gôm tan trong nước tạo thành dung dịch keo, dính và có độ quay cực.

Thành phần hóa học

Thành phần chính là polysaccharid thuộc nhóm acid có acid uronic (xem phần đại cương). Muốn định tính acid uronic có thể thực hiện như sau: đun gôm với naphtoresorcinol và acid HCl 1/2 trong vài phút, có tủa nâu tan trong benzen có màu tím. Phần polysaccharid có thể tinh chế bằng cách hòa tan gôm trong dung dịch HCl 0,1N rồi kết tủa bằng cồn, làm nhiều lần như vậy rồi cuối cùng điện thẩm tích. Công thức của gôm arabic là một polysaccharid phân nhánh nhiều (xem phần đại cương).

Ngoài ra trong gôm còn có 3-4% chất vô cơ (Ca, Mg, K) các enzym như oxydase, emulsin.

Kiểm nghiệm

5 g gôm trong 10 g nước, để yên trong 15-20 giờ phải tan hoàn toàn cho một dung dịch sánh và acid với giấy quỳ.

Dung dịch gôm 2% đun sôi để nguội, thêm 1 ml dung dịch chì acetat kiềm, có tủa trắng nhưng không tủa bởi dung dịch chì acetat trung tính (khác với gôm adragant).

Hòa tan 0,25 g gôm trong 5 ml nước, thêm 0,5 ml nước oxy già loãng và 0,5ml dung dịch benzidin 1% trong cồn, lắc và để yên, sẽ có màu xanh do có mặt của oxydase hoặc dùng cồn gaiac thì cũng có màu xanh xuất hiện.

Dung dịch gôm 10% trong nước thì hơi quay trái, các loại gôm của các loài *Acacia* khác thì quay phải mặt phẳng ánh sáng phân cực.

Không được có phản ứng của tanin và tinh bột.

Độ ẩm không quá 15%, độ tro toàn phần không quá 5%.

Công dụng

Trong bào chế khoa, gôm arabic được dùng:

Bào chế các nhũ dịch và hỗn dịch.

Làm chất dính, chất làm rã trong viên nén (vì có khả năng nở ra trong nước).

Bao viên, để cho các chất bao dính vào viên.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Bào chế các thuốc phiến, viên tròn, potio, một số kem bôi da.

Gôm arabic làm dịu tại chỗ nơi bị viêm như viêm họng viêm dạ dày.

Gôm arabic còn được dùng trong kỹ nghệ thực phẩm, keo dán.

Chú ý rằng thành phần của gôm có calci nên cần tránh những chất có tương kỵ. Trong gôm còn có enzym oxydase nên có thể tạo thành các sản phẩm có màu với aminopyrin, antipyrin, cresol, gaiacol, phenol, tanin, thymol, vanillin và một số chất khác. Một số alcaloid cũng bị ảnh hưởng: atropin, apomorphin, cocain, homatropin, hyoscyamin, morphin, physostigmin và scopolamin. Nếu đun dung dịch gôm vài phút ở 100°C thì oxydase bị hủy và tránh được sự tương kỵ.

GÔM ADRAGANT

Gummi Tragacanthae

Gôm adragant thu được từ một số cây thuộc chi *Astragalus*, phân họ Đậu – Faboideae, họ Đậu-Fabaceae cung cấp (chi này có đến 1000 loài). Loài chủ yếu cung cấp gôm này là cây *Astragalus gummifer* Labill. Các loài khác như *A. verus* Oliver và *A. piletocladus* Fr. et Sint. cũng cho gôm.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Cây *Astragalus gummifer* Labill. là cây bụi nhỏ. Cây chậm lớn, chỉ tăng khoảng 1 cm chiều cao mỗi năm và đến năm thứ 60-75 cũng chỉ cao khoảng 1 m. Lá kép lông chim chẵn, có lá kèm nhọn. Khi lá chét rụng, các cuống lá kép còn lại tạo thành những gai nhọn. Hoa hình bướm màu vàng nhạt mọc thành chùm ở nách những lá phía dưới. Quả loại đậu, có lông, chỉ chứa 1 hạt, không mở. Các loài *Astragalus* thường mọc ở độ cao từ 1000 - 3000 m.

Những nơi cung cấp gôm chính: Syria, Iran, Iraq, Hy Lạp, Turmenia, Armenia...

Sự tạo thành gôm và thu hoạch. Gôm được tạo thành do sự biến đổi của thành tế bào tia ruột và ruột. Gôm bị ép bên trong thân cây nên khi có lỗ sâu đục hoặc vết rạch sâu thì chảy ra. Hai ngày sau khi rạch thì thu hoạch gôm.

Astragalus gummifer Labill.

Mô tả dược liệu

Tùy theo dụng cụ rạch mà gôm có hình dạng khác nhau, thường là những phiến cong có vân đồng tâm dài có thể đến 5-6 cm, rộng 2 cm. Gôm có màu trắng nhờ, đục như sừng. Khác với gôm arabic, gôm adragant nở ra trong nước và chỉ tan một phần.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Thành phần hóa học

Thành phần polysaccharid là chính, polysaccharid này lại chia làm 2 loại:

Acid tragacanthic còn gọi là tragacanthin là thành phần tan trong nước chiếm khoảng 10%, ở dạng muối Ca, K và Mg trong cây. Polysaccharid này cấu tạo có một mạch chính là các *α-D*-galacturonic theo dây nối (1→4) đôi khi có *L*-rhamnose xen vào, còn mạch nhánh nối ở C-3 gồm có *D*-xylose, 2-*O*-*α*-galactopyranosyl-*D*-xylopyranose và 2-*O*-*α*-*D*-galacto-pyranosyl-*D*-xylopyranose.

Arabinogalactan hay còn gọi là bassorin chiếm 60-70%, là một polysaccharid trung tính, không tan trong nước mà chỉ nở ra tạo thành thể keo, phân tử phân nhánh nhiều, gồm mạch chính là các *D*-galactose nối theo dây nối (1→6) và (1→2), mạch nhánh là các *L*-arabinose nối theo dây nối (1→2), (2→3), (1→5).

Khác với gôm arabic trong thành phần gôm adragant có tinh bột và không có oxydase. Các chất vô cơ chiếm 3-4%.

Kiểm nghiệm

Không phản ứng với cồn gaiac hoặc với benzidin (để phân biệt với gôm arabic).

Không được có mùi acetic (để phân biệt với gôm *Sterculia*).

Chỉ số nở: thực hiện với 0,5 g trong một hỗn hợp cồn nước 4:6 phải trên 10.

Khác với gôm arabic, gôm adragant không hoàn toàn tan trong nước. Nó chỉ cho với nước một dịch nhầy đục và sánh hơn.

Công dụng

Làm chất nhũ hóa tốt hơn gôm arabic, ngoài ra còn dùng làm tá dược dính trong các dạng thuốc viên, chất làm dịu khi đau họng.

SÂM BỐ CHÍNH

Radix Hibisci sagittifolii

Dược liệu là rễ củ của cây Sâm bố chính - *Abelmoschus sagittifolius* (Kurz.) Merr. họ Bông - Malvaceae.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Cây thảo, cao 0,5-1 m, sống nhiều năm, mọc đứng yếu ớt. Thân có lông. Lá mọc so le, phiến lá thường chia thành 5 thùy, thùy giữa dài và nhọn, gân lá hình chân vịt, gân mặt trên gần cuống có màu tía. Lá kèm hình sợi. Hoa mọc riêng lẻ ở kẽ lá, 5 cánh màu hồng, đài phụ gồm 7-10 bộ phận, đài hoa sớm rụng,

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

nhiều nhị dính liền nhau thành một ống, bầu có lông, vòi có 5 núm nhụy. Quả hình trứng nhọn, mặt ngoài có lông. Hạt hình thận màu nâu. Sâm bố chính được trồng ở nhiều nơi nước ta, gieo hạt vào tháng 2-3, cây ưa ánh sáng. Cần phân biệt với Sâm báo, mọc ở núi Báo (Thanh Hóa) có hoa màu vàng, cây nhỏ hơn.

Sâm bố chính
Abelmoschus sagittifolius (Kurz.) Merr.

Bộ phận dùng và chế biến

Rễ hình trụ thót dần về phía dưới, dài 10-20 cm, đường kính 0,5-2,5 cm. Nhiều khi gặp những củ có phân nhánh và nom giống hình người. Người ta thu hoạch vào tháng 11-12 hoặc 1-2, cắt bỏ rễ con, rửa sạch, phơi khô hay cạo vỏ, đồ chín rồi làm khô. Vết bẻ có màu trắng, có nhiều bột, không có xơ, vị nhạt, nhầy dính khi tiếp xúc với nước.

Vi phẫu. Lớp bần gồm 2-3 hăng tế bào, lớp bần này không thấy ở rễ đã cạo vỏ. Mô mềm vỏ chứa nhiều hạt tinh bột. Rải rác trong mô mềm có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai và các túi chứa chất nhầy. Liber hình nón trong có các đám sợi. Tia ruột gồm 2-3 hàng tế bào loe thành hình phễu về phía liber và chứa nhiều tinh bột. Gỗ chạy vào tận ruột.

Bột có màu trắng ngà có nhiều hạt tinh bột riêng lẻ hình cầu hoặc nửa cầu, kích thước 10-30 µm, có nhiều hạt kép 2-3. Sợi liber rộng khoảng 20 µm, mảnh mạch mạng và mạch chấm, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, mảnh mô mềm gồm tế bào chứa tinh bột.

Thành phần hóa học

Chất nhầy khoảng 40%, nhiều tinh bột. Các thành phần khác chưa được nghiên cứu.

Công dụng

Ở nước ta, nhân dân dùng Sâm bố chính để làm thuốc bổ và chữa ho. Ngày dùng 16-20 g hoặc có thể đến 40 g. Sâm bố chính đã được ghi vào Dược điển Việt Nam.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

BẠCH CẬP

Rhizoma Bletilae

Dược liệu là thân rễ chế biến từ cây Bạch cập - *Bletila striata* (Thunb.) Reichb., họ Lan-Orchidaceae.

Bạch cập
Bletila striata (Thunb.) Reichb.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Cây Bạch cập thuộc loại thảo, sống nhiều năm, cao khoảng 90 cm, mọc hoang và được trồng ở những nơi đất ẩm. Lá mọc từ thân rễ lên, mỗi cây mang khoảng 3-5 lá hình mác dài 18 – 40 cm, rộng 2,5 – 5 cm, mặt lá có nhiều nếp nhăn dọc. Hoa nở vào mùa hạ, màu đỏ tía. Quả hình thoi có 6 cạnh, dài khoảng 3 cm, đường kính 1cm. Thân rễ phát triển thành củ có nhiều chất nhầy làm chất dự trữ cho cây. Tài liệu cho biết cây có mọc ở rừng thứ sinh Vĩnh Phú.

Bộ phận dùng và chế biến

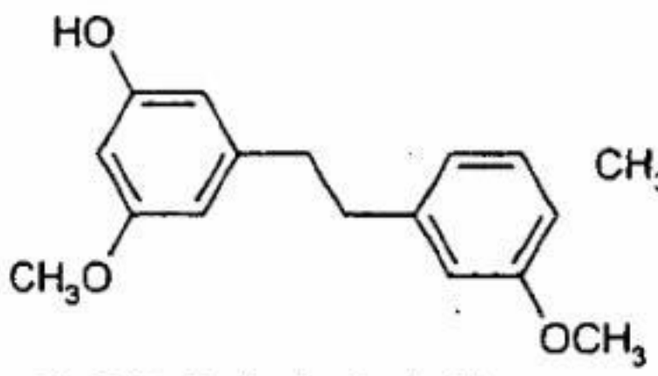
Thân rễ hóa thành củ, thu hoạch ở những cây 2-3 tuổi, bỏ vẩy và rễ con, rửa sạch, sấy nhỏ lửa đến khô. Sau khi chế biến, dược liệu là những khối như sừng vị đắng và nhớt. Khi dùng đem ủ mềm, thái lát, sấy nhẹ cho khô, nếu cần thì tán thành bột.

Đặc điểm bột. Bột Bạch cập soi dưới kính hiển vi thấy có tế bào biểu bì có thành vòng vẹo, mô mềm có calci oxalat hình kim.

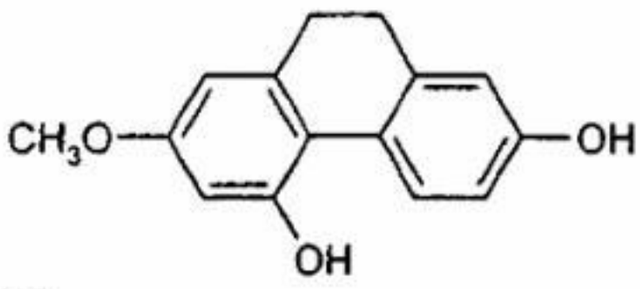
Thành phần hóa học

Chất nhầy là chủ yếu, chiếm khoảng 55% và thuộc loại glucomannan.

Các dẫn chất phenanthren gồm có: 4,7-dihydroxy-2-methoxy-9,10-dihydrophenanthren và blestiaren A, B,C; ba chất sau là những phenanthren dimer).



3'-O-Methylbatastasin III



4,7-dihydroxy-2-methoxy-9,10-dihydrophenanthren

Dẫn chất bibenzyl có 3'-*O*-methylbatatasin III.

Tác dụng và công dụng

Bạch cập có tác dụng chống loét dạ dày trên chuột cống thí nghiệm.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Carbohydrat và dược liệu chứa carbohydrat

Các dẫn chất phenanthren và dẫn chất bibenzyl nói ở trên đều có tác dụng kháng khuẩn.

Trong y học cổ truyền, Bạch cập được dùng làm thuốc cầm máu trong các trường hợp ho ra máu, loét dạ dày chảy máu, lỵ có máu, trĩ. Dùng dưới dạng thuốc sắc hay thuốc bột, mỗi ngày 15 g. Dùng ngoài phối hợp với thạch cao để chữa mụn nhọt, các vết thương, vết loét. Bạch cập hòa với dầu vừng để chữa bỏng.

MÃ ĐỀ

Semen et Folium Plantaginis

Dược liệu là hạt và lá của cây Mã đề - *Plantago major* L., họ Mã đề - Plantaginaceae.

Trên thế giới có các loài như: *P. media* L., *P. lanceolata* L., *P. psyllium* L., *P. depressa* Willd. và một số loài khác cũng được sử dụng.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Cây thuộc loài thảo, sống dai, thân rất ngắn. Lá mọc ở gốc thành hoa thị, có cuống dài và rộng. Phiến lá nguyên hình trứng dài 12 cm rộng 8 cm, có 5-7 gân chính hình cung chạy dọc theo phiến rồi đồng quy ở gốc và ngọn phiến lá. Hoa mọc thành bông có cán dài, hướng thẳng đứng. Hoa đều lưỡng tính, 4 lá đài xếp chéo hơi dính nhau ở gốc. Tràng màu nâu, khô xác, tồn tại, 4 thùy xen kẽ với các lá đài. Bốn nhị thò ra ngoài, chỉ nhị mảnh dài gấp tràng 2 lần. Bầu trên, 2 ô. Quả hộp, có 8-13 hạt. Vỏ ngoài của hạt hóa nhầy khi gặp nước.

Mã đề mọc hoang và được trồng nhiều nơi.

Mã đề
Plantago major L.

Vi phẫu lá. Biểu bì trên và dưới gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm có tế bào tròn, to, thành mỏng. Một bó libe gỗ tròn nằm giữa ứng với gân chính.

Bộ phận dùng và chế biến

Nếu lấy lá thì thu hoạch từ tháng 5-7, nếu lấy hạt thì từ tháng 6-8, cắt những bông thật già phơi khô, vò và xát trên sàng rồi sẩy sạch, sau đó tiếp tục phơi khô cho đến khi độ ẩm còn 10%. Hạt rất nhỏ hình bầu dục hơi dẹt dài khoảng 1 mm, mặt ngoài nâu nhạt hay nâu đen. Nhìn qua kính lúp thấy mặt hạt nổi lên những vân lăn tăn, rốn lõm.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

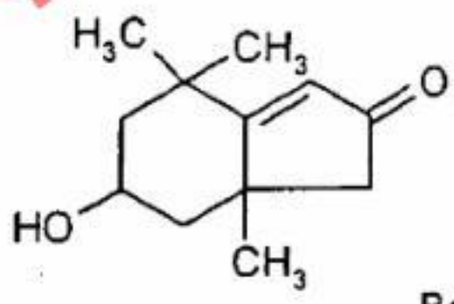
Thành phần hóa học

Thành phần hóa học chính của toàn cây là chất nhầy, hàm lượng trong lá có thể đến 20%, trong hạt có thể đến 40%. Dược điển Việt Nam IV quy định hạt mã đề phải có chỉ số nở ít nhất là 5. Các nhà nghiên cứu Nhật đã chiết xuất chất nhầy hạt *P. major* L. dưới dạng tinh khiết với tên "Plantasan" với hiệu suất 6,8%. Thành phần cấu tạo của Platasan gồm có *D*-xylose, L-arabinose, acid D-galacturonic, L-rhamnose và D-galactose theo tỉ lệ tương ứng là 15:3:4:2:0,4. Planteose là một oligosaccharid hàm lượng 1%, thủy phân bằng acid thì cho 1 galactose, 1 glucose và 1 fructose.

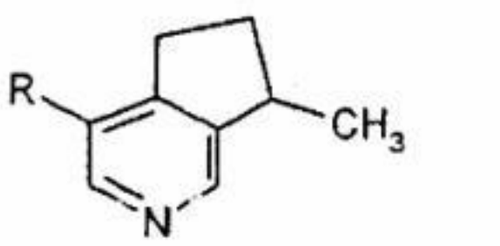
Hai chất iridoid đã được xác định là aucubosid và catalpol. Đây cũng là thành phần hoạt chất đáng chú ý của dược liệu (công thức, xem phần iridoid glycosid).

Các hợp chất flavonoid: apigenin, quercetin, scutellarein, baicalein, hispidulin (=5,7,4- trihydroxy-6-methoxy-flavon), luteolin-7-glucosid, luteolin-7-glucuronid, homoplantaginin (=7-*O*-*β*-*D*-glucopyranosyl-5,4'-dihydroxy-6-methoxy flavon), nepitrin (=7-*O*-*β*-*D*-gluco pyranosyl-5,3',4'-trihydroxy-6-methoxy flavon), 7-*O*-*α*-*L*-rhamnopyranosyl 5,6,4'-tri-hydroxy-6-methoxyflavon, 7-*O*-*β*-*D*-glucopyranosyl 5,6,3',4'-tetrahydroxyflavon (xem thêm chương flavonoid ở phần sau).

Các thành phần khác: các acid hữu cơ như acid cinnamic, p-coumaric, ferulic, cafeic, chlorogenic, neochlorogenic; carotenoid, vitamin K, vitamin C, một ít tanin, saponin, dẫn chất lacton (liliolid), dẫn chất coumarin (esculetin).



Liliolid



Boschniakin R=CHO
Boschniakinic acid R=COOH

Trong hạt mã đề loài *P. major* và một số loài khác còn có alcaloid boschianin (= indicain), boschniakinic acid (= plantagonin).

Tác dụng và công dụng

Những dẫn chất iridoid glycosid là thành phần có tác dụng kháng khuẩn của lá Mã đề. Lá đem hãm với nước sôi để nguội để rửa mắt khi viêm kết mạc, viêm mí mắt, hoặc làm nước súc miệng khi bị viêm họng.

Trong y học cổ truyền, lá dùng làm thuốc thông tiểu chữa những trường hợp bí tiểu tiện, tiểu tiện ra máu; ngoài ra còn dùng để chữa ho, chữa viêm loét đường dạ dày, ruột. Lá tươi giã nhỏ dùng đắp mụn nhọt, chỗ bị sâu bọ đốt.

Hạt Mã đề, còn gọi là xa tiền tử, do có chất nhầy nên có tác dụng nhuận tràng và tăng thể tích phân. Chất nhầy tạo thành 1 lớp bảo vệ niêm mạc ruột nên cũng dùng làm thuốc chống viêm trong bệnh viêm ruột, đau dạ dày và lỵ. Ngoài ra còn có tác dụng long đờm, lợi tiểu (uống một thìa cà phê trước bữa cơm chiều).

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Carbohydrat và dược liệu chứa carbohydrat

Bài thuốc lợi tiểu: hạt Mã đề 10 g, Cam thảo 2 g, nước 600 ml sắc còn 200 ml chia 3 lần uống trong ngày.

Bài thuốc chữa ho tiêu đờm: Mã đề 10 g, Cam thảo 2 g, Cát cánh 2 g, nước 400 ml sắc còn 200 ml chia 3 lần uống trong ngày.

THẠCH

Agar-agar

Nguồn gốc

Thạch là sản phẩm chế từ một số loài tảo biển thuộc ngành tảo đỏ - Rhodophyta.

Trên thế giới người ta có thể chế thạch từ các loại tảo thuộc các chi khác nhau như: *Gelidium*, *Phyllophora*, *Furacellaria*, *Euchema*, *Ahnfeltia*, *Pterocladia*...

Ở nước ta "rau câu" là nguyên liệu quan trọng để chế thạch. Qua điều tra ven biển các tỉnh phía Bắc, chúng ta đã phát hiện 11 loài. Đáng chú ý là loài rau câu chỉ vàng-*Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf. ở các tỉnh phía Nam đã phát hiện 6 loài rau câu, đáng chú ý là loài rau câu rễ tre - *Gelidiella acerosa* (Forssk.) Feldm. et Ham.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Rau câu thuộc loại thực vật sống 1 năm, màu đỏ thẫm, đỏ vàng đỏ nhạt đôi khi màu nâu tối. "Thân" rau câu hình trụ tròn hay phiến dẹp, dài 15-50 cm, có loài dài tới 1,3 m hoặc hơn. Rau mọc thành từng cụm hay từng cây đơn độc, phần cuối gốc có bàn bám hình đĩa tròn để bám vào đá, vỏ sò... Rau câu chia thành nhiều nhánh, đặc tính chia nhánh là cơ sở quan trọng để xác định các loài.

Rau câu - *Gracilaria*

Những vùng ôn đới rau câu mọc tốt vào tháng 5-6. Vùng nhiệt đới như nước ta rau câu phát triển sớm hơn. Phần lớn các loài rau câu ở nước ta sinh trưởng vào cuối mùa đông, đầu mùa xuân, tốt nhất là khoảng giữa đến cuối mùa xuân, đầu tháng 4 rau câu đã phóng bào tử, tháng 5-6 tàn lụi.

Rau câu chỉ vàng gặp nhiều ở ven biển Quảng Ninh, Hải Phòng, Thanh Hoá. Chúng ta đã thành công nuôi rau câu chỉ vàng ở các đầm nước lợ để thu hoạch xuất khẩu và chế biến thạch. Rau câu rễ tre có ở Nha Trang cũng đã được nghiên cứu chế thạch.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Thu hoạch và chế biến

Thu hoạch tảo vào những thời kỳ nhất định. Ở nước ta nên thu hoạch vào tháng 3. Hiện nay ở nhiều nước việc thu hoạch được tiến hành bằng cơ giới, có khi thu hoạch tảo do sóng đánh vào bờ. Tảo được vớt lên phơi khô, rũ sạch cát, vỏ sò rồi chuội (làm trắng) bằng cách tưới nước rồi phơi nắng, khi tưới nước thì đồng thời muối cũng bị loại. Tiếp theo tảo được đun với nước đã acid hóa nhẹ (1 phần tảo khô, 60 phần nước) trong nhiều giờ, lọc nóng qua vải lanh, để nguội rồi cho đông lạnh. Nước trong thạch sẽ đóng thành đá, sau đó lại cho tan đá, nước chảy ra và kéo theo tạp chất. Muốn có thạch dạng sợi,người ta nén qua khuôn thép có lỗ rồi phơi hoặc làm khô ở nhiệt độ 35^{0}C. Có loại dạng bột hoặc dạng mảnh dẹt.

Mô tả dược liệu

Tùy theo cách chế biến mà thạch có thể ở dạng sợi, có khi các sợi này dính nhau thành phiến, hoặc dạng bột. Sợi thạch màu trắng xám hay không màu, gần như trong suốt, thường dài 20-30 cm, dày 3-8 mm. Bột có màu trắng xám, sờ ráp tay.

Ở trong nước lạnh, thạch nở to, tan trong nước sôi khi để nguội sẽ đông lại.

Thạch của ta sản xuất chất lượng rất tốt đạt tiêu chuẩn quốc tế, được một số nước ưa thích.

Thành phần hóa học

Thành phần chủ yếu của thạch là chất nhầy thuộc nhóm acid, thành phần có gốc sulfat.

Kiểm nghiệm

Thạch không được có quá 1% chất lạ hữu cơ, 0,5% tro không tan trong acid và 20% độ ẩm.

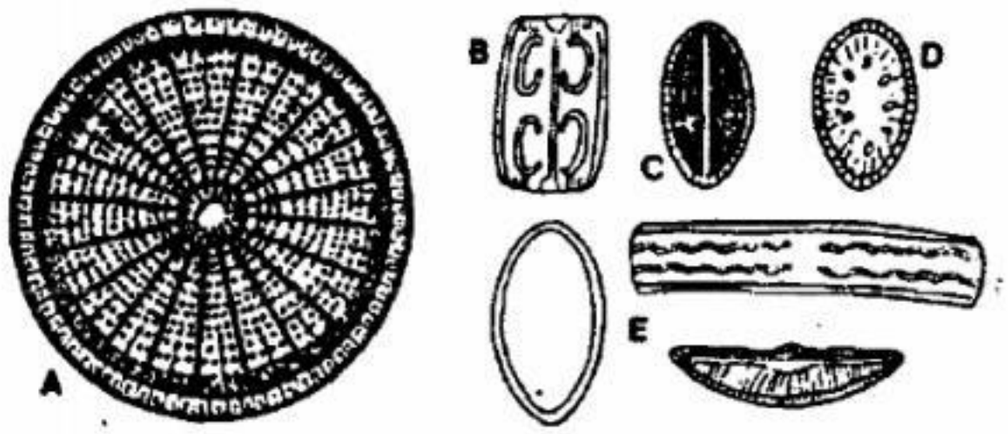
Thạch không tan trong nước lạnh nhưng nếu đun 1 g thạch và 65 g nước rồi để nguội thì tạo thành chất đông.

Lấy 10ml dung dịch thạch 0,5%, thêm 1,5 ml HCl, đun cách thủy 30 phút để thủy phân. Chia làm 2 phần: một phần thêm dung dịch bari chlorid 5% sẽ có tủa trắng vì trong thành phần cấu tạo của polysaccharid của thạch có các gốc sulfat, một phần thêm 1,5 ml dung dịch natri hydroxyd 10% và 3 ml thuốc thử Fehling, đun nóng sẽ có tủa màu đỏ do các nhóm OH bán acetal được giải phóng có tính khử.

Thạch đem đốt thành tro rồi cho tác dụng với acid hydrochloric loãng, sau đó soi kính hiển vi sẽ thấy còn sót lại khung của các loại khuê tảo và bọt biển.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Khuê tảo nằm trong thạch

A, *Arachnoidiscus* (đường kính 130μm); B, các loài của *Grammatophora;* C, *Cocconeis*; D, *Campyloneis;* E, các loại khuê tảo khác

Phát hiện gelatin: đun một dung dịch 0,2% thạch đến gần sôi rồi thêm dung dịch tanin, không được có tủa.

Phát hiện tinh bột: đun sôi 100 ml thạch với 100 ml nước rồi để nguội, thêm dung dịch iod không được có màu xanh.

Công dụng

Thạch dùng để chữa táo bón kéo dài. Khi uống vào ruột, thạch sẽ hút nước nở ra làm tăng thể tích của phân, gây điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn có ích ở ruột phát triển. Liều dùng 4-16 g một ngày, ngoài ra thạch là nguyên liệu để chế môi trường trong khoa vi sinh, làm chất ổn định các nhũ dịch. Về mặt thực phẩm, thạch dùng làm thức ăn và đồ giải khát. Thạch còn được dùng trong kỹ nghệ dệt và giấy.

TẢO BẸ

Laminaria

Tảo bẹ thuộc ngành Tảo nâu-Phaeophyta. Một số loài được dùng trong y học: *Laminaria saccharina* Lam., *L. japonica* Aresch., họ Tảo bẹ-Laminariaceae.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Tảo bẹ có tản dẹt nom như lá, dài 1-15 m, rộng 20-50 cm, có màu nâu, có bộ phận hình trụ nom như thân và có những móc nom như rễ để bám vào đáy biển. Nói chung tất cả bờ biển của các nước đều có. Ở biển Đông chủ yếu là loài *L. japonica* Aresch.

Tảo bẹ ở độ sâu 5-6 m nên phải dùng cào có cán dài vớt lên phơi khô, loại sạch tạp chất rồi xay thành bột khô.

Tảo bẹ

Laminaria japonica Aresch.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Carbohydrat và dược liệu chứa carbohydrat

Thành phần hóa học

Màu nâu của tảo là do chứa fucoxanthin là một sắc tố carotenoid.

Thành phần chủ yếu là laminaran. Laminaran có 2 dạng: một dạng hầu như không tan trong nước lạnh nhưng tan trong nước nóng và một dạng tan được trong nước lạnh. Về cấu trúc hóa học, laminaran là acid alginic (xem phần đại cương). Trong phân tử cũng có mặt của đường D-mannitol với tỉ lệ khoảng 2,7% trong dạng laminaran hòa tan và 1,7% trong dạng không hòa tan.

Thành phần của tảo bẹ còn có iod tồn tại dưới dạng iodid và dưới dạng kết hợp hữu cơ. Lượng iod tăng vào mùa hè, giảm về mùa đông và cũng giảm đi nếu để tảo ngoài trời do nước mưa hoặc nước biển hòa tan.

Ngoài ra còn có các vitamin A, D... các muối kali, natri, calci (0,02-0,09%) và các thành phần vi lượng Mn, Cu, As, Co, Bo...

Công dụng

Tảo bẹ được dùng làm chất nhuận tràng, điều hòa sự hoạt động đường dạ dày-ruột. Uống 1 thìa canh bột thô hòa với nước vào tối trước khi đi ngủ.

Tảo bẹ có chứa nhiều loại vitamin, hợp chất có iod và các yếu tố vi lượng nên dùng rất tốt cho những người bị bướu cổ, xơ vữa động mạch, trẻ em còi xương, lao.

Dược điển Đông Y Trung Quốc quy định dùng Tảo bẹ *L. japonica* Aresch, để chữa bướu cổ, tràng nhạc... ngoài ra còn có thể dùng các loài Tảo mơ - *Sargassum* spp. thuộc họ Tảo mơ (Sargassaceae) với công dụng như Tảo bẹ.

> Các loài thuộc ngành tảo nâu đặc biệt các loài thuộc họ Fucaceae và Laminariaceae có giá trị kinh tế vì đây là nguồn chính để điều chế acid alginic và alginat. Hàng năm trên thế giới tiêu thụ đến hàng nghìn tấn dùng làm chất ổn định, nhũ hóa... trong nhiều ngành kinh tế khác nhau như cao su, sơn, dệt, thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm.

LINH CHI

Ganoderma lucidum (Leyss. ex Fr.) Karst

Dược liệu Linh chi là thể quả của loài nấm Linh chi *Ganoderma lucidum*[1], họ Ganodermataceae (Polyporaceae).

Linh chi (*Ling zhi* trong tiếng Hán, *Rheishi* trong tiếng Nhật) còn có thể được gọi với các tên khác như Hồng chi, Xích chi, Đơn chi... do màu sắc của thể

---

[1] Tên *Ganoderma* bắt nguồn từ chữ Hy Lạp *ganos* (γανος = sáng, bóng) và derma (δερμα = da) để nói tới bề mặt ngoài bóng láng của thể quả. Chữ *lucidum* tiếng Latin cũng có nghĩa là sáng, láng bóng.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

quả khác nhau.[1] Loài *Ganoderma tsuga* Murr., Bull. có hình dạng giống như *G. lucidum* nhưng có mặt ngoài nhám hơn và màu đỏ cam sáng cũng được dùng.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Chi *Ganoderma* trên thế giới có trên 250 loài. Quan trọng nhất về mặt y học là Linh chi *G. lucidum*. Linh chi là loại nấm hóa gỗ có thể quả (tai nấm) phát triển thành dạng tán với hình dạng thay đổi như hình thận, bán cầu, hình quạt, hay đôi khi gần như tròn. Thường gặp nhất là hình thận với những vân lớn lồi ở mặt trên. Kích thước thay đổi có thể tới 30cm. Thể quả có thể chất cứng, xốp và tương đối nhẹ. Linh chi phát triển trên cây gỗ hoặc các cây gỗ mục ở nhiều vùng khí hậu từ ôn đới, cận nhiệt đới tới nhiệt đới thuộc châu Á và Bắc Mỹ, chủ yếu là vùng cận nhiệt đới với nhiệt độ tối ưu trong khoảng 24 – 25°C. Linh chi ở vùng châu Á có phần cuống dài. Linh chi tự nhiên mọc ở Bắc Mỹ thì có phần cuống của thể quả ngắn hoặc gần như không có. Tuy nhiên, ở các dạng trồng trọt có thể thấy các dạng trung gian của cả 2 loại này.

Mặt dưới của thể quả là thụ tầng có màu trắng ngà khi già đổi màu nâu vàng mang nhiều lỗ nhỏ li ti gọi là ống thụ tầng mang bào tử. Bào tử của *Ganoderma lucidum* có dạng hình trứng, được bao bọc bởi hai lớp màng, màng ngoài nhẵn không màu, màng trong màu nâu rỉ sắt. Lỗ nẩy mầm của bào tử có hình gai nhọn. Bào tử nẩy mầm cho ra hệ sợi nấm ăn sâu vào trong thân cây sau đó phát triển cho ra thể quả.

Linh chi tự nhiên tương đối hiếm gặp. Linh chi được nuôi cấy nhân tạo thành công vào những năm 1970 bởi nghiên cứu của các nhà khoa học Nhật Bản và hiện nay được áp dụng rộng rãi trên thế giới. Linh chi ngày nay được trồng trên khúc gỗ, gốc cây, các đoạn thân cây gỗ vùi dưới đất gần giống với điều kiện tự nhiên hay trên các túi mùn cưa có thêm một số thành phần khác. Linh chi sử dụng làm thuốc hiện nay chủ yếu là do nuôi trồng ở Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản và Bắc Mỹ. Sản lượng Linh chi năm 1997 trên thế giới ước chừng 3.500 tấn. Ở Việt Nam, Linh chi cũng đã được nuôi trồng thành công và cho ra sản phẩm hàng hoá. Tuy nhiên, lượng sản phẩm tương đối nhỏ. Các cơ sở trồng Linh chi của Việt Nam thường cấy nấm trên các giá thể là mùn cưa hay dăm gỗ của các loài cây tạp.

"Chất lượng" của Linh chi được đánh giá qua nguồn gốc của nó. Linh chi thiên nhiên được xem là có chất lượng cao hơn loại trồng nhân tạo.

Thành phần hóa học

Thành phần hóa học của thể quả Linh chi được biết gồm có các triterpenoid, polysaccharid, steroid, chất béo, peptid, đường, acid amin, acid

---

[1] Tuy nhiên, Tử chi (linh chi tía - do mặt trên thể quả có màu tím đen) lại là một loài khác – *Ganoderma japonicum*. Trên thực tế còn có Hắc chi (= huyền chi – có tài liệu cho là *G. sinense* có màu tím đen đến đen và có chân dài có thể tới 20 cm), Thanh chi, Hoàng chi... mà nguồn gốc thực vật chưa được xác định rõ ràng. Cũng nên phân biệt với loài cổ Linh chi (*Ganoderma applanatum*) có thể quả rất lớn (đường kính có thể tới 50cm, cân nặng có thể tới 5 kg), màu nâu, không có chân. Loài cổ Linh chi phát triển rộng rãi trên thế giới, thường gặp trong rừng nhiệt đới như ở Việt Nam.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

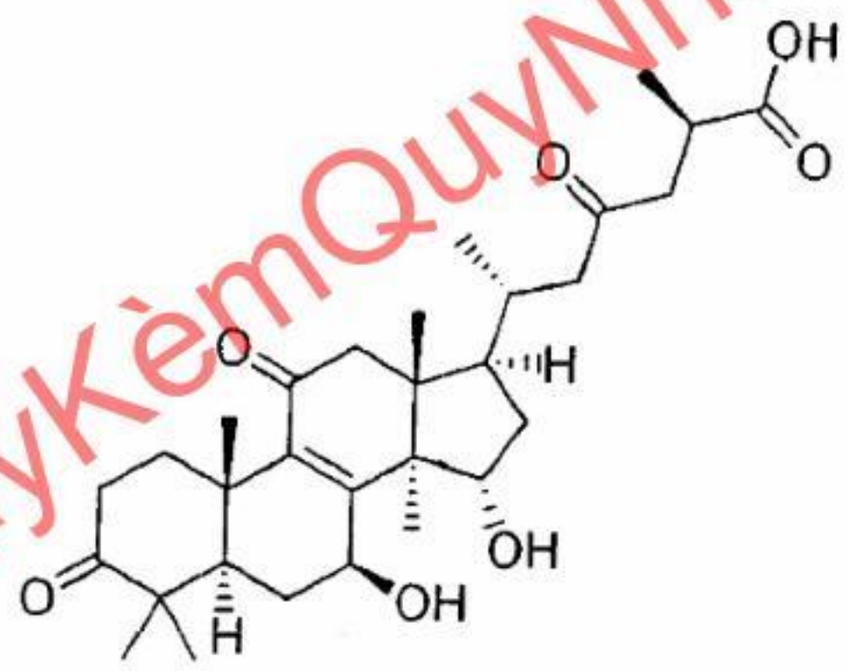
hữu cơ và các khoáng chất. Trong đó, các polysaccharid và triterpenoid được quan tâm nhiều nhất bởi tác dụng dược lý của chúng.

Một trong những thành phần có hàm lượng cao (có thể tới 45%) của Linh chi là các polysaccharid với các chất chính là β-glucan (có thể tới 40,6% so với thể quả) và một số heteropolysaccharid khác.

Trên 50 carbohydrat đã được công bố có trong thành phần của Linh chi. Các β-glucan trong thể quả của Linh chi có thể có cùng khối lượng phân tử nhưng khác nhau về mức độ phân nhánh. Khối lượng phân tử của các chất này vào khoảng 1.050.000 dvc. Dây nhánh trong các β-glucan của Linh chi thường là 1→6 nhưng cũng có thể là 1→4 với các nhánh ngắn. Tỉ lệ phân nhánh thay đổi từ 1/3 - 1/23.

Các heteropolysaccharid trong Linh chi cấu tạo bởi các đường *D*-glucose, *D*-galactose, *D*-mannose, *L*- (hay *D*-) arabinose, *D*-xylose, and *L*-fucose [Agri. and Biol. Chem. 49(9),2641-2653,1985].

Trong phần không phân cực của thể quả có các triterpen tự do với hàm lượng có thể tới 3-5%. Trên 150 chất đã được phân lập và xác định cấu trúc. Các chất chính là các acid ganoderic A, B, C, D, F, H, I, J, K, L, M, R, S, T, V, X, Y, Z, W; lucidenic A, B, C, D, I; ganoderan A, B, C và lucidenol A, B, C. Một số triterpenoid như acid ganoderic acids A, C, I, J; acid lucidenic A, D, I; và lucidones A và C làm cho Linh chi có vị đắng, khác với các loại nấm khác.



Acid ganoderic A

Trong thể quả của Linh chi, ngoài các khoáng chất thông thường còn có một hàm lượng cao của germani. Hàm lượng germani trong Linh chi châu Á có thể tới 800 – 2000 ppm.

Trong hệ sợi của Linh chi có 15 – 40% các (1,3)- β-*D*-glucan nhưng không có hay chỉ có vết của các triterpenoid. Các (1→3)- β-*D*-glucan ngoại bào này sau khi tinh chế thường khó tan hơn trong nước nhưng tan trong môi trường kiềm và có cấu trúc tương tự như các polysaccharid chiết được bằng nước nóng của thể quả.

Tác dụng dược lý

Các kết quả thử nghiệm cho thấy *G. lucidum* có tác dụng kích thích tế bào hỗ trợ T của các bệnh nhân nhiễm HIV hay bị AIDS để tấn công các tế bào bị nhiễm [Sunee S et al. Int Conf AIDS 1992;8(3):135], ức chế protease của HIV *in vitro* [el-Mekkawy S. et al. Phytochem. (1998) 49(6):1651-657].

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Carbohydrat và dược liệu chứa carbohydrat

Cao chiết nước Linh chi và phân đoạn kết tủa bằng cồn chứa chủ yếu là các polysaccharid có tác dụng ức chế sự phát triển của sarcoma 180 và fibrosarcoma trên chuột nhắt [Lee S.S. et al. J. Chin. Med. 6, 1–12, 1995]. Trên chuột bị gây ung thư phổi thực nghiệm, cao chiết Linh chi có tác dụng giảm nguy cơ gây khối u [Yun et al. 1995]. Dịch chiết cồn Linh chi có tác dụng giảm rõ rệt các tế bào leukemia T4 *in vitro* [Lovy et al. 1999]. Linh chi được đề nghị sử dụng như tác nhân chống ung thư.

Các thử nghiệm có kiểm chứng trên người cho thấy hiệu quả của Linh chi trên huyết áp [Kanmatsuse K. et al. Yakugaku Zasshi 1985;105(10):942-947] trên những bệnh nhân cao huyết áp trung bình không đáp ứng với nifedipin hay với nimodipin, so với placebo, cao chiết Linh chi (55 mg x 3 lần/ngày) sử dụng trong 1 tháng có tác dụng hạ huyết áp rõ rệt so với giá trị cơ bản [Jin H. et al. Microcirculatory Approach to Asian Trad. Med. Elsevier Sci. 1996:131- 138].

Linh chi có tác dụng rõ rệt trên các tác động của gốc tự do superoxid [Kim et al. 1999].

Hai nhóm hoạt chất trong Linh chi được xem là có tác dụng dược lý chính là các polysaccharid và các triterpennoid.

Các polysaccharid được xem là có tác dụng trên hệ miễn dịch và bảo vệ gan. Chúng có tác dụng tăng cường sản xuất cytocin đại thực bào và bạch cầu; làm tăng lượng interleucin (IL) 1β, IL-2 và IL-6, 9 là những yếu tố tăng tiết interferon α và γ.

Cho tới nay, trên 50 polysaccharid trong thể quả và hệ sợi của Linh chi đã được biết có tác dụng ngăn chặn sự phát triển của khối u [Jong, S.C. et al. Adv. Appl. Microb.37,101-134,1992]. Các glucan chiết được bằng nước nóng của thể quả và glucan ngoại bào của hệ sợi có hoạt tính ức chế tương đối mạnh đối với khối u rắn Sarcoma 180 trên chuột cống thử nghiệm khi tiêm phúc mô [Agri. and Biol. Chem. 49(9),2641-2653,1985]. Các chất có tác dụng kháng khối u mạnh là các hetero β-*D*-glucan như 1→3 β-*D*-glucan, glucurono-β-*D*-glucan, manno-β-*D*-glucan và xylomanno-β-*D*-glucan cũng như các phức hợp với protein của chúng [Lindequist U. Recent Advances in Ganoderma lucidum Research, Pharmaceutical Society of Korea, 61–91, 1995. Mizuno T. et al. Food Rev. Int.11,151-166,1995]. Có tác giả cho rằng việc sử dụng cao chiết hỗn hợp của cả thể quả và hệ sợi của Linh chi cho hiệu quả điều trị tối ưu. [Lee SY. et al. Chem Pharm Bull 1990;38;1359-1364]

Các glycoprotein (chứa 82.8% carbohydrat và 17.2% protein) thu được từ môi trường nuôi cấy hệ sợi của Linh chi có tác dụng tăng cường khả năng bơi gắng sức của chuột. Tuy nhiên, thể quả cũng như hệ sợi lại không biểu hiện tác dụng này. [Yang, B.K. et al. J. Microbiol. Biotechnol,11,902-905,2001].

Các acid ganoderic triterpenoid có tác dụng ức chế men chuyển (ACE) *in vitro* làm hạ huyết áp, chống đông máu, hạ cholesterol và lipid huyết [Morigawa A. et al. Chem Pharm Bull 1986;34:3025-3028] và tác động lên hệ thần kinh trung ương.

Acid ganoderic Z, Y, X, W, V và T trong hệ sợi có tác dụng độc tính trên tế bào gan *in vitro*. Một số triterpenoid từ thể quả có tác dụng ức chế mạnh tế bào khối u *in vitro* [Kim H.W. et al. Ganoderma: Genetics, Chemistry, Pharmacology and Therapeutics,10-19,2002].

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Acid ganoderic R trong hệ sợi và S; acid ganosporeric A trong bào tử có tác dụng bảo vệ gan gây ra bởi galactosamin [Hirotani et al. 1st International Symposium on Ganoderma lucidum in Japan, 128-135,1997; Chen, R.Y. et al. Acta Pharm. Sin. 26, 267-273,1991]

Một số acid ganoderic như acid ganoderic acids B, D, F, H và Y có tác dụng chống cao huyết áp, trong đó acid ganoderic F có tác dụng mạnh nhất. [Morigiwa et al. Chem. Pharm. Bull., 34, 3025–3028, 1996]

Acid ganoderic β, ganodermanondiol, ganodermanontriol, acid ganolucidic A và lucidumol B có tác dụng kháng HIV. [Min et al. Chem. Pharm. Bull. 46,1607-1612, 1998]

Các steroid tự do trong Linh chi có tác dụng chống xơ cứng động mạch và hạ cholesterol huyết. [Kimura Y. et al. Planta Med. 54,290-294,1988]

Adenosin trong Linh chi có tác dụng giảm kết tập tiểu cầu, phân giải thrombin và ngăn ngừa huyết khối.

Ngoài ra, germani có với hàm lượng cao trong Linh chi có tác dụng gia tăng hấp thụ oxy của hồng cầu lên tới 1,5 lần, có thể tăng cường chuyển hoá và ngăn ngừa thoái hoá mô.

Công dụng

Linh chi được sử dụng từ lâu và được coi như là một trong các vị thuốc đầu vị của y học cổ truyền phương đông. Do tính chất quý hiếm và tác dụng y học, Linh chi thường được coi là dấu hiệu mang lại may mắn, sức khoẻ và trường thọ. Trong y học cổ truyền, Linh chi được dùng để tăng thông minh và sáng suốt, kéo dài tuổi thọ v.v...

Linh chi có mặt trong nhiều sản phẩm được dùng để phòng và chữa nhiều loại bệnh khác nhau. Các công dụng chính của Linh chi gồm có:

- Hạ cholesterol và lipid huyết và làm bền vững màng hồng cầu, hạ đường huyết;
- Cải thiện chức năng vỏ thượng thận, duy trì chức năng nội tiết;
- Ngăn ngừa dị ứng gây bởi các dị nguyên;
- Ngăn ngừa và điều trị ung thư, ức chế sự di căn của tế bào ung thư;
- Ngoài ra còn dùng trong các bệnh gan, thận, viêm khớp và lo âu v.v...

Thuốc thường được dùng dưới dạng thuốc sắc.

Linh chi hiện nay được coi như thuốc điều trị chính thức ở Nhật Bản và Trung Quốc.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

CHƯƠNG 3

GLYCOSID (HETEROSID)

MỤC TIÊU HỌC TẬP Sau khi học chương "Đại cương về glycosid" sinh viên phải biết được:

1. Định nghĩa về glycosid.
2. Các dây nối O-, C-, N-, S-glycosid.
3. Lý hoá tính của glycosid và sự tác dụng của enzyme lên glycosid.
4. Phương pháp chung để chiết glycosid.

ĐẠI CƯƠNG VỀ GLYCOSID

I. ĐỊNH NGHĨA VỀ GLYCOSID

Theo nghĩa rộng, glycosid là những hợp chất hữu cơ được tạo thành do sự ngưng tụ giữa một đường với một phân tử hữu cơ khác với điều kiện nhóm hydroxy bán acetal của phần đường phải tham gia vào sự ngưng tụ.

Theo quan niệm trên thì các oligosaccharid hoặc polysaccharid cũng là những glycosid và được gọi là holosid.

Theo quan niệm chặt chẽ, từ glycosid chỉ dùng cho những chất tạo thành do sự ngưng tụ giữa một phần đường và một phần không phải đường nên còn có tên gọi là *heterosid* để phân biệt với *holosid*.

Phần đường được gọi là glycon, phần không phải đường được gọi là aglycon hoặc genin. Phần genin có cấu trúc hoá học rất khác nhau, tác dụng sinh học phụ thuộc vào phần này.

Trước đây, khi nghiên cứu những heterosid đầu tiên, người ta thấy phần đường là glucose nên gọi là "glucosid" nhưng thực ra phần đường có thể là những đường khác nhau ví dụ: rhamnose, galactose v.v... nên từ glycosid hoặc heterosid được dùng thay thế từ glucosid. Tuy vậy, từ glucosid vẫn còn được dùng để gọi những glycosid mà có phần đường là glucose. Tương tự, từ "*rhamnosid*" để chỉ những glycosid mà phần đường là rhamnose, "*galactosid*" thì phần đường là galactose v.v...

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Đại cương về glycosid

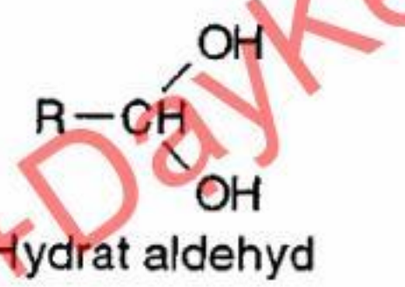
Để phân biệt với alcaloid, trong xu hướng hiện nay, đuôi từ "*osid*"được dùng thay cho "*in*" để gọi tên các glycosid ví dụ rutin được gọi là rutosid, strophanthin được gọi là strophanthosid... Tuy nhiên một số glycosid theo truyền thống vẫn còn giữ đuôi "*in*" ví dụ ouabain, daidzin. Tên của aglycon thường có đuôi từ "*idin*" ví dụ strophanthidin, "*ein*" ví dụ daidzein hay "*genin*" ví dụ liquiritigenin.

Trong trường hợp nhóm OH bán acetal của phần đường ngưng tụ với nhóm OH alcol hoặc phenol của aglycon tạo ra cầu nối oxy thì glycosid được tạo thành thuộc loại *O*-glycosid. Nếu nhóm OH bán acetal của phần đường ngưng tụ với một thiol thì tạo thành *S*-glycosid. Trong thực vật còn có *N*-glycosid là những glycosid có nhóm amin liên kết với phần đường và *C*-glycosid là những glycosid mà phần aglycon và phần đường kết nối với nhau theo dây nối C–C.

1. *O*-Glycosid

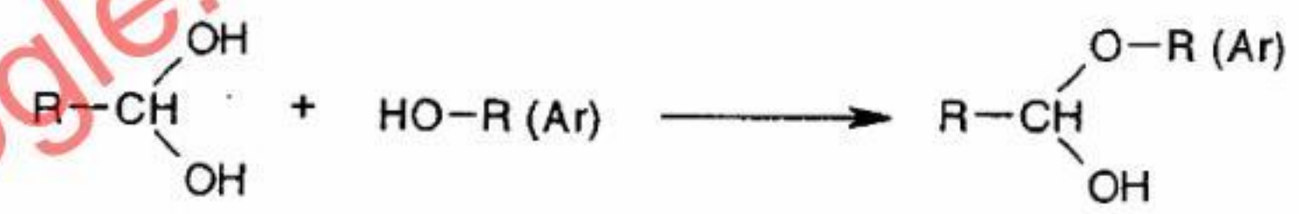
1.1. Dây nối acetal

Chúng ta biết rằng những aldehyd có thể tồn tại dưới dạng hydrat aldehyd:

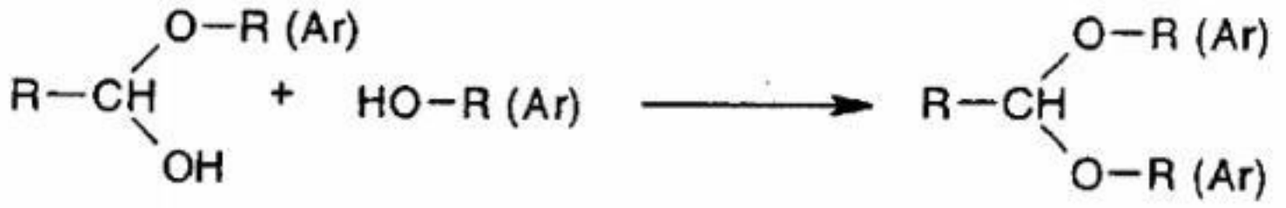


Hydrat aldehyd

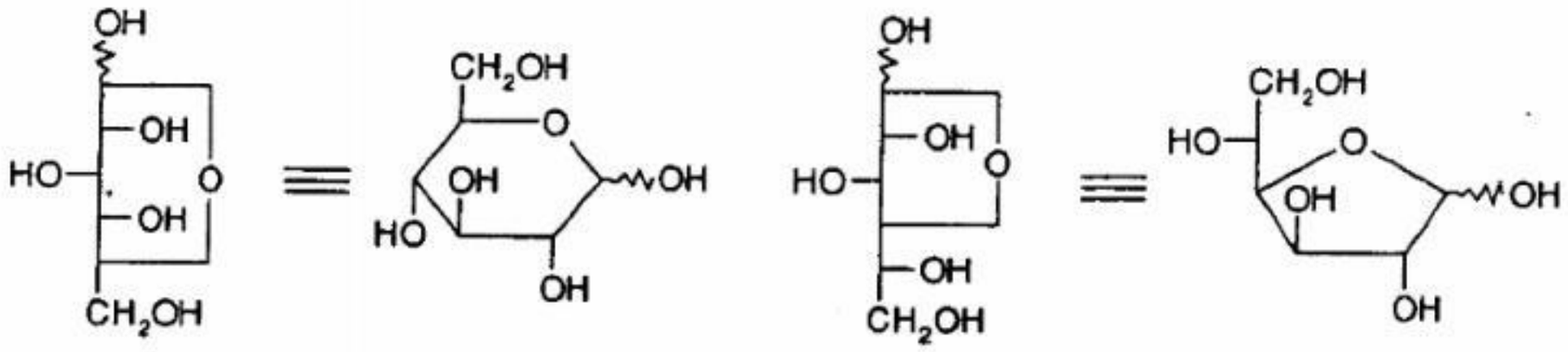
Khi hydrat aldehyd tác dụng với một phân tử hữu cơ khác có nhóm OH sẽ tạo thành bán acetal.



Nếu bán acetal tác dụng với một phân tử thứ hai có OH sẽ tạo thành acetal.



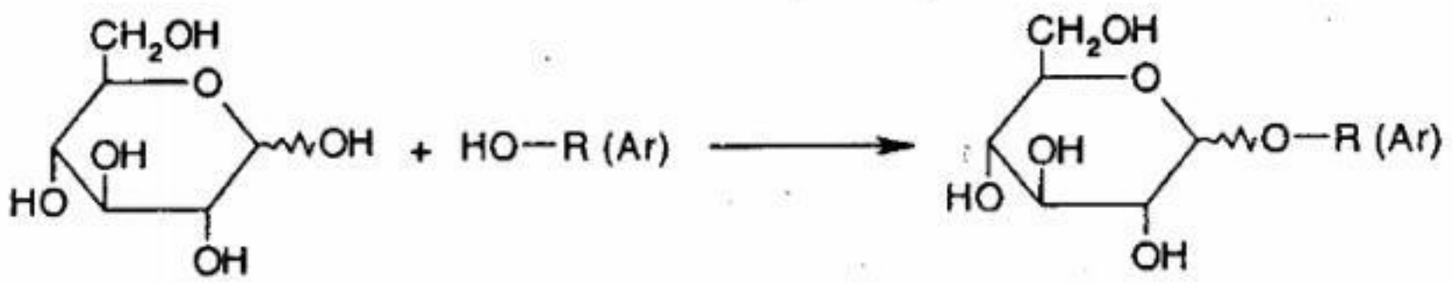
Các ose cũng tạo được bán acetal và acetal. Thường các ose ở dạng bán acetal nội phân tử, ví dụ glucose có dạng glucopyranose hoặc glucofuranose.



Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Đại cương về glycosid

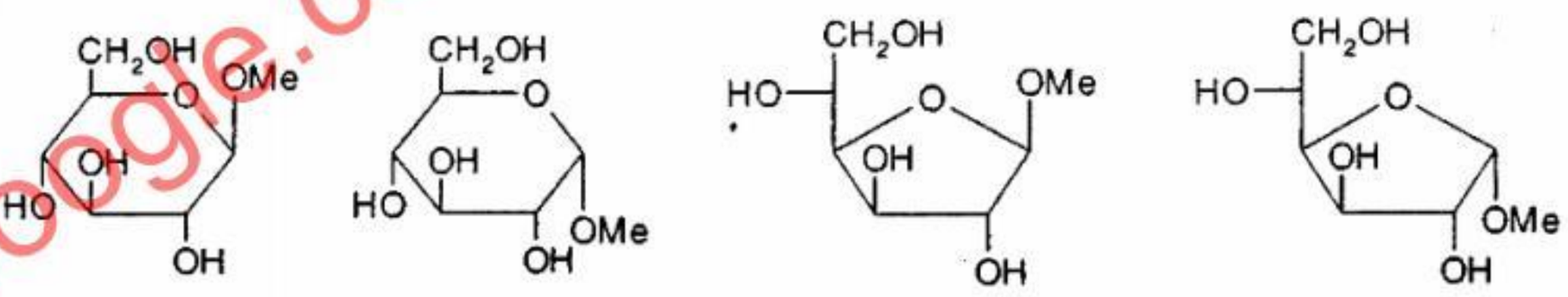
Khi ose ở dạng bán acetal tác dụng với một hợp chất hữu cơ có nhóm OH không phải là đường thì sẽ tạo thành một loại acetal đặc biệt gọi là glycosid.



1.2. Phần đường

Nếu cùng một aglycon nhưng phần đường khác nhau sẽ tạo nên các glycosid khác nhau. Tùy theo cấu hình ở C-1 của đường mà có thể có α- hay β-glycosid. Trong tự nhiên, phần lớn thường gặp β-glycosid; ngoài ra tùy theo cấu tạo vòng pyran hay furan của phần đường mà ta có thêm đồng phân pyranosid hay furanosid. Ví dụ một glycosid đơn giản là methylglucosid (do đường glucose tác dụng với alcol methylic) có thể tồn tại 4 dẫn chất là: β-methylglucopyranosid, α-methylglucopyranosid, β-methylglucofuranosid, α-methyl-glucofuranosid.

Trong thành phần cấu trúc của các glycosid người ta gặp nhiều loại đường khác nhau nhưng đường β-*D*-glucose là phổ biến nhất. Trong các glycosid tim còn có các đường đặc biệt gặp chủ yếu trong nhóm glycosid này như digitoxose, oleandrose, boivinose v.v... Đây là các đường 2,6-desoxy (xem phần glycosid tim). Có khi trong phần đường lại gặp các acid uronic như acid glucuronic, galacturonic... Sự có mặt của các dẫn chất uronic này làm cho glycosid mang tính acid. Đôi khi mạch đường còn được acyl hoá.



Bốn dẫn chất methylglucosid

Mạch đường có thể chỉ có một đường được gọi là monosaccharid hoặc gồm nhiều đơn vị đường nối với nhau để tạo thành di- hoặc trisaccharid, có trường hợp mạch đường có thể đến 8 đơn vị. Mạch đường thường là mạch thẳng, nhưng cũng có thể phân nhánh (hay gặp trong saponin). Khi phần aglycon có 2 nhóm OH trở lên thì có thể tạo thành glycosid có 2 mạch đường gọi là diglycosid hay còn gọi *bidesmosid* (*desmos* có nghĩa là mạch), có trường hợp phân tử có đến 3 mạch đường, ví dụ như astragalosid VII, một saponin trong Hoàng kỳ.[1]

---

[1] Phân biệt *biosid* là glycosid có mạch đường gồm 2 đơn vị đường đơn, khác với *diglycosid* (hoặc *bidesmosid*) là glycosid có 2 mạch đường. *Monosid* là glycosid có 1 đường đơn khác với *monoglycosid* là glycosid có 1 mạch đường.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

1.3. Phần aglycon

Phần này quyết định tác dụng sinh lý của glycosid. Tùy theo cấu tạo hoá học mà người ta xếp thành từng nhóm, ví dụ anthraglycosid là những glycosid có phần aglycon có nhân anthraquinon, xanthon glycosid có nhân xanthon, iridoid glycosid có nhân iridan v.v...

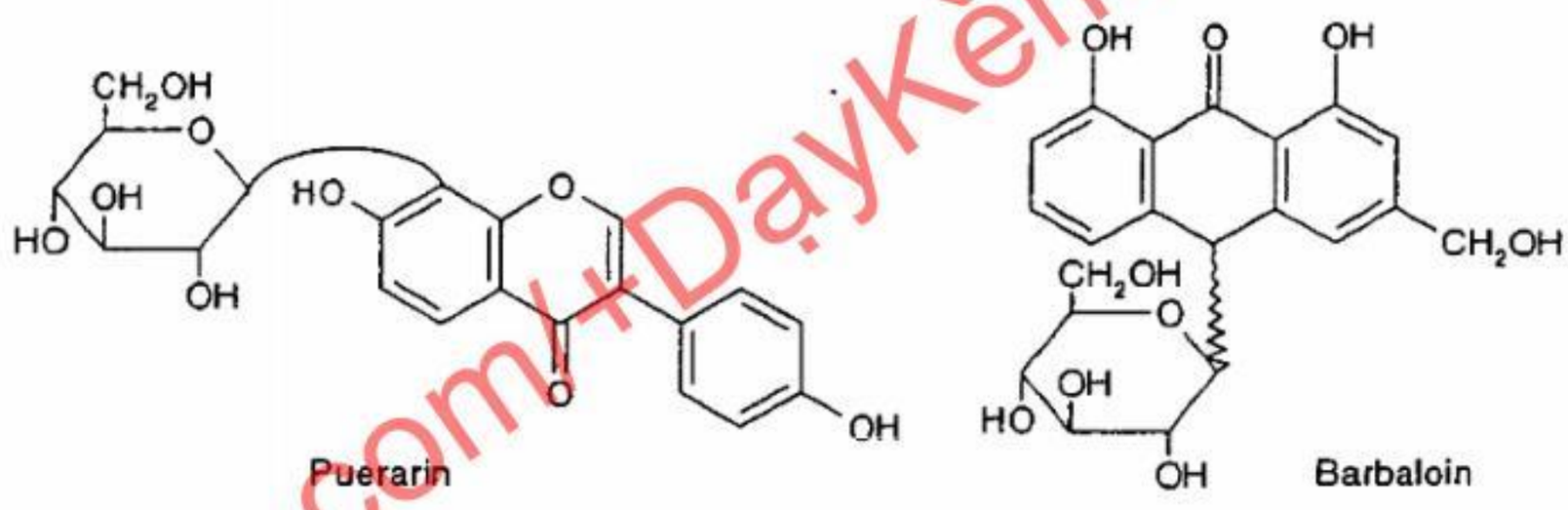
Aglycon thường là phần thân dầu nên rất ít tan trong nước. Ở dạng glycosid do có gắn phần đường nên dễ hòa tan trong dịch tế bào.

2. *C*–glycosid

C-glycosid là những glycosid mà phần đường được nối với aglycon theo dây nối C–C. Khi ngưng tụ phần đường với aglycon thì cả nhóm OH bán acetal bị mất.

$$(C_nH_{2n-1}O_{n-1})\,OH + HAr \rightarrow (C_nH_{2n-1}O_{n-1})\,–Ar$$

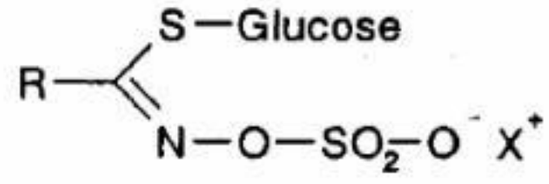
Ví dụ: puerarin là một *C*-glycosid có trong sắn dây, barbaloin là *C*-glycosid có trong lô hội.



Loại *C*-glycosid thường khó bị thủy phân ngay cả khi đun với dung dịch HCl hoặc H_2SO_4 loãng ở 100 °C trong vài giờ. *C*-glycosid có phổ tử ngoại và hồng ngoại gần giống với *O*-glycosid tương ứng.

3. *S*–glycosid

S-glycosid còn được gọi là thioglycosid hoặc những hợp chất glucosinolat. Ở đây dây nối glycosid được tạo thành do tác dụng giữa glucose và một thiol có công thức chung:



Các thioglycosid dưới tác dụng của enzym myrosinase (còn gọi thio-*D*-glucosidase) sẽ cho: hydrosulfat, một isothiocyanat (R–N=C=S) và *β*-*D*-glucopyranose; X thường là kali.

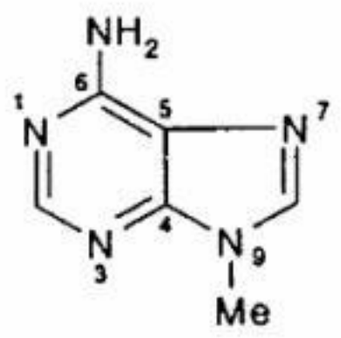
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Đại cương về glycosid

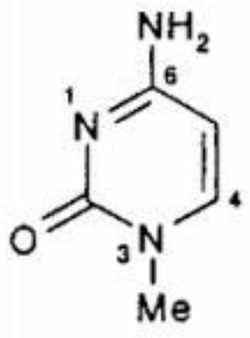
Người ta biết khoảng 50 thioglycosid, phần lớn gặp trong họ Brassicaceae, Capparidaceae và Resedaceae. Các thioglycosid có tác dụng kháng khuẩn nhưng cần chú ý thioglycosid là những chất làm cản trở sự hấp thu iod của tuyến giáp. Các isothiocyanat có vị hăng cay, ở nồng độ cao gây chảy nước mắt, rộp da. Sau đây là một vài chất thioglycosid làm ví dụ: sinigrin có trong hắc giới tử - *Brassica nigra* (L.) Kock. (R = CH_2=CH–CH_2–, X = K); sinalbin có trong Bạch giới tử - *Brassica alba* Boissier (R = *p*-OH–C_6H_4–CH_2, X = K).

