

NGHIÊN CỨU CÁC SAPONIN TRITERPENOID CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA MỘT SỐ CÂY THUỐC VIỆT NAM

PHAN QUỐC KINH, BÙI THỊ MINH GIANG
Cục An toàn vệ sinh thực phẩm

Tóm tắt:

Trong đề tài này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu về chiết xuất và xác định các saponin triterpenoid của 4 cây thuốc Việt Nam là: lá đĩnh lăng lá xẻ (*Polyscias fruticosa*) có 2,59%; đĩnh lăng lá tròn (*Polyscias balfouriana*), lá có 4,95%, rễ có 1,37%; thân rễ Tiên mao lá to (*Curculigo glaucilis*) có 4,79%; thân rễ tiên mao lá nhỏ (*Curculigo orchioides*) có 2,17% saponin. Kết quả nghiên cứu cho thấy trong tất cả các dược liệu trên đều có chứa saponin thuộc nhóm triterpenoid. Và chúng tôi đã tiến hành thử hoạt tính sinh học của cao cồn saponin của 3 dược liệu là: lá đĩnh lăng lá tròn, thân rễ tiên mao lá to và thân rễ tiên mao lá nhỏ. Qua kết quả thử hoạt tính thì cao saponin thân rễ tiên mao lá nhỏ có tác dụng làm tăng trọng lượng cơ thể chuột là mạnh nhất 43,06%, cao saponin lá đĩnh lăng lá tròn có tác dụng tăng lực của chuột là cao nhất 207,6%, cao cồn thân rễ tiên mao lá to có hoạt tính sinh dục nam mạnh nhất với biểu hiện là cao này làm tăng trọng lượng tinh hoàn 150,2% và tuyến tiền liệt 200%, tất cả đều được so với đối chứng.

STUDYING SAPONIN TRITERPENOID WITH BIO ACTIVE OF SOME MEDICINAL PLANTS IN VIET NAM

Abstract:

We have studied on the extraction and indentification of triterpenoid saponins of four medicinal plants in Vietnam: *Polyscias fruticosa* (L) Harm, the leaves containing 2,59% saponins; *Pofyscias balfouriana* Bailey, the leaves of which containing 4,95% and the roots of which containing 1,37%; *Curculigo glaucilis*, the tuber containing 4,79%; *Curculigo orchioides* Gaertn, the tuber containing 2,17% saponin. We have determinated that these isolated four plants have saponins of the group triterpenoid. We have studied on biological activity of three extracts: leaves of *Polyscias balfouriana*, *Rhizoma Curculiginis* gaertn, and *Rhizoma Curculiginis* gracilis. The active results of the extracts showed that *Rhizoma Curculiginis* gaertn containing saponins has the strongest activity for enhancing of body weight of mice, 43,06%; extract of leaves of *Polyscias balfouriana* has the highest activity for bio-stimulation of mice, is 207,6%, and extract of *Rhizoma Curculiginis* gracilis has the most androgene activity with expression the weight of Testis to 150,2% and of Prostate gland 200% in comparison with standard experiment.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các chất bổ sung dinh dưỡng (thực phẩm chức năng) đã được xác định là các sản phẩm có tác dụng hiệu lực bổ sung, điều chỉnh, nâng cao các hoạt động chức năng của

cơ thể mà mục đích là giúp cơ thể nâng cao khả năng miễn dịch, tăng sức đề kháng, tăng sinh lực.

Nguồn nguyên liệu để sản xuất các sản phẩm bổ sung dinh dưỡng đa phần là các sản phẩm từ thiên nhiên như các cây cỏ, động vật. Việt Nam là một nước nhiệt đới vì vậy có hệ động thực vật rất phong phú và đa dạng, trong đó có nhiều loại đặc hữu có nhiều tiềm năng để tham gia vào việc sản xuất các sản phẩm bổ sung dinh dưỡng.

Trong nhóm các sản phẩm bổ sung dinh dưỡng hiện nay thì nhóm sản phẩm thích nghi sinh học được sử dụng rất nhiều. Thành phần chủ yếu của nhóm này là các saponin, alkaloid, flavonoid, steroid... mà trong đó nhóm saponin được sử dụng nhiều nhất là nhóm saponin triterpenoid. Các saponin triterpenoid này có tác dụng bổ, tăng lực, tăng khả năng miễn dịch và tăng thích nghi sinh học. Xuất phát từ những vấn đề trên chúng tôi đã chọn nghiên cứu đề tài: “*Nghiên cứu các saponin triterpenoid có hoạt tính sinh học của một số cây thuốc Việt Nam*” nhằm đưa ra cơ sở cho việc tiếp cận và ứng dụng hoạt chất này trong sản xuất một số sản phẩm thực phẩm chức năng để đáp ứng nhu cầu tăng cường sức khoẻ cho cộng đồng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Đinh lăng lá xẻ (lá): *Polyscias fruticosa*;
- Đinh lăng lá tròn (lá): *Polyscias balfouriana*.
- Tiên mao lá to: thân rễ (*Curculigo glacialis* Hook.f)
- Tiên mao lá nhỏ: thân rễ (*Curculigo orchioides* Gaertn)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp chiết cao cồn saponin

