

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP CỦA LAN THẠCH HỌC TÍA

Nguyễn Thị Duyên*, Vũ Thị Ánh
Viện Khoa học Sự sống - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã xác định trong Thạch học tía (*Dendrobium officinale*) có 7 nhóm chất hữu cơ là alcaloid, flavonoid, axit hữu cơ, carotenoid, axit amin, đường khử và chất béo. Trong 100g tươi, thành phần nước, nitơ, lipid, khoáng, đường khử, đường tổng, photpho, carotenoid, polysaccharide, alkaloid lần lượt là 80,22; 0,215; 0,051, 0,748, 0,575, 0,971; 0,045, 9,15, 23,23, 0,025 g/100g. Kết quả bước đầu đánh giá được tính an toàn của sản phẩm từ Thạch học tía với người dùng ở mức độ LD50 = 18,5 mlcao/kg

Từ khóa: Thạch học thiết bị, dược liệu, *Dendrobium*, thành phần hóa học, độc tính cấp

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nước ta được thiên nhiên ưu đãi ban tặng cho thảm thực vật phong phú, trong đó có rất nhiều cây có khả năng chữa nhiều loại bệnh. Theo thống kê chưa đầy đủ của viện dược liệu (bộ Y tế) cho thấy, hiện nước ta có khoảng 3.800 loài thực vật có thể làm thuốc. Trong đó có những loài thuốc quý mà nền y học thế giới rất cần. Các loại thực phẩm có nguồn gốc tự nhiên giúp cơ thể con người dễ dung nạp, hòa hợp và có những ưu điểm riêng [3].

Từ xưa, dân gian đã biết dùng các loại cây có để chữa bệnh. Theo thời gian, cùng với sự phát triển của khoa học kỹ thuật đã có rất nhiều công trình nghiên cứu cho việc tìm hiểu các cây thuốc, bên cạnh đó các nhà nghiên cứu dược liệu đã tạo ra các sản phẩm có nguồn gốc thiên nhiên có lợi và an toàn cho sức khỏe con người [3].

Thạch học tía (*Dendrobium officinale*) là một loài thuộc chi *Dendrobium*, họ Lan (Orchidaceae). Ngoài giá trị thẩm mỹ, nó còn có giá trị dược liệu, được sử dụng phổ biến trong nền y học cổ truyền của nhiều nước châu Á. Theo các tài liệu dược học cổ truyền, Thạch học tía có tác dụng bổ âm, tân sinh, chữa chứng hỏa hư, trị đau dạ dày, đau thương vị, bồi bổ đôi mắt, chống lão hóa [7]

Các nghiên cứu gần đây khẳng định giá trị dược học của loại thảo dược này về khả năng

kháng khuẩn, chống oxy hóa, tăng cường hệ miễn dịch, ức chế tế bào ung thư, điều hòa đường huyết, cải thiện hoạt động của hệ tiêu hóa, ổn định hệ vi sinh đường ruột. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu đó chưa đề cập đến vấn đề nghiên cứu các thành phần cơ bản của thạch học tía cũng như đánh giá về mức độ an toàn của nó đối với người sử dụng [7].

Công trình này chúng tôi thông báo các kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học và đánh giá độc tính của cây lan Thạch học tía.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

- Thạch học tía được trồng tại khu công nghệ tế bào - Viện Khoa học Sự sống bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào.

- Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả hai giống, 5-6 tuần tuổi, khối lượng 22 g ± 2g, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, mua tại Viện Vệ sinh dịch tễ Hà Nội cung cấp.

- Thời gian nghiên cứu: Tiến hành từ tháng 3 - tháng 12 năm 2016.

- Địa điểm nghiên cứu: Viện Khoa học Sự sống - Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên

Nội dung nghiên cứu

+ Nghiên cứu xác định được hàm lượng nước, nitơ, lipid, khoáng, đường khử, đường tổng, carotenoid, photpho, alkaloid, polysaccharide, axit amin trong cây Thạch học tía.

* Tel 0977 008861, Email nguyenduyen2071987@gmail.com

+ Thử độc tính cấp của sản phẩm cao lỏng thạch học tia (100g thạch học khô/100ml dung dịch; ẩm độ sản phẩm cao lỏng 95,78%)

Phương pháp nghiên cứu

+ *Xác định thành phần hóa học* [1]

- Định tính các hợp chất hữu cơ [6], [8]

- Xác định hàm lượng nước theo TCN 842:2006.