4. *N*–glycosid

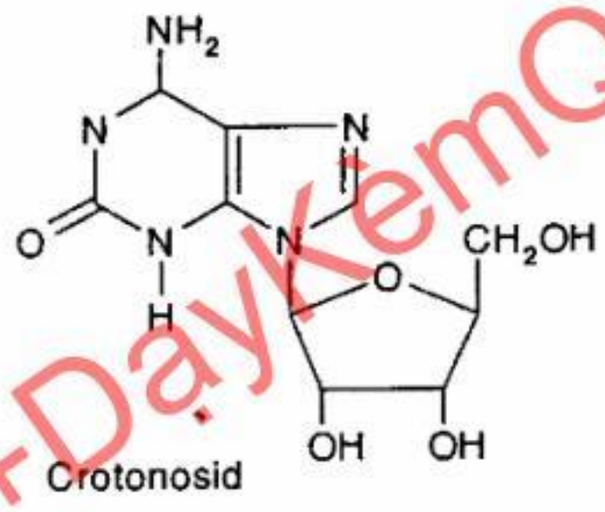
Phần đường của các glycosid này thường là ribose, dẫn chất của ribose hoặc arabinose. Carbon anomer của đường nối với phần không phải đường nếu là dẫn chất purin ví dụ như adenin thường ở vị trí N-9, hoặc với gốc pyrimidin ví dụ cytosin thường ở N-3. Crotonosid có trong hạt ba đậu - *Croton tiglium* L. là một ví dụ *N*-glycosid có trong cây.



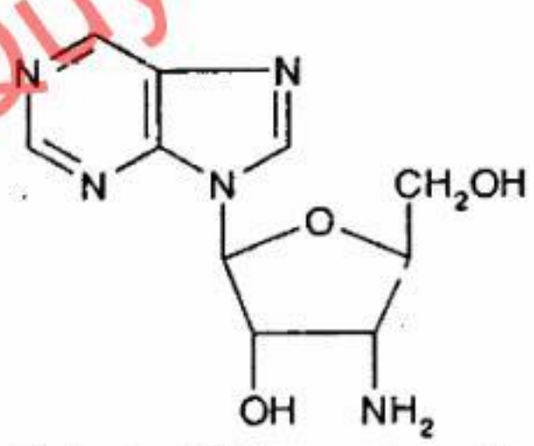
Gốc adenin



Gốc cytosin



Crotonosid



3'-Amino-3'-deoxy adenosin

Chúng ta cần biết rằng các nucleosid (cũng là các *N*-glycosid) là một phần cấu trúc tham gia vào cấu tạo các acid nucleic, một số coenzym. Phần lớn *N*-glycosid được phân lập từ thực vật bậc thấp như tảo, nấm, vi khuẩn và thường có tác dụng kháng khuẩn, ví dụ dẫn chất 3'-amino-3'-deoxy adenosin phân lập từ nấm *Cordiceps militaris* và *Helminthosporum spp.* có tác dụng kháng khuẩn và kháng ung thư.

5. Pseudoglycosid

Có một số dẫn chất mà phần đường và không đường nối với nhau không phải dây nối acetal mà là bằng dây nối ester. Chúng không phải là các glycosid thật sự và được gọi là pseudoglycosid (pseudo = giả), ví dụ asiaticosid là saponosid có trong rau má (xem phần saponosid) hoặc tanin của Ngũ bội tử (xem phần tanin).

II. TÍNH CHẤT

1. Lý tính

Glycosid là những chất kết tinh được, một số ở dạng vô định hình hoặc lỏng sánh. Đa số các glycosid là không màu, một số có màu như anthraglycosid có màu đỏ hoặc da cam, một số flavonoid glycosid, xanthon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

glycosid có màu vàng, betacyanin và anthocyanin màu tím hoặc đỏ. Các glycosid thường có vị đắng.

Độ tan của các glycosid khác nhau phụ thuộc vào mạch đường dài hay ngắn và vào các nhóm ái nước trong phần aglycon. Thường các glycosid tan trong nước, cồn, ít hoặc không tan trong các dung môi hữu cơ như ether, chloroform. Phần genin có độ tan ngược lại.

Các glycosid thường có khả năng quay mặt phẳng ánh sáng phân cực. Độ quay cực thường là trái (tả triền).

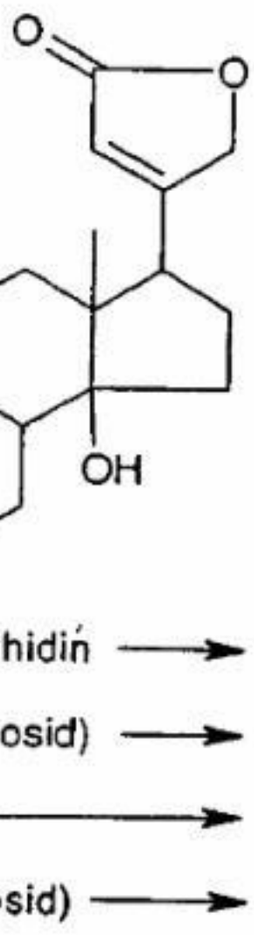
2. Hoá tính

Có những thuốc thử đặc hiệu cho từng nhóm glycosid (sẽ trình bày ở các phần sau) dựa vào cấu trúc hoá học của phần aglycon. Ngoài ra, tùy thuộc vào sự có mặt của các nhóm chức khác nhau trong phần aglycon mà glycosid có phản ứng của các nhóm chức đó. Một số glycosid có phần đường đặc biệt ví dụ đường 2,6-desoxy gặp trong glycosid tim cũng cho một số phản ứng đặc hiệu.

Do có dây nối acetal nên các glycosid có thể bị thủy phân bởi acid hay các enzym đặc hiệu. Phần lớn các glycosid trước khi thủy phân không có tính khử vì OH bán acetal của đường đã tham gia vào dây nối glycosid, ngoại trừ một số glycosid mà phần aglycon có nhóm chức có tính khử. Sau khi thủy phân, các ose được giải phóng sẽ khử thuốc thử Tollens hoặc thuốc thử Fehling. Cần chú ý là sau khi đun sôi với dung dịch acid để thủy phân, cần phải kiềm hoá rồi mới thêm thuốc thử.

Tác dụng của enzym

Các glycosid có thể bị enzym thủy phân. Sự thủy phân này có tính chất chọn lọc nghĩa là mỗi loại enzym chỉ có thể cắt một loại dây nối nhất định. Ví dụ khi cho β-glucosidase tác dụng lên K-strophanthosid γ (một glycosid có trong hạt *Strophanthus kombe)* thì enzym này chỉ cắt β-glucose cuối mạch để cho K-strophanthosid β. Còn nếu cho enzym strophanthobiase (enzym này có trong *Strophanthus*) tác dụng thì sẽ cắt dây nối giữa glucose thứ hai và cymarose để cho cymarin (xem hình vẽ). α-glucosidase chỉ cắt dây nối α-glucosid mà không cắt được dây nối β-glucosid và ngược lại β-glucosidase không cắt được dây nối α-glucosid;



Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

rhamnosidase thì cắt dây nối rhamnosid. Tuy nhiên, trong thực vật có hai enzym là emulsin (có trong hạnh nhân - hạt của cây *Prunus amygdalus*) và myrosin (có trong hạt Hắc giới tử - *Brassica nigra*) có thể thủy phân nhiều loại dây nối glycosid khác nhau.

Glycosid có tự nhiên trong cây, mạch đường còn nguyên vẹn chưa bị enzym thủy phân được gọi là "*genuin*" glycosid hay "*glycosid sơ cấp*", còn glycosid đã bị cắt bớt một phần của mạch đường thì gọi là "*glycosid thứ cấp*". Theo ví dụ trên, K. strophanthosid γ là genuin glycosid, K. strophanthosid β là glycosid thứ cấp bậc một, cymarin là glycosid thứ cấp bậc hai.

Có nhiều trường hợp trong cây chứa glycosid đã có sẵn enzym có khả năng thủy phân glycosid đó, sự thủy phân xảy ra rất nhanh khi dược liệu bị vò nát hoặc cắt nhỏ làm cho enzym tiếp xúc được với glycosid. Sự thuỷ phân thường tăng mạnh khi dược liệu tươi được xếp thành đống. Khi ủ đống, nhiệt độ được nâng lên đến nhiệt độ thích hợp cho enzym thủy phân (40 - 50°C). Sự thủy phân cũng có thể xảy ra trong quá trình nẩy mầm hoặc một số hoạt động sinh lý khác của tế bào.

Quá trình tổng hợp glycosid trong cây gồm 2 bước, mỗi bước có một loại enzym tham gia: 1) Enzym vận chuyển gốc glycosyl từ uridin triphosphat sang 1-phosphat-ose như phosphat pentose, hexose hoặc một ose khác. Enzym loại này đã tìm thấy trong các nguồn vi sinh, thực vật, động vật; 2) Enzym vận chuyển gốc glycosyl, có nhiệm vụ vận chuyển đường từ uridin diphosphat đến một aglycon thích hợp để tạo thành glycosid.

$$UTP + ose\text{-}1\text{-}P \rightarrow UDP\text{-}ose + PP$$

$$UDP\text{-}ose + aglycon \rightarrow aglycon\text{-}ose + UDP$$

Ngoài ra còn có các enzym có nhiệm vụ gắn tiếp các đơn vị đường vào mạch đường để tạo ra mạch có đường đôi, ba, bốn.

Enzym bản chất là protein, nếu ở nhiệt độ 60 - 70°C enzym mất hoạt tính, nhiệt độ lạnh chỉ làm ngừng hoạt động, nếu sau đó nâng lên nhiệt độ thích hợp enzym sẽ được phục hồi. Muốn diệt enzym người ta tiến hành ổn định dược liệu bằng phương pháp nhiệt khô, tức là dùng luồng không khí nóng đi qua dược liệu hoặc phương pháp nhiệt ẩm nghĩa là dùng hơi nước ở áp suất cao, nhiệt độ 110 - 120°C hoặc hơi cồn sôi đi qua dược liệu. Có trường hợp người ta cho dược liệu tươi vào cồn sôi hoặc nước sôi, với phương pháp này ta thu được một dung dịch có chứa genuin glycosid.

III. CHIẾT XUẤT

Tùy theo mục đích chiết xuất mà dược liệu cần hoặc không cần được diệt enzym. Nếu muốn thu được các genuin glycosid ta cần ổn định dược liệu. Có trường hợp ta cho enzym hoạt động để nâng cao hiệu suất chiết một số chất

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

mong muốn, ví dụ chiết digitoxin trong lá *Digitalis* hoặc chiết diosgenin trong một số loại củ mài, trong mía dò. Cũng có trường hợp chất có hoạt tính sinh học lại do enzym thủy phân một glycosid nào đó mà tạo thành ví dụ trường hợp chất protoanemonin được tạo thành từ glycosid ranunculin trong cây *Ranunculus aceleratus* (xem chương Dược liệu chứa những chất kháng khuẩn).

Tạp chất trong dược liệu đi kèm với glycosid có loại tan trong dầu và loại tan trong nước. Loại tan trong dầu chủ yếu là các chất béo (thường gặp trong hạt), chất diệp lục (lá), carotenoid (lá, hoa)... Người ta thường loại các tạp chất này bằng các dung môi kém phân cực như ether dầu hoả, hexan, sau đó chiết glycosid bằng cồn (thường dùng cồn thấp độ) hoặc nước. Dịch chiết cồn hoặc nước sau khi làm đậm đặc cần được loại tiếp các chất tan trong dầu bằng cách chiết tiếp với dung môi hữu cơ.

Trong sản xuất muốn tránh dùng nhiều dung môi hữu cơ, thường trong giai đoạn đầu, dược liệu được chiết bằng nước hoặc cồn thấp độ, như vậy cũng hạn chế bớt các tạp chất tan trong dầu (xem phương pháp chiết oleandrin trong lá trúc đào). Tạp chất tan trong nước thường là các chất gôm, chất nhầy, pectin, tanin... Nếu chiết bằng nước hoặc cồn thấp độ thì các tạp chất này thường tan theo. Muốn loại các tạp này ta có thể dùng chì acetat, sau đó loại chì acetat thừa bằng natri sulfat. Chú ý rằng một số glycosid có thể bị tủa bởi chì acetat (ví dụ flavonoid glycosid và một số phenol glycosid khác). Trong trường hợp này, có khi người ta còn lợi dụng tủa với muối chì để tách glycosid. Muốn hạn chế bớt các tạp chất còn có thể tiến hành như sau: dịch chiết nước hoặc dịch chiết cồn đã làm đậm đặc đem lắc với butanol hoặc hỗn hợp chloroform - ethanol, lấy lớp dung môi hữu cơ rồi bốc hơi. Để loại tanin, có thể cho dịch chiết nước hoặc cồn chảy qua cột chứa nhôm oxyd. Cần lưu ý một số glycosid có nhóm chức phenol có thể bị giữ lại trên cột.

Để hạn chế sự thủy phân glycosid, trong giai đoạn bốc hơi dung môi để làm đậm đặc dịch chiết ta cần tiến hành ở áp suất giảm và nhiệt độ thấp (50°C).

Giai đoạn tinh chế thường công phu và tùy theo mỗi loại glycosid mà có phương pháp tinh chế khác nhau. Ví dụ muốn tinh chế saponin, có thể tiến hành thẩm tích hoặc lọc qua gel; các steroid glycosid thì dùng phương pháp kết hợp với cholesterol; một số glycosid có thể tinh chế bằng cách hoà tan trong một lượng cồn vừa đủ rồi thêm một lượng lớn dung môi hữu cơ như ether, hexan, aceton, glycosid sẽ kết tủa. Trong nghiên cứu muốn thu được chất tinh khiết người ta thường dùng các phương pháp: sắc ký như sắc ký cột, sắc ký lỏng cao áp, phương pháp phân bố ngược dòng, thăng hoa chân không ở các nhiệt độ và áp suất khác nhau hoặc kết tinh phân đoạn trong các dung môi thích hợp.

Muốn thu được phần aglycon ta cần thủy phân glycosid hoặc bằng acid hoặc bằng enzym rồi chiết bằng dung môi hữu cơ.

Google.com/+DayK

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

CHƯƠNG 4

GLYCOSID TIM VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA GLYCOSID TIM

MỤC TIÊU HỌC TẬP: Sau khi học chương "Dược liệu chứa glycosid tim" sinh viên phải biết được:

1. *Định nghĩa về glycosid tim.*
2. *Cấu trúc hoá học của glycosid tim.*
3. *Liên quan giữa cấu trúc hoá học và tác dụng của glycosid tim.*
4. *Tính chất, định tính, định lượng và phương pháp đánh giá sinh vật của các dược liệu chứa glycosid tim.*
5. *Các dược liệu chứa glycosid tim, chú trọng Trúc đào, các loài strophanthus, digital, Đay.*

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

ĐẠI CƯƠNG VỀ GLYCOSID TIM

I. ĐỊNH NGHĨA

Glycosid tim là những glycosid steroid có tác dụng đặc biệt lên tim. Ở liều điều trị có tác dụng cường tim, làm chậm và điều hoà nhịp tim. Các tác dụng trên được gọi là tác dụng theo quy tắc 3R của Potair.[1] Nếu quá liều sẽ gây nôn làm chảy nước bọt, mờ mắt, tiêu chảy, yếu các cơ, loạn nhịp tim, nhĩ thất phân ly, ngoại tâm thu, giảm sức co bóp của tim và cuối cùng làm ngừng tim ở thời kỳ tâm thu trên tim ếch và tâm trương trên tim động vật máu nóng.

Glycosid tim còn được gọi là glycosid digitalic vì glycosid của lá cây *Digitalis* được dùng đầu tiên trên lâm sàng để chữa bệnh tim.

---

[1] Chú thích: 3R do ba chữ cái đứng đầu của 3 từ tiếng Pháp là *Renforcer* = làm mạnh, *Ralentir* = làm chậm, *Regulariser* = điều hoà.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

II. CẤU TRÚC HOÁ HỌC

Glycosid tim cũng như các glycosid khác, cấu trúc hoá học gồm 2 phần: aglycon và phần đường.

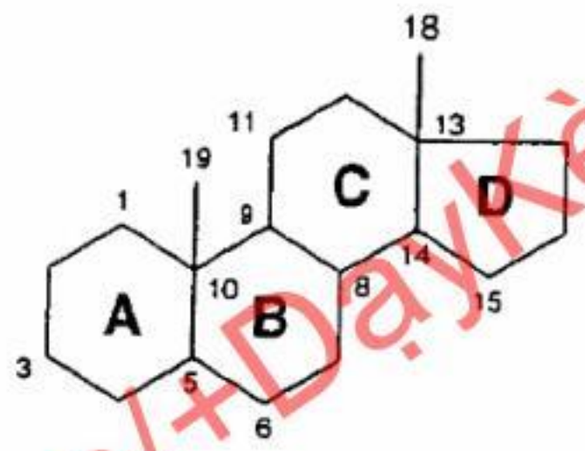
1. Phần aglycon

Phần aglycon có thể chia làm 2 phần: nhân hydrocarbon và mạch nhánh là vòng lacton.

1.1. Nhân hydrocarbon

Nhân hydrocarbon có cấu trúc steran: 10,13-dimethyl cyclopetanoperhydrophenanthren. Đính vào nhân này có các nhóm chức có oxy.

Ở C-3 luôn luôn có đính nhóm OH, hầu hết các chất có trong cây đều hướng β, trừ một vài chất ví dụ carpogenin, carpogenol, epidigitoxigenin có OH C-3 hướng α.



Nhân steran

Ở C-14 của hầu hết các glycosid tim có tác dụng sinh học đều có nhóm OH hướng β. Một vài chất không có nhóm OH này do trong quá trình thủy phân hoặc do sắc ký qua cột có xảy ra sự dehydrat hoá tạo thành nối đôi ở C 14-15. Tuy nhiên, có một số chất do bản chất tự nhiên không có OH này như các chất diffugenin, strophanthilin A, β-anhydro-uzarigenin.

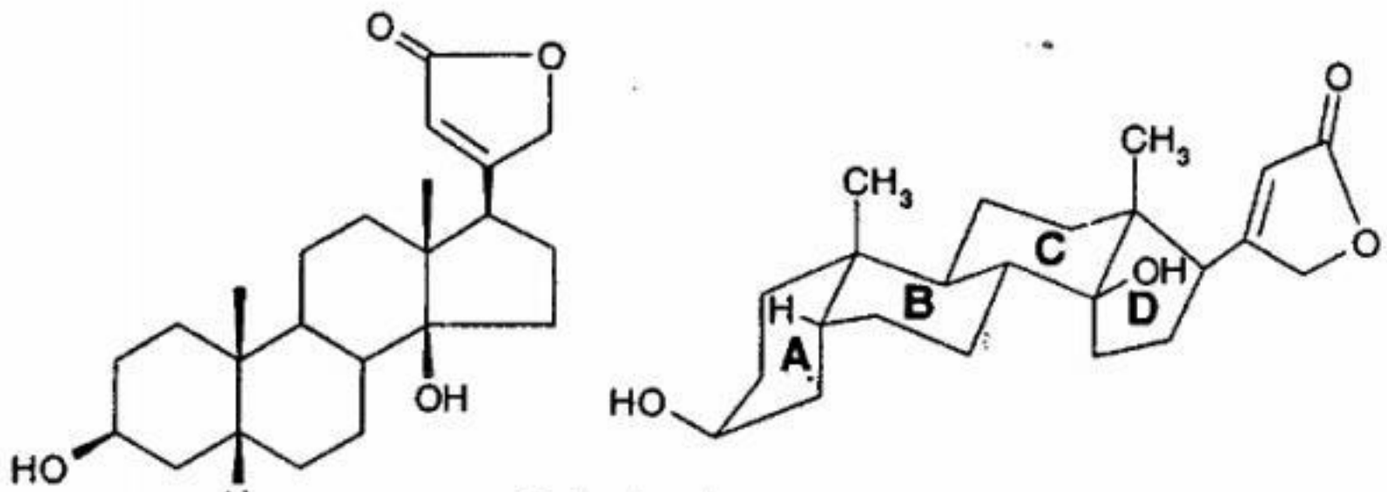
Sự oxy hóa (gắn nhóm OH hoặc carbonyl) còn có thể xảy ra thêm ở các vị trí như 1, 5, 11, 12, 16, 19. Mức độ oxy hoá ở C-19 có thể là CH_2OH, CHO, COOH. Các chất có mức độ oxy hoá khác nhau này thường cùng tồn tại trong cùng một cây. Chất G- strophanthidin có đến 6 OH trong phần aglycon. Nhóm OH có thể bị acyl hoá ví dụ oleandrigenin, gitaloxigenin. Có trường hợp các nhóm OH gần nhau tương tác với nhau để tạo nhóm chức epoxy, ví dụ adynerin. Nhóm OH ở C-11 có thể tác dụng với COOH ở C-19 để tạo thành vòng lacton ví dụ chất sarmentosigenin E có trong *Strophanthus sarmentosus*.

Sự dung hợp các vòng của khung hydrocarbon: phần lớn các glycosid tim đều có 2 vòng A và B là *cis*, B và C *trans*, C và D *cis* ví dụ digitoxigenin có trong cây *Digitalis* được vẽ theo công thức trong mặt phẳng và công thức lập thể dưới đây.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

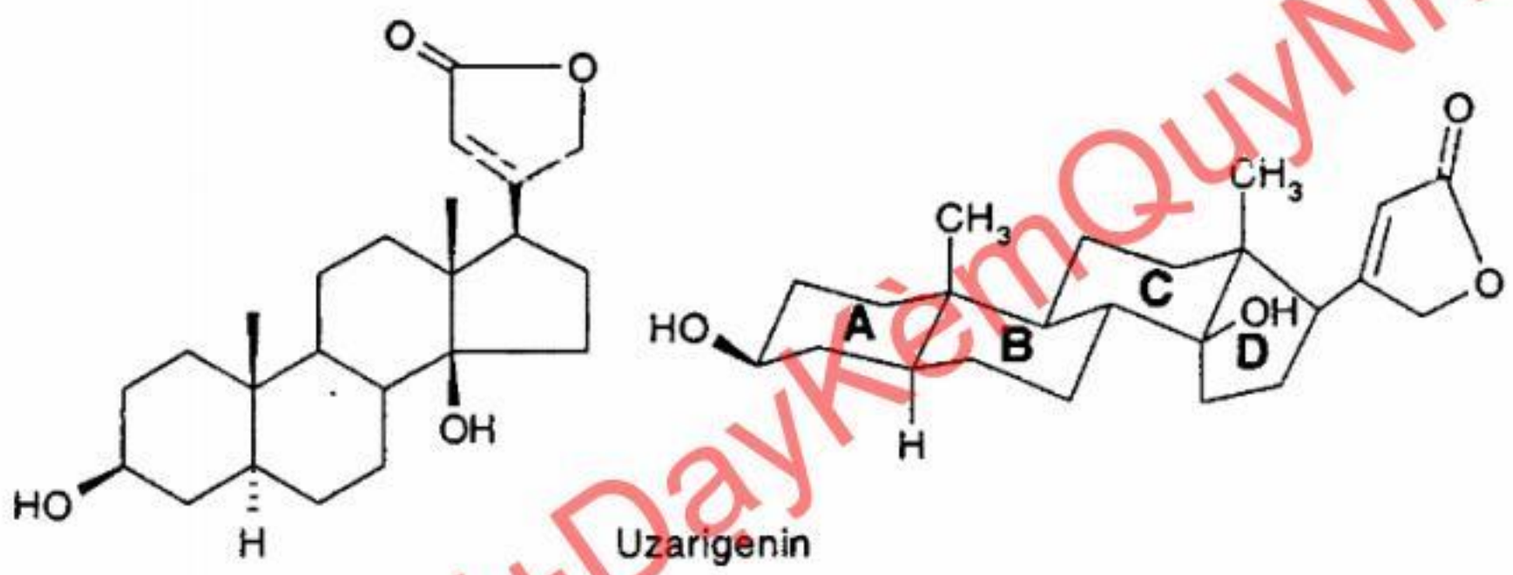
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim



Digitoxigenin

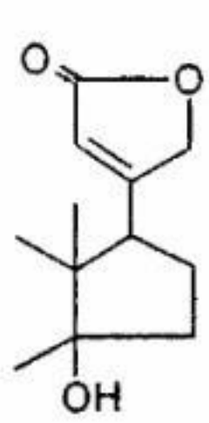
Một số ít có nối vòng A và B *trans*. Ví dụ như uzarigenin - aglycon của uzarin (uzarosid) có trong "uzara", một dược liệu thuộc chi *Gomphocarpus* họ Asclepiadaceae có ở Nam Phi.[1]



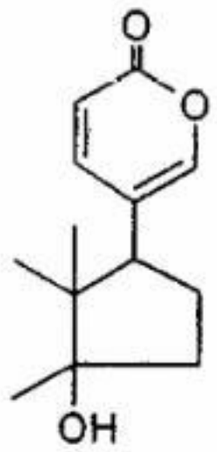
Uzarigenin

1.2. Vòng lacton

Phần aglycon của glycosid tim ngoài khung hydrocarbon nói trên, đặc biệt còn có một vòng lacton nối vào vị trí C-17 của khung. Vòng lacton này được coi là mạch nhánh.



Cardenolid



Bufadienolid

Hầu hết các chất có tác dụng sinh học đều có vòng lacton ở hướng β. Một số ít ở hướng α do enzym epimerase có mặt trong cây chuyển hoá mà thành. Có hai loại vòng lacton: loại thứ nhất có 4 carbon với một nối đôi ở vị trí α-β, những aglycon nào có vòng lacton này thì có 23 carbon và được xếp vào nhóm "*cardenolid*". Loại thứ hai có 5 carbon và có 2 nối đôi (vòng γ-pyron hay coumalin), những aglycon nào có vòng lacton này thì có 24 carbon và được xếp vào nhóm "*bufadienolid*" (do chữ bufo = cóc, dien = 2 nối đôi. Trong nhựa cóc có các chất có cấu trúc hoàn toàn giống như aglycon của nhóm này, ví dụ bufotalin).[2]

---

[1] Dược liệu này có tác dụng trợ tim yếu, chủ yếu là chống co thắt.

[2] Chú thích: từ loài Cóc *Bufo vulgaris formosus*, các nhà nghiên cứu Nhật (1971) đã phân lập và xác định được 28 dẫn chất bufadienolid và 7 dẫn chất cardenolid. Các dẫn chất cardenolid được biết là: digitoxigenin, sarmentogenin, các ester của sarmentogenin và14β,15β-epoxy"β" anhydro-digitoxigenin.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

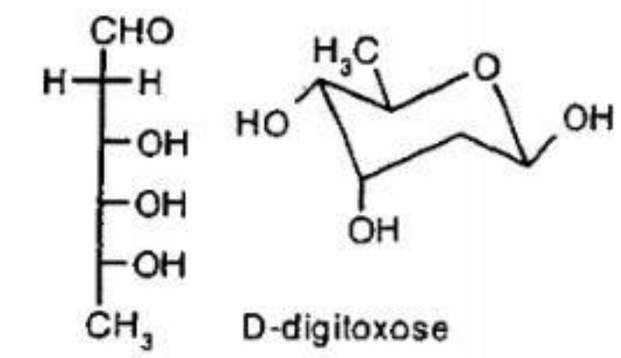
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

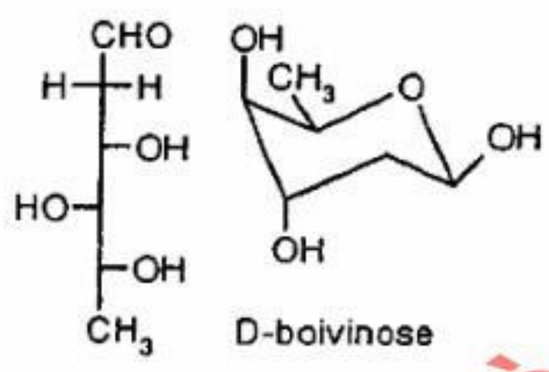
Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

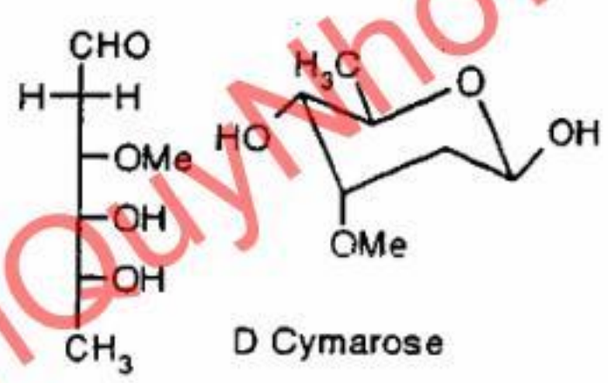
Các glycosid tim trong thiên nhiên thường là loại cardenolid; một số ít thuộc loại bufadienỏlid như scillaren A có trong cây Hành biển (*Urginea maritima* L.) hellebrin có trong cây *Helleborus niger* L.

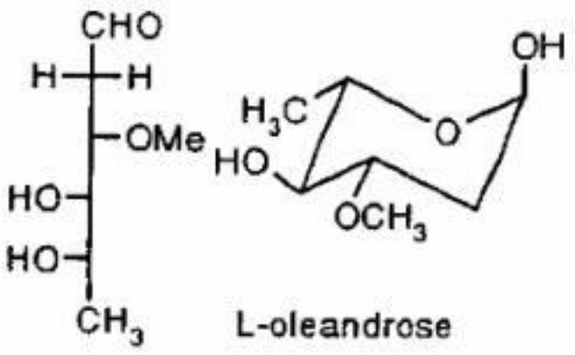
2. Phần đường

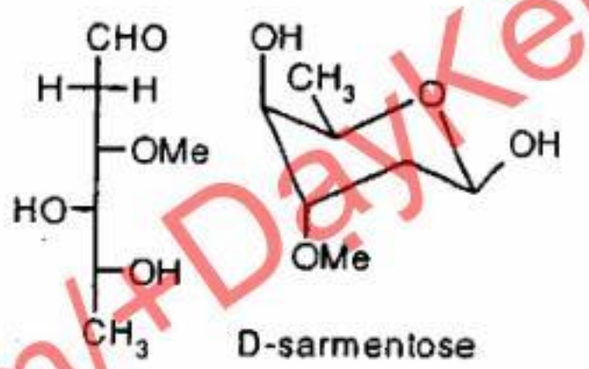
Phần đường trong glycosid tim nối vào OH ở C-3 của aglycon. Cho đến nay người ta biết khoảng 40 loại monosaccharid khác nhau trong các glycosid tim. Ngoài những đường thông thường như *D*-glucose, *L*-rhạmnose, *D*-xylose, *D*-fucose có gặp trong những nhóm glycosid khác, còn lại là những đường đặc biệt của glycosid tim. Trong các đường này, đáng chú ý là các đường 2,6-desoxy. Dưới đây là một số đường 2,6-desoxy làm ví dụ.

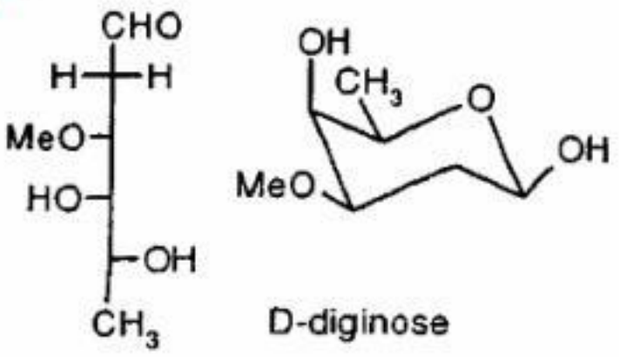

D-digitoxose


D-boivinose


D Cymarose


L-oleandrose


D-sarmentose


D-diginose

Các đường 2,6-desoxy có những đặc tính sau: dễ bị thủy phân, cho phản ứng màu với thuốc thử Keller-Kiliani và thuốc thử xanthydrol (xem phần định tính và định lượng).

Mạch đường có thể là monosaccharid hoặc oligosaccharid. Gitoxincellobiosid trong *Digitalis* tía có mạch đường với 5 đơn vị đường đơn:

$$\text{Gitoxincellobiosid} = \text{Gitoxigenin} + (\text{digitoxose})_3 + (\text{glucose})_2$$

Người ta nhận thấy rằng ở glycosid tim glucose bao giờ cũng ở cuối mạch (xa aglycon).

III. LIÊN QUAN GIỮA CẤU TRÚC VÀ TÁC DỤNG

Phần quyết định tác dụng lên tim của glycosid tim là phần aglycon bao gồm nhân steroid và vòng lacton chưa bão hoà. Cả hai phần đều quan trọng:

- Nếu vẫn giữ vòng lacton nhưng thay nhân steroid bằng nhân benzen, naphtaleṇ... tác dụng lên tim sẽ mất.
- Nếu vẫn giữ nguyên nhân steroid mà thay đổi vòng lacton như: bão hoà nối đôi, mở vòng, thay vòng lacton bằng vòng lactam thì tác dụng mất hoặc giảm đi rất nhiều.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Sự hấp thu qua dạ dày, tá tràng, ruột, phụ thuộc vào số lượng nhóm OH của phần aglycon, nói cách khác là phụ thuộc vào tính ái dầu của nó. Digitoxin dễ hấp thu qua đường tiêu hóa, tái hấp thu qua thận, gan và có tính tích lũy trong cơ thể vì aglycon (digitoxigenin) chỉ có 2 nhóm OH. Ouabain có nhiều nhóm OH tự do trong phần aglycon nên khó hấp thu qua đường tiêu hoá (nên phải dùng qua đường tiêm tĩnh mạch) và thải trừ nhanh.

Nhóm OH ở C-14 rất quan trọng, thiếu nhóm này tác dụng trên tim sẽ giảm đi rất nhiều.

Nhóm OH ở C-3 hướng α cũng làm giảm tác dụng. Qua quá trình chuyển hoá trong cơ thể, β-OH ở vị trí C-3 bị epimer hoá sang α-OH để thải ra ngoài.

Thí nghiệm trên súc vật cho thấy một số cardenolid khi đưa vào cơ thể sẽ được gắn thêm OH ở C-12 chuyển thành chất có tính phân cực hơn để dễ thải ra ngoài.

Dung hợp giữa các vòng của nhân steroid cũng ảnh hưởng đến tác dụng của glycosid tim: C/D cấu hình *cis* có tác dụng quyết định lên tim. A/B *trans* giảm tác dụng 10 lần so với dẫn chất *cis* tương ứng.

Vòng lacton hướng α cũng giảm tác dụng lên tim.

Ở dạng aglycon, hoạt tính của nhóm bufadienolid mạnh hơn dẫn chất cardenolid tương ứng. Trong hai nhóm cardenolid và bufadienolid thì nhóm đầu được sử dụng nhiều hơn. Nhóm bufadienolid hay gây tác dụng phụ.

Phần đường ít có ảnh hưởng đến tác dụng của glycosid tim, chủ yếu là ảnh hưởng đến độ hoà tan, hấp thu và thải trừ của glycosid tim.

IV. TÍNH CHẤT, ĐỊNH TÍNH, ĐỊNH LƯỢNG

1. Tính chất

Glycosid tim là những chất kết tinh, không màu, vị đắng, có năng suất quay cực, tan trong nước, cồn, không tan trong benzen, ether.

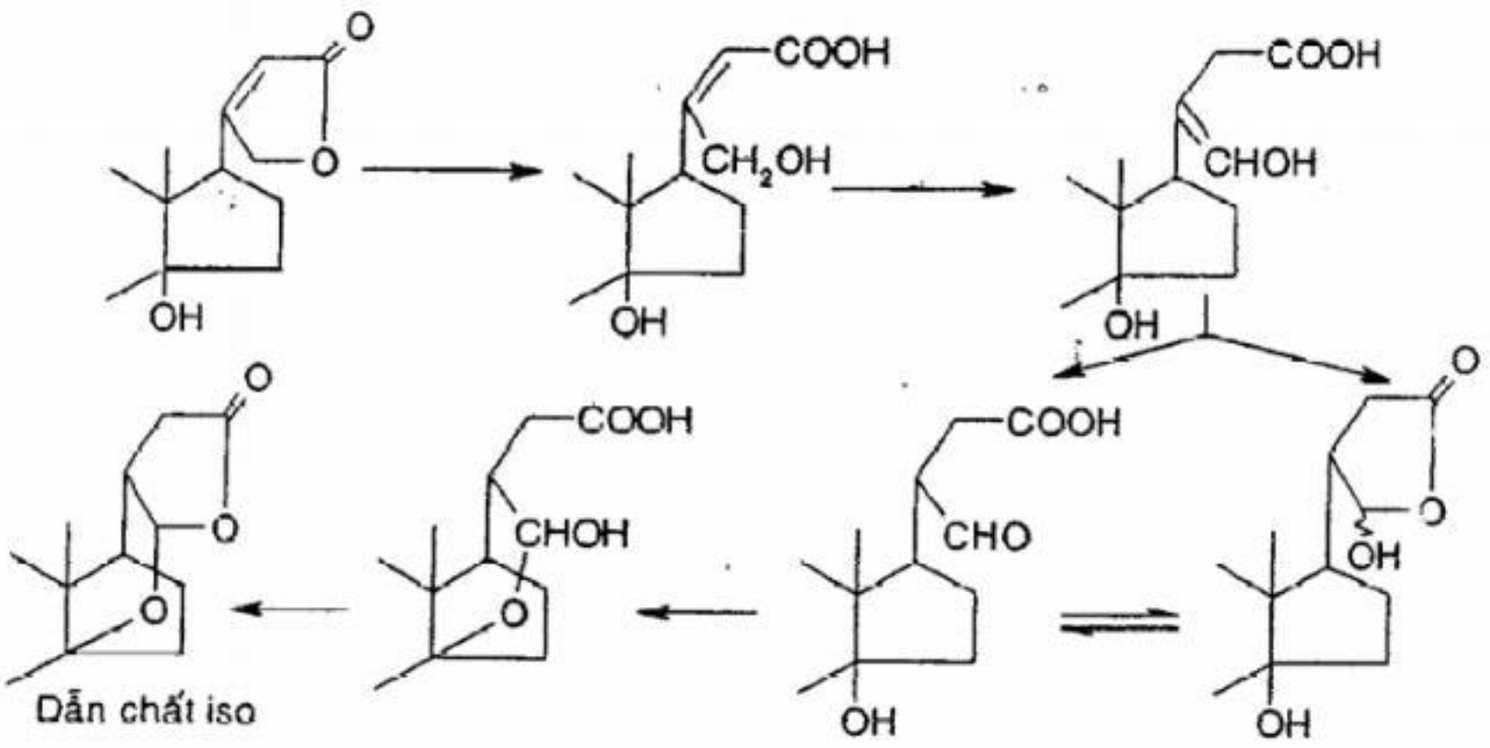
Glycosid tim có đường 2-desoxy sẽ rất dễ bị thủy phân khi đun với acid vô cơ 0,05N trong methanol 30 phút, trong khi những glycosid khác trong điều kiện đó khó bị thủy phân.

Glycosid tim dễ bị thủy phân bởi các enzym. Các enzym, thường có sẵn trong cây, có khả năng cắt các đơn vị đường cuối mạch (xa aglycon) thường là glucose để chuyển thành các glycosid thứ cấp như enzym digilanidase trong lá *Digitalis lanata*, digipurpidase trong lá *Digitalis pururea*, strophanthobiase trong hạt *Strophanthus courmontii*, scillarenase trong *Urginea maritima*.

Vòng lacton 5 cạnh hay 6 cạnh dễ bị mở bởi tác dụng của kiềm rồi tạo thành dẫn chất iso không có tác dụng. Dưới đây là cơ chế tạo thành dẫn chất iso của nhóm cardenolid.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim



2. Các thuốc thử định tính và định lượng

Các thuốc thử định tính cũng như để định lượng chủ yếu dựa trên các thuốc thử tạo màu ở ánh sáng thường hoặc tạo huỳnh quang dưới ánh sáng cực tím.

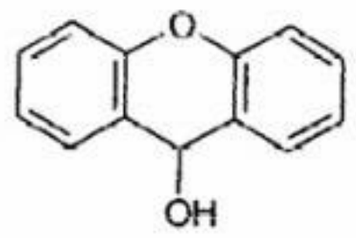
Trước khi tiến hành các phản ứng, người ta loại tạp chất trong nguyên liệu bằng ether dầu hỏa hoặc hexan, sau đó chiết bằng cồn, pha loãng độ cồn rồi lại loại tạp tiếp bằng dung dịch chì acetat 15%, lọc, dịch lọc được lắc với chloroform hoặc hỗn hợp chloroform-ethanol (4:1). Bốc hơi dịch chiết rồi hoà glycosid trong dung môi thích hợp để tiến hành phản ứng.

Các thuốc thử có thể chia làm 2 loại: loại thuốc thử phản ứng với đường 2-desoxy và loại thuốc thử phản ứng với aglycon.

2.1. Các thuốc thử tác dụng lên phần đường

2.1.1. Thuốc thử xanthydrol

Thuốc thử gồm có 10 mg xanthydrol hoà trong 99 ml acid acetic và thêm 1 ml HCl, trộn đều. Thuốc thử này dương tính với các đường 2-desoxy và glycosid có đường này. Phản ứng cho màu đỏ mận rõ và ổn định. Thuốc thử chỉ giữ được 1-2 ngày do vậy khi dùng mới pha.



Xanthydrol

Phản ứng kém nhạy với đường 2-desoxy đã acetyl hóa và âm tính với đường 2-desoxy đã nối với glucose ở vị trí 4. Do đó trong digitoxin thì cả 3 đơn vị digitoxose của mạch đường đều phản ứng với xanthydrol, trong lúc đó purpureaglycosid A chỉ có 2 đơn vị digitoxose phản ứng vì đơn vị thứ ba đã nối với glucose. Các đường 6-desoxy âm tính với thuốc thử.

Thực hiện: lấy khoảng 20 - 200 µg glycosid cho vào ống nghiệm khô, thêm 5 ml thuốc thử rồi trộn đều, đậy nút bông, đặt trên nồi cách thủy sôi 3 phút sau đó làm lạnh bằng cách ngâm 5 phút vào nước đá và để ở nhiệt độ phòng 10 phút. Đọc trên quang phổ kế ở bước sóng 550 nm. Nếu định tính thì không cần làm lạnh.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

2.1.2. Thuốc thử acid phosphoric đậm đặc

10-20 µg đường 2-desoxy hoặc một lượng glycosid có lượng đường tương đương được hoà trong 1 ml aceton. Thêm 5 ml acid phosphoric đậm đặc (d=1,70) trộn đều, nhúng vào nước nóng 15 phút, làm nguội. Dung dịch có màu vàng được đo bằng quang phổ kế ở λ 474 nm.

2.2.3. Thuốc thử Keller-Kiliani

Thuốc thử được pha làm 2 dung dịch:

- Dung dịch 1 gồm 100 ml acid acetic đậm đặc trộn với 1 ml dung dịch $FeCl_3$ 5%.
- Dung dịch 2 gồm 100 ml acid sulfuric đậm đặc trộn với 1 ml dung dịch $FeCl_3$ 5%.

Hoà tan 5 mg glycosid vào dung dịch 1 rồi cho thêm dung dịch 2. Mặt ngăn cách có màu đỏ hoặc nâu đỏ và dần dần sẽ thấy lớp trên có màu xanh từ dưới khuếch tán lên. Độ nhạy của phản ứng kém thuốc thử xanthydrol. Màu không ổn định nên ít dùng để định lượng.

Cần chú ý thuốc thử Keller-Kiliani và xanthydrol cũng dương tính với các digitanol glycosid (glycosid có trong *Digitalis* không phải glycosid tim nhưng có phần đường 2-desoxy).

2.2. Các thuốc thử tác dụng lên phần aglycon

Các thuốc thử này có thể phân làm 2 nhóm: nhóm thuốc thử phản ứng lên nhân steroid và nhóm phản ứng lên vòng lacton.

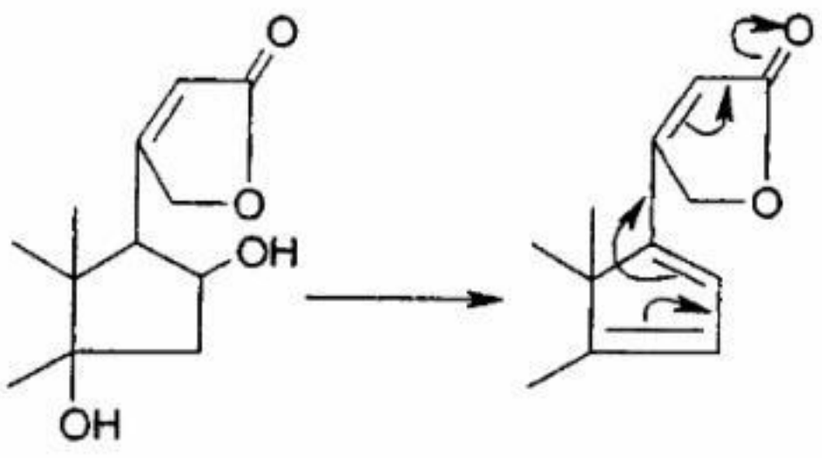
2.2.1. Các thuốc thử phản ứng lên nhân steroid

Thuốc thử cho màu.

Thuốc thử Liebermann-Burchardt: phản ứng này không những chỉ lên màu với glycosid tim mà còn lên màu với nhiều dẫn chất có nhân steroid khác.

Thực hiện theo Stoll: chất thử cho vào ống nghiệm, thêm vài giọt acid acetic sau đó thêm vài ml hỗn hợp gồm 50 phần anhydrid acetic và 1 phần acid sulfuric, trộn đều, màu thay đổi từ hồng đến xanh lá.

Thực hiện theo Brieskorn: một ít chất thử (10 mg) hòa tan trong chloroform, thêm 2 ml hỗn hợp thuốc thử (gồm 1 ml H_2SO_4 đậm đặc và 20 ml anhydrid acetic). Tùy theo glycosid mà màu thay đổi từ đỏ đến hồng dần dần đến xanh lá, xanh chàm.



Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Thuốc thử cho huỳnh quang dưới ánh sáng UV.

Các tác nhân dehydrat hoá làm mất nước tạo huỳnh quang do hình thành nối đôi ở vị trí 14(15); đối với cardenolid có OH ở C-16 thì thêm nối đôi vị trí 16(17) tạo thành hệ nối đôi liên hợp với vòng butenolic nên huỳnh quang càng mạnh hơn.

Acid phosphoric (phản ứng Pesez-Jensen): phản ứng này rất nhạy (mức µg), cho huỳnh quang xanh ve. Nếu thực hiện với glycosid có đường 2-desoxy màu vàng của thuốc thử trên phần đường có thể ảnh hưởng đến kết quả phản ứng. Có thể khắc phục bằng cách thêm hydrazin hydrat, chất này sẽ gắn vào nhóm aldehyd của đường.

Thuốc thử Tattje: thuốc thử gồm 62,5 g acid phosphoric 85%, 37,5 g H_2SO_4 đđ. và 0,05 g $FeCl_3.6H_2O$. Thuốc thử này cho phản ứng với các cardenolid có OH ở C-16 (kể cả trường hợp đã bị ester hóa) màu đỏ đậm sau khi đun 5 phút ở 100°C. Màu bền trong 2 giờ. Đối với các dẫn chất không có nhóm OH này thì màu kém khoảng 100 lần so với chất tương ứng. Nếu định lượng, đọc ở bước sóng 272 nm.

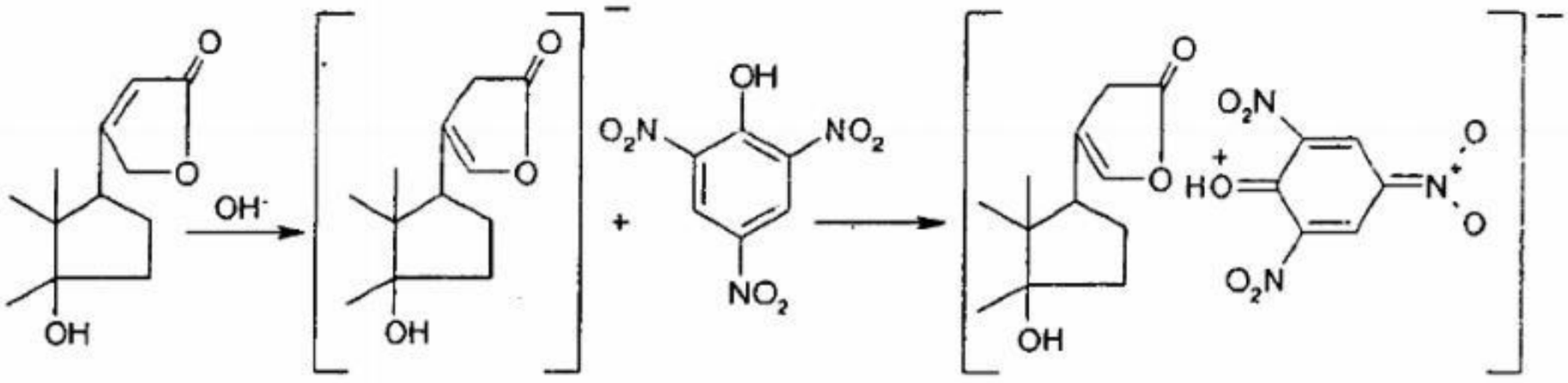
Thuốc thử Svendsen-Jensen: dung dịch acid trichloracetic 25% trong cồn 95% hoặc $CHCl_3$ dùng phun để phát hiện hiện khi tiến hành sắc ký. Các cardenolid có OH ở C-16 cho huỳnh quang xanh (độ nhạy ở mức µg).

2.2.2. Các thuốc thử tác dụng lên vòng butenolic

Các glycosid và aglycon thuộc nhóm cardenolid khi cho tác dụng với những dẫn chất nitro thơm ở môi trường kiềm sẽ tạo nên những sản phẩm có màu đỏ đến tím. Phản ứng phụ thuộc vào nhóm methylen hoạt động của vòng butenolic.

Thuốc thử Baljet

Baljet nghiên cứu oxy hoá digitoxigenin bằng acid picric (2,4,6-trinitro phenol) trong môi trường kiềm thấy có màu đỏ da cam, sau đó thấy các glycosid tim khác cũng có màu. Màu tương đối bền nên được dùng cả định tính lẫn định lượng. Phản ứng được giải thích do sự tạo thành phức anion có màu:



Thuốc thử: hoà tan 0,100 g acid picric trong 25 ml ethanol 90%, thêm một hỗn hợp gồm 5 ml NaOH 15% và 70 ml nước cho đủ 50 ml, trộn đều, khi dùng mới pha.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Thuốc thử Kedde

Thuốc thử là dung dịch 3,5-dinitro benzoic acid 2% trong ethanol. Chất thử được hoà tan trong ethanol, thêm thuốc thử rồi thêm dung dịch NaOH, phản ứng có màu đỏ tía. Nếu định lượng, đọc ở bước sóng 540 nm.

Thuốc thử Raymond-Marthoud

Thuốc thử là *m*-dinitrobenzen 1% trong cồn tuyệt đối, cũng thực hiện trong môi trường kiềm. Phản ứng có màu tím, màu không bền nên cũng cản trở việc định lượng.

Ngoài những thuốc thử nitro thơm nói trên, người ta còn dùng một số thuốc thử nitro thơm khác như 2,4-dinitronaphtalen (thuốc thử Frère Jacque); 2,2',4,4'-tetranitro diphenyl; 2,4-dinitrophenyl sulfon; 3,5-dinitroanisol... cũng thực hiện trong môi trường kiềm.

Thuốc thử Legal

Các chất thuộc nhóm cardenolid khi hoà vào pyridin rồi thêm dung dịch natri nitroprussiat 0,3 - 0,5% sau đó thêm dung dịch NaOH 10 - 15% để đảm bảo môi trường kiềm sẽ xuất hiện màu đỏ.

Chú ý rằng các thuốc thử nitro thơm nói trên và thuốc thử Legal âm tính với các dẫn chất thuộc nhóm bufadienolid. Muốn phát hiện nhóm này có thể dùng thuốc thử $SbCl_3$ trong chloroform sẽ có màu tím sau khi đun nóng. Tốt nhất là dựa vào quang phổ tử ngoại sẽ trình bày ở dưới. Ngoài ra 1 số hợp chất tuy không thuộc nhóm cardenolid nhưng có nhóm methylen hoạt động đứng cạnh nhóm carbonyl cũng dương tính với các thuốc thử thuộc nhóm nitro thơm và thuốc thử Legal nói trên ví dụ như chất neoandrographolid (xem Xuyên tâm liên ở phần dược liệu chứa diterpenoid glycosid), thujon, benzalceton...

3. Sắc ký

Để xác định đối chiếu hoặc tách từng chất để nghiên cứu ta có thể thực hiện sắc ký lớp mỏng, dùng chất hấp phụ là silicagel G.

Sau đây là một vài hệ dung môi: ethylacetat-methanol-nước (80:5:5), chloroform-pyridin (60:10), chloroform-methanol (92:8), butanol-acid acetic-nước (100:4:24) hay (100:10:30), ethyl acetat-pyridin-nước (5:1:4), dichloromethan-methanol-formamid (80:19:1).

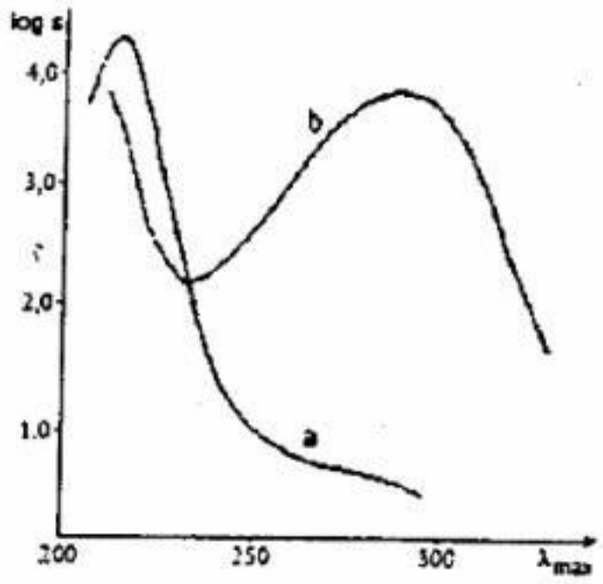
Để hiện màu các dẫn chất nhóm cardenolid, có thể dùng một số thuốc thử đã nói ở phần trên, hay dùng là thuốc thử Kedde (màu đỏ tía), thuốc thử Raymond-Marthoud (màu tím). Các dẫn chất có đường 2-desoxy thì dùng thuốc thử xanthydrol.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

4. Quang phổ

Trong vùng tử ngoại, nhóm cardenolid có đỉnh hấp thu cực đại 215 - 218 nm và log ε khoảng 4,1; nếu trong phân tử có thêm nhóm carbonyl (ví dụ strophanthidin) thì có đỉnh hoặc vai ở 272 - 305 nm, còn các dẫn chất bufadienolid có đỉnh hấp thu cực đại ở khoảng 300 nm log ε khoảng 3,7.



a. Phổ tử ngoại của cardenolid
b. Phổ của bufadienolid

Trong vùng hồng ngoại, nhóm bufadienolid do có vòng coumalin (pyran-2-on) nên có các đỉnh hấp thu ở 1730 cm^{-1} và 2 đỉnh ở 1640 và 1540 cm^{-1}.

5. Định lượng

Để định lượng nhóm cardenolid, người ta dựa vào các phản ứng cho màu hoặc huỳnh quang đã nói ở trên.

Có thể định lượng trực tiếp trên dịch chiết toàn phần đã loại tạp hoặc sau khi tách các cardenolid chính trong dược liệu bằng sắc ký lớp mỏng. Tiếp theo, đánh giá các vết bằng máy đo mật độ quang trực tiếp trên sắc đồ hoặc hoà tan cardenolid ứng với các vết, làm phản ứng màu rồi đo mật độ quang. Có thể định lượng bằng phương pháp phổ huỳnh quang, phương pháp này có độ nhạy cao. Cũng có khi người ta định lượng các genin sau khi thủy phân bằng cách đun sôi với HCl 0,2 N, chiết bằng ether hoặc chloroform, bốc hơi dung môi rồi tiến hành làm phản ứng màu hoặc huỳnh quang.

Phương pháp đo quang dựa trên phản ứng của glycosid tim với acid picric (thuốc thử Baljet), dinitrobenzen-NaOH (thuốc thử Raymond - Marthoud) cũng được sử dụng để định lượng glycosid tim toàn phần sau khi tinh chế dịch chiết dược liệu. [BP 2009]

Phương pháp sắc ký lỏng cao áp cũng được sử dụng trong định lượng glycosid tim. Pha tĩnh thường sử dụng là RP-18, glycosid tim được phát hiện bằng detector UV ở ~ 220 nm.

6. Đánh giá bằng phương pháp sinh vật

Trong nhiều trường hợp, kết quả của phương pháp định lượng bằng hoá học nêu ở phần trên không ăn khớp với liều tác dụng nên Dược điển các nước và Dược điển Việt Nam qui định đánh giá hiệu lực của glycosid tim bằng phương pháp sinh vật. Súc vật hay dùng là mèo hoặc ếch[1]. Đối với mèo chúng ta căn cứ vào liều gây ngừng tim ở thời kỳ tâm trương, đối với ếch căn cứ vào liều gây ngừng tim ở thời kỳ tâm thu.

[1] Một số dược điển ví dụ như Dược điển Mỹ quy định sử dụng bồ câu trưởng thành để thử.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Đối với ếch, dung dịch thử được tiêm theo đường dưới da vào túi bạch huyết, đối với mèo tiêm vào tĩnh mạch đùi, sau đó tính ra đơn vị ếch hoặc đơn vị mèo.

Đơn vị ếch (Đ.V.Ê) là liều tối thiểu của dược liệu hay của glycosid tim làm cho đa số ếch trong 1 lô ếch thí nghiệm bị ngừng tim. Thí nghiệm tiến hành trong những điều kiện qui định.

Đơn vị mèo (Đ.V.M) là liều tối thiểu của dược liệu hay của glycosid tim làm cho tim mèo ngưng đập, tính theo 1kg thể trọng. Thí nghiệm tiến hành trong những điều kiện qui định.

Cần chú ý rằng mỗi loài động vật chịu đựng với các liều độc rất khác nhau. Liều độc với thỏ gấp 2 lần mèo còn với chuột cống thì gấp 60 lần. Ếch rất nhạy cảm với glycosid tim, khác với cóc. Người ta còn thấy rằng mèo và chó cùng chịu đựng một liều như nhau đối với cao chiết từ hạt *S. kombe* nhưng digitoxin tác dụng trên chó yếu hơn trên mèo.

7. Bảo quản

Những dược liệu chứa glycosid tim sau khi đã ổn định, làm khô và để nơi khô ráo cũng chỉ có giá trị sử dụng trong 1 năm. Những dạng bào chế có độ ẩm tối đa 3,5% đựng trong bao bì hàn kín có thể bảo quản tới 5 năm.

V. PHÂN BỐ TRONG TỰ NHIÊN

Người ta tìm thấy glycosid tim có trong các họ thực vật: Apocynaceae, Asclepiadaceae, Celastraceae, Clusiaceae (Cruciferae), Euphorbiaceae, Leguminosae, Liliaceae, Meliaceae, Moraceae, Ranunculaceae, Scrophulariaceae, Sterculiaceae và Tiliaceae.

Glycosid tim có thể gặp trong mọi bộ phận của cây: lá, hoa, vỏ thân, rễ, thân rễ, dò, nhựa mủ.

Người ta còn phát hiện thấy glycosid tim có mặt trong một số côn trùng như bướm và sâu bướm nữ hoàng thường sống trên cây *Asclepias syriaca*; hoặc rệp *Aphis nerii* sống trên cây *Asclepias curassavica*. Chúng thu nhận cardenolid từ cây để làm chất bảo vệ chống kẻ thù ăn thịt. Tuy nhiên gần đây người ta phát hiện các loài bọ cánh cứng *Chrysolina spp.* thu nhận các sterol từ thức ăn thực vật rồi tổng hợp thành glycosid tim. Người ta phát hiện 14 glycosid mới có các đường hiếm như lyxose, allose, ribose và một aglycon mới trong loại bọ nói trên.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

DƯỢC LIỆU CHỨA GLYCOSID TIM

LÁ TRÚC ĐÀO

Folium Oleandri

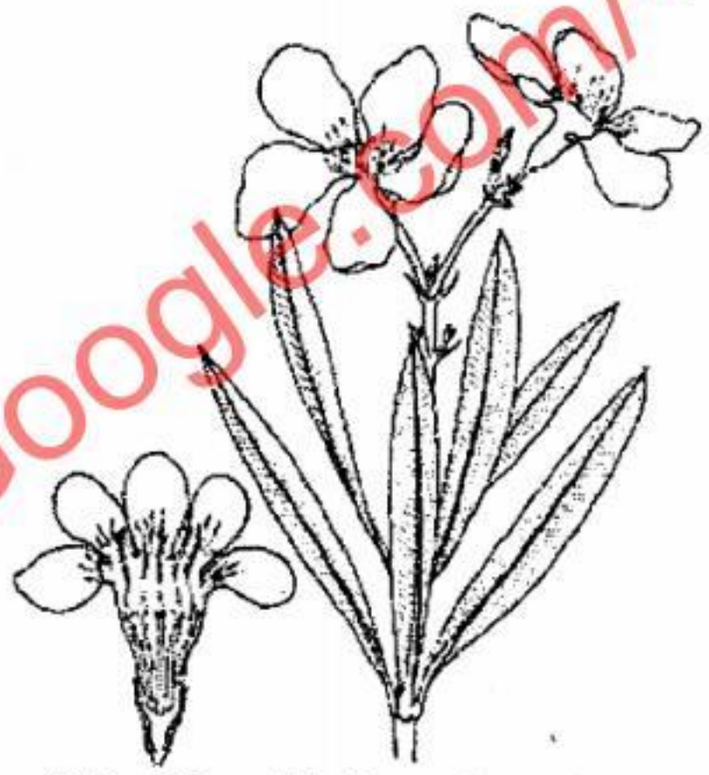
Dược liệu là lá của cây Trúc đào - *Ne rium oleander* L. họ Trúc đào, Apocynaceae.

Loài *Nerium odorum* Soland. cũng được dùng.[1]

Đặc điểm thực vật

Cây cao 3-4 m, cành mọc đứng khi non có màu xanh, khi già có màu nâu xám. Lá mọc vòng 3 lá một, nguyên, hình mũi mác, màu lục nhạt ở mặt dưới, màu lục sẫm ở mặt trên. Lá tiền khai cuộn ngoài. Hoa màu hồng có khi màu trắng xếp thành ngù ở ngọn. Hoa đều lưỡng tính, có bao hoa và bộ nhị mẫu 5. Tràng cánh hợp, hình phễu có phiến chia làm 5 thùy, tiền khai vặn. Chỉ nhị dính liền với tràng. Bao phấn đính gốc. Quả cấu tạo bởi 2 đại. Khi chín nứt dọc để lộ bên trong các hạt mang chùm lông màu hung. Toàn cây có nhựa mủ trắng và độc, có thể gây tai nạn cho người và súc vật.

Ở nước ta, trúc đào được trồng làm cảnh ở các công viên và các vườn tư nhân.



Trúc Đào - *Nerium oleander* L

Trúc Đào - *Nerium odorum* Soland.

Soland

Thu hái

Thu hái vào tháng 10-11 hoặc vào tháng 4, hái những lá già dài trên 10 cm. Hái về làm khô ngay ở nhiệt độ không quá 50°C.

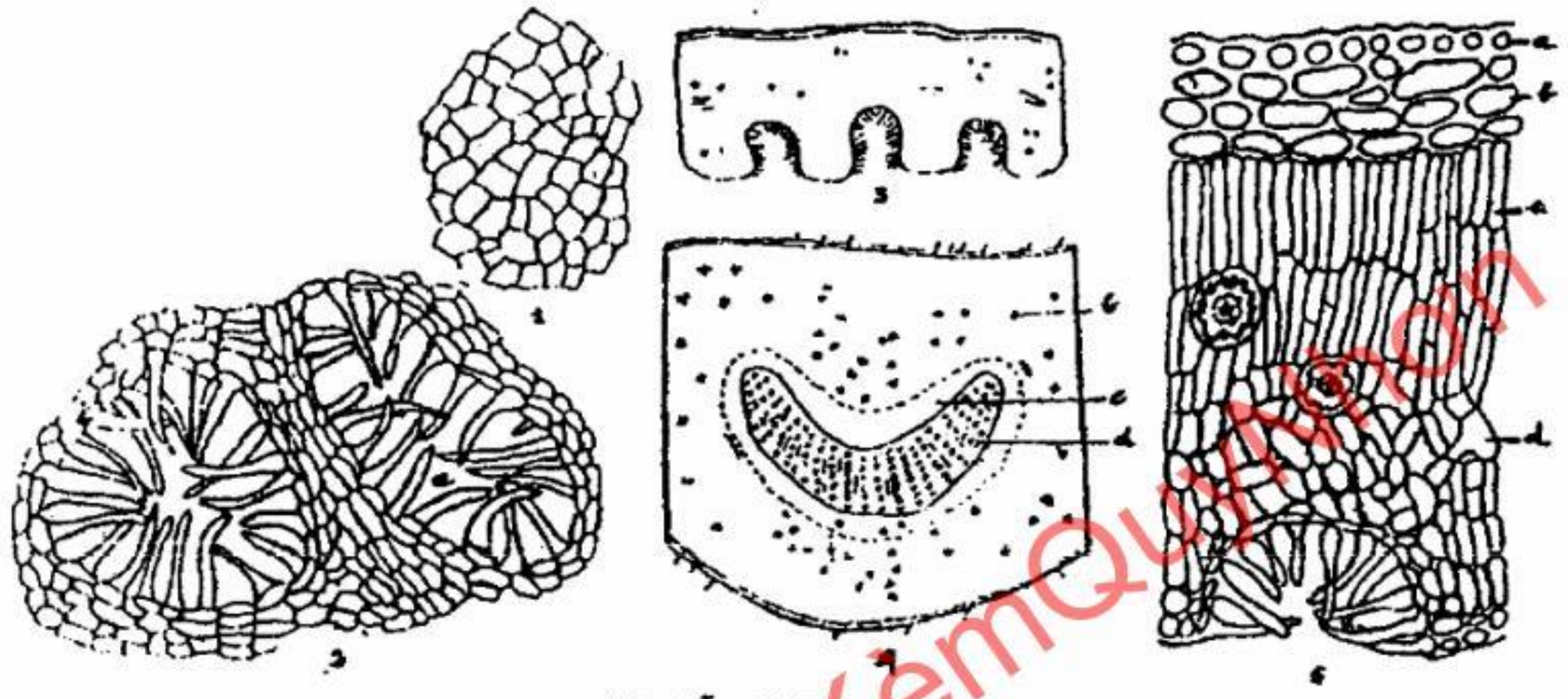
---

[1] Loài *N. odorum* Soland. có hoa thơm, tràng hoa thường kép, màu hồng.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Vi phẫu lá

Lớp cutin dày, dưới lớp biểu bì trên có vài hàng tế bào hạ bì, biểu bì dưới có các buồng lỗ khí chìm và bao phủ bởi các lông đơn bào (cấu tạo như vậy để hạn chế sự thoát hơi nước). Trong mô mềm có tinh thể calci oxalat hình cầu gai.