Trong đề tài sử dụng dung môi là cồn 40^o, chiết bằng phương pháp ngâm kiệt.

b. Phương pháp chiết cao saponin toàn phần

Từ cao cồn saponin thu được, tiến hành chiết nóng bằng n-butanol hai lần.

c. Định tính xác định các saponin

- Phản ứng tạo bọt
- Phản ứng tạo màu: là phản ứng Lieberman Buchard

d. Phương pháp sắc kí

- Phương pháp sắc kí lỏng cao áp (HPLC)

2.3. Nghiên cứu một số hoạt tính sinh học của các saponin triterpenoid

a. Đối tượng nghiên cứu

Động vật thí nghiệm là chuột nhắt trắng, giống đực trưởng thành, khoẻ mạnh, trọng lượng trung bình 20,5g ± 2g.

b. Các chỉ tiêu nghiên cứu

- Chỉ tiêu tăng trọng lượng chuột thí nghiệm.
- Chỉ tiêu tăng sinh lực chuột thí nghiệm.
- Chỉ tiêu tăng hoạt tính sinh dục đực.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chiết cao saponin toàn phần

3.1.1. Chiết cao saponin toàn phần bằng dung môi cồn

- Chiết bằng phương pháp ngâm kiệt, dịch chiết thu theo với tỉ lệ 1:8
- Từ 100g bột nguyên liệu khô của các dược liệu trên thu được kết quả như sau:

Bảng 1. Kết quả chiết cao cồn saponin từ 100g bột dược liệu

TT	Dược liệu	% cao cồn saponin thu được
1	Lá đinh lăng lá xẻ	21,4
2	Thân rễ tiên mao lá nhỏ	21,7
3	Lá đinh lăng lá tròn	35,9
4	Thân rễ tiên mao lá to	36,3

* *Kết luận:* Trong các nguyên liệu trên hàm lượng cao cồn saponin trong thân rễ tiên mao lá to là cao nhất với 36,3% và nhỏ nhất là lá đinh lăng lá xẻ là 21,4%.

3.1.2. Quy trình chiết cao saponin toàn phần bằng dung môi n-butanol

- Chiết cao thô saponin bằng n-butanol hai lần ở nhiệt độ 100°C có sinh hàn và khuấy từ. Thu được cao có chứa saponin và được gọi là cao saponin toàn phần và thu được kết quả:

Bảng 2. Kết quả chiết cao saponin toàn phần từ 100g bột dược liệu

STT	Dược liệu	Lượng cao cồn saponin thu được (%)	Lượng cao saponin toàn phần thu được (%)
1	Thân rễ tiên mao lá nhỏ	21,7	2,17
2	Lá đinh lăng lá xẻ	22,2	2,6
3	Thân rễ tiên mao lá to	35,9	4,8
4	Lá đinh lăng lá tròn	36,3	4,95

Kết luận: Hàm lượng cao saponin toàn phần trong lá đinh lăng lá tròn có hàm lượng là cao nhất với 4,95% và nhỏ nhất là thân rễ tiên mao lá nhỏ 2,17%.

3.1.3. Định tính các chất saponin trong các dược liệu

a. Thí nghiệm tạo bọt

- Xác định sự có mặt của saponin: Từ bột dược liệu lấy 0,5g bột cho ống nghiệm thêm 5ml nước cất, lắc mạnh theo chiều dài ống nghiệm trong 1 phút. Bọt tạo thành bền trong vòng 15 phút thì chứng tỏ rằng trong dược liệu có chứa saponin.

- Xác định loại saponin: Làm 2 thí nghiệm tạo bọt ở môi trường axit (HCl) và môi trường kiềm (NaOH). Trong môi trường axit saponin triterpenoid tạo bọt bền và tạo bọt không bền ở môi trường kiềm.

