

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG BERBERINE CÓ TRONG CÂY MẬT GẤU (*MAHONIA NEPALENSIS* DC.) Ở ĐỊNH HOÁ - THÁI NGUYÊN

Lê Thị Giang*, Nguyễn Văn Quế
Trường Đại học Y Dược – ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây mật gấu có tên khoa học là *Mahonia nepalensis* DC. thuộc họ Hoàng liên gai (Berberidaceae), chi Hoàng liên oro (*Mahonia*). Cây mật gấu có vị rất đắng, tính mát, dùng để chữa đi ngoài, ăn không tiêu, đau lưng, mất ngủ, ho... Qua khảo sát định tính các hợp chất trong cây thấy có ankaloit, sterol, cumarin và glicozit trợ tim. Công trình này trình bày kết quả nghiên cứu định lượng berberin và giới thiệu một vài bài thuốc có chứa cây mật gấu.

Từ khoá: cây mật gấu, *Mahonia nepalensis* DC, berberin, LC/MS, xác định hàm lượng

MỞ ĐẦU

Mật gấu là loài cây thuộc diện quý hiếm ở Việt Nam, thường phân bố ở các tỉnh phía Bắc. Trong thành phần cây mật gấu có chứa nhiều ankaloit có hoạt tính sinh học trong đó có berberin. Việc xác định hàm lượng berberin có trong cây mật gấu mở ra hướng bảo tồn và phát triển loài cây này.

THỰC NGHIỆM

Mẫu cây mật gấu tươi được thu tại huyện Định Hoá tỉnh Thái Nguyên vào tháng 10 năm 2015. Cân 405,026 (g) mẫu cây mật gấu đã được phơi khô nghiền nhỏ, cho vào bình ngâm với dung môi methanol, thu dịch chiết, cất quay đuôi dung môi, lặp lại nhiều lần thu được 5,400 (g) cặn chiết (cao tổng).

Pha cặn cần phân tích trong dung môi ethanol thành dung dịch với nồng độ chính xác 0,5 (mg/ml).

Mẫu chuẩn là tinh thể berberin được pha trong dung môi ethanol với các nồng độ chính xác x_i bằng 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 (mg/ml).

Theo phương pháp LC/MS, ở mỗi nồng độ x_i ta thu được diện tích pic y_i với thời gian lưu R_t .

Xác định đường chuẩn theo phương trình hồi quy tuyến tính $y = ax + b$

Các hệ số a, b được tính theo biểu thức:

$$a = \frac{m \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{m \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}$$

$$b = \frac{\sum y_i - a \sum x_i}{m}$$

Trong đó:

x_i : nồng độ các chất chuẩn (mg/ml)

y_i : diện tích pic ứng với nồng độ x_i (mAU*s)

m : số lần thí nghiệm ($m > 2$)

Hệ số tương quan biểu thị mối tương quan giữa hai đại lượng x và y, r là đại lượng không thứ nguyên và biến thiên trong khoảng (-1;1). Hệ số tương quan r được tính theo biểu thức sau:

$$r = \frac{\sum m x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{[m \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2][m \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}$$

KẾT QUẢ

Kết quả đo phổ LC/MS của mẫu chuẩn berberin

Với 7 nồng độ x_i khác nhau của berberin, ta thu được diện tích pic y_i tương ứng với thời gian lưu và phổ MS. Kết quả ghi ở bảng 1.

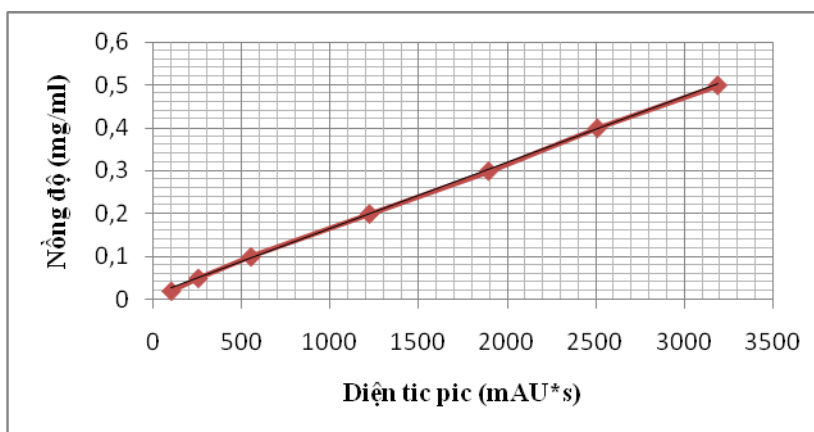
Bảng 1. Kết quả đo phổ HPLC/MS mẫu chuẩn berberin

STT	Nồng độ mẫu chuẩn x_i (mg/ml)	Diện tích pic mẫu chuẩn y_i (mAU*s)	Thời gian lưu R_t (phút)
1	0.02	99.98824	15.357
2	0.05	252.9061	15.462
3	0.1	551.0734	15.634
4	0.2	1221.0734	15.156
5	0.3	1894.9482	15.527
6	0.4	2511.2464	15.439
7	0.5	3191.679	15.582

Xác định phương trình hồi quy $y = ax + b$ của berberin

Dựa vào kết quả đo phổ LC/MS, ta có được sự tương quan giữa nồng độ x_i và diện tích pic y_i ở bảng 2.

