

**BƯỚC ĐẦU XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CHO DƯỢC LIỆU
RỄ CÂY ĐÌNH LĂNG (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms)
ĐƯỢC THU HÁI TẠI THÁI NGUYÊN**

**Bùi Thị Thanh Châm, Bùi Thị Luyến^{*}, Trần Ngọc Anh,
Diệp Mạnh Cường, Nguyễn Văn Dũng**
Trường Đại học Y Dược – ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xây dựng một số tiêu chuẩn cơ sở cho dược liệu rễ cây Đình lăng được trồng tại tỉnh Thái Nguyên thu hái sau 5 năm. Phương pháp nghiên cứu: Tiến hành theo các phương pháp được quy định tại Dược điển Việt Nam V. Kết quả: Chúng tôi đã xây dựng được tiêu chuẩn cơ sở bao gồm: Mô tả đặc điểm cảm quan, vi phẫu, đặc điểm bột dược liệu, định tính bằng phương pháp hóa học, sắc ký lớp mỏng và định lượng bằng phương pháp cân.

Từ khóa: *Tiêu chuẩn, Rễ Đình lăng, Polyscias fruticosa* (L.) Harms

Ngày nhận bài: 12/9/2019; Ngày hoàn thiện: 04/10/2019; Ngày đăng: 17/10/2019

**PROPOSE SOME QUALITY STANDARDS FOR ROOT OF DINH LANG
(*POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.) HARMS) BEING CULTIVATED
IN THAI NGUYEN PROVINCE**

**Bui Thi Thanh Cham, Bui Thi Luyen^{*}, Tran Ngoc Anh,
Diep Manh Cuong, Nguyen Van Dung**
University of Medicine and Pharmacy - TNU

ABSTRACT

Objectives: To propose some standards for root of Dinh Lang (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms Araliaceae) being cultivated in Thai Nguyen province for 5 years. Methods: Carry out with routine procedures (Vietnamese Pharmacopoeia V). Results: Standardization for root of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms Araliaceae such as description, powders, moisture, thin layer chromatography, quantitative analysis. Conclusions: The quality standard for root of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms Araliaceae was established.

Keywords: *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, quality standard, Dinh Lang

Received: 12/9/2019; Revised: 04/10/2019; Published: 17/10/2019

* Corresponding author. Email: builuyentn@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Theo báo cáo của Cục Quản lý Y, Dược cổ truyền, hàng năm, ngành Dược Việt Nam sử dụng khoảng 60.000 tấn dược liệu các loại, trong đó có khoảng 80 - 85% nhập khẩu (chủ yếu nhập từ Trung Quốc). Ngoài số dược liệu không rõ nguồn gốc, người tiêu dùng cũng đang phải đối mặt với nguy cơ sử dụng các loại dược liệu kém chất lượng, dược liệu giả do việc xây dựng các tiêu chuẩn cơ sở cho dược liệu và các sản phẩm từ dược liệu còn hạn chế và một số loại dược liệu còn chưa có tiêu chuẩn cụ thể [1], [2].

Để góp phần vào công tác kiểm tra phát hiện dược liệu giả, dược liệu kém chất lượng, chúng tôi tiến hành bước đầu xây dựng Tiêu chuẩn cơ sở cho Dược liệu Rễ Đinh lăng là nguyên liệu cho thuốc Đông dược được sử dụng trong điều trị, hỗ trợ điều trị hoặc hỗ trợ sức khỏe.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu, hóa chất và thiết bị

- Nguyên liệu: Rễ Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms), 5 năm tuổi được thu hái tại tỉnh Thái Nguyên. Mẫu dược loại bỏ tạp chất, phần sâu bệnh, rửa sạch, để ráo, thái phiến chéo dày 1 - 1,5 mm, sấy khô, chia thành 3 phần: 1 phần để nguyên dạng phiến, 1 phần nghiền dạng bột thô, 1 phần nghiền dạng bột mịn.

- Chất đối chiếu: Acid oleanolic do Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương cung cấp.

- Dung môi hoá chất: Methanol, ethanol, n-hexan, toluen, n-butanol, acid acetic băng, nước cất hai lần... dùng cho phân tích.

- Máy móc, thiết bị: Máy siêu âm Power sonic 405; máy cất quay Rotavapor R-220, Rotavapor R-200 (BUCHI); tủ sấy Memmert, Binder-FD115; bếp điện, bếp đun cách thủy; tủ sấy chân không Heraeus VT6025, Châu Âu; cân kỹ thuật Precisa BJ 610C, cân phân tích Precisa 262SMA-FR, cân xác định độ ẩm Precisa HA 60,...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp cảm quan: Dùng các giác quan để quan sát về hình dạng, thể chất, màu sắc, mùi, vị của dược liệu [3].