- Kết quả thu được:

Bảng 3. Kết quả thí nghiệm tạo bọt của cao cồn saponin các dược liệu

TT	Dược liệu	Kết quả tạo bọt trong H ₂ O (bến 15 phút)	Kết quả tạo bọt ở môi trường	
			HCl 0,1N (bọt bền)	NaOH 0,1N (bọt không bền)
1	Lá đinh lăng lá xẻ	+	+	+
2	Lá đinh lăng lá tròn	+	+	+
3	Thân rễ tiên mao lá to	+	+	+
4	Thân rễ tiên mao lá nhỏ	+	+	+

Dấu (+): phản ứng có xảy ra

*** Kết luận:**

- Trong môi trường nước thì bọt của các dược liệu đã tạo bọt rất mạnh và có độ bền bọt cao khoảng 15 phút trở lên. Như vậy xác định rằng trong các dược liệu trên đều có chứa saponin.

- Trong môi trường axit và môi trường kiềm thì cao cồn saponin của tất cả các dược liệu đều tạo bọt và ở môi trường axit (HCl) thì bọt tạo thành có độ bền rất cao, còn trong môi trường kiềm (NaOH) thì bọt tạo thành có độ bền thấp. Vậy có thể xác định các saponin có trong tất cả các dược liệu trên đều thuộc nhóm triterpenoid.

b. Phản ứng tạo màu (phản ứng Liebermann-Burchard)

- Theo lý thuyết nếu là saponin triterpenoid thì phản ứng sẽ cho màu nâu đỏ, còn nếu là saponin steroid phản ứng sẽ cho màu xanh lá cây.

- Tiến hành phản ứng:



1 2 3 4

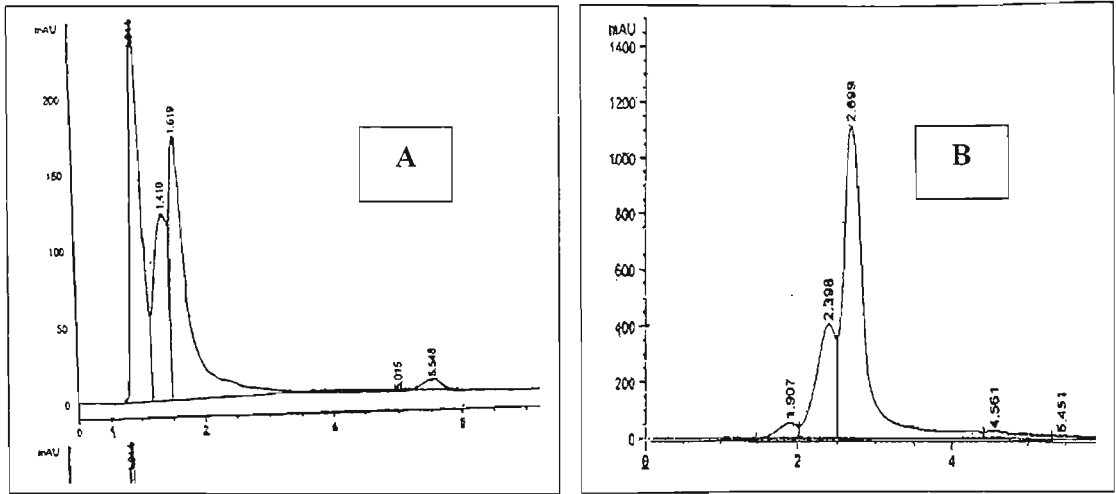
- 1: Lá đinh lăng lá xẻ
- 2: Lá đinh lăng lá tròn
- 3: Thân rễ tiên mao lá to
- 4: Thân rễ tiên mao lá nhỏ

Hình 1. Phản ứng tạo màu của các saponin

*** Kết luận:** Sau khi phản ứng xảy ra cho dung dịch có màu nâu đỏ và có hiện tượng tỏa nhiệt mạnh. Như vậy ta có thể xác định được rằng các saponin chiết được trong các dược liệu trên là saponin triterpenoid.

3.1.4. Kết quả phân tích saponin triterpenoid bằng sắc kí lỏng cao áp (HPLC)

Trong điều kiện cho phép chúng tôi chỉ chạy sắc kí với một số dược liệu là: Các saponin toàn phần của lá đỉnh lăng lá xẻ, lá đỉnh lăng lá tròn.



Hình 2. Sắc kí đồ HPLC các saponin của lá đỉnh lăng lá xẻ (A) và lá đỉnh lăng lá tròn (B)

Kết luận:

- Trên sắc kí đồ HPLC hình 2A của lá đỉnh lăng lá xẻ có 4 đỉnh là 1.014; 1.410; 1.619; 5.548, nghĩa là trong thành phần của lá đỉnh lăng lá xẻ có 4 chất saponin triterpenoid khác nhau.

