

K

BỘ Y TẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC DƯỢC HÀ NỘI

-❖-

ĐỀ TÀI CẤP BỘ

**NGHIÊN CỨU LOÀI EMBELIA MỚI
PHÁT HIỆN Ở SƠN LA
LÀM THUỐC TẮY SÁN**

Chủ nhiệm đề tài : PGS. PTS. Phạm Thanh Kỳ

-Hà nội 1995-

5721
10/3/06

ĐỀ TÀI CẤP BỘ :

**NGHIÊN CỨU LOÀI EMBELIA MỚI PHÁT HIỆN
Ở SƠN LA LÀM THUỐC TẮY SÁN.**

Chủ nhiệm đề tài : PGS. PTS. Phạm Thanh Kỳ

Các cán bộ phối hợp thực hiện :

- BS CKII. Phó Đức Thuận
- DS. Nguyễn Thị Biên
- PGS. PTS. Nguyễn Xuân Dũng
- PTS. Bùi Kim Liên
- DS. Nguyễn Thu Hằng
- PTS. Võ Xuân Minh
- DS. Nguyễn Thị Bích Hằng
- DS. Bùi Thọ Uẩn
- DS. Lê Chính Thiện

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU LOÀI EMBELIA MỚI PHÁT HIỆN Ở SƠN LA LÀM THUỐC TẮY SÁN.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ :

Bệnh giun sán là một bệnh rất phổ biến ở nước ta và gây nhiều tác hại như giun chui ống mật, gây tắc ruột, bệnh sán gây thiếu máu... Theo thống kê nhiều người bị nhiễm từ 1 - 3 loại giun, bệnh thường phổ biến theo vùng : các bệnh giun có tỉ lệ cao ở đồng bằng, bệnh sán lá hay gặp ở vùng biển, sán dây thường gặp ở vùng núi, vì vậy nhu cầu về thuốc trị giun sán rất cần thiết (1) (2).

Về thuốc trị giun sán ở nước ta hiện nay chủ yếu là thuốc nhập từ nước ngoài, thuốc có hiệu quả điều trị cao nhưng giá thành đắt. Do đó việc nghiên cứu các dược liệu trong nước để tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc đang được nhiều nhà khoa học quan tâm.

Gần đây Dược sĩ Nguyễn thị Biên phát hiện thấy đồng bào dân tộc tỉnh Sơn la dùng quả một cây có tên địa phương (Thái) là khỉ Salaipagé để tẩy sán. Cây này chưa được ghi vào danh mục "Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam" của GS. Đỗ Tất Lợi và cũng chưa có tác giả nào ở Việt Nam công bố những kết quả nghiên cứu về dược liệu này. Do đó chúng tôi đã đăng ký đề tài ở cấp Bộ nghiên cứu loài Embelia mới phát hiện này làm thuốc trị sán với nội dung sau :

1. Nghiên cứu đặc điểm thực vật, định tên khoa học của cây.
2. Nghiên cứu về thành phần hoá học :
 - Xác định các nhóm chất chính.
 - Chiết xuất và phân lập thành phần chính.
 - Nhận dạng chất phân lập được.
 - Định lượng hoạt chất trong dược liệu
3. Nghiên cứu độc tính và thử tác dụng trên giun sán.
4. Bào chế 1 dạng thuốc và sơ bộ đưa thử trên lâm sàng.

II. PHÂN TỔNG QUAN.

1. Đặc điểm thực vật :

Theo tài liệu (3) (4) (5) (6) (7) mô tả cây chua ngút (thùn mूं, phỉ tử, dây ngút...) ở Việt nam là loài *Embelia ribes* (Burm). Theo tài liệu (6) (8) thì mô tả cây chua ngút (thùn mूं, phỉ tử, dây ngút hoa trắng) là loài *Embelia laeta* (L.) Mez. Có thể tóm tắt đặc điểm 2 loài đó như sau :

Đặc điểm	<i>Embelia ribes</i> Burm.	<i>Embelia laeta</i> (L.) Mez).
Thân	Cây bụi leo, cao 3-6m, có cành. Thân màu nâu đỏ hay nâu sẫm, hơi có khía dọc.	Cây bụi, cao 1-2m, thân màu nâu tím, mọc vươn dài.
Lá	Mọc cách, cuống lá 5-10mm. Phiến lá hình bầu dục hay hình trứng dài 3-8cm, đầu lá nhọn dần, mép nguyên, gân phụ không rõ.	Cuống lá dài 2-6mm, phiến lá hình bầu dục hoặc hình trứng ngược dài 3-3,5cm, rộng 1-2,5cm gốc lá hẹp, đầu lá tù, mép nguyên, gân phụ không rõ.
Hoa	Hoa nhiều, nhỏ, màu vàng lục, xếp thành chùm ở ngọn.	Hoa màu trắng, gần hình tán xếp 3-8 cái trên các nhánh, mọc dày đặc ở cành.
Quả	Quả hình cầu màu đỏ sẫm, đường kính 3mm, hạt đơn độc có nội nhũ sừng.	Quả gần như hình cầu, có núm nhọn, đường kính 5-6mm, màu đỏ, hạt có nội nhũ.