- Xác định hàm lượng nitơ theo TCN 850:2006.

- Xác định hàm lượng photpho theo TCVN 1525 - 2001.

Xác định hàm lượng lipid thô: TCN 849:2006.

- Xác định hàm lượng đường bằng phương pháp Bertrand.

- Xác định hàm lượng caroten tổng số theo TCVN 5284:1990

- Xác định hàm lượng khoáng theo TCVN 8124 2009.

- Xác định axit amin theo TCVN 8764:2012

- Sản phẩm cao lỏng thạch học tia được sản xuất bằng phương pháp ngâm lạnh.

+ Nghiên cứu thử độc tính cấp của Thạch học tia [2], [4], [5].

Chọn chuột nhắt trắng có trọng lượng 18-22g, khoẻ mạnh, không phân biệt giống, được chia ngẫu nhiên thành các lô Để chuột nhịn đói 16 giờ trước khi thí nghiệm. Dùng kim đầu tù cho chuột uống thuốc theo mức liều quy định cho từng lô, mỗi lần 0,2 - 0,4 ml /10g thể trọng, với các mức liều tăng dần. Từng lô chuột được cho uống cao lỏng với các mức liều tăng dần để xác định liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và liều cao nhất gây chết 0% Chuột được nuôi dưỡng và theo dõi tình trạng chung như: Hoạt động tự nhiên, tư thế, màu sắc (mũi, tai, đuôi), lông, phân, nước tiểu trong suốt 7 ngày; xác định tỷ lệ chuột chết trong 72 giờ của từng lô chuột sau uống thuốc. Đếm số chuột chết ở từng lô để xác định liều thấp nhất gây chết 100% và liều cao nhất gây chết 0%.

Tính LD50 theo phương pháp của Litchfield - Wilcoxon, theo công thức tính:

$$LD50 = LD100 - [(d \times z)] \times 1/n$$

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Thành phần hóa học trong cây lan Thạch học tia

Bảng 1. Kết quả định tính sơ bộ các nhóm hợp chất hữu cơ trong cây thạch học tia

Nhóm chất	Thuốc thử và phản ứng	Kết quả	Kết luận sơ bộ
Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	+++	Có
	Dung dịch NaOH	+++	
	Dung dịch FeCl ₃ 5%	+++	
Alkaloid	Phản ứng với Mayer Bouchardat	+	Có
	Dragendorff		
Saponin	Phản ứng tạo bọt	-	Không
Tannin	Phản ứng với:		không
	Dung dịch Gelatin 1%	-	
	Dung dịch FeCl ₃ 5%	-	
Đường khử	Phản ứng với thuốc thử Fehling A + Fehling B	++	Có
Carotenoid	Phản ứng với H ₂ SO ₄ đậm đặc	++	Có
Chất béo	Để lại vết mờ trên giấy lọc	+	Có
Axit hữu cơ	Phản ứng với Na ₂ CO ₃ tinh thể	++	Có
Axit amin	Thuốc thử Ninhydrin 0,1%	+	Có

Ghi chú:

+++ Phản ứng dương tính rất rõ

++ Phản ứng dương tính rõ

+ Phản ứng dương tính

- Phản ứng âm tính

Qua phân tích sơ bộ các nhóm chất hữu cơ nghiên cứu xác định được trong cây Thạch học tia có 7 nhóm chất đó là: Alcaloid, flavonoid, axit hữu cơ, carotenoid, axit amin, đường khử, và chất béo. Qua thử định tính các phản ứng sơ bộ thấy dung dịch chiết từ Thạch học tia không có phản ứng thể hiện sự có mặt của saponin và tannin.

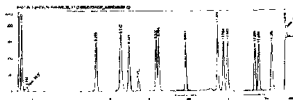
Bảng 2. Hàm lượng các chất trong cây Thạch học tía

Chỉ tiêu phân tích	DVT	Thân ($\bar{X} \pm SD$)
Hàm lượng nước	g/100g	80,22±0,049
Nitơ	g/100g	0,215±0,016
Lipid	g/100g	0,051±0,001
Khoáng TS	g/100g	0,748±0,005
Đường khử	g/100g	0,573±0,008
Đường tổng số	g/100g	0,971±0,012
Photpho	g/100g	0,045±0,01
Caroten tổng số	g/100g	9,15±0,04
Polysaccharid	g/100g	23,33±0,143
alkaloid	g/100g	0,025±0,0005

