

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
CHƯƠNG TRÌNH KHCN CẤP QUỐC GIA GIAI ĐOẠN 2016-2020
“Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên
trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế”**

(Chương trình Tây Nguyên 2016-2020)

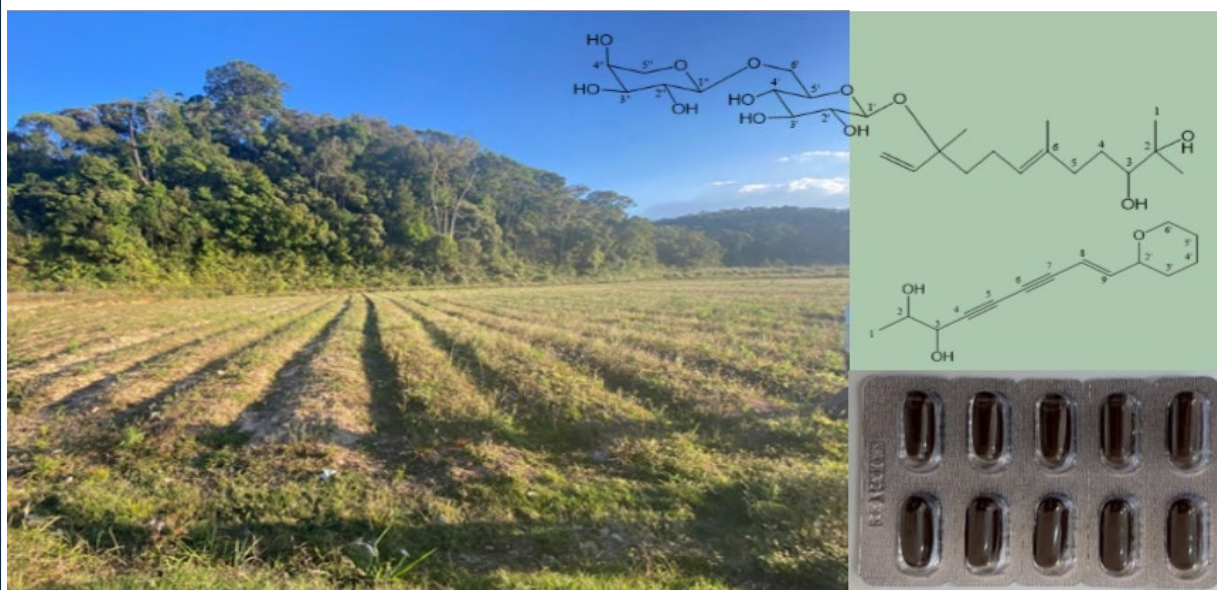
BÁO CÁO TỔNG HỢP
KẾT QUẢ ĐỀ TÀI KHOA HỌC CÔNG NGHỆ CẤP QUỐC GIA

**NGHIÊN CỨU BẢO TỒN VÀ PHÁT TRIỂN MỘT SỐ LOÀI
DƯỢC LIỆU CHỦ LỰC CỦA TÂY NGUYÊN, TẠO RA MỘT
SỐ SẢN PHẨM CÓ GIÁ TRỊ CAO TỪ MỘT VÀI LOÀI DƯỢC
LIỆU CHỦ LỰC, BẢN ĐỊA QUÝ HIẾM CỦA TÂY NGUYÊN
MÃ SỐ: TN18/C09 (2018-2021)**

Chủ nhiệm đề tài: TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan

Cơ quan chủ trì: Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam



LÂM ĐỒNG – 2021


VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
CHƯƠNG TRÌNH KHCN CẤP QUỐC GIA GIAI ĐOẠN 2016-2020
“Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên
trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế”

(Chương trình Tây Nguyên 2016-2020)

BÁO CÁO TỔNG HỢP
KẾT QUẢ ĐỀ TÀI KHOA HỌC CÔNG NGHỆ CẤP QUỐC GIA

NGHIÊN CỨU BẢO TỒN VÀ PHÁT TRIỂN MỘT SỐ LOÀI
DƯỢC LIỆU CHỦ LỰC CỦA TÂY NGUYÊN, TẠO RA MỘT
SỐ SẢN PHẨM CÓ GIÁ TRỊ CAO TỪ MỘT VÀI LOÀI DƯỢC
LIỆU CHỦ LỰC, BẢN ĐỊA QUÝ HIẾM CỦA TÂY NGUYÊN
MÃ SỐ: TN18/C09 (2018-2021)

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI



TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan

VIỆN NGHIÊN CỨU

KHOA HỌC TÂY NGUYÊN



PHÓ VIỆN TRƯỞNG: Nông Văn Duy

CHƯƠNG TRÌNH TÂY NGUYÊN
2016-2020

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

LÂM ĐỒNG - 2021

Lâm Đồng, ngày 20 tháng 03 năm 2021

BÁO CÁO THỐNG KÊ KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. THÔNG TIN CHUNG

1. Tên đề tài:

Nghiên cứu bảo tồn và phát triển một số loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên, tạo ra một số sản phẩm có giá trị cao từ một vài loài dược liệu chủ lực, bản địa quý hiếm của Tây Nguyên. Mã số đề tài: TN18/C09

Thuộc: Chương trình: Khoa học và Công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế. Mã số KH-CN-TN/16-20.

2. Chủ nhiệm đề tài:

Họ và tên: Nguyễn Hữu Toàn Phan

Ngày, tháng, năm sinh: 01-11-1966

Giới tính: Nam

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Chức danh khoa học: Nghiên cứu viên chính

Chức vụ: Viện trưởng

Điện thoại: Tổ chức: 0263.3822078

Nhà riêng: 0263.3831888

Mobile: 091.9066777

Fax: 0263.3831028

E-mail: nhtphan@gmail.com

Tên tổ chức đang công tác: Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên

Địa chỉ tổ chức: 116 Xô Viết Nghệ Tĩnh, Đà Lạt, Lâm Đồng

Địa chỉ nhà riêng: 118 Hai Bà Trưng, Đà Lạt, Lâm Đồng

3. Tổ chức chủ trì đề tài:

Tên tổ chức chủ trì đề tài: Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên

Điện thoại: 0263.3822078

Fax: 0263.3831028

E-mail: vanthu@tni.vast.vn

Website: tni.ac.vn

Địa chỉ: 116 Xô Viết Nghệ Tĩnh, Đà Lạt, Lâm Đồng

Họ và tên thủ trưởng tổ chức: TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan

Số tài khoản: 3713.0.1056880.00000

Ngân hàng: Kho bạc Nhà nước tỉnh Lâm Đồng

Tên cơ quan chủ quản đề tài: Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

II. TÌNH HÌNH THỰC HIỆN

1. Thời gian thực hiện đề tài:

- Theo Hợp đồng đã ký kết: từ tháng 07 năm 2018 đến tháng 12 năm 2020
- Được gia hạn:
 - + Lần 1 từ tháng 11 năm 2020 đến tháng 03 năm 2021
- Thực tế thực hiện: từ tháng 07 năm 2018 đến tháng 03 năm 2021

2. Kinh phí và sử dụng kinh phí:

a) Tổng số kinh phí thực hiện: 8.230 tr.đ, trong đó:

+ Kinh phí hỗ trợ từ SNKH: 8.230 tr.đ.

+ Kinh phí từ các nguồn khác: 0 tr.đ.

b) Tình hình cấp và sử dụng kinh phí từ nguồn SNKH:

Số TT	Theo kế hoạch		Thực tế đạt được		Ghi chú (Số đề nghị quyết toán)
	Thời gian (Tháng, năm)	Kinh phí (Tr.đ)	Thời gian (Tháng, năm)	Kinh phí (Tr.đ)	
1	07/2018	200	07/2018	200	
2	10/2018	1.300	10/2018	1.300	119,484
3	07/2019	3.250	07/2019	3.250	1.229,1592
4	06/2020	3.480	06/2020	3.480	2.864,2275
5			12/2020		1.962,998275
6			03/2021		1.913,266363

c) Kết quả sử dụng kinh phí theo các khoản chi:

Đối với đề tài:

Đơn vị tính: Triệu đồng

Số TT	Nội dung các khoản chi	Theo kế hoạch			Thực tế đạt được		
		Tổng	SNKH	Nguồn khác	Tổng	SNKH	Nguồn khác
1	Trả công lao động (khoa học, phổ thông)	3.400,007	3.400,007		3.400,007	3.400,007	
2	Nguyên, vật liệu, năng lượng	2.878,11	2.878,11		2.645,321675	2.645,321675	
3	Thiết bị, máy móc	928,926	928,926		879,985	879,985	
4	Xây dựng, sửa chữa nhỏ						
5	Chi khác	1,022,957	1,022,957		1.015,216	1.015,216	
	Tổng cộng	8.230	8.230		8.089,135338	8.089,135338	

- Lý do thay đổi (nếu có):

+ Kinh phí dư ra sau đấu thầu hóa chất, thiết bị

+ Mua vé máy bay giá rẻ

3. Các văn bản hành chính trong quá trình thực hiện đề tài:

(Liệt kê các quyết định, văn bản của cơ quan quản lý từ công đoạn xác định nhiệm vụ, xét chọn, phê duyệt kinh phí, hợp đồng, điều chỉnh (thời gian, nội dung, kinh phí thực hiện... nếu có); văn bản của tổ chức chủ trì đề tài, dự án (đơn, kiến nghị điều chỉnh ... nếu có)

Số TT	Số, thời gian ban hành văn bản	Tên văn bản	Ghi chú
1	1966/QĐ-VHL ngày 27/09/2017	Quyết định về việc Phê duyệt Danh mục nhiệm vụ khoa học và công nghệ đặt hàng cấp quốc gia thuộc chương trình khoa học và công nghệ cấp quốc gia giai đoạn 2016-2020 “ <i>Khoa học và Công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế</i> ”. Mã số: KHCN-TN/16-20 (Chương trình Tây Nguyên 2016-2020).	
2	30/QĐ-VHL ngày 08/01/2018	Quyết định về việc Phê duyệt Hội đồng tư vấn tuyển chọn tổ chức và thực hiện đề tài KH&CN cấp Quốc gia thuộc Chương trình Tây Nguyên 2016-2020 bắt đầu thực hiện từ năm 2018. Lĩnh vực Khoa học công nghệ.	
3	486/QĐ-VHL ngày 30/3/2018	Quyết định về việc phê duyệt tổ chức chủ trì và cá nhân chủ nhiệm, kinh phí, phương thức khoán chi và thời gian thực hiện các đề tài khoa học và công nghệ cấp quốc gia thuộc Chương trình Tây Nguyên 2016 – 2020 bắt đầu thực hiện từ năm 2018	Đề tài TN18/C09
4	1975/QĐ-VHL ngày 25/11/2020	Quyết định gia hạn thời gian thực hiện đề tài mã số TN18/C09 thuộc Chương trình Tây Nguyên 2016-2020	Gia hạn đến hết tháng 3/2021

4. Tổ chức phối hợp thực hiện đề tài:

Số TT	Tên tổ chức đăng ký theo Thuyết minh	Tên tổ chức đã tham gia thực hiện	Nội dung tham gia chủ yếu	Sản phẩm chủ yếu đạt được	Ghi chú*
1	Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên	Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên	- Xây dựng Danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên.	- Xây dựng được danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên với 22 loài dược liệu kèm theo dữ liệu về khả năng sử dụng và tiềm năng phát triển của chúng.	

			<ul style="list-style-type: none"> - Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu - Xây dựng mô hình trồng 6 loài dược liệu - Hoàn thiện công nghệ và tạo ra một số sản phẩm có chất lượng cao - Bảo tồn và phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao ở Tây Nguyên. 	<ul style="list-style-type: none"> - Nghiên cứu sâu về thành phần hóa học của 06 loài dược liệu, trong đó 04 loài trong danh mục dược liệu chủ lực (sâm cau, đương quy Trung Quốc, đương quy Nhật Bản, đinh lăng) và 02 loài cần bảo tồn, phát triển (xoan nhừ, củong hiệp), đã phân lập và xác định cấu trúc hợp chất với đầy đủ các số liệu phổ NMR và MS. Đã chọn 10 chất chỉ thị và xây dựng các phương pháp phân tích tương ứng. - Xây dựng, hoàn thiện 06 Quy trình trồng trọt, 06 Quy trình thu hoạch và 06 Quy trình bảo quản. - Xây dựng 05 Mô hình trồng 5 loài dược liệu (2-3 ha/loài) có năng suất cao, chất lượng dược liệu tốt đáp ứng làm nguyên liệu cho chế biến, làm cơ sở cho xây dựng, phát triển các vùng dược liệu ở quy mô lớn cho khu vực Tây Nguyên. - Xây dựng được quy trình nhân giống 02 loài có triển vọng (Lan gấm, Tam thất) và phương án bảo tồn nguồn gen dược liệu ở Tây Nguyên. 	
2	Viện Hóa sinh biển	Viện Hóa sinh biển	<ul style="list-style-type: none"> Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực. 	<ul style="list-style-type: none"> Nghiên cứu về thành phần hóa học của 3 loài dược liệu trong danh mục dược liệu chủ lực (atiso, sa nhân tím, đảng sâm) và đã phân lập và xác định cấu trúc hợp chất với đầy đủ các số liệu phổ NMR và MS. 	
3	Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Công ty Cổ phần S.P.M., Công ty Cổ phần	Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Công ty Cổ phần S.P.M.	<ul style="list-style-type: none"> - Tạo chế phẩm thử nghiệm - Xây dựng bộ tiêu chuẩn, chất lượng và - Xây dựng hồ sơ công bố sản phẩm 	<ul style="list-style-type: none"> - Tạo 4 chế phẩm thử nghiệm: viên nang mềm đảng sâm TN, viên nang mềm sâm cau TN, viên nang mềm đương quy TN, và viên nang mềm đảng sâm – sâm cau TN - Xây dựng được 4 quy trình tạo thực phẩm chức năng - Xây dựng bộ tiêu chuẩn, chất lượng cho 4 sản phẩm 	

	Dược Lâm Đồng Ladophar		Sản xuất thử nghiệm sản phẩm	- Sản xuất thử nghiệm 14.400 viên nang mềm đẳng sâm TN, 10.000 viên nang mềm sâm cau TN, 10.000 viên nang mềm đương quy TN, và 5.000 viên nang mềm đẳng sâm - sâm cau TN, đảm bảo tiêu chuẩn theo quy định của Bộ Y tế và nộp hồ sơ đăng ký Giấy chứng nhận lưu hành.	
4		Viện Kiểm nghiệm Thuốc thành phố Hồ Chí Minh	Nghiên cứu độc tính cấp của chế phẩm và nghiên cứu độc tính bán trường diễn của chế phẩm	Đã nghiên cứu độc tính cấp của chế phẩm và nghiên cứu độc tính bán trường diễn của 4 chế phẩm cho kết quả an toàn khi sử dụng trên các đối tượng thí nghiệm.	Đầu thầu

- Lý do thay đổi:

+ Công ty Cổ phần Dược Lâm Đồng Ladophar không tham gia vì không đáp ứng các yêu cầu của thực phẩm chức năng theo đề nghị của đơn vị chủ trì.

5. Cá nhân tham gia thực hiện đề tài:

<i>Số TT</i>	<i>Tên cá nhân đăng ký theo Thuyết minh</i>	<i>Tên cá nhân đã tham gia thực hiện</i>	<i>Nội dung tham gia chính</i>	<i>Sản phẩm chủ yếu đạt được</i>	<i>Ghi chú *</i>
1	TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan	TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan	Chủ nhiệm đề tài, chịu trách nhiệm chung về các nội dung của đề tài	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng được danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên với 22 loài dược liệu kèm theo dữ liệu về khả năng sử dụng và tiềm năng phát triển của chúng - Xây dựng, hoàn thiện 06 Quy trình trồng trọt, 06 Quy trình thu hoạch và 06 Quy trình bảo quản. - Xác định cấu trúc các hợp chất - Xác định các chất chỉ thị chính cho mỗi loài dược liệu - Lựa chọn được các địa điểm đặt mô hình - Hoàn thiện 05 Mô hình trồng 5 loài dược liệu (2-3 ha/loài) - Chịu trách nhiệm chung về các nội dung của đề tài 	

				- Báo cáo tổng kết	
2	ThS. Nguyễn Thị Thu Hiền	ThS. Nguyễn Thị Thu Hiền	<ul style="list-style-type: none"> - Thư ký, tổng hợp tình hình thực hiện - Xây dựng Danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên - Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học một số loài dược liệu chủ lực - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu - Tạo chế phẩm thử nghiệm 	<ul style="list-style-type: none"> - Thư ký, tổng hợp tình hình thực hiện - Xây dựng Danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên - Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học 1 loài dược liệu chủ lực (đương quy) và loài <i>Aralia hiepiana</i> - Xây dựng, hoàn thiện 06 Quy trình trồng trọt, 06 Quy trình thu hoạch và 06 Quy trình bảo quản - Hoàn thiện 05 Mô hình trồng 5 loài dược liệu (2-3 ha/loài) - Tạo các cao chiết chế phẩm thử nghiệm 	
3	TS. Nguyễn Thị Diệu Thuần	TS. Nguyễn Thị Diệu Thuần	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng Danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên - Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực - Xây dựng mô hình trồng 6 loài dược liệu - Tạo chế phẩm thử nghiệm 	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng được danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên với 22 loài dược liệu kèm theo dữ liệu về khả năng sử dụng và tiềm năng phát triển của chúng - Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học 1 loài dược liệu chủ lực (sâm cau) - Xác định các chất chỉ thị chính cho mỗi loài dược liệu - Xây dựng phương pháp phân tích các chất chỉ thị - Xây dựng 05 Mô hình trồng 5 loài dược liệu (2-3 ha/loài) - Tạo các cao chiết chế phẩm thử nghiệm 	
4	ThS. Phạm Văn Huyền	ThS. Phạm Văn Huyền	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng Danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên - Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực 	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng được danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên với 22 loài dược liệu kèm theo dữ liệu về khả năng sử dụng và tiềm năng phát triển của chúng - Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học 1 loài dược liệu chủ lực (đình lăng). 	

			<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu - Xây dựng mô hình trồng 6 loài dược liệu - Tạo chế phẩm thử nghiệm 	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng, hoàn thiện 06 Quy trình trồng trọt, 06 Quy trình thu hoạch và 06 Quy trình bảo quản. - Xây dựng 05 Mô hình trồng 5 loài dược liệu (2-3 ha/loài) - Tạo các cao chiết chế phẩm thử nghiệm 	
5	CN. Nguyễn Thị Hồng Nhung	ThS. Trần Thị Ngọc Hạnh	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu - Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực - Xây dựng mô hình trồng 6 loài dược liệu -Tạo chế phẩm thử nghiệm 	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu - Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học 1 loài dược liệu chủ lực (sâm cau) - Xây dựng 05 mô hình trồng 5 loài dược liệu (2-3 ha/loài) - Tạo các cao chiết chế phẩm thử nghiệm 	
6	CN. Nguyễn Thị Hoài Thanh	CN. Nguyễn Hữu Hương Duyên	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu - Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực - Xây dựng mô hình trồng 6 loài dược liệu -Tạo chế phẩm thử nghiệm 	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu - Xác định các chất chỉ thị chính cho mỗi loài dược liệu -Xây dựng phương pháp phân tích các chất chỉ thị - Tạo các cao chiết chế phẩm thử nghiệm - Xây dựng 05 mô hình trồng 5 loài dược liệu (2-3 ha/loài) 	
7	ThS. Đình Văn Khiêm	ThS. Đình Văn Khiêm	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu 	<ul style="list-style-type: none"> - Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu - Nhân giống 02 nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao 	

			- Nhân giống 02 nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao		
8	ThS. Phan Nhã Hòa	ThS. Phan Nhã Hòa	Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu	Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu	
9	ThS. Quách Văn Hợi	ThS. H'Yon Niê Bing	Nhân giống 01 nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	Nhân giống 01 nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	
10	TS. Vũ Quốc Luận	ThS. Đặng Thị Thắm	- Xây dựng vườn sản xuất cây giống - Nhân giống 01 nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	- Xây dựng vườn sản xuất cây giống - Nhân giống 01 nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	
11	TS. Nông Văn Duy	TS. Nông Văn Duy	- Xây dựng vườn sản xuất cây giống - Đề xuất phương án bảo tồn đối với một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao - Nhân giống 01 nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	- Xây dựng vườn sản xuất cây giống - Đề xuất phương án bảo tồn đối với một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao - Nhân giống 01 nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	
12	ThS. Vũ Kim Công	ThS. Vũ Kim Công	Xây dựng vườn sản xuất cây giống	Xây dựng vườn sản xuất cây giống	
13	TS. Lưu Hồng Trường	ThS. Trần Thái Vinh	Đề xuất phương án bảo tồn đối với một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	Đề xuất phương án bảo tồn đối với một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	
14	TS. Nguyễn Hoài Nam	TS. Nguyễn Hoài Nam	Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực	Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học 3 loài dược liệu chủ lực (đăng sâm, atiso, sa nhân tím)	
15	TS. Nguyễn	TS. Nguyễn	Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của	Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học 3 loài dược liệu	

	Xuân Cường	Xuân Cường	chúng ở một số loài dược liệu chủ lực	chủ lực (đăng sâm, atiso, sa nhân tím)	
16	TS. Nguyễn Hải Đăng	TS. Trần Hồng Quang	Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực	Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học 3 loài dược liệu chủ lực (đăng sâm, atiso, sa nhân tím)	
17	TS. Trần Thị Hồng Hạnh	TS. Trần Thị Hồng Hạnh	Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực	Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc hóa học 3 loài dược liệu chủ lực (đăng sâm, atiso, sa nhân tím)	
18	PGS. TSKH. Phạm Văn Cường	PGS. TSKH. Phạm Văn Cường	Nghiên cứu động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực	Nghiên cứu động thái của chúng ở 3 loài dược liệu chủ lực (đăng sâm, atiso, sa nhân tím)	
19	TS. Lê Thị Thanh Trân	TS. Lê Thị Thanh Trân	Xây dựng phương pháp phân tích các chất chỉ thị	Xây dựng phương pháp phân tích các chất chỉ thị	
20	TS. Lê Công Nhất Phương	TS. Lê Công Nhất Phương	Xây dựng mô hình trồng 6 loài dược liệu	Xây dựng mô hình trồng 6 loài dược liệu	
21	DS. Huỳnh Lê Thục Cơ	DS. Huỳnh Thị Phương Duyên	- Tạo chế phẩm thử nghiệm - Xây dựng bộ tiêu chuẩn, chất lượng - Xây dựng hồ sơ công bố sản phẩm	- Tạo chế phẩm thử nghiệm - Xây dựng bộ tiêu chuẩn, chất lượng - Xây dựng hồ sơ công bố sản phẩm	
22	CN. Ngô Quốc Dũng	DS. Nguyễn Thế Quyền	- Tạo chế phẩm thử nghiệm - Xây dựng bộ tiêu chuẩn, chất lượng - Xây dựng hồ sơ công bố sản phẩm - Sản xuất thử nghiệm sản phẩm	- Tạo chế phẩm thử nghiệm - Xây dựng bộ tiêu chuẩn, chất lượng và - Xây dựng hồ sơ công bố sản phẩm - Sản xuất thử nghiệm 4 sản phẩm với số lượng: 14.400 viên nang mềm đăng sâm TN, 10.000 viên nang mềm sâm cau TN, 10.000 viên nang mềm đương quy TN, và 5.000 viên nang mềm đăng sâm - sâm cau TN, đảm bảo tiêu chuẩn theo quy định của Bộ Y tế và nộp hồ sơ đăng ký Giấy chứng nhận lưu hành.	

23	CN. Đào Thị Hồng Lam	CN. Giang Thị Thanh	Nhân giống 01 nguồn gen được liệu có giá trị kinh tế cao	Nhân giống 01 nguồn gen được liệu có giá trị kinh tế cao	
24	ThS. Lâm Văn Thông	CN. Hoàng Thanh Trương	Nhân giống 01 nguồn gen được liệu có giá trị kinh tế cao	Nhân giống 01 nguồn gen được liệu có giá trị kinh tế cao	
25	ThS. Trần Đức Thăng	CN. Bùi Văn Trọng	Nhân giống 01 nguồn gen được liệu có giá trị kinh tế cao	Nhân giống 01 nguồn gen được liệu có giá trị kinh tế cao	

- Lý do thay đổi: trong quá trình thực hiện nhiệm vụ, một số thành viên không bố trí được thời gian để tham gia, do đó phải bổ sung một số thành viên mới để thực hiện các nội dung nghiên cứu.

6. Tình hình hợp tác quốc tế:

Số TT	Theo kế hoạch (Nội dung, thời gian, kinh phí, địa điểm, tên tổ chức hợp tác, số đoàn, số lượng người tham gia...)	Thực tế đạt được (Nội dung, thời gian, kinh phí, địa điểm, tên tổ chức hợp tác, số đoàn, số lượng người tham gia...)	Ghi chú*
1			

7. Tình hình tổ chức hội thảo, hội nghị:

Số TT	Theo kế hoạch (Nội dung, thời gian, kinh phí, địa điểm)	Thực tế đạt được (Nội dung, thời gian, kinh phí, địa điểm)	Ghi chú*
1			
2			

8. Tóm tắt các nội dung, công việc chủ yếu:

(Nêu tại mục 15 của thuyết minh, không bao gồm: Hội thảo khoa học, điều tra khảo sát trong nước và nước ngoài)

Số TT	Các nội dung, công việc chủ yếu (Các mốc đánh giá chủ yếu)	Thời gian (Bắt đầu, kết thúc - tháng ... năm)		Người, cơ quan thực hiện
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Nội dung 1: Xây dựng Danh mục các loài được liệu chủ lực của Tây Nguyên	7/2018 – 12/2018	7/2018 – 12/2018	-Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, - Nguyễn Hữu Toàn Phan, Phạm Văn Huyền, Nguyễn Thị Diệu Thuần, Nông Văn Duy, Phan Nhã Hòa, Nguyễn Thị Thu Hiền

2	Nội dung 2: Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực	7/2018 – 6/2020	7/2018 – 6/2020	- Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hóa sinh biên - Nguyễn Hữu Toàn Phan, Lê Thị Thanh Trân, Nguyễn Thị Diệu Thuần, Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Hữu Hương Duyên, Phạm Văn Huyền, Trần Thị Ngọc Hạnh, Nguyễn Hoài Nam, Trần Thị Hồng Hạnh, Trần Hồng Quang, Phạm Văn Cường, Nguyễn Xuân Cường
3	Nội dung 3: Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu	1/2019 – 3/2020	1/2019 – 8/2020	-Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên - Đinh Văn Khiêm, Vũ Kim Công, Phạm Văn Huyền, Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Thị Diệu Thuần, Trần Thị Ngọc Hạnh, Nguyễn Hữu Hương Duyên, Phan Nhã Hòa, Nguyễn Hữu Toàn Phan
4	Nội dung 4: Xây dựng mô hình trồng 6 loài dược liệu	1/2019 – 9/2020	1/2019 – 10/2020	-Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên - Nguyễn Thị Diệu Thuần, Nguyễn Hữu Toàn Phan, Phạm Văn Huyền, Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Hữu Hương Duyên, Đinh Văn Khiêm, Phan Nhã Hòa, Lê Công Nhất Phương
5	Nội dung 5: Hoàn thiện công nghệ và tạo ra một số sản phẩm có chất lượng cao	3/2019- 6/2020	3/2019- 12/2020	-Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Công ty Cổ phần S.P.M - Nguyễn Thị Diệu Thuần, Nguyễn Hữu Toàn Phan, Phạm Văn Huyền, Nguyễn Thị Thu Hiền, Huỳnh Thị Phương Duyên, Nguyễn Thế Quyền
6	Nội dung 6: Bảo tồn và phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao ở Tây Nguyên	1/2019- 12/2020	1/2019- 12/2020	-Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Khoa học lâm nghiệp Nam Trung Bộ và Tây Nguyên - Nguyễn Hữu Toàn Phan, Nguyễn Thị Diệu Thuần,

				Đinh Văn Khiêm, Đặng Thị Thắm, H' Yon Niê Bing, Giang Thị Thanh, Hoàng Thanh Trường, Bùi Văn Trọng, Trần Thái Vinh
7	Nội dung 7: Báo cáo tổng kết	9/2020-12/2020	12/2020 - 03/2021	-Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên - Nguyễn Thị Diệu Thuần, Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Hữu Toàn Phan

III. SẢN PHẨM KH&CN CỦA ĐỀ TÀI, DỰ ÁN

1. Sản phẩm KH&CN đã tạo ra:

a) Sản phẩm Dạng I:

<i>Số TT</i>	<i>Tên sản phẩm và chỉ tiêu chất lượng chủ yếu</i>	<i>Đơn vị đo</i>	<i>Số lượng</i>	
			<i>Theo kế hoạch</i>	<i>Thực tế đạt được</i>
1	Thực phẩm chức năng	Sản phẩm	3-4 sản phẩm đăng ký được Giấy chứng nhận lưu hành 5.000 viên/1 sản phẩm	04 thực phẩm chức năng, với số lượng: 14.400 viên nang mềm đăng sâm TN, 10.000 viên nang mềm sâm cau TN, 10.000 viên nang mềm đương quy TN, và 5.000 viên nang mềm đăng sâm - sâm cau TN, đảm bảo tiêu chuẩn theo quy định của Bộ Y tế và nộp hồ sơ đăng ký Giấy chứng nhận lưu hành.
2	Mô hình trồng 5-6 loài dược liệu (1-2 ha/loài)	Mô hình	5-6 Mô hình có năng suất cao, chất lượng dược liệu tốt đáp ứng làm nguyên liệu cho chế biến, làm cơ sở cho xây dựng, phát triển các vùng dược liệu ở quy mô lớn cho khu vực Tây Nguyên.	05 Mô hình trồng 5 loài dược liệu (2-3 ha/loài) có năng suất cao, chất lượng dược liệu tốt đáp ứng làm nguyên liệu cho chế biến, làm cơ sở cho xây dựng, phát triển các vùng dược liệu ở quy mô lớn cho khu vực Tây Nguyên..

b) Sản phẩm Dạng II:

<i>Số TT</i>	<i>Tên sản phẩm</i>	<i>Yêu cầu khoa học cần đạt</i>		<i>Ghi chú</i>
		<i>Theo kế hoạch</i>	<i>Thực tế đạt được</i>	

1	Danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên	Danh mục kèm theo dữ liệu về khả năng sử dụng và tiềm năng phát triển của chúng.	Xây dựng được danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên với 22 loài dược liệu kèm theo dữ liệu về khả năng sử dụng và tiềm năng phát triển của chúng.	
2	Bộ kết quả nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực	Nghiên cứu sâu thành phần hóa học của 5-6 loài dược liệu chủ lực phù hợp với khí hậu, thổ nhưỡng của một số tỉnh trong địa bàn Tây Nguyên có tiềm năng và giá trị cao... nhằm phát hiện các dược chất quý, các chất chỉ thị quan trọng cho việc đánh giá chất lượng dược liệu sau thu hoạch..	Nghiên cứu sâu về thành phần hóa học của 09 loài dược liệu, trong đó 07 loài trong danh mục dược liệu chủ lực (atisô, đảng sâm, sâm cau, đương quy, đinh lăng, sa nhân tím) và 02 loài cần bảo tồn, phát triển (xoan nhừ, công hiệp), đã phân lập và xác định cấu trúc 80 hợp chất với đầy đủ các số liệu phổ NMR và MS, trong đó có 09 hợp chất mới. Đã chọn 10 chất chỉ thị và xây dựng các phương pháp phân tích tương ứng.	
3	Quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản cho 5-6 loài dược liệu chủ lực	Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản các loài dược liệu này đạt chất lượng cao	Từ 06 loài dược liệu chủ lực gồm atisô, đảng sâm, sâm cau, đương quy, đinh lăng, sa nhân tím, đề tài đã xây dựng, hoàn thiện 06 Quy trình trồng trọt, 06 Quy trình thu hoạch và 06 Quy trình bảo quản	
4	Quy trình công nghệ tạo ra 3-4 sản phẩm có chất lượng cao	Hoàn thiện công nghệ và tạo ra 3-4 sản phẩm từ các loài dược liệu, có sức cạnh tranh trên thị trường trong nước và khu vực, góp phần phát triển kinh tế xã hội tại khu vực Tây Nguyên, đạt tiêu chuẩn chất lượng sản phẩm được cơ quan chức năng cấp giấy chứng nhận.	Xây dựng được 4 quy trình tạo thực phẩm chức năng là viên nang mềm đảng sâm TN, viên nang mềm sâm cau TN, viên nang mềm đương quy TN, là viên nang mềm đảng sâm – sâm cau TN. Các sản phẩm này đã được sản xuất thử tại Công ty cổ phần Dược S.P.M. đảm bảo tiêu chuẩn theo quy định của Bộ Y tế và nộp hồ sơ đăng ký Giấy chứng nhận lưu hành	
5	Bảo tồn và phát triển	Bảo tồn và phát triển được một số nguồn	Xây dựng được quy trình nhân giống 02 loài có triển	

	được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	gen dược liệu có giá trị kinh tế cao (2-3 loài như lan gấm, sa nhân tím, sâm cau, đảng sâm...) ở Tây Nguyên.	vọng (Lan gấm, Tam thất) và phương án bảo tồn nguồn gen dược liệu ở Tây Nguyên.	
6	Báo cáo tổng kết khoa học kỹ thuật	Chi tiết toàn bộ kết quả nghiên cứu của đề tài	Chi tiết toàn bộ kết quả nghiên cứu của đề tài	

c) Sản phẩm Dạng III:

<i>Số TT</i>	<i>Tên sản phẩm</i>	<i>Yêu cầu khoa học cần đạt</i>		<i>Số lượng, nơi công bố (Tạp chí, nhà xuất bản)</i>
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Bài báo khoa học trong nước	02 bài theo yêu cầu của tạp chí chuyên ngành trong nước	01 bài trong tạp chí quốc gia	01 bài Tạp chí Khoa học công nghệ
2	Bài báo khoa học quốc tế	02 bài theo yêu cầu khoa học của tạp chí quốc tế	03 bài ISI, 01 tạp chí quốc tế thường	03 Bài báo quốc tế ISI (Natural Product Communications, Natural Product Research, Phytochemistry Letters) và 01 Bài báo quốc tế khác

d) Kết quả đào tạo:

<i>Số TT</i>	<i>Cấp đào tạo, Chuyên ngành đào tạo</i>	<i>Số lượng</i>		<i>Ghi chú (Thời gian kết thúc)</i>
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1	Thạc sỹ	1	5	2019-2021
2	Tiến sỹ	1	2	

- Lý do thay đổi (nếu có):

đ) Tình hình đăng ký bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp, quyền đối với giống cây trồng:

<i>Số TT</i>	<i>Tên sản phẩm đăng ký</i>	<i>Kết quả</i>		<i>Ghi chú (Thời gian kết thúc)</i>
		Theo kế hoạch	Thực tế đạt được	
1				

- Lý do thay đổi (nếu có):

e) Thống kê danh mục sản phẩm KHCN đã được ứng dụng vào thực tế

<i>Số TT</i>	<i>Tên kết quả đã được ứng dụng</i>	<i>Thời gian</i>	<i>Địa điểm (Ghi rõ tên, địa chỉ nơi ứng dụng)</i>	<i>Kết quả sơ bộ</i>
1				

2. Đánh giá về hiệu quả do đề tài, dự án mang lại:

2.1. Hiệu quả kinh tế

Các kết quả nghiên cứu hóa học của một số loài dược liệu chủ lực mở rộng giá trị sử dụng để định hướng cho phát triển các sản phẩm mới với giá trị gia tăng cao hơn các sản phẩm hiện có, góp phần tăng thu nhập cho cả người nông dân cũng như lợi nhuận của các doanh nghiệp chế biến. Đồng thời là cơ sở cho việc xây dựng quy hoạch các vùng trồng dược liệu cụ thể trên địa bàn các tỉnh vùng Tây Nguyên hướng đến chất lượng và hiệu quả cao nhất.

Kết quả nghiên cứu của đề tài góp phần tạo cơ sở khoa học cho việc lựa chọn các khu vực bảo tồn và phát triển trước mắt nguồn dược liệu chủ lực cho Tây Nguyên. Với các loài dược liệu được lựa chọn nghiên cứu việc phát triển vùng bảo tồn, nuôi trồng sẽ góp phần mang lại những hiệu quả kinh tế xã hội rất lớn cho những vùng này. Việc lựa chọn được đối tượng dược liệu có tiềm năng sẽ đưa ra được giải pháp khai thác, sử dụng hợp lý và có hiệu quả nguồn dược liệu của Tây Nguyên nhằm tạo ra các sản phẩm có giá trị phục vụ cuộc sống có ý nghĩa quan trọng trong đời sống kinh tế xã hội, tạo công ăn việc làm và nâng cao thu nhập cho người dân, cung cấp các sản phẩm dược phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Đồng thời tạo ra các mặt hàng mới có giá trị cao từ nguồn nguyên liệu trong nước, thay thế nhập khẩu. Bên cạnh đó, việc nghiên cứu khai thác hợp lý các nguồn lợi tự nhiên còn làm giảm nguy cơ gây ô nhiễm môi trường, mất cân bằng sinh thái và tránh khai thác ồ ạt làm cạn kiệt nguồn tài nguyên thiên nhiên vô cùng quý giá trong tương lai.

2.2. Hiệu quả xã hội

Kết quả của đề tài là cơ sở quan trọng cho việc áp dụng mô hình của đề tài đối với các loài dược liệu khác nhằm tạo ra các sản phẩm có giá trị phục vụ cuộc sống, có ý nghĩa quan trọng trong đời sống kinh tế xã hội, tạo công ăn việc làm và nâng cao thu nhập cho người dân, cung cấp các sản phẩm dược phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Đồng thời tạo ra các mặt hàng mới có giá trị cao từ nguồn nguyên liệu trong nước, thay thế nhập khẩu, đồng thời hướng đến xuất khẩu dược liệu cho vùng Tây Nguyên.

3. Tình hình thực hiện chế độ báo cáo, kiểm tra của đề tài, dự án:

<i>Số TT</i>	<i>Nội dung</i>	<i>Thời gian thực hiện</i>	<i>Ghi chú (Tóm tắt kết quả, kết luận chính, người chủ trì...)</i>
I	Báo cáo định kỳ		
	Lần 1	11/2018	Đạt yêu cầu
	Lần 2	06/2019	Đạt yêu cầu
	Lần 3	01/2020	Đạt yêu cầu
	Lần 4	11/2020	Đạt yêu cầu
	Lần 5	03/2021	Đạt yêu cầu
II	Kiểm tra định kỳ		
	Lần 1	11/2018	Đạt yêu cầu

Lần 2	06/2019	Đạt yêu cầu
Lần 3	01/2020	Đạt yêu cầu
Lần 4	11/2020	Đạt yêu cầu
Lần 5	03/2021	Đạt yêu cầu

Chủ nhiệm đề tài



TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan



Thu trưởng tổ chức chủ trì

Nông Văn Duy

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC BẢNG	
DANH MỤC CÁC HÌNH VÀ ĐỒ THỊ	
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU Ở NGOÀI NƯỚC	4
1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU Ở TRONG NƯỚC	10
1.2.1. Danh mục dược liệu của vùng Tây Nguyên	11
1.2.2. Quy hoạch phát triển dược liệu, bảo tồn và phát triển nguồn gen dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên	14
1.2.3. Nghiên cứu hóa học các loài dược liệu, tiêu chuẩn hóa dược liệu	20
1.2.4. Sản xuất thuốc từ dược liệu	25
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	32
2.1. NỘI DUNG 1	32
2.1.1. Địa điểm, thời gian nghiên cứu	32
2.1.2. Phương pháp điều tra	32
2.1.3. Phương pháp điều tra thực vật	33
2.2. NỘI DUNG 2	34
2.2.1. Các phương pháp phân lập các hoạt chất và xác định cấu trúc	34
2.2.2. Phương pháp phân tích hoạt chất bằng HPLC	35
2.3. NỘI DUNG 3	36
2.3.1. Địa điểm	37
2.3.2. Giống	37
2.3.3. Các chỉ tiêu theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng	38
2.4. NỘI DUNG 4	38
2.4.1. Phương pháp nhân giống <i>in vitro</i> lan gấm	38
2.4.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý Gibberellic Acid (GA3) đến sự nảy mầm của hạt Tam thất	39
2.4.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của thành phần giá thể đến sinh trưởng của cây con trong giai đoạn vườn ươm	40
2.5. NỘI DUNG 5	41
2.5.1. Nghiên cứu điều chế cao đặc dược liệu	41
2.5.1.1. Nguyên liệu	41
2.5.1.2. Phương pháp nghiên cứu	41
2.5.2. Nghiên cứu xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nang mềm	42
2.5.2.1. Phương pháp xây dựng công thức bào chế	42
2.5.2.1.1. Tạo vỏ nang:	43
2.5.2.1.2. Công thức, quy trình pha dịch thuốc	44
2.5.2.1.3. Quy trình đóng nang	44
2.5.2.2. Kiểm tra chất lượng sản phẩm	45
2.5.3. Nghiên cứu xây dựng TCCS của viên nang	45
2.5.3.1. Xây dựng TCCS của viên nang mềm Đảng sâm	45
2.5.3.2. Xây dựng TCCS của viên nang mềm Sâm cau	47
2.5.3.3. Xây dựng TCCS của viên nang mềm Đương quy	49
2.5.3.4. Xây dựng TCCS của viên nang mềm Đảng sâm – Sâm cau	51
2.5.4. Nghiên cứu đánh giá độ ổn định của viên nang	52
2.5.5. Phương pháp xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn	52
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	55

3.1. XÂY DỰNG DANH MỤC CÁC LOÀI DƯỢC LIỆU CHỦ LỰC CỦA TÂY NGUYÊN	55
3.1.1. Cơ sở pháp lý	55
3.1.2. Xây dựng danh mục dược liệu chủ lực	57
3.2. NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐỘNG THÁI CỦA CHÚNG Ở MỘT SỐ LOÀI DƯỢC LIỆU CHỦ LỰC.	62
3.2.1. Nghiên cứu thành phần hóa học một số loài dược liệu	63
3.2.1.1. Nghiên cứu hóa học lá cây Atisô - <i>Cynara scolymus</i>	63
3.2.1.1.1. Phân lập các hợp chất từ lá cây Atisô	63
3.2.1.1.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ lá cây Atisô	65
3.2.1.2. Nghiên cứu hóa học Sâm cau - <i>Curculigo orchoides</i>	77
3.2.1.2.1. Phân lập các hợp chất từ sâm cau	77
3.2.1.2.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ sâm cau	79
3.2.1.3. Nghiên cứu hóa học Đẳng sâm - <i>Codonopsis javanica</i>	86
3.2.1.3.1. Phân lập các hợp chất từ Đẳng sâm	86
3.2.1.3.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ đẳng sâm	89
3.2.1.4. Nghiên cứu hóa học rễ đương quy – <i>A. sinensis</i> và <i>A. acutiloba</i>	107
3.2.1.4.1. Phân lập các hợp chất từ rễ đương quy	107
3.2.1.4.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ rễ đương quy	111
3.2.1.5. Nghiên cứu hóa học hạt sa nhân tím - <i>Amomum longiligulare</i>	123
3.2.1.5.1. Phân lập các hợp chất từ hạt sa nhân tím	123
3.2.1.5.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ hạt sa nhân tím	124
3.2.1.6. Nghiên cứu hóa học cây Đinh lăng - <i>Polyscias fruticosa</i>	131
3.2.1.6.1. Phân lập các hợp chất từ cây Đinh lăng	131
3.2.1.6.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập	133
3.2.1.7. Nghiên cứu hóa học cây Xoan nhừ - <i>Choerospondias axillaris</i>	141
3.2.1.7.1. Phân lập các hợp chất từ cây Xoan nhừ	141
3.2.1.7.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ cây Xoan nhừ	143
3.2.1.8. Nghiên cứu hóa học lá cây cuồng hiệp - <i>Aralia hiepiana</i>	160
3.2.1.8.1. Phân lập các hợp chất từ lá cây cuồng hiệp	160
3.2.1.8.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập từ lá cây cuồng hiệp	162
3.2.1.9. Kết luận	173
3.2.2. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong một số loài dược liệu chủ lực	177
3.2.2.1. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu sâm cau – <i>Curculigo orchoides</i> Gaertn.	177
3.2.2.1.1. Xây dựng phương pháp định lượng Curculigoside	177
3.2.2.1.2. Xây dựng phương pháp định lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid	181
3.2.2.1.3. Nghiên cứu động thái tích lũy chất chỉ thị trong dược liệu sâm cau	185
3.2.2.2. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu Atisô - <i>Cynara scolymus</i> L.	187
3.2.2.2.1. Xây dựng phương pháp định lượng Deacylcynaropicrin	187
3.2.2.2.2. Xây dựng phương pháp định lượng Cynaropicrin	190
3.2.2.2.3. Nghiên cứu động thái tích lũy chất chỉ thị trong dược liệu Atisô	194
3.2.2.3. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu đẳng sâm (<i>Codonopsis javanica</i>)	196
3.2.2.3.1. Xây dựng phương pháp định lượng Tangshenoside I	196
3.2.2.3.2. Xây dựng phương pháp định lượng Tangshenoside VI	200
3.2.2.3.3. Nghiên cứu động thái tích lũy chất chỉ thị trong dược liệu đẳng sâm.	203

3.2.2.4. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu Đương quy (<i>Angelica acutiloba</i>)	205
3.2.2.4.1. Xây dựng phương pháp định lượng Riligustilide	205
3.2.2.4.2. Xây dựng phương pháp định lượng 5-(hydroxymethyl)furfural	209
3.2.2.4.3 Nghiên cứu động thái tích lũy chất chỉ thị trong dược liệu đương quy	213
3.2.2.5. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy chất chỉ thị trong dược liệu Đinh lăng (<i>Polyscias fruticosa</i>)	216
3.2.2.5.1. Xây dựng phương pháp định lượng Falcarindiol	216
3.2.2.5.2 Nghiên cứu động thái tích lũy chất chỉ thị trong rễ cây Đinh lăng	220
3.2.2.6. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu quả Sa nhân tím (<i>Amomum longiligulare</i>)	221
3.2.2.6.1. Xây dựng phương pháp định lượng Pinoresinol	221
3.2.2.6.1.7. Định lượng Pinoresinol trong mẫu quả Sa nhân tím	224
3.3. XÂY DỰNG, HOÀN THIỆN QUY TRÌNH TRỒNG TRỌT, THU HOẠCH, BẢO QUẢN 6 LOÀI DƯỢC LIỆU VÀ XÂY DỰNG MÔ HÌNH TRỒNG 5 LOÀI DƯỢC LIỆU	225
3.3.1. Hoàn thiện các quy trình trồng trọt, thu hoạch và bảo quản 6 loài dược liệu	225
3.3.1.1. Sâm cau - <i>Curculigo orchoides</i>	225
3.3.1.2. Atisô - <i>Cynara scolymus</i>	227
3.3.1.3. Quy trình trồng Đảng sâm - <i>Codonopsis javanica</i>	230
3.3.1.4. Quy trình trồng Đương quy – <i>Angelica acutiloba</i>	234
3.3.1.5. Quy trình trồng sa nhân tím – <i>Amomum longiligulare</i>	237
3.3.1.6. Quy trình trồng đinh lăng – <i>Polyscias fruticosa</i>	241
3.3.2. Xây dựng các mô hình trồng dược liệu	246
3.3.2.1. Mô hình trồng dược liệu Atisô	246
3.3.2.1.1. Địa điểm	246
3.3.2.1.2. Các bước triển khai mô hình	247
3.3.2.1.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển Atisô trên mô hình đã lựa chọn	249
3.3.2.1.4. Tính toán hiệu quả kinh tế kinh tế	250
3.3.2.2. Mô hình trồng dược liệu đảng sâm	251
3.3.2.2.1. Địa điểm	251
3.3.2.2.2. Các bước triển khai mô hình trồng và chăm sóc Đảng sâm	252
3.3.2.2.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển Đảng sâm trên mô hình đã lựa chọn	254
3.3.2.2.4. Tính toán hiệu quả kinh tế mô hình trồng Đảng sâm	255
3.3.2.3. Mô hình trồng dược liệu đương quy nhật bản	256
3.3.2.3.1. Địa điểm	256
3.3.2.3.2. Các bước triển khai mô hình trồng và chăm sóc đương quy	256
3.3.2.3.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển Đương quy Nhật Bản trên mô hình	259
3.3.2.3.4. Tính toán hiệu quả kinh tế mô hình trồng Đương quy	260
3.3.2.4. Mô hình trồng dược liệu đinh lăng	261
3.3.2.4.1. Địa điểm	261
3.3.2.4.2. Các bước triển khai mô hình trồng và chăm sóc Đinh lăng	262
3.3.2.4.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển Đinh lăng trên mô hình đã lựa chọn	265
3.3.2.4.4. Tính toán hiệu quả kinh tế mô hình trồng Đinh lăng	265
3.3.2.5. Mô hình trồng sâm cau	266
3.3.2.5.1. Địa điểm	266
3.3.2.5.2. Các bước triển khai mô hình	268
3.3.2.5.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển Sâm cau trên mô hình đã lựa chọn	269
3.3.2.5.4. Tính toán hiệu quả kinh tế	271

3.4. BẢO TỒN VÀ PHÁT TRIỂN ĐƯỢC MỘT SỐ NGUỒN GEN DƯỢC LIỆU CÓ GIÁ TRỊ KINH TẾ CAO Ở TÂY NGUYÊN	273
3.4.1. Đề xuất phương án bảo tồn một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	273
3.4.1.1. Phát triển mạng lưới trung tâm nghiên cứu, phòng thí nghiệm về công nghệ sinh học	273
3.4.1.2. Bảo vệ nguyên vị (<i>in - situ</i>) và chuyển vị (<i>ex - situ</i>)	273
3.4.1.3. Đề xuất một số cơ chế chính sách phù hợp, tăng cường công tác tuyên truyền giáo dục nâng cao nhận thức về công tác bảo vệ rừng.	275
3.4.1.4. Đẩy mạnh hợp tác, hội nhập quốc tế trong lĩnh vực quản lý, bảo vệ và phát triển rừng	279
3.4.1.5. Nâng cao hiệu quả công tác lãnh đạo, chỉ đạo của các cấp ủy Đảng, chính quyền địa phương	280
3.4.1.6. Bảo tồn tri thức bản địa trong nhân dân	281
3.4.1.7. Giải pháp về nâng cao chất lượng nguồn nhân lực	282
3.4.1.8. Giải pháp về phát triển thị trường	283
3.4.2. Phương án phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao	284
3.4.2.1. Nhân giống cây Tam thất - <i>Panax pseudoginseng</i>	284
3.4.2.2. Nhân giống cây lan gấm – <i>Anoectochilus roxburghii</i>	294
3.5. NGHIÊN CỨU TẠO THỰC PHẨM CHỨC NĂNG	302
3.5.1. Nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng viên nang mềm Đảng sâm TN	302
3.5.1.1. Xử lý nguyên liệu đảng sâm	303
3.5.1.2. Quy trình bào chế	303
3.5.1.3. Kiểm tra chất lượng sản phẩm mẫu	305
3.5.2. Nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng viên nang mềm Sâm cau TN	306
3.5.2.1. Xử lý nguyên liệu sâm cau	307
3.5.2.2. Quy trình bào chế	307
3.5.2.3. Kiểm tra chất lượng sản phẩm mẫu	308
3.5.3. Nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng viên nang mềm Đương quy TN	309
3.5.3.1. Xử lý nguyên liệu đương quy	310
3.5.3.2. Quy trình bào chế	310
3.5.3.3. Kiểm tra chất lượng sản phẩm mẫu	311
3.5.4. Nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng viên nang mềm Đảng sâm – Sâm cau TN	313
3.5.4.1. Cao chiết đảng sâm, sâm cau	313
3.5.4.2. Quy trình bào chế	313
3.5.4.3. Kiểm tra chất lượng sản phẩm mẫu	314
3.5.5. Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của 4 thực phẩm chức năng	316
3.5.5.1. Độc tính cấp đường uống của các mẫu thử nghiệm	316
3.5.5.2. Độc tính bán trường diễn của các mẫu thử nghiệm	317
3.5.5.2.1. Ảnh hưởng lên tình trạng chung và sự thay đổi cân nặng của chuột	317
3.5.5.2.2. Ảnh hưởng lên các thông số huyết học	318
3.5.5.2.4. Ảnh hưởng lên chức năng thận	322
3.5.5.2.5. Ảnh hưởng lên đại thể các cơ quan	325
3.5.5.2.6. Kết luận	325
CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ ĐẠT ĐƯỢC	327
4.1. Sản phẩm Dạng I:	327
1. Thực phẩm chức năng:	327
2. Mô hình trồng 5-6 loài dược liệu (2-3 ha/loài):	327
4.2. Sản phẩm Dạng II:	327
1. Danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên:	327
3. Quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản cho 5-6 loài dược liệu chủ lực	328

4. Quy trình công nghệ tạo ra 3-4 sản phẩm có chất lượng cao:	328
5. Bảo tồn và phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao:	328
4.3. Sản phẩm Dạng III:	328
1. Bài báo khoa học quốc tế:	328
2. Bài báo khoa học trong nước	329
3. Kết quả đào tạo:	329
KẾT LUẬN	331
TÀI LIỆU THAM KHẢO	333

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1.1: Danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên	59
Bảng 3.1.2. Danh sách các loài bổ sung	60
Bảng 3.2.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS4 và chất so sánh	69
Bảng 3.2.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ6.1 và CJ6.2	93
Bảng 3.2.3. Số liệu phổ của chất CJ27	100
Bảng 3.2.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ29 và chất so sánh	102
Bảng 3.2.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ31	104
Bảng 3.2.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ37	106
Bảng 3.2.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA5	150
Bảng 3.2.8. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA8	153
Bảng 3.2.9. Tổng hợp kết quả phân lập các hợp chất từ 09 loài nghiên cứu	173
Bảng 3.2.10a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của curculigoside	179
Bảng 3.2.10b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Curculigoside	179
Bảng 3.2.10c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Curculigoside	180
Bảng 3.2.10d. Nồng độ mẫu thử CO-E	180
Bảng 3.2.10e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi	180
Bảng 3.2.10f. Hàm lượng Curculigoside trong căn chiết CO-MeOH	181
Bảng 3.2.11a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của 2,6-Dimethoxybenzoic acid	183
Bảng 3.2.11b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid	183
Bảng 3.2.11d. Nồng độ mẫu thử CO-C	184
Bảng 3.2.11e. Độ thu hồi	184
Bảng 3.2.11f. Hàm lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid trong căn chiết MeOH	185
Bảng 3.2.11g. Hàm lượng Curculigoside và 2,6-Dimethoxybenzoic acid trong căn CO-MeOH của rễ cây Sâm cau theo thời gian sinh trưởng	186
Bảng 3.2.12a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của CS3	188
Bảng 3.2.12b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Deacylcynaropicrin	188
Bảng 3.2.12c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Deacylcynaropicrin	189
Bảng 3.2.12d. Nồng độ mẫu thử CS-C	189
Bảng 3.2.12e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi	189
Bảng 3.2.12f. Hàm lượng Deacylcynaropicrin trong căn CS-MeOH	190
Bảng 3.2.13a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Cynaropicrin	192
Bảng 3.2.13b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng CS10	192
Bảng 3.2.13c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Cynaropicrin	192
Bảng 3.2.13d. Nồng độ mẫu thử Cynaropicrin	193
Bảng 3.2.13e. Độ thu hồi	193
Bảng 3.2.13f. Hàm lượng CS10 trong mẫu	194
Bảng 3.2.13g. Hàm lượng Deacylcynaropicrin trong cây Atisô theo thời gian	194
Bảng 3.2.13h. Hàm lượng Cynaropicrin trong cây Atisô theo thời gian	195
Bảng 3.2.14a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Tangshenoside I	197
Bảng 3.2.14b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Tangshenoside I	198
Bảng 3.2.14c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Tangshenoside I	198
Bảng 3.2.14d. Hàm lượng Tangshenoside I trong mẫu thử	199
Bảng 3.2.14e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi	199
Bảng 3.2.14f. Hàm lượng Tangshenoside I trong căn CJ-MeOH	200
Bảng 3.2.15a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Tangshenoside VI	201
Bảng 3.2.15b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Tangshenoside VI	202
Bảng 3.2.15c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Tangshenoside VI	202

Bảng 3.2.15d. Nồng độ mẫu thử Tangshenoside VI	203
Bảng 3.2.15e. Độ thu hồi	203
Bảng 3.2.15f. Hàm lượng Tangshenoside VI trong căn chiết MeOH	203
Bảng 3.2.15g. Hàm lượng Tangshenoside I trong cây Đẳng sâm theo thời gian	204
Bảng 3.2.15h. Hàm lượng Tangshenoside VI trong rễ cây Đẳng sâm theo thời gian	204
Bảng 3.2.16a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Riligustilide	207
Bảng 3.2.16b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Riligustilide	207
Bảng 3.2.16c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Riligustilide	208
Bảng 3.2.16d. Nồng độ mẫu thử (căn chiết hexan)	208
Bảng 3.2.16f. Hàm lượng Riligustilide trong căn chiết MeOH	209
Bảng 3.2.17a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của 5-HMF	211
Bảng 3.2.17b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng 5-HMF	211
Bảng 3.2.17c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của 5-HMF	212
Bảng 3.2.17d. Nồng độ mẫu thử (căn chiết hexan)	212
Bảng 3.2.17f. Hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural trong căn chiết MeOH	213
Bảng 3.2.17g. Hàm lượng Riligustilide trong cây Đương quy (chưa xuất hiện hoa) theo thời gian	213
Bảng 3.2.17h. Hàm lượng Riligustilide trong cây Đương quy (xuất hiện hoa) theo thời gian	214
Bảng 3.2.17i. Hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural trong cây Đương quy (chưa xuất hiện hoa) theo thời gian	215
Bảng 3.2.17j. Hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural trong cây Đương quy (xuất hiện hoa) theo thời gian	216
Bảng 3.2.18a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Falcarindiol	217
Bảng 3.2.18b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Falcarindiol	218
Bảng 3.2.18c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Falcarindiol	219
Bảng 3.2.18d. Nồng độ mẫu thử PF-C	219
Bảng 3.2.18e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi	219
Bảng 3.2.18f. Hàm lượng Falcarindiol trong căn PF-MeOH	220
Bảng 3.2.18g. Hàm lượng Falcarindiol trong căn chiết MeOH (PF-Me) của rễ cây Đinh lăng 2- 3 năm tuổi.	220
Bảng 3.2.19a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Pinoresinol	222
Bảng 3.2.19b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Pinoresinol	223
Bảng 3.2.19c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Pinoresinol	223
Bảng 3.2.19d. Nồng độ mẫu thử Pinoresinol	224
Bảng 3.2.19e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi	224
Bảng 3.2.19f. Hàm lượng Pinoresinol trong căn SN-MeOH.	224
Bảng 3.4.1a. Quá trình nảy mầm hạt Tam thất	284
Bảng 3.4.1b. Xếp nhóm các nồng độ GA ₃ với tỷ lệ nảy mầm của hạt Tam thất	286
Bảng 3.4.1c. Xếp nhóm các nồng độ GA ₃ đồng nhất về thể nảy mầm của hạt Tam thất	287
Bảng 3.4.1d. Xếp nhóm các nồng độ GA ₃ đồng nhất về tốc độ nảy mầm của hạt Tam thất	288
Bảng 3.4.1e. Tỷ lệ sống (%) của Tam thất trên các nghiệm thức	289
Bảng 3.4.1h. Bảng kiểm tra theo Kruskal-Wallis	291
Bảng 3.4.1i. Chiều dài phiến lá trung bình (L) theo tuổi	292
Bảng 3.4.1k. Bảng kiểm tra theo Kruskal-Wallis	293
Bảng 3.4.2a. Ảnh hưởng của phương pháp khử trùng đến khả năng sống, vô trùng của mẫu cây (sau 8 tuần)	295
Bảng 3.4.2b. Ảnh hưởng của BA đến khả năng tái sinh chồi sau 60 ngày nuôi cấy	296
Bảng 3.4.2c. Ảnh hưởng của Kin đến khả năng tái sinh chồi sau 60 ngày nuôi cấy	297

Bảng 3.4.2d. Ảnh hưởng của dịch chiết củ, quả lên sự hình thành và sinh trưởng chồi cây	298
Bảng 3.4.2e. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tái sinh rễ <i>in vitro</i>	299
Bảng 3.4.2f. Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống và chất lượng cây con	300

DANH MỤC CÁC HÌNH VÀ ĐỒ THỊ

Hình 2. Hình ảnh các loài được nghiên cứu hóa học	63
Hình 3a. Phổ NMR của hợp chất CS1	66
Hình 3b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS1	66
Hình 4a. Phổ NMR của hợp chất CS3	67
Hình 4b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS3	67
Hình 5a. Phổ ^1H NMR của CS4	68
Hình 5b. Phổ ^{13}C NMR của CS4	68
Hình 5c. Phổ HSQC của hợp chất CS4	69
Hình 5d. Phổ HMBC của hợp chất CS4	69
Hình 6a. Phổ NMR của hợp chất CS5	71
Hình 7a. Phổ NMR của hợp chất CS10	72
Hình 7b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS10	72
Hình 8a. Phổ NMR của hợp chất CS12	73
Hình 8b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS12	73
Hình 9a. Phổ NMR của hợp chất CS14.1	74
Hình 9b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS14.1	74
Hình 10a. Phổ NMR của hợp chất CS14.2	74
Hình 10b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS14.2	75
Hình 11b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS15	76
Hình 12b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS16	77
Hình 13a. Phổ ^1H NMR của CO1	79
Hình 13b. Cấu trúc hoá học của CO1	79
Hình 14a. Phổ ^1H NMR của CO2	80
Hình 14b. Cấu trúc của hợp chất CO2	80
Hình 15a. Phổ NMR của hợp chất CO4	81
Hình 15b. Cấu trúc hóa học của CO4	81
Hình 16a. Phổ ^1H -NMR của CO5	82
Hình 16b. Cấu trúc hoá học của CO5	82
Hình 17a. Phổ ^1H -NMR của CO6	82
Hình 17b. Cấu trúc của hợp chất CO6	82
Hình 18b. Cấu trúc của hợp chất CO7	84
Hình 19a. Phổ NMR của hợp chất CO8	84
Hình 19b. Cấu trúc của hợp chất CO8	84
Hình 20a. Phổ NMR của hợp chất CO9	85
Hình 20b. Cấu trúc của hợp chất CO9	85
Hình 21. Cấu trúc hoá học của CO11	86
Hình 22a. Phổ NMR của hợp chất CJ1	89
Hình 22b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ1	90
Hình 23a. Phổ NMR của hợp chất CJ2	91
Hình 23b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ2	91
Hình 24a. Phổ NMR của hợp chất CJ3	91
Hình 24b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ3	92
Hình 25a. Phổ NMR của hợp chất CJ6.1	92
Hình 25b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ6.1	93
Hình 26a. Phổ NMR của hợp chất CJ6.2	93
Hình 26b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ6.2	94
Hình 27a. Phổ ^1H NMR của CJ9	94

Hình 27b. Cấu trúc hóa học của CJ9	94
Hình 27a. Phổ NMR của hợp chất CJ10	95
Hình 28a. Phổ NMR của hợp chất CJ12	96
Hình 29a. Phổ NMR của hợp chất CJ19	97
Hình 29b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ19	97
Hình 30a. Phổ NMR của hợp chất CJ20	98
Hình 30b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ20	98
Hình 31a. Phổ NMR của hợp chất CJ25	99
Hình 31b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ25	99
Hình 32a. Phổ NMR của hợp chất CJ27	100
Hình 32b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ27	101
Hình 33a. Phổ NMR của hợp chất CJ29	102
Hình 33b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ29	103
Hình 34a. Phổ NMR của hợp chất CJ31	103
Hình 34c. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ31	104
Hình 35b. Cấu trúc hóa học của hợp chất CJ37	106
Hình 36b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS1	112
Hình 37a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của AS4	112
Hình 37b. Cấu trúc của hợp chất AS4	112
Hình 38a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của AS5	113
Hình 38b. Cấu trúc hóa học của AS5	113
Hình 39a. Phổ NMR của hợp chất AS7	114
Hình 39b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS7	114
Hình 40a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS8	115
Hình 40b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS8	115
Hình 41. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS9	116
Hình 42. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS10	116
Hình 43a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS11	117
Hình 43b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS11	117
Hình 44a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS12	118
Hình 44b. Cấu trúc của hợp chất AS12	118
Hình 45a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) của hợp chất AS13	119
Hình 45b. Cấu trúc của hợp chất AS13	119
Hình 46. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC3	120
Hình 47a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của AC5	120
Hình 47b. Cấu trúc của hợp chất AC5	120
Hình 48. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AC6	121
Hình 49a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AC7	121
Hình 50a. Phổ NMR của hợp chất AC9	122
Hình 50b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AC9	122
Hình 51a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất SN3	125
Hình 51b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất SN3	125
Hình 52a. Phổ NMR của hợp chất SN8	126
Hình 52b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất SN8	126
Hình 53a. Phổ NMR của hợp chất SN9	127
Hình 54a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất SN11	128
Hình 54b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất SN11	128
Hình 55a. Phổ NMR của hợp chất SN14	129
Hình 55b. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC của hợp chất SN14	129
Hình 56a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của SN15	130

Hình 56b. Cấu trúc hóa học của SN15	130
Hình 57a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của SN16	131
Hình 57b. Cấu trúc hóa học của SN16	131
Hình 58. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất PF2	133
Hình 59a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của PF3	134
Hình 59b. Cấu trúc hoá học của PF3	134
Hình 60. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất PF4	135
Hình 61a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của PF5	135
Hình 61b. Cấu trúc hoá học của PF5	135
Hình 62a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của PF6	136
Hình 62b. Cấu trúc hoá học của PF6	136
Hình 63. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 500 MHz) của hợp chất PF7	137
Hình 64a. Phổ NMR của hợp chất PF8	137
Hình 64b. Công thức cấu tạo của hợp chất PF8	138
Hình 65a. Phổ NMR của hợp chất PF9	139
Hình 65b. Cấu trúc hóa học của hợp chất PF9	140
Hình 66a. Phổ NMR của hợp chất PF10	140
Hình 66b. Cấu trúc hóa học của hợp chất PF10	141
Hình 67a. Phổ NMR của hợp chất CA1	144
Hình 67b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất CA1	145
Hình 68a. Phổ NMR của hợp chất CA2	145
Hình 69a. Phổ NMR của hợp chất CA3	146
Hình 69b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất CA3	147
Hình 70a. Phổ NMR của hợp chất CA4	148
Hình 70b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất CA4	148
Hình 71a. Phổ $^1\text{H NMR}$ và $^{13}\text{C NMR}$ của hợp chất CA5	149
Hình 71b. Phổ HMBC của hợp chất CA5	149
Hình 71c. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất CA5	150
Hình 72a. Phổ NMR của hợp chất CA7	151
Hình 72b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất CA7	152
Hình 73a. Phổ NMR của hợp chất CA8	152
Hình 73b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất CA8	153
Hình 74a. Phổ NMR của hợp chất CA9	154
Hình 74b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của hợp chất CA9	155
Hình 75a. Phổ NMR của hợp chất CA10	156
Hình 75b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất CA10	156
Hình 76a. Phổ NMR của hợp chất CA11	157
Hình 76b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất CA11	157
Hình 77a. Phổ NMR của hợp chất CA12	158
Hình 77b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC chính của CA12	158
Hình 78a. Phổ $^1\text{H NMR}$ của CA16	159
Hình 78b. Cấu trúc hóa học của CA16	159
Hình 79a. Phổ $^1\text{H NMR}$ của CA17	160
Hình 79b. Cấu trúc hóa học của CA17	160
Hình 80a. Phổ NMR của hợp chất AH2	162
Hình 80b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AH2	163
Hình 81a. Phổ NMR của hợp chất AH4	163
Hình 81b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AH4	164
Hình 82a. Phổ $^1\text{H NMR}$ của AH6	165
Hình 82b. Cấu trúc hóa học của AH6	165

Hình 83a. Phổ NMR của hợp chất AH7	165
Hình 83b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AH7	166
Hình 84a. Phổ ¹ H NMR của AH10	166
Hình 84b. Cấu trúc hóa học của AH10	166
Hình 85a. Phổ ¹ H NMR của AH11	167
Hình 85b. Cấu trúc hóa học của AH11	167
Hình 86a. Phổ NMR của hợp chất AH15	168
Hình 86b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AH15	168
Hình 87a. Phổ NMR của hợp chất AH18	169
Hình 87b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AH18	170
Hình 88a. Phổ NMR của AH19	170
Hình 88b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AH19	170
Hình 89a. Phổ NMR của hợp chất AH20	171
Hình 89b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AH20	171
Hình 90a. Phổ NMR của hợp chất AH22	172
Hình 90b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AH22	173
Hình 91a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn Curculigoside	178
Hình 91b. Sắc ký đồ căn chiết MeOH (10 mg/mL)	181
Hình 92a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn 2,6-Dimethoxy-benzoic acid (1mg/mL)	182
Hình 92b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)	185
Hình 93. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)	190
Hình 94a. Đường chuẩn Cynaropicrin ở bước sóng 220 nm	191
Hình 94b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)	194
Hình 95a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn Tangshenoside I	197
Hình 95b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)	200
Hình 96a. Sắc ký đồ mẫu thử	201
Hình 96b. Sắc ký đồ mẫu thử thêm chuẩn Tangshenoside VI	201
Hình 97a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn Riligustilide	206
Hình 97b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)	209
Hình 98. Sắc ký đồ mẫu chuẩn 5-(hydroxymethyl)furfural	210
Hình 99a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn Falcarindiol	217
Hình 99b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)	220
Hình 100a. Hình ảnh từ vệ tinh của địa điểm đặt mô hình	247
Hình 100b. Hồ nước phục vụ tưới tiêu tại mô hình	248
Hình 100c. Cây Atiso 1,5 tháng tuổi dưới tán cây Macca	249
Hình 100d. Cây Atiso 2,5 tháng tuổi dưới tán cây Macca	250
Hình 101a. Vị trí mô hình Đảng sâm tại xã Đạ Chais, huyện Lạc Dương, Lâm Đồng	251
Hình 101b. Theo dõi quá trình phát triển của Đảng sâm	254
Hình 101c. Mô hình trồng Đảng sâm	255
Hình 102a. Vị trí mô hình Đương quy tại xã Mê Linh, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng	256
Hình 102c. Mô hình trồng Đương quy	259
Hình 102d. Rễ Đương quy (cây 14 tháng tuổi)	260
Hình 103a. Vị trí mô hình tại xã Gia Lâm, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng	261
Hình 103b. Vị trí mô hình tại Nam Ban, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng	261
Hình 103c. Cây Đinh lăng thích hợp trồng dưới tán cây ăn quả	263
Hình 103d. Cây Đinh lăng phát triển tốt vào mùa mưa	265
Hình 104a. Hình ảnh từ vệ tinh của địa điểm đặt mô hình	267
Hình 104b. Địa điểm rừng lựa chọn đặt mô hình	267
Hình 104c. Các vị trí trồng sâm cau	269
Hình 104d. Cây Sâm cau phát triển dưới tán rừng	269

Hình 104e. Cây Sâm cau trồng 7 tháng	270
Hình 104f. Rễ Sâm cau sau 12 tháng	270
Hình 105a. Biểu đồ tỷ lệ nảy mầm hạt Tam thất theo thời gian	285
Hình 105b. Tam thất nảy mầm trên khay cát	289
Hình 105c. Biểu đồ Box-and-Whisker về biến động sinh trưởng chiều cao cuống lá	291
Hình 105d. Biểu đồ tăng trưởng chiều dài phiến lá trung bình	292
Hình 105e. Biểu đồ Box-and-Whisker về biến động sinh trưởng chiều dài phiến lá	293
Hình 105f. Tam thất sinh trưởng trên các giá thể khác nhau	294
Hình 106. Nhân giống <i>in vitro</i> <i>Anoectochilus roxburghii</i> a. Cây <i>Anoectochilus</i>	301
Hình 107a. Sơ đồ các giai đoạn bào chế viên nang mềm Đảng sâm TN	304
Hình 107b. Thực phẩm chức năng đảng sâm TN	306
Hình 108a. Sơ đồ các giai đoạn bào chế viên nang mềm Sâm cau TN	308
Hình 108b. Thực phẩm chức năng sâm cau TN	309
Hình 109a. Sơ đồ các giai đoạn bào chế viên nang mềm Đương quy TN	312
Hình 109b. Thực phẩm chức năng đương quy TN	313
Hình 110a. Sơ đồ các giai đoạn bào chế viên nang mềm Đảng sâm – Sâm cau TN	315
Hình 110b. Thực phẩm chức năng đảng sâm – sâm cau TN	316
Hình 111a. Hình ảnh đại thể chuột trong thử nghiệm độc tính cấp	317
Hình 111b. Hình ảnh đại thể gan, thận ở các lô thử nghiệm độc tính bán trường diễn	325

MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, việc khám bệnh, chữa bệnh bằng phương pháp y dược cổ truyền kết hợp với y dược hiện đại đã được sử dụng rộng rãi và đạt được kết quả trong điều trị người bệnh góp phần vào việc chăm sóc, nâng cao sức khỏe nhân dân. Nhu cầu sử dụng nguyên liệu có nguồn gốc thực vật làm thuốc ngày càng nhiều. Tuy nhiên, nguồn tài nguyên dược liệu tự nhiên đang ngày một suy giảm do khai thác tràn lan, thiếu kiểm soát, không có kế hoạch bảo tồn nguồn dược liệu, trong khi dược liệu nuôi trồng mặc dù đã có quy hoạch tỉnh, vùng, quốc gia nhưng vẫn còn tự phát, thiếu cân đối...

Đầu tư, phát triển, sử dụng hiệu quả nguồn dược liệu trong tự nhiên và duy trì tài nguyên dược liệu đang là vấn đề cấp bách. Bảo vệ nguồn dược liệu tự nhiên là bảo vệ sự cân bằng sinh thái, bảo vệ sự đa dạng sinh học, môi trường và bảo vệ sức khỏe, kinh tế, văn hóa của cộng đồng... Hơn nữa, phát triển dược liệu trong giai đoạn tới mở ra cơ hội rất lớn cho việc giao thương, tham gia thị trường trong nước và quốc tế để sản xuất dược phẩm và các sản phẩm khác có nguồn gốc từ dược liệu.

Chính phủ đã có chủ trương phát triển nông nghiệp theo hướng sản xuất hàng hóa ứng dụng công nghệ cao gia tăng giá trị theo chuỗi sản phẩm hàng hóa. Để thực hiện được chủ trương chính sách của Đảng và Nhà nước đáp ứng yêu cầu ngày càng tăng về số lượng và chất lượng của nguồn nguyên liệu từ dược liệu đạt tiêu chuẩn làm thuốc ở nước ta, trước yêu cầu hội nhập và phát triển của đất nước, cần thiết phải đánh giá lại hiện trạng phát triển dược liệu ở Tây Nguyên nhằm tăng cường quản lý nhà nước trong lĩnh vực dược liệu; nuôi trồng, khai thác, sử dụng có hiệu quả và bền vững nguồn tài nguyên dược liệu, bảo tồn và phát triển sự đa dạng sinh học và xây dựng kế hoạch sử dụng thuốc cổ truyền, vị thuốc cổ truyền được sản xuất, chế biến, bào chế từ nguồn dược liệu trồng, khai thác trên địa bàn Tây Nguyên, góp phần chuyển đổi cơ cấu cây trồng và nâng cao thu nhập cho người dân tại các vùng khó khăn; từng bước và chủ động đáp ứng đủ nhu cầu dược liệu cung cấp cho công nghiệp dược và các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bằng y dược học cổ truyền trong khu vực và cả nước.

Theo tổ chức y tế thế giới WHO, 80% dân số thế giới nằm ở khu vực các nước đang phát triển và 80% dân số ở các nước này sử dụng thuốc có nguồn gốc tự nhiên như

một lựa chọn hàng đầu trong việc phòng và chữa bệnh. Với số dân không lồ, cơ cấu bệnh tật đa dạng và phức tạp nên nhu cầu sử dụng thuốc hiệu quả cao ngày càng tăng. Nhu cầu về sử dụng thuốc trên thế giới là rất lớn, cả về số lượng và chất lượng. Đây đang là một thách thức lớn đối với các nước đang phát triển nói riêng và nhân loại nói chung.

Cho đến nay, dược liệu có nguồn gốc thực vật vẫn là nguồn nguyên liệu chính trong phát triển các loại thuốc mới trên thế giới. Các dược phẩm có nguồn gốc tự nhiên chiếm tới 50% tổng số dược phẩm đang được sử dụng trong lâm sàng, trong đó khoảng 25% tổng số thuốc có nguồn gốc từ thực vật bậc cao. Theo ước tính, thuốc và các phẩm khác sản xuất từ dược liệu có nguồn gốc thực vật bán ra thị trường tiêu thụ đạt trên 100 tỷ đô la/năm.

Việt Nam cũng có một lịch sử lâu đời trong sử dụng cây cỏ tự nhiên và một nền y học cổ truyền có bản sắc riêng để phòng và chữa bệnh cho con người. Nằm trong khu vực nhiệt đới Đông Nam Á có đa dạng sinh học rất cao. Theo ước tính Việt Nam có khoảng trên 12.000 loài thực vật bậc cao, chiếm khoảng 4-5% tổng số loài thực vật bậc cao đã biết trên thế giới và khoảng 25% số loài thực vật bậc cao đã biết ở châu Á. Trong số này, có khoảng 4.000 loài thực vật và 400 loài động vật được dùng làm thuốc. Thế nhưng, các thuốc này mới chủ yếu được sử dụng trong điều trị bằng phương pháp y học cổ truyền và y học dân gian Việt Nam.

Với nhu cầu sử dụng thuốc từ dược liệu và thực phẩm chức năng có thành phần chính là các dược liệu có nguồn gốc thiên nhiên đang ngày càng tăng dẫn đến nhu cầu khai thác cây dược liệu là rất lớn. Vì thế cần có những nghiên cứu nhằm kết hợp hài hòa giữa khai thác với việc duy trì, bảo vệ tái sinh chúng. Đặc biệt cần có chiến lược phát triển cây dược liệu một cách phù hợp và khoa học.

Chính vì lý do này, Chương trình khoa học và công nghệ cấp quốc gia giai đoạn 2016-2020 “Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế” đã phê duyệt đề tài "Nghiên cứu bảo tồn và phát triển một số loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên, tạo ra một số sản phẩm có giá trị cao từ một vài loài dược liệu chủ lực, bản địa quý hiếm của Tây Nguyên", mã số TN18/C09 thực hiện trong giai đoạn 07/2018-12/2020 với các mục tiêu sau:

1. Xác định được danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên. Kèm theo cơ sở dữ liệu về sự tồn tại, khả năng sử dụng và tiềm năng phát triển của chúng.

2. Xây dựng được mô hình bảo tồn và phát triển một số loài dược liệu chủ lực, quý hiếm của khu vực Tây Nguyên theo hướng sản xuất hàng hóa.

3. Bảo tồn và phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao, tăng cường bảo hộ vốn tri thức truyền thống về sử dụng dược liệu của cộng đồng các dân tộc vùng Tây Nguyên.

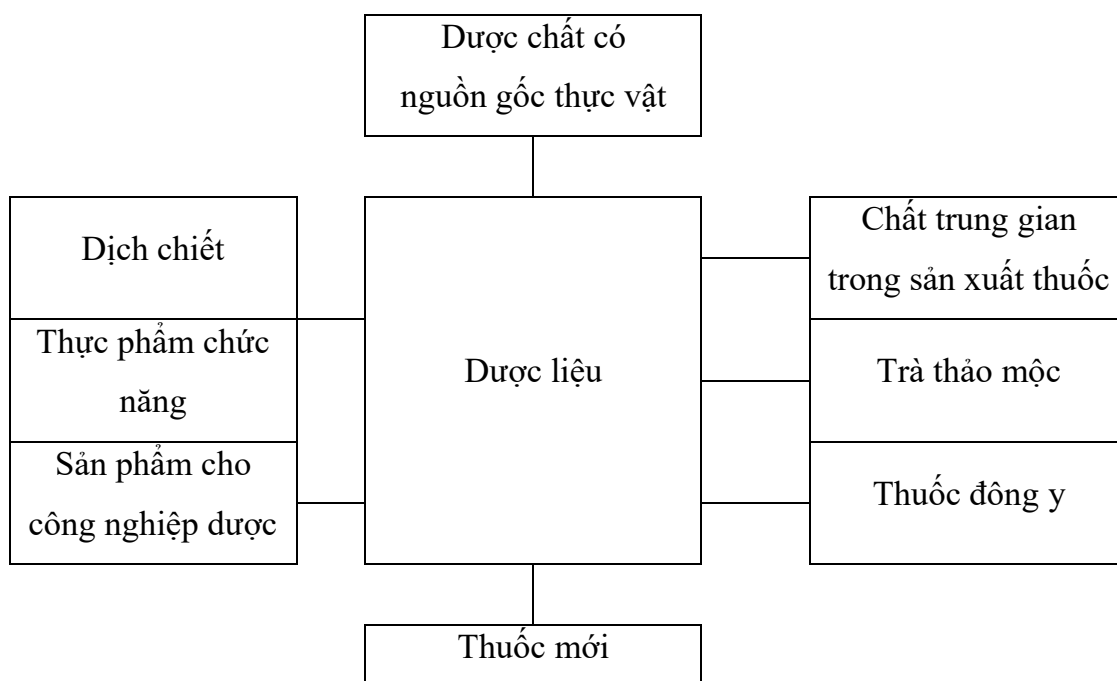
4. Hoàn thiện công nghệ để tạo ra các sản phẩm có chất lượng cao, có sức cạnh tranh trên thị trường trong nước và khu vực, góp phần phát triển kinh tế xã hội của khu vực Tây Nguyên.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU Ở NGOÀI NƯỚC

Nhiều loại thực vật đã được sử dụng từ thời cổ đại để chữa bệnh và cải thiện sức khoẻ cho loài người. Nhưng đến ngày nay, theo tổ chức Y tế Thế giới (WHO) nhiều loại dược liệu vẫn còn được sử dụng bởi đa số dân cư ở hầu hết các nước đang phát triển. Dược liệu thực vật sử dụng trong y học cổ truyền (Trung Quốc, Ấn Độ, Ả Rập...) cũng như các loại thuốc bổ sung hoặc thay thế được sử dụng ở các nước công nghiệp phát triển đang ngày càng trở nên thông dụng ở khắp thế giới. Ba thập kỷ qua đã chứng kiến sự tăng trưởng đáng kể của thị trường thảo dược trên toàn thế giới. Theo Ban thư ký của Công ước đa dạng sinh học, doanh số bán các sản phẩm thảo dược trên toàn cầu đạt 80 tỷ USD vào năm 2016.

Việc sử dụng dược liệu có thể tóm tắt trong sơ đồ sau:



Hiện nay, 80% dân số ở các nước đang phát triển vẫn đang sử dụng các loại dược phẩm có nguồn gốc thực vật cho nhu cầu chăm sóc sức khoẻ của mình và WHO ước tính rằng trong những thập kỷ tới cũng khoảng 80% dân số thế giới cũng phải dựa vào các loại thuốc từ thực vật do 30% thuốc được bán trên toàn thế giới có chứa các hợp chất có nguồn gốc thực vật. Do sự quan tâm ngày càng tăng đối với cây thuốc và hương liệu, cơ hội tạo thu nhập mới đang mở ra cho người dân nông thôn. Với nhiều dược liệu

thu thập được từ tự nhiên, việc thu và bán dược liệu đang là nguồn thu nhập chính cho nhiều hộ gia đình nông thôn cực kỳ nghèo. Tuy nhiên, mặc dù các dược liệu thu được có thể có giá trị rất lớn trong sản phẩm cuối cùng, nhưng người thu hái thường chỉ nhận được một phần nhỏ giá trị cuối cùng, bởi vì họ không biết giá trị thực, không thể bán nó dưới dạng do người mua yêu cầu hoặc không thể bán cho những người mua này.

Trên thế giới, việc xác lập danh lục dược liệu chủ lực cũng đều dựa trên nhu cầu và điều kiện hiện tại của dược liệu. Theo nghiên cứu của Kuipers [73], có hai nguồn cung cấp cây thuốc là: i) thu hái từ tự nhiên; và ii) trồng trọt. Trong đó: Thu hái từ tự nhiên: phần lớn dược liệu được buôn bán (cả trong nước và quốc tế) hiện nay vẫn từ thu hái từ tự nhiên và chỉ một số rất ít loài được trồng. Rất khó để cung cấp số liệu chính xác toàn cầu về khối lượng của cây thuốc thu hái từ tự nhiên do rất khó phân biệt giữa chúng với dược liệu trồng trọt. Vì mục đích lợi nhuận, cho nên người thu mua dược liệu tự nhiên chủ yếu là “khai thác tài nguyên thiên nhiên” hơn là quản lý bền vững nguồn tài nguyên này. Do vậy nhiều quốc gia đã có những quy định kiểm soát việc thu hái dược liệu từ tự nhiên. Chẳng hạn, Ấn Độ đã cấm xuất khẩu một số loài hoang dã dưới dạng nguyên liệu thô, mặc dù việc xuất khẩu thành phẩm có chứa dược liệu này được cho phép [60]. Bởi vì phần lớn dược liệu ở Himalaya được thu hoạch tự nhiên và khai thác quá mức dẫn đến nhiều loài có nguy cơ tuyệt chủng như *Nardostachys jatamansi*, *Aconitum spp...* Trong khi đó: Dược liệu trồng: thích hợp cho việc sử dụng quy mô lớn, chẳng hạn như việc sản xuất thuốc của các công ty dược phẩm, đòi hỏi phải có các sản phẩm đạt tiêu chuẩn cả về hàm lượng hoạt chất cũng như chất lượng. Argentina, Trung Quốc, Hungary, Ấn Độ, Ba Lan và Tây Ban Nha là những quốc gia điển hình cho việc trồng dược liệu trên quy mô lớn. Tuy vậy, việc trồng cây thuốc ở nhiều nước cũng phải đối mặt với một số vấn đề: Phần lớn nông dân có đất nông nghiệp nhỏ; thiếu lao động ở vùng cao; thời gian dài giữa trồng trọt và thu hoạch; những khó khăn trong việc xin giấy phép trồng các loài bị hạn chế; thiếu công nghệ và khó khăn trong việc trồng cây thuốc (đặc biệt ở vùng cao); ngay cả khi đã phát triển công nghệ canh tác, vấn đề đóng gói, cất giữ, vận chuyển và kiểm soát chất lượng vẫn tồn tại; kinh nghiệm cũng như nhu cầu của nông dân thường không được đưa vào các hoạt động nghiên cứu của phòng thí nghiệm; sự liên kết giữa các viện nghiên cứu và ngành công nghiệp còn yếu; thiếu giống và chất lượng giống thấp; giá quá thấp để thu hút sự quan tâm của nông dân. Một số

kinh nghiệm từ các nước đang phát triển để cải thiện điều kiện ở giai đoạn sản xuất và sau thu hoạch trong vấn đề trồng dược liệu: trồng dược liệu theo tiêu chuẩn GAP (good agricultural practice – thực hành nông nghiệp tốt) [110], có hệ thống các phòng thí nghiệm chất lượng cấp khu vực hoặc quốc gia với sự kiểm soát chất lượng đảm bảo, thành lập các hợp tác xã nông dân có thể đáp ứng nhu cầu của các nhà xuất khẩu.

◆ Tình hình nghiên cứu và phát triển dược liệu chủ lực của một số quốc gia chính trong sản xuất và xuất khẩu dược liệu

- Trung Quốc

Trung Quốc là quốc gia có nhiều loại dược liệu được sử dụng trong y học cổ truyền Trung Quốc, cho đến nay Trung Quốc đã có danh mục Dược liệu chủ lực với khoảng 30 loài. Đến nay, Trung Quốc là nhà cung cấp dược liệu lớn nhất thế giới, trong giai đoạn 1990-2001 tổng diện tích cây thuốc tăng từ 153.000 ha lên 827.000 ha. Chính vì là quốc gia xuất khẩu dược liệu lớn, Trung Quốc sớm tập trung giải quyết 04 vấn đề liên quan đến dược liệu nêu trên. Ví dụ việc quy hoạch và vùng trồng nguyên liệu, hệ thống GAP đã được áp dụng thử nghiệm ở Trung Quốc từ năm 1999 và được chính thức thông qua vào ngày 1 tháng 6 năm 2003. Các đồn điền theo tiêu chuẩn GAP đã trồng hơn 30 loài thực vật, như hoa mẫu đơn, nhân sâm, cam thảo và đương quy... hiện đang được phân phối trên khắp Trung Quốc. Tuy nhiên, GAP được coi là một gánh nặng cho việc sản xuất các loại thuốc truyền thống vì nó đã làm tăng chi phí và giảm sản lượng. Đối với việc tiêu chuẩn hóa dược liệu, Trung Quốc đã xây dựng phương pháp phân tích dấu vân tay sắc ký, việc định tính định lượng các thành phần trong dược liệu nếu chỉ phụ thuộc vào một hay hai chất chỉ thị hoá học thì hiệu quả đánh giá không cao. Các nghiên cứu trên thế giới đều cho thấy việc phân tích đồng thời nhiều chỉ thị, đặc biệt là những chỉ thị đặc trưng có tỉ lệ phân bố rõ ràng trong dược liệu sẽ cho phép thu được kết quả đánh giá chính xác. Khi đó, việc phân tích sẽ đảm bảo được tính khách quan, ổn định và đáng tin cậy trong việc kiểm soát, chuẩn hoá chất lượng thảo dược. Các nhà khoa học Trung Quốc đã sử dụng kỹ thuật sắc ký vết HPLC để chứng minh tính ổn định của tổng lượng flavonoid của các mẫu cận chiết lá cây Bạch quả (*Ginkgo biloba*) trên thị trường cùng với sự phát hiện của những mẫu có pha trộn hoá chất khác [59, 74, 75]. Tuy nhiên, tại Trung Quốc vẫn còn tồn tại rất lớn ở vấn đề thực hiện việc hiện đại hóa sản xuất thuốc từ dược liệu chủ lực. Do nhu cầu thị trường, dẫn đến việc mất kiểm soát nguyên liệu ban

đầu, do thiếu sự chuẩn hóa, nhiều khi sự nhầm lẫn xuất phát từ sự giống nhau về hình thái học của cây trong cùng nơi thu mẫu, từ sự nhận dạng cây hoặc từ những sai sót từ các mẫu thực vật nhập khẩu. Một ví dụ điển hình từ một vị thuốc có tên Độc hoạt. Độc hoạt thường là tên gọi cho các rễ của loài thuộc chi *Angelica* (họ Trúc Đào Apiaceae) như Xuyên độc hoạt (*A. laxiflora* Diels và *A. megaphylla* Diels), Hương độc hoạt (*A. pubescens* Maxim.). Vị thuốc này cũng có thể thuộc một chi khác như Ngưu vị độc hoạt (*Heracleum hemsleyanum* Michx.), Độc hoạt lông mềm (*Heracleum lanatum* Michx.) hay thậm chí thuộc một họ khác như Cửu nhỡn độc hoạt (*Aralia cordata*, họ Nhân Sâm, Araliaceae). Hoặc như cùng một loại dược liệu có tên Thổ tam thất nhưng có đến vài loài khác nhau có cùng tên như vậy, đó là *Gynura pseudochina*, *Stahlianthus thorelii* Gagn, thường được sử dụng thay thế cho *Panax notoginseng* mà không có sự quan tâm đến những thay đổi về hóa học và hoạt tính sinh học của cây. Ví dụ ở Trung Quốc người ta hay sử dụng vị thuốc Tusizi bào chế từ dây tơ hồng Trung Quốc (*Cuscuta chinensis*) để tăng cường sinh lực, chống lão hoá nhờ tác dụng của thành phần flavonoid. Tuy nhiên thực tế dược liệu này lại bị thay thế bởi một loài giống về hình thái là tơ hồng nam (*C. australis*) [61, 63, 113]

- Ấn Độ

Ấn Độ có nền văn hoá y học cổ truyền và truyền thống sử dụng cây thuốc lâu đời, thể hiện qua kiến thức nhận dạng dược liệu, phương pháp thu thập và chế biến, các hoạt tính sinh học và sử dụng. Mặc dù thương mại nội địa tăng đáng kể và kinh nghiệm lâu năm về thảo dược, nhưng thời gian trước Ấn Độ đã không thể xuất khẩu đến các thị trường của các nước phát triển. Để giải quyết vấn đề này, Ấn Độ đã xác định được các dược liệu có liên quan đến các bệnh ở các nước phát triển mà không có thuốc hoặc chỉ có liệu pháp giảm nhẹ. Đồng thời cũng phải đảm bảo chất lượng của dược liệu để xuất khẩu. Chất lượng của dược liệu bao gồm danh tính, độ tinh khiết và an toàn, cũng như hiệu quả. Dược coi là Quốc gia có nhiều dược liệu xuất khẩu, nhưng Ấn Độ cũng đang gặp phải những vấn đề nêu trên, đặc biệt có nhiều thách thức liên quan đến chuẩn hóa chất lượng dược liệu Ấn Độ: Không giống như các thuốc đối chứng có một hoặc một số hợp chất có thể dễ dàng được chuẩn hóa, thực vật có rất nhiều các cấu tử góp phần vào hoạt tính sinh học của chúng; Hoạt tính sinh học cũng khác nhau theo thời gian (ngày,

mùa, vị trí chòm sao) và vùng (khô cằn, đầm lầy); Có sự khác biệt trong hoạt tính sinh học tùy thuộc vào cách thu, xử lý và bảo quản [92].