2. Phân bố :

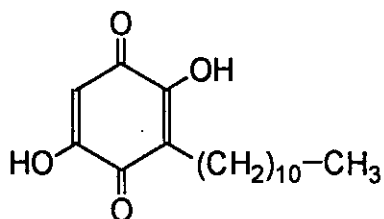
Theo tài liệu (6) loài *Embelia laeta* mọc phổ biến ở Bắc bộ, ở Trung bộ hơi hiếm, từ Huế trở vào thì không gặp. Loài *Embelia ribes* có phổ biến ở khắp Việt nam.

3. Thành phần hoá học :

Theo tài liệu (9) năm 1887 - 1888 J. H. WARDEN đã chiết được một chất từ quả *Embelia ribes* Burm. gọi là acid embelic, đến năm 1930 R. KAUL gọi chất đó là Embelin. Năm 1943 S. KRISHNA chiết được Embelin từ quả khô *Embelia robusta* Roxb., năm 1948 M. MERIAN chiết được từ quả khô *Embelia kilimandscharica*, năm 1950 R. PARIS chiết được từ rễ cây *Embelia barbeyana* Mez. 1 chất gọi là Embeliaquinon.

Theo tài liệu (3) (4) ghi trong quả thùn mủn (*Embelia ribes* Burm.) có tanin, tinh dầu và acid embelic (còn gọi là Embelin hay Embelon (= dihydro 2,5 - lauryl 3 - benzoquinon - 1,4).

Theo tài liệu (10) trong quả khô *Embelia ribes* và *Embelia robusta* chứa khoảng 2,5% acid embelic.



4. Tác dụng và sử dụng :

Theo tài liệu (3), (4) nêu : Nhân dân dùng hạt chữa giun đũa, giun kim và sán sơ mít. Người lớn uống 5g, trẻ em uống 2g - 2,5g bột trộn với mật hoặc đường uống vào lúc sáng sớm.

Theo tài liệu (8) nêu : Quả tán thành bột trộn với mật, uống vào sáng sớm lúc đói, mỗi ngày 5g trị sán.

Theo tài liệu (10) ghi : *Embelia* được dùng ở Ấn độ và một số nước Châu Á để tẩy sán.

Theo tài liệu (11) ghi Embelin có tác dụng trị sán thường dùng dưới dạng Embelat amoni với liều 200mg cho trẻ em và 400mg hoặc nhiều hơn cho người lớn. Có thể dùng được liệu với liều 4 - 15g.

Về độc tính của thuốc, các tài liệu (3), (4) ghi : Không có hiện tượng độc, chỉ hơi say say.

III. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

1. Nguyên liệu :

- Lấy được tiêu bản có hoa, quả tại Sơn la, được lưu trữ tại bộ môn Dược liệu, Trường đại học Dược Hà nội.

- Nguyên liệu để nghiên cứu thành phần hoá học và chiết xuất hoạt chất được lấy trên cùng cây ở cùng địa điểm.

2. Phương pháp :

2.1- Về thực vật :

- Quan sát đặc điểm thực vật bằng mắt thường và kính lúp.

- Vi phẫu được cắt, nhuộm kép và soi bột dược liệu theo phương pháp trong tài liệu "Thực tập Dược liệu" (15)

2.2- Về hoá học :

- Định tính các nhóm chất trong dược liệu theo tài liệu "Thực tập dược liệu" (15) và "Phân tích hoá thực vật" (12)

- Sắc ký lớp mỏng dùng chất hấp phụ là Silicagen GF₂₅₄ (MERCK).

- Định lượng hoạt chất trong dược liệu theo phương pháp cân.

- Độ chảy đo trên máy OSI (Pháp) tại phòng nghiên cứu tổng hợp hữu cơ trường Đại học Dược Hà nội.

- Phổ tử ngoại đo trên máy PYE.UNICAM-SR300 UV/VIS tại phòng nghiên cứu trung tâm trường ĐH Dược.