Qua bảng 2 thấy Thạch học tía là loại cây thân mọng có hàm lượng nước lớn dao động trong khoảng (80,22±0,049) g/100g; hàm lượng nitơ tổng số dao động trong khoảng (0,215±0,016) g/100g; hàm lượng lipid khá thấp dao động trong khoảng (0,051±0,001)g/100g; hàm lượng khoáng đa vi lượng dao động trong khoảng (0,748±0,005) g/100g, hàm lượng đường khử dao động trong khoảng (0,573±0,008) g/100g; hàm lượng đường tổng số dao động trong khoảng (0,973±0,008) g/100g. Trong cây Thạch học tía cũng chứa lượng polysaccharide tổng số khá lớn chiếm khoảng (23,33±0,143) g/100g.

Bảng 3. Hàm lượng axit amin trong cây Thạch học tía

TT	Tên axit amin	Trung bình (mg/g) ($\bar{X} \pm SD$)
1	aspartic	1,414±0,011
2	Glutamic	1,274±0,040
3	Serine	0,919±0,014
4	Histidine	0,326±0,015
5	Glycine	0,508±0,003
6	threonine	0,987±0,049
7	Alanine	0,908±0,003
8	Arginine	0,458±0,019
9	Tirosine	0,817±0,004
10	Valine	0,927±0,005
11	Methionine	0,233±0,004
12	Phenylalanine	0,924±0,011
13	Isoleucine	1,207±0,021
14	Leucine	1,032±0,063
15	Lysine	0,893±0,032
16	Proline	0,560±0,026

**Hình 1.** Sắc ký đồ phân tích axit amin

Chú thích: Theo thời gian lưu: 1,3. aspartic; 1,4: Glutamic; 1,7. Serine, 5,2: Histidine; 6,5: Glycine; 6,9. threonine, 7,4: Alanine; 8,3: Arginine; 8,4. Tyrosine, 9,0: Valine; 11,4: Methionine; 11,7: Phenylalanine; 11,9: Isoleucine; 13,3: Leucine, 11,5. Lysine; 14,2: Proline

Cây Thạch học tía có đầy đủ các loại axit amin thiết yếu cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển. Tiến hành phân tích xác định hàm lượng axit amin trong cây thạch học tía chúng tôi xác định được 16 loại axit amin với hàm lượng dao động trong khoảng từ (0,326±0,015) mg/g đến (1,414±0,011) mg/g. Trong đó có một số axit amin chiếm hàm lượng lớn như asperin, Glutamic, threonine, Isoleucine, Leucine với hàm lượng dao động trong khoảng (1,032±0,063) mg/g - (1,414±0,011) mg/g. Một số axit amin có hàm lượng khá thấp như histidin, arginine, methionine, glycine với hàm lượng dao động trong khoảng (0,233±0,004) mg/g - (0,508±0,003) mg/g

Nghiên cứu thử độc tính cấp của thạch học tía trên chuột thí nghiệm

Tiến hành theo dõi tình trạng chuột qua các thí nghiệm chúng tôi thấy rằng, với những chuột được uống mẫu thử liều cao (22,3 mlcao/kg) thì 70% chuột có biểu hiện mệt mỏi, ít hoạt động, nằm yên, thờ đốc, co giật và chết trong vòng 50 đến 120 phút sau khi uống thuốc, một số có biểu hiện đi ngoài, mổ quan sát nội tạng thấy không có gì bất thường. Với 30% chuột còn sống sót, hoạt động bình thường, ăn uống trở lại sau khoảng 5-6 giờ uống mẫu thử. Với liều 16,0 mlcao/kg có 50% chuột có biểu hiện mệt mỏi, ít hoạt động, nằm yên, thờ đốc, co giật và chết trong vòng 50 đến 120 phút sau khi uống thuốc, một số có biểu hiện đi ngoài, mổ quan sát nội tạng thấy không có gì bất thường. Với liều 12,8 mlcao/kg có 10% chuột có biểu hiện mệt

môi, ít hoạt động, nằm yên, thờ đốc, cơ giật và chết trong vòng 50 đến 120 phút sau khi uống thuốc, một số có biểu hiện đi ngoài, mổ quan sát nội tạng thấy không có gì bất thường; 90% chuột hoạt động bình thường. Với liều 9,6 mlcao/kg 100% chuột hoạt động bình thường, ăn uống tốt sau khi uống mẫu thử