- Hàn Quốc

Trong bộ sách y học cổ truyền lâu đời của Hàn Quốc “Dong-i-bo-kam” có ghi nhận khá nhiều dược liệu quý trong số đó có Nhân sâm, Linh chi, Thiên ma... Bên cạnh Nhân sâm, Linh chi rất nổi tiếng, Thiên ma cũng là loại thảo dược rất tốt cho người bị suy nhược thần kinh, chóng mặt và mắc các bệnh về não. Để có được dược liệu chủ lực là Sâm Hàn Quốc thì Hàn Quốc đã phát triển Nhân sâm Hàn quốc thành dược liệu chủ lực theo hình thức nào? Ngược lại lịch sử cho thấy, đầu thập niên 1940, nhân sâm giả và kém chất lượng của nhiều doanh nghiệp tư nhân tràn lan khắp Hàn Quốc, gây ảnh hưởng uy tín đến ngành nhân sâm quốc gia. Vì thế nên, Cục Độc Quyền của chính quyền Joseon bấy giờ đã lập thành nhãn hiệu Cheong Kwan Jang, và đóng dấu trên các bao bì sản phẩm Sâm Cao Ly xuất khẩu nhằm để phân biệt với những hàng giả mạo, kém chất lượng vốn không thuộc sự quản lý của nhà nước. Đi kèm theo đó là Chính phủ Hàn Quốc rất chú trọng đến việc giải quyết các vấn đề liên quan đến phát triển dược liệu chủ lực. Đến năm 1999, các quy trình trồng trọt, phát triển sản phẩm, nghiên cứu dược lý, kiểm định chất lượng sâm đã ổn định. Đồng thời, việc ưu tiên giải quyết vấn đề thực hiện việc hiện đại hóa sản xuất thuốc từ dược liệu chủ lực) được chú trọng. Chính vì thế sản phẩm hồng sâm muốn được công nhận chính hãng phải được cam kết đảm bảo đúng tiêu chuẩn chất lượng của hồng sâm 6 tuổi. Hiện nay Nhân sâm Hàn Quốc đã trở thành 01 trong những dược liệu mang lại nguồn thu rất lớn cho Hàn Quốc, các sản phẩm từ Nhân sâm Hàn Quốc đã và đang được nhiều khách hàng trên thế giới sử dụng. Bên cạnh đó, sản phẩm dược liệu Linh Chi của Hàn Quốc cũng đang chiếm lĩnh các thị trường dược liệu trong khu vực và trên thế giới.

- Malaysia

Tại Malaysia có ba nguồn dược liệu được sử dụng trong công nghiệp: thu ở rừng, trồng và nhập khẩu. Trước đây do không kiểm soát được quá trình thu hái đã dẫn đến sự cạn kiệt nguồn tài nguyên hoang dã. Ngành dược phẩm thảo dược ở Malaysia đang phải đối mặt với tình trạng thiếu nguyên liệu thô của địa phương để đáp ứng nhu cầu của ngành công nghiệp đang phát triển, kết quả là ngành công nghiệp này phụ thuộc rất nhiều vào nhập khẩu nguyên liệu thô và các loại thảo mộc chế biến. Phần lớn dược liệu

nhập khẩu đến từ Trung Quốc, Ấn Độ và Indonesia. Singapore và Thái Lan là những nhà nhập khẩu dược liệu chính từ Malaysia [102]. Ngành dược liệu của Malaysia đã phát triển nhanh chóng và có tiềm năng trở thành một ngành công nghiệp quan trọng trong nền nông nghiệp của Malaysia. Các chế phẩm thực vật (bao gồm cả chiết xuất, chất tẩy rửa và tinh dầu) đã được ứng dụng trong nhiều loại sản phẩm bao gồm thực phẩm và đồ uống, dược phẩm, dược liệu, dược liệu cổ truyền, chăm sóc sức khỏe, sản phẩm tăng cường chữa bệnh, bổ sung chế độ ăn uống, hương vị và nước hoa, mỹ phẩm và đồ vệ sinh cá nhân và hàng tiêu dùng khác nhau, như thuốc nhuộm, chất tẩy rửa, thuốc trừ sâu sinh học và các hóa chất công nghiệp khác. Chính sách Nông nghiệp Quốc gia lần ba của Malaysia (1998-2010) xác định ngành Công nghiệp sản phẩm tự nhiên là một nhóm ngành công nghiệp "mới và tương lai". Bao gồm các sản phẩm tự nhiên dựa trên các chất thực vật (thảo mộc, cây thuốc, gia vị và các loại cây hương liệu) và thực vật thủy sinh cũng như động vật. Trong những năm gần đây, thị trường dược phẩm tăng trưởng khoảng 10-15%/năm, ngành công nghiệp thực phẩm liên quan đến sức khỏe tăng trưởng 20%/năm và thị trường mỹ phẩm và đồ vệ sinh tăng 10%/năm.

- *Các nước khối OECD (Organization for Economic Co-operation and Development – Hợp tác và Phát triển Kinh tế)*

Trong OECD thì EU, Hoa Kỳ và Nhật Bản là những nước tham gia nhiều nhất vào thị trường dược liệu. Trong đó, hàng nhập khẩu luôn lớn hơn (thường là đáng kể) so với xuất khẩu. Gần 95% tổng lượng nhập khẩu của Châu Âu đối với cây thuốc (HS 1211) (trong và ngoài EU) là cây, bộ phận của cây, hạt và hoa quả, được sử dụng trong nước hoa, thuốc men hoặc thuốc trừ sâu, thuốc diệt nấm hoặc các mục đích tương tự, dạng tươi hoặc khô, cắt và chưa cắt, nghiền hoặc bột (HS 121190). 5% còn lại là hàng nhập khẩu rễ cam thảo (HS 121110) và rễ gừng (HS 121190). Các nhà cung cấp gốc rễ nhân sâm vào EU là Trung Quốc, Hàn Quốc và Hoa Kỳ, trong khi các nhà cung cấp gốc rễ cam thảo là Turkmenistan, Trung Quốc và Azerbaijan. EU xuất khẩu cây thuốc chủ yếu là trong nội bộ EU. Các thị trường ngoài EU chủ yếu là Hoa Kỳ, Brazil và Nhật Bản, chủ yếu nhập khẩu rễ cây cam thảo tươi hoặc khô từ EU, trong khi Úc, Mỹ và Thụy Sĩ là nhà nhập khẩu chính của nhân sâm. Các sản phẩm thảo dược có thể được bán ở Châu Âu như là các sản phẩm dược hoặc các sản phẩm thực phẩm.

◆ Giải pháp chính của các quốc gia trong nghiên cứu, phát triển dược liệu chủ lực

Trước sự phát triển nhanh của thị trường dược liệu trên thế giới, từ kinh nghiệm của các nước, tổ chức y tế thế giới đã khuyến khích các nước phát triển ngành dược liệu theo một số định hướng sau:

+ Duy trì và tăng cường việc trồng cây thuốc theo tiêu chuẩn GACP (Good Agricultural and Collection Practices) [110] nhằm đảm bảo tính toàn vẹn, chất lượng, hiệu quả và an toàn của dược liệu; đưa ra lựa chọn đa dạng hoá cây trồng và tăng thu nhập của nông dân, đặc biệt là đất nông nghiệp bị bỏ trống.

+ Tăng cường bảo tồn các nguồn tài nguyên sinh học đa dạng cũng như bảo tồn và phát triển kiến thức bản địa việc sử dụng dược liệu truyền thống.

+ Nghiên cứu phát triển các giống năng suất cao, thuần hoá, ...

+ Nghiên cứu sâu về tính chất hóa học, dược học của dược liệu truyền thống và tiêu chuẩn hóa dược liệu.

+ Nghiên cứu và phát triển sản phẩm sử dụng dược liệu

+ Phát triển và bảo hộ quyền sở hữu trí tuệ.

1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU Ở TRONG NƯỚC

Dược liệu của Việt Nam hiện nay đang được sử dụng nhiều và có tiềm năng xuất khẩu, bao gồm: Sâm Ngọc Linh, Trinh nữ Hoàng cung, Thông đỏ, Hồi [14]. Theo Quyết định số 439/QĐ-TTg ngày 16/04/2012 của Thủ tướng Chính phủ Phê duyệt Danh mục sản phẩm quốc gia thực hiện từ năm 2012 thuộc Chương trình phát triển sản phẩm quốc gia đến năm 2020 bao gồm 9 sản phẩm chính thức và 3 sản phẩm dự bị (Sản phẩm lúa gạo Việt Nam chất lượng cao, năng suất cao; Sản phẩm thiết bị siêu trường, siêu trọng; Thiết bị nâng hạ có sức nâng lớn (gồm 09 nhóm sản phẩm nâng hạ); Giàn khoan dầu khí di động; Sản phẩm bảo đảm an ninh, an toàn mạng thông tin; Sản phẩm động cơ sử dụng cho phương tiện giao thông vận tải; Sản phẩm vắc-xin phòng bệnh cho người và vật nuôi của Việt Nam; Sản phẩm cá da trơn Việt Nam chất lượng cao và các sản phẩm chế biến từ cá da trơn; Sản phẩm nấm ăn và nấm dược liệu; Sản phẩm vi mạch điện tử) trong đó sản phẩm nấm ăn và nấm dược liệu là sản phẩm dự bị [12]. Và gần đây, sản phẩm sâm Việt Nam cũng đã được bổ sung vào danh mục sản phẩm quốc gia theo Quyết định số 787/QĐ-TTg ngày 05/06/2017 của Thủ tướng Chính phủ [13].

Sau gần 30 năm bảo tồn, khai thác và phát triển nguồn dược liệu, Việt Nam đã hình thành mạng lưới bảo tồn nguồn gen tại 7 vùng sinh thái, bao gồm: Đồng bằng sông Hồng (Hà Nội), Trung du phía Bắc (Tam Đảo), vùng núi cao phía Bắc (Lào Cai), Bắc Trung Bộ (Thanh Hóa), Tây Nguyên (Đà Lạt - Lâm Đồng), Duyên hải Nam Trung Bộ (Phú Yên) và Đông Nam Bộ (TP. Hồ Chí Minh). Đã khảo sát và xác định được số loài cây thuốc thuộc diện cần bảo tồn tại các vườn quốc gia: Cát Bà, Núi Chúa, Cát Tiên, Bạch Mã, Bù Gia Mập, Pù Mát và Khu bảo tồn thiên nhiên Vĩnh Cửu. Lưu giữ và bảo tồn 1.531 nguồn gen, thuộc 884 loài cây thuốc tại 7 vườn cây thuốc trong và ngoài ngành y. Đặc biệt, trong công tác bảo tồn đã tập trung vào những loài quý hiếm, những loài vốn trước kia có nhiều, nay bị suy giảm nghiêm trọng, hoặc có nguy cơ đe dọa tuyệt chủng.

1.2.1. Danh mục dược liệu của vùng Tây Nguyên

Hiện nay chưa có danh mục dược liệu chính thức của vùng Tây Nguyên, cho nên các số liệu công bố từ các Bộ, Ngành, Viện, Trường... chưa thống nhất. Các số liệu điều tra gần đây trong khuôn khổ Chương trình Tây Nguyên III thực hiện trong giai đoạn 2011-2015 cho thấy ở Tây Nguyên có trên 1.600 loài (tự nhiên và trồng trọt):

- Đề tài “*Điều tra, nghiên cứu các cây thuốc được sử dụng trong các bài thuốc dân tộc tại Tây Nguyên và đề xuất các biện pháp bảo tồn*” (mã số TN3/T10), thuộc Chương trình Tây Nguyên III thực hiện trong giai đoạn 2011-2015 [24] đã đạt nhiều kết quả trong xây dựng danh lục các cây thuốc được sử dụng trong các bài thuốc dân tộc. Qua điều tra, nghiên cứu tại Tây Nguyên, đã ghi nhận được 1.633 loài cây làm thuốc thuộc 898 chi của 230 họ trong 6 ngành thực vật bậc cao có mạch (Psilotophyta – Khuyết lá thông, Lycopodiophyta – Thông đất, Equisetophyta - Cỏ tháp bút, Polypodiophyta – Dương xỉ, Pinophyta - Thông và Magnoliophyta - Ngọc lan); trong đó ngành Ngọc lan (Magnoliophyta) là đa dạng nhất, với 197 họ (chiếm 85,65% tổng số họ), 846 chi (chiếm 94,21% tổng số chi) và 1.559 loài (chiếm 95,47% tổng số loài); tiếp đến là ngành Dương xỉ (Polypodiophyta) có 20 họ (chiếm 8,70%), 28 chi (3,12%) và 37 loài (2,27%); ngành Khuyết lá thông (Psilotophyta) và ngành Cỏ tháp bút (Equisetophyta) kém đa dạng nhất với 1 họ (chiếm 0,43%), 1 chi (chiếm 0,11%) và 1 loài (chiếm 0,06%).

Cũng như các khu hệ thực vật khác, các loài cây thuốc thường tập trung ở các họ thực vật lớn. Các họ có nhiều loài làm thuốc là: Họ Cúc (Asteraceae) – 88 loài; Họ Thầu

dầu (Euphorbiaceae) – 79 loài; Họ Cà phê (Rubiaceae) – 78 loài; Họ Đậu (Fabaceae) – 76 loài; Họ Trúc đào (Apocynaceae) – 37 loài; Họ Cam (Rutaceae) – 37 loài; Họ Bạc hà (Lamiaceae) – 36 loài; Họ Dâu tằm (Moraceae) – 32 loài; Họ Lan (Orchidaceae) – 30 loài; Họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae) – 30 loài. 10 họ đa dạng nhất, chiếm 4,35% tổng số họ và số loài là 518, chiếm 31,77% tổng số loài.

Nguồn tài nguyên cây thuốc tại Tây Nguyên có các chi nhiều loài như: chi *Ficus* (17 loài), chi *Ardisia* (12 loài), chi *Dendrobium* (12 loài), chi *Dioscorea* (12 loài), chi *Solanum* (11 loài), chi *Smilax* (11 loài), chi *Polygonum* (10 loài), chi *Euphorbia* (9 loài), chi *Hedyotis* (9 loài), các chi *Allium*, *Rubus*, *Croton*, *Schefflera*, *Senna*, *Syzygium*, *Zanthoxylum* đều có 8 loài. 16 chi đa dạng nhất chiếm 1,78 % tổng số chi với 159 loài, chiếm 9,74 % tổng số loài.

Kết quả điều tra thực vật dân tộc học đã phát hiện 51 loài mới bổ sung cho danh lục cây thuốc của Tây Nguyên. Với kết quả này, đã nâng tổng số các loài cây thuốc có ở Tây Nguyên lên con số 1.633 loài.

Trong số 51 loài mới được bổ sung cho danh lục các loài cây thuốc ở Tây Nguyên, có 1 loài được ghi nhận trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) ở mức độ Rất nguy cấp (CR), đó là loài *Smilax petelotii* T. Koyama, 5 loài dùng chữa cho các chứng bệnh xương khớp, 7 loài chữa các bệnh về đường tiêu hóa, 7 loài dùng làm thuốc bổ dưỡng, 3 loài chữa các bệnh đau họng, 2 loài chữa các bệnh liên quan tới ung thư, còn lại các loài khác chữa các bệnh khác như bệnh phụ nữ, đau răng, rấn cắn, các bệnh về thận, v.v.

Từ 1.633 loài cây thuốc được ghi nhận có ở Tây Nguyên, thống kê được 167 loài thuộc 75 họ thực vật bậc cao có mạch được ghi nhận trong các tài liệu về các loài cây thuốc cần được bảo vệ ở các mức độ khác nhau như Sách Đỏ Việt Nam [19], Danh lục đỏ IUCN (2014) [76], Nghị định 32/2006/NĐ-CP của Chính phủ về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm [27]. Trong số đó 88 loài được ghi nhận trong Sách Đỏ Việt Nam (2007), trong đó nhóm loài Rất nguy cấp (CR) có 4 loài là Thông nước – *Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) K. Koch, Ba gạc ấn độ - *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz, Vù hương – *Cinnamomum parthenoxylon* (Jack) Meisn, Kim cang petelot – *Smilax petelotii* T. Koyama; Nguy cấp (EN) 37 loài; Sẽ nguy cấp (VU) có 47 loài; 78 loài cây thuốc ở Tây Nguyên được ghi nhận. Tuy nhiên, có tới 68 loài thuộc nhóm ít lo ngại (LC), chỉ có 1 loài ở tình trạng bị đe dọa Rất nguy cấp (CR), 2 loài thuộc

tình trạng bị đe dọa ở mức độ nguy cấp (EN), 5 loài ở tình trạng sẽ nguy cấp (VU), 2 loài ở nhóm sẽ bị đe dọa (NT); 37 loài trong NĐ 32/2006/NĐ-CP, trong đó: có 4 loài thuộc nhóm Thực vật rừng nghiêm cấm khai thác, sử dụng vì mục đích thương mại (IA), có 32 loài thuộc nhóm Thực vật rừng hạn chế khai thác, sử dụng vì mục đích thương mại (IIA).

- Đề tài “*Nghiên cứu tri thức bản địa trong sử dụng và bảo tồn tài nguyên sinh vật phục vụ phát triển kinh tế - xã hội và bảo tồn bản sắc dân tộc của các cộng đồng dân tộc thiểu số khu vực Tây Nguyên*” (mã số TN3/T13) [20], đã ghi nhận được hơn 610 loài cây làm thuốc theo kinh nghiệm của người dân, 247 loài cây làm rau ăn, 47 loài sử dụng để sản xuất hàng thủ công mỹ nghệ, 39 loài để nhuộm màu, 43 loài cây có chất độc, 73 loài cây làm cây hoa và cây cảnh và hơn 20 loài làm men rượu. Đồng thời đã ghi nhận kinh nghiệm sử dụng các loài động vật, trong đó 133 loài làm thực phẩm, 17 loài làm thuốc, 01 loài dùng trong nhuộm màu và các loài động vật có khả năng làm cảnh.

- Đề tài “*Điều tra, sàng lọc nguồn tài nguyên dược liệu tỉnh Lâm Đồng theo định hướng hoạt tính sinh học nhằm phát triển các loài dược liệu có giá trị cao*” (mã số TN3/T14) [28] cho thấy riêng tỉnh Lâm Đồng có 399 loài cây thuốc và 604 loài có khả năng làm thuốc thuộc 162 họ thực vật (chỉ tính các loài hiện có trong tự nhiên, không tính các loài cây thuốc được trồng trong các cơ quan, tổ chức và trong dân). Đã bổ sung vào danh mục cây thuốc Lâm Đồng theo thống kê của DS. Nguyễn Thọ Biên (2015) [18] thêm 156 loài cây thuốc và theo danh mục của đề tài cấp tỉnh Lâm Đồng (2012) 201 loài cây thuốc [23].

Với quy hoạch hiện có, kết quả nghiên cứu, điều tra trong thời gian trước, có thể thấy rằng chưa có chính thức danh mục dược liệu chủ lực cho vùng Tây Nguyên, Những loài dược liệu có tiềm năng phát triển lớn cho Tây Nguyên ở hiện tại và tương lai có thể đưa vào danh mục dược liệu chủ lực sau khi phân tích, đánh giá đầy đủ các tiêu chí chính, bao gồm: Sâm Ngọc linh (*Panax vietnamensis*), Tom trọng (*Tylophora sp.*), Đảng sâm (*Codonopsis javanica*), Sa nhân tím (*Amomum longiligulare*), Actiso (*Cynara scolymus*), Đỗ trọng (*Eucommia ulmoides*), Bạch chuột (*Atractylodes macrocephala*), Huyền sâm (*Scrophularia buergeriana*), Đương quy (*Angelica sinensis*), Sâm cau (*Curculigo orchioides*), Lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus*), Cam thảo (*Glycyrrhiza uralensis*), Nghệ (*Curcuma longa*), Gừng (*Zingiber officinale*), Ý dĩ (*Coix*

lacryma-jobi), Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum*), Xáo leo (*Paramignya scandens*), Dầu Trà beng (*Dipterocarpus obtusifolius*), Quả ươi (*Scaphium macropodium*), Cây vàng đằng (*Coscinium fenestratum*), Kim tuyến đá vôi (*Anoectochilus calcareus*), Thổ phục linh (*Smilax glabra*)...

1.2.2. Quy hoạch phát triển dược liệu, bảo tồn và phát triển nguồn gen dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên

Đến nay đã có 11 cây dược liệu được các doanh nghiệp trồng theo nguyên tắc, tiêu chuẩn “Thực hành tốt trồng trọt và thu hái cây thuốc” GACP - WHO, gồm: Trinh nữ hoàng cung, actiso, bìm bìm biếc, rau đắng đất, đinh lăng, diệp hạ châu đắng, cỏ nhọ nôi, tần dày lá... Hiện nay, một số doanh nghiệp đang tiếp tục nghiên cứu, hoàn thiện để công bố GACP - WHO như: Công ty Dược Lâm Đồng (actiso), Domesco (gác và nghệ), Traphaco (hoài sơn), BVPharma (kim ngân) và DKPharma (kim ngân, ý dĩ). Tuy nhiên, việc nuôi trồng theo GACP -WHO mới chỉ đáp ứng một phần nhu cầu của doanh nghiệp. Trong khi đó, ngành dược liệu vẫn còn nhiều khó khăn, thách thức. Đó là, cây dược liệu có khả năng khai thác tự nhiên còn rất ít (206 loài); nhiều loài quý hiếm đang đứng trước nguy cơ cạn kiệt. Trước đây, nhiều loài dược liệu có thể khai thác hàng chục ngàn tấn/năm (hoàng tinh, hoàng liên, đảng sâm, ba kích...) thì nay đã được đưa vào sách Đỏ. Việc khai thác, nuôi trồng dược liệu còn tự phát, quy mô nhỏ, dẫn đến sản lượng không ổn định, giá cả biến động. Nhiều dược liệu không được nuôi trồng theo quy trình, thiếu quy hoạch, hoặc trồng lẫn với vùng lúa, hoa màu. Kỹ thuật trồng, chăm sóc chủ yếu theo kinh nghiệm. Sử dụng phân bón, thuốc bảo vệ thực vật, nguồn nước tưới còn tùy tiện. Việc thu hái không tuân thủ theo mùa, vụ và tuổi của cây, làm ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu, đồng nghĩa với việc ảnh hưởng đến chất lượng thuốc. Bên cạnh đó, việc thương mại hóa để đưa các bài thuốc quý trong cộng đồng ra sử dụng rộng rãi còn nhiều hạn chế. Thậm chí, nhiều bài thuốc quý đã bị thất truyền, mai một, hoặc bị đánh cắp, giả mạo. Chủ yếu mới dừng lại ở việc xuất khẩu dược liệu dưới dạng thô, dẫn đến giá trị dược liệu thấp. Tây Nguyên gồm 5 tỉnh: Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông, và Lâm Đồng có diện tích gần 5,5 triệu ha (đất nông nghiệp hơn 300.000 ha, đất lâm nghiệp 3,1 triệu ha, đất chưa sử dụng là 2 triệu ha, trong đó có 2,6 triệu ha là đất trống đồi núi trọc, cây lùm bụi) được thiên nhiên ưu đãi về khí hậu, thổ nhưỡng, địa hình, thủy văn đa dạng do đó nguồn tài nguyên về hệ thực vật, động vật, khoáng vật vô cùng đa dạng

và phong phú, trong đó có rất nhiều loài được sử dụng làm dược liệu. Đây là vùng núi và cao nguyên có độ cao trung bình 500 - 800m. Phía Đông Bắc khối núi Kon Tum với những đỉnh trên 2.000m. Ở phần giữa là cao nguyên Lang Biang cao 1.500m, cao nguyên Di Linh cao 800 - 1.000m. Nét nổi bật của địa hình Tây Nguyên là tính phân bậc rõ ràng, bậc cao nằm về phía đông, bậc thấp nằm về phía tây. Khí hậu vùng này thường có 4 tháng thiếu ẩm (từ tháng 12 đến tháng 3 năm sau), lượng mưa thời kỳ này quá nhỏ. Lượng mưa trong mùa mưa phong phú, nhiều nơi 4 tháng liên tục lượng mưa trên 200mm/tháng (tháng 5-9). Nhiệt độ trung bình năm của vùng đạt từ 21-23°C. Tháng nóng nhất là tháng 3 và tháng 4, tháng lạnh nhất là tháng 1. Nhiệt độ tối cao tuyệt đối biến đổi mạnh, biên độ nhiệt độ ngày đêm dao động từ 8-10°C.

Vùng Tây Nguyên hầu hết là đất đỏ Bazan có độ cao trung bình 500 - 600 m, xen kẽ những đồi sa diệp thạch và granit lác đác có cả đá vôi. Cao nguyên Đăk Lăk thấp hơn cao nguyên Gia Lai, cao trung bình 400 - 500m (Buôn Ma Thuột, 461m) hình dáng như một cái chảo úp khổng lồ, cao ở giữa, thoải về các phía. Ở phía nam cả vùng các cao nguyên Di Linh, Bảo Lộc, loại đất chiếm diện tích là đất đỏ feralit nâu từ đá bazan dày 10 -12m, đất xám bạc màu, đất đỏ vàng trên đá trầm tích và đất phù sa sông suối.

Thảm thực vật nằm ở độ cao 1.000m, đặc trưng là thảm thực vật nằm trong các kiểu khí hậu vùng cao, với kiểu rừng kín lá rộng, lá kim mưa ẩm á nhiệt đới, kiểu rừng lá kim ẩm ôn đới núi trung bình và kiểu rừng thưa lá kim hơi khô kiểu á nhiệt đới.

Hạn chế chính của vùng Tây Nguyên là thiếu nước mùa khô. Rất nhiều loài cây thuốc thích nghi với điều kiện sinh thái đa dạng phong phú của vùng núi Tây Nguyên, đặc biệt là cây sâm Ngọc Linh, một cây thuốc quý hàng đầu Việt Nam, cũng có nguồn gốc ở vùng này.

❖ Từ kết quả nghiên cứu của TS. Nguyễn Văn Dư khi triển khai đề tài TN3/T10 thuộc Chương trình Tây Nguyên III thực hiện trong giai đoạn 2011-2015 [24] cho thấy:

Công tác bảo tồn các loài cây quý hiếm trong đó có nhiều loài cây thuốc ở Tây Nguyên đã được làm từ rất sớm. Năm 1996, lần đầu tiên Sách Đỏ Việt Nam được xuất bản, trong đó ghi nhận nhiều loài cây thuốc ở Tây Nguyên trong tình trạng bị đe dọa tuyệt chủng. Theo Sách Đỏ xuất bản lần 2 năm 2007, 57 loài cây thuốc thuộc 36 họ thực vật bậc cao ở Tây Nguyên đã được ghi nhận cần được bảo tồn. Trong số chúng có 4 loài bị đe dọa ở mức rất nguy cấp (**CR**), đó là Thông nước – *Glyptostrobus pensilis* (Staunt.)

K. Koch, Ba gạc ấn độ - *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz, Vù hương – *Cinnamomum parthenoxylon* (Jack) Meisn, Kim cang petelot – *Smilax petelotii* T. Koyama, 28 loài bị đe dọa tuyệt chủng ở mức nguy cấp (EN), 37 loài ở mức độ sẽ nguy cấp (VU). Các nguyên nhân làm cho các loài cây thuốc bị đe dọa tuyệt chủng đầu tiên phải kể đến nạn khai thác một cách triệt để, thu mua ồ ạt với số lượng lớn, liên tục trong nhiều năm nay. Những loài bị thu mua nhiều nhất là Lan kim tuyến, Vàng đắng, Thổ phục linh, Bình vôi... Trong 4 loài được cho là đang bị đe dọa tuyệt chủng ở mức độ rất nguy cấp ở trên, chỉ có 2 loài thường xuyên bị khai thác cho mục đích làm thuốc là Ba gạc ấn độ và Kim cang petelot, 2 loài còn lại bị đe dọa tuyệt chủng do bị khai thác lấy gỗ là chủ yếu chứ không phải mục đích làm thuốc. Điều đó cho thấy nguyên nhân chặt phá rừng khai thác gỗ ảnh hưởng rất lớn tới sự tồn tại của các loài cây thuốc. Nguyên nhân lớn nữa làm cho các loài thực vật nói chung và cây thuốc nói riêng trở nên bị đe dọa tuyệt chủng là sự mở rộng diện tích trồng cây công nghiệp. Mỗi năm có hàng ngàn ha rừng bị chặt phá để làm nương trồng cà phê, hồ tiêu, cao su, ca cao, v.v. Tiếp đó là sự tăng dân số, di dân tự do, đô thị hóa nông thôn, v.v. làm cho các loài thực vật nói chung và cây thuốc nói riêng không còn nơi cư trú. Theo báo cáo của đề tài TN3/X12 “Vấn đề quản lý và sử dụng đất đai ở Tây Nguyên” thuộc chương trình Tây Nguyên 3 [16], các con số thống kê của Bộ NN&PTNT tổng diện tích rừng vùng Tây Nguyên là gần 2,8 triệu ha, trong đó diện tích rừng tự nhiên là, 2,6 triệu ha (92,4% diện tích có rừng, và diện tích rừng trồng khoảng 0,2 triệu ha. Độ che phủ của thảm thực vật rừng là 50,7%. Tuy nhiên, theo báo cáo này con số thực tế thì giảm đi nhiều. Tổng diện tích có rừng chỉ là 1,8 triệu ha, độ che phủ là 32,4%. Đây chính là nguyên nhân lớn nhất là cho các loài thực vật nói chung và các loài cây thuốc nói riêng trở nên bị đe dọa tuyệt chủng. Bên cạnh việc xây dựng Sách Đỏ và Danh lục Đỏ Việt Nam, một loạt các Vườn Quốc gia và Khu bảo tồn đã được thành lập. Hiện tại Tây Nguyên có 6 Vườn Quốc gia đó là Chư Mom Ray, Kon Ka King (Gia Lai), Yok Đôn, Chư Yang Sinh (Đắk Lắk), Bidoup Núi Bà (Lâm Đồng), Tà Đùng (Đắk Nông) và 5 khu Bảo tồn thiên nhiên: Ngọc Linh (Kon Tum), Kon Cha Răng (Gia Lai), Ea Sô, Nam Ka (Đắk Lắk), Nam Nung.

Đây chính là phương án bảo tồn tại chỗ các loài thực vật và cây thuốc khá hữu hiệu. Tuy nhiên, công việc bảo tồn và khai thác các loài quý hiếm này trong các vườn Quốc gia hay khu Bảo tồn thiên nhiên vẫn còn đang là việc đáng phải bàn. Vì thực sự

nguồn gen quý hiếm này vẫn chưa được khai thác và phát triển hay các nghiên cứu cơ bản về chúng vẫn còn rất hạn chế.

Theo kết quả điều tra của đề tài ngoại trừ cây sâm Ngọc linh hiện đã ở trong tình trạng cực kỳ hiếm ngoài thiên nhiên nhưng đã có nhiều dự án, đề tài bảo tồn loài này, còn hầu hết các loài cây thuốc ở Tây Nguyên chưa được bảo tồn theo đúng nghĩa của nó. Trong số chúng, nhiều loài đang nằm trong các Vườn Quốc gia hay Khu bảo tồn thiên nhiên.

❖ Theo PGS.TS. Lưu Đàm Cư khi thực hiện đề tài đề tài TN3/T13 [20] cho thấy:

Trên cơ sở các kết quả thu được về tri thức bản địa của người dân Tây Nguyên về tài nguyên cây thuốc, bước đầu đề xuất các giải pháp sau đây nhằm quản lý và sử dụng hiệu quả nguồn tài nguyên cây thuốc trong khu vực:

a. Bảo tồn và phát triển một số loài cây thuốc quý hiếm, có triển vọng kinh tế lớn

- Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*), Araliaceae

- Lan kim tuyến (*Anoectochilus spp.*), Orchidaceae

- Cây tổ kiến (*Hydnophytum formicarum*), Rubiaceae

- Cây tổ kiến gai (*Myrmecodia tuberosa*), Rubiaceae

- Cây Sâm đá (*Curcuma sp.*), Zingiberaceae

Đây là các loài cây thuốc người dân có tri thức khá tốt về điều kiện sinh sống, nơi phân bố, mùa hoa quả. Đồng thời đây là các loài được sử dụng theo kinh nghiệm dân gian trong cộng đồng.

b. Phát triển các loài có thể phát triển thành hàng hóa, gồm các loài

- Hoàng đằng (*Fibraurea tinctoria*), Menispermaceae. Đây là loài được người dân sử dụng nhiều, có hiểu biết về điều kiện sống. Hoàng đằng có thể trồng trong vườn gia đình, trong rừng tái sinh. Cây có thị trường lớn.

- Các loài khúc khắc (*Smilax spp.*), Smilacaceae. Có thể phát triển trong rừng tái sinh kết hợp khoanh nuôi bảo vệ rừng. Cây có thị trường lớn.

- Nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*), Ganodermataceae. Nhu cầu nấm linh chi lớn, các loài hoang dại có giá trị kinh tế cao hơn dược liệu trồng.

- Cây vàng đắng (*Cosciniium fenestratum*), Menispermaceae. Nhu cầu nguyên liệu lớn, hiện nước ta phải nhập nguyên liệu để sản xuất berberin.

c. Nghiên cứu sản xuất sản phẩm thương mại từ tri thức bản địa về cây thuốc

Từ kinh nghiệm sử dụng của người dân, nhóm tác giả thực hiện đề tài đề xuất nghiên cứu sản xuất các sản phẩm sau:

- Nghiên cứu sản xuất sản phẩm tẩy da từ cây Ba đậu (Croton). Cây Ba đậu được người Mơ Nông gọi là cóc con khóc, được chị em phụ nữ sử dụng tẩy da chết để da mặt trắng và mịn màng. Đây là sản phẩm được sử dụng rộng rãi và có nhu cầu lớn.

- Nghiên cứu sản xuất các sản phẩm thuốc chữa bệnh từ kinh nghiệm sử dụng của đồng bào Tây Nguyên. Cụ thể là nghiên cứu sản xuất chế phẩm chữa bệnh gan từ các loài Ô kiến và Bá bệnh.

d. Tạo điều kiện để duy trì và phát huy tri thức dân tộc trong phòng và chữa bệnh

❖ Dựa trên kết quả nghiên cứu đề tài TN3/T14 [28]: đã bước đầu nghiên cứu bảo tồn và phát triển một số loài dược liệu có hoạt tính sinh học cao như Thảo nam sơn (*Xantolis cambodiana* (Dub.) Van Roy), Mạo đài (*Mitrephora thorelii* Pierre), Xáo leo (*Paramignya scandens* (Griff.) Craib.), Cuông lá nhám (*Aralia dasyphylla* Miq.), Dầu trà beng (*Dipterocarpus obtusifolius* Teijsm. ex Miq.), Kỳ nam kiến (*Hydnophytum formicarum* Jack.), Huỳnh đàn Nam bộ (*Dysoxylum cochinchinensis* Pierre)...

❖ Theo PGS. TS. Đinh Thị Phòng, chủ nhiệm đề tài “Nghiên cứu tính đa dạng nguồn gen di truyền và thành phần hóa học một số loài lá kim ở Tây Nguyên, đề xuất giải pháp bảo tồn, sử dụng và phát triển bền vững”, mã số TN3/T15 [29] thì cần có kế hoạch bảo tồn nguồn gen kịp thời đối với cả 7 loài lá kim Đinh tùng, Bách xanh, Du sam núi đất, Kim giao núi đất, Thông đà lạt, Thông lá dẹt và Hoàng đàn giả. Trong đó cần chú ý ưu tiên ngay 3 loài Bách xanh núi đất, Thông đà lạt và Đinh tùng.

Ngoài ra ở các vùng Tây Nguyên có phát triển trồng được các cây thuốc như :

- Ở độ cao trên 1.500m thì các cây thuốc phát triển tốt như: Ngũ vị tử, Sơn tra, Dương quy, Bạch Truật, Đỗ trọng, Huyền sâm.

- Ở độ cao thấp hơn ở Tây Nguyên có thể trồng các cây thuốc như: Sả, Bạc hà, Tràm Úc, Gấc, Gừng, Đẳng sâm, Nghệ vàng, Sa nhân tím, Trinh nữ hoàng cung, Ý dĩ

Tại Lâm Đồng, những cây thuốc đã được trồng chủ yếu là: actisô khoảng 80 ha, chủ yếu trồng tại TP. Đà Lạt (70 ha) và huyện Đơn Dương (10 ha); diệp hạ châu trồng ở Cát Tiên, diện tích khoảng 40 ha; đẳng sâm khoảng 10 ha trồng ở huyện Lạc Dương; phúc bồn tử trồng ở huyện Đức Trọng, Lạc Dương với hơn 4 ha; dó bầu khoảng 90 ha, do Công ty cổ phần dó bầu Hương Quảng Nam trồng ở huyện Đam Rông đã sang năm

thứ bảy (để gây trầm hương). Các cây đương quy, đinh lăng, sa nhân trồng tại thành phố Bảo Lộc, huyện Lâm Hà và Đức Trọng. Nấm linh chi và các loại nấm dược liệu khác được gây trồng ở Đà Lạt, Bảo Lộc, Đức Trọng, Đơn Dương. Cây dược liệu cũng đã nằm trong chương trình phát triển nông nghiệp toàn diện của tỉnh, Lâm Đồng phấn đấu từ nay đến năm 2020, sẽ tiếp tục phát triển khoảng 300 ha cây dược liệu, trong đó phát triển 125 ha cây atiso, 50 ha cỏ ngọt, 30 ha cây thông đỏ, 70 ha cây diệp hạ châu, gắn phát triển vùng nguyên liệu, chế biến với các hoạt động du lịch, thương mại. Cùng với việc mở rộng diện tích, tỉnh Lâm Đồng sẽ hỗ trợ doanh nghiệp phát triển dự án trồng cây dược liệu dưới tán rừng trên cơ sở phát triển những giống cây dược liệu đặc hữu có giá trị kinh tế cao.

Gia Lai có tiềm năng đất đai rộng lớn, thổ nhưỡng phì nhiêu, vị trí địa lý thuận lợi, nguồn nước dồi dào và khí hậu nhiệt đới gió mùa, là những điều kiện thuận lợi để phát triển nhiều loại cây thảo dược quý. Hiện nay, trên địa bàn tỉnh chỉ có một số hộ trồng cây dược liệu, chủ yếu là đinh lăng, bìm bìm..., chuyên cung cấp cho nhà sản xuất theo đơn đặt hàng. Doanh nghiệp đầu tư về dược liệu có thể kể đến Trường Sinh Group đang tập trung đầu tư phát triển trồng 11 loại cây dược liệu trên địa bàn tỉnh như: sa kê, vối, đinh lăng, actiso, dứa cạn, đậu sắng, hoàng ngọc, diệp hạ châu, xuyên tâm liên...

Theo quy hoạch của tỉnh Đắk Lắk, diện tích cây dược liệu ổn định khoảng 300 – 500 ha gồm các loại cây đinh lăng, hòe, gừng, đương quy, cao lương, hoài sơn, làm nguyên liệu cho các hãng dược. Công ty Cổ phần Solavina đã triển khai dự án đầu tư vùng trồng nghệ (dự kiến khoảng 200 ha nghệ đỏ tại các huyện Buôn Đôn, Krông Pắc, Ea Kar, M'Đrắk và TP. Buôn Ma Thuột để phục vụ cho hoạt động chiết xuất tinh chất curcumin), định vị thương hiệu cây nghệ theo tiêu chuẩn GACP – WHO; thành lập trung tâm nghiên cứu, bảo tồn, sản xuất và phát triển giống dược liệu tại Đắk Lắk. Công ty TNHH MTV lâm nghiệp Buôn Ja Wằm đã đưa vào trồng tập trung 5 ha cây hòe và trồng xen canh dưới cây công nghiệp 5 sào cây đinh lăng tại xã Ea Kiết và dự kiến trồng 20 ha dược liệu gồm đinh lăng, hòe, ý dĩ và đã ký kết hợp đồng bao tiêu sản phẩm lâu dài với Công ty Cổ phần dược phẩm Vimedimex (TP. Hồ Chí Minh).

Tại Kon Tum, với quyết tâm xây dựng thương hiệu, thương mại hóa sản phẩm cây dược liệu gắn với chế biến, tiêu thụ sản phẩm theo chuỗi giá trị, đưa Kon Tum trở thành vùng dược liệu trọng điểm của khu vực và cả nước, với mục tiêu đến năm 2020 bảo tồn,

mở rộng được 1.000 ha sâm Ngọc Linh và 300 ha dược liệu bản địa, gồm: đảng sâm, đương quy và lan kim tuyến. Toàn tỉnh hiện đã trồng được trên 315 ha Sâm Ngọc Linh, hàng chục ha đảng sâm, lan kim tuyến, đương quy, ngũ vị tử...

Tại Đắk Nông, Từ các kết quả điều tra nghiên cứu về nguồn tài nguyên thực vật nói chung và tài nguyên cây thuốc nói riêng đã ghi nhận được 910 loài thuộc 559 chi, 181 họ và 6 ngành thực vật. Một số tổ chức đã phát triển trồng dược liệu như Hợp tác xã Dịch vụ-Nông lâm nghiệp Nam Hà Cư Jút phát triển hơn 160 ha gấc tại huyện Cư Jút, Công ty Cổ phần sản xuất chế biến nông lâm sản dược liệu sạch Đắk Nông đầu tư trồng một số loài cây thuốc xen cây ăn quả trên diện tích khoảng 30 ha như Hòe, Chùm ngây, Trà hoa vàng, Sả, Lá lốt, Củ cộc, Mạch môn tại xã Đắk Ha (huyện Đắk Glong)... Cùng với một số đề tài, nghiên cứu trồng dược liệu như Công ty Cổ phần Nicotex Đắk Lắk triển khai dự án sản xuất thử nghiệm cấp Nhà nước “Khai thác và phát triển nguồn gen Bạch truật” tại xã Nam Bình, huyện Đắk Song, Viện Sinh học nhiệt đới thực hiện đề tài KH-CN cấp tỉnh Đắk Nông “Nghiên cứu chuẩn hóa nguồn dược liệu và tạo sản phẩm thực phẩm bảo vệ gan từ cao chiết cây An xoa (*Tổ kén-Helicteres sp.*) tại tỉnh Đắk Nông”...

Tổng hợp từ các kết quả điều tra, nghiên cứu, hiện trạng phát triển và quy hoạch vùng dược liệu phù hợp với điều kiện khí hậu và thổ nhưỡng của Tây Nguyên, cần xác định danh mục dược liệu cần nghiên cứu, phát triển, bảo tồn cho vùng Tây Nguyên trong thời gian tới. Riêng đối với cây Sâm Ngọc Linh và Năm Linh chi đã là sản phẩm Quốc gia thì có những chương trình khác thực hiện.

1.2.3. Nghiên cứu hóa học các loài dược liệu, tiêu chuẩn hóa dược liệu

Nhiều loài dược liệu ở khu vực Tây Nguyên đã được nghiên cứu sâu về thành phần hóa học, hoạt tính sinh học, dược lý tại các Viện nghiên cứu, trường Đại học trong khuôn khổ các đề tài, dự án cấp tỉnh, cấp bộ và nhà nước trong thời gian 10 năm qua. Kết quả cho thấy hàng trăm hợp chất đã được phân lập, đánh giá hoạt tính sinh học trong đó có nhiều hợp chất mới với các tính chất dược lý thú vị, làm cơ sở quan trọng cho việc định hướng nuôi trồng, tạo sản phẩm về sau.

10 loài dược liệu, thực vật có hoạt tính sinh học cao được đi sâu nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học bao gồm: Quả ươi (*Scaphium macropodium*), Ô kiến (*Hydnophytum formicarum*), Kỳ nam gai (*Myrmecodia tuberosa*), Xáo leo

(*Paramignya scandens*), Dầu trà beng (*Dipterocarpus obtusifolius*), Trứng cua (*Melochia umbellata*), Gò đồng nách (*Gordonia axillaris*), Thảo nam sơn (*Xantolis cambodiana*), Mạo đài (*Mitrephora thorelii*), Cò nóc Trung bộ (*Curculigo annamitica*) [28] với kết quả:

- Nghiên cứu hóa học cây Xáo leo - *Paramignya scandens*: đã phân lập được 19 hợp chất (Methyl isolimonate, (6R,9S)-roseoside, β -D-glucopyranoside methyl salicylate, Adenosine, 1,1-Dimethylprop-2-enyl 1-O- β -D-glucopyranoside, Syringin, Atripilside B, Paramignylol B, Paramignylol A, *trans*-N-p-coumaroyl tyramine, 2,6-dimethoxy-4[(1E)-prop-1-enyl]phenyl O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside, Gusanlungionoside C, Betulalbuside B, Syringaresinol di-O- β -D-glucopyranoside, Paramignyoside C, Paramignyoside E, Paramignyoside D, Paramignyoside A, Paramignyoside B), trong đó có 7 hợp chất mới: Paramignylol A, Paramignylol B, Paramignyoside A, Paramignyoside B, Paramignyoside C, Paramignyoside D, Paramignyoside E. Toàn bộ 19 hợp chất này đã được thử hoạt tính gây độc tế bào trên 4 dòng tế bào ung thư, kết quả cho thấy 2 hợp chất mới là paramignylol A và paramignylol B thể hiện hoạt tính kháng tế bào ung thư trên cả 4 dòng ung thư biểu mô - KB, ung thư hắc tố SK-Mel-2, ung thư phổi LU-1 và ung thư vú MCF7.

- Từ cây Trứng cua - *Melochia umbellata* đã phân lập được 11 hợp chất (Tilioside, Kaempferol-3-glucopyranoside, (+)-Catechin, Phenethyl alcohol β -D-glucopyranoside, *cis*-3-hexenyl-glucoside, Methyl salicylate β -D-glucopyranoside, (6S, 9R)-Roseoside, Lupeone, Lupeol, Benzyl O- β -D-glucoside, Melochialoid) trong đó có 1 hợp chất mới là Melochialoid.

- Từ Quả ươi - *Scaphium macropodum* đã phân lập được 10 hợp chất (Daucosterol, 6,7,9 α -trihydroxy-3,8,11 α -trimethylcyclohexo-[d,e]-coumarin, *trans*-p-coumaric acid, 3,4-dihydroxybenzaldehyde, (1'R,3'S,5'R,8'S,2E,4E)-dihydrophaseic acid 3'-O- β -D-glucopyranoside, 3-methylbutan-1-ol β -D-glucopyranoside, Mansonone H, Carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylenel)]bis[carbamic acid] dimethyl ester, Scaphiumlignan, (R)-lasiiodiplodin), trong đó có 1 hợp chất mới là Scaphiumlignan.

- Từ lá cây Dầu trà beng - *Dipterocarpus obtusifolius*, đã phân lập được 11 hợp chất: Blumenol A, (+)-neo-olivil, Tilioside, Kaempferol 3-O-(2'',6''-di-O-(E)-p-

coumaroyl- β -D-glucopyranoside), Myricetin, Myricetin 3-O- α -arabinofuranoside, Myricitrin, Daphneresinol, Methyl gallate, Bergenin, Asiatic acid.

- Từ cây Ô kiến không gai - *Hydnophytum formicarum* đã phân lập được 9 hợp chất: Dauscosterol, (+)-Catechin, Butin, 10-carboxyloganin, 3-hydroxyphenyl β -D-glucopyranoside, Asperulosidic acid, Deacetylasperulosidic acid, 6 α -Hydroxygeniposide, 10-Hydroxyloganin.

- Từ cây Ô kiến gai - *Myrmecodia tuberosa* đã phân lập được 9 hợp chất: Mymecodoide A, erythro-Guaiacyglycerol, Mymecodoide B, Asperuloside, Premnosidic acid, Deacetylasperulosidic acid, Kaempferol 3-sophoroside, asperulosidic acid, 10-carboxyloganin.

- Từ cây Cỏ nóc Trung bộ - *Curculigo annamitica* đã phân lập được 8 hợp chất: sitosterol, Dauscosterol, axit 2,6-dimethoxybenzoic, 3-(hydroxymethyl)-4-methoxyphenol, Curculigoside, Nyasicol acetonide, Orcinol glucoside, Nyasicoside.

- Từ Cây Thảo nam sơn - *Xantolis cambodiana* đã phân lập được 10 hợp chất: Syrigin, Quercetin, Myricetin, Myricitrin, Dauscosterol, β -amyrin acetate, Taraxerol, sitosterol, Kaempferol, Isoorientin.

- Từ Cây Mạo đài - *Mitrephora thorelii* đã phân lập được 10 hợp chất: sitosterol, Axit oleanonic, Axit 3 β -acetoxy ursolic, 7-Hydroxycoumarin, Cycloartanol, Dauscosterol, Astragalın, Juglanin, Quercetin, Quercitrin.

- Từ Cây Gò đồng nách - *Gordonia axillaris* đã phân lập được 4 hợp chất: epicatechin, Catechin, β -amyrin palmitate và β -sitosterol.

Từ dịch chiết thô của 104 mẫu thuộc 104 loài cây thuốc thuộc đề tài TN3/T10 [24] đã thử hoạt tính sinh học cho thấy: số mẫu có hoạt tính ức chế sự phát triển của ít nhất 1 chủng VSVKĐ là 61 mẫu, tương đương 58,65%; có 8 mẫu có hoạt tính gây độc ít nhất 1 dòng tế bào (7,7%); số mẫu có hoạt tính chống oxy hóa là 41 mẫu (39,4%).

- Cao vỏ thân Chòi mòi chua (*Antidesma acidum* Retz.) ở các nồng độ khác nhau 25 μ g/ml, 50 μ g/ml, 150 μ g/ml, 200 μ g/ml đều thể hiện tác dụng ức chế hoạt độ enzym Xanthin oxidase lần lượt là 31,75%, 52,34%, 55,66% và 61,14%. Tác dụng ức chế enzym tăng khi nồng độ tăng.

- Cao chiết vỏ thân cây Chòi mòi chua (*Antidesma acidum* Retz.) có tác dụng hạ acid uric huyết thanh trên mô hình gây tăng acid uric cấp trên chuột nhắt.

- Cao chiết lá Lộc vừng (*Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn) có tác dụng hạn chế sự tăng đường huyết trên chuột nhắt gây tăng glucose huyết bằng STZ. Với liều 3g dược liệu/kg cân nặng, sau khi cho chuột uống 2 giờ, 3 giờ và 4 giờ, có tác dụng hạ glucose huyết so với trước khi uống với tỷ lệ % hạ glucose huyết tương ứng là 11,17%; 18,46% và 17,71%. Với liều 3,8g dược liệu/kg cân nặng, sau khi cho chuột uống 1-2-3 và 4 giờ, đều có tác dụng hạ glucose huyết với tỷ lệ % hạ glucose huyết tương ứng là 22,75%; 25,63%; 31,59% và 26,36%.

- Cao chiết cây Xân (*Harrisonia perforata* Merr.) với liều 680 mg/kg cân nặng có tác dụng lợi tiểu thể hiện qua sự tăng thể tích nước tiểu sau 10-24h và tăng thải Na⁺ và có tác dụng làm hạ huyết áp rõ rệt trên mô hình chuột gây tăng huyết áp bằng cortison acetat.

- Cao chiết lá cây Vọng cách lá rộng (*Premna latifolia* Roxb.) có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình chuột thực nghiệm bị gây độc bằng Paracetamol. Kết quả này cho phép phát triển dược liệu Vọng cách lá rộng ứng dụng trong hỗ trợ điều trị bệnh gan.

- Cao chiết thân cây Tom trong (*Tylophora sp.*) với liều 0,5g/kg/ngày và 1g/kg/ngày, uống liên tục trong 28 ngày, có tác dụng điều trị rối loạn lipid máu trên mô hình gây tăng lipid máu bằng hỗn hợp gây tăng.

- Đã phân lập được 47 hợp chất sạch từ 10 mẫu dịch chiết của 10 loài cây thuộc nghiên cứu sâu, phát hiện được 2 hợp chất hoàn toàn mới cho khoa học. Lần đầu tiên phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 05 hợp chất từ cây *Dalbergia vietnamensis* (Caviunin 7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyran-oxide, 3',5-dihydroxy-2,4-dimethoxydalbergiquinol, Dalspinin 7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyran-oxide, 3',4-dihydroxy-2,5-dimethoxy-dalbergiquinol, Caviunin trong đó có 2 hợp chất mới lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên là hợp chất Dalspinin 7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-β-D-glucopyran-oxide và 3',4-dihydroxy-2,5-dimethoxy-dalbergiquinol. Lần đầu tiên phân lập được 4 hợp chất từ cây *Antidesma acidum* đó là: Xanthoxyletin, Alloxanthoxyletin, 5-demethyltoddaculin và *trans*-4-(1-propenyl)-phenol-β-D-glucopyranoside.

- Lần đầu tiên đã phân lập được 2 hợp chất lignan và 2 sterol từ dịch chiết của cây *Zanthoxylum rhetsa*. Dựa vào các số liệu phổ thu được kết hợp đối chiếu so sánh với các tài liệu đã công bố, cấu trúc hóa học của chúng được xác định là Icariside E5

(ZW7.3), (+)-Lyoniresinol 3a-O- β -D-glucopyranoside (ZW8.1), β -sitosterol (ZE2.1) và daucosterol (ZE4.3).

- Lần đầu tiên phân lập và tinh chế được 08 hợp chất từ mẫu cây Cắm xe *Xylocarpa* (Roxb.) Taub. Đó là (-)-Butin, (-)-Epicatechin, Anadanthoside, (-)-Fisetinidol, (+)-Catechin, Methyl gallate, Myricitrin và (+)-Galocatechin.

- Lần đầu tiên phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 04 hợp chất từ cây *Tylophora* sp. Đó là các hợp chất: 1-(3',4'-dihydroxy-cinnamoyl)cyclopentane-2,3-diol, Olivil, (+)-Catechin và (+)-Cyclooolivil.

- Đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 4 hợp chất từ cây *Barringtonia acutangula*: gallic acid, (+)-epigallocatechin, (+)-gallocatechin 4'-O-methyl ether, (+)-gallocatechin 4'-O-methyl ether 5-O- β -D-glucopyranoside.

- Phân lập được 4 hợp chất từ cây *Antidesma walkeri*, đó là 3-methyl-5-hexanolide 3-O- β -D-glycopyranoside (ZA21A), (+)-lyoniresinol 3a-O- β -D-glucopyranoside (ZA22), a-tocopherol (ACH31), trans-phytol (ACH26. Trong đó hợp chất ZA21A là hợp chất mới, 3 hợp còn lại lần đầu tiên được phát hiện từ cây *Antidesma walkeri*.

- Đã phân lập được 04 hợp chất trong dịch chiết của loài *Sida acuta*. Bốn hợp chất thu được đều lần đầu tiên được phân lập từ cây *Sida acuta*. Đó là 20-Hydroxyecdysone, 20-Hydroxyecdysone 3- β -D-glucopyranoside, carbonylbis[imino(6-methyl-3,1-phenylene)]bis[carbamic acid]dimethyl ester và Corchoionoside C.

- Đã phân lập và tinh chế được 06 hợp chất từ mẫu cây *Harrisonia perforata* bằng các phương pháp sắc ký kết hợp. Đó là các hợp chất Perforatic acid, Harronin I, epigallocatechin, 5-hydroxy-7-methoxy-2-methyl-8-prenylchromone và 7-(ethan-1"-one)-4,6-dihydroxy-5(3",3'-dimethylallyl)-2S(1'S-hydroxy-1'-5'-dimethylhex-4'-enyl)-2,3-dihydrobenzofuran, Greveichromenol,. Trong số đó hợp chất HP9 lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên và HP7 lần đầu tiên được phân lập từ cây *Harrisonia perforata*.

- Lần đầu tiên phân lập và xác định cấu trúc của 4 hợp chất từ dịch chiết cây *Dillenia hookeri* Pierre. Đó là β -Sitosterol, β -Sitosterone, Betulinic acid và Oleanolic acid.

Một số kết quả nghiên cứu của đề tài TN3/T13 [20] cho thấy:

+ Từ cây Hoàng đằng đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của hai hợp chất furanoditerpenoid là chất fibraurin và fibleucin. Một điều đáng quan tâm là hợp

chất fibleucin đã được đăng ký trong hai sáng chế của Trung Quốc là một thành phần trong các thuốc hỗ trợ và điều trị viêm cấp và mãn tính, đau và co thắt dạ dày, viêm và thấp khớp mãn tính. Gần đây, hợp chất fibraurin được công bố thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh ở liều 100 mg/kg trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan. Các hợp chất fibraurin và fibleucin được phân lập với hàm lượng khá cao từ cây hoàng đằng *F. tinctoria* tạo cơ sở khoa học cho việc sử dụng loài cây thuốc này làm dược liệu trong hỗ trợ và điều trị các bệnh viêm, dạ dày và khớp.

+ Từ Nấm linh chi đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của một tritecpen dạng khung lanostan là axit ganoderic C1. Như vậy, các công trình đã được công bố trên thế giới cũng như các nghiên cứu của chúng tôi khẳng định thành phần hóa học chính và điển hình của các loài nấm linh chi là các hợp chất tritecpen dạng khung lanostan. Đây là một lớp chất thể hiện nhiều hoạt tính sinh học đáng quan tâm đặc biệt là hoạt tính kháng ung thư và kháng viêm. Điều này tạo cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu sử dụng các loài nấm linh chi nói chung cũng như thành phần các hợp chất tritecpen dạng khung lanostan làm dược liệu trong việc hỗ trợ và điều trị các bệnh ung thư và viêm.

+ Từ cây Ô kiến đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của một hợp chất flavonoit là (-)-butin đã được công bố thể hiện nhiều hoạt tính sinh học đáng quan tâm, đặc biệt là hoạt tính chống ôxi hóa. Như vậy, cây ô kiến có chứa thành phần các hợp chất flavonoit, đặc biệt là sự phân lập được hợp chất (-)-butin tạo cơ sở khoa học cho việc sử dụng cây thuốc này trong các dược liệu có tác dụng chống ôxi hóa.

1.2.4. Sản xuất thuốc từ dược liệu

Với nguồn dược liệu phong phú và đa dạng, cho đến nay đã có rất nhiều các sản phẩm dược phẩm có thành phần là các dược liệu ở Tây Nguyên. Tuy nhiên, những sản phẩm này thường có nét rất đặc trưng là đang ở dạng trà túi lọc, bột khô hoặc ở dạng sơ khai chưa định hình rõ thương hiệu, ví dụ một số dược liệu đặc trưng mang thương hiệu của Tây Nguyên như Cao Atiso đặc sản Đà Lạt; Trà Atiso, bột sâm dây ngọc linh Kon Tum, Sản phẩm từ Sa nhân tím...

Ngay cả các dược liệu đang tiêu thụ khá nhiều như Bạch truật, Huyền sâm, Đương quy, Sâm cau, Lan kim tuyến, Cam thảo cũng chỉ ở dạng thực phẩm bảo vệ sức khỏe dưới dạng trà túi lọc hoặc đóng gói dưới dạng bột dược liệu thô.

Như vậy, có thể thấy so với những quốc gia trong khu vực thì khâu tạo ra sản phẩm với những thương hiệu và hình thức thu hút được thị trường chúng ta còn thua xa. Nguyên nhân có thể từ việc chưa áp dụng được việc hiện đại hóa sản xuất thuốc từ dược liệu, quy trình tạo ra các sản phẩm này còn quá thô sơ do đó chỉ đáp ứng được ở dạng Trà túi lọc hoặc dạng bột, chính vì thế các dược liệu hầu hết được tiêu thụ dưới dạng thô, giảm giá trị kinh tế và hầu như khó có thể xuất khẩu dưới dạng thành phẩm. Nguyên nhân này vô hình chung đã làm cho con đường để đưa dược liệu của vùng có thể trở thành dược liệu chủ lực mang lại nguồn lợi kinh tế cho cộng đồng dân cư trong khu vực Tây Nguyên bị kéo dài ra. Rõ ràng việc đầu tư được các nghiên cứu bài bản về hóa học, hoạt tính sinh học, tiêu chuẩn hóa dược liệu và tiến tới hiện đại hóa sản xuất thuốc từ dược liệu của vùng Tây nguyên là con đường phải đi để có thể mang đến lợi ích kinh tế thu được từ việc bảo tồn, nuôi trồng và chế biến dược liệu tại khu vực này.

Trên cơ sở đánh giá tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước cho thấy tầm quan trọng và lợi ích của việc có được danh mục dược liệu chủ lực bao gồm:

- Bảo tồn và nuôi giữ chủ động được nguồn gen các dược liệu được coi là chủ lực, bởi vì nếu không bảo tồn và nuôi giữ được nguồn gen thì những dược liệu đã và đang là chủ lực của 01 Quốc gia sẽ bị dịch chuyển và chuyển vị sang các Quốc gia khác và sẽ trở thành dược liệu chủ lực tại các khu vực có điều kiện về sinh thái, sinh học tốt.

- Chủ động cung cấp nguyên liệu cho thị trường tiêu thụ trên cơ sở các vùng trồng dược liệu đủ đảm bảo không làm suy kiệt khi khai thác quá mức các dược liệu.

- Kiểm soát được chất lượng dược liệu và góp phần đáng kể trong đánh giá, kiểm soát chất lượng các dược liệu trước tình trạng dược liệu thật, giả đang diễn ra không khác gì “*Thực phẩm bẩn*”. Hạn chế tình trạng sử dụng các dược liệu rẻ tiền, chất lượng thấp trong các thực phẩm chức năng đang bán trên thị trường.

- Tăng cường năng lực và nguồn lợi cho dân cư tại khu vực có dược liệu chủ lực, nâng cao đời sống cho dân cư.

Thực tiễn nghiên cứu cho thấy tình hình chung về nghiên cứu dược liệu chủ lực ở Việt Nam còn nhiều vấn đề cần giải quyết. Dược liệu “chủ lực” ở một số khu vực được coi là tiềm năng dược liệu của Việt Nam phân chia theo 07 vùng sinh thái cơ bản hiện nay vẫn đang chạy theo nhu cầu của thị trường. Cơ bản là chưa đáp ứng được những yêu cầu thực tế cho các vùng kinh tế. Một vấn đề chung vẫn đang tồn tại hiện nay là còn

tồn tại tình trạng nhiều khu vực cùng thực hiện nuôi trồng đồng thời những dược liệu đang thịnh hành, đang được thu mua và tiêu thụ lượng nhiều, ví dụ khi nguồn tiêu thụ Nghệ vàng dùng làm nguyên liệu sản xuất curcumin gia tăng, nhiều địa phương trong cả nước đã tiến hành trồng và tạo ra một thị trường khó kiểm soát nguồn nguyên liệu Nghệ vàng. Không chủ động được nguồn cung cấp bền vững dẫn đến tình trạng khai thác cạn kiệt, suy giảm cấp bách đến nguồn gen và dẫn đến tình trạng nhiều dược liệu đã đưa vào sách đỏ để bảo tồn.

- Dược liệu được coi là “chủ lực” của khu vực Tây Nguyên hiện trạng theo các số liệu thống kê và từ kết quả của các đề tài nghiên cứu thuộc chương trình Tây Nguyên 3, chương trình Quốc gia, của Bộ Y tế, của các Công ty đến nay là chưa có. Đặc biệt khi thị trường xuất khẩu dược liệu đang chạy theo nhu cầu của các nước láng giềng hoặc do nhu cầu sản xuất trong nước thì một số loài dược liệu đã được trồng trên diện tích lớn để làm thực phẩm, sản xuất thực phẩm chức năng như actisô, ca cao, điều, mắc ca, sa chi, dưa lưới, nấm ăn và nấm dược liệu... Trong khoảng thời gian 20 năm gần đây, nhiều loài dược liệu khác đã được thử nghiệm, phát triển trên quy mô lớn ở khu vực Tây Nguyên như cỏ ngọt, dương cam cúc, gừng, nghệ, đương quy, hà thủ ô, hồng hoa, huyền sâm, đảng sâm, sâm ngọc linh, diệp hạ châu, đinh lăng... Nhưng công tác trồng, phát triển dược liệu còn mang tính tự phát, chưa áp dụng nhiều các kỹ thuật nông nghiệp công nghệ cao, các sản phẩm chế biến dược liệu còn đơn giản, thiếu sức cạnh tranh trên thương trường, đặc biệt là ít đáp ứng yêu cầu của thị trường nước ngoài. Do vậy, khả năng đáp ứng nhu cầu dược liệu phục vụ cho công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng của ngành y tế còn rất hạn chế, hàng năm, ngành dược Việt Nam sử dụng khoảng 60.000 tấn dược liệu các loại nhưng khả năng trong nước chỉ đáp ứng 15-20% nhu cầu, còn lại chủ yếu là nhập khẩu từ Trung Quốc. Trước tình hình trên, Thủ tướng Chính phủ đã ký Quyết định số 1976/QĐ-TTg ngày 30/10/2013 “Phê duyệt quy hoạch tổng thể phát triển dược liệu đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030”, trong đó vùng Tây Nguyên (Kon Tum, Gia Lai, Lâm Đồng, Đắk Lắk, Đắk Nông) tập trung phát triển trồng 10 loài dược liệu bao gồm các loài bản địa: Gấc, Gừng, Hương nhu trắng, Đảng sâm, Nghệ vàng, Sa nhân tím, Sả, Sâm Ngọc linh, Trinh nữ hoàng cung, Ý dĩ với diện tích trồng khoảng 2.000 ha. Ưu tiên trồng các loài: Đảng sâm, Sâm Ngọc linh. Ngoài ra, tỉnh Lâm Đồng cần ưu tiên phát triển thêm các loài: Bạch Truật, Đỗ trọng và Actisô.

Cho nên, việc xây dựng danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên là cần thiết, bên cạnh các loài được ưu tiên phát triển, cần quan tâm thêm những loài bản địa, có khả năng phát triển thành sản phẩm hàng hóa trong thời gian tới. Giải quyết vấn đề này trên cơ sở kế thừa các kết quả của các nhiệm vụ khoa học thuộc Chương trình TN3 và các chương trình điều tra cơ bản, và định hướng trong Quyết định 1976/QĐ-TTg của Thủ tướng về phát triển dược liệu của vùng, cũng như định hướng phát triển dược liệu của 5 tỉnh thuộc vùng Tây Nguyên... để xác lập danh lục cây thuốc dự kiến sẽ thuộc danh mục các dược liệu “chủ lực” của khu vực Tây Nguyên. Các đối tượng này sẽ đáp ứng các tiêu chí chung như sau: Các đối tượng này hiện đang tồn tại ở dạng tự nhiên hay đã được nuôi trồng; Tình hình nghiên cứu hoá học và xác định các hoạt chất chính (hoặc chất được coi là có hoạt tính sinh học chủ yếu) trên các đối tượng này; Về hoạt tính sinh học và những ứng dụng chính trong y học hiện nay, cổ truyền và các sản phẩm hiện nay; Về khả năng tiêu thụ; khả năng phát triển ở Tây Nguyên. Tiếp đó điều tra hiện trạng (trữ lượng tự nhiên, bảo tồn...) của các đối tượng dự kiến ở thực tế các tỉnh thuộc Tây Nguyên, với mục tiêu phù hợp với Quy hoạch phát triển của 5 tỉnh. Trên cơ sở các số liệu thu được sẽ tiến hành tổng hợp, rút ra được danh mục dược liệu “chủ lực” dự kiến của khu vực Tây Nguyên. Riêng đối tượng đã là sản phẩm quốc gia, ví dụ như sâm ngọc linh đã được phát triển chủ yếu ở Kon Tum và Quảng Nam theo chương trình riêng của Bộ Y tế thì không thuộc đối tượng nghiên cứu của nhiệm vụ. Các dược liệu khác như Gấc, Gừng, Nghệ vàng, Sả, Trinh nữ hoàng cung... đã được một số Công ty dược đầu tư nghiên cứu, trồng, chế biến trên địa bàn Tây Nguyên thành một số sản phẩm khác nhau; các đối tượng còn lại đang được trồng, phát triển và mới chỉ được sử dụng trực tiếp, chưa qua chế biến... thì vẫn thuộc đối tượng nghiên cứu của nhiệm vụ.

Trong các nghiên cứu của các chương trình TN3 và thực tế tại Tây Nguyên cho thấy tình hình sản xuất dược liệu hiện nay chỉ mới tập trung giải quyết vấn đề diện tích trồng, sản lượng, thu hoạch, chế biến đơn giản mà chưa quan tâm nhiều đến chất lượng dược liệu, đặc biệt là các hợp chất có hoạt tính chính dùng làm chỉ thị cho đánh giá chất lượng dược liệu. Chính điều này đã làm cho các sản phẩm dược liệu sau chế biến có hàm lượng hoạt chất thấp, không ổn định nên khó có thể cạnh tranh, đặc biệt với thị trường xuất khẩu. Theo Cục Quản lý Y Dược Cổ truyền (Bộ Y tế), tính đến thời điểm này, chỉ có một số ít DN dược Việt Nam có vùng trồng, thu hái dược liệu được công

nhận đạt tiêu chuẩn GACP-WHO (thực hành tốt trồng trọt và thu hái cây thuốc) theo khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới. Vì vậy, DN sẽ tạo ra sức mạnh cạnh tranh khi chất lượng sản phẩm được quản lý và khẳng định ngay từ khi trồng dược liệu. GACP có vai trò rất quan trọng trong việc tạo ra nguồn nguyên liệu làm thuốc đạt các tiêu chuẩn. Mỗi quy trình có nhiều công đoạn, mỗi công đoạn lại có những tiêu chuẩn riêng cho từng loài cây thuốc cụ thể. Nó phụ thuộc vào môi trường tự nhiên, điều kiện sinh thái, nguồn giống, đất trồng, biện pháp canh tác, chăm sóc, phòng trừ sâu bệnh, thu hái, vận chuyển, xử lý sau thu hoạch đến cách đóng gói và bảo quản dược liệu trong kho. Thêm vào đó, để đạt tiêu chuẩn GACP-WHO, cơ sở vật chất phải phù hợp điều kiện tự nhiên và đối tượng trồng trọt, thu hái như: nhà làm việc, nơi phơi sấy, kho chứa, công cụ sản xuất, mặt bằng làm nơi sơ chế, phòng thực nghiệm với các thiết bị đo đạc và kiểm tra chất lượng sản phẩm. Để việc áp dụng tiêu chuẩn GACP-WHO có hiệu quả không chỉ đòi hỏi sự tuân thủ nghiêm ngặt và tính chuyên nghiệp trong thực hành tốt trồng trọt và thu hái mà doanh nghiệp cũng cần đáp ứng điều kiện về cơ sở vật chất, nhân lực tương ứng.

Vì vậy, cần thiết phải thực hiện mục tiêu xây dựng được mô hình bảo tồn và phát triển một số loài dược liệu chủ lực, quý hiếm của khu vực Tây Nguyên theo hướng sản xuất hàng hóa. Như vậy, mục tiêu tiếp theo của nhiệm vụ sẽ được thực hiện dựa trên cách tiếp cận truyền thống và hiện đại phù hợp với tiêu chuẩn GACP-WHO. Để thực hiện mục tiêu này, nội dung nghiên cứu dự kiến của nhiệm vụ sẽ tập trung vào 06 đối tượng rất đặc thù, với tiêu chí mô hình bảo tồn và phát triển phù hợp với Quy hoạch phát triển của 05 tỉnh ở Tây Nguyên, ưu tiên có sự tham gia của các doanh nghiệp trên địa bàn với sản phẩm của mô hình sẽ được các doanh nghiệp trong địa bàn tiếp nhận và nhân rộng.

Từ các kết quả của nhiệm vụ khoa học “*Điều tra, nghiên cứu các cây thuốc được sử dụng trong các bài thuốc dân tộc tại Tây Nguyên và đề xuất các biện pháp bảo tồn*” (mã số TN3/T10) và nhiệm vụ khoa học “*Nghiên cứu tri thức bản địa trong sử dụng và bảo tồn tài nguyên sinh vật phục vụ phát triển kinh tế - xã hội và bảo tồn bản sắc dân tộc của các cộng đồng dân tộc thiểu số khu vực Tây Nguyên*” (mã số TN3/T13) cho thấy được các cây thuốc được sử dụng trong các bài thuốc dân tộc tại Tây Nguyên, các tri thức bản địa trong sử dụng và bảo tồn tài nguyên sinh vật ở Tây Nguyên. Trước tình

trạng khai thác 'tận diệt" và khai thác tràn lan một số dược liệu như loài quý hiếm ghi trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) (40 loài), phần lớn các cây thuộc diện nguy cấp và sẽ nguy cấp như: Thông đỏ lá dài (*Taxus wallichiana* Zucc.), Đinh tùng (*Cephalotaxus mannii* Hook. f.), Bách xanh (*Calocedrus marolepis* Hurz), Du sam (*Keteleeria evelyniana* Mast.), Thông 2 lá dẹt (*Pinus krempfii* Lecomte), Thông 5 lá (*Pinus dalatensis* Ferre), Pơ mu (*Fokienia hodginsii* (Dunn) A. Henry & Thomas), Cây Lan 1 lá (*Nervilia crispata* (Blume) Schltr. ex Kraenzl.), Lê dương (*Aeginetia indica* (L.) Roxb., Ba gạc lá to (*Rawolfia cambodiana* Pierre ex Pitard), Đẳng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f.), Nữ lang (*Valeriana hardwickii* Wall.), Lan kim tuyến (*Anoetochilus setaceus* Blume), Thiên môn ráng (*Asparagus filicinus* Buch.- Ham. ex D. Don), Hoàng liên ô rô (*Mahonia nepalensis* DC.), Sơn dương (*Rhopalocnemis phalloides* Jungh.), Lá khôi nhung (*Ardisia silvestris* Pitard), Lê dương (*Aeginetia indica* (L.) Roxb, Nấm Thông (*Boletus edulis* Bull. ex Fr), Hoàng tinh vòng (*Polygonatum kinggianum* Coll.ex Hemsl)...Ngoài ra, còn có một số loài đặc hữu của Lâm Đồng như: Gò đồng Bi dúp (*Gordonia bidoupensis* Ganep.), Đại đỉnh Schmidii (*Macropanax schmidii* C. B. Shang), Hà biện lá thài lài (*Habenaria commelinifolia* (Roxb.) Wall. ex Lindl.), Bóng nước Langbian (*Impatiens langbianensis* Tardieu), Hải đường Langbian (*Begonia langbianensis* Baker f.), Côm Bi dúp (*Elaeocarpus bidupensis* Ganep.), Cuồng Hiệp (*Aralia hiepiana* J. Wen & Lowry)... Với những nguồn gen dược liệu quý hiếm, đặc hữu khác của khu vực Tây Nguyên nêu trên, vấn đề rất cần thiết và cấp bách là tục bảo tồn và phát triển, đồng thời mở rộng điều tra, tăng cường bảo hộ vốn tri thức truyền thống về sử dụng dược liệu của cộng đồng các dân tộc vùng Tây Nguyên.

Vì vậy, cần thiết phải thực hiện việc bảo tồn và phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao, tăng cường bảo hộ vốn tri thức truyền thống về sử dụng dược liệu của cộng đồng các dân tộc vùng Tây Nguyên. Xác định đây là vấn đề rộng và lâu dài và khó do đó trong khuôn khổ của nhiệm vụ, mục tiêu đặt ra là bảo tồn và phát triển 03 đối tượng dự kiến đang rất nguy cấp hiện nay là Lan kim tuyến (*Anoetochilus setaceus*), Sa nhân tím (*Amomum longiligulare*) và tăng cường bảo hộ vốn tri thức truyền thống về sử dụng loài Tom trong (*Tylophora* sp.) trong thành phần bài thuốc Amacong tại Tây nguyên và cây Xáo leo. Thực hiện mục tiêu này sẽ được tiến hành thông qua nội dung 6 của nhiệm vụ. Dựa trên các kết quả này để xây dựng được

mô hình bảo tồn và phát triển một số loài dược liệu chủ lực, quý hiếm của khu vực Tây Nguyên theo hướng sản xuất hàng hóa.

Trước tình trạng thực phẩm chức năng, thực phẩm bảo vệ sức khỏe và dược liệu nhập ngoại đang tràn lan tại các thị trường trong nước, sinh ra hiện tượng dược liệu không kém gì "**thực phẩm bẩn**". Việc kết hợp giữa mô hình truyền thống và hiện đại phù hợp với tiêu chuẩn GACP-WHO với nghiên cứu rõ thành phần hóa học, áp dụng các phương pháp phân tích trên các hệ thống phân tích hiện đại như LC-TOF-MS để định lượng và quản lý chất lượng của dược liệu thông qua các hợp chất chỉ thị, phương pháp dấu vân tay sắc ký, hoạt tính sinh học của dược liệu là rất cần thiết. Đồng thời khi có thêm nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học, các chất chỉ thị quan trọng trong các loài dược liệu chủ lực nhằm hướng đến hoàn thiện quy trình trồng dược liệu theo hướng gia tăng hàm lượng hoạt chất làm nguyên liệu đầu vào cho công nghiệp dược. Đồng thời, cho đến thời điểm này, mặc dù nhiều sản phẩm dược liệu có nguồn gốc từ Tây Nguyên đã có mặt trên thị trường, tuy nhiên chất lượng mới đáp ứng một phần yêu cầu trong nước, chưa có nhiều sản phẩm cạnh tranh trên thị trường quốc tế, cho nên cần tiếp tục nghiên cứu, hoàn thiện công nghệ để tạo ra các sản phẩm có chất lượng cao, có sức cạnh tranh trên thị trường trong nước và khu vực, góp phần phát triển kinh tế xã hội của khu vực Tây Nguyên.

Vì vậy, Cần hoàn thiện công nghệ để tạo ra các sản phẩm có chất lượng cao, có sức cạnh tranh trên thị trường trong nước và khu vực, góp phần phát triển kinh tế xã hội của khu vực Tây Nguyên. ...

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng, nội dung nghiên cứu chính của đề tài được thực hiện theo trình tự sau:

1. Điều tra hiện trạng trồng dược liệu ở Tây Nguyên, kế thừa các quy hoạch dược liệu của vùng, của các tỉnh Tây Nguyên, đánh giá tiềm năng phát triển của một số loài dược liệu chính để đề xuất, xây dựng danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

2. Trên cơ sở danh mục đã đề xuất được, đề tài sẽ chọn ra khoảng 6-8 loài dược liệu bao gồm cả loài có tên trong danh mục dược liệu chủ lực cũng như loài cần nghiên cứu theo hướng bảo tồn để đi sâu nghiên cứu về hóa học nhằm phát hiện ra những hợp chất mới, những hợp chất có thể dùng làm chất chỉ thị khi đánh giá về chất lượng dược liệu.

3. Từ các loài dược liệu đã nghiên cứu về hóa học ở trên, chọn ra 5-6 loài dược liệu để hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản tiến tới xây dựng, triển khai các mô hình trồng 5-6 loài với diện tích 10 ha (1-2 ha/loài).

4. Nghiên cứu các quy trình tạo 04 sản phẩm mẫu để phát triển thành 04 thực phẩm chức năng phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng;

5. Định hướng xây dựng phương pháp nhân giống, trồng trọt và phương án bảo tồn đối với một số loài có hoạt tính sinh học cao, giá trị dược liệu cao.

2.1. NỘI DUNG 1

2.1.1. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: các khu vực trồng dược liệu ở 5 tỉnh Tây Nguyên.
- Thời gian: từ tháng 7/2018 đến 12/2019.

2.1.2. Phương pháp điều tra

Điều tra vùng phân bố, vùng trồng dược liệu trong khu vực Tây Nguyên có sử dụng các phương pháp điều tra thực địa, kết hợp khảo sát thông tin cũng như nguồn thông tin của địa phương. Chủ yếu thu thập số liệu thống kê về tình hình trồng dược liệu tại các Sở NN&PTNT các tỉnh thuộc vùng Tây Nguyên. Dựa trên số liệu thu thập được, tiến hành điều tra thực tế tại các khu vực trồng dược liệu kết hợp phỏng vấn với cán bộ kỹ thuật nông nghiệp tại các địa phương, các địa điểm mua bán dược liệu, doanh nghiệp trồng và chế biến dược liệu... nhằm thu thập thông tin và số liệu về tiềm năng phát triển

dược liệu, nhu cầu, thị trường tiêu thụ sản phẩm dược liệu, diện tích, năng suất, sản lượng, tình hình thu hoạch, chế biến, tiêu thụ...

Kế thừa các báo cáo liên quan tới dược liệu tại Tây Nguyên, các văn bản pháp quy và chính sách hỗ trợ phát triển dược liệu của vùng, của 05 tỉnh thuộc vùng Tây Nguyên; các quy hoạch, dự thảo quy hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh.

2.1.3. Phương pháp điều tra thực vật

Mẫu thực vật được thu hái tại các khu vực rừng tự nhiên của Tây Nguyên, theo tuyến, xử lý sơ bộ mẫu để ổn định hoạt tính theo các tiêu chuẩn quốc tế hiện hành. Thời gian, vị trí sẽ được lưu giữ cùng mẫu tiêu bản. Mẫu nghiên cứu được các chuyên gia thực vật học thu thập, xử lý sơ bộ, chụp ảnh, làm tiêu bản, giám định tên khoa học, và lưu trữ các thông tin cần thiết về thời gian, địa điểm lấy mẫu, đặc điểm phân bố... Mẫu tiêu bản sẽ được lưu trữ và làm số liệu nghiên cứu cho Bảo tàng Sinh học thuộc Viện Nghiên cứu Khoa học Tây nguyên.

a. Xác định địa điểm và tuyến thu mẫu

Dựa vào bản đồ hiện trạng và đặc điểm địa hình, thiết lập các tuyến thu mẫu (không trùng các tuyến thu mẫu của các đề tài khác đã thực hiện). Từ tuyến chính, các tuyến phụ theo kiểu xương cá được mở về hai phía. Trung bình 1,5 km chiều dài của tuyến chính có 2 tuyến phụ được mở ra, trên mỗi tuyến tiến hành điều tra tất cả các loài thực vật bậc cao có mạch nằm ở phạm vi 10m mỗi bên.

b. Phương pháp thu mẫu

Mỗi mẫu phải có đầy đủ các bộ phận, nhất là cành, lá, hoa và quả càng tốt (đối với cây lớn) hay cả cây đối với cây thân thảo. Mỗi cây thu 3 mẫu, riêng đối với cây thân thảo thì tìm 3 mẫu giống nhau để vừa nghiên cứu các biến dạng của loài vừa để trao đổi mẫu.

Khi thu phải ghi chép ngay những đặc điểm dễ nhận biết ngoài thiên nhiên như đặc điểm vỏ cây, kích thước cây, nhất là các đặc điểm dễ mất khi khô như màu sắc của hoa, quả, mùi vị...

Thu và ghi chép các thông tin chính trên nhãn như ký hiệu mẫu, địa điểm, ngày lấy mẫu, các đặc điểm quan trọng, người lấy mẫu. Sau đó mang mẫu về nơi xử lý tập trung.

c. Xử lý và bảo quản mẫu

Mẫu được đặt gọn trong một tờ báo gấp lại, trên mỗi mẫu phải có lá sấp, lá ngửa để có thể quan sát dễ dàng cả hai mặt lá mà không cần phải lật mẫu. Đối với hoa, dùng các mẫu báo nhỏ để ngăn cách với hoa hay lá bên cạnh (tránh bị dính khi sấy). sau đó xếp chồng các mẫu lên nhau, cứ 5-10 mẫu thì đặt một tấm nhôm lượn sóng để tăng độ thoáng khí và dùng đôi cặp ô vuông (mắt cáo) để ốp ngoài rồi ép chặt mẫu và bó lại, mỗi cặp mẫu như vậy chứa khoảng 15-20 mẫu. các bó mẫu được đem phơi nắng hay sấy. Hàng ngày phải thay giấy báo mới để mau khô và không bị ẩm.

d. Xác định tên khoa học

Trước hết phân loại các mẫu theo từng họ theo bảng chỉ dẫn nhận biết nhanh các họ thực vật của Nguyễn Nghĩa Thìn (1997) [34], Nguyễn Tiến Bân (1997) [17]. Sau đó định tên mẫu vật theo phương pháp hình thái học, sử dụng theo tài liệu “Cây cỏ Việt Nam” của Phạm Hoàng Hộ (1999, 2000), kết hợp với một số tài liệu phân loại khác: Thực vật chí Việt Nam và Danh lục thực vật Việt Nam. Đồng thời, hình ảnh mẫu vật trực tuyến được lưu giữ ở các Bảo tàng thực vật cũng được sử dụng để so sánh.

2.2. NỘI DUNG 2

2.2.1. Các phương pháp phân lập các hoạt chất và xác định cấu trúc:

a. Phương pháp phân lập các hoạt chất:

Các phương pháp chính được sử dụng bao gồm:

+ *Sắc ký lớp mỏng (TLC)*: được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufoalien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP₁₈ F_{254s} (Merck).

+ *Sắc ký lớp mỏng điều chế*: thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn Silica gel 60G F₂₅₄ (Merck, ký hiệu 105875).

+ *Sắc ký cột (CC)*: tiến hành với chất hấp phụ là Silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh). Silicagel pha đảo ODS hoặc YMC (30-50 μm, Fuji Silica Chemical Ltd.).

+ *Sắc ký lỏng cao áp HPLC*.

+ Phương pháp tinh chế bằng kết tinh lại nhiều lần trong các dung môi thích hợp.

b. Xác định cấu trúc hóa học của các hoạt chất:

Các phương pháp phổ để xác định cấu trúc hóa học bao gồm:

+ *Điểm nóng chảy (Mp)* đo trên máy Bibby SMP3.

+ *Độ quay cực $[\alpha]_D$* đo trên máy JASCO DIP-1000 KUY polarimeter.

+ *Phổ khối lượng (ESI-MS)* Phổ khối lượng phun mù điện tử (Electron Spray Ionization mass spectra) được đo trên máy AGILENT 1100 LC-MSD Trap.

+ *Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR)*: Phổ 1D (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT) và 2D-NMR (HSQC, HMBC, COSY, NOESY...) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer;

+ *Phổ hồng ngoại*: đo trên máy JASCO FT-IR 4100 dùng bộ đo mẫu trực tiếp ATR.

2.2.2. Phương pháp phân tích hoạt chất bằng HPLC:

a. *Dung dịch chuẩn*: Cân chính xác lượng chất chuẩn khoảng 5 mg vào bình định mức 5 ml, thêm 3 ml dung môi A, lắc siêu âm đến tan hoàn toàn. Để nguội và định mức đến vạch bằng dung môi A, lắc đều. Hút 2,5 ml dung dịch trên vào bình định mức 5 ml, định mức đến vạch bằng dung môi A, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μm.

b. *Sự phù hợp của hệ thống sắc ký*: Tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký. Phép thử đạt yêu cầu khi độ lặp lại tương đối diện tích pic giữa 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn có RSD nhỏ hơn 2,0 %.

c. *Độ đặc hiệu*: Sắc ký đồ các dung dịch thử cho pic có thời gian lưu khác nhau không có ý nghĩa thống kê với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ các mẫu chuẩn. Trên sắc ký đồ dung dịch thử nếu xuất hiện thêm các pic khác (pic tạp) không phải pic của hoạt chất cần phân tích, thì pic của hoạt chất cần phân tích phải tách hoàn toàn khỏi các pic tạp và đáp ứng các yêu cầu chung của phương pháp sắc ký lỏng được quy định trong dược điển.

d. *Tính thích hợp của hệ thống*: Tiến hành sắc ký, ghi lại các sắc ký đồ và xác định giá trị thời gian lưu, diện tích pic trung bình của dung dịch tương thích hệ thống và dung dịch chuẩn. Yêu cầu: Giá trị RSD của thời gian lưu <2,0% và diện tích pic <2,0%, nếu không có quy định khác. Trường hợp giá trị RSD > 2,0%, phải có sự giải thích phù hợp. Các thông số khác của pic phải đáp ứng yêu cầu chung của phương pháp HPLC quy định trong Dược điển và quy định cụ thể trong quy trình phân tích thẩm định.

đ. *Đường chuẩn*: Chuẩn bị 05 dung dịch chuẩn, có nồng độ 40%; 60%; 100%, 140% và 160% nồng độ định lượng. Có thể chuẩn bị các dung dịch của dãy chuẩn bằng cách pha loãng từ một dung dịch chuẩn gốc ban đầu với các hệ số pha loãng khác nhau hoặc từ các dung dịch chuẩn với lượng cân chất chuẩn khác nhau. Tiến hành sắc ký các dung dịch chuẩn, ghi lại các sắc ký đồ và xác định đáp ứng của pic. Xác định phương

trình hồi quy tuyến tính, hệ số tương quan tuyến tính giữa nồng độ chất chuẩn có trong mẫu và đáp ứng pic thu được trên các sắc ký đồ bằng phương pháp bình phương tối thiểu. Yêu cầu: Hệ số tương quan tuyến tính (R^2) phải $> 0,99$. Trường hợp $R^2 < 0,99$ phải có sự giải thích phù hợp.

e. Độ đúng: Xác định độ đúng của phương pháp bằng cách thêm chính xác một lượng chất chuẩn cần phân tích vào các mẫu tương tự. Chuẩn bị 03 loại mẫu tự tạo bằng cách thêm chính xác một lượng chất chuẩn cần phân tích vào các mẫu placebo. Lượng chất chuẩn thêm vào tương ứng với 3 mức nồng độ 60% (hoặc 80%), 100% và 140% (hoặc 120%) so với mức hàm lượng ghi nhận. Tại mỗi mức nồng độ, thực hiện ít nhất 03 mẫu độc lập. Phân tích mẫu theo quy trình phân tích. Xác định hoạt chất thu hồi theo dung dịch chuẩn hoặc đường chuẩn. Xác định độ đúng của phương pháp theo công thức: Độ đúng hay tỷ lệ thu hồi (%) = (Lượng hoạt chất thu hồi x 100) / (Lượng hoạt chất thêm vào). Yêu cầu: Tỷ lệ thu hồi (98,0% - 102,0%) ở mỗi mức nồng độ, RSD (tỷ lệ thu hồi) $< 6,0\%$ ở mỗi mức nồng độ.

f. Khoảng xác định: Được suy ra từ kết quả độ đúng (Từ giá trị nhỏ nhất đến giá trị lớn nhất của độ đúng).

g. Độ chính xác:

- Độ lặp lại: Tiến hành định lượng 6 mẫu thử độc lập, xác định hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu thử bằng cách sử dụng dung dịch chuẩn điếm hoặc đường chuẩn. Độ lặp lại của phương pháp được xác định bằng giá trị RSD (%) kết quả định lượng hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu. Yêu cầu: Giá trị RSD (%) kết quả định lượng hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu $< 2,0\%$. Các trường hợp giá trị RSD $> 2,0\%$, cần phải có sự giải thích phù hợp.

- Độ chính xác trung gian: Tiến hành như độ lặp lại nhưng khác kiểm nghiệm viên. Xác định giá trị trung bình và giá trị RSD (%) hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu do mỗi kiểm nghiệm viên tiến hành. Xác định mức độ sai khác kết quả định lượng giữa 2 kiểm nghiệm viên. Yêu cầu: Giá trị RSD (%) kết quả định lượng của mỗi kiểm nghiệm viên ($n=6$) $< 2,0\%$ và của cả hai kiểm nghiệm viên ($n= 2$) phải $< 2,0\%$.

2.3. NỘI DUNG 3

Nghiên cứu phân tích đất: Theo phương pháp thường qui của Viện Nông hóa Thổ nhưỡng. Các thành phần cần xác định: Độ ẩm, pH, hàm lượng chất hữu cơ, NPK tổng

số, các vi sinh vật gây hại, các nguyên tố kim loại nặng.... Đánh giá đất theo thang phân loại của Hội Khoa học Đất/ Đất Việt Nam.

- Phân tích hàm lượng Nitrat, dư lượng của một số thuốc bảo vệ thực vật (BVTV), kim loại nặng, một số loại vi sinh vật gây hại..., thực hiện tại Cục BVTV - Bộ Nông nghiệp và phát triển Nông thôn.

- Các thí nghiệm đồng ruộng căn cứ vào Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng [33], Kỹ thuật trồng và chế biến cây thuốc (Viện Dược liệu) [15].

2.3.1. Địa điểm

Các khảo sát về quy trình trồng trọt được thực hiện tại Vườn thực nghiệm, Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

Các mô hình nghiên cứu được xây dựng, triển khai thực hiện tại Đà Lạt, huyện Lạc Dương, huyện Lâm Hà, Tỉnh Lâm Đồng và huyện Ea H'leo, tỉnh Đắk Lắk với tổng diện tích 12 ha. Vị trí các mô hình được thể hiện trong bảng 2.1.

Bảng 2.1. Danh sách vị trí các mô hình

STT	Mô hình	Địa điểm	Tổng diện tích (ha)
1	Đảng sâm	Lạc Dương, Lâm Đồng	3
2	Atisô	Đà Lạt, Lâm Đồng	3
3	Đương quy	Lâm Hà, Lâm Đồng	2
4	Đinh lăng	Lâm Hà, Lâm Đồng	2
5	Sâm cau	Ea H'leo, Đắk Lắk	2

2.3.2. Giống

- Đảng sâm: thu giống gốc từ Vườn quốc gia Bidoup, Núi Bà; nhân giống từ vườn thực nghiệm, Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

- Atisô: giống A80, nhân giống từ vườn thực nghiệm, Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

- Đương quy Nhật Bản: nhân giống từ hạt tại vườn thực nghiệm, Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

- Đinh lăng: nhân giống từ hom tại vườn thực nghiệm, Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

- Sâm cau: thu giống gốc từ tự nhiên tại huyện Bảo Lâm, Lâm Đồng; nhân giống từ vườn thực nghiệm, Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

2.3.3. Các chỉ tiêu theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng

Theo dõi sinh trưởng cây trồng mới ở các công thức. Mỗi công thức theo dõi 100 cây, gồm các chỉ tiêu sau:

- Chiều cao cây (cm): đo từ mặt đất cho đến đỉnh sinh trưởng
- Đường kính gốc (mm): Dùng thước kẹp đo đường kính gốc cây của các cây theo dõi, khoảng cách đo cách mặt đất 10cm.

- Chiều dài lá (cm): đo từ chỗ lá giáp thân cho tới đỉnh sinh trưởng, mỗi cây đo 5 cành dài nhất ở các hướng khác nhau.

- Năng suất: Theo dõi năng suất thực thu ở các công thức ở mô hình (kg/ha) trong giai đoạn 2019- 2020.