- Trên sắc kí đồ HPLC hình 2B của lá đỉnh lăng lá tròn thấy rằng có 3 đỉnh chính là 1.907; 2.398; 2.699, nghĩa là trong thành phần của lá đỉnh lăng lá tròn có 3 chất saponin triterpenoid khác nhau.

3.2. Nghiên cứu một số hoạt tính sinh học của các saponin triterpenoid

- Với 4 loại cây dược liệu được chúng tôi đề cập đến ở trên thì chúng tôi đi sâu nghiên cứu vào 3 loại dược liệu đó là: cao cồn saponin của lá đỉnh lăng lá tròn, thân rễ tiên mao lá to và thân rễ tiên mao lá nhỏ.

- Động vật thí nghiệm chia làm 4 nhóm:

+ Nhóm I: Đối chứng (uống nước muối sinh lý (NaCl 0,9%))

+ Nhóm II: Uống cao thân rễ tiên mao lá to (*Curculigo glaucilis*).

+ Nhóm III: Uống cao thân rễ tiên mao lá nhỏ (*Curculigo orchoides*)

+ Nhóm IV: Uống cao lá đỉnh lăng lá tròn (*Polyscias balfouriana*)

- Cao cồn saponin của 3 dược liệu trên được hoà tan vào nước cất theo tỉ lệ 1g cao/10ml nước cất (tỉ lệ 10%) và được bảo quản trong tủ lạnh.

- Các nhóm được uống thuốc vào buổi sáng, thời gian dùng thuốc và theo dõi trong 2 tuần, tỉ lệ uống là 1mg cao/1g thể trọng chuột.

3.2.1. Ảnh hưởng của cao côn dược liệu đến trọng lượng cơ thể chuột

Bảng 4. Ảnh hưởng của cao côn saponin đến trọng lượng chuột thí nghiệm

STT	Dược liệu (cao côn saponin)	Khối lượng trung bình /1 con ban đầu (g)	Khối lượng trung bình/1 con sau khi uống cao (g)	Khối lượng trung bình/1 con tăng lên (g)	% khối lượng trung bình chuột tăng lên
1	Đối chứng	20,8	26,2	5,4	25,96
2	Thân rễ tiên mao lá to	20,0	25,6	5,6	28,0
3	Lá đinh lăng lá tròn	20,5	29,3	8,8	42,93
4	Thân rễ tiên mao lá nhỏ	20,9	29,9	9	43,06

Kết luận: Cao côn của thân rễ tiên mao lá nhỏ làm tăng trọng lượng chuột cao nhất 43,06% so với trọng lượng ban đầu.

3.2.2. Ảnh hưởng của cao côn đến sinh lực chuột thí nghiệm

- Chuột thí nghiệm được cho bơi trong thùng nước có đường kính 40cm, cao 70cm và mực nước trong thùng là 50cm. Tính thời gian chuột bơi gắng sức đến chết.

Bảng 5. Ảnh hưởng cao côn saponin đến sinh lực chuột thí nghiệm

STT	Dược liệu (Cao côn saponin)	Thời gian bơi trung bình của 1 con chuột (phút)	% thời gian bơi trung bình của 1 con so đối chứng
1	Đối chứng	254,5	100
2	Thân rễ tiên mao lá nhỏ	308,4	121,2
3	Thân rễ tiên mao lá to	445,7	175,1
4	Lá đinh lăng lá tròn	528,4	207,6

Kết luận: Cao côn saponin của lá đinh lăng lá tròn làm cho chuột có thời gian bơi gắng sức là cao nhất 528,4 phút/con chuột. Và so với lô đối chứng thì thời gian bơi hết sức của một con chuột ở lô uống cao lá đinh lăng lá tròn tăng 219,7%.

3.2.3. Ảnh hưởng của cao côn saponin lên cơ quan sinh dục chuột thí nghiệm (tinh hoàn và tuyến tiền liệt)

Chuột sau khi thí nghiệm được giết bằng phương pháp cắt đầu nhanh và được mổ lấy gan (quan sát cảm quan), tinh hoàn và tuyến tiền liệt, sau đó cân xác định trọng lượng của tinh hoàn và tuyến tiền liệt.