Vi phẫu lá Trúc đào

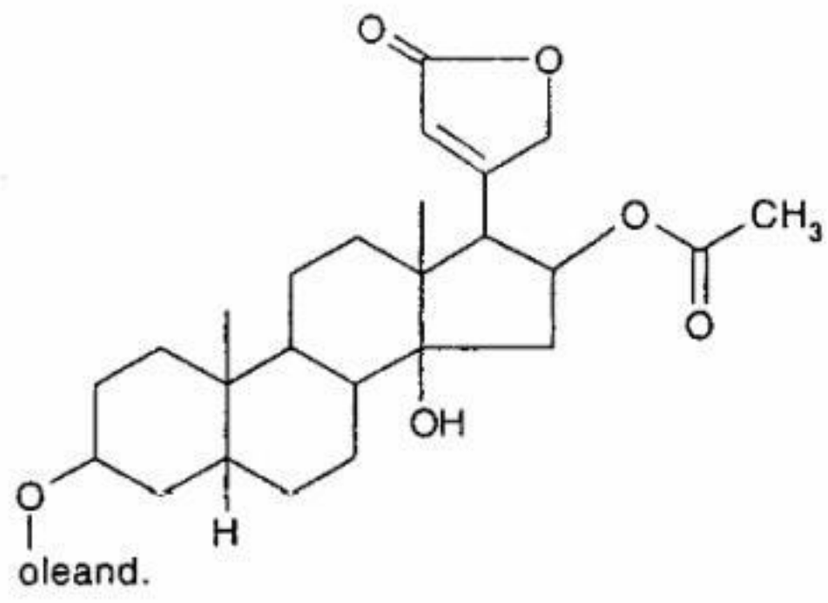
1. Biểu bì trên. 2. Biểu bì dưới. 3. Buồng có lỗ khí chìm 4. Sơ đồ phiến lá cắt ngang qua gân chính. a) Biểu bì có lông che chở. b) calci oxalat c) Liber d) Gỗ. 5. Vi phẫu phiến lá. a) Biểu bì. b) Hạ bì. c) Mô dậu. d) Mô khuyết. e) Buồng có lỗ khí chìm.

Thành phần hoá học

Lá chứa hoạt chất chính là các glycosid tim, có 17 glycosid khác nhau đã được biết cấu trúc. Hàm lượng glycosid tim toàn phần trong lá là 0,5%. Sau đây là những glycosid đáng chú ý:

Oleandrin

Oleandrin (hay còn gọi là oleandrosid, neriolin, folinerin) là thành phần chính có tác dụng trên tim của lá Trúc đào. Hàm lượng oleandrin trong lá khô trong khoảng 0,08-0,15%. Oleandrin được Schmiedeberg phân lập ở dạng không tinh khiết vào cuối thế kỷ XIX, đến năm 1926 được Windaus phân lập dưới dạng tinh khiết. Cấu trúc của oleandrin được Tschesche và cộng sự xác định (1937-1955).



Oleandrin

Oleandrin là những tinh thể hình kim không màu, vị rất đắng, tan trong cồn 95% và chloroform, khó tan trong nước, hầu như không tan trong ether và benzen, điểm chảy là 249-250^{0}C. Khi thủy phân oleandrin cho oleandrose và aglycon là oleandrigenin, chất này là dẫn chất 16-acetyl của gitoxigenin.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Định lượng oleandrin trong lá Trúc đào bằng sắc ký lỏng cao áp, Wagner H. và cs [Planta Med. (1981) 43(11)252-60] nhận thấy hàm lượng oleandrin thay đổi rất rõ rệt theo nguồn gốc xuất xứ của nguyên liệu.

Desacetyloleandrin

Desacetyl oleandrin có hoạt tính sinh vật là 6000 Đ.V.Ê. trong 1 gam.

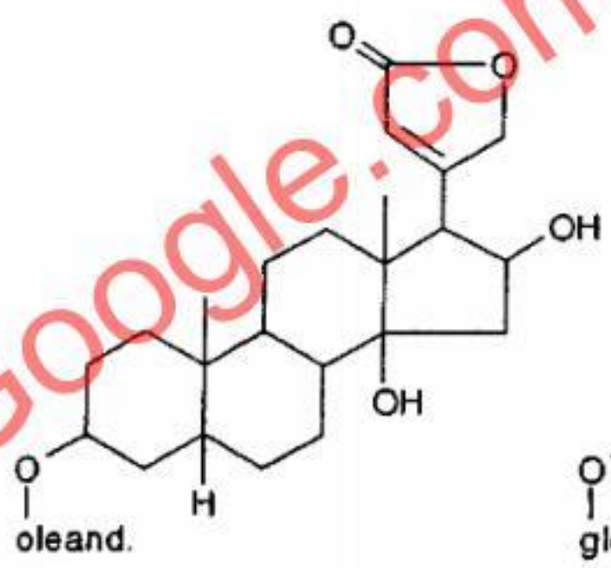
Neriantin

Tuy neriantin có hàm lượng cao trong lá Trúc đào nhưng do có hoạt tính sinh vật rất thấp vì không có nhóm OH ở C-14 nên không có ý nghĩa thực tế.

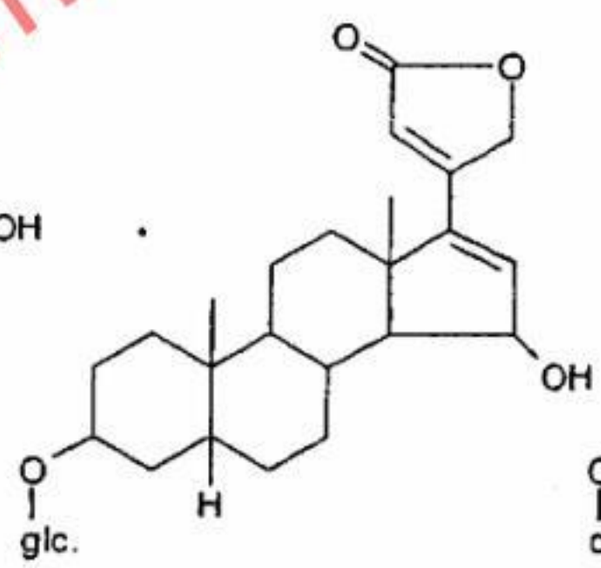
Adynerin

Adynerin có hàm lượng thấp trong lá trúc đào và không có tác dụng lên tim cũng do thiếu nhóm OH ở C-14.

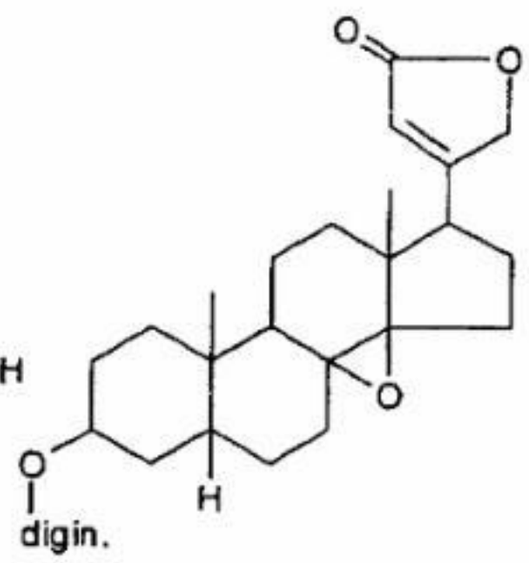
Ngoài ra con có nhiều glycosid tim khác gồm có: các glycosid của digitoxigenin, neriagenin, 8β-hydroxy digitoxigenin, Δ^{16}-8β-hydroxy-digitogenin và Δ^{16}-neriagenin; các monosid như odorosid A, oleasid A, nerigosid, neriasid, 8β-hydroxy odorosid A, 5α-adynerin, Δ^{16}-adynerin, Δ^{16}-adynerin digitalosid, oleandrigenin sarmentosid; các triosid như: gentobiosyl oleandrin, gentibiosyl-nerigosid, gentobiosylbeaumontosid, odorosid A gentobiosid, adynerin gentobiosid, Δ^{16}-adynerin gentobiosid, kenerosid, neriumosid ... Trong lá trúc đào, ngoài thành phần glycosid tim còn có các nhóm hợp chất khác như các triterpenoid, pregnan, flavonoid.



Desacetyl oleandrin



Neriantin



Adynerin

Các triterpenoid bao gồm: acid ursolic, cis-keranin và *trans*-keranin, acid 3β,27-dihydroxy-urs-18-en-13,28-oic; 3β,22α,28-trihydroxy-25-nor-lup-1(10)-20(29)-dien-2-on.

Các steroid gồm có các dẫn chất pregnan như neridienon; 6,7-dihydro neridienon; 3-*O*-β-gentiobiosyl-3β,14-dihydroxy-5α,14β-pregnan-20-on; 21-*O*-β-glucosyl-14,21-dihydroxy-14β-pregn-4-en-3,20-dion. Ngoài ra còn có cholesterol.

Các dẫn chất flavonoid: rutosid và nicotiflorin (= kaempferol 3-rhamnoglucosid).

Trong lá còn có các polysaccharid có tác dụng trên miễn dịch và chống khối u. [*US Patent* 5.135.745]

Vỏ cây có chứa 4 glycosid tim, ngoài ra còn có plumierid là một iridoid glycosid, vỏ cây không có ý nghĩa thực tế.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Hạt chứa 26 glycosid nhóm cardenolid.

Trong rễ trúc đào cũng có chứa các dẫn chất cardenolid, pregnan và các triterpenoid.

Trong lá loài *N. odorum* có các glycosid tim như gentobiosyl oleandrin; oleandrigenin-*β*-glucosid; oleandrigenin-*β*-glucosyl-*β*-diginosid; digitoxigenin-*β*-gentobiosyl-*β*-diginosid (odorosid A gentobiosid); Δ^{16}-O-acetyl-digitalinum verum; Δ^{16}-dehydroadynerigenin-glucosyl-*β*-digitalosid; odorosid E, G, H, K; adynerin gentobiosid, Δ^{16}-adynerin gentobiosid, glucosyl nerigosid; *β-D*-diginosid và *β-D*-digitalosid của Δ^{16}-dehydroadynerigenin; digitoxogenin oleandrosid và 5-*α*-adynerin...

Chiết xuất oleandrin

Quy trình chiết xuất oleandrin gồm 4 giai đoạn:

Chiết: lá Trúc đào khô được xay thành bột thô (kích thước 2-5 mm). Ngâm 5kg bột lá với 50 lít cồn 25% trong 24 giờ. Gạn lấy dịch chiết cồn để thu được chừng 25 - 27 lít và ép bã lấy thêm được 18-20 lít nữa.

Loại tạp: gộp chung các dịch trên lại rồi thêm vào 1/2 lít dung dịch chì acetat 30%. Thử xem dịch chiết đã hết tạp chưa bằng cách lọc một ít dịch và thêm vào dịch lọc một ít dung dịch chì acetat, nếu còn tủa phải thêm chì acetat. Để lắng qua đêm, gạn lấy dịch trong, phần không gạn được thì lọc, rửa tủa với 2 lít cồn 25%. Gộp chung các phần dịch trong và thêm từ từ vào đấy 2 lít dung dịch natri sulfat 15%, khuấy đều. Thử xem phần dịch đã hết chì acetat chưa, nếu chưa thì phải thêm dung dịch natri sulfat. Lọc lấy dịch lọc.

Bốc hơi dung môi: bốc hơi dịch lọc dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 50 – 55^{0}C cho đến khi còn 1/6 thể tích ban đầu (khoảng 8 lít), để nguội. Glycosid thô sẽ lắng ở đáy (khoảng 48-50g).

Tinh chế: cho glycosid thô vào bình, thêm 200 ml cồn 70%, đặt vào nước nóng cho tan rồi cho vào tủ lạnh trong vài ngày cho kết tinh. Lọc lấy tinh thể, kết tinh lại một vài lần sẽ thu được oleandrin tinh khiết (5 - 6g).

Một số tác giả cũng sử dụng phương pháp chiết lỏng quá tới hạn để chiết glycosid tim trong trúc đào. Khi sử dụng CO_2 tới hạn ở 300 bar, 50^{0}C, hiệu suất oleandrin thu được trong sản phẩm so với dược liệu là 0,76%. Khi sử dụng CO_2 tới hạn ở 280 bar, 50^{0}C có thêm 5% ethanol, hiệu suất oleandrin thu được so với nguyên liệu là 0,91%. [*US patent* 7.402.325]

Tác dụng và công dụng

Oleandrin có hoạt tính sinh vật là 40.000 Đ.V.Ê. trong 1 gam. Dược điển Việt Nam quy định 1 gam oleandrin phải tương ứng với 3600-4000 Đ.V.M. Oleandrin đã được chiết xuất và sử dụng đầu tiên tại bệnh viện Việt Tiệp từ năm 1960 dưới tên neriolin.

Neriolin và chế phẩm từ lá Trúc đào có tác dụng như lá *Digitalis* nhưng tác dụng nhanh hơn và ít tích luỹ hơn. Sau đây là kết luận của khoa nội bệnh viện Việt - Tiệp (Hải Phòng):

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

- Neriolin làm chậm nhịp tim, kéo dài thời kỳ tâm trương. Tính chất này đặc biệt có lợi đối với các bệnh nhân bị hẹp van hai lá vì kéo dài thời kỳ tâm trương, giúp cho máu có đủ thời giờ xuống tâm thất trái qua lỗ van hai lá bị hẹp khiến cho lượng máu đẩy vào đại tuần hoàn trong mỗi chu chuyển tim lớn hơn, nâng cao được lưu lượng và hiệu suất của tim. Đặc điểm này quan trọng đối với Việt Nam nơi mà bệnh hẹp van hai lá là nguyên nhân của nhiều trường hợp suy tim.
- Tác dụng lên tim đến rất nhanh: chỉ sau vài giờ, có trường hợp chỉ sau 15-20 phút, bệnh nhân bớt khó thở, nhờ thế bệnh nhân rất phấn khởi tin tưởng ở thuốc.
- Neriolin được đào thải ra khỏi cơ thể nhanh nên việc đổi thuốc không phải chờ thuốc thải ra hết mà có thể thay ngày hôm sau.
- Ngoài ra còn có tác dụng thông tiểu, giảm hiện tượng phù.

Thuốc được dùng trong trường hợp suy tim, khó thở, phù do bệnh tim.

Chú ý bột lá khi bay vào mũi sẽ gây hắt hơi mạnh.

Các glycosid tim trong lá Trúc đào, ngoài tác dụng trên tim còn có các tác dụng khác như kháng khuẩn, ức chế thần kinh trung ương.

Trên thử nghiệm, oleandrin cũng cho thấy có tác dụng chống tăng sản tế bào ung thư tụy người - PANC-1. [Newman R.A. et al. *Integr. Cancer Ther.* 2007 6(4), 354-64]

Chế phẩm Anvirzel ™ (dịch chiết nước của lá Trúc đào có chứa 5 polysaccharid, 2 glycosid tim và 5 protein) có tác dụng kích thích các tế bào miễn dịch, tăng khả năng miễn dịch và có hoạt tính cao trên nhiều dòng tế bào ung thư ác tính trên người. Các polysaccharid được cho là hoạt chất có tác dụng độc tế bào và kích thích miễn dịch trong lá trúc đào. Chế phẩm này đã được USFDA cho phép thử lâm sàng giai đoạn I trên các bệnh nhân có khối u rắn tiến triển [*US Patent* 5.135.745].

Các dạng bào chế

- *Dung dịch 1/5000 oleandrin*
  + Oleandrin 0,20 g
  + Cồn ethylic 70% vđ. 100 ml
- *Dạng viên có 0,0001 - 0,0002 g oleandrin*
  + Liều dùng của oleandrin: Một lần: 0,0002 g; 24 giờ: 0,0004 g
- *Dạng cao lỏng (lá)*
- Liều dùng: Một lần: 0,1g; 24 giờ: 0,50 g
- *Bột lá*
  + Liều dùng: Một lần: 0,05 g; 24 giờ: 0,50 g

Thuốc độc, dùng cẩn thận. Uống sau bữa ăn vì thuốc gây kích ứng niêm mạc dạ dày.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

HẠT THÔNG THIÊN

Semen Thevetiae

Dược liệu dùng là hạt của cây Thông thiên - *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum. (= *Thevetia neriifolia* Juss.) họ Trúc đào - Apocynaceae.

Đặc điểm thực vật

Cây cao 3 – 4 m, cành dài mềm màu trắng xám. Lá mọc so le hình mũi mác hẹp, màu xanh nhạt, mặt trên của lá láng bóng. Hoa màu vàng tươi đẹp, tiền khai hoa vặn. Quả hạch hình bán cầu đường kính 3 - 4 cm hơi dẹt phía trên và phía dưới, có một sống nhô lên chia đôi quả làm 2 phần đối xứng. Bên ngoài màu xanh lá, thịt quả trắng nhưng chóng bị đen vì có chứa aucubosid là một iridoid glycosid, khi glycosid này bị enzym có sẵn trong cây thủy phân thì phần aglycon bị biến đổi cho sản phẩm màu đen. Vỏ quả trong rất rắn, toàn bộ nom như đôi sừng, mép trên có khe sâu có thể dùng lưỡi dao tách đôi theo chiều dọc. Trong hạch có 4 hạt dẹt màu trắng, thường bị lép còn 3 hoặc 2. Toàn cây có nhựa mủ.

Thông thiên
Thevetia peruviana (Pers.) K. Schum.

Cây có nguồn gốc châu Mỹ nhập nội để làm cảnh.

Thành phần hoá học

Hạt chứa 50% dầu chủ yếu là các acylglycerol của acid oleic. Hoạt chất là các glycosid tim, trong đó neriifolin có hàm lượng cao nhất, có thể đến 6 - 8%.

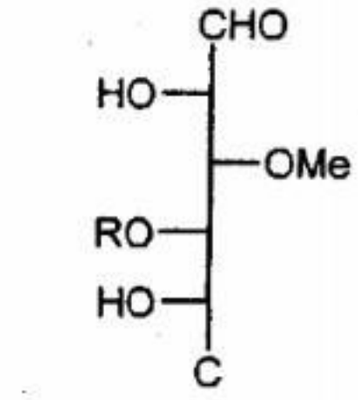
Việc xác định cấu trúc kéo dài 1 thế kỷ từ khi Devry ở Java phân lập được glycosid đắng đặt tên là thevetin (thevetosid). Dưới đây là các glycosid tim có trong hạt thông thiên (kể cả những glycosid thứ cấp):

- Thevetin A = cannogenin + *L*-thevetose + *D*-glucose + *D*-glucose.
- Peruvosid = cannogenin + *L*-thevetose.
- Acetyl peruvosid = cannogenin + Acetyl *L*-thevetose.
- Theveneriin = cannogenol + *L*-thevetose.
- Thevetin B = digitoxigenin + *L*-thevetose + *D*-glucose + *D*-glucose (= cerberosid) .
- Acetyl thevetin B = digitoxigenin + acetyl *L*- thevetose + $(glucose)_2$.
- Thevebiosid = digitoxigenin + *L*-thevetose + *D*-glucose

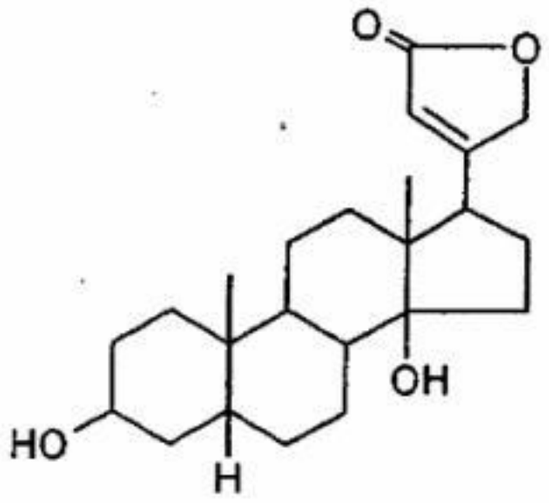
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

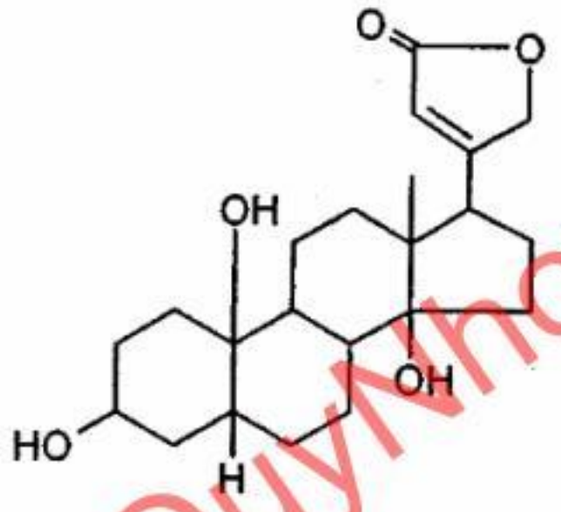
- Neriifolin = digitoxigenin + *L*-thevetose.
- Acetyl neriifolin = digitoxigenin + acetyl *L*-thevetose.
- Thevefolin = có thể là uzarigenin + *L*-thevetose (uzarigenin khác digitoxigenin do cấu hình ở C-5).
- Perusitin = acid cannogenic + *L*-thevetose.



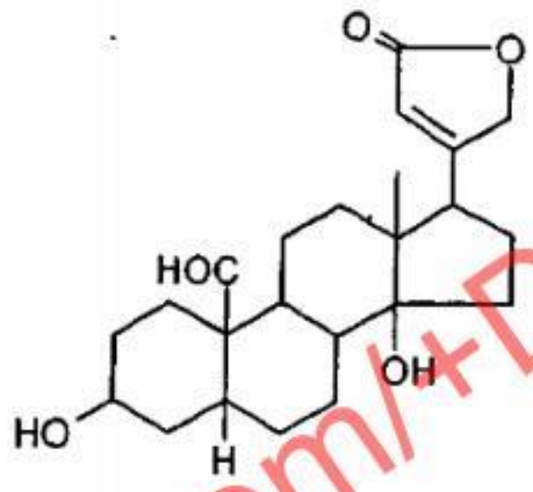
L-thevetose R = H
Acetyl thevetose R = AcO



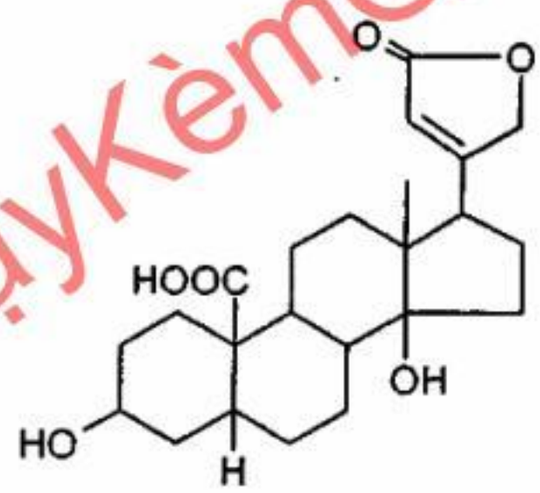
Digitoxigenin



Cannogenol



Cannogenin



Acid cannogenic

Thevetin là tên gọi của hỗn hợp 2 chất là thevetin A và thevetin B, trong đó thành phần chính là thevetin B. Chúng có độ chảy gần giống nhau (190 - 195°C) và đồng kết tinh. Khi chiết xuất để làm thuốc người ta không tách ra 2 chất riêng. Dưới tác dụng của enzym có trong cây (thevetinase) thì các triosid này bị cắt hai phân tử glucose cuối mạch (gentibiose) để cho các monosid neriifolin và peruvosid.

Hạt còn chứa 1 flavonoid là 5-methylether apigenin và một iridoid glycosid là thevesid.

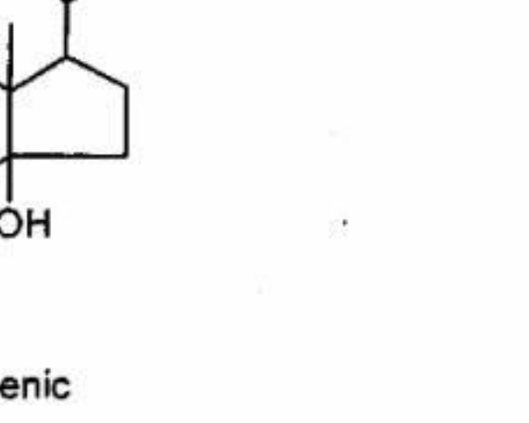
Vỏ quả không có glycosid tim mà chỉ có aucubosid, epiperuviol acetat và hesperitin 7-glucosid.

Lá cũng có glycosid tim nhưng tỉ lệ thấp, ngoài ra còn có các iridoid và các flavonoid..

Hoa có α - và β -amyrin, β -sitosterol, kaempferol và quercetin.

Vỏ thân cũng chứa một iridoid glycosid khác là theviridosid.

Aucubosid



Thevesid R = H
Theveridosid R = CH_3

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Chiết xuất

Hạt được loại chất béo bằng ether dầu hoả rồi chiết bằng methanol nóng. Bốc hơi dung môi, cắn còn lại được hoà tan bằng butanol. Lắc dung dịch butanol với nước, thevetin (thevetin A và B) là những thành phần phân cực nhiều hơn sẽ tan trong nước. Bốc hơi nước, thevetin sẽ kết tinh nhưng còn lẫn tạp, cần tinh chế lại, hiệu suất khoảng 1%.

Tác dụng và công dụng

Thevetin có tác dụng cường tim như các glycosid digitalic khác.

Vì dễ tan trong nước nên tác dụng nhanh và cũng bị bài tiết nhanh. Có tác dụng kích thích cơ trơn của bàng quang và ruột, có tác dụng thông tiểu, liều cao gây đi lỏng. Độ độc của thevetin kém hơn ouabain và digitalin.

Dùng dung dịch cồn thevetin 1/1000, 1 ml có 1 mg thevetin tương đương XXX giọt cồn. Ngày uống 1 mg chia làm 3 lần. Có loại dung dịch 1p1000 trong nước tiêm tĩnh mạch. Quá liều có thể gây nôn, đi tiêu lỏng, yếu và lả dần. Thuốc độc, dùng cẩn thận.

Ven bờ biển miền Trung và miền Nam nước ta có cây Mướp xác - *Cerbera odollam* Gaertn. họ Trúc đào - Apocynaceae, hạt của cây cũng có một số glycosid tim: cerberosid (= thevetin B), acetyl thevetin B, monoacetyl neriifolin (= cerberin), neriifolin, diacetylneriifolin, tanghinin và desacetyl tanghinin. Glycosid tim của cây này chưa được khai thác.

STROPHANTHUS

Trên thế giới, *Strophanthus* họ Trúc đào - Apocynaceae có khoảng 40 loài. Người ta biết nhiều về 3 loài ở châu Phi:

- S. kombe Oliver.
- S. gratus (Wall. et Hook.) Baillon.
- S. hispidus DC.

Đặc điểm thực vật chi Strophanthus

Cây nhỏ có nhiều cành hoặc dây leo to, lá thường mọc đối có khi mọc vòng. Cụm hoa xim ở ngọn cành. Tràng hoa hình phễu, phía trên xẻ thành 5 thùy. Đặc biệt đỉnh của mỗi thùy kéo dài thành dải hẹp và xoắn, do đó có tên *Strophanthus*.[1]

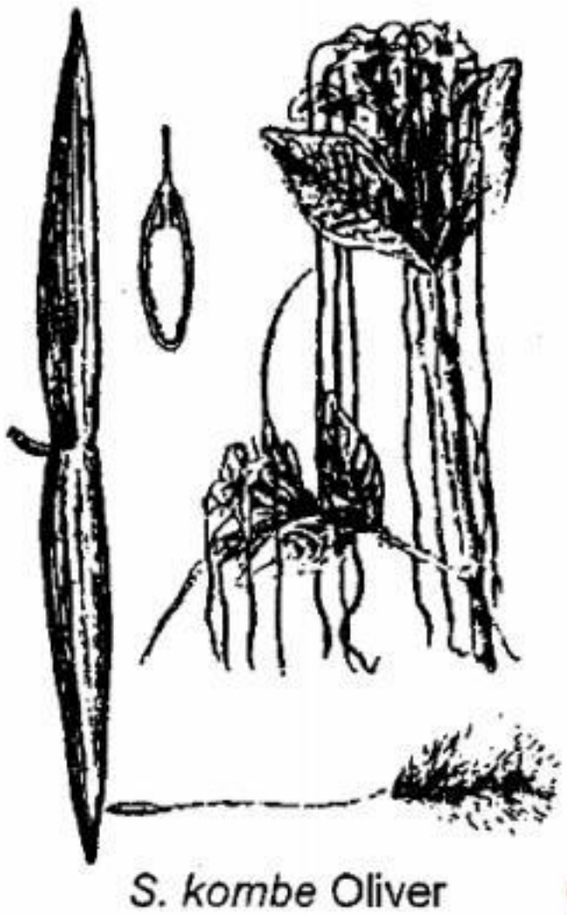
Một vài loài, ví dụ như *S. gratus* tràng hoa không có dải nói trên, nên có tác giả xếp thành chi phụ là *Roupellia*, do đó *S. gratus* còn có tên là *Roupellia grata* Wall. et Hook. Hoa có màu khác nhau: hồng, vàng, nâu đỏ. Quả khô gồm

[1] Tiếng Hy Lạp *strophos* = băng xoắn, *anthos* = hoa.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

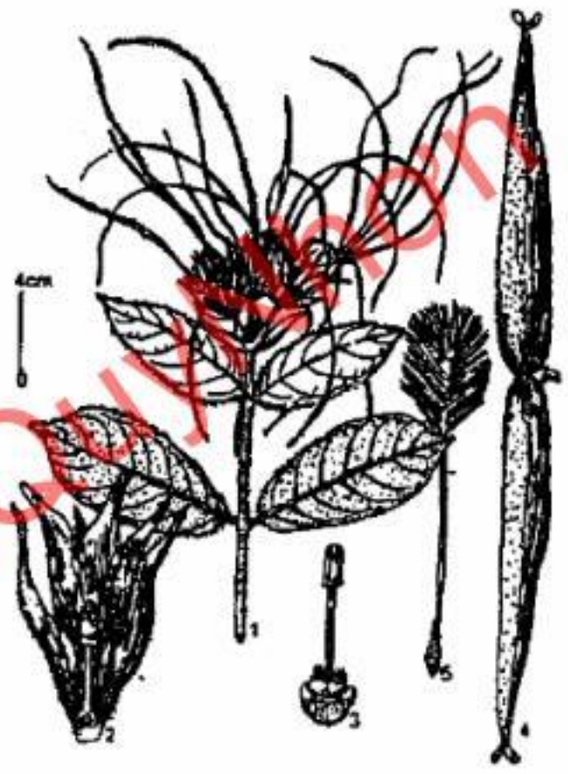
2 đại, đầu thon nhỏ lại, nằm ngang trên cành trông giống một đôi sừng. Kích thước tùy theo loài. Loài *S. kombe*, cả 2 đại có thể dài gần đến 1m. Khi chín quả nứt dọc, bên trong có nhiều hạt nằm ép sát nhau.

Hạt dẹt, hình thoi, kích thước cũng tùy theo loài; dài 12 - 20 mm, rộng 3-5 mm, dày 1 - 2 mm. Hạt khi còn nguyên vẹn thì có cán mang mào lông. Tỉ lệ giữa chiều dài của phần mang lông và phần không mang lông khác nhau tùy theo loài. Phần cán mang lông này khi chế biến được bỏ đi. Hạt có vị đắng và độc.



S. kombe Oliver

S. gratus Baillon.



S. hispidus DC.

Bộ phận dùng

Hạt. Sau đây là đặc điểm hạt của 3 loài trên.

Hạt *S. gratus*: dài 13 - 15 mm, rộng 3 - 5 mm, dày 1 - 1,5 mm, màu hung, mặt hạt không lông, không bóng. Cán mang lông có lông dài hơn phần không mang lông, lông màu vàng nhạt.

Hạt *S. kombe*: dài 12 - 20 mm, rộng 3 - 5 mm, dày 1 - 2 mm. Mặt hạt có lông màu vàng xám, cán mang lông có phần không mang lông dài gấp 2 lần phần mang lông.

Hạt *S. hispidus*: nhỏ, dẹt hơn, dài 10 – 15 mm, rộng 3 mm, dày 1 - 1,5 mm, mặt hạt có lông mịn màu vàng nâu óng. Cán mang lông có phần không mang lông ngắn hơn phần mang lông, lông màu hơi xám.

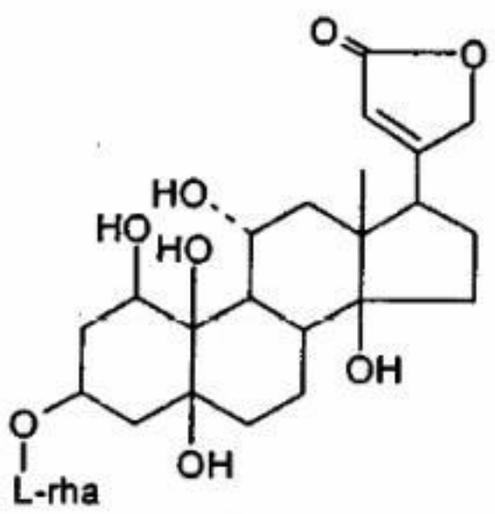
Thành phần hoá học

Hạt *Strophanthus* có khoảng 30% dầu béo. Thành phần chủ yếu là các acyl glycerol của acid béo chưa no và có một acid có nhóm hydroxyl đồng phân của acid ricinoleic. Thành phần có tác dụng là các glycosid tim thuộc nhóm cardenolid. Các glycosid này tùy theo nguồn gốc thực vật mà được gọi là G, K, và H strophanthin. Hàm lượng khá cao thường từ 3 - 8%.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Hạt *Strophanthus gratus* chứa một glycosid quan trọng là ouabain hay còn gọi là G. strophanthin với hàm lượng từ 3 - 7%. Chất này được Hardy và Gallois (Pháp) phân lập dưới dạng tinh thể vào năm 1877, về sau được xác định là đồng nhất với chất ouabain mà Arnaud phân lập từ rễ cây *Acocanthera ouabaio* (Franchet et Poisson) Cathelineau. Ouabain kết tinh không màu, vị đắng, ra ánh sáng dễ hỏng, tan ít trong nước lạnh, tan nhiều hơn trong nước nóng và trong cồn, hầu như không tan trong ether và chloroform. $[\alpha]_D^{20}$ = – 30° đến – 32° (trong cồn ethylic 80%). Phần aglycon (ouabagenin) nếu kể cả nhóm alcol bậc một ở C-19 thì có 6 nhóm chức alcol, nhóm OH ở C-11 hướng α. Phần đường là L-rhamnose (không phải đường 2-desoxy).



Ouabain

Muốn chiết ouabain trước tiên hạt cần phải được loại chất béo thật kỹ bằng hexan hoặc ether dầu hoả rồi sau đó chiết bằng cồn 70%. Dung dịch cồn chiết đem cất dưới áp suất giảm, sau đó lại hoà tan cao chiết bằng nước nóng, để nguội ouabain kết tinh. Tinh chế lại một vài lần nữa trong nước.

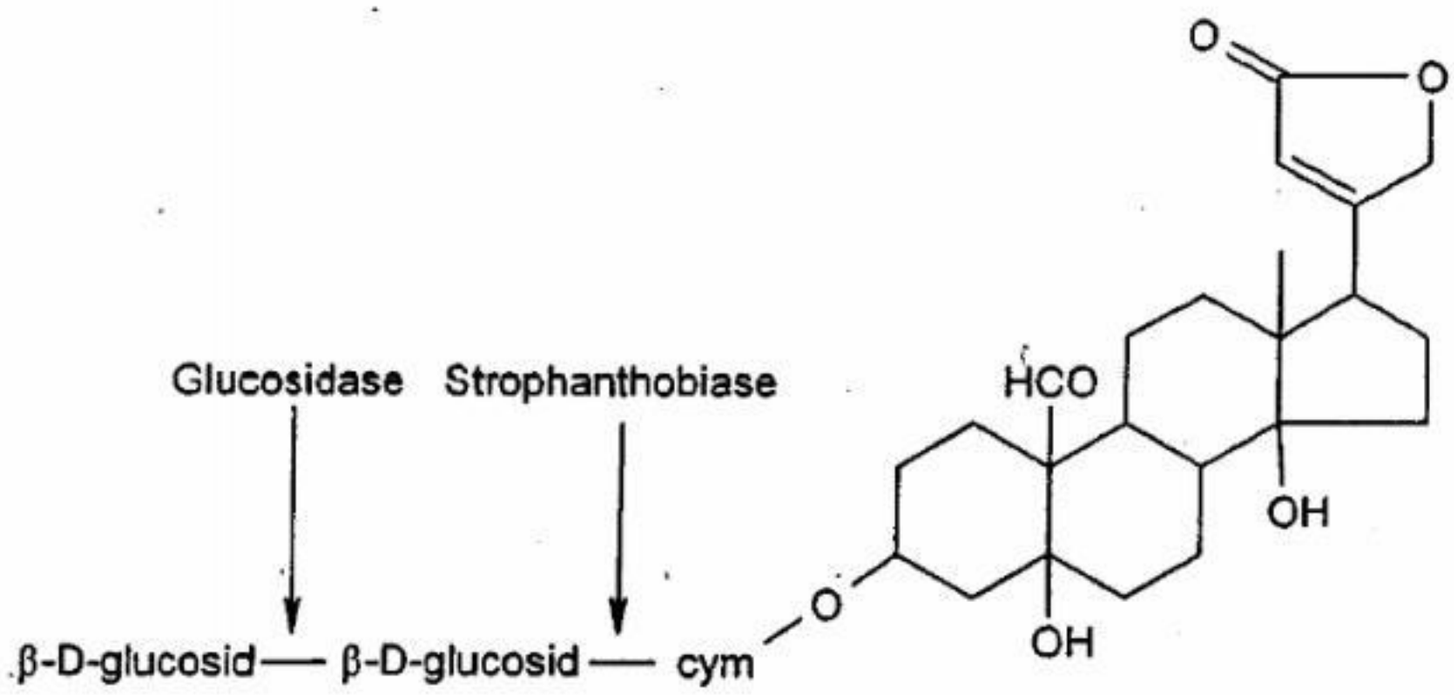
Ngoài ouabain ra, Reichstein và cộng sự (1965 - 1967) còn phát hiện bằng sắc ký thấy có gần 30 chất cardenolid khác nhau nhưng hàm lượng rất thấp, trong đó đáng chú ý là strogosid 0,4%, gratosid và acolongiflorosid.

Hạt *Strophanthus kombe* có hàm lượng các chất cardenolid khá cao, từ 5 - 8 %. Năm 1873 Fraser đã phân lập được glycosid vô định hình và về sau đã thu được dạng kết tinh nhưng đây là một hỗn hợp mà thành phần chính là K. strophanthosid γ. Chất này dưới tác dụng của enzym glucosidase và strophanthobiase thì bị cắt bớt phần đường để cho K. strophanthosid β và cymarin (= cymarosid = K. strophanthosid α). Hai chất sau cũng có trong hạt. Phần aglycon của các chất trên là strophanthidịn (= K. strophanthigenin = cymarigenin). Aglycon có 3 OH ở vị trí 3, 5, 14 và ở C-19 là nhóm CHO. Ngoài 3 glycosid trên ra, còn có trên 10 glycosid khác, những glycosid này có phần aglycon là strophanthidol, periplogenin. K strophanthin (hỗn hợp gồm K. strophanthosid γ, β, α.) là bột trắng vô định hình hay vi tinh thể, tan trong nước nóng và trong cồn, không tan trong ether, chloroform. Dung dịch trong nước có năng suất quay cực phải (khác với ouabain), và kết tủa khi thêm dung dịch tanin.

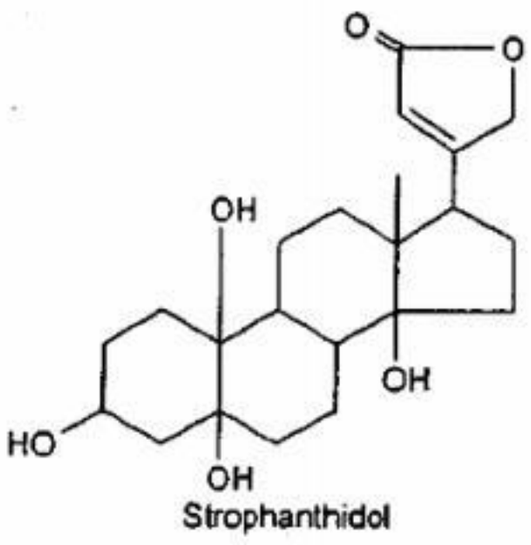
Từ hạt *Strophanthus hispidus* đã phân lập được 9 glycosid trong đó 4 chất đáng chú ý là periplocymarin (= periplogenin + *D*-cymarose), cymarin, cymarol (= strophanthidol + *D*-cymarose), cymarilic acid (= strophanthidinic acid + *D*-cymarose).

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

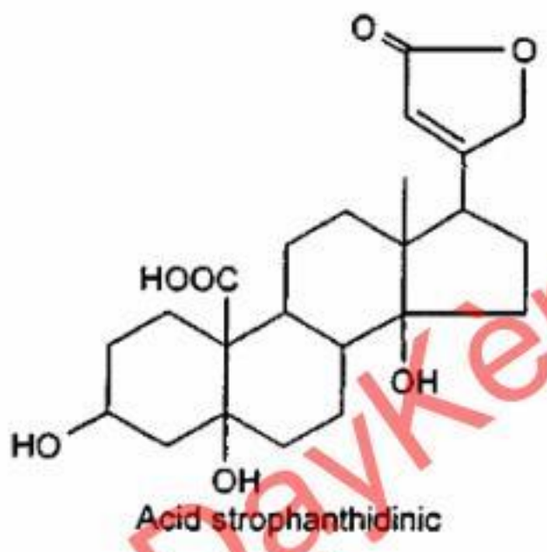
Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim



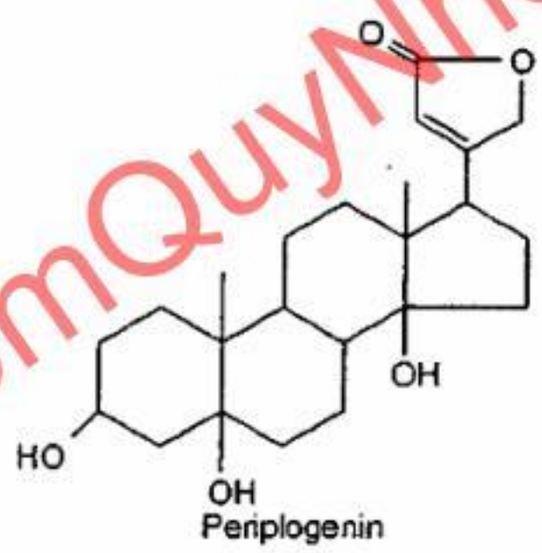
Tác dụng của enzym lên K Strophanthosid-γ



Strophanthidol



Acid strophanthidinic



Periplogenin

Định tính

Các phản ứng hoá học

Các glycosid tim của hạt *Strophanthus* đều dương tính với các phản ứng có tác dụng lên vòng butenolic như Baljet, Keller, Raymond-Marthoud. Thuốc thử lên phần đường 2-desoxy (thuốc thử Keller-Kiliani, xanthydrol) thì âm tính với *S. gratus* vì hoạt chất chính là ouabain có phần đường là arabinose, nhưng dương tính với 2 loài kia.

Ouabain có thể phân biệt với K. strophanthin bằng cách hoà tan 0,002 g glycosid vào 2 ml H_2SO_4 đậm đặc sẽ hiện màu hồng, một lúc sau màu hồng chuyển sang đỏ thắm và dung dịch huỳnh quang xanh lá, còn K. strophanthin thì có màu xanh lá. Phản ứng có thể thực hiện với dịch chiết cồn của hạt đã bốc hơi đến khô.

Sắc ký

Có thể tiến hành sắc ký lớp mỏng, hiện màu bằng acid phosphoric 85%, ouabain có vết huỳnh quang vàng cam, K. strophanthin có huỳnh quang vàng, nếu dùng dung dịch $SbCl_3$ trong chloroform phun lên sắc ký rồi sấy 100°C ouabain có màu nâu đỏ, K. strophanthin có màu xanh đậm. Có thể hiện màu bằng thuốc thử Baljet hoặc Kedde thì ngoài các vết glycosid chính nói trên còn có các vết của các glycosid khác.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Định lượng

Phương pháp so màu: dùng thuốc thử Baljet hoặc Kedde và đối chiếu với chất chuẩn ouabain hoặc K. strophanthosid γ. Muốn có kết quả chính xác thì tách bằng sắc ký lớp mỏng, chiết ra rồi tiến hành định lượng so màu với các thuốc thử nói trên hoặc với quang phổ ở bước sóng xác định, đối chiếu với chất chuẩn ouabain hoặc K. strophanthosid γ.

Phương pháp cân: đối với hạt *S. gratus*, chiết bằng cồn tuyệt đối, kết tủa bằng ether dầu hoả, tủa được hoà tan lại trong nước nóng, loại tạp bằng muối chì rồi làm đậm đặc. Tinh chế ouabain, đem lọc, cân. Hàm lượng khoảng 4%.

Tác dụng

Hạt *Strophanthus hispidus* đã được các thổ dân Tây Phi dùng phối hợp với mủ cóc để tẩm tên thuốc độc gọi là "Inée" (hoặc "Onaye"). Các thổ dân Đông Phi chế tên thuốc độc từ hạt *S. kombe*. Năm 1865, giáo sư Pelican ở Peterburg đã nghiên cứu tác dụng của những tên độc và sau đó các hạt *Strophanthus* được đưa vào y học.

Các chế phẩm từ hạt *Strophanthus* nói trên đều là thuốc tác dụng lên tim theo qui tắc 3R. So với digitalin thì ouabain có tác dụng nhanh, thải trừ nhanh, không tích luỹ, mức độ làm giảm nhịp không bằng digitalin nhưng làm tăng biên độ. Nếu bằng đường uống, ouabain hấp thu ở ruột kém hơn digitalin. Thí nghiệm trên súc vật, ouabain 10 lần độc hơn digitalin. Khi vào cơ thể, ouabain tích luỹ chủ yếu ở thận và gan, trên cơ tim ít, thải trừ một phần qua đường tiểu tiện chủ yếu qua gan và thải vào phân.

K. strophanthin[1] có tác dụng như ouabain nhưng kém độc hơn khoảng 2 lần. K. strophanthosid γ độc hơn K. strophanthosid β và cymarin.

Công dụng

Hạt *Strophanthus gratus* dùng để chiết ouabain làm thuốc hổ trợ tim cấp tốc vì có tác dụng nhanh, dùng trong các trường hợp suy tim cấp tính, phù phổi cấp, mạch nhanh từng cơn, thiểu năng tâm thất trái, đau thắt tim.

Hạt *S. kombe* dùng để chiết xuất K. strophanthin và dùng như ouabain.

Hạt *S. hispidus* ít được khai thác để sử dụng.

Dạng dùng:

Ouabain: viên 1/10 mg hoặc thuốc tiêm bắp thịt hay mạch máu dung dịch 0,025%. Liều tối đa: Uống (ít dùng), 0,005g /lần, 0,020g/24 giờ. Tiêm tĩnh mạch 0,0005g/lần, 0,001g/24 giờ.

K. strophanthin: thuốc tiêm tĩnh mạch 0,05%. Liều tối đa: 1 lần 0,0005 g, 24 giờ 0,001 g.

---

[1] K. Strophanthin (hay Strophanthin) dùng trong ngành dược là hỗn hợp của K. strophanthosid γ, K. strophanthosid β và cymarin.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Dạng cồn *Strophanthus* (ít dùng): hạt đã loại chất béo bằng ether dầu hoả, tán thành bột lấy 100g, thêm cồn 70% đủ 1 lít. Đánh giá bằng phương pháp sinh vật rồi điều chỉnh sao cho 1 ml cồn có 180 - 220 Đ.V.Ê hoặc 24 - 28 Đ.V.M. Liều tối đa 1 lần 0,2 ml (X giọt). Liều tối đa một ngày 0,4 ml (XX giọt), dung dịch phải kiểm tra lại hàng năm.

STROPHANTHUS Ở VIỆT NAM

Ở nước ta có 2 loài *Strophanthus* chính có thể dùng làm thuốc là:

Sừng dê hoa vàng – *S. divaricatus* (Lour.) Hook. et Arn. (= *S. divergens* Graham).

Sừng dê hoa đỏ (= sừng trâu) - *S. caudatus* (Burm. f.) Kurz. var. *giganteus* Pit.

Trong 2 loài trên thì loài sừng dê hoa vàng đã được khai thác và sử dụng. Dưới đây trình bày chủ yếu loài này.

Đặc điểm về thực vật và phân bố

Sừng dê hoa vàng. Cây nhỏ cao khoảng 3 m, có nhựa mủ trắng, cành và thân cây màu nâu đen, có nhiều lỗ bì trắng nổi lên. Lá mọc đối, hình trứng dài 5-9 cm, rộng 2,5-5 cm, gân lá gồm 6-8 đôi. Cuống lá dài 3-8 mm, mặt trên có lòng máng. Cụm hoa hình xim ở đầu cành. Đài hoa màu xanh. Tràng hoa màu vàng hình phễu, bên trên chia làm 5 thùy có phần phụ rất dài (đến 10 cm). Bầu hạ, 2 ô. Quả gồm 2 đại, mỗi đại dài 10 - 15 cm rộng 3 cm, đỉnh thót nhỏ lại. Hạt có cán mang lông dài và mịn. Cây này khá phổ biến, gặp ở các vùng đồi trung du miền bắc nước ta. Theo tài liệu, có mọc ở nam Trung Quốc. Trong nước đã khai thác để sử dụng.

Sừng dê hoa vàng
Strophanthus divaricatus (Lour.) Hook. et Arn.

Sừng dê hoa đỏ
S. caudatus (Burm. f.) Kurz var. giganteus Pit.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sừng dê hoa đỏ. Khác cây trên ở chỗ cây cao to hơn, có thể đến 6m. Cành vươn dài, lá dài 8 - 16 cm. Tràng hoa màu đỏ, phần phụ ngắn. Quả dài, mỗi đại có thể trên 20 cm, đầu tù. Cây này đã được phát hiện nhưng chưa được nghiên cứu sử dụng.

Thành phần hoá học

Trong hạt sừng dê hoa vàng có 37% chất béo. Thành phần chính có tác dụng là các glycosid tim, hàm lượng 9 - 16%. Sau đây là những cardenolid đã được biết: divaricosid chiếm 1%, divostrosid 0,4%, φ-caudosid 0,22%, φ-caudostrosid 0,02%, sinosid 0,5%, sinostrosid 0,08%, sarmutosid 0,02%.

Divaricosid = Sarmentogenin + L-oleandrose

Divostrosid = Sarmentogenin + L-diginose

Sinosid =Sinogenin + L-oleandrose

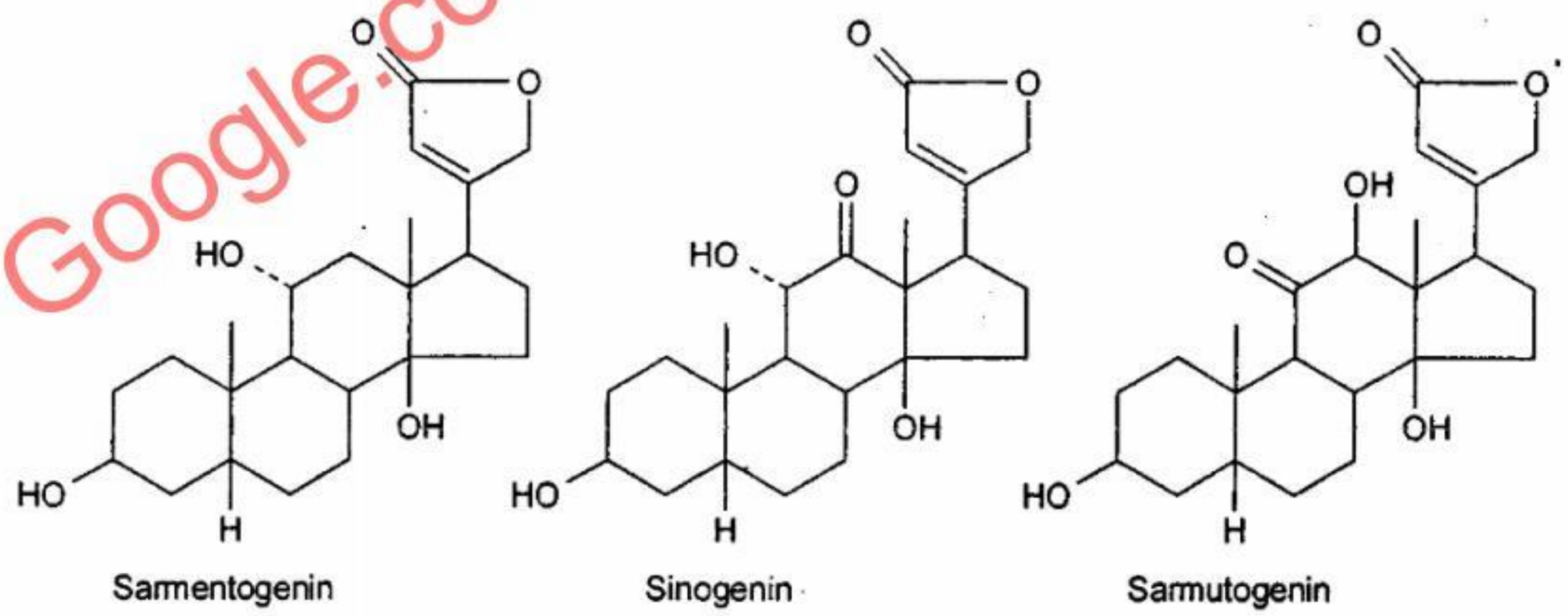
Sinostrosid = Sinogenin + L-diginose

φ-caudosid = Sarmutogenin + L-oleandrose

φ-caudostrosid = Sarmutogenin + L-diginose

Sarmutosid = Sarmutogenin + D- sarmentose

Năm 1980, Hou và cs. phân lập thêm được hai chất là glucosyl divaricosid và gentibiosyl divaricosid.



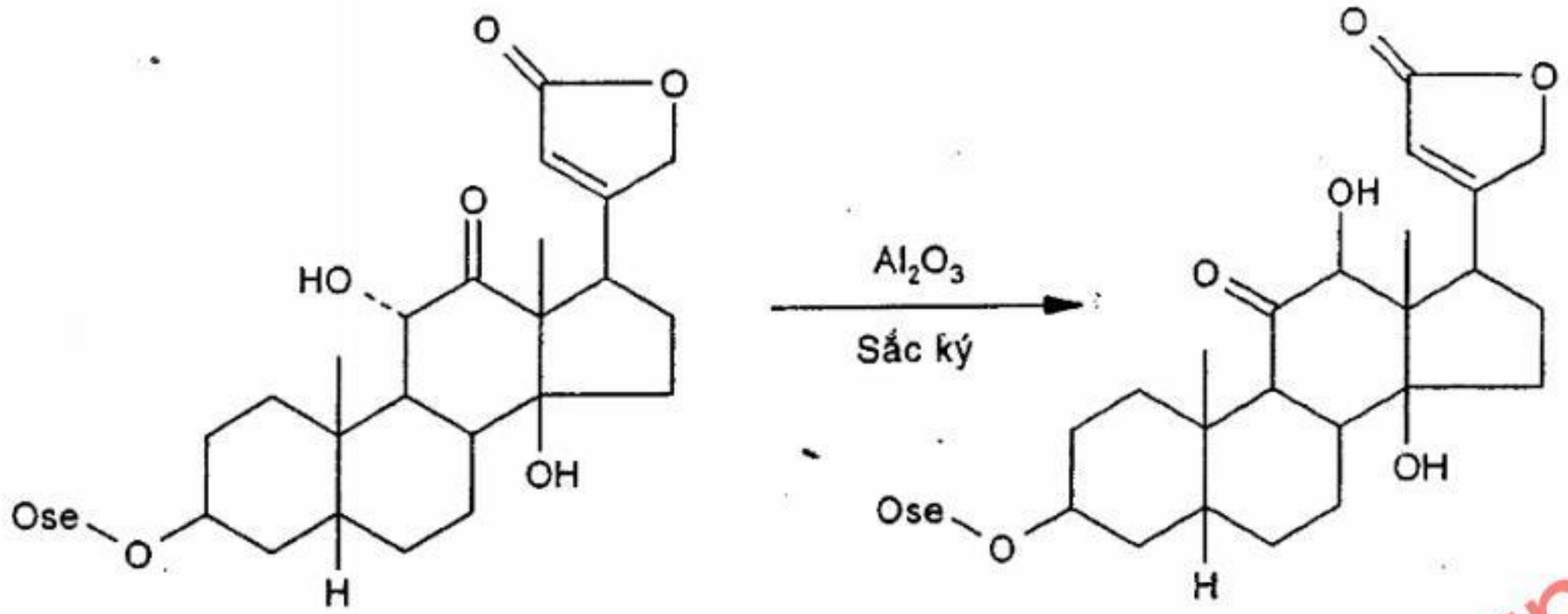
Sarmentogenin Sinogenin Sarmutogenin

Cần chú ý rằng trong quá trình phân lập các glycosid, nếu dùng sắc ký cột với chất hấp phụ oxyd nhôm thì sinosid có thể chuyển thành caudosid và sinostrosid thành caudostrosid.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim



Ose: L- Oleandrose = Sinosid
L- Diginose = Sinotrosid

Ose: L- Oleandrose = Caudosid
L- Diginose = Caudotrosid

Năm 1963, phòng hoá thực vật Viện Dược liệu thuộc Bộ Y tế đã chiết từ hạt sừng dê hoa vàng mọc ở Việt Nam một bột kết tinh trắng gồm 3 chất, trong đó chủ yếu là divaricosid, hỗn hợp này được đặt tên "D. strophanthin"".

Từ lá, thân và rễ *Strophanthus divaricatus* cũng đã phân lập được 12 cardenolid [Chen B. et al. Phytochem (1987) 26(8) 2351-55]

Tác dụng và công dụng

Sau khi nghiên cứu tác dụng dược lý của hỗn hợp glycosid tim chiết từ *S. divaricatus* ở Trung Quốc, các tác giả Trung Quốc đã kết luận rằng hỗn hợp glycosid chiết được có hiệu quả điều trị suy tim tương tự K. strophanthin và hoạt lực xấp xỉ bằng 2/3 K. strophanthin. Trên cơ sở đó, hỗn hợp glycosid tim từ hạt sừng dê này đã được chính thức đưa vào Dược điển Trung Quốc năm 1963 với tên "Divasid".

Năm 1967, Viện Dược liệu (Việt Nam) đã nghiên cứu tác dụng dược lý của D. strophanthin và kết luận rằng tác dụng của D. strophanthin cơ bản giống G. strophanthin và có hoạt lực sinh vật xấp xỉ bằng 2/3 G. strophanthin. Thuốc đã được áp dụng trên lâm sàng.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

DIGITALIS

Folium Digitalis

Digitalis (= Dương địa hoàng[1]) có khoảng 28 loài và có khoảng 100 dẫn chất cardenolid trong thành phần của hạt và lá. Có 2 loài quan trọng được dùng phổ biến: Digitalis tía - *Digitalis purpurea* L. và Digitalis lông *Digitalis lanata* Ehrh., họ Hoa Mõm sói - Scrophulariacae.

---

[1] Gọi là Dương địa hoàng vì cây hao hao giống cây Địa hoàng (Sinh địa) lại nguồn gốc ở phương tây (dương).

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

DIGITALIS TÍA

Folium Digitalis purpureae

Đặc điểm thực vật

Cây thảo sống 2 năm hoặc lâu hơn. Năm đầu chỉ có một cụm lá mọc ở gốc, năm thứ hai từ giữa cụm lá đó mọc lên một thân cao 50 cm đến 1,5m, phía ngọn mang hoa mọc thành chùm. Thân mang lá mọc so le. Lá hình trái xoan; ở phía gốc có cuống do gân chính kéo dài và phiến lá thu hẹp lại tạo thành cánh. Lá to có thể dài đến 30 cm rộng đến 10 cm. Mặt trên lá màu xanh xẫm, mặt dưới màu xanh xám và có rất nhiều lông, đặc biệt các gân chính và phụ ở mặt dưới nổi lên rất rõ. Mép lá hơi có khía răng tròn và không đều. Chùm hoa mọc ở một phía của trục và hoa chúc xuống, nở lần lượt từ dưới lên trên. Đài hợp có 5 răng. Tràng hợp, 4-5 cm, dài gấp 4 lần đài, hơi giống hình ngón tay của tất tay nên được đặt tên là *Digitalis* (*Digitatus* = hình ngón tay), đầu miệng hơi loe ra thành 4 thùy và tạo thành 2 môi không rõ nét.

Digitalis purpurea L.

Mặt ngoài tràng hoa màu đỏ tía nên có tên *purpurea* (*purpuratus* = màu tía), mặt trong nhạt hơn, họng tràng có lông và có những điểm đỏ xẫm xung quanh có viền trắng. Bộ nhị hai trội, gồm 4 nhị hai chiếc to hai chiếc nhỏ. Hai lá noãn hợp thành bầu thượng 2 ô. Quả nang, hạt nhỏ, nhiều, màu nâu nhạt.

Phân bố trồng trọt

Cây mọc hoang và được trồng ở khắp các nước Châu Âu và Bắc Mỹ. ở nước ta cũng đã di thực được từ năm 1960 nhưng không nhân rộng. Cây thích nghi ở vùng khí hậu mát như Sapa. Trồng bằng cách gieo hạt. Vì hạt nhỏ nên muốn gieo đều cần trộn lẫn với cát. Gieo vào mùa thu hoặc mùa xuân. Khi cây mọc thì bứng cây con trồng cách nhau 40 cm. Cây thích đất tơi xốp có silicat, thoát nước. Bón phân nitrat sẽ cho nhiều lá nhưng lượng glycosid tim thấp. Cây ưa nhiều nắng.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Thu hái chế biến bảo quản

Thu hoạch lá có thể tiến hành vào cuối năm thứ nhất (tháng 8 - 11), loại lá này cho hàm lượng glycosid cao. Vào năm thứ hai, hái trước khi ra hoa (tháng 5-7), khi trời khô ráo.

Việc ổn định dược liệu đối với lá Digitalis hiện nay người ta thấy không cần thiết vì tốn kém, khó thực hiện ở qui mô lớn, làm giảm hàm lượng glycosid toàn phần, hơn nữa glycosid được chiết xuất để sử dụng là digitoxin là glycosid thứ cấp. Do đó sau khi thu hái chỉ cần làm khô ngay ở nhiệt độ 80°C. Độ ẩm qui định là 5 - 8%. Sau khi sấy khô để nơi ráo, tránh ánh sáng. Khi đã chế biến thành dạng bột cần sấy khô để có độ ẩm thấp hơn (3%), phải để trong lọ nút kín hoặc cho vào ống hàn kín, thay hàng năm. Trong điều kiện ẩm, vi khuẩn làm giảm tác dụng glycosid (oxy hoá, deshydroxyl hoá, mở vòng lacton).

Đặc điểm của dược liệu

Lá nhăn nheo, giòn. Lá nguyên vẹn dài 10 - 30 cm, rộng 4 - 10 cm. Mùi thơm nhẹ, vị đắng (xem thêm mục đặc điểm thực vật).

Vi phẫu: gân chính lồi ở mặt dưới, lõm ở mặt trên, ở giữa có một cung libe gỗ bao bởi một cung trụ bì. Biểu bì có hai loại lông: lông che chở dài, đa bào (2 - 5) thành mỏng, thỉnh thoảng có tế bào thắt nhỏ lại, mặt lông có nhiều chấm nhỏ, tế bào trên cùng có đỉnh tầy. Lông tiết ít, có hai loại: chân đơn bào, đầu đa bào hoặc chân đa bào đầu đơn bào (ít). Phần phiến lá có một tầng mô giậu ở trên, mô khuyết ở dưới.

Bột: màu lục sậm, vị đắng, đặc điểm chính là các lông che chở như đã mô tả ở trên. Các mảnh biểu bì với tế bào có thành ngoằn ngoèo. Lỗ khí có 3-5 tế bào phụ, các mảnh mạch xoắn, các mảnh mô mềm chứa diệp lục.