- Hiệu quả kinh tế của các mô hình: Dựa trên chi phí giống, công chăm sóc, phân bón. Tổng thu của các mô hình: sản phẩm thu được thực tế nhân với đơn giá sản phẩm tại thời điểm thu hoạch. Lợi nhuận được tính: Tổng thu tại các mô hình – Tổng chi phí thực hiện mô hình.

2.4. NỘI DUNG 4

2.4.1. Phương pháp nhân giống *in vitro* lan gấm

Môi trường nuôi cấy: Môi trường nền sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường khoáng MS (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung thêm 30 g/l sucrose, 8 g/l agar, 10% nước dừa. Ngoài ra, tùy theo mục đích thí nghiệm mà môi trường nuôi cấy sẽ bổ sung thêm các chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Tất cả các môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH = 5,8 và được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1atm, trong 25 phút. Mẫu sau khi cấy được nuôi trong điều kiện nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, cường độ chiếu sáng $35 \mu\text{m}^2/\text{s}$, thời gian chiếu sáng 8 giờ.

a. Phương pháp khử trùng mẫu cấy

Khử trùng mẫu đoạn thân mang mắt ngủ cây khỏe được lấy từ cây mẹ sạch bệnh, đang sinh trưởng và phát triển tốt, sau đó tách bỏ hết lá để lấy phần chồi đỉnh sinh trưởng. thân mang mắt ngủ được ngâm trong xà phòng 20 phút, sau đó rửa lại bằng nước sạch dưới vòi nước và đưa vào buồng cấy vô trùng. Mẫu cấy tiếp tục được ngâm trong cồn 70 trong 30 giây, sau đó tiến hành khử trùng với các phương pháp thí nghiệm khác nhau.

b. Nghiên cứu ảnh hưởng của BA, Kinetin và các dịch nghiền củ quả lên sự tái sinh chồi *in vitro*.

Cấy vào mỗi bình thí nghiệm 3 mẫu cấy vào môi trường nuôi cấy MS có bổ sung BA và KIN ở các nồng độ sau:

- Nghiên cứu ảnh hưởng của BA lên sự tái sinh chồi *in vitro*.

Mẫu cấy được cấy vào môi trường nuôi cấy MS có bổ sung BA lần lượt (0; 1,0; 1,5; 2; 2,5; 3mg/l).

- Nghiên cứu ảnh hưởng của Kinetin (Kin) lên sự tái sinh chồi *in vitro*.

Mẫu cấy được cấy vào môi trường nuôi cấy MS có bổ sung Kin lần lượt (0; 1,0; 1,5; 2; 2,5; 3mg/l).

- Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nghiền củ, quả lên sự hình thành và phát triển của chồi cây *in vitro*.

Cấy vào mỗi bình thí nghiệm 3 mẫu, và được bố trí 4 nghiệm thức: đối chứng (không bổ sung dịch nghiền củ, quả); nghiệm thức sử dụng riêng rẽ các dịch nghiền khoai tây, chuối và cà rốt với nồng độ lần lượt là 100 g/l.

c. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tái sinh rễ *in vitro*.

Chọn chồi mập, tương đối đồng đều >3cm. Mẫu được cấy vào môi trường nuôi cấy tạo rễ là môi trường MS có bổ sung NAA ở các nồng độ lần lượt (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2; 2,5; 3 mg/l).

d. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Mỗi nghiệm thức được cấy 5 bình, mỗi bình cấy 3 mẫu. Số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và phần mềm phân tích thống kê IRRISTAT 5.0.

2.4.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý Gibberellic Acid (GA3) đến sự nảy mầm của hạt Tam thất

Bố trí thí nghiệm theo khối ngẫu nhiên đầy đủ 2 nhân tố, 3 lần lặp. Tiến hành xử lý hạt giống với dung dịch GA₃ ở các nồng độ là 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 0 ppm và thời gian ngâm hạt lần lượt là 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 0 giờ. Số lượng hạt giống thí nghiệm là 100 hạt/công thức.

Xử lý giá thể và hạt giống: Giá thể là Cát thô được rửa sạch và xử lý bằng thuốc diệt nấm, rêu. Trộn đều cát với dung dịch thuốc và để trong ba ngày. sau đó rửa

sạch và phơi khô trước khi bố trí thí nghiệm. Hạt được xử lý với GA₃ ở các nồng độ khác nhau ngay sau khi tách khỏi vỏ quả. Chọn những hạt giống tốt, hạt phải cứng, chắc. Gieo hạt đã xử lý vào khay cát sạch, phủ một lớp cát mỏng (1cm) lên trên. Tưới nước định kỳ 1 ngày 2 lần từ khi gieo cho đến khi kết thúc quá trình nảy mầm.

Số liệu thu thập gồm: tỷ lệ nảy mầm; thể nảy mầm, thời gian nảy mầm trung bình và tốc độ nảy mầm. Công thức tính như sau:

$$\text{Tỷ lệ nảy mầm} = \frac{\text{Số hạt nảy mầm} + \text{Số hạt còn tốt khi bỏ ra sau thí nghiệm}}{100} \times 100\%$$

$$\text{Thể nảy mầm} = \frac{\text{Số hạt nảy mầm trong 1/3 thời gian đầu}}{100} \times 100\%$$

$$\text{Số ngày nảy mầm trung bình } D = \frac{\sum d \cdot n}{\sum n}$$

$$\text{Tốc độ nảy mầm } R = \frac{1}{D} = \frac{\sum n}{\sum d \cdot n}$$

Trong đó: d: ngày nảy mầm thứ d

n: số hạt nảy mầm tại ngày d

2.4.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của thành phần giá thể đến sinh trưởng của cây con trong giai đoạn vườn ươm

Giá thể sử dụng là đất rừng thông đã được loại bỏ lá, rễ cây và xơ dừa đã xử lý ECO N1 (với các thông số N: 0,33% min, P₂O₅: 0,06% min, K₂O: 0,12% min, pH: 6,0-6,5, EC: 1,2-1,8 mS/cm). Trộn đất và xơ dừa thành 4 công thức theo tỷ lệ:

80% đất + 20% xơ dừa (80DAT-20XD),

60% đất + 40% xơ dừa (60DAT-40XD),

40% đất + 60% xơ dừa (40DAT-60XD),

20% đất + 80% xơ dừa (20DAT-80XD),

Loại bầu: Bầu nhựa có kích thước: 5cm x 5cm x 12cm. Mỗi công thức 100 cây thí nghiệm.

Cây được trồng trong nhà kính với chế độ chăm sóc: tưới nước, phòng trừ sâu bệnh hại, bón phân ở các công thức là như nhau. Nhiệt độ nhà kính từ 18-30°C. Độ ẩm không khí đạt trên 85%. Nhà kính được tưới phun sương thường xuyên 30 phút 1 lần và mỗi lần 5 giây để đảm bảo độ ẩm không khí.

Chỉ tiêu theo dõi:

- Tỷ lệ sống của cây theo từng loại giá thể.
- Chiều cao cuống lá (H): đo chiều cao từ gốc của cây đến chóp lá cao nhất.
- Chiều dài phiến lá (D): là trung bình của chiều dài lá (được đo từ góc phiến lá đến chóp lá) và chiều rộng lá.

Các số liệu được phân tích trên phần mềm Excel và Statgraphics Centurion XV.I

2.5. NỘI DUNG 5

2.5.1. Nghiên cứu điều chế cao đặc dược liệu

2.5.1.1. Nguyên liệu

- Đảng sâm thu từ mô hình trồng dược liệu của đề tài tại Lạc Dương, Lâm Đồng vào tháng 06/2020.

- Sâm cau thu từ mô hình trồng dược liệu của đề tài tại Ea H'leo, Đắk Lắk vào tháng 06/2020.

- Đương quy thu từ mô hình trồng dược liệu của đề tài tại Lâm Hà, Lâm Đồng vào tháng 06/2020.

2.5.1.2. Phương pháp nghiên cứu

a. Kiểm định nguyên liệu đầu vào: Kiểm định đảng sâm, đương quy, sâm cau theo phương pháp của DĐVN V.

b. Nghiên cứu điều chế cao đặc dược liệu:

- Chuẩn bị nguyên liệu:

+ Lựa chọn các dược liệu đạt tiêu chuẩn cơ sở đã xây dựng.

+ Sấy khô dược liệu và nghiền thành bột: qua rây 710/250.

+ Chuẩn bị các thiết bị và dung môi: bình ngấm kiệt, thiết bị cô quay chân không, ethanol 96%.

- Chiết dược liệu theo phương pháp chiết ngấm kiệt: cân chính xác khoảng 10 kg dược liệu, làm ẩm dược liệu bằng ethanol 70%, để một thời gian cho dược liệu trương nở hoàn toàn (khoảng 4 giờ) sau đó cho vào thiết bị chiết ngấm kiệt. Thêm ethanol 90% đến ngập mặt dược liệu, ngâm trong thời gian 1 ngày (kết hợp khuấy trộn 6 tiếng/lần). Sau đó, rút dịch chiết, ép bã dược liệu. Lặp lại quá trình chiết 3 lần, gộp các dịch chiết, để lắng 24 giờ, gạn và lọc thu được dịch lọc. Cát thu hồi dung môi ở áp suất thấp ở nhiệt độ 50°C đến cao đặc.

c. Phương pháp kiểm nghiệm cao đặc dược liệu:

Tính chất: Bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

Mất khối lượng do làm khô: Thử theo Phụ lục 9.6 - ĐĐVN V. Cân chính xác khoảng 3,0g chế phẩm, sấy ở 100-105°C, áp suất thường đến khối lượng không đổi.

Cẩn không tan: Hoà tan 3,0g cao trong 150 ml nước, lọc qua một giấy lọc đã được sấy ở 100 - 105°C đến khối lượng không đổi. Sấy cẩn ở 100 – 105°C đến khối lượng không đổi.

Tro toàn phần: Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành theo phương pháp 2, Phụ lục 9.8 - ĐĐVN V.

Định tính: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4 – ĐĐVN V).

Định lượng: Tiến hành định lượng hoạt chất trong cao đặc dược liệu bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3, ĐĐVN V).

- Định lượng Lobetyolin trong cao đặc đẳng sâm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- Định lượng Curculigoside trong cao đặc sâm cau bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- Định lượng Z-Ligustilide trong cao đặc đương quy bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

Độ nhiễm khuẩn: tiến hành theo phương pháp thử giới hạn nhiễm khuẩn, Phụ lục - 13.6, ĐĐVN V.

2.5.2. Nghiên cứu xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nang mềm

2.5.2.1. Phương pháp xây dựng công thức bào chế

Căn cứ để xác định hàm lượng các thành phần trong công thức bào chế và liều dùng của chế phẩm nghiên cứu:

+ Liều dùng của các chế phẩm chứa cao đặc dược liệu hiện đang lưu hành của các hãng uy tín.

+ Dược Điển Việt Nam V.

Trên cơ sở đó, chúng tôi bào chế 04 loại viên nang mềm

- Viên nang mềm đẳng sâm TN chứa 100 mg cao đặc đẳng sâm trong 01 viên nang mềm.

- Viên nang mềm đương quy TN chứa 100 mg cao đặc đương quy trong 01 viên nang mềm.

- Viên nang mềm sâm cau TN chứa 100 mg cao đặc sâm cau trong 01 viên nang mềm.

- Viên nang mềm đẳng sâm – sâm cau TN chứa 100 mg cao đặc đẳng sâm và 100 mg cao đặc sâm cau trong 01 viên nang mềm.

Để bào chế thành dạng chế phẩm viên nang hoàn chỉnh, cần lựa chọn các tá dược để xây dựng công thức vỏ nang và công thức dịch thuốc theo quy trình nghiên cứu của công ty cổ phần dược S.P.M.

2.5.2.1.1. Tạo vỏ nang:

a. Công thức vỏ nang:

Bảng 2.2. Thành phần nguyên liệu vỏ nang

STT	Nguyên liệu	Số lượng (mg/viên)	Chức năng
1	Gelatin	520,00	Tá dược tạo vỏ nang
2	Glycerin	90,00	Tá dược hóa dẻo
3	Sorbitol 70%	130,00	Tá dược hóa dẻo
4	Titan dioxit	3,00	Tá dược tạo độ đục
5	Oxid sắt đỏ	3,44	Tá dược tạo màu
6	Oxid sắt nâu	4,70	Tá dược tạo màu
7	Oxid sắt đen	3,44	Tá dược tạo màu
8	Etyl vanillin	1,88	Tá dược tạo mùi
9	Metyl paraben	1,88	Chất bảo quản
10	Propyl paraben	0,50	Chất bảo quản
11	Nước RO	440,00	Dung môi

b. Quy trình pha chế:

b1. Pha dịch màu

- Dùng khoảng 30 mg nước RO, khuấy đều với Titan dioxit, sau đó xay đồng hóa cho mịn được (A).

- Dùng khoảng 60 ml nước RO, khuấy đều với các màu oxid sắt đỏ, oxid sắt đen, oxid sắt nâu, xong đưa vào máy khuấy đều ở tốc độ 350 rpm trong 15 phút được (B).

- Cho (A) qua rây mịn vào (B) được dịch màu (C).

b2. Pha dịch bảo quản và mùi

- Lấy 1 phần nước RO, đun nóng, hòa tan hoàn toàn metyl paraben, propyl paraben và etyl vanillin được dịch (D).

b3. Nấu gelatin

- Cho vào nồi nấu dịch vỏ nang: lượng nước còn lại, glycerin, sorbitol 70%, dịch màu (A). Đun nóng và khuấy đều đến khi nhiệt độ nồi nấu đạt 75-78⁰C.

- Cho tiếp vào nồi nấu: gelatin, đun nóng và khuấy đều đến khi nhiệt độ nồi nấu đạt 75-78⁰C.

- Cho tiếp vào nồi nấu: dịch bảo quản và mùi.

- Đun nóng và khuấy đều ở 60-65⁰C.

- Hút chân không ở áp suất âm 50 cmHg- âm 70 cmHg

- Lọc vào thùng chứa dịch vỏ nang, duy trì nhiệt độ ở 42-50⁰C.

2.5.2.1.2. Công thức, quy trình pha dịch thuốc

a. Công thức:

Sử dụng các loại nguyên liệu: Dầu cọ, Dầu nành, Lecithin, Cremophor RH40, Magie oxid, Metyl paraben, Propyl paraben, Aerosil và cao dược liệu theo tỷ lệ nghiên cứu.

b. Quy trình:

- Đun dầu cọ cho chảy hoàn toàn, cho dầu nành và lecithin, cremophor RH 40 vào khuấy đều.

- Cho magie oxid, metyl paraben, propyl paraben vào khuấy để phân tán đều.

- Cho tiếp aerosil vào khuấy để phân tán đều.

- Cho tiếp cao dược liệu vào khuấy để phân tán đều.

- Tiến hành nghiền keo hỗn hợp dịch thuốc để đạt cảm quan kích thước hạt mịn, đều.

2.5.2.1.3. Quy trình đóng nang

- Cài đặt máy đóng nang mềm, điều chỉnh độ dày màng gelatin 0,8-0,9mm.

- Cân chỉnh khối lượng dầu chứa trong nang.

- Tráng phễu, hệ thống đường ống dẫn bằng hỗn dịch thuốc.

- Căn chỉnh khối lượng thuốc chứa trong nang tùy theo từng sản phẩm.

- Đưa viên qua hệ thống lau viên.

- Trải viên trên khay, đưa vào phòng sấy viên. Kiểm tra cảm quan viên: viên nang mềm màu nâu hình thuôn dài, không móp méo, khô ráo, cầm không dính tay. Kiểm tra khối lượng viên: trong khoảng KLTB +/- 7,5%. Độ rã viên: ≤ 30 phút.

- Tiến hành khử ẩm viên trong 12-35 giờ ở nhiệt độ 18-25°C, độ ẩm ≤ 30 %.
- Ép vỉ đóng gói.

2.5.2.2. Kiểm tra chất lượng sản phẩm

Các sản phẩm viên nang mềm sau khi đóng gói được kiểm tra chất lượng với các chỉ tiêu theo tiêu chuẩn cơ sở đã xây dựng: Độ đồng đều khối lượng, Độ rã, Định tính, Định lượng, Độ nhiễm khuẩn.

- Tính chất: dựa vào cảm quan.
- Mất khối lượng do làm khô: tiến hành theo phương pháp xác định mất khối lượng do làm khô, Phụ lục 9.6 - DĐVN V.
- Độ đồng đều khối lượng: tiến hành theo phương pháp thử độ đồng đều khối lượng thuốc nang (Phụ lục 11.3 – DĐVN V).
- Độ rã: tiến hành theo phương pháp thử độ rã thuốc nang (Phụ lục 11.6 – DĐVN V).
- Định tính: theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4 – DĐVN V).
- Định lượng: Tiến hành định lượng hoạt chất chính trong nang bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3, DĐVN).
- Độ nhiễm khuẩn: tiến hành theo phương pháp thử giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6, DĐVN V).

2.5.3. Nghiên cứu xây dựng TCCS của viên nang

Dựa vào kết quả kiểm nghiệm lô viên nang đề đề xuất, xây dựng và thẩm định TCCS của viên nang đã bào chế được.

2.5.3.1. Xây dựng TCCS của viên nang mềm Đẳng sâm

Viên nang mềm Đẳng sâm được đánh giá dựa trên các chỉ tiêu sau:

- 2.5.3.1.1. Tính chất (Hình thức cảm quan): Viên nang mềm, chứa dịch thuốc màu nâu, mùi thơm dược liệu.
- 2.5.3.1.2. Độ đồng đều khối lượng : Thử theo Dược điển Việt Nam V (DĐVN V), phụ lục 1.11.
- 2.5.3.1.3. Độ rã: Thử theo DĐVN V, phụ lục 11.6, trang PL-226.
- 2.5.3.1.4. Định tính: bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng: tiến hành theo DĐVN V, phụ lục 5.4.

- Bắn mỏng Silica gel G trắng sẵn, hoạt hóa ở 105°C trong 30 phút.

- Dung môi khai triển: Cloroform – methanol – nước (65: 35 :10), để lắng, lấy lớp dưới.

- Dung dịch thử: cân khối lượng thuốc tương ứng với khối lượng trung bình 10 viên, thêm 50 ml nước, đun nóng nhẹ trên cách thủy (vừa đun vừa khuấy), khuấy kỹ, siêu âm cho đến khi tan hoàn toàn. Ly tâm (4000 vòng/20 phút). Gạn lấy dịch trong chuyển vào bình lắng gạn, chiết với n-Butanol đã bão hòa nước (40 ml x 2 lần). Gộp dịch chiết n-Butanol rửa với nước (2 lần x 20 ml), loại bỏ lớp nước, bay hơi dịch chiết n-Butanol đến khô. Hòa tan cẩn với 5 ml methanol, lọc, lấy dịch trong làm dung dịch chấm sắc ký.

- Dung dịch chuẩn đối chiếu: Hòa tan lobetyolin chuẩn đối chiếu trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

- Dung dịch dược liệu đối chiếu: Cân khoảng 5,0 g bột dược liệu chuẩn Đảng sâm Việt Nam, tiến hành tương tự mẫu thử.

- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch 10 μ l.

Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol 96 %, để khô, sấy ở 105°C đến khi hiện vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng đèn UV bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc so với các vết lobetyolin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.3.1.5. Định lượng: Phương pháp sắc ký lỏng

- Thiết bị: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao đầu dò PDA

- Cột: C18 (250 mm x 4,6 mm; 5 μ m) hoặc tương đương

- Bước sóng: 267 nm

- Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút

- Thẻ tích tiêm: 10 μ l

- Pha động: Nước - acetonitril (60:40)

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác lượng chuẩn lobetyolin khoảng 20,0 mg vào bình định mức 20 ml, thêm 10 ml methanol, lắc siêu âm đến tan hoàn toàn. Để nguội và định mức đến vạch bằng methanol, lắc đều. Hút 5 ml dung dịch trên vào bình định mức 10 ml, định mức đến vạch bằng methanol, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

- Dung dịch thử: Cân 20 viên, tháo vỏ nang tính khối lượng trung bình dịch thuốc và trộn đều, cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1000 mg cao (tương ứng 10 viên) thêm 30 ml nước, đun nóng nhẹ trên cách thủy (vừa đun vừa khuấy), khuấy kỹ, siêu âm cho đến khi tan hoàn toàn, ly tâm (4000 vòng/ 20 phút). Gộp lấy dịch nước trong chuyển vào bình lắng gạn, chiết với n-Butanol đã bão hòa nước (40 ml-30 ml-30 ml). Gộp dịch chiết n-Butanol rửa với nước (2 lần x 20 ml), loại bỏ lớp nước, bay hơi dịch chiết n-butanol đến khô. Hòa tan cặn với methanol cho vào bình định mức 5 ml, thêm methanol vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

- Tính toán kết quả:

Hàm lượng (mg/v) lobetyolin ($C_{20}H_{28}O_8$) trong chế phẩm tính trên KLTB dịch thuốc trong nang theo công thức:

$$X \text{ (mg/v)} = \frac{S_T \times C_S}{S_S} \times D \times M_{tb} / M_t$$

Trong đó:

+ S_T : diện tích pic lobetyolin trong sắc đồ dung dịch thử

+ S_C : diện tích pic lobetyolin trong sắc đồ dung dịch chuẩn

+ C_S : nồng độ lobetyolin trong dung dịch chuẩn (mg/ml)

+ D : độ hòa tan mẫu thử

+ M_{tb} : khối lượng trung bình dịch thuốc trong nang

+ M_t : khối lượng mẫu thử

2.5.3.1.6. Giới hạn nhiễm khuẩn: Thử theo DĐVN V, Phụ lục 13.6

Xác định tổng số vi sinh vật theo phương pháp cấy trộn đĩa thạch

2.5.3.2. Xây dựng TCCS của viên nang mềm Sâm cau

Viên nang mềm Sâm cau được đánh giá dựa trên các chỉ tiêu sau:

2.5.3.2.1. Tính chất (Hình thức cảm quan): Viên nang mềm, chứa dịch thuốc màu nâu, mùi thơm dược liệu.

2.5.3.2.2. Độ đồng đều khối lượng : Thử theo Dược điển Việt Nam V (DĐVN V), phụ lục 1.11.

2.5.3.2.3. Độ rã: Thử theo DĐVN V, phụ lục 11.6, trang PL-226.

2.5.3.2.4. Định tính: bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng: tiến hành theo ĐĐVN V, phụ lục 5.4.

- Bản mỏng Silica gel G trắng sẵn, hoạt hóa ở 105°C trong 30 phút.

- Dung môi khai triển: ethyl acetat - ethanol - formic acid (8:1:0,1).

- Dung dịch thử: cân khối lượng thuốc tương ứng với khối lượng trung bình 5 viên, thêm 20 ml ethanol 70% (TT), siêu âm trong 30 phút, khuấy cho tan hoàn toàn, lọc, cô đến cạn. Hòa tan cặn với 10 ml methanol (TT) làm dung dịch mẫu thử.

- Dung dịch chuẩn đối chiếu: Hòa tan curculigoside A chuẩn đối chiếu trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun hỗn hợp dung dịch kali ferycyanid và sắt (III) clorid. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị Rf và màu sắc so với các vết curculigosid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.3.2.5. Định lượng: Phương pháp sắc ký lỏng

- Thiết bị: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao đầu dò PDA

- Cột: C18 (250 mm x 4,6 mm; 5 µm) hoặc tương đương

- Bước sóng: 285 nm

- Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút

- Thể tích tiêm: 20 µl

- Pha động: Nước - acetonitril (80:20)

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác lượng chuẩn curculigoside A khoảng 4,0 mg vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml methanol, lắc siêu âm đến tan hoàn toàn. Để nguội và định mức đến vạch bằng methanol, lắc đều. Hút 5 ml dung dịch chuẩn trên vào bình định mức 20 ml, định mức đến vạch bằng methanol, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

- Dung dịch thử: Cân 20 viên, tháo vỏ nang tính khối lượng trung bình dịch thuốc và trộn đều, cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg cao (tương ứng 5 viên) cho vào cốc có mỏ 100 ml thêm 30 ml ethanol 70 %, siêu âm 30 phút, khuấy kỹ cho tan hoàn toàn, ly tâm (chiết lại lần nữa với 30 ml ethanol 70 %). Gộp dịch chiết

ethanol bay hơi đến khô. Hòa tan cẩn với methanol cho vào bình định mức 10 ml. Để nguội và định mức đến vạch bằng methanol, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

- Tính toán kết quả:

Hàm lượng (mg/v) curculigocide A (C₂₂H₂₆O₁₁) trong chế phẩm tính trên KLTB dịch thuốc trong nang theo công thức:

$$X \text{ (mg/v)} = \frac{S_T \times C_S}{S_S} \times D \times M_{tb} / M_t$$

Trong đó:

+ S_T: diện tích pic curculigocide A trong sắc đồ dung dịch thử

+ S_C: diện tích pic curculigocide A trong sắc đồ dung dịch chuẩn

+ C_S: nồng độ curculigocide A trong dung dịch chuẩn (mg/ml)

+ D: độ hòa tan mẫu thử

+ M_{tb}: khối lượng trung bình dịch thuốc trong nang

+ M_t: khối lượng mẫu thử

2.5.3.2.6. Giới hạn nhiễm khuẩn: Thử theo ĐĐVN V, Phụ lục 13.6

Xác định tổng số vi sinh vật theo phương pháp cấy trộn đĩa thạch

2.5.3.3. Xây dựng TCCS của viên nang mềm Đương quy

Viên nang mềm Đương quy được đánh giá dựa trên các chỉ tiêu sau:

2.5.3.3.1. Tính chất (Hình thức cảm quan): Viên nang mềm, chứa dịch thuốc màu nâu, mùi thơm dược liệu.

2.5.3.3.2. Độ đồng đều khối lượng : Thử theo Dược điển Việt Nam V (ĐĐVN V), phụ lục 1.11.

2.5.3.3.3. Độ rã: Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 11.6, trang PL-226.

2.5.3.3.4. Định tính: bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng: tiến hành theo ĐĐVN V, phụ lục 5.4.

- Bản mỏng Silica gel G tráng sẵn, hoạt hóa ở 105°C trong 30 phút.

- Dung môi khai triển: Cyclohexan – dicloromethan – ethyl acetat – acid formic (4:1:1:0,1).

- Dung dịch thử: cân khối lượng thuốc tương ứng với khối lượng trung bình 5 viên, thêm 30 ml dung dịch natri bicarbonat 1% (TT), khuấy kỹ cho tan, siêu âm 10 phút, trộn

lại cho đều, ly tâm. Gạn lấy phần dung dịch nổi phía trên chỉnh về pH=2-3 bằng dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT), chuyển toàn bộ dung dịch vào bình lắng gạn, chiết với ether ethylic (TT) (2 lần x 20 ml). Gộp dịch chiết ether để bay hơi đến khô (dưới gió mát). Hòa tan cẩn với 5 ml ethyl acetat (TT), khuấy kỹ, lọc, để bay hơi tự nhiên cho đến khô. Hòa tan cẩn với 2 ml methanol (TT), lọc, làm dung dịch thử.

- Dung dịch chuẩn đối chiếu: Hòa tan chuẩn đối chiếu Z-Ligustilide trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 0,02 mg/ml.

- Dung dịch dược liệu đối chiếu: Cân khoảng 3g bột dược liệu chuẩn Đương quy, thêm 30 ml dung dịch natri bicarbonat 1% (TT), khuấy kỹ cho tan, siêu âm 10 phút, trộn lại cho đều, ly tâm. Gạn lấy phần dung dịch nổi phía trên chỉnh về pH=2-3 bằng dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT), chuyển toàn bộ dung dịch vào bình lắng gạn, chiết với ether ethylic (TT) (2 lần x 20 ml). Gộp dịch chiết ether để bay hơi đến khô (dưới gió mát). Hòa tan cẩn với 2 ml methanol (TT), lọc, làm dung dịch chuẩn đối chiếu dược liệu.

- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch 10 μ l. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc so với các vết Z-Ligustilid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.3.3.5. Định lượng: Phương pháp sắc ký lỏng

- Thiết bị: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao đầu dò PDA

- Cột: C18 (250 mm x 4,6 mm; 5 μ m) hoặc tương đương

- Bước sóng: 350 nm

- Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút

- Thể tích tiêm: 20 μ l

- Pha động: Dung dịch acid phosphoric 0,085% - acetonitril (80:20)

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác lượng chuẩn Z-ligustilide khoảng 9,7 mg vào bình định mức 10 ml, thêm acetonitril, lắc siêu âm đến tan hoàn toàn. Để nguội và định mức đến vạch bằng acetonitril, lắc đều. Hút chính xác 0,2 ml dung dịch trên vào bình định mức 10 ml, điền đủ bằng acetonitril, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

- Dung dịch thử: Cân 20 viên, tháo vỏ nang tính khối lượng trung bình dịch thuốc và trộn đều, cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg cao (tương

ứng 5 viên) vào ống ly tâm dung tích 50 ml, thêm 30 ml dung dịch natri bicarbonat 1 % trong nước, khuấy kỹ, tráng rửa đĩa thủy tinh, siêu âm 30 phút, ly tâm (4000 vòng/ 20 phút). Gạn kỹ lấy hết phần dịch nổi ở phía trên, chỉnh dung dịch về pH= 2-3 bằng dung dịch acid hydrochloric 10 %. Chuyển tất cả vào bình lắng gạn chiết với ether ethylic (3 lần x 20 ml), gộp dịch chiết ether để bay hơi đến khô. Hòa tan căn với 2 ml methanol, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

- Tính toán kết quả:

Hàm lượng (µg/v) Z-Ligustilide (C₁₂H₁₄O₂) trong chế phẩm so với hàm lượng ghi trên nhãn, tính theo công thức:

$$HL = (R_u / R_S) \times C_S \times (MW / m_t) \times D \times 1000$$

Trong đó:

- + R_u: diện tích pic Z-Ligustilide trong sắc ký đồ dung dịch thử
- + R_S: diện tích pic Z-Ligustilide trong sắc ký đồ dung dịch chuẩn
- + C_S: Nồng độ chuẩn Z-Ligustilide (mg/ml)
- + MW: Khối lượng trung bình viên (mg)
- + m_t: Khối lượng thuốc dùng pha mẫu thử (mg)
- + D: Độ pha loãng mẫu thử (ml)

2.5.3.3.6. Giới hạn nhiễm khuẩn: Thử theo DĐVN V, Phụ lục 13.6

Xác định tổng số vi sinh vật theo phương pháp cấy trộn đĩa thạch

2.5.3.4. Xây dựng TCCS của viên nang mềm Đảng sâm – Sâm cau

Viên nang mềm Đảng sâm – Sâm cau được đánh giá dựa trên các chỉ tiêu sau:

2.5.3.4.1. Tính chất (Hình thức cảm quan): Viên nang mềm, chứa dịch thuốc màu nâu, mùi thơm được liệu.

2.5.3.4.2. Độ đồng đều khối lượng : Thử theo Dược điển Việt Nam V (DĐVN V), phụ lục 1.11.

2.5.3.4.3. Độ rã: Thử theo DĐVN V, phụ lục 11.6, trang PL-226.

2.5.3.4.4. Định tính: bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng: tiến hành theo DĐVN V, phụ lục 5.4.

a. Định tính Đảng sâm

Thực hiện như phương pháp 2.5.1.4.

b. Định tính sâm cau

Thực hiện như phương pháp 2.5.2.4.

2.5.3.4.5. Định lượng: Phương pháp sắc ký lỏng

a. Định lượng lobetyolin

Thực hiện như phương pháp 2.5.1.5.

b. Định lượng Z-ligustilide

Thực hiện như phương pháp 2.5.2.5.

2.5.3.4.6. Giới hạn nhiễm khuẩn: Thử theo DĐVN V, Phụ lục 13.6

Xác định tổng số vi sinh vật theo phương pháp cấy trộn đĩa thạch

2.5.4. Nghiên cứu đánh giá độ ổn định của viên nang

Theo phương pháp theo dõi độ ổn định ở điều kiện thường: Viên nang đưa vào nghiên cứu được kiểm tra đạt yêu cầu chất lượng, định lượng để xác định hàm lượng ban đầu của hoạt chất, được bảo quản ở nhiệt độ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm $80\pm 5\%$. Cứ sau 3 tháng lấy mẫu để kiểm tra chất lượng, thời gian theo dõi đến khi phát hiện bất kỳ mẫu nào không đạt yêu cầu chất lượng. Ghi chép kết quả theo dõi vào hồ sơ.

Phương pháp kiểm nghiệm viên nang dựa theo tiêu chuẩn cơ sở của viên nang.

2.5.5. Phương pháp xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn

a. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt Swiss albino, đực và cái, 6-7 tuần tuổi, trọng lượng 17 - 25 g, được cung cấp từ Viện Vaccin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang. Chuột sử dụng khỏe mạnh, không có biểu hiện bất thường, được nuôi ổn định trong môi trường thí nghiệm 5 ngày. Chuột được nuôi trong lồng có kích thước 25 x 35 x 15 cm (6 chuột/lồng), được cung cấp thức ăn và nước uống đầy đủ trong thời gian thử nghiệm.

b. Xác định độc tính cấp

Độc tính cấp trên chuột nhắt trắng được đánh giá theo qui định của Bộ Y tế Việt Nam [31], và hướng dẫn về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc Y học cổ truyền [21].

Nhóm 10 chuột thử nghiệm (5 chuột đực, 5 chuột cái) được cho nhịn đói 12 giờ trước khi cho uống mẫu thử với liều xác định. Theo dõi và ghi nhận mức độ cũng như thời gian khởi phát và tiến triển các dấu hiệu độc tính về cử động tổng quát, biểu hiện về hành vi, trạng thái lông, ăn uống, tiêu tiêu và số lượng chuột chết trong 72 giờ. Nếu sau 72 giờ, chuột không có dấu hiệu bất thường hoặc chết, tiếp tục theo dõi trong 14

ngày. Liều thử nghiệm đầu tiên được xác định từ nồng độ tối đa của mẫu thử phân tán trong nước cất và có thể qua kim cho uống. Dựa vào tỷ lệ chuột chết trong 72 giờ đầu tiên, không cần thử nghiệm thêm hoặc tiến hành giảm liều để tìm liều tối thiểu gây chết 100% chuột (LD_{100}), liều tối đa không gây chết chuột nào (LD_0) và liều gây chết 50% chuột (LD_{50}).

c. Xác định độc tính bán trường diễn trên chuột

Nguyên tắc: Đánh giá độc tính bán trường diễn của mẫu thử trên chuột nhắt. Cho chuột thử nghiệm sử dụng liều dự kiến dùng để điều trị cho người và liều cao gấp 2 lần liều điều trị trong khoảng thời gian 14 và 28 ngày, được chăm sóc trong môi trường ổn định như nhau. Thử nghiệm được tiến hành song song với 1 nhóm chứng sinh lý trong cùng điều kiện.

Thực hiện: Chuột (50% đực, 50% cái) được nuôi ở điều kiện thí nghiệm trong 5 ngày, sau đó chia ngẫu nhiên thành 18 lô, mỗi lô 10 con (5 đực, 5 cái) nuôi riêng lẻ đực, cái.

Cho chuột uống nước cất hoặc mẫu thử mỗi ngày vào buổi sáng (khoảng 9 giờ - 10 giờ) liên tục trong 14 ngày hoặc 28 ngày, thể tích cho uống 10 ml/kg.

Theo dõi chuột trong quá trình thử nghiệm về: hành vi (tăng đi lại, giảm đi lại, nằm im, run rẩy, co giật...); lông (mượt, rụng đứng, rụng...) và các cơ quan: mắt, mũi...; tình trạng ăn, uống; tính chất phân, nước tiểu, thể trọng. Sự thay đổi trọng lượng cơ thể chuột được ghi nhận bằng cách cân chuột 1 lần/tuần.

Sau 14 hoặc 28 ngày, chuột được gây mê bằng đá CO_2 , mổ nhanh để lấy máu tim để thực hiện xét nghiệm các chỉ số huyết học như số lượng hồng cầu (RBC), bạch cầu (WBC), tiểu cầu (PLT), huyết sắc tố hemoglobin (HGB), dung tích hồng cầu hematocrit (HCT), thể tích trung bình một hồng cầu (MCV), số lượng hemoglobin trung bình trong một hồng cầu (MCH), nồng độ hemoglobin trung bình trong một hồng cầu (MCHC) và khoảng phân bố hồng cầu (RDW) (kiểm tra chức năng tạo máu), sinh hóa: aspartat aminotransferase (AST) và alanin aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN), creatinin, kiểm tra chức năng gan, thận bằng máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Mindray BA-88A tại Phòng khám Đa khoa Tao Đàn, số 77 Thạch Thị Thanh, Tân Định, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh.

Vào ngày 28, tách lấy gan và thận, rửa sạch bằng nước muối sinh lý lạnh. Thâm khô. Quan sát đại thể, ghi nhận màu sắc, tình trạng bề mặt, tổn thương. Cho gan, thận vào dung dịch formol 10%. Lấy ngẫu nhiên 6 mẫu gan, thận trong 1 lô để làm xét nghiệm vi thể sau khi nhuộm hematoxylin-eosin (HE) bằng kính hiển vi quang học (Labomed, Hoa Kỳ) tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Quận 2, Tp. Hồ Chí Minh.

Nếu trong quá trình thử nghiệm có chuột tử vong thì xem xét tình trạng của cơ quan nội tạng qua giải phẫu (đại thể và nhuộm tiêu bản HE, phân tích vi thể).

Xử lý kết quả và phân tích thống kê

Kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình \pm SEM (standard error of mean - sai số chuẩn của số trung bình). Sự khác biệt giữa các lô được phân tích bằng phép kiểm One-way ANOVA, paired sample T-test, Kruskal-Wallis và Mann-Whitney với phần mềm SPSS 22.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Các kết quả nghiên cứu của đề tài được trình bày theo 5 nội dung nghiên cứu chính:

1. Xây dựng danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên.
2. Nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực.
3. Xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu và Xây dựng mô hình trồng 5-6 loài dược liệu (10 ha, 1-2 ha/loài)
4. Bảo tồn và phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao ở Tây Nguyên.
5. Hoàn thiện công nghệ và tạo ra một số sản phẩm có chất lượng cao.

3.1. XÂY DỰNG DANH MỤC CÁC LOÀI DƯỢC LIỆU CHỦ LỰC CỦA TÂY NGUYÊN

3.1.1. Cơ sở pháp lý

Căn cứ theo hệ thống các văn bản đã được Chính phủ, UBND 5 tỉnh Tây Nguyên, các Sở, Ban, Ngành đề làm cơ sở cho việc chọn lựa danh mục dược liệu chủ lực cho vùng, địa phương:

Quyết định số 1976/QĐ-TTg ngày 30/10/2013 “Phê duyệt quy hoạch tổng thể phát triển dược liệu đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030” [10], trong đó vùng Tây Nguyên (Kon Tum, Gia Lai, Lâm Đồng, Đắk Lắk, Đắk Nông) tập trung phát triển trồng 10 loài dược liệu bao gồm các loài bản địa: Gấc, Gừng, Hương nhu trắng, Đảng sâm, Nghệ vàng, Sa nhân tím, Sả, Sâm Ngọc linh, Trinh nữ hoàng cung, Ý dĩ với diện tích trồng khoảng 2.000 ha. Ưu tiên trồng các loài: Đảng sâm, Sâm Ngọc linh. Ngoài ra, tỉnh Lâm Đồng cần ưu tiên phát triển thêm các loài: Bạch truật, Đỗ trọng và Actisô.

Quyết định số 206/QĐ-BYT ngày 22 tháng 01 năm 2015 của Bộ Y tế về việc ban hành danh mục cây dược liệu ưu tiên phát triển giai đoạn 2015-2020 [8].

Quyết định số 1466/QĐ-UBND ngày 28 tháng 12 năm 2018 của UBND tỉnh Kon Tum về việc ban hành Đề án đầu tư, phát triển và chế biến dược liệu trên địa bàn tỉnh đến năm 2020, định hướng đến năm 2030 [4].

Kế hoạch số 3368/KH-UBND ngày 12 tháng 08 năm 2015 của UBND tỉnh Gia Lai về phát triển y, dược học cổ truyền tỉnh Gia Lai đến năm 2020 [3].

Chương trình số 15-CTr/TU ngày 30 tháng 6 năm 2016 của Tỉnh ủy Gia Lai về tái cơ cấu ngành nông nghiệp gắn với xây dựng nông thôn mới theo hướng nâng cao giá trị gia tăng, chất lượng sản phẩm, đẩy mạnh ứng dụng công nghệ sinh học chất lượng cao vào sản xuất trong điều kiện biến đổi khí hậu [1].

Chi thị số 22-CT/TU ngày 20/09/2017 của Ban thường vụ Tỉnh ủy Đắk Nông về việc phát triển cây dược liệu trên địa bàn tỉnh Đắk Nông để định hướng phát triển cây dược liệu trên địa bàn [5].

Đề án Bảo tồn và phát triển dược liệu tỉnh Đắk Nông đến năm 2030 của Sở Y tế Đắk Nông nghiệm thu năm 2020 [2]

Quyết định số 756/QĐ-UBND ngày 19 tháng 04 năm 2017 của UBND tỉnh Lâm Đồng Ban hành kế hoạch thực hiện Nghị quyết số 05-NQ/TU ngày 11/11/2016 của Tỉnh ủy về phát triển nông nghiệp toàn diện, bền vững và hiện đại giai đoạn 2016-2020 và định hướng đến năm 2025 [9].

Quyết định số 2325/QĐ-UBND ngày 10 tháng 08 năm 2016 của UBND tỉnh Đắk Lắk về việc phê duyệt Đề án tái cơ cấu ngành nông nghiệp theo hướng nâng cao giá trị gia tăng và phát triển bền vững đến năm 2020, định hướng đến năm 2030 [11].

Thực tiễn nghiên cứu cho thấy tình hình chung về nghiên cứu dược liệu chủ lực ở Việt Nam còn nhiều vấn đề cần giải quyết. Dược liệu “chủ lực” ở một số khu vực được coi là tiềm năng dược liệu của Việt Nam phân chia theo 07 vùng sinh thái cơ bản hiện nay vẫn đang chạy theo nhu cầu của thị trường. Cơ bản là chưa đáp ứng được những yêu cầu thực tế cho các vùng kinh tế. Một vấn đề chung vẫn đang tồn tại hiện nay là còn tồn tại tình trạng nhiều khu vực cùng thực hiện nuôi trồng đồng thời những dược liệu đang thịnh hành, đang được thu mua và tiêu thụ lượng nhiều, ví dụ khi nguồn tiêu thụ Nghệ vàng dùng làm nguyên liệu sản xuất curcumin gia tăng, nhiều địa phương trong cả nước đã tiến hành trồng và tạo ra một thị trường khó kiểm soát nguồn nguyên liệu Nghệ vàng. Không chủ động được nguồn cung cấp bền vững dẫn đến tình trạng khai thác cạn kiệt, suy giảm cấp bách đến nguồn gen và dẫn đến tình trạng nhiều dược liệu đã đưa vào sách đỏ để bảo tồn.

Dược liệu được coi là “chủ lực” của khu vực Tây Nguyên theo các số liệu thống kê và từ kết quả của các đề tài nghiên cứu thuộc chương trình Tây Nguyên 3, chương trình Quốc gia, của Bộ Y tế, của các Công ty đến nay là chưa thống nhất. Đặc biệt khi

thị trường xuất khẩu dược liệu đang chạy theo nhu cầu của các nước láng giềng hoặc do nhu cầu sản xuất trong nước thì một số loài dược liệu đã được trồng trên diện tích lớn để làm thực phẩm, sản xuất thực phẩm chức năng như atisô, ca cao, điều, mắc ca, sa chi, dưa lười, nấm ăn và nấm dược liệu... Trong khoảng thời gian 20 năm gần đây, nhiều loài dược liệu khác đã được thử nghiệm, phát triển trên quy mô lớn ở khu vực Tây Nguyên như cỏ ngọt, dương cam cúc, gừng, nghệ, đương quy, hà thủ ô, hồng hoa, huyền sâm, đẳng sâm, sâm ngọc linh, diệp hạ châu, đinh lăng... Nhưng công tác trồng, phát triển dược liệu còn mang tính tự phát, chưa áp dụng nhiều các kỹ thuật nông nghiệp công nghệ cao, các sản phẩm chế biến dược liệu còn đơn giản, thiếu sức cạnh tranh trên thương trường, đặc biệt là ít đáp ứng yêu cầu của thị trường nước ngoài. Do vậy, khả năng đáp ứng nhu cầu dược liệu phục vụ cho công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng của ngành y tế còn rất hạn chế, hàng năm, ngành dược Việt Nam sử dụng khoảng 60.000 tấn dược liệu các loại nhưng khả năng trong nước chỉ đáp ứng 15-20% nhu cầu, còn lại chủ yếu là nhập khẩu từ Trung Quốc.

Cho nên, việc xây dựng danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên là cần thiết, bên cạnh các loài được ưu tiên phát triển, cần quan tâm thêm những loài bản địa, có khả năng phát triển thành sản phẩm hàng hóa trong thời gian tới.

3.1.2. Xây dựng danh mục dược liệu chủ lực

Để xây dựng được danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên, cần kế thừa các kết quả của các nhiệm vụ khoa học thuộc Chương trình TN3, các chương trình điều tra cơ bản, định hướng trong Quyết định 1976/QĐ-TTg của Thủ tướng về phát triển dược liệu cũng như quy hoạch, kế hoạch phát triển dược liệu của 5 tỉnh Tây Nguyên... để xác lập danh mục cây thuốc dự kiến sẽ thuộc danh mục các dược liệu chủ lực của khu vực Tây Nguyên. Các đối tượng này sẽ đáp ứng các tiêu chí chung như sau: Các đối tượng này hiện đang tồn tại ở dạng tự nhiên hay đã được nuôi trồng; Tình hình nghiên cứu hoá học và xác định các hoạt chất chính (hoặc chất được coi là có hoạt tính sinh học chủ yếu) trên các đối tượng này; Về hoạt tính sinh học và những ứng dụng chính trong y học hiện nay, cổ truyền và các sản phẩm hiện nay; Về khả năng tiêu thụ thực tế dài hạn hay ngắn hạn?; Có phù hợp với thời tiết, địa hình khu vực Tây Nguyên hay không? Tiếp đó điều tra hiện trạng (tự nhiên, bảo tồn...) của các đối tượng dự kiến ở thực tế các tỉnh thuộc Tây Nguyên, với mục tiêu phù hợp với Quy hoạch phát triển của 5 tỉnh.

Theo Quyết định số 1976/QĐ-TTg ngày 30/10/2013 “Phê duyệt quy hoạch tổng thể phát triển dược liệu đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030” [10], trong đó vùng Tây Nguyên (Kon Tum, Gia Lai, Lâm Đồng, Đắk Lắk, Đắk Nông) tập trung phát triển trồng 10 loài dược liệu bao gồm các loài bản địa: Gấc, Gừng, Hương nhu trắng, Đảng sâm, Nghệ vàng, Sa nhân tím, Sả, Sâm Ngọc linh, Trinh nữ hoàng cung, Ý dĩ với diện tích trồng khoảng 2.000 ha. Ưu tiên trồng các loài: Đảng sâm, Sâm Ngọc linh. Ngoài ra, tỉnh Lâm Đồng cần ưu tiên phát triển thêm các loài: Bạch truật, Đỗ trọng và Actisô.

Kết quả điều tra cho thấy các loài dược liệu theo Quyết định số 1976 đều đang được phát triển ở Tây Nguyên, tập trung chính trên các loài như sâm Ngọc Linh (>400 ha ở Kon Tum), atisô (>150 ha tại Lâm Đồng), nghệ vàng (5.000 ha tập trung chủ yếu tại Đắk Lắk, Gia Lai, Đắk Nông), gấc (100 ha ở Đắk Lắk, Đắk Nông), đảng sâm (50 ha chủ yếu ở Kon Tum, Lâm Đồng, Đắk Lắk), đương quy Nhật Bản (50 ha tập trung ở Kon Tum, Lâm Đồng, Đắk Lắk), các loài còn lại đang phát triển ở quy mô nhỏ với diện tích nhỏ từ 5-30 ha. Việc mở rộng diện tích trồng sâm Ngọc Linh hiện nay do không đáp ứng được nhu cầu về cây giống (chủ yếu nhân giống từ hạt) nên chưa đáp ứng được yêu cầu phát triển ở quy mô lớn hơn (khoảng 5.000 ha). Các loài còn lại đều có thể phát triển ở quy mô lớn hơn do phù hợp với điều kiện sinh thái của vùng cũng như không có khó khăn về nguồn giống. Hiện nay diện tích trồng nghệ vàng là lớn nhất của vùng Tây Nguyên tập trung chủ yếu tại Đắk Lắk, Gia Lai, Đắk Nông với trên 5.000 ha. Tuy nhiên, trong thời gian trước có những giai đoạn diện tích trồng nghệ vàng đạt trên 10.000 ha do tự phát nhưng do lượng cung vượt quá nhu cầu của thị trường dẫn đến giá nghệ vàng giảm mạnh làm mất tính hiệu quả so với các loại cây trồng khác, cho nên việc triển khai quy hoạch trồng dược liệu ở quy mô lớn cần phải được quản lý, điều chỉnh cho phù hợp. Tuy vậy, các loài dược liệu này đều đang đáp ứng nhu cầu của thị trường hiện tại và trong tương lai nên tiếp tục được đưa vào danh mục chủ lực.

Tình hình tổ chức triển khai trồng dược liệu ở 5 tỉnh Tây Nguyên qua kết quả điều tra cho thấy bên cạnh 10 loài dược liệu như Quyết định số 1976 còn một số loài dược liệu khác cũng được vào quy hoạch, định hướng phát triển dược liệu của các tỉnh cho nên cần xem xét đưa vào danh mục. Hầu hết các loài dược liệu được định hướng phát triển của các tỉnh đều là cây thuốc bản địa, được sử dụng trong các bài thuốc của đồng bào Tây Nguyên, có giá trị kinh tế cao (sâm Ngọc Linh, đảng sâm, ý dĩ, nghệ vàng,

ngũ vị tử, sa nhân tím, lan kim tuyến, gấc, diệp hạ châu, ba kích tím, gừng, sả, hương nhu trắng, trinh nữ hoàng cung, thông đỏ, sâm cau); chỉ có một số loài là loài nhập nội (atisô, đương quy, đỗ trọng) nhưng tiềm năng phát triển lớn; một số loài cần phải bảo tồn đi đôi với phát triển (đảng sâm, ngũ vị tử, tam thất, thông đỏ, sâm cau).

Tại Tây Nguyên, trong thời gian qua một số loài dược liệu được khai thác tự nhiên hàng năm với số lượng lớn như bách bộ, cầu tích, chè dây, chiêu liêu, chua chát, cốt toái bồ lá to, hà thủ ô trắng, hoàng đằng, mã tiền, sâm bố chính, thảo quyết minh, vàng đắng nhưng đều chưa phát triển thành các sản phẩm trồng trọt nên chưa đưa vào danh mục mà chỉ đề nghị các tỉnh có chính sách để hướng đến khai thác bền vững.

Tổng hợp các phân tích, đề tài đề xuất danh mục dược liệu chủ lực gồm 22 loài dược liệu trình bày trong bảng 3.1.1, các thông tin tóm tắt của các loài trong danh mục được trình bày trong phần phụ lục (PL3.1.1-PL3.1.22):

Bảng 3.1.1: Danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên

TT	Dược liệu	Tên khoa học
1	Sâm Ngọc Linh	<i>Panax vietnamensis</i> Ha et Grushv.
2	Đảng sâm	<i>Codonopsis javanica</i> (Blume) Hook. f. & Thomson
3	Atisô	<i>Cynara scolymus</i> L.
4	Đỉnh lăng	<i>Polyscias fruticosa</i> (L.) Harms
5	Ý dĩ	<i>Coix lacryma-jobi</i> L.
6	Nghệ vàng	<i>Curcuma longa</i> L.
7	Đương quy	<i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels <i>Angelica acutiloba</i> (Sieb.et.Zucc) Kitagawa
8	Ngũ vị tử	<i>Schisandra sinensis</i> Baill
9	Sa nhân tím	<i>Amomum longiligulare</i> T.L.Wu
10	Lan Kim tuyến	<i>Anoectochilus setaceus</i> Blume
11	Gấc	<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng.
12	Tam thất	<i>Panax pseudoginseng</i> Wall.
13	Diệp hạ châu	<i>Phyllanthus urinaria</i> L.
14	Ba kích tím	<i>Morinda officinalis</i> F.C.How
15	Gừng	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe
16	Sả	<i>Cymbopogon</i> sp.
17	Hương nhu trắng	<i>Ocimum gratissimum</i> L.
18	Trinh nữ hoàng cung	<i>Crinum latifolium</i> L.
19	Bạch truật	<i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz.
20	Đỗ trọng	<i>Eucommia ulmoides</i> Oliv.
21	Thông đỏ	<i>Taxus wallichiana</i> Zucc.
22	Sâm cau	<i>Curculigo orchioides</i> Gaertn

Trong quá trình điều tra thực tế tại 5 tỉnh Tây Nguyên, đề tài cũng đã tiến hành điều tra, thu thập, bổ sung thêm một số loài được liệt vào danh mục đã xây dựng trong thời gian trước. Kết quả đã thu 112 tiêu bản, xác định tên khoa học được 41 loài. Trong đó Đắk Lắk thu được 24 loài, Gia Lai thu được 17 loài.

Bảng 3.1.2. Danh sách các loài bổ sung

Mã số	Tên khoa học	Mã số	Tên khoa học
VTN 1/2018	<i>Ardisia tinctoria</i> Pitard.	VTN23/2018	<i>Aglaia odotratissima</i> Bl.
VTN 2/2018	<i>Ardisia thyrsoiflora</i> (D. Don) Kuntze	VTN24/2018	<i>Symplocos singuliflora</i> Y.F.Wu
VTN 3/2018	<i>Arisaema roxburghii</i> Kunth	VTN25/2018	<i>Popowia pisocarpa</i> (Blume) Endl. ex Walp.
VTN 4/2018	<i>Anadendrum latifolium</i> Hook. f.	VTN26/2018	<i>Fissistigma oldhamii</i> (Hemsl.) Merr.
VTN 5/2018	<i>Alphonsea gaudichaudiana</i> (Baill.) Finet & Gagnep.	VTN27/2018	<i>Fissistigma rufinerve</i> Merr.
VTN 6/2018	<i>Carex nemostachys</i> Steud.	VTN28/2018	<i>Fissistigma taynguyenense</i> Ban
VTN 7/2018	<i>Polygonum posumbu</i> Buch.-Ham. ex D. Don	VTN29/2018	<i>Uvaria calamistrata</i> Hance
VTN 8/2018	<i>Smilax cuculoides</i> Warb.	VTN30/2018	<i>Beilschmiedia tsangii</i> Merr.
VTN 9/2018	<i>Smilax megalantha</i> Wright	VTN31/2018	<i>Licuala fatua</i> Becc.
VTN10/2018	<i>Smilax verticalis</i> Gagnep.	VTN32/2018	<i>Calamus viminalis</i> Willd.
VTN11/2018	<i>Hypolytrum nemorum</i> (Vahl) Spreng	VTN33/2018	<i>Litsea verticillata</i> Hance
VTN13/2018	<i>Rhaphidophora crassicaulis</i> Engl. & K. Krause	VTN34/2018	<i>Litsea lancifolia</i> (Roxb. ex Nees) Hook. f.
VTN14/2018	<i>Hedychium stenopetalum</i> Lodd.	VTN35/2018	<i>Litsea clongata</i> (Ness) Hook.
VTN15/2018	<i>Commersonia bartramia</i> (L.) Merr.	VTN36/2018	<i>Olea salicifolia</i> Wall. ex G. Don
VTN16/2018	<i>Curculigo latifolia</i> Dryand. ex W.T. Aiton	VTN37/2018	<i>Diospyros susarticulata</i> Lecomte
VTN17/2018	<i>Molineria capitulata</i> (Lour.) Herb.	VTN38/2018	<i>Piper thomsonii</i> (C. DC.) Hook.f.
VTN18/2018	<i>Peliosanthes violacea</i> Wall. ex Baker	VTN39/2018	<i>Vaccinium bracteatum</i> Thunb.
VTN19/2018	<i>Ophiopogon pierrei</i> L.Rodr.	VTN40/2018	<i>Ardisia sanguinolenta</i> Blume
VTN20/2018	<i>Aglaia odorata</i> Lour.	VTN42/2018	<i>Timonius jambosella</i> Thwaites
VTN21/2018	<i>Fibraurea recisa</i> Pierre	VTN42/2018	<i>Piper penangense</i> (Miq.) C.DC.
VTN22/2018	<i>Syzygium stictanthum</i> Merr. & L.M. Perry		

Kết luận: Nội dung nghiên cứu này đã hoàn thành các sản phẩm theo đăng ký bao gồm danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên gồm 22 loài định hướng phát triển lớn ở Tây Nguyên, đa số các loài trong danh mục là cây thuốc bản địa, có giá trị bảo tồn cao nhưng đồng thời có giá trị kinh tế lớn, đồng thời bổ sung 41 loài dược liệu trong tự nhiên vào cơ sở dữ liệu đã xây dựng trong thời gian trước từ kết quả điều tra của Chương trình Tây Nguyên III (2011-2015).

Như vậy, có thể thấy nguồn dược liệu ở Tây Nguyên vô cùng đa dạng, phong phú; nhiều loài đã được trồng, phát triển ở quy mô lớn bên cạnh nhiều loài tiềm năng được nghiên cứu, phát triển theo định hướng phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên. Bên cạnh đó, nhiều loài dược liệu, thực vật có hoạt tính sinh học được phát hiện mới hàng năm đã cho thấy tiềm năng phát triển của nguồn dược liệu Tây Nguyên cần được đầu tư nghiên cứu, phát triển liên tục trong thời gian tới để phục vụ cho việc phát triển kinh tế - xã hội của vùng.

3.2. NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐỘNG THÁI CỦA CHÚNG Ở MỘT SỐ LOÀI DƯỢC LIỆU CHỦ LỰC.

Dựa trên danh mục các loài dược liệu chủ lực cần phát triển và bảo tồn đã xác định ở trên, đề tài đã chọn ra 09 loài dược liệu để tiến hành nghiên cứu hóa học với mục tiêu xác định thành phần các hợp chất chính, tìm kiếm các hoạt chất mới; xác định các hợp chất chỉ thị để bổ sung, xây dựng các phương pháp phân tích nhằm theo dõi, đánh giá chất lượng dược liệu trong quá trình trồng trọt. Các loài nghiên cứu bao gồm:

- Nhóm dược liệu chủ lực định hướng phát triển:

Atisô (*Cynara scolymus* L.), Đẳng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. & Thomson), Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, *Angelica acutiloba* (Sieb.et.Zucc) Kitagawa), Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn), Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms), Sa nhân tím (*Amomum longiligulare* T.L.Wu).

- Nhóm dược liệu định hướng bảo tồn:

Xoan nhừ (*Choerospondias axillaris*), Cuồng hiệp (*Aralia hiepiana*).



Atisô
Cynara scolymus



Đẳng sâm
Codonopsis javanica



Đương quy
Angelica acutiloba



Sâm cau
Curculigo orchioides



Đương quy
Angelica sinensis



Đinh lăng
Polyscias fruticosa



Sa nhân tím
Amomum longiligulare



Cuồng hiệp
Aralia hiepiana



Xoan nhừ
Choerospondias axillaris

Hình 2. Hình ảnh các loài được nghiên cứu hóa học

3.2.1. Nghiên cứu thành phần hóa học một số loài dược liệu

3.2.1.1. Nghiên cứu hóa học lá cây Atisô - *Cynara scolymus*

3.2.1.1.1. Phân lập các hợp chất từ lá cây Atisô

Lá Atisô - *Cynara scolymus* (CS) sau khi thu hái về được thái nhỏ, sấy khô ở nhiệt độ 50°C, xay nhỏ sau đó được đem chiết 3 lần với methanol có dùng siêu âm, dịch chiết được cô quay dưới áp suất giảm thu được cặn chiết methanol (500g). Cặn chiết methanol được hòa vào nước, sau đó chiết phân lớp lần lượt với các dung môi hữu cơ: *n*-hexan, chloroform, etyl axetat thu được các cặn chiết *n*-hexan (150g), cặn chloroform (40g) cặn chiết etyl axetat (15 g), dịch nước và một phần cặn không tan.

Cặn chiết diclometan (D) và etyl axetat (E) gộp chung lại được 55 g, tiến hành phân tách thô bằng sắc ký cột silicagel pha thường rửa giải bằng *n*-hexan/axeton: 5/1 thu được 7 phân đoạn ký hiệu D1-D7. Phân đoạn D4 (9g) được đưa lên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải diclometan: metanol (20/1) thu được 4 phân đoạn D4A-D4D. Phân đoạn D4B + D4C (4,2g) được đưa lên sắc ký cột silicagel pha đảo YMC RP-18, hệ dung môi rửa giải axeton: nước (1/3) thu được 4 phân đoạn D4B1-D4B4. Phân đoạn D4B1 được đưa lên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải Diclometan: Methanol (20/1) thu được phân đoạn D4B1a-D4B1b. Phân đoạn D4B1a được tinh chế thu được hợp chất **CS3** (20 mg). Phân đoạn D4B1b được tinh chế trên cột Sephadex với dung môi rửa giải Methanol nước (1/1) thu được phân đoạn D4B1b1(38mg), tiếp tục tinh chế phân đoạn này trên cột pha đảo YMC RP18 với hệ dung môi rửa giải Acetone nước (1/1.5) thu được hợp chất **CS1** (10 mg) và **CS16** (7mg). Phân đoạn D4B2 (850mg) được đưa lên sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải Diclometan: Methanol (20/1) thu được phân đoạn D4B2a-D4B2c. Phân đoạn D4B2b được đưa lên cột pha đảo YMC

RP-18, dung môi axeton: nước (1/2) sau đó tiếp tục đưa lên cột sephadex, dung môi methanol: nước (1/1) thu được hợp chất **CS10** (30 mg). Phân đoạn D4B3 được đưa lên sắc kí cột silica gel với hệ dung môi rửa giải Diclometan: Acetone (20/1) thu được phân đoạn D4B3a, phân đoạn này được tinh chế trên cột Sephadex MW: (1/1). Hợp chất thu được được chấm so sánh trên bản TLC và được xác định là **Luteolin**.

Phần dịch nước được đưa lên cột dianion HP-20 chạy gradient với hệ dung môi lần lượt là 100% H₂O → MeOH/H₂O:30/70 → MeOH/H₂O:30/70 → 100% MeOH thu được 4 phân đoạn từ W0 → W3. Phân đoạn W3 (4g) được đưa lên sắc kí cột pha đảo YMC RP-18, hệ dung môi methanol:nước: (1/2,5) và rửa 100% MeOH thu được 7 phân đoạn W3A → W3G. Phân đoạn W3C (260mg) được đưa lên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải diclometan: metanol: nước (7/1/0,05) thu được 5 phân đoạn W3C1- W3C5. Phân đoạn W3C2(27mg) được đưa lên cột sắc ký silica gel, hệ dung môi rửa giải diclometan: metanol (9/1) thu được phân đoạn W3C2a (14mg) tiếp tục tinh chế trên cột pha đảo YMC RP-18 với hệ dung môi rửa giải axeton: nước (1/3) thu được hợp chất **CS5** (5mg). Phân đoạn W3C4 được đưa lên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải diclometan: metanol: nước (7/1/0,05) thu được phân đoạn W4C3a (32mg). Tiếp tục tinh chế phân đoạn này trên cột sắc ký pha đảo YMC RP-18 với hệ dung môi rửa giải axeton: nước (1/3) thu được hợp chất **CS4** (5mg). Phân đoạn W3E (145mg) được đưa lên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải diclometan: metanol: nước (7/1/0,05) thu được phân đoạn W4E1 (32mg), phân đoạn này tiếp tục được tinh chế trên cột pha đảo YMC RP-18 với hệ dung môi rửa giải axeton: nước(1/3) thu được hợp chất **CS7** (8mg).

Phân đoạn W2 (5 g) được đưa lên sắc kí cột pha đảo YMC với hệ dung môi methanol:nước: (1/2,5), rửa 100% MeOH thu được 5 phân đoạn W2A → W2E. Phân đoạn W2A (190mg) được đưa lên cột pha đảo YMC RP-18, hệ dung môi rửa giải acetone: nước (1/2) thu được phân đoạn W2A1(65mg). Phân đoạn W2A1 được đưa lên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải n-hexan: axeton (2/1) thu được phân đoạn W2A1a (40mg), tiếp tục tinh chế phân đoạn này trên cột Sephadex với hệ dung môi rửa giải metanol: nước (1/1) thu được hợp chất **CS12** (15mg). Phân đoạn W2C (290mg) được đưa lên cột pha đảo YMC RP-18, hệ dung môi rửa giải axeton: nước (1/3) thu được phân đoạn W2C1- W2C2 (75mg). Phân đoạn W2C2 được đưa lên cột sắc ký silica

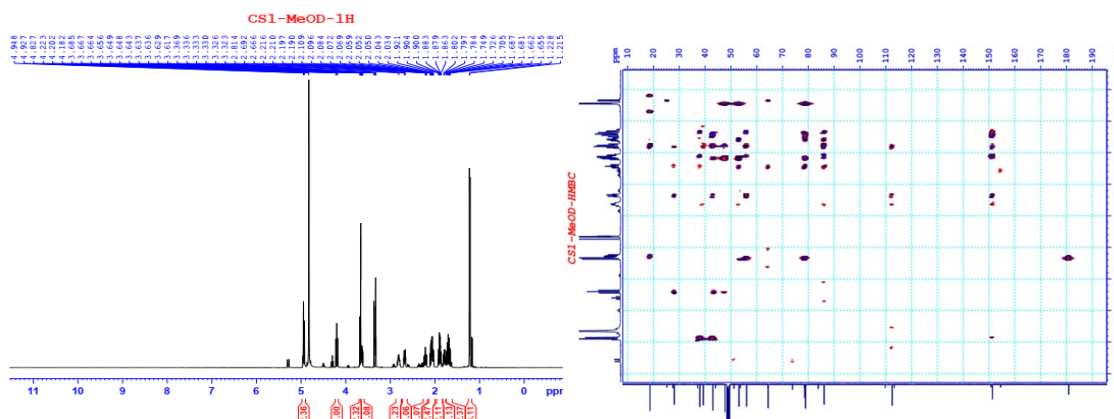
gel, hệ dung môi rửa giải diclometan: metanol (20/1) thu được W2C2a, tiếp tục tinh chế phân đoạn này trên cột Sephadex với hệ dung môi rửa giải metanol: nước (1/1) thu được hợp chất CS14 (22mg). Phổ NMR cho thấy CS14 vẫn là hỗn hợp của hai hợp chất do vậy CS14 được tiếp tục tinh chế sử dụng hệ thống HPLC với hệ dung môi rửa giải acetone:nước (6/93) thu được 2 hợp chất **CS14.1** (10,6mg) và **CS14.2** (5,2 mg). Phân đoạn W2D (180mg) được đưa cột pha đảo YMC RP-18, hệ dung môi rửa giải axetone: nước (1/3) thu được phân đoạn W2D1 (65mg), phân đoạn này tiếp tục tinh chế lần lượt trên cột Sephadex với hệ dung môi rửa giải metanol: nước (1/1), sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải diclometan: axeton (15/1) và sắc ký cột pha đảo YMC RP-18, hệ dung môi rửa giải metanol: nước (1/1) thu được hợp chất **CS15** (7mg).

3.2.1.1.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ lá cây Atisô

3.2.1.1.2.1. Hợp chất CS1: Cynaratriol

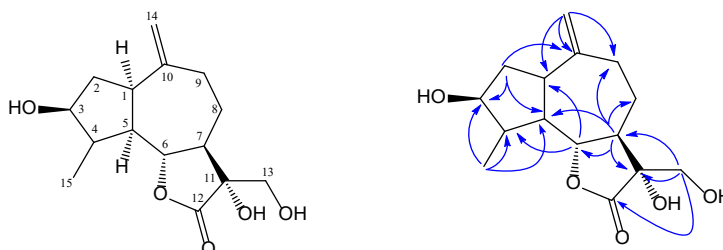
Hợp chất CS1 thu được dưới dạng dầu, phổ NMR của hợp chất này cho phép nhận định đây là một hợp chất sesquiterpen, một dạng khung phổ biến từ loài *C. scolymus*. Phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của một nhóm metyl bậc 2 tại δ_{H} 1.22 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), tín hiệu của một nhóm exometylen tại δ_{H} 4.93 và 4.95 (1H, s, cho mỗi tín hiệu), tín hiệu của hai nhóm oximetin tại δ_{H} 3.63 (1H, m) và 4.20 (1H, t, $J = 10.0$ Hz). Ngoài ra phổ ^1H NMR tại vùng trường mạnh còn xuất hiện tín hiệu của các nhóm hydrocacbon no khác. Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon trong đó có một nhóm CH_3 , 5 nhóm CH_2 (trong đó có một nhóm oximetylen tại δ_{C} 64.43 (C-13) và một nhóm exometylen tại δ_{C} 112.50 (C-14)), 6 nhóm metin (trong đó có 2 nhóm oximetin tại δ_{C} 78.92 (C-3) và 86.12 (C-6)) và 3 cacbon không mang hydro (trong đó có một cacbon đính trực tiếp với oxi tại δ_{C} 78.62 (C-11) và một nhóm cacbonyl tại δ_{C} 180.87 (C-12). Các tín hiệu trên phổ ^1H và ^{13}C đã gợi ý đây là một hợp chất guaiane sesquiterpen lacton, một nhóm chất rất phổ biến trong các loài thuộc chi *Cynara*. Tương tác trên phổ HMBC giữa H_3 -15 với C-3 (78.92), C-4 (74.74), C-5 (53.15) cũng như tương tác giữa H-2 với C-3, C-5, C-10 (151.35) đã khẳng định vị trí của nhóm hydroxy thứ nhất tại C-3. Vị trí của nhóm hydroxy thứ hai được xác định tại C-13 dựa trên tương tác giữa H_2 -13 với C-7 (56.09), C-11 (78.62), C-12 (180.87). Độ chuyển dịch hóa học của C-11 cho thấy đây là một cacbon không mang hydro và đính trực tiếp với oxi chúng

tổ nhóm hydroxy thứ ba được đính tại C-11. Các vị trí khác cũng được xác định chắc chắn dựa trên tương tác HMBC.



Hình 3a. Phổ NMR của hợp chất CS1

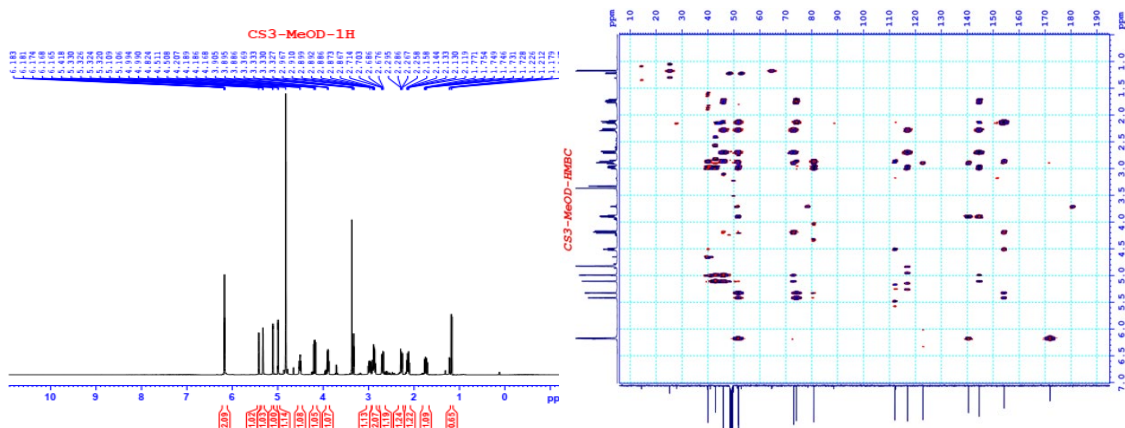
So sánh số liệu phổ của CS1 với hợp chất Cynaratriol [100] cho thấy có sự phù hợp hoàn toàn tại các vị trí phổ tương ứng tuy nhiên chỉ có hai vị trí C-6, C-11 có sự hoán đổi cho nhau so với tài liệu tham khảo. Điều này được khẳng định chắc chắn dựa vào tương tác HMBC giữa H-13 (δ_H 3.66) với C-7, C-11, C-12, giữa H-6 (δ_H 4.20) với C-1, C-4, C-8. Như vậy hợp chất CS1 được xác định là Cynaratriol một hợp chất đã được phân lập từ loài *C. cardunculus* L. đồng thời cấu trúc hóa học của nó cũng được xác định chắc chắn bằng phương pháp X-ray [40].



Hình 3b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS1

3.2.1.1.2.2. Hợp chất CS3: Deacylcynaropicrin

Hợp chất CS3 thu được dưới dạng chất dầu, phổ 1H NMR của CS3 xuất hiện tín hiệu của ba nhóm exometylen tại δ_H 4.99 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H_a -14), 5.10 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H_b -14), 5.32 và 5.42 (singlet, 1H cho mỗi tín hiệu, H-15) và 6.17 (2H, br s, H-13), tín hiệu của hai nhóm oximetin tại δ_H 4.50 (1H, m, H-3), 4.19 (1H, dd, $J = 9.0, 10.5$ Hz, H-6) cùng với các tín hiệu của các hydrocacbon no tại vùng trường mạnh.

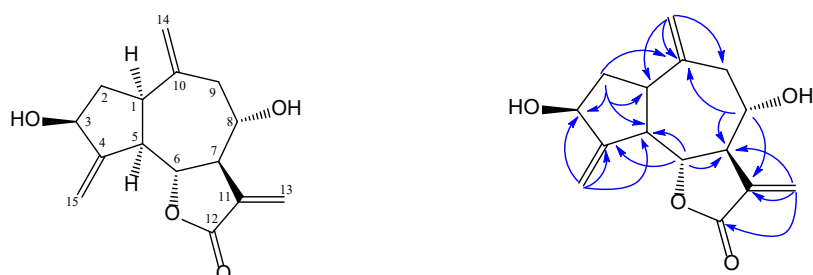


Hình 4a. Phổ NMR của hợp chất CS3

Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon trong đó tín hiệu của một vòng α -exomethylen- γ -lacton được đặc trưng tại δ_{C} 80.87 (CH, C-6), 51.79 (CH, C-7), 140.51 (C, C-11), 171.98 (C, C-12), 122.95 (CH₂, C-13), tín hiệu của hai nhóm exometylen còn lại tại δ_{C} 154.26 (C-4)/112.13 (C-15) và 144.63 (C-10)/117.00 (C-14). Kết hợp với phổ ^1H NMR cho phép nhận định đây cũng là một hợp chất dạng guaiane sesquiterpen lacton như CS1.

Tương tác trên phổ HMBC giữa H-2 với C-1, C-3, C-4, giữa H₂-15 với C-3, C-4, C-5 cho phép xác định vị trí của nhóm hydroxyl thứ nhất tại C-3. Nhóm hydroxyl thứ hai được xác định tại C-8 dựa trên tương tác giữa H-8 với C-7, C-10, C-11. Các vị trí khác cũng được khẳng định chắc chắn bằng tương tác HMBC.

So sánh số liệu phổ của hợp chất CS3 với hợp chất Deacylcynaropicrin [43] cho thấy có sự phù hợp tại tất cả các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất CS3 được xác định là Deacylcynaropicrin

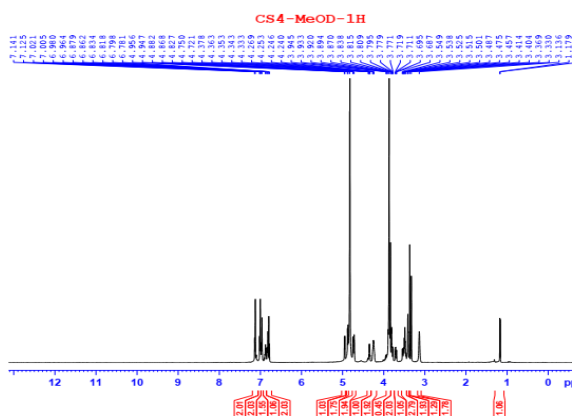


Hình 4b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS3

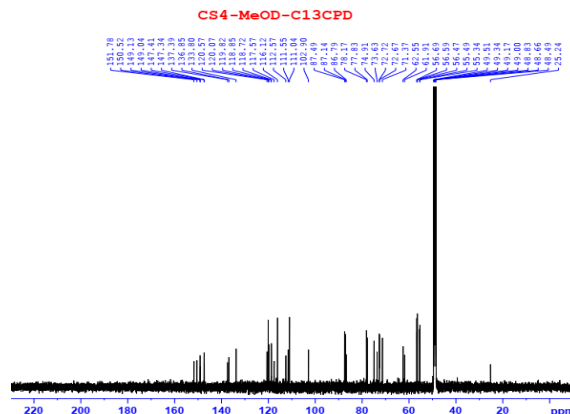
3.2.1.1.2.3. Hợp chất CS4: sesquilignan glycoside của pinoresinol (chất mới)

Hợp chất CS4 thu được dưới dạng dầu, phổ ^1H NMR tại vùng trường trung bình đặc trưng cho các olefin vòng thơm xuất hiện tín hiệu 9 proton olefin, tín hiệu của các

nhóm hydrocarbon đính trực tiếp với oxi trong khoảng 3.40 – 4.87 ppm. Trong đó có tín hiệu của một proton anome tại δ_H 4.87 (1H, d, $J = 7.0$ Hz).



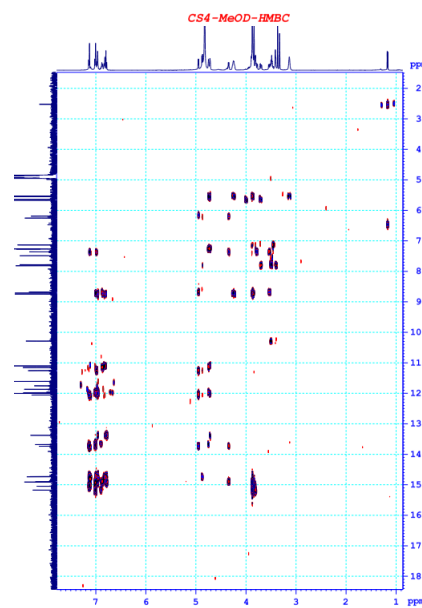
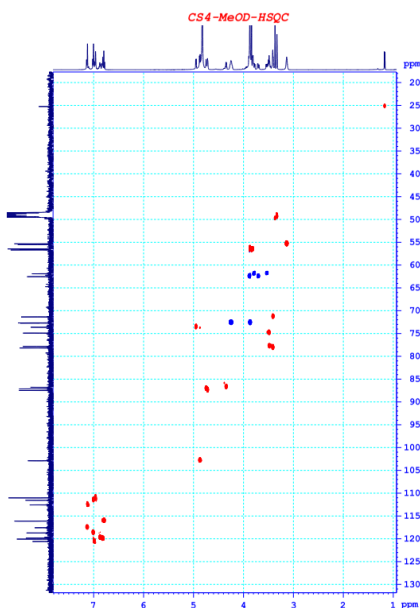
Hình 5a. Phổ 1H NMR của CS4



Hình 5b. Phổ ^{13}C NMR của CS4

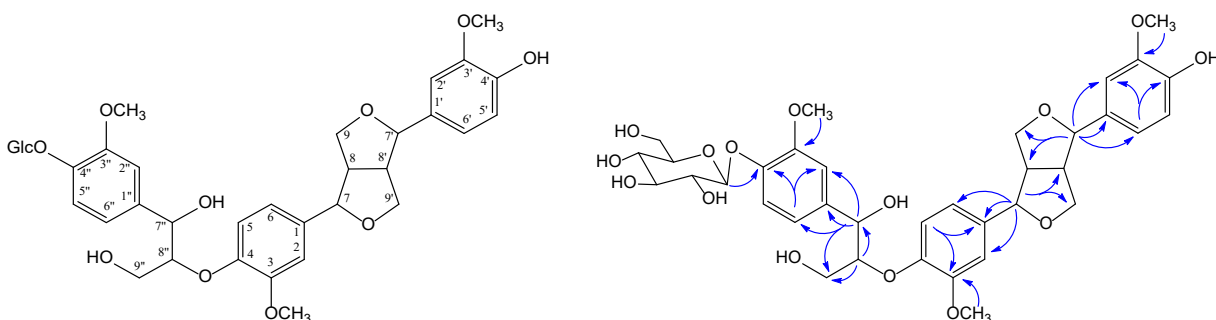
Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 36 nguyên tử cacbon, trong đó các tín hiệu tại δ_C 102.90 (C-1'''), 74.91 (C-2'''), 77.83 (C-3'''), 71.37 (C-4'''), 78.17 (C-5'''), 62.55 (C-6''') là rất đặc trưng cho một đơn vị đường glucose, hằng số tương tác của proton anome lớn ($J = 7.0$ Hz) chứng tỏ đơn vị đường glucose có dạng β . Tín hiệu của 18 cacbon thuộc 3 vòng thơm được xác định tại độ chuyển dịch δ_C 111.04 - 151.48 ppm cùng với các tín hiệu trên phổ proton có thể nhận định cả 3 vòng thơm này đều có dạng thể kiểu ABX. Sự xuất hiện của hai nhóm metin tại δ_C 55.34 (C-8') và 55.49 (C-8), hai nhóm oximetin tại δ_C 87.49 (C-7') và 87.14 (C-7), hai nhóm oximetylen tại δ_C 72.67 (C-9) và 72.72 (C-9') đã gợi ý cho sự có mặt của một vòng bis-tetrahydrofuran. Tín hiệu của một nhánh 1,2-diaryl-propan-1,3-diol tại δ_H 4.95 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H-7'')/ δ_C 73.63; δ_H 4.36 (1H, $J = 5.0$ Hz, H-8'')/ δ_C 86.79; δ_H 3.52 và 3.80/ δ_C 61.91 cùng với hằng số tương tác của H-7'' nhỏ ($J = 4.5$ Hz) chứng tỏ cấu hình của phần glycerol tại C-7'' và C-8'' có dạng *erythro* [42], [88].

So sánh số liệu phổ của CS4 với pinoresinol cho thấy hợp chất CS4 xuất hiện thêm tín hiệu của một nhánh 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-propan-1,2,3-triol và một đơn vị đường glucose. Tương tác HMBC giữa H-8'' với C-4, C-1'', C-7'', C-8'' đã khẳng định vị trí của nhánh 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-propan-1,2,3-triol tại C-4 đồng thời vị trí của đơn vị đường glucose cũng được xác định dựa trên tương tác của proton anome với C-4''. Như vậy CS4 được xác định là một sesquilignan glycoside của pinoresinol [88].



Hình 5c. Phổ HSQC của hợp chất CS4 Hình 5d. Phổ HMBC của hợp chất CS4

So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất CS4 với chất Dracunculifoside R [88] và hợp chất longifloroside D [42] kết hợp với tương tác HMBC (xem bảng 3.2.1) đã khẳng định cấu trúc hóa học của hợp chất CS4 như hình 5e và đây là một hợp chất mới.



Hình 5e. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS4

Bảng 3.2.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS4 và chất so sánh

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	136.9	136.85	C	-	
2	111.7	111.55	CH	7.00	
3	151.8	150.52	C	-	
4	148.9	149.13	C	-	
5	118.9	118.72	CH	7.00	1, 3, 4, 6
6	119.8	119.82	CH	6.87	
7	87.2	87.14	CH	4.75 br s	1, 2, 6, 8', 9'
8	55.5	55.49	CH	3.14 br s	
9	72.7	72.67	CH ₂	3.87/4.25	
1'	133.8	133.80	C	-	
2'	111.1	111.04	CH	6.96	4', 6'

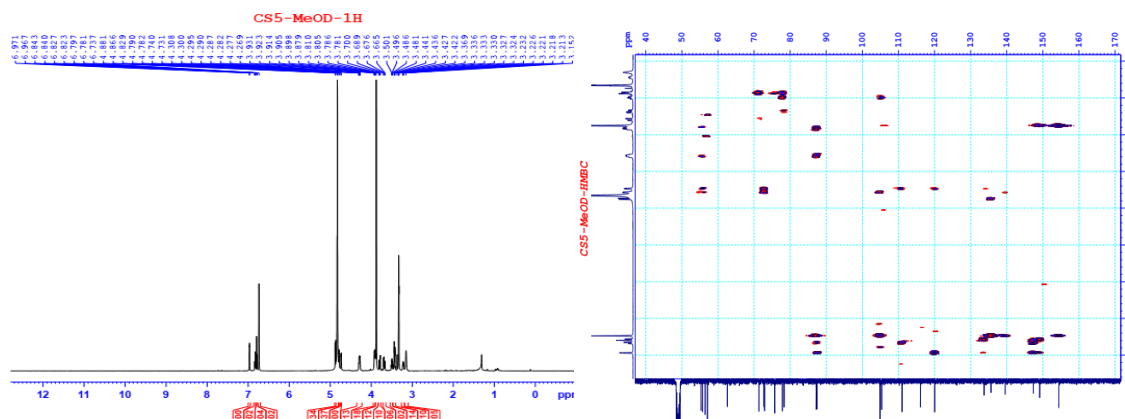
3'	149.2	149.04	C	-	
4'	147.4	147.41	C	-	
5'	116.1	116.12	CH	6.78	1', 3', 4'
6'	120.1	120.07	CH	6.83	2', 4'
7'	87.5	87.49	CH	4.75 br s	1', 2', 6', 8, 9
8'	55.4	55.34	CH	3.14 br s	
9'	72.7	72.72	CH ₂	3.87/4.25	
1''	133.9	137.39	C	-	
2''	112.1	112.57	CH	7.12	
3''	148.8	151.48	C	-	
4''	147.1	147.34	C	-	
5''	115.9	117.57	CH	7.14	
6''	120.7	120.57	CH	6.98	2'', 4'', 7''
7''	73.8	73.63	CH	4.95 d (4.5)	1'', 2'', 6'', 8'', 9''
8''	85.1	86.79	CH	4.36 d (5.0)	7'', 9''
9''	69.4	61.91	CH ₂	3.52 dd (5.5, 12.0), 3.80	
1'''	104.8	102.90	CH	4.87 d (7.0)	4''
2'''	75.1	74.91	CH	3.49	
3'''	78.0	77.83	CH	3.49	
4'''	71.7	71.37	CH	3.40	
5'''	78.0	78.17	CH	3.40	
6'''	62.8	62.55	CH ₂	3.70 dd (4.0, 12.0), 3.87	
OCH ₃	56.5	56.59	CH ₃	3.87	
OCH ₃	56.5	56.69	CH ₃	3.87	
OCH ₃	56.7	56.47	CH ₃	3.87	

^a đo trong MeOD-d₄, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#]δ_C của *Dracunculifoside R* trong MeOD-d₄ [88]

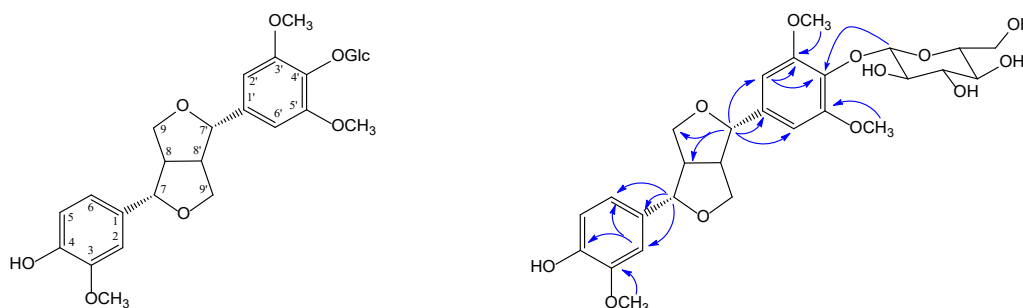
3.2.1.1.2.4. Hợp chất CS5: *Eucommin A*

Hợp chất CS5 thu được dưới dạng dầu, phổ ¹H NMR và ¹³C NMR cho thấy đây cũng là một hợp chất dạng lignan với tín hiệu của hai vòng benzene trong đó có một vòng thể dạng ABX tại δ_H 6.97 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.79 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.84 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz, H-6), một vòng thể 1,3,4,5 đối xứng với tín hiệu proton có cường độ cao gấp đôi tại δ_H 6.74 (2H, s, H-2', 6'), tín hiệu của một vòng bis-tetrahydrofuran tại δ_C 87.45 (C-7), 87.22 (C-7'), 55.32 (C-8), 55.76 (C-8'), 72.74 (C-9), 72.90 (C-9'). Ngoài ra phổ NMR còn cho thấy sự xuất hiện của một đơn vị đường glucose với độ chuyển dịch hóa học đặc trưng tại δ_C 105.37 (C-1''), 75.72 (C-2''), 77.84 (C-3''), 71.36 (C-4''), 78.34 (C-5''), 62.61 (C-6''), hằng số tương tác của proton anome lớn (*J* = 7.5 Hz) chứng tỏ cấu hình β của đơn vị đường. Tương tác HMBC của proton anome xác định vị trí đỉnh của đơn vị đường đồng thời các vị trí khác cũng được khẳng định chắc chắn dựa vào các tương tác HMBC. So sánh số liệu phổ của hợp chất CS5 với

chất Eucommin A [56] nhận thấy có sự phù hợp hoàn toàn tại các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất CS5 được xác định là Eucommin A.



Hình 6a. Phổ NMR của hợp chất CS5

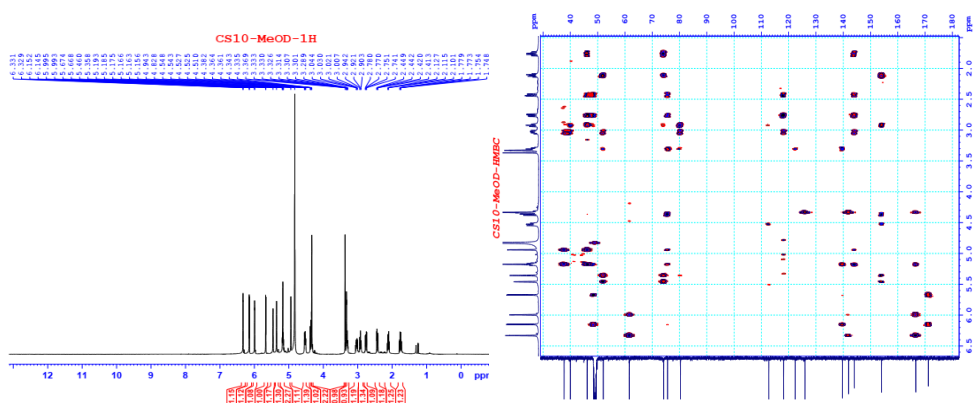


Hình 6b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS5

3.2.1.1.2.5. Hợp chất CS10: Cynaropicrin

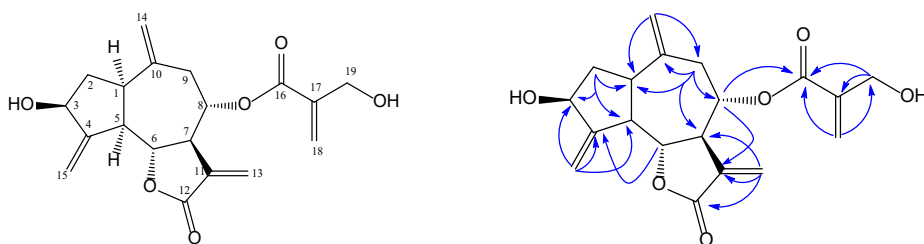
Hợp chất CS10 thu được dưới dạng dầu, phổ ^1H NMR và ^{13}C NMR của hợp chất này cho phép nhận định đây là một hợp chất sesquiterpenoid dạng guaiane với sự xuất hiện của một vòng α -exomethylen- γ -lacton được đặc trưng tại δ_{C} 80.32 (CH, C-6)/ δ_{H} 4.36 (1H, dd, $J = 9.0, 10.5$ Hz), 48.49 (CH, C-7)/ δ_{H} 3.29, 139.71 (C, C-11), 171.23 (C, C-12), 122.40 (CH_2 , C-13)/ δ_{H} 5.67, 6.14, tín hiệu của một nhóm (2-hydroxymethyl)acrylate tại δ_{C} 166.60 (C, C-16), 141.39 (C, C-17), 126.00 (CH_2 , C-18)/ δ_{H} 5.99, 6.33 và 61.64 (CH_2 , C-19)/ δ_{C} 4.33. Ngoài ra phổ NMR còn xuất hiện tín hiệu của hai nhóm exometylen tại δ_{C} 154.04 (C, C-4)/112.75 (CH_2 , C-15)/ δ_{H} 5.36, 5.46 và 144.04 (C, C-10)/118.14 (CH_2 , C-14)/ δ_{H} 5.16, 4.94. Tương tác HMBC giữa H-2 với C-1 (46.20), C-3 (74.16), C-4 (154.04), C-5 (52.06) đã khẳng định vị trí của nhóm hydroxyl tại C-3 đồng thời vị trí của nhóm (2-hydroxymethyl)acrylate cũng được xác định dựa trên tương tác giữa H-8 với C-7, C-10, C-11, C-16. Các vị trí khác cũng được khẳng định chắc chắn dựa vào tương tác HMBC. So sánh số liệu phổ của hợp chất CS10 với

hợp chất Cynaropicrin [97] cho thấy có sự phù hợp hoàn toàn tại các vị trí tương ứng. Như vậy có thể khẳng định hợp chất CS10 chính là Cynaropicrin, một hợp chất đã được phân lập từ một số loài thuộc họ Arteraceae như *Centaurea solstitialis* L., *Hemisteptia lyrata* B. và *Saussurea calcicola*, *S. lappa*.