Bảng 6. Ảnh hưởng của cao côn saponin lên cơ quan sinh dục chuột thí nghiệm

STT	Dược liệu (cao côn saponin)	Khối lượng trung bình tinh hoàn (g)	Khối lượng trung bình tuyến tiền liệt (g)	% khối lượng trung bình tinh hoàn so đối chứng	% khối lượng trung bình tuyến tiền liệt so đối chứng
1	Đối chứng	0,05	0,005	100	100
2	Thân rễ tiên mao lá nhỏ	0,062	0,008	124	160
3	Lá đỉnh lăng lá tròn	0,067	0,01	134	200
4	Thân rễ tiên mao lá to	0,075	0,011	150,2	220

Kết luận: Cao côn saponin của thân rễ tiên mao lá to cho trọng lượng trung bình tinh hoàn 0,075g và trọng lượng trung bình của tuyến tiền liệt 0,011g là cao nhất.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Trong thời gian từ tháng 12-2005 đến 9-2006, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu về các saponin triterpenoid trong một số cây thuốc Việt Nam: đỉnh lăng lá xẻ, đỉnh lăng lá tròn, tiên mao lá to, tiên mao lá nhỏ và đã thu được một số kết quả sau.

1. Kết quả nghiên cứu saponin triterpenoid tương ứng trong các dược liệu

Lá đỉnh lăng lá tròn 4,95%; thân rễ tiên mao lá to 4,8%; lá đỉnh lăng lá xẻ 2,6%; thân rễ tiên mao lá nhỏ: 2,17%.

2. Phân tích định tính bằng các thí nghiệm tạo bọt, phản ứng tạo màu đặc trưng khẳng định được sự có mặt của saponin triterpenoid trong tất cả các dược liệu.

3. Phân tích bằng sắc kí lỏng cao áp với 3 mẫu saponin toàn phần của lá đỉnh lăng lá xẻ, lá đỉnh lăng lá tròn chúng tôi đã xác định được:

- Trong lá đỉnh lăng lá xẻ có 4 chất saponin triterpenoid khác nhau.

- Trong lá đỉnh lăng lá tròn có 3 chất saponin triterpenoid khác nhau.

4. Về kết quả nghiên cứu hoạt tính sinh học của các saponin triterpenoid có trong các dược liệu

- Cao côn thân rễ tiên mao lá nhỏ có tác dụng làm tăng trọng lượng cơ thể chuột là mạnh nhất tăng 43,06% so với đối chứng.

- Cao côn lá đỉnh lăng lá tròn có tác dụng tăng lực (thời gian bơi gắng sức) của chuột là cao nhất với thời gian bơi gắng sức tăng 207,6% so với đối chứng.

- Cao côn thân rễ tiên mao lá to có hoạt tính androgen (hoạt tính sinh dục nam) cao nhất với biểu hiện là cao này làm tăng trọng lượng tinh hoàn và tuyến tiền liệt cao nhất với 150,2% (trọng lượng tinh hoàn) và 200% (trọng lượng tuyến tiền liệt) so với đối chứng.

4.2. Kiến nghị

Một số kết quả của nghiên cứu này đã góp phần vào việc nghiên cứu sản xuất sản phẩm bổ sung dinh dưỡng Dinta có tác dụng tăng sinh lực (thành phần có chứa cao lá đỉnh

lăng lá xẻ và cao tạt lè) đã được Bộ Y tế cho phép sử dụng trong toàn quốc có tác dụng mạnh gân cốt, chống mệt mỏi, do Phân viện CNM - BVMT - Bộ Quốc phòng nghiên cứu phối hợp với Xí nghiệp Dược phẩm TW25-Thành phố Hồ Chí Minh.

Các kết quả nghiên cứu về thành phần và hoạt tính sinh học của các saponin triterpenoid của lá đỉnh lăng lá tròn, thân rễ tiên mao lá to là những vấn đề mới mà chưa có tài liệu nào đề cập đến, hy vọng rằng nếu hướng nghiên cứu này được hoàn thiện tiếp theo thì có thể cung cấp thêm nguồn nguyên liệu mới cho việc sản xuất các sản phẩm thực phẩm chức năng và thuốc ở nước ta trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Võ Văn Chi (2004), Từ điển thực vật thông dụng, tập 1-2, NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội.*
2. *Phan Quốc Kinh (2001), Các chất bổ sung dinh dưỡng - Ngành khoa học công nghệ mới của thế kỷ 21, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.*
3. *Đỗ Tất Lợi (1999), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Y học, Hà Nội.*
4. *Kurt Hostetmann (1995), Saponin, London.*
5. *Yamasky.K (1996), Saponin used in food and Agriculture, Plenum Press, New York.*
6. *Curculigo.pdf*
7. *Polyscias - Ming Aralias.htm*
8. *Saponin - Wikipedia tiếng Việt.htm*