Thành phần hoá học

Glycosid tim:

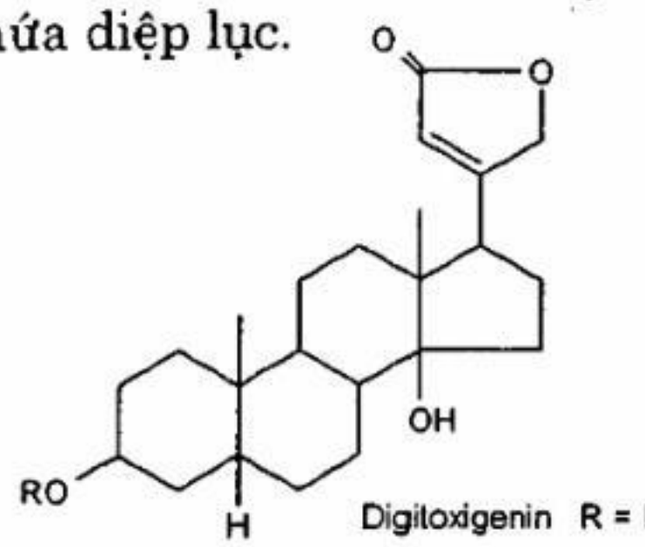
Các glycosid có aglycon là digitoxigenin:

Purpurea glycosid A R = glucose+$(digitoxose)_3$

Digitoxin (digitoxosid, digitalin kết tinh, digitalin nativelle) R = $(digitoxose)_3$

Odorosid H R = digitalose

Digiprosid R = fucose



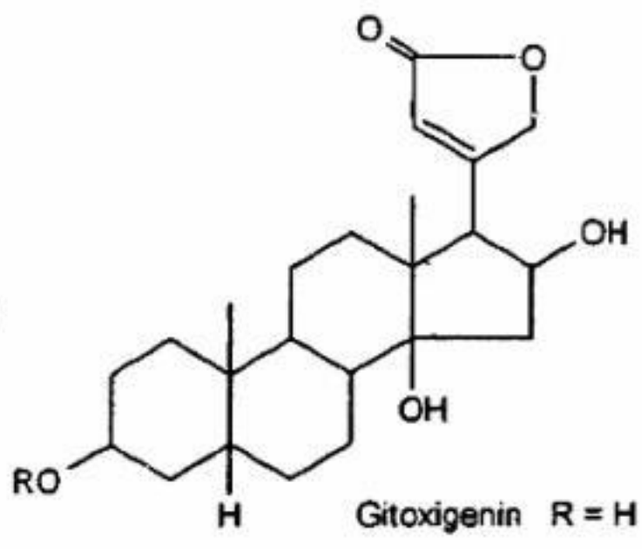
Digiloxigenin R = H

Các glycosid có aglycon là gitoxigenin:

Purpurea glycosid B R = glucose + $(digitoxose)_3$

Gitoxin (= Gitoxosid) R = $(digitoxose)_3$

Digitalinum verum R = glucose + digitalose



Gitoxigenin R = H

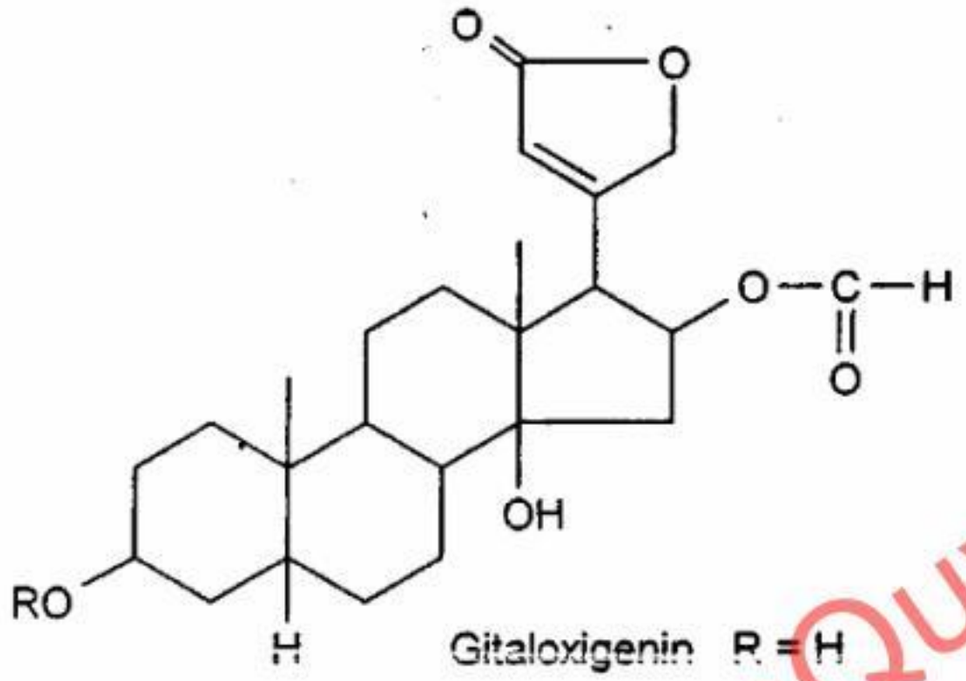
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Strospesid R = digitalose

Gitorosid R = glucose

Các glycosid có aglycon là gitaloxigenin (=16-formyl gitoxigenin):



Gitaloxigenin R = H

Glucogitaloxin (= glucogitaloxosid) R = glucose + $(digitoxose)_3$

Gitaloxin (=gitaloxosid) R = $(digitoxose)_3$

Glucoverodoxin (=glucoverodoxosid) R = glucose + digitalose

Verodoxin (=Verodoxosid) R = digitalose

Purpurea glycosid A và B và glucogitaloxin là những glycosid sơ cấp tồn tại trong cây tươi hoặc dược liệu đã ổn định.

Dưới tác dụng của enzym digipurpidase có trong cây, các glycosid sơ cấp bị cắt glucose cuối mạch. Đối với Purpurea glycosid A thì cho digitoxin (còn gọi là digitoxosid hoặc digitalin kết tinh). Digitalin khó tan trong nước, hơi tan trong chloroform, tan trong cồn, kết tinh trong cồn loãng dưới dạng vi tinh thể trắng, vị rất đắng, $[\alpha]_D^{20}$ = +16,5 đến +18,5 (2% trong chloroform). Digitoxin có ý nghĩa thực tế và được ghi vào dược điển các nước. Đối với purpurea glycosid B, glucose bị cắt cho gitoxin. Đối với glucogitaloxin, glucose bị cắt cho gitaloxin. Gitaloxin kém bền và dễ bị mất nhóm formyl nên khó phân lập. Đặc biệt trong digitalis còn có một glycosid có 5 đơn vị đường: gitoxincellobiosid [=gitoxigenin + $(digitoxose)_3$ + (glucose)].

Trong hạt chứa chủ yếu digitalinum verum hàm lượng khoảng 0,2%.

Saponin

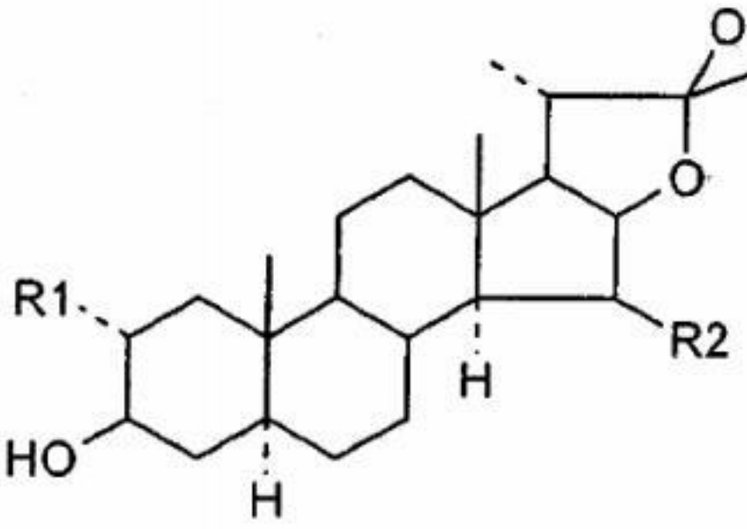
Saponin ở đây là những glycosid có nhân steroid (xem thêm ở chương saponosid). Những glycosid này có chủ yếu trong hạt và một lượng ít trong lá.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

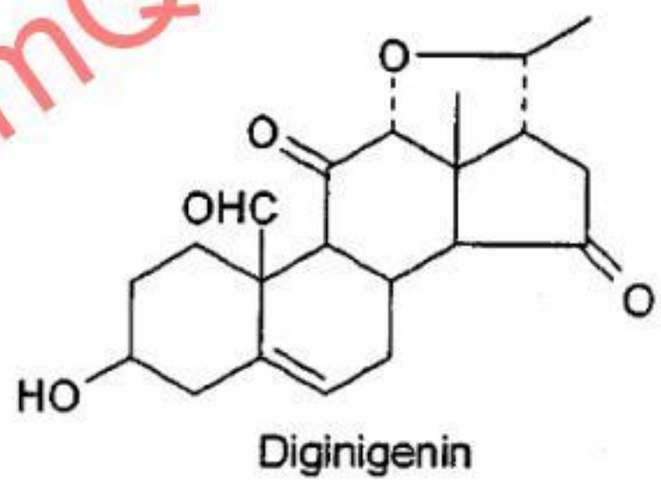
Sự có mặt của saponosid làm cho những cardenolid trong dược liệu dễ hoà tan và dễ hấp thu. Saponosid quan trọng nhất là digitonin (=digitonosid) được Schmiedeberg phân lập 1875. Hai saponosid khác là: tigonin (= tigonosid) và gitonin (= gitonosīd). Các aglycon của 3 saponin này là: Digitogenin, gitogenn và tigogenin.



Sapogenin	R1	R2
Digitogenin	OH	OH
Gitogenin	OH	H
Tigogenin	H	H

Mạch đường nối vào các sapogenin ở OH C-3. Digitonin và tigonin có mạch đường giống nhau gồm 2 đơn vị glucose, 2 galactose và 1 xylose. Gitonin kém một đơn vị glucose.

Digitonin cho kết tủa gần như hoàn toàn với cholesterol nên được ứng dụng để định lượng cholesterol trong sinh hoá và các sterol khác trong thực vật.



Diginigenin

Digitanolglycosid

Đây cũng là những glycosid steroid nhưng phần aglycon chỉ có 21 carbon. Các glycosid này không có tác dụng sinh học quan trọng, chất chính là diginin, khi thủy phân cho diginigenin, phần đường là diginose nối vào OH ở C-3. Digifolein có aglycon là digifologenin có thêm β-OH ở C-2. Digitanol glycosid dương tính với các thuốc thử xanthydrol và Keller-Kiliani.

Ngoài các thành phần trên trong lá digitalis tía còn có: các dẫn chất anthraquinon (10 chất) chất chính là digitolutein (=1-methoxy-2-hydroxy-3-methyl anthra quinon), các dẫn chất flavonoid như digitoflavonoid (= 7-β-glucosid của 5,7,3',4'-tetrahydroxyflavon) và digicitrin (= 5,3'-dihydroxy-3,6,7,8,4',5'-hexametoxy flavon), cholin (1p1000 trong lá khô), các acid hữu cơ như acid cafeic (= dihydroxy-3,4-cinnamic), acid succinic.

Google.com/+DayKemQuyNhon

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Định tính

Để định tính lá Digitalis, chúng ta dựa vào các phản ứng đặc hiệu của phần đường 2,6-desoxy và phần aglycon của các cardenolid đã trình bày trong phần đại cương.

Trước khi làm các phản ứng định tính, ta tiến hành chiết hoạt chất như sau: đun 5g bột lá Digitalis với 50 ml cồn 70% trong 3 phút, lọc, thêm 50 ml nước và 2,5 ml dung dịch chì acetat 30%. Lắc dịch lọc với 25 ml $CHCl_3$, để yên rồi lấy lớp $CHCl_3$ ra chén sứ nhỏ, bốc hơi nhẹ. Từ cắn sau khi đã bốc hơi, chia ra để làm các phản ứng.

Ngoài các phản ứng lên phần đường 2-desoxy (Keller-Kiliani, xanthydrol), các phản ứng lên vòng butenolic, trong lá Digitalis còn có những cardenolid có nhóm OH ở C-16 nên cho phản ứng dương tính với thuốc thử Pesez-Jensen và Tattje.

Trên sắc ký giấy hoặc lớp mỏng nếu phun bằng dung dịch trichloracetic 25% trong cồn 95% (hoặc chloroform) thì những cardenolid có OH ở C-16 có huỳnh quang xanh rõ. Sắc ký lớp mỏng với chất hấp phụ silicagel G nên dùng hệ dung môi EtOAc-MeOH-H_2O (10:2:5) để khai triển.

Định lượng

Định lượng glycosid tim toàn phần

Chiết glycosid tim, loại tạp, cho tác dụng với thuốc thử Baljet, Kedde, so màu rồi qui kết quả ra digitoxin.

Định lượng các glycosid của digitoxigenin

Dịch chiết được thủy phân bằng cách đun sôi với HCl 0,2N, chiết các genin bằng ether hoặc bằng chloroform. Định lượng genin toàn phần bằng thuốc thử Kedde, biểu thị thành digitoxin. Tiến hành một mẫu khác bằng phản ứng với thuốc thử Tattje và biểu thị thành gitoxin. Sự chênh lệch giữa 2 mẫu đó sẽ đánh giá được những glycosid có phần genin là digitoxigenin là những glycosid có tác dụng sinh lý mạnh hơn. Lá Digitalis tía phải chứa tối thiểu 0,3% cardenolid toàn phần trong đó ít nhất là 50% digitoxin.

Người ta còn tiến hành sắc ký giấy hoặc sắc ký lớp mỏng hoặc sắc ký cột để tách từng phần rồi mới tiến hành định lượng bằng so màu hoặc đo huỳnh quang hoặc có thể đo trực tiếp các vết trên sắc phổ bằng mật độ kế.

Dược điển Anh (2009) quy định định lượng glycosid tim trong digitalis tía bằng phương pháp đo quang với thuốc thử Raymond – Marthoud.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Nguyên tắc: bột dược liệu được chiết bằng nước. Dịch chiết được thêm dung dịch chì acetat, lắc đều rồi thêm Na_2HPO_4. Lọc lấy dịch lọc. Đun nóng dịch lọc với HCl trong 1 giờ và chiết bằng chloroform. Dịch chloroform được làm khan bằng natri sulfat và bay hơi đến cắn. Hoà cắn với ethanol và thêm thuốc thử dinitrobenzen và dung dịch NaOH 1M. Tiến hành đồng thời với dung dịch chuẩn cũng được thuỷ phân và cho phản ứng tương tự.

Đo màu dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở 540 nm và ghi nhận kết quả khi dung dịch đạt cường độ màu cực đại trong khoảng 12 phút đầu tiên, so với mẫu trắng chỉ có ethanol 50% và thuốc thử.

Hàm lượng glycosid tim trong digitalis tía được tính theo digitoxin. Dược liệu phải chứa không dưới 0,3% glycosid tim tính theo digitoxin.

Phương pháp sắc ký lỏng cao áp để định lượng các glycosid tim trong digitalis cũng được xây dựng. Ikeda Y. và cs. Đã sử dụng cột RP-18, hệ dung môi nước - methanol - acetonitril (18:15:10), tốc độ dòng 0,5 ml/phút, phát hiện ở bước sóng 220 nm (λ_{max} của vòng butenolid) với chuẩn nội là lanatosid A. để định lượng các glycosid tim trong lá Digitalis tía. [J. Nat. Prod. 1995, 58(6), 897-901]

Đánh giá bằng phương pháp sinh vật

Dược điển Việt Nam II qui định việc xác định hoạt lực của dược liệu theo phương pháp chỉ dẫn trong mục: "*Phương pháp sinh vật học đánh giá hiệu lực của những chế phẩm chứa glycosid trợ tim*"; mỗi gam lá digitalis không được chứa dưới 9 Đ.V.M. Dược điển Pháp qui định đánh giá trên chuột lang. Có thể đánh giá trên tim cô lập của thỏ, trên bồ câu (xác định liều tối thiểu gây nôn hay gây ngừng tim). Người ta còn đánh giá bằng theo dõi điện tâm đồ trên súc vật.

Tác dụng và công dụng

Các glycosid tim của lá Digitalis tía có tác dụng chủ yếu trên tim, làm giảm tần số co bóp tim, giảm thời kỳ tâm thu, kéo dài thời kỳ tâm trương làm cho tim bóp mạnh, làm chậm sự dẫn truyền xung bên trong tim, có tác dụng tốt tới sự dinh dưỡng của cơ tim. Lưu lượng máu trong tuần hoàn tăng lên, máu ở tĩnh mạch về tim dễ dàng. Huyết áp được điều hoà, máu cung cấp cho não được đầy đủ hơn, làm cho giấc ngủ và trạng thái toàn thân của bệnh nhân được tốt hơn. Thuốc có tác dụng lợi niệu đặc biệt trường hợp phù do bệnh tim.

Tuy nhiên, cần lưu ý rằng hoạt chất chính của lá Digitalis tía là digitoxin chậm đào thải do gắn vào protein của huyết tương, tích lũy ở gan và thận (ít tích luỹ trên cơ tim); ngoài ra digitoxin lại tái hấp thu qua ruột, thời gian tác dụng kéo dài đến 20 ngày sau khi uống hoặc tiêm nên dùng phải cẩn thận, sau 10 ngày dùng thuốc phải nghỉ một thời gian hoặc thay thuốc để tránh bị ngộ độc.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Thuốc bị đào thải sau khi được chuyển hoá một phần do bị thủy phân, epimer hoá OH ở vị trí số 3, do hydroxyl hoá. Đối với các hoạt chất của digitalis thì đường đào thải qua gan mật là phụ, ngược lại với các hoạt chất của *Strophanthus*.

Dưới đây là bảng so sánh độ độc các glycosid tim của lá digitalis tía.

Các chất	D. L. (Liều mg/Kg đường tiêm tĩnh mạch trên mèo)
Purpurea glycosid A	0,334
Digitoxin	0,386
Purpurea glycosid B	0,397
Gitoxin	0,727
Strospesid	0,586

Gitaloxin do có nhóm chức ester formic ở C-16 nên có độ độc cao hơn digitoxin.

Dạng dùng và liều dùng

Các dạng bào chế từ dược liệu vì có các thành phần khác ngoài glycosid tim như saponosid, flavonoid nên làm tăng hiệu lực của thuốc.

Dùng dưới dạng bột lá, có độ ẩm dưới 3% (nên bảo quản trong ống thủy tinh chứa khí trơ hàn kín), liều tối đa một gam bột lá 1 lần và 24 giờ dưới hình thức thuốc ngâm với nước (sau 24 giờ, lọc để dùng), thuốc hãm với nước sôi (để ngâm 2 giờ rồi lọc để dùng), cồn 1/10 (chế từ bột lá đúng tiêu chuẩn Dược điển qui định, phải thay hàng năm), liều tối đa 1 lần 1,50 gam cồn, 24 giờ 6 gam cồn.

Tuy nhiên xu hướng hiện nay người ta thích dùng thuốc đã pha chế từ hoạt chất vì liều lượng được xác định rõ ràng.

Dung dịch digitalin 0,1% pha trong cồn, glycerin và nước (cách pha xem Dược điển Việt Nam), 1 ml dung dịch này cho 50 giọt và có 1 mg digitalin. Liều uống: X giọt 1 lần, XXV giọt 1 ngày. Liều tối đa 1 ml/1 lần 1,5 ml/1 ngày. Thuốc rất độc, dùng cẩn thận. Digitalin bền vững và dễ hấp thu ở ruột nên dùng bằng đường uống.

DIGITAL LÔNG

(Folium Digitalis lanatae)

Đặc điểm thực vật

Cây thảo, lá gần như nhẵn, thuôn hình mũi mác, phiến hẹp dần và kéo dài phía đáy thành cuống, lá mọc ở thân thì không cuống, 2 mặt đều màu xanh, dài 10-30 cm, rộng 1,5 - 4 cm, mép trơn hoặc hơi có răng cưa ở phía đỉnh, gân bên hình cung và mặt dưới của lá các gân phụ không nổi lên thành mạng như ở

Google.com/+DayK

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

digitalis tía. Lá có vị rất đắng. Vào năm thứ hai cây có thân mọc cao 1m, tím ở gốc, mang hoa ở ngọn và hoa mọc ở mọi phía của trục. Đặc biệt trục hoa, lá bắc, lá đài có rất nhiều lông, từ đó có tên loài là *lanata* (*lanatus* = phủ lông).

Tràng màu vàng kem có các đường gân màu nâu sẫm. Ống tràng phình tròn và phía miệng có 5 thùy không đều tạo thành 2 môi, môi dưới dài bằng ống tràng.

Digitalis lanata Ehrh.

Phân bố và trồng trọt

Mọc hoang và được trồng khắp các nước châu Âu và Bắc Mỹ. Người ta chú trọng trồng Digitalis lông hơn Digitalis tía vì mục đích để khai thác chiết xuất hoạt chất. Ở nước ta cây cũng mọc được ở vùng khí hậu mát như Sapa.

Cây dễ trồng không đòi hỏi nhiều về điều kiện đất đai. Gieo hạt vào mùa xuân rồi sau đó bứng cây con trồng thưa ra. Các lá to có thể hái được vào tháng 8 và tiếp theo có thể cắt lứa thứ hai vào tháng 10. Khi ra hoa thì hàm lượng glycosid tim giảm dần.

Đặc điểm vi phẫu

Phần ứng với gân chính nhô lên rất nhiều về phía mặt dưới, một cung liber gỗ ở giữa. Biểu bì hầu như không có lông che chở chỉ có lông tiết chân một tế bào đầu 2 tế bào. Quan sát trực diện biểu bì trên thì thấy các tế bào có hình lục giác và có cấu tạo như chuỗi hạt rất đặc biệt. Biểu bì dưới có thành uốn khúc. Các lỗ khí có 3 - 4 tế bào bạn.

Thành phần hóa học

Glycosid tim

Hàm lượng glycosid tim của lá Digitalis lông khoảng từ 0,5 - 1% (nghĩa là gấp 3 - 4 lần Digitalis tía) và gồm nhiều glycosid khác nhau.

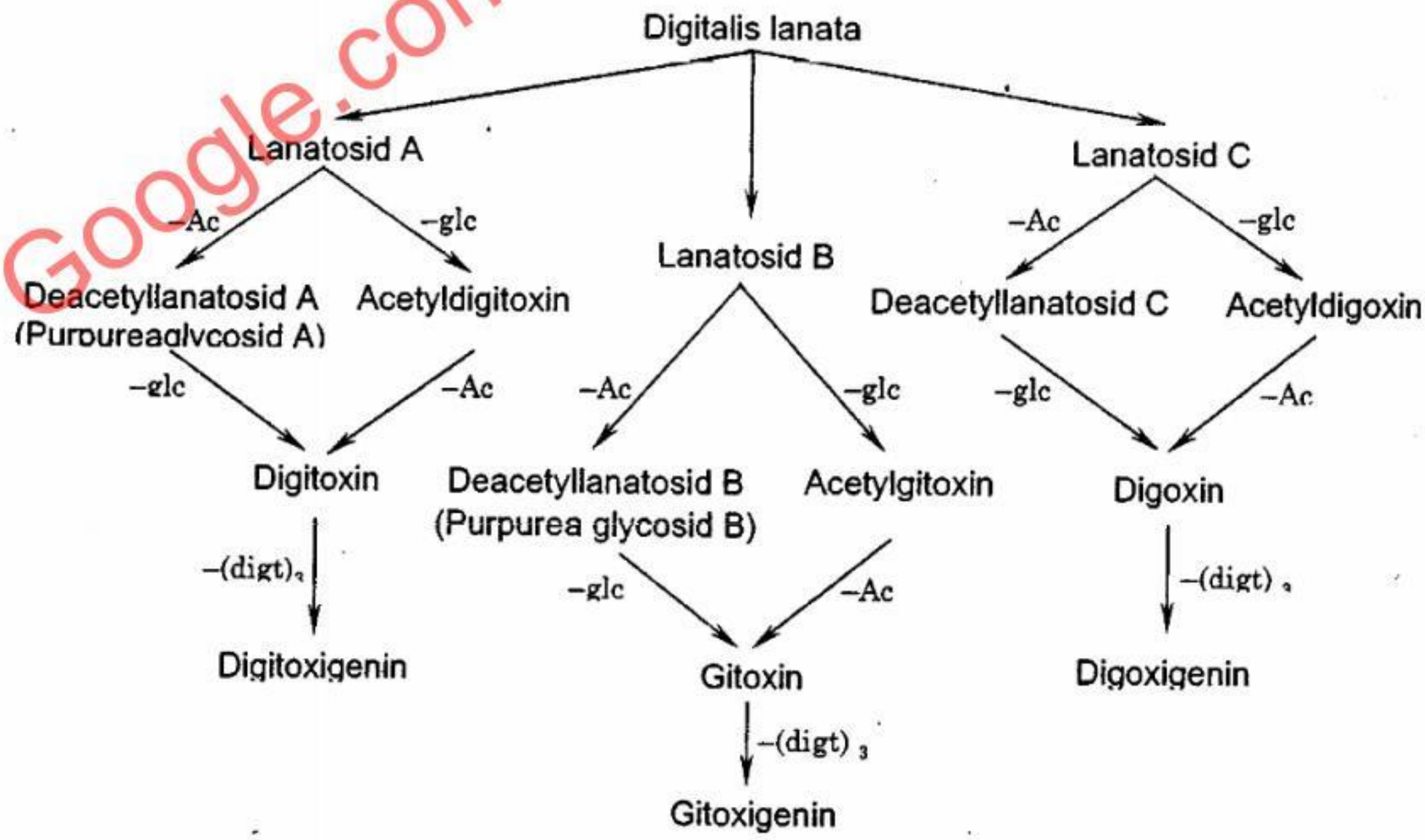
Sau đây là bảng tóm tắt các glycosid chính trong Digitalis lông:

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Phần đường	Phần aglycon và các glycosid tương ứng				
	Digitoxigenin	Gitoxigenin	Digoxigenin	Diginatigenin	Gilatoxigenin
glc-acetyldigt-$(digt)_2$	lanatosid A	lanatosid B	lanatosid C	lanatosid D	lanatosid E
glc-digt-digt-digt	desacetyl lanatosid A = purpurea glycosid A	desacetyl lanatosid B = purpurea glycosid B	desacetyl lanatosid C	desacetyl lanatosid D	
acetyldigt-$(digt)_2$	acetyldigitoxin	acetyl-gitoxin	acetyl digoxin	acetyl diginatin	acetyl gitaloxin
digt-digt-digt	digitoxin	gitoxin	digoxin	diginatin	
glc-digt		glucogitorosid			
glc		gitorosid			
glc- digita		digitalinum verum			
digita		strospesid			
glc-fuc		glucogitofucosid			Verodoxin

glc= glucose, digt=digitoxose, digita= digitalose, fuc= fucose



Sơ đồ chuyển các genuin glycosid thành các glycosid thứ cấp và genin

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

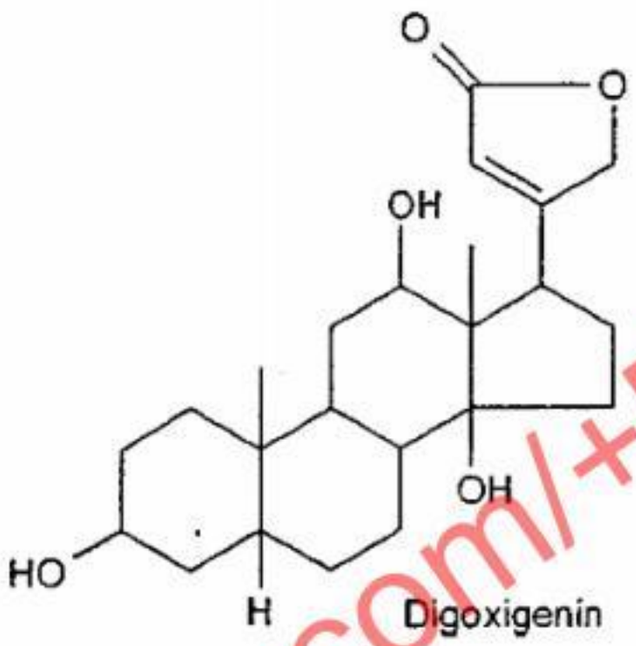
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

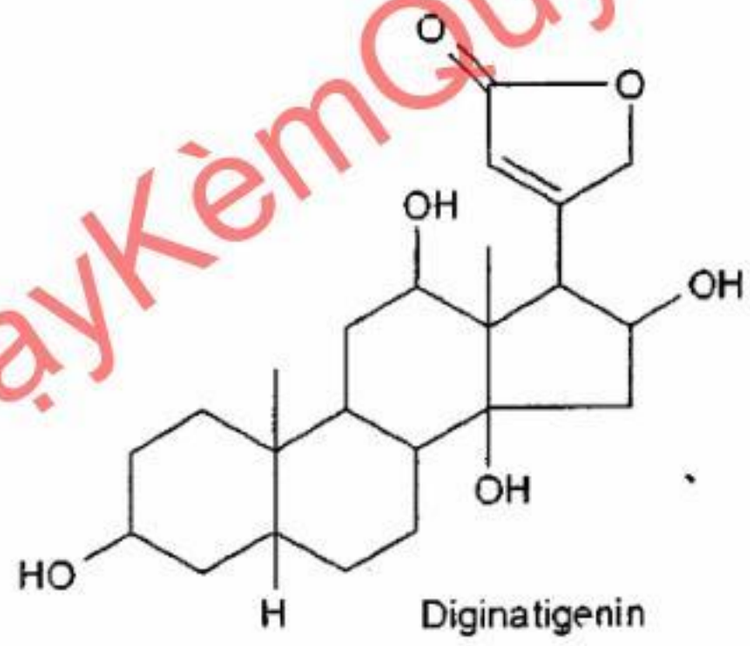
Trong các glycosid trên đáng chú ý là các glycosid sơ cấp lanatosid A, B, C hoặc còn gọi là digilanid A, B, C. Các glycosid này chỉ phân lập được từ lá tươi sau khi ức chế enzym (bằng ammoni sulfat). Dưới tác dụng của digilanidase (=lanatosidase) có trong cây, các glycosid sơ cấp này sẽ bị cắt bớt đơn vị đường glucose cuối mạch để cho: acetyl digitoxin, acetyl gitoxin, acetyl digoxin, còn nếu thủy phân bằng kiềm nhẹ (nước vôi, kali carbonat trong cồn methylic) thì nhóm acetyl bị cắt và thu được: desacetyl lanatosid A (= purpureaglycosid A) desacetyllanatosid B (= purpureaglycosid B) và desacetyllanatosid C.

Những glycosid có phần aglycon là digitoxigenin và digoxigenin chiếm tỉ lệ nhiều nhất.

Trong sản xuất nếu định lượng theo phương pháp chiết xuất, tinh chế rồi cân thì hàm lượng digitoxin và digoxin phải là xấp xỉ 1p1000. Digoxin là chất kết tinh, quay cực phải, khó tan trong nước và chloroform, tan trong cồn. Các glycosid tim có phần aglycon là digoxigenin không thấy có trong Digitalis tía, chỉ có trong Digitalis lông.



Digoxigenin



Diginatigenin

Saponosid

Các saponin trong Digitalis lông gồm có: tigonin, gitonin, digalonin và digitonin.

Các nhóm chất khác

Trong lá Digitalis lông còn có các nhóm hợp chất như các digitanol glycosid, các flavonoid và các anthraquinon.

Tác dụng

Đã từ lâu người ta nhận thấy lá Digitalis lông độc hơn lá Digitalis tía (gấp 4 lần) do hàm lượng glycosid nhiều hơn. Lanatosid C và digoxin (thành phần không có trong Digitalis tía) tác dụng nhanh hơn digitoxin và thải trừ nhanh hơn, thời gian tác dụng coi như trung gian giữa digitoxin và ouabain. Tác dụng làm chậm nhịp tim của lanatosid C và digoxin kém hơn digitalin kết tinh, ít tích luỹ hơn nhưng tác dụng lợi tiểu rõ rệt hơn. Các glycosid có aglycon là diginatigenin thì có tác dụng yếu.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Công dụng và liều dùng

Digitalis lông chủ yếu dùng để chiết các hoạt chất:

- Digitoxin (hoặc digitalin kết tinh).
- Lanatosid toàn phần (hay digilanid) là hỗn hợp kết tinh gồm lanatosid A, B, C với tỉ lệ lần lượt là 46, 17 và 37%. Khi uống thì pha dạng dung dịch cồn 1p1000 uống L giọt
- Lanatosid C, liều uống: 0,5 - 2 mg ngày.
- Digoxin, dạng uống liều tấn công: 0,5 - 1 mg/ngày cần chia nhỏ liều; liều duy trì: 0,25 mg/ngày; dạng dung dịch tiêm tĩnh mạch 0,025%.

Các hoạt chất trên cũng như tất cả glycosid tim trong các dược liệu khác đều là thuốc độc bảng A. Do đó, việc sử dụng phải hết sức thận trọng, cần có sự theo dõi của bác sĩ chuyên khoa.

Chống chỉ định: các trường hợp tâm thất nhanh, chẹn tâm nhĩ - thất. Chú ý khi đang được điều trị bằng các thuốc chứa glycosid tim thì không được dùng kèm các thuốc hạ kali ví dụ như cam thảo. Kali cũng có thể bị giảm khi dùng các thuốc nhuận tràng, thuốc lợi tiểu. Tránh dùng các thuốc có tương tác với glycosid tim như clarythromycin, cyclosporin, erythomycin, penicillamin, cyclophosphamid, amidaron, propafenon, diltiazem, atorvastatin, các thuốc chẹn beta adrenergic, quinin, quinidin, vincristin.

Điều trị ngộ độc bởi glycosid tim: ngừng thuốc, uống KCl mỗi ngày 2 – 3 gam. Nếu ngộ độc cấp thì truyền tĩnh mạch EDTA (acid ethylen diaminotetraacetic) 3,0 g pha trong 200 ml glucose 5%, sau đó truyền dung dịch KCl (dung dịch phải pha loãng dưới 3p1000) 2 - 3 gam. Theo dõi điện tim.

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

HẠT ĐAY

Semen Corchori

Ở nước ta có 3 loài:

- Đay quả dài - *Corchorus olitorius* L.
- Đay quả tròn - *C. capsularis* L.
- Đay dại - *C. acutangulus* Lamk., họ Đay - Tiliaceae.

Trong 3 loài trên thì Đay quả dài là quan trọng vì đây là nguồn chính để chiết xuất glycosid tim, Đay quả tròn là nguồn phụ.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Đặc điểm thực vật và phân bố

Cây Đay là cây được trồng hằng năm, cao 1-2 m, thân bằng ngón tay, ít phân nhánh. Lá hình trứng đỉnh nhọn, mép lá có răng cưa, hai răng cưa cuối gần phía gốc lá thì mọc dài ra rất dễ nhận. Lá dài 5-12 cm, rộng 3-6 cm. Lá kèm hình sợi. Hoa nhỏ màu vàng mọc 1-3 chiếc ở nách lá. Đài 4-5. Nhị 45-50 xếp thành nhiều vòng. Quả nang dài hình trụ (nên gọi là đay quả dài) có 5 sống dọc, dài 5 cm hoặc hơn. Mỗi quả có đến vài trăm hạt. Hạt có dầu.

Đay quả dài - *Corchorus olitorius* L.

Đay được trồng ở một số nơi nước ta để lấy sợi. Sợi dùng để dệt bao bì, dây chão, làm võng. Cần biết rằng cây bụt giấm (cũng gọi là đay Nhật) - *Hibiscus sabdariffa* L., họ Bông - Malvaceae, cũng có trồng để lấy sợi nhưng không có glycosid tim.

Thành phần hóa học

Hạt Đay quả dài có nhiều glycosid tim khác nhau nhưng đáng chú ý là corchorosid A và olitorisid. Corchorosid A là một monosid, aglycon là strophanthidin và đường là boivinose (boivinose là đường 2,6-desoxy). Olitorisid hay glucocorchorosid A là một biosid, chất này hơn corchorosid A một đơn vị đường glucose. Olitorisid chiếm tỉ lệ nhiều nhất, hàm lượng khoảng 1p1000.

Ngoài ra còn có các glycosid tim khác là dẫn xuất của strophanthidin, digitoxigenin, cannogenol và periplogenin.

Glycosid tim có genin là strophanthidin:

- Erysimosid = strophanthidin + digitoxose + glucose
- Helveticosid = strophanthidin + digitoxose (= Erysimin)
- Olitorin = strophanthidol + boivinose

Glycosid tim có genin là digitoxigenin:

- Corolosid = digitoxigenin + boivinose + glucose,
- Deglucocorolosid
- Evatromosid
- Digitoxigenin 3-O-*β-D*-glucopyranosyl-(1→6)-O-*β-D*-glucopyranosyl-(1→4)-O-*β*-digitoxopyranosid.
- Glucoevatromosid,

Glycosid tim có genin là cannogenol:

- Canogenol-3-O-*β-D*-glucopyranosyl-(1→4)-O-*β-D*-boivinopyranosid,

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Glycosid tim có genin là periplogenin:

- Periplogenin 3-O-*β-D*-glucopyranosyl-(1→4)-O-*β*-Ddigitoxopyranosid.

Màu sắc của hạt cũng có liên quan tới hàm lượng và tỉ lệ các glycosid tim trong hạt đay. Các nhà nghiên cứu Nhật Bản cho thấy rằng hạt đay có màu xanh xám chứa nhiều glycosid tim hơn loại có màu vàng xám. Đồng thời, hạt có màu xanh xám có lượng các strophanthidin glycosid tim (erimosid, olitorisid) cao trong khi các digitoxigenin glycosid có hàm lượng thấp.

Thành phần dinh dưỡng tính theo mg trong 100g lá Đay quả dài đã được người Nhật phân tích như sau: Ca (498), P (93), Fe (3,8), K (650), acid oxalic (870), Vit. B1 (0,24), vit. B2 (0,76), vit. C (168), provitamin A tính theo đơn vị tác dụng (7940 IU), vit E (14,1 IU).

Trong lá Đay quả tròn có các triterpenoid và saponin nhóm dammaran như capugenin, capsin.

Chiết xuất olitorisid

Hạt Đay đem loại chất béo bằng ether dầu hoả. Sau khi bốc hơi hết dung môi, nguyên liệu được chiết với cồn 80% (6 - 7 lần) bằng cách ngâm ở nhiệt độ thường (mỗi lần ngâm 3 - 4 giờ). Gộp dịch chiết lại và bốc hơi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 40-50^0 đến khi thu được dung dịch sánh (nếu đi từ 1000 g hạt thì dung dịch cô đến 100 ml). Thêm 2 lần thể tích aceton, một khối chất dính sẽ kết tủa, gạn lớp dịch trong ở trên ra. Thêm ít cồn vào tủa, khuấy đều và để yên, sau đó gạn lấy dịch cồn rồi gộp với dịch gạn ở trên. Bốc hơi bớt dung môi rồi lại pha loãng bằng nước, thêm dung dịch chì acetat 30% vào để kết tủa tạp chất, lọc. Loại chì thừa bằng dung dịch natri sulfat 15%, lọc. Loại chì sulfat, bốc hơi dung dịch dưới áp suất giảm cho đến cắn thu được olitorisid thô. Muốn tinh chế thêm thì hoà tan cắn trong một ít cồn, thêm 10 lần thể tích ether và để yên 5 - 6 giờ, olitorisid sẽ kết tủa. Lọc lấy tủa và kết tinh lại trong cồn. Sấy khô tinh thể trong bình hút ẩm (có P_2O_5).

Olitorisid tinh khiết có điểm chảy 202 - 204°C, $[\alpha]_D^{20} = -4{,}50$ (trong methanol).

Tác dụng và công dụng

Các glycosid này được các nhà nghiên cứu Liên Xô (cũ) ứng dụng làm thuốc chữa bệnh tim trên lâm sàng lần đầu tiên. Ở nước ta cũng đã nghiên cứu chiết xuất và đưa vào chữa bệnh.

Olitorisid có tác dụng giống K. strophanthin, không tích lũy, 1 gam chứa 60.000 Đ.V.Ê. Dùng dung dịch 0,04%, ống 1 ml tiêm tĩnh mạch. Liều dùng 0,5 - 1 ml/ngày, dùng 10 - 15 ngày liền.

Corchorosid có tác dụng sinh vật cũng vào khoảng 60.000 Đ.V.Ê.

Từ glycosid toàn phần mà chủ yếu là olitorisid và corchorosid A, có thể thủy phân để thu lấy strophanthidin rồi từ đó acetyl hoá thành acetyl strophanthidin. Đây là một dẫn chất có tác dụng rất nhanh. Bằng đường tiêm tĩnh mạch, tác dụng bắt đầu sau 3 phút (digitoxin sau 30 phút) nên là thuốc tương tự ouabain. Bộ môn Dược liệu Đại học Y Dược TP. HCM đi từ nguyên liệu hạt Đay quả tròn đã thu được strophanthidin và điều chế acetyl strophanthidin

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

[Ngô Vân Thu và cs, *TC Dược học-Chuyên san*, 1993,27-28]. Thuốc đã được dùng tại bệnh viện Chợ rẫy thành phố Hồ Chí Minh.

Dịch chiết cồn của hạt Đay quả tròn có tác dụng trợ tim, nhuận tràng co thắt tử cung và cao huyết áp.

Lá Đay quả dài đã được dùng làm thực phẩm ở Nhật. Người Nhật có đặt mua lá Đay quả dài của ta. Ở Việt Nam, lá Đay quả tròn được dùng để nấu canh ăn.

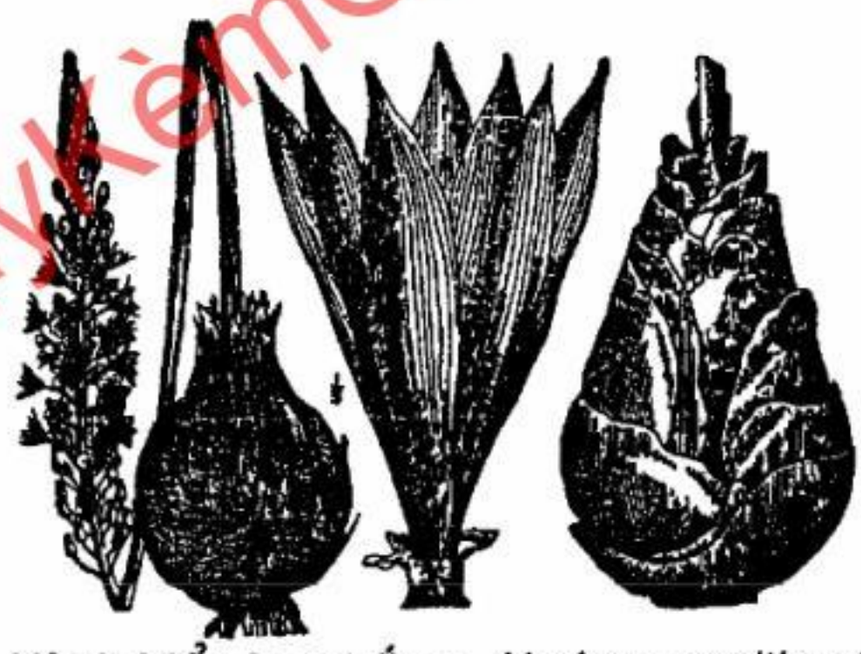
HÀNH BIỂN

Bulbus Scillae

Bộ phận dùng là thân hành của cây Hành biển hoa trắng - *Urginea maritima* L. họ Huệ tây - Liliaceae. Vì cây nguồn gốc mọc ở vùng biển Địa Trung Hải nên đặt tên là Hành biển.

Đặc điểm thực vật

Hành biển là loài cây mọc nhiều năm có thân hành lớn. Khi cây phát triển thân hành thường nặng khoảng 2 kg, có khi đến 8 kg. Lá thuôn hình mác dài 50 - 80 cm, nguyên, đỉnh nhọn, gân lá hình cung. Cây ra hoa vào mùa hạ. Khi ra hoa, trục mang hoa nhô lên giữa cụm lá và cao đến 1-2m. Cụm hoa lớn hình chùy mang rất nhiều hoa mọc sít nhau. Bao hoa gồm 6 bộ phận màu trắng hơi xanh, 6 nhị. Quả nang có ba ô.



Hành biển hoa trắng - *Urginea maritima* L.

Thu hái củ (hành) vào cuối mùa hè. Người ta loại bỏ những vẩy bên ngoài và phần ở giữa, chỉ giữ lại những vẩy trung bình dày và nạc. Củ được thái thành từng lát ngang rồi sấy hoặc phơi khô.

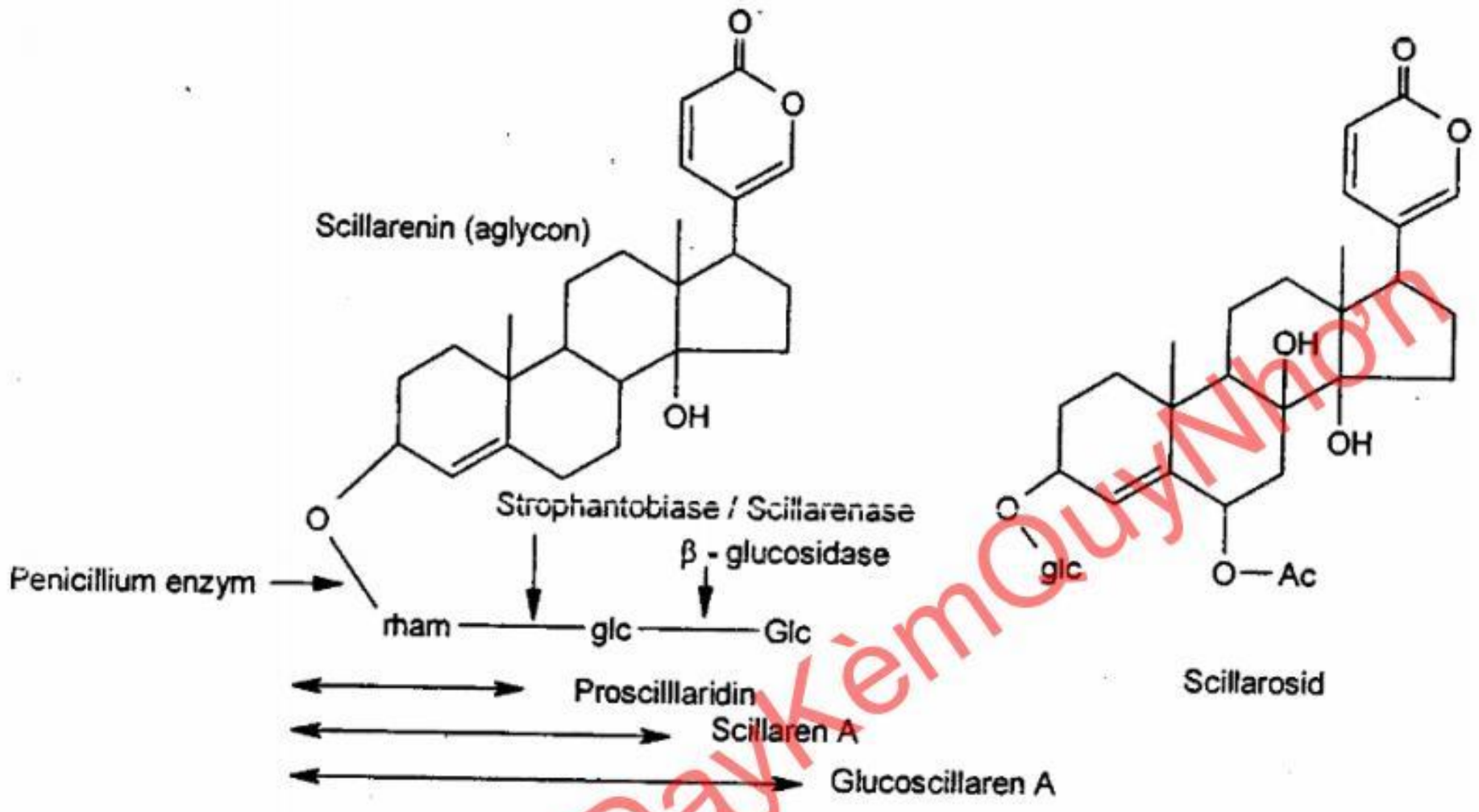
Thành phần hoá học

Hành biển hoa trắng chứa các glycosid tim thuộc nhóm bufadienolid, nghĩa là các glycosid tim có vòng lacton 6 cạnh.

Scillaren A là hoạt chất chủ yếu, chiếm gần 2/3 lượng glycosid toàn phần. Scillaren A có phần đường là scillabiose (= glc + rha). Aglycon của scillaren A là scillarenin; chất này có 2 nhóm OH ở vị trí 3 và 14 và có một nối đôi ở vị trí 4-5. Khi thuỷ phân scillaren A bằng enzym (scillarenase có trong hành biển hay strophanthobiase có trong hạt *Strophanthus*) thì phân tử glucose bị cắt và cho proscillaridin A. Muốn giải phóng hoàn toàn phần aglycon khỏi phần đường thì phải thuỷ phân bằng enzym có trong một loài *Penicillium*. Nếu thuỷ phân bằng

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

acid thì chỉ thu được một anhydroscillarenin có tên là scillaridin (không phải genin thật). Ngoài ra trong Hành biển hoa trắng còn có: glucoscillaren A, khi thuỷ phân bằng β-glucosidase thì cắt bớt một đơn vị đường glucose và cho scillaren A.



Ngoài ra, Hành biển hoa trắng còn có các glycosid khác: glucoscilliphaeosid, scilli-phaeosid, scillikryptosid, scilliglaucosid, scillicyanosid, scillicaelosid, scilliazurosid.

Hành biển hoa đỏ ngoài các sắc tố anthocyan còn có một bufadienolid đặc biệt là scillirosid do Stoll phân lập năm 1940, cấu trúc được làm sáng tỏ năm 1960. Khi bị thuỷ phân sẽ cho glucose và một aglycon là scillirosidin, trong nhân có nối đôi ở 4 - 5, 1 nhóm acetoxy ở vị trí 6 và 2 nhóm hydroxyl ở vị trí 8 và 14.

Tác dụng

Hành biển hoa trắng là một dược liệu được người Ai Cập và Hy Lạp dùng từ lâu để chữa phù. Dược liệu và các glycosid của nó có tác dụng cường tim, không tích luỹ như lá Digitalis nhưng lưu lại ở cơ tim nhiều hơn ouabain. Scillaren A tác dụng nhanh nhưng chóng bị phân hủy trong máu. Độ độc khi tiêm tĩnh mạch chỉ mạnh gấp 2 lần so với đường uống. Các chế phẩm của Hành biển có tác dụng thông tiểu rõ rệt.

Scillirosid của Hành biển hoa đỏ đặc biệt độc với động vật gặm nhấm. Ở người và các động vật có vú khác, liều độc của Hành biển hoa đỏ sẽ gây nôn, còn loài gặm nhấm không nôn được. Loài gặm nhấm kháng một số glycosid tim khác ví dụ chịu được liều của các glycosid Hành biển hoa trắng lớn gấp 200 lần scillirosid, còn đối với scillirosid chuột chỉ chịu được 0,7 mg/kg thể trọng do đó Hành biển hoa đỏ là nguyên liệu dùng để diệt chuột.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Glycosid tim và dược liệu chứa glycosid tim

Công dụng

Hành biển hoa trắng được sử dụng dưới dạng bột, liều tối đa một lần 0,30g, một ngày 1,5g, chế dưới dạng cồn thuốc, cao thuốc trong các bệnh tim, đặc biệt làm thuốc lợi tiểu rất tốt trong những trường hợp phù do bệnh tim.

Scillaren là hỗn hợp các glycosid tim của Hành biển hoa trắng được dùng dưới dạng viên 0,8 mg hoặc dung dịch (uống giọt).

Các nghiên cứu gần đây cũng cho thấy các glycosid tim (bufalin, oleandrin, digitoxin, ouabaindigoxin, lanatosid C, digitonin, proscillaridin A) có khả năng là những tác nhân chống ung thư mạnh. Trong đó, proscillaridin A là chất có tác dụng mạnh nhất (IC_{50} 6, - 7,6 nM) [Newman R.A. et al. Integr. Cancer Ther. 2007 6(4), 354-64; Johanson S. Anticancer Drugs, 2001 12(5), 475-83]. Do tác động ức chế Na^+, K^+- ATPase làm tăng Ca nội bào do đó các glycosid tim có tác động apoptosis. Digitoxin ở nồng độ tương tự như ở bệnh nhân điều trị tim mạch có tác dụng tương tự như epotosid, chất ức chế topoisomerase II. Các glycosid tim cũng có tác dụng ức chế tác nhân điều khiển quá trình tạo mạch (FGF-2) do đó cũng tác động lên quá trình phát triển ung thư. [Winnica K. et al. Acta Pol. Pharm. 2006, 63(2), 109-15].

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

MỘT SỐ DƯỢC LIỆU KHÁC CHỨA GLYCOSID TIM

Cây lá hen (cây bồng bồng) - Calotropis gigantea R. Br., họ Thiên lý - Asclepiadaceae.

Bộ phận dùng: lá

Thành phần hoá học chính: hiện được biết trên 15 glycosid tim. Các chất chính là calotropin và calactin.

***Periploca graeca* L., họ Thiên lý -Asclepiadaceae**

Bộ phận dùng: vỏ thân

Thành phần hóa học chính: periplocin (= periplogenin + cymarose + glucose), periplocymarin (= periplogenin + cymarose)

***Apocynum cannabium* L., họ Trúc đào - Apocynaceae**

Bộ phận dùng: thân rễ

Thành phần hóa học chính: cymarin.

***Convallaria majalis* L., họ Huệ tây - Liliaceae**

Bộ phận dùng: lá và hoa

Thành phần hóa học chính: convallatoxin (= strophanthidin +rha mmnose)

***Erysimum canescens* Roth., họ Cải -.Brassicaceae**

Bộ phận dùng: bộ phận trên mặt đất

Thành phần hóa học chính: erysimin (= strophanthidin + digitoxose)

***Adonis vernalis* L., họ Hoàng liên - Ranunculaceae**

Bộ phận dùng: bộ phận trên mặt đất.

Thành phần hóa học chính: adonitoxin (= adonitoxigenin + rhamnose)

***Helleborus spp.*, họ Hoàng liên - Ranunculaceae**

Bộ phận dùng: rễ và thân rễ.

Thành phần hoá học: các glycosid tim khi thủy phân cho aglycon chính là hellebrigenin.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

CHƯƠNG 5

SAPONIN VÀ DƯỢC LIỆU CHỨA SAPONIN

MỤC TIÊU HỌC TẬP: Sau khi học chương "Dược liệu chứa saponin" sinh viên phải biết được:

1. *Định nghĩa về saponin.*
2. *Cấu trúc hoá học của saponin.*
3. *Các phương pháp kiểm nghiệm dược liệu chứa saponin.*
4. *Phương pháp chung để chiết xuất saponin.*
5. *Tác dụng và công dụng của saponin.*
6. *Các dược liệu chứa saponin đã đưa vào giáo trình, chú trọng Cam thảo, Viễn chí, Ngưu tất, Rau má, Ngũ gia bì chân chim, Nhân sâm, Tam thất, Mạch môn.*

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

ĐẠI CƯƠNG VỀ SAPONIN

I. KHÁI NIỆM CHUNG VỀ SAPONIN

Saponin hay saponosid là một nhóm các glycosid có phần genin có cấu trúc triterpen hay steroid 27 carbon gặp rộng rãi trong thực vật, cũng được tìm thấy trong động vật thân mềm ở biển như Hải sâm, Sao biển.

Theo truyền thống, saponin thường được định nghĩa dựa trên một số tính chất chung đặc trưng của nhóm hợp chất này là:

- Làm giảm sức căng bề mặt, tạo bọt nhiều khi lắc với nước.
- Làm vỡ hồng cầu ngay ở những nồng độ rất loãng.
- Độc với cá, diệt các loài thân mềm như giun, sán, ốc sên...
- Kích ứng niêm mạc gây hắt hơi, đỏ mắt.
- Có thể tạo phức với cholesterol hoặc với các chất 3β-hydroxysteroid khác.

Tuy nhiên, không phải tất cả các saponin đều thể hiện đầy đủ các tính chất trên. Ngày nay, saponin thường được định nghĩa trên cơ sở cấu trúc hóa học đó là các triterpen glycosid hay các 27-C steroid glycosid.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Các cây có chứa saponin được sử dụng từ rất lâu đời bởi nhiều dân tộc trên thế giới trong cuộc sống hàng ngày. Do khả năng tạo bọt nên saponin được sử dụng như là các chất tẩy rửa tự nhiên. Chính do đặc tính này mà chúng được gọi là saponin[1]. Các dược liệu chứa saponin cũng được sử dụng rất phổ biến trong y học cổ truyền, đặc biệt là y học phương đông. Nhiều saponin và dược liệu có thành phần hoạt chất là saponin vẫn rất có giá trị trong y học hiện đại như các sản phẩm điều trị hay nguyên liệu đầu để bán tổng hợp các thuốc khác, đặc biệt là các thuốc steroid. Các tác dụng trị liệu của saponin vẫn đang được tiếp tục khám phá.

II. CẤU TRÚC HOÁ HỌC VÀ PHÂN LOẠI

Cấu trúc của saponin, cũng như các glycosid khác, gồm có hai phần là phần đường và phần aglycon (hay genin). Phần aglycon thường được gọi là sapogenin. Sapogenin có cấu trúc triterpen với khung cơ bản 30 carbon hoặc steroid với 27 carbon dẫn xuất từ khung cholestan. Trên các khung cơ bản của sapogenin, các sapogenin khác nhau bởi mức độ oxy hóa trên khung hay vị trí, số lượng của các nhóm thế. Nhóm thế trong sapogenin thường chỉ là nhóm hydroxyl, đôi khi gặp nhóm oxo hay sulfat. Nhóm OH có thể là tự do hay glycosid hóa với đường. Một vài trường hợp, nhóm OH có thể được acyl hóa với các acid hữu cơ. Số lượng và các vị trí thế trên khung cũng không nhiều[2]. ở vị trí C-3 của sapogenin gần như luôn có nhóm OH[3]. Nhóm OH này trong đa số trường hợp có định hướng β. Đây cũng là vị trí gắn với phần đường của đa số saponin. Với số lượng không nhiều các sapogenin, sự đa dạng của các saponin chủ yếu là do thành phần, số lượng và vị trí của các đường trong phân tử. Ngoài ra, còn có thể gặp các dây nối đôi trên khung.

Đa số saponin có từ 1 - 2 mạch đường (được gọi là các *monodesmosid* và *bidesmosid* - *desmos* = mạch). Ở các monodesmosid, phần đường gắn vào sapogenin hầu hết là ở vị trí C-3 bằng dây nối glycosid[4]. Saponin có thể có thêm mạch đường thứ hai. Những saponin có 2 mạch đường (bidesmosid) như sarsaparillosid và avenacosid A

Tổng số đơn vị đường trong một saponin có thể tới 11 đơn vị, nhưng số đường trên một mạch được biết tới nay tối đa là 8. Số đơn vị đường trong saponin thường là 1 - 4 đường.

Đường trong saponin là các đường thông thường như β-*D*-glucose, β-*D*-xylose, α-*L*-rhamnose và α-*L*-arabinose... Đôi khi cũng gặp các acid uronic, chủ

---

[1] Tên gọi xuất phát từ chữ *sapo* tiếng Latinh có nghĩa là *xà phòng* do tính tạo bọt của nhóm hợp chất này.

[2] Các sapogenin đã biết thường không có quá 6 nhóm thế trên khung.

[3] Ở một vài triterpenoid và steroid tự do, ở vị trí C-3 có thể là nhóm oxo.

[4] Một vài saponin không có mạch đường ở C-3, chỉ có một mạch đường ở C-28. Ví dụ như asiaticosid, madecassosid trong Rau má (*Centela asiatica* Urb. Apiaceae).

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

yếu là acid glucuronic như trường hợp của glycyrrhizin trong Cam thảo. Mạch đường có thể là mạch thẳng hay phân nhánh. Nhóm OH của đường cũng có thể được acyl hóa bởi acid hữu cơ.

Trong một số trường hợp, phần đường gắn vào sapogenin không phải qua dây nối glycosid mà là dây nối ester (các acylglycosid), thường là do chức acid ở C-28 trong saponin triterpenoid. Các chất như vậy được gọi là các *pseudoglycosid*. Khi saponin có 2 mạch đường thì hầu như luôn có một mạch đường ở C-3, mạch đường còn lại thường ở C-26 của saponin steroid hay là một ester ở C-28 ở saponin triterpenoid. ít gặp các saponin có 3 mạch đường hay hơn.

Dựa trên cấu trúc hoá học của phần genin người ta chia saponin thành 2 nhóm lớn là saponin triterpenoid và saponin steroid. Mỗi nhóm được chia thành nhiều nhóm nhỏ.

1. Saponin triterpenoid

Cấu trúc phần genin của saponin triterpenoid có 30 carbon, cấu tạo bởi 6 đơn vị hemiterpen nối với nhau theo quy tắc đầu đuôi, hay nói một cách khác, cấu tạo bởi 3 đơn vị terpen nên có tên gọi như trên. Các saponin này được chia làm 2 loại: saponin triterpenoid 5 vòng (pentacyclic) với khung triterpen có cấu trúc gồm 5 vòng và saponin triterpenoid 4 vòng (tetracyclic) với khung triterpen có 4 vòng. Dung hợp giữa các vòng A/B, B/C và C/D của các triterpenoid là *trans* còn D/E của sapogenin triterpenoid 5 vòng là *cis*.

1.1. Saponin triterpenoid năm vòng

Saponin triterpenoid năm vòng (saponin triterpenoid pentacyclic) có phần sapogenin có khung 30 carbon với 5 vòng và 8 nhóm methyl. Nhóm methyl ở C-28 thường được oxy hóa thành nhóm carboxyl. Nhóm này có thể kết hợp với phần đường tạo các dây nối pseudoglycosid. Nhóm methyl trên khung có thể được oxy hóa thành $-CH_2OH$ (như ở C-23, C-28), –CHO hay –COOH (như ở C-23, C-27 hay C-30).

Nhóm này lại được chia thành các nhóm nhỏ. Năm phân nhóm gặp trong saponin là oleanan, ursan, taraxasteran, lupan và hopan.

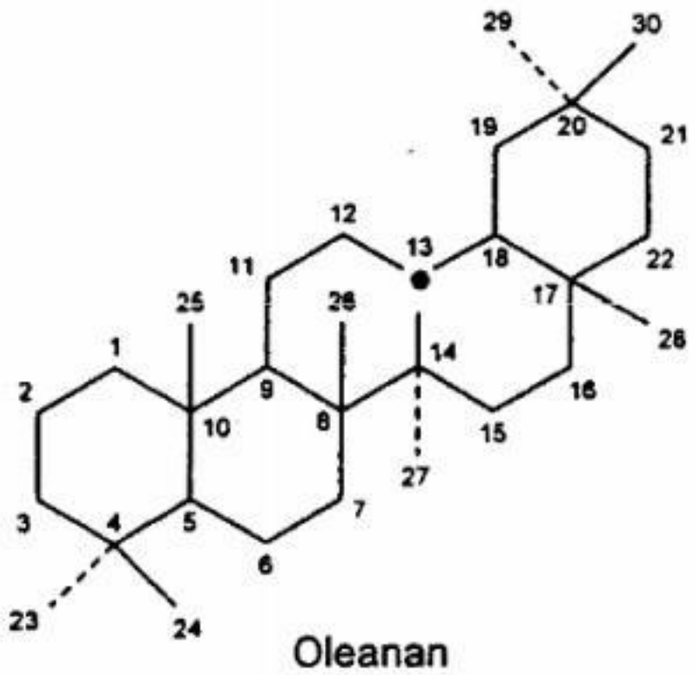
1.1.1. Nhóm oleanan

Nhóm này có khung cơ bản là oleanan. Phần lớn các saponin triterpenoid trong tự nhiên đều thuộc nhóm này. Phần aglycon thường gặp nhất là dẫn chất của 3β-hydroxy-olean-12-en, tức là β-amyrin. C-28 thường là nhóm carboxyl. Các nhóm methyl khác có thể bị oxy hóa là C-23 và C-30.