Hình 7a. Phổ NMR của hợp chất CS10

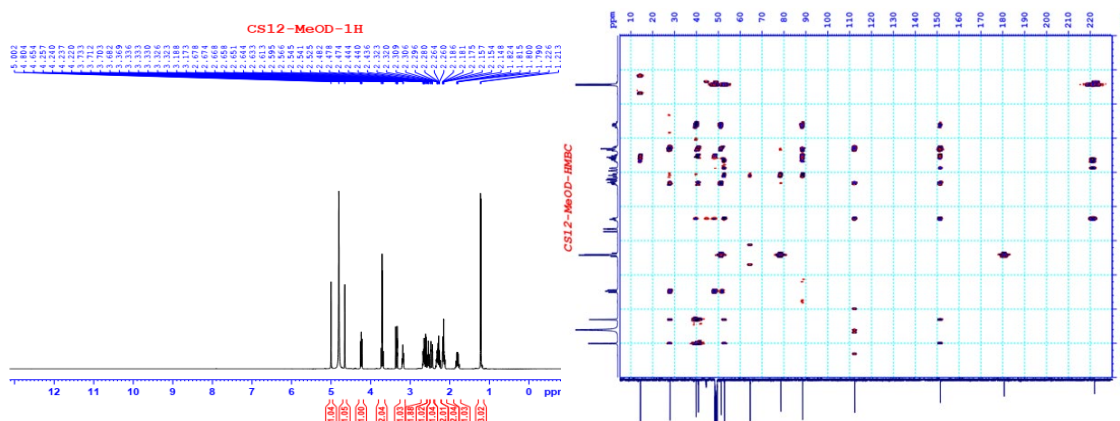
Hợp chất CS10 đã được chứng minh là thể hiện hoạt tính kháng viêm dựa trên việc ức chế mạnh sự giải phóng TNF- α từ đại thực bào lipopolysaccharide-stimulated murine macrophage của tế bào RAW264.7 và đại thực bào differentiated human macrophage của tế bào U937. Nó cũng làm suy giảm khả năng tích lũy NO được giải phóng từ các tế bào RAW264.7 được kích thích bằng lipopolysaccharit và interferon-gamma theo cách phụ thuộc vào liều đồng thời nó cũng ức chế sự tăng sinh của tế bào lympho từ tế bào lách và tế bào lympho T nhạy cảm với tế bào T, tế bào CTLL-2, được kích thích bởi lipopolysaccharit, concanavalin A, phytohemaginin [36]. Hợp chất Cynaropicrin thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên 5 dòng tế bào ung thư: phổi (A549), buồng trứng (SK-OV-3), da (SK-MEL-2), não (XF498) và ruột kết (HCT15) với giá trị ED₅₀ từ 0.29 – 1.37 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) [37]. Gần đây Cynaropicrin được chứng minh có hoạt tính mạnh *in vitro* chống lại ký sinh trùng đơn bào *Trypanosoma brucei*, một loại ký sinh trùng gây ra bệnh sốt lá gan châu Phi ở người (HAT) trên hai dòng ký sinh trùng *Trypanosoma brucei rhodesiense* và *T. brucei gambiense* với giá trị IC₅₀ lần lượt là 0.2 và 0.3 μM [44].



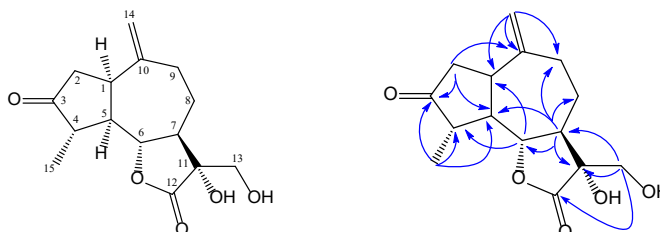
Hình 7b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS10

3.2.1.1.2.6. Hợp chất CS12: 4 β ,15-dihydro-3-dehydrosolstitialin A

Hợp chất CS12 thu được dưới dạng dầu, phổ ^1H NMR và ^{13}C NMR của hợp chất CS12 là tương tự hợp chất CS1 ngoại trừ sự thay thế của nhóm hydroxyl tại C-3 bằng một nhóm keton (δ_{C} 222.97). Tương tác trên phổ HMBC giữa H-2 với C-3, C-5, giữa H-15 với C-3, C-4, C-5 đã khẳng định chắc chắn điều này. Như vậy hợp chất CS12 được xác định là 11,13-dihydroxy-3-oxo-10(14)-guaien-12,6-olide khi so sánh số liệu phổ (bảng PL3.2.5) với tài liệu đã công bố [51] hay còn có tên gọi là 4 β ,15-dihydro-3-dehydrosolstitialin A [65]. Cấu trúc hóa học của nó được trình bày trong hình 8b.



Hình 8a. Phổ NMR của hợp chất CS12

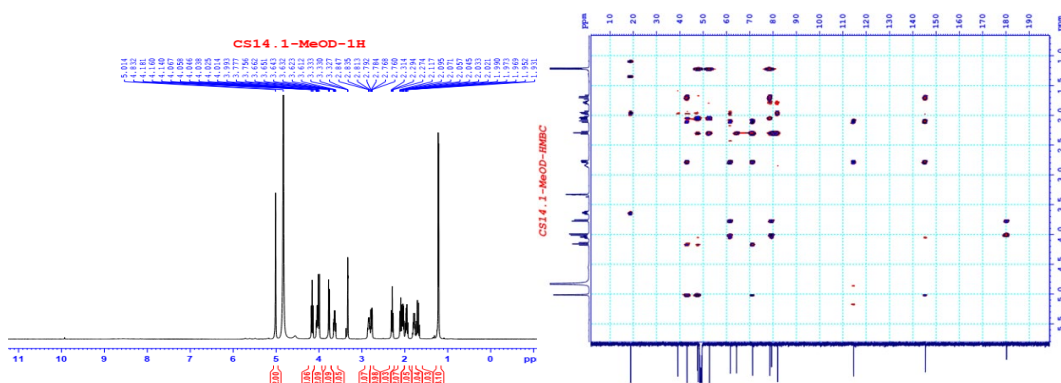


Hình 8b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS12

3.2.1.1.2.7. Hợp chất CS14.1: 3 β ,8 α ,11 α ,13-tetrahydroxy-10(14)-guaien-1 α ,4 β ,5 α , 6H β -6 α ,12-olide

Hợp chất CS14.1 thu được dưới dạng chất bột màu trắng, Phổ ^1H NMR và ^{13}C NMR của hợp chất này cũng tương tự như hợp chất CS1 ngoại trừ sự xuất hiện của nhóm oximetin tại δ_{C} 71.23/ δ_{H} 4.05 (1H, dt, $J = 4.5, 10.5$ Hz). Tương tác HMBC của proton này với C-11 (79.39), C-7 (61.68), C-10 (145.44) đã khẳng định vị trí của nhóm hydroxyl tại C-8. Các vị trí khác cũng được khẳng định chắc chắn dựa trên tương tác HMBC. So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất CS14.1 với tài liệu đã công bố có thể

khẳng định hợp chất CS14.1 có tên gọi là $3\beta,8\alpha,11\alpha,13$ -tetrahydroxy-10(14)-guaiaen- $1\alpha,4\beta,5\alpha,6H\beta$ -6 $\alpha,12$ -olide, một hợp chất đã được phân lập từ loài *C. scolymus* [78].



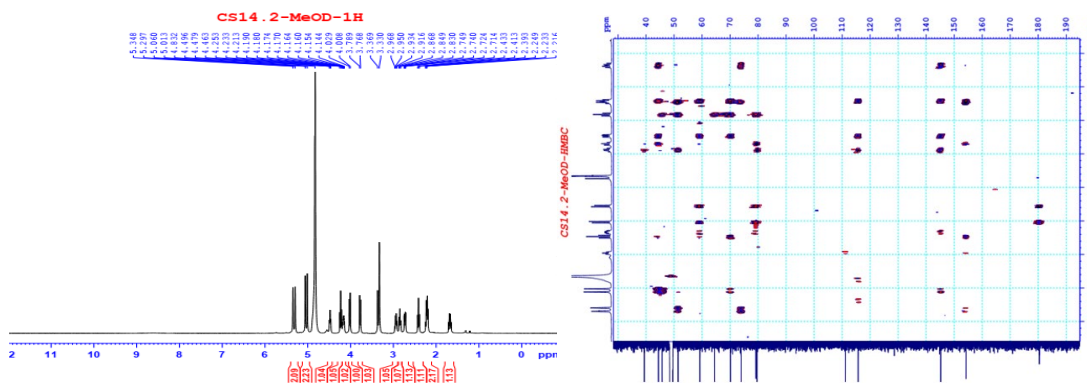
Hình 9a. Phổ NMR của hợp chất CS14.1



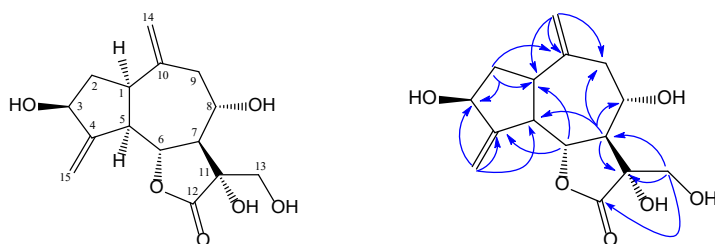
Hình 9b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS14.1

3.2.1.1.2.8. Hợp chất CS14.2: $3\beta,8\alpha,11\alpha,13$ -tetrahydroxy-4(15),10(14)-guaiaen- $1\alpha,4\beta,5\alpha,6H\beta$ -6 $\alpha,12$ -olide

Hợp chất CS14.2 thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Phổ ^1H NMR và ^{13}C NMR của hợp chất CS14.2 là tương tự như hợp chất CS14.1 ngoại trừ sự thay thế một nhóm methyl trong CS14.1 bằng một nhóm exometylen trong CS14.2 tại δ_{C} 154.26 (C, C-4), 111.19 (CH_2 , C-15)/ δ_{H} 5.30, 5.35 (singlet, 1H cho mỗi tín hiệu). Tương tác HMBC giữa proton của nhóm exometylen với C-3 (73.93), C-4 (154.26), C-5 (51.45) đã khẳng định vị trí của nhóm exometylen tại C-4. Từ số liệu phổ cho thấy hợp chất CS14.2 là $3\beta,8\alpha,11\alpha,13$ -tetrahydroxy-4(15),10(14)-guaiaen- $1\alpha,4\beta,5\alpha,6H\beta$ -6 $\alpha,12$ -olide.



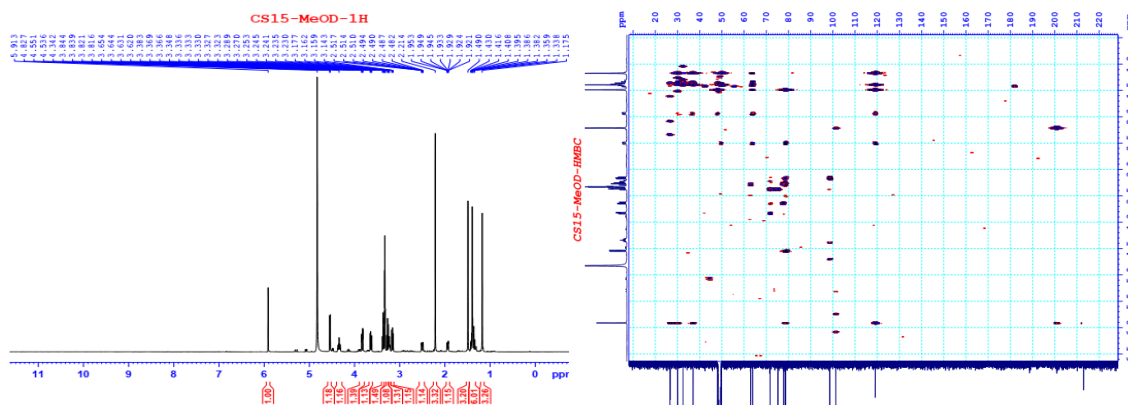
Hình 10a. Phổ NMR của hợp chất CS14.2



Hình 10b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS14.2

3.2.1.1.2.9. Hợp chất CS15: Citroside B

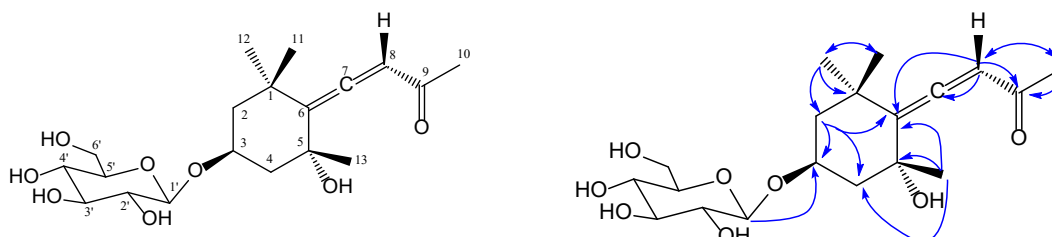
Hợp chất CS15 thu được dưới dạng dầu, phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của 4 nhóm methyl đều ở dạng singlet tại δ_{H} 1.17, 1.39, 1.49 và 2.21, tín hiệu của một proton olefin duy nhất tại δ_{H} 5.91 (1H, s) và tín hiệu của một đơn vị đường với proton anome tại δ_{H} 4.54 (1H, d, $J = 7.5$ Hz). Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 19 nguyên tử cacbon trong đó các tín hiệu tại δ_{C} 98.61 (C-1'), 75.26 (C-2'), 78.56 (C-3'), 71.73 (C-4'), 77.72 (C-5'), 62.87 (C-6') là rất đặc trưng cho một đơn vị đường glucose. Proton anome của đơn vị đường lớn ($J = 7.5$ Hz) chứng tỏ đơn vị đường này có cấu hình β . Phần alycon xuất hiện tín hiệu của bốn nhóm methyl tại δ_{C} 26.59, 30.03 và 31.47, một nhóm oximetin tại δ_{C} 63.80, một nhóm methyl keton tại δ_{C} 26.69 và 201.0, một cacbon bậc 4 tại δ_{C} 37.01, một cacbon bậc 4 chứa oxi tại δ_{C} 78.76. Thêm vào đó phổ HMBC cho thấy tương tác giữa proton olefin tại δ_{H} 5.91 (H-8) với các tín hiệu tại δ_{C} 119.11 và 212.97 đã gợi ý cho sự xuất hiện của một nhóm allenic ($>\text{C}=\text{C}=\text{CH}-$), đồng thời tương tác của proton olefin này với nhóm methyl keton đã khẳng định vị trí của nhóm methyl keton ở phần nhánh.



Hình 11a. Phổ NMR của hợp chất CS15

Vị trí của phân tử đường được xác định tại C-5 dựa vào tương tác giữa H-1' với C-5 (C, 78.76), tương tác giữa nhóm methyl H₃-13 với C4 (CH₂, 48.00), C-5, C-6 (119.11). Tương tự, nhóm hydroxyl tại C-3 cũng được xác định dựa vào tương tác giữa H₃-11, 12 với C-1, C-2, C-6, giữa H-2 với C-3, C-6 và giữa H-4 với C-2, C-3, C-5, C-6. Như vậy

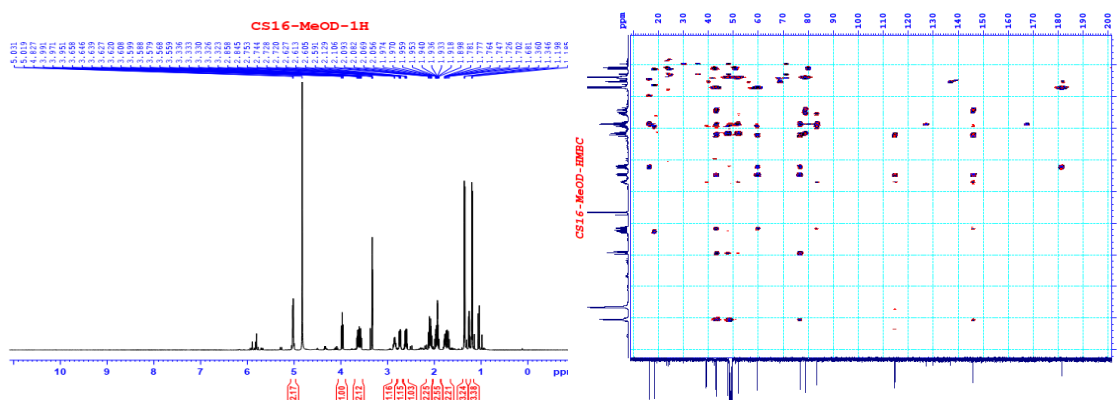
cấu trúc hóa học của CS15 được xác định như hình vẽ. So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất CS15 với hai hợp chất Citroside A và B (hai hợp chất này khác nhau về lập thể tại C-8) cho thấy và đã được chứng minh là chúng có thể chuyển hóa cho nhau dưới điều kiện chiếu xạ bằng đèn thủy ngân [105] và độ chuyển dịch hóa học ^{13}C có một chút khác biệt. Tuy nhiên với phổ ^1H NMR thì hợp chất citroside B ($8\beta\text{H}$) tín hiệu của 3 nhóm methyl (H-11, H-12, H-13) có sự tách vạch rõ ràng còn đối với hợp chất citroside A ($8\alpha\text{H}$) thì hai nhóm methyl H-12 và H-13 có sự chập tín hiệu. Như vậy hợp chất CS15 được xác định là citroside B [105].



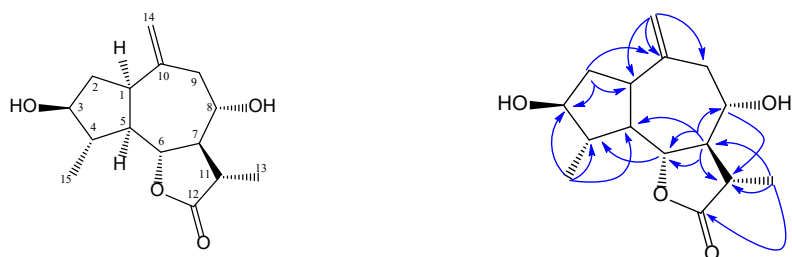
Hình 11b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS15

3.2.1.1.2.10. Hợp chất CS16: Isolipidiol

Hợp chất CS16 thu được dưới dạng dầu, các tín hiệu trên phổ NMR (hình 12a) và ^{13}C NMR của hợp chất CS16 cho phép nhận định đây cũng là một hợp chất sesquiterpenoid với hai nhóm methyl bậc 2 tại δ_{C} 16.32 (C-11)/ δ_{H} 1.35 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 18.39 (C-15)/ δ_{H} 1.19 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), tín hiệu của một nhóm exometylen tại δ_{C} 114.64 (C-14)/ δ_{H} 5.02. Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu của 3 nhóm metin đính trực tiếp với oxi tại δ_{C} 76.70, 78.73, 83.48, tín hiệu của một nhóm cacbonyl tại δ_{C} 181.46. So sánh số liệu phổ (bảng PL3.2.1.9) của hợp chất CS16 với các hợp chất $3\beta,8\alpha$ -dihydroxyguaia-10(14)-en-1 $\alpha,4\alpha,5\alpha,6\beta,7\alpha,11\beta$ H-12,6 α -olide [62], isolipidiol, cynarascolide [84] cho phép xác định hợp chất CS16 chính là isolipidiol.



Hình 12a. Phổ NMR của hợp chất CS16



Hình 12b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CS16

Từ lá atiso đã phân lập được 13 hợp chất CS1, CS2, CS3, CS4, CS5, CS7, CS10, CS12, CS14.1, CS14.2, CS15, CS16 và Luteolin. Đã xác định được cấu trúc hóa học của 10 hợp chất, trong đó có 1 hợp chất mới (CS4): Cynaratriol (CS1), Deacylcynaropicrin (CS3), sesquignan glycoside của pinoresinol (CS4), Eucommin A (CS5), Cynaropicrin (CS10), 4 β ,15-dihydro-3-dehydrosolstitialin A (CS12), 3 β ,8 α ,11 α ,13-tetrahydroxy-10(14)-guaiaen-1 α ,4 β ,5 α ,6H β -6 α ,12-olide (CS14.1), citroside B (CS15), 3 β ,8 α ,11 α ,13-tetrahydroxy-4(15),10(14)-guaiaen-1 α ,4 β ,5 α ,6H β -6 α ,12-olide (CS14.2), Isolipidiol (CS16). Đã chọn 2 hợp chất có hàm lượng cao là Deacylcynaropicrin (CS3) và Cynaropicrin (CS10) để nghiên cứu xây dựng các phương pháp phân tích nhằm đánh giá sự biến động hàm lượng hoạt chất theo thời gian phát triển của lá atiso.

3.2.1.2. Nghiên cứu hóa học Sâm cau - *Curculigo orchoides*

3.2.1.2.1. Phân lập các hợp chất từ sâm cau

Từ mẫu sâm cau (*Curculigo orchoides*) 18,5 kg tươi, sấy khô ở nhiệt độ 50⁰C thu được 4,0 g khô, xay mịn và tiến hành ngâm chiết bằng dung môi MeOH, lọc, gom dịch chiết và thu hồi dung môi thu được 314,1g cặn MeOH. Tiến hành chiết phân đoạn bằng các dung môi có độ phân cực tăng dần thu được 37,1 g cặn hexan, 11,5 g cặn chloroform, 33,1 g cặn ethyl acetate và lớp nước.

Từ phân đoạn hexan (37,1g) tiến hành phân lập qua cột silica gel, rửa giải bằng hỗn hợp dung môi hexan-EtOAc (100:1-1:100 v/v) thu được 10 phân đoạn. Từ phân đoạn H4 (2,0g) xuất hiện tủa trắng, kết tinh lại trong MeOH thu được hợp chất tinh khiết là **CO11**.

Từ cặn phân đoạn chloroform (11,5g) nạp vào cột silica gel rửa giải bằng dung môi CHCl₃-MeOH (100:1-1:100 v/v) thu được 7 phân đoạn. Phân đoạn C1 (2,24g) tiến hành phân lập qua cột sắc ký silica gel rửa giải bằng dung môi CHCl₃-MeOH 20:1 thu

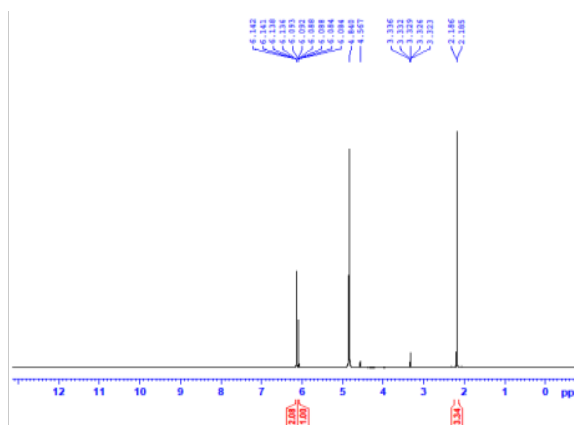
được 4 phân đoạn. Phân đoạn C1.2 (1,95g) đưa qua cột sắc ký silica gel với hệ dung môi dichloromethane-acetone 10:1 thu được 5 phân đoạn. Phân đoạn C1.2.1 (352mg) tiếp tục tiến hành sắc ký qua cột silica gel với hệ dung môi hexan-EtOAc 7:1 thu được 9 phân đoạn. Phân đoạn C1.2.1.5 tinh chế qua cột C18 với hệ dung môi MeOH 50% thu được hợp chất **CO6**. Phân đoạn C1.2.4 (1,0g) tiến hành phân lập qua cột sephadex LH-20 rửa giải bằng hệ dung môi MeOH – H₂O (50-100% MeOH) thu được 4 phân đoạn. Phân đoạn C1.2.4.1 (802 mg) phân lập qua cột silica gel, rửa giải bằng dung môi CHCl₃-MeOH 12:1 thu được 7 phân đoạn. Phân đoạn C1.2.4.1.4 xuất hiện tinh thể, kết tinh lại trong MeOH thu được hợp chất tinh khiết **CO5**. Phân đoạn C1.2.4.2 (578mg) nạp và cột pha đảo C18 và rửa giải bằng hệ dung môi MeOH 50% thu được 4 phân đoạn. Phân đoạn C1.2.4.2.3 (138mg) tiến hành qua cột silica gel với hệ dung môi CHCl₃-MeOH 20:1 thu được 2 phân đoạn. Phân đoạn C1.2.4.2.3.2 (94mg) tinh chế qua cột silica gel với hệ dung môi hexan-EtOAc 1:1 thu được hợp chất **CO9**.

Từ phân đoạn ethyl acetate (33,1 g) tiến hành phân lập qua cột silica gel, rửa giải bằng hỗn hợp dung môi CHCl₃-MeOH (100:1-1:100 v/v) thu được 16 phân đoạn. Từ phân đoạn E5 (4,4g) phân lập qua cột sephadex LH-20 giải hấp bằng hệ dung môi MeOH 50% thu được 9 phân đoạn. Phân đoạn E5.3 (1,2g) nạp vào cột silica gel rửa giải với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (7:1 v/v) thu được 8 phân đoạn. Phân đoạn E5.3.2 (345mg) tinh chế qua cột RP-18, hệ dung môi MeOH 10% thu được hợp chất **CO1** (15mg). Phân đoạn E9 (920mg) phân lập qua cột silica gel giải hấp bằng hệ dung môi CHCl₃-MeOH (5:1 v/v) thu được 4 phân đoạn. Phân đoạn E9.2 (520 mg) nạp vào cột RP-18, hệ dung môi MeOH 50% thu được 4 phân đoạn. Phân đoạn E9.2.2 (200mg) xuất hiện tủa, kết tinh lại trong MeOH thu được hợp chất **CO4**. Phân đoạn E10 gom với phân đoạn E11 (8,6 g) phân lập qua cột silica gel giải hấp bằng hệ dung môi CHCl₃-MeOH (5:1 v/v) thu được 4 phân đoạn. Phân đoạn E10.3 (6,3g) nạp qua cột silica gel dichloromethane – acetone (1:2 v/v) thu được 6 phân đoạn. Phân đoạn E10.3.4 (619 mg) qua cột sephadex LH giải hấp với hệ dung môi MeOH 25% thu được hợp chất **CO2** (10mg). Phân đoạn E10.3.4.4 (50 mg) tinh chế qua cột dichloromethane: acetone (1:3 v/v) thu được hợp chất **CO7** (10mg). Phân đoạn E10.3.2 (500 mg) qua cột silica gel hệ dung môi dichloromethane – acetone (1:3 v/v) thu được 3 phân đoạn. Phân đoạn E10.3.2.1 (250 mg) phân lập qua cột RP-18, dung môi MeOH 50% thu được hợp chất **CO8** (15mg).

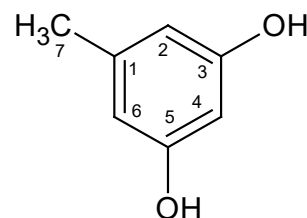
3.2.1.2.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ sâm cau

3.2.1.2.2.1. Hợp chất CO1: Orcinol

Hợp chất CO1 phân lập được ở dạng bột màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 106-108°C. Phổ khối phun mù điện tử ESI-MS cho peak phân tử tại m/z 124.8 chế độ positive và m/z 122.8 chế độ negative tương ứng với công thức $C_7H_8O_2$ ($M = 124$). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1H NMR cho thấy tín hiệu của 3 proton trong vùng thơm tại δ_H 6.14 (2H, d, $J = 1.0$ Hz, H-2, H-6), 6.09 (1H, dt, $J = 0.5$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H-3) xác nhận sự có mặt của một vòng thơm bị thế 3 vị trí, tín hiệu của một nhóm methyl xuất hiện tại δ_H 2.17 (3H, s, H-7). Phổ cộng hưởng từ cacbon ^{13}C NMR cho thấy cấu trúc của hợp chất có ba cacbon bậc 4, ba nhóm methin và 1 nhóm methylen. Phổ HMBC xác nhận tín hiệu tương tác của các cacbon trong vòng thơm giữa proton δ_H 6.14 (H-2, H-6) với các cacbon C-2, C-6 (δ_C 108.59)/C-4 (δ_C 100.73)/C-7 (δ_C 21.56), giữa proton H-7 (δ_H 2.17) với các cacbon C-2 (δ_C 108.59)/C-6 (δ_C 108.59)/C-1 (141.18) cho thấy nhóm CH_3 gắn vào vị trí C-1 của vòng benzen. Từ số liệu phổ kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [79] kết luận hợp chất CO1 là orcinol.



Hình 13a. Phổ 1H NMR của CO1

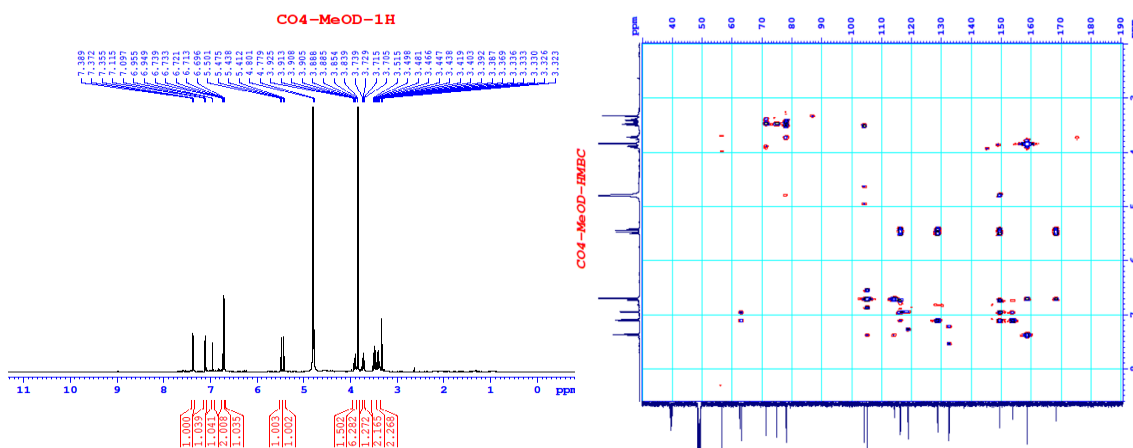


Hình 13b. Cấu trúc hoá học của CO1

3.2.1.2.2.2. Hợp chất CO2: Glycerol monosterate

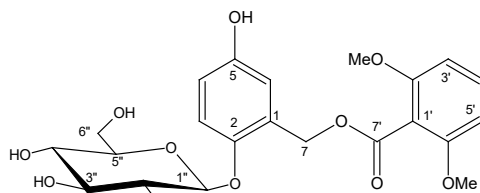
Hợp chất CO2 được phân lập dưới dạng tủa trắng. Phổ 1H NMR của hợp chất CO2 xuất hiện tín hiệu của một nhóm CH_2 gắn với nhóm carbonyl δ_H 2.35 (t, $J = 7.5$ Hz), tín hiệu của nhóm methylen vị trí beta với nhóm carbonyl δ_H 1.63 (t, $J = 8.0$ Hz), δ_H 1.34-1.28 m tín hiệu của các nhóm methylen trong mạch của acid béo; tín hiệu của nhóm CH_3 xuất hiện tại 0,89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz). Tín hiệu của nhóm glycerol xuất hiện tại δ_H 4.21

glucose liên kết với vị trí 2 của vòng thơm A. Phổ HMBC có tương tác giữa H-5', H-3' (δ_H 6.70) với C-7' (δ_C 168.4), cho biết vòng thơm B nối với gốc este. Tương tác giữa proton oxymethylene H-7a (δ_H 5.49), H-7b (δ_H 5.43) với các cacbon C-1 (δ_C 128.8), C-3 (δ_C 116.4), C-5 (δ_C 149.6) và C-7' (δ_C 168.4) của vòng thơm A cho thấy mạch liên kết từ C-1 đến C-7.



Hình 15a. Phổ NMR của hợp chất CO4

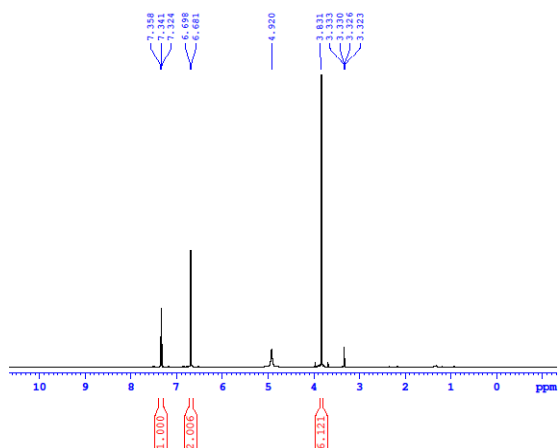
Hợp chất CO4 được xác định là curculigoside khi so sánh số liệu phổ NMR với các dữ liệu đã được công bố [107]. Đây là hợp chất đặc trưng và cũng đã được phân lập từ những loài *Curculigo* khác.



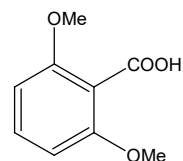
Hình 15b. Cấu trúc hóa học của CO4

3.2.1.2.2.4. Hợp chất CO5: 2,6-dimethoxy benzoic acid

Hợp chất CO5 phân lập được ở dạng tinh thể trắng trong, nhiệt độ nóng chảy 185 – 186°C. Phổ khối phun mù điện tử ESI-MS cho peak phân tử tại m/z 182.01 tương ứng với công thức $C_9H_{10}O_4$ ($M = 182$). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1H NMR cho thấy tín hiệu ở 3.83 có 6H peak đơn thuộc 2 nhóm methoxyl, 1 proton δ_H 7.34 (t, $J = 8.5$ Hz) và 2 proton δ_H 6.69 (d, $J = 8.5$ Hz). Phổ cộng hưởng từ cacbon ^{13}C NMR và phổ HMBC cho thấy có hai nhóm methoxyl (δ_C 56.47), ba nhóm methine (δ_C 105.12 x 2 và 132.20), một cacbon bậc 4 (δ_C 170.37) của nhóm C=O, hai cacbon bậc 4 ở (δ_C 158.35) nối với nhóm OCH_3 , một cacbon bậc 4 (δ_C 115.12). Số liệu phổ của hợp chất CO5 phù hợp với tài liệu [57], nên hợp chất CO5 được xác định là 2,6- dimethoxybenzoic acid.



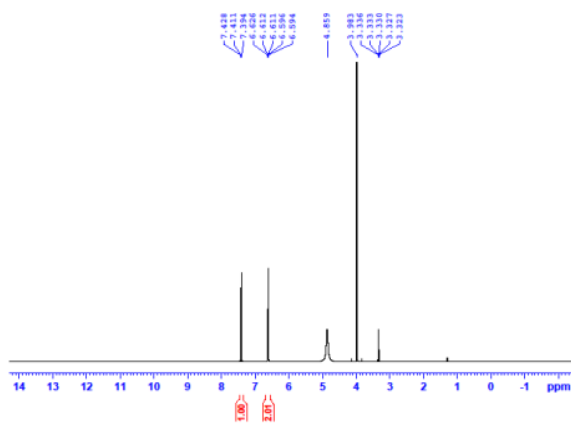
Hình 16a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của CO5



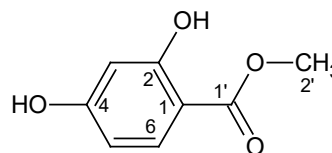
Hình 16b. Cấu trúc hoá học của CO5

3.2.1.2.5. Hợp chất CO6: Methyl 2,4-dihydroxybenzoate

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất CO6 xuất hiện tín hiệu của 3 proton trong vùng thơm tại δ_{H} 7,41 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, H-6), δ_{H} 6,61 (2H, m, H-5, H-3) và tín hiệu của một nhóm methyl tại δ_{H} 3,98 (3H, s, H-2'). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất CO6 xác nhận tín hiệu của 8 cacbon gồm 4 cacbon bậc bốn (trong đó có 1 cacbon carbonyl tại 172.89), 3 cacbon methin và 1 cacbon methyl. Các cacbon xuất hiện trong vùng thơm (δ_{C} 164.32, δ_{C} 161.01, δ_{C} 136.33, δ_{C} 111.59, δ_{C} 104.02, δ_{C} 103.14) chứng tỏ CO6 có vòng thơm.



Hình 17a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của CO6

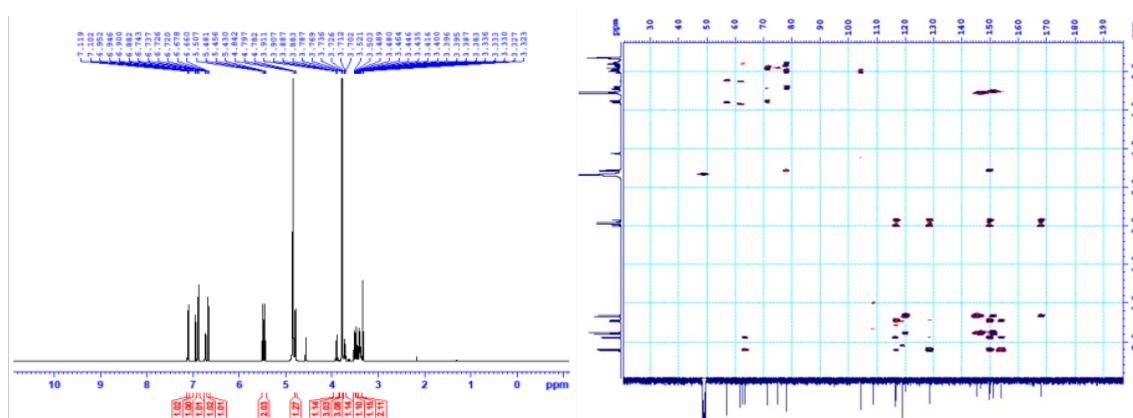


Hình 17b. Cấu trúc của hợp chất CO6

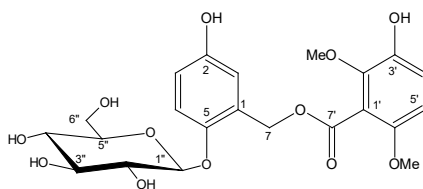
Phổ HMBC của hợp chất xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton H-6 với các cacbon lân cận C-1 (δ_{C} 104.02), C-2 (δ_{C} 161.01), C-3 (δ_{C} 103.14), C-4 (δ_{C} 164.32), C-5 (δ_{C} 111.59), tương tác giữa proton H-5 với các cacbon C-1 (δ_{C} 104.02), C-2 (δ_{C} 161.01), C-3 (δ_{C} 103.14), C-4 (δ_{C} 164.32), C-6 (δ_{C} 136.33), C-1' (δ_{C} 172.89), tương tác giữa proton H-3 với các cacbon C-1 (δ_{C} 104.02), C-2 (δ_{C} 161.01), C-4 (δ_{C} 164.32), C-6 (δ_{C} 136.33), C-1' (δ_{C} 172.89). Từ số liệu phổ kết hợp so sánh tài liệu tham khảo [111] có thể kết luận hợp chất CO6 là Methyl 2,4-dihydroxybenzoate.

3.2.1.2.2.6. Hợp chất CO7: Curculigoside C

Hợp chất CO7 phân lập được ở dạng tinh thể hình kim không màu, nhiệt độ nóng chảy 158 - 160°C. Phổ khối HRMS cho peak ion phân tử tại m/z 505,2275 $[M+Na]^+$ ở chế độ positive tương ứng với công thức $C_{22}H_{26}O_{12}Na$. Phổ 1H NMR của hợp chất CO7 có sự xuất hiện tín hiệu của 2 proton của nhóm methylen δ_H 5.49 (d, $J = 13.0$ Hz, H-7a), 5.44 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, H-7b), hai nhóm methoxyl ở δ_H 3.79 (3H, s) và 3.77 (3H, s), và một proton của gốc glucose δ_H 4.79 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''). Cấu hình ở C-1'' của gốc đường được xác định theo hướng β do hằng số J lớn ngoài ra còn có sự hiện diện của hai vòng thơm. Trong đó vòng A có xuất hiện tín hiệu của 3 proton ở δ_H 6.73 (1H, dd, $J = 3.0, 8.5$ Hz, H-4), 7.11 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3) và 6.95 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-6) cũng như tín hiệu của 3 proton trong vòng B ở δ_H 6.67 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', H-5') và 6.89 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-4'). Phổ ^{13}C NMR kết hợp với kỹ thuật DEPT xuất hiện tín hiệu của 22 cacbon trong đó có 8 cacbon bậc bốn, 10 nhóm methin, 2 nhóm methylen và 2 nhóm methyl, kết hợp với phổ 1H NMR cho thấy hợp chất CO7 chứa hai nhóm methoxyl và β -glucose với khung tín hiệu đặc trưng cho nhóm ester (δ_{CO} 168.08), và cho gốc glucose (δ_C 104.29), proton oxymethylene (δ_C 61.81) và hai nhóm methoxyl (δ_C 57.07). Phổ HMBC cho thấy hai nhóm methoxy liên kết với vị trí 2' và 6' của vòng thơm B và gốc glucose liên kết với vị trí 2 của vòng thơm A. Phổ HMBC có tương tác giữa H-5', H-3' (δ_H 6.70) với C-7' (δ_C 168,4), cho biết vòng thơm B nối với gốc este. Tương tác giữa proton oxymethylene H-7a (δ_H 5,49), H-7b (δ_H 5,43) với các cacbon C-1 (δ_C 128,8), C-3 (δ_C 116,4), C-5 (δ_C 149,6) và C-7' (δ_C 168,4) của vòng thơm A cho thấy mạch liên kết từ C-1 đến C-7. Sau khi so sánh số liệu phổ với số liệu đã công bố [58] hợp chất CO7 được xác định là Curculigoside C.



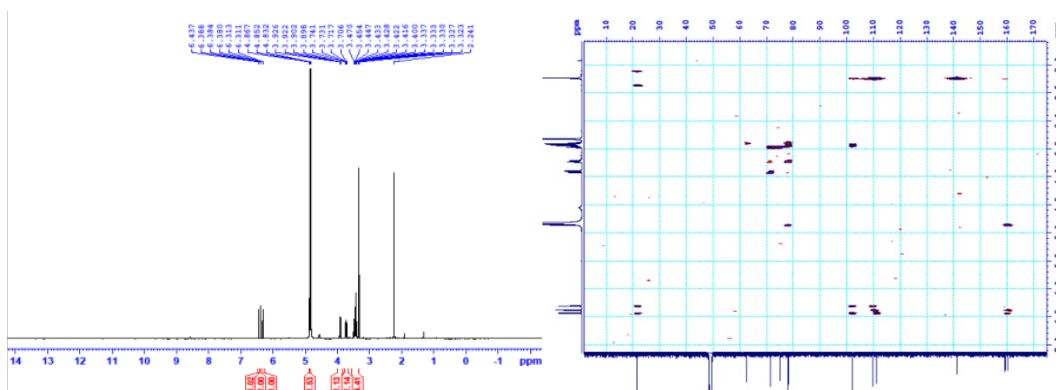
Hình 18a. Phổ NMR của hợp chất CO7



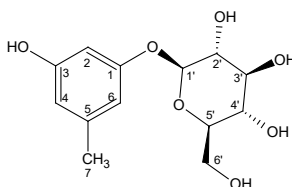
Hình 18b. Cấu trúc của hợp chất CO7

3.2.1.2.2.7. Hợp chất CO8: *Orcinol glucoside*

Phổ ^1H NMR của hợp chất CO8 cho thấy có tín hiệu cộng hưởng của 3 proton trong vùng thơm tại δ_{H} 6.44 (1H, brs, H-2), 6.38 (1H, t, $J = 2.0$, H-4), 6.29 (1H, d, $J = 1.0$, H-6) cho thấy vòng thơm bị thế ba vị trí. Tín hiệu của proton anomer của gốc đường xuất hiện tại δ_{H} 4.86 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), tín hiệu của các nhóm methin trong gốc đường tại δ_{H} 3.47-3.42 (4H, m, H-2', H-3', H-4', H-5') và tín hiệu nhóm methylen tại 3.91 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, Ha-6'), 3.70 (1H, dd, $J = 12.0, 5.0$ Hz, Hb-6'). Tín hiệu của một nhóm methyl xuất hiện tại δ_{H} 2.24 (3H, s, $-\text{CH}_3$). Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CO8 có 13 carbon, bao gồm 8 carbon methin, 1 carbon methylen, 1 carbon methyl và 3 carbon bậc bốn, kết hợp với phổ HMBC cho thấy hợp chất này gồm 1 vòng thơm gắn với gốc đường glucoside ở cấu dạng β do hằng số tương tác lớn $J = 7.5$ Hz. Từ các dữ liệu phổ kết hợp với tài liệu tham khảo [90] cho thấy hợp chất CO8 là orcinol glucoside.



Hình 19a. Phổ NMR của hợp chất CO8

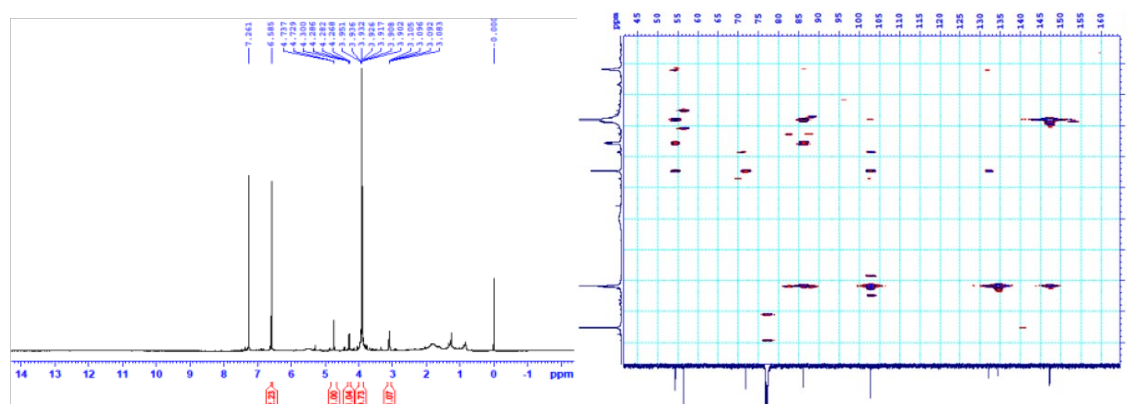


Hình 19b. Cấu trúc của hợp chất CO8

3.2.1.2.2.8. Hợp chất CO9: (+)-*Episingaresinol*

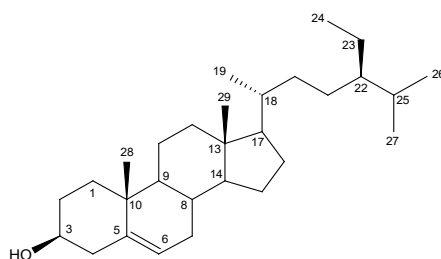
Hợp chất 1 có dạng gum màu nâu, tan tốt trong dung môi chloroform. Phổ ^1H NMR của hợp chất CO9 cho thấy có tín hiệu cộng hưởng của 2 proton trong vùng thơm

tại δ_H 6,59 (2H, s) tương ứng với 2 vòng benzen bị thế 4 vị trí 1,3,4. Sự có mặt của một vòng *bis*-tetrahydrofuran đối xứng trên 2 được thể hiện với tín hiệu của proton oxymethin xuất hiện tại δ_H 4.73 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), hai proton metin ở δ_H 3.09 (2H, m, H-1, H-5) và proton của 4 nhóm methoxyl tương đương tại δ_H 3.92 (s). Phổ ^{13}C -NMR kết hợp phổ DEPT của hợp chất CO9 cho thấy có 8 cacbon, bao gồm 3 cacbon methin, 1 cacbon methylen, 1 cacbon methyl và 3 cacbon bậc bốn, phân tích dữ kiện phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR cho thấy hợp chất này với hai vòng phenyl đối xứng liên kết qua cầu nối *bis*-tetrahydrofuran. Phổ HMBC xác nhận tín hiệu tương tác giữa các proton trong vòng thơm và tín hiệu tác giữa vòng thơm và cầu nối *bis*-tetrahydrofuran giữa proton H-2 với cacbon C-1' (δ_C 132,14), C-2' (δ_C 102,78), C-6' (δ_C 102,78), C-1 (δ_C 54,37), C-8 (δ_C 71,82), tương tác giữa proton H-6 với các cacbon C-1'' (δ_C 132,14), C-2'' (δ_C 102,78), C-6'' (δ_C 102,78), C-4 (δ_C 71,82), C-5 (δ_C 54,37) chứng tỏ hai vòng phenyl gắn vào vị trí C-2 và C-6 của vòng *bis*-tetrahydrofuran. Từ các dữ liệu phổ cho thấy hợp chất CO9 có cấu trúc đối xứng của một diepoxylignan, kết hợp với tài liệu tham khảo [87] cho thấy hợp chất CO9 là (+)-episingaresinol.



3.2.1.2.2.9. Hợp chất CO11: β -sistosterol

Hợp chất CO11 có tinh thể màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 136 - 137°C. Phổ khối ESI-MS cho peak ion phân tử m/z 415.38 $[M+H]^+$ tương ứng với công thức phân tử $C_{29}H_{50}O$. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1H NMR cho thấy các tín hiệu của khung sterol với 6 nhóm methyl (δ_H 0.68 (s), 0.81 (d), 0.83 (d), 0,84 (t), 0,92 (d), 1.00 (s)), kết hợp với phổ cộng hưởng từ cacbon ^{13}C NMR cho thấy các tín hiệu cộng hưởng từ proton và cacbon trùng khớp với thông số của β -sitosterol đã công bố [52], nên hợp chất CO11 được xác định là β -sitosterol, một hợp chất phổ biến trong các loài thực vật.



Hình 21. Cấu trúc hoá học của CO11

Từ rễ củ sâm cau đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 09 hợp chất: *Orcinol* (CO1), *Glycerol monosterate* (CO2), *Curculigoside* (CO4), *2,6-dimethoxy benzoic acid* (CO5), *Methyl 2,4-dihydroxybenzoate* (CO6), *Curculigoside C* (CO7), *Orcinol glucoside* (CO8), (+)-*Episyringaresinol* (CO9), β -*sistosterol* (CO11). Đã chọn 2 hợp chất có hàm lượng cao là *Curculigoside* (CO4) và *2,6-dimethoxy benzoic acid* (CO5) để nghiên cứu xây dựng các phương pháp phân tích nhằm đánh giá sự biến động hàm lượng hoạt chất theo thời gian phát triển của rễ củ sâm cau.

3.2.1.3. Nghiên cứu hóa học Đẳng sâm - *Codonopsis javanica*

3.2.1.3.1. Phân lập các hợp chất từ Đẳng sâm

Củ, rễ mẫu Đẳng sâm - *Codonopsis javanica* (CJ) sau khi thu hái về được thái nhỏ, sấy khô ở nhiệt độ 50°C, xay nhỏ sau đó được đem chiết 3 lần với methanol có dùng siêu âm, dịch chiết được cô quay dưới áp suất giảm thu được cặn chiết methanol (900g). Cặn chiết methanol được hòa vào nước, sau đó chiết phân lớp lần lượt với các dung môi hữu cơ: *n*-hexan, chloroform, etyl axetat thu được các cặn chiết *n*-hexan (150g), cặn chloroform (40g) cặn chiết etyl axetat (15 g), dịch nước và một phần cặn không tan.

Cặn nước được đưa lên cột Diaion để loại đường và muối vô cơ sau đó được rửa giải với hệ dung môi gradient gồm MeOH: nước tỷ lệ lần lượt là 30:70, 70:30, 100:0 thu

được 3 phân đoạn ký hiệu là W1, W2, W3. Phân đoạn W3 (20g) được đưa lên cột pha đảo YMC RP-18, dung môi MeOH: nước rửa giải gradient từ tỷ lệ 1:3 đến 1.5:1 thu được 12 phân đoạn ký hiệu W3A-W3L.

Phân đoạn W3D được đưa lên cột sắc ký silica gel pha thường, hệ dung môi diclometan: methanol: nước 4.5:1:0.1 thu được 14 phân đoạn nhỏ. Phân đoạn W3D5 (40 mg) tách trên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước (8:1:0,1) thu được hai hợp chất **CJ2** (4,5 mg) và **CJ3** (8,5 mg). Phân đoạn W3D6 (77 mg) tinh chế trên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước (6,5:1:0,1) thu được hợp chất **CJ1** (12 mg). Phân đoạn W3D10 (190 mg) tách trên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước (6,5:1:0,1) thu được hỗn hợp **CJ6** (30 mg) và tiếp tục tách trên HPLC với dung môi acetonitrile-nước (10/90) thu được hai hợp chất **CJ6.1** (14 mg) và **CJ6.2** (4,5 mg). Phân đoạn W3D13 (450 mg) tách trên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước (2,2:1:0,1) thu được 5 phân đoạn (W3D13A- W3D13E). Phân đoạn W3D13B tách trên HPLC với hệ dung môi ACN 17% thu được hợp chất **CJ15** (22 mg). Tương tự, phân đoạn W3D13C tách trên HPLC với hệ dung môi ACN 12% thu được hợp chất **CJ12** (10 mg). Hợp chất **CJ9** (10 mg) nhận được khi tách phân đoạn W3D13E (84 mg) trên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (2,5:1:0,1). Phân đoạn W3D14 (180 mg) tách trên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước (2,2:1:0,1) thu được hợp chất **CJ10** (16 mg). Phân đoạn W3F (2,5 g) được đưa lên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (4,5:1:0,1) thu được 7 phân đoạn (W3F1- W3F7). Phân đoạn W3F2 tách trên HPLC dùng ACN 17% thu được hợp chất **CJ14** (8,2 mg). Phân đoạn W3F4 sau khi qua cột sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH-H₂O (1:3) được tiếp tục tinh chế qua HPLC với hệ dung môi MeOH 33% thu được hợp chất **CJ13.1** (12 mg). Phân đoạn W3G (450 mg) được đưa lên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước: acid formic (4,5:1:0,1:0,001) thu được 3 phân đoạn W3G1 – W3G3. Phân đoạn W3G1 (150 mg) được tinh chế trên các cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải lần lượt là diclometan: methanol: nước: acid formic (7:1:0,1:0,001) và ethylacetat: methanol: nước (7:1:0,1) thu được hợp chất **CJ18** (15 mg). Phân đoạn W3G3 (110 mg) được tinh chế trên các cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải là diclometan:

methanol: nước: acid formic (3,5:1:0,1:0,001) và hệ thống HPLC với hệ dung môi acetone: nước (17:83) thu được hợp chất **CJ22** (2,3 mg). Phân đoạn W3H (2,1g) được đưa lên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải diclometan: methanol: nước: acid formic (4,5:1:0,1:0,001) thu được 5 phân đoạn W3H1 – W3H5. Phân đoạn W3H2 (480mg) được tinh chế trên cột sắc ký pha đảo với hệ dung môi rửa giải methanol: nước (1:1,2) thu được hợp chất **CJ19** (40 mg). Phân đoạn W3H5 (100 mg) được tinh chế qua các cột sephadex với hệ dung môi rửa giải là methanol: nước (1:3) và sắc ký cột pha thuận với hệ dung môi ethylacetat: methanol: nước (7:1:0,1) thu được hợp chất **CJ20** (15 mg). Phân đoạn W3I (2,2 g) được đưa lên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải diclometan: methanol (30:1) thu được 10 phân đoạn W3I1 – W3I10. Phân đoạn W3I3 (82 mg) được tinh chế trên cột sắc ký pha đảo với hệ dung môi rửa giải acetone: nước (1,2:1,6) và cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải hexan: ethylacetat: methanol (70:60:1) thu được hợp chất **CJ23** (15 mg). Phân đoạn W3I6 (60 mg) được tinh chế qua cột sắc ký silicagel pha thuận với hệ dung môi khai triển ethylacetat: methanol: nước: acid formic (5:1:0,1:0,001) thu được hợp chất **CJ25** (10 mg). Phân đoạn W3I9 (75 mg) được tinh chế trên cột sắc ký pha đảo với hệ dung môi rửa giải acetone: nước (1:2,5) và cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước: acid formic (5:1:0,1:0,001) thu được hợp chất **CJ29** (4 mg). Phân đoạn W3I10 (80 mg) được tinh chế trên cột sắc ký pha đảo với hệ dung môi rửa giải acetone: nước (1:3) và cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước: acid formic (5:1:0,1:0,001) thu được hợp chất **CJ27** (10 mg). Phân đoạn W3K (300mg) được đưa lên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải diclometan: methanol: nước: acid formic (4,5:1:0,1:0,001) thu được phân đoạn W3K5. Phân đoạn W3K5 (80 mg) được tinh chế trên cột sắc ký pha đảo với hệ dung môi rửa giải acetone: nước (1:1,2) và cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi rửa giải ethylacetat: methanol: nước: acid formic (5:1:0,1:0,001) và hệ thống HPLC với hệ dung môi rửa giải acetone: nước (27:73) thu được hợp chất **CJ31** (8 mg).

Cặn chiết diclometan và ethylacetat gộp với nhau, đem chạy cột sắc ký pha đảo với hệ dung môi gradient methanol: nước (1:4 – 100% methanol) thu được 8 phân đoạn D1- D8. Phân đoạn D5 đưa lên cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH (4:1) và tinh chế tiếp theo trên cột sắc ký pha thuận dùng hệ dung môi *n*-hexane-EtOAc

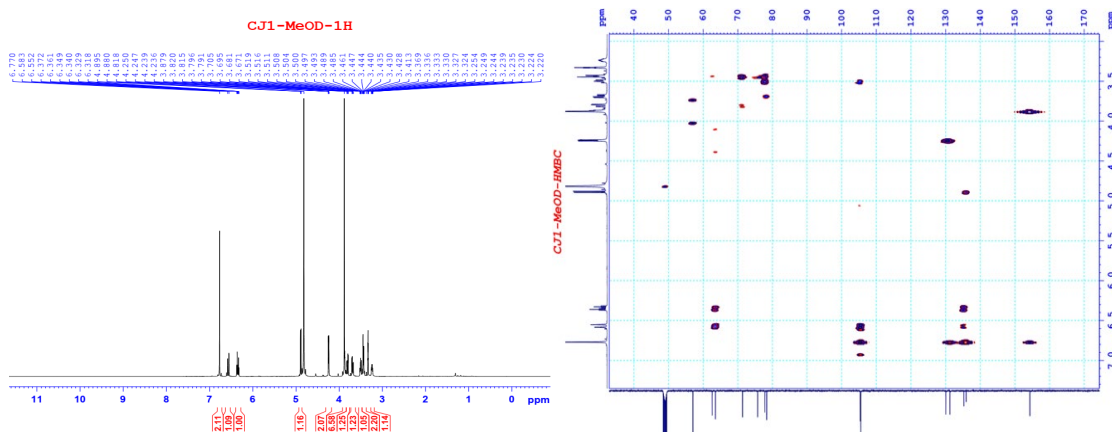
(1:1) thu được hợp chất **CJ37** (3.5 mg). Phân đoạn D6 (480 mg) được tinh chế trên cột sắc ký silicagel pha thuận với hệ dung môi rửa giải lần lượt là diclometan: methanol (30:1) và diclometan: ethylacetat (1:1,5) thu được hợp chất **CJ33** (20 mg). Phân đoạn D7 sau khi qua cột sắc ký pha thuận với hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH (5:1) được tiếp tục tinh chế qua cột silica gel dùng hệ dung môi *n*-hexane-EtOAc (4:1) thu được hợp chất **CJ36** (3.7 mg). Tương tự, phân đoạn D8 tách trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane-EtOAc (4:1) thu được hợp chất **CJ38** (30 mg).

3.2.1.3.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ đẳng sâm

3.2.1.3.2.1. Hợp chất CJ1: Syringin

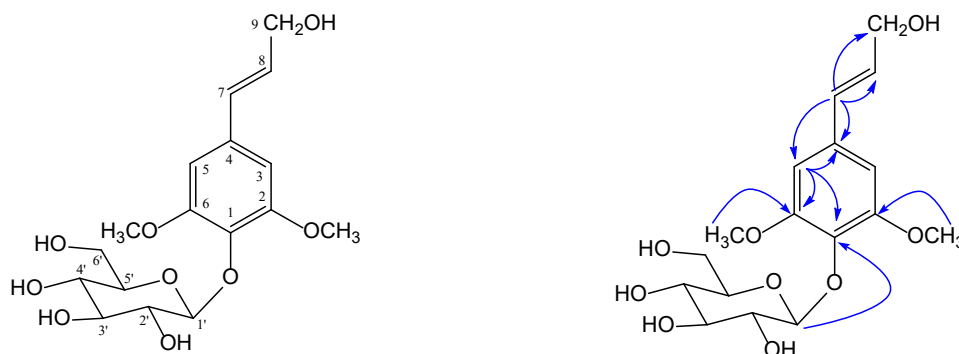
Hợp chất CJ1 thu được dưới dạng dầu, phổ ¹H NMR xuất hiện tín hiệu của một proton vòng thơm với cường độ tích phân cao gấp đôi tại δ_H 6.77 (2H, s) chứng tỏ vòng thơm bị thế dạng đối xứng, tín hiệu của một nối đôi với hai proton olefin tại δ_H 6.34 (1H, td, *J* = 5.5, 16.0 Hz), 6.56 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), hằng số tương tác giữa hai proton lớn (*J* = 16.0 Hz) chứng tỏ nối đôi này có dạng trans. Ngoài ra phổ ¹H còn xuất hiện tín hiệu của một đơn vị đường với proton anome đặc trưng tại δ_H 4.88 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), tín hiệu của hai nhóm methoxy tại δ_H 3.88 (6H, s).

Phổ ¹³C NMR xuất hiện tín hiệu của 17 nguyên tử cacbon trong đó 6 cacbon thuộc vòng thơm tại δ_C 105.53, 135.28, 135.94, 154.38 - đây là vòng thơm bị thế 4 vị trí và có dạng đối xứng hoàn toàn với hai tín hiệu tại δ_C 105.53 và 154.38 có cường độ pic cao gấp đôi, tín hiệu của một nhánh -CH=CH-CH₂OH với sự xuất hiện của hai cacbon olefin và một nhóm oximethylen tại δ_C 130.07, 131.27 và 63.56. Sự xuất hiện của một đơn vị đường glucose với các tín hiệu đặc trưng tại δ_C 105.37, 78.36, 77.84, 75.74, 71.37, 62.61, hằng số tương tác của proton anome lớn (*J* = 7.5 Hz) chứng tỏ đơn vị đường có dạng β.



Hình 22a. Phổ NMR của hợp chất CJ1

So sánh số liệu phổ của hợp chất CJ1 với tài liệu tham khảo [103], kết hợp với các tương tác trên phổ HMBC cho phép xác định hợp chất CJ1 có tên gọi là syringin.

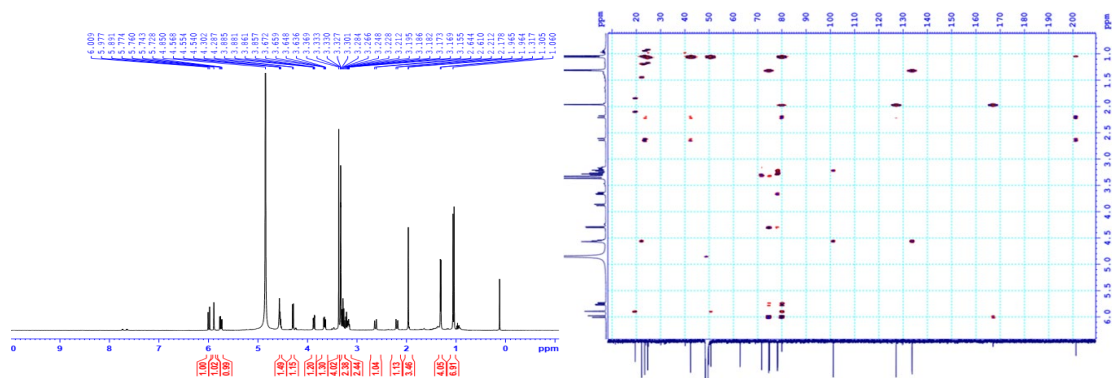


Hình 22b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ1

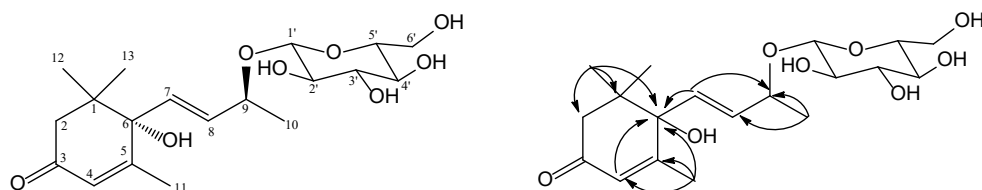
3.2.1.3.2.2. Hợp chất CJ2: Corchoionoside C

Hợp chất CJ2 thu được dưới dạng dầu. Phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của 3 nhóm methyl bậc 3 có dạng singlet tại δ_{H} 1.06 (3H, s, H-12), 1.03 (3H, s, H-13), 1.96 (3H, brs, H-11), tín hiệu của một nhóm methyl bậc hai tại δ_{H} 1.31 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-10), tín hiệu của hai nối đôi trong đó một nối đôi thế 3 lần ($-\text{CH}=\text{C}<$) tại δ_{H} 5.89 (1H, brs, H-4) và một nối đôi dạng *trans* tại δ_{H} 5.98 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-7), 5.75 (1H, dd, $J = 7.0, 15.5$, H-8), tín hiệu của một nhóm metylen tại δ_{H} 2.19 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, $\text{H}_{\text{a}}-2$), 2.62 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, $\text{H}_{\text{b}}-2$), một nhóm oximetin tại δ_{H} 4.55 (1H, m, H-9). Ngoài ra trong vùng trường trung bình từ 3.15-3.50 ppm xuất hiện tín hiệu của một đơn vị đường với proton anome đặc trưng tại δ_{H} 4.32 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1').

Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 19 nguyên tử cacbon, nếu trừ đi 6 tín hiệu của phân tử đường thì phần aglycon còn lại 13 cacbon. Trong đó có 4 nhóm CH_3 , tín hiệu của một nối đôi thế 3 vị trí ($-\text{CH}=\text{C}<$) tại δ_{C} 127.14 (C-4), 167.12 (C-5) và một nối đôi thế hai vị trí ($-\text{CH}=\text{CH}-$) tại δ_{C} 133.77 (C-7), 133.72 (C-8), tín hiệu của một nhóm cacbonyl tại δ_{C} 201.29 và hai cacbon có đính với oxi tại δ_{C} 80.03 (C, C-6), 74.66 (CH, C-9). Các tín hiệu tại độ chuyển dịch δ_{C} 101.27 (C-1'), 74.97 (C-2'), 78.21 (C-3'), 71.71 (C-4'), 78.38 (C-5'), 62.85 (C-6') là rất đặc trưng cho phân tử đường glucose, hằng số tương tác của proton anome lớn ($J = 7.5$ Hz) chứng tỏ cấu hình của phân tử đường là β -D-glucose. So sánh số liệu phổ với tài liệu đã công bố [114] có thể khẳng định hợp chất CJ2 có tên gọi là Corchoionoside C. Cấu trúc của hợp chất CJ2 cũng được khẳng định chắc chắn dựa vào tương tác HMBC.



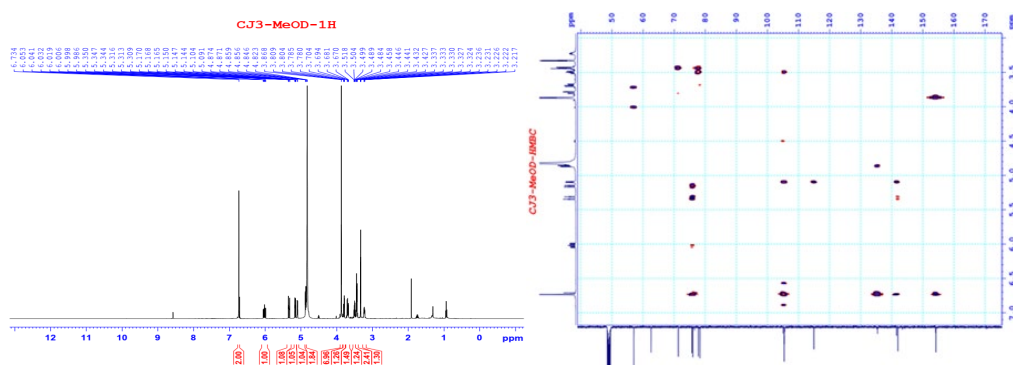
Hình 23a. Phổ NMR của hợp chất CJ2



Hình 23b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ2

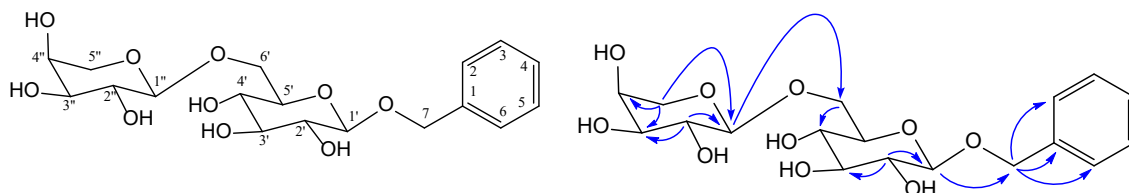
3.2.1.3.2.3. Hợp chất CJ3: Tangshenoside II

Hợp chất CJ3 có cấu trúc khá tương tự hợp chất CJ1 với cấu trúc bao gồm vòng benzene thế 4 vị trí và đối xứng hoàn toàn tại δ_C 105.40, 135.44, 141.58, 154.19/ δ_H 6.73 (2H, s), tín hiệu của một đơn vị đường glucose tại δ_C 104.44, 78.32, 77.82, 75.72, 71.35, 62.58. Sự khác biệt giữa hợp chất CJ3 với CJ1 là ở phần mạch nhánh với sự thay thế nhánh $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$ ở CJ1 bằng nhánh $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}=\text{CH}_2$ bởi sự xuất hiện của ba proton olefin tại δ_H 6.02 (1H, m, H- β), 5.15 (1H, td, $J = 1.0, 10.0$ Hz, H $_{\alpha}$ - α), 5.33 (1H, td, $J = 1.5, 17.0$ Hz, H $_{\beta}$ - α)/ δ_C 141.98 (C- β), 114.94 (C- α) và một nhóm oximetin tại δ_H 5.10 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H- γ)/ δ_C 76.00 (C- γ).



Hình 24a. Phổ NMR của hợp chất CJ3

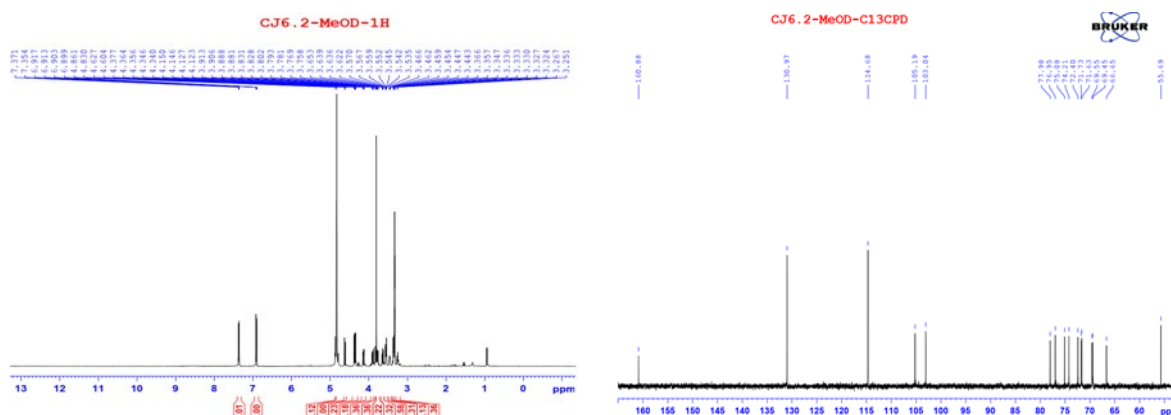
Tương tác HMBC giữa H- γ với C-2, C-6, C- α , C- β cùng với các tương tác khác trên phổ HMBC đã cho phép khẳng định cấu trúc hóa học của hợp chất CJ3 như hình vẽ. So sánh số liệu phổ của hợp chất CJ3 với tài liệu đã công bố chứng tỏ hợp chất CJ3



Hình 25b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ6.1

3.2.1.3.2.5. Hợp chất CJ6.2: Codobenzylósíde (chất mới)

Hợp chất CJ6.2 thu được dưới dạng dầu, phổ NMR của hợp chất CJ6.2 là tương tự như CJ6.1, với một vòng benzen và chuỗi hai đơn vị đường α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside nối với nhau qua một cầu oximetylen. Điểm khác biệt duy nhất là hợp chất CJ6.2 xuất hiện thêm một nhóm methoxy và nó được xác định là đính tại C-4 của vòng benzen, điều này cũng được xác định khi các tín hiệu proton và cacbon cho thấy vòng benzen có dạng đối xứng hoàn toàn với các tín hiệu pic có cường độ cao gấp đôi tại δ_C 114.68/ δ_H 6.90 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 130.97/ δ_H 7.36 (2H, d, $J = 8.5$ Hz). Như vậy hợp chất CJ6.2 được xác định là 4-methoxy-benzylalcohol-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranoside và là một hợp chất mới được đặt tên là Codobenzylósíde.



Hình 26a. Phổ NMR của hợp chất CJ6.2

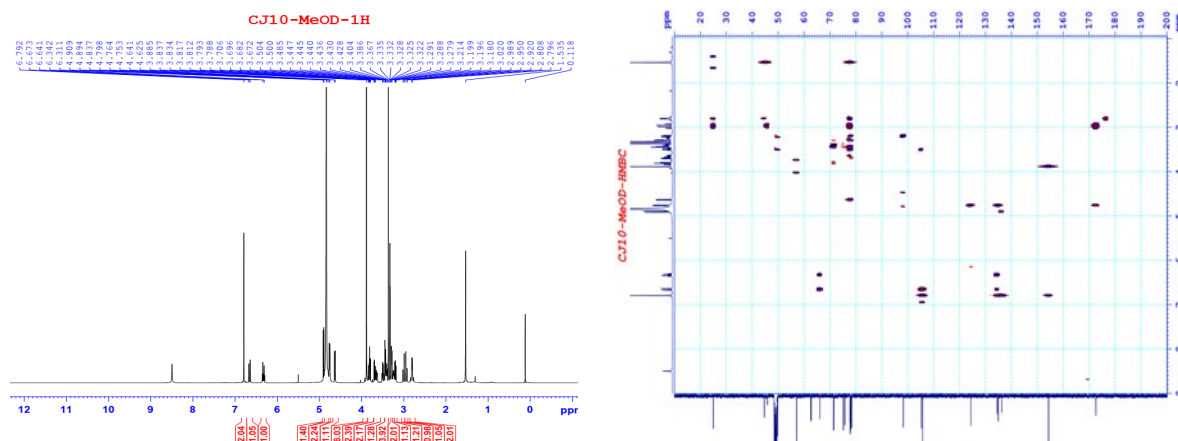
Bảng 3.2.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ6.1 và CJ6.2

Position	CJ6.1	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	139.11	130.97	C	-	
2,6	129.18	130.97	CH	7.36 d (8.5)	
3,5	129.27	114.68	CH	6.90 d (8.5)	
4	128.65	160.88	C	-	
7	71.92	71.73	CH ₂	4.61 d (11.5) 4.86	1, 2, 6, 1'
4-OCH ₃		55.69			
1'	103.39	103.04	CH	4.37 d (8.0)	7

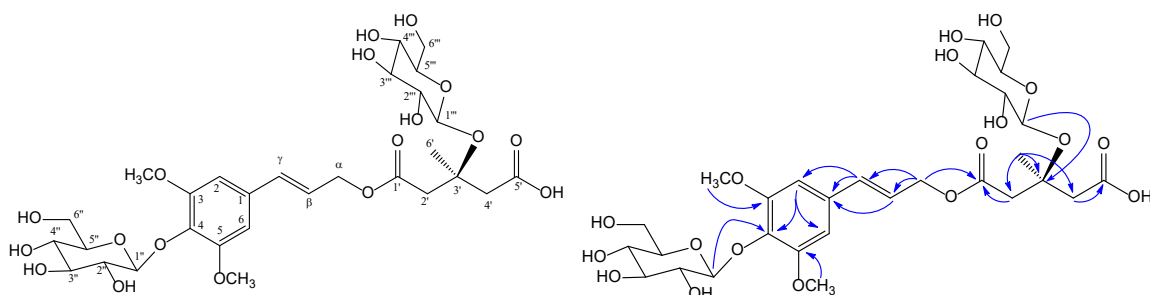
109.67 (C-2), 124.09 (C-3), cacbon acid tại δ_C 165.88. Đặc biệt, tín hiệu cacbon CH tại δ_C 54.76 cho thấy cacbon này đã nối với nguyên tử nitơ. Từ tương tác HMBC giữa H- β với C=O, C-2, C-3, C-9, tương tác giữa H- α với C-2, C=O, và H-3 với C-9 có thể gợi ý cấu trúc của CJ9 là tryptophan, hợp chất có công thức phân tử $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Số liệu phổ NMR của CJ9 phù hợp với tryptophan.

3.2.1.3.2.7. Hợp chất CJ10: Tangshenoside I

Hợp chất CJ10 thu được dưới dạng chất dầu, phổ 1H NMR xuất hiện tín hiệu của proton vòng thơm tại δ_H 6.79 (2H, s), một nối đôi dạng trans tại δ_H 6.32 (1H, td, $J = 6.5, 16.0$ Hz), 6.65 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), tín hiệu của proton anome tại δ_H 4.63 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).



Hình 27a. Phổ NMR của hợp chất CJ10



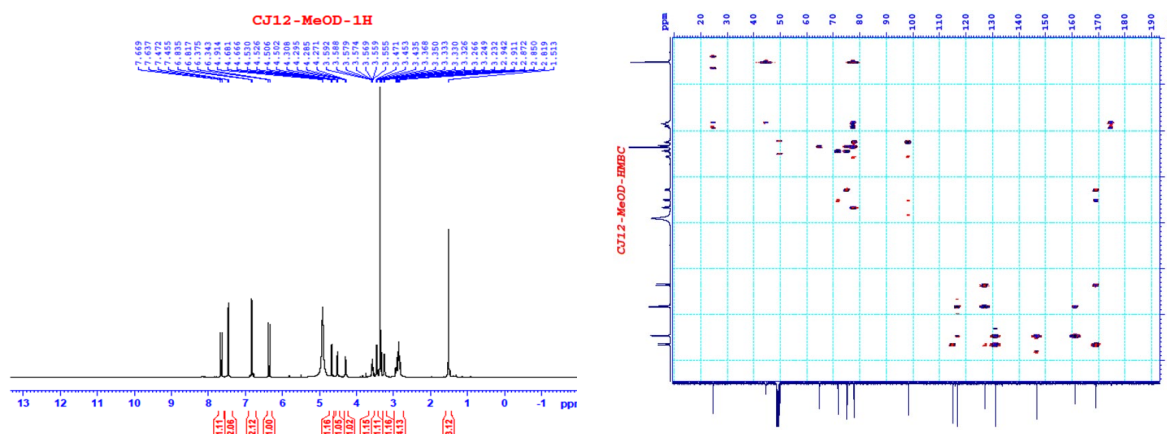
Hình 27b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ10

Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 29 nguyên tử cacbon, kết hợp với phân tích tương tác HMBC giữa proton và cacbon xác định hai mảnh cấu trúc của CJ10 là syringin và acidic glucoside, hai phần cấu trúc này được liên kết với nhau qua cầu oxy dựa trên tương tác HMBC giữa proton của nhóm oximethylen δ_H 4.75 (2H, d, $J = 5.5$ Hz) với cacbon carbonyl δ_C 172.62. Vị trí của đơn vị đường cũng được xác định dựa trên tương tác giữa proton anome δ_H 4.63 với C-3' (δ_C 77.44) và tương tác giữa H₃-6' (δ_H 1.05) với

C-2' (δ_C 44.64), C-3', C-4' (δ_C 45.84) và giữa proton anome δ_H 4.90 với C-4 (δ_C 136.28) của vòng benzen (bảng PL3.2.3.6). So sánh số liệu của hợp chất CJ10 với tài liệu đã công bố, hợp chất CJ10 được xác định là tangshenoside I [86].

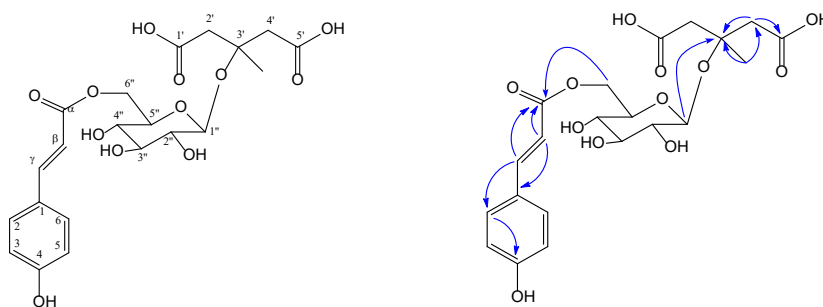
3.2.1.3.2.8. Hợp chất CJ12: Tangshenoside V

Hợp chất CJ12 thu được dưới dạng gum không màu, phổ 1H NMR xuất hiện tín hiệu của gốc p-coumaroyl tại δ_H 7.46 (2H, d, $J = 8.5$ Hz) và 6.82 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), một nối đôi dạng trans tại δ_H 6.35 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 7.64 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), cùng với tín hiệu của proton anome tại δ_H 4.67 (1H, d, $J = 7.5$ Hz).



Hình 28a. Phổ NMR của hợp chất CJ12

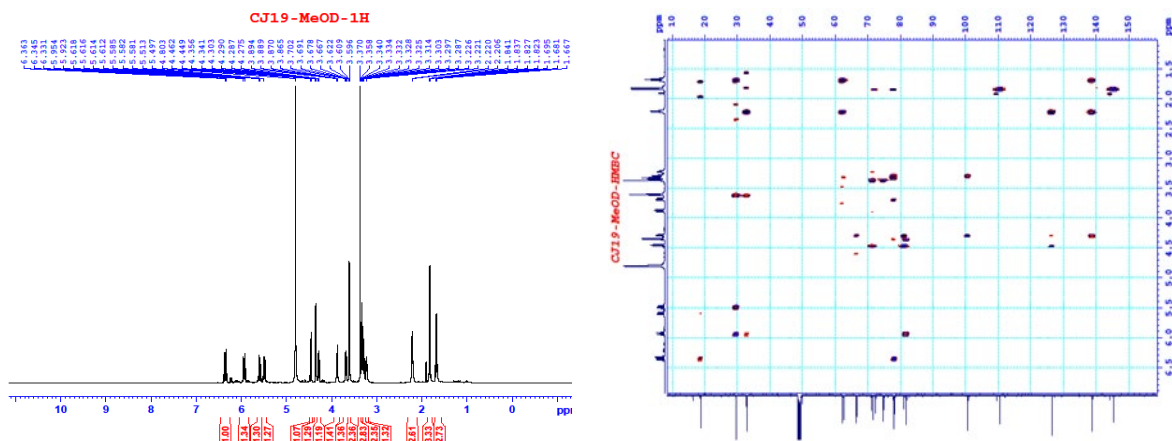
Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 23 nguyên tử carbon, kết hợp với phân tích tương tác HMBC giữa proton và carbon xác định hai mảnh cấu trúc của CJ12 là 4-coumaric acid và 3-hydroxy-3-methylglutaric acid liên kết trực tiếp vào gốc đường glucose. Vị trí của đơn vị đường cũng được xác định dựa trên tương tác giữa proton anome δ_H 4.67 với C-3' (δ_C 77.62) và tương tác giữa H-6'' (δ_H 4.28, 4.51) với C- α (δ_C 169.07). So sánh số liệu của hợp chất CJ12 với tài liệu đã công bố [101], hợp chất CJ12 được xác định là tangshenoside V.



Hình 28b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ12

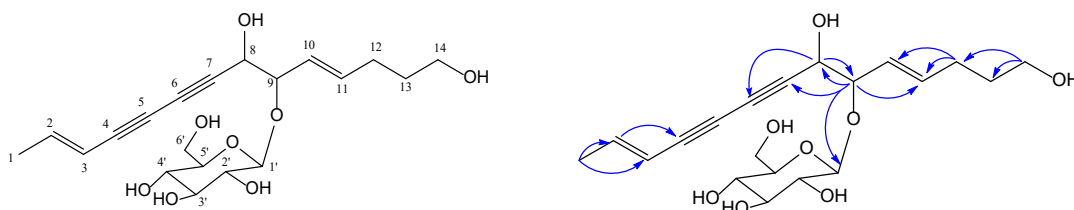
3.2.1.3.2.9. Hợp chất CJ19: Lobetyolin

Hợp chất CJ19 được phân lập ở dạng bột vô định hình. Phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của proton anomer tại δ_{H} 4.35 (1H, d, $J = 7.5$ Hz); 1 nhóm methyl tại δ_{H} 1.83 (3H, dd, $J = 2.0, 7.0$ Hz); 2 proton metin tại δ_{H} 4.45 (1H, d, $J = 6.0$ Hz) và 4.29 (1H, dd, $J = 6.0, 7.5$ Hz); 6 proton metylen tại δ_{H} 2.21 (m), 1.68 (m), 3.61 (t, $J = 6.5$ Hz); hai nối đôi dạng *trans* tại δ_{H} 6.35 (m), 5.60 (1H, ddd, $J = 1.0, 2.0, 16.0$ Hz) và δ_{H} 5.48 (m), 5.94 (m), 1 proton metylen mang nhóm hydroxy tại δ_{H} 3.61 (t, $J = 6.5$ Hz).



Hình 29a. Phổ NMR của hợp chất CJ19

Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 20 nguyên tử cacbon, bao gồm 1 gốc đường glucose, 1 methyl, 2 metin, 3 metylen, 4 olefin cacbon và 4 cacbon bậc 4. Kết hợp với phân tích tương tác HMBC giữa proton và cacbon cho thấy gốc đường glucose gắn vào vị trí C-9 qua cầu ôxy dựa trên tương tác HMBC giữa proton anomer δ_{H} 4.35 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1') với cacbon C-9 (δ_{C} 81.84). So sánh với chất Lobetyolin được phân lập từ chi *Codonopsis* [82] và *Lobelia inflata* [64] cho thấy có sự phù hợp hoàn toàn về giá trị phổ NMR tại các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất CJ19 được xác định là Lobetyolin.

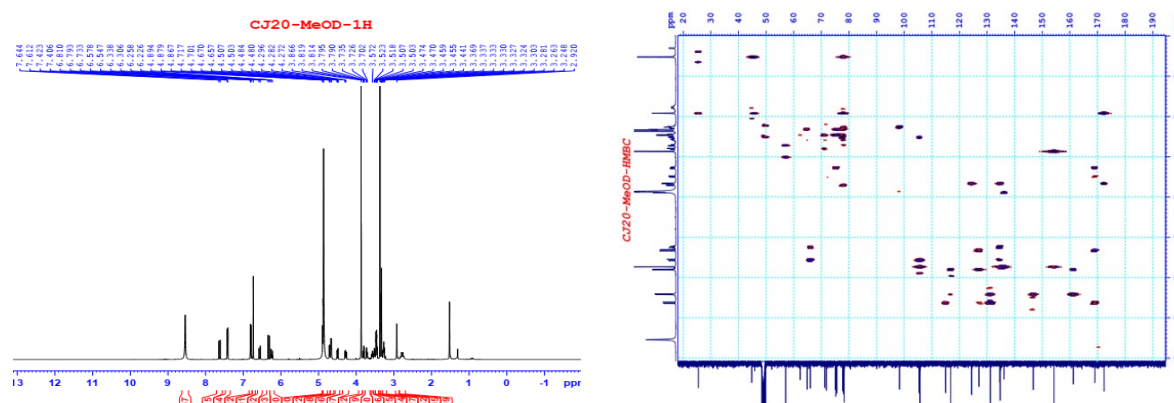


Hình 29b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ19

3.2.1.3.2.9. Hợp chất CJ20: Tangshenoside VI

Hợp chất CJ20 thu được dưới dạng chất dầu, phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của 2 hệ vòng thơm đối xứng, trong đó một hệ đối xứng dạng AX tại δ_{H} 6.73 (2H, s), và một

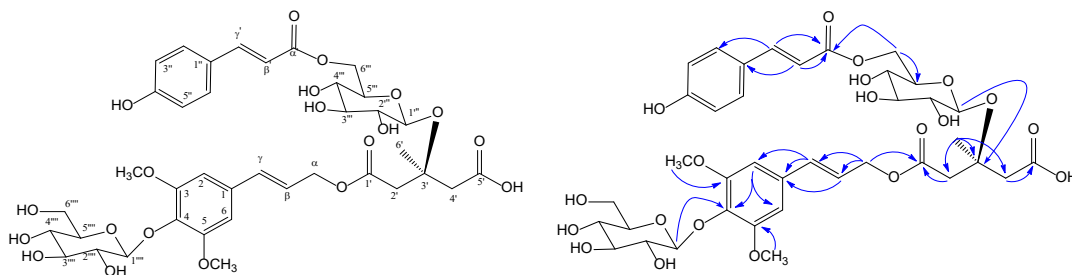
hệ dạng A_2B_2 tại δ_H 6.80 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.41 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), hai nôi đôi dạng *trans* tại δ_H 6.24 (1H, td, $J = 6.0, 15.5$ Hz), 6.56 (1H, d, $J = 15.5$ Hz) và δ_H 6.32 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 7.62 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), tín hiệu của 2 proton anome tại δ_H 4.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz) và 4.89.



Hình 30a. Phổ NMR của hợp chất CJ20

Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 38 nguyên tử carbon, kết hợp với phân tích tương tác HMBC giữa proton và carbon xác định cấu trúc của CJ20 gồm hai mảnh cấu trúc Tangshenoside I và 4-*p*-coumaroyl, hai phần cấu trúc này được liên kết với nhau qua cầu oxy tại vị trí C-6 của đơn vị đường glucose dựa trên tương tác HMBC giữa proton của nhóm oximethylen δ_H 4.28 (1H, dd, $J = 7.0, 12.0$ Hz, $H_{a-6''}$) và 4.49 (1H, dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz, $H_{b-6''}$) với carbon cacbonyl δ_C 169.06.

So sánh số liệu phổ của hợp chất CJ20 (bảng PL3.2.3.9) với hợp chất Barbatoside C [54] cho thấy hai hợp chất này khác nhau vị trí của nhóm *p*-coumaroyl so với đơn vị đường (chất Barbatoside C là ở C-4 còn chất CJ20 là ở C-6). So sánh với chất Tangshenoside VI cũng được phân lập từ chi Codonopsis [101] cho thấy có sự phù hợp hoàn toàn về giá trị phổ NMR tại các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất CJ20 được xác định là Tangshenoside VI.

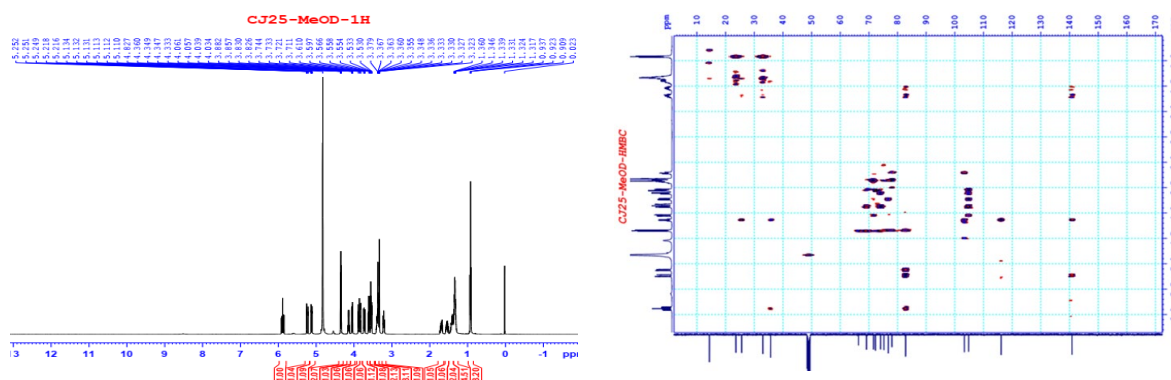


Hình 30b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ20

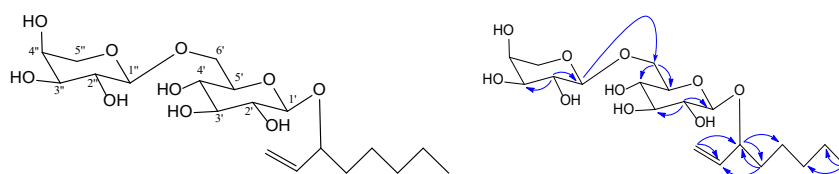
3.2.1.3.2.10. Hợp chất CJ25: 1-octenyl-3-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranoside

Hợp chất CJ25 thu được dưới dạng dầu. Phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của một nối đôi đầu mạch tại δ_{H} 5.12 (1H, ddd, $J = 1.0, 1.5, 10.5$ Hz), 5.23 (1H, ddd, $J = 1.0, 2.0, 17.5$ Hz), một nhóm methyl đầu mạch tại δ_{H} 0.92 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), tín hiệu của hai proton anome tại δ_{H} 4.34 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 4.35 (1H, d, $J = 5.5$ Hz).

Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 19 nguyên tử cacbon, trong đó có 12 cacbon thuộc hai đơn vị đường: glucopyranoside với các tín hiệu đặc trưng tại δ_{C} 103.34 (C-1'), 75.27 (C-2'), 78.05 (C-3'), 71.63 (C-4'), 76.78 (C-5'), 69.19 (C-6') và arabinopyranoside với các tín hiệu đặc trưng tại δ_{C} 104.82 (C-1''), 72.23 (C-2''), 74.09 (C-3''), 69.27 (C-4''), 66.40 (C-5''). Độ chuyển dịch về phía trường yếu tại vị trí C-6' của đơn vị đường glucose kết hợp với tương tác HMBC giữa H-6' với C-1'' và giữa H-1' với C-3 (δ_{C} 82.82) xác định vị trí chuỗi hai đơn vị đường cũng như cấu trúc hóa học của hợp chất CJ25.