- Phổ hồng ngoại đo trên máy PYE UNICAM SP-2000, dạng viên nén KBr, tại phòng nghiên cứu trung tâm của trường

- Phổ khối đo tại viện khối phổ trường đại học Tổng hợp Amsterdam (Hà lan).

3. Về tác dụng sinh học :

- Thử độc tính cấp và bán cấp theo phương pháp của Viện kiểm nghiệm thuốc Bucaret (Rumani) tại Viện Y học cổ truyền TW.

- Thử tác dụng trên sán và giun, thực hiện tại phòng đông y thực nghiệm Viện Y học cổ truyền TW và tại Bộ môn Dược liệu

IV. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.

1. Về thực vật.

1.1- Đặc điểm thực vật của cây :

Quan sát trên thực địa, lấy tiêu bản cây có hoa và quả. Kết quả phân tích cho thấy :

- Thân : Cây gỗ, cao 3-5m mọc thành bụi, thân màu nâu có rãnh dọc ngắn như nứt nẻ.

- Lá : Mọc sọc le, hình bầu dục dài 10-12cm, rộng 5-6cm, cuống dài 1cm mép lá gần như nguyên, gân ngọn lá có khía răng nông.

- Hoa : Màu trắng, mọc thành chùm kép tạo thành dạng trụ. Cuống hoa dài 3-4mm. Hoa mẫu 5 có 5 lá đài rời, 5 cánh hoa rời màu trắng dài 2mm rộng 1mm, 5 nhị xếp trước cánh hoa (đảo lưỡng nhị), mỗi nhị có một chỉ nhị dài 3mm. Bao phấn 2 ô đính góc, mỗi nhị dài 1mm, rộng 0,5mm.

- Bộ nhụy : bầu trên, 1 vòi, 1 núm nhụy, tiền khai hoa vặn; lá bắc dài 1-1,2mm, rộng 0,5mm.

- Quả : Hình cầu có 1 hạt, đầu quả có núm nhọn vết tích của vòi nhụy, gốc có 5 lá đài tồn tại. Quả có đường kính 4-4,5mm, cao 3,5-4mm. Quả chín có màu nâu đen.

1.2- Đặc điểm vi phẫu lá :

Cắt vi phẫu lá, nhuộm kép, quan sát dưới kính hiển vi thấy các đặc điểm sau : (Hình 1)

1. Biểu bì trên
2. Mô giậu
3. Mô khuyết
4. Biểu bì dưới
5. Mô dày trên
6. Mô mềm
7. Đám sợi
8. Libe
9. Gỗ
10. Mô dày
11. Tinh thể canxi oxalat hình cầu gai.

1.3- Đặc điểm bột lá : (Hình 2)

Soi bột lá dưới kính hiển vi, quan sát thấy các đặc điểm sau :