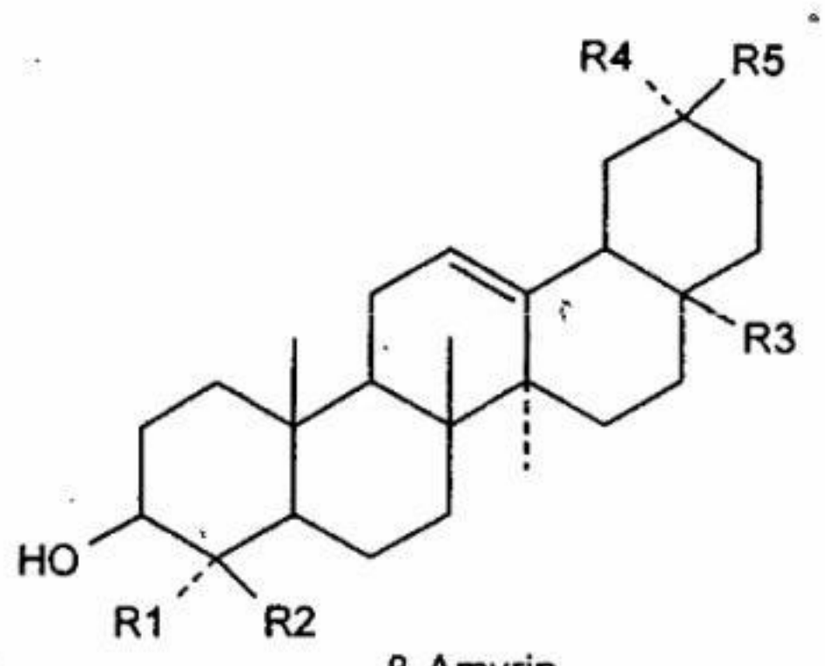
Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin



Oleanan



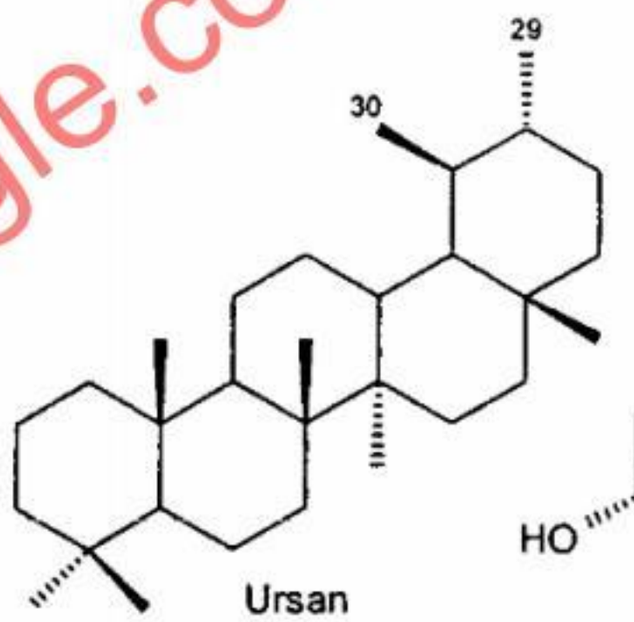
β-Amyrin

Dưới đây là một vài aglycon với các nhóm thế R khác nhau trên khung β-amyrin:

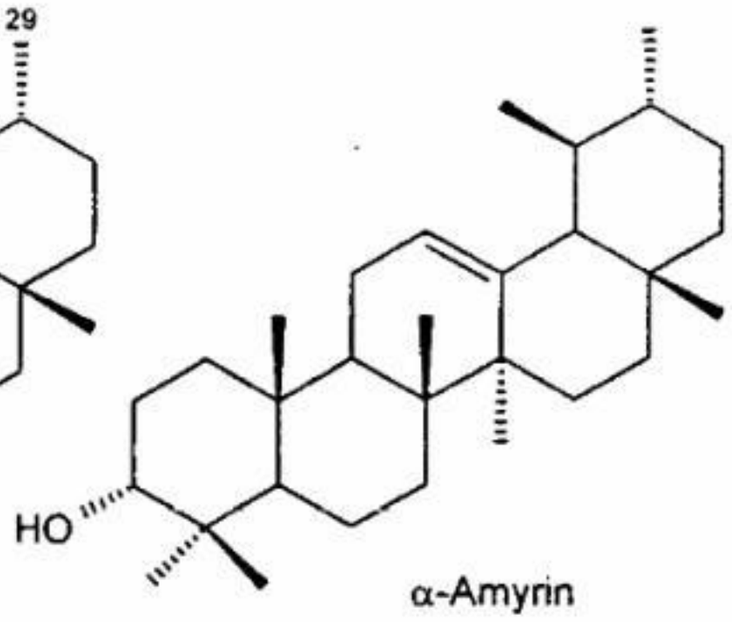
- Acid oleanolic: $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = -CH_3$, $R_3 = -COOH$.
- Hederagenin: $R_2 = R_4 = R_5 = -CH_3$, $R_1 = -CH_2OH$, $R_3 = -COOH$.
- Gypsogenin: $R_2 = R_4 = R_5 = -CH_3$, $R_1 = -CHO$, $R_3 = -COOH$.

Trong các sapogenin có cấu trúc β-amyrin thì acid oleanolic là genin phổ biến nhất. Khi tạo glycosid, mạch đường thường nối vào C-3 theo dây nối acetal, có khi mạch đường nối vào C-28 theo dây nối ester. Người ta đã phân lập được các saponin thuộc nhóm này có đến 11 đơn vị đường trên cả 2 mạch, riêng một mạch có thể đến 8 đơn vị đường.

1.1.2. Nhóm ursan



Ursan

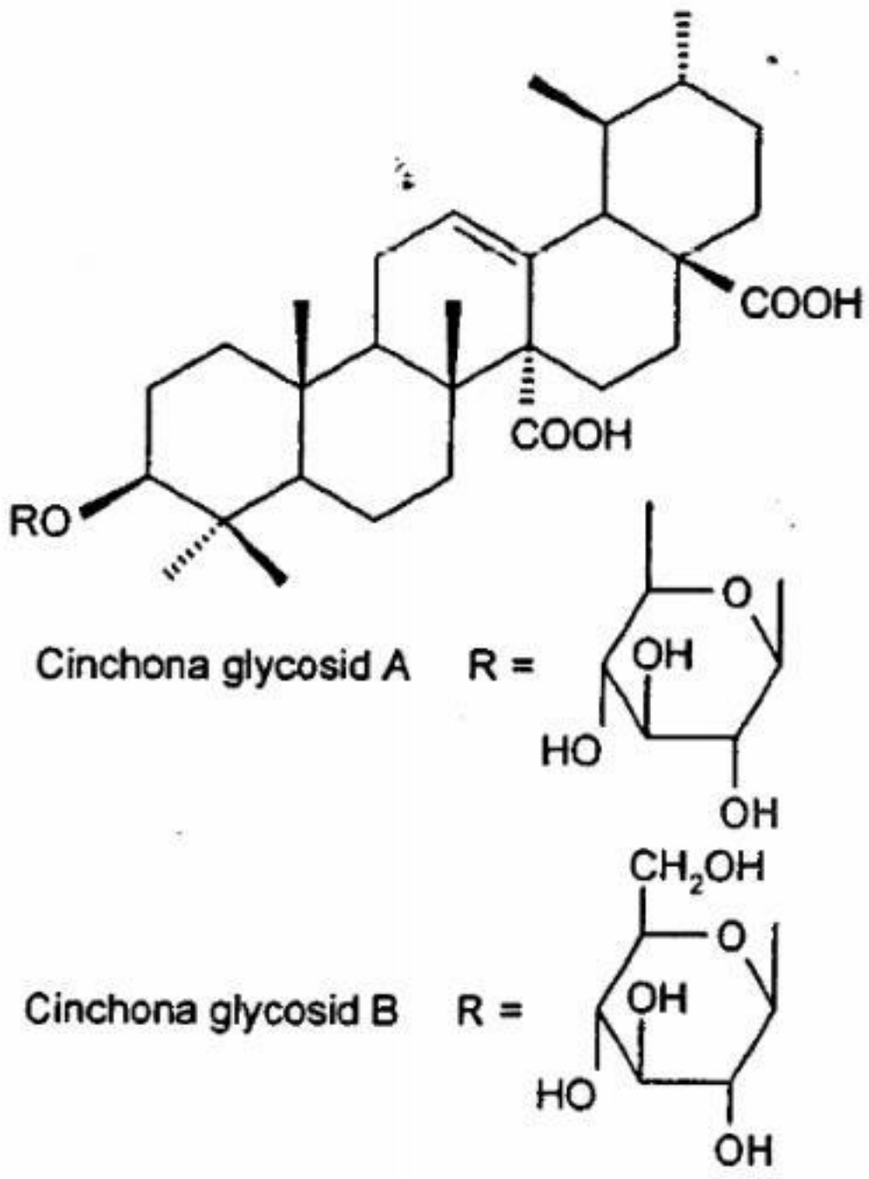


α-Amyrin

Cấu trúc của nhóm ursan cũng tương tự như nhóm oleanan chỉ khác là nhóm methyl C-30 không đính vào vị trí C-20 của khung mà đính ở vị trí C-19. Các sapogenin nhóm ursan thường là những dẫn chất của 3β-hydroxy-ursan-12-en, tức là α-amyrin. Những saponin nhóm ursan ít gặp hơn so với nhóm oleanan. Cinchona glycosid A, cinchona glycosid B có trong cây Canh-ki-na, asiaticosid, madecassosid có trong Rau má là những saponin thuộc nhóm này.

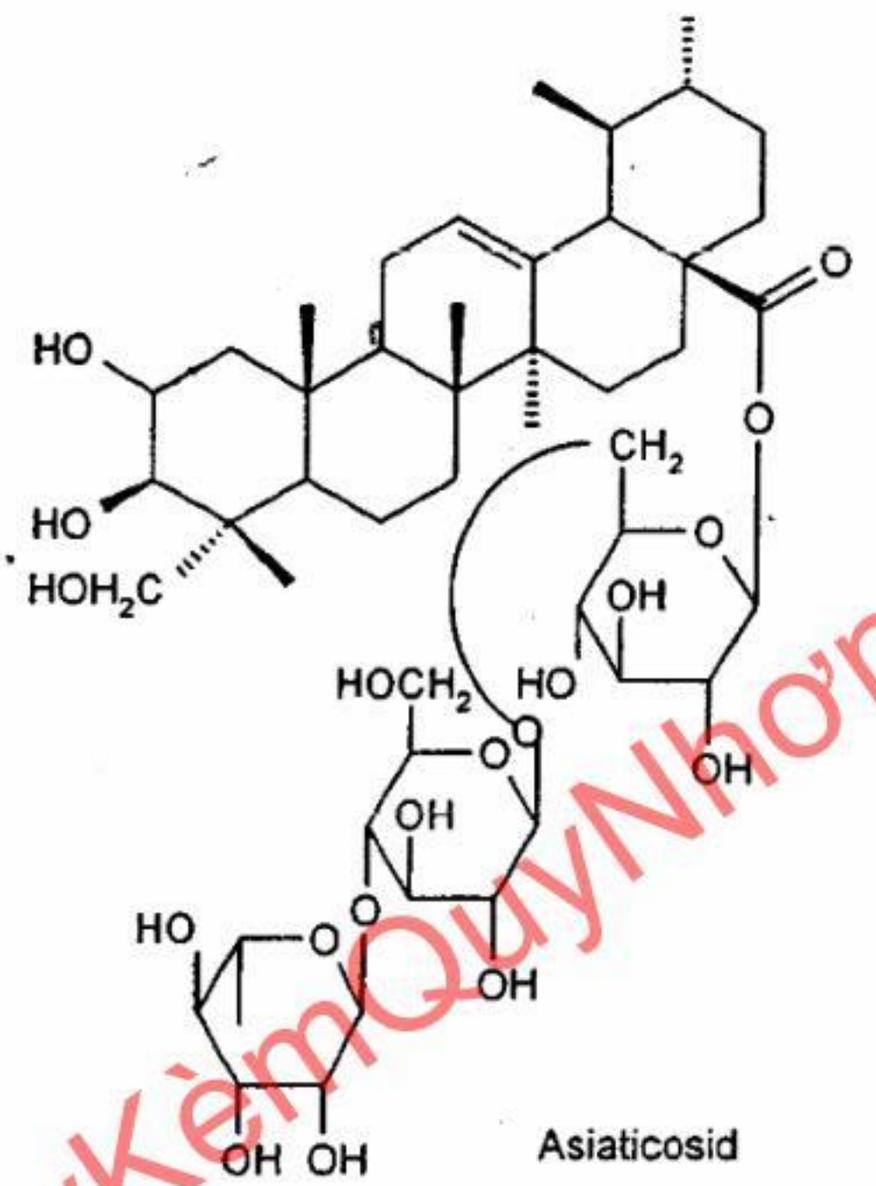
Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



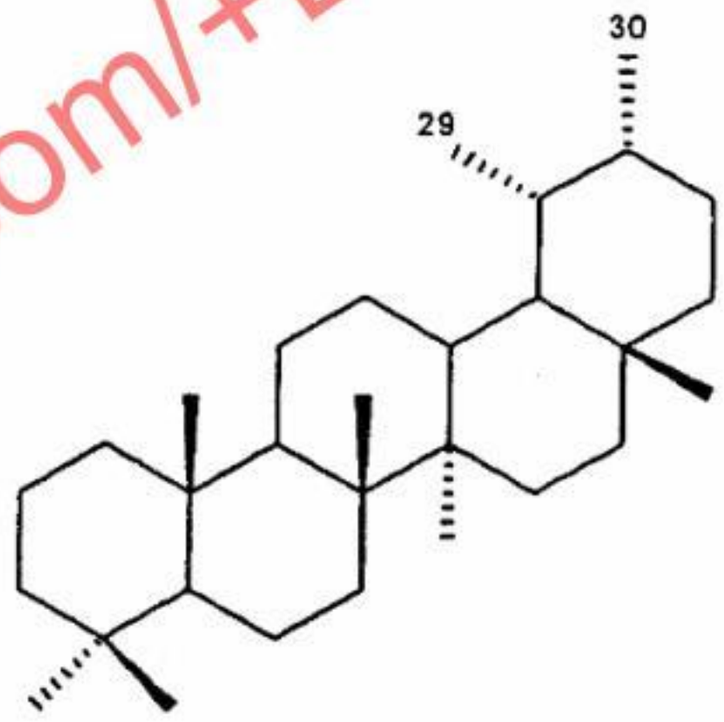
Cinchona glycosid A R =

Cinchona glycosid B R =



Asiaticosid

1.1.3. Nhóm taraxasteran

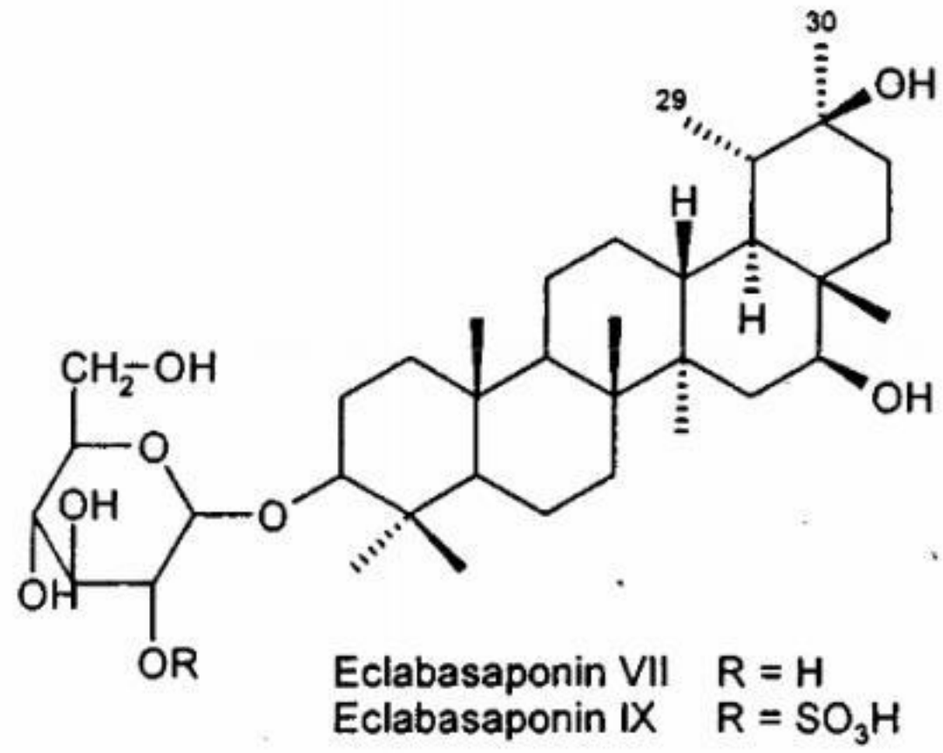


Taraxasteran

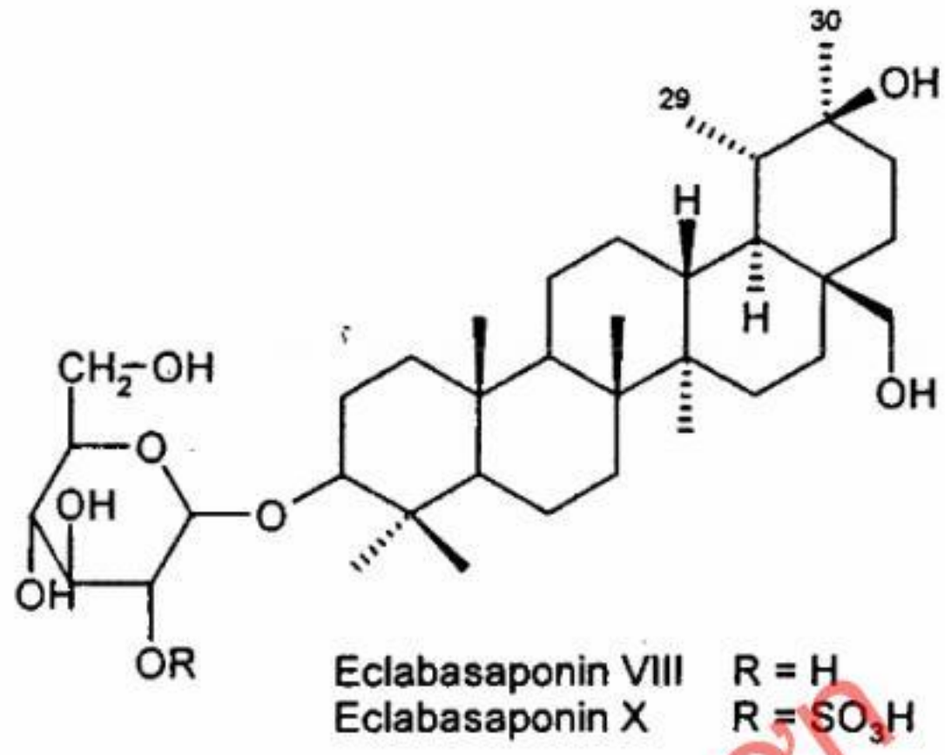
Các saponin eclabasaponin VII, VIII, IX và X có trong Cỏ mực (*Eclipta alba* L.) thuộc nhóm này.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Eclabasaponin VII R = H
Eclabasaponin IX R = SO_3H

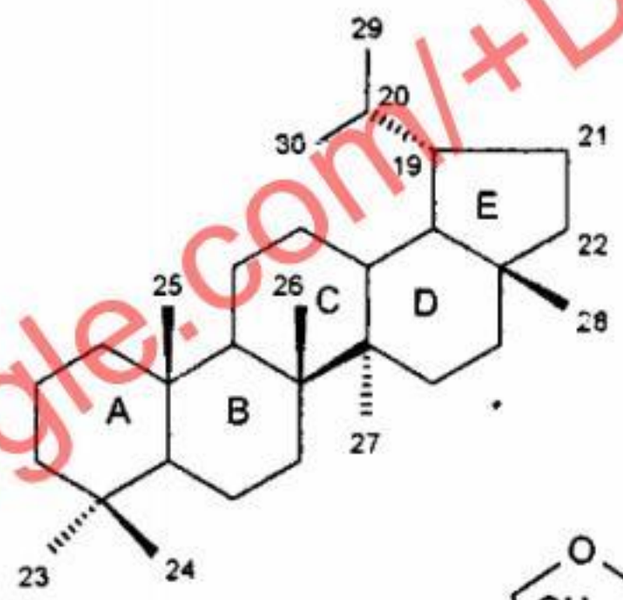


Eclabasaponin VIII R = H
Eclabasaponin X R = SO_3H

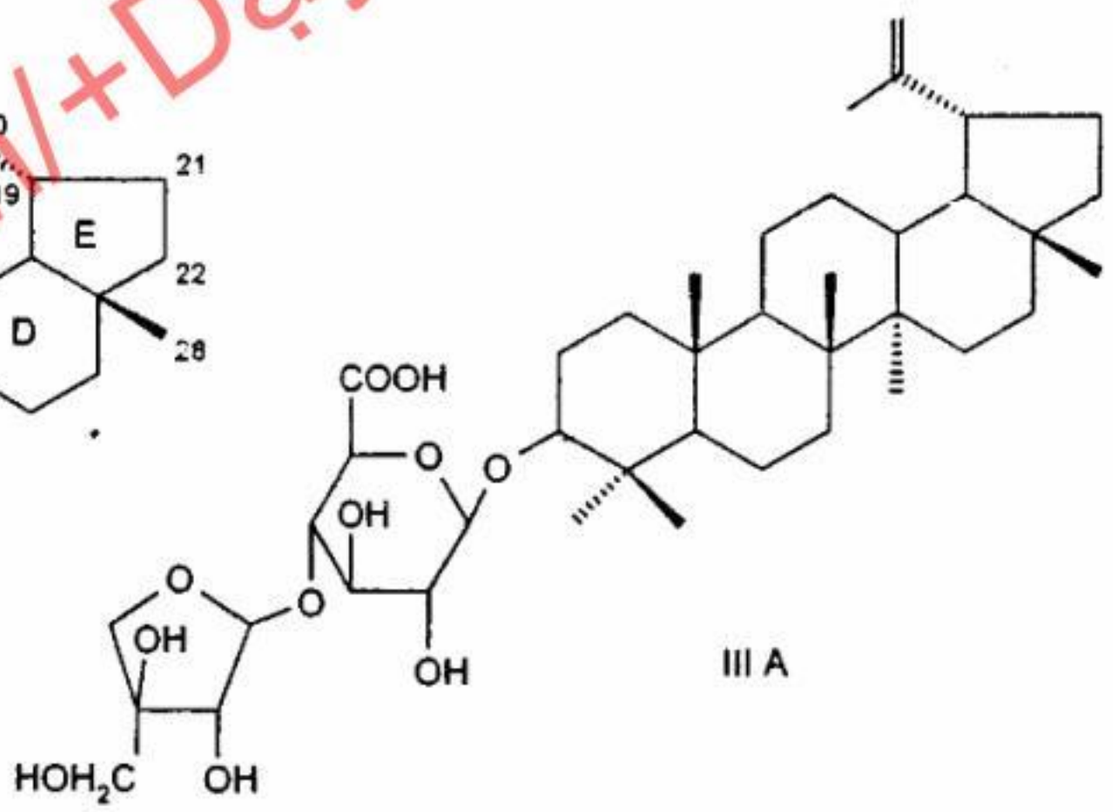
1.1.4. Nhóm lupan

Nhóm lupan (III) có các vòng A, B, C, D giống hai nhóm trên, chỉ khác là vòng E là vòng 5 cạnh với C-20 ở ngoài vòng và hướng α.

Các sapogenin nhóm này thường có nối đôi ở C-20(29). Ví dụ như saponin α-*L*-arabinofuranosyl-(1→4)-β-*D*-glucurono-pyranosid]-3-β-hydroxy-lup-20(29)-en (IIIA) có trong rễ Ô rô *Acanthus iliciformis* L. Một số saponin có trong lá cây Ngũ gia bì chân chim (*Scheflera heptaphylla* (L.) Frodin) cũng thuộc nhóm này.



Lupan (III)



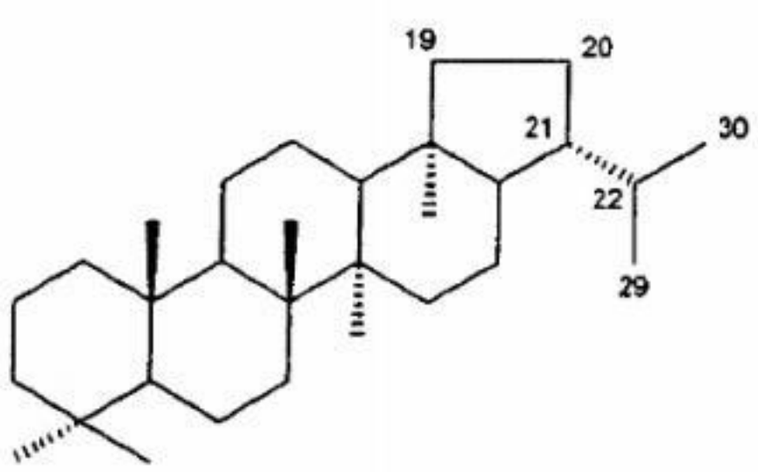
III A

1.1.5. Nhóm hopan

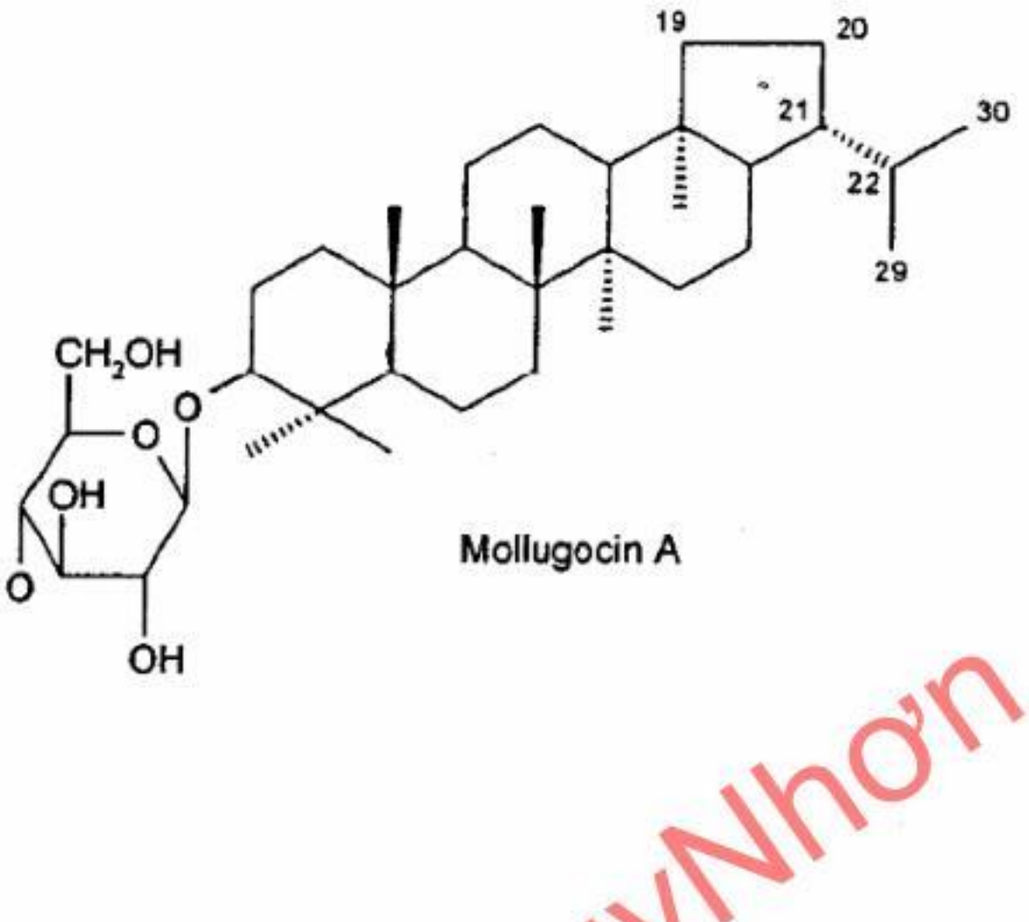
Cấu trúc của nhóm hopan có 5 vòng tương tự nhóm lupan chỉ khác ở nhóm methyl góc đính ở C-18 hướng α. Thay vì đính ở C-17 hướng β; C-22 ở ngoài vòng hướng α. Saponin đầu tiên được biết là chất mollugocin A có trong Cỏ thảm *Mollugo hirta* L.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Hopan



Mollugocin A

1.1.6. Các nhóm khác

Ngoài các nhóm kể trên, saponin triterpenoid năm vòng còn có các nhóm nhỏ khác ít gặp hơn như taraxeran, glutinan... mà sự khác biệt chủ yếu là ở cấu hình của khung (sự dung hợp giữa các vòng) và sự chuyển vị của các nhóm methyl. Đôi khi cũng gặp các sapogenin có vòng bị mở (các cấu trúc *seco*~) hay thêm một hay hơn một carbon (các cấu trúc homo~), thiếu một carbon trên khung (các cấu trúc *nor*~).

1.2. Saponin triterpenoid bốn vòng

Saponin triterpenoid 4 vòng (saponin triterpenoid tetracyclic) có bốn nhóm là dammaran, lanostan, tirucallan và cucurbitan.

1.2.1. Nhóm dammaran

Đại diện cho nhóm này là các saponin của Nhân sâm. Phần aglycon gồm 4 vòng: A, B, C (6 cạnh), D (5 cạnh) và một mạch nhánh 8 carbon. Do có nhóm OH đính vào C-20 nên khi tác dụng bởi acid, mạch nhánh dễ bị đóng vòng tạo thành vòng tetrahydropyran. Bằng các phương pháp đặc biệt để cắt phần đường, ví dụ như oxy hóa bằng iodat, người ta đã thu được hai genin chính của các saponin Nhân sâm là protopanaxadiol và protopanaxatriol. Phần đường nối vào OH ở carbon C-3 hoặc C-20 để tạo thành glycosid. Cũng có một số saponin có cả 2 mạch đường (xem dược liệu Nhân sâm). Saponin triterpenoid bốn vòng nhóm dammaran còn gặp trong một số dược liệu khác như hạt Táo[1], Rau đắng biển[2] hay Cổ yếm[3].

---

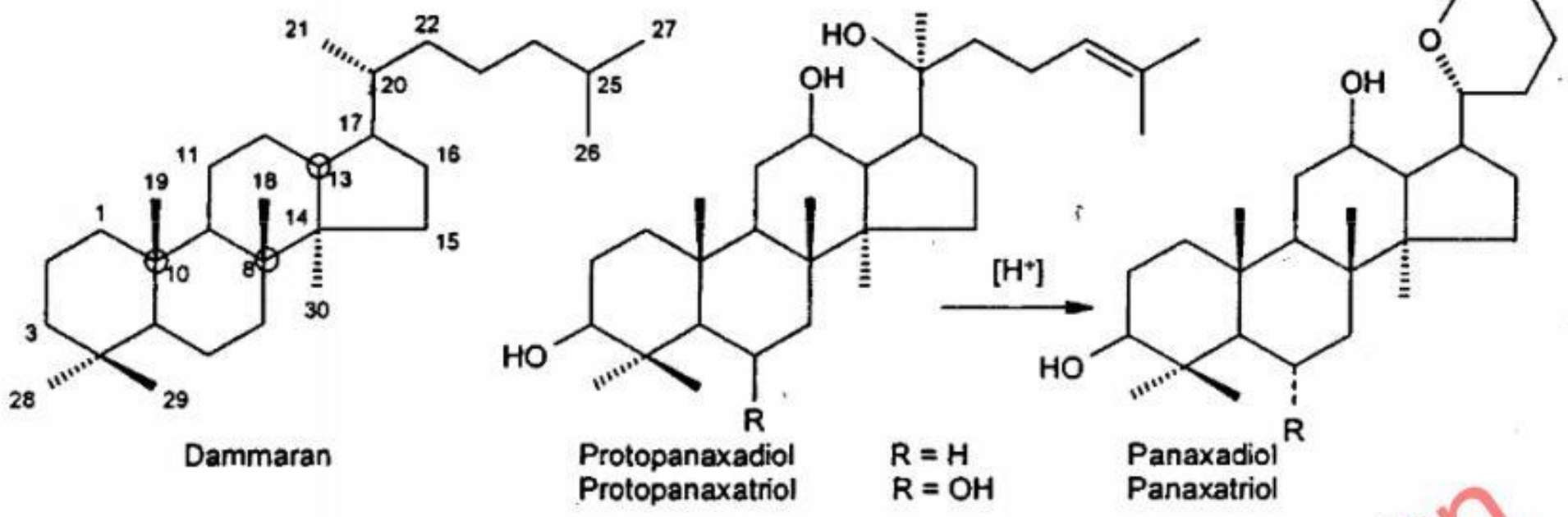
[1] Hạt của cây Táo - *Ziziphus jujuba* Mill. Rhamnaceae. Saponin của hạt Táo có tác dụng an thần.

[2] Rau đắng biển - *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. Scrophulariaceae có tác dụng chữa ho, lợi tiểu, ngừa suy giảm trí nhớ.

[3] Cổ yếm (hay còn gọi là Giảo cổ lam) – *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino, Cucurbitaceae.

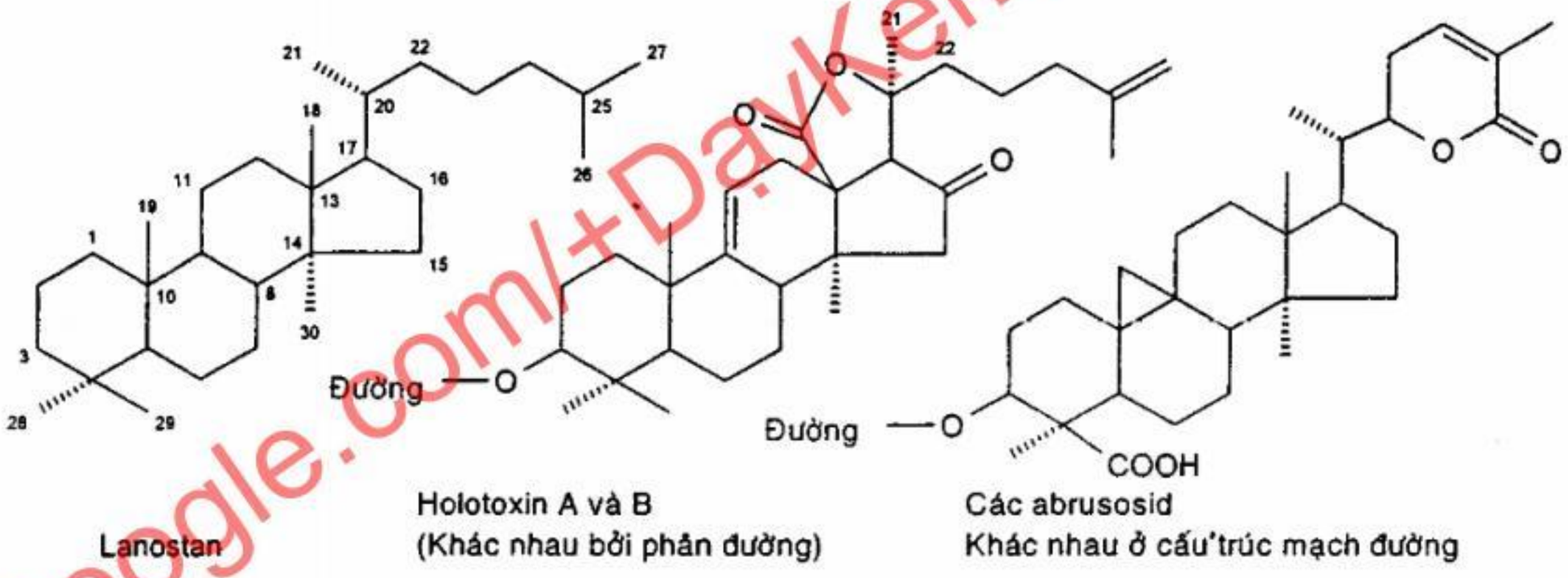
Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



1.2.2. Nhóm lanostan

Cấu trúc của nhóm lanostan gần giống với dammaran, chỉ khác ở chỗ nhóm methyl góc đính vào vị trí C-13 thay vì C-8. Nhóm được chia thành 2 nhóm phụ:



Nhóm phụ holostan: do có sự đóng vòng lacton giữa C-18 và OH ở C-20, đại diện là Holotoxin A, B có trong các loài hải sâm - *Holothuria* spp.

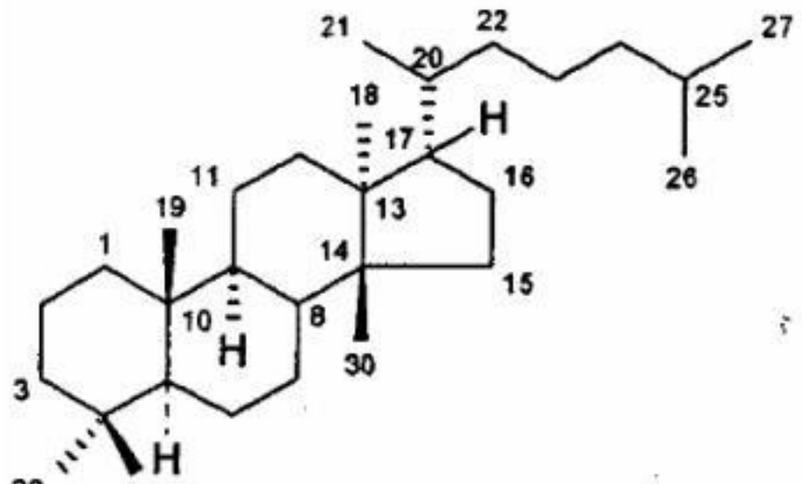
Nhóm phụ cycloartan: có cấu trúc 9,19-cyclo-(9β)-lanostan. Các saponin abrusosid A, B, C, D có trong Cam thảo dây *Abrus precatorius* L. hay saponin trong *Astragalus sieberi* DC. là những ví dụ.

1.2.3. Nhóm tirucallan

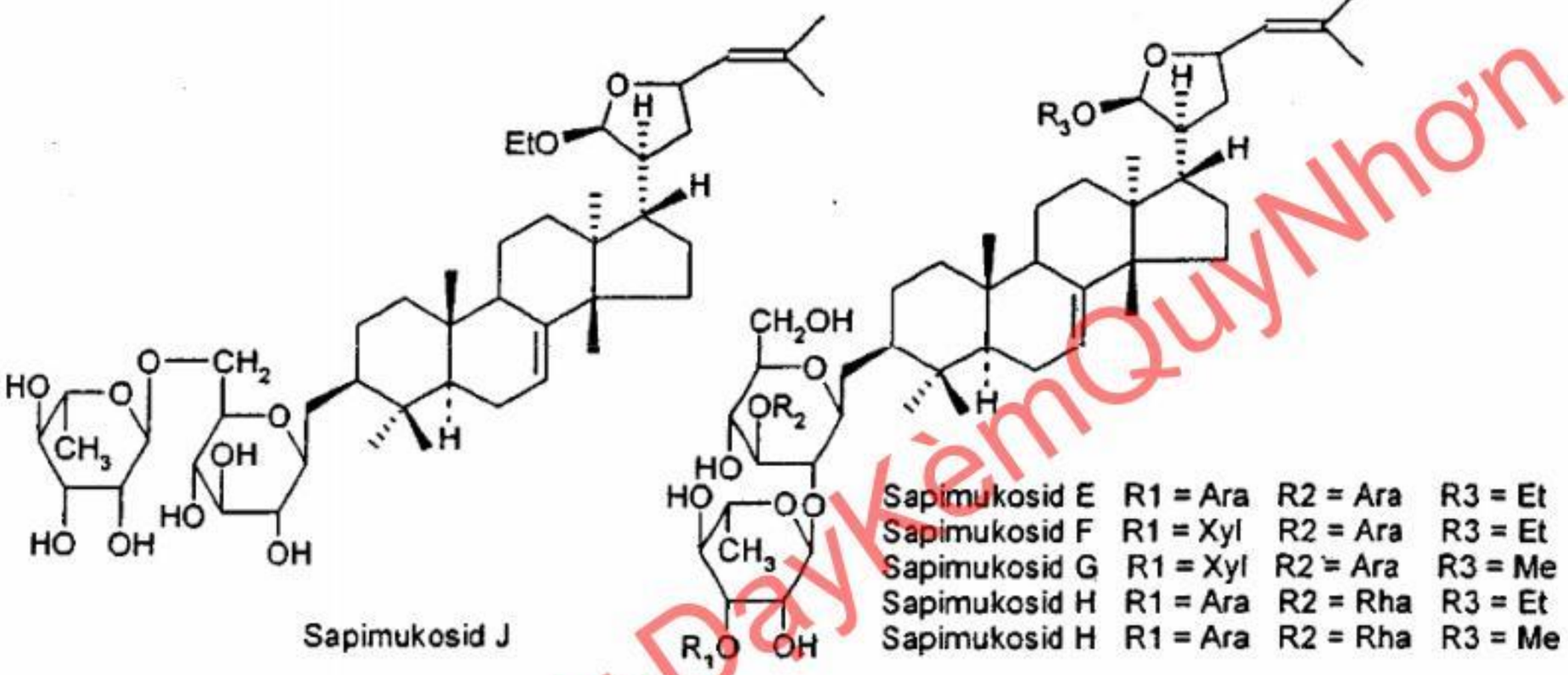
Saponin nhóm tirucallan có cấu tạo tương tự như lanostan nhưng khác ở cấu hình của C-20 và các nhóm thế methyl ở C-18, 21 và 30. Các saponin của rễ cây Bồ hòn (*Sapindus mukorossi* Gaertn.) thuộc nhóm này. Ví dụ các sapimukosid E - J.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Tirucallan

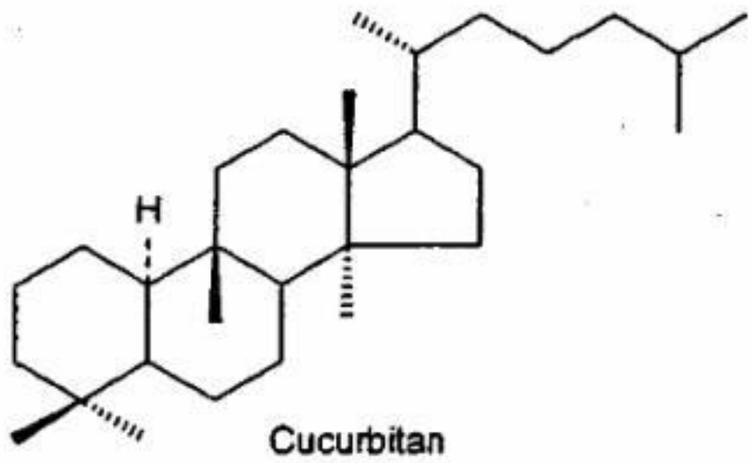


Sapimukosid J

Sapimukosid E	R1 = Ara	R2 = Ara	R3 = Et
Sapimukosid F	R1 = Xyl	R2 = Ara	R3 = Et
Sapimukosid G	R1 = Xyl	R2 = Ara	R3 = Me
Sapimukosid H	R1 = Ara	R2 = Rha	R3 = Et
Sapimukosid H	R1 = Ara	R2 = Rha	R3 = Me

1.2.4. Nhóm cucurbitan

Phần lớn các saponin nhóm cucurbitan gặp trong họ Cucurbitaceae do đó mà có tên như trên. Ở cucurbitan, có một sự chuyển vị của nhóm CH_3 so với các cấu trúc thông thường khác. Nhóm CH_3 góc thay vì đính ở vị trí C-10 lại ở C-9 hướng β còn H ở C-10 là một hydro hướng α.



Cucurbitan

Hiện nay có trên 70 chất đã được biết cấu trúc. Ví dụ như một số chất trong Mướp đắng (*Momordica charantia* L.) như momordicosid A (= 3-*O*-β-gentiobiosid của cucurbit-5-en-3,22,23,24,25-pentol); momordicosid B (= 3-*O*-[6-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-4-*O*-β-*D*-xylopyranosyl-β-*D*-glucopyranosid] của aglycon như chất trên); momordicosid C (= 3-*O*-β-gentiobiosid của cucurbit-5-en-3,23,24,25-tetrol); momordicosid D (= 3-*O*-β-gentiobiosid của cucurbita-5,24-dien-3,22,23-triol).

Cucurbitacin cũng có thể gặp ở những họ thực vật khác. Ví dụ như bacobitacin A - D trong Rau đắng biển (*Bacopa monieri* (L.) Wettst, Scrophulariaceae). (Xem phần dược liệu)

Nhiều chất thuộc nhóm này có tác dụng kháng khối u và hầu hết có vị đắng.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

2. Saponin steroid

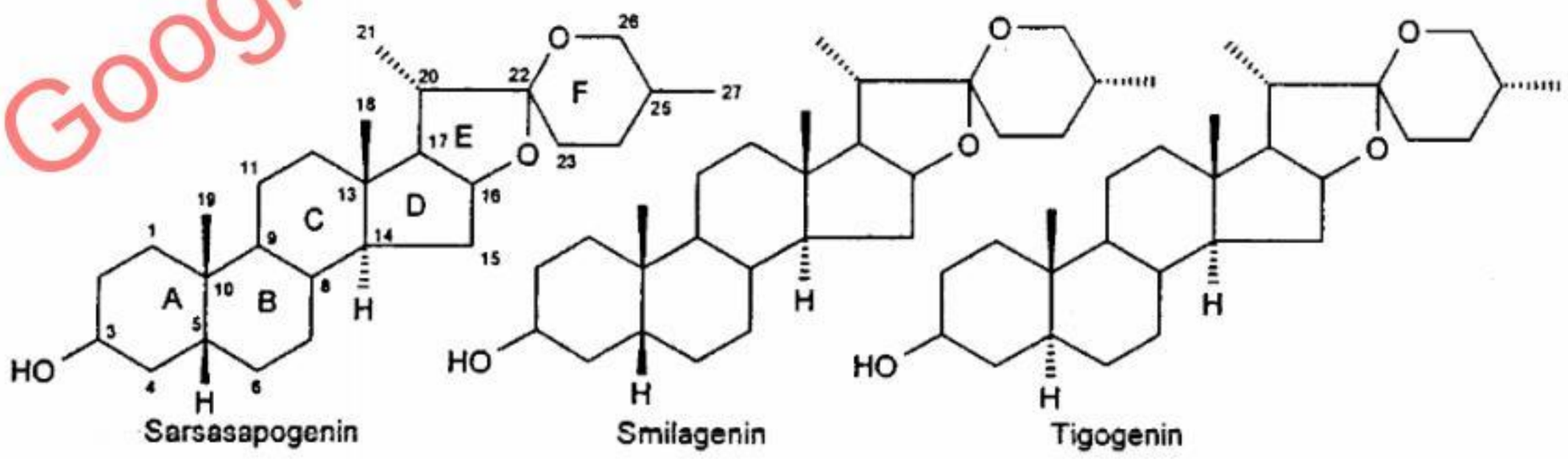
Nhóm này có cấu trúc cơ bản là khung cholestan với 27 carbon trong đó mạch nhánh của khung steroid thường đóng vòng với dị tố oxy hay nitơ tạo thành một hay hai dị vòng là E (năm cạnh) và F (6 cạnh). Khác với sapogenin triterpenoid, dung hợp của vòng A/B của steroid có thể là *trans* hay *cis*. Dung hợp giữa các vòng còn lại tương tự như saponin triterpenoid. B/C và C/D là *trans* (khác với C/D của glycosid tim), còn D/E (trường hợp của nhóm solanidan) là *cis*. Các sapogenin nhóm này ít có các nhóm thế trên khung, ngoại trừ nhóm OH ở C-3. Nối đôi có thể gặp ở vị trí C-5. Sự khác biệt giữa các saponin chủ yếu là trên mạch nhánh để tạo nên các nhóm khác nhau. Saponin steroid được chia thành 2 phân nhóm là saponin steroid thông thường với dị tố trong vòng E và F chỉ là oxy và saponin steroid alcaloid với N trong phân tử.

2.1. Saponin steroid

2.1.1. Nhóm spirostan

Mạch nhánh từ C-20 - C-27 tạo thành 2 vòng có oxy, một vòng hydrofuran (vòng E) và một vòng hydropyran (vòng F). Hai vòng này nối với nhau bởi 1 carbon chung ở C-22 kiểu spiran. Thêm vào đó, hai cầu epoxy ở 16,22 và 22,26 là kiểu acetal do đó mạch nhánh này được gọi là mạch nhánh spiroacetal.

Xét 3 chất sarsasapogenin, smilagenin và tigogenin làm ví dụ.

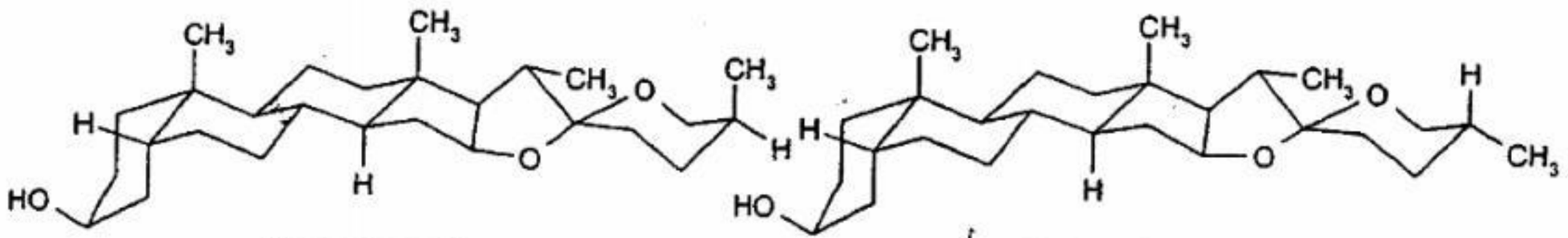


Sarsasapogenin Smilagenin Tigogenin

Ba chất trên là 3 đồng phân của nhau. Smilagenin và tigogenin khác nhau do cấu hình ở C-5, smilagenin là 5β, tigogenin là 5α. Còn sarsasapogenin và smilagenin thì khác nhau do cấu hình ở C-25. Sarsasapogenin có nhóm methyl ở C-25 hướng axial, có cấu hình tuyệt đối *25S*, còn smilagenin có nhóm methyl ở C-25 hướng equatorial với cấu hình tuyệt đối *25R*. Công thức lập thể của sarsasapogenin, smilagenin và tigogenin như sau:

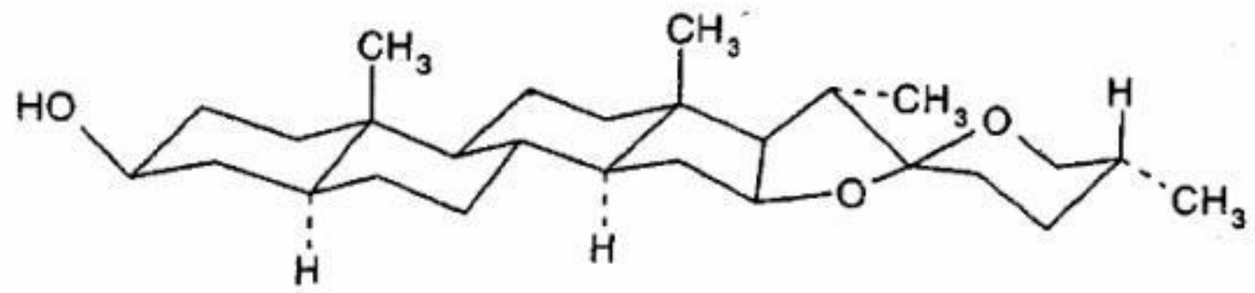
Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn



Sarsasapogenin

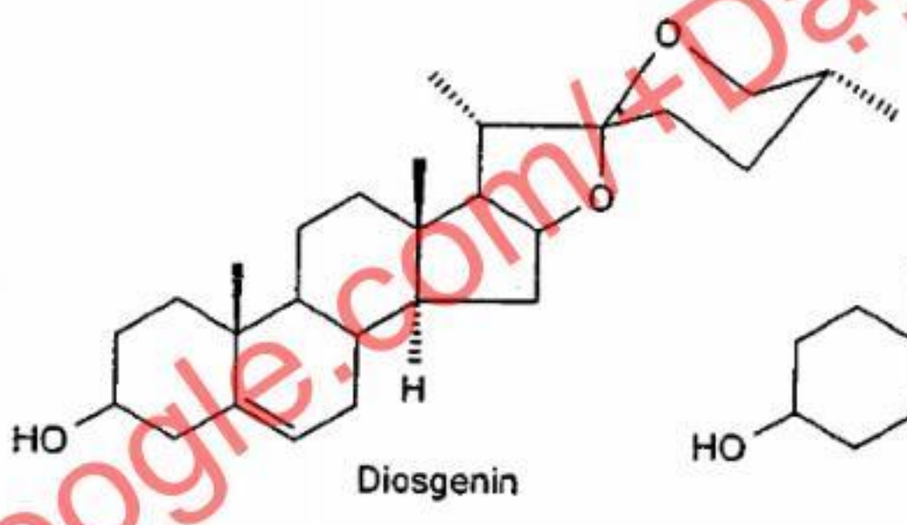
Smilagenin



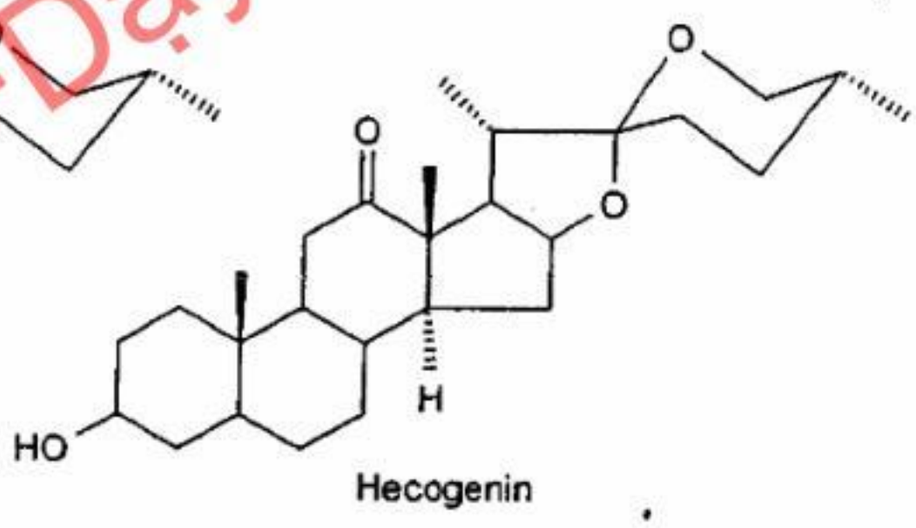
Tigogenin

Nhóm OH ở C-3 thường hướng β, một số hướng α như một số sapogenin trong tỳ giải.

Nhóm spirostan hiện nay được chú ý nhiều vì là nguồn nguyên liệu quan trọng để bán tổng hợp các thuốc steroid. Hai sapogenin quan trọng nhất là diosgenin (có chủ yếu trong các loài *Dioscorea*) và hecogenin (có chủ yếu trong các loài *Agave*).

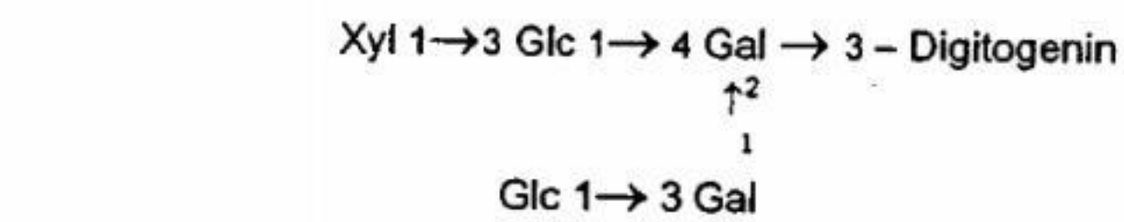


Diosgenin



Hecogenin

Ở dạng glycosid, phần đường được nối vào OH ở C-3, một số ít trường hợp ở C-1 ví dụ saponin của Mạch môn. Mạch đường thường phân nhánh và phức tạp. Ví dụ digitonin, saponosid có trong cây *Digitalis*, có mạch đường gồm 5 đơn vị đường và phân nhánh:

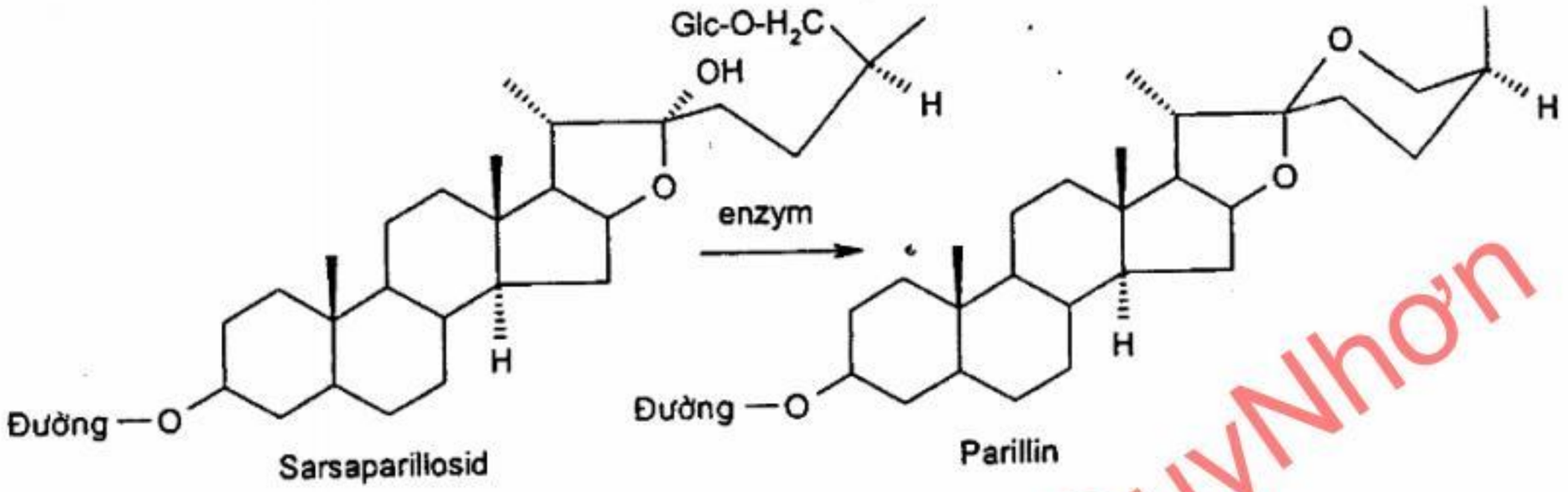


2.1.2. Nhóm furostan

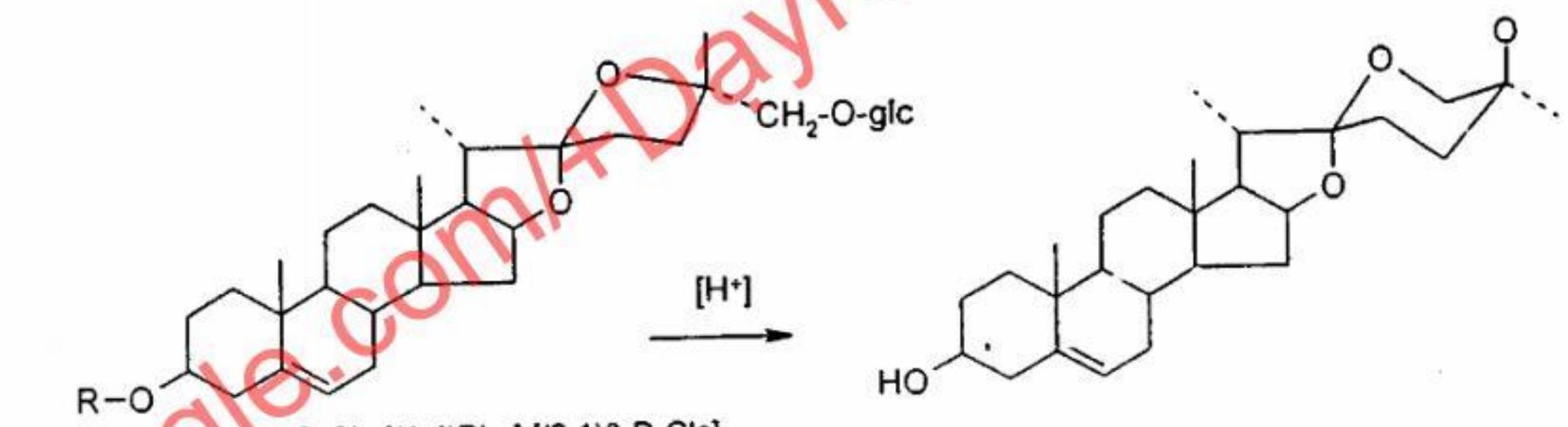
Saponin furostan có cấu trúc tương tự như spirostan chỉ khác là vòng F bị biến đổi.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Trường hợp thứ nhất: vòng F mở và nhóm alcol bậc một ở C-26 được nối với đường glucose. Nếu glucose ở C-26 bị cắt bởi enzym hoặc acid thì sẽ xảy ra sự đóng vòng tạo thành vòng hydropyran **F**, nghĩa là chuyển thành nhóm spirostan. Ví dụ, sarsaparillosid dưới tác dụng của enzym thủy phân bị cắt mạch glucose ở C-26 thành parillin.



Trường hợp thứ hai: vòng F là vòng 5 cạnh do sự đóng vòng 22-25 epoxy. Ví dụ, avenacosid A, B có trong Yến mạch[1]. Avenacosid có 2 mạch đường, khi thủy phân cắt phần đường glucose ở C-26 cũng chuyển thành dẫn chất nhóm spirostan.

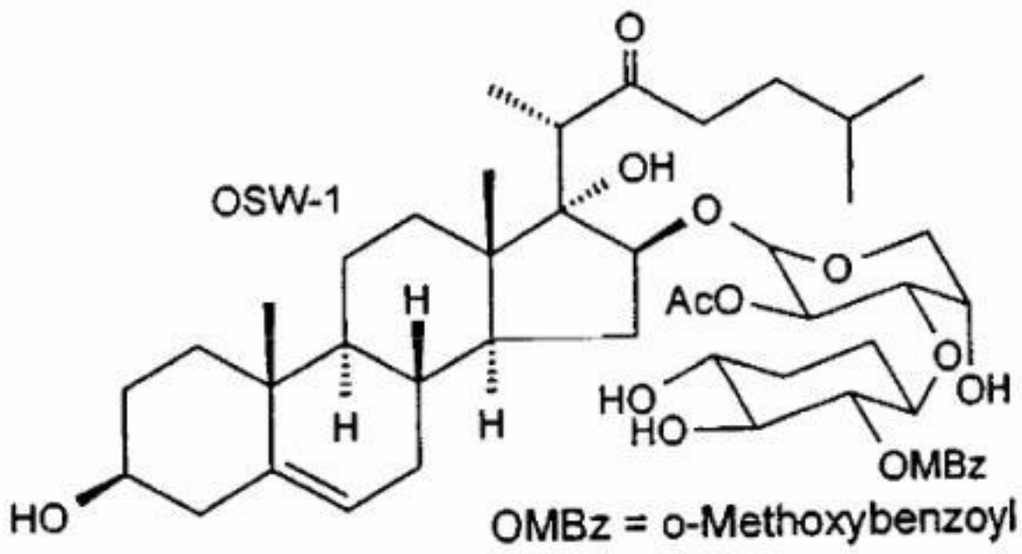


Avenacosid A R = β-D-Glc-[(1-4)Rha]-[(2-1)β-D-Glc]
Avenacosid B R = β-D-Glc-[(1-4)Rha]-[(2-1)β-D-Glc-(3-1)-β-D-Glc]

Isonuatigenin

Ghi chú: ngoài các nhóm như trên, các steroid glycosid có phần genin với dây nhánh ở C17 mở đôi khi cũng được xếp vào nhóm saponin.

Ví dụ như nhóm saponin có cấu trúc cholestan mà đại diện là saponin OSW-1 của *Ornithogalum saudersiae*. OSW-1 có độc tính trên nhiều dòng tế bào ung thư ác tính như Leukemia HL-60, mastrocacinom, adenocarcinoma, P-388 với IC_{50} chỉ từ 0,1 – 0,7 nm, khoảng 100 lần mạnh hơn các chất đang sử dụng điều trị ung thư trên lâm sàng.



OMBz = o-Methoxybenzoyl

[1] Yến mạch - *Avena* L. Họ Lúa (Poaceae) là một loại ngũ cốc trồng ở vùng có khí hậu lạnh.

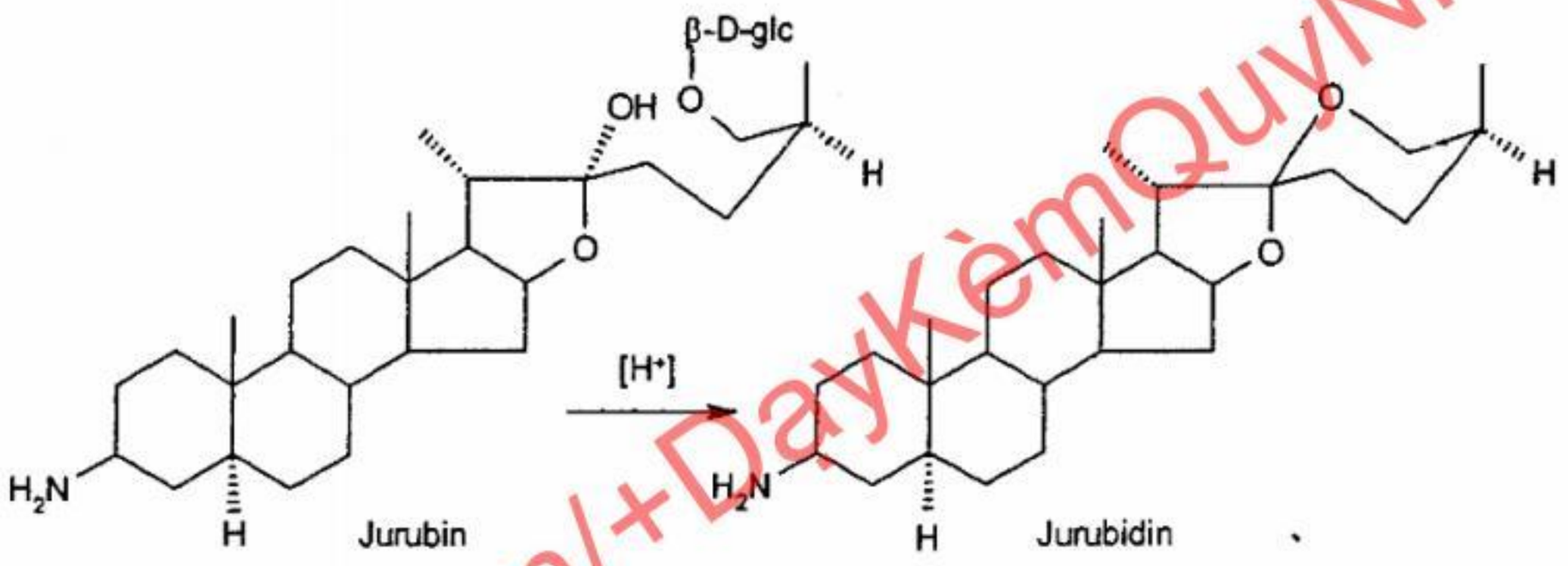
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

2.2. Nhóm saponin steroid alkaloid

Saponin thuộc nhóm này có chứa N trong phân tử nên có tính kiềm giống như alcaloid.[1] Tuy nhiên, do nitơ trong phân tử không phải là từ acid amin nên chúng được xem là các pseudoalcaloid. Do có thêm nitơ có tính kiềm nên chúng vừa mang tính chất glycosid vừa mang tính chất alcaloid. Chúng còn được gọi là các glycoalcaloid.