Hình 31a. Phổ NMR của hợp chất CJ25

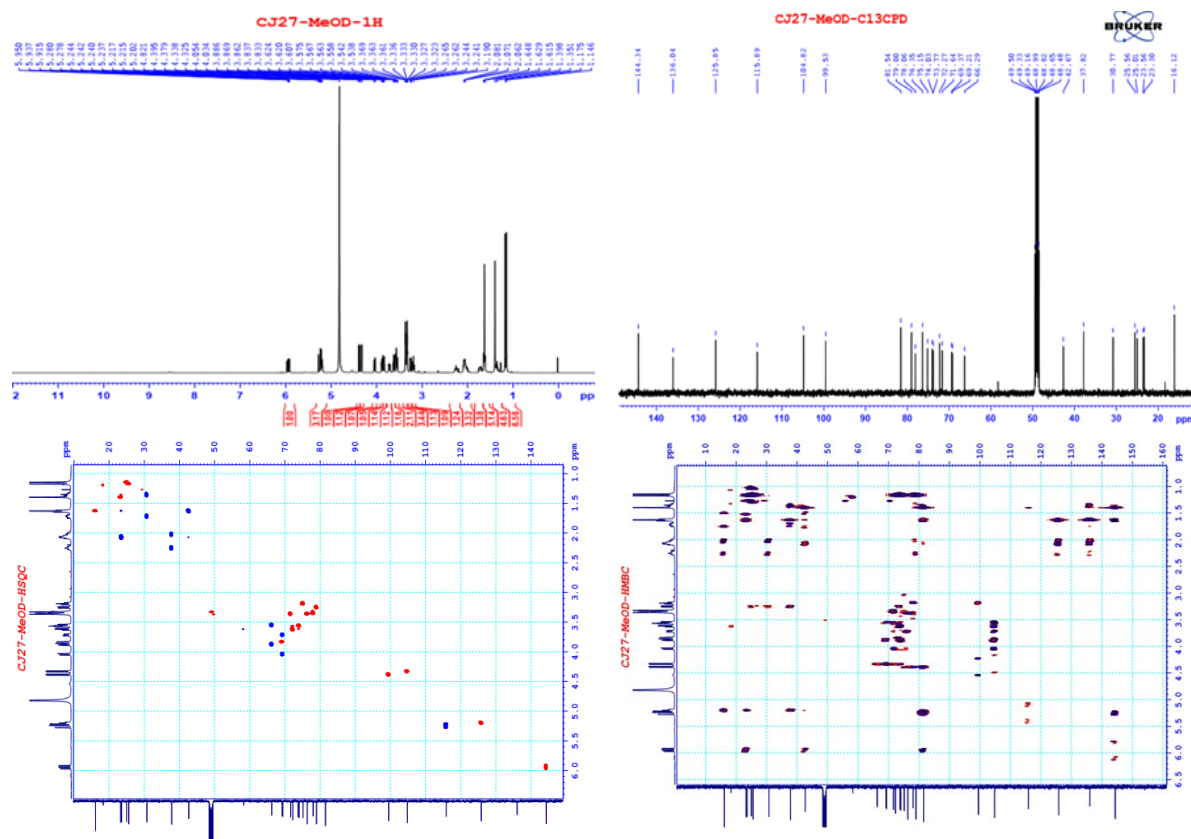


Hình 31b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ25

3.2.1.3.2.11. Hợp chất CJ27: Codojavanoside A (chất mới)

Hợp chất CJ27 có chuỗi đường tương tự hợp chất CJ25 gồm một đường glucopyranoside và một đường arabinopyranoside đính với nhau tại C-6 của đường glucose với độ chuyển dịch hóa học tại δ_{C} 99.53 (C-1'), 75.15 (C-2'), 78.06 (C-3'), 71.64 (C-4'), 76.35 (C-5'), 69.37 (C-6')/ δ_{H} 4.38 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1') và δ_{C} 104.82 (C-1''), 72.27 (C-2''), 73.77 (C-3''), 69.21 (C-4''), 66.29 (C-5'')/ δ_{H} 4.33 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-

1"). Phần aglycon là một chuỗi mạch dài bao gồm hai nối đôi trong đó có một nối đôi đầu mạch tại [δ_C 115.89 (CH₂, C-1), 144.34 (CH, C-2)/ δ_H 5.23, 5.24 (s, 1H cho mỗi tín hiệu, H-1), 5.94 (1H, dd, $J = 11.0, 17.5$ Hz, H-2)] và một nối đôi thế 3 vị trí (>C=CH-) tại [δ_C 125.85 (CH, C-6), 136.04 (C, C-7)/ δ_H 5.21 (H-6)], tín hiệu của một nhóm oximetin tại δ_C 79.00 (C-10)/ δ_H 3.25 (1H, dd, $J = 1.5, 10.5$ Hz), một cacbon đỉnh trực tiếp với oxi và không mang hydro tại δ_C 74.03 (C-11), bốn nhóm methyl dạng singlet tại δ_H 1.15, 1.17, 1.40 và 1.63.



Hình 32a. Phổ NMR của hợp chất CJ27

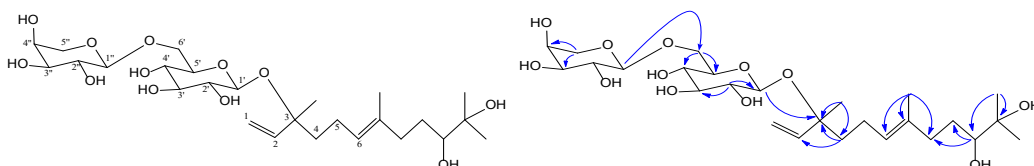
Các tương tác trên phổ HMBC cho phép xác định chính xác các vị trí (xem hình và bảng). Như vậy cấu trúc hợp chất CJ27 được xác định như hình 32e và là chất mới được đặt tên là Codojavanoside A.

Bảng 3.2.3. Số liệu phổ của chất CJ27

Position	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	115.89	CH ₂	5.23 s/5.24 s	
2	144.34	CH	5.94 dd (11.0, 17.5)	
3	81.54	C	-	
4	42.67	CH ₂	1.63	2, 3
5	23.56	CH ₂	2.07 m	
6	125.86	CH	5.21	

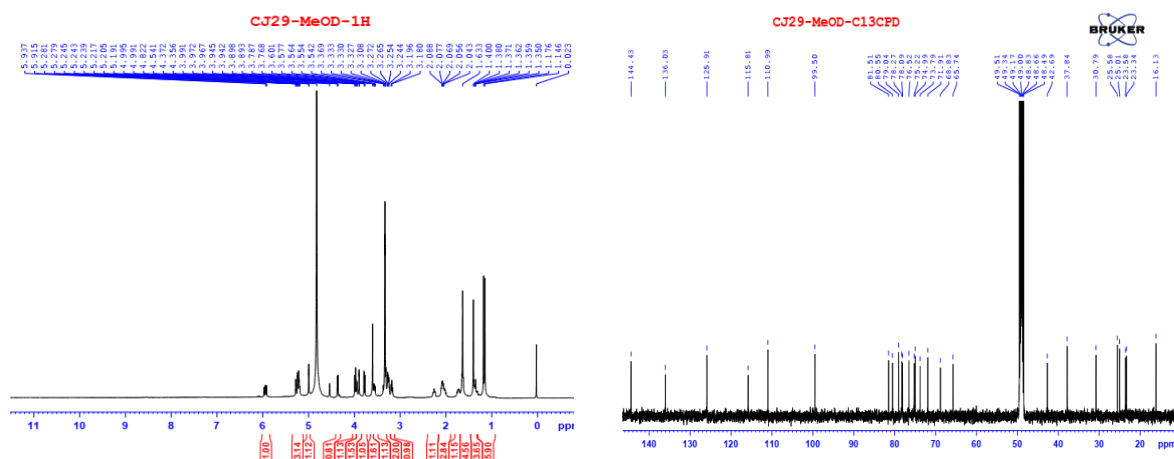
7	136.04	C	-	
8	37.82	CH ₂	2.02/2.25	
9	30.77	CH ₂	1.36 m/1.72 m	
10	79.00	CH	3.25 dd (1.5, 10.5)	
11	74.03	C	-	
12	25.01	CH ₃	1.15 s	
13	25.56	CH ₃	1.17 s	
14	16.12	CH ₃	1.63 s	
15	23.30	CH ₃	1.40 s	
1'	99.53	CH	4.38 d (8.0)	3
2'	75.15	CH	3.19 t (8.5)	1', 3'
3'	78.06	CH	3.33	
4'	71.64	CH	3.36	
5'	76.35	CH	3.36	
6'	69.37	CH ₂	3.71 dd (3.5, 10.0) 4.04 d (10.0)	1'', 4', 5'
1''	104.82	CH	4.33 d (6.5)	6'
2''	72.27	CH	3.62 dd (6.5, 8.5)	
3''	73.77	CH	3.56	
4''	69.21	CH	3.83 br s	
5''	66.29	CH ₂	3.55/3.87	3'', 4''

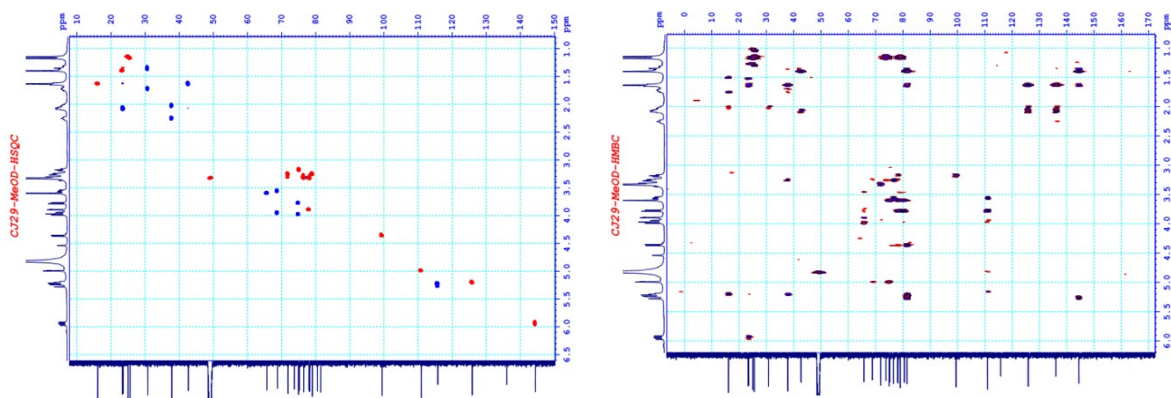
^a đo trong methanol-d₄, ^b125MHz, ^c500MHz



Hình 32b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ27

3.2.1.3.2.12. Hợp chất CJ29: Codojavanoside B (chất mới)





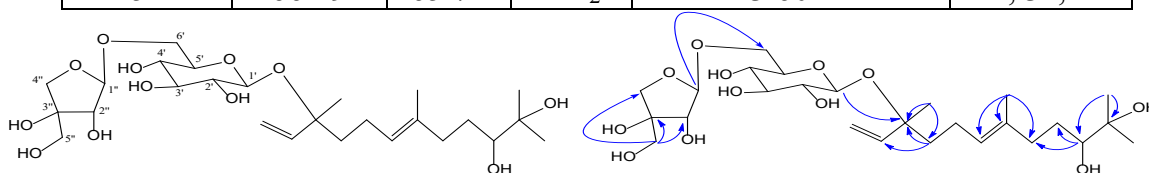
Hình 33a. Phổ NMR của hợp chất CJ29

Hợp chất CJ29 thu được dưới dạng dầu, phần aglycon của CJ29 là hoàn toàn tương tự CJ27 với chuỗi mạch dài gồm 15 nguyên tử cacbon trong đó có một nối đôi đầu mạch ($\text{CH}_2=\text{CH}-$), một nối đôi giữa mạch thế ba vị trí ($>\text{C}=\text{CH}=\text{}$) và hai nhóm thế hydroxyl trong phân tử. Sự khác biệt giữa CJ29 so với CJ27 là ở chuỗi đơn vị đường, nếu như ở CJ27 là chuỗi 3-O- $[\alpha\text{-arabinopyranosyl-(1}\rightarrow\text{6)-}\beta\text{-glucopyranoside}$ thì ở CJ29 là chuỗi 3-O- $[\alpha\text{-apiofuranosyl-(1}\rightarrow\text{6)-}\beta\text{-glucopyranoside}$ với độ chuyển dịch hóa học của chuỗi đường này tương ứng tại $[\delta_{\text{C}} 99.50 (\text{C-1}'), 75.22 (\text{C-2}'), 78.27 (\text{C-3}'), 71.91 (\text{C-4}'), 76.52 (\text{C-5}'), 68.83 (\text{C-6}')/\delta_{\text{H}} 4.36 (1\text{H, d, } J = 7.0 \text{ Hz, H-1}') \text{ và } \delta_{\text{C}} 110.99 (\text{C-1}''), 78.09 (\text{C-2}''), 80.55 (\text{C-3}''), 74.99 (\text{C-4}''), 65.74 (\text{C-5}'')/\delta_{\text{H}} 4.99 (1\text{H, d, } J = 2.0 \text{ Hz, H-1}'')]$. Kết hợp với phổ HSQC và các tương tác trên phổ HMBC cho phép xác định cấu trúc hóa học của hợp chất CJ29 như hình 33b. Đây là hợp chất mới và đặt tên là Codojavanoside B.

Bảng 3.2.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ29 và chất so sánh

Position	CJ27	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	115.89	115.81	CH_2	5.24 br s/5.28 br s	
2	144.34	143.43	CH	5.94 dd (6.0, 18.0)	
3	81.54	81.51	C	-	
4	42.67	42.69	CH_2	1.63	2, 3
5	23.56	23.58	CH_2	2.05 m	
6	125.86	125.91	CH	5.20	
7	136.04	136.03	C	-	
8	37.82	37.84	CH_2	2.01/2.24	
9	30.77	30.79	CH_2	1.33/1.73	
10	79.00	79.04	CH	3.25	
11	74.03	74.79	C	-	
12	25.01	25.10	CH_3	1.15 s	
13	25.56	25.58	CH_3	1.18 s	
14	16.15	16.13	CH_3	1.63 s	
15	23.30	23.24	CH_3	1.40 s	

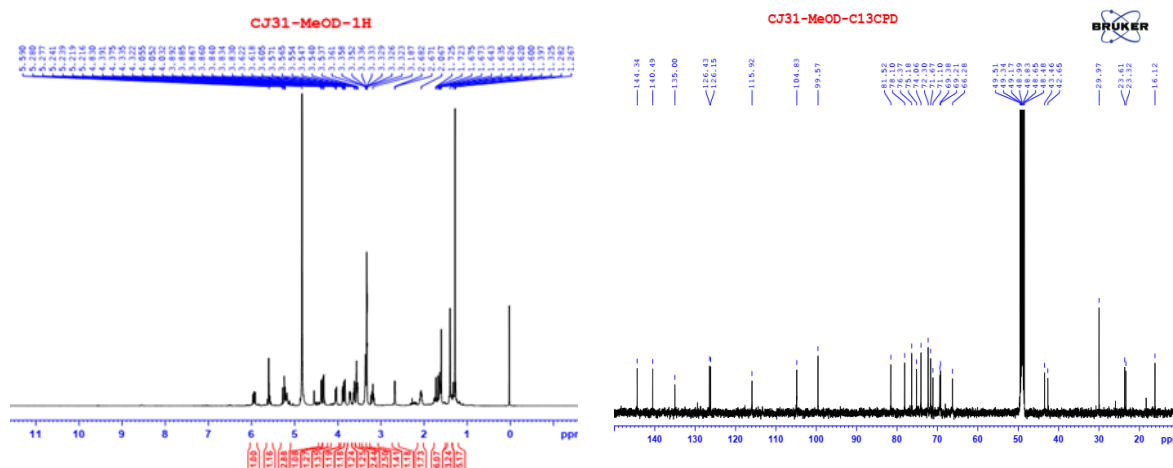
1'	99.53	99.50	CH	4.36 d (7.0)	3
2'	75.15	75.22	CH	3.18 t (8.0)	
3'	78.06	78.27	CH	3.33	
4'	71.64	71.91	CH	3.25	
5'	76.35	76.52	CH	3.30	
6'	69.37	68.83	CH ₂	3.55/3.97	
1''	104.82	110.99	CH	4.99 d (2.0)	6'
2''	72.27	78.09	CH	3.89 d (2.5)	
3''	73.77	80.55	C	-	
4''	69.21	74.99	CH ₂	3.77 d (9.0)/3.96	
5''	66.29	65.74	CH ₂	3.60 s	2'', 3'', 4''



Hình 33b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ29

3.2.1.3.2.13. Hợp chất CJ31: Codojavanoside C (chất mới)

Hợp chất CJ31 thu được dưới dạng dầu, cấu trúc của CJ31 cũng bao gồm một mạch dài với 15 nguyên tử cacbon và chuỗi hai đơn vị đường tương tự như CJ27 và CJ29. Chuỗi đường của CJ31 là tương tự như CJ27 và có dạng 3-O-[α -arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranoside. Tuy nhiên, phần aglycon có sự khác biệt đôi chút khi CJ31 xuất hiện thêm một nối đôi thế hai vị trí (-CH=CH-) tại C-9/C-10 cùng với hai nối đôi nữa (-CH₂=CH-) tại C-1/C-2 và (-CH=C<) tại C-6/C-7 tương tự như CJ27 và CJ29.



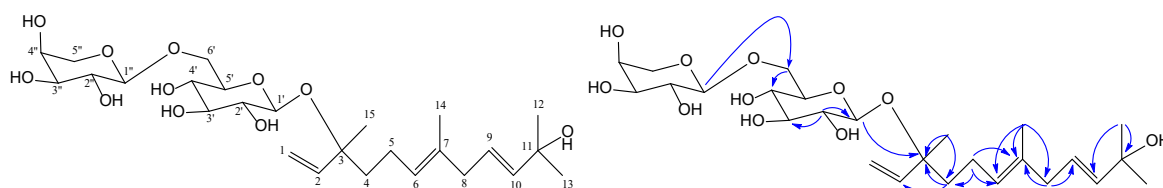
Hình 34a. Phổ NMR của hợp chất CJ31

Như vậy hợp chất CJ31 có cấu trúc như hình 34b và là chất mới được đặt tên là Codojavanoside C.

Bảng 3.2.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ31

Position	CJ27	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	115.89	115.92	CH ₂	5.24 d (1.5)/5.27 d (1.5)	
2	144.34	144.34	CH	5.93 dd (11.0, 18.0)	
3	81.54	81.52	C	-	
4	42.67	42.65	CH ₂	1.60	2, 3
5	23.56	23.61	CH ₂	2.07 m	
6	125.86	126.43	CH	5.60	
7	136.04	135.00	C	-	
8	37.82	43.46	CH ₂	2.67 d (5.5)	
9	30.77	126.15	CH	5.60	
10	79.00	140.49	CH	5.60	
11	74.03	71.06	C	-	
12	25.01	29.97	CH ₃	1.28 s	
13	25.56	29.97	CH ₃	1.28 s	
14	16.12	16.12	CH ₃	1.60 s	
15	23.30	23.32	CH ₃	1.40 s	
1'	99.53	99.57	CH	4.38 d (8.0)	3
2'	75.15	75.18	CH	3.19 t (8.5)	
3'	78.06	78.10	CH	3.33	
4'	71.64	71.67	CH	3.35	
5'	76.35	76.37	CH	3.35	
6'	69.37	69.38	CH ₂	3.72/4.05	
1''	104.82	104.83	CH	4.32 d (6.5)	6'
2''	72.27	72.30	CH	3.62 dd (6.5, 8.5)	
3''	73.77	74.35	CH	3.55	
4''	69.21	69.21	CH	3.83	
5''	66.29	66.28	CH ₂	3.55/3.87 dd (3.5, 12.5)	

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz

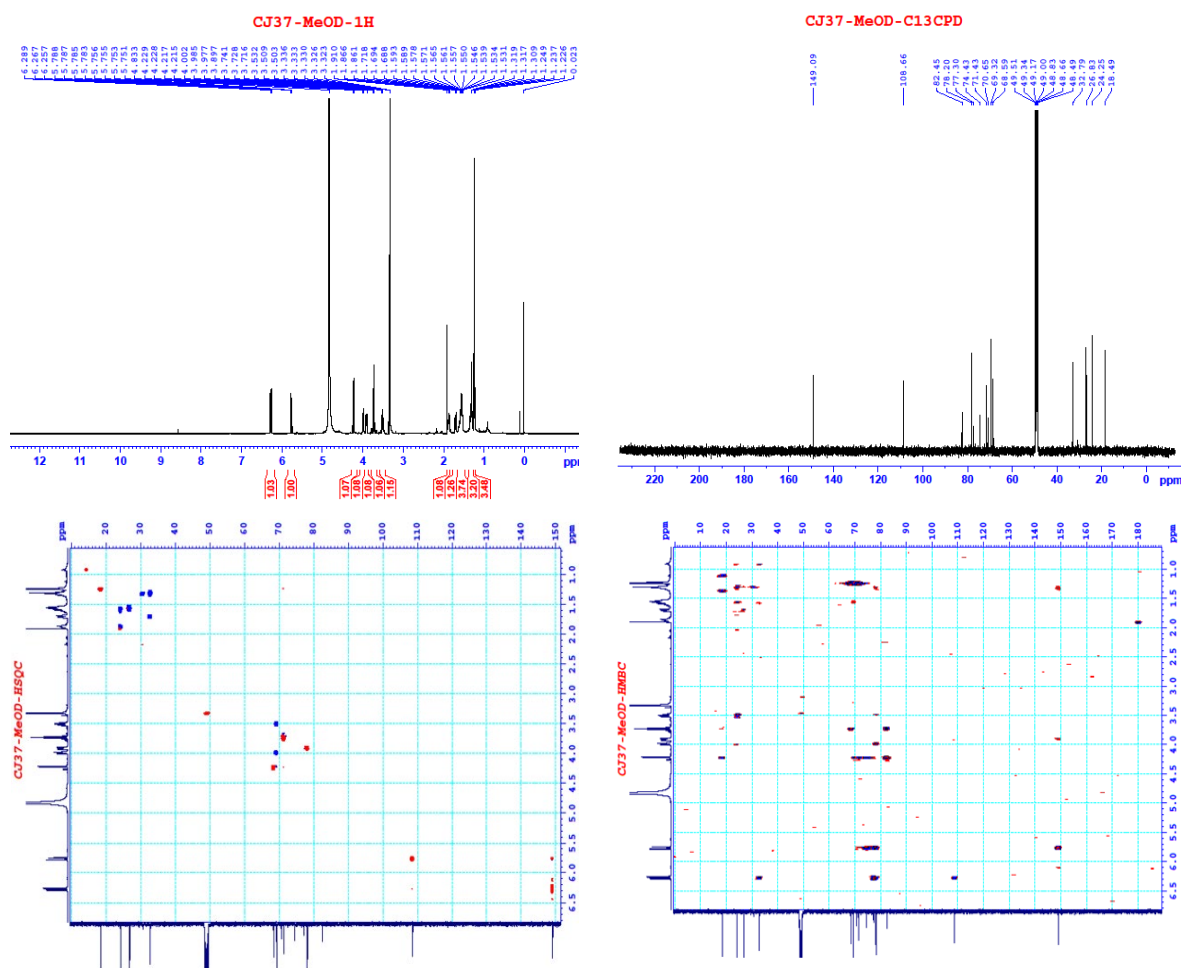


Hình 34c. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất CJ31

3.2.1.3.2.14. Hợp chất CJ37: Codojavanyol (chất mới)

Hợp chất CJ37 được tách dưới dạng gum không màu. Công thức phân tử được xác định là C₁₄H₁₈O₃ dựa trên ion [M+Na]⁺ at m/z 257.1153 (tính toán được C₁₄H₁₈O₃Na⁺, 257.1148) trên phổ HRESITOFMS (hình PL3.2.28a). Phổ ¹H NMR xuất hiện các tín hiệu của nối đôi dạng *trans* tại δ_H 5.78 (br d, $J = 16.0$ Hz, H-8) và 6.27 (dd, $J = 5.0, 16.0$ Hz, H-9), 1 nhóm methyl bậc 2 tại δ_H 1.24 (d, $J = 6.0$ Hz, H₃-1). Phân tích phổ ¹³C

NMR và HSQC cho thấy CJ37 có 14 cacbon bao gồm 4 cacbon tại δ_C 82.5 (C-4), 70.7 (C-5), 74.4 (C-6), 77.3 (C-7); 2 cacbon của nối đôi ở δ_C 108.7 (C-8) và 149.1 (C-9); 3 cacbon oxymetin tại δ_C 71.4 (C-2), 68.6 (C-3), 78.2 (C-2'); 1 cacbon oxymetylen ở δ_C 69.3 (C-6'); 3 cacbon metylen tại δ_C 32.8 (C-3'), 24.3 (C-4'), 26.8 (C-5'); và 1 cacbon metyl ở δ_C 18.5 (C-1). Các dữ kiện trên cho thấy hợp chất CJ37 có khung C_{14} polyyn [50, 83, 112]. Quan sát trên phổ COSY cho thấy 2 mảnh cấu trúc từ CH-1 đến CH-3 và CH-8 đến CH₂-6'. Trên phổ HMBC, tương tác của proton H₂-6' với C-2' cho thấy sự hiện diện của vòng tetrahydro-2*H*-pyran trong cấu trúc của CJ37. Hơn nữa, các tương tác của H-3 với C-4/C-5 và H-8 với C-7/C-9 xác nhận mảnh diyn liên hợp từ C-4 đến C-7 giữa CH-3 và CH-8. Cấu hình *threo* của nhóm vicinal diol ở C-2 và C-3 do hằng số ghép đôi lớn ($J = 6.5$ Hz) giữa H-2 và H-3 [69, 83, 117]. Do đó cấu trúc của CJ37 được xác định là (8*E*)-9-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)nona-8-en-4,6-diyne-2,3-diol, đây là hợp chất mới và được đặt tên là Codojavanyol.

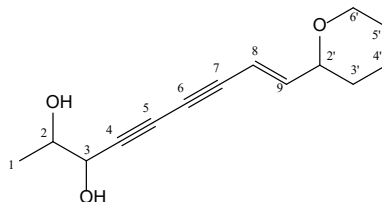


Hình 35a. Phổ NMR của hợp chất CJ37

Bảng 3.2.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ37

Position	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	18.49	CH ₃	1.24 d (6.0)	2, 3
2	71.43	CH	3.73 quintet (6.5)	3, 4
3	68.59	CH	4.22 dd (1.0, 6.5)	4, 5
4	82.45	C		
5	70.65	C		
6	74.43	C		
7	77.30	C		
8	108.66	CH	5.78 br d (16.0)	6, 7, 2'
9	149.09	CH	6.27 dd (5.0, 16.0)	7, 3'
2'	78.20	CH ₂	3.91 m	
3'	32.79	CH ₂	1.31 m/1.70 m	
4'	24.25	CH ₂	1.58 m/1.87 m	
5'	26.83	CH ₂	1.56 m	
6'	69.32	CH ₂	3.50 m/4.00 m	2', 4'

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz



Hình 35b. Cấu trúc hóa học của hợp chất CJ37

Từ rễ củ sâm cau đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 16 hợp chất, trong đó có 05 hợp chất mới: Syringin (CJ1), Corchoionoside C (CJ2), Tangshenoside II (CJ3), Benzyl- α -L-arabinopyranosyl (1-6)- β -D-glucopyranoside (CJ6.1), Codobenzylside (CJ6.2, chất mới), Tryptophan (CJ9), Tangshenoside I (CJ10), Tangshenoside V (CJ12), Lobetyolin (CJ19), Tangshenoside VI (CJ20), (R)-oct-1-en-3-yl O- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (CJ25), Codojavanoside A (CJ27, chất mới), Codojavanoside B (CJ29, chất mới), Codojavanoside C (CJ31, chất mới), Lobetyol (CJ33), Codojavanyol (CJ37, chất mới). Đã chọn 2 hợp chất có hàm lượng cao là Tangshenoside I (CJ10) và Tangshenoside VI (CJ20) để nghiên cứu xây dựng các phương pháp phân tích nhằm đánh giá sự biến động hàm lượng hoạt chất theo thời gian phát triển của rễ củ đảng sâm.

3.2.1.4. Nghiên cứu hóa học rễ đương quy – *Angelica sinensis* và *Angelica acutiloba*

Đề tài đã tiến hành nghiên cứu cả 2 loài đương quy hiện đang phát triển ở Tây Nguyên, bao gồm: Đương quy Trung Quốc (*Angelica sinensis*) và Đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba*).

3.2.1.4.1. Phân lập các hợp chất từ rễ đương quy

3.2.1.4.1.1. Phân lập các hợp chất từ rễ đương quy Trung Quốc (*Angelica sinensis*)

Rễ đương quy Trung Quốc được sấy khô, nghiền nhỏ và chiết với 3 lần với methanol ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết thu được loại bỏ bớt dung môi dưới áp suất giảm trên thiết bị cô quay chân không thu được 381,2 g cặn chiết (ASM). Cặn này được hòa thêm nước cất và chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane, chloroform và ethyl acetate thu được các cặn chiết tương ứng: *n*-hexane (ASH 13,6 g), chloroform (ASC 4,3 g), ethyl acetate (ASE 2,9 g) và lớp nước (ASW 360,4 g).

Từ cặn *n*-hexane (13,6 g) cho qua cột silica gel giải hấp bằng hệ dung môi H/E gradient nồng độ (100:1-1:100 v/v) cho 7 phân đoạn từ H1→H7. Phân đoạn H1 (4,3 g) được nạp qua cột silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient nồng độ H/E (100:1-1:100 v/v) thu được 5 phân đoạn từ H1A→H1E. Phân đoạn H1C (2,2 g) tiếp tục cho qua cột silica gel với hệ dung môi giải hấp H/D (5:1 v/v) thu được 7 phân đoạn từ H1C1→H1C7. Sử dụng cột silica gel giải hấp bằng hệ dung môi H/E (5:1 v/v) đối với phân đoạn H1C3 (310 mg) cho 13 phân đoạn từ H1C3A→H1C3M. Sau đó, phân đoạn H1C3A (94 mg) được nạp tiếp qua cột silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/D/A (2:1:0,1 v/v/v) thu được hợp chất **AS9** (14 mg). Sử dụng cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH/H₂O (50%-100% MeOH v/v) cho phân đoạn H1C3D (45 mg) thu được chất **AS10** (25 mg). Phân đoạn H1C3B (264 mg) được nạp qua cột silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/D (2:1 v/v) thu được 45 phân đoạn từ H1C3B1→H1C3B45. Phân đoạn H1C3B45 (125 mg) tiếp tục cho qua cột pha đảo RP-18 dùng dung môi MeOH 100% thu được 5 phân đoạn từ H1C3B45a→H1C3B45e. Sử dụng cột silica gel cùng hệ dung môi giải hấp H/D/A (1:1:0,1 v/v/v) đối với phân đoạn H1C3B45b (81 mg) thu được chất **AS11** (34 mg). Phân đoạn H1C3M (254 mg) cho qua cột silica gel dùng hệ dung môi giải hấp D/A (10:1 v/v) ta được 11 phân đoạn từ H1C3M1→

H1C3M11. Từ phân đoạn H1C3M10 (28 mg) sử dụng cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH/H₂O (50%-100% MeOH v/v) thu được 4 phân đoạn từ H1C3M10a → H1C3M10d. Phân đoạn H1C3M10d (18 mg) tinh chế thêm một lần nữa bằng cách tiếp tục nạp qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 dùng hệ dung môi MeOH/H₂O (50%-100% MeOH v/v) thu được chất **AS7** (9 mg). Phân đoạn H3 (1,4 g) cho qua cột silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E (10:1 v/v) thu được 5 phân đoạn từ H3A→H3E. Phân đoạn H3B (784 mg) nạp qua cột silica gel sử dụng hệ dung môi giải hấp H/E (20:1 v/v) cho 6 phân đoạn từ H3B1→ H3B6. Phân đoạn H3B5 (236 mg) tiến hành lọc, rửa tủa bằng methanol, ly tâm thu được chất **AS1** (20 mg). Phân đoạn H3C (105 mg) cũng lọc, rửa tủa bằng methanol và ly tâm thu được chất **AS2** (100 mg). Hợp chất **AS2** sau khi chấm kiểm tra trên sắc ký lớp mỏng, so sánh với β-sitosterol thì thấy hoàn toàn trùng khớp về giá trị R_f. Do đó, chúng tôi xác nhận chất **AS2** phân lập được là **β-sitosterol**. Phân đoạn H5 (1,1 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi H/E (8:1 v/v) thu được 7 phân đoạn từ H5A→H5G. Tiếp tục sử dụng cột silica gel với hệ dung môi D/A (8:1 v/v) cho phân đoạn H5E (20 mg) thu được chất **AS8** (11 mg).

Từ cặn chloroform (4,3 g) cho qua cột silica gel sử dụng hệ dung môi giải hấp gradient nồng độ C/M (100:1-1:100 v/v) thu được 10 phân đoạn từ C1→C10. Phân đoạn C3 (421 mg) được nạp tiếp qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 dùng hệ dung môi MeOH/H₂O (50% - 100% MeOH v/v) thu được 9 phân đoạn từ C3A→C3I. Phân đoạn C3H (119 mg) tiếp tục cho qua cột pha đảo RP-18 với dung môi MeOH 100% thu được chất **AS12** (7 mg) và **AS13** (5 mg). Phân đoạn C6 (141 mg) cho qua cột silica gel dùng hệ dung môi giải hấp C/M (15:1 v/v) thu được 3 phân đoạn từ C6A→C6C. Phân đoạn C6B (95 mg) được nạp qua cột silica gel sử dụng hệ dung môi D/A (1:2 v/v) thu được 4 phân đoạn từ C6B1→C6B4. Dùng cột silica gel với hệ dung môi giải hấp C/M (15:1 v/v) cho phân đoạn C6B3 (74 mg), sau đó tiến hành lọc, rửa tủa, kết tinh trong MeOH thu được chất **AS4** (18 mg).

Cặn ethyl acetate (2,9 g) được nạp qua cột silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient nồng độ C/M (100:1-1:100 v/v) thu được 7 phân đoạn từ E1→E7. Sử dụng cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 cùng hệ dung môi MeOH/H₂O (10% - 100% MeOH v/v) đối với phân đoạn E2 (263 mg) thu được 3 phân đoạn từ E2A→ E2C. Phân đoạn E2A (174 mg) cho qua cột silica gel dùng hệ dung môi giải hấp C/M (20:1 v/v) thu được 7

phân đoạn từ E2A1→E2A7. Phân đoạn E2A2 (121 mg) tiếp tục nạp qua cột pha đảo RP-18 sử dụng hệ dung môi MeOH/H₂O (50%-100% MeOH v/v) thu được chất **AS5** (90 mg).

3.2.1.4.1.2. Phân lập các hợp chất từ rễ đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba*)

Rễ khô đương quy Nhật Bản (6,5 kg) được nghiền nhỏ và ngâm chiết 3 lần với MeOH (3×10 lít) ở nhiệt độ phòng. Cô loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được 298 g cặn chiết (ACM). Cặn này được hòa thêm nước cất và chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate thu được các cặn chiết tương ứng: *n*-hexane (ACH 45 g), chloroform (ACC 14 g), ethyl acetate (ACE 22 g) và lớp nước (ACW).

Từ cặn ACH (45 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient H/E thu được 10 phân đoạn từ H1→H10. Phân đoạn H2 (3,7 g) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient H/D thu được 7 phân đoạn từ H2A→H2G. Phân đoạn H2G (2,6 g) cho qua cột sắc ký silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/D/A (3:1:0,1) thu được 4 phân đoạn H2G1→H2G4. Phân đoạn H2G4 (712 mg) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E (15:1) thu được 4 phân đoạn H2G4A→H2G4D. Phân đoạn H2G4C (110 mg) chạy tinh chế qua cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi H/E (10:1) thu được hợp chất **AC1** (11 mg). Phân đoạn H2D (392 mg) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E/M (10:1:0,1) thu được 6 phân đoạn H2D1→H2D6. Phân đoạn H2D2 (134 mg) chạy tinh chế qua cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi giải hấp H/E (50:1) thu được hợp chất **AC2** (10mg). Tương tự, phân đoạn H2D5 (135 mg) cho chạy tinh chế qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi H/E (50:1) thu được hợp chất **AC3**. Phân đoạn H5 (5,6 g) tiếp tục chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E (20:1) thu được 8 phân đoạn H5A→H5H. Phân đoạn H5C (2,1 g) cho qua cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi H/E (5:1) thu được 6 phân đoạn H5C1→H5C6. Phân đoạn H5C1 (42 mg) chạy tinh chế qua cột silica gel với hệ hệ dung môi D/A (3:1) thu được 2 hợp chất **AC6** (15 mg) và **AC8** (12 mg). Phân đoạn H5C5 chạy tinh chế qua cột RP-18 hệ dung môi MeOH/H₂O (9:1) thu được hợp chất **AC7** (10 mg). Phân đoạn H9 (979 mg) tiếp tục chạy qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp H/E (7:1) thu được 7 phân

đoạn H9A→H9G. Phân đoạn H9D (168 mg) cho qua cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi H/E (3:1) thu được 6 phân đoạn H9D1→H9D6. Phân đoạn H9D5 (72 mg) chạy tinh chế qua cột silica gel với hệ dung môi D/A (3:1) thu được hợp chất **AC17** (15 mg). Phân đoạn H9F (482 mg) cho qua cột hấp phụ silica gel với hệ dung môi H/E (2:1) thu được 4 phân đoạn H9F1→H9F4. Phân đoạn H9F3 (30 mg) kết tinh trong dung môi EtOAc và hexane thu được hợp chất **AC16** (15 mg).

Từ căn ACC (14 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient C/M thu được 9 phân đoạn từ C1→C9. Phân đoạn C2 (2,2 g) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient C/M thu được 8 phân đoạn từ C2A→C2H. Phân đoạn C2B (619 mg) chạy tiếp tục qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi E/M (6:1) thu được 5 phân đoạn C2B1→C2B5. Phân đoạn C2B5 (125 mg) chạy tinh chế qua cột pha đảo RP-18 hệ dung môi MeOH/H₂O (1:1) thu được 2 hợp chất **AC6** (15 mg) và **AC9** (10 mg). Tương tự, phân đoạn C2B4 (25 mg) chạy tinh chế qua cột pha đảo RP-18 hệ dung môi MeOH/H₂O (1:1) thu được hợp chất **AC10** (10 mg).

Căn ACE (22 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient C/M thu được 6 phân đoạn từ E1→E6. Phân đoạn E5 (10,6 g) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient C/M (7:1) thu được 6 phân đoạn từ E5A→E5F. Phân đoạn E5C (402 mg) chạy qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH/H₂O (9:1), thu được 7 phân đoạn E5C1→E5C7. Phân đoạn E5C1 (155 mg) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient C/M/W (1,5:1:0,1) thu được 2 hợp chất **AC13** (11 mg) và **AC14** (15 mg).

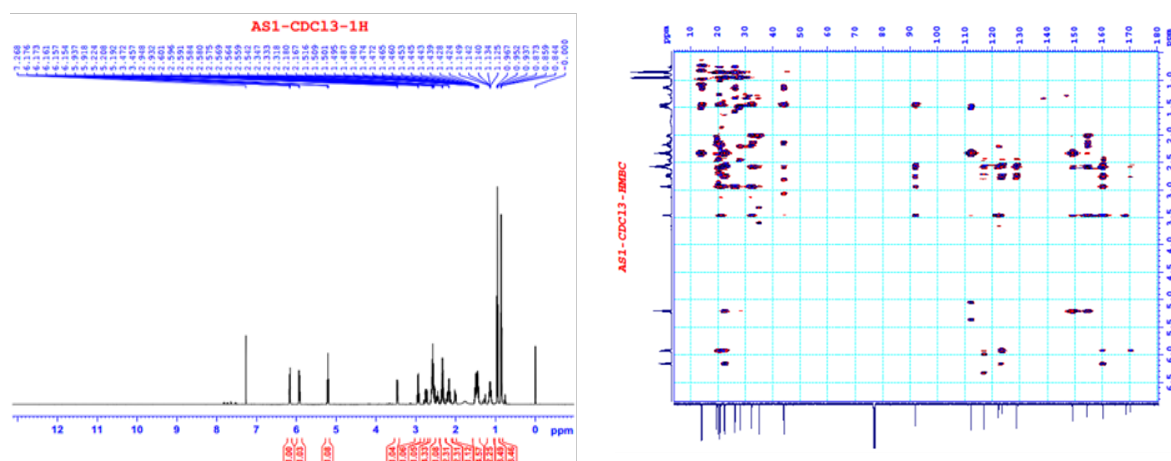
Lớp nước còn lại sau khi chiết phân đoạn được cho qua cột sắc ký Diaion HP-20, giải hấp bằng hệ dung môi MeOH/H₂O (0:1-1:0) thu được 5 phân đoạn W1→W5. Phân đoạn W3 (11,6 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp C/M (3:1) thu được 4 phân đoạn từ W3A→W3D. Phân đoạn W3B (4,6 g) tiếp tục cho qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH/H₂O (9:1) thu được 6 phân đoạn W3B1→W3B6. Phân đoạn W3B5 (305 mg) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp E/M (3/1) thu được 6 phân đoạn W3B5A→W3B5F. Phân đoạn W3B5F (160 mg) chạy tinh chế bằng cột RP-18 với hệ dung môi MeOH/H₂O (1:1), thu được hợp chất **AC4** (10 mg). Phân đoạn W4 (5,5 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp C/M (10/1), thu được 9 phân đoạn W4A→W4I. Phân đoạn W4C (197

g) chạy qua cột sephadex LH-20, hệ dung môi MeOH/H₂O (1:1) thu được hợp chất AC11 (16 mg). Tương tự, phân đoạn W4H (197 g) chạy tinh chế qua cột sephadex LH-20, hệ dung môi MeOH/H₂O (1:1) thu được hợp chất AC12 (10 mg).

3.2.1.4.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ rễ dương quy

3.2.1.4.2.1. Hợp chất AS1: Riligustilide

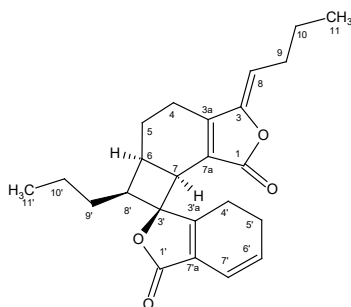
Hợp chất AS1 được phân lập dưới dạng tửa kim, không màu. Phổ khối của hợp chất AS1 xuất hiện tín hiệu tại m/z 761 [M+M+H]⁺ và tín hiệu đặc trưng tại m/z 190,8 [M-190]⁺, vậy khối lượng phân tử của hợp chất AS1 là M= 380 tương ứng với CTPT là C₂₄H₂₈O₄. Phổ ¹H-NMR của hợp chất AS1 xác nhận tín hiệu của proton olefinic tại vị trí δ_H 6,17 (dt, $J = 9,5; 2,0$ Hz), δ_H 5,93 (dt, $J = 9,5; 4,0$ Hz) và tại δ_H 5,21 (t, $J = 8,0$ Hz); tín hiệu của hai nhóm methyl tại vị trí δ_H 0,95 (t, $J = 7,5$ Hz) và δ_H 0,86 (t, $J = 7,5$ Hz); đồng thời xuất hiện tín hiệu tại δ_H 3,46 (d, $J = 7,5$ Hz, H-7), 2,94 (dd, $J = 7,5, 15,5$ Hz) của hai nhóm methin.



Hình 36a. Phổ NMR của hợp chất AS1

Phổ ¹³C NMR kết hợp phổ DEPT xác nhận tín hiệu của 28 cacbon gồm 8 cacbon bậc bốn (trong đó có hai nhóm cacbon carbonyl tại δ_C 170,33 và δ_C 168,54), 6 nhóm methin, 8 nhóm methylen và 2 nhóm methyl cho gợi ý về cấu trúc của hợp chất phthalide dimer. Phổ HMBC xác nhận tín hiệu tương tác proton H-6' với các cacbon C-7' (δ_C 116,93), C-4' (δ_C 19,58), C-7'a (δ_C 123,43), C-3'a (δ_C 160,22), C-1' (δ_C 170,33), proton H-7' tương tác với các vị trí C-5' (δ_C 22,54), C-3'a (δ_C 160,22), C-7'a (δ_C 123,43), proton H-8' tương tác với các vị trí C-9' (δ_C 26,24), C-3' (δ_C 91,97), C-3'a (δ_C 160,22), C-5 (δ_C 20,96), C-6 (δ_C 32,33); đồng thời proton H-7 tương tác với các cacbon lân cận như C-5,

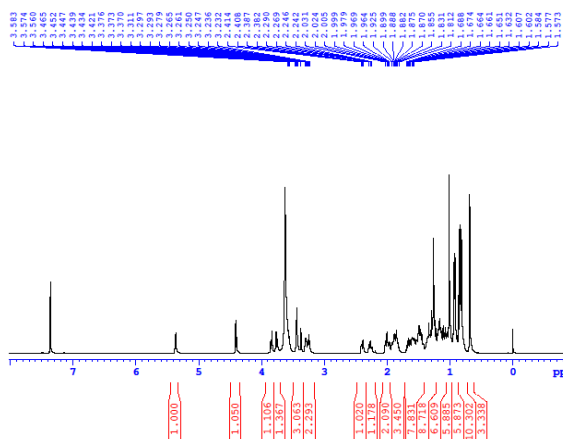
C-6, C-7a còn tương tác với C-3' và C-3'a cho thấy phtalide monomer thứ nhất gắn với phtalide monomer thứ hai tại vị trí nối đôi C-3'=C-8' với nối đôi C-6=C-7. Từ thông tin của các phổ kết hợp so sánh với tài liệu [45] có thể kết luận hợp chất AS1 là Riligustilide.



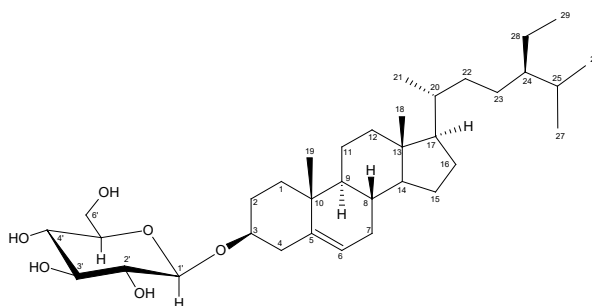
Hình 36b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS1

3.2.1.4.2.2. Hợp chất AS4: Daucosterol

Hợp chất AS4 phân lập ở dạng tinh thể màu trắng, nóng chảy ở nhiệt độ 280-282°C. Phổ khối phân giải cao HR-MS cho peak ion phân tử $[M+H]^+$ ở m/z 577,44684 tương ứng với công thức $[C_{35}H_{60}O_6+H]^+$ với tính toán lý thuyết là 577,44627. Phổ 1H NMR của AS4 cho thấy sự có mặt của hợp chất có khung sterol đặc trưng bởi các tín hiệu của 2 nhóm methyl bậc ba tại δ_H 0,68 (s), δ_H 0,96 (s), 3 nhóm methyl bậc hai tại δ_H 0,91 (d, $J = 6,5$ Hz), δ_H 0,83 (d, $J = 7,3$ Hz), δ_H 0,81 (d, $J = 6,8$ Hz) và 1 nhóm methyl bậc một tại δ_H 0,84 (t, $J = 7,6$ Hz). Trên phổ cũng xác nhận sự có mặt của một proton olefin tại δ_H 5,32 (br s) (C-5/C-6). Sự xuất hiện của một phân tử đường glucosyl cũng được xác định trên phổ 1H -NMR bởi tín hiệu proton anome tại δ_H 4,22 (d, $J = 8,0$ Hz).



Hình 37a. Phổ 1H -NMR của AS4



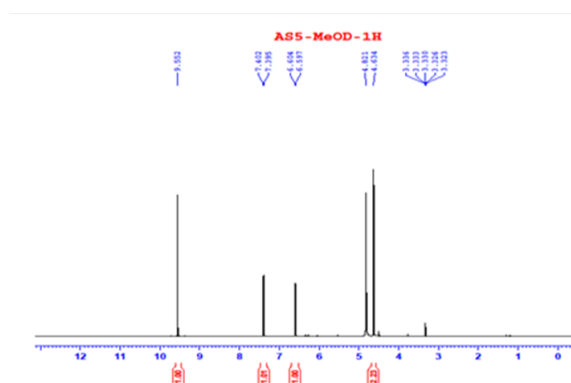
Hình 37b. Cấu trúc của hợp chất AS4

Phổ ^{13}C NMR của AS4 xuất hiện 35 tín hiệu carbon, trong đó 29 tín hiệu được xác định là phụ thuộc vào khung sterol tại và 6 tín hiệu còn lại đặc trưng cho một đường glucose tại δ_C 100,8 (C-1'), δ_C 73,42 (C-2'), 76,67 (C-3'), 70,08 (C-4'), 76,67 (C-5'),

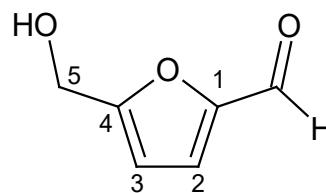
61,07 (C-6'). Từ những dữ kiện phổ kết hợp với so sánh số liệu phổ của daucosterol được công bố trong tài liệu [46] thấy hoàn toàn phù hợp, AS4 xác nhận là daucosterol, một hợp chất xuất hiện khá phổ biến trong các loài thực vật.

3.2.1.4.2.3. Hợp chất AS5: 5-(Hydroxymethyl)furfural

Hợp chất AS5 phân lập dưới dạng dầu màu vàng. Phổ ESI-MS chế độ positive xuất hiện tín hiệu tại m/z 143.8 $[M+H_2O]^+$ nên khối lượng phân tử của hợp chất AS5 là $M = 126$, tương ứng với CTPT $C_6H_6O_3$. Phổ 1H -NMR của hợp chất AS5 xuất hiện tín hiệu của 5 proton trong đó có hai tín hiệu proton trong vùng thơm tại δ_H 7,40 (1H, $J = 3,5$ Hz), δ_H 6,60 (1H, $J = 3,5$ Hz) và tín hiệu của một proton của nhóm aldehyde tại δ_H 9,55 (1H, s). Phổ ^{13}C -NMR xác nhận tín hiệu của 6 carbon gồm 3 nhóm methin (trong đó bao gồm 1 nhóm methin của aldehyde tại δ_C 179,44), 1 nhóm methylen ($\underline{C}H_2-OH$) và 2 carbon bậc bốn ($\underline{C}-OH$).



Hình 38a. Phổ 1H -NMR của AS5

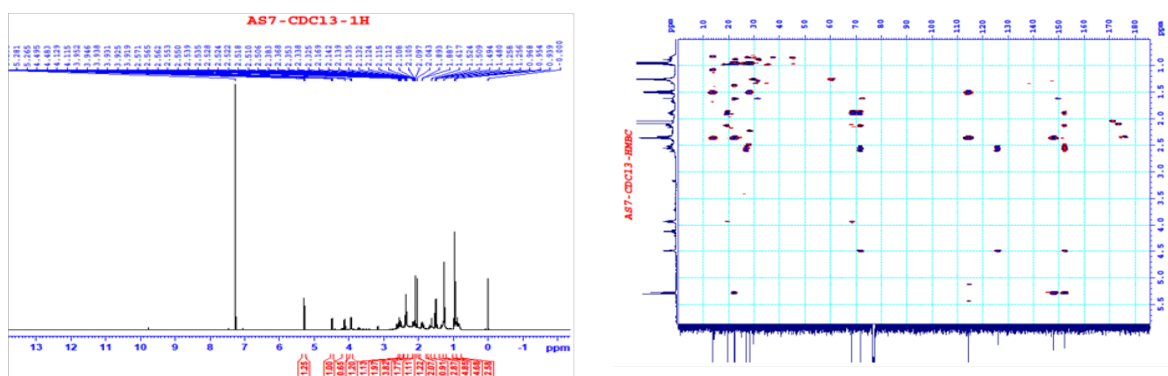


Hình 38b. Cấu trúc hóa học của AS5

Phổ hai chiều HMBC xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton tại δ_H 7,40 (1H, $J = 3,5$ Hz, H-2) gắn vào carbon tại δ_C 124,78 (C-2) trên HSQC và tương tác với các carbon tại δ_C 110,88 (C-3), δ_C 153,87 (C-1), δ_C 163,19 (C-4) trên phổ HMBC; tương tự với proton tại δ_H 6,60 (1H, $J = 3,5$ Hz, H-3) gắn vào carbon tại δ_C 110,88 (C-3) và tương tác với các carbon lân cận δ_C 124,78 (C-2), δ_C 153,87 (C-1), δ_C 163,19 (C-4). Proton của nhóm aldehyde gắn vào carbon tại δ_C 179,44 và tương tác với δ_C 153,87 (C-1). Các thông tin trên cho gợi ý tín hiệu của khung furfural, tín hiệu của một nhóm $\underline{C}H_2-OH$ tại δ_H 4,63 (2H, s, H-5) tương tác với carbon δ_C 163,19 (C-4) và δ_C 110,88 (C-3) điều đó cho thấy nhóm $\underline{C}H_2-OH$ gắn vào khung furfural tại vị trí C-4. Từ thông tin các phổ (bảng PL3.2.4.3) kết hợp so sánh với tài liệu [48], kết luận hợp chất AS5 là 5-(Hydroxymethyl)furfural.

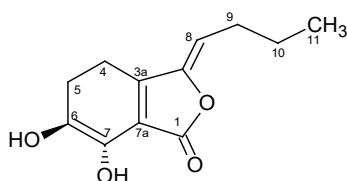
3.2.1.4.2.4. Hợp chất AS7: Senkyunolide I

Hợp chất AS7 được phân lập dưới dạng dầu màu trắng. Phổ hồng ngoại của hợp chất AS7 xuất hiện tín hiệu nhóm OH tại 3421 cm^{-1} và tín hiệu nhóm alkyl tại $2962, 2937, 2874\text{ cm}^{-1}$, nhóm carbonyl của ester tại 1749 cm^{-1} . Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AS7 xuất hiện tín hiệu của một nhóm olefinic tại $\delta_{\text{H}} 5,29$ (1H, t, $J = 8,3\text{ Hz}$); tín hiệu của hai nhóm methin gắn với nhóm hydroxy tại $\delta_{\text{H}} 4,49$ (1H, d, $J = 6,0\text{ Hz}$) và $\delta_{\text{H}} 3,94$ (1H, ddd, $J = 3,0, 7,0, 10,0\text{ Hz}$); tín hiệu của một nhóm butylidene xuất hiện tại [$\delta_{\text{H}} 0,95$ (3H, t, $J = 7,3\text{ Hz}$), $\delta_{\text{H}} 1,50$ (2H, sext, $J = 7,3\text{ Hz}$), $\delta_{\text{H}} 2,36$ (2H, dt, $J = 7,5, 7,5\text{ Hz}$)]. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AS7 xuất hiện tín hiệu của nhóm olefinic tại $\delta_{\text{C}} 114,33$; tín hiệu của hai nhóm oxymethin tại $\delta_{\text{C}} 72,02$ và $\delta_{\text{C}} 68,54$; vùng tín hiệu của nhóm methylen tại $\delta_{\text{C}} 19,4; 22,28; 26,89; 28,1$, tín hiệu của 1 nhóm methyl xác nhận tại $\delta_{\text{C}} 13,76$.



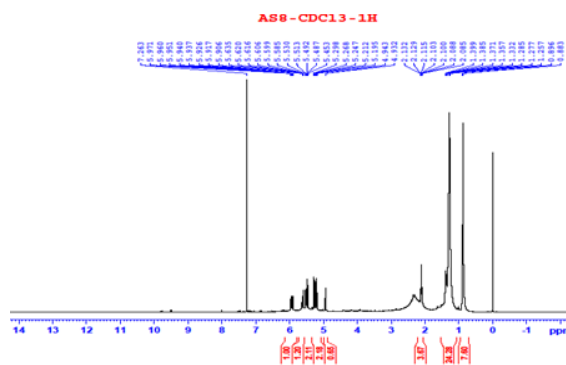
Hình 39a. Phổ NMR của hợp chất AS7

Phổ HMBC xác nhận các tương tác giữa proton tại $\delta_{\text{H}} 5,29$ (1H, t, $J = 8,3\text{ Hz}$, H-8) với các cacbon $\delta_{\text{C}} 147,97$ (C-3a), $\delta_{\text{C}} 152,24$ (C-3), $\delta_{\text{C}} 22,28$ (C-10); tương tác giữa proton $\delta_{\text{H}} 4,49$ (1H, d, $J = 6,0\text{ Hz}$, H-7) với các cacbon $\delta_{\text{C}} 125,93$ (C-7a), $\delta_{\text{C}} 152,24$ (C-3), $\delta_{\text{C}} 72,02$ (C-6); tương tác $\delta_{\text{H}} 3,94$ (1H, ddd, $J = 3,0, 7,0, 10,0\text{ Hz}$, H-6) với các cacbon $\delta_{\text{C}} 72,02$ (C-7), $\delta_{\text{C}} 19,40$ (C-4); tương tác trong nhóm butylidene [$\delta_{\text{H}} 0,95$ (3H, t, $J = 7,3\text{ Hz}$, H-11) với cacbon $\delta_{\text{C}} 28,10$ (C-9), $\delta_{\text{C}} 22,28$ (C-10); $\delta_{\text{H}} 1,50$ (2H, sext, $J = 7,3\text{ Hz}$, H-10) tương tác với $\delta_{\text{C}} 28,10$ (C-9), $\delta_{\text{C}} 13,76$ (C-11)]. Từ số liệu phổ kết hợp so sánh tài liệu tham khảo [106] cho thấy hợp chất AS7 là senkyunolide I.



Hình 39b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS7

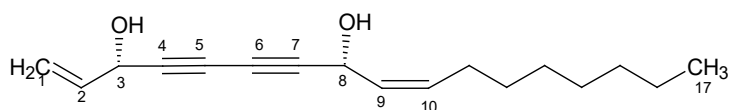
3.2.1.4.2.5. Hợp chất AS8: Falcarindiol



Hình 40a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS8

Hợp chất AS8 phân lập dưới dạng chất dầu màu vàng. Phổ hồng ngoại của hợp chất AS8 xuất hiện tín hiệu nhóm OH tại 3421 cm^{-1} , tín hiệu nhóm alkyl tại 2956 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 2856 cm^{-1} . Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AS8 xuất hiện tín hiệu của một hợp chất allylic alcohol tại $\delta_{\text{H}} 5,94$ (ddd, $J = 5,5; 10,0; 15,5\text{ Hz}$), $\delta_{\text{H}} 5,47$ (d, $J = 17,0\text{ Hz}$); $5,26$ (d, $J = 10,5\text{ Hz}$) và $\delta_{\text{H}} 4,94$ (d, $J = 5,5\text{ Hz}$), hai vinyl proton tại $\delta_{\text{H}} 5,61$ m và $\delta_{\text{H}} 5,52$ (d, $J = 8,5\text{ Hz}$), một nhóm hydroxymethine tại $5,20$ (d, $8,5$), tín hiệu của một nhóm methyl tại $\delta_{\text{H}} 0,88$ (t, $J = 7,0\text{ Hz}$) và vùng tín hiệu của các nhóm methylen nằm trong vùng $\delta_{\text{H}} 1,26\text{-}2,13$.

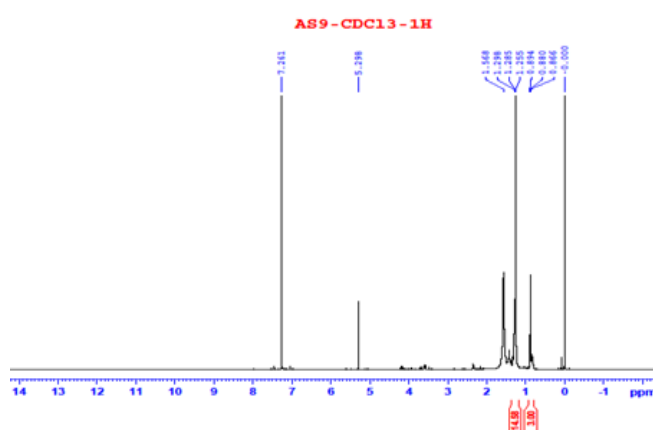
Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ xuất hiện tín hiệu của 17 cacbon trong đó có thể dự đoán sự có mặt của bốn cacbon *sp* tại $\delta_{\text{C}} 78,28, 70,27, 68,69, 79,89$, bốn cacbon vinyl tại $\delta_{\text{C}} 135,83, 117,30, 127,69, 134,67$, hai cacbon CH-OH tại $\delta_{\text{C}} 63,48, 58,60$, một cacbon methyl tại $\delta_{\text{C}} 14,07$ và sáu nhóm methylen tại $\delta_{\text{C}} 27,69, 29,27, 29,15, 29,09, 31,78, 22,63$. Kết hợp so sánh số liệu phổ với tài liệu [47] hợp chất AS8 được xác định là falcarindiol.



Hình 40b. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS8

3.2.1.4.2.6. Hợp chất AS9: n-Hexadecan

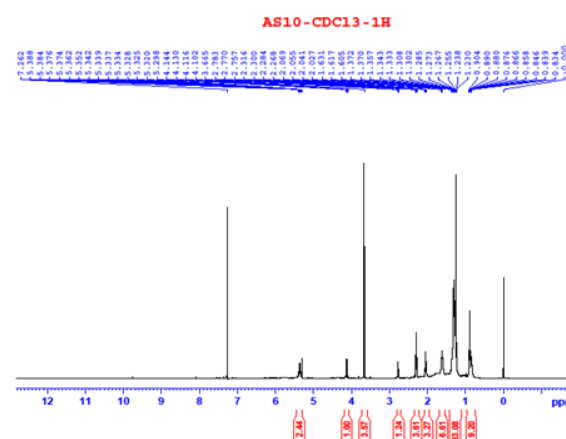
Phổ hồng ngoại của AS9 xuất hiện tín hiệu của nhóm alkyl tại 3019 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 2855 cm^{-1} . Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AS9 xuất hiện tín hiệu 1 nhóm CH_3 và 14 tín hiệu của nhóm CH_2 . Do đó có thể xác định cấu trúc của hợp chất là n-hexadecan với CTPT $\text{C}_{16}\text{H}_{34}$.



Hình 41. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS9

3.2.1.4.2.7. Hợp chất AS10: Methyl linoleate

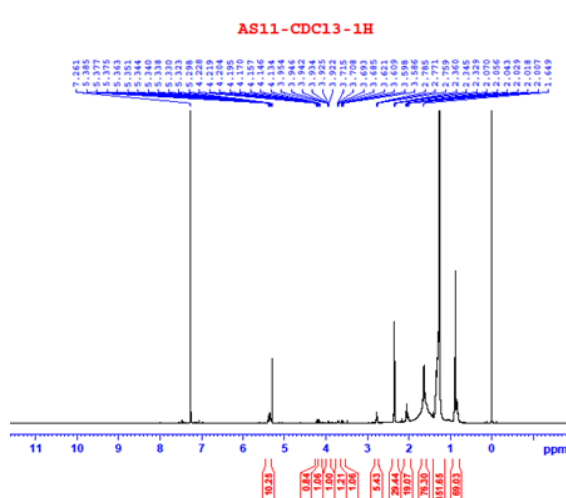
Hợp chất AS10 được phân lập dưới dạng dầu màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AS10 xuất hiện tín hiệu của proton olefinic của acid béo tại δ_{H} 5,30-5,40 (m), δ_{H} 3,67 (s) xác nhận tín hiệu của một nhóm methyl ester, δ_{H} 2,77 (m) tín hiệu của nhóm methylen giữa hai nhóm anken, δ_{H} 2,29 (m) tín hiệu của một nhóm methylen gắn với nhóm carbonyl, δ_{H} 2,05 (m) tín hiệu proton nhóm methylen bên cạnh nối đôi, δ_{H} 1,62 (m) tín hiệu của nhóm methylen vị trí beta với nhóm carbonyl, δ_{H} 1,30 (m) tín hiệu của các nhóm methylen trong mạch của acid béo; tín hiệu của một nhóm CH_3 tại δ_{H} 0,9. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AS10 xuất hiện tín hiệu của một nhóm carbonyl tại δ_{C} 174,31; tín hiệu cacbon của hai nhóm olefinic tại δ_{C} 130,22; 130,05; 128,06; 127,92, tín hiệu của nhóm methyl ester tại δ_{C} 51,41, tín hiệu của các nhóm methylen δ_{C} 22-34. Từ thông tin các phổ có thể kết luận hợp chất AS10 là methyl linoleate.



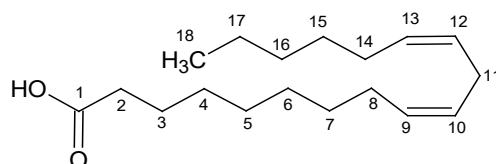
Hình 42. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS10

3.2.1.4.2.8. Hợp chất AS11: Linoleic acid

Hợp chất **AS11** được phân lập dưới dạng sáp màu trắng. Về mặt cấu trúc hợp chất **AS11** có cấu trúc tương tự với hợp chất **AS10**, điểm khác nhau là trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **AS11** không xuất hiện tín hiệu của nhóm methyl của ester tại δ_{H} 3,67 (s), các vùng tín hiệu còn lại tương tự **AS10**, với tín hiệu của proton olefinic của acid béo tại δ_{H} 5,30-5,40 m, δ_{H} 2,77 (t, $J = 7,0$ Hz) tín hiệu nhóm methylen nằm giữa hai nhóm anken, δ_{H} 2,34 (t, $J = 8,0$ Hz) tín hiệu của một nhóm methylen gắn với nhóm carbonyl, δ_{H} 2,04 m tín hiệu của proton nhóm methylen bên cạnh nối đôi, δ_{H} 1,63 (t, $J = 8,0$ Hz) tín hiệu nhóm methylen vị trí beta với nhóm carbonyl, 1,27 m tín hiệu của các nhóm methylen trong mạch của acid béo; 0,88 tín hiệu của nhóm CH_3 . Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **AS11** xuất hiện tín hiệu của một nhóm carbonyl tại δ_{C} 177,66; tín hiệu cacbon của hai nhóm olefinic tại δ_{C} 130,25; 130,05; 128,10; 127,93, tín hiệu của nhóm methyl tại δ_{C} 14,11, tín hiệu của các nhóm methylen δ_{C} 22-34. Từ thông tin phổ kết hợp so sánh tài liệu tham khảo [94] cho thấy hợp chất **AS11** là linoleic acid.



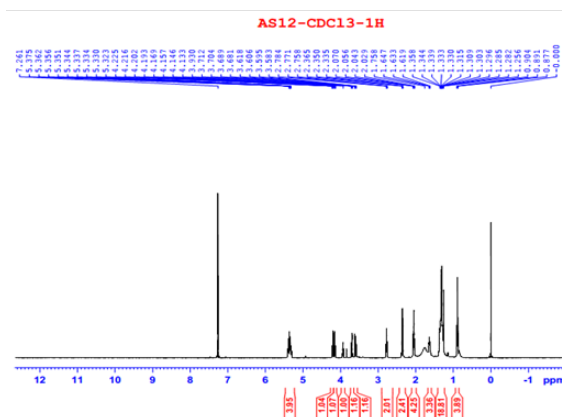
Hình 43a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất **AS11**



Hình 43b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS11**

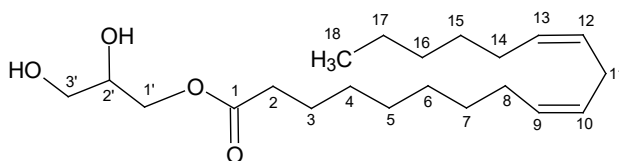
3.2.1.4.2.9. Hợp chất AS12: *Glyceryl monolinoleate*

Hợp chất AS12 được phân lập dưới dạng dầu không màu. Phổ IR của hợp chất AS12 xuất hiện tín hiệu nhóm alkyl tại 2928 cm^{-1} , 2856 cm^{-1} , tín hiệu nhóm carbonyl tại 1740 cm^{-1} , tín hiệu nhóm OH tại 3421 cm^{-1} .

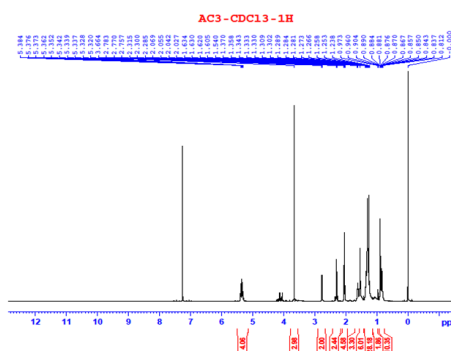


Hình 44a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS12

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất AS12 xuất hiện tín hiệu của proton olefinic của acid béo tại δ_{H} 5,35 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), tín hiệu của một nhóm CH_2 tại δ_{H} 2,77 (t, $J = 7,0$ Hz), tín hiệu của một nhóm CH_2 gắn với nhóm carbonyl δ_{H} 2,35 (t, $J = 8,0$ Hz), tín hiệu của một nhóm CH_2 bên cạnh nối đôi δ_{H} 2,06 m, tín hiệu của nhóm methylen vị trí beta với nhóm carbonyl δ_{H} 1,63 (t, $J = 8,0$ Hz), 1,34-1,28 m tín hiệu của các nhóm methylen trong mạch của acid béo; tín hiệu của nhóm CH_3 xuất hiện tại 0,89 (3H, t, $J = 7,0$ Hz). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất AS12 xuất hiện tín hiệu của một nhóm carbonyl tại δ_{C} 174,30, tín hiệu cacbon của hai nhóm olefinic tại δ_{C} 130,26, 130,03, 128,11, 127,92 tín hiệu của nhóm methyl tại δ_{C} 14.11, tín hiệu của các nhóm methylen δ_{C} 22-34, tín hiệu một nhóm glyceryl xuất hiện tại δ_{C} 70,31, 75,21, 63,36. Phổ HMBC của hợp chất AS12 xác nhận tín hiệu tương tác giữa nhóm glyceryl với mạch acid béo tại H-1' (δ_{H} 4,21 và δ_{H} 4,15) với cacbon C-2' (δ_{C} 63,36), C-3' (δ_{C} 70,31), C-1 (δ_{C} 174,30). Ngoài ra, tương tác của proton H-11 (δ_{H} 2,77 m) với cacbon C-9 (δ_{C} 130,03), C-10 (δ_{C} 128,11) C-12 (δ_{C} 127,92), C-13 (δ_{C} 130,26). Từ thông tin của các phổ (bảng PL3.2.4.8) có thể kết luận hợp chất AS12 là glyceryl monolinoleic.

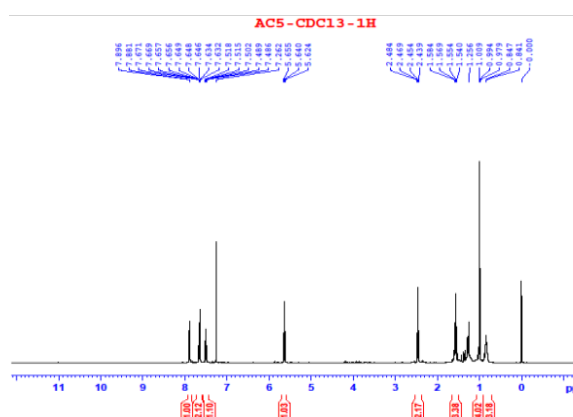


Hình 44b. Cấu trúc của hợp chất AS12

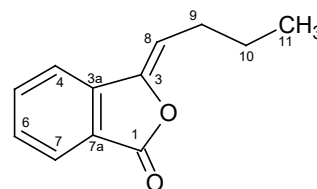


Hình 46. Phổ ^1H NMR của hợp chất AC3

3.2.1.4.2.12. Hợp chất AC5: (Z)-3-butylidenphthalide



Hình 47a. Phổ ^1H NMR của AC5



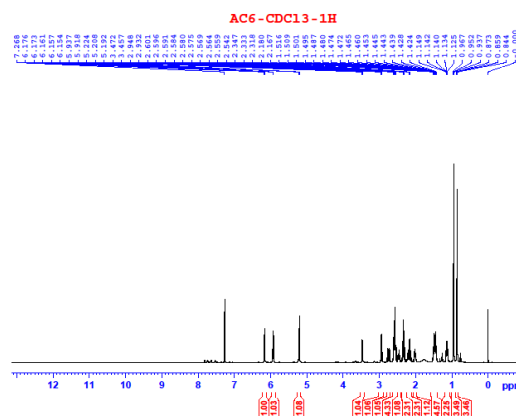
Hình 47b. Cấu trúc của hợp chất AC5

Hợp chất AC5 được phân lập dưới dạng dầu. Phổ ^1H NMR của hợp chất AC5 xuất hiện tín hiệu của 4 proton trong vùng thơm trong vùng δ_{H} 7.5 - 7.9 ppm, tín hiệu của một nhóm butylidene [δ_{H} 0.99 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.56 (2H, q, $J = 7.5$ Hz), 2.46 (2H, dt, $J = 7.5, 7.5$ Hz)] và 1 proton nhóm olefinic tại δ_{H} 5.64 (1H, t, $J = 7.5$ Hz).

Phổ ^{13}C NMR của hợp chất AC5 xuất hiện tín hiệu của 12 cacbon trong đó bao gồm 4 cacbon bậc bốn (1 cacbon carbonyl tại δ_{C} 167.21), 5 cacbon methine, 2 cacbon methylen và 1 cacbon methyl. Sáu cacbon của một vòng thơm được xác nhận tại δ_{C} 119.64, 124.53, 125.28, 129.34, 134.20, 139.63. Tín hiệu của một nhóm butylidene tại δ_{C} 109.45, 27.81, 22.55, 13.81. Số liệu phổ NMR (bảng PL3.2.4.11), kết hợp với dữ liệu công bố [106] có thể kết luận hợp chất AC5 là (Z)-3-butylidenphthalide.

3.2.1.4.2.13. Hợp chất AC6: Riligustilide

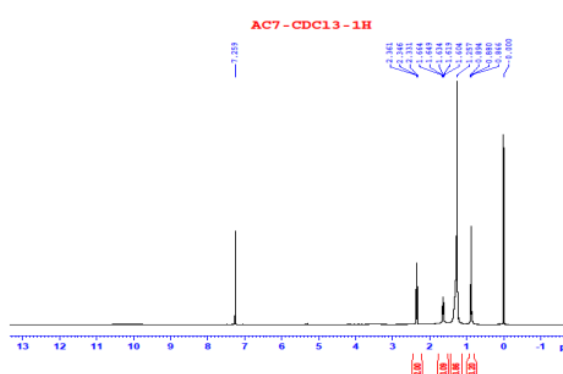
Hợp chất AC6 được phân lập dưới dạng tinh thể không màu. Phổ ^1H -NMR và phổ ^{13}C NMR của hợp chất AC6 xuất hiện các tín hiệu tương tự với các phổ của hợp chất AS1 đã phân tích ở trên nên hợp chất AC6 được xác nhận là Riligustilide.



Hình 48. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AC6

3.2.1.4.2.14. Hợp chất AC7: Acid palmitic

Hợp chất AC7 phân lập dưới dạng sáp màu trắng. Phổ $^1\text{H NMR}$ của hợp chất AC7 xuất hiện tín hiệu của một nhóm methylen gắn với nhóm carbonyl tại δ_{H} 2.35 (2H, t, $J = 7.5$ Hz), một nhóm methylen vị trí beta với nhóm carbonyl tại δ_{H} 1.63 (3H, dt, $J = 7.5$, 7.5), tín hiệu của một nhóm methyl đầu mạch tại δ_{H} 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), tín hiệu các nhóm methylen trong mạch acid béo xuất hiện tại δ_{H} 1.26 brs.



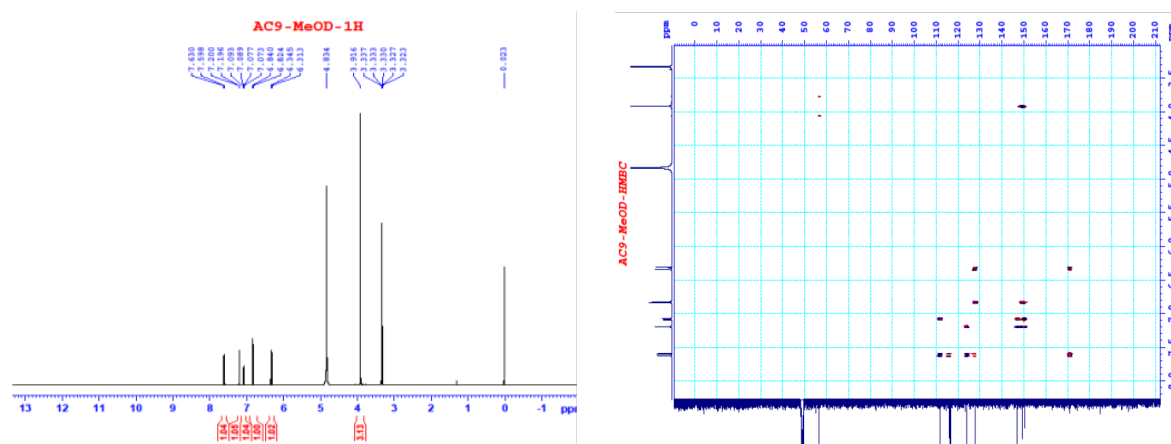
Hình 49a. Phổ $^1\text{H NMR}$ của hợp chất AC7

Phổ $^{13}\text{C NMR}$ kết hợp phổ DEPT của hợp chất AC7 xuất hiện tín hiệu của 1 carbon bậc 4 tại δ_{C} 180.58, các tín hiệu của nhóm methylen nằm trong vùng δ_{C} 22-34, một nhóm methyl đầu mạch xuất hiện tại δ_{C} 14.11. Từ thông tin các phổ (bảng PL3.2.4.13) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo có thể kết luận hợp chất AC7 là acid palmitic với công thức phân tử $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$.

3.2.1.4.2.15. Hợp chất AC9: Acid ferulic

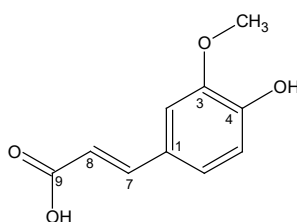
Hợp chất AC9 được phân lập dưới dạng tủa không màu. Phổ $^1\text{H NMR}$ của hợp chất AC9 xuất hiện tín hiệu của 3 proton của một vòng thơm bị thế ba vị trí tại δ_{H} 7.20 (d, $J = 2.0$ Hz), 6.83 (d, $J = 8.0$ Hz), 7.08 (dd, $J = 8.0$, 2.0 Hz); tín hiệu của một nhóm olefinic tại δ_{H} 7.61 (d, $J = 16.0$ Hz) và δ_{H} 6.33 (d, $J = 16.0$ Hz); tín hiệu của một nhóm

methoxy tại δ_H 3.92 (s). Phổ ^{13}C NMR kết hợp phổ HSQC xác nhận tín hiệu của 10 cacbon trong đó bao gồm 4 cacbon bậc bốn (1 cacbon carbonyl tại δ_C 171.03), 5 cacbon methine và 1 cacbon methyl.



Hình 50a. Phổ NMR của hợp chất **AC9**

Phổ HMBC của hợp chất **AC9** xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton H-7/C-1 (δ_C 127.86), C-2 (δ_C 111.80), C-5 (δ_C 116.06), C-6 (δ_C 123.94), C-9 (δ_C 171.03); tương tác giữa proton H-2/C-6 (δ_C 123.94), C-7 (δ_C 146.81), C-4 (δ_C 150.51); tương tác giữa proton H-8/C-1 (δ_C 127.86), C-9 (δ_C 171.03); tương tác giữa proton của nhóm methoxy với cacbon C-3 (δ_C 149.40) cho phép xác định các mảnh cấu trúc của hợp chất **AC9**. Từ thông tin các phổ kết hợp các dữ liệu công bố [115] có thể khẳng định hợp chất **AC9** là acid ferulic.



Hình 50b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AC9**

Từ rễ củ đương quy Trung Quốc (*Angelica sinensis*) đã phân lập và xác định cấu trúc của 10 hợp chất: Riligustilide (AS1), Daucosterol (AS2), 5-(Hydroxymethyl)furfural (AS5), Senkyunolide I (AS7), Falcarindiol (AS8), n-Hexadecan (AS9), Methyl linoleate (AS10), Linoleic acid (AS11), Glyceryl monolinoleate (AS12), Glyceryl monosterate (AS13). Từ rễ củ đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba*) đã phân lập được 15 hợp chất trong đó có nhiều hợp chất tương tự như của loài đương quy Trung Quốc nhưng có thêm 3 hợp chất khác là (Z)-3-butylidenphthalide (AC5), Acid

palmitic (AC7) và *Acid ferulic* (AC9). Đã chọn 2 hợp chất có hàm lượng cao là *Riligustilide* (AS1, AC6) và *5-(Hydroxymethyl)furfural* (AS5, AC14) để nghiên cứu xây dựng các phương pháp phân tích nhằm đánh giá sự biến động hàm lượng hoạt chất theo thời gian phát triển của rễ củ đương quy.

3.2.1.5. Nghiên cứu hóa học hạt sa nhân tím - *Amomum longiligulare*

3.2.1.5.1. Phân lập các hợp chất từ hạt sa nhân tím

Mẫu sau khi thu hái về được rửa sạch, sấy khô dưới nhiệt độ 50°C sau đó xay nhỏ thành bột mịn. Bột khô của mẫu Sa nhân được đem chiết 3 lần với metanol có dùng siêu âm, dịch chiết sau đó được cô quay dưới áp suất giảm thu được cặn chiết metanol (1 kg). Cặn chiết metanol được hòa vào nước, sau đó chiết phân lớp lần lượt với các dung môi là *n*-hexan, diclometan thu được các cặn chiết *n*-hexan (130 g), cặn chiết diclometan (20 g), dịch nước và một phần cặn không tan.

Phân đoạn H và D (20 g) được đưa lên cột sắc ký pha thường chạy gradient với hệ dung môi *n*-hexan:axeton, tăng dần độ phân cực của dung môi, thu được 4 phân đoạn từ D1-D4. Phân đoạn D4 (2 g) được phân tách tiếp bằng cột sắc ký silicagel pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol:nước (1:1) thu được D4A-D4F. Đưa phân đoạn D4D (300 mg) lên cột sắc ký pha thường hệ dung môi *n*-hexan:axeton (2:1) thu được D4D1. Phân tách tiếp phân đoạn này trên cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol:nước (1:1), sau đó sử dụng cột sắc ký sephadex với hệ dung môi metanol:nước (1:1) để tinh chế thu được hợp chất **SN14** (4mg). Phân đoạn D5 (7 g) được đưa lên cột sắc ký pha đảo chạy gradient với hệ dung môi metanol:nước, tăng dần độ phân cực của dung môi, thu được 5 phân đoạn từ D5A-D5E. Phân tách D5A (80 mg) trên cột sắc ký silicagel pha thường hệ dung môi diclometan:metanol:nước (5:1:0,1) thu được phân đoạn D5A1, phân tách tiếp phân đoạn này trên cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol:nước (1:3) thu được hợp chất **SN9** (4 mg). Phân tách D5C (120 mg) trên cột sắc ký silicagel pha thường hệ dung môi diclometan:metanol:nước (4,5:1:0,1) thu được phân đoạn D5C1 và D5C2. Phân tách tiếp D5C1 (15 mg) trên cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol:nước (1:3) thu được hợp chất **SN11** (3 mg).

Phân đoạn nước được đưa lên cột diaion chạy gradient với hệ dung môi 100% nước → metanol:nước/25:75 → metanol:nước/50:50 → metanol:nước/75:25 → 100% metanol thu được phân đoạn từ W1→W3. Phân đoạn W2 (20 g) được đưa lên cột sắc

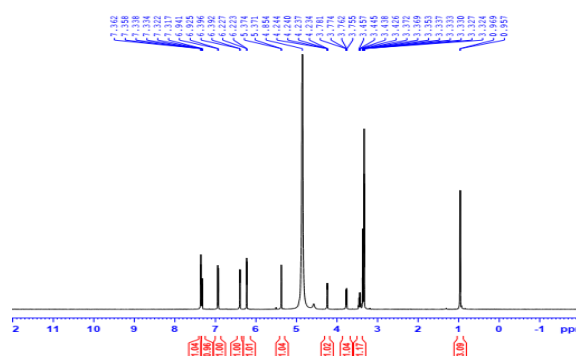
ký pha đảo chạy gradien với hệ dung môi metanol:nước, tăng dần độ phân cực của dung môi, thu được phân đoạn W2A. Phân đoạn W2A (1,7 g) được phân tách tiếp bằng cột sắc ký silicagel pha thường hệ dung môi diclometan:metanol:nước (5:1:0,1) thu được W2A1. Tiếp tục tinh chế phân đoạn này trên cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol:nước (1:1) thu được hợp chất **SN8** (3 mg). Phân đoạn W3 (4,5g) được đưa lên cột sắc ký pha đảo chạy gradien với hệ dung môi metanol:nước, tăng dần độ phân cực của dung môi, thu được phân đoạn W3A và W3B. Phân tách W3A (800 mg) trên cột sắc ký silicagel pha thường hệ dung môi diclometan:metanol:nước (5:1:0,1) thu được 2 phân đoạn W3A1 và W3A2. Phân tách W3A1 (20 mg) trên hệ cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol:nước (1:1) thu được hợp chất **SN3** (3 mg). Phân đoạn W3 (4,5 g) được đưa lên cột sắc ký pha đảo chạy gradien với hệ dung môi metanol:nước, tăng dần độ phân cực của dung môi, thu được phân đoạn W3A và W3B. Phân tách W3B (300 mg) trên cột sắc ký silica gel pha thường hệ dung môi diclometan:metanol:nước (5:1:0,1) thu được 2 phân đoạn W3B1 và W3B2. Phân tách W3B1 (20 mg) trên hệ cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol:nước (1:1) thu được hợp chất **SN15** (5 mg). Phân tách W3B2 (50 mg) trên hệ cột sắc ký pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol:nước (1:1) thu được hợp chất **SN16** (10 mg).

3.2.1.5.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ hạt sa nhân tím

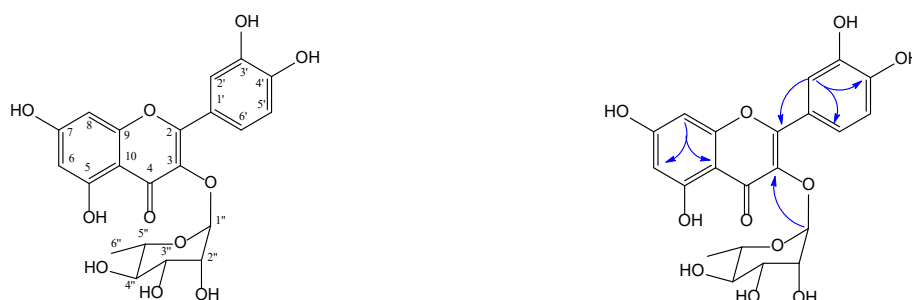
3.2.1.5.2.1. Hợp chất SN3: Quercitrin

Hợp chất SN3 thu được dưới dạng chất bột màu vàng, các phổ NMR của nó đặc trưng cho một hợp chất có khung flavonoid. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$, tại vùng trường trung bình đặc trưng cho tín hiệu của các proton thơm xuất hiện tín hiệu của 5 proton, trong đó có một hệ vòng thơm kiểu ABX được xác định tại δ_{H} 7.35 (1H, d, $J = 2.0$, H-2'), 6.93 (1H, d, $J = 8.0$, H-5'), 7.32 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$, H-6'), hai proton thể dạng *meta* với nhau tại δ_{H} 6.22 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8). Bên cạnh đó phổ ^1H cũng xác định sự có mặt của một đơn vị đường với tín hiệu proton anome tại δ_{H} 5.37 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-1"). Các tín hiệu trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ gợi ý rằng hợp chất SN3 có khung flavonoid và vòng B bị thế kiểu 1,3,4. Điều này được khẳng định bởi các tín hiệu phổ của vòng B tại δ_{C} 122.97 (C-1'), 116.97 (C-2'), 146.43 (C-3'), 149.82 (C-4'),

116.39 (C-5'), 123.00 (C-6'), hai tín hiệu tại δ_C 94.74 và 99.85 rất đặc trưng cho hai vị trí C-8, C-6 của vòng A khi hai vị trí C-5 và C-7 đều bị thế. Ngoài ra sự xuất hiện của một phân tử đường rhamnose cũng được xác định với các tín hiệu rất đặc trưng tại δ_C 103.56 (C-1'')/ δ_H 5.37 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-1''), 71.92 (C-2''), 72.16 (C-3''), 73.29 (C-4''), 72.03 (C-5''), 17.65 (C-6'')/ δ_H 0.96 (3H, $J = 6.0$ Hz, H-6''). Hằng số tương tác J tại proton anome nhỏ ($J = 1.5$ Hz) chứng tỏ cấu hình của phân tử đường là α -L-rhamnose. Từ các dữ kiện trên có thể dự đoán hợp chất SN3 là một flavonoid có cấu trúc vòng B bị thế 1,3,4 và trong phân tử có một đơn vị đường α -L-rhamnose.



Hình 51a. Phổ ^1H NMR của hợp chất SN3



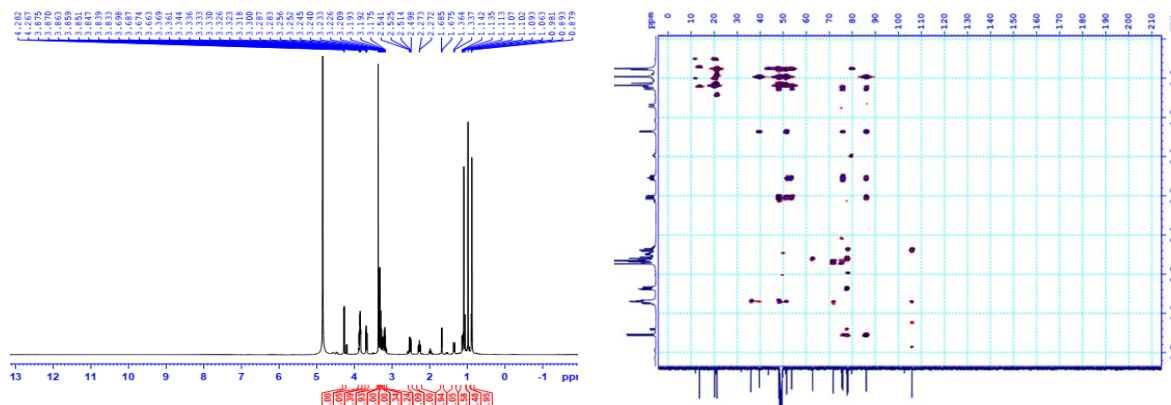
Hình 51b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất SN3

Tương tác HMBC giữa proton anome với C-3 (δ_C 136.25) đã khẳng định vị trí của đơn vị đường tại C-3. Ngoài ra phổ NMR không xuất hiện thêm bất kỳ một nhóm thế nào chứng tỏ các nhóm thế đều là hydroxy. Như vậy hợp chất SN3 được xác định là quecitrin, một hợp chất khá phổ biến trong các loài thực vật.

3.2.1.5.2.2. Hợp chất SN8: (1R,2S,4S,5R)-angelicoidenol 2-O- β -D-glucopyranoside

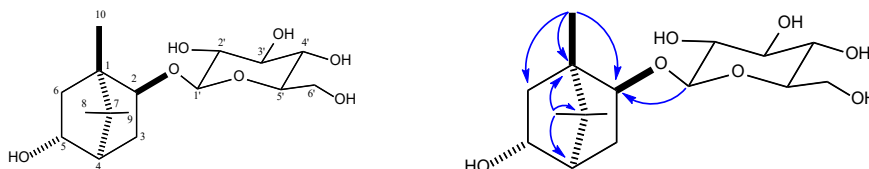
Hợp chất SN8 thu được dưới dạng bột màu trắng, phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của 3 nhóm methyl dạng singlet tại δ_H 1.09 (3H, s, H-8), 0.88 (3H, s, H-9), 0.98 (3H, s, H-10) và tín hiệu của một proton anome tại δ_H 4.27 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) gợi ý sự có mặt

của một đơn vị đường trong phân tử. Phổ ^{13}C NMR cho thấy sự xuất hiện của 16 nguyên tử cacbon, kết hợp với phổ HSQC cho phép xác định phần aglycon có 10 cacbon trong đó có 3 nhóm methyl, hai nhóm methylen, 3 nhóm methin trong đó có 2 nhóm oximethin và một cacbon không mang hydro. Các tín hiệu tại δ_{C} 102.90 (C-1'), 75.09 (C-2'), 78.18 (C-3'), 71.72 (C-4'), 77.84 (C-5'), 62.79 (C-6') là rất đặc trưng cho đơn vị đường glucose, hằng số tương tác của proton anome lớn ($J = 7.5 \text{ Hz}$) chứng tỏ cấu hình của đường có dạng β -glucose. Các tín hiệu phổ NMR gợi ý rằng SN8 là một monoterpenoid glycoside.