Phương pháp hiển vi: Mô tả các đặc điểm cấu tạo giải phẫu của dược liệu dựa trên vi phẫu cắt ngang; mô tả các đặc điểm vi học bột dược liệu [3].

Phương pháp hóa học: Định tính dịch chiết dược liệu trong dung môi ethanol bằng phản ứng hóa học và SKLM [3], [4], [5], [6].

* *Phản ứng hóa học: Dịch chiết trong ethanol phải có tính chất tạo bọt*

Lấy 1 g bột rễ, thêm 15 ml ethanol 70% (TT) đun cách thủy 10 phút, lọc. Lấy khoảng 1 ml dịch lọc pha loãng với nước cất thành 10 ml. Lắc mạnh 15 giây phải có bọt bền.

* *Sắc ký lớp mỏng*

- Chuẩn bị mẫu:

Dung dịch thử: Lấy 10 g dược liệu đã xay nhỏ, thêm 100 ml nước, đun sôi nhẹ trong 30 phút, lọc lấy dịch. Cô dịch lọc cách thủy đến cạn. Hòa tan cặn trong 20 ml dung dịch acid hydrochloric 4 M (TT), đun sôi hồi lưu trong 4 giờ, để nguội. Chuyển dịch thủy phân vào bình gạn, lắc kỹ với chloroform (TT) 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết chloroform, rửa bằng nước cất cho đến khi nước rửa trung tính. Gạn lấy dịch chiết chloroform, cô cách thủy đến cạn. Hòa cặn trong 1 ml ethanol (TT) được dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg chất chuẩn acid oleanolic trong 10 ml ethanol (TT) thu được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

- Điều kiện sắc ký:

Pha động: Hệ dung môi toluen : ethylacetat : aceton : acid formic (5 : 2 : 2 : 0,5).

Pha tĩnh: Silica gel 60F 254 (Merck) đã được hoạt hóa ở nhiệt độ 105° trong 60 phút trước khi dùng.

- Phương pháp phát hiện: Dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol, ánh sáng tử ngoại UV 254 nm.

- Cách tiến hành: Trên bản mỏng Silica Gel 60F 254 tráng sẵn (Merck), đã hoạt hóa ở 105°C trong 1 giờ, chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký theo ĐĐVN V, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai hệ dung môi được khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra, để bay hơi hết dung môi, phun thuốc thử. Sấy bản mỏng ở 105°C trong 5 phút. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường và ánh sáng tử ngoại 254 nm.

Phương pháp định lượng: Định lượng theo phương pháp cân [3], [4], [5], [6].

** Dịch chiết trong ethanol*

Cân chính xác khoảng 10g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình cầu. Thêm chính xác 100 ml dung môi ethanol 90%, đậy kín, để yên 1 giờ sau đó đun sôi hồi lưu nhẹ 1 giờ, để nguội, lấy bình cầu ra, đậy kín, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Cô cách thủy dịch lọc đến cạn khô. Sấy cạn ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cạn. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô.

** Dịch chiết trong n-butanol:*

Cân chính xác khoảng 50 g lượng bột dược liệu đã rây qua rây 355 cho vào túi giấy, đặt vào bình Soxhlet. Loại tạp bằng ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT) trong khoảng 2 giờ. Để nguội, lấy túi bột dược liệu ra để bay hơi hết ether dầu hỏa, xé túi bột, chuyển cả bột và túi giấy vào bình cầu nút mài. Thêm chính xác 100 ml methanol 80% (TT) vào bình nón, đậy nắp, cân chính xác lại khối lượng, bổ sung phần khối lượng bị giảm bằng methanol 80% (TT), lọc qua phễu lọc khô vào 1 bình hứng khô. Cát thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được cạn. Hòa tan cạn trong 20 ml nước rồi lắc với n-butanol bão hòa nước (TT) đến khi lớp n-butanol nhạt màu. Gộp dịch n-butanol, rửa 3 lần bằng nước cất. Cát thu hồi dung môi dưới áp suất giảm đến cạn, hòa tan cạn bằng 2 ml ethanol 80% rồi chuyển vào

một cốc đã được xác định khối lượng trước. Bốc hơi cách thủy đến cạn. Sấy khô cạn ở 105 °C trong 3 giờ. Cân cạn. Tính phần trăm lượng chất chiết được trong dược liệu.