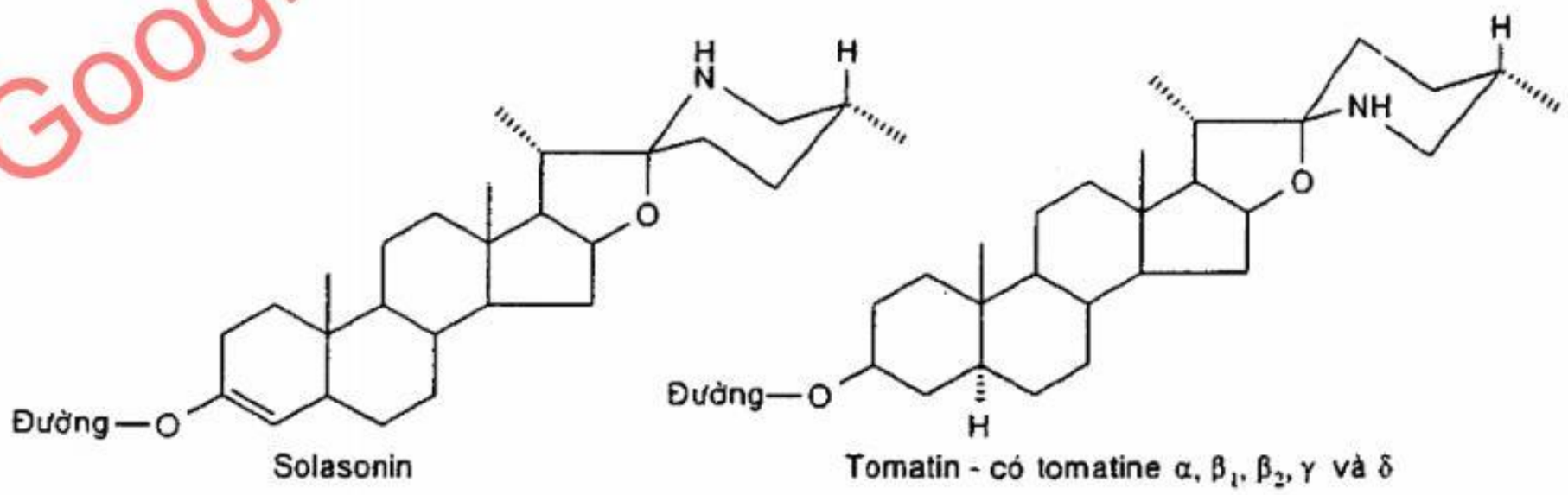
2.2.1. Nhóm aminofurostan

Cấu trúc của nhóm aminofurostan tương tự như furostan với vòng F mở như trường hợp sarsaparillosid nói ở trên nhưng ở vị trí C-3 thay vì đính nhóm OH lại là NH_2. Jurubin, saponin có trong *Solanum paniculatum* Ait. và *S. torvum* Sw. là một ví dụ.



2.2.2. Nhóm spirosolan

Nhóm này chỉ khác nhóm spirostan ở nguyên tử oxy của vòng F được thay bằng NH.



Một điểm cần chú ý là C-22 có thể hướng α hoặc β (khác với nhóm spirostan luôn luôn hướng α). Ví dụ solasonin có trong cây Cà lá xẻ (= Cà Úc) - *Solanum laciniatum* Ait. có cấu trúc (*25R*) 22α còn tomatin[2] là các saponin có trong cây Cà chua có cấu trúc (*25S*) 22β.

---

[1] Xem bài giảng Dược liệu, tập II

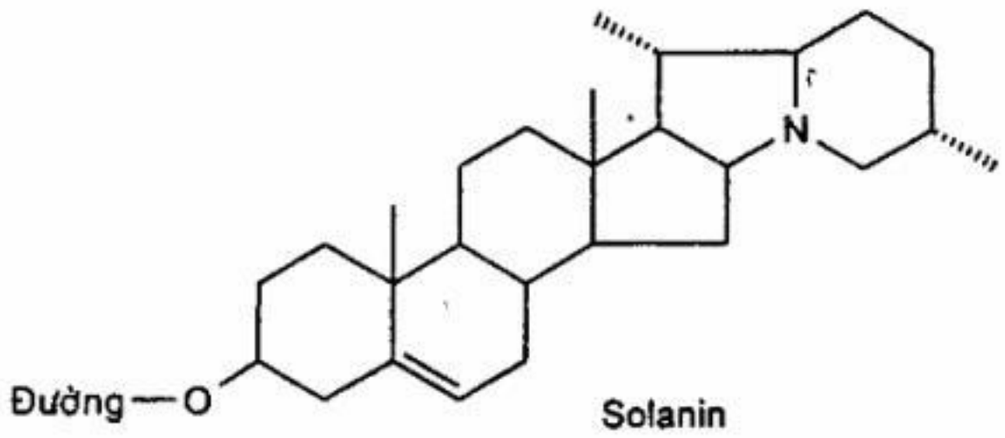
[2] Trong tài liệu, tomatine (có chữ e) để chỉ các saponin tinh khiết, tomatin để chỉ hỗn hợp chưa tinh khiết.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

2.2.3. Nhóm solanidan

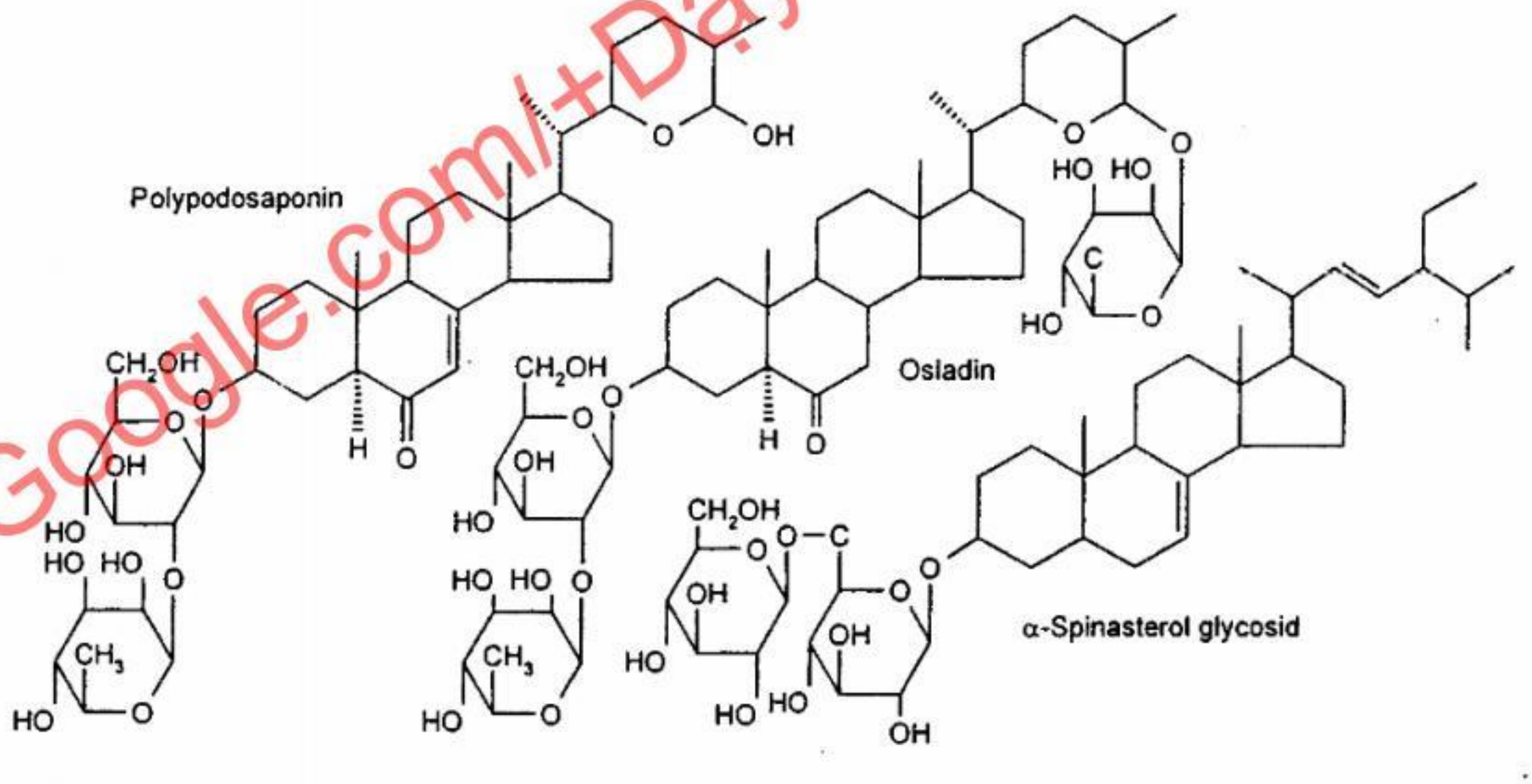
Solanidan có 2 vòng E và F cùng chung 1 carbon và 1 nitơ. Solanin có trong mầm khoai tây thuộc nhóm này.



Solanin

2.3. Các nhóm khác

Ngoài những nhóm saponin steroid kể trên, người ta còn gặp một số saponin steroid có cấu trúc mạch nhánh kiểu khác nhưng vẫn đủ 8 carbon trên nhánh. Ví dụ polypodosaponin và osladin được Jizba phân lập 1971 từ thân rễ cây *Polypodium vulgare* L. (Polypodiaceae). Osladin là một bidesmosid có vị ngọt. Riêng α-spinasterol glycosid là một saponin có trong cây Chè *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (*Thea sinensis* L.) thì mạch nhánh có 10 carbon.



III. TÍNH CHẤT CỦA SAPONIN

Saponin thường là những chất vô định hình, không màu tới màu trắng ngà. Một số saponin có mạch đường ngắn có thể kết tinh. Sapogenin thường là những chất kết tinh không màu.

Đa số saponin có vị nhẫn đắng trừ một số chất có vị ngọt như glycyrrhizin có trong Cam thảo bắc, abrusosid A trong Cam thảo dây, osladin trong *Polypodium vulgare* L. có vị ngọt.

Google.com/+DayKemQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Saponin là những chất phân cực nên có thể tan trong các dung môi phân cực như các alcol, hỗn hợp cồn - nước, nước và các dung môi phân cực khác như dimethyl sulfoxid, dioxan, acid acetic, pyridin. Butanol là một dung môi hòa tan tương đối chọn lọc các saponin có mạch đường ngắn tới trung bình nên thường được dùng để tinh chế saponin bằng cách phân bố với nước. Các saponin có mạch đường dài có thể tan tốt trong nước. Saponin rất ít tan trong aceton, ether, hexan do đó người ta dùng các dung môi này thêm vào dung dịch cồn để kết tủa saponin. Saponin có thể bị tủa bởi chì acetat, bari hydroxyd và muối ammoni sulfat.

Tính tan của sapogenin thì ngược lại, chúng tan tốt trong các dung môi kém phân cực tới phân cực trung bình như benzen, chloroform và tan một phần trong methanol, ethanol. Sapogenin và dẫn chất acetyl sapogenin thường dễ kết tinh hơn saponin.

Saponin có tính chất hoạt động bề mặt. Đặc tính này được giải thích bởi tính chất vừa thân dầu vừa thân nước của phân tử saponin. Phần aglycon có tính thân dầu còn phần đường có tính thân nước. Khả năng tạo bọt của saponin thay đổi theo cấu trúc của saponin: phần genin, số mạch đường, chiều dài mạch đường... Nhờ đặc tính này mà saponin tạo bọt nhiều khi lắc với nước, có tác dụng nhũ hoá và tẩy sạch. Không phải tất cả saponin đều tạo bọt khi lắc với nước.

Do khối lượng phân tử lớn, saponin khó bị thẩm tích. Dựa vào tính chất này người ta tinh chế saponin.

Saponin có khả năng làm vỡ hồng cầu ngay ở những nồng độ rất loãng.

Saponin độc đối với cá vì saponin làm tăng tính thấm của biểu mô đường hô hấp nên làm mất các chất điện giải cần thiết.. Saponin có tác dụng diệt các loài thân mềm như giun, sán, ốc sên cũng do làm ảnh hưởng đến lớp biểu mô.

Saponin có tính chất kích ứng niêm mạc, gây hắt hơi, đỏ mắt; liều cao gây nôn mửa, đi lỏng.

Saponin có thể tạo phức với cholesterol hoặc với các chất 3-β-hydroxysteroid khác.

Tuy vậy một vài tính chất trên không thể hiện ở một vài saponin. Ví dụ: sarsaparillosid không có tính phá huyết cũng như tính tạo phức với cholesterol.

Do các nhóm thế trên phân tử, các saponin có thể thể hiện tính acid hay kiềm. Do đó người ta còn có thể phân thành saponin acid, saponin kiềm

III. KIỂM NGHIỆM DƯỢC LIỆU CHỨA SAPONIN

1. Dựa trên tính chất tạo bọt

Đây là tính chất đặc trưng nhất của saponin do phân tử saponin lớn và có cùng một lúc một đầu ưa nước và một đầu kỵ nước nên saponin có đặc tính làm

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

giảm sức căng bề mặt của nước và tạo bọt. Tính chất này được dùng để định tính saponin trong dược liệu.

1.1. Thử nghiệm tạo bọt

Dược liệu được chiết bằng cồn 70%, dịch chiết được bốc hơi dung môi và hòa tan lại trong một ít nước. Lấy dung dịch này cho vào một ống nghiệm 1,6 x 16 cm. Thêm nước cất, dùng ngón tay cái bịt miệng ống nghiệm và lắc mạnh theo chiều dọc ống nghiệm trong 1 phút (= 30 lần lắc). Quan sát lớp bọt sau 15 phút, nếu ống nghiệm còn bọt trên bề mặt dung dịch chứng tỏ có saponin.

Người ta cũng dựa trên hiện tượng gây bọt ở môi trường kiềm và acid để sơ bộ phân biệt saponin steroid và triterpenoid: lấy 1g bột nguyên liệu thực vật, thêm 5 ml cồn, đun sôi cách thủy 15 phút. Lấy 2 ống nghiệm cỡ bằng nhau, cho vào ống thứ nhất 5 ml HCl 0,1N (pH 1), vào ống thứ hai 5 ml NaOH 0,1N (pH 13). Cho thêm vào mỗi ống 2 - 3 giọt dung dịch cồn chiết rồi bịt ống nghiệm, lắc mạnh cả 2 ống trong 15 giây. Để yên, nếu cột bọt trong cả 2 ống cao ngang nhau và bền như nhau thì sơ bộ xác định trong dược liệu có saponin triterpenoid. Nếu ống kiềm có cột bọt cao hơn ống kia thì sơ bộ xác định là saponin steroid.

1.2. Xác định chỉ số bọt

Có thể dựa vào *chỉ số bọt* để đánh giá một nguyên liệu chứa saponin. Chỉ số bọt là số ml nước để hoà tan saponin trong 1 g nguyên liệu cho một cột bọt cao 1 cm sau khi lắc và đọc (tiến hành trong điều kiện qui định).

Cách tiến hành:

Cân 1g bột nguyên liệu (qua rây số 32), cho vào bình nón có thể tích 500 ml đã chứa sẵn 100 ml nước sôi, giữ cho sôi nhẹ trong 30 phút, lọc, để nguội và thêm nước cho đúng 100 ml. Lấy 10 ống nghiệm có chiều cao 16 cm và đường kính 16 mm, cho vào các ống nghiệm lần lượt 1, 2, 3, ..., 10 ml nước sắc, thêm nước cất vào các ống cho đủ mỗi ống 10 ml. Bịt miệng các ống nghiệm rồi lắc theo chiều dọc trong 15 giây, mỗi giây 2 lần lắc. Để yên 15 phút và đo chiều cao của các cột bọt. Nếu cột bọt trong các ống thấp dưới 1 cm thì chỉ số bọt dưới 100. Nếu ống có cột bọt cao 1 cm nằm giữa giai mẫu, ví dụ ống số 4, thì tính như sau: ống này có 4 ml dịch chiết 1% tương ứng với 0,04g bột dược liệu thì chỉ số là:

$$CSB = \frac{10 \times 1}{0,04} = 250$$

Nếu chỉ số bọt nằm trong ống số 1 - 2 thì cần pha loãng để có chỉ số nằm giữa giai mẫu.

2. Dựa trên tính chất phá huyết

Khả năng làm vỡ hồng cầu bởi một dung dịch loãng cũng là tính chất đặc trưng của saponin. Tuy cũng có một vài saponin không thể hiện rõ tính chất này. Khả năng phá huyết của từng loại saponin cũng khác nhau. Người ta cho rằng tính phá huyết có liên quan đến sự tạo phức với cholesterol và các ester của nó trong màng hồng cầu, nhưng lại thấy rằng giữa chỉ số phá huyết và khả năng tạo phức với cholesterol có nhiều trường hợp không tỷ lệ thuận với nhau.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Vì thế người ta cho rằng còn phải xét thêm ảnh hưởng của saponin trên các thành phần khác của màng hồng cầu. Qua theo dõi tính phá huyết của saponin người ta thấy rằng cấu trúc của phần aglycon có tác dụng trực tiếp đến tính phá huyết nhưng phần đường cũng có ảnh hưởng. Hồng cầu của các động vật khác nhau cũng bị tác động khác nhau đối với một saponin. Hồng cầu cừu dễ bị phá huyết nên dùng tốt. Có thể dùng máu của súc vật có sừng khác hoặc máu thỏ, thường dễ kiếm hơn đối với các phòng thí nghiệm.

Để đánh giá một nguyên liệu chứa saponin, người ta dựa trên *chỉ số phá huyết*. Chỉ số phá huyết là số ml dung dịch đệm cần thiết để hoà tan saponin có trong 1g nguyên liệu gây ra sự phá huyết đầu tiên và hoàn toàn đối với một thứ máu đã chọn (tiến hành trong điều kiện qui định).

Cách tiến hành:

- Pha dung dịch đệm:

  Dung dịch mono kali phosphat 9,07 % 28 ml

  Dung dịch dinatri phosphat 11,87 % 162 ml

  NaCl tinh khiết 1,8 g

- Pha dung treo máu:

  Để làm cho máu không đông cần phải loại fibrin bằng cách lấy 300 ml máu súc vật có sừng mới cắt tiết cho vào bình 1 lít có miệng rộng, dùng đũa quấy tròn đều hoặc cho vào bình một ít bi thủy tinh và lắc tròn khoảng 10 phút, lọc qua gạc để loại fibrin. Bảo quản trong tủ lạnh thì máu này có thể dùng được vài ngày. Từ máu đã loại fibrin này đem pha thành dung treo máu 2% với dung dịch đệm đẳng trương. Có thể tiến hành chống đông máu và pha thành dung treo máu để làm thí nghiệm bằng cách khác như sau: Lấy 4,5 ml máu thỏ trộn với 0,5 ml dung dịch 3,65% natri citrat rồi thêm 220 ml dung dịch đệm.

- Pha dung dịch saponin:

  Bột nguyên liệu đã rây qua rây 0,5 mm, cân chính xác 0,5 - 1 g, cho vào bình, thêm dung dịch đệm (50 - 100 ml) rồi đặt lên bếp cách thuỷ đang sôi trong 30 phút. Lọc rồi pha đến thể tích chính xác.

- Thử sơ bộ:

  Pha các hỗn hợp theo bảng dưới đây:

Ống (ml)	I	II	III	IV
Dung dịch chiết dược liệu	0,10	0,20	0,50	1,00
Dung dịch đệm	0,90	0,80	0,50	-
Dung treo máu 2%	1,00	1,00	1,00	1,00

Lắc nhẹ ngay hỗn hợp (tránh tạo bọt). Sau 30 phút, lắc lại rồi để yên trong 6 giờ ở nhiệt độ phòng. Quan sát các ống và xác định ống (hoặc các ống) có hiện tượng phá huyết hoàn toàn, nghĩa là ống đỏ đều và trong, không có hồng cầu lắng đọng.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Nếu chỉ có ống IV có hiện tượng phá huyết hoàn toàn thì dùng ngay dịch chiết dược liệu ban đầu. Nếu ống III và IV có hiện tượng phá huyết hoàn toàn thì dùng dung dịch đệm để pha loãng gấp đôi (1:1). Nếu phá huyết hoàn toàn ở cả 3 ống II, III, IV thì pha loãng gấp 5 (1:4). Trong trường hợp cả 4 ống đều trong suốt và đỏ thì pha loãng dịch chiết dược liệu gấp 10 lần (1:9) và làm lại thí nghiệm sơ bộ từ đầu. Nếu cả 4 ống đều không có hiện tượng phá huyết hoàn toàn thì tiến hành thử sơ bộ lại với dịch chiết nguyên liệu đậm đặc hơn.

- Thử nghiệm quyết định:

Lấy 20 ống nghiệm nhỏ (còn gọi là ống phá huyết), đánh số thứ tự rồi cho vào mỗi ống từ 1 - 20 lần lượt các dung dịch như sau:

Dịch chiết nguyên liệu theo thứ tự tăng dần: ống thứ nhất 0,05 ml, ống thứ hai 0,10 ml, ... , dung dịch đệm theo thứ tự giảm dần: ống thứ nhất 0,95 ml, ống thứ hai 0,90 ml, ... , dung treo máu 2 % mỗi ống 1 ml.

Sau đó lắc nhẹ ngay để trộn đều. Sau 30 phút lắc lại 1 lần nữa. Sau 24 giờ đọc kết quả: tìm ống đầu tiên có hiện tượng phá huyết hoàn toàn, tính độ pha loãng của nguyên liệu trong ống đó. Chính độ pha loãng của ống này là chỉ số phá huyết của nguyên liệu. Có thể đọc kết quả sớm hơn bằng cách ly tâm 10 phút (1.500 vòng/phút) sau khi đã để yên 2 giờ.

3. Dựa trên độ độc đối với cá

Cá là động vật rất nhạy cảm với saponin nên người ta dùng các cây có saponin để thuốc cá[1]. Để đánh giá nguyên liệu chứa saponin, người ta có thể dựa vào *chỉ số cá*.

Chỉ số cá là độ pha loãng của nguyên liệu làm cho đa số cá trong một lô thử mất thăng bằng. Chỉ số cá cũng được tiến hành trong những điều kiện quy định như môi trường, loại cá...

4. Khả năng tạo phức với cholesterol

Những saponin triterpenoid tạo phức kém hơn loại steroid. Trong loại steroid thì digitonin kết hợp với cholesterol gần như hoàn toàn, do đó digitonin được dùng làm thuốc thử để định lượng cholesterol trong hóa sinh.

5. Các phản ứng màu

Acid sulfuric đậm đặc hòa tan các saponin và cho màu thay đổi từ vàng, đỏ, lơ - xanh lá hay lơ - tím (phản ứng Salkowski).

Saponin triterpenoid cho tác dụng với vanillin 1% trong HCl và hơ nóng (phản ứng Rosenthaler) sẽ có màu hoa cà.

Cho saponin tác dụng với antimoin trichlorid trong chloroform rồi soi dưới đèn tử ngoại $UV_{365\ nm}$, saponin triterpenoid có huỳnh quang xanh còn saponin steroid vàng.

---

[1] Đừng nhầm với rotenon, một hợp chất thuộc nhóm isoflavonoid cũng rất độc đối với cá và được dùng để diệt cá.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Phản ứng Liebermann - Burchard cũng hay dùng để phân biệt 2 loại sapogenin: lấy vài miligram sapogenin hòa nóng vào 1 ml anhydrid acetic, cho thêm 1 giọt H_2SO_4 đậm đặc, nếu là dẫn chất steroid thì có màu lơ – xanh lá, còn dẫn chất triterpenoid thì có màu hồng đến tía.

6. Sắc ký lớp mỏng

Chiết xuất và tinh chế sơ bộ saponin: đối với saponin trung tính và acid có thể tiến hành như sau: bột dược liệu được chiết với ether dầu hỏa để loại chất béo rồi chiết saponin bằng methanol - nước (4:1). Loại methanol dưới áp suất giảm. Hòa cặn trong nước để có dung dịch 10% rồi lắc với n-butanol. Tách lớp n-butanol, bốc hơi butanol dưới áp suất giảm rồi hòa cặn với methanol để có dung dịch chấm sắc ký. Có thể tinh chế thêm bằng cách rót từ từ dung dịch methanol vào ether có lượng lớn gấp 10 - 15 lần (có khi dùng aceton hoặc hexan thay ether).

Saponin kiềm thuộc nhóm spirosolan và solanidan có thể chiết như sau: bột dược liệu thêm methanol đun nóng đến sôi trên nồi cách thủy. Dịch lọc đem bốc hơi đến khô trên nồi cách thủy. Cắn được hoà tan trong acid acetic 5%, đun nóng đến 80°C rồi kiềm hoá bằng ammoniac. Tủa được ly tâm rồi hòa tan vào ethanol 96% để chấm sắc ký.

Sau đây là một vài hệ dung môi dùng để khai triển trên các bản mỏng silicagel-G.

Saponin triterpenoid:

a) Chloroform - methanol - nước (65:35:10).

b) Ethyl acetat - acid acetic - nước (8:2:1).

c) n-Butanol - ethanol (10:2).

Saponin nhóm spirostan:

a) Chloroform - methanol - nước (65:35:10).

b) Chloroform - methanol (8:2).

c) n-Butanol bão hòa nước.

Saponin kiềm:

a) Chloroform - ethanol - dung dịch amoniac 1 % trong nước (2:2:1).

b) Ethanol - pyridin - nước (3:1:3).

Cách phát hiện:

Dựa vào tính phá huyết bằng cách tráng một lớp gelatin - máu (hòa tan 5 g gelatin trong 100 ml dung dịch NaCl 9 ‰ ở 60°C, khi nguội đến 40°C thì thêm máu bò đã loại fibrin) hoặc phun dung treo máu 2% đã loại fibrin lên bản mỏng. Các vết saponin sẽ cho vết màu nhạt trên nền hồng đỏ.

Các thuốc thử dùng cho các loại saponin và sapogenin nêu dưới đây sau khi phun cần phải sấy 10 phút ở 110°C rồi quan sát màu ở ánh sánh thường hoặc ánh sáng tử ngoại

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

(365 nm): thuốc thử Carr - Price[1], thuốc thử Liebermann - Burchard[2], thuốc thử Salkowski[3], acid phosphomolybdic 10% trong ethanol, acid phosphotungstic 20% trong ethanol, dung dịch acid phosphoric 50% trong nước, dung dịch vanillin - sulfuric[4]. Các vết saponin sẽ cho các màu khác nhau, tùy loại thuốc thử và saponin.

Saponin nhóm spirostan còn có thể hiện màu bằng thuốc thử Sannié[5]. Phun dung dịch (a) rồi sấy 120°C trong 3 phút sau đó phun dung dịch (b), vết saponin có màu vàng.

Đối với nhóm spirostan và nhóm steroid alcaloid có thể dùng thuốc thử Carr - Price để phân biệt các dẫn chất có nối đôi và không có nối đôi ở vị trí C-5. Các dẫn chất Δ^5 có màu đỏ ở 20°C và tím đỏ sau khi sấy 105°C. Cũng có thể phân biệt 2 loại dẫn chất trên bằng thuốc thử Marquis[6], chỉ có loại Δ^5 cho phản ứng.

Các saponin nhóm spirosolan và solanidan có thể phát hiện bằng thuốc thử Dragendorff.

7. Xác định bằng quang phổ

Các sapogenin triterpenoid trong H_2SO_4 đậm đặc có đỉnh hấp thu cực đại trong vùng tử ngoại ở 310 nm. Cực đại này không thể hiện với các saponin steroid.

Phổ hồng ngoại của các sapogenin steroid đặc biệt có 4 pic đặc trưng của mạch nhánh spiroacetal: pic thứ nhất ở 850 - 857 cm^{-1} đối với các chất *25S* hoặc 860 - 866 cm^{-1} đối với các chất *25R*. Pic thứ hai ở gần 900 cm^{-1} (894 - 905 cm^{-1}), pic thứ ba ở gần 915 cm^{-1} (915 - 923 cm^{-1}), pic thứ tư ở gần 980 cm^{-1} (980 - 987 cm^{-1}).

Để phân biệt sapogenin thuộc *25R* hoặc *25S* thì căn cứ vào cường độ hấp thu của pic thứ hai và pic thứ ba: các chất *25R* thì pic thứ hai có cường độ hấp thu mạnh hơn pic thứ ba; đối với *25S* thì ngược lại.

8. Định lượng

8.1. Phương pháp cân

Chiết saponin rồi cân. Cách tiến hành chiết như trình bày ở phần sắc ký lớp mỏng. Có khi người ta thủy phân saponin, phần sapogenin rất ít tan trong nước được lọc và hòa tan hay chiết lại bằng dung môi hữu cơ rồi đem bốc hơi loại dung môi hữu cơ, sấy và cân. Từ lượng dược liệu và lượng sapogenin cân được tính ra hàm lượng saponin trong dược liệu.

---

[1] Thuốc thử Carr-Price: dung dịch $SbCl_3$ bão hoà trong chloroform.

[2] Thuốc thử Liebermann-Burchard: 1 ml H_2SO_4 + 20 ml anhydrid acetic + 50 ml chloroform.

[3] Thuốc thử Salkowski: dung dịch acid sulfuric 10 %-50 % trong nước hoặc 5-10 % trong ethanol.

[4] Dung dịch vanillin-sulfuric: dung dịch A: vanillin 1 % trong cồn tuyệt đối. Dung dịch B: acid sulfuric 5 % trong cồn. Pha đồng lượng khi sử dụng. Bảo quản trong tủ mát có thể sử dụng trong 1 tuần.

[5] Thuốc thử Sannié: dung dịch A: vanillin 1 % trong cồn, dd B: anhydrid acetic + H_2SO_4 12:1

[6] Thuốc thử Marquis: 0,2 ml dung dịch formaldehyd 37 % trong nước + 10 ml H_2SO_4.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

8.2. Phương pháp đo quang

Đối với nhóm triterpenoid có thể dùng thuốc thử vanillin - sulfuric. Ví dụ, định lượng acid glycyrrhetic trong Cam thảo, phản ứng cho màu tím.

Đối với nhóm spirostan, Akahori dùng aldehyd có nhân thơm và acid phosphoric để định lượng. Các dẫn chất Δ^5-sapogenin, ví dụ diosgenin, thì dùng thuốc thử $FeCl_3$ - H_3PO_4[1]. Trộn 50 µg diosgenin và 50 ml thuốc thử, làm lạnh 5 phút trong nước đá, thêm 0,5 ml H_2SO_4, làm lạnh 10 phút rồi giữ ở 70°C trong 9 phút. Sau đó làm lạnh 10 phút và để yên 60 phút, đo độ hấp thu ở 485 nm. Phương pháp này có thể dùng định lượng riêng biệt các sapogenin sau khi tách chúng bằng sắc ký giấy hoặc sắc ký lớp mỏng.

8.3. Sắc ký lỏng cao áp

Sắc ký lỏng cao áp là phương pháp hiện nay được sử dụng nhiều trong định tính, định lượng các chất nói chung và saponin nói riêng. Người ta có thể thực hiện định tính 1 thành phần hay đồng thời nhiều thành phần trong hỗn hợp.

Pha tĩnh cho sắc ký lỏng cao áp với các saponin thường là pha đảo RP-18. Pha tĩnh theo cơ chế rây phân tử cũng có thể được dùng.

Hệ dung môi sử dụng trong sắc ký là hỗn hợp nước - methanol, nước - acetonitril với các tỉ lệ khác nhau, có hay không có dung dịch đệm. Chương trình dung môi có thể là isocratic hay gradient.

Detector dùng để phát hiện gồm xác định chỉ số khúc xạ (RI), hay tán xạ bay hơi (ELSD), detector có nhiều ưu điểm nhất hiện nay là detector khối phổ (MS hay MS/MS với kỹ thuật ion hoá ESI hay APCI). Do các saponin ít có các nối đôi, nhất là các nối đôi liên hợp nên thường chỉ có hấp thu tử ngoại ở vùng sóng ngắn 210 – 195 nm nên việc sử dụng detector UV tương đối hạn chế trong phân tích saponin.

IV. CHIẾT XUẤT

Có nhiều quy trình chiết xuất saponin khác nhau. Ta có thể tiến hành chiết saponin theo quy trình như đã trình bày trong phần sắc ký lớp mỏng. Để tinh chế saponin, có thể thực hiện với các phương pháp sau:

- Thẩm tích.

- Dùng bột Mg oxyd hoặc bột polyamid để tách saponin ra khỏi tanin: saponin được hòa vào nước rồi trộn với bột polyamid hoặc bột Mg oxyd trên nồi cách thủy 10 phút để có một khối nhão. Sau đó chiết saponin từ khối nhão này bằng ethanol 80% nóng. Lọc rồi bốc hơi.

---

[1] Thuốc thử $FeCl_3$-H_3PO_4: chuẩn bị dung dịch 800mg $FeCl_3$ trong 10 ml nước, pha 1 ml dung dịch này với một lượng đủ H_3PO_4 để có 50 ml thuốc thử.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

- Dùng Sephadex G-25, G-50, G-75: lượng Sephadex dùng gấp 50 lần saponin đem ngâm nước cất cho trương nở, gạn bỏ lượng nước thừa, cho gel vào cột sắc ký. Cho dung dịch đậm đặc saponin trong nước cho lên phần trên cột rồi khai triển bằng nước cất. Saponin có phân tử lớn sẽ ra khỏi cột trước saponin có phân tử nhỏ.

Dùng Sephadex LH-20: bằng cách acyl hoá hoặc alkyl hoá các nhóm OH trong phân tử của các loại Sephadex G nói trên, người ta chế được các loại Sephadex vừa có tính thân nước vừa có tính thân dung môi hữu cơ. Ví dụ từ Sephadex G-25 bằng cách alkyl hoá người ta thu được Sephadex LH-20 có khả năng sử dụng với dung môi là nước, alcol, aceton và cả chloroform. Loại này dùng để tách các saponin rất hiệu quả.

Để tinh chế saponin steroid có thể dùng phương pháp kết hợp với cholesterol: 1 g saponin hòa trong 200 ml ethanol đun nóng đến 50 - 60°C rồi cho tác dụng với một dung dịch chứa 2 g cholesterol trong 200 ml ethanol đã đun nóng, tủa phức sẽ tạo thành. Sau khi nguội đem lọc tủa và sấy khô. Phá phức bằng cách hoà tan trong pyridin. Saponin tinh khiết sẽ được tủa trong ether. Để loại hết cholesterol, tủa được hòa tan trong methanol rồi lại tủa với ether.

Để tinh chế các dẫn chất nhóm glycoalcaloid, người ta hòa tan chúng vào một ít n-butanol rồi cho lên cột chứa nhôm oxyd, đẩy ra bằng nước bão hòa *n*-butanol.

V. PHÂN BỐ TRONG THỰC VẬT

Saponin có phân bố rộng rãi trong giới thực vật. Cho tới nay, đã biết trong 29 bộ, trên 100 họ thực vật có chứa saponin, trên 1050 saponin đã được biết trong thực vật. Trong đó, trên 3/4 là saponin triterpenoid, chủ yếu là thuộc nhóm oleanan.

Saponin triterpenoid phân bố rộng, thường gặp trong những cây 2 lá mầm thuộc 100 họ thực vật. Các họ hay gặp như Acanthaceae, Amaranthaceae, Araliaceae, Asteraceae, Campanulaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Fabaceae, Polygalaceae, Primulaceae, Rubiaceae, Sapindaceae, Sapotaceae... Saponin nhóm lanostan thường gặp trong động vật thân mềm (Hải sâm, Sao biển...).

Saponin steroid có phân bố hẹp, được tìm thấy chủ yếu trong những cây một lá mầm. Các họ hay gặp là: Agavaceae, Dioscoreaceae, Liliaceae, Smilacaceae. Đáng chú ý nhất là một số loài thuộc chi *Dioscorea* L. ; *Agave* L. ; *Yucca* L. Một số ít gặp trong 2 lá mầm như Scrophulariaceae, Fabaceae, Solanaceae.

Saponin steroid alcaloid thường gặp trong chi *Solanum* thuộc họ Cà (Solanaeae).

Trên thực tế, không gặp các saponin trong ngành hạt trần.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Trong cây, saponin thường tích lũy ở những bộ phận khác nhau: tích lũy ở quả như Bồ kết, Bồ hòn; rễ như Cam thảo, Viễn chí, Cát cánh; lá như Dứa Mỹ... Hàm lượng trong cây thường rất cao có một số trường hợp lên đến trên 10%.

VI. TÁC DỤNG VÀ CÔNG DỤNG

Saponin có tác dụng long đờm, chữa ho. Saponin là hoạt chất chính trong các dược liệu chữa ho như Viễn chí, Cát cánh, Cam thảo, Thiên môn, Mạch môn...

Một số dược liệu chứa saponin có tác dụng thông tiểu như Rau má, Tỳ giải, Thiên môn, Mạch môn. Trên chuột cống cho thấy acid oleanolic và acid ursolic có tác dụng lợi tiểu-thải trừ natri, có lợi trong ngừa cao huyết áp nặng [Somova LO. et al. *Phytomedicine* (2003)10(2-3)115-21].

Saponin trong một số cây thuộc họ Nhân sâm có tác dụng bổ tăng lực ví dụ như Nhân sâm, Tam thất và một số loài khác.

Saponin làm tăng tính thấm của tế bào; sự có mặt của saponin sẽ làm cho các hoạt chất khác dễ hoà tan và hấp thu. Ví dụ như trường hợp digitonin trong lá *Digitalis*. Một số saponin được dùng làm chất tăng tính thấm trong vaccin.

Một số saponin có tác dụng chống viêm như glycyrrhizin trong Cam thảo, các saponin trong Ngưu tất...

Asiaticosid trong Rau má có tác dụng làm thuốc chóng lên sẹo các vết mổ, vết thương, chữa loét, bỏng, eczema.

Một số saponin thuộc cả triterpen và steroid có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, ức chế virus.

Nhiều saponin triterpenoid có tác dụng hạ đường huyết đã được chứng minh trên thực nghiệm. Acid oleanolic và acid ursolic cũng có tác dụng này [Somova L.O. et al. 2003].

Ruscogenin, sapogenin steroid chiết từ thân rễ cây *Ruscus aculeatus* có tác dụng làm bền tĩnh mạch, bảo vệ thành mạch là thành phần của biệt dược Proctolog của hãng Jouveinal. Thuốc được bào chế dưới dạng thuốc đạn để chữa trĩ.

Một số saponin có tác dụng điều hoà miễn dịch như acid glycyrrhizic, acid ursolic, acid oleanolic, nomilin... [Raphael T.J. et al. *Phytomedicine* (2003) 10(6-7) 483-89] và có tác dụng hỗ trợ cho các chất tăng cường miễn dịch, có thể được dùng như là chất dẫn cho các vaccin [*J Zhejiang Univ. Sci. B* 2007 8(3):153-161].

Một số có tác dụng chống ung thư trên thực nghiệm như acid betulinic, acid ursolic, acid oleanolic. [Liu J. *J. Ethnopharmacol.* (1995) 49 (2) 57-68].

Nhiều saponin có tác dụng diệt các loài thân mềm (nhuyễn thể).

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Sapogenin steroid dùng làm nguyên liệu để bán tổng hợp các thuốc steroid, chủ yếu là các hormon steroid.

Nhiều dẫn chất (tự nhiên hay bán tổng hợp) của các sapogenin steroid như tigogenin, diosgenin, hecogenin đã được chứng minh có tác dụng hạ cholesterol máu và chống xơ mỡ động mạch, có chất còn tốt hơn cả cholesteramin. Ví dụ như chất 3-*O*-*β*-*D*-glucopyranosyl tigogenin. Các saponin steroid kết hợp với cholesterol để thải ra ngoài, không cho hấp thu vào cơ thể. Acid oleanolic và acid ursolic cũng cho thấy có tác dụng chống cao lipid huyết [Somova L.O. et al. 2003].

Acid ursolic và oleanolic có tác dụng bảo vệ gan chống lại các tác nhân gây tổn thương gan. Acid oleanolic đã được bán tại Trung Quốc làm thuốc chống các rối loạn trên gan dưới dạng thuốc uống. Cơ chế bảo vệ gan của chúng có thể là ức chế sự hoạt hoá chất độc và tăng cường chức năng bảo vệ của cơ thể. Hai chất này gần như không độc, được dùng trong mỹ phẩm và thực phẩm chức năng. [Liu J. J. Ethnopharmacol. (1995) 49(2) 57-68]

Trong đời sống, một số saponin được dùng làm chất gây thấm trong thuốc thử sinh học, trong công nghiệp phim ảnh. Một số nguyên liệu chứa saponin dùng để pha nước gội đầu, giặt len dạ, tơ lụa.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

DƯỢC LIỆU CHỨA SAPONIN

CAM THẢO

Radix Glycyrrhizae

Chi *Glycyrrhiza*[1] có nhiều loài và thứ khác nhau. Dược điển Việt Nam IV quy định dùng rễ phơi hay sấy khô của 3 loài Cam thảo[2] là : *Glycyrrhiza uralensis* Fisher, *Glycyrrhiza inflata* Bat. và *Glycyrrhiza glabra* L. Họ Đậu - Fabaceae.

Đặc điểm thực vật

Cây nhỏ mọc nhiều năm, có một hệ thống rễ và thân ngầm rất phát triển. Thân ngầm dưới đất có thể đâm ngang đến 2 mét. Từ thân ngầm này lại mọc lên các thân cây trên mặt đất. Thân cây mọc đứng cao 0,5 - 1,50 m. Thân yếu, lá kép lông chim lẻ, có 9 - 17 lá chét hình trứng. Hoa hình bướm màu tím nhạt; loài *G. glabra* có cụm hoa dày hơn loài *G. uralensis*. Quả loại đậu, loài *G. glabra* nhẵn và thẳng, loài *G. uralensis* quả cong và có lông cứng.

Cam thảo - *Glycyrrhiza glabra* L.

Phân bố

Được trồng ở nhiều nước trên thế giới như Trung Quốc, Mông Cổ, Tây Ban Nha, Ý, vùng Siberi của Nga. Bộ môn Dược liệu Trường Đại học Dược Hà Nội đã di nhập được từ năm 1960 và đã nghiên cứu theo dõi sự tích lũy hoạt chất trong cây trồng. Cây mọc tốt ở điều kiện khí hậu nước ta.

Trồng trọt và chế biến

Thường được trồng bằng các đoạn thân ngầm có 2 - 3 mầm vào mùa xuân. Đất phải tốt và phải bón phân. Sau 3 - 4 năm bắt đầu thu hoạch vào cuối thu. Ba năm đầu có thể trồng xen các hoa màu khác. Rễ và thân ngầm đào lên, rửa sạch đất cát, cắt bỏ rễ con, ủ đống làm cho màu trở nên vàng. Rễ và thân ngầm thường được cắt thành đoạn dài 15 - 30 cm, đường kính 5 - 20 mm, bó thành từng bó. Dược liệu mặt ngoài có lớp vỏ màu nâu, vết bẻ có xơ, màu vàng, dễ xé theo chiều dọc. Vị rất ngọt, hơi khé cổ.

---

[1] Tên latinh của cây – *Glycyrrhiza* bắt nguồn từ chữ Hy Lạp được Latin hoá: glycys = ngọt, rhiza = rễ.

[2] Tên Cam thảo là do rễ cây có vị ngọt, từ chữ Hán Việt: cam = ngọt, thảo = cỏ.

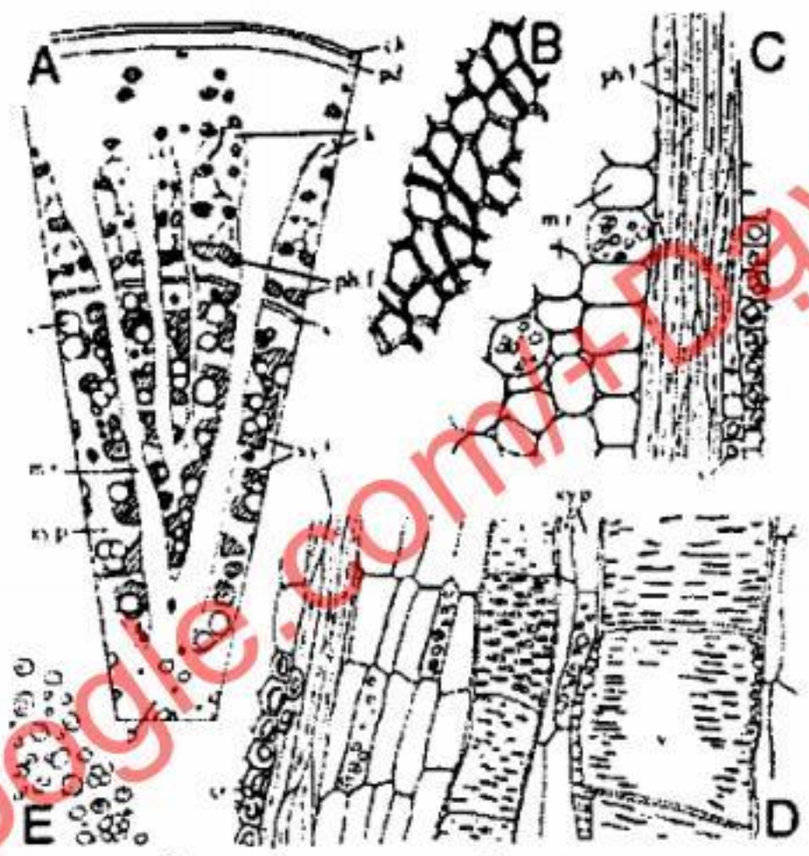
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

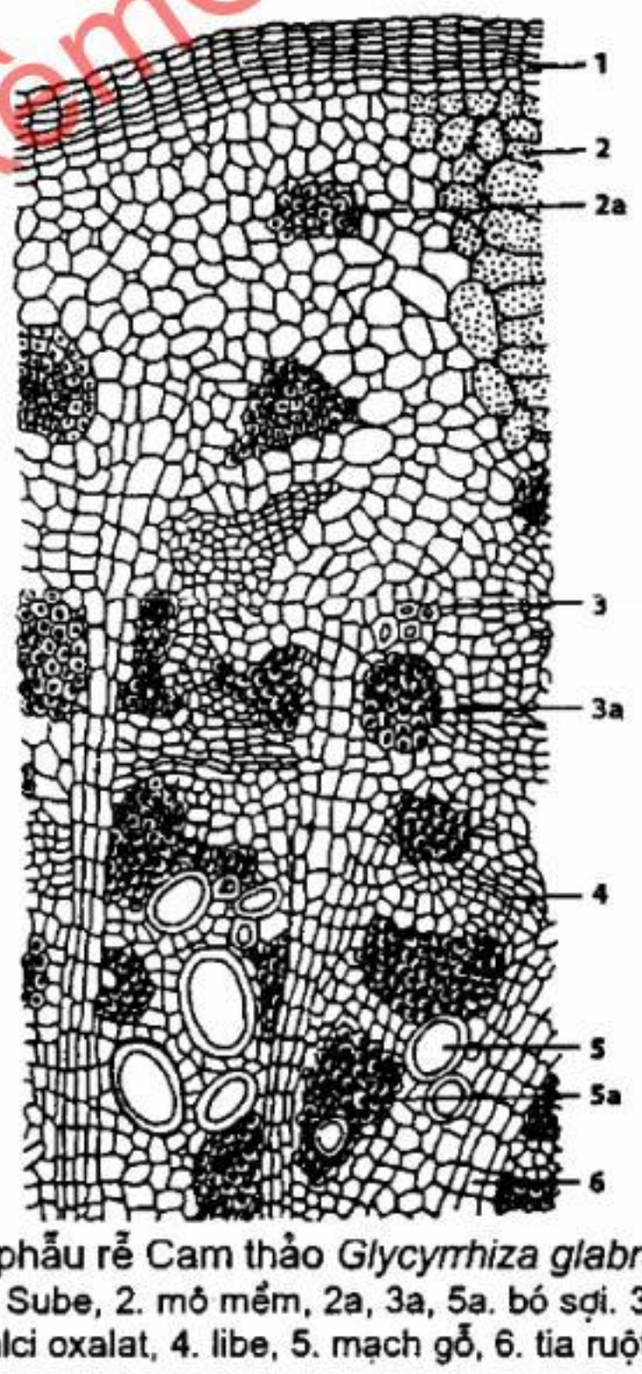
Vi phẫu

Lớp bần dày, gồm các tế bào hình chữ nhật dẹt (không có trong dược liệu đã cạo vỏ). Mô mềm chứa nhiều tinh bột. Hạt tinh bột đơn, hình cầu, hình thoi, hình trứng hoặc có thể hình gậy, kích thước 2 - 12 µm ít khi đến 20 µm. Tia ruột gồm 3 - 5 hàng tế bào loe rộng thành hình phễu về phía libe. Libe hình nón chứa các đám sợi thành dày và kèm theo các tế bào có tinh thể calci oxalat hình lăng trụ (nằm thành dãy trên vi phẫu cắt dọc). Gỗ gồm mạch gỗ có đường kính thay đổi từ nhỏ cho đến rất to, các sợi gỗ và mô mềm gỗ.

Bột: màu vàng sáng, vị ngọt. Mảnh mô mềm với tế bào thành mỏng chứa đầy tinh bột. Hạt tinh bột đứng riêng lẻ, hình trứng, hình cầu đường kính 10 - 20 µm. Sợi gỗ màu vàng, thành dày thường kèm theo các tế bào mang tinh thể calci oxalat xếp thành một dãy. Mảnh mạch chấm đường kính 100 - 200 µm, các chấm thẳng hàng. Ở dược liệu chưa cạo vỏ còn có mảnh bần màu nâu đỏ.



Vi phẫu và bột Cam thảo *G. glabra*
A. Vi phẫu ngang phần thân ngầm. B. Các tế bào lớp bần tẩm suber trong bột. C. Vi phẫu dọc vùng vỏ dọc theo liber. D. Phẫu thức dọc của vùng gỗ. E. Hạt tinh bột.



Vi phẫu rễ Cam thảo *Glycyrrhiza glabra*
1. Sube, 2. mô mềm, 2a, 3a, 5a. bó sợi. 3. calci oxalat, 4. libe, 5. mạch gỗ, 6. tia ruột.

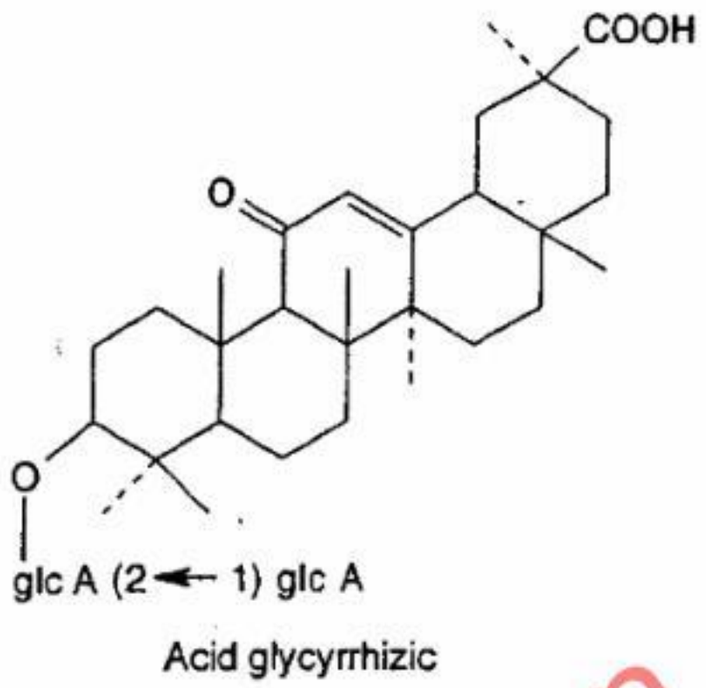
Thành phần hóa học (của *Glycyrrhiza glabra* L.)

Các saponin

Saponin là nhóm hợp chất quan trọng nhất trong Cam thảo, trong đó acid glycyrrhizic (còn gọi là acid glycyrrhizinic) là chất quan trọng nhất.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin



Acid glycyrrhizic

Acid glycyrrhizic là một saponin nhóm oleanan, có vị rất ngọt (gấp 60 lần đường saccharose), chỉ có trong bộ phận ở dưới mặt đất, hàm lượng từ 10 - 14% trong dược liệu khô. Glycyrrhizin là dạng muối Mg và Ca của acid glycyrrhizic được Robiquet phân lập năm 1809 dưới dạng vẩy màu vàng. Glycyrrhizin tinh khiết ở dạng bột kết tinh trắng dễ tan trong nước nóng, cồn loãng, không tan trong ether và chloroform. Dưới tác dụng của acid vô cơ, acid glycyrrhizic bị đẩy ra khỏi muối của nó. Khi thủy phân bằng acid và nhiệt độ thì cho phần aglycon là *acid glycyrrhetic* (acid glycyrrhetinic) và 2 phân tử acid glucuronic. Acid glycyrrhetic có một OH ở C-3, một nhóm oxo ở C-11, một nối đôi ở C-12 và ở C-30 là nhóm carboxyl. Glycyrrhizin trên thị trường là muối ammoni glycyrrhizat thu được bằng cách chiết bột Cam thảo với nước rồi acid hoá để kết tủa, rửa tủa rồi lại hoà tan trong ammoniac, bốc hơi trong các khay mặt bằng sẽ thu được những vẩy màu đen nhạt, bóng, tan trong nước và rất ngọt.

Trong Cam thảo còn có các dẫn chất triterpenoid khác như: acid liquiritic (acid này khác acid glycyrrhetic bởi nhóm carboxyl ở vị trí C-29), acid 18-α-hydroxyglycyrrhetic, acid 24-hydroxyglycyrrhetic, acid 24-hydroxyliquiritic, glabrolid, desoxyglabrolid, isoglabrolid, 21-α-hydroxyisoglabrolid, acid liquiridiolic, acid 11-desoxoglycyrrhetic và acid 24-hydroxy 11-desoxoglycyrrhetic.

Các flavonoid

Đây là nhóm hoạt chất quan trọng thứ hai trong rễ Cam thảo với hàm lượng 3 - 4%. Liquiritin (liquiritirosid) và isoliquiritin (isoliquiritirosid) là hai chất quan trọng nhất.

Liquiritin thuộc nhóm flavanon có màu trắng ngà, với phần aglycon là liquiritigenin (= 4',7-dihydroxy flavanon) được Shinoda và Ueda phân lập năm 1934.

Isoliquiritin được Puri và Seshadri phân lập (1954). Chất này là đồng phân của liquiritin và thuộc nhóm chalcon, có phần aglycon là isoliquiritigenin (= 4,4',6'-trihydroxy chalcon), có màu vàng. Isoliquiritigenin khi ở môi trường acid sẽ bị đồng phân hoá thành liquiritigenin[1].

Ngoài ra còn có khoảng 30 flavonoid thuộc các nhóm khác nhau: isoflavan (glabridin), isoflaven (glabren) và isoflavon (glabron)...

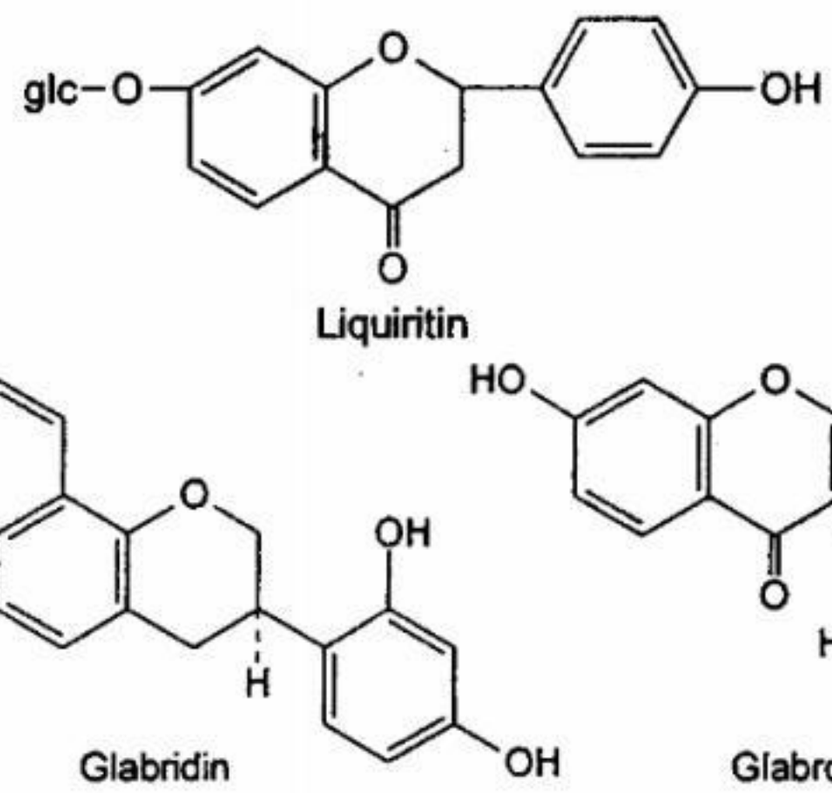
---

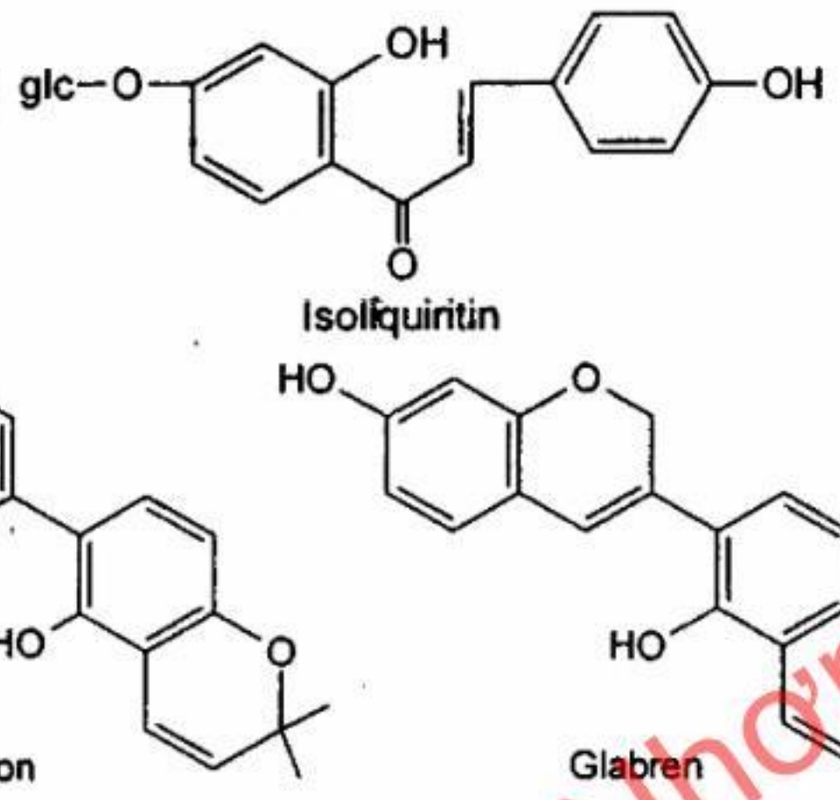
[1] Xem phần flavonoid.

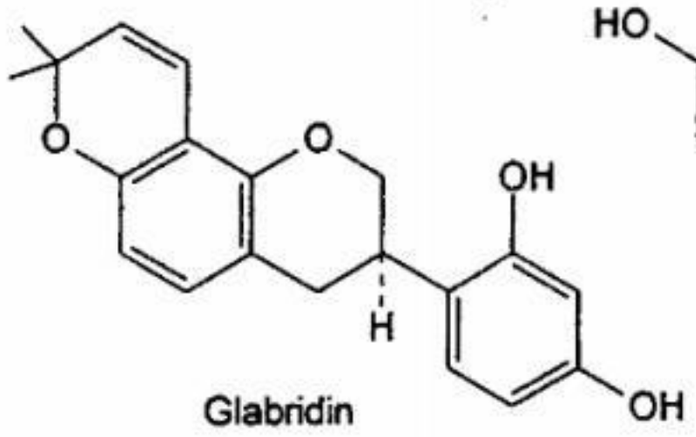
Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

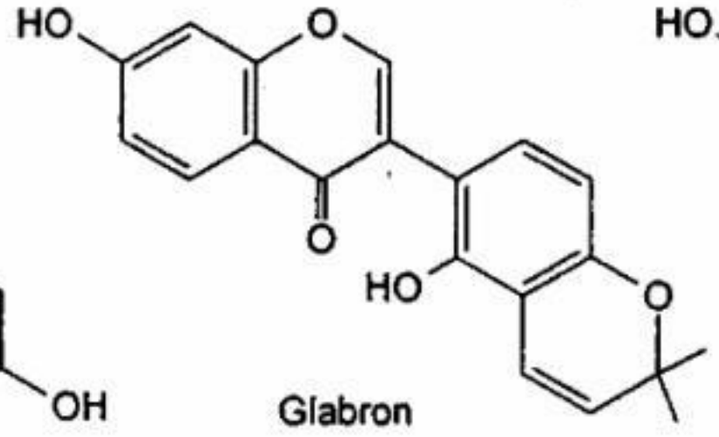
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin









Phần này tan trong ether dầu hỏa, khi thí nghiệm trên chuột cống đã thiến thì thấy xuất hiện những tế bào sừng trong niêm dịch âm đạo.

Các dẫn chất coumarin

Umbelliferon, herniarin, liqcoumarin (= 6-acetyl-5-hydroxy-4-methyl coumarin).

Ngoài ra, trong rễ Cam thảo còn có 20-25% tinh bột, 3-10% glucose và saccharose. Toàn bộ các chất chiết được bằng nước có thể đến 40%.

Phần trên mặt đất của cây Cam thảo cũng đã xác định được các flavonoid: pinocembrin (=5,7-dihydroxy flavanon), prunetin (=5,4'-dihydroxy-7-methoxyiso flavon), isomucro-nulatol (= 7,2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxy isoflavon).

Kiểm nghiệm

Định tính

Cam thảo có thể được định tính bằng sắc ký giấy. Chuẩn bị một dung dịch Cam thảo 20% trong cồn, lấy dung dịch này chấm lên giấy sắc ký rồi khai triển với hệ dung môi butanol - acid acetic - nước (4:1:5). Trên sắc ký đồ sẽ xuất hiện các vết có huỳnh quang vàng dưới ánh sáng tử ngoại hoặc có màu vàng sau khi phun dung dịch KOH. Liquiritin có thể phát hiện bằng cách nhúng giấy sắc ký trong dung dịch kali borohydrid rồi hơ trên miệng lọ đựng HCl đậm đặc sẽ có màu đỏ tím. Các dẫn chất coumarin cho những vết huỳnh quang xanh da trời dưới đèn tử ngoại. Có thể tiến hành sắc ký lớp mỏng và dùng các thuốc thử có acid sulfuric.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Định lượng acid glycyrrhizic

Phương pháp cân

Phương pháp của Dược điển Việt Nam IV:

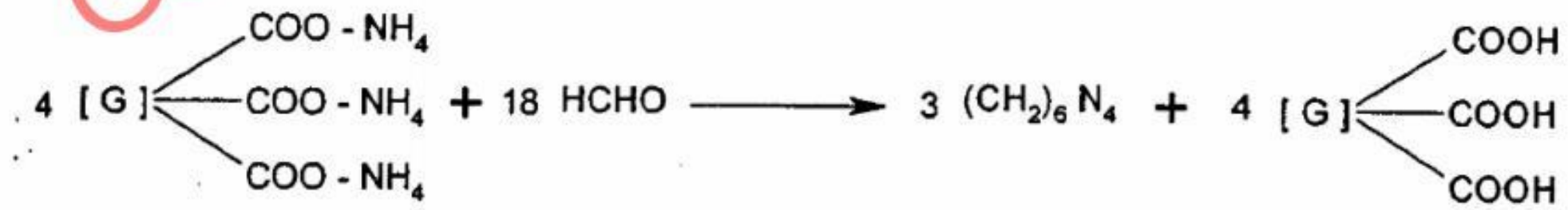
Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu vào một cốc có mỏ có dung tích 250 ml, thêm 100 ml ethanol 20% (TT) đặt lên nồi cách thủy sôi trong 30 phút. Để lắng, gạn lấy phần nước trong, chiết tiếp hai lần nữa, mỗi lần 50 ml ethanol 20%. Tập trung dịch chiết vào cốc có mỏ có dung tích 250 ml, thêm 30 ml ethanol (TT), để yên qua đêm. Lọc lấy phần nước trong và bốc hơi trên nồi cách thủy sôi đến hết ethanol, để nguội. Thêm 50 ml nước cất và 1 ml HCl (*TT*), khuấy đều. Đặt hỗn hợp vào trong nước đá đang tan trong 30 phút, gạn bỏ nước, lấy kết tủa. Hoà tan kết tủa trong 10 ml ethanol (*TT*), lọc qua giấy, rửa giấy lọc với ethanol (*TT*) tới khi giấy lọc hết màu vàng. Tập trung tất cả dịch ethanol vào một cốc đã cân bì, bốc hơi trên nồi cách thủy đến cắn, sấy cắn trong 3 giờ ở 105°C. Lấy ra để nguội trong bình hút ẩm, cân tính kết quả.

Hàm lượng cắn chứa acid glycyrrhizic trong dược liệu khô kiệt không được dưới 6%.

Acid glycyrrhizic trong dược liệu cũng có thể được định lượng bằng cách: Loại tạp chất bằng ether, chiết bằng cồn 75%, bốc hơi cồn, hoà tan cắn trong nước, tủa acid glycyrrhizic trong nước bằng H_2SO_4. Ly tâm để lấy tủa, rửa tủa bằng nước đá rồi hoà tan lại trong cồn 95% sôi. Bốc hơi trong chén đã cân bì trước, sấy 100°C rồi cân.

Phương pháp acid – kiềm

Nguyên tắc: chiết acid glycyrrhizic bằng aceton có mặt của acid nitric. Thêm amoniac vào dịch chiết, sẽ có amoni glycyrrhizat kết tủa. Lọc lấy tủa, hoà vào nước, thêm formalin thì acid glycyrrhizic được giải phóng và có hexamethylentetramin tạo thành.



Chuẩn độ acid glycyrrhizic bằng dung dịch kiềm.

1 ml NaOH 0,1N ứng với 0, 0274 g acid glycyrrhizic.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Phương pháp quang phổ

Chiết như ở phương pháp acid - kiềm, dung dịch nước (không thêm formalin) được đem đo ở bước sóng 285 nm. Độ hấp thu phân tử là 11.000.