Hình 52a. Phổ NMR của hợp chất SN8

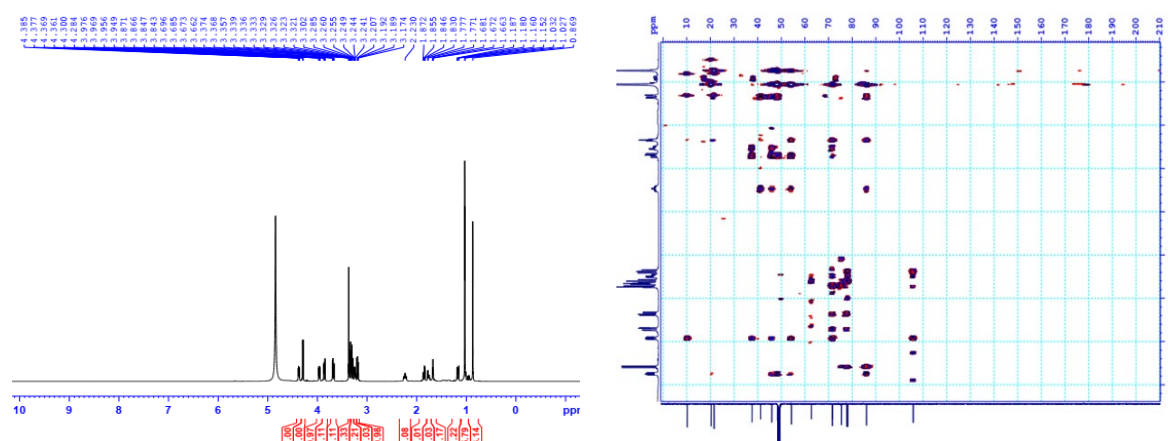
Phổ HMBC cho thấy tương tác giữa H-1' với C-2 (δ_{C} 86.05), ngoài ra các tương tác HMBC khác cho phép xác định vị trí của nhóm hydroxy tại C-5, do vậy cấu trúc phẳng của SN8 được xác định như hình vẽ. So sánh số liệu phổ của SN8 với (+)-Angelicoidenol 2-*O*- β -D-glucopyranoside và (-)-Angelicoidenol 2-*O*- β -D-glucopyranoside [70] cho thấy sự khác biệt giữa hai hợp chất đối quang này là tại C-2 và C-1', trên cơ sở đó hợp chất SN8 có số liệu hoàn toàn phù hợp với (+)-Angelicoidenol 2-*O*- β -D-glucopyranoside do vậy SN8 được xác định là (+)-Angelicoidenol 2-*O*- β -D-glucopyranoside. Hợp chất này cũng đã được phân lập từ chi *Amomum* và còn có tên là (1*R*,2*S*,4*S*,5*R*)-angelicoidenol 2-*O*- β -D-glucopyranoside [71].



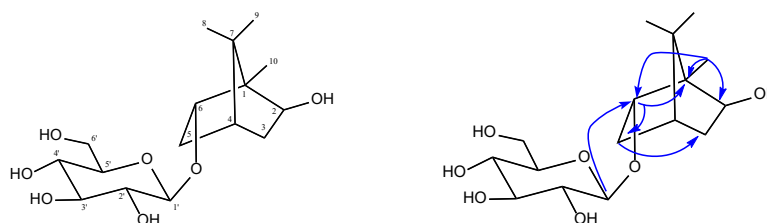
Hình 52b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất SN8

3.2.1.5.2.3. Hợp chất SN9: (1*S*,2*S*,4*R*,6*S*)-bornane-2,6-diol 2-*O*-β-*D*-glucopyranoside

Hợp chất SN9 thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ NMR của hợp chất này cho phép nhận định đây là một hợp chất monoterpeneoid glucoside tương tự như hợp chất SN8. Điểm khác biệt giữa SN9 và SN8 là vị trí của đơn vị đường và nhóm thế hydroxyl trong phân tử. Ở SN8 đơn vị đường đính tại C-2 và nhóm hydroxy đính tại C-5, còn tại SN9 đơn vị đường đính tại C-6 và nhóm hydroxy đính tại C-2 của phần aglycon. So sánh số liệu phổ của SN9 với (1*R*,2*R*,4*S*,6*R*)-bornane-2,6-diol 2-*O*-β-*D*-glucopyranoside và (1*S*,2*S*,4*R*,6*S*)-bornane-2,6-diol 2-*O*-β-*D*-glucopyranoside, cả hai hợp chất này đều được phân lập từ chi *Amomum* [71] cho thấy sự khác biệt giữa hai hợp chất đối quang này là tại C-2, C-3 và C-1' (bảng PL3.2.40), trên cơ sở đó hợp chất SN9 có số liệu hoàn toàn phù hợp với (1*S*,2*S*,4*R*,6*S*)-bornane-2,6-diol 2-*O*-β-*D*-glucopyranoside do vậy hợp chất SN9 được xác định là (1*S*,2*S*,4*R*,6*S*)-bornane-2,6-diol 2-*O*-β-*D*-glucopyranoside.



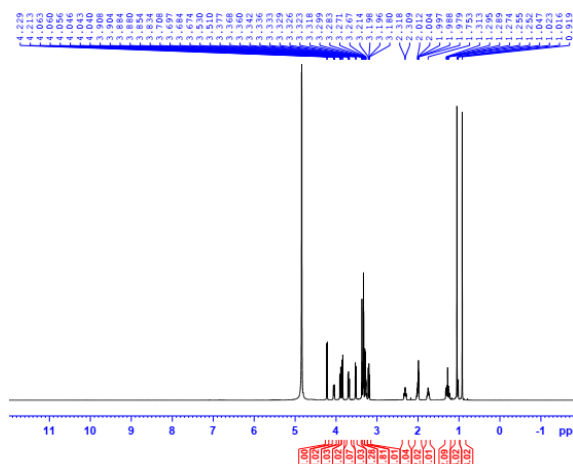
Hình 53a. Phổ NMR của hợp chất SN9



Hình 47b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất SN9

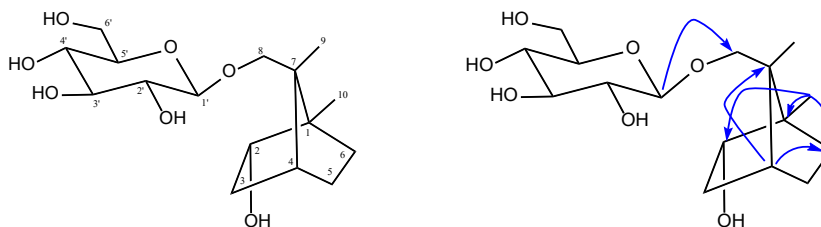
Các tương tác trên phổ HMBC giữa H-1' với C-2 (δ_C 71.73), tương tác giữa H-10 với C-1, C-2, C-6 (δ_C 86.07) phép xác định chắc chắn vị trí của đường tại C-2 và nhóm hydroxy tại C-6. Như vậy cấu trúc hóa học của SN9 được xác định như hình 47b.

3.2.1.5.2.4. Hợp chất SN11: (1R,2S,4R,7S)-vicodiol 9-O-β-D-glucopyranoside



Hình 54a. Phổ ^1H NMR của hợp chất SN11

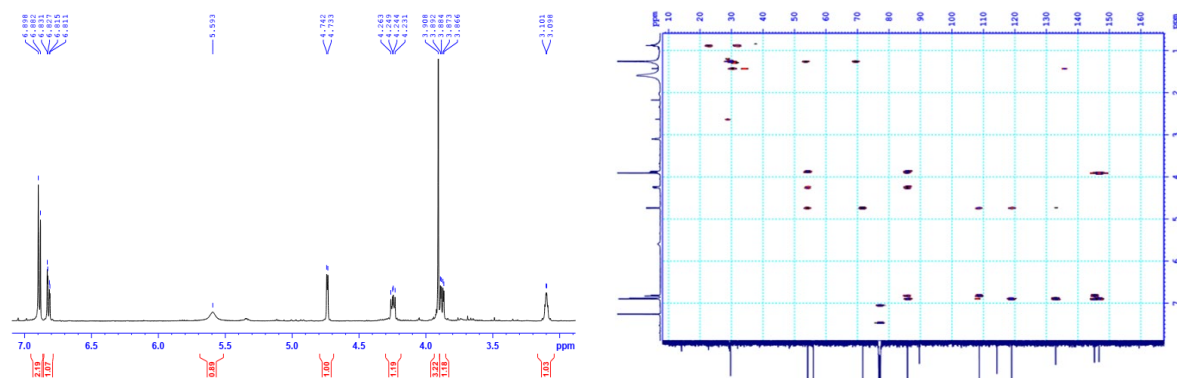
Hợp chất SN11 thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ NMR của hợp chất này cho phép nhận định đây là một hợp chất monoterpene glucoside tương tự như hợp chất SN8, SN9. Tuy nhiên, ở hợp chất SN11 vị trí của đơn vị đường là tại C-9 và nhóm hydroxy đính tại C-2 của phần aglycon. So sánh số liệu phổ của SN11 với (1R,2S,4R,7S)-vicodiol 9-O-β-D-glucopyranoside [71] cho thấy có sự phù hợp hoàn toàn tại các vị trí tương ứng. Do vậy hợp chất SN11 được xác định là (1R,2S,4R,7S)-vicodiol 9-O-β-D-glucopyranoside. Hợp chất này cũng đã được phân lập từ chi *Amomum* [71]



Hình 54b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC của hợp chất SN11

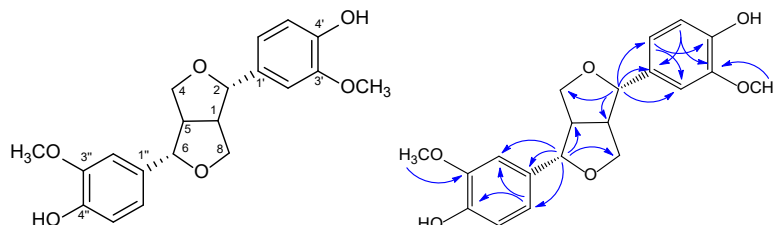
3.2.1.5.2.5. Hợp chất SN14: (+)-pinoresinol

Hợp chất SN14 được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Trên phổ ^1H NMR xuất hiện các tín hiệu proton thơm đặc trưng của 2 hệ tương tác spin ABX đối xứng nhau [δ 6,90 (2H, br s, H-2' và H-2''), 6,88 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5' và H-5''), và 6,81 (2H, d, $J = 2,0, 8,0$ Hz, H-6' và H-6'')] và tín hiệu của 2 nhóm metoxy đối xứng nhau tại 3,91 (6H, s, 5', 5''-OCH₃).



Hình 55a. Phổ NMR của hợp chất SN14

Phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC cho thấy sự xuất hiện của 10 cặp cacbon đối xứng nhau, trong đó có tín hiệu của 2 vòng benzene thế 1,3,4, cùng với tín hiệu của một cặp oxymetylen tại δ 71,70 (C-4 và C-8), một cặp oxymetin tại δ 85,90 (C-2 và C-6), và một cặp metin tại δ 54,20 (C-1 và C-5). Các số liệu này gợi ý hợp chất SN14 thuộc lớp chất lignan. Tiến hành so sánh các số liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của SN14 với hợp chất lignan đã biết là (+)-pinoresinol thấy trùng khớp hoàn toàn [104]. Ngoài ra, cấu trúc của hợp chất này cũng được khẳng định thêm thông qua các tương tác trên phổ HMBC. Như vậy, hợp chất SN14 được xác định là (+)-pinoresinol - một hợp chất lignan rất phổ biến trong thực vật.

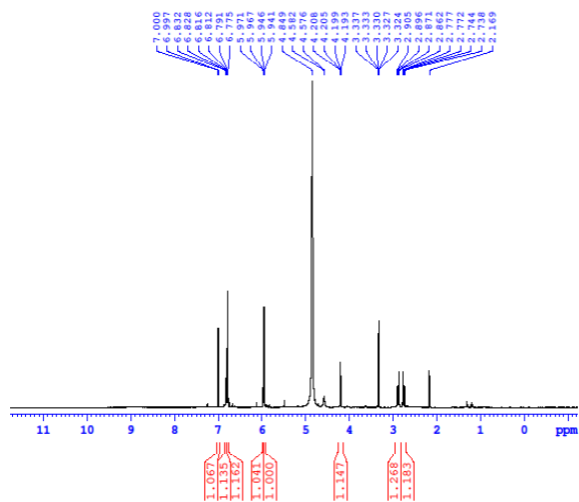


Hình 55b. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC của hợp chất SN14

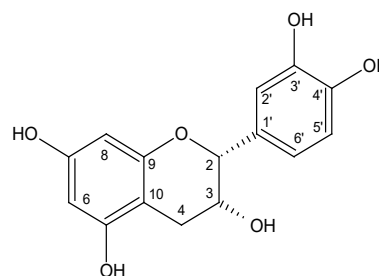
3.2.1.5.2.6. Hợp chất SN15: *epi-catechin*

Hợp chất SN15 thu được dưới dạng chất bột màu trắng ngả vàng nhạt, tan trong methanol, ethanol. Phổ khối lượng ESI-MS xuất hiện peak ion phân tử tại m/z 291,05 $[\text{M}+\text{H}]^+$, kết hợp với phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR có thể dự đoán công thức phân tử là $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$. Phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu của hai proton ở vị trí *meta* với nhau tại δ_{H} 5,97 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6) và 5,94 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), đồng thời phổ ^1H -NMR cũng xác định sự xuất hiện của một vòng thơm thế kiểu 1, 3, 4 bởi các tín hiệu δ_{H} 7,00 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'); 6,78 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5') và 6,82 (1H, dd, $J = 8,0; 2,0$ Hz, H-6'). Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu của một nhóm methine tại δ_{H} 4,85 (1H, brt, H-2)

với hằng số ghép đôi rất nhỏ, một proton tại δ_H 4,20 (1H, m, H-3) và hai proton của nhóm methylene tại δ_H 2,88 (1H, dd, $J = 4,5; 16,5$ Hz, H_a-4); 2,76 (1H, dd, $J = 3,0; 16,5$ Hz, H_b-4).



Hình 56a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của SN15



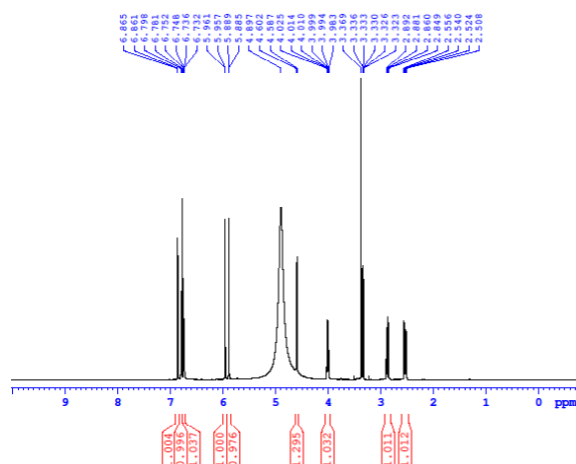
Hình 56b. Cấu trúc hóa học của SN15

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ xuất hiện tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon trong đó tín hiệu của hai nhóm methine tại δ_C 79,8 và 67,4 là phù hợp với vị trí C-2 và C-3 của khung 3-hydroxyflavan. So sánh các dữ kiện phổ của hợp chất SN15 với các dữ kiện phổ của chất *epi*-catechin thấy có sự phù hợp nên SN15 được xác định là *epi*-catechin. Phổ DEPT cho thấy trong hợp chất SN15 có 1 nhóm methylene, 7 nhóm methine và 6 cacbon bậc 4. Quan sát trên phổ cộng hưởng từ cacbon, cũng như các phổ HSQC, HMBC và kết hợp tài liệu tham khảo [53] cho thấy hợp chất SN15 là *epi*-catechin.

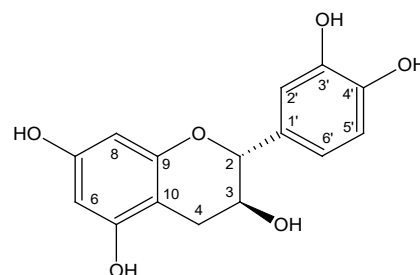
3.2.1.5.2.7. Hợp chất SN16: Catechin

Hợp chất SN16 thu được dưới dạng chất bột màu trắng ngả vàng nhạt, phổ khối lượng ESI-MS xuất hiện peak ion phân tử tại m/z 291,05 $[\text{M}+\text{H}]^+$, kết hợp với phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ có thể dự đoán công thức phân tử là $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$.

Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất SN16 xuất hiện các tín hiệu tương tự như phổ NMR của hợp chất SN15, chỉ khác nhau ở một số tín hiệu tại vị trí C-2 như tín hiệu của cacbon dịch chuyển về trường thấp hơn δ_C 82,8 trong khi đó trên phổ $^1\text{H-NMR}$ thì tín hiệu của proton gắn trên C-2 xuất hiện ở δ_H 4,59 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-2) với hằng số ghép đôi lớn cho thấy cấu hình 2,3-*trans* khác với cấu hình 2,3-*cis* trong SN15. So sánh các dữ kiện phổ của hợp chất SN16 (bảng PL3.2.5.7) với các dữ kiện phổ của chất catechin [53] thấy có sự phù hợp nên SN16 được xác định là catechin.



Hình 57a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của SN16



Hình 57b. Cấu trúc hóa học của SN16

Như vậy từ phân đoạn chiết methanol của hạt Sa nhân tím, bằng các phương pháp sắc ký kết hợp đã phân lập được 7 hợp chất ký hiệu là SN3, SN8, SN9, SN11, SN14, SN15, SN16. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa trên các dữ kiện phổ NMR và so sánh với các tài liệu tham khảo. Các hợp chất được xác định là: quercitrin (SN3), (1R,2S,4S,5R)-angelicoidenol 2-O- β -D-glucopyranoside (SN8), (1S,2S,4R,6S)-bornane-2,6-diol 2-O- β -D-glucopyranoside (SN9), (1S,2S,4R,6S)-bornane-2,6-diol 2-O- β -D-glucopyranoside (SN11), (+)-pinoresinol (SN14), *epi*-catechin (SN15) và catechin (SN16).

Từ hạt sa nhân tím (*Amomum longiligulare*) đã phân lập và xác định cấu trúc của 07 hợp chất: Quercitrin (SN3), (1R,2S,4S,5R)-angelicoidenol 2-O- β -D-glucopyranoside (SN8), (1S,2S,4R,6S)-bornane-2,6-diol 2-O- β -D-glucopyranoside (SN9), (1R,2S,4R,7S)-vicodiol 9-O- β -D-glucopyranoside (SN11), (+)-pinoresinol (SN14), *epi*-catechin (SN15), Catechin (SN16). Đã chọn hợp chất có hàm lượng cao là (+)-pinoresinol (SN14) để nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích nhằm đánh giá chất lượng của hạt sa nhân tím.

3.2.1.6. Nghiên cứu hóa học cây Đinh lăng - *Polyscias fruticosa*

3.2.1.6.1. Phân lập các hợp chất từ cây Đinh lăng

Nguyên liệu khô rễ cây Đinh lăng (2,0 kg) được nghiền nhỏ và chiết 3 lần với MeOH (3 \times 10 lít) ở nhiệt độ phòng bằng phương pháp ngâm dầm. Dịch chiết thu được được loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được 165,6 g căn chiết MeOH. Căn này được hòa thêm nước cất và chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane,

chloroform, ethyl acetate thu được các căn chiết tương ứng: *n*-hexane (16,2 g), chloroform (6,9 g), ethyl acetate (25,1 g) và lớp nước.

Từ căn *n*-hexane (16,2 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient H/E thu được 8 phân đoạn từ H1 → H8. Phân đoạn H7 (6,0 g) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient H/D/A (4/1/1, v/v/v) thu được 7 phân đoạn từ H7A → H7G. Phân đoạn H7G2 (298 mg) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp D/A (7/1, v/v) thu được 4 phân đoạn H7G2A → H7G2D. Phân đoạn H7G2B (160 mg) cho qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH/H₂O (75%-100% MeOH), thu được hợp chất **PF1** (8 mg) và **PF2** (12 mg). Phân đoạn H4 có hai lớp là dầu và tủa, lọc riêng. Phần tủa (39 mg) tiến hành sắc ký cột nhanh trên cột silica gel với hệ dung môi H/E (5/1, v/v) thu được hợp chất **PF6** (25 mg). Bên cạnh đó, từ phân đoạn H8 tiến hành sắc ký cột nhanh trên cột silica gel với hệ dung môi H/E (5/1, v/v) thu được 5 phân đoạn H8A → H8E. Phân đoạn H8E (254 mg) tiếp tục chạy qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH/H₂O (75%-100% MeOH) thu được hợp chất **PF7** (38 mg).

Từ căn chloroform (6,9 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient C/M thu được 11 phân đoạn từ C1 → C11. Phân đoạn C5 (612 mg) cho qua cột sắc ký lọc gel sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH/H₂O (50%-100% MeOH), thu được 6 phân đoạn C5A → C5F. Phân đoạn C5C (124 mg) cho qua cột silica gel với hệ dung môi H/A (2/1, v/v), thu được 5 phân đoạn C5C1 → C5C5. Phân đoạn C5C2 (17 mg) tinh chế bằng cột sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH/H₂O (80%-100% MeOH), thu được hợp chất **PF3** (12 mg). Phân đoạn C5C4 (43 mg) tinh chế bằng cột pha đảo RP-18 dùng hệ dung môi MeOH/H₂O (80%-100% MeOH), thu được hợp chất **PF4** (30 mg).

Từ căn ethyl acetate (25,1 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradient C/M thu được 12 phân đoạn từ E1 → E12. Phân đoạn E3 (625 mg) cho qua cột silica gel với hệ dung môi C/M (10/1, v/v), thu được 4 phân đoạn E3A → E3E. Phân đoạn E3A (366 mg) tiến hành kết tinh bằng dung môi MeOH thu được hợp chất **PF5** (23 mg).

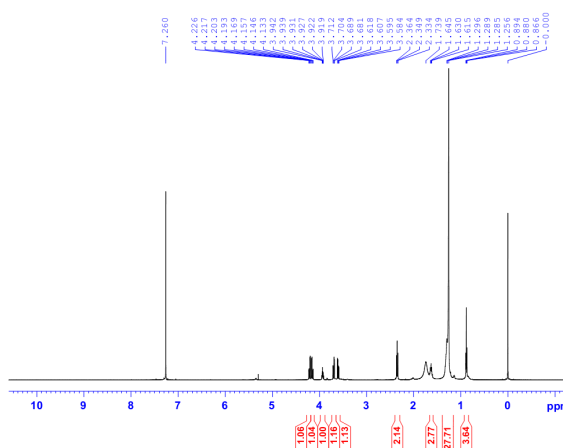
Lớp nước còn lại sau khi chiết phân đoạn được cho qua cột sắc ký Diaion HP-20, giải hấp bằng hệ dung môi MeOH/H₂O (0%-100% MeOH) thu được 6 phân đoạn W1

→ W6. Phân đoạn W5 (37,9 g) cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp gradien C/M/W thu được 5 phân đoạn từ W5A → W5E. Phân đoạn W5B (298 mg) tiếp tục cho qua cột hấp phụ silica gel dùng hệ dung môi giải hấp D/A (1/3), thu được 9 phân đoạn W5B1 → W5B9. Phân đoạn W5B7 (52 mg) tiến hành sắc ký cột nhanh trên cột silica gel với hệ dung môi E/M (3/1, v/v) thu được hợp chất **PF8** (5 mg) và **PF10** (10 mg).

3.2.1.6.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập

3.2.1.6.2.1. Hợp chất PF2: *Glycerol monostearate*

Hợp chất **PF2** thu được dưới dạng tinh thể màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **PF2** xuất hiện tín hiệu của nhóm methyl ở δ_H 0,88 (t, $J = 7,0$ Hz). Ngoài ra, tín hiệu ở δ_H 4,21 (dd, $J = 4,5, 11,5$ Hz), 4,15 (1H, dd, $J = 6,0, 11,5$ Hz), 3,93 (1H, m), 3,70 (1H, dd, $J = 4,0, 11,5$ Hz) và 3,60 (1H, dd, $J = 6,0, 11,5$ Hz) gợi ý cho khả năng tồn tại một nhóm glycerol trong phân tử. Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (hình PL3.2.6.1a) cho thấy trong phân tử có 21C. Trong đó tín hiệu của cacbon trong nhóm ester xuất hiện ở δ_C 174,35 cùng với các tín hiệu của một nhóm methyl ở δ_C 14,11, một nhóm methin ở δ_C 70,31, 18 nhóm methylen trong vùng δ_C 22,7 – 65,21. Các phổ NMR của PF2 tương tự với các phổ của AS13 phân lập từ đương quy nên sau khi phân tích chi tiết các phổ của hợp chất PF2 và so sánh với số liệu phổ trong tài liệu tham khảo [46], PF2 được xác nhận là Glycerol monostearate.



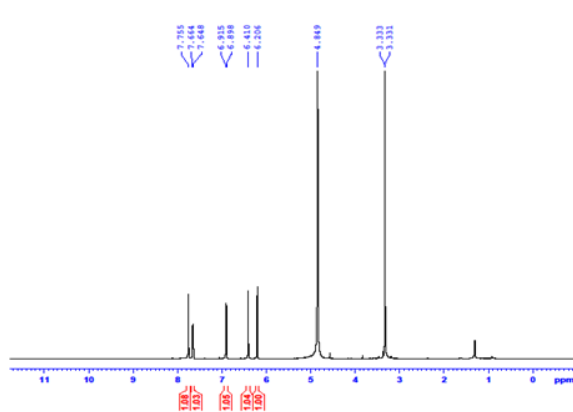
Hình 58. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất PF2

3.2.1.6.2.2. Hợp chất PF3: *Quercetin*

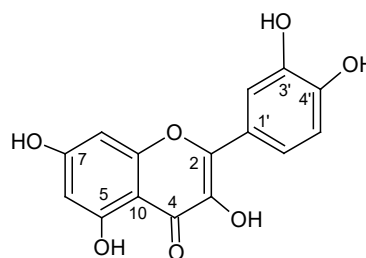
Hợp chất PF3 phân lập dưới dạng bột màu vàng tươi, phân hủy ở nhiệt độ 316°C . Phổ khối ESI-MS của hợp chất PF3 xuất hiện các tín hiệu tại m/z 303,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ở chế

độ positive và tín hiệu m/z 300,9 $[M-H]^-$ ở chế độ negative cho thấy khối lượng phân tử của hợp chất là $M = 303$ tương ứng với công thức phân tử $C_{15}H_{10}O_7$.

Phổ 1H -NMR xuất hiện tín hiệu của 5 proton của vùng thơm. Trong đó, có 3 tín hiệu proton của một vòng thơm B [δ_H 7,76 (1H, s, H-2'), δ_H 7,66 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-6'), δ_H 6,91 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5')] và hai proton của vòng thơm A ở vị trí *meta* với nhau [δ_H 6,21 (1H, s, H-6), δ_H 6,41 (1H, s, H-8)]. Phổ ^{13}C -NMR cho thấy tín hiệu của 15 cacbon đặc trưng cho khung flavone bao gồm 5 cacbon methin và 10 cacbon bậc bốn (trong đó có 1 cacbon carbonyl tại δ_C 177,53). Sau khi tổng hợp các số liệu từ các phổ (bảng PL3.2.6.2) và so sánh với số liệu phổ NMR của quercetin phân lập từ loài *Asperula arvensis* [39] hợp chất PF3 được xác định là Quercetin.



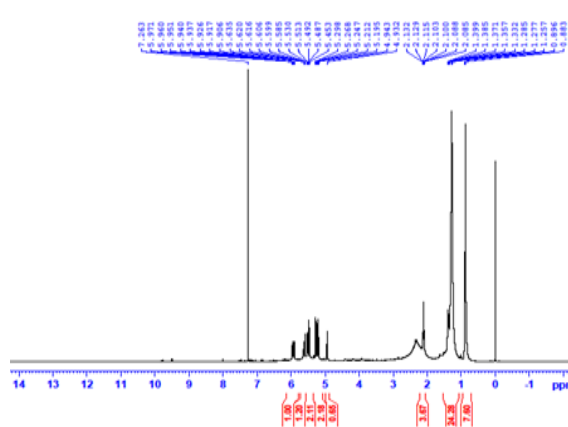
Hình 59a. Phổ 1H -NMR của PF3



Hình 59b. Cấu trúc hoá học của PF3

3.2.1.6.2.4. Hợp chất PF4: Falcarindiol

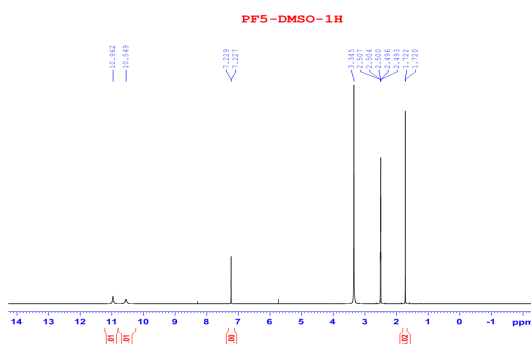
Hợp chất PF4 phân lập dưới dạng chất dầu màu vàng. Phổ 1H -NMR của hợp chất PF4 xuất hiện tín hiệu của một hợp chất allylic alcohol tại δ_H 5,94 (ddd, $J = 5,5; 10,0; 15,5$ Hz), δ_H 5,47 (d, $J = 17,0$ Hz); 5,26 (d, $J = 10,5$ Hz) và δ_H 4,94 (d, $J = 5,5$ Hz), hai vinyl proton tại δ_H 5,61 m và δ_H 5,52 (d, $J = 8,5$ Hz), một nhóm hydroxymethine tại 5,20 (d, 8,5), tín hiệu của một nhóm methyl tại δ_H 0,88 (t, $J = 7,0$ Hz) và vùng tín hiệu của các nhóm methylen nằm trong vùng δ_H 1,26-2,13. Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của 17 cacbon trong đó có thể dự đoán sự có mặt của bốn cacbon *sp* tại δ_C 78,28, 70,27, 68,69, 79,89, bốn cacbon vinyl tại δ_C 135,83, 117,30, 127,69, 134,67, hai cacbon CH-OH tại δ_C 63,48, 58,60, một cacbon methyl tại δ_C 14,07 và sáu nhóm methylen tại δ_C 27,69, 29,27, 29,15, 29,09, 31,78, 22,63. Kết hợp so sánh số liệu phổ với tài liệu [47] hợp chất PF4 được xác định là falcarindiol.



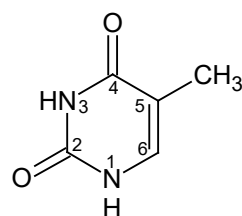
Hình 60. Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất PF4

3.2.1.6.2.4. Hợp chất PF5: Thymine

Hợp chất PF5 phân lập dưới dạng tinh thể kim màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện tín hiệu của hai peak đơn mũi rộng tại δ_H 10,96 (1H, br s) và 10,55 (1H, br s), một tín hiệu tại δ_H 7,23 (1H, d, $J = 1,0$ Hz, H-6) và một tín hiệu vùng alkyl tại δ_H 1,72 (3H, $J = 1,0$, H-7). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ HSQC cho thấy tín hiệu của 5 cacbon bao gồm 3 cacbon bậc bốn (δ_C 164,89, 151,45, 107,66) và 1 cacbon metin δ_C 137,66 (C-6) và 1 cacbon methyl δ_C 11,75. Trên phổ HSQC cũng thể hiện sự liên kết giữa proton của hai nhóm metin, giữa δ_H 7,23 (1H, d, $J = 1,0$ Hz) với δ_C 137,66 (C-6) và proton δ_H 1,72 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) với δ_C 11,75 (C-7). Phổ HMBC cho thấy tương tác của H-6 với các cacbon ở δ_C 107,66 (C-5), 11,75 (C-7), 164,89 (C-4), 151,45 (C-2), cũng như tương tác của H-7 với các cacbon ở δ_C 107,66 (C-5), 137,66 (C-6), 164,89 (C-4). Sau khi tổng hợp số liệu từ các phổ và so sánh với các số liệu trong tài liệu [91], hợp chất PF5 được xác định là thymine.



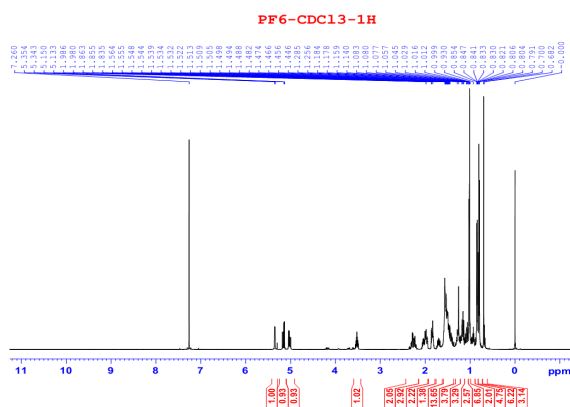
Hình 61a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của PF5



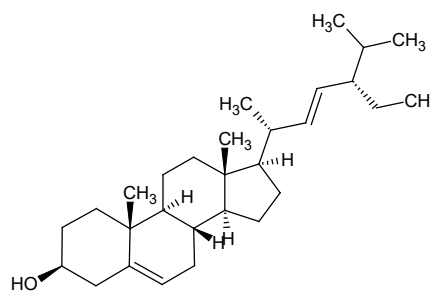
Hình 61b. Cấu trúc hoá học của PF5

3.2.1.6.2.5. Hợp chất PF6: Stigmasterol

Hợp chất PF6 được phân lập dưới dạng tinh thể màu trắng, điểm nóng chảy 169-171°C. Phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy có hai nhóm methyl với các tín hiệu singlet tại δ_H 0,70 (3H, s, H-18) và δ_H 1,00 (3H, s, H-19), ba nhóm methyl gắn với $-\text{CH}$ với các tín hiệu doublet tại δ_H 0,79 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-26), 0,84 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-27), 1,01 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21) và một nhóm methyl gắn với $-\text{CH}_2$ với tín hiệu triplet tại δ_H 0,80 (3H, t, $J = 7,5$ Hz, H-29). Ở vùng trường thấp cho tín hiệu cộng hưởng của một olefin proton δ_H 5,34 (1H, m, H-6) và hai olefin proton δ_H 5,04 (1H, dd, $J = 9,0; 15,0$ Hz, H-22) và 5,16 (1H, dd, $J = 8,5; 15,0$ Hz, H-23); một proton của nhóm methin gắn với OH tại δ_H 3,51 (1H, m, H-3) chứng minh cho nhóm $\beta\text{-OH}$ ở vị trí C-3.



Hình 62a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của PF6



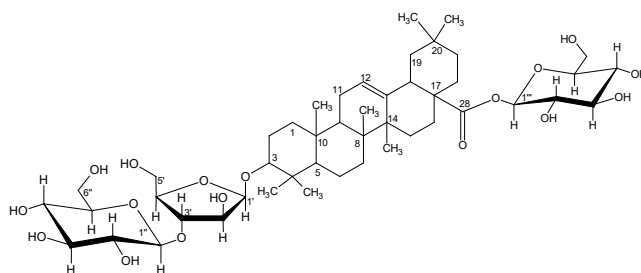
Hình 62b. Cấu trúc hoá học của PF6

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho tín hiệu cộng hưởng của 29 cacbon, trong đó có 3 cacbon bậc bốn, 11 cacbon bậc ba, 9 cacbon bậc hai và 6 nhóm methyl. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cũng cho tín hiệu cộng hưởng của hai liên kết đôi ở vị trí $\text{C}_5 = \text{C}_6$ (δ_C 140,79 và δ_C 121,72) và vị trí $\text{C}_{22} = \text{C}_{23}$ (δ_C 138,32 và 129,32). Số liệu phổ NMR so sánh với số liệu trong tài liệu [80] cho thấy hợp chất PF6 là stigmasterol, hợp chất khá phổ biến trong nhiều loài thực vật.

3.2.1.6.2.6. Hợp chất PF7: Daucosterol

Hợp chất PF7 thu được ở dạng chất bột màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ có tín hiệu cộng hưởng của 6 nhóm methyl trong đó có 2 tín hiệu singlet tại δ_H 0,65 (s) và 0,95 (s), 3 tín hiệu doublet tại δ_H 0,90 (d, $J = 6,5$ Hz), 0,83 (d, $J = 7,0$ Hz), 0,80 (d, $J = 7,0$ Hz), và một tín hiệu triplet tại δ_H 0,83 (t, $J = 7,0$ Hz). Tín hiệu cộng hưởng đặc trưng của một proton anken tại δ_H 5,31 (1H, br s). Năm proton thuộc các nhóm oxymethin của một phân tử đường glucose xuất hiện từ δ_H 2,87 đến 3,65. Proton anome của phân tử đường glucose

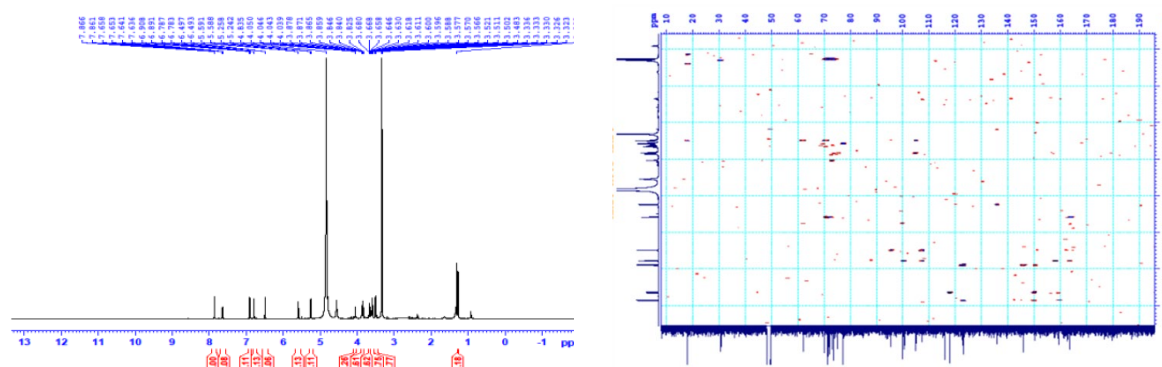
Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **PF8** xuất hiện tín hiệu của 1 carbon carbonyl (δ_{C} 177,00), 7 carbon bậc bốn, 19 nhóm methine (CH), 13 nhóm methylene (CH_2), 7 nhóm methyl (CH_3). Trong đó, có 30 carbon thuộc phần khung triterpene, 17 carbon của ba đơn vị phân tử đường. Bên cạnh đó, tín hiệu của hai carbon tại δ_{C} 122,20 (δ_{H} 5,43, 1H, m) và δ_{C} 144,00 cho thấy hợp chất PF8 là một saponin có khung olean. Phân tích số liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR và phổ HSQC cho phép xác định sự tồn tại cấu trúc khung olean-12-ene với các tín hiệu: 7 nhóm methyl tại δ_{C} 15,41 (δ_{H} 0,80, 3H, brs), 16,69 (δ_{H} 0,90, 3H, brs), 17,30 (δ_{H} 1,04, 3H, s), 23,47 (δ_{H} 0,81, 3H, brs), 26,00 (δ_{H} 1,20, 3H, brs), 27,90 (δ_{H} 1,21, 3H, brs) và 32,60 (δ_{H} 0,83, 3H, brs); hai carbon olefin tại δ_{C} 122,20 (δ_{H} 5,43, 1H, m) và δ_{C} 144,00 cho thấy sự có mặt của một liên kết đôi C=C. Phổ HMBC xác định tương tác của proton H-3 (δ_{H} 3,28 m) với C-1' (δ_{C} 106,66), C-24 (δ_{C} 16,69), C-23 (δ_{C} 27,90) cho phép xác định một liên kết C-O tại C-3. Như vậy có thể kết luận gốc đường thứ nhất gắn tại vị trí C-3 của khung olean 12-en. Đồng thời tương tác giữa proton anomer của của gốc đường thứ hai H-1'' (δ_{H} 5,24 d, $J = 7,5$ Hz) tương tác với vị trí C-3' (δ_{C} 83,30) cho thấy gốc đường thứ hai gắn với gốc đường thứ nhất tại vị trí C-3'. Phổ HMBC cũng cho thấy tương tác giữa proton anomer của gốc đường thứ ba H-1''' (δ_{H} 6,10 d, $J = 8,0$ Hz) tương tác với với nhóm carbonyl C-28 (δ_{C} 177,00) điều đó cho phép xác định gốc đường thứ ba gắn vào vị trí C-28. Đồng thời qua các tín hiệu tương tác giữa các nhóm methin gốc đường cho phép xác định chi tiết các vị trí của các carbon trong mỗi gốc đường. Dựa trên thông tin các phổ có thể kết luận trong cấu trúc phân tử của hợp chất **PF8** gồm 3 gốc đường là β -arabinofuranose, β -glucopyranose và β -glucopyranose. Kết hợp thông tin các phổ kết hợp với tài liệu tham khảo, hợp chất **PF8** được xác định là 3-O-[β -D-glucopyranosyl (1-3)]-O-L- β -arabinofuranosyl oleanolic 28-O- β -D-glucopyranosyl ester có công thức phân tử là $\text{C}_{47}\text{H}_{76}\text{O}_{17}$.



Hình 64b. Công thức cấu tạo của hợp chất **PF8**

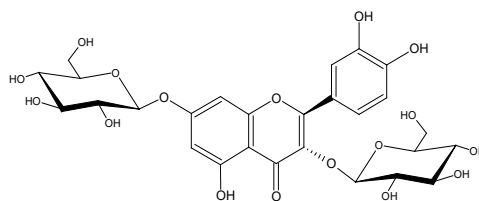
3.2.1.6.2.8. Hợp chất PF9: Quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside

Hợp chất **PF9** phân lập dưới dạng bột màu vàng. Phổ ESI-MS chế độ positive ở m/z 611 $[M+H]^+$ và chế độ negative m/z 609 $[M+H]^-$ cho phép xác định công thức phân tử của hợp chất là $C_{27}H_{30}O_{16}$. Phổ 1H NMR của hợp chất **PF9** xác nhận tín hiệu của 2 proton vòng thơm A dạng AX tại $[\delta_H 6,79$ (d, $J = 2,0$ Hz, H-8) và $6,50$ (d, $J = 2,0$ Hz, H-6)] và 3 proton của một vòng thơm B dạng ABX $[\delta_H 7,86$ (d, $J = 2,5$ Hz, H-2'), $7,65$ (dd, $J = 2,5, 8,5$ Hz, H-6'), and $6,90$ (d, $J = 8,5$ Hz, H-5')]. Tín hiệu của hai proton anomer xuất hiện tại $\delta_H 5,59$ (d, $J = 1,5$ Hz, H-1''') và $5,25$ (d, $J = 8,0$ Hz, H-1''). Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **PF9** xác nhận sự có mặt của 27 cacbon trong đó bao gồm 1 cacbon carbonyl tại $\delta_C 179,75$ (C-4), 9 cacbon bậc bốn, 7 methin, 8 oxymethine, 1 oxymethylen và 1 methyl cacbon. Tín hiệu proton anomer của hai gốc đường $\delta_H 5,59$ (d, $J = 1,5$ Hz, H-1''') và $5,25$ (d, $J = 8,0$ Hz, H-1'') tương ứng với tín hiệu cacbon anomer $\delta_C 99,93$ và $105,04$ trên phổ HSQC, đồng thời với hằng số tương tác $J = 1,5$ Hz và $J = 8,0$ Hz có thể xác định cấu dạng của hai gốc đường là α và β . Dựa trên thông tin phổ 1H NMR và ^{13}C NMR có thể dự đoán hợp chất **PF9** có cấu trúc aglycon là quercetin và hai gốc đường α -L-rhamnose và β -D-glucose.



Hình 65a. Phổ NMR của hợp chất **PF9**

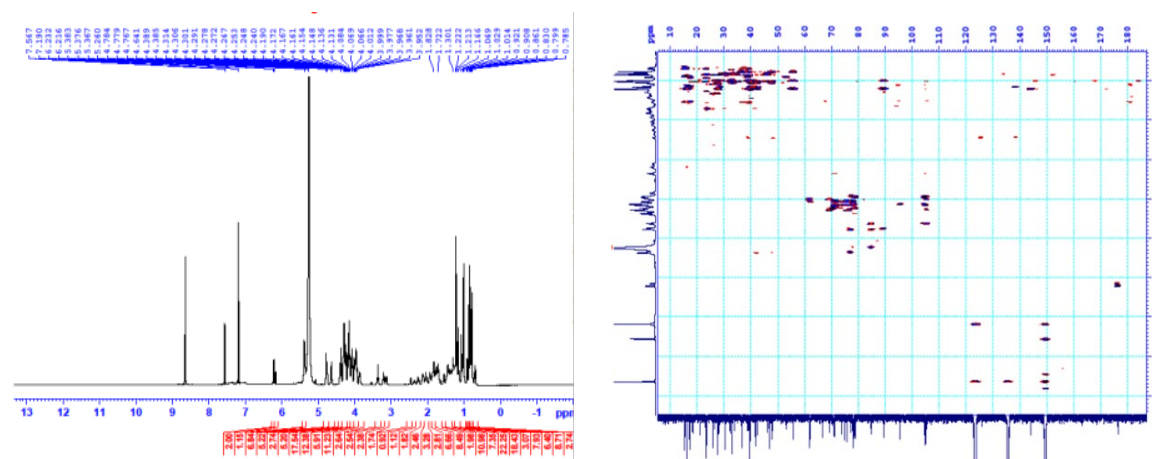
Phổ HMBC của hợp chất **PF9**, xác nhận tín hiệu tương tác của proton anome tại $\delta_H 5,25$ (H-1'') của gốc Glc tương tác với vị trí $\delta_C 135,98$ (C-3) của khung aglycon và proton anomer $\delta_H 5,59$ (H-1''') của gốc Rha $\delta_C 163,68$ (C-7), điều đó chứng tỏ gốc đường glucoside gắn vào vị trí C-3 và gốc đường rhamnoside gắn vào vị trí C-7 của khung aglycon. Từ thông tin các phổ kết hợp so sánh dữ liệu công bố [67], kết luận hợp chất **PF9** là quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside có cấu trúc như hình 59c.



Hình 65b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **PF9**

3.2.1.6.2.9. Hợp chất **PF10**: *Araliasaponin IV*

Hợp chất **PF10** phân lập dưới dạng bột màu trắng. Phổ khối phân giải cao của hợp chất **PF10** xuất hiện tín hiệu $[M+Na]$ m/z 1097.5513 (calcd. 1097.5503) $C_{53}H_{86}O_{22}Na$ cho phép dự đoán công thức phân tử của hợp chất **PF10** là $C_{53}H_{86}O_{22}$. Phổ 1H NMR của hợp chất **PF10** xuất hiện tín hiệu của 7 nhóm methyl tại δ_H 1,21 (s, H-23), 1,01 (s, H-24), 0,80 (s, H-25), 1,03 (s, H-26), 1,22 (s, H-27), 0,86 (s, H-29), 0,83 (s, H-30), tín hiệu của một nhóm olefinic xuất hiện tại (δ_H 5,38 m, H-12). Đồng thời xuất hiện tín hiệu của proton anomer của 4 gốc đường tại [$(\delta_H$ 4,76 d, $J = 7,5$ Hz, H-1', glc), (δ_H 5,37 d, $J = 8,0$ Hz, H-1'', xyl), (δ_H 5,22 d, $J = 8,0$ Hz, H-1''', glc) và (δ_H 6,22 d, $J = 8,0$ Hz, glc), các nhóm methin gốc đường xuất hiện trong vùng 4-3 ppm. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **PF10** xuất hiện tín hiệu của một nhóm carbonyl δ_C 176,49 một cặp proton olefinic tại δ_C 122,73 (C-12) và 144,00 (C-13), tín hiệu của cacbon anomer gốc đường δ_C 105,20 (C-1', glc), 104,63 (C-1'', xyl), 104,97 (C-1''', glc) và δ_C 95,55 (C-1''', glc), tín hiệu của 7 nhóm methyl tại δ_C 27,66 (C-23), 16,34 (C-24), 15,38 (C-25), 17,29 (C-26), 25,94 (C-27), 32,96 (C-29) và 23,62 (C-30). Qua thông tin các phổ có thể dự đoán hợp chất **PF10** có cấu trúc khung olean-12-en và 4 gốc đường.

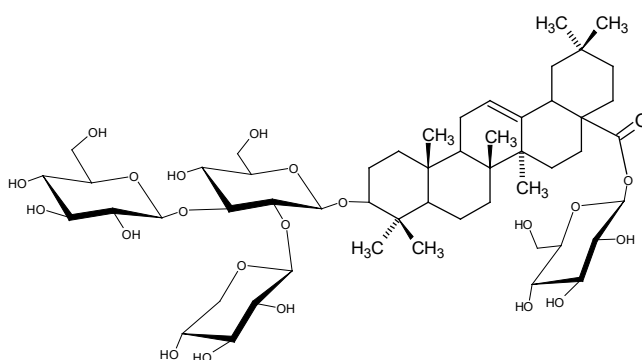


Hình 66a. Phổ NMR của hợp chất **PF10**

Phổ HMBC của hợp chất **PF10** xác nhận tín hiệu tương tác giữa các gốc đường với khung aglycone, tương tác giữa proton anomer δ_H 4,76 (H-1', glc) với cacbon C-3

(δ_C 89,32), chứng tỏ gốc đường thứ nhất gắn vào vị trí C-3 của khung olean, tương tác giữa proton anomer δ_H 5,37 (H-1'', xyl) với cacbon C-2, glc (δ_C 77,11) xác nhận gốc đường thứ 2 gắn vào vị trí C-2 của gốc đường thứ nhất, tương tác giữa proton anomer δ_H 5,22 (H-1''', glc) và cacbon C-3' (δ_C 84,77, glc) xác nhận gốc đường thứ ba gắn vào vị trí C-3 của gốc đường thứ nhất, Như vậy, ở vị trí C-3 của khung olean sẽ có liên kết với các gốc đường ([xyl (1→2)]-[glc (1→3)] glc). Bên cạnh đó proton anomer của gốc đường thứ tư δ_H 6,22 (H-1''', glc) xác nhận tín hiệu tương tác với C-28 (δ_C 176,46).

Kết hợp thông tin các phổ và tài liệu tham khảo [85], hợp chất **PF10** được xác định là Araliasaponin IV có cấu trúc như hình 60b.



Hình 66b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **PF10**

Từ rễ củ đing lăng (*Polyscias fruticosa*) đã phân lập và xác định cấu trúc của 09 hợp chất: *Glyceryl monostearate* (PF2), *Quercitrin* (PF3), *Falcarindiol* (PF4), *Thymine* (PF5), *Stigmasterol* (PF6), *Daucosterol* (PF7), *3-O-[\beta-D-glucopyranosyl (1-3)]-O-L-\beta-arabinofuranosyl oleanolic 28-O-\beta-D-glucopyranosyl ester* (PF8), *Quercetin-3-O-\beta-D-glucopyranoside-7-O-\alpha-L-rhamnopyranoside* (PF9), *Araliasaponin IV* (PF10). Đã chọn hợp chất có hàm lượng cao là *Falcarindiol* (PF4) để nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích sự biến động hàm lượng hoạt chất theo thời gian sinh trưởng của cây đing lăng.

3.2.1.7. Nghiên cứu hóa học cây Xoan nhừ - *Choerospondias axillaris*

3.2.1.7.1. Phân lập các hợp chất từ cây Xoan nhừ

Mẫu Cây xoan nhừ - *C. axillaris* sấy khô ở nhiệt độ $<50^\circ\text{C}$, xay thành bột mịn. Bột khô chiết 3 lần với metanol trong bể siêu âm, cô dịch chiết thu được cặn chiết methanol (350g). Cặn chiết methanol được hòa vào nước, sau đó chiết phân lớp lần lượt với các dung môi là *n*-hexan, diclometan, etyl axetat thu được các cặn chiết *n*-hexan (40g), cặn

diclometan (14,5g), cặn chiết etyl axetat (15,5g), dịch nước và một phần cặn không tan (80g).

Cặn diclometan (14,5g) cho qua cột sắc ký silica gel dùng hệ dung môi giải hấp hexan:axeton (10:1, 5:1, 3:1, 1:1) thu được 4 phân đoạn D1→D4. Phân đoạn D2 (3g) chạy sắc ký cột pha thường dùng hệ dung môi hexan:CH₂Cl₂:EtOAc (1:2:0.2) thu được 5 phân đoạn D2A→D2F. Phân đoạn D2B (740mg) cho qua cột sắc ký pha đảo YMC hệ dung môi axeton:nước (1.7:1) thu được hợp chất **CA1** (22mg). Từ phân đoạn D2D (400mg), phân tách trên cột sắc ký pha đảo hệ dung môi MeOH:H₂O (2:1) thu được 2 phân đoạn D2D1 và D2D2. Phân đoạn D2D1 (80mg) qua cột sắc ký pha thường với hệ dung môi hexan:axeton (2.7:1) thu được phân đoạn D2D1a (60mg), tiếp tục qua cột sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH:H₂O (1:1) và tinh chế qua cột pha thường hệ dung môi hexan:diclometan:axeton (4:10:1) thu được hợp chất **CA4** (8mg). Phân đoạn D2D2 (230mg) tiến hành phân tách trên cột sắc ký pha thường sử dụng hệ dung môi hexan:EtOAc (2:1) thu được hợp chất **CA2** (20mg). Phân đoạn D2E (300mg) qua cột sắc ký silica gel pha đảo với hệ dung môi axeton:nước (1.5:1) thu được phân đoạn D2E1 (140mg). Phân đoạn D2E1 tiếp tục phân tách trên cột sắc ký pha thường hệ dung môi hexan:EtOAc (1.5:1) thu được phân đoạn D2E1a (100mg). Tinh chế phân đoạn D2E1a trên cột sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH:H₂O (1.5:1) thu được hợp chất **CA7** (23mg). Phân đoạn D2F (300mg) qua cột sắc ký silica gel pha đảo với hệ dung môi axeton:nước (1.7:1) thu được phân đoạn D2F1 (65mg). Phân đoạn D2F1 được tiếp tục tách trên cột sắc ký pha thường hệ dung môi hexan:etyl axetat (2:1) thu được hợp chất **CA3** (6mg).

Phân đoạn D4 (10g) được đưa lên cột sắc ký pha đảo với hệ dung môi axeton:nước (1:1) thu được 3 phân đoạn D4A, D4B, D4C. Từ phân đoạn D4A (2,1g), qua cột sắc ký silica gel pha thường hệ dung môi CH₂Cl₂:EtOAc:MeOH (5:1:0.5) thu được 4 phân đoạn D4A1→D4A4. Phân đoạn D4A1 (70mg) xuất hiện dạng kết tinh vô định hình, sau khi lọc rửa kết tinh bằng các dung môi CH₂Cl₂, MeOH thu được hợp chất **CA5** (8mg). Phân đoạn D4A2 (590mg) qua cột sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH:H₂O (1.5:1) thu được phân đoạn D4A2a (40mg). Phân đoạn D4A2a sau khi qua cột sắc ký pha thường hệ dung môi hexan:etyl axetat (1:2) thu được hợp chất **CA10** (4,5mg). Phân đoạn D4A4 (130mg) được tinh chế trên cột sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH:H₂O (1:1) thu

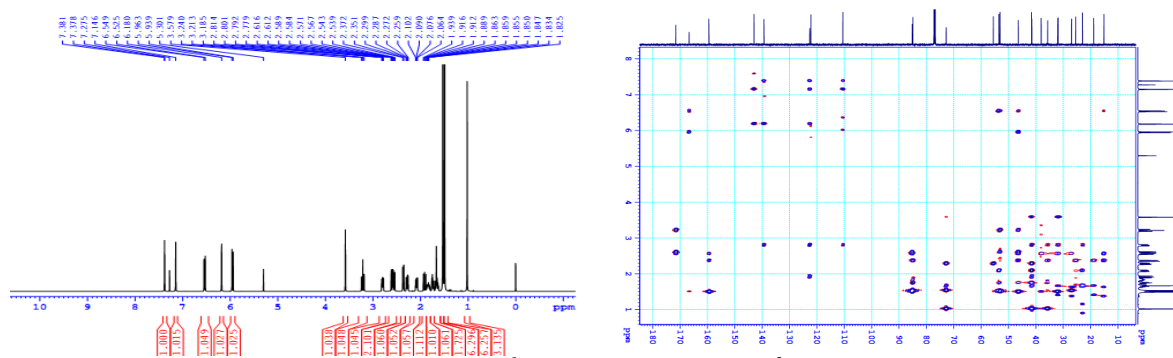
được hợp chất **CA6** (10mg). Từ phân đoạn D4B (1g), tiến hành phân tách trên cột sắc ký pha thường sử dụng hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ (5:1:0.2) thu được 4 phân đoạn D4B1→D4B4. Phân đoạn D4B2 (90mg) qua cột sắc ký pha thường hệ dung môi hexan:etyl (1:1.5) rồi tiếp tục chạy cột sắc ký pha đảo hệ dung môi metanol:nước (1.5:1) thu được hợp chất **CA8** (6mg). Phân đoạn D4B4 (100mg) sau khi phân tách trên cột sắc ký pha thường sử dụng hệ dung môi hexan:etyl (1:2) thu được hợp chất **CA9** (6mg). Phân đoạn D4C (1,1g) được tách thành 2 phân đoạn D4C1 (250mg) và D4C2 (60mg) sau khi qua cột sắc ký silica gel pha thường dùng hệ dung môi hexan:etyl (1:1). Phân đoạn D4C1 (250mg) sau khi qua cột sắc ký pha thường với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ (10:1:0.25) và cột sắc ký pha đảo hệ dung môi axeton:nước (1:1) thu được hợp chất **CA12** (9mg). Phân đoạn D4C2 (60mg) qua cột sắc ký pha thường sử dụng hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ (10:1:0.25) thu được hợp chất **CA11** (5mg).

Phần nước qua cột diaion HP-20 rửa giải với hệ dung môi $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (0:100, 25:75, 50:50, 75:25 và 100:0) thu được 4 phân đoạn W1→W4. Phân đoạn W2 được chạy cắt gradient với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (20:1, 10:1, 5:1, 3:1, 1:1) thu được 5 phân đoạn W2A→W2E. Từ phân đoạn W2B (1,1g) chạy sắc ký cột pha thường hệ dung môi $\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ (15:1) thu được 4 phân đoạn W2B1→W2B4. Phân đoạn W2B1 (120mg) qua cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi diclometan:axeton:nước (4:1:0.02) thu được phân đoạn W2B1a (50mg). Tinh chế phân đoạn W2B1a trên cột sắc ký silica gel pha đảo thu được hợp chất **CA16** (11mg). Phân đoạn W2B2 (30mg) sau khi qua cột sephadex LH-20 sử dụng hệ dung môi $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1.5), tiếp tục chạy sắc ký cột pha đảo hệ dung môi axeton:nước (1:5) và cuối cùng qua cột pha thường hệ dung môi diclometan:axeton:hexan thu được hợp chất **CA17** (6mg).

3.2.1.7.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ cây Xoan nhừ

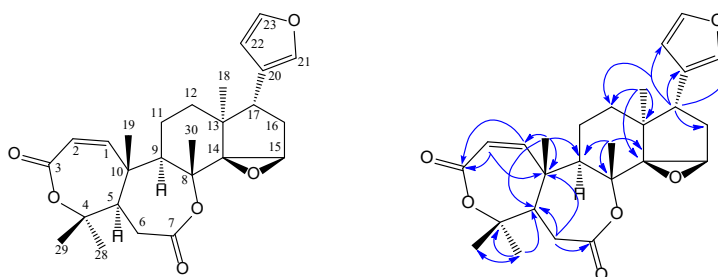
3.2.1.7.2.1. Hợp chất CA1: Surenolactone

Hợp chất **CA1** thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của 5 nhóm methyl bậc 3 tại δ_{H} 1,02 (H-18), 1,49 (H-19), 1,53 (H-28), 1,49 (H-29) và 1,53 (H-30), tín hiệu của 3 proton olefin tại δ_{H} 7,41 (1H, s), 6,18 (1H, s) và 7,38 (1H, s) gợi ý cho sự xuất hiện của một vòng furan thế β và tín hiệu của hai proton olefin tại δ_{H} 6,53 (1H, d, $J = 12,0$ Hz), 5,95 (1H, d, $J = 12,0$ Hz).



Hình 67a. Phổ NMR của hợp chất **CA1**

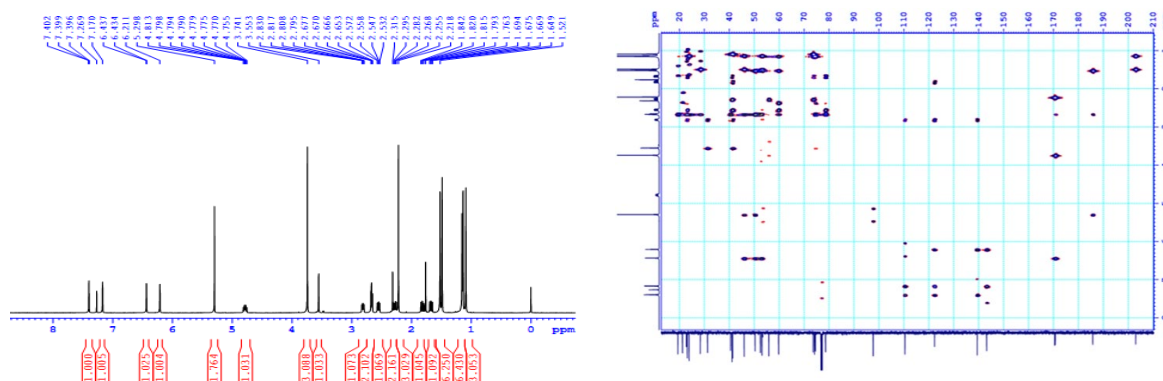
Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 26 nguyên tử cacbon trong đó có 5 nhóm methyl, 4 nhóm metylen, 9 nhóm metin và 8 cacbon bậc 4 trong đó có hai nhóm cacbonyl. Những tín hiệu trên phổ NMR của hợp chất **CA1** gợi ý đây là một hợp chất có khung dạng limonoid. Vị trí của proton liên kết trực tiếp với cacbon tương ứng được xác định bằng phổ HSQC. Cấu trúc của **CA1** được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ HMBC. Tương tác giữa H-19 (δ_{H} 1,49) với C-1 (δ_{C} 159,51) đồng thời tương tác giữa proton olefin tại δ_{H} 5,95 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) với C-10 (δ_{C} 46,45) và nhóm cacbonyl (δ_{C} 166,78) đã khẳng định vị trí của nối đôi tại C-1/C-2. Vị trí C-4 được xác định dựa trên tương tác của hai nhóm methyl tại δ_{H} 1,49 và 1,53 với cùng cacbon δ_{C} 85,21 sự chuyển dịch về phía trường yếu của cacbon này chứng tỏ nó đứng gần nhóm hút điện tử mạnh mà ở đây là nguyên tử oxi. Như vậy vòng A có dạng α,β không no ϵ -lacton với sự xuất hiện của một nhóm este nội vòng tại C-3/C-4 và nối đôi tại C-1/C-2. Vòng B cũng có dạng ϵ -lacton với nhóm este nội phân tử giữa C-7/C-8 tại δ_{C} 171,59 (C-7) và 84,96 (C-8) cũng như tương tác HMBC giữa H-6 (δ_{H} 2,60 và 3,21) với C-7, giữa H-18 với C-8. Sự xuất hiện của vòng epoxi tại C-14/C-15 được xác định dựa vào độ chuyển dịch trên phổ ^{13}C NMR của C-14 (δ_{C} 72,77) và C-15 (δ_{C} 55,56) cũng như tương tác HMBC giữa H-15 với C-16, C-17 và tương tác giữa H-18, H-30, H-16 với C-14. Tương tác giữa H-21 (δ_{H} 7,41) với C-20, C-22, C-23, tương tác giữa H-22 (δ_{H} 6,18) với C-20, C-21, C-23 và tương tác giữa H-23 (δ_{H} 7,38) với C-20, C-21, C-22 đã khẳng định sự có mặt của vòng furan, đồng thời vòng furan được xác định là đính với C-17 dựa vào tương tác HMBC giữa H-17 với C-20, C-21 và C-22. Kết hợp so sánh các dữ kiện phổ ^1H và ^{13}C NMR của **CA1** với hợp chất Sureanolactone trong tài liệu tham khảo [72] cho thấy có sự phù hợp tại tất cả các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất **CA1** được xác định là Sureanolactone, một hợp chất đã được phân lập từ loài *Toona sureni*.



Hình 67b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **CA1**

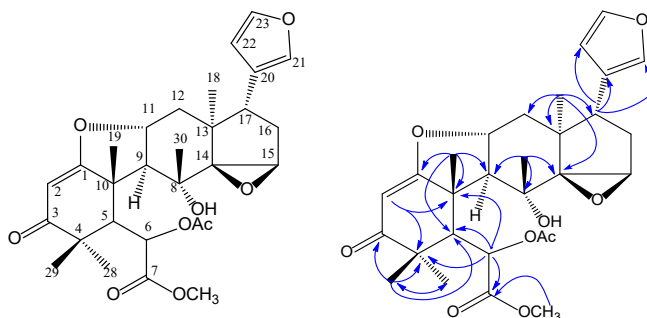
3.2.1.7.2.2. Hợp chất **CA2**: *Toonayunnanin I*

Phổ ^1H NMR của hợp chất **CA2** xuất hiện tín hiệu của 7 nhóm methyl bậc 3 trong đó một nhóm metoxi tại δ_{H} 3,74 (3H, s) và một nhóm methyl acetyl tại δ_{H} 2,22 (3H, s), tín hiệu của 4 proton olefin trong đó 3 proton tại δ_{H} 7,17 (1H, br s), 6,21 (1H, s), 7,40 (1H, s) gợi ý cho sự xuất hiện của một vòng furan thế β . Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 29 nguyên tử cacbon trong đó tín hiệu của nhóm acetyl tại δ_{C} 170,51 (C=O) và 21,25 (CH₃), tín hiệu của nhóm metoxi tại δ_{C} 52,49. Như vậy 26 tín hiệu cacbon gợi ý cho sự xuất hiện của hợp chất khung limonoid. Sự xuất hiện của nhóm cacbonyl α , β không no thuộc vòng A được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa H-28 (δ_{H} 1,49) và H-29 (δ_{H} 1,14) với C-3 (δ_{C} 202,95) cũng như tương tác giữa H-19 (δ_{H} 1,15) với C-1 (δ_{C} 185,78) và tương tác của proton olefin H-2 (δ_{H} 5,30) với C-4, C-10. Sự xuất hiện của vòng epoxy tại C-14/C-15 được xác định dựa vào độ chuyển dịch trên phổ ^{13}C NMR của C-14 (δ_{C} 73,71) và C-15 (δ_{C} 55,88) cũng như tương tác HMBC giữa H-15 với C-16, C-17 và tương tác giữa H-18, H-30, H-16 với C-14. Tương tác giữa H-21 (δ_{H} 7,41) với C-20, C-22, C-23, giữa H-22 (δ_{H} 6,18) với C-20, C-21, C-23 và giữa H-23 (δ_{H} 7,38) với C-20, C-21, C-22 đã khẳng định sự có mặt của vòng furan, đồng thời vòng furan được xác định là đính với C-17 dựa vào tương tác HMBC giữa H-17 với C-20, C-21 và C-22.



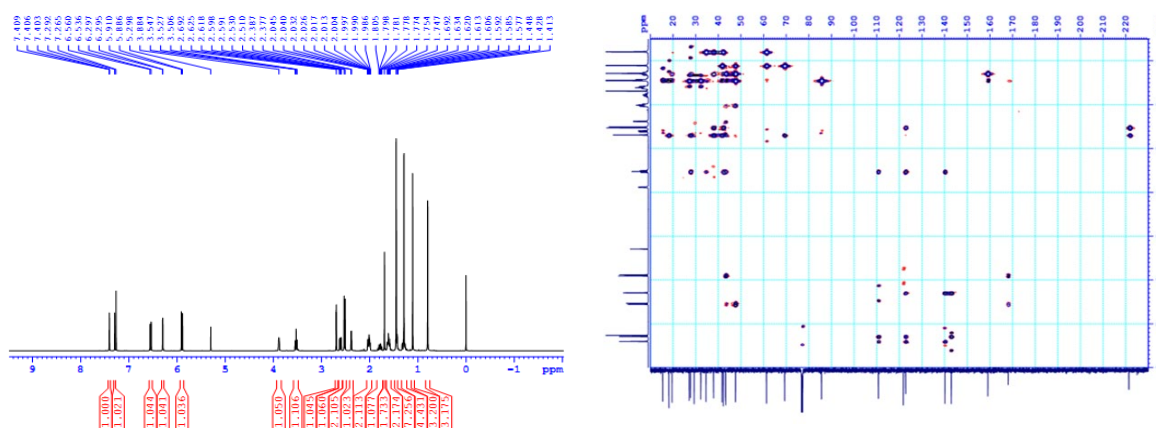
Hình 68a. Phổ NMR của hợp chất **CA2**

Vị trí của C-6 (δ_C 74,22) được xác định dựa trên tương tác giữa H-6 (δ_H 6,43) với C-4, C-5, C-7, C-10 đồng thời sự chuyển dịch mạnh về phía trường yếu đã khẳng định nhóm acetyl gắn vào vị trí C-6. Ngoài ra sự chuyển dịch hóa học tại C-8 (δ_C 74,55) chứng tỏ nhóm hydroxyl được đính tại vị trí C-8. Cùng với sự xuất hiện của nhóm metoxi tại C-7 đã gợi ý cho việc vòng B bị mở tại C-7/C-8. Vị trí của C-11 (δ_C 78,62) được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa H-9 (δ_H 2,67) với C-11, C-12, sự chuyển dịch mạnh về phía trường yếu của C-1, C-11 chứng tỏ 2 cacbon này được đính trực tiếp với nguyên tử oxi. Như vậy đã có sự tạo vòng ete giữa C-1 và C-11. Kết hợp so sánh các dữ kiện phổ 1H và ^{13}C NMR của **CA2** với hợp chất Toonayunnanin I trong tài liệu tham khảo [77] cho thấy có sự phù hợp tại tất cả các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất **CA2** được xác định là Toonayunnanin I đã được phân lập từ loài *Toona ciliate* var. *yunnanensis*.



Hình 68b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **CA2**

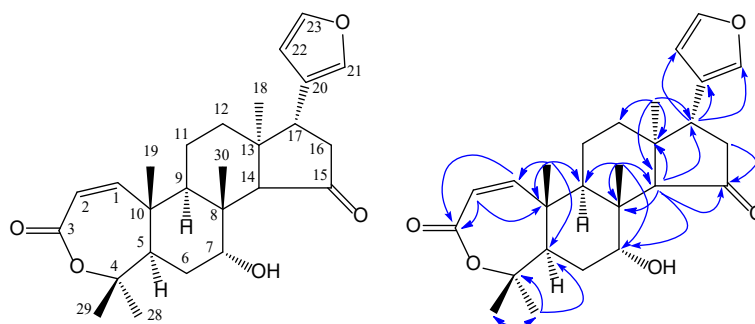
3.2.1.7.2.3. Hợp chất **CA3**: *Ouabanginone*



Hình 69a. Phổ NMR của hợp chất **CA3**

Hợp chất **CA3** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ 1H NMR xuất hiện tín hiệu của 5 nhóm methyl bậc 3 tại δ_H 0,80, 1,29, 1,11 và 1,45, tín hiệu của 5 proton olefin trong đó có 3 proton olefin tại δ_H 6,29 (1H, s), 7,29 (1H, s) và 7,41 (1H, s) gợi ý cho sự xuất hiện của một vòng furan thế β và tín một cặp nối đôi tại δ_H 5,90 (1H, d, $J = 12,0$

Hz) và 6,55 (1H, d, $J = 12,0$ Hz). Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 26 nguyên tử cacbon trong đó có 5 nhóm methyl, 10 nhóm metin, 4 nhóm metylen và 7 cacbon bậc 4 trong đó có một nhóm cacbonyl este tại δ_{C} 168,16 và một nhóm xeton tại 211,38. Các tín hiệu trên phổ NMR của hợp chất **CA3** gợi ý đây là hợp chất có khung limonoid, cấu trúc của nó được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ HSQC và HMBC. Tương tự như hợp chất **CA1**, cấu trúc của **CA3** cũng được xác định với vòng A có dạng α,β không no ε -lacton với nối đôi C-1/C-2 tại δ_{C} 159,17/ δ_{H} 5,90 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) và δ_{C} 121,78/ δ_{H} 6,55 (1H, d, $J = 12,0$ Hz), tín hiệu của nhóm este nội vòng tại C-3/C-4 với độ chuyển dịch δ_{C} 168,16 (C-3)/85,64 (C-4). Nhóm xeton được xác định là tại vị trí C-15 dựa vào tương tác giữa H-14 và H-16 với C-15 (δ_{C} 221,38). Tương tự vậy sự xuất hiện của nhóm hydroxyl đính tại vị trí C-7 được xác định dựa vào độ chuyển dịch hóa học tại C-7 (δ_{C} 69,34) cũng như tương tác HMBC giữa H-30 và H-14 với C-7. Tương tác giữa H-21 (δ_{H} 7,29) với C-20, C-22, C-23, giữa H-22 (δ_{H} 6,29) với C-20, C-21, C-23 và giữa H-23 (δ_{H} 7,41) với C-20, C-21, C-22 đã khẳng định sự có mặt của vòng furan, đồng thời vòng furan được xác định là đính với C-17 dựa vào tương tác HMBC giữa H-17 với C-20, C-21 và C-22. Kết hợp so sánh các dữ kiện phổ NMR của **CA3** với hợp chất Ouabanginone trong tài liệu tham khảo [49] cho thấy có sự phù hợp tại tất cả các vị trí tương ứng đặc biệt là cấu hình của nhóm hydroxyl tại vị trí C-7 cũng được xác định là α -OH dựa vào độ chuyển dịch cacbon và dạng tín hiệu trên phổ proton so với chất Ouabanginone. Như vậy hợp chất **CA3** được xác định là Ouabanginone, một hợp chất đã được phân lập từ loài *Teclea ouabanguiensis*.

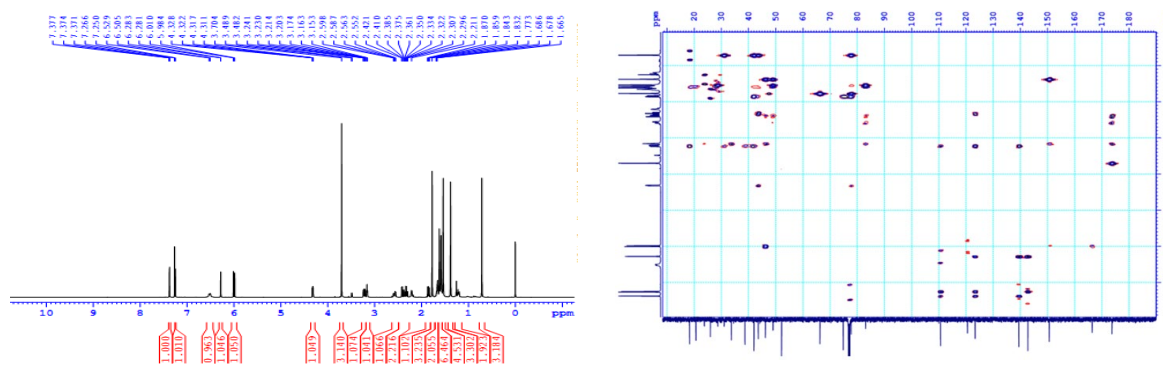


Hình 69b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **CA3**

3.2.1.7.2.4. Hợp chất **CA4**: *Toonaciliatin H*

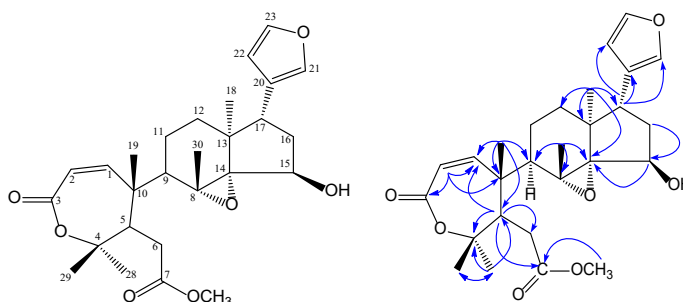
Hợp chất **CA4** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ ^1NMR xuất hiện tín hiệu của 5 nhóm methyl bậc 3 tại δ_{H} 0,80, 1,29, 1,11 và 1,45 và một nhóm metoxi tại δ_{H}

3,70 (3H, s), tín hiệu của 5 proton olefin trong đó có 3 proton olefin tại δ_H 6,51 (1H s), 7,25 (1H, s) và 7,37 (1H, s) gợi ý cho sự xuất hiện của một vòng furan thế β và tín một cặp nối đôi tại δ_H 5,99 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) và 6,51 (1H, d, $J = 12,0$ Hz).



Hình 70a. Phổ NMR của hợp chất **CA4**

Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 27 nguyên tử cacbon trong đó tín hiệu của nhóm metoxi tại δ_C 52,20/ δ_H 3,70. Phần khung còn lại 26 cacbon bao gồm 5 nhóm metyl, 9 nhóm metin, 4 nhóm metylen và 8 cacbon bậc 4 trong đó có hai nhóm cacbonyl este tại δ_C 168,48 và 173,77. Các tín hiệu trên phổ NMR của hợp chất **CA4** gợi ý đây là hợp chất có khung limonoid, cấu trúc của nó được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ HMBC. Tương tự như hợp chất **CA1**, cấu trúc của **CA4** cũng được xác định với vòng A có dạng α,β không no ϵ -lacton với nối đôi C-1/C-2 tại δ_C 150,67/ δ_H 6,51 (1H, d, $J = 12,0$ Hz) và δ_C 120,59/ δ_H 5,99 (1H, d, $J = 12,0$ Hz), tín hiệu của nhóm este nội vòng tại C-3/C-4 với độ chuyển dịch δ_C 168,48 (C-3)/83,08 (C-4).



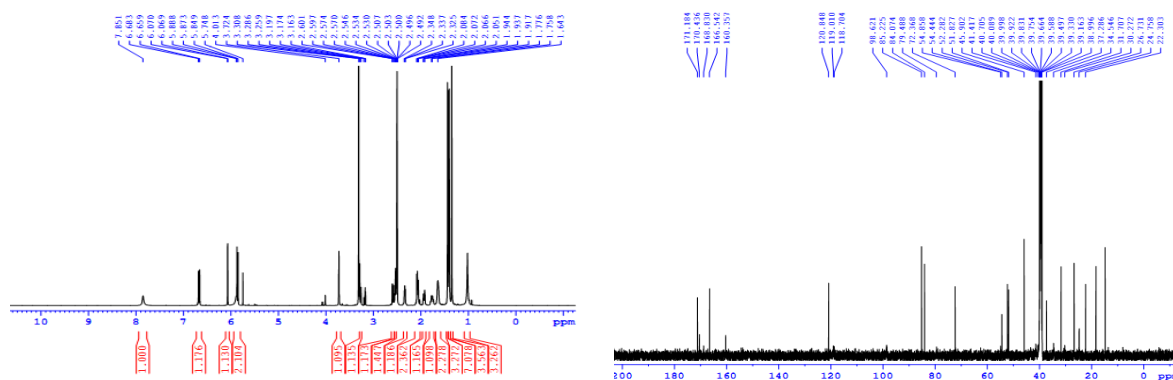
Hình 70b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **CA4**

Vòng B của hợp chất **CA4** được xác định là có dạng *seco* tại C-7/C-8 tương tự như hợp chất **CA2**. Tuy nhiên điểm khác biệt là ở chỗ hợp chất **CA4** mất đi tín hiệu của nhóm acetyl tại C-6 và vòng epoxy trong hợp chất **CA4** được tạo thành tại vị trí C-8/C-14 so với C-14/C-15 (như hợp chất **CA2**), điều này được chứng minh dựa vào độ chuyển dịch hóa học cacbon của C-8, C-14, C-15 lần lượt là δ_C 66.31, 77.78, 74.85 (**CA4**) so

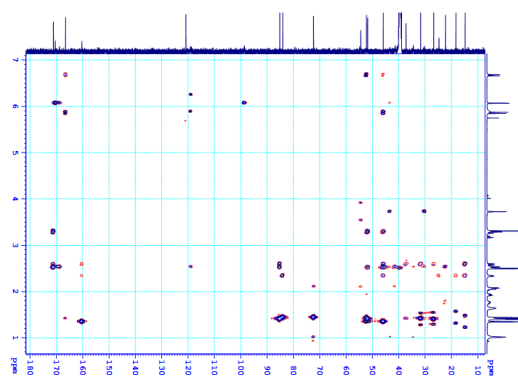
với δ_C 74.55, 73.71, 55.88 (**CA2**) và tương tác HMBC giữa H-30 với C-8 (δ_C 66.31), C-9, C-14 (δ_C 77.78), tương tác giữa H-18 với C-12, C-13, C-14, C-17 cũng như tương tác giữa H-15 với C-14 và giữa H-16 với C-15. So sánh dữ kiện phổ (bảng PL3.2.7.4) của hợp chất **CA4** với hợp chất Toonaciliatin H trong tài liệu [72] cho thấy sự trùng hợp hoàn toàn ở tất cả các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất **CA4** được xác định là Toonaciliatin H.

3.2.1.7.2.5. Hợp chất **CA5**: Axillariol A (chất mới)

Hợp chất **CA5** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ HR-ESI-MS xuất hiện pic ion phân tử tại m/z 795,2021 $[M+Na]^+$, khối lượng phân tử theo tính toán lý thuyết cho hợp chất có công thức $C_{26}H_{32}NaO_8$ là 495,1995 như vậy có thể dự đoán **CA5** có công thức phân tử là $C_{26}H_{32}O_8$. Phổ 1H và ^{13}C NMR của **CA5** hoàn toàn tương tự như **CA1** với sự xuất hiện hai vòng A, B có dạng ϵ -lacton và sự tạo vòng epoxy giữa C-14/C-15.



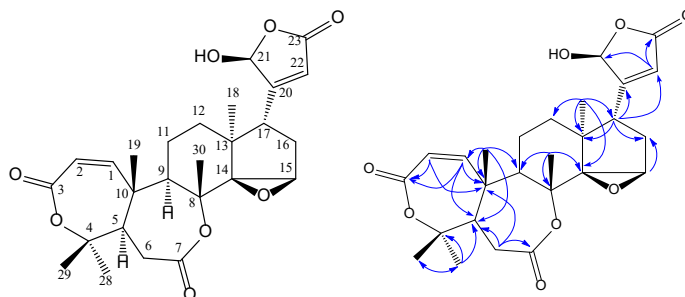
Hình 71a. Phổ 1H NMR và ^{13}C NMR của hợp chất **CA5**



Hình 71b. Phổ HMBC của hợp chất **CA5**

Điều khác biệt so với **CA1** là ở chỗ phổ NMR của **CA5** mất đi tín hiệu của vòng furan thể β mà thay vào đó là vòng α,β không no γ -lacton được xác định tại δ_C 168,83 (C-20), 98,62 (C-21), 119,09 (C-22), 170,43 (C-23)/ δ_H 5,88 (1H, s, H-21), 6,07 (1H, br

s, H-22) đồng thời vị trí của vòng lacton này cũng được xác định dựa trên tương tác HMBC giữa H-17 với C-20, C-22. Cấu hình của nhóm hydroxy tại C-21 được xác định là β -OH dựa vào độ chuyển dịch hóa học và hằng số tương tác J tại các vị trí tương ứng so với hợp chất isoazadironolide tài liệu [93]. Như vậy có thể khẳng định hợp chất **CA5** là hợp chất mới và được đặt tên là **axillariol A**.

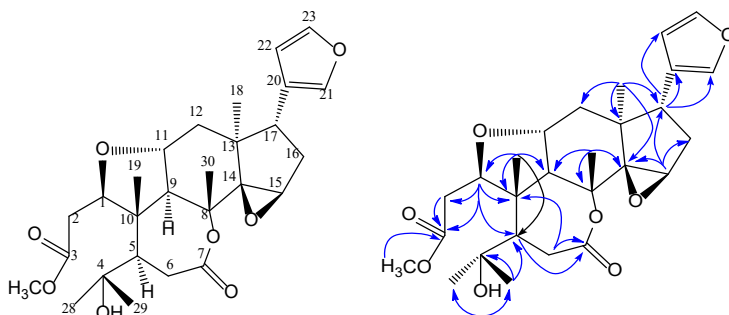


Hình 71c. Cấu trúc hóa học và các tương tác HMBC chính của hợp chất **CA5**

Bảng 3.2.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất **CA5**

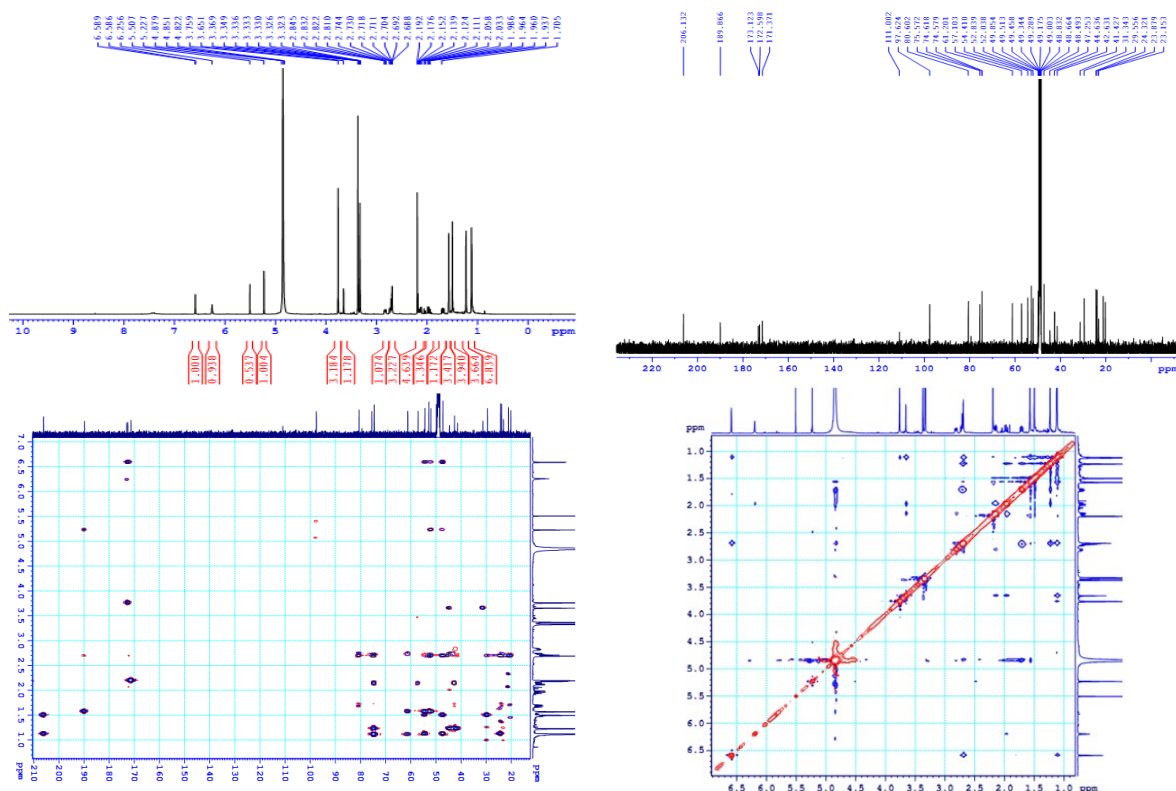
C	$^1\delta_C$	$^2\delta_C$	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J=Hz$)	HMBC
1	159.51		160.54	CH	6.67 d (12.0)	3, 5, 10
2	122.20		120.84	CH	5.86 d (12.0)	3, 10
3	166.78		166.54	C		
4	85.21		85.22	C		
5	53.12		51.82	CH	2.58 dd (2.0, 13.0)	4, 6, 7, 10, 19, 28,29
6	38.07		37.28	CH ₂	2.53 dd (2.0, 13.5) 3.21 t (13.5)	6, 7, 10
7	171.59		171.18	C		
8	84.96		84.07	C		
9	53.52		52.44	CH	2.33 t (5.5)	1, 8, 10, 11, 19, 30
10	46.45		45.90	C		
11	25.43		24.75	CH ₂		
12	35.71		34.54	CH ₂	1.76 m/1.93 m	9, 18
13	41.47		41.41	C		
14	72.77		72.36	C		
15	55.56		54.44	CH	3.72 s	16, 17
16	31.87		30.27	CH ₂	2.07 m	13, 14, 15
17	41.58		43.20	CH	2.53 d (2.0)	13, 16, 18, 20, 22
18	22.93		22.30	CH ₃	1.01 s	12, 14, 17
19	15.11		14.80	CH ₃	1.34 s	1, 5, 9, 10
20		169.36	168.83	C		
21		98.95	98.62	CH	5.88 s	22
22		119.09	119.01	CH	6.07 br s	21, 23
23		171.45	170.43	C		
28	32.03		31.70	CH ₃	1.39 s	4, 5, 29

(δ_H 4,17, m) với H-9 α (δ_H 2,60, dd, $J = 2,0, 12,0$ Hz) chứng tỏ cấu hình α của vòng ete [89]. Ngoài hai sự khác biệt trên thì hợp chất **CA7** tương tự như hợp chất **CA1** khi vòng B cũng có dạng ϵ -lacton với nhóm este nội vòng tại C-7/C-8, vòng epoxi tại C-14/C-15 và vòng furan thế β tại vị trí C-17. Do đó hợp chất **CA7** (bảng PL3.2.7.5) được xác định là Toonaciliatin D.



Hình 72b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **CA7**

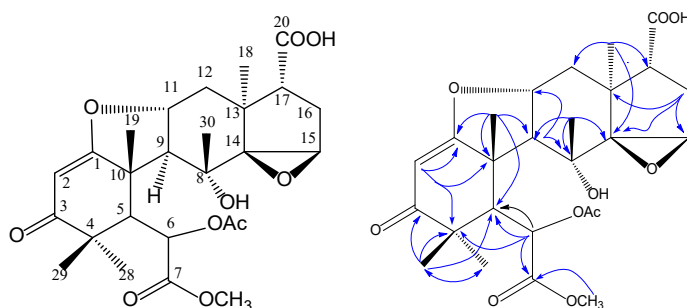
3.2.1.7.2.7. Hợp chất **CA8**: Axillariol B (chất mới)



Hình 73a. Phổ NMR của hợp chất **CA8**

Hợp chất **CA8** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **CA8** là hoàn toàn tương tự hợp chất **CA2** với sự xuất hiện của một nhóm xeton α,β không no ở vòng A, vòng ete tại C-1 (δ_C 189,86)/C-11 (δ_C 80,60), tín hiệu của vòng epoxit tại C-14 (δ_C 74,57)/C-15 (δ_C 57,10), tín hiệu của một nhóm acetyl

tại C-6 (δ_C 171,37, 21,14) và nhóm cacbometoxi tại δ_C 172,59, 52,83. Tuy nhiên điểm khác biệt duy nhất là ở chỗ hợp chất **CA8** mất đi tín hiệu của vòng furan tại vị trí C-17 và thay vào đó là sự xuất hiện của một nhóm axit cacboxylic tại δ_C 173,12. Một số dẫn xuất limonoid với nhóm cacboxylic tại C-17 cũng đã được phân lập trước đó [108] cho phép xác định cấu trúc của **CA8**, cấu trúc này cũng được khẳng định chắc chắn hơn dựa vào tương tác HMBC và tương tác trên phổ ROESY. Cấu hình của vị trí C-11 và C-6 được xác định dựa vào tương tác ROESY giữa H-19 β với H-11, tương tác giữa H-5 α với H-6. Như vậy **CA8** được xác định là hợp chất mới và được đặt tên là **axillariol B**.



Hình 73b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **CA8**

Bảng 3.2.8. Số liệu phổ NMR của hợp chất **CA8**

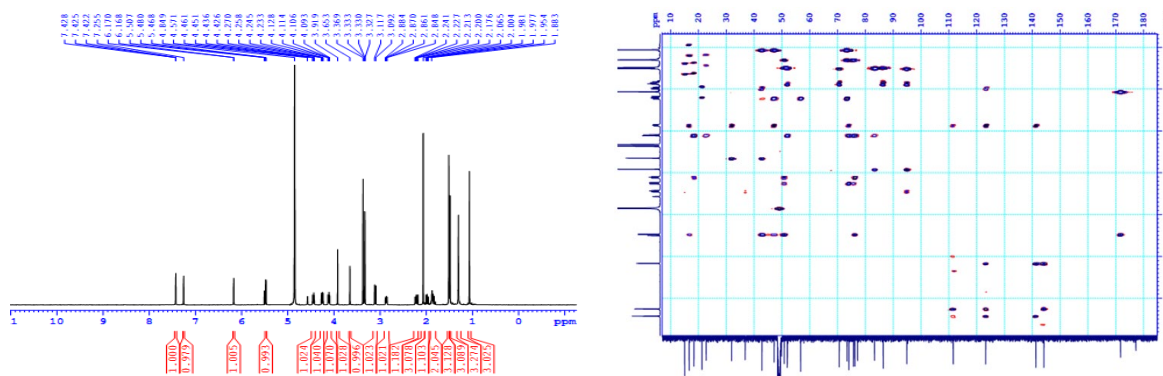
Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J= Hz$)	HMBC
1	185.9	189.86	C		
2	97.7	97.62	CH	5.22 s	1, 4, 10
3	203.1	206.13	C		
4	46.0	47.25	C		
5	53.0	54.41	CH	2.68 br s	
6	74.2	75.57	CH	6.58 d (1.5)	4, 5, 7, 10
7	170.6	172.59	C		
8	74.4	74.61	C		
9	59.8	61.20	CH	2.71 t (3.5)	8, 10, 11, 19, 30
10	50.3	52.03	C		
11	78.7	80.60	CH	4.87*	
12	40.5	41.42	CH ₂	1.68 dd (10.0, 13.0) 2.73 d (7.0)	11, 13, 18
13	41.1	42.63	C		
14	73.7	74.57	C		
15	55.9	57.10	CH	3.65 s	16, 17
16	31.3	31.34	CH ₂	1.96 dd (11.0, 14.0) 2.28 dd (6.5, 14.0)	13, 14, 15
17	41.3	44.63	CH	2.83 dd (6.5, 11.5)	
18	23.1	23.87	CH ₃	1.22 s	12, 13, 14, 17
19	19.4	20.21	CH ₃	1.56 s	1, 5, 9, 10

20	122.3	173.12	C		
28	23.9	24.23	CH ₃	1.49 s	3, 4, 5, 29
29	28.4	29.55	CH ₃	1.12 s	3, 4, 5, 28
30	22.7	23.15	CH ₃	1.11 s	8, 9, 14
7-OMe	52.5	52.83	CH ₃	3.75 s	7
6-OAc	170.8	171.37	C		
	21.2	21.14	CH ₃	2.19 s	

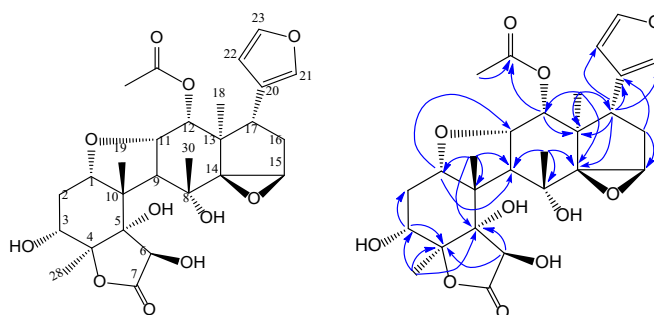
^a đo trong CDCl₃, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#]δ_C :Số liệu phổ theo chất CA2

3.2.1.7.2.8. Hợp chất CA9: Toonaciliatin O

Hợp chất CA9 thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ ¹H NMR xuất hiện tín hiệu của 5 nhóm methyl bậc 3 trong đó có một nhóm acetyl tại δ_H 2,06, tín hiệu của một vòng furan thế β tại δ_H 6,17, 7,25 và 7,42. Phổ ¹³C NMR xuất hiện tín hiệu của 27 cacbon trong đó có một nhóm acetyl tại δ_C 171.82 (C=O) và 21.29 (CH₃), như vậy 26 cacbon còn lại cùng với các tín hiệu trên phổ ¹H NMR cho phép dự đoán CA9 cũng là hợp chất khung limonoid tương tự như các chất đã phân lập từ loài thực vật này.



chuyển dịch cacbon tại hai vị trí này cũng như tương tác HMBC giữa H-1 (δ_H 4,11) với C-9, C-11 và C-19. Cấu hình của vòng ete được xác định dựa trên hằng số tương tác J lớn giữa H-1 (4,11, dd, $J = 7,0, 11,0$ Hz) với H-2 axial (δ_H 1,85, m), giữa H-11 (δ_H 4,25, dd, $J = 6,0, 12,5$ Hz) với H-9 α (δ_H 3,10, d, $J = 12,5$ Hz) chứng tỏ cấu hình α của vòng ete [89]. Tín hiệu của nhóm carbonyl tại δ_C 177,22 và một cacbon bậc 4 tại δ_C 94,93 đã gợi ý cho sự có mặt của vòng 4,7 γ -lacton [89]. Hợp chất **CA9** chỉ có một nhóm CH_3 tại vị trí C-4, điều này được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa H-28 (δ_H 1,51) với C-3 (δ_C 70,65), C-4 (δ_C 94,93) và C-5 (δ_H 83,36) ngoài ra không thấy có tương tác của nhóm methyl nào khác cùng vào các vị trí này. Độ chuyển dịch cacbon tại C-5 (δ_C 83,36) và C-6 (δ_C 77,20) gợi ý cho sự có mặt của hai nhóm hydroxyl tại C-5, C-6 đồng thời vị trí của C-6 cũng được khẳng định chắc chắn hơn dựa vào tương tác giữa H-6 (δ_H 3,92, s) với C-4, C-5. So sánh số liệu phổ của hợp chất **CA9** với hợp chất Toonaciliatin O công bố trong tài liệu [116] cho thấy có sự phù hợp hoàn toàn ở các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất **CA9** được xác định là Toonaciliatin O, hợp chất đã được công bố từ loài *Toona ciliate* Roem. var. *yunnaensis*.