Từ kết quả thí nghiệm, tính được liều độc gây chết 50% số động vật thí nghiệm (LD_{50}) của cao lỏng Thạch học tia là:

$LD_{50} = LD_{100} \cdot [\sum (d \times z)] \times 1/n = 18,5$ mlcao/kg tương đương với 300 g thân tươi/kg thể trọng chuột hoặc 59,3 g thân khô/kg thể trọng chuột. So với liều trung bình đang được người dân sử dụng là 6 g tươi ($\times 20g/thân$)/ngày hay 1g tươi/kg thể trọng tương đương với liều dùng trên chuột nhắt trắng là 12g tươi/kg thể trọng chuột, thì liều LD_{50} này cao gấp 25,56 lần. Điều này cho thấy giữa liều dùng và liều độc có khoảng an toàn khá rộng.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Đã nghiên cứu xác định được hàm lượng nước, nưô, lipid, khoáng, đường khử, đường tổng, carotenoid, photpho, alkaloid, polysaccharide và axit amin trong cây Thạch học tia.

Đã tiến hành thử độc tính cấp với sản phẩm cao lỏng của Thạch học tia trên chuột thí nghiệm. Kết quả bước đầu đánh giá được mức độ an toàn của sản phẩm với người dùng ở $LD_{50} = 18,5$ mlcao/kg.

SUMMARY

STUDY ON CHEMICAL COMPOSITION AND THE ACUTE TOXICITY OF *DENDROBIUM OFFICINALE*

Nguyễn Thị Duyên*, Vu Thị Anh
Institute of Life Science - TNU

Research has identified 7 organic compounds in *Dendrobium officinale* as alkaloids, flavonoids, organic acids, carotenoids, amino acids, sugars, and fats. In 100g fresh, the content of water, nitrogen, lipids, minerals, reducing sugar, total sugar, phosphorus, carotene, caffeine, polysaccharide, alkaloid is 80.22, 0.215, 0.051, 0.748, 0.575; 0.971, 0.045, 9.15; 23.23, 0.025 g. Initial results of the safety evaluation of the product from *Dendrobium officinale* for users are $LD_{50} = 18.5$ ml

Keywords: *Dendrobium officinale*, medicines, *Dendrobium*, chemical composition, toxicity

Ngày nhận bài: 21/02/2017; Ngày phản biện: 06/3/2017; Ngày duyệt đăng: 31/5/2017

* Tel: 0977 008861, Email: nguyenduyen2071987@gmail.com

Kiến nghị

Cần mở rộng nghiên cứu sâu hơn về các thành phần hóa học đặc trưng của Thạch học tia đồng thời tiến hành thử nghiệm độc tính bán trường diễn với các sản phẩm từ Thạch học tia để có kết luận chính xác hơn về mức độ an toàn khi sử dụng cao lỏng Thạch học tia trong thời gian dài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đạt Anh và cs (2012). *Các xét nghiệm thường quy*, Nxb Y học, Hà Nội
2. Bộ Y tế, Quy chế đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền, Quyết định số 371/BYT-QĐ ngày 12/3/1996
3. Dược điển Việt Nam IV
4. Bùi Thanh Hà (2015), "Nghiên cứu độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của bài thuốc HA-02 trên động vật thực nghiệm", *Tạp chí Y- dược học quân sự*, số 4-2015
5. Đoàn Thị Nhu, Đỗ Trung Đàm, Phạm Duy Mai, Nguyễn Thượng Đông, Nguyễn Thị Thu Hương (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nxb Khoa học kỹ thuật Hà Nội.
6. Phạm Văn Vương (2010), *Nghiên cứu thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Đơn lam (Bidens pilosa L., Asteraceae)*, Luận văn thạc sĩ Dược học, Học viện Quân y
7. Nguyễn Thanh Thuận (2015), "Giá trị dược liệu của cây lan thạch học tia (*Dendrobium officinale*)", *Tạp chí Đại học Thủ Dầu Một*, số 6 (25)
8. Zhang, G.Y, et al. (2015), "Study on *Dendrobium officinale* O-Acetyl-glucmannan (*Dendronan*) Improving Effects on Colonic Health of Mice", *J Agric Food Chem*