Tính hàm lượng saponin tổng theo dược liệu khô kiệt theo công thức:

$$X(\%) = \frac{Mc \cdot 100}{Mt \cdot (100 - A)} \cdot 100$$

Trong đó:

X: hàm lượng saponin toàn phần trong dược liệu (%);

Mc: là khối lượng cao thu được (g);

Mt: là khối lượng mẫu thử (g);

A: là hàm ẩm dược liệu (%).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phương pháp cảm quan

Dược liệu tươi: Là rễ phát triển thành củ, cong queo, đường kính 4 -5 cm, dài 20 – 30 cm. Mặt ngoài màu trắng xám có nhiều vết nhăn dọc, có mang rễ bên. Mặt cắt ngang màu vàng nhạt. Có nhiều lỗ vỏ nằm ngang và vết tích của các rễ con (hình 1a).

Dược liệu khô: Dạng phiến mỏng, màu vàng nhạt. Bên ngoài là vỏ, trong cùng có lõi gỗ (hình 1b).

3.2. Phương pháp hiển vi

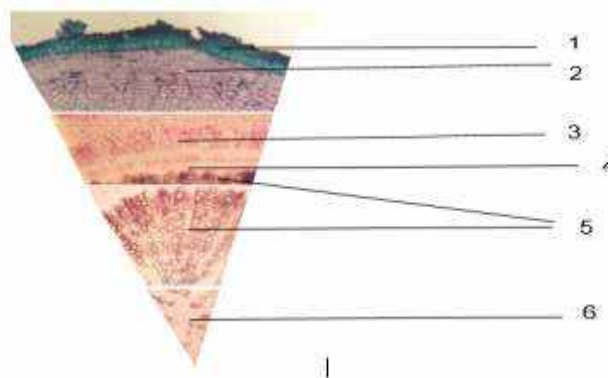
3.2.1. Vi phẫu

Vi phẫu cắt ngang của dược liệu quan sát từ ngoài vào trong (Hình 2) có đặc điểm:

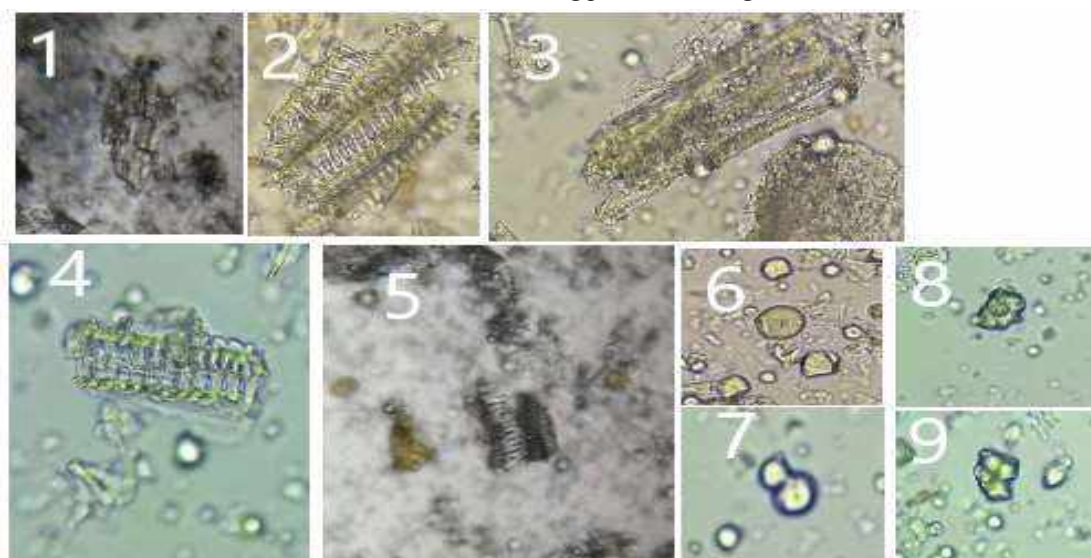
Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào xếp đều đặn thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ, các tế bào thành mỏng, những lớp tế bào phía ngoài thường bị bẹp, trong mô mềm rải rác các tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Libe tạo thành vòng, bị tia tủy chia thành các bó hình nón, tầng phát sinh libe – gỗ. Gỗ chiếm phần lớn diện tích vi phẫu, rễ càng già phần gỗ càng nhiều.