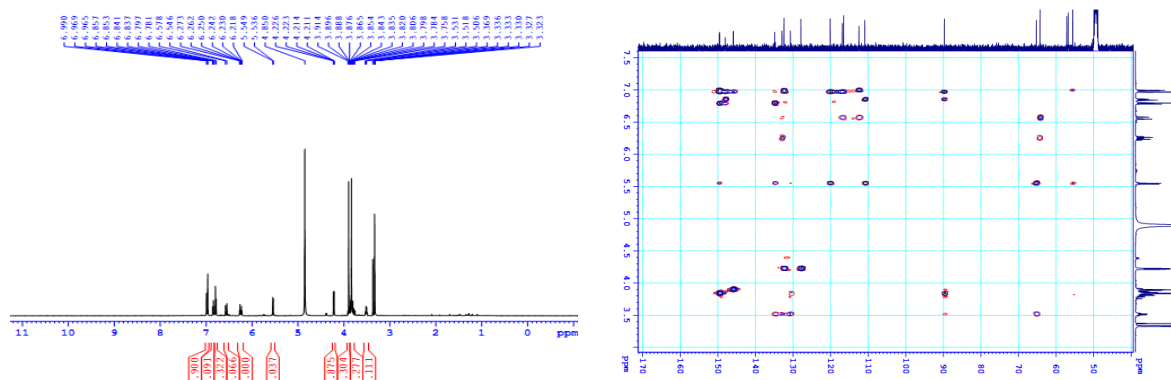


Hình 74b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của hợp chất **CA9**

3.2.1.7.2.9. Hợp chất **CA10**: *dehydrodiconiferyl alcohol*

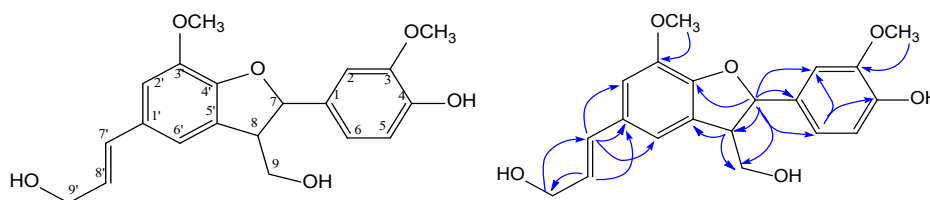
Hợp chất **CA10** thu được dưới dạng dầu không màu. Phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của các proton olefin vòng thơm trong đó có một hệ ABX đặc trưng bởi các tín hiệu tại δ_H 6,96 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,79 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5), 6,85 (1H, dd, $J = 2,0, 8,0$ Hz, H-6), tín hiệu của hai proton thể dạng *meta* với nhau tại δ_H 6,96 (1H, s, H-2'), 6,98 (1H, s, H-6'), tín hiệu của một cặp nối đôi dạng *trans* tại δ_H 6,56 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7'), 6,25 (1H, td, $J = 5,5, 16,0$ Hz, H-8'), tín hiệu của hai nhóm metin tại δ_H 5,55 (1H, d, $J = 6,5$ Hz, H-7), 3,51 (1H, m, H-8), hai nhóm metylen đính trực tiếp với nguyên tử oxi tại δ_H 3,80 (1H, dd, $J = 4,0, 11,0$ Hz, H_a-9), 3,86 (1H, dd, $J = 5,5, 11,0$

Hz, H_b-9) và 4,21 (2H, dd, $J = 1,5, 6,0$ Hz, H-9'). Ngoài ra phổ ¹H còn xuất hiện tín hiệu hai nhóm metoxi tại δ_H 3,83 (3H, s), 3,89 (3H, s). Phổ ¹³C NMR cho phép xác định đây là hợp chất benzofuran với tín hiệu của vòng thơm thế 1,3,4 tại δ_C 134,93 (C-1), 110,94 (C-2), 149,54 (C-3), 148,05 (C-4), 116,59 (C-5), 120,16 (C-6), tín hiệu của vòng thơm thế 1,3,4,5 tại δ_C 132,99 (C-1'), 112,48 (C-2'), 145,91 (C-3'), 149,67 (C-4'), 130,75 (C-5'), 116,93 (C-6'), tín hiệu của vòng furan được đặc trưng tại δ_C 89,74 (C-7) và 55,59 (C-8).



Hình 75a. Phổ NMR của hợp chất **CA10**

Cấu trúc của **CA10** được khẳng định chắc chắn hơn dựa trên phổ HMBC thông qua tương tác giữa H-7 với C-1, C-2, C-6, C-8 và C-4'. Nhóm hydroxymetyl (δ_C 65,28/δ_H 3,80, 3,86) được xác định tại C-8 dựa vào tương tác của H-7, H-8 với cùng vị trí này. Vị trí của nhóm hydroxypropenyl cũng được xác định được vào tương tác giữa H-7' với C-1', C-2' C-6', tương tác giữa H-8' với C-1', C-9' cũng như tương tác giữa H-9' với C-8'. So sánh số liệu phổ của **CA10** với hợp chất (7*S*, 8*R*) dehydrodiconiferyl alcohol 9'-β-glucopyranoside [66] cho thấy có sự phù hợp hoàn toàn ở tất cả các vị trí tương ứng chỉ khác ở chỗ **CA10** mất đi tín hiệu của nhóm đường glucoside. Như vậy hợp chất **CA10** được xác định là dehydrodiconiferyl alcohol [96].

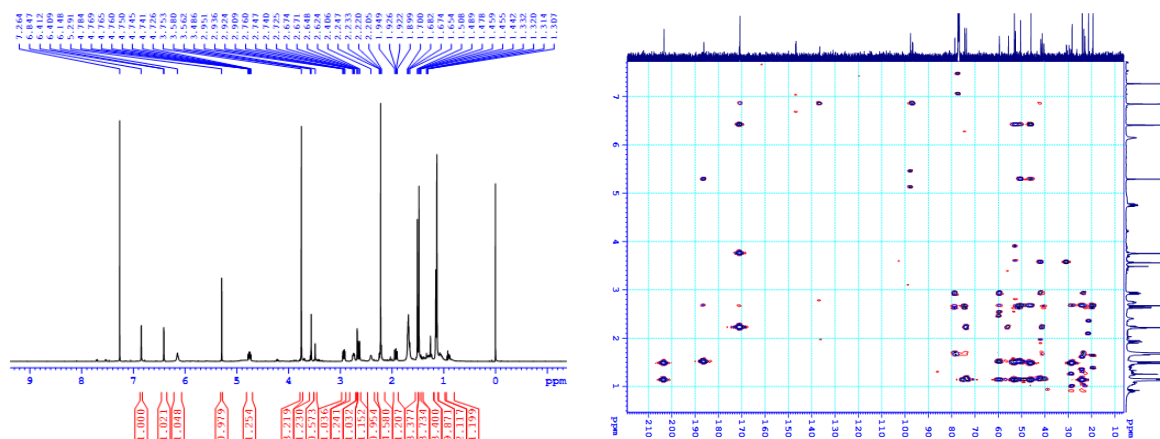


Hình 75b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **CA10**

3.2.1.7.2.10. Hợp chất **CA11**: Axillariol C (chất mới)

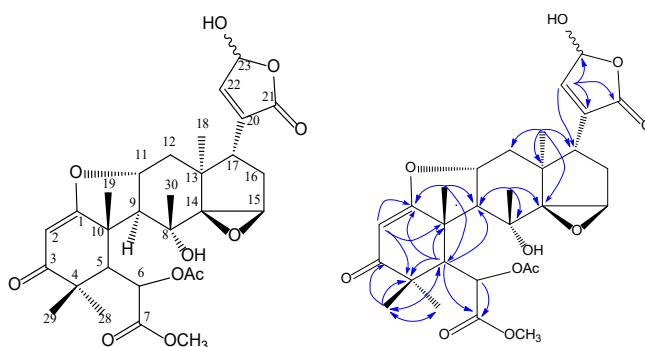
Hợp chất **CA11** thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Phổ ¹H NMR, ¹³C NMR xuất hiện tín hiệu của 5 nhóm methyl bậc 3 trong đó có 1 nhóm acetyl tại δ_C 21,28/δ_H

2,22, một nhóm metoxi tại δ_C 52,65/ δ_H 3,75, một nhóm este cacbonyl tại δ_C 171,54 và một nhóm xeton tại δ_C 203,38. Phổ NMR của **CA11** tương tự như hợp chất **CA2** (Toonayunnanin I) [77] với vòng B dạng seco, vòng epoxy tại C-14/C-15 và cầu oxi tại C-1/C-11.



Hình 76a. Phổ NMR của hợp chất **CA11**

Điểm khác biệt giữa **CA11** và **CA2** là ở chỗ phổ NMR của **CA11** mất đi tín hiệu của vòng furan thế β mà thay vào đó là vòng α,β không no γ -lacton được xác định tại δ_C 136.53 (C-20), 170.84 (C-21), 145.60/145.74 (C-22), 96.34/96.61 (C-23)/ δ_H 6.14 (1H, s, H-23), 6.07 (1H, br s, H-22) đồng thời vị trí của vòng lacton này cũng được xác định dựa trên phổ HMBC thông qua tương tác giữa H-22 với C-17, C-20, C-21 và C-22. Sự xuất hiện các cặp pic tại C-21, C-22 chứng tỏ hợp chất **CA11** là hỗn hợp racemic của hai hợp chất đồng phân lập thể với nhau tại vị trí C-23 và hỗn hợp này không thể phân tách bằng cột sắc ký thông thường.



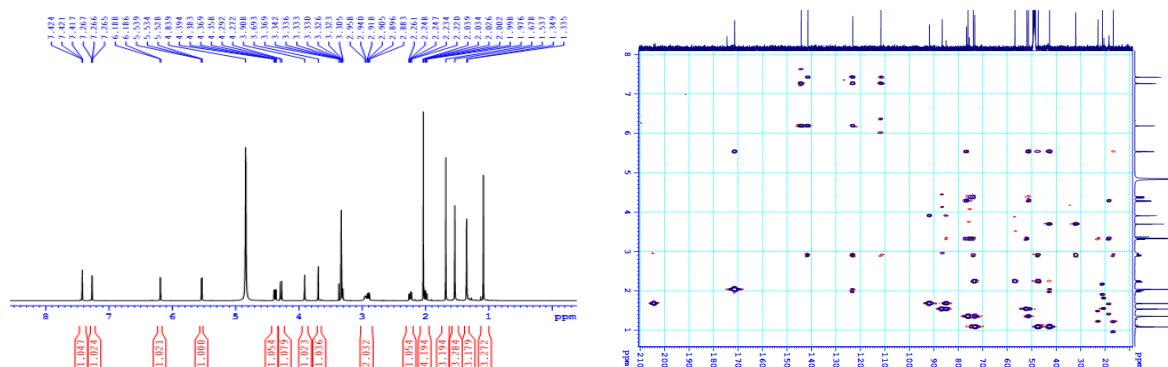
Hình 76b. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **CA11**

So sánh số liệu phổ phần vòng lacton của hợp chất **CA11** với hợp chất $1\alpha,3\alpha,7\alpha$ -triacetoxy-23 ζ -hydroxy-24,25,26,27-tetranor-apotirucalla-14,20(22)-dien-21,23-olide - cũng là một hỗn hợp hai đồng phân lập thể tại vị trí C-23 cho thấy có sự tương đồng về

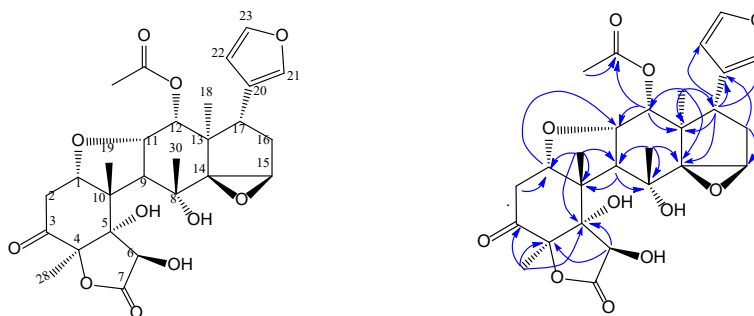
độ chuyển dịch hóa học. Bên cạnh đó, cấu hình tại C-11 được xác định dựa vào tương tác ROESY giữa H-11 β với H-12 β , H-19 và H-30. Như vậy có thể khẳng định hợp chất **CA11** là hợp chất mới và được đặt tên là **Axillariol C**.

3.2.1.7.2.11. Hợp chất **CA12**: *Toonaciliatin N*

Hợp chất **CA12** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, Phổ ^1H NMR, ^{13}C NMR (hình PL3.2.7.9a) xuất hiện tín hiệu của 4 nhóm methyl bậc 3 trong đó có một nhóm acetyl tại δ_{C} 21,14/ δ_{H} 2,03, tín hiệu của hai nhóm este cacbonyl tại δ_{C} 171,39, 174,59, tín hiệu của một nhóm xeton tại δ_{C} 204,50, tín hiệu của một vòng furan thế β được xác định tại các giá trị [δ_{H} 6,18 (br d), 7,26 (br s) và 7,42 (t, $J = 1,5$ Hz), δ_{C} 111,68, 123,14, 141,48 và 144,24].



Hình 77a. Phổ NMR của hợp chất **CA12**

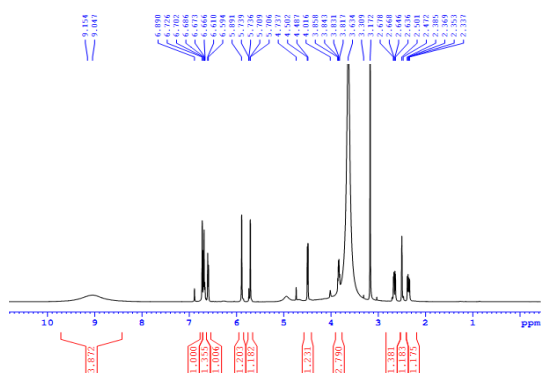


Hình 77b. Cấu trúc hóa học và một số tương tác HMBC chính của **CA12**

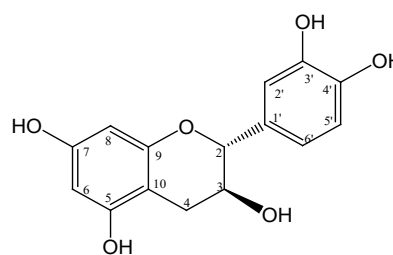
So sánh số liệu phổ của **CA12** với **CA9** nhận thấy có sự phù hợp hoàn toàn ở các vị trí tương ứng ngoại trừ việc thay thế nhóm hydroxy ở vị trí C-3 bằng nhóm xeton. Điều này cũng được khẳng định dựa trên phổ HMBC thông qua tương tác giữa H-28 và H-2 với cùng vị trí C-3 (δ_{C} 204,50). Như vậy hợp chất **CA12** được xác định là *Toonaciliatin N* một hợp chất đã được phân lập từ loài *Toona ciliate* Roem. var. *yunnanensis* [116].

3.2.1.7.2.12. Hợp chất CA16: Catechin

Hợp chất **CA16** thu được dưới dạng tinh thể màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện tín hiệu của hai proton ở vị trí *meta* với nhau tại δ_{H} 5,70 (1H, br s, H-6), 5,89 (1H, br s, H-8), đồng thời phổ ^1H cũng xác định sự xuất hiện của vòng thơm thế kiểu ABX bởi các tín hiệu δ_{H} 6,72 (1H, br s, H-2'), 6,59 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'), 6,69 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-6'). Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu của hai nhóm metin nối với oxi tại δ_{H} 4,48 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-2), 3,83 (1H, m, H-3) và hai proton của nhóm methylen tại 2,36 (1H, dd, $J = 8,0, 16,0$ Hz, H_a-4), 2,56 (1H, dd, $J = 5,0, 16,0$ Hz, H_b-4). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ xuất hiện tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon, kết hợp với phổ DEPT nhận thấy có một nhóm CH_2 , 7 nhóm CH và 7 cacbon không có hydro. Hai tín hiệu tại δ_{C} 94,1 và 99,3 được xác định là ở hai vị trí C-8, C-6 của vòng A khung flavan khi vị trí C-5 và C-7 bị thế, ba nhóm metin còn lại của vòng benzen được xác định là thuộc vòng B: δ_{C} 114,6 (C-2'), 115,3 (C-5'), 118,6 (C-6'). Tín hiệu của hai nhóm metin tại δ 81,1 và 66,5 là hoàn toàn phù hợp với vị trí C-2 và C-3 của khung flavan trong đó vị trí C-3 có đính với nhóm thế chứa oxi, nhóm CH_2 duy nhất được xác định là ở vị trí C-4. Ngoài ra phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ cũng không xuất hiện bất kì tín hiệu của nhóm thế nào chứng tỏ tất cả các nhóm thế trong phân tử đều là nhóm OH, điều này được khẳng định thêm dựa vào phổ khối lượng ESI-MS. So sánh các dữ kiện phổ (bảng PL3.2.7.10) của hợp chất **CA16** với các dữ kiện phổ của chất (+)-catechin [99] thấy có sự phù hợp hoàn toàn. Như vậy hợp chất **CA16** là (+)-catechin.



Hình 78a. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **CA16**

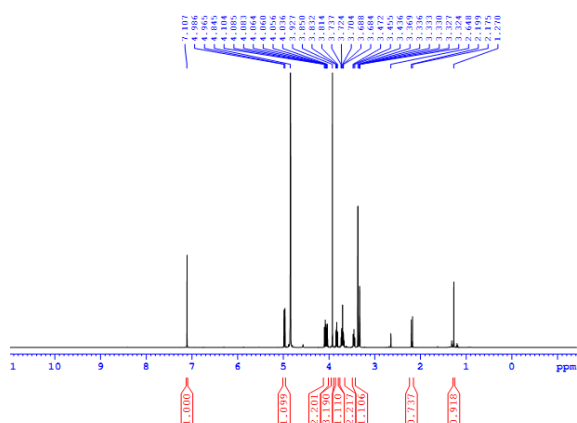


Hình 78b. Cấu trúc hóa học của **CA16**

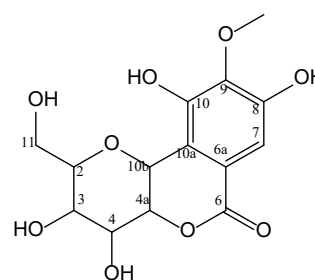
3.2.1.7.2.13. Hợp chất CA17: Bergenin

Hợp chất **CA17** thu được dưới dạng chất bột màu vàng, trên phổ $^1\text{H-NMR}$ tại vùng trường yếu xuất hiện tín hiệu của một proton olefin duy nhất có dạng singlet tại δ_{H} 7,11.

Tại vùng trường 3,45-4,97 xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho các hydro đính trực tiếp với nguyên tử cacbon mang oxi, trong đó có 5 nhóm metin và 1 nhóm metylen. Ngoài ra phổ proton còn cho thấy sự có mặt của một nhóm metoxi tại δ_H 3,93. Phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của 14 nguyên tử cacbon trong đó có một nhóm este cacbonyl tại δ_C 165.76, tín hiệu của một vòng benzen thế 5 vị trí tại δ_C 119,44 (C-6a), 111,50 (C-7), 152,35 (C-8), 142,30 (C-9), 149,45 (C-10), 117,3 (C-10a) và tín hiệu của một đơn vị đường glucose tại δ_C 74,26 (C-10b), 83,06 (C-2), 71.92 (C-3), 75,63 (C-4), 81,44 (C-4a). Phổ HMBC cho thấy tương tác giữa H-10b (δ_H 4.97) với C-10a, C-4a, giữa H-4a (δ_H 4.08) với C-10a, C-4 và tương tác giữa H-7 (δ_H 7.11) với C-6 (δ_C 165.75) đã có sự đóng vòng tạo liên kết este cacbonyl giữa C-6a của vòng benzen với C-4a của đơn vị đường. So sánh số liệu phổ (bảng PL3.2.7.11) của **CA17** với hợp chất bergenin trong tài liệu [95] thấy có sự phù hợp hoàn toàn về độ chuyển dịch hóa học tại các vị trí tương ứng. Như vậy hợp chất **CA17** được xác định là bergenin.



Hình 79a. Phổ 1H NMR của **CA17**



Hình 79b. Cấu trúc hóa học của **CA17**

Từ lá cây *Xoan nhừ* (*Choerospondias axillaris*) đã phân lập và xác định cấu trúc của 13 hợp chất, trong đó có 3 hợp chất mới: *Axillariol A* (CA5), *Axillariol B* (CA8) và *Axillariol C* (CA11). Limonoid là nhóm chất chính của loài với nhiều hoạt tính sinh học lý thú nên cần nghiên cứu sử dụng loài dược liệu này trong thời gian tới.

3.2.1.8. Nghiên cứu hóa học lá cây cường hiệp - *Aralia hiepiana*

3.3.1.8.1. Phân lập các hợp chất từ lá cây cường hiệp

Bột lá khô cây *A. hiepiana* (29,9 kg) được ngâm chiết ba lần với methanol. Chung cất dịch chiết dưới áp suất thấp ở nhiệt độ $50^{\circ}C$ thu được căn thô (618,6 g). Hòa tan căn thô trong MeOH- H_2O (1/4, v/v) và chiết phân đoạn lần lượt với hexane, chloroform và

ethyl acetate thu được các dịch chiết tương ứng và phần còn lại là dịch chiết trong MeOH/H₂O. Mỗi phân đoạn được chưng cất dưới áp suất thấp thu được phần cặn *n*-hexane (187,6 g), cặn chloroform (17,6 g), cặn EtOAc (52,3 g) và cặn nước (294,1 g).

Cặn chloroform (17,6 g) nạp vào cột silica gel, giải hấp gradien với hệ dung môi CHCl₃/MeOH (1:0→0:1) thu được 12 phân đoạn C1→C12. Từ phân đoạn C10 (177 mg) tiến hành qua cột silica gel giải hấp với hệ dung môi EtOAc/MeOH (6:1, v/v) thu được 3 phân đoạn C10A→C10C. Từ phân đoạn C10B (132 mg) tinh chế qua cột pha đảo C-18 với hệ dung môi MeOH: H₂O (1:4, v/v) thu được hợp chất **AH2** (21 mg).

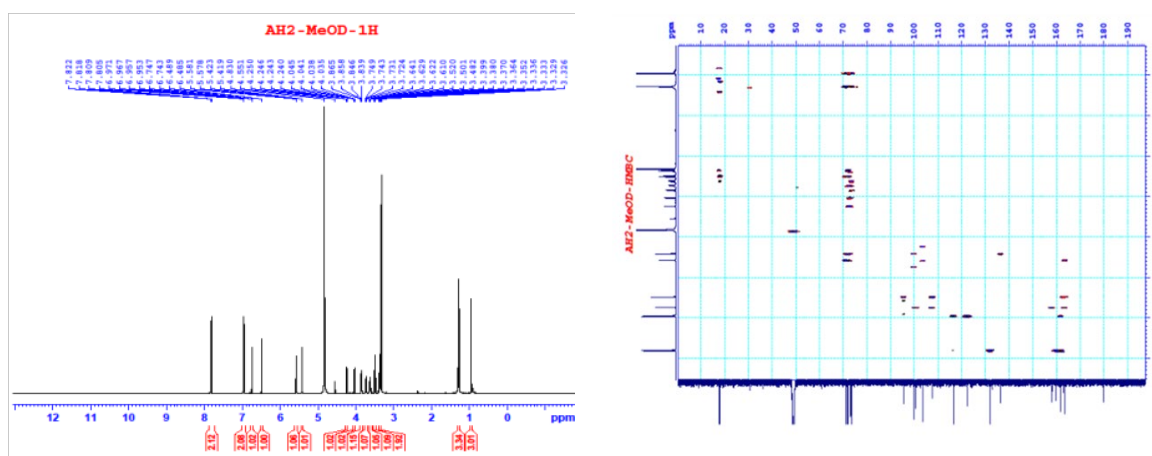
Cặn ethyl acetate (52,3g) được phân lập qua cột silica gel với hệ dung môi giải hấp gradien CHCl₃-MeOH (1:0→0:1, v/v) thu được 5 phân đoạn E1→E5. Từ phân đoạn E4 (23 g) tiến hành nạp vào cột silica gel, giải hấp với hỗn hợp dung môi CHCl₂-acetone-MeOH (10:1:1, 5:1:1, v/v/v) thu được 7 phân đoạn E4A→E4T. Phân đoạn E4E (5,4 g) tinh chế qua cột silica gel, giải hấp với hệ dung môi CH₂Cl₂-acetone (6:1, v/v) thu được hợp chất **AH4** (150 mg). Phân đoạn E4K (1,7 g) tiến hành chạy cột silica gel với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (7:1, v/v) thu được 14 phân đoạn, E4K1 → E4K14. Phân đoạn E4K6 (225 mg) tinh chế qua cột silica gel với hệ dung môi EtOAc-MeOH (10:1, v/v) thu được hợp chất **AH10** (125 mg). Phân đoạn E4P (2,2 g) phân lập qua cột silica gel với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (5:1, v/v) thu được 16 phân đoạn, E4P1→E4P6. Phân đoạn E4P2 (534 mg) tiếp tục cho qua cột silica gel với hệ dung môi EtOAc-MeOH (8:1, v/v) thu được 6 phân đoạn, E4P2A→E4P2F. Phân đoạn E4P2E (256 mg) tinh chế qua cột silica gel với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (5:1, v/v) thu được hợp chất **AH11** (173 mg). Phân đoạn E5 (30 g) tiến hành phân lập qua cột silica gel giải hấp bằng hỗn hợp CHCl₃/MeOH (1:0→0:1, v/v) thu được 8 phân đoạn E5A→E5H. Phân đoạn E5F (12 g) nạp vào cột silica gel và giải hấp với hệ dung môi *n*-hexan-EtOAc (1:1, v/v) thu được 5 phân đoạn, E5F1→E5F5. Phân đoạn E5F2 (504 mg) tiếp tục tinh chế qua cột silica gel với hệ dung môi CH₂Cl₂-acetone (15:1, v/v) và qua cột pha đảo YMC-C18 giải hấp bằng hệ dung môi MeOH-H₂O (1:2.5, v/v) thu được hợp chất **AH19** (16 mg) và hợp chất **AH20** (28 mg). Phân đoạn E5H (596 mg) tinh chế qua cột SPE với hệ dung môi gradien MeOH/H₂O (0:1→1:0) thu được hai hợp chất **AH6** (10 mg) và **AH7** (5 mg).

Phần cặn nước (294,1 g) tái hòa tan trong 1 lít nước sau đó cho qua cột Diaion với tỉ lệ dung môi MeOH-H₂O (25%→100 % MeOH) thu được 4 phân đoạn W1-W4. Phân

đoạn W2 (61 g) được nạp vào cột sắc ký silica gel, giải hấp với hệ dung môi CHCl_3 -MeOH (1:0 - 0:1, v/v) thu được 10 phân đoạn W2A→W2J. Phân đoạn W2F (9,5 g) cho qua cột sắc ký silica gel với hệ dung môi EtOAc-MeOH- H_2O (30:10:2, v/v/v) thu được 10 phân đoạn, W2F1→W2F10. Phân đoạn W2F10 (1,7 g) tiếp tục tiến hành cho qua cột Sephadex LH-20 giải hấp bằng hệ dung môi MeOH- H_2O (1:3 - 1:0, v/v) thu được 4 phân đoạn W2F10A→W2F10D. Phân đoạn W2F10C (630 mg) được tinh chế qua cột silica gel với hệ dung môi EtOAc-MeOH- H_2O (30:10:2, v/v/v) thu được hợp chất **AH15** (15 mg). Phân đoạn W2J (6,8 g) được phân lập qua cột Sephadex LH-20 với hệ dung môi MeOH- H_2O (1:3 - 1:0, v/v) thu được 5 phân đoạn W2J1→W2J5. Phân đoạn W2J2 (5,0 g) tiến hành cho qua cột CHCl_3 -MeOH (2:1 v/v) thu được 5 phân đoạn. Phân đoạn W2J2D (103 mg) được tinh chế qua cột pha đảo YMC-C18 và giải hấp với hệ dung môi MeOH- H_2O (1:1, v/v), thu được hai hợp chất **AH18** (10 mg) và hợp chất **AH22** (10 mg).

3.2.1.8.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ lá cây cường hiệp

3.2.1.8.2.1. Hợp chất **AH2**: *Kaempferitrin*

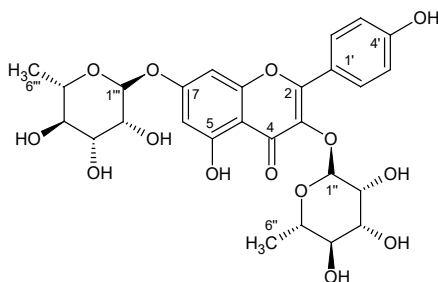


Hình 80a. Phổ NMR của hợp chất **AH2**

Hợp chất **AH2** được phân lập dưới dạng tinh thể hình kim, màu vàng. Phổ ^1H NMR của hợp chất **AH2** xuất hiện tín hiệu của 6 proton trong vùng nhân thơm, trong đó có hai cặp tín hiệu tại δ_{H} 7,81 (2H, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 6,5$ Hz) và 6,96 (2H, d, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 6,5$ Hz) và hai cặp tín hiệu tại δ_{H} 6,46 (1H, d, $J = 2,0$ Hz); 6,75 (1H, d, $J = 2,0$ Hz). Đồng thời, xác nhận tín hiệu của hai proton anomer gốc đường tại δ_{H} 5,42 (d, $J = 2,0$ Hz) và 5,58 (d, $J = 2,0$ Hz), các tín hiệu của các nhóm methine gốc đường trong vùng 4,25 - 3,38 ppm và tín hiệu của 2 nhóm methyl tại δ_{H} 0,96 (3H, d, $J = 6,0$ Hz,); δ_{H} 1,28

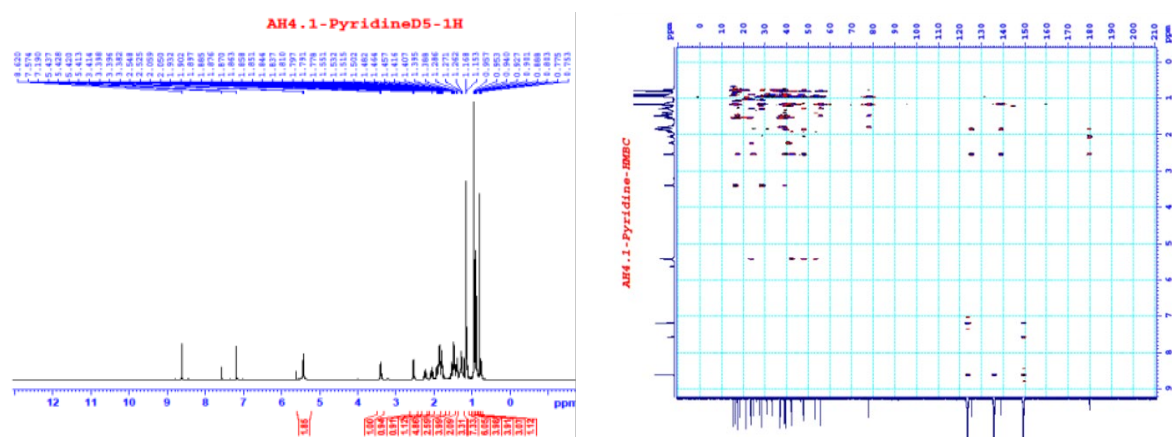
(3H, d, $J = 6,0$ Hz). Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **AH2** xuất hiện tín hiệu của 27 cacbon bao gồm 16 cacbon methine, 9 cacbon bậc bốn (trong đó có 1 cacbon carbonyl δ_{C} 179,80) và 2 nhóm methyl cho gợi ý về một hợp chất có khung flavon gắn với hai gốc đường rhamnoside.

Phổ HSQC cũng xác nhận tín hiệu tương tác giữa các tín hiệu của các proton gắn vào các cacbon tương ứng, trong đó xác nhận tín hiệu tương tác giữa hai proton anomer δ_{H} 5,42 (d, $J = 2,0$ Hz, H-1'') và δ_{H} 5,58 (d, $J = 2,0$ Hz, H-1''') lần lượt gắn vào hai cacbon có vị trí δ_{C} 103,53 (C-1''), δ_{C} 99,88 (C-1'''). Phổ HMBC xác nhận tín hiệu tương tác giữa các proton với các cacbon lân cận trong vòng thơm B như tương tác H-3'/C-5'' (δ_{C} 116,59), H-3'/C-1' (δ_{C} 122,42), H-3'/C-4' (δ_{C} 161,78); tương tác giữa proton H-2'/C-6' (δ_{C} 132,00), H-2'/C-2 (δ_{C} 159,82), H-2'/C-4' (δ_{C} 161,78) cho thấy vòng thơm B gắn vào vị trí số 2 trong khung flavone. Phổ HMBC đồng thời cũng xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton anomer H-1'' δ_{H} 5,42 (d, $J = 2,0$ Hz) với vị trí C-3 (δ_{C} 136,50) và tương tác giữa proton anomer H-1''' δ_{H} 5,58 (d, $J = 2,0$ Hz) với vị trí C-7 (δ_{C} 163,57). So sánh số liệu phổ với các dữ liệu đã được công bố [41] cho thấy hợp chất **AH2** là kaempferitrin.



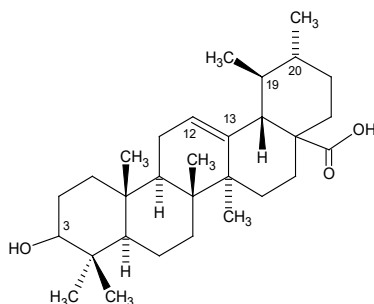
Hình 80b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AH2**

3.2.1.8.2.2. Hợp chất AH4: Acid ursolic



Hình 81a. Phổ NMR của hợp chất **AH4**

Phổ ^1H NMR của chất **AH4** mang đặc trưng của một triterpen khung ursane với sự xuất hiện tín hiệu của 7 nhóm methyl tại [δ_{H} 1,17 (s, H-23), 0,94 (s, H-24), 0,80 (s, H-25), 0,96 (s, H-26), 1,15 (s, H-27), 0,95 (s, H-29), 0,89 (s, H-30)], đồng thời xuất hiện tín hiệu của một nối đôi tại [δ_{H} 5,42 (t, $J = 4,0$ Hz, H-12)], và tín hiệu của một nhóm methine gắn với OH tại vị trí [δ_{H} 3,18 (dd, $J = 4,5, 11,0$ Hz, H-3)]. Phổ ^{13}C NMR cho thấy sự xuất hiện tín hiệu 30 cacbon trong đó gồm 7 nhóm CH, 9 nhóm CH_2 , 7 nhóm CH_3 và 7 C bậc bốn. Phổ C-NMR xác nhận sự có mặt của một nhóm carbonyl tại δ_{C} 179,87 (C-28), hai cacbon olefin của nối đôi C-12/C-13 tại δ_{C} 125,43 (C-12) và δ_{C} 138,91 (C-13) và một oxymethine cacbon tại δ_{C} 77,93 (C-3). Phổ HMBC xác nhận tín hiệu tương tác từ C-4 (δ_{C} 39,03)/H-23 (1,17 s), H-24 (0,94 s), H-3 [3,40 dd, ($J = 9,0, 7,0$)], H-1 (1,46 m, 0,87 m), tương tác H-12 [5,42 t, ($J = 4,0$)]/C-11 (δ_{C} 23,35), C-14 (δ_{C} 42,21), C-9 (δ_{C} 47,77), C-18 (δ_{C} 53,26) tương tác giữa H-29/C-19 và tương tác giữa H-16, H-18/C-28 (δ_{C} 179,87) xác nhận các mảnh cấu trúc của hợp chất **AH4**.



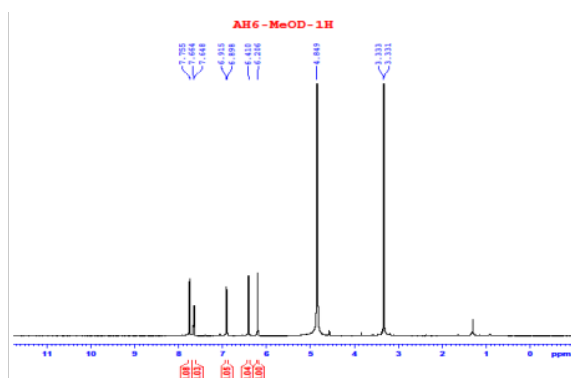
Hình 81b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AH4**

Kết hợp thông tin các phổ và so sánh với dữ liệu công bố [109] có thể kết luận hợp chất **AH4** là acid ursolic.

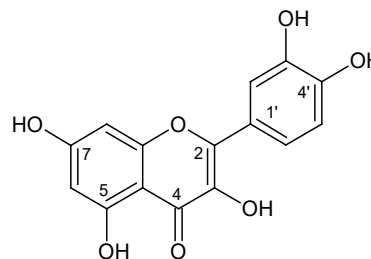
3.2.1.8.2.3. Hợp chất **AH6**: *Quercetin*

Hợp chất **AH6** phân lập dưới dạng bột màu vàng tươi. Phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu của 5 proton của vùng thơm. Trong đó, có 3 tín hiệu proton của một vòng thơm B [7,76 (1H, s, H-2'); 7,66 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-6'); 6,91 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5')]; và hai proton của vòng thơm A ở vị trí *meta* với nhau, tuy nhiên do các tương tác này có hằng số tương tác nhỏ nên các peak gần như chỉ xuất hiện peak đơn. Phổ ^{13}C NMR cho thấy tín hiệu của 15 cacbon đặc trưng cho khung flavone bao gồm 5 cacbon methine và 10 cacbon bậc bốn (trong đó có 1 nhóm carbonyl tại δ_{C} 177,53). Phổ khối ESI-MS của hợp chất **AH6** xuất hiện tín hiệu m/z 300,9 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ và m/z 303,8 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, vậy khối lượng

phân tử của hợp chất là $M = 302$ tương ứng với công thức phân tử $C_{15}H_{10}O_7$. Từ số liệu của các phổ (bảng PL3.2.8.3), kết hợp với dữ liệu công bố [39], có thể khẳng định hợp chất **AH6** là quercetin.



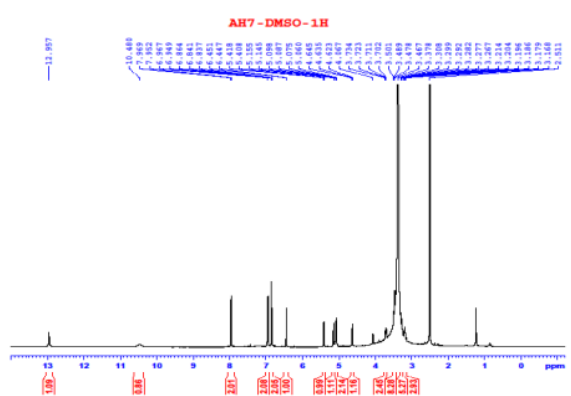
Hình 82a. Phổ ^1H NMR của **AH6**



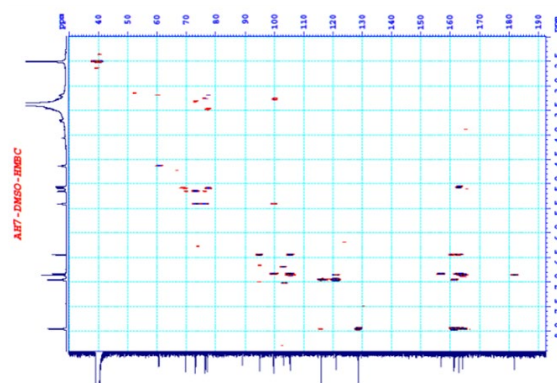
Hình 82b. Cấu trúc hóa học của **AH6**

3.2.1.8.2.4. Hợp chất **AH7**: *Apigenin 7-O- β -glucoside*

Hợp chất **AH7** phân lập dưới dạng bột màu vàng tươi. Phổ ^1H NMR xác nhận tín hiệu của peak đôi của proton nhân thơm B có tính đối xứng tại vị trí δ_{H} 7,96 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) và 6,96 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) và hai proton của nhân thơm A tại δ_{H} 6,45 (1H, d, $J = 2,0$ Hz), δ_{H} 6,84 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) và tín hiệu của một peak đơn tại δ_{H} 6,86 (1H, s). Ngoài ra, xuất hiện tín hiệu hai nhóm OH tại δ_{H} 12,96 và δ_{H} 10,48 và trong vùng tín hiệu từ δ_{H} 3,49 - 3,17 ppm xác nhận tín hiệu của các proton của các nhóm methine gốc đường và một proton anomer tại δ_{H} 5,07 (1H, d, $J = 7,5$ Hz).

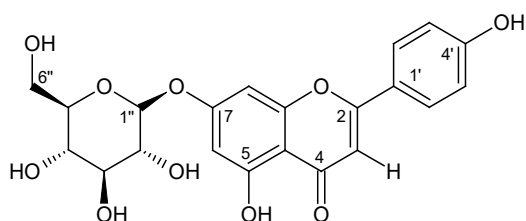


Hình 83a. Phổ NMR của hợp chất **AH7**



Phổ ^{13}C NMR cho thấy hợp chất **AH7** có 21 carbon trong đó có 1 nhóm carbonyl, 1 nhóm methylen, 14 nhóm methine, 5 nhóm carbon bậc bốn. Kết hợp phổ cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều HSQC và HMBC cho thấy **AH7** thuộc nhóm flavone và là dẫn xuất của apigenin. Phổ HSQC xác định proton anomer của gốc đường tại vị trí δ_{H} 5,07 (1H,

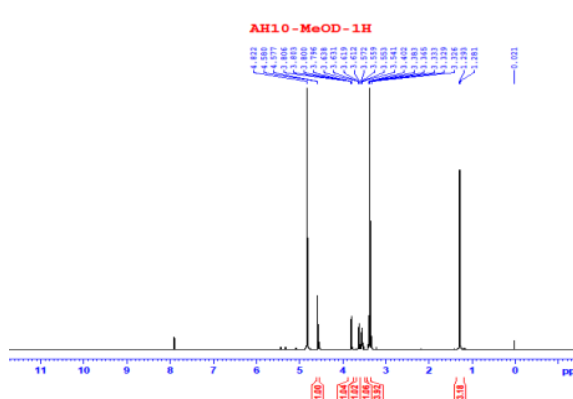
d, $J = 7,5$ Hz) gắn với C1'' (δ_C 99,93). Mặt khác, phổ ^{13}C -NMR kết hợp phổ DEPT xác nhận tín hiệu của các nhóm methine của gốc đường ở các vị trí δ_C 73,11, δ_C 77,17, δ_C 69,58, δ_C 76,44 và δ_C 60,61 chứng tỏ trong phân tử có một đơn vị đường glucose có 6 cacbon. Đồng thời, trên phổ HMBC xác nhận tín hiệu tương tác giữa proton anomer của gốc đường H1'' (δ_H 5,07 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) tương tác với vị trí C7 (δ_C 162,97) của khung flavone, nên gốc đường gắn vào vị trí cacbon C-7 với cấu dạng β . Phổ khối ESI-MS của hợp chất **AH7** xuất hiện tín hiệu m/z 430,9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, vậy khối lượng phân tử của hợp chất là $M = 432$ tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$. Từ các dữ liệu về phổ và kết hợp với tài liệu tham khảo [38], kết luận chất **AH7** là apigenin 7- O - β -D-glucopyranoside, có công thức phân tử là $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$.



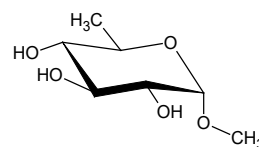
Hình 83b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AH7**

3.2.1.8.2.5. Hợp chất **AH10**: Methyl α -L-rhamnopyranoside

Phổ ^1H NMR của hợp chất **AH10** xuất hiện tín hiệu của các tín hiệu đặc trưng của gốc đường rhamnopyranoside, với proton anomer tại δ_H 4,58, d, $J = 1,5$ Hz, H-1 điều đó cho thấy gốc đường ở cấu dạng α , các nhóm methin gốc đường xuất hiện trong vùng [δ_H 3,80 (1H, dd, $J = 1,5, 3,0$ Hz, H-2), 3,63 (1H, dd, $J = 3,0, 9,5$ Hz), 3,39 (1H, d, $J = 9,5$ Hz), 3,56 (1H, m, H-4), 3,67 (3H, s, H-6)], tín hiệu của một nhóm methoxy tại δ_H 1,29, d, $J = 6,0$ Hz.



Hình 84a. Phổ ^1H NMR của **AH10**

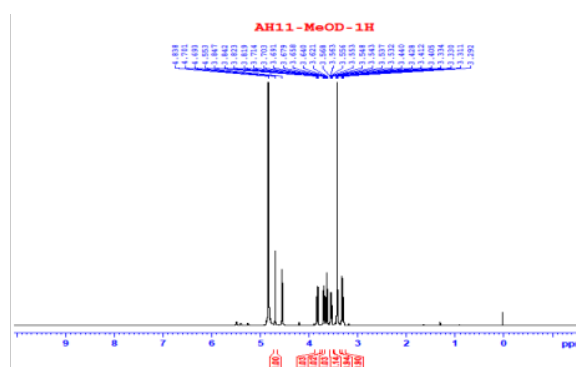


Hình 84b. Cấu trúc hóa học của **AH10**

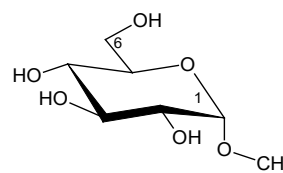
Phổ ^{13}C NMR kết hợp phổ DEPT của hợp chất **AH10** xuất hiện tín hiệu của 7 carbon trong đó bao gồm 5 methine, 1 methyl và 1 methoxy. Tín hiệu của gốc đường rhamnoside xuất hiện tại δ_{C} 102,75 (C-1), 72,13 (C-2), 72,40 (C-3), 73,94 (C-4), 69,57 (C-5), 17,96 (C-6), nhóm methoxy xuất hiện tại δ_{C} 55,10 (OCH_3). Kết hợp thông tin các phổ (bảng PL3.2.8.5) có thể kết luận hợp chất **AH10** là Methyl α -L-rhamnopyranoside.

3.2.1.8.2.6. Hợp chất **AH11**: Methyl α -D-glucopyranoside

Phổ ^1H NMR xuất hiện tín hiệu đặc trưng của gốc đường glucopyranoside với proton anomer tại δ_{H} 4,70 (1H, d, $J = 4,0$ Hz, H-1) và tín hiệu của các nhóm methine tại 3,41 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-2), 3,64 (1H, dd, $J = 9,5, 9,5$ Hz, H-3), 3,31 (1H, dd, $J = 9,5, 9,5$ Hz, H-4), 3,55 m (H-5), 3,83 (1H, dd, $J = 2,0, 12,0$, H_a-6), 3,83 (1H, dd, $J = 5,5, 12,0$, H_b-6), và nhóm methoxy tại δ_{H} 3,42 (3H, s, OCH_3). Phổ ^{13}C NMR và DEPT xuất hiện tín hiệu 7 carbon trong đó gồm 5 carbon methine, 1 carbon methyl và 1 nhóm methoxy, tín hiệu của gốc đường xuất hiện tại δ_{C} 101,22 (C-1), 71,76 (C-2), 73,52 (C-3), 73,49 (C-4), 75,11 (C-5), 62,67 (C-6) và nhóm methoxy tại δ_{C} 55,55 (OCH_3). Từ thông tin các phổ có thể kết luận hợp chất **AH11** là Methyl α -D-glucopyranoside.



Hình 85a. Phổ ^1H NMR của **AH11**

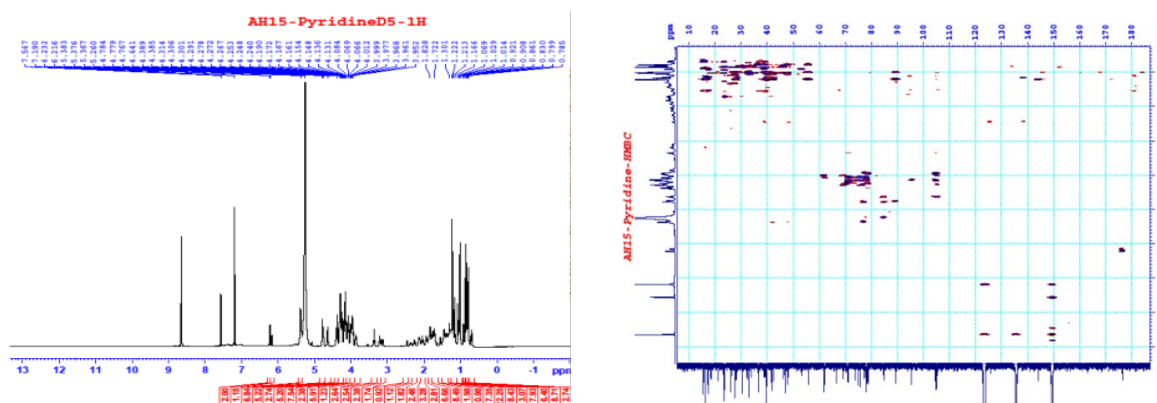


Hình 85b. Cấu trúc hóa học của **AH11**

3.2.1.8.2.7. Hợp chất **AH15**: Araliasaponin IV

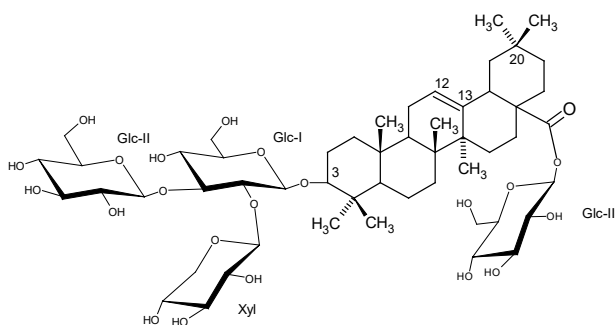
Hợp chất **AH15** phân lập dưới dạng bột màu trắng. Phổ khối phân giải cao cho tín hiệu $[\text{M}+\text{Na}] m/z$ 1097,5513 (tính toán lý thuyết 1097,5503 của $\text{C}_{53}\text{H}_{86}\text{O}_{22}\text{Na}$) cho phép dự đoán công thức phân tử của hợp chất **AH15** là $\text{C}_{53}\text{H}_{86}\text{O}_{22}$. Phổ ^1H NMR của hợp chất **AH15** xuất hiện tín hiệu của 7 nhóm methyl tại δ_{H} 1,21 (s, H-23), 1,01 (s, H-24), 0,80 (s, H-25), 1,03 (s, H-26), 1,22 (s, H-27), 0,86 (s, H-29), 0,83 (s, H-30), tín hiệu của một nhóm olefinic xuất hiện tại (δ_{H} 5,38 m, H-12). Đồng thời xuất hiện tín hiệu của proton anomer của 4 gốc đường tại [$(\delta_{\text{H}}$ 4,76 d, $J = 7,5$ Hz, H-1', glc), (δ_{H} 5,37 d, $J = 8,0$ Hz,

H-1'', xyl), (δ_H 5,22 d, $J = 8,0$ Hz, H-1''', glc) và (δ_H 6,22 d, $J = 8,0$ Hz, glc), các nhóm methin gốc đường xuất hiện trong vùng 4-3 ppm.



Hình 86a. Phổ NMR của hợp chất **AH15**

Phổ ^{13}C NMR của hợp chất **AH15** xuất hiện tín hiệu của một nhóm carbonyl δ_C 176,49 một cặp proton olefinic tại δ_C 122,73 (C-12) và 144,00 (C-13), tín hiệu của carbon anomer gốc đường δ_C 105,20 (C-1', glc), 104,63 (C-1'', xyl), 104,97 (C-1''', glc) và δ_C 95,55 (C-1''', glc), tín hiệu của 7 nhóm methyl tại δ_C 27,66 (C-23), 16,34 (C-24), 15,38 (C-25), 17,29 (C-26), 25,94 (C-27), 32,96 (C-29) và 23,62 (C-30). Qua thông tin các phổ có thể dự đoán hợp chất **AH15** có cấu trúc khung olean-12-en và 4 gốc đường. Phổ HMBC của hợp chất **AH15** xác nhận tín hiệu tương tác giữa các gốc đường với khung aglycone, tương tác giữa proton anomer δ_H 4,76 (H-1', glc-I) với carbon C-3 (δ_C 89,32), chứng tỏ gốc đường thứ nhất gắn vào vị trí C-3 của khung olean, tương tác giữa proton anomer δ_H 5,37 (H-1'', xyl) với carbon C-2, glc (δ_C 77,11) xác nhận gốc đường thứ 2 gắn vào vị trí C-2 của gốc đường thứ nhất, tương tác giữa proton anomer δ_H 5,22 (H-1''', glc-II) và carbon C-3' (δ_C 84,77, glc) xác nhận gốc đường Glc-II gắn vào vị trí C-3 của gốc đường Glc-I. Như vậy, ở vị trí C-3 của khung olean sẽ có liên kết với các gốc đường ([xyl (1 \rightarrow 2)]-[glc (1 \rightarrow 3)] glc). Bên cạnh đó proton anomer của gốc đường Glc-III tại δ_H 6,22 (H-1''', glc) xác nhận tín hiệu tương tác với C-28 (δ_C 176,46).

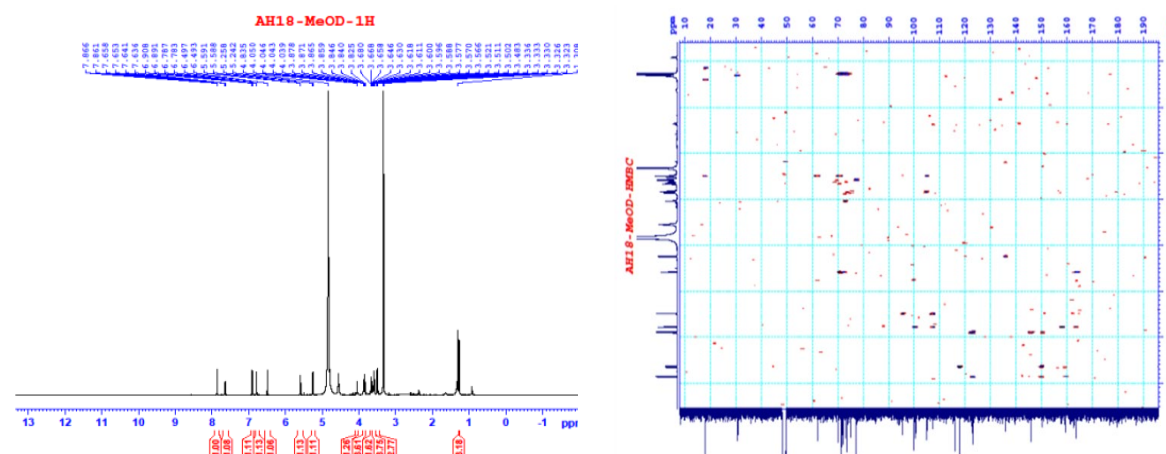


Hình 86b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AH15**

Kết hợp thông tin các phổ và tài liệu tham khảo [85], hợp chất **AH15** được xác định là Araliasaponin IV.

3.2.1.8.2.8. Hợp chất **AH18**: Quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside-7-O- α -L-rhamnopyranoside

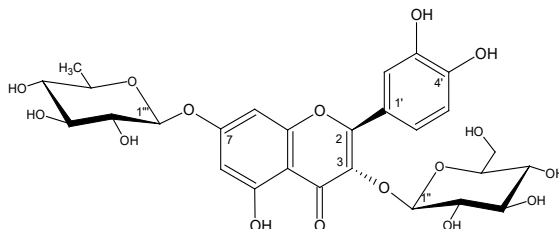
Hợp chất **AH18** phân lập dưới dạng bột màu vàng. Phổ ESI-MS chế độ positive ở m/z 611 $[M+H]^+$ và chế độ negative m/z 609 $[M-H]^-$ cho phép xác định công thức phân tử của hợp chất là $C_{27}H_{30}O_{16}$. Phổ 1H NMR của hợp chất **AH18** xác nhận tín hiệu của 2 proton vòng thơm A dạng AX tại $[\delta_H$ 6,79 (d, $J = 2,0$ Hz, H-8) và 6,50 (d, $J = 2,0$ Hz, H-6)] và 3 proton của một vòng thơm B dạng ABX [δ_H 7,86 (d, $J = 2,5$ Hz, H-2'), 7,65 (dd, $J = 2,5, 8,5$ Hz, H-6') và 6,90 (d, $J = 8,5$ Hz, H-5')]. Tín hiệu của hai proton r xuất hiện tại δ_H 5,59 (d, $J = 1,5$ Hz, H-1''') và 5,25 (d, $J = 8,0$ Hz, H-1'').



Hình 87a. Phổ NMR của hợp chất **AH18**

Phổ ^{13}C NMR kết hợp phổ DEPT của hợp chất **AH18** xác nhận sự có mặt của 27 cacbon trong đó bao gồm 1 cacbon carbonyl tại δ_C 179,75 (C-4), 9 cacbon bậc bốn, 7 methin, 8 oxymethine, 1 oxymethylen và 1 methyl cacbon. Tín hiệu proton anomer của hai gốc đường δ_H 5,59 (d, $J = 1,5$ Hz, H-1''') và 5,25 (d, $J = 8,0$ Hz, H-1'') tương ứng với tín hiệu cacbon anomer δ_C 99,93 và 105,04 trên phổ HSQC, đồng thời với hằng số tương tác $J = 1,5$ Hz và $J = 8,0$ Hz có thể xác định cấu dạng của hai gốc đường là α và β . Dựa trên thông tin phổ 1H NMR và ^{13}C NMR có thể dự đoán hợp chất **AH18** có cấu trúc aglycon là quercetin và hai gốc đường α -L-rhamnopyranoside và β -D-glucopyranoside. Phổ HMBC của hợp chất **AH18**, xác nhận tín hiệu tương tác của proton anomer tại δ_H 5,25 (H-1'') của gốc Glc tương tác với vị trí δ_C 135,98 (C-3) của khung alycon và proton anomer δ_H 5,59 (H-1''') của gốc Rha với vị trí C-7 (δ_C 163,68),

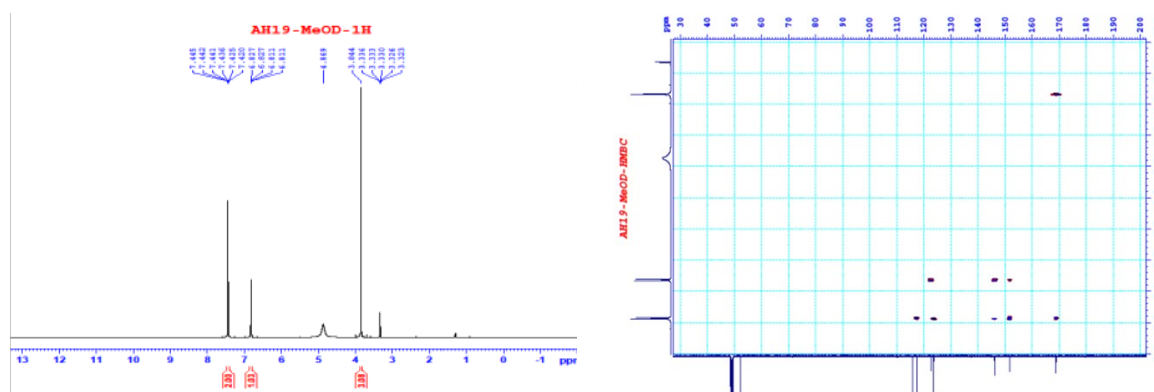
điều đó chứng tỏ gốc đường glucopyranoside gắn vào vị trí C-3 và gốc đường rhamnopyranoside gắn vào vị trí C-7 của khung aglycon. Từ thông tin các phổ kết hợp so sánh dữ liệu công bố [68], xác nhận **AH18** là quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside-7-O- α -L-rhamnopyranoside.



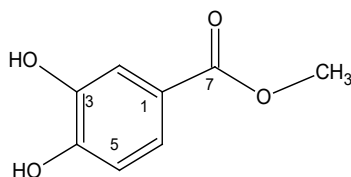
Hình 87b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AH18**

3.2.1.8.2.9. Hợp chất **AH19**: Methyl 3,4-dihydroxybenzoate

Phổ ^1H NMR của hợp chất **AH19** xuất hiện tín hiệu của 3 proton của một vòng thơm với dạng ABX [δ_{H} 7,44 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 7,43 (1H, dd, $J = 2,0, 8,0$ Hz, H-6), 6,81 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5)] và một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,84 (3H, s, $-\text{OCH}_3$). Phổ ^{13}C NMR và phổ DEPT của hợp chất **AH19** xác nhận tín hiệu của 8 carbon trong đó bao gồm 1 carbon carbonyl tại δ_{C} 168,86, hai carbon gắn với nhóm hydroxyl trong vòng thơm δ_{C} 146,15 và 151,67, 4 carbon methine δ_{C} 123,63, 122,6, 117,42, và 115,85, 1 carbon methoxy tại δ_{C} 52,22. Dựa trên thông tin các phổ và tài liệu tham khảo [98] cho thấy hợp chất **AH19** là Methyl 3,4-dihydroxybenzoate.



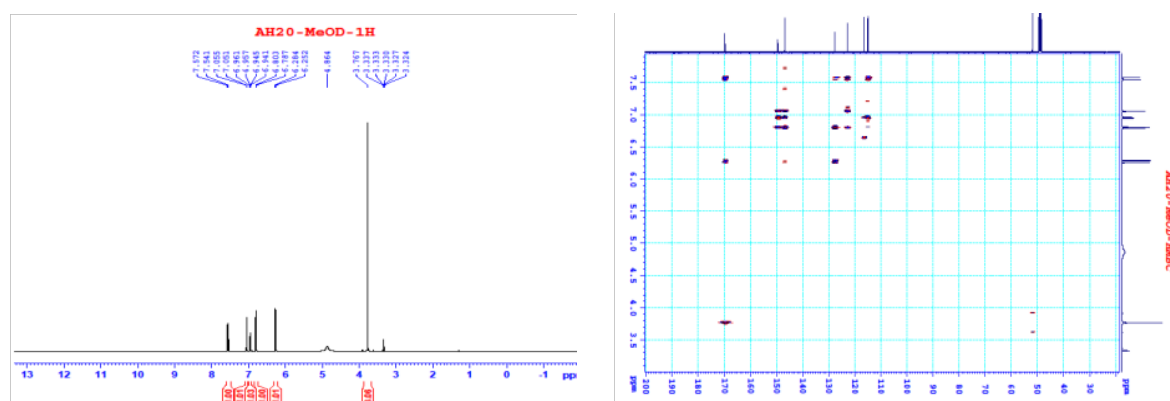
Hình 88a. Phổ NMR của **AH19**



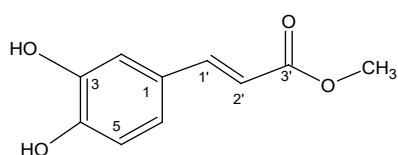
Hình 88b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AH19**

3.2.1.8.2.10. Hợp chất AH20: Methyl caffeate

Hợp chất **AH20** phân lập dưới dạng bột, màu trắng. Phổ ^1H NMR của hợp chất **AH20** xuất hiện tín hiệu của các proton trong vùng thơm [δ_{H} 7,05 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,95 (1H, d, $J = 2,0, 8,0$ Hz, H-6), 6,79 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5)], một cặp proton olefinic tại [δ_{H} 7,55 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-7), 6,26 (1H, d, $J = 16,0$ Hz, H-8)], và tín hiệu của một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,77 (3H, s, OCH_3). Phổ ^{13}C NMR và phổ DEPT của hợp chất **AH20** xuất hiện tín hiệu của 10 carbon trong đó bao gồm 5 carbon methine, 4 carbon bậc bốn và 1 carbon methoxy. Phổ HMBC xác nhận tín hiệu tương tác giữa tương tác giữa H-1' (δ_{H} 7,55 d, $J = 16,0$ Hz)/C-2' (δ_{C} 114,85), C-1 (δ_{C} 127,70), C-2 (δ_{C} 115,15), C-3' (δ_{C} 168,86) và H-2' (δ_{H} 6,26 d, $J = 16,0$ Hz)/ C-1 (δ_{C} 127,70), C-3' (δ_{C} 168,86), C-3 (δ_{C} 146,77). Từ thông tin các phổ và tài liệu tham khảo [35], có thể thấy hợp chất **AH20** là methyl caffeate với công thức phân tử $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$.



Hình 89a. Phổ NMR của hợp chất **AH20**

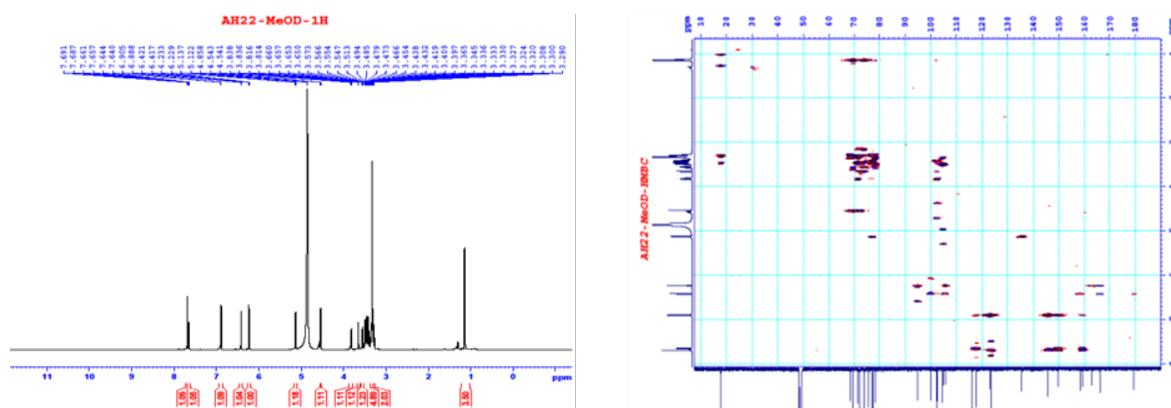


Hình 89b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AH20**

3.2.1.8.2.11. Hợp chất AH22: Rutin

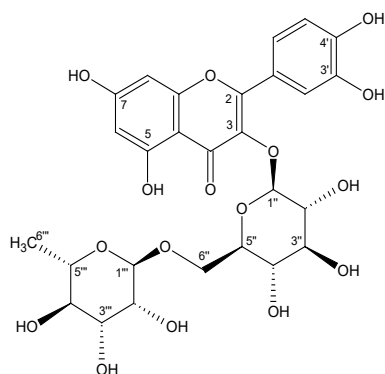
Hợp chất **AH22** phân lập được ở dạng bột màu vàng. Trên phổ ^1H -NMR xác định 3 tín hiệu proton của một vòng thơm có hệ tương tác ABX [δ_{H} 7,69 (d, $J = 2,0$ Hz, H-2'); 7,65 (dd, $J = 2,0; 8,5$ Hz, H-6') và δ_{H} 6,90 (d, $J = 8,5$ Hz, H-5')] cùng với 2 proton thơm của một vòng thơm bị thế 4 vị trí [δ_{H} 6,23 (d, $J = 2,0$ Hz) và δ_{H} 6,42 (d, $J = 2,0$ Hz)], và tín hiệu của một nhóm methyl tại δ_{H} 1,14 (d, $J = 6,0$ Hz). Ngoài ra trên phổ ^1H -NMR còn xuất hiện tín hiệu của 2 proton anomer [δ_{H} 5,13 (d, $J = 7,5$ Hz) và δ_{H} 4,54 (d,

$J = 1,0 \text{ Hz}$] cho thấy hợp chất chứa 2 đơn vị đường và các proton của gốc đường nằm ở vị trí δ_{H} từ 3-5 ppm. Phổ ^{13}C NMR và phổ DEPT xác định sự có mặt của 27 cacbon bao gồm 10 tín hiệu cacbon bậc bốn và 15 tín hiệu nhóm methine, một tín hiệu methylen và một tín hiệu methyl cho ta nhận định hợp chất gồm một khung flavone (15 C) và hai gốc đường (12 C). Trên phổ ^{13}C NMR xuất hiện tín hiệu của một cacbon carbonyl tại δ_{C} 179,43 (C-4), 6 tín hiệu cacbon bậc bốn mang oxy [δ_{C} 135,63 (C-3), 162,99 (C-5), 166,04 (C-7), 159,34 (C-9), 145,85 (C-3') và 149,81 (C-4')] và 2 tín hiệu cacbon bậc bốn khác tại δ_{C} 105,64 (C-10) và δ_{C} 123,14 (C-1'). Tín hiệu của 5 nhóm methine thơm cũng thể hiện trên phổ ^{13}C -NMR tại [δ_{C} 99,98 (C-6), 94,90 (C-8), 117,70 (C-2'), 116,08 (C-5') và 123,56 (C-6')].



Hình 90a. Phổ NMR của hợp chất **AH22**

Phổ ^{13}C NMR xác nhận các tín hiệu của 2 cacbon anomer δ_{C} 104,69 (C-1'') và δ_{C} 102,40 (C-1''') và 8 nhóm methine mang oxy của gốc đường δ_{C} 69,70-78,18 ppm cùng với một nhóm methylen mang oxy tại δ_{C} 68,55 (C-6'') và một nhóm methyl ở δ_{C} 17,86 (C-6''') kết hợp với các số liệu trên phổ ^1H -NMR khẳng định sự có mặt của 2 đơn vị đường β -glucopyranoside và α -rhamnopyranoside. Phổ HMBC cho thấy các tương tác của H-2' với C-2 (δ_{C} 158,52)/C-1' (δ_{C} 123,14)/C-3' (δ_{C} 145,85)/C-4' (δ_{C} 149,81), H-5' tương tác với C-2 (δ_{C} 158,52)/C-1' (δ_{C} 123,14)/C-3' (δ_{C} 145,85)/C-4' (δ_{C} 149,81). Điều này cho thấy C-1' gắn với vị trí C-2 trên khung flavone. Tương tác của proton anomer H-1'' với các cacbon C-3 (δ_{C} 135,63)/C-5' (δ_{C} 116,07), tương tác giữa H-1''' với các cacbon C-6'' (δ_{C} 68,56)/C-5''' (δ_{C} 69,71)/C-3''' (δ_{C} 72,25) khẳng định rằng gốc đường thứ nhất gắn tại vị trí C-3, và gốc đường thứ hai gắn với vị trí C-6''.



Hình 90b. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AH22**

Phổ khối ESI-MS của hợp chất **AH22** cho các mảnh $m/z = 609,1 [M-H]^-$, $611,0 [M+H]^+$ tương ứng với công thức phân tử $C_{27}H_{30}O_{16}$. Sau khi tổng hợp các số liệu phổ và so sánh với số liệu phổ ^{13}C NMR (125 MHz) công bố [99], hợp chất **AH22** được xác định là rutin.

Từ lá cây *Cuồng hiệp (Aralia hiepiana)* đã phân lập và xác định cấu trúc của 10 hợp chất, thuộc về các nhóm chất flavonoid glycoside, triterpenoid, saponin, đường... trong đó các hợp chất acid triterpenoid và saponin chiếm hàm lượng cao là nhóm chất quan trọng cần nghiên cứu sử dụng loài dược liệu này trong thời gian tới.

3.2.1.9. Kết luận

Tổng hợp các kết quả nghiên cứu của 09 loài dược liệu trình bày trong bảng tổng hợp (bảng 3.2.9), cụ thể như sau:

Bảng 3.2.9. Tổng hợp kết quả phân lập các hợp chất từ 09 loài nghiên cứu

STT	Mã số	Tên hợp chất	Ghi chú
		<i>Atisô - Cynara scolymus</i>	
1	CS1	Cynaratriol	
2	CS3	Deacylcynaropicrin	
3	CS4	Sesquilignan glycoside của pinoresinol	chất mới
4	CS5	Eucommin A	
5	CS10	Cynaropicrin	
6	CS12	4 β ,15-dihydro-3-dehydrosolstitialin A	
7	CS14.1	3 β ,8 α ,11 α ,13-tetrahydroxy-10(14)-guaiaen-1 α ,4 β ,5 α ,6H β -6 α ,12-olide	
8	CS14.2	3 β ,8 α ,11 α ,13-tetrahydroxy-4(15),10(14)-guaiaen-1 α ,4 β ,5 α ,6H β -6 α ,12-olide	
9	CS15	Citroside B	
10	CS16	Isolipidiol	
		<i>Sâm cau - Curculigo orchiodes</i>	
11	CO1	Orcinol	

12	CO2	Glyceryl monosterate	
13	CO4	Curculigoside	
14	CO5	2,6-dimethoxy benzoic acid	
15	CO6	Methyl 2,4-dihydroxybenzoate	
16	CO7	Curculigoside C	
17	CO8	Orcinol glucoside	
18	CO9	(+)-Episyringaresinol	
19	CO11	β -sitosterol	
<i>Đảng sâm - Codonopsis javanica</i>			
20	CJ1	Syringin	
21	CJ2	Corchoionoside C	
22	CJ3	Tangshenoside II	
23	CJ6.1	Benzyl- α -L-arabinopyranosyl (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside	
24	CJ6.2	Codobenzyloside	chất mới
25	CJ9	Tryptophan	
26	CJ10	Tangshenoside I	
27	CJ12	Tangshenoside V	
28	CJ19	Lobetyolin	
29	CJ20	Tangshenoside VI	
30	CJ25	1-octenyl-3-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranoside	
31	CJ27	Codojavanoside A	chất mới
32	CJ29	Codojavanoside B	chất mới
33	CJ31	Codojavanoside C	chất mới
34	CJ33	Lobetyol	
35	CJ37	Codojavanyol	chất mới
<i>Đương quy Trung Quốc – Angelica sinensis</i>			
36	AS1	Riligustilide	
37	AS4	Daucosterol	
38	AS5	5-(Hydroxymethyl)furfural	
39	AS7	Senkyunolide I	
40	AS8	Falcarindiol	
41	AS9	n-Hexadecan	
42	AS10	Methyl linoleate	
43	AS11	Linoleic acid	
44	AS12	Glyceryl monolinoleate	
	AS13	Glyceryl monosterate	CO2
<i>Đương quy Nhật Bản – Angelica acutiloba</i>			
	AC3	Methyl linoleate	AS10
45	AC5	(Z)-3-butylidenphthalide	
	AC6	Riligustilide	AS1
46	AC7	Acid palmitic	
47	AC9	Acid ferulic	

	Sa nhân tím - <i>Amomum longiligulare</i>		
48	SN3	Quercitrin	
49	SN8	(1R,2S,4S,5R)-angelicoidenol 2-O-β-D-glucopyranoside	
50	SN9	(1S,2S,4R,6S)-bornane-2,6-diol 2-O-β-D-glucopyranoside	
51	SN11	(1R,2S,4R,7S)-vicodiol 9-O-β-D-glucopyranoside	
52	SN14	(+)-pinoresinol	
53	SN15	epi-catechin	
54	SN16	Catechin	
	Đinh lăng - <i>Polyscias fruticosa</i>		
	PF2	Glyceryl monostearate	CO2
55	PF3	Quercetin	
	PF4	Falcarindiol	AS8
56	PF5	Thymine	
57	PF6	Stigmasterol	
	PF7	Daucosterol	AS4
58	PF8	3-O-[β-D-glucopyranosyl (1-3)]-O-L-β-arabinofuranosyl oleanolic 28-O-β-D-glucopyranosyl ester	
59	PF9	Quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside	
60	PF10	Araliasaponin IV	
	Xoan nhừ - <i>Choerospondias axillaris</i>		
61	CA1	Surenolactone	
62	CA2	Toonayunnanin I	
63	CA3	Ouabanginone	
64	CA4	Toonaciliatin H	
65	CA5	Axillariol A	Chất mới
66	CA7	Toonaciliatin D	
67	CA8	Axillariol B	Chất mới
68	CA9	Toonaciliatin O	
69	CA10	dehydrodiconiferyl alcohol	
70	CA11	Axillariol C	Chất mới
71	CA12	Toonaciliatin N	
	CA16	Catechin	SN16
72	CA17	Bergenin	
	Cuồng hiệp - <i>Aralia hiiepiana</i>		
73	AH2	Kaempferitrin	
74	AH4	Acid ursolic	
	AH6	Quercetin	PF3
75	AH7	Apigenin 7-O-β-glucoside	
76	AH10	Methyl α-L-rhamnopyranoside	
77	AH11	Methyl α-D-glucopyranoside	

	AH15	Araliasaponin IV	PF10
	AH18	Quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside-7-O- α -L-rhampyranoside	PF9
78	AH19	Methyl 3,4-dihydroxybenzoate	
79	AH20	Methyl caffeate	
80	AH22	Rutin	

Từ 09 loài dược liệu cho thấy đề tài đã phân lập được 80 hợp chất trong đó có 9 hợp chất mới, từ đó có thể lựa chọn một số chất chỉ thị để tiếp tục xây dựng các phương pháp phân tích. Như vậy, với các loài dược liệu đã được nghiên cứu, sử dụng phổ biến trong thời gian qua vẫn có thể phát hiện được nhiều hợp chất mới để góp phần gia tăng giá trị sử dụng của chúng.

3.2.2. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong một số loài dược liệu chủ lực

Việc chọn lựa chất chỉ thị cho các loài nghiên cứu được thực hiện lần lượt trên cơ sở nghiên cứu dược điển, kết quả nghiên cứu thành phần hóa học các loài dược liệu, kết quả phân tích một số chất từ các loài dược liệu.

Các Dược điển được sử dụng bao gồm: Dược điển Việt Nam V (2017), Dược điển Trung Quốc (2015), Dược điển Anh, Dược điển châu Âu, Dược điển quốc tế (WHO), Dược điển Ấn Độ, Dược điển Nhật Bản, Dược điển Mỹ.

Từ các kết quả nghiên cứu hóa học, chúng tôi đã chọn 6 loài dược liệu để nghiên cứu, phát triển ở Tây Nguyên: Actiso (*Cynara scolymus*), Sa nhân tím (*Amomum longiligulare*), Đương quy (*Angelica sinensis*), Sâm cau (*Curculigo orchioides*), Đẳng sâm (*Codonopsis javanica*). Cho nên việc chọn lựa chất chỉ thị tập trung trên những đối tượng này.

3.2.2.1. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu sâm cau – *Curculigo orchioides* Gaertn.

Theo Dược điển Việt Nam V không xác định chất chỉ thị cho loài Sâm cau (*Curculigo orchioides*) này. Các kết quả nghiên cứu của đề tài đã phân lập được chất có hoạt tính chính là curculigoside, cùng với nhiều hợp chất khác trong đó có 2,6-dimethoxybenzoic acid.

Do đó, chúng tôi chọn chất chỉ thị cho sâm cau là curculigoside, 2,6-dimethoxybenzoic acid.

3.2.2.1.1. Xây dựng phương pháp định lượng Curculigoside

3.2.2.1.1.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích Curculigoside bằng HPLC

Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích curculigoside trên hệ thống HPLC như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.
- Detector DAD.
- Cột sắc ký Hypersil BDS-C18 (Agilent, 5 μ m, 4 x 125 mm).
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 5 μ L.

- Tốc độ dòng: 0,5mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 254 nm.
- Pha động: Acetonitrile (A), acid acetic 1% (B), nước (C).
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B/C: 10/10/80%), 20 phút (A/B/C: 90/10/0%), 25 phút (A/B/C: 10/10/80%).

3.2.2.1.1.2. Tính chọn lọc

Tiến hành phân tích theo các điều kiện sắc ký đã lựa chọn với mẫu trắng, mẫu thử, mẫu chất chuẩn và mẫu trắng có thêm chất chuẩn. Kết quả thu được như sau:

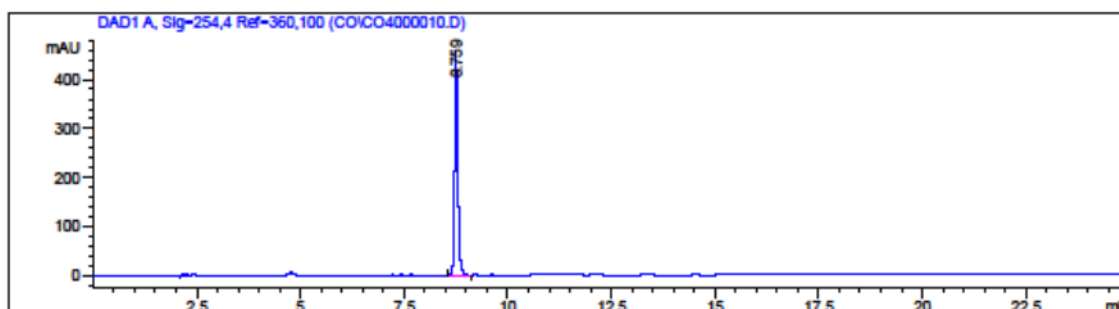
- Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện các pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của Curculigoside.

- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn.

- Mẫu trắng thêm chuẩn: thời gian lưu của Curculigoside là giống nhau, đồng thời các pic này cũng có phổ giống nhau.

- Thời gian lưu tương đối của Curculigoside là 8,76 phút (hình 85a).

Các kết quả thu được cho thấy phương pháp có độ chọn lọc tốt, pic của Curculigoside tách biệt rõ ràng với các pic khác trong mẫu thử là dịch chiết của sâm cau.



Hình 91a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn Curculigoside

3.2.2.1.1.3. Khoảng tuyến tính

Lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC chạy bằng phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của curculigoside. Số liệu được trình bày trong bảng 3.2.10a.

Bảng 3.2.10a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của curculigoside

STT	Nồng độ curculigoside (ng/μL)	Diện tích pic
1	10	26,6325
2	50	127,2281
3	100	339,6464
4	500	1633,3832
5	1000	3161,8174
6	2500	7927,0156
Phương trình hồi quy		Y= 3,1704 X +4,4659
Hệ số tương quan		R ² = 0,9999

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số R²= 0,9999.

3.2.2.1.1.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch Curculigoside pha loãng từ dung dịch chuẩn curculigoside 1 mg/mL vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc kí đồ thu được kết quả trong bảng 3.2.10b. Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với phổ UV của Curculigoside thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.10b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Curculigoside

Nồng độ (ng/μL)	1000	500	100	50	10	5
Diện tích pic	2582,7	1592,9	300,76	105,17	21,682	Không đáp ứng
Chiều cao pic	457,02	289,04	55,17	19,237	4,103	Không đáp ứng

Vậy giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp là LOD = 10 ng/μL và LOQ = 33,3 ng/μL.

3.2.2.1.1.5. Độ lặp lại

Khảo sát các thông số: số đĩa lý thuyết (N), thời gian lưu (RT), diện tích pic (S), hệ số kéo đuôi (tailing factor) của mẫu Curculigoside 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với các giá trị RSD < 3% thể hiện ở bảng 3.2.10c. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.10c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Curculigoside

STT	Thời gian lưu	Diện tích pic	Số đĩa lý thuyết	Hệ số kéo đuôi
1	8,774	1115,972	63947	1,169
2	8,747	1140,412	64869	1,166
3	8,744	1167,690	67591	1,165
4	8,756	1108,939	65002	1,146
5	8,747	1119,011	64871	1,172
6	8,772	1139,721	68020	1,153
Trung bình	8,757	1131,957	65717	1,162
RSD (%)	0,152	1,920	2,537	0,884

3.2.2.1.1.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu cần chiết sâm cau có chứa Curculigoside (CO-E) theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử Curculigoside theo bảng 3.2.10d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm, kết quả thể hiện ở bảng 3.2.10e.

Bảng 3.2.10d. Nồng độ mẫu thử CO-E

STT	Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ (ng/μL)	Nồng độ trung bình (ng/μL)
1	$Y = 3,1704X + 4,4659$	844,139	264,848	264,809
2		837,533	262,764	
3		850,378	266,815	

Bảng 3.2.10e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi

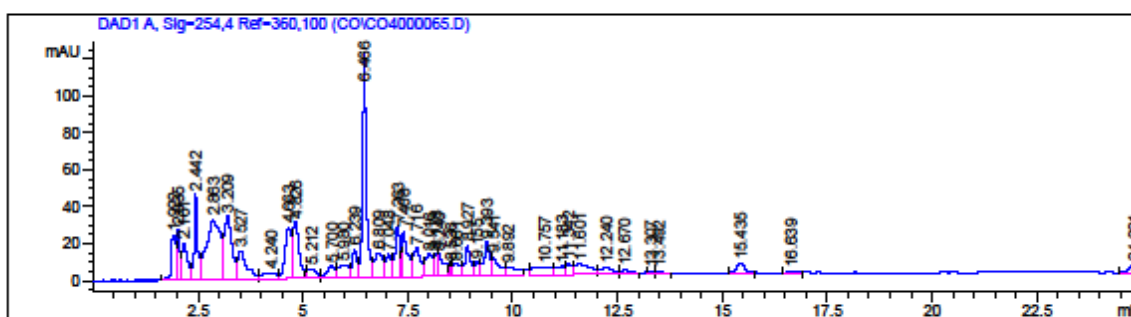
S T T	Lượng chất trong mẫu thử (ng/μL)	Lượng chất chuẩn thêm vào (ng)	Lượng chất trong mẫu thêm chuẩn (ng/μL)	Lượng chất thu hồi (ng/μL)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n=9)
1	264,809	211,847	478,637	213,828	100,935	101,013	1,021
2	264,809	211,847	478,706	213,897	100,967		
3	264,809	211,847	479,061	214,252	101,135		
4	264,809	264,809	534,295	269,486	101,766	102,432	
5	264,809	264,809	535,647	270,838	102,277		

6	264,809	264,809	538,232	273,423	103,253	
7	264,809	317,771	590,126	325,317	102,375	103,079
8	264,809	317,771	592,784	327,975	103,211	
9	264,809	317,771	594,183	329,374	103,651	

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 101,01%-103,08%. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

3.2.2.1.1.7. Định lượng Curculigoside trong mẫu rễ cây Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.)

Căn chiết MeOH của rễ cây sâm cau *Curculigo orchioides* được xử lý qua màng lọc và tiến hành tiêm vào HPLC để tiến hành định lượng Curculigoside. Sắc ký đồ mẫu thử CO4 được thể hiện trong hình 85b và kết quả trong bảng 3.2.10f.



Hình 91b. Sắc ký đồ căn chiết MeOH (10 mg/mL)

Bảng 3.2.10f. Hàm lượng Curculigoside trong căn chiết CO-MeOH

STT	Hàm lượng (ng/ μ L)	Hàm lượng trung bình (ng/ μ L)	RSD (%)	Hàm lượng trong căn (%)
1	102,892	102,171	0,853	0,040
2	101,202			
3	102,419			

Kết quả cho thấy hàm lượng Curculigoside đạt 0,040% trong căn chiết MeOH từ rễ củ sâm cau.

3.2.2.1.2. Xây dựng phương pháp định lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid

3.2.2.1.2.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích 2,6-Dimethoxybenzoic acid bằng HPLC

Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích 2,6-Dimethoxybenzoic acid trên hệ thống HPLC như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.
- Detector DAD.

- Cột sắc ký Hypersil BDS-C18 (Agilent, 5 μ m, 4 x 125 mm).
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 5 μ L.
- Tốc độ dòng: 0,5mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 280 nm.
- Pha động: nước (A), acetonitrile (B), acid acetic 1% (C).
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B/C: 80/10/10%), 5 phút (A/B/C: 60/30/10%), 10 phút (A/B/C: 0/90/10%), 15 phút (A/B/C: 80/10/10%).

3.2.2.1.2.2. Tính chọn lọc

Tiến hành phân tích theo các điều kiện sắc ký đã lựa chọn với mẫu trắng, mẫu thử, mẫu chất chuẩn và mẫu trắng có thêm chất chuẩn. Kết quả thu được như sau:

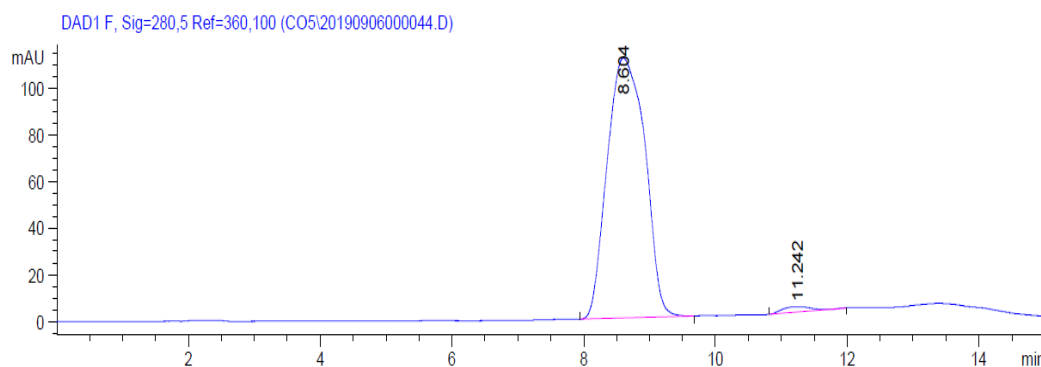
- Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện các pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của 2,6-Dimethoxybenzoic acid.

- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn.

- Mẫu trắng thêm chuẩn: thời gian lưu của 2,6-Dimethoxybenzoic acid là giống nhau, đồng thời các pic này cũng có phổ giống nhau.

- Thời gian lưu tương đối của 2,6-Dimethoxybenzoic acid là 8,76 phút (hình 86a).

Các kết quả thu được cho thấy phương pháp có độ chọn lọc tốt, pic của 2,6-Dimethoxybenzoic acid tách biệt rõ ràng với các pic khác trong mẫu thử là dịch chiết của sâm cau.



Hình 92a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn 2,6-Dimethoxy-benzoic acid (1mg/mL)

3.2.2.1.2.3. Khoảng tuyến tính

Lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC chạy bằng phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng

với thời gian lưu của 2,6-Dimethoxybenzoic acid. Số liệu được trình bày trong bảng 3.2.11a.

Bảng 3.2.11a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của 2,6-Dimethoxybenzoic acid

STT	Nồng độ (ng/μL)	Diện tích pic
1	50	239,5963
2	100	432,6949
3	500	2537,8569
4	1000	5432,3042
5	5000	21516,8164
Phương trình hồi quy		$Y = 4,2616 X + 363,91$
Hệ số tương quan		$R^2 = 0,9971$

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính khá chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số $R^2 = 0,9971$.

3.2.2.1.2.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch 2,6-Dimethoxybenzoic acid pha loãng từ dung dịch chuẩn 1 mg/mL vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc kí đồ thu được kết quả trong bảng 3.2.11b. Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với phổ UV của 2,6-Dimethoxybenzoic acid thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.11b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid

Nồng độ (ng/μL)	5000	1000	500	100	50	10
Diện tích pic	21516,816	9432,304	2537,857	432,695	239,596	43,563
Chiều cao pic	506,291	111,611	66,708	11,853	6,476	Không đáp ứng

Vậy giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp là $LOD = 10 \text{ ng/}\mu\text{L}$ và $LOQ = 33,3 \text{ ng/}\mu\text{L}$.