* Tel: 0962 379006



Hình 1. Đồ thị biểu thị sự phụ thuộc giữa nồng độ và diện tích pic của berberin

Bảng 2. Sự tương quan giữa nồng độ và diện tích pic của berberin

STT	x_i	y_i	x_i^2	y_i^2	$x_i \cdot y_i$
1	0,02	99,98824	0,0004	9997,648	1,999765
2	0,05	252,9061	0,0025	63961,5	12,64531
3	0,1	551,0734	0,01	303681,9	55,10734
4	0,2	1221,0734	0,04	1491020	244,2147
5	0,3	1894,9482	0,09	3590810	568,483
6	0,4	2511,2464	0,16	6306358	1004,499
7	0,5	3191,679	0,25	10186815	1595,84
Tổng	1,57	9722,91	0,5429	21952644	3482,788

Thay số liệu thu được ở bảng 2 vào các phương trình ở trên ta thu được các giá trị:

$$a = 5760,11 ; b = 226,512 ; r = 2 \times 10^5$$

Vậy phương trình hồi quy là:

$$y = 5760,11x + 226,512 \quad (4)$$

Kết quả

Mẫu thử được pha với nồng độ chính xác 0,5 (mg/ml). Diện tích pic thu được là: $y = 311,14092$, thay vào phương trình (4) ta được $x = 0,293844$ (mg/ml)

Khối lượng berberin có trong cao tổng là:

$$m_{\text{berberin trong cao tổng}} = x \cdot m_{\text{cao tổng}} = 0,293844 \cdot 5,400 = 1,586756 \text{ (g)}$$

Hàm lượng berberin có trong mẫu thử là:

$$\% \text{ Berberin} = \frac{m_{\text{berberin trong cao tổng}}}{m_{\text{mẫu}}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Berberin} = \frac{1,586756}{405,026} \times 100\% = 0,391778\%$$

THẢO LUẬN

Bằng phương pháp đo phổ LC/MS và xử lý thống kê đã định lượng được hàm lượng berberin có trong cây mật gấu ở Định Hoá – Thái Nguyên là 0,391778%.

Việc xác định hàm lượng berberin có trong cây mật gấu có ý nghĩa thực tiễn vì ở nước ta hiện nay việc chiết berberin chủ yếu từ nguồn nguyên liệu là cây hoàng đằng, tuy nhiên nguồn nguyên liệu này đang ngày càng cạn kiệt.

Berberin cùng một số ancaloit khác như: jatrorrhin, oxyberberin, culumbamin có khả năng ức chế enzym lipoxynase. Sự chuyển hóa enzym này đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển bệnh vẩy nến. Vì vậy, việc xác định hàm lượng berberin có trong cây mật gấu sẽ là một hướng mới mở ra việc thay thế nguồn nguyên liệu chiết berberin và chế thuốc chữa bệnh vẩy nến.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trung tâm KHTN và CNQG (2003), *Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Danh mục các loài thực vật Việt Nam*, tập 2. Nxb Nông nghiệp, trang 162.
2. Nguyễn Kim Cẩn (2003), “Nghiên cứu những cây chứa berberin trên thế giới và trong nước”. *Tạp chí Dược liệu*, tập 7, số 3, trang 66.
3. Đỗ Tất Lợi (1999), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học, trang 192 – 194.

SUMMARY

**DETERMINATION OF BERBERINE CONTENT AVAILABLE
IN MAHONIA NEPALENSIS DC IN DINH HOA DISIRSTRICK,
THAI NGUYEN PROVINCE**

Le Thi Giang*, **Nguyen Van Que**
College of Medicine and Pharmacy - TNU

Mahonia nepalensis DC is one of the most important species of Berberidaceae family and *Mahonia* genus. In traditional medicine, *Mahonia nepalensis* is commonly used to treat diarrhea, dyspepsia, back pain, insomnia, cough, etc. The chemical compositions of *Mahonia nepalensis* DC obtain alkaloids, sterols, coumarin and cardiac glycosides. In this work, we present berberine content in *Mahonia nepalensis* by using LC/MS method and introduce a few traditional medicinal drugs containing *Mahonia nepalensis* DC.

Keywords: *Mahonia nepalensis* DC, berberine, LC/MS, Berberidaceae

* Tel: 0962 379006