Phương pháp so màu

Bột Cam thảo chiết bằng cồn ethylic có mặt HCl, tủa acid glycyrrhizic bằng chì acetat. Tủa được đem thủy phân bằng acid sulfuric 3% trên nồi cách thủy sôi. Sau đó có thể định lượng acid glucuronic dựa trên phản ứng màu tím nhạt với naphthoresorcinol và HCl; hoặc định lượng acid glycyrrhetic sau khi tách ra khỏi dung dịch thủy phân bằng chloroform hoặc ether. Dưới tác dụng của acid sulfuric đậm đặc và vanillin, acid glycyrrhetic có màu tím (không bền); hoặc tác dụng với butyl-2,6-*p*-cresol sẽ cho màu nâu tím.

Tác dụng

Dịch chiết Cam thảo có tác dụng chống loét dạ dày. Tác dụng đã được chứng minh bằng thí nghiệm trên súc vật. Trên chuột lang, gây loét bằng cách tiêm những liều xác định histamin; trên chó gây loét bằng atophan (= acid 2-phenyl-quinolein-4-carboxylic); trên chuột cống thì thắt u môn. Súc vật thí nghiệm được mổ và quan sát tình trạng tổn thương trên niêm mạc dạ dày. Thành phần flavonoid của cao chiết Cam thảo cũng có tác dụng kháng *Helicobacter pylori* trên thực nghiệm [Fukai T. et al. *Life Sci*. 2002;71(12):1449-63].

Tác dụng chống co thắt được chứng minh trên ruột cô lập của chuột lang hoặc thỏ cho thấy có tác dụng đối kháng với histamin, acetylcholin. Tác dụng chống co thắt và tác dụng bảo vệ chống loét dạ dày chủ yếu là do các thành phần flavonoid.

Các saponin của dịch chiết Cam thảo có tác dụng long đờm.

Cam thảo có tác dụng kháng viêm. Glycyrrhizin làm giảm mô hạt tạo thành xung quanh viên bông cấy dưới da của chuột cống trắng, làm giảm độ sưng của chân chuột sau khi tiêm formol. Acid liquiritic cũng có tác dụng chống viêm, chống loét và làm chóng lành sẹo.

A glycyrrhetic ức chế các enzym 15-hydroxyprostaglandin dehydrogennase và Δ^{13}-prostaglandin dehydrogenase là enzym này có nhiệm vụ chuyển hóa các prostaglandin PGE_2 và $PGE_{2\alpha}$ thành những dẫn chất 15-ceto-13,14-dihydro tương ứng không có hoạt tính do đó lượng các prostaglandin tăng lên. Các prostaglandin có tác dụng ức chế tiết dịch dạ dày nhưng lại kích thích tiết dịch tụy và niêm dịch ruột làm tăng như động ruột. Các prostaglandin này còn có tác dụng tăng sinh tế bào trong dạ dày. Những tác dụng trên giải thích tại sao Cam thảo có tác dụng chống loét dạ dày. PGE2α có tác dụng kích thích tử cung trong

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

thời kỳ mang thai nên có thể gây sẩy thai. Do đó *phụ nữ có thai không nên dùng Cam thảo*.

Các nghiên cứu gần đây chứng minh rằng acid glycyrrhizic còn có hiệu quả trong điều trị một số bệnh do virus như virus herpes simplex, HIV-1 và SARS.[12] Glycyrrhizin ức chế sự phát triển và nhân bản của virus trong tế bào do gia tăng tổng hợp nitric oxid. Nó cũng ngăn cản sự xâm nhập của virus vào tế bào. Trên SARS, glycyrrhizin có hiệu quả hơn ribavirin, thuốc thông dụng nhất trong điều trị SARS.

Các flavonoid có trong Cam thảo có tác dụng chống oxy hóa, ngăn ngừa vữa xơ động mạch, giảm tích lũy mỡ bụng, kháng khuẩn và hạ đường huyết.

Tác dụng ức chế enzym monoaminoxydase (MAO) của 2 hoạt chất liquiritigenin và isoliquiritigenin cũng được biết. Chất isoliquiritigenin có tác dụng mạnh hơn.

Thí nghiệm trên súc vật cho thấy Cam thảo có khả năng giảm độc của morphin, cocain, strychnin, atropin, chloralhydrat, giải độc các độc tố bạch hầu, uốn ván.

Nghiên cứu gần đây còn cho thấy Cam thảo có tác dụng nâng cao khả năng miễn dịch của cơ thể.

Isoliquiritigenin được biết có tác dụng chống khối u trong đó có tác dụng chống ung thư tuyến tiền liệt. [Kanazawa M. et al., *Eur Urol.* (2003) 43(5):580-6].

Cần chú ý: nếu dùng liều cao Cam thảo (10 - 14 g/ngày) kali bị đào thải qua thận gây ra đau đầu, thở ngắn, tăng huyết áp, phù nề. Triệu chứng trên được giải thích acid 3-*β*-*D*-glucuronyl 18-*β*-glycyrrhetinic là chất chuyển hóa của acid glycyrrhetinic có tác dụng ức chế 11-*β*-hydroxysteroid dehydrogenase là enzym chuyển hóa cortisol thành cortison không hoạt tính trong thận. Lượng cortisol tăng lên gắn vào các thụ cảm mineralocorticoid gây ra hiện tượng giữ nước và natri, làm hạ kali huyết và tăng huyết áp. *Người có huyết áp cao không nên dùng Cam thảo. Dùng Cam thảo có thể gây đục thủy tinh thể.*

---

[1] SARS là viết tắt của chữ *Severe Acute Respiratory Syndrome* (hội chứng viêm đường hô hấp cấp nặng), hội chứng mới được ghi nhận gây ra bởi *SARS coronavirus*, xuất hiện lần đầu tiên tại Quảng Đông, Trung Quốc vào tháng 11 năm 2002. Cho đến tháng 5 năm 2003, SARS đã gây nhiễm cho 8.442 người thuộc 32 quốc gia và gây ra 813 trường hợp tử vong. Dịch đã được dập tắt sau đó.

[2] Cinatl, J. *et al.* Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. *The Lancet*, 361, 2045 - 2046, (2003).

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Công dụng

Trong bào chế khoa, Cam thảo được dùng làm tá dược điều vị để làm giảm các vị khó uống của các chế phẩm. Cam thảo còn được dùng trong các loại trà, nước uống và làm thơm thuốc lá.

Cam thảo là vị thuốc được gặp trong nhiều đơn thuốc cổ truyền, thường dùng dưới dạng thuốc sắc.

Thuốc chữa ho. Hay dùng dưới dạng mứt Cam thảo kết hợp với ô mai, gừng. Cam thảo là thành phần trong đơn thuốc chữa ho của Trọng Cảnh (xem bài Cát cánh).

Thuốc chữa loét dạ dày và ruột. Uống 10 - 14 ngày, nghỉ vài ngày để tránh hiện tượng phù, thường hay phối hợp với bismuth nitrat kiềm, magnesi carbonat, calci carbonat, bột vỏ *Rhamnus* (hoặc Đại hoàng).

Vì có tác dụng chống co thắt, Cam thảo được phối hợp làm trà nhuận tràng.

Từ những năm 1960, glycyrrhizin đã được sử dụng điều trị bệnh viêm gan dị ứng ở Nhật Bản. Các nghiên cứu gần đây cho thấy chất này có tác dụng ngăn ngừa và điều trị viêm gan C mãn cả ở những người không điều trị được hay không đáp ứng với interferon. [Kumada H. *Oncology* (2002) 62:94-100]. Glycyrrhizin còn có tác dụng làm giảm tổn thương tế bào gan gây ra bởi các hóa chất.

Cam thảo
Glycyrrhiza uralensis Fisch.

Acid glycyrrhetic được dùng làm thuốc chống viêm tại chỗ, biệt dược Arthrodont của hãng Veyron dùng trong nha khoa để chữa viêm lợi, chảy máu lợi, viêm khi lắp răng giả có thành phần chính là acid glycyrrhetic.

Acid glycyrrhetic còn được dùng dưới dạng thuốc mỡ dùng chữa một số bệnh eczema. Kali glycyrrhizinat có trong thành phần thuốc nhỏ mắt Rohto của Nhật. Người ta còn chuyển acid glycyrrhetic thành muối Na hemisuccinat (gắn vào OH C-3) để tăng độ hoà tan.

Ghi chú

Các nước châu Âu quy định Cam thảo được sử dụng là loài *G. glabra* L. còn Cam thảo Trung Quốc mà hiện nay ta đang nhập thì bao gồm nhiều loài, chủ yếu là *G. uralensis* Fisher.

G. uralensis cũng có những thành phần hoá học gần giống với *G. glabra*. Thành phần triterpenoid có: Glycyrrhizin (hàm lượng tính theo acid glycyrrhizic thay đổi từ 5,4 -

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

10,04%), ngoài ra còn có acid 24-hydroxyglycyrrhetic, 3-β-hydroxyolean-11,13(18)-dien-30-oic acid.

Ngoài ra còn có các flavonoid thuộc các nhóm khác nhau: flavon (3',4',7-trihydroxyflavon), flavanon (liquiritigenin, liquiritin, liquiritigenin-7-β-*D*-glucopyranosid, liquiritin apiosid, neoliquiritin, licorice glucosid C1, C2, D1, D2, E), chalcon (isoliquiritigenin, isoliquiritin apiosid, neoiso liquiritin, *trans*-isoliquiritigenin-4-β-*D*-glucopyranosid, *trans*-isoliquiritigenin-4-β-*D*-glucopyranosyl-2'-β-*D*-apio furanosid, tetrahydroxy methoxychalcon, (dl) neoiso liquiritin, licorice glucosid A, B, licochalcon A.), auron (carpusin), isoflavan (vestitol, (3*R*)-vestitol-7-*O*-glucosid) và isoflavon (glycyrosid)... Hàm lượng flavonoid trong *G. uralensis* cao hơn hẳn của *G. glabra*.

Các thành phần khác: acid ferulic, đường khử 4,7% –10,97%, tinh bột và chất béo 4,17 – 5,92%.

Có thể phân biệt hai loài Cam thảo bằng thành phần flavonoid. *G. glabra* có hàm lượng glabridin là 0,19% còn liquiritin là 0,26% trong khi *G. uralensis* không có glabridin còn lượng liquiritin thì cao gấp 5 lần (1,32%). [J. of Pharm. and Biomed Anal. 2005, 38(4) 594-600]. Thêm vào đó, *G. uralensis* có glycycoumarin trong khi *G. glabra* không có. [Biol. Pharm. Bull. 2003, 26(6) 867-71]

Tác dụng và công dụng của *G. uralensis* cũng giống như *G. glabra*. Các hợp chất phenol và flavonoid, đặc biệt là (3*R*) vestitol, liquiritigenin 7,4'-diglucosid và 4-hydroxyguaiacol apioglucosid (một phenol glucosid) có tác dụng ức chế cytochrom P450 3A4 liên quan đến chuyển hoá các thuốc.

Glycycoumarin và liquiritigenin trong *G. uralensis* có tác dụng chống co thắt gây bởi nhiều chất như KCl, $BaCl_2$. Licochalcon A có tác dụng ức chế lipase liên quan tới hấp thu chất béo.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

VIỄN CHÍ

Radix Polygalae

Viễn chí[1] là rễ phơi khô của một số loài thuộc chi *Polygala*.

Dược điển Việt Nam in lần thứ ba và Dược điển Trung Quốc quy định hai loài: Viễn chí lá nhỏ - *Polygala tenuifolia* Willd. (=*P. sibirica* L. var. *angustifolia* Ledeb.; *P. sibirica* L. var. *tenuifolia* (Willd.) Backer & Moore) hoặc Viễn chí Siberi - *Poly gala sibirica* L., Dược điển nhiều nước khác thì qui định loài *Polygala senega* L., họ Viễn chí - Polygalaceae.

---

[1] Cây có tên là Viễn chí (đúng ra là Viễn trí) bởi uống vị thuốc này có tác dụng làm nhớ lâu (viễn = xa, trí = trí nhớ). Tên chi của cây *Polygala* do chữ *poly* = nhiều *gala* = sữa vì cây này gia súc ăn để có nhiều sữa.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Đặc điểm thực vật và phân bố

Viễn chí thuộc loài cây nhỏ, sống dai. Từ gốc mọc lên nhiều thân nhỏ. Thân loài Viễn chí lá nhỏ nhẵn còn loài Viễn chí Siberi thì có lông tơ ngắn. Lá mọc so le, không cuống. Loài Viễn chí lá nhỏ phiến lá hẹp, nhọn còn loài Sibêri phiến rộng hơn, hình mác. Cụm hoa chùm. Đài không đều còn lại trên quả, 5 lá đài có hai lá bên phát triển thành cánh; 3 cánh hoa màu xanh dính lại thành ống không đều; 8 nhị dính liền thành 1 bó. Bầu thượng, 2 ô. Quả nang.

Viễn chí lá nhỏ - *Polygala tenuifolia* Willd.

Loài Viễn chí lá nhỏ mọc ở đông Sibêri, quanh hồ Baican, loài *P. sibirica* có ở vùng Siberi và một số vùng khác như Ucraina, Capcaz. Ở Trung Quốc loài *P. sibirica* có ở cả miền Nam và Bắc, loài Viễn chí lá nhỏ có ở miền đông bắc và bắc. Hiện nay ta vẫn nhập Viễn chí của Trung Quốc.

Bộ phận dùng

Rễ hình trụ cong queo dài 10 - 15 cm, đường kính 0,3 - 0,8 cm. Mặt ngoài màu xám nâu nhạt, có những nếp nhăn ngang và dọc. Lớp vỏ dày dễ tách khỏi lớp gỗ. Lớp vỏ màu nâu nhạt, lớp gỗ màu ngà vàng. Vị đắng nồng. Loại 'Viễn chí nhục' là loại Viễn chí đã rút bỏ lớp gỗ.

Vi phẫu

Lớp bần cấu tạo trên 10 hàng tế bào. Mô mềm vỏ có 20 hàng tế bào hoặc hơn, rải rác có tế bào chứa giọt dầu bên trong và tinh thể calci oxalat. Trong mô mềm đôi khi có những chỗ rách ngang. Phần liber rộng hơn, gồm những tế bào nhỏ và thường có vết rách hướng xuyên tâm. Tầng phát sinh liber gỗ tạo thành một vòng. Gỗ cấu tạo bởi mạch gỗ, sợi gỗ và mô mềm gỗ. Tia ruột gồm 1 - 3 hàng tế bào.

Bột

Màu vàng nâu nhạt có những mảnh bần màu nâu nhạt. Rất nhiều mảnh mô mềm có chứa giọt dầu và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch thường kèm theo sợi gỗ.

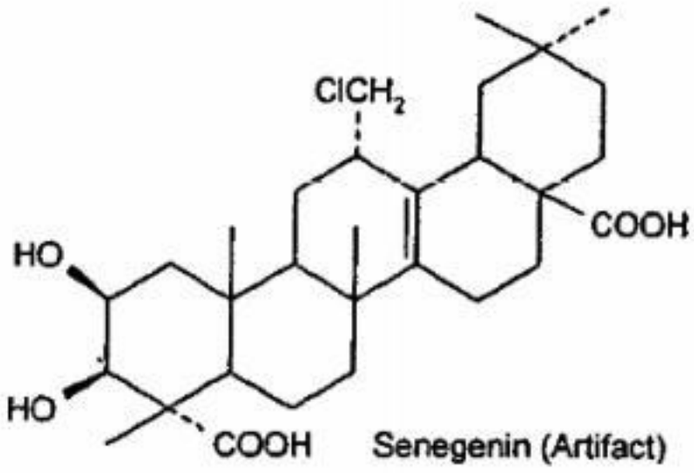
Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

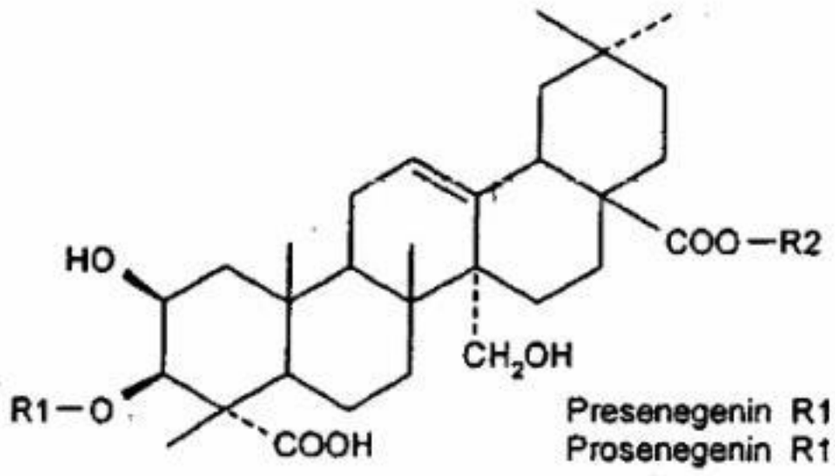
Saponin và dược liệu chứa saponin

Thành phần hóa học

Saponin



Senegenin (Artifact)



Presenegenin R1 = R2 = H
Prosenegenin R1 = Glc, R2 = H

Onjisaponin A : Glc→3 [**prosenegin**] 28 ← Fuc 2← Rha 4← Xyl 4← Gal
(Rha 3, Api 3; 4-methoxycinnamic acid 4)

Onjisaponin B: Glc →3 [**prosenegin**] 28 ← Fuc 2 ← Rha 4 ← Xyl 4 ← Gal
(Rha 3; 4-methoxycinnamic acid 4)

Onjisaponin C : Glc→3 [**prosenegin**] 28 ← Fuc 2← Rha 4← Xyl 4← Gal

Onjisaponin E: Glc →3 [**prosenegin**] 28 ← Fuc 2 ← Rha 4 ← Xyl 4 ← Gal
(3,4,5-trimethoxycinnamic acid 4)

Onjisaponin F : Glc→3 [**prosenegin**] 28 ← Fuc 2← Rha 4← Xyl
(Api 3, Ara 3; 3,4,5-trimethoxycinnamic acid 4)

Onjisaponin G : Glc→3 [**prosenegin**] 28 ← Fuc 2← Rha 4← Xyl
(Api 3; 3,4,5-trimethoxycinnamic acid 4)

Senegin II: Glc →3 [**prosenegin**] 28 ← Fuc 2 ← Rha 4 ← Xyl 4 ← Gal
(3,4-dimethoxycinnamic acid 4)

Senegin IV: Glc→3 [**prosenegin**] 28 ← Fuc 2← Rha 4← Xyl 4 ← Gal
(Rha 3, Rha 3; 4-dimethoxycinnamic acid 4)

Rễ của 3 loài trên đều chứa Saponin. Saponin của Viễn chí thuộc loại saponin triterpenoid nhóm olean. Các thành phần sapogenin trước đây xác định có trong một số loài Viễn chí bằng thủy phân acid như senegenin (= acid tenuifolic), acid senegenic, hydroxysenegenic về sau đều được xác định là những artifact. Sapogenin thật được xác định lại là presenegenin [đc. 310 - 311°C, α_D = 91° (EtOH)].

Trên 18 saponin đã được biết trong Viễn chí lá nhỏ được công bố. Sapogenin của các chất này là presenegenin. Phần lớn các saponin đều là dẫn chất của presenegenin-3-*O*-*β*-*D*-glucosid (= tenuifolin, 2*β*-27-dihydroxy-23-carboxyoleanolic acid-3-*O*-*β*-*D*-glucosid) với sự khác nhau ở mạch đường gắn vào

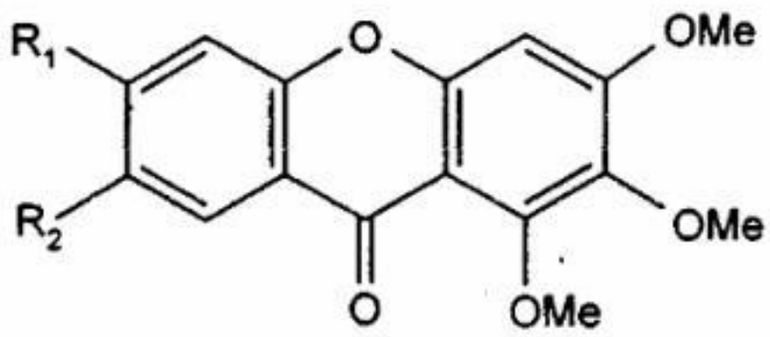
Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

vị trí C-28. Các saponin chính là onjisaponin A-G, senegin II, IV (senegin III = onjisaponin B).

Xanthon

Trên 12 dẫn chất xanthon cũng được biết trong Viễn chí. Ba chất chính là: 1,2,3,7-tetramethoxy xanthon (I). 1,2,3,6,7-pentamethoxy xanthon (II). 6-hydroxy-1,2,3,7-tetramethoxy-xanthon (III) và các chất xanthon khác như: onjixanthon, 1,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy xanthone, sibirica xanthon A và B; 1-hydroxy-3,6,7-trimethoxy xanthon, polygalaxanthon III...



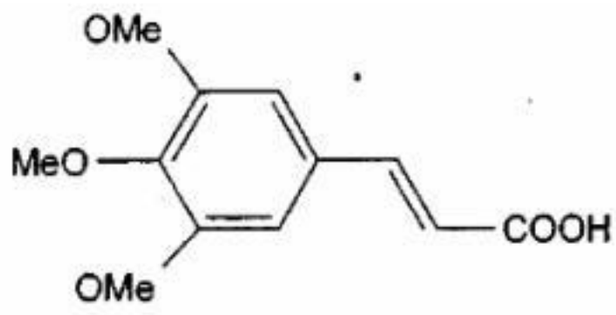
(I) R_1 = H, R_2 = OMe
(II) R_1 = R_2 = OMe
(III) R_1 = OH, R_2 = OMe

Các chất khác

Các alkaloid khung β-carbolin (như 1-carbobutoxy-β-carbolin, N-formylharman, 1-carboethoxy-β-carbolin, 1-carbomethoxy-β-carbolin, perlolyrin, harman và norharman), tetrahuydro protoberberi (như tetrahydro columbamin) [B. H. Han et al.. *J. Arch. Pharm. Res.*, 8, 1985], chất kiềm hữu cơ là tenuidin.

Ngoài ra, các oligosaccharid ester (Senegoses A-O, tenuifoliose Q sibiricose 1-6), polygalitol (= 1,5-anhydro-*D*-sorbitol), N-acetyl-D-glucosamin, acetophenon glycosid (tenuiphenon A-D, sibirica-phenon) và acid 3,4,5-trimethoxy-cinnamic v.v... cũng đã được phân lập từ Viễn chí.

Trong loài viễn chí châu Âu, *P. senega* L., thành phần chính cũng là các saponin có phần genin là presenegin với đường -*O*-β-*D*-glucose ở C-3 và một mạch đường nối với chức ester ở C28 tương tự như ở Viễn chí. Các saponin chính là E và Z senegasaponin A, desacetyl-senegasaponin A, E và Z senegasaponin B, Z senegin II, E và Z senegin III và desacetylsenegin III (các đồng phân E và đồng phân Z là do nối đôi ở nhóm thế mono- hay di-methoxy cinnamic gắn vào vị trí 4 của đường fucose trong cùng ở mạch đường C-28, giống như các saponin của Viễn chí. Ngoài ra, trong rễ còn có tinh dầu với methylsalicylat là thành phần chính chiếm tới 0,1 - 0,3% so với dược liệu. [*WHO monographs on selected medicinal plants*. Vol. 2 (2004) 276-84]



3,4,5-trimethoxycinnamic acid

Tác dụng

Viễn chí có tác dụng bảo vệ các tế bào thần kinh. Các thử nghiệm dược lý đã cho thấy cao chiết Viễn chí có tác dụng gia tăng trí nhớ, chống thoái hóa các tế bào thần kinh, sửa chữa các tổn thương trên thần kinh vốn gây ra rối loạn hành vi và trí nhớ [Chena Y.L. et al. *J. of Ethnopharm*. 2004, 95(1), 47-55].

Saponin trong Viễn chí có tác dụng ức chế *c*-AMP phosphodoesterase. IC_{50} của onjisaponin E, F và G tương đương với papaverin. Onjisaponin F có tác dụng kéo dài thời gian ngủ trên chuột nhắt sử dụng hexobarbital.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Uống với liều thích hợp, saponin có trong Viễn chí có kích thích sự bài tiết niêm dịch ở khí quản, có tác dụng chữa ho, long đờm, kích thích sự bài tiết nước bọt, bài tiết các tuyến ở da và thông tiểu.

Ngoài ra, Viễn chí và senegin II và III có tác dụng hạ đường huyết [*Planta Med.* (1966) 62(5): 440-3]. Một số senegasaponin có tác dụng ức chế hấp thu ethanol ở đường tiêu hóa [Yoshikawa M. et al., *Chem Pharm Bull.* 1995;43(2):350-2], chất điều hợp vaccine làm tăng đáp ứng miễn dịch [Estrada A. et al. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2000;23(1):27-43]. Acid 3,4,5-trimethoxycinnamic có tác dụng chống stress [Kawashima K. et al. ,*Biol Pharm Bull.* 27(8):1317-9].

Loài Viễn chí châu Âu có tác dụng long đờm do kích thích tiết dịch và làm loãng dịch ở phế quản, hạ cholesterol, lipid huyết và có tác dụng hạ đường huyết. [*WHO monographs on selected medicinal plants.* (2004)]

Công dụng và dạng dùng

Viễn chí được dùng làm thuốc chữa ho. Liều dùng mỗi lần 2 gam, ngày 6 gam dưới dạng thuốc sắc. Nếu cao lỏng thì dùng mỗi ngày 3 lần mỗi lần 0,5 - 2 ml.

Có thể chế dưới dạng sirô: rễ Viễn chí tán nhỏ 10g, nước cất 150 ml. Hãm Viễn chí với nước sôi trong 8 giờ. Gạn, lọc rồi thêm đường theo tỉ lệ sirô pha nguội.

Trong y học cổ truyền, Viễn chí được chế biến dưới hai dạng:

- Chích Viễn chí là Viễn chí đã được đun với nước Cam thảo đến cạn rồi phơi khô (1kg Viễn chí cần 60 g Cam thảo).
- Mật Viễn chí là Viễn chí đã được sao với mật ong (1 kg Viễn chí cần 200g mật ong).

Ngoài công dụng chữa ho, y học dân tộc cổ truyền còn sử dụng viễn chí phối hợp với các vị thuốc khác để điều trị thần kinh suy nhược, hay hốt hoảng; thuốc an thần, nâng cao trí lực chữa chứng hay quên nên có tên là "Viễn trí".

CÁT CÁNH

Radix Platycodi

Dược liệu là rễ của cây Cát cánh - *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. họ Hoa chuông - Campanulaceae.

Đặc điểm thực vật và phân bố

Cây thảo sống dai. Thân cao 50 - 80 cm. Lá gần như không cuống mọc đối hoặc vòng 3 - 4 chiếc, phiến lá hình trứng dài 3 - 6 cm rộng 1 - 2,5 cm, mép có răng cưa to. Lá phía ngọn nhỏ, có khi mọc so le. Hoa mọc riêng lẻ hoặc thành chùm thưa. Đài màu xanh hình chuông rộng. Tràng hình chuông

Cát cánh
Platycodon grandiflorum (Jacq.) A. DC.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

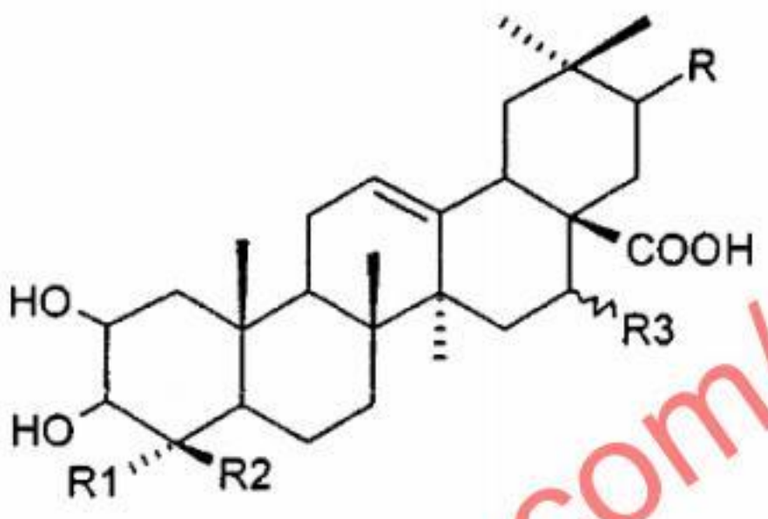
màu lơ nhạt. Quả hình trứng ngược. Mọc hoang và trồng ở Trung Quốc. Năm 1960 bộ môn Dược liệu Trường Đại học Dược khoa Hà Nội đã nhập hạt giống của nước ngoài thấy cây mọc tốt, thích nghi với khí hậu của nước ta. Hiện nay ta còn phải nhập.

Bộ phận dùng

Rễ củ đào vào thu đông ở những cây đã được 3 - 4 năm, rửa sạch đất cát phơi hay sấy khô. Rễ hình trụ, phía dưới thon nhỏ lại, dài 15 - 20 cm đường kính 1 - 2 cm, thường ít phân nhánh. Phía trên còn sót lại gốc của thân. Mặt ngoài màu trắng ngà có những vết nhăn ngang, dọc và vết sẹo của rễ con. Vết bẻ không phẳng, màu trắng. Vị hơi ngọt, sau đắng. Loại rễ to, dài, đều, chắc, màu trắng vị đắng là tốt.

Thành phần hóa học

Hoạt chất chính là các saponin triterpenoid nhóm oleanan có phần sapogenin là acid platycogenic A, B, C, platycodigenin và acid polygalacic.



Sapogenin	R1	R2	R3	R4
Acid platycogenic A	CH_2OH	COOH	α-OH	-
Acid platycogenic B	CH_3	COOH	β-OH	OH
Acid platycogenic C	CH_3	CH_3	β-OH	OH
Platycodigenin	CH_2OH	CH_2OH	α-OH	-
Acid polygalacic	CH_2OH	CH_3	α-OH	-

Các saponin trong Cát cánh bao gồm: platycodin A, C, D, D2, D3 [Saeki T. et al.,Planta Med. 1999 Jun;65(5):428-31]; platycosid B, C, D, E, F, G1, G2, H, I, J, K, L, M1, M2, M3 [Nikaido T. et al., Chem Pharm Bull. 1999; 47(6):903-4]; deapiplaticodin D, deapiplaticodin D3, deapiplaticosid E, polygalacin D, D2, G3; 2"-*O*-acetyl polygalacin D, 3"-*O*-acetyl polygalacin D.

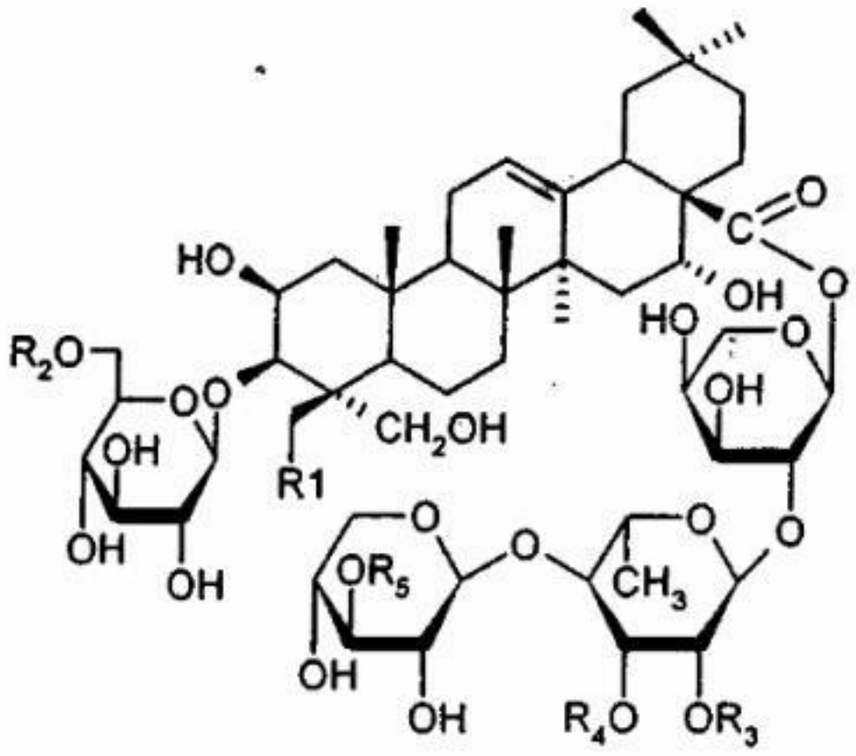
Một số saponin trong Cát cánh có cấu trúc sapogenin đặc biệt như cấu trúc ester nội phân tử (vòng lacton) giữa chức acid ở C-23 và OH ở C-2 (như ở trong platycosid M1, M2, M3).

Ngoài ra, trong rễ Cát cánh còn có các flavonoid (luteolin 7-*O*-glucosid, luteolin và apigenin), 3,4-dimethoxycinnamic, các acid thơm (acid caffeic, chlorogenic, ferulic, isoferulic, homovanillic, alpha-resorcylic, *m*-coumaric, *p*-coumaric, *p*-hydroxybenzoic, 2-hydroxy-4-methoxybenzoic, và 2,3-dihydroxybenzoic) [Mazol I. et al., *Acta Pol Pharm*. (2004) 61(3):203-8] và inulin.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin



Cấu trúc 10 saponin chính trong Cát cánh [*J. Chromatogr. A*, 2006,1135 27-35]

	Saponin	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
1	Deapi-platycosid E	OH	Gen	H	H	H
2	Platycosid E	OH	Gen	H	H	Api
3	Deapi- platycodin D_3	OH	Glc	H	H	H
4	Platycodin D_3	OH	Glc	H	H	Api
5	Deapi-platycodin D	OH	H	H	H	H
6	Platycodin D	OH	H	H	H	Api
7	Polygalacin D	H	H	H	H	Api
8	3"-O-Acetyl polygalacin D	H	H	H	Ac	Api
9	Platycodin A	OH	H	Ac	H	Api
10	2"-O-Acetyl polygalacin D	H	H	Ac	H	Api

Gen = glucose – glucose; Glc = glucose; Api = apiose; Ac = acetyl

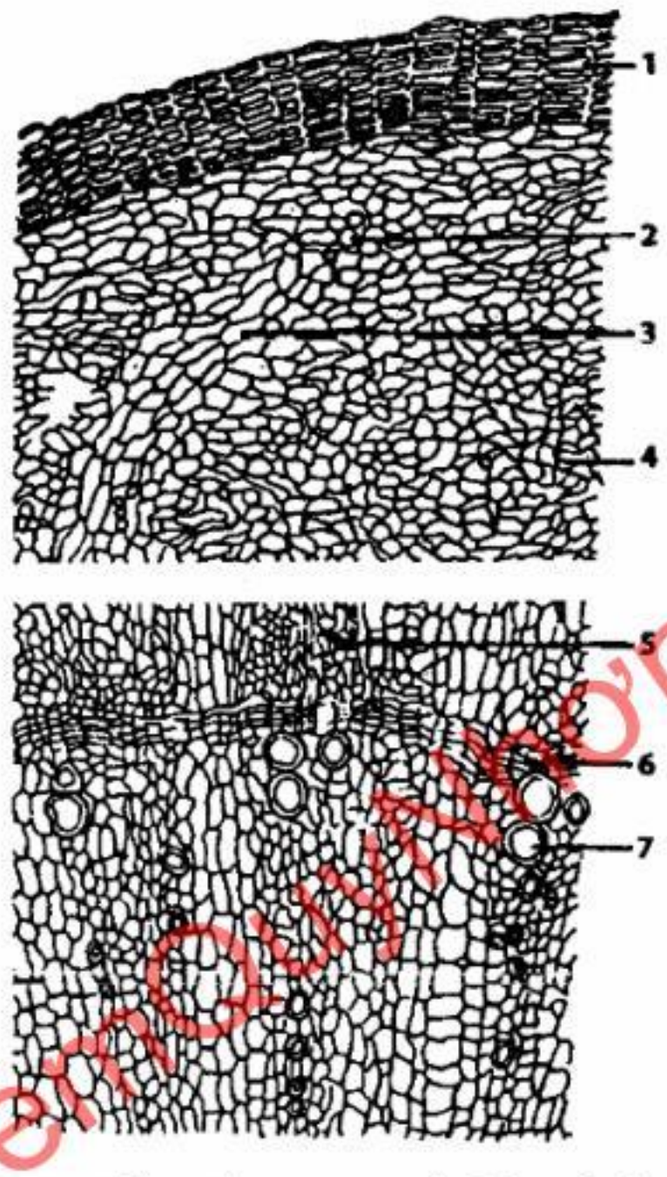
Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Kiểm nghiệm

Vi phẫu

Mô mềm vỏ hơi hẹp, có những chỗ rách, rải rác có đám ống nhựa mủ. Liber chiếm phần lớn, cũng có các đám ống nhựa mủ rải rác. Tầng sinh gỗ thành vòng liên tục. Gỗ nối tiếp liber vào tận giữa. Tia ruột rộng gồm 4 - 5 hàng tế bào. Nếu dược liệu đem ngâm cồn một thời gian rồi cắt soi thì thấy trong tế bào mô mềm có tinh thể inulin.



Vi phẫu cắt ngang rễ Cát cánh
1. Bần ; 2. đám ống nhựa mủ; 3. tia ruột; 4. liber, 5. đám ống sàng, 6. tầng phát sinh; 7. mạch gỗ

Bột

Bột màu trắng ngà. Soi kính hiển vi thấy các mảnh mô mềm với các ống nhựa mủ. Mảnh mạch, đôi khi có mạch vòng.

Định tính

Áp dụng các phương pháp định tính đối với saponin như đã trình bày ở phần đại cương. Ngoài ra vì trong Cát cánh có inulin nên có thể dùng thuốc thử α-naphtol + acid sulfuric. Thực hiện bằng cách đặt một ít bột dược liệu trên khay sứ, thêm một giọt dung dịch α-naphtol 15% trong cồn ethylic và một giọt acid sulfuric đậm đặc sẽ xuất hiện màu tía.

Định lượng

Định lượng bằng phương pháp cân, nguyên tắc như sau: chiết kiệt saponin trong 4 g dược liệu với dụng cụ Soxhlet và dung môi là methanol. Làm đậm đặc dịch chiết còn 15 - 20 ml, để nguội rồi thêm ether (50 ml) để tủa saponin. Tủa lại được hòa tan trong 20, 10, 5 ml methanol rồi lập lại như trên (để tinh chế). Cuối cùng, tủa lần hai được hòa tan trong methanol, bốc hơi trên nồi cách thủy rồi cân.

Dược điển Trung Quốc quy định hàm lượng saponin trong rễ Cát cánh không dưới 6%. Dược điển Việt Nam IV quy định hàm lượng saponin không dưới 5%.

Tác dụng

Saponin của Cát cánh có tác dụng hạ nhiệt, giảm đau, kháng viêm. Dịch chiết rễ tiêm dưới da khi thử trên súc vật thí nghiệm với liều 2 g/kg tương đương 160 mg platycodin/kg thấy có tác dụng giảm đau mạnh hơn liều 100 - 200 mg aspirin [Racz-Kotilla et al. 1982].

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Các saponin trong Cát cánh có tác dụng long đờm và tiêu đờm, trị ho, kháng histamin, hạ lipid và cholesterol máu.

Dược liệu còn có tác dụng kháng khuẩn, hạ đường huyết, làm dịu thần kinh, giãn mạch, hạ huyết áp...

Saponin của Cát cánh có tác dụng phá huyết mạnh vì các sapogenin có OH ở C-16.

Công dụng

Cát cánh được sử dụng trong điều trị ho có đờm, viêm họng, viêm phế quản, hen xuyễn, cao lipid huyết, cao huyết áp, tiểu đường, kháng viêm, suy giảm miễn dịch.

Trong y học cổ truyền có đơn thuốc của Trọng Cảnh: Cát cánh 4g, Cam thảo 8 g, nước 600 ml sắc còn 200 ml chia làm 3 lần uống trong ngày.

Chú ý rằng có trường hợp bệnh nhân bị nôn sau khi uống thuốc. Cần thận trọng trong trường hợp bệnh nhân bị loét dạ dày, ruột.

BỒ KẾT

Fructus Gleditschiae

Bộ phận dùng là quả của cây Bồ kết - *Gleditschia australis* Hemsl., Phân họ Vang – Caesalpinioidae, Họ Đậu - Fabaceae.

Đặc điểm thực vật

Cây to, có gai phân nhánh. Lá kép lông chim. Cuống chung có lông và rãnh dọc. Có 6 - 8 đôi lá chét dài 25 mm, rộng 15 mm. Hoa mọc thành chùm màu trắng. Quả loại đậu dài 10 - 12 cm hơi cong hay thẳng, dẹt, phồng lên ở chỗ mang hạt. Quả khi chưa chín thì màu xanh, nhưng khi chín khô chuyển thành màu đen, có 10 - 12 hạt rất rắn. Cây được trồng nhiều nơi ở nước ta để lấy quả vào tháng 10 - 12. Trong y học dân tộc cổ truyền, quả còn gọi là tạo giác.

Bồ kết
Gleditschia australis Hemsl.

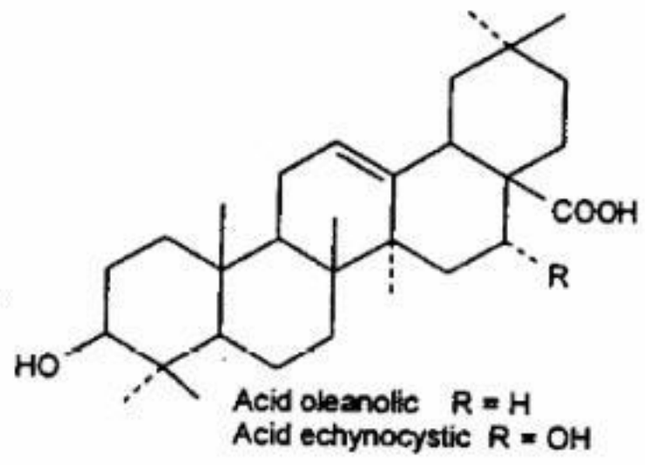
Thành phần hóa học

Thành phần saponin

Năm 1961 Đỗ Tất Lợi, G. Herman và I. Ciulei chiết saponin với hiệu xuất 10%. Năm 1966 các tác giả trên công bố đặc điểm của một saponin như sau: chỉ số phá huyết là 35.000, đc.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

198 - 202°C; $[D]_D^{20}$ - 32° ± 1°; sau khi thủy phân thì thu được aglycon có điểm chảy 291 - 298 °C, xác định thuộc dẫn chất β-amyrin.

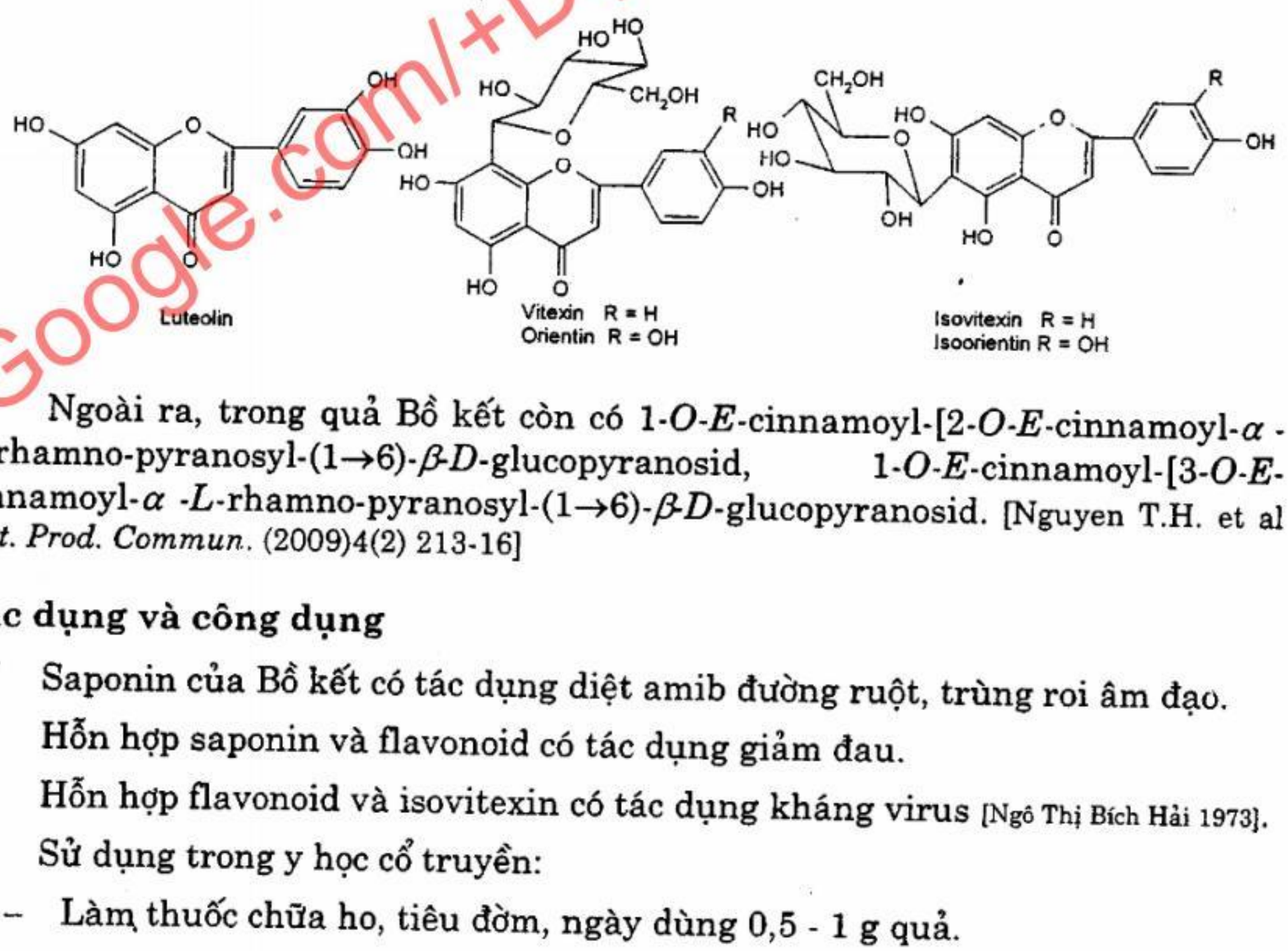


Năm 1967, Nguyễn Đăng Tâm đã phân lập từ bồ kết hai saponin đặt tên là boketosid. một chất đã xác định có aglycon là acid oleanolic và phần đường là glucose + arabinose + xylose. Aglycon của saponin thứ hai là acid echynocystic (= 16-hydroxy-28-oic-β-amyrin).

Năm 1972, Ngô Bích Hải cùng một số nhà nghiên cứu thuộc Liên Xô cũ đã tách được một saponin đặt tên là australosid có phần aglycon là acid echynocystic, phần đường có hai mạch: một mạch nối vào –OH ở C-3 gồm có D-xylose, L-arabinose, D-glucose theo tỉ lệ 2:1:1. Còn mạch ở C-28 theo dây nối ester gồm D-xylose, D-galactose theo tỉ lệ 1:1. [Ngô Bích Hải et al. *Chem. of Natural Comp.* (1972) 8(1) 111]

Thành phần flavonoid

Có 5 flavonoid đã được xác định cấu trúc là luteolin, isovitexin, vitexin, isoorientin, orientin và 3"-*O*-menthiafoloylisovitexin, [Ngô Bích Hải et al. *Chem. of Natural Comp.* (1972) 8(1) 111; Ngo Bich Hai et al. *Chem. of Natural Comp.* (1972) 8(5) 617; Nguyen T.H. et al *Nat. Prod. Commun.*] (2009) 4(2) 213-16].



Ngoài ra, trong quả Bồ kết còn có 1-*O*-*E*-cinnamoyl-[2-*O*-*E*-cinnamoyl-α -*L*-rhamno-pyranosyl-(1→6)-β-*D*-glucopyranosid, 1-*O*-*E*-cinnamoyl-[3-*O*-*E*-cinnamoyl-α -*L*-rhamno-pyranosyl-(1→6)-β-*D*-glucopyranosid. [Nguyen T.H. et al *Nat. Prod. Commun.* (2009)4(2) 213-16]

Tác dụng và công dụng

Saponin của Bồ kết có tác dụng diệt amib đường ruột, trùng roi âm đạo.

Hỗn hợp saponin và flavonoid có tác dụng giảm đau.

Hỗn hợp flavonoid và isovitexin có tác dụng kháng virus [Ngô Thị Bích Hải 1973].

Sử dụng trong y học cổ truyền:

– Làm thuốc chữa ho, tiêu đờm, ngày dùng 0,5 - 1 g quả.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

- Chữa sâu răng: quả bồ kết tán nhỏ đắp vào chỗ răng sâu, hễ chảy nước bọt thì nhổ đi.
- Chữa chốc đầu: Bồ kết đốt thành than tán nhỏ, rửa sạch vết chốc, rắc than bồ kết lên.
- Chữa quai bị: quả Bồ kết (bỏ hạt) tán nhỏ, hòa vào giấm, tẩm vào bông đắp vào chỗ đau (nhiều lần).
- Chữa bí đại tiện, tắc ruột, không trung tiện được. Cách làm: lấy 1/4 quả bồ kết đem nướng (đừng để cháy quá) bỏ hạt, tán thành bột mịn, dùng đầu canun có bôi vaselin chấm vào bột Bồ kết, sau đó cho vào hậu môn sâu độ 3 - 4 cm (làm 3 - 4 lần).

Nhân dân còn dùng hạt để chữa ly: hạt đem sao vàng tán nhỏ, dùng hồ nếp làm viên bằng hạt ngô. Ngày dùng 10 - 20 viên, dùng nước chè đặc để chiêu thuốc, uống lúc sáng sớm.

Y học cổ truyền còn dùng gai Bồ kết gọi là tạo giác thích để chữa mụn nhọt.

Phụ nữ có thai và người bị viêm loét dạ dày ruột không được dùng.

Bột Bồ kết gây hắt hơi mạnh.

Quả Bồ kết là nguyên liệu giàu saponin, dùng để chiết saponin.

Dược điển Đông y Trung Quốc quy định đại tạo giác là quả chín khô và tạo giác thích là gai khô của cây bồ kết Trung Quốc - *G. sinensis* Lam.

NGƯU TẤT

Radix Achyranthes bidentatae

Dược liệu là rễ đã chế biến của cây Ngưu tất - *Achyranthes bidentata* Blume. họ Dền - Amaranthaceae.

Đặc điểm thực vật

Cây thảo cao khoảng 1m. Thân mảnh, lá mọc đối, hình trứng, đầu nhọn, mép nguyên dài 5 - 12 cm, rộng 2 - 5 cm. Cụm hoa là bông ở đầu cành hay kẽ lá. Hoa mọc hướng lên nhưng khi biến thành quả sẽ mọc quặp xuống. Quả nang, lá bắc còn lại và nhọn thành gai cho nên vướng phải có thể mắc vào quần áo.

Ngưu tất đã được chính thức đưa vào Dược điển từ Dược điển Việt Nam I, tập 2 năm 1983.

Ngưu tất
Achyranthes bidentata Blume

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Trồng trọt và chế biến

Trồng bằng hạt. Ở đồng bằng trồng vào tháng 9 - 10, thu hoạch vào tháng 2 - 3. Vùng miền núi trồng vào tháng 2 - 3 thu hoạch vào tháng 9 - 10. Muốn lấy giống thì cây sau khi thu hoạch, cắt bớt rễ, cắt bớt thân và trồng lại khoảng 4 tháng nữa mới lấy hạt.

Thu hoạch rễ khi cây bắt đầu úa vàng. Năng suất khoảng 1,2 tấn/ha. Rễ được rửa sạch, xông sinh rồi phơi hoặc sấy. Rễ to, dài, dẻo là loại tốt. Loại có thân và rễ màu hồng gọi là Hồng thảo căn.

Cây hiện được trồng thành công ở nước ta, dược liệu đủ dùng trong nước và xuất khẩu.

Thành phần hóa học

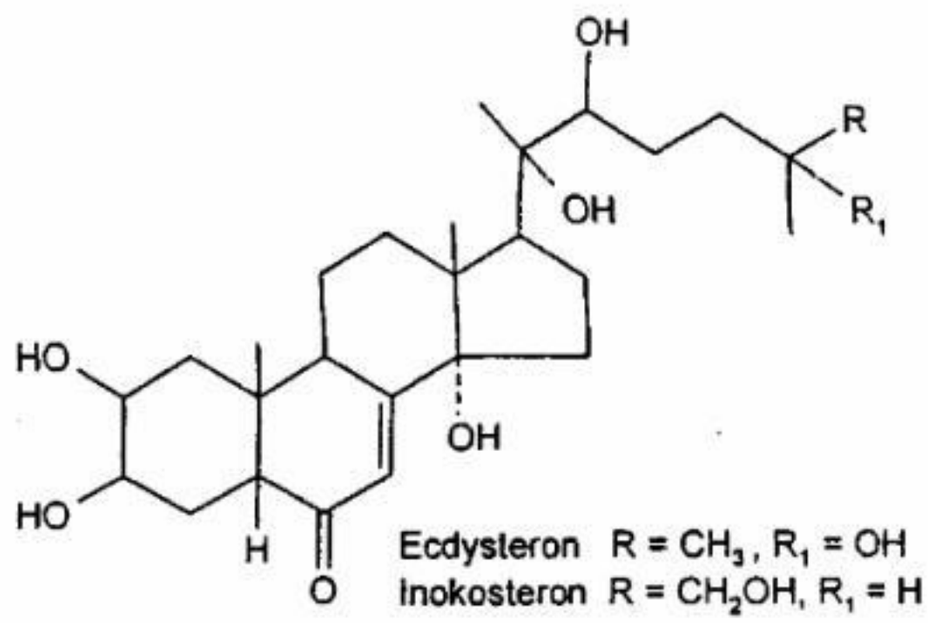
Thành phần quan trọng trong rễ Ngưu tất có các saponin có phần sapogenin là acid oleanolic như acid oleanolic 28-*O*-β-*D*-glucopyranosid, 3-*O*-β-*D*-gluco-pyranosyl acid oleanolic -28-*O*-β-*D*-glucopyranosid, bidentatosid I [*J. Nat. Prod.* 2001, 64, 243-45], bidentatosid II, chikusetsu saponin V và chikusetsusaponin V methyl ester [*Chem. Pharm. Bull.* 2001, 49(11) 1492-94]. Bốn chất sau cũng có aglycon là acid oleanolic.

Kết quả theo dõi động thái tích lũy saponin trong Ngưu tất tại Đại học Tây Bắc (Trung Quốc) cho thấy hàm lượng saponin trong rễ thay đổi mạnh theo chu kỳ sinh dưỡng của cây. Khi cây phát triển sinh dưỡng mạnh nhất, hàm lượng saponin tính theo acid oleanolic có thể đạt tới 7,76%, sau đó giảm xuống chỉ còn 1% khi cây ra hoa và tăng dần lên và ổn định ở khoảng 3% tính theo acid oleanolic.

Trong thân và lá Ngưu tất cũng có saponin nhưng với hàm lượng thấp hơn. Khi cây phát triển sinh dưỡng mạnh nhất, hàm lượng saponin tính theo acid oleanolic có thể đạt tới 4% sau đó giảm dần. Đến khi cây bắt đầu tàn, hàm lượng saponin trong thân chỉ còn 1% còn trong lá chỉ còn 0,06%.

Ngoài ra, trong rễ Ngưu tất còn có ecdysteron, inokosteron và (*20R,22R*)-2β,3β,20,22,26-pentahydroxy cholestan 7,12-dien-6-on; các polysaccharid.

Trong phần trên mặt đất của Ngưu tất, ngoài các saponin có phần sapogenin là acid oleanolic còn có các flavonoid (như rutin, isoquercetin và astragalin = kaempferol-3-*O*-glucosid) và acid caffeic.



Ecdysteron R = CH_3, R_1 = OH
Inokosteron R = CH_2OH, R_1 = H

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Kiểm nghiệm

Định tính. DĐVN dựa vào kết quả phân tích bằng sắc ký lớp mỏng để phát hiện acid oleanolic: chiết xuất saponin bằng ethanol 96%, thủy phân saponin bằng acid hydrochloric, chiết acid oleanolic bằng ether dầu hỏa, bốc hơi dung môi rồi hòa tan cắn trong ethanol dùng làm dung dịch thử. Bản mỏng là silicagel H trộn với dung dịch natri cellulose carboxymethyl 0,5%. Dung môi khai triển là hỗn hợp chloroform - methanol (40:1). Thuốc thử phát hiện là dung dịch acid phosphomolybdic 5% trong ethanol và sấy ở 110°C trong 10 phút. Đối chiếu kết quả với acid oleanolic chuẩn.

Tác dụng

Rễ Ngưu tất đã được GS. Đoàn Thị Nhu và cộng sự chứng minh có tác dụng hạ cholesterol máu và có tác dụng hạ huyết áp. Viện Dược liệu (Bộ Y tế Việt Nam) đã sản xuất cao toàn phần, bào chế dưới dạng viên đem thử tại viện Bảo vệ sức khoẻ người có tuổi do GS. Phạm Khuê và cộng sự thực hiện đã đi đến kết luận sau:

- Ngưu tất có tác dụng làm giảm cholesterol máu trên 65% số bệnh nhân có cholesterol máu cao.
- Ngưu tất có tác dụng làm giảm tỉ lệ β/α-lipoprotein máu ở 82% số bệnh nhân có tỉ lệ β/α-lipoprotein máu cao.
- So sánh với clofibrat (thuốc tổng hợp được dùng điều trị các bệnh nhân trên) thì tác dụng hạ cholesterol máu cao hơi yếu hơn, còn tác dụng hạ tỉ lệ β/α-lipoprotein thì gần tương đương.

Phạm Kim Mãn (1992) đã nghiên cứu đưa ra chế phẩm "Bidentin" mà thành phần có saponin của rễ Ngưu tất cộng với chất phụ gia để làm thuốc hạ cholesterol. Thuốc đã được thử lâm sàng có kết quả tốt, thuốc ổn định và không gây tác dụng phụ.

Nước sắc Ngưu tất có tác dụng giãn mạch, tăng tuần hoàn máu và giảm đau trên chuột cống. Nước sắc cũng có tác dụng hạ huyết áp trên thỏ.

Saponin của Ngưu tất cũng được các tác giả Ấn Độ công bố có tác dụng trợ lực tử cung.

Các polysaccharid của Ngưu tất có hoạt tính điều hoà miễn dịch [Li Z.K. et al. Yao Xue Xue Bao (1997) 32(12), 881-87; Pinilla V. et al. *Planta Med.* (1999) 65(6) 549-52], ngăn sự phát triển của khối u [Li Q.J. et al. *Inter. Immunopharmacol.* (2007) 7(5) 568-77; Wong C.K. *J. Int. Med. Res.* (1994) 22(6) 299-312] và kháng HIV *in vitro*. [Peng Z.G. et al. *Yao Xue Xue Bao* (2008) 43(7) 702-06]

Công dụng

Ngưu tất được dùng làm thuốc làm dịu, kháng viêm, chống thấp khớp, giãn mạch, hạ huyết áp và lợi tiểu. Thường được sử dụng trong các chứng đau

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

lưng, đau khớp và yếu chi dưới. Ngưu tất cũng được dùng để hạ cholestrol huyết trong điều trị vữa xơ động mạch [Encyclopaedia of Herbs and their Uses, Dorling Kindersley (1995); Medicinal Plants in Vietnam, WHO, (1989)].

Trong đông y, vị Ngưu tất được dùng phối hợp với một số dược liệu khác để chữa chứng mất kinh, đẻ khó. Ngoài ra còn dùng để chữa bệnh thấp khớp, đau lưng, bí tiểu tiện.

Không nên dùng cho phụ nữ có thai.

Ghi chú:

Ở nước ta còn có cây Cỏ xước - *Achyranthes aspera* L, mọc hoang, nếu cây được trồng và chăm bón cũng cho rễ mềm và cũng có thể dùng được như Ngưu tất. Cây này khác cây trên ở chỗ lá có khía răng, lá to hơn và bông dài hơn.

Thành phần hóa học của Cỏ xước khác nhau giữa các bộ phận và điều kiện sinh thái.

Phần trên mặt đất của Cỏ xước có 5 saponin sau đã được biết: *β-D*-glucopyranosyl 3[O-*α-L*-rhamnopyranosyl-(1→3)-*O-β-D*-glucopyranuronosyloxy] oleanolat, *β-D*-glucopyranosyl-3-*α*-[*O-β-D*-galactopyranosyl-(1→2)-*O-β-D*-glucopyranuronosyloxy] oleanolat, *β-D*-glucopyranosyl-3-[*O-β-D*-glucopyranuronosyl-oxy] oleanolat, *β-D*-glucopyranosyl-3-[O-*α-L*-rhamnopyranosyl-(1→3)-*O-β-D*-glucopyranuronosyloxy] machaerinat, *β-D*-glucopyranosyl-3-[*O-β-D*-galacto-pyranosyl-(1→2)-*O-β-D*-glucopyranuronosyl oxy]-machaerinat (acid machaerinic = acid 3*β*,21*β*-dihydroxy- $\Delta^{12\text{-}18\beta}$ oleanan-28-olic) [Günter Michl et al. *Helvetica Chimica Acta*, 83(2), 359-63].

Ngoài ra, phần trên mặt đất còn có betain, một alkaloid là achyranthin và các hydrocarbon mạch dài.

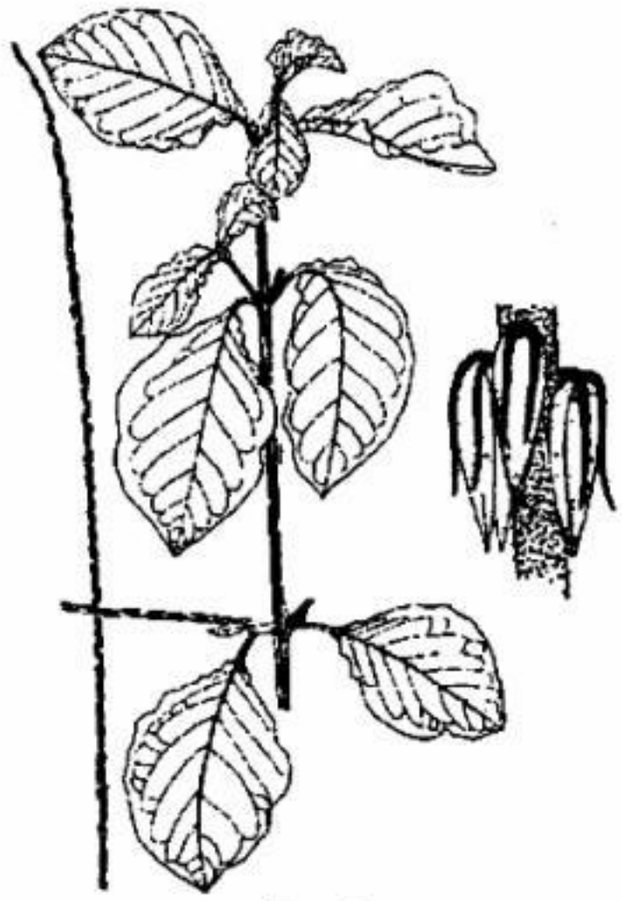
Trong rễ Cỏ xước có saponin với phần genin là acid oleanolic.

Ecdysteron được báo cáo có trong nhiều bộ phận khác nhau của cây như rễ, thân, lá, hạt.

Dịch chiết cồn của Cỏ xước có tác dụng kháng viêm, chống viêm khớp, chống làm tổ, điều hòa miễn dịch, hạ lipid huyết, lợi tiểu. Cỏ xước cũng cho thấy có tác dụng hạ đường huyết trên thỏ [*J. Ethnopharmacol.* 1991; 31 (1): 49-57].

Dịch chiết cồn của Cỏ xước có tác dụng hạ huyết áp [Gambir et. al. *Ind. J. Physiol. Pharmacol.* (1965) 9, 185] trong khi dịch chiết chloroform lại có tác dụng tăng huyết áp trên chó [Kapoor et al. *Ind. J. Pharm.* (1967) 29, 285].

Saponin của Cỏ xước có tác dụng lợi tiểu trên chuột cống và chó.



Cỏ xước
Achyranthes aspera L.

Trên lâm sàng, nước sắc Cỏ xước sử dụng kết hợp với DDS (Diamino diphenyl sulphone) cho thấy sự cải thiện rõ rệt về tổng trạng cũng như chỉ số vi khuẩn ở những bệnh nhân bị bệnh phong, hữu ích trong điều trị bệnh phong thể nhẹ hay bán cấp.

Hỗn hợp saponin phân lập từ hạt Cỏ xước có tác dụng tăng sức co bóp tim cô lập của ếch, chuột lang, thỏ. Tác dụng này nhanh hơn với thời gian tác động ngắn hơn so với digoxin. [Gupta et. al. *Indian J. Med. Res.* (1972) 60, 462]

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Phân đoạn không phân cực không phải là alkaloid của lá Cỏ xước ở nồng độ 100 µg/ml ức chế 96,9% sự hoạt hóa kháng nguyên sớm của virus Epstein - Barr gây ra bởi 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetat ở tế bào Raji với tỉ lệ tế bào sống sót là 60%. Cao chiết methanol toàn phần của phần trên mặt đất có tác dụng anticarcinogenic (76%) trên thử nghiệm carcinogenesis trên da *in vivo* 2 giai đoạn [Chakraborty A. et al. *Cancer letters* (2002) 177(1) 1-5].

Achyranthin có tác dụng hạ áp và giảm nhịp tim, giãn mạch trên chó, giãn cơ trên ếch và lợi tiểu, nhuận tràng trên chuột cống trắng.