1. Tinh thể canxi oxalat hình cầu gai và hình khối
2. Mảnh biểu bì mang lỗ khí
3. Mảnh mô mềm
4. Sợi
5. Mạch xoắn

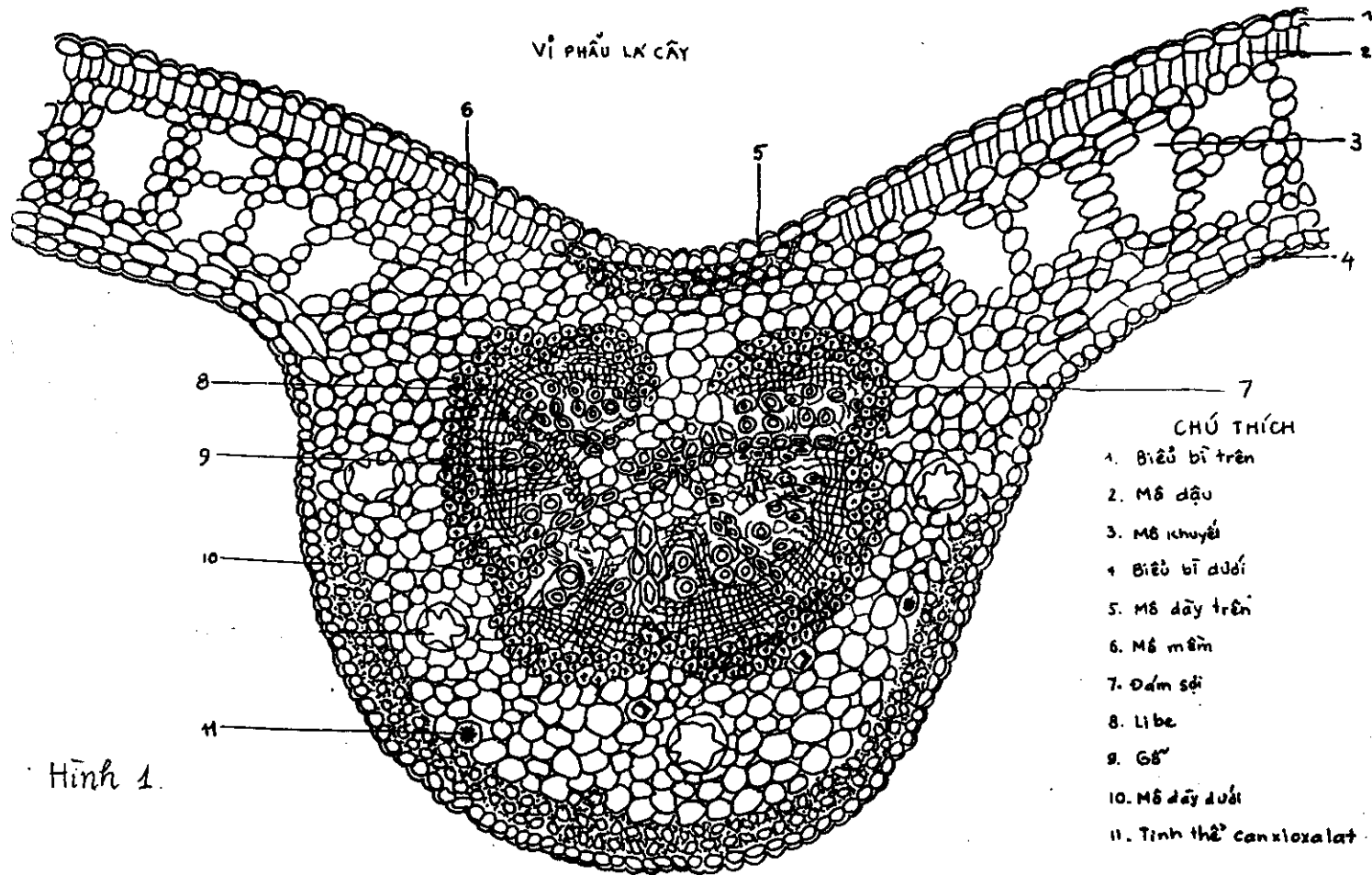
1.4- Đặc điểm của bột quả : (Hình 3)

Tán quả khô thành bột mịn, soi dưới kính hiển vi quan sát thấy các đặc điểm sau :

1. Tế bào mô cứng
2. Mảnh mạch xoắn, mạch mạng
3. Sợi
4. Mô mềm chứa tinh bột
5. Canxi oxalat hình cầu gai và hình khối

1.5- Xác định tên khoa học của cây :

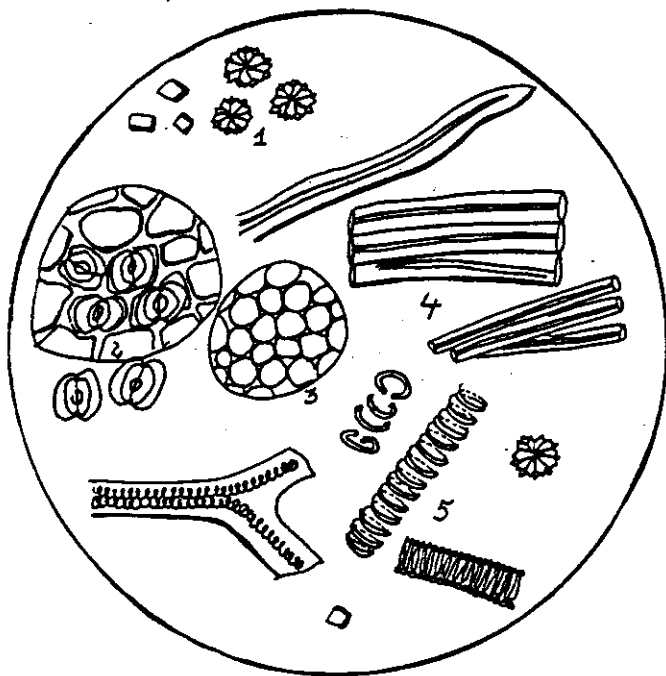
VỊ PHẪU LÁ CÂY



CHÚ THÍCH

1. Biểu bì trên
2. Mô dầu
3. Mô chuyên
4. Biểu bì dưới
5. Mô dây trên
6. Mô mềm
7. Đám sợi
8. Li be
9. Gỗ
10. Mô dây dưới
11. Tinh thể canxi oxalat

Hình 1.