3.2.2.1.2.5. Độ lặp lại

Khảo sát thông số diện tích pic (S) của các mẫu 2,6-Dimethoxybenzoic acid 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với các giá trị $RSD < 1,5\%$ thể hiện ở bảng 3.2.11c. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.11c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của 2,6-Dimethoxybenzoic acid

Thí nghiệm	Thời gian lưu	Diện tích pic
1	8,5574913	2537,857
2	8,54688435	2555,412
3	8,54444008	2534,690
4	8,55839348	2538,939
5	8,57470322	2551,011
6	8,77217674	2536,721
Trung bình	8,592	2542,438
RSD (%)	1,033	0,337

3.2.2.1.1.2.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu có chứa 2,6-Dimethoxybenzoic acid theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử 2,6-Dimethoxybenzoic acid theo bảng 3.2.11d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm. Tính tỷ lệ phần trăm thu hồi, kết quả thể hiện ở bảng 3.2.11e.

Bảng 3.2.11d. Nồng độ mẫu thử CO-C

STT	Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ (ng/μL)	Nồng độ trung bình (ng/μL)
1	$Y = 4,2616X + 363,91$	342,957	165,869	165,789
2		342,713	165,812	
3		342,177	165,686	

Bảng 3.2.11e. Độ thu hồi

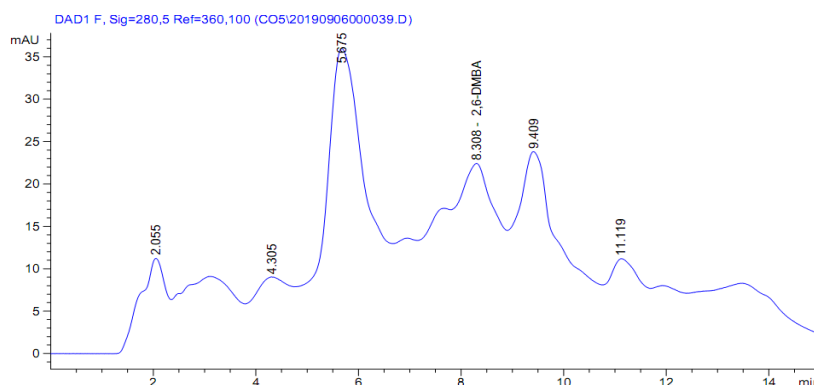
Lượng chất trong mẫu thử (ng/μL)	Lượng chất chuẩn thêm vào (ng)	Lượng chất trong mẫu thêm chuẩn (ng/μL)	Lượng chất thu hồi (ng/μL)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
165,789	132,631	295,558	129,769	97,842	97,792	0,717
165,789	132,631	295,210	129,421	97,579		
165,789	132,631	295,709	129,920	97,956		
165,789	165,789	329,414	163,625	98,695	98,634	
165,789	165,789	329,358	163,569	98,661		

165,789	165,789	329,169	163,380	98,547	
165,789	198,947	358,953	193,164	97,094	97,034
165,789	198,947	358,724	192,935	96,978	
165,789	198,947	358,826	193,037	97,030	

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 97,03%-98,63% ở bước sóng 280 nm. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

3.2.2.1.1.2.7. Định lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid trong mẫu rễ cây Sâm cau (*Curculigo orchoides* Gaertn.)

Cần chiết MeOH của rễ cây sâm cau *Curculigo orchoides* được xử lý qua màng lọc và tiến hành tiêm vào HPLC để tiến hành định lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid. Sắc ký đồ mẫu thử 2,6-Dimethoxybenzoic acid được thể hiện trong hình 86b và kết quả trong bảng 3.2.11f.



Hình 92b. Sắc ký đồ cần MeOH (10 mg/mL)

Bảng 3.2.11f. Hàm lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid trong cần chiết MeOH

Mẫu	Hàm lượng (ng/μL)	Hàm lượng trung bình (ng/μL)	RSD (%)	Hàm lượng trong cần chiết (%)
MeOH	212,957	212,463	0,230	0,018
	211,980			
	212,450			

Kết quả cho thấy hàm lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid đạt 0,018% trong cần chiết MeOH từ rễ củ sâm cau.

3.2.2.1.3 Nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu sâm cau – *Curculigo orchoides* Gaertn.

Sử dụng hai phương pháp phân tích đã xây dựng để định lượng hai chất chỉ thị là Curculigoside và 2,6-Dimethoxybenzoic acid trong mẫu rễ cây Sâm cau (*Curculigo*

orchioides Gaertn.) trồng tại mô hình thí nghiệm ở Ea H'leo, Đắk Lắk. Các mẫu được thu hái 2 tháng mỗi lần. Kết quả được trình bày trong bảng 3.2.11g.

Bảng 3.2.11g. Hàm lượng Curculigocide và 2,6-Dimethoxybenzoic acid trong căn CO-MeOH của rễ cây Sâm cau theo thời gian sinh trưởng

Thời gian trồng	Hàm lượng Curculigocide (ng/μL)	Hàm lượng 2,6-Dimethoxy benzoic acid (ng/μL)
2 tháng	15,298	35,411
4 tháng	20,397	59,018
6 tháng	22,947	106,232
8 tháng	58,643	153,446
10 tháng	96,889	177,053
Thu hoạch (12 tháng)	112,187	212,463

Kết quả cho thấy hàm lượng Curculigocide trong căn chiết CO-MeOH của rễ cây sâm cau tăng dần theo thời gian ở tất cả các thời gian trồng (từ 15,298 ng/μL ở tháng thứ 2 đến 112,187 ng/μL ở tháng thứ 12). Xét về xu hướng tích lũy hoạt chất của phần rễ cây sâm cau, hoạt chất tích lũy ở phần rễ cây trưởng thành cao hơn hẳn so với cây con, xấp xỉ 8 lần (15,298 ng/μL ở tháng thứ 2 so với 112,187 ng/μL ở tháng thứ 12). Hàm lượng hoạt chất của rễ cây sâm cau tăng mạnh sau 6 tháng trồng, tăng xấp xỉ 2,5 lần sau 8 tháng (22.947 ng/μL sau 6 tháng so với 58,643 ng/μL sau 8 tháng), và xấp xỉ 5 lần tại thời điểm thu hoạch (22.947 ng/μL sau 6 tháng so với 112,187 ng μL sau 12 tháng). Kết quả cho thấy hàm lượng hoạt chất Curculigocide trong căn chiết CO-MeOH trong rễ cây sâm cau tích lũy cao nhất ở giai đoạn cây trưởng thành (12 tháng).

Tương tự xu hướng tích lũy hoạt chất Curculigocide, hàm lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid trong căn chiết ở cây trưởng thành cao hơn hẳn so với ở cây non, xấp xỉ 6 lần (212,463 ng μL ở tháng thứ 12 so với 35,411 ng μL ở tháng thứ 2). Ở giai đoạn đầu của quá trình phát triển, cây chưa phát triển toàn diện nên hoạt chất có xu hướng phân bố đi khắp cây. Trong khi đó, khi cây đã trưởng thành, hoạt chất tích lũy chủ yếu để phát triển củ (rễ cây). Vì vậy, hàm lượng hoạt chất 2,6-Dimethoxybenzoic acid tồn tại trong căn chiết CO-MeOH của rễ cây sâm cau tăng dần theo thời gian trồng. Trong đó, hàm lượng 2,6-Dimethoxybenzoic acid trong rễ cây sâm cau đạt cao nhất sau 12 tháng phát triển (212,463 ng/μL).

3.2.2.2. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu Atisô - *Cynara scolymus* L.

Theo Dược điển Việt Nam V, chất chỉ thị được xác định là cynarin. Chất chỉ thị này cũng được quy định trong hệ thống dược điển của các quốc gia khác. Ngoài ra, dược điển Anh còn dùng chất chỉ thị là chlorogenic acid. Các phương pháp phân tích hai chất chỉ thị này đã được tiêu chuẩn hóa do đó chúng tôi xây dựng phương pháp phân tích hai chất chỉ thị khác là Deacylcynaropicrin (CS3) và Cynaropicrin (CS10) đã được xác định trong kết quả nghiên cứu hóa học lá atisô.

3.2.2.2.1. Xây dựng phương pháp định lượng Deacylcynaropicrin

3.2.2.2.1.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích Deacylcynaropicrin bằng HPLC

Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích Deacylcynaropicrin trên hệ thống HPLC như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.
- Detector DAD.
- Cột sắc ký Phenomenex IBSIL5 Phenyl (5 μ m, 250 x 4.60 mm)
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 10 μ L.
- Tốc độ dòng: 0,5 mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 254 nm.
- Pha động: nước (A), acetonitrile (B), acid acetic 1% (D)
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B/D: 65/30/5%), 12 phút (A/B/D: 0/95/5%), 15 phút (A/B/D: 0/95/5%), 20 phút (A/B/D: 0/100/0%).

3.2.2.2.1.2. Tính chọn lọc

Để khảo sát tính chọn lọc của phương pháp, chúng tôi tiến hành chạy HPLC theo phương pháp xây dựng với mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn đã được chuẩn bị. Căn cứ vào sắc ký đồ thu được kết quả:

- Mẫu trắng: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của Deacylcynaropicrin.

- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ mẫu chuẩn.

- Mẫu thử thêm chuẩn: Diện tích pic và hàm lượng của chất khảo sát trong sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn tăng lên so với trước khi thêm chuẩn.

3.2.2.2.1.3. Khoảng tuyến tính

Đường chuẩn của Deacylcynaropicrin được xây dựng bằng cách lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC theo phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của Deacylcynaropicrin. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.2.12a.

Bảng 3.2.12a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của CS3

STT	Nồng độ (µg/mL)	Diện tích pic
1	50	24,019
2	100	49,689
3	500	281,619
4	1000	545,246
Phương trình hồi quy		Y= 0,5512 X – 2,2333
Hệ số tương quan		R ² = 0,9995

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số R²= 0,9995.

3.2.2.2.1.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch Deacylcynaropicrin pha loãng vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc ký đồ thu được kết quả như bảng 3.2.12b. Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của Deacylcynaropicrin thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.12b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Deacylcynaropicrin

Nồng độ (ng/µL)	1000	500	100	50	10
Diện tích pic	545,246	281,619	49,689	24,019	Không đáp ứng
Chiều cao pic	24,272	13,244	2,608	1,427	Không đáp ứng

Vậy giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp ở bước sóng 254 nm là LOD= 13,37 ng/mL và LOQ= 44,12 ng/mL.

3.2.2.2.1.5. Độ lặp lại

Khảo sát các thông số: thời gian lưu (RT), diện tích pic (S) của mẫu Deacylcynaropicrin 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại

của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với các giá trị RSD < 1.5% thể hiện ở Bảng 3.2.12c. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.12c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Deacylcynaropicrin

Thí nghiệm	Thời gian lưu	Diện tích pic
1	9,324	393,489
2	9,294	382,619
3	9,357	392,293
4	9,348	392,384
5	9,347	387,850
6	9,372	394,298
Trung bình	9,340	390,489
RSD (%)	0,295	1,141

3.2.2.2.1.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu cần CS-C có chứa Deacylcynaropicrin theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử Deacylcynaropicrin theo bảng 3.2.12d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm, kết quả thể hiện ở bảng 3.2.12e.

Bảng 3.2.12d. Nồng độ mẫu thử CS-C

Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ (µg/mL)	Nồng độ trung bình (µg/mL)
$Y = 0,5512X - 2,233$	353,489	645,359	691,884
	382,619	698,207	
	401,293	732,086	

Bảng 3.2.12e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi

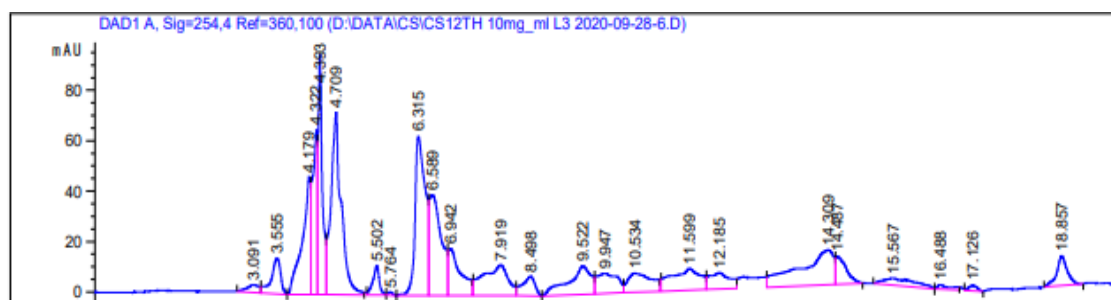
Lượng chất trong mẫu thử (ng/µL)	Lượng chất chuẩn thêm vào (ng/µL)	Lượng chất trong mẫu thêm chuẩn (ng/µL)	Lượng chất thu hồi (ng/µL)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
691,884	553,507	1218,234	526,350	95,093	97,058	1,207
691,884	553,507	1237,172	545,288	98,515		
691,884	553,507	1231,917	540,033	97,566		

691,884	691,884	1358,113	666,229	96,292	97,583
691,884	691,884	1372,113	680,229	98,315	
691,884	691,884	1370,922	679,038	98,143	
691,884	830,261	1502,239	810,355	97,602	97,862
691,884	830,261	1511,982	820,098	98,776	
691,884	830,261	1498,962	807,078	97,208	

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 95,09 % - 98,78 %. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

3.2.2.2.1.7. Định lượng Deacylcynaropicrin trong mẫu lá Atiso (*Cynara scolymus L.*)

Cần chiết MeOH của lá atisô được xử lý qua màng lọc và tiến hành tiêm vào HPLC để tiến hành định lượng Deacylcynaropicrin. Sắc ký đồ mẫu thử Deacylcynaropicrin được thể hiện trong hình 87a và kết quả trong bảng 3.2.12f.



Hình 93. Sắc ký đồ cần MeOH (10 mg/mL)

Bảng 3.2.12f. Hàm lượng Deacylcynaropicrin trong cần CS-MeOH

Cần	Hàm lượng trung bình ($\mu\text{g/mL}$)	RSD (%)	Hàm lượng trong lá khô (%)
MeOH	75,233	0,510	0,022

Hàm lượng trung bình của Deacylcynaropicrin trong cần MeOH là 75,233 $\mu\text{g/mL}$. Từ đó xác định được hàm lượng của Deacylcynaropicrin trong lá khô là 0,022%.

3.2.2.2.2. Xây dựng phương pháp định lượng Cynaropicrin

3.2.2.2.2.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích Cynaropicrin bằng HPLC

Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích Cynaropicrin trên hệ thống HPLC như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.

- Detector DAD.
- Cột sắc ký Phenomenex IBSIL5 Phenyl (5 μm , 250 x 4.60 mm)
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 10 μL .
- Tốc độ dòng: 0,5 mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 220 nm.
- Pha động: nước (A), acetonitrile (B), acid acetic (1%) (D)
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B/D: 65/30/5%), 12 phút (A/B/D: 0/95/5%), 15 phút (A/B/D: 0/95/5%), 20 phút (A/B/D: 0/100/0%).

3.2.2.2.2. Tính chọn lọc

Để khảo sát tính chọn lọc của phương pháp, chúng tôi tiến hành chạy HPLC theo phương pháp xây dựng với mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn. Căn cứ vào sắc ký đồ thu được kết quả:

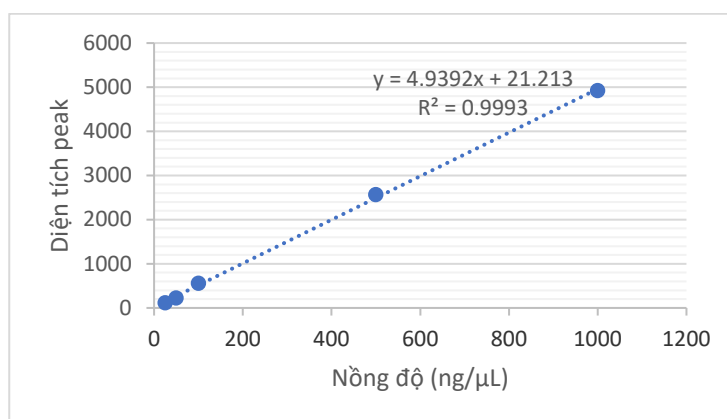
- Mẫu trắng: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của Cynaropicrin.

- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ mẫu chuẩn.

- Mẫu thử thêm chuẩn: Diện tích pic và hàm lượng của chất khảo sát trong sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn tăng lên so với trước khi thêm chuẩn.

3.2.2.2.3. Khoảng tuyến tính

Lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC chạy bằng phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của Cynaropicrin. Số liệu được trình bày trong Bảng 3.2.13a.



Hình 94a. Đường chuẩn Cynaropicrin ở bước sóng 220 nm

Bảng 3.2.13a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Cynaropicrin

STT	Nồng độ (ng/μL)	Diện tích pic
1	25	112,600
2	50	222,900
3	100	556,433
4	500	2565,100
5	1000	4922,250
Phương trình hồi quy		$Y = 4,9392 X + 21,213$
Hệ số tương quan		$R^2 = 0,9993$

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính khá chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số $R^2 = 0,9993$.

3.2.2.2.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch Cynaropicrin pha loãng vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc kí đồ thu được kết quả như bảng 3.2.13b. Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của Cynaropicrin thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.13b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng CS10

Nồng độ (ng/μL)	1000	500	100	50	10
Diện tích pic	545,265	281,619	49,689	24,019	KPH
Chiều cao pic	24,272	13,244	2,607	1,427	KPH

Vậy giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp ở bước sóng 220 nm là $LOD = 14,173 \mu\text{g/mL}$ và $LOQ = 46,771 \mu\text{g/mL}$.

3.2.2.2.5. Độ lặp lại

Khảo sát thông số diện tích pic (S) của các mẫu Cynaropicrin 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với các giá trị $RSD < 1,5\%$ thể hiện ở Bảng 3.2.13c.

Bảng 3.2.13c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Cynaropicrin

Thí nghiệm	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic
1	12,557	66.623,235
2	12,593	66.591,117
3	12,639	66.646,344
4	12,628	66.292,238

5	12,593	66.204,298
6	12,693	66.629,293
Trung bình	12,617	66497.754
RSD (%)	0,374	0,295

3.2.2.2.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu có chứa Cynaropicrin theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử Cynaropicrin theo Bảng 3.2.13d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm. Tính tỷ lệ phần trăm thu hồi, kết quả thể hiện ở bảng 81e.

Bảng 3.2.13d. Nồng độ mẫu thử Cynaropicrin

Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ (ng/μL)	Nồng độ trung bình (ng/μL)
$Y = 4,9392X + 21,213$	66.623,235	13.484,374	13.483,766
	66.591,117	13.477,872	
	66.646,344	13.489,053	

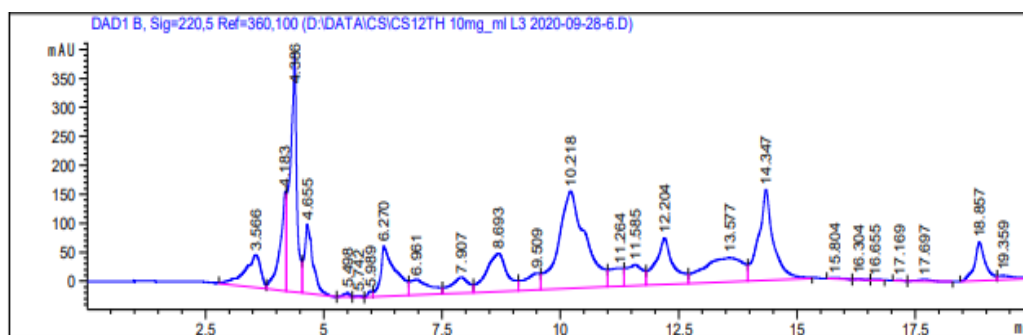
Bảng 3.2.13e. Độ thu hồi

Lượng chất trong mẫu thử (ng/μL)	Lượng chất chuẩn thêm vào (ng)	Lượng chất trong mẫu thêm chuẩn (ng/μL)	Lượng chất thu hồi (ng/μL)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
13.483,766	10.787,013	23.892,012	10.408,246	96,489	96,490	0,500
13.483,766	10.787,013	23.902,161	10.418,395	96,583		
13.483,766	10.787,013	23.882,401	10.398,635	96,400		
13.483,766	13.483,766	26.395,112	12.911,346	95,755	96,010	
13.483,766	13.483,766	26.462,830	12.979,064	96,257		
13.483,766	13.483,766	26.430,772	12.947,006	96,019		
13.483,766	16.180,520	28.903,238	15.419,472	95,297	95,436	
13.483,766	16.180,520	28.931,923	15.448,157	95,474		
13.483,766	16.180,520	28.942,447	15.458,681	95,539		

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 95,30% - 96,58% ở bước sóng 220 nm. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

3.2.2.2.7. Định lượng Cynaropicrin trong mẫu lá Atiso (*Cynara scolymus L.*)

Sau khi đã xây dựng và thẩm định phương pháp, chúng tôi tiến hành phân tích định lượng Cynaropicrin trong mẫu căn CS-MeOH.



Hình 94b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)

Bảng 3.2.13f. Hàm lượng CS10 trong mẫu

Căn	Bước sóng	Hàm lượng trung bình (ng/ μ L)	RSD (%)	Hàm lượng trong lá khô (%)
MeOH	220 nm	2.817,983	0,836	0,416

Kết quả cho thấy hàm lượng trung bình của Cynaropicrin trong lá khô chiếm 0,416%.

3.2.2.2.3 Nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu Atiso (*Cynara scolymus L.*) theo thời gian trồng

Sử dụng hai phương pháp phân tích đã xây dựng để định lượng hai chất chỉ thị là Deacylcynaropicrin và Cynaropicrin trong mẫu lá Atiso (*Cynara scolymus L.*) trồng tại mô hình thí nghiệm ở Đà Lạt, Lâm Đồng. Các mẫu được thu hái 2 tháng mỗi lần. Kết quả được trình bày trong bảng 3.2.13g và 3.2.13h.

Bảng 3.2.13g. Hàm lượng Deacylcynaropicrin trong cây Atisô theo thời gian

Thời gian thu mẫu	Hàm lượng Deacylcynaropicrin (%)	
	Lá	Hoa
2 tháng	0,0838	-
4 tháng	0,1114	-
7 tháng	0,1176	-
8 tháng	0,0321	0,0237
10 tháng	0,0494	0,0945
12 tháng	0,0111	0,2018

Kết quả cho thấy hàm lượng Deacylcynaropicrin trong phần lá Atiso tăng dần trong 7 tháng đầu tiên từ 0,0838% ở tháng thứ 2 và đạt 0,1176% ở tháng thứ 7. Ở tháng thứ 8, cây Atiso đã xuất hiện hoa. Sự xuất hiện này dẫn đến những thay đổi đáng kể trong quá trình tích lũy hoạt chất Deacylcynaropicrin của cây. Hàm lượng Deacylcynaropicrin trong lá đã giảm đáng kể từ 0,1176% ở tháng thứ 7 xuống còn 0,0321% ở tháng thứ 8 và 0,0111% ở tháng thứ 12. Trong khi đó, phần hoa của Atiso ghi nhận được hàm lượng Deacylcynaropicrin đạt 0,0237% ở tháng thứ 8 và tăng dần trong những tháng tiếp theo (đạt 0,2018% ở tháng thứ 12).

Sự tăng dần của hàm lượng Deacylcynaropicrin trong hoa Atiso trong 4 tháng cuối của quá trình sinh trưởng có thể giải thích do hoạt chất phân bố đi khắp cây ở giai đoạn đầu của quá trình phát triển, khi cây dần trưởng thành hoạt chất tập trung tích lũy để phát triển phần hoa của cây.

Kết quả cho thấy sự biến đổi trong hàm lượng Deacylcynaropicrin trong các bộ phận của Atiso tại thời điểm trồng khác nhau từ tích lũy hoạt chất trong lá ở giai đoạn phát triển đầu đến tập trung tích lũy ở hoa ở giai đoạn thu hoạch (12 tháng). Vì vậy, hai thời điểm thu hoạch Atiso thích hợp với hàm lượng hoạt chất Deacylcynaropicrin cao nhất rơi vào tháng 7 (lá Atiso) và tháng 12 (hoa Atiso).

Bảng 3.2.13h. Hàm lượng Cynaropicrin trong cây Atiso theo thời gian

Thời gian thu hoạch	Hàm lượng Cynaropicrin (%)	
	Lá	Hoa
2 tháng	0,0354	-
4 tháng	0,2402	-
7 tháng	0,8525	-
8 tháng	0,4717	0,1984
10 tháng	0,4197	0,1444
12 tháng	1,1594	0,0738

Xét về quá trình phát triển của cây Atiso trong 12 tháng phát triển, kết quả thu được cho thấy hàm lượng Cynaropicrin trong phần lá thu được cao hơn hẳn so với Cynaropicrin trong phần hoa ở tất cả các thời gian trồng. Trong 7 tháng đầu của quá trình phát triển Atisô, hàm lượng hoạt chất Cynaropicrin trong lá Atiso có xu hướng tăng dần theo thời gian trồng (0,0354% sau 2 tháng trồng đến 0,8525% sau 8 tháng trồng) Tuy nhiên, khi ở tháng thứ 8, hoa Atiso bắt đầu xuất hiện, dẫn đến hàm lượng

Cynaropicrin của hoa Atiso đạt 0,1984% ở tháng thứ 8, đồng thời, hàm lượng Cynaropicrin của lá Atiso giảm mạnh, xấp xỉ 55%, từ 0,8525% ở tháng thứ 7 xuống 0,04717% ở tháng thứ 8. Sự thay đổi về xu hướng tích lũy hoạt chất Cynaropicrin trong lá và hoa Atiso chỉ thay đổi khi hoa bắt đầu tàn vào tháng thứ 12 của quá trình phát triển. Cụ thể là, hàm lượng Cynaropicrin trong lá Atiso tăng hơn 60% hoạt chất ở tháng thứ 12 (1,1594%) so với tháng thứ 11 (0,4197%).

Đánh giá chung về hàm lượng Cynaropicrin trong mẫu cây Atiso cho thấy phần lớn hàm lượng Cynaropicrin tập trung ở phần lá ở giai đoạn đầu. Sau đó, khi cây đã phát triển hoa, hoạt chất chuyển một phần sang tích lũy phân hoa. Đến khi hoa tàn, hàm lượng hoạt chất Cynaropicrin lại chuyển dịch về phần lá. Vì vậy, cây Atiso đã trồng 12 tháng (hoa đã tàn) cho phần lá Atiso chứa hoạt chất Cynaropicrin là cao nhất.

3.2.2.3. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu đẳng sâm (*Codonopsis javanica*)

Dược điển Việt Nam V quy định chất chỉ thị cho đẳng sâm là lobetyolin và được dùng để định tính. Một số nghiên cứu trong nước cũng đã xây dựng phương pháp định lượng chất chỉ thị này. Trong Dược điển Trung Quốc cũng đã xác định lobetyolin là chất chỉ thị.

Dựa trên kết quả nghiên cứu về hóa học của đề tài, chúng tôi xây dựng phương pháp phân tích hai chất chỉ thị khác trong đẳng sâm là Tangshenoside I và Tangshenoside VI.

3.2.2.3.1. Xây dựng phương pháp định lượng Tangshenoside I

3.2.2.3.1.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích Tangshenoside I bằng HPLC

Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích Tangshenoside I trên hệ thống HPLC như sau:

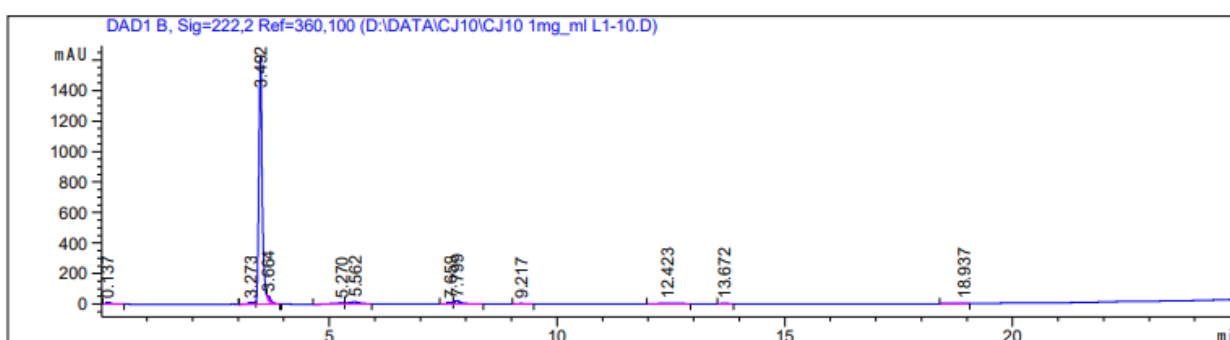
- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.
- Detector DAD.
- Cột sắc ký Phenomenex IBSIL5 Phenyl (5 μ m, 250x4.6 mm)
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 10 μ L.
- Tốc độ dòng: 0,5 mL/phút.

- Bước sóng phát hiện: 222 nm.
- Pha động: nước (A), acetonitrile (B).
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B: 90/10%), 10 phút (A/B: 70/30%), 20 phút (A/B: 50/50%), 30 phút (A/B: 0/100%).

3.2.2.3.1.2. Tính chọn lọc

Để khảo sát tính chọn lọc của phương pháp, chúng tôi tiến hành chạy HPLC theo phương pháp xây dựng với mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn đã được chuẩn bị. Căn cứ vào sắc ký đồ thu được kết quả:

- Mẫu trắng: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của Tangshenoside I.
- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ mẫu chuẩn (hình 89a).
- Mẫu thử thêm chuẩn: Diện tích pic và hàm lượng của chất khảo sát trong sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn tăng lên so với trước khi thêm chuẩn.



Hình 95a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn Tangshenoside I

3.2.2.3.1.3. Khoảng tuyến tính

Đường chuẩn của Tangshenoside I được xây dựng bằng cách lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC theo phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của Tangshenoside I. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.2.14a.

Bảng 3.2.14a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Tangshenoside I

STT	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Diện tích pic
1	50	393,173
2	100	874,310
3	500	4020,368

4	1000	8417,543
Phương trình hồi quy		$Y = 8,389 X - 34,108$
Hệ số tương quan		$R^2 = 0,9993$

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số $R^2 = 0,9993$.

3.2.2.3.1.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch Tangshenoside I pha loãng vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc kí đồ thu được kết quả như bảng 3.2.14b. Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của Tangshenoside I thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.14b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Tangshenoside I

Nồng độ (ng/ μ L)	1000	500	100	50	10
Diện tích pic	8417,543	4020,368	874,309	393,173	Không đáp ứng
Chiều cao pic	1583,689	833,279	187,272	66,513	Không đáp ứng

Vậy giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp ở bước sóng 222 nm là $LOD = 13,417 \mu\text{g/mL}$ và $LOQ = 44,277 \mu\text{g/mL}$.

3.2.2.3.1.5. Độ lặp lại

Khảo sát các thông số: thời gian lưu (RT), diện tích pic (S) của mẫu Tangshenoside I 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với các giá trị $RSD < 1,5\%$ thể hiện ở bảng 3.2.14c, các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.14c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Tangshenoside I

Thí nghiệm	Thời gian lưu	Diện tích pic
1	3,585	3984,512
2	3,639	4056,225
3	3,611	4015,340
4	3,592	3992,230
5	3,572	4021,234
6	3,624	3917,920
Trung bình	3,604	3997,910
RSD (%)	0,702	1,166

3.2.2.3.1.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu cần CJ-E có chứa Tangshenoside I theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử Tangshenoside I theo bảng 3.2.14d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm, kết quả thể hiện ở bảng 3.2.14e.

Bảng 3.2.14d. Hàm lượng Tangshenoside I trong mẫu thử

Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ (µg/mL)	Nồng độ trung bình (µg/mL)
$Y = 8,389X - 34,108$	7948,204	951,521	972,173
	8333,813	997,487	
	8082,348	967,511	

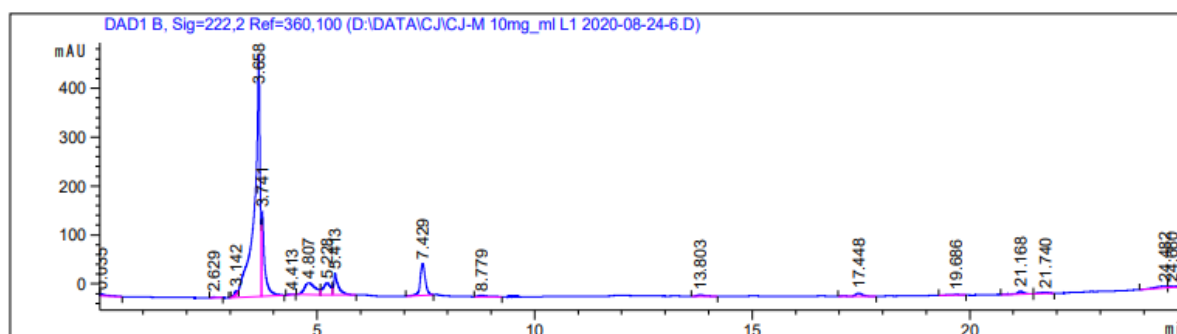
Bảng 3.2.14e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi

Lượng chất trong mẫu thử (ng/µL)	Lượng chất chuẩn thêm vào (ng/µL)	Lượng chất trong mẫu thêm chuẩn (ng/µL)	Lượng chất thu hồi (ng/µL)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
972,173	777,739	1739,239	767,066	98,628	97,801	0,967
972,173	777,739	1731,692	759,519	97,657		
972,173	777,739	1727,498	755,325	97,118		
972,173	972,173	1919,299	947,126	97,424	98,689	
972,173	972,173	1934,117	961,944	98,948		
972,173	972,173	1941,402	969,229	99,697		
972,173	1166,608	2114,661	1142,488	97,932	98,799	
972,173	1166,608	2135,492	1163,319	99,718		
972,173	1166,608	2124,161	1151,988	98,747		

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 97,8 % - 98,8%. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

3.2.2.3.1.7. Định lượng Tangshenoside I trong mẫu củ đẳng sâm

Sau khi đã xây dựng và thẩm định phương pháp, chúng tôi tiến hành phân tích định lượng Tangshenoside I trong mẫu cần CJ-MeOH. Kết quả trình bày trong Bảng 3.2.14f.



Hình 95b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)

Bảng 3.2.14f. Hàm lượng Tangshenoside I trong căn CJ-MeOH

Mẫu	Hàm lượng trung bình ($\mu\text{g/mL}$)	RSD (%)	Hàm lượng trong củ khô (%)
CJ-MeOH	539,252	0,145	0,00159

Hàm lượng của Tangshenoside I trong củ khô đạt 0,00159%.

3.2.2.3.2. Xây dựng phương pháp định lượng Tangshenoside VI

3.2.2.3.2.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích Tangshenoside VI bằng

HPLC

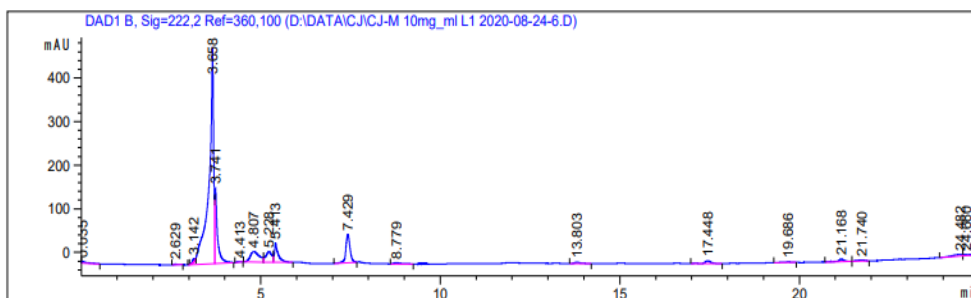
- Cột sắc ký Phenomenex IBSIL5 Phenyl (5 μm , 250x4.6 mm).
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 10 μL .
- Tốc độ dòng: 0,5 mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 222 nm.
- Pha động: nước (A), acetonitrile (B).
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B: 90/10%), 10 phút (A/B: 70/30%), 20 phút (A/B: 50/50%), 30 phút (A/B: 0/100%).

3.2.2.3.2.2. Tính chọn lọc

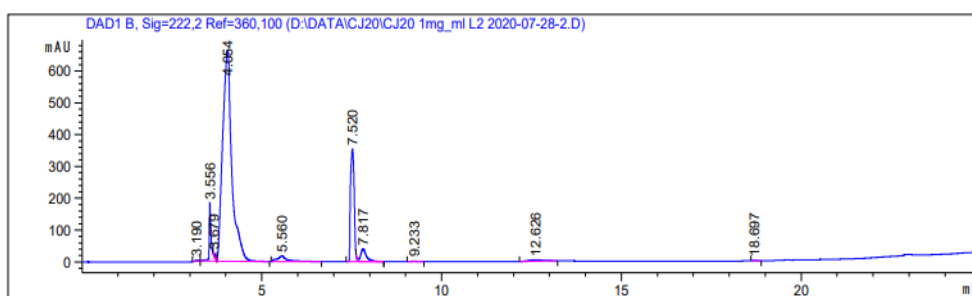
Để khảo sát tính chọn lọc của phương pháp, chúng tôi tiến hành chạy HPLC theo phương pháp xây dựng với mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn. Căn cứ vào sắc ký đồ thu được kết quả:

- Mẫu trắng: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của Tangshenoside VI.
- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử (hình 90a) cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ mẫu chuẩn.

- Mẫu thử thêm chuẩn: Diện tích pic và hàm lượng của chất khảo sát trong sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn (hình 90b) tăng lên so với trước khi thêm chuẩn.



Hình 96a. Sắc ký đồ mẫu thử



Hình 96b. Sắc ký đồ mẫu thử thêm chuẩn Tangshenoside VI

3.2.2.3.2.3. Khoảng tuyến tính

Lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC chạy bằng phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của Tangshenoside VI. Số liệu được trình bày trong Bảng 3.2.15a.

Bảng 3.2.15a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Tangshenoside VI

STT	Nồng độ (ng/μL)	Diện tích pic
1	10	10,011
2	50	41,858
3	100	120,752
4	500	784,595
5	1000	2502,377
Phương trình hồi quy		$Y = 42,4742 X - 129,52$
Hệ số tương quan		$R^2 = 0,9679$

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính khá chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số $R^2 = 0,9679$.

3.2.2.3.2.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch Tangshenoside VI pha loãng vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc ký đồ thu được kết quả như bảng 3.2.15b. Tại nồng

độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của Tangshenoside VI thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Vậy giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp ở bước sóng 222 nm là LOD= 13,371 μ g/mL và LOQ= 44,123 μ g/mL.

Bảng 3.2.15b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Tangshenoside VI

Nồng độ (ng/μL)	1000	500	100	50	10
Diện tích pic	2502,376	784,595	120,752	41,858	KPH
Chiều cao pic	353,837	120,948	18,092	8,413	KPH

3.2.2.3.2.5. Độ lặp lại

Khảo sát thông số diện tích pic (S) và thời gian lưu (RT) của các mẫu Tangshenoside VI 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với các giá trị RSD < 1,5% thể hiện ở Bảng 3.2.15c. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.15c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Tangshenoside VI

Thí nghiệm	Thời gian lưu	Diện tích pic
1	7,504	784,595
2	7,523	772,873
3	7,511	783,120
4	7,562	779,298
5	7,534	790,232
6	7,507	780,583
Trung bình	7,524	781,784
RSD (%)	0,291	0,742

3.2.2.3.2.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu có chứa Tangshenoside VI theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử Tangshenoside VI theo bảng 3.2.15d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm. Tính tỷ lệ phần trăm thu hồi, kết quả thể hiện ở bảng 3.2.15e.

Bảng 3.2.15d. Nồng độ mẫu thử Tangshenoside VI

Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ (ng/μL)	Nồng độ trung bình (ng/μL)
$Y = 2,4742X - 129,52$	4926,031	2043,307	2030,787
	4876,889	2023,445	
	4882,239	2025,608	

Bảng 3.2.15e. Độ thu hồi

Lượng chất trong mẫu thử (ng/μL)	Lượng chất chuẩn thêm vào (ng)	Lượng chất trong mẫu thêm chuẩn (ng/μL)	Lượng chất thu hồi (ng/μL)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
2030,787	1624,629	3648,294	1617,507	99,562	98,450	0,870
2030,787	1624,629	3630,039	1599,252	98,438		
2030,787	1624,629	3612,349	1581,562	97,349		
2030,787	2030,787	4012,110	1981,323	97,564	98,312	
2030,787	2030,787	4038,291	2007,504	98,854		
2030,787	2030,787	4031,493	2000,706	98,519		
2030,787	2436,944	4394,067	2363,280	96,977	97,346	
2030,787	2436,944	4402,112	2371,325	97,307		
2030,787	2436,944	4413,004	2382,217	97,754		

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 97,35%-98,45% ở bước sóng 222 nm. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

3.2.2.3.2.7. Định lượng Tangshenoside VI trong mẫu củ đảng sâm

Sau khi đã xây dựng và thẩm định phương pháp, chúng tôi tiến hành phân tích định lượng Tangshenoside VI trong mẫu căn CJ-MeOH. Sắc ký đồ mẫu thử Tangshenoside VI được thể hiện trong hình 90a và kết quả trong bảng 3.2.15f.

Bảng 3.2.15f. Hàm lượng Tangshenoside VI trong căn chiết MeOH

Căn	Bước sóng	Hàm lượng trung bình (ng/μL)	RSD (%)	Hàm lượng trong củ khô (%)
MeOH	222 nm	346,507	0,298	0,00102

Kết quả cho thấy hàm lượng trung bình của Tangshenoside VI trong căn chiết CJ-MeOH (346,507 ng/μL) tương ứng trong củ đảng sâm khô là 0,00102%.

3.2.2.3.3 Nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu đảng sâm.

Sử dụng hai phương pháp phân tích đã xây dựng để định lượng hai chất chỉ thị là Tangshenoside I và Tangshenoside VI trong mẫu rễ củ cây đảng sâm trồng tại mô hình thí nghiệm ở Lạc Dương, Lâm Đồng. Các mẫu được thu hái 2 tháng mỗi lần. Kết quả được trình bày trong bảng 3.2.15g và 3.2.15h.

Bảng 3.2.15g. Hàm lượng Tangshenoside I trong cây Đảng sâm theo thời gian

Thời gian trồng	Hàm lượng Tangshenoside I (%)	
	Lá	Củ
6 tháng	0,00048	0,00034
8 tháng	0,00031	0,00102
10 tháng	0,00032	0,00126
12 tháng	0,00028	0,00141
14 tháng	0,00024	0,00151
16 tháng	0,00023	0,00159
Thu hoạch (18 tháng)	0,00018	0,00163

Kết quả cho thấy hàm lượng Tangshenoside I của phần củ cao hơn hẳn so với phần lá của cây đảng sâm ở tất cả các thời gian trồng. Hàm lượng Tangshenoside I trong phần củ đảng sâm tăng dần theo thời gian trồng (từ 0,00034% ở tháng thứ 6 và đạt 0,00163% tại thời gian thu hoạch). Trong khi đó, lượng Tangshenoside I của phần lá giảm từ 0,00048 % ở tháng thứ 6 xuống 0,00018% ở tháng thứ 18.

Xét về xu hướng biến động khác nhau giữa hàm lượng Tangshenoside I của phần lá và phần củ có thể giải thích do thời gian đầu mới trồng, hoạt chất phân bố đều trong toàn cây, sau đó khi cây tiếp tục phát triển, các hoạt chất tập trung tích lũy để phát triển củ. Hàm lượng Tangshenoside I vào thời điểm thu hoạch đạt 0,00163%. Kết quả cho thấy sự biến đổi trong hàm lượng Tangshenoside I trong những bộ phận của cây tại thời điểm trồng khác nhau từ tích lũy hoạt chất trong lá ở giai đoạn phát triển đầu đến tập trung tích lũy ở củ ở giai đoạn thu hoạch (18 tháng).

Bảng 3.2.15h. Hàm lượng Tangshenoside VI trong rễ cây Đảng sâm theo thời gian

Thời gian trồng	Hàm lượng Tangshenoside VI (%)	
	Lá	Củ
6 tháng	0,00086	0,00023
8 tháng	0,00093	0,00047
10 tháng	0,00075	0,00061

12 tháng	0,00066	0,00083
14 tháng	0,00058	0,00089
16 tháng	0,00034	0,00093
Thu hoạch (18 tháng)	0,00031	0,00102

Xét về quá trình phát triển của cây Đẳng sâm trong 12 tháng phát triển (từ tháng thứ 6 đến tháng thứ 18), kết quả thu được cho thấy hàm lượng Tangshenoside VI trong phần lá thu được cao hơn hẳn so với Tangshenoside I trong phần củ ở hầu hết các thời gian trồng. Tuy nhiên, khi ở giai đoạn trưởng thành, hàm lượng Tangshenoside VI tăng mạnh ở phần củ (0,00102% khi thu hoạch) cao hơn so với hàm lượng ở lá sau 18 tháng phát triển (0,00031%). Thành phần Tangshenoside VI của phần củ có xu hướng tăng dần theo thời gian trồng (0,00023% sau 6 tháng trồng đến 0,00102% khi thu hoạch). Ở phần lá, sau 6 tháng trồng hàm lượng Tangshenoside VI đạt 0,00086% và giảm mạnh sau 12 tháng trồng tiếp theo (0,00031%). Sự thay đổi khác nhau về hàm lượng Tangshenoside VI ở phần củ có thể giải thích tương tự Tangshenoside I do khi cây chưa hoàn thiện phần rễ trong giai đoạn đầu, hoạt chất được phân tán đi khắp cây (phần lá cây), sau đó theo thời gian trồng, hoạt chất dần tích lũy để phát triển phần củ.

Đánh giá chung về hàm lượng Tangshenoside VI trong cây đẳng sâm cho thấy hàm lượng Tangshenoside VI tập trung ở phần lá ở giai đoạn đầu. Sau đó, khi cây đã phát triển, hoạt chất tập trung tích lũy phát triển phần củ.

3.2.2.4. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu Đương quy (*Angelica acutiloba*)

Theo Dược điển Việt Nam V, chất chỉ thị được xác định là acid ferulic. Theo Dược điển Anh, Dược điển Trung Quốc dùng chất chỉ thị là ligustilide.

Dựa trên kết quả nghiên cứu về hóa học của đề tài chúng tôi chọn hai hợp chất AS1 (Riligustilide), AS5 (5-(hydroxymethyl)furfural) để xây dựng phương pháp phân tích định lượng.

3.2.2.4.1. Xây dựng phương pháp định lượng Riligustilide

3.2.2.4.1.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích Riligustilide bằng HPLC

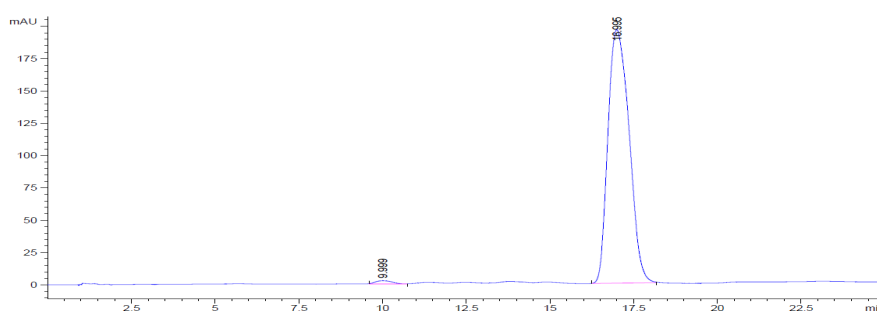
Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích Riligustilide trên hệ thống HPLC như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.
- Detector DAD.
- Cột sắc ký Hypersil BDS-C18 (Agilent. 5 μ m. 4 x 125 mm).
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 5 μ L.
- Tốc độ dòng: 0,7 mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 280 nm.
- Pha động: nước (A), acetonitrile (B), dung dịch acid acetic 1% (C).
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B/C: 60/30/10%), 20 phút (A/B/C: 0/100/0%), 25 phút (A/B/C: 0/100/0%).

3.2.2.4.1.2. Tính chọn lọc

Để khảo sát tính chọn lọc của phương pháp, chúng tôi tiến hành chạy HPLC theo phương pháp xây dựng mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn. Căn cứ vào sắc ký đồ thu được kết quả:

- Mẫu trắng: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của Riligustilide.
- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ mẫu chuẩn (hình 91a).
- Mẫu thử thêm chuẩn: Diện tích pic và hàm lượng của chất khảo sát trong sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn tăng lên so với trước khi thêm chuẩn.



Hình 97a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn Riligustilide

3.2.2.4.1.3. Khoảng tuyến tính

Lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC chạy bằng phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của Riligustilide. Số liệu được trình bày trong bảng 3.2.16a.

Bảng 3.2.16a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Riligustilide

Dung dịch AS1	Nồng độ (µg/mL)	Diện tích pic
1	2500	42006,395
2	1250	23928,986
3	500	8602,245
4	100	1852,709
5	50	904,734
6	10	209,6647
7	5	102,5144
Phương trình hồi quy		Y= 17,109X + 296,11
Hệ số tương quan		R ² = 0,9958

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số tương quan R² = 0,9958.

3.2.2.4.1.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch Riligustilide pha loãng vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc kí đồ thu được kết quả như bảng 3.2.16b. Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của Riligustilide thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.16b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Riligustilide

Nồng độ (mg/mL)	2,5	1,25	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001
Diện tích pic	42006,4	23928,9	8602,2	1852,7	904,7	209,7	102,5	20,6
Chiều cao pic	949,0	581,2	196,2	42,9	21,0	5,1	2,4	Không đáp ứng

Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của Riligustilide thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện. Chạy HPLC các dung dịch pha loãng nhận thấy giới hạn phát hiện của Riligustilide là 1 µg/mL. Giới hạn định lượng của phương pháp là 3,3 µg/mL.

3.2.2.4.1.5. Độ lặp lại

Khảo sát các thông số: số đĩa lý thuyết (N), thời gian lưu (RT), diện tích pic (S), hệ số kéo đuôi (tailing factor) của mẫu chuẩn Riligustilide 0,5 mg/mL với cùng một điều

kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với giá trị RSD < 1% thể hiện ở bảng 3.2.16c.

Bảng 3.2.16c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Riligustilide

Lần chạy mẫu	Thời gian lưu	Diện tích pic	Số đĩa lý thuyết	Hệ số kéo đuôi
1	16,995	8602,245	3087	1,265
2	16,747	8603,412	3069	1,266
3	16,744	8598,690	3091	1,265
4	16,756	8603,939	3102	1,246
5	16,747	8602,011	3088	1,272
6	16,772	8599,721	3068	1,253
Trung bình	16,794	8601,670	3084	1,261
%RSD	0,592	0,024	0,424	0,780

3.2.2.4.1.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu có chứa Riligustilide theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử Riligustilide theo bảng 3.2.16d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm. Tính tỷ lệ phần trăm thu hồi.

Bảng 3.2.16d. Nồng độ mẫu thử (căn chiết hexan)

STT	Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ (µg/mL)	Nồng độ trung bình (µg/mL)
1	$Y = 17,109X + 296,11$	10858,882	617,381	617,345
2		10856,533	617,244	
3		10859,378	617,410	

Bảng 3.2.16e. Kết quả khảo sát độ đúng

Lượng chất trong mẫu thử (µg/mL)	Lượng chất chuẩn thêm vào (µg/mL)	Lượng chất thêm chuẩn (µg/mL)	Lượng chất thu hồi (µg/mL)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
617,345	493,876	1109,254	491,909	99,602	99,368	0,854
617,345	493,876	1106,379	489,034	99,020		
617,345	493,876	1108,666	491,321	99,483		
617,345	617,345	1217,102	599,757	97,151	97,667	

617,345	617,345	1222,431	605,086	98,014	98,955
617,345	617,345	1221,332	603,987	97,836	
617,345	740,814	1353,857	736,512	99,419	
617,345	740,814	1347,871	730,526	98,611	
617,345	740,814	1349,533	732,188	98,836	

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình 97,6-99,30%, độ lệch chuẩn 0,85% đối với Riligustilide.

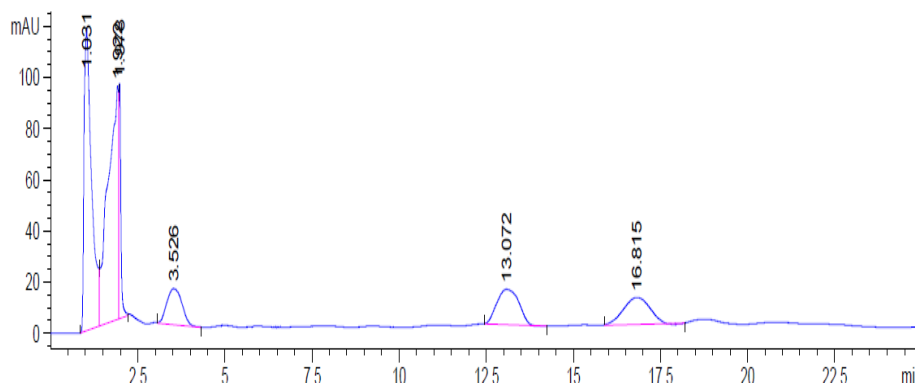
3.2.2.4.1.7. Xác định hàm lượng Riligustilide trong củ đương quy

Căn chiết MeOH được xử lý qua màng lọc và phân tích định lượng Riligustilide theo phương pháp đã xây dựng ở trên. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.2.16f.

Bảng 3.2.16f. Hàm lượng Riligustilide trong căn chiết MeOH

Dung dịch căn (10mg/mL)	Hàm lượng (µg/mL)	Hàm lượng trung bình (µg/mL)	RSD (%)	Hàm lượng Riligustilide trong căn (%)	Hàm lượng trong củ khô (%)
MeOH	14,4579	14,458	0,001	0,144	0,0117
	14,4576				
	14,4577				

Kết quả cho thấy hàm lượng của Riligustilide trong căn chiết MeOH là 0,144% tương ứng với 0,0117% trên nguyên liệu khô.



Hình 97b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)

3.2.2.4.2. Xây dựng phương pháp định lượng 5-(hydroxymethyl)furfural

3.2.2.4.2.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích 5-(hydroxymethyl)furfural (5-HMF) bằng HPLC

Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích 5-HMF trên hệ thống HPLC như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.
- Detector DAD.
- Cột sắc ký Hypersil BDS-C18 (Agilent. 5 μ m. 4 x 125 mm).
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 5 μ L.
- Tốc độ dòng: 0,7 mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 280 nm.
- Pha động: nước (A), methanol (B).
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B: 100/0%), 10 phút (A/B: 90/10%), 15 phút (A/B: 50/50%), 20 phút (A/B: 0/100%), 25 phút (A/B: 100/0%).

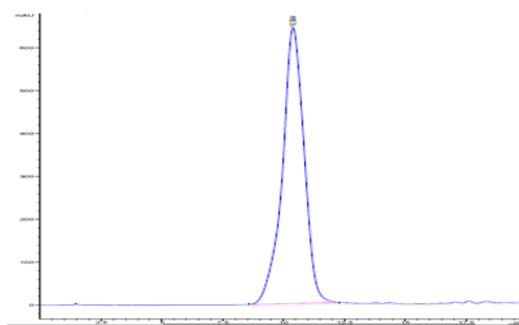
3.2.2.4.2.2. Tính chọn lọc

Để khảo sát tính chọn lọc của phương pháp, chúng tôi tiến hành chạy HPLC theo phương pháp xây dựng mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn. Căn cứ vào sắc ký đồ thu được kết quả:

- Mẫu trắng: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của 5-HMF.

- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ mẫu chuẩn.

- Mẫu thử thêm chuẩn: Diện tích pic và hàm lượng của chất khảo sát trong sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn tăng lên so với trước khi thêm chuẩn.



Hình 98. Sắc ký đồ mẫu chuẩn 5-(hydroxymethyl)furfural

3.2.2.4.2.3. Khoảng tuyến tính

Lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC chạy bằng phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của 5-HMF. Số liệu được trình bày trong bảng 3.2.17a.

Bảng 3.2.17a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của 5-HMF

Dung dịch AS5	Nồng độ (µg/mL)	Diện tích pic
1	5	453,181
2	10	226,590
3	50	2311,222
4	100	4653,127
5	500	23654,043
6	1250	39982,258
7	2500	97683,320
Phương trình hồi quy		$Y = 37,809x + 290,84$
Hệ số tương quan		$R^2 = 0,9888$

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số tương quan $R^2 = 0,9888$.

3.2.2.4.2.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch AS5 pha loãng vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc kí đồ thu được kết quả như bảng 3.2.17b. Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của 5-HMF thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.17b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng 5-HMF

Nồng độ (mg/mL)	2,5	1,25	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001
Diện tích pic	97683,3	39982,3	23654,0	4653,1	2311,2	453,2	226,6	44,43
Chiều cao pic	1628,7	643,9	398,4	76,9	37,2	7,3	3,6	Không đáp ứng

Vậy giới hạn phát hiện của 5-HMF (LOD) là 1 ng/µL, do đó giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp là 3,3 ng/µL.

3.2.2.4.2.5. Độ lặp lại

Khảo sát các thông số: số đĩa lý thuyết (N), thời gian lưu (RT), diện tích pic (S), hệ số kéo đuôi (tailing factor) của mẫu 5-(hydroxymethyl)furfural) 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với các giá trị RSD < 1,5% thể hiện ở bảng 3.2.17c. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.17c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của 5-HMF

Lần chạy mẫu	Thời gian lưu	Diện tích pic	Số đĩa lý thuyết	Hệ số kéo đuôi
1	10,372	23654,043	733,033	1,011
2	10,747	23655,412	735,754	1,017
3	10,744	23654,690	734,029	1,017
4	10,756	23653,939	736,646	1,015
5	10,747	23655,011	733,947	1,017
6	10,772	23656,721	733,496	1,015
Trung bình	10,690	23654,969	734,484	1,015
%RSD	1,460	0,004	0,191	0,235

3.2.2.4.2.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu có chứa 5-(hydroxymethyl)furfural theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử 5-HMF theo bảng 3.2.17d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử và tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm.

Bảng 3.2.17d. Nồng độ mẫu thử (cẩn chiết hexan)

Lần phân tích	Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Nồng độ trung bình ($\mu\text{g/mL}$)
1	$Y = 17,109X + 296,11$	10959,372	282,169	282,153
2		10957,533	282,120	
3		10959,378	282,169	

Bảng 3.2.17e. Kết quả khảo sát độ đúng

Lượng chất trong mẫu thử ($\mu\text{g/mL}$)	Lượng chất chuẩn thêm vào (μg)	Lượng chất thêm chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)	Lượng chất thu hồi ($\mu\text{g/mL}$)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
282,153	225,722	502,306	220,153	97,533	97,537	0,788
282,153	225,722	502,317	220,164	97,538		
282,153	225,722	502,326	220,173	97,542		
282,153	282,153	562,444	280,291	99,340	99,312	
282,153	282,153	562,349	280,196	99,306		
282,153	282,153	562,301	280,148	99,289		

282,153	338,584	614,613	332,460	98,191	98,224	
282,153	338,584	614,880	332,727	98,270		
282,153	338,584	614,680	332,527	98,211		

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 97,54 – 99,31 %. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

3.2.2.4.2.7. Xác định hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural trong dịch chiết MeOH của củ đương quy

Sau khi đã xây dựng và thẩm định phương pháp, chúng tôi tiến hành phân tích định lượng 5-HMF trong mẫu củ AS-MeOH. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.2.17f.

Bảng 3.2.17f. Hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural trong củ chiết MeOH

Dung dịch củ (10mg/mL)	Hàm lượng (µg/mL)	Hàm lượng trung bình (µg/mL)	RSD (%)	Hàm lượng 5-HMF trong củ (%)	Hàm lượng trong củ khô (%)
MeOH	19,9201	19,923	0,134	0,199	0,0161
	19,8982				
	19,9513				

Kết quả cho thấy hàm lượng 5-HMF trong củ đương quy khô là 0,0161%.

3.2.2.4.3 Nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu đương quy

Sử dụng hai phương pháp phân tích đã xây dựng để định lượng hai chất chỉ thị là Riligustilide và 5-(hydroxymethyl)furfural trong mẫu rễ củ cây đương quy trồng tại mô hình thí nghiệm ở Lâm Hà, Lâm Đồng. Các mẫu được thu hái 2 tháng mỗi lần.

Bảng 3.2.17g. Hàm lượng Riligustilide trong cây Đương quy (chưa xuất hiện hoa) theo thời gian

Thời gian trồng	Hàm lượng Riligustilide (%)		
	Lá	Củ	Hoa
2 tháng	0,0293	0,0025	-
4 tháng	0,0172	0,0050	-
9 tháng	0,0371	0,0060	-
11 tháng	0,0138	0,0081	-
Thu hoạch	-	0.0105	-

Bảng 3.2.17h. Hàm lượng Riligustilide trong cây Đương quy (xuất hiện hoa) theo thời gian

Thời gian trồng	Hàm lượng Riligustilide (%)		
	Lá	Củ	Hoa
2 tháng	0,0293	0,0025	-
4 tháng	0,0172	0,0050	-
9 tháng	0,0159	0,0047	0,0358
11 tháng	0,0075	0,0047	0,0055
Thu hoạch	-	0.0105	-

Kết quả bảng 3.2.17g cho thấy cho thấy hàm lượng Riligustilide của phần lá cao hơn hẳn so với phần củ của cây đương quy ở tất cả các thời gian trồng. Hàm lượng Riligustilide trong phần củ đương quy tăng dần theo thời gian trồng (từ 0,0025% ở tháng thứ 2 và đạt 0,0105% tại thời gian thu hoạch) đối với mẫu không xuất hiện hoa. Trong khi đó, lượng Riligustilide của phần lá giảm mạnh sau 11 tháng trồng (0,0293% ở tháng thứ 2 xuống 0,0138% ở tháng thứ 11). Xét về xu hướng biến động khác nhau giữa hàm lượng Riligustilide của phần lá và phần củ đối với mẫu chưa xuất hiện hoa có thể giải thích do thời gian đầu mới trồng, hoạt chất phân bố đều trong toàn cây, sau đó khi cây tiếp tục phát triển, các hoạt chất tập trung tích lũy để phát triển củ. Hàm lượng Riligustilide vào thời điểm thu hoạch đạt 0,0105% xấp xỉ hàm lượng của lá sau 11 tháng trồng đạt 0,0138%. Kết quả cho thấy sự biến đổi trong hàm lượng Riligustilide trong những bộ phận của đương quy tại thời điểm trồng khác nhau từ tích lũy hoạt chất trong lá ở giai đoạn phát triển đầu đến tập trung tích lũy ở củ ở giai đoạn thu hoạch (12-14 tháng).

Khi cây xuất hiện hoa thì hàm lượng Riligustilide của phần hoa và lá cao hơn hẳn phần củ ở tất cả các thời gian trồng. Hàm lượng Riligustilide của phần lá giảm mạnh sau 11 tháng (0,0293% sau 2 tháng giảm 0,0075% sau 11 tháng). Hàm lượng Riligustilide của phần củ tăng mạnh (đạt 0,0050% sau 4 tháng), sau đó có sự giảm nhẹ đến 0,0047% sau 9 tháng và không đổi đến tháng thứ 11. So sánh với kết quả trên, sự xuất hiện hoa đã hạn chế sự tăng lên của hàm lượng Riligustilide trong củ, đồng thời thúc đẩy thành phần của phần lá giảm mạnh đến 0,0075% sau 11 tháng (0,0138% đối với mẫu không có hoa). Trong khi đó, ở giai đoạn thu hoạch (12-14 tháng), cây tập trung tích lũy hoạt

chất ở phần củ khi phần lá và hoa đã tàn (đạt 0,0105%). Kết quả của sự thay đổi hàm lượng Riligustilide trong phần lá và củ khi xuất hiện hoa có thể được giải thích do cây phải tập trung hoạt chất để phát triển hoa, sau đó ở giai đoạn trưởng thành cây chuyển sang tích lũy ở phần củ.

Kết quả đánh giá chung về hàm lượng Riligustilide trong 2 mẫu cây đương quy (có hoa và không hoa) tại các thời gian phát triển khác nhau cho thấy hàm lượng Riligustilide chủ yếu tập trung ở phần lá trong giai đoạn đầu. Khi hoa xuất hiện, hoạt chất chuyển sang tích lũy chủ yếu ở hoa, sau đó do phần hoa rụng, phần củ tiếp tục phát triển và tập trung tích lũy hoạt chất đến khi thu hoạch.

Bảng 3.2.17i. Hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural trong cây Đương quy (chưa xuất hiện hoa) theo thời gian

Thời gian trồng	Hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural (%)		
	Lá	Củ	Hoa
2 tháng	0,0565	0,0001	-
4 tháng	0,0254	0,0073	-
9 tháng	0,0259	0,0118	-
11 tháng	0,0269	0,0158	-
Thu hoạch	-	0,0333	-

Xét về quá trình phát triển của cây Đương quy không xuất hiện hoa trong 11 tháng phát triển, kết quả thu được trong bảng 3.2.17i cho thấy hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural (5-HMF) trong phần lá thu được cao hơn hẳn so với 5-HMF trong phần củ ở hầu hết các thời gian trồng. Tuy nhiên, khi ở giai đoạn trưởng thành, hàm lượng 5-HMF tăng mạnh ở phần củ (0,0333% khi thu hoạch) cao hơn so với hàm lượng ở lá sau 11 tháng phát triển (0,0269%). Thành phần 5-HMF của phần củ có xu hướng tăng dần theo thời gian trồng (0,0001% sau 2 tháng trồng đến 0,0333% khi thu hoạch). Ở phần lá, sau 2 tháng trồng hàm lượng 5-HMF đạt 0,0565% và giảm mạnh sau 4 tháng trồng (0,0254%) và không thay đổi đáng kể trong 7 tháng tiếp theo. Sự thay đổi khác nhau về hàm lượng 5-HMF ở phần củ và phần lá có thể giải thích tương tự Riligustilide do khi cây chưa hoàn thiện phần rễ trong giai đoạn đầu, hoạt chất được phân tán đi khắp cây (phần lá cây), sau đó theo thời gian trồng, hoạt chất dần tích lũy để phát triển phần củ.

Bảng 3.2.17j. Hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural trong cây Đương quy (xuất hiện hoa) theo thời gian

Thời gian trồng	Hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural (%)		
	Lá	Củ	Hoa
2 tháng	0,0565	0,0001	-
4 tháng	0,0254	0,0073	-
9 tháng	0,0078	0,0068	0,0096
11 tháng	0,0129	0,0071	0,0153
Thu hoạch	-	0,0333	-

Kết quả bảng 3.2.17j cho thấy về hàm lượng 5-HMF tích lũy trong các bộ phận của cây đương quy có hoa. Hoa đã xuất hiện sau 9 tháng trồng, khi cây đương quy có hoa, kết quả thu được cho thấy hàm lượng 5-HMF trong phần củ thu được thấp hơn so với kết quả sau 4 tháng trồng (0,0068% sau 9 tháng; 0,0071% sau 11 tháng và 0,0073% sau 4 tháng trồng). Trong khi đó, hàm lượng hoạt chất trong hoa cao hơn hẳn so với các bộ phận khác (0,0096% sau 9 tháng và 0,0153% sau 11 tháng). Kết quả cho thấy sự xuất hiện hoa ảnh hưởng đến hàm lượng 5-HMF trong phần lá và củ.

Đánh giá chung về hàm lượng 5-(hydroxymethyl)furfural trong cả hai mẫu cây đương quy có xuất hiện hoa và không có hoa cho thấy phần lớn tập trung ở phần lá ở giai đoạn đầu. Sau đó, khi cây đã phát triển, hoạt chất tập trung tích lũy phát triển phần củ. Tuy nhiên, nếu xuất hiện hoa, cây chuyển hoạt chất sang tích lũy ở hoa.

3.2.2.5. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy chất chỉ thị trong dược liệu Đinh lăng (*Polyscias fruticosa*)

Theo Dược điển Việt Nam V, chất chỉ thị được xác định là acid oleanolic dùng trong định tính. Chưa có phương pháp định lượng cho hoạt chất này.

Dựa trên kết quả nghiên cứu về hóa học của đề tài chúng tôi chọn hợp chất Falcarindiol để xây dựng phương pháp phân tích định lượng.

3.2.2.5.1. Xây dựng phương pháp định lượng Falcarindiol

3.2.2.5.1.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích Falcarindiol bằng HPLC

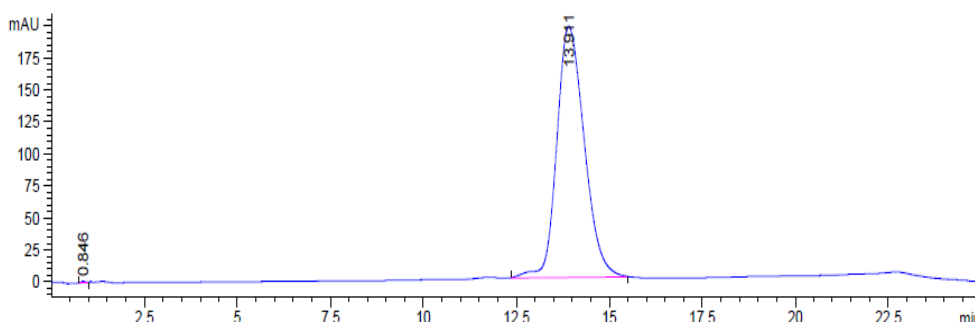
Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích Falcarindiol trên hệ thống HPLC như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.
- Detector DAD.
- Cột sắc ký Hypersil BDS-C18 (Agilent. 5 μ m. 4 x 125 mm).
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 5 μ L.
- Tốc độ dòng: 0,7 mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 245 nm.
- Pha động: nước (A), acetonitrile (B).
- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B: 30/70%), 10 phút (A/B: 10/90%), 20 phút (A/B: 0/100%), 25 phút (A/B: 30/70%).

3.2.2.5.1.2. Tính chọn lọc

Để khảo sát tính chọn lọc của phương pháp, chúng tôi tiến hành chạy HPLC theo phương pháp xây dựng mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn. Căn cứ vào sắc ký đồ thu được kết quả:

- Mẫu trắng: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của Falcarindiol.
- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ mẫu chuẩn.
- Mẫu thử thêm chuẩn: Diện tích pic và hàm lượng của chất khảo sát trong sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn tăng lên so với trước khi thêm chuẩn.



Hình 99a. Sắc ký đồ mẫu chuẩn Falcarindiol

3.2.2.5.1.3. Khoảng tuyến tính

Lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC chạy bằng phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của Falcarindiol. Số liệu được trình bày trong bảng 3.2.18a.

Bảng 3.2.18a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Falcarindiol

STT	Nồng độ (ng/μL)	Diện tích pic
1	5	100,789
2	10	196,540
3	50	963,0436
4	100	1892,1053
5	250	4981,2949
6	500	10187,0215
7	1000	20615,5625
8	5000	82882,7891
Phương trình hồi quy		$Y = 16,414 X + 1377,4$
Hệ số tương quan		$R^2 = 0,9976$

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số $R^2 = 0,9976$.

3.2.2.5.1.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch Falcarindiol pha loãng vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc kí đồ thu được kết quả như bảng 3.2.18b. Tại nồng độ cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của Falcarindiol thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.18b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Falcarindiol

Nồng độ (ng/μL)	5000	1000	500	250	100
Diện tích pic	82882,789	20615,563	10187,021	4981,295	1892,105
Chiều cao pic	1501,240	395,398	291,018	142,590	55,645
Nồng độ (ng/μL)	100	50	10	5	1
Diện tích pic	1892,105	963,044	196,540	100,789	20,998
Chiều cao pic	55,645	28,390	5,794	2,971	Không đáp ứng

Vậy giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp ở bước sóng 245 nm là $LOD = 1 \mu\text{g/mL}$ và $LOQ = 3,33 \mu\text{g/mL}$.

3.2.2.5.1.5. Độ lặp lại

Khảo sát các thông số: số đĩa lý thuyết (N), thời gian lưu (RT), diện tích pic (S), hệ số kéo đuôi (tailing factor) của mẫu Falcarindiol 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ

lặp lại cao với các giá trị RSD < 1.5% thể hiện ở bảng 3.2.18c. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.18c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Falcarindiol

Thí nghiệm	Thời gian lưu	Diện tích pic	Số đĩa lý thuyết	Hệ số kéo đuôi
1	13,907	4981,295	4125	1,172
2	13,911	4983,361	4098	1,174
3	13,912	4980,856	4245	1,161
4	13,909	4983,295	4103	1,174
5	13,914	4982,949	4112	1,172
6	13,920	4984,492	4075	1,174
Trung bình	13,912	4982,708	4126	1,171
RSD (%)	0,032	0,028	1,465	0,433

3.2.2.5.1.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu cần PF-C theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử Falcarindiol theo bảng 3.2.18d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm, kết quả thể hiện ở bảng 3.2.18e.

Bảng 3.2.18d. Nồng độ mẫu thử PF-C

Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Nồng độ trung bình ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
$Y = 16,414X + 1377,4$	18378,705	1035,781	1034,288
	18326,533	1032,602	
	18357,378	1034,481	

Bảng 3.2.18e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi

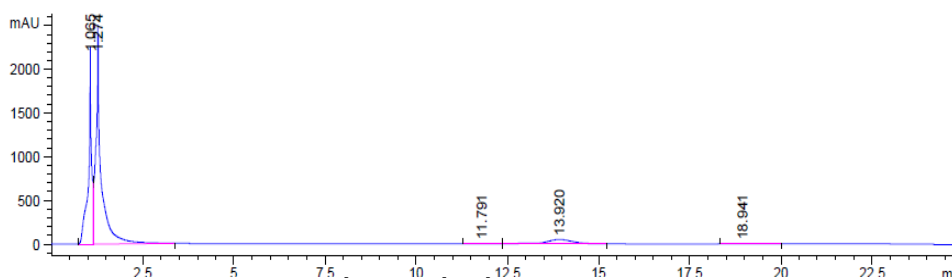
Lượng chất trong mẫu thử ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Lượng chất chuẩn thêm vào ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Lượng chất trong mẫu thêm chuẩn ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Lượng chất thu hồi ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
1034,288	827,431	1851,011	816,722	98,706	97,959	1,027
1034,288	827,431	1841,745	807,457	97,586		
1034,288	827,431	1841,745	807,457	97,586		

1034,288	1034,288	2054,312	1020,024	98,621	98,917
1034,288	1034,288	2057,651	1023,363	98,944	
1034,288	1034,288	2060,166	1025,878	99,187	
1034,288	1241,146	2235,085	1200,797	96,749	96,749
1034,288	1241,146	2235,085	1200,797	96,749	
1034,288	1241,146	2235,085	1200,797	96,749	

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 96,749 % - 98,917%. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

3.2.2.5.1.7. Định lượng Falcarindiol trong mẫu rễ cây Đinh lăng (*P. fruticosa*)

Sau khi đã xây dựng và thẩm định phương pháp, chúng tôi tiến hành phân tích định lượng Falcarindiol trong mẫu căn PF-MeOH. Kết quả thể hiện ở bảng 3.2.18f.



Hình 99b. Sắc ký đồ căn MeOH (10 mg/mL)

Bảng 3.2.18f. Hàm lượng Falcarindiol trong căn PF-MeOH

Căn	Hàm lượng (ng/μL)	Hàm lượng trung bình (ng/μL)	RSD (%)	Hàm lượng trong củ khô (%)
PF-MeOH	71,374	71,410	0,045	0,006
	71,418			
	71,437			

Hàm lượng của Falcarindiol trong củ khô là 0,006%.

3.2.2.5.2 Nghiên cứu động thái tích lũy chất chỉ thị trong dược liệu rễ cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa*)

Bảng 3.2.18g. Hàm lượng Falcarindiol trong căn chiết MeOH (PF-Me) của rễ cây Đinh lăng 2- 3 năm tuổi.

Thời gian trồng	Hàm lượng Falcarindiol (ng/μL)
2 năm	29,068
2,5 năm	49,834
3 năm	71,410

Sử dụng phương pháp phân tích đã xây dựng để định lượng chất chỉ thị Falcarindiol trong mẫu rễ củ cây rễ cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa*) trồng tại mô hình thí nghiệm ở Lâm Hà, Lâm Đồng. Các mẫu được thu hái 6 tháng mỗi lần. Kết quả được trình bày trong bảng 3.2.18g.

Kết quả thể hiện hàm lượng Falcarindiol trong căn chiết MeOH (PF-Me) của rễ cây đinh lăng sau 2, 2,5, và 3 năm trồng. Trong đó, hàm lượng Falcarindiol tăng dần theo thời gian trồng (từ 29,068 ng/ μ L ở năm thứ 2 đến 71,410 ng/ μ L ở năm thứ 3). Hàm lượng Falcarindiol trong cây đinh lăng trưởng thành (3 năm tuổi) cao hơn gấp khoảng 2,5 lần so với cây 2 năm tuổi. Kết quả khảo sát cho thấy hoạt chất Falcarindiol tích lũy theo thời gian trồng. Vì vậy, rễ cây đinh lăng 3 năm tuổi có thể thu hoạch và thương mại hóa chứa 71,410 ng/ μ L Falcarindiol. Tuy nhiên thời gian không đủ để tiếp tục nghiên cứu động thái tích lũy, cần tiếp tục thực hiện.

3.2.2.6. Xây dựng phương pháp phân tích và nghiên cứu động thái tích lũy một số chất chỉ thị trong dược liệu quả Sa nhân tím (*Amomum longiligulare*)

Theo Dược điển Việt Nam V không xác định chất chỉ thị cho loài này.

Dựa trên kết quả nghiên cứu về hóa học của đề tài, chúng tôi chọn hợp chất Pinoresinol (SN14) để xây dựng phương pháp phân tích định lượng.

3.2.2.6.1. Xây dựng phương pháp định lượng Pinoresinol

3.2.2.6.1.1. Khảo sát và lựa chọn các điều kiện phân tích Pinoresinol bằng HPLC

Qua các nghiên cứu thử nghiệm, chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện phân tích Pinoresinol trên hệ thống HPLC như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200.
- Detector DAD.
- Cột sắc ký Agilent Eclipse XDB-C18 (5 μ m, 4.6 x 150 mm)
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng.
- Thể tích tiêm: 10 μ L.
- Tốc độ dòng: 0,5 mL/phút.
- Bước sóng phát hiện: 280 nm
- Pha động: nước (A), Methanol (B), Acetic acid (D)

- Chương trình dung môi rửa giải gradient: 0 phút (A/B/D: 65/30/5%), 20 phút (A/B/D: 0/95/5%), 25 phút (A/B/D: 0/95/5%), 30 phút (A/B/D: 65/30/5%).

3.2.2.6.1.2. Tính chọn lọc

Để khảo sát tính chọn lọc của phương pháp, chúng tôi tiến hành chạy HPLC theo phương pháp xây dựng với mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn. Căn cứ vào sắc ký đồ thu được kết quả:

- Mẫu trắng: Sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic trong khoảng thời gian lưu ứng với thời gian lưu của Pinoresinol.

- Mẫu thử: Sắc ký đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ mẫu chuẩn.

- Mẫu thử thêm chuẩn: Diện tích pic và hàm lượng của chất khảo sát trong sắc ký đồ của mẫu thử thêm chuẩn tăng lên so với trước khi thêm chuẩn.

3.2.2.6.1.3. Khoảng tuyến tính

Đường chuẩn của Pinoresinol được xây dựng bằng cách lần lượt tiêm các mẫu chuẩn với các nồng độ khác nhau vào hệ thống HPLC theo phương pháp đã xây dựng. Đường chuẩn được tính toán dựa trên diện tích pic ứng với thời gian lưu của Pinoresinol. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.2.19a.

Bảng 3.2.19a. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của Pinoresinol

STT	Nồng độ (µg/mL)	Diện tích pic
1	100	172,374
2	500	395,466
3	1000	922,333
4	4000	4022,904
Phương trình hồi quy		$Y = 1,0096X - 35,198$
Hệ số tương quan		$R^2 = 0,9979$

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số $R^2 = 0,9979$.

3.2.2.6.1.4. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Tiêm lần lượt các dung dịch Pinoresinol pha loãng vào hệ thống sắc ký đến khi không còn xuất hiện pic trên sắc ký đồ thu được kết quả như bảng 3.2.19b. Tại nồng độ

cho tín hiệu pic có chiều cao gấp khoảng 3 lần chiều cao của đường nhiễu nền, phổ UV trùng với UV của Pinoresinol thì nồng độ đó chính là giới hạn phát hiện.

Bảng 3.2.19b. Kết quả xác định LOD cho phép định lượng Pinoresinol

Nồng độ (ng/μL)	4000	1000	500	100	50
Diện tích pic	4022,904	922,333	395,466	172,373	Không đáp ứng

Vậy giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp ở bước sóng 280,5 nm là LOD = 94,58 μg/mL và LOQ = 315,414 μg/mL.

3.2.2.6.1.5. Độ lặp lại

Khảo sát các thông số: thời gian lưu (RT), diện tích pic (S) của mẫu Pinoresinol 0,5 mg/mL với cùng một điều kiện phân tích để kiểm tra độ lặp lại của phương pháp. Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại với các giá trị RSD < 3 % thể hiện ở bảng 3.2.19c. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.19c. Kết quả khảo sát độ lặp lại của Pinoresinol

Thí nghiệm	Thời gian lưu	Diện tích pic
1	23,624	395,466
2	23,237	401,827
3	23,538	382,395
4	23,892	402,872
5	23,711	391,221
6	23,732	411,299
Trung bình	23,622	397,513
RSD (%)	0,943	2,540

3.2.2.6.1.6. Độ đúng

Phân tích HPLC mẫu cần có chứa Pinoresinol cao nhất (SN-C) theo phương pháp đã xây dựng. Dựa vào diện tích pic và đường chuẩn tính được chính xác nồng độ mẫu thử Pinoresinol theo Bảng 3.2.19d.

Độ đúng của phương pháp được xác định bằng sự thu hồi. Thêm lượng chất chuẩn tương ứng với 80%, 100%, 120% lượng chất đó có trong mẫu thử. Tiến hành phân tích các mẫu thêm chuẩn đó, lặp lại 3 lần mỗi thí nghiệm, kết quả thể hiện ở bảng 3.2.19e.

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao với độ thu hồi trung bình là 97,74 % - 98,29%. Các giá trị này phù hợp với quy định của AOAC.

Bảng 3.2.19d. Nồng độ mẫu thử Pinoresinol

Phương trình hồi quy	Diện tích pic	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Nồng độ trung bình ($\mu\text{g/mL}$)
$Y = 1,0096X - 35,198$	401,827	436,946	430,884
	382,395	417,727	
	402,872	437,979	

Bảng 3.2.19e. Tỷ lệ phần trăm thu hồi

Lượng chất trong mẫu thử ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Lượng chất chuẩn thêm vào ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Lượng chất trong mẫu thêm chuẩn ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Lượng chất thu hồi ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	Độ thu hồi (%)	Độ thu hồi trung bình (%)	RSD (n = 9)
430,884	344,707	763,239	332,355	96,417	97,742	0,897
430,884	344,707	768,692	337,808	97,998		
430,884	344,707	771,498	340,614	98,812		
430,884	430,884	849,299	418,415	97,106	97,951	
430,884	430,884	851,117	420,233	97,528		
430,884	430,884	858,402	427,518	99,219		
430,884	517,061	937,661	506,777	98,011	98,290	
430,884	517,061	938,492	507,608	98,172		
430,884	517,061	941,161	510,277	98,688		

3.2.2.6.1.7. Định lượng Pinoresinol trong mẫu quả Sa nhân tím (*Amomum longiligulare*)

Sau khi đã xây dựng và thẩm định phương pháp, chúng tôi tiến hành phân tích định lượng Pinoresinol trong mẫu căn SN-MeOH với kết quả thể hiện ở bảng 3.2.19f.

Bảng 3.2.19f. Hàm lượng Pinoresinol trong căn SN-MeOH.

Mẫu	Hàm lượng trung bình ($\mu\text{g/mL}$)	RSD (%)	Hàm lượng trong quả khô (%)
SN-MeOH	133,152	0,668	0,12

Hàm lượng của Pinoresinol trong quả khô là 0,120%.

3.3. XÂY DỰNG, HOÀN THIỆN QUY TRÌNH TRỒNG TRỌT, THU HOẠCH, BẢO QUẢN 6 LOÀI DƯỢC LIỆU VÀ XÂY DỰNG MÔ HÌNH TRỒNG 5 LOÀI DƯỢC LIỆU

Trên cơ sở kết quả xây dựng danh mục dược liệu chủ lực cho vùng Tây Nguyên, đề tài đã chọn lọc một số đối tượng dược liệu có khả năng phát triển lớn ở Tây Nguyên để nghiên cứu sâu về thành phần hóa học cũng như xây dựng các phương pháp phân tích các chất chỉ thị nhằm định hướng cho việc tạo nguồn dược liệu có chất lượng phục vụ cho ngành dược liệu cũng như xây dựng giải pháp bảo tồn các loài này để tiến hành xây dựng, hoàn thiện quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 6 loài dược liệu và xây dựng mô hình trồng 5 loài dược liệu.

3.3.1. Hoàn thiện các quy trình trồng trọt, thu hoạch và bảo quản 6 loài dược liệu

3.3.1.1. Sâm cau - *Curculigo orchioides*

1. Điều kiện trồng dưới tán rừng

Diện tích trồng sâm cau đủ các điều kiện sau: độ dốc nhỏ hơn 30°, lớp thảm mục dày trên 10 cm, tầng đất không cần quá dày để cây có thể phát triển củ, thoát nước tốt; pH: 5,0 - 6,0.

Chọn lựa địa điểm dưới tán rừng có độ che bóng không quá 70%.

Cây Sâm cau là loại cây ưa ẩm. Lượng mưa trên 1500 mm/năm phân bố đều từ 100 mm/tháng trở lên là điều kiện thích hợp để cây Sâm cau có thể phát triển tốt nhất. Ẩm độ không khí thích hợp là 80 – 85 %, ẩm độ đất thích hợp là 70 – 75%.

Nhiệt độ thích hợp cho cây Sâm cau phát triển là 22 – 27°C.

2. Giống

Sâm cau được nhân giống bằng hạt hoặc bằng mầm. Sử dụng cây con được nhân giống từ vườn cây giống của đề tài.

3. Kỹ thuật trồng

- *Khoảng cách, mật độ trồng*: có thể chọn lựa một trong các trường hợp sau:

+ Khoảng cách: 30 X 40 cm (mật độ 80.000 cây/ha);

+ Khoảng cách: 30 X 50 cm (mật độ 65.000 cây/ha).

- *Thời vụ trồng*: Vào mùa mưa, khoảng tháng 5-8 dương lịch là thích hợp nhất.

Sau trồng 4-5 ngày nếu trời không mưa phải tưới nước ngay cho cây.

- *Hố trồng*: Hồ được đào với kích thước 20 X 20 X 30 cm, để riêng lớp đất mặt. Trộn đều đất mặt với 0,1 kg phân hữu cơ + 0,01 kg vôi và lấp xuống hồ.

4. Chăm sóc

- Bón phân bổ sung 6 tháng/lần, sử dụng phân chuồng hoai hoặc phân hữu cơ sinh học hoặc hữu cơ vi sinh với lượng 0,1 kg/cây.

Có thể bón kết hợp với một số chế phẩm sinh học có tác dụng hạn chế phát triển của tuyến trùng và đối kháng với một số nấm bệnh gây hại trong đất.

- Làm cỏ: Làm cỏ 3 - 4 lần trong năm trên toàn bộ diện tích; Không khuyến cáo sử dụng thuốc diệt cỏ.

- Tưới nước: trong mùa khô tưới nước 1 lần/tháng, không áp dụng kỹ thuật tưới tràn.

5. Thu hoạch

a. Thời điểm thu hoạch:

Thu hoạch vào cuối năm, từ tháng 9 - 12 là thời điểm thu hoạch sâm cau tốt nhất [32].

b. Kỹ thuật thu hoạch:

Thu hoạch vào lúc cây bắt đầu vàng úa. Dùng cuốc, thuổng đào bới xung quanh để lấy củ và rễ. Tránh làm xây xát và gãy củ, rửa sạch đất cát, cắt bỏ rễ con.

Đào và nhổ cả cây sau đó cắt bỏ phần lá, chỉ dùng phần củ. Củ sâm cau được giữ bỏ bớt đất cát bám vào khi thu hoạch. Cắt lấy phần củ cách chồi ngọn 1,5-2 cm để làm giống cho vụ sau. Phần củ còn lại được tiến hành rửa sạch, phơi sấy khô [22].

c. Vận chuyển, sơ chế:

Sâm cau được đóng bao và chở về nơi tập kết. Lưu ý không nên nén, ép sâm cau trong quá trình đóng gói, tránh hiện tượng dập nát, hư hỏng trong quá trình vận chuyển.

Sau khi vận chuyển đến nơi tập kết cần rửa sạch trong nước để loại bỏ bùn đất và đổ sâm cau rải rộng trong không gian thoáng mát, để phòng các loài côn trùng gặm nhấm. Sau khi sâm cau ráo nước sẽ bắt đầu quá trình sơ chế và bảo quản.

Sâm cau có thể sử dụng tươi hoặc phơi khô. Đối với mỗi loại tươi hay khô đều phải đóng gói trong bao bì kín khí tránh nấm mốc và tấn công của vi sinh vật.

6. Bảo quản

Sâm cau tươi: Đây là loại có chất lượng tốt, không có chất bảo quản, do vừa thu hái. Tuy nhiên vận chuyển khó khăn, đặc biệt khi gửi đi xa nên không bảo quản được lâu, muốn bảo quản Sâm cau tươi được lâu, phải bảo quản ở nhiệt độ <math><10^{\circ}\text{C}</math>.

Sâm cau khô: Sâm cau sau khi rửa sạch sẽ được phơi dưới ánh sáng mặt trời hoặc sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ dưới 50°C . Sau khi được sấy khô phải đóng gói trong bao bì nilon kín khí và để nơi khô ráo, thoáng mát, đề phòng các loài côn trùng gặm nhấm. Sấy, phơi khô là phương pháp bảo quản được lâu tránh sự hư thối đồng thời dễ vận chuyển trong quá trình giao thương [22], [32].

3.3.1.2. Atisô - *Cynara scolymus*

1. Chuẩn bị đất trồng

- Về đất trồng: hàm lượng hữu cơ 5 - 7%, giữ ẩm và thoát nước tốt.
- Ẩm độ đất trong vụ khô cần trên 80%, tuy nhiên nếu ẩm độ đất quá cao và kéo dài trong vụ mưa sẽ dễ gây bệnh chết cây con.

- Độ pH thích hợp là 6 – 6,5. Đối với điều kiện đất Đà Lạt thì hàng năm phải bón vôi để duy trì độ pH ổn định, nhất là vùng đất thấp.

- Dọn dẹp sạch cỏ, cày bừa sâu để làm thoáng đất cũng như tiêu diệt các mầm bệnh đang ẩn trong đất. Sau đó, sử dụng phân chuồng ủ mục hoặc phân, vôi bột, phân lân để bón lót cho cây trước 1 – 2 tuần khi trồng cây giống.

- Lên luống, phủ nylon đen trên mặt luống để hạn chế cỏ phát triển về sau và giữ độ ẩm cho đất.

2. Giống

Tạo giống cây con atisô từ hạt: Gieo hạt vào mùa xuân, nên dùng đất nhiều chất mùn tốt để tránh hạt giống bị hư. Sau khi mọc được hai lá mầm, thì nhẹ nhàng tách từng cây giống cho vào bầu đất để dễ chăm sóc. Khi cây giống phát triển, cây cao chừng 30 – 50cm, thì trồng cây vào luống đã làm sẵn.

3. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

- *Khoảng cách, mật độ trồng:*

Khoảng cách tối thiểu phải là 1,2 m. Mật độ 5.000-6.000 cây/ha.

- *Tưới nước*

Đối với giai đoạn vừa mới trồng cây và vào mùa khô, cần tưới nước đầy đủ cho cây, 2 lần/ngày tưới vào lúc sáng sớm, chiều mát. Vào mùa mưa, có thể giảm lượng

nước tưới xuống, thay vào đó nên chú đến việc thoát nước kịp thời cho cây để cây không bị ngập úng.

- *Bón phân*

Sau khi cây bén rễ (khoảng 20 ngày), sử dụng hỗn hợp phân hữu cơ, chuồng ủ mục, DAP, NPK 16-16-8 để bón thúc cho cây (1-2 tháng/lần). Trước khi chuẩn bị thu hoạch khoảng 40 – 45 ngày, nên ngừng bón phân cho cây để đảm bảo chất lượng atiso.

4. Sâu, bệnh hại atisô và biện pháp phòng trừ

- Bọ phấn (*Bemisia argentifolii*):

+ Biện pháp phòng trừ: Cày, phơi đất kỹ trước khi canh tác. Thường xuyên vệ sinh vườn trồng, tạo độ thông thoáng để hạn chế nơi cư trú của bọ phấn.

+ Khi phát hiện có bọ phấn gây hại nặng cần cắt bỏ lá có mật số cao mang tiêu hủy. Đặt bẫy dính màu vàng để thu bắt bọ phấn.

+ Hạn chế sử dụng thuốc bảo vệ thực vật. Khi cần có thể dùng một số thuốc có hoạt chất: Dinotefuran, Oxymatrine, Citrus oil, Thiamethoxam.

- Rầy mềm (*Aphid*):

+ Biện pháp phòng trừ: Cày, phơi đất kỹ trước khi gieo trồng. Thường xuyên thu dọn những tàn dư bị hại do rầy gây ra và mang tiêu hủy xa vùng canh tác. Vệ sinh vườn trồng, tạo độ thông thoáng để hạn chế nơi cư trú của rầy. Cắt bỏ những lá bị hại với mật số cao nhằm giảm độ rầy gây hại.

+ Hạn chế sử dụng thuốc bảo vệ thực vật. Khi cần có thể dùng một số thuốc có hoạt chất: Abamectin, Abamectin + Alpha-cypermethrin, Abamectin + Azadirachtin, Etofenprox, Thiamethoxam để phòng trừ.

- Bệnh đốm lá (*