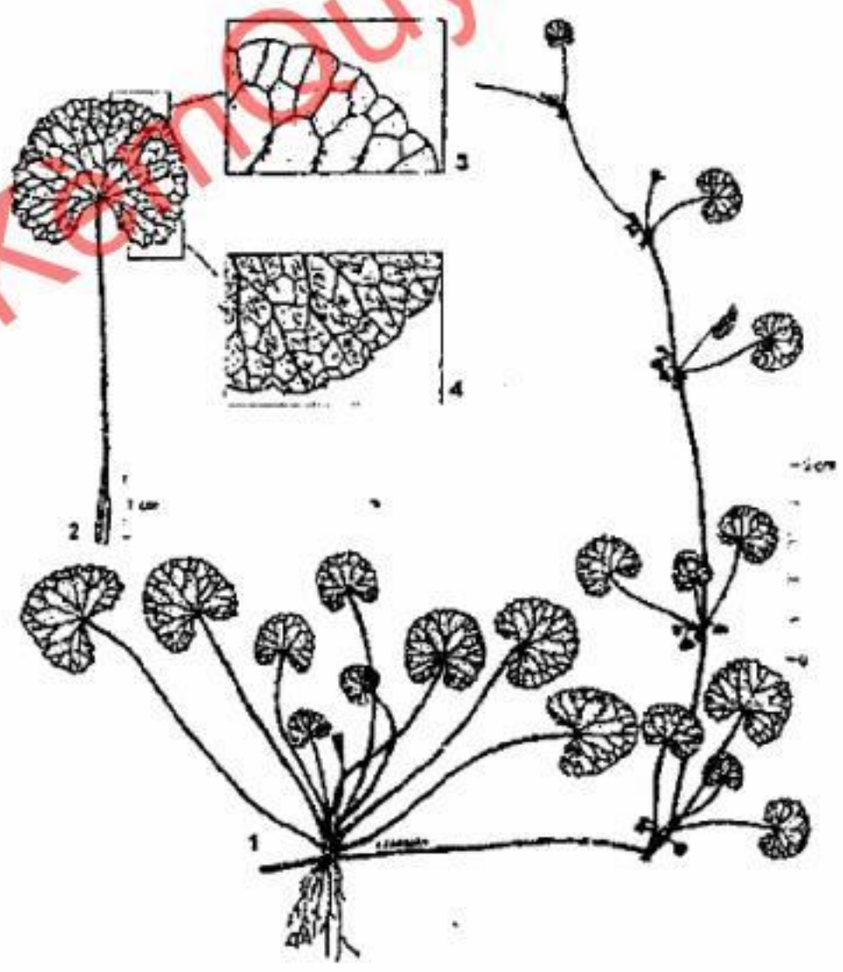
RAU MÁ

Herba Centellae asiaticae

Dược liệu là phần trên mặt đất của cây Rau má - *Centella asiatica* Urb., họ Hoa tán Apiaceae.

Đặc điểm thực vật

Rau má là loại cỏ sống dai, mọc bò, rễ mọc ở các mấu của thân. Lá có cuống dài 10 - 12 cm, phiến lá khía tai bèo tròn, gốc lá hình tim, rộng 2 - 4 cm. Gân lá hình chân vịt. Cụm hoa tán đơn gồm các hoa rất nhỏ. Quả dẹt. Cây mọc hoang ở ruộng vườn, bãi cỏ. Ở thành phố Hồ Chí Minh, Rau má được trồng nhiều trong các vườn nhà thuộc xã An Phú Đông, Thạnh Lộc, huyện Hóc Môn. Cây còn được trồng ở Tiền Giang.



Rau má - *Centella asiatica* Urb.

Bộ phận dùng

Phần trên mặt đất, có thể thu hái quanh năm. Thường được dùng tươi.

Thành phần hóa học

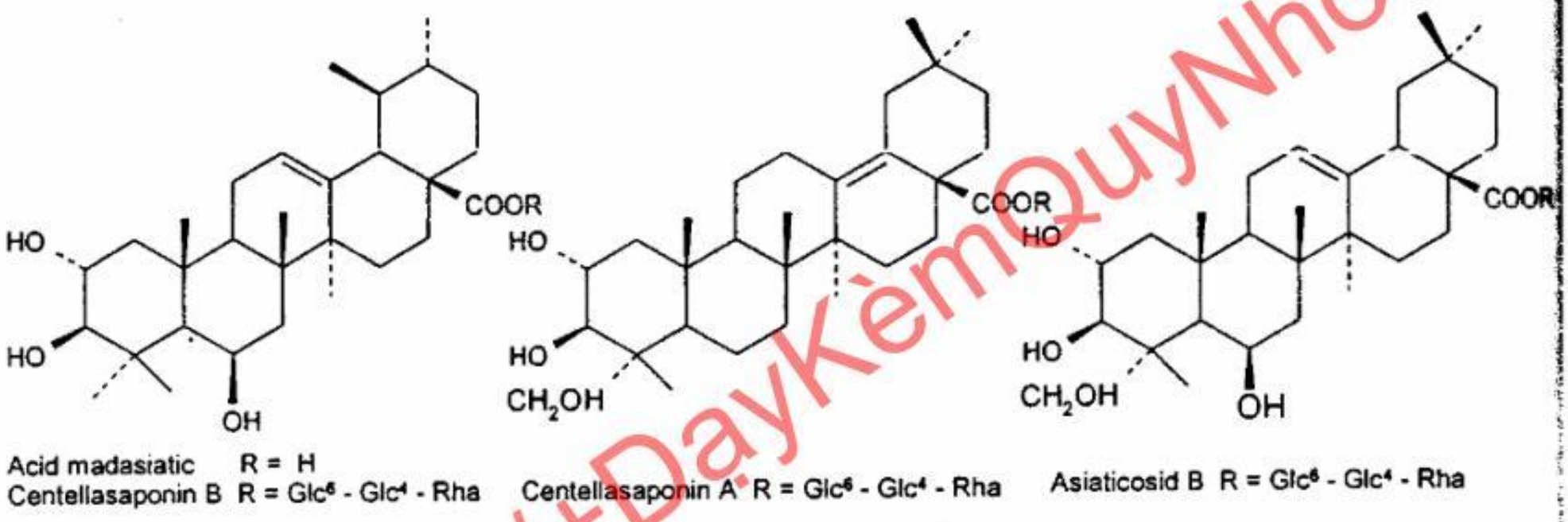
Phần trên mặt đất của Rau má có các saponin triterpen 5 vòng và các sapogenin của chúng, chủ yếu là thuộc nhóm ursan. Một số ít là thuộc nhóm oleanan và lupan. Ngoài ra, Rau má còn có các flavonoid và một số chất khác với hàm lượng thấp.

Saponin: các hợp chất triterpenoid nhóm ursan được xem là hoạt chất chính trong Rau má. Cho tới nay, hơn 20 chất đã được phân lập với phân nửa trong số đó là các saponosid. Trừ một trường hợp là dẫn chất 3-*O*-*α*-*L arabinosid*, mạch đường của các saponin trong Rau má đều gắn vào genin ở vị trí nhóm carboxyl ở C-28 qua dây nối ester. Vì thế, tất cả các chất này đều là pseudoglycosid. Mạch đường gồm 2

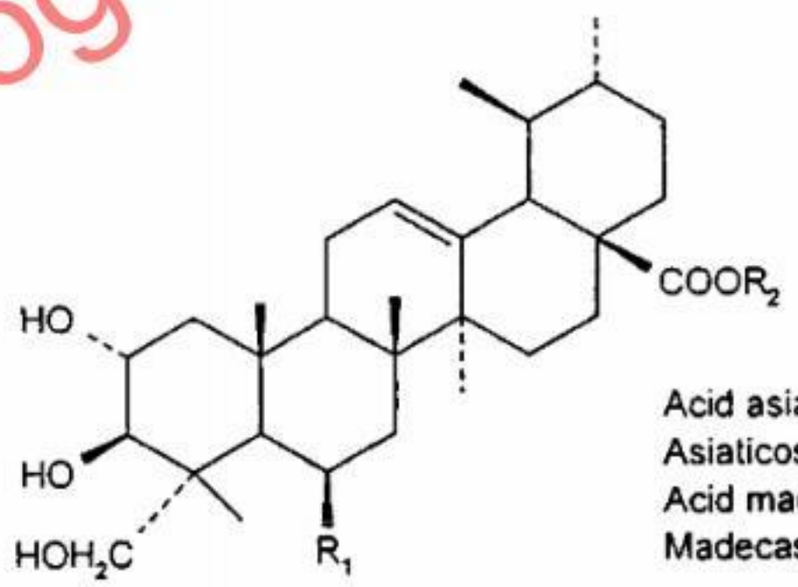
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

hoặc 3 đường, trong đó luôn là 2 đường glucose nối với nhau qua dây nối 1→6. Đường thứ 3, nếu là mạch 3 đường, là đường rhamnose ở cuối mạch, gắn vào đường glucose bằng dây nối 1→4. Do là pseudoglycosid nên các saponin của rau má có chỉ số phá huyết thấp. [Kartnig, T. In *Herbs, Spices, and Medicinal Plants* (Cracker L.E., Simon J.E. Eds.) Oryx Press, Vol. 3,1988]

Các saponin quan trọng trong Rau má là asiaticosid và madecassosid. Khi thủy phân, asiaticosid cho phần aglycon là acid asiatic và phần đường gồm có 1 rhamnose và 2 glucose. Hàm lượng asiaticosid trong Rau má thay đổi nhiều tuỳ thuộc vào nơi mọc, có thể đạt tới 6,4% nhưng cũng có thể dưới 1%. Thuỷ phân madecassosid sẽ thu được aglycon là acid madecassic (acid brahmic)[1] và phần đường tương tự như asiaticosid.



Ngoài ra còn có một số saponin có cấu trúc ursan khác với hàm lượng thấp như methyl asiatat, methyl brahmat, brahmol, acid madasiatic, acid isothankunic, acid 2*a*-3*β*-20,23-tetrahydroxy-urs-28-oic, acid 2*a*-3*β*-23-trihydroxy-urs-20-en-28-oic, asiaticosid B-F, centellasaponin B và C, scheffurosid B, brahminosid, isothankunisid, arabinosid 3-*O*-*α*-*L* 2*a*-3*β*-6*β*-23-tetrahydroxy urs-20-en-28-oic [Jacida T. et al. *Molecules* (2009) 14.3922-41; Matsuda et al. Chem. Pharm. Bull, 49(10), 1368-71]



Acid asiatic	R_1 = H	R_2 = H
Asiaticosid	R_1 = H	R_2 = Glc⁶ - Glc⁴ - Rha
Acid madecassic	R_1 = OH	R_2 = H
Madecassosid	R_1 = OH	R_2 = Glc⁶ - Glc⁴ - Rha

Các dẫn chất olaeanan như acid terminolic, acid 2*a*-3*β*-23-trihydroxy-olean-12-en-28-oic, acid 3*β*-6*β*-23-trihydroxyolean-12-en-28-oic, centellasapogenol A, asiaticosid B, centella-saponin A, D và dẫn chất lupan là acid betulinic cũng đã được phân lập từ rau má.

Flavonoid: trong Rau má có các flavonoid là kaempferol, quercetin.

---

[1] Một số chất được một số tài liệu cũ báo cáo có trong Rau má đôi khi là những chất chưa tinh khiết (như acid isobrahmic là hỗn hợp của acid asiatic và acid madecassic) hay là một chất khác đã biết (như trường hợp của acid brahmic so với acid madecassic)...[Jacida T. 2009]

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Các nhóm hợp chất khác: trong Rau má còn có các carbohydrat (như mesoinositol, một oligosaccharid là centellose và một pectin là S3A); một alcaloid chưa được xác định cấu trúc gọi là hydrocotylin ($C_{23}H_{33}O_8N$). Ngoài ra còn có các hợp chất polyacetylen (acetoxycentellynol), sterol, lipid, vitamin C, carotenoid và một ít tinh dầu với thành phần chính là α-humulen, β-caryophyllen, bicyclogermacren, germacren B/D, myrcen, trans β-farnesen và *p*-cymol.

Tác dụng

Saponin toàn phần của Rau má đã được nghiên cứu thấy có tác dụng tăng tổng hợp collagen I và fibronectin. Tác dụng này có thể giải thích được tác dụng chống làm lành vết thương của Rau má. Các tác dụng này được cho là do các hợp chất triterpen trong Rau má.

Dịch chiết Rau má có tác dụng làm lành các vết loét dạ dày gây ra bởi acid acetic trên thú thử nghiệm [Cheng CL. et al. *Life Sci*. 2004;74(18):2237-49]; làm hạ huyết áp và chậm nhịp tim, chống oxy hoá, làm tăng trí nhớ, tăng cường khả năng học hỏi ở thú thử nghiệm; ức chế sự tăng sinh tế bào sừng (keratinocyte) với IC_{50} 209.9 ± 9.8 mg/ml trong bệnh bạch biến (psoriasis). Thành phần có tác dụng trong dịch chiết được cho là asiaticosid và madecassosid với IC_{50} tương ứng là 8.6 ± 0.1 µM và 8.4 ± 0.6 µM [Sampson J.H. et al., *Phytomedicine*, 2001; Vol. 8, No. 3, 230-235].

Cao chiết cồn 70% của Rau má có tác dụng chống co giật đường tiêm phúc mô trên chuột thử nghiệm. Saponin của Rau má có tác dụng chống trầm cảm [Chen Y. et al., *Zhong Yao Cai*. 2003;26(12):870-3].

Các thử nghiệm dược lý cho thấy rằng mặc dù pectin SA3 trong Rau má không có tác dụng kích thích miễn dịch nhưng các sản phẩm thoái giáng của nó lại có tác dụng kích thích miễn dịch [Wang XS. et al., *Carbohydr Res*. 2003, 338(22):2393-402].

Công dụng

Y học hiện đại sử dụng Rau má và saponin toàn phần trong Rau má trong điều trị bỏng độ II và III, vết thương và các tổn thương ngoài da. Nó cũng được dùng để ngăn ngừa sự sừng hóa tạo sẹo lồi. Dịch chiết được dùng ngoài để tăng cường sự lành vết thương, đặc biệt trong hậu sang thương hay hậu phẫu mãn. Sử dụng đường uống Rau má có tác dụng điều trị loét dạ dày - tá tràng do stress [*WHO Monograph on Selected Medicinal Plants*, Vol 1]. Các sản phẩm của Rau má còn được dùng trong bệnh tĩnh mạch mãn. [Pointel, J.P.; Boccalon, M.D.; Cloarec, M. et al. *Angiology* (1987) 38, 46–50].

Ngoài ra, Rau má con được sử dụng trong điều trị các vết loét do bệnh phong, eczema, các rối loạn tĩnh mạch. Rau má cũng có tác dụng giảm viêm ứ ở bệnh nhân xơ gan.

Trong y học cổ truyền các nước, Rau má được sử dụng trong điều trị nhiều loại bệnh khác nhau. Nhân dân ta dùng Rau má làm rau sống để ăn. Nước rau má là loại nước giải khát phổ biến ở các tỉnh phía Nam. Kinh nghiệm nhân dân cho rằng Rau má có tác dụng giải nhiệt, giải độc, thông tiểu, dùng để chữa sốt,

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

rôm sảy, mẩn ngứa, các bệnh về gan, thổ huyết, đi lỏng, lỵ, viêm họng, viêm phế quản, viêm đường tiểu tiện.

Trong đời sống, Rau má thường được dùng tươi làm nước giải khát, chế biến các nước sâm mát cùng với các dược liệu khác hay dùng làm rau xanh. Dược liệu được dùng tươi bằng cách xay với nước sôi để nguội, lọc lấy dịch, thêm đường để uống. Ngày dùng 30 - 40g.

Ở Madagascar và Ấn Độ người ta dùng Rau má để chữa hủi. Năm 1956, Boiteau và Ratsimamanga có thử dùng asiaticosid điều trị hủi và lao da.

Các chế phẩm Rau má, saponin toàn phần được dùng dưới dạng thuốc bột, thuốc mỡ, thuốc phun mù, thuốc tiêm dưới da hoặc viên nén.

Phòng bào chế Syntex của Pháp có các biệt dược Madecassol dưới dạng viên chứa 10 mg cao chuẩn độ của Rau má, dạng thuốc mỡ mỗi ống chứa 0,1 g cao và ống tiêm mỗi ống chứa 20 mg cao. Madecassol dạng thuốc viên và thuốc tiêm được chỉ định trong các trường hợp rối loạn tuần hoàn tĩnh mạch và các rối loạn làm chậm lên sẹo.

Trên thị trường, người ta thường sử dụng các cao chiết Rau má có thành phần xác định và ổn định (cao định chuẩn). Tùy theo nhà sản xuất, thành phần của cao Rau má định chuẩn (TECA), phân đoạn triterpen toàn phần (TTF), phân đoạn triterpen toàn phần Rau má (TTFCA), có thể thay đổi nhưng thành phần chính thường gồm acid asiatic, acid madecassic và asiaticosid. Trong TTFCA, hàm lượng acid asiatic và madecassic tương đương nhau và bằng 30%, 40% còn lại là asiaticosid.

NGŨ GIA BÌ CHÂN CHIM

Cortex Schefflerae heptaphyllae

Dược liệu là vỏ thân phơi khô hay sấy khô của cây Ngũ gia bì chân chim hay còn gọi tắt là cây chân chim - *Schefflera heptaphylla* (L.) D.G. Frodin (=*Schefflera octophylla* (Lour.) Harms.), họ Nhân sâm - Araliaceae.

Ngũ gia bì chân chim
Schefflera heptaphylla (L.) D.G. Frodin

Đặc điểm thực vật

Cây cao 2 - 8 m, có lá mọc so le, lá kép hình chân vịt với 6 - 8 lá chét có dáng như chân chim do đó mà có tên gọi. Cuống lá dài 6 - 30 cm. Lá chét nguyên, hình trứng thuôn dài, đầu nhọn dài 7 - 20 cm, rộng 3 - 6 cm. Cuống lá chét ngắn 1,5 - 3 cm. Cụm hoa chùm tán. Hoa nhỏ màu trắng, số cánh hoa và nhị bằng nhau, thường là 5. Bao phấn 2 ô, bầu hạ có 5 - 6 ô. Quả hình cầu, đường kính 3 - 4 mm, khi chín có màu tím sẫm đen, trong chứa 6 - 8 hạt. Cây mọc tự nhiên ở các rừng cây bụi hoặc đồi hoang.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Trồng trọt thu hái và chế biến

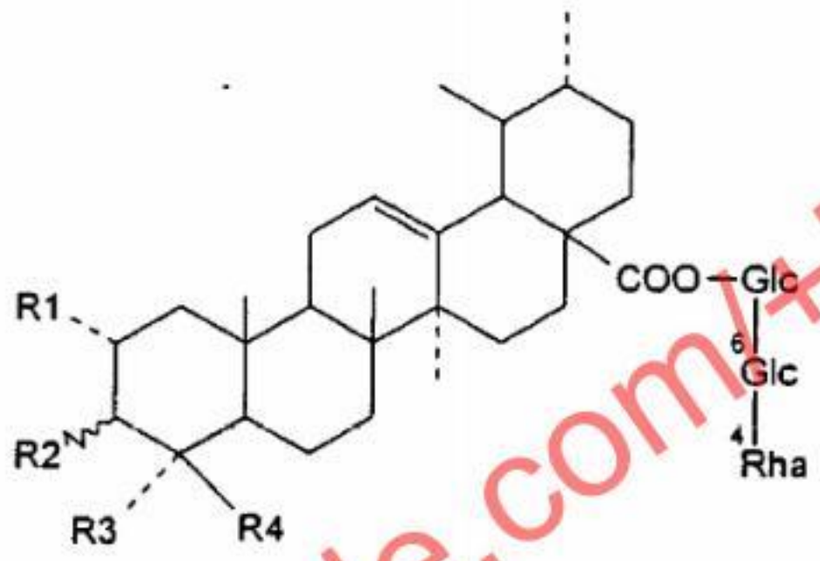
Cây có thể trồng bằng dâm cành. Thu hoạch bằng cách bóc vỏ để có chiều dài khoảng 20 cm, rộng 5 cm, cạo sơ qua để bỏ bớt lớp vỏ thô ở ngoài, phơi trong râm, ủ lá chuối 7 ngày, thỉnh thoảng đảo cho đều để nổi mùi thơm rồi lấy ra phơi hoặc sấy nhẹ cho khô.

Thành phần hóa học

Vỏ thân

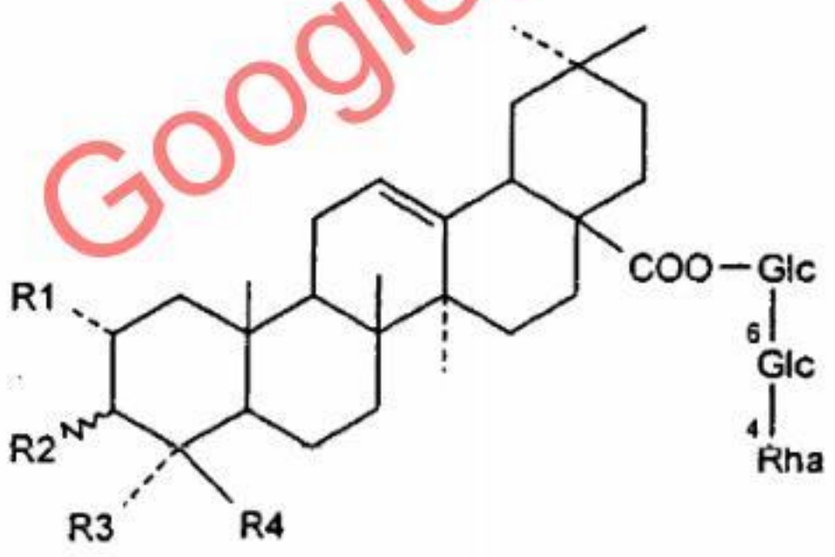
Saponin: các saponin nhóm ursan và olean. Cho đến nay, có 12 saponin chia ra 6 cặp tương ứng với ursan-12-en glycosid và olean-12-en glycosid đã biết. Nghiên cứu các glycosid này có sự tham gia của các nhà nghiên cứu Việt Nam. Trần Văn Sung và cộng sự (1992) đã xác định được sự có mặt của asiaticosid trong vỏ thân Ngũ gia bì chân chim của Việt Nam với hàm lượng 0,05%. Asiaticosid là glycosid đã biết trong Rau má.

Ngoài ra, trong vỏ còn có một ít tinh dầu (0,8%).



Urs-12-en glycosid

	R1	R2	R3	R4
1	OH	β - OH	CH_2OH	CH_3
3	OH	β - OH	CHO	CH_3
5	H	β - O - Ara	CH_2OH	CH_3
7	H	α - OH	COOH	CH_3
9	H	β - O - Glc^2 - Gal^2 - Glc	CH_3	CH_3
11	OH	β - OH	CH_3	CH_2OH



Olean-12-en glycosid

	R1	R2	R3	R4
2	OH	β - OH	CH2OH	CH3
4	OH	β - OH	CHO	CH3
6	H	β - O - Ara	CH2OH	CH3
8	H	α - OH	COOH	CH3
10	H	β - O - Glc2 - Gal2 - Glc	CH3	CH3
12	OH	β - OH	CH3	CH2OH

Lá

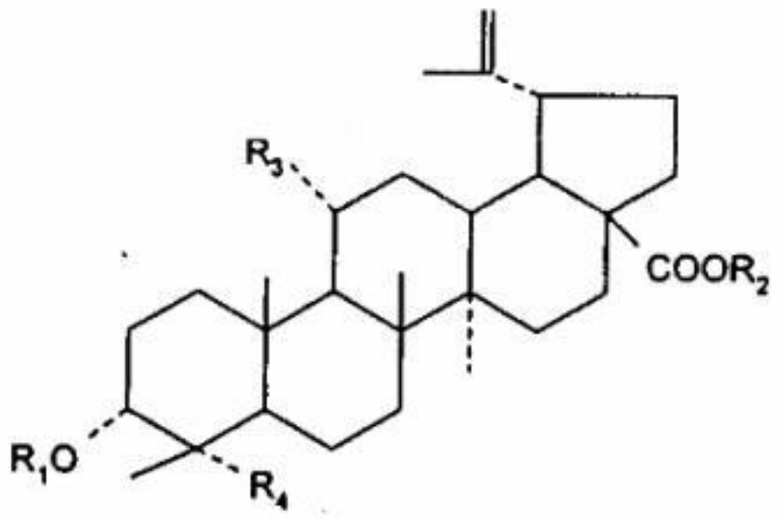
Thành phần saponin trong lá chủ yếu là nhóm lupan, trong đó chất có hàm lượng cao nhất (5%) là acid 3α-hydroxylup-20(29)-en-23,28-dioic; ngoài ra còn có acid 3α, 11α-dihydroxylup-20(29)-en-23,28-dioic; acid 3-epi-betulinic; acid betulinic 2-*O*-sulfat; acid 3-epi-betulinic 3-*O*-β-*D*-glucopyranosid;

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

3α-hydroxylup-20(29)-en-23,28-dioic 28-*O*-[α-*L*-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-*D*-glucopyranosyl-(1→6)]-β-*D*-glucopyranosid (14).



Lup-20(29)-en glycosid

	R1	R2	R3	R4
13	H	COOH	H	COOH
14	H	Glc^6 - Glc^4 - Rha	H	COOH
15	H	Glc^6 - Glc^4 - Rha	OH	COOH
16	H	Glc^6 - Glc^4 - Rha	H	CH_3
17	SO_3H^-	Glc^6 - Glc^4 - Rha	H	CH_3
18	β - D - Glc	Glc^6 - Glc^4 - Rha	H	CH_3
19	β - D - 6'Glc A	Glc^6 - Glc^4 - Rha	H	CH_3

Ngoài ra trong lá còn có một ít tinh dầu.

Kiểm nghiệm

Đặc điểm của dược liệu

Mảnh vỏ 5 x 20 cm, hơi cong. Dược liệu đã cạo lớp vỏ ngoài để lộ lớp trong màu nâu nhạt, lốm đốm xám. Mặt trong nhẵn, màu vàng nâu nhạt. Mặt cắt ngang dày 0,5 - 1 cm phía ngoài lổn nhổn như có sạn, lớp trong có sợi xốp và dễ tách dọc.

Vi phẫu

Lớp bần còn lại gồm nhiều lớp tế bào hình chữ nhật nằm ngang, màng hơi dày xếp chồng lên nhau thành dãy xuyên tâm rất đều. Có chỗ bị bong và nứt rách. Tầng phát sinh ngoài gồm một lớp tế bào hình chữ nhật nằm ngang, xếp đều đặn. Mô cứng xếp thành vòng liên tục sát tầng phát sinh ngoài. Tế bào mô cứng hình chữ nhật nằm ngang, thành dày, khoang hẹp, xếp thành dãy đều đặn. Mô mềm vỏ gồm tế bào có màng hơi mỏng, hơi bị dẹt theo hướng tiếp tuyến. Từng quãng trong mô mềm có những tế bào mô cứng hợp thành đám hay đứng riêng lẻ với tế bào hình nhiều cạnh, màng dày, khoang tế bào hẹp, có ống trao đổi. Trong mô mềm còn có ống tiết rải rác. Lớp libe dày chiếm 2/3 bề dày của vỏ. Tế bào liber màng mỏng, sợi liber xếp thành đám xen kẽ và xếp thành nhiều tầng trong liber. Tế bào sợi tròn, khoang tế bào hẹp. Tinh thể calci oxalat hình thoi rải rác cạnh bó sợi. Vùng libe có các tia ruột xuyên qua. Trong libe cũng có ống tiết.

Bột: màu vàng, nhiều tế bào mô cứng màu vàng nhạt, hình chữ nhật hoặc nhiều cạnh, có loại màng rất dày, khoang hẹp, có loại khoang rộng, có ống trao đổi rõ, đứng riêng lẻ hay tụ họp thành từng đám. Sợi có màng dày, đa số có khoang hẹp, có ống trao đổi rõ. Tế bào bần xếp đều đặn, hình nhiều cạnh, màng dày. Tế bào mô mềm hình nhiều cạnh màng mỏng. Tinh thể calci oxalat hình chữ nhật, hình lập phương, kích thước khoảng 40μm. Hạt tinh bột nhỏ, đường kính 4 - 16 μm.

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Định tính

Lấy 2g bột dược liệu, cho vào bình nón, thêm 10 ml cồn 90%, đun sôi, lắc đều và lọc. Lấy 2 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 0,5 ml anhydrid acetic, thêm từ từ theo thành ống 0,5 ml acid sulfuric đậm đặc, lớp phân cách giữa hai lớp dung dịch có màu đỏ nâu.

Lấy ít bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm nước, đun nóng 10 phút trên bếp cách thủy, lọc. Lấy dịch lọc cho vào ống nghiệm, lắc mạnh theo chiều dọc ống, có bọt bền trên 15'.

Công dụng

Trong y học cổ truyền dùng để làm thuốc thông tiểu, chữa phù thũng, chữa phong thấp. Thuốc bổ, giúp tiêu hóa. Ngày dùng 12 - 20g.

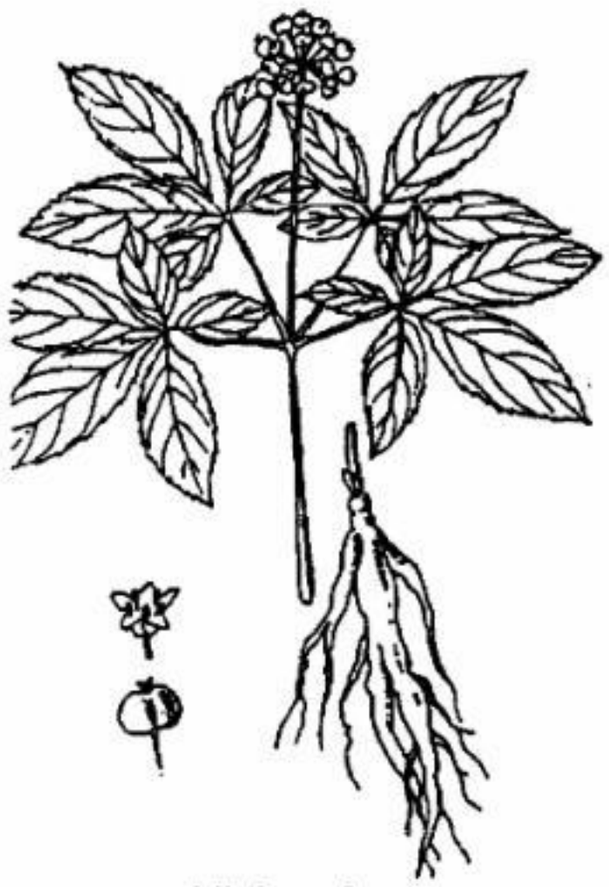
NHÂN SÂM

Radix Ginseng

Rễ củ chế biến của cây Nhân sâm (còn được gọi là sâm Cao ly hay sâm Triều Tiên) - *Panax ginseng* C.A. Meyer, họ Nhân sâm - Araliaceae.

Đặc điểm thực vật

Cây nhỏ, cao 30 - 50 cm có thể sống trên 50 năm. Cây mang ở ngọn một vòng 4 - 5 lá. Cuống lá dài. Lá kép chân vịt. Lá lúc đầu có 3 lá chét về sau có 5 lá chét; hai lá chét ngoài nhỏ hơn các lá chét ở giữa. Mép lá có răng cưa. Cây trồng thì ra hoa vào năm thứ 3 vào mùa hạ; từ điểm giữa của vòng lá nhô lên một trục cao chừng 10 cm mang hoa màu trắng nhạt nhóm họp thành tán đơn. Hoa đều 5 cánh, lá đài 5 răng, 5 nhị. Bầu hạ, 2 ô. Quả hạch, màu đỏ gần hình cầu. Rễ củ thường phân thành nhiều nhánh trông như hình người nên có tên là Nhân sâm. Đôi khi có những củ sâm có kích thước rất lớn nặng đến 300 - 400 g.



Nhân sâm
Panax ginseng C.A. Meyer

Địa lý và trồng trọt

Mọc hoang và được trồng ở Triều Tiên, đông bắc Trung Quốc, Liên Xô cũ. Việc trồng trọt Nhân sâm rất công phu (tương tự như Tam thất, xem bài sau), sau 5 - 6 năm mới thu hoạch. Đất phải tốt. Cây ưa bóng râm. Thu hoạch vào mùa xuân và mùa thu. Người ta cho rằng loại mọc hoang có giá trị hơn loại trồng. Hiện ta vẫn phải nhập sâm từ Trung Quốc và Hàn Quốc.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Chế biến

Trong y học cổ truyền người ta phân biệt hai loại chính: Hồng sâm và Bạch sâm.

Hồng sâm: chọn củ mẫm to, nặng trên 37 g, rửa sạch đất cát, cho vào nồi chưng chín trong khoảng 2 giờ, sau đó sấy hoặc phơi khô. Sau khi chế biến, tinh bột trong rễ bị chín và khi khô có thể chất như sừng, củ có màu hồng, mùi thơm, vị ngọt hơi đắng. Củ sâm hình thoi hoặc gần như hình trụ, phần trên và phần dưới hơi thót lại. Phần 'đầu' tức là cổ rễ, đôi khi trông rõ vết sẹo của thân. Rễ đôi khi phân nhánh trông như cánh tay, phần dưới có 2 hoặc 3 nhánh trông như chân. Củ càng to càng giá trị.

Bạch sâm (hoặc Đường sâm): những củ sâm không đủ tiêu chuẩn chế Hồng sâm thì chế Bạch sâm. Sau khi rửa sạch đất cát đem nhúng vào nước sôi vài phút, sau đó tẩm đường vài ngày rồi phơi hoặc sấy ở nhiệt độ không quá 60°. Dược liệu sau khi chế biến có mặt ngoài màu trắng ngà, mềm, thường có tinh thể đường bám bên ngoài, mặt bẻ màu trắng ngà và xốp, mùi thơm, vị ngọt.

Ngoài ra. người ta còn phân thành các loại khác với tên gọi khác nhau:

Sinh sái sâm là loại sâm để nguyên vỏ, sau khi loại sạch đất cát chỉ phơi khô.

Đại lực sâm là loại sâm chế biến có nhúng vào nước sôi vài phút rồi lấy ra phơi.

Tu sâm là rễ con của củ sâm.

Người ta cũng phân biệt *viên sâm* là loại trồng phơi hay đồ rồi phơi hay sấy khô, *dã sơn sâm* là loại mọc hoang phơi khô.

Còn có các dạng chế phẩm thông dụng như *trà sâm*: dịch chiết sâm bào chế dưới dạng trà hòa tan, *nước sâm*, *dịch cất sâm* hay *cao sâm*.

Thành phần hóa học

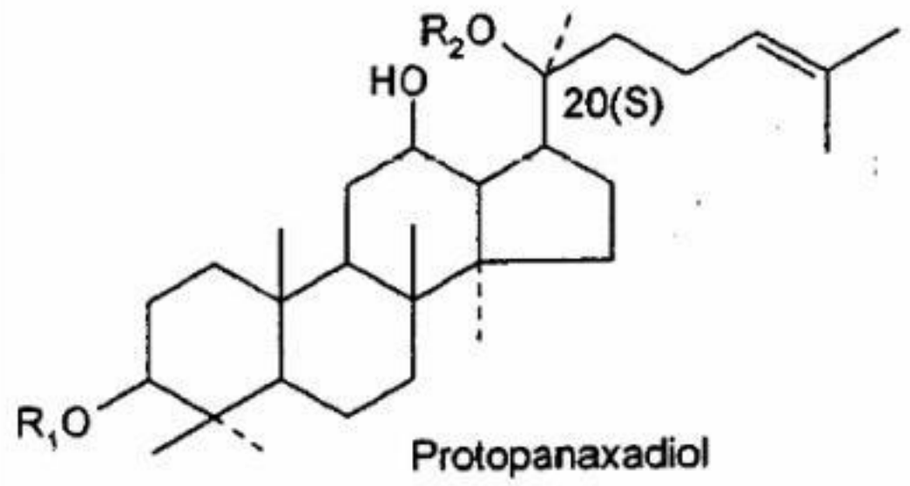
Saponin

Thành phần chính trong Nhân sâm là các saponin triterpenoid nhóm dammaran gọi chung là ginsenosid. Hàm lượng saponin trong rễ củ chính vào khoảng 3,3%. Ở rễ con hàm lượng saponin có thể tới 6,4%. Rễ sâm trồng có hàm lượng saponin thấp hơn sâm mọc hoang.

Trước đây, khi thủy phân các glycosid bằng acid người ta thu được 2 aglycon chính là panaxadiol và panaxatriol. Về sau, người ta xác định lại và nhận thấy rằng các aglycon trên là các artifact vì dưới tác dụng của acid, mạch nhánh bị đóng vòng. Với phương pháp thủy phân bằng enzym hoặc hóa giáng đặc biệt để cắt phần đường mà không ảnh hưởng đến phần aglycon, người ta thu được các aglycon thật là protopanaxadiol (= dammar-24-en-3-β-12-β-20-triol) và protopanaxatriol (= dammar-24-en-3β,6α,12β,20-tetraol). Trên30 saponin đã được phân lập từ rễ củ. Phần lớn các saponin trong rễ củ Nhân sâm được gọi là ginsenosid Rx theo cách gọi của các nhà khoa học Nhật Bản, với

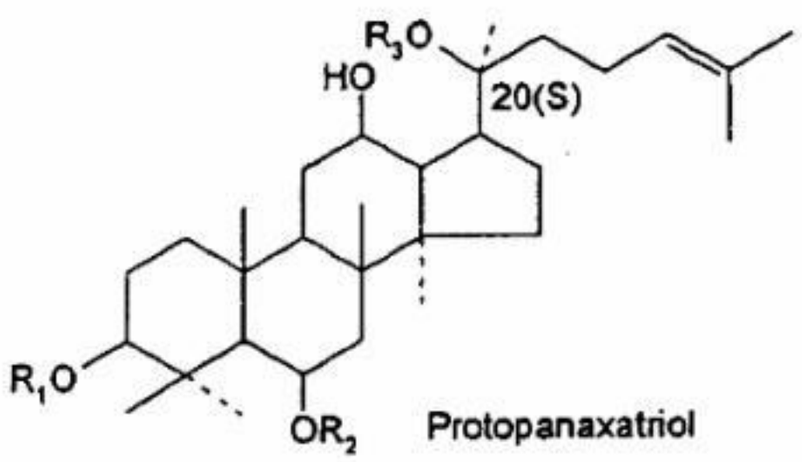
Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

phần *x* thay đổi cho các saponin khác nhau. Bảng dưới đây là một số saponin trong rễ Nhân sâm đã biết cấu trúc:



Protopanaxadiol

	R_1	R_2
Gingsenosid Ra_1	– Glc^2-Glc	– Glc^6-Ara (p)^1-Xyl
Gingsenosid Ra_2	– Glc^2-Glc	– Glc^6-Ara (f)^2-Xyl
Gingsenosid Ra3	– Glc^2-Glc	– Glc^6-Glc^3-Xyl
Gingsenosid Rb_1	– Glc^2-Glc	– Glc^6-Glc
Gingsenosid Rb_2	– Glc^2-Glc	– Glc^6-Ara (p)
Gingsenosid Rb_3	– Glc^2-Glc	– Glc^6-Xyl
Gingsenosid Rc	– Glc^2-Glc	– Glc^6-Ara (f)
Gingsenosid Rd	– Glc^2-Glc	– Glc
Malonyl-gingsenosid Rb_1	– Glc^2-Glc^6-Ma	– Glc^6-Glc
Malonyl-gingsenosid Rb_2	– Glc^2-Glc^6-Ma	– Glc^6-Ara (p)
Malonyl-gingsenosid Rc	– Glc^2-Glc^6-Ma	– Glc^6-Ara (f)
Malonyl-gingsenosid Rd	– Glc^2-Glc^6-Ma	– Glc
Gingsenosid Rg_3 (20S)	– Glc^2-Glc	– H
Gingsenosid Rg_3 (20 R)	– Glc^2-Glc	– H
Gingsenosid Rh_2	– Glc	– H
Gingsenosid Rs_1	– Glc^2-Glc^6-Ac	– Glc^6-Ara (p)
Gingsenosid Rs_2	– Glc^2-Glc^6-Ac	– Glc^6-Ara (f)
Quinquenosid R_1	– Glc^2-Glc^6-Ac	– Glc^6-Glc
Notoginsenosid R_4	– Glc^2-Glc	– Glc^6-Glc^6-Xyl



Protopanaxatriol

Google.com/+DayKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

	R_1	R_2	R_3
Gingsenosid Re	– H	– Glc^2-Rha	– Glc
Gingsenosid Rf	– H	– Glc^2-Glc	– H
20-gluco-ginsenosid Rf	– H	– Glc^2-Glc	– Glc
Gingsenosid Rg_1	– H	– Glc	– Glc
Gingsenosid Rg_2 (20S)	– H	– Glc^2-Rha	– H
Gingsenosid Rg_2 (20 R)	– H	– Glc^2-Rha	– H
Gingsenosid Rh_1 (20S)	– H	– Glc	– H
Gingsenosid Rh_1 (20 R)	– H	– Glc	– H
Notoginsenosid R_1	– H	– Glc^2-Xyl	– Glc

Chú thích: Ma = malonyl, Ac = acetyl. Các đơn vị đường, xem chú thích ở phần đại cương về carbohydrat.

Ngoài ra, trong rễ củ còn có 1 saponin có phần genin là acid oleanolic được gọi tên là ginsenosid Ro (= acid oleanolic + 2 glucose + glucuronic acid) có hàm lượng trong củ từ 0,2 - 0,4%.

Các saponin được xem là quan trọng nhất trong Nhân sâm bao gồm Rb_1, Rb_2, Rc, Rd, Rf, Rg_1, và Rg_2. Những saponin có hàm cao nhất trong Nhân sâm là Rb_1, Rb_2 và Rg_1.

Quá trình chế biến Hồng sâm cũng ảnh hưởng đến thành phần và số lượng của các saponin. Hầu hết các saponin trong củ Nhân sâm đều có trong Hồng sâm. Tuy nhiên, một số saponin như *20(R)*-ginsenosid Rg_2, *20(S)* và *20(R)*-ginsenosid Rg_3, *20(S)* và *20(R)*-ginsenosid Rh_1 và ginsenosid Rh_2 là những saponin đặc trưng của Hồng sâm.

Các nhà Khoa học thuộc Liên Xô cũ gọi tên các saponin trong Nhân sâm với tên panaxosid A – F. Các panaxosid không trùng với các ginsenosid có cùng phần tên phụ. Ví dụ Panaxosid A không phải là ginsenosid Ra mà là ginsenosid Rg_1.

Các thành phần khác: tinh dầu (eremophyllen, β-gurjunen, ε-muurolen, γ-patchoulinen, aroma-dendren, alloaromadendren...) chiếm 0,05% - 0,25%, các hợp chất polyacetylen (panaxynol, panaxidol, panaxytriol), vitamin B1, B2, các phytosterol 0,029%, các hợp chất đường đơn, oligosid và các glycan. Ngoài ra, còn có các peptidoglycan (các panxan A - L, Q - U).

Lá Nhân sâm cũng có chứa saponin loại dammaran. Một số saponin có aglycon là protopanaxadiol như gingsenosid Rb_1, Rb_2, Rc, Rd, F_2. Một số saponin có aglycon là protopanaxatriol như gingsenosid –Re, Rg_1, F_1, F_3.

Trong nụ hoa, ngoài 17 ginsenosid còn có các floralginsenosid A - Lb.

Ngoài ra trong lá và thân còn có một lượng nhỏ flavonoid (kaempferol, trifolin, panasenosid).

Trong hoa và nụ hoa, trong quả Nhân sâm cũng có chứa một số ginsenosid.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Kiểm nghiệm

Vi phẫu

Lớp bần gồm 4 - 5 hàng tế bào. Mô mềm vỏ gồm tế bào thành mỏng, chứa tinh bột hình cầu. Trong phần mô mềm và liber có các ống tiết (mặt cắt ngang ống tiết hình bầu dục). Các ống tiết vòng ngoài thì lớn hơn các ống tiết vòng trong. Mô mềm có tinh bột và calci oxalat hình cầu gai. Mạch gỗ xếp thành từng đám rải rác, đường kính của một mạch gỗ từ 15 - 40 µm. Tia ruột rộng.

Bột: nhiều hạt tinh bột riêng lẻ, hình dạng thay đổi, đường kính 4 - 20 µm. Mảng mạch mạng và mạch thang. Mảnh mô mềm với ống tiết màu vàng. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh bần gồm tế bào nhiều góc, màu hơi nâu.

Định tính

Nhỏ lên bột dược liệu 1 giọt acid sulfuric đậm đặc, sau 1 - 2 phút sẽ xuất hiện màu đỏ gạch, chuyển sang tím đỏ rồi tím.

Nhỏ 3 - 4 giọt nước sắc dược liệu vào một ống nghiệm, làm bốc hơi trên cách thủy đến khô. Nhỏ lên cắn 0,2 - 0,4 ml dung dịch benzidin 0,01% trong acid sulfuric đậm đặc, sẽ xuất hiện màu đỏ gạch sau chuyển sang tím đỏ.

Thêm vào nước sắc 1:5 một vài giọt dung dịch bạc nitrat, sẽ xuất hiện màu hồng và sau 24 giờ thì có tủa vô định hình màu đỏ.

Sắc ký lớp mỏng:

Chuẩn bị dịch chiết: bột Nhân sâm (1,2 g), chiết bằng methanol - nước (8:2) (tt/tt, 100 ml). Dịch chiết đem bốc hơi dưới áp suất giảm đến khô. Phần cắn được hòa tan lại trong nước (50 ml) rồi chiết các saponin bằng n-butanol bão hòa nước (25 ml x 3). Phần dung môi hữu cơ đem bốc hơi dưới áp suất giảm, phần cắn đem hòa tan trong 1 ml methanol, đưa lên bản sắc ký 15 µl dịch chiết thành vạch 1 cm.

Chất hấp phụ, hệ dung môi khai triển và thuốc thử hiện màu (theo J. F. Plenard):

- Chất hấp phụ: silicagel G
- Các hệ dung môi tách tốt:
  + DM_1: AcOEt - For-OH - H_2O (80:16:24)
  + DM_2: $CHCl_3$ - MeOH - H_2O (65:35:10) (dùng lớp dưới)
  + DM_3: n-BuOH - EtOH (10: 2) (bão hoà nước trước khi dùng)

  Nếu sắc ký hai chiều, dùng cặp hệ dung môi:
  + DM2
  + n-BuOH - AcOH - H_2O (40:20:10)
- Thuốc thử: Antimoin trichlorid (dung dịch bão hòa/$CHCl_3$), acid sulfuric 10% /nước.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sắc ký lỏng cao áp:

Sắc ký lỏng áp suất cao là phương pháp hiện nay được sử dụng nhiều trong định tính, định lượng saponin trong Nhân sâm. Người ta có thể thực hiện định tính 1 thành phần hay đồng thời nhiều thành phần trong hỗn hợp. Pha tĩnh thường dùng là pha đảo RP-18, hệ dung môi sử dụng là hỗn hợp nước - methanol, nước - acetonitril có hay không có dung dịch đệm; isocratic hay gradient dung môi. Phương pháp phát hiện gồm xác định chỉ số khúc xạ, phổ hấp thu tử ngoại (thường ở vùng sóng ngắn 210 - 195 nm), hay tán xạ bay hơi. Detector có nhiều ưu điểm nhất hiện nay là detector khối phổ có xu hướng được sử dụng nhiều.

Sắc ký khí:

Việc sử dụng sắc ký khí - lỏng để phát hiện và định lượng panaxadiol và panaxatriol cũng được 1 số tác giả sử dụng. Sau khi thuỷ phân saponin, panaxadiol và panaxatriol tự do hoặc sau khi silan hóa được phân tích sắc ký khí trên cốt với pha tĩnh OV-101; khí mang là nitơ, chương trình nhiệt từ 230 – 300^{0}C, detector ion hóa ngọn lửa (theo J. F. Plenard).

Tác dụng dược lý

Ginsenosid hoặc dịch chiết từ Nhân sâm có những tác dụng sau:

Kháng histamin: ngăn ngừa hiện tượng co thắt ruột chó gây ra do tiêm histamin phosphat.

- Kháng cholin: giảm co thắt ruột của chuột lang cô lập khi gây co thắt bởi acetyl cholin.
- Giảm lượng cholesterol của huyết thanh thí nghiệm trên chuột.
- Tác dụng làm giảm hoạt động nhưng lại làm thức tỉnh, trên chuột làm thí nghiệm thấy nằm nhiều nhưng ngủ ít.
- Có tác dụng chống stress ở chuột thí nghiệm.
- Tăng khả năng nhận biết và trí nhớ của chuột.
- Trên huyết áp có hai giai đoạn nâng và hạ.
- Tác dụng kích thích tổng hợp ARN trên gan chuột cống nếu tiêm ginsenosid vào màng bụng 4 giờ trước khi tiêm các chất tiền sinh (acid orotic-6 ^{14}C và phosphat có đánh dấu). Các nhà nghiên cứu Nhật đã chế dung dịch tiêm hỗn hợp ginsenosid (từ 100g Nhân sâm chiết được 1,2 g hoạt chất) có tác dụng kích thích tổng hợp ARN.
- Tác dụng chuyển glucose thành glycogen, ngăn ngừa hiện tượng giảm glycogen, ATP hoặc creatin phosphat và ngăn ngừa hiện tượng tăng acid lactic và acid pyruvic trong cơ của chuột cống thí nghiệm bằng phương pháp cho chuột bơi, do đó cung cấp nhanh chóng năng lượng cho cơ hoạt động. Ginsenosid có tác dụng tăng sức nếu đưa thuốc vào dạ dày chuột nhắt trắng trước khi làm thí nghiệm cho chuột chạy đến kiệt sức.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

- Tăng bài niệu kèm thải urê.
- Tăng tác dụng bảo vệ cơ thể đối với bức xạ tốt hơn iônol.
- Tác dụng giảm sốt, giảm đau do thấp khớp.
- Tác dụng tăng tính dục, Ginsenosid Rc có tác dụng tăng tính linh động của tinh trùng.
- Tác dụng kích thích miễn dịch.

Dịch chiết Nhân sâm có tác dụng kéo dài thời gian sống của chuột thí nghiệm bị nhiễm trypanosom; có tác dụng ngăn ngừa cơn sốt của thỏ thí nghiệm bị nhiễm vi khuẩn thương hàn và phó thương hàn, có tác dụng làm giảm độ viêm trên chân chuột thí nghiệm.

Thí nghiệm trên người dùng dịch chiết Nhân sâm đã được tiêu chuẩn hóa bằng hàm lượng ginsenosid, đã chứng minh dịch chiết Nhân sâm có sự cải thiện rất rõ về tinh thần cũng như thể lực. Thí nghiệm trên người có tuổi cho thấy có sự nâng cao tuần hoàn máu trong tim và não, do đó tăng được khả năng làm việc, làm giảm sự mất trí nhớ.

Các các polypeptid (GP) và glycan (panaxan A - E) của rễ củ Nhân sâm có tác dụng hạ đường huyết. Panaxan A và B có tác dụng tăng sử dụng glucose của gan, panaxan B kích thích tiết insulin ở tụy. GP có tác dụng giảm đường huyết và glycogen ở gan.

Ginsennosid R_d và các floralginsenosid M, N, O và P trong nụ hoa có tác dụng ngăn ngừa các tổn thương màng nhầy dạ dày gây bởi rượu và indomethacin

Độc tính của saponin Nhân sâm rất thấp, LD_{50}= 765 mg/kg ở chuột (tiêm màng bụng).

Quả Nhân sâm cũng có những tác dụng dược lý đáng chú ý. Quả Nhân sâm cho tác dụng hạ đường huyết mạnh hơn so với củ và chỉ có dịch chiết quả cho tác dụng chống béo phì rõ rệt trên chuột nhất [Dey L. et al., *Phytomedicine*, 2003; 10(6-7) 600-605].

Công dụng

Nhân sâm được dùng từ lâu đời ở các nước Á Đông và đã được đưa vào Dược điển một số nước. Nhân sâm được dùng chủ yếu để phục hồi sức khỏe trong các trường hợp suy nhược cơ thể sau khi ốm nặng, làm việc quá sức và mệt mỏi, mất tập trung.

Ngoài ra Nhân sâm còn được dùng trong các trường hợp liệt dương, lãnh dục, ăn không ngon, suy yếu đường tiêu hóa. Nhân sâm có tác dụng chống lão hóa, chống stress, chữa xơ vữa động mạch, bệnh tiểu đường, lipid máu cao, gan nhiễm mỡ.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Saponin và dược liệu chứa saponin

Dùng Nhân sâm thì nâng cao khả năng lao động bằng trí óc, khả năng tập trung tư tưởng và tăng trí nhớ, tăng cường miễn dịch đặc hiệu của hệ thống đề kháng của cơ thể.

Một số nghiên cứu của các tác giả Hàn Quốc cho thấy Nhân sâm, đặc biệt là Hồng sâm có tác dụng làm giảm nguy cơ của một số loại ung thư.

Cách dùng: dùng dưới dạng cồn thuốc, nước chưng cách thủy, thuốc bột, hoặc dưới dạng cao chiết trong các dạng thuốc hiện đại. Ngày dùng 2 - 6g. Hiện nay trên thị trường thông dụng là loại trà tan.

Lá Nhân sâm cũng sử dụng.

Ghi chú:

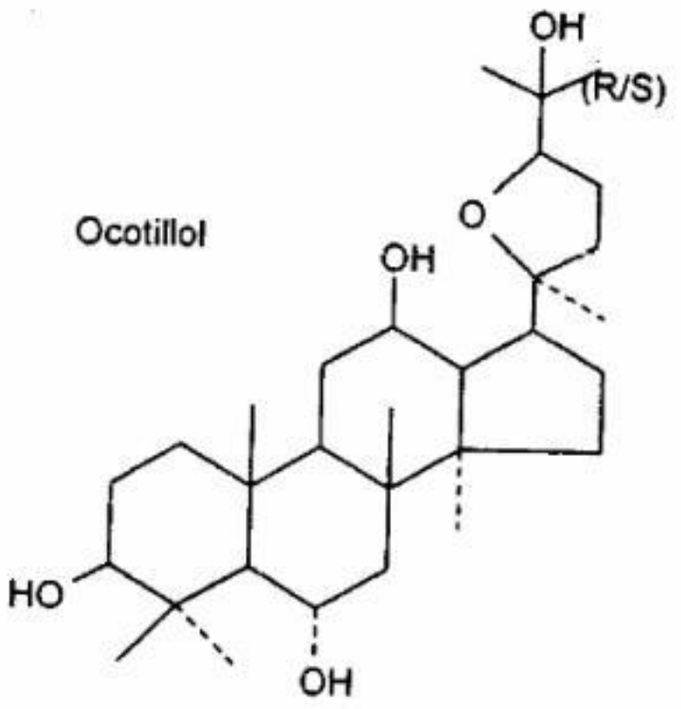
Gần đây, trên thị trường các nước Đông Nam Á xuất hiện chế phẩm Rh2 Ginseng với thành phần là saponin Rh2, công dụng tăng cường miễn dịch và hỗ trợ điều trị ung thư, chai 30 viên nang mềm.

Các cao Nhân sâm định chuẩn trên thị trường thường chứa 4 hay 7% saponin toàn phần. Cao chiết Nhân sâm định chuẩn thường được biết là G115 với 4% saponin toàn phần là thành phần chính của biệt dược Pharmaton® (Pharmaton SA, Lugano, thành viên của Boehringer - Ingelheim GmbH).

Ngoài Nhân sâm, trên thị trường thế giới, người ta còn sử dụng sâm Mỹ (American ginseng) là rễ cây *Panax quinquefolium* L., mọc ở Bắc Mỹ (Hoa kỳ, Canada) hay sâm Nhật (Japanese ginseng) là rễ cây *Panax japonicus* (T. Nees) C. A. Meyer với nhiều thứ khác nhau mọc tại Nhật Bản và Nam Trung Quốc.

Các saponin chính được phân lập từ sâm Mỹ được đặt tên là các panaquillin A – G. Các phân tích hiện đại về sau chứng minh sâm Mỹ có nhiều chất trùng với các ginsenosid của Nhân sâm ví dụ như Panaquilin B là hỗn hợp của ginsenosides Rb1 and Rb2, panaquilin C là ginsenosid Rc, panaquilin D là ginsenosid Rd... Hàm lượng saponin trong sâm Mỹ thường cao hơn Nhân sâm. Saponin chính trong sâm Mỹ là ginsenosid Rb_1.

Các saponin trong rễ sâm Nhật có thành phần sapogenin là protopanaxadiol, protopanaxatriol, ocotillol và acid oleanolic. Các saponin thuộc nhóm acid oleanolic là các chikusetsusaponin Ib, IV, IVa và V (ginsenosid Ro)... Các sapogenin protopanaxadiol có ginsenosidRe, Rg_1, Rg_2, Rf_1 notoginsenosid R_2, chikusetsusaponin L_2, L_{10}... Các saponin protopanaxatriol với các ginsenosid Rb1, Rb_2, Rc, Rd, chikusetsusaponin Ia, chikusetsusaponin III. Các ocotillol gồm majonosid R_1, R_2 và các pseudoginsenosid. Hàm lượng saponin trong sâm Nhật có thể tới 5% trong đó các saponin có cấu trúc oleanolic có hàm lượng cao nhất.



Ocotillol

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

TAM THẤT

Radix Notoginseng

Rễ củ phơi khô của cây Tam thất - *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen, họ Nhân sâm - Araliaceae.

Đặc điểm thực vật

Cây thảo sống nhiều năm, cao khoảng 0,5m. Thân đơn, lá kép hình chân vịt, cuống lá dài, mỗi lá thường có 3 - 5 lá chét, mép lá có khía răng cưa nhỏ, trên gân chính rải rác có lông cứng biến thành gai. Cụm hoa tán đơn, hoa màu xanh nhạt. Quả khi chín màu đỏ. Hạt hình cầu.

Tam thất
Panax notoginseng (Burk.) F.H. Chen

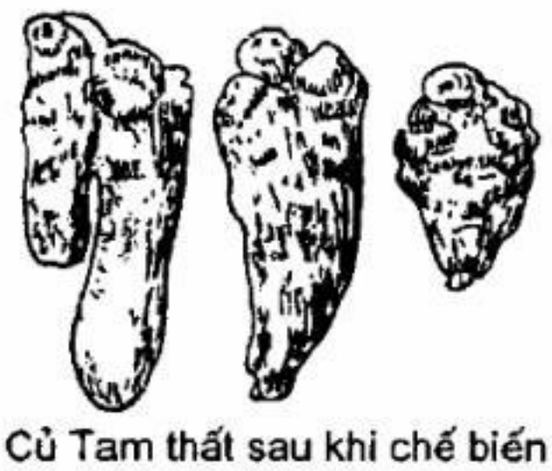
Phân bố trồng trọt

Tam thất là cây thuốc đã được trồng từ lâu đời ở Trung Quốc, chủ yếu ở tỉnh Vân Nam. Cây Tam thất được trồng ở một số tỉnh của nước ta giáp giới với Vân Nam như Lào Cai (huyện Mường Khương, Bát Sát), Cao Bằng (Thông Nông), Hà Giang (Đồng Văn) có thể cũng xuất xứ từ Vân Nam.

Muốn trồng thì đất phải được bón phân và chuẩn bị kỹ từ một năm trước, chọn đất thoát nước, chia thành luống. Cần phải làm giàn để che nắng và để giữ độ ẩm cần thiết. Vào khoảng tháng 11 - 12 thu hạt ở những cây đã mọc 3 - 4 năm, xát bỏ lớp thịt quả, rửa sạch, để ráo, thêm ít tro và gieo ngay vào vườn ươm. Tháng 3 - 4 năm sau cây mới mọc. Khi cây được một tuổi thì bứng cây con, cắt bỏ lá gốc trồng vào vườn chính. Sau 4 - 5 năm có khi đến 7 năm mới thu hoạch. Cây càng lâu năm rễ củ càng to. Cây rất dễ bị sâu bệnh nhất là cây non vào tháng 3 - 5, cần phun thuốc để phòng trừ.

Đặc điểm dược liệu

Dược liệu sau khi chế biến có hình dạng thay đổi, thường hình con quay hay hình củ cà rốt dài 2 - 6 cm, đường kính 1 - 4 cm. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc vàng xám, có những nếp nhăn dọc gián đoạn và các vết sẹo, vết tích còn lại của rễ nhánh. Phần trên xung quanh vết sẹo của thân có những u nhỏ lồi ra. Thể chất cứng chắc, vị thoạt đầu hơi đắng sau hơi ngọt.



Củ Tam thất sau khi chế biến

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Chế biến

Củ được thu hái vào mùa thu, trước khi cây ra hoa, đào về rửa sạch, cắt rễ nhánh để riêng, phơi sấy cho đến khô (độ ẩm khoảng 12%) rồi phân loại. Hiện nay trên thị trường phân thành nhiều loại. Loại củ to nặng khoảng 10 - 12g, khi chặt ngang củ có màu vàng nâu là loại tốt. Khi dùng đem hấp cho mềm rồi thái miếng. Có khi dược liệu được xay thành bột để uống.

Thành phần hoá học

Thành phần hoá học chính của Tam thất là các saponin thuộc nhóm dammaran mà phần aglycon chủ yếu cũng là 2 chất (*20S*)-protopanaxadiol và (*20S*)-protopanaxatriol như ở Nhân sâm. Trên 50 saponin đã được phân lập. Sau đây là các saponin có trong rễ củ:[1]

Các saponin có phần aglycon là (20S) protopanaxadiol: G-Rb_1, G-Rb_2, G-Rb_3, G-Rc, G-Rd, G- Rg_3, Gy-XVII, N-R_4, N-Fa.

Các saponin có phần aglycon là (20S) protopanaxatriol: G-Re, G-Rf, G-Rg_1, G-Rg_2, G-Rh_1, 20 Glc-G-Rf, N-R_1, N-R_2, N-R_3, N-R_6.
Trong đó, các saponin chính là N-R_1, G-Rg_1, G-Re, G-Rb_1, G-Rc, G-Rb_2, G-Rb_3 và G-Rd.

Trong Tam thất còn có các hợp chất polyacetylen như (falcarindiol và panaxytriol) và polysaccharid. Polysaccharid được xem là thành phần có tác dụng điều hoà miễn dịch trong Tam thất. [Ying Z. et al. *Phytochem*. (2005) 66(9) 1067-76]

Các bộ phận khác của cây như rễ con, lá hoa đều có saponin nhóm dammaran đã được biết như sanchinosid trong rễ con, oxepan trong lá và hoa. Trong hạt không có saponin.

Hàm lượng saponin toàn phần trong Tam thất là cao nhất trong số các loài panax sử dụng làm thuốc. Saponin toàn phần trong củ có thể >8%. Trong đó, hàm lượng G-Rb1 1,8% và G-Rg1 1,9% hay hơn.

Thành phần saponin ở bộ phận khác nhau trong Tam thất thì khác nhau. Phần dưới mặt đất có saponin thuộc cả 2 nhóm protopanaxadiol và protopanaxatriol. Trong lá và hoa chỉ chứa các saponin có cấu trúc protopanaxadiol, đặc biệt là các ginsenosid Rc, Rb2 và Rb3 vốn có rất ít trong phần dưới mặt đất. Phần thân có thành phần saponin trung gian giữa phần dưới mặt đất và phần lá, hoa. [J. *of Pharm and Biomed Anal*. 41(5) 1596-1601 (2006)]

Google.com/+DayKemQuyNhon

[1] G= Gingsenosid, Gy: gypenosid, N= notoginsenosid

Sưu tầm bởi GV. Nguyễn Thanh Tú # Google.com/+DạyKèmQuyNhơn

Kiểm nghiệm

Vi học

Vi phẫu: củ có lớp bần gồm 4 - 5 hàng tế bào. Trong mô mềm vỏ có các ống tiết. Tế bào mô mềm có chứa tinh bột và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Tượng tầng. Bó liber gỗ phân cách bởi tia ruột.

Bột: màu trắng ngà, nếu có màu vàng xám là loại tốt. Nhiều hạt tinh bột hình cầu gai hay hình đa giác, đường kính 3 - 20 µm, đôi khi có hạt kép 2 - 3 hoặc hơn. Mạch gỗ phần lớn là mạch mạng đường kính 16 - 40 µm. Mảnh mô mềm có ống tiết trong có chất màu vàng. Tế bào bần hình chữ nhật, thành mỏng màu nâu. Tinh thể Ca oxalat hình cầu gai.

Định tính

Đun 1 g bột Tam thất với 5 ml methanol - nước (8:2) trong 10 phút rồi lọc. Lấy 1 ml bốc hơi đến khô, thêm 1 ml anhydrid acetic và vài giọt acid sulfuric sẽ thấy có màu vàng rồi chuyển sang đỏ, tím, xanh rồi lục xỉn.

Nhỏ vài giọt dịch lọc nói ở trên lên tờ giấy thấm, làm khô, quan sát dưới ánh đèn tử ngoại (365 nm) sẽ thấy vết có huỳnh quang xanh nhạt. Nhỏ tiếp lên vết đó vài giọt dung dịch acid boric bão hòa trong aceton rồi tiếp vài giọt dung dịch acid citric 10%, làm khô rồi quan sát tiếp dưới ánh đèn tử ngoại, sẽ thấy vết huỳnh quang màu vàng lục.

Sắc ký lớp mỏng: có thể thực hiện như Nhân sâm.

Tác dụng và công dụng

Tam thất đã được biết với những tác dụng dược lý như sau: tĩnh huyết, ức chế kết tập tiểu cầu, kháng viêm, bảo vệ gan, làm giảm sự tăng các enzym gan gây bởi carbon tetrachlorid.

Trong đông y, Tam thất được coi là vị thuốc có tác dụng làm mất sự ứ huyết, tác dụng cầm máu, giảm viêm, giảm đau.

Tam thất được dùng chữa trị các trường hợp: ho ra máu, nôn ra máu, chảy máu cam, đại tiện ra máu, tử cung xuất huyết, chấn thương. Ngoài ra tam thất cũng được coi là một vị thuốc bổ như Nhân sâm rất hay được dùng cho phụ nữ sau khi sinh nở.[1]

Ghi chú: phụ nữ đang mang thai không nên dùng.

*
* *

[1] Có nơi trong nước ta còn lấy thân rễ của một số cây thuộc họ Gừng như *Stahlianthus thorelii* Gagnep. để giả làm Tam thất, cần chú ý tránh nhầm lẫn và phân biệt giả mạo.

Google.com/+DạyKèmQuyNhơn