BỘT LÁ

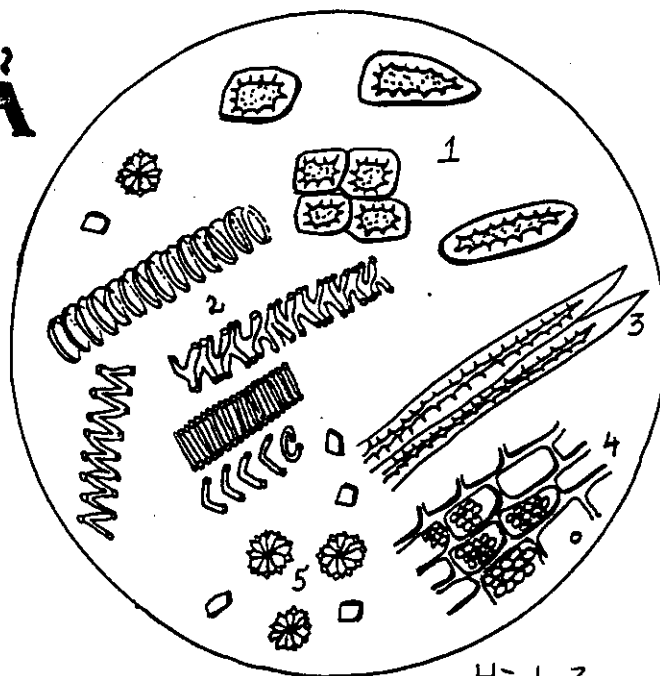
1. TINH THỂ CAN XI OXALAT
2. LỖ KHÍ VÀ MẢNH BIỂU BÌ MANG LỖ KHÍ
3. MẢNH MỖ MỀM
4. SỢI VÀ BÓ SỢI
5. MẠCH XOẢN

Hình 2

TÊN KHOA HỌC : **EMBELIA SCABENS (LOUR.) MEZ.**
MYRSINACEAE

BỘT QUẢ

1. TẾ BÀO MỖ CỨNG
2. MẠCH XOẢN, MẠCH MẠNG
3. SỢI
4. MỖ MỀM CHỨA TINH BỘT
5. CAN XI OXALAT HÌNH CẦU GAI VÀ HÌNH KHỐI



Hình 3

Chúng tôi đã gửi mẫu cây có hoa tới PTS. Nguyễn Thị Liên chuyên gia về họ Đơn nem (Myrsinaceae) nhưng ở nước ta không có mẫu đối chiếu nên không xác định được tên khoa học. Sau đó chúng tôi đã gửi mẫu tới Viện KEW Herbarium (Anh) và đã nhận được trả lời : Cây chúng tôi nghiên cứu là : *Embelia scandens* (Lour.) Mez. (Myrsinaceae).

2. Về thành phần hoá học :

2.1- Xác định các nhóm chất có trong dược liệu :

Phân tích hệ thống sơ bộ thành phần hoá học cho thấy trong quả *Embelia scandens* (Lour.) Mez có :

- Hợp chất antraglycosid
- Acid hữu cơ
- Ta nin
- Chất béo

2.2- Định tính bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM)

- Dùng chất hấp phụ là silicagen GF254 (MERCK)

- Hệ dung môi khai triển :

Hệ I : CHCl_3 : MeOH : NH_4OH [50 : 9 : 1]

Hệ II : Etylacetat : H_2O [90 : 10]

- Dịch chấm sắc ký được chiết bằng nhiều hệ dung môi khác nhau :

M_1 : Chiết bằng cồn 90° (t° phòng)

M_2 : Chiết bằng ete etylic (t° phòng)

M_3 : Chiết bằng ete etylic trong môi trường acid

M_4 : Chiết bằng ete etylic ở 50°C

- Quan sát màu các vết trước và sau khi đặt vào hơi I_2 .

Kết quả định tính bằng SKLM ở những dung môi khác nhau đều cho 4 vết có màu tím nhạt và sau khi đặt vào hơi I_2 có màu nâu đậm (Bảng 1).

Bảng 1 : Kết quả SKLM

Vết	Rf	Hệ I				Rf	Hệ II			
		M_1	M_2	M_3	M_4		M_1	M_2	M_3	M_4
V ₁	0,00	++++	++++	++++	++++	0,07	+	+	+	+
V ₂	0,20	+	+	+	+	0,24	++++	++++	++++	++++
V ₃	0,55	+++	+++	+++	+++	0,78	+	+	+	+
V ₄	0,93	+	+	+	+	0,96	+++	+++	+++	+++