Hình 1. Hình ảnh rễ đing lăng tươi (a) và rễ đing lăng khô thái phiến (b)



Hình 2. Vi phẫu rễ Đing lăng
1- Bần, 2- Mô mềm vỏ, 3- Bó libe, 4 – Tầng phát sinh libe gỗ, 5-Gỗ, 6- Mô mềm ruột,



Hình 3. Soi bột rễ Đing lăng
1 - Mảnh bần 2,4,5 - Mảnh mạch 3 – Mảnh mô mềm mang tinh bột
6 – Hạt tinh bột đơn 7 – Tinh bột kép 8,9 – Tinh thể calci oxalat

3.2.2. Bột

Bột màu vàng nhạt, thơm nhẹ, vị hơi ngọt. Bằng phương pháp hiển vi, đã xác định được đặc điểm vi học bột gồm: Mảnh bản (1), mảnh mạch mạch mạng, mạch vạch (2,4,5), mảnh mô mềm mang tinh bột (3), tinh bột hình chuông, hình tam giác có rốn hạt nhỏ, đường kính 10 μm đến 20 μm , đứng riêng lẻ, kép 2, 3, 4 hay tụ tập thành khối (6,7), tinh thể calci oxalat (8,9).

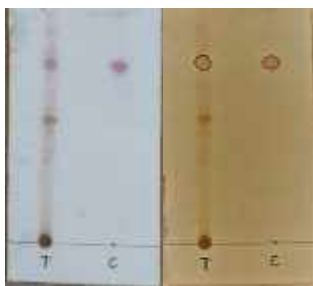
3.3. Định tính

Tính chất tạo bọt

Kết quả: Dịch chiết trong dung môi ethanol 70% sau khi pha loãng với nước cất và lắc mạnh 15 giây có bọt bền.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng

Kết quả: Sắc ký đồ dung dịch thử (Hình 4) có 2 vết nhỏ hình elip tách biệt rõ, trong đó có 1 vết to hơn có Rf và màu sắc tương tự như vết của dung dịch chuẩn.



Hình 4. Hình ảnh bản mỏng dưới ánh sáng thường (1) và ánh sáng tử ngoại 254 nm (2)
(T): Mẫu thử: dịch chiết rễ đing lăng
(C): Chất đối chiếu (acid oleanolic)

3.4. Định lượng

Định lượng theo phương pháp cân

Kết quả: Hàm lượng Saponin tổng trong dịch chiết ethanol và n-butanol được thể hiện trong bảng 1 và 2.

Bảng 1. Kết quả hàm lượng Saponin tổng trong dịch chiết ethanol

| | Khối lượng dược liệu (g) | Khối lượng cân (g) | Hàm ẩm ược liệu (%) | Hàm lượng Saponin tổng (%) | Hàm lượng Saponin tổng (%) trung bình |
|-------|-----------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|--|
| Mẫu 1 | 10.02 | 1.30 | 6.11 | 13,8 | |
| Mẫu 2 | 10.01 | 1.28 | 6.11 | 13,6 | 13,57 |
| Mẫu 3 | 10.01 | 1.25 | 6.11 | 13,3 | |

Nhận xét: Hàm lượng Saponin tổng trong dịch chiết ethanol trung bình là 13,57, cao hơn trong dịch chiết n-butanol 2,37 lần.

4. Bàn luận

Về mô tả dược liệu rễ đing lăng 5 năm tuổi

Nghiên cứu này mới thực hiện trên mẫu thu hái tại Thái Nguyên năm 2019. Kết quả sẽ tốt hơn nếu thực hiện quan sát trên nhiều mẫu thực hiện thu hái ở một số vùng khác nhau.

Về khảo sát các chỉ tiêu theo các tiêu chí quy định trong dược điển Việt Nam:

Đã khảo sát: Đặc điểm của dược liệu tươi và khô theo phương pháp cảm quan; đặc điểm vi phẫu, đặc điểm bột theo phương pháp hiển vi; định tính, định lượng theo phương pháp hóa học.

Do thời gian và kinh phí không cho phép nên một số chỉ tiêu chưa thực hiện được như: các tạp chất lẫn trong dược liệu, tỷ lệ vụn nát dược liệu, hàm lượng kim loại nặng, hàm lượng các chất có thể chiết được trong dược liệu bằng dung môi (nước, ethanol, ...).

5. Kết luận

- Đã phân tích được đặc điểm vi học của Rễ Đing lăng bao gồm vi phẫu và soi bột với các đặc điểm đặc trưng.

Dược liệu tươi: Là rễ phát triển thành củ, cong queo, đường kính 4 -5 cm, dài 20 – 30 cm. Mặt ngoài màu trắng xám có nhiều vết nhăn dọc, có mang rễ bên. Mặt cắt ngang màu vàng nhạt. Có nhiều lỗ vỏ nằm ngang và vết tích của các rễ con.

Dược liệu khô: Dạng phiến mỏng, màu vàng nhạt. Bên ngoài là vỏ, trong cùng có lõi gỗ.

Bảng 2. Kết quả hàm lượng Saponin tổng trong dịch chiết n-butanol

| | Khối lượng dược liệu (g) | Khối lượng cắn (g) | Hàm ẩm ướt liệu (%) | Hàm lượng Saponin tổng (%) | Hàm lượng Saponin tổng (%) trung bình |
|-------|-----------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|--|
| Mẫu 1 | 50.05 | 2,65 | 6.11 | 5,6 | |
| Mẫu 2 | 50.04 | 2,7 | 6.11 | 5,7 | 5,73 |
| Mẫu 3 | 50.02 | 2,75 | 6.11 | 5,9 | |

Vi phẫu

Vi phẫu cắt ngang của dược liệu quan sát từ ngoài vào trong có đặc điểm:

Lớp bần, mô mềm vỏ, tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Libe tạo thành vòng, bị tia tủy chia thành các bó hình nón, tầng phát sinh libe – gỗ. Gỗ chiếm phần lớn diện tích vi phẫu, rễ càng già phần gỗ càng nhiều.

Bột

Bột màu vàng nhạt, thơm nhẹ, vị hơi ngọt. Bằng phương pháp hiển vi, đã xác định được đặc điểm vi học bột gồm: Mảnh bần, mảnh mạch mạch mạng, mạch vạch, mảnh mô mềm mang tinh bột, tinh bột hình chuông, hình tam giác có rốn hạt nhỏ, tinh thể calci oxalat.

- Đã sử dụng phương pháp lý hóa trong định tính dược liệu

Phương pháp lý hóa: Thử tính chất tạo bọt của saponin và SKLM giúp phát hiện thành phần saponin trong dược liệu. Nghiên cứu đã đề xuất được hệ dung môi phù hợp để định tính thành phần chất chính trong dược liệu Rễ Đinh lăng bằng phương pháp SKLM là hệ dung môi toluen : ethylacetat : aceton : acid formic (5 : 2 : 2 : 0,5).

- Đã xác định được hàm lượng cắn chiết được trong dược liệu Rễ Đinh lăng bằng phương pháp cân. Hàm lượng cắn chiết trong dịch chiết ethanol trung bình là (13,57), cắn chiết được trong dịch chiết n-butanol (5,73).

6. Khuyến nghị

- Do thời gian có hạn, đề tài mới chỉ xây dựng được tiêu chuẩn cơ sở với một mẫu trồng tại Thái Nguyên. Do đó, cần tiến hành nghiên cứu trên cỡ mẫu nhiều hơn để việc kết luận các chỉ tiêu mới có thể mang tính đại diện cho dược liệu Rễ Đinh lăng.

- Đề xuất xây dựng chỉ tiêu định lượng thành phần chính, đặc trưng của dược liệu Rễ Đinh lăng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao góp phần kiểm soát tốt hơn chất lượng Rễ Đinh lăng và sản phẩm liên quan đến dược liệu này trong tương lai.

- Đề xuất xác định tỉ lệ tạp chất trong dược liệu, tỉ lệ vụn nát và xác định hàm lượng kim loại nặng cho dược liệu Rễ Đinh lăng.

- Đề xuất tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện xây dựng tiêu chuẩn cơ sở dược liệu Rễ Đinh lăng để bổ sung chuyên luận đã có về dược liệu Rễ Đinh lăng trong Dược điển Việt Nam V.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bộ y tế, *Sổ tay đăng kí thuốc* (ban hành kèm theo quyết định số 07/QĐ – QLD ngày 11/1 về việc ban hành sổ tay hướng dẫn đăng kí thuốc), phụ lục 8, 2013.
- [2]. Bộ Y tế, Thông tư số 09/2010/TT của Bộ Y tế Hướng dẫn việc quản lý chất lượng thuốc, 2010.
- [3]. Nguyễn Viết Thân, *Thực tập dược liệu*, bộ môn dược liệu, trường Đại học Dược Hà nội, 2010
- [4]. Bộ y tế, Dược điển Việt Nam V, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 857-862, 2018.
- [5]. Ngô Thị Quỳnh, “Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn dược liệu và cao dược liệu từ cây lá diển (*Dicliptera chinensis* (L.) Ness)”, 2005.
- [6]. Bộ y tế, Kiểm nghiệm dược phẩm, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr.68-79, 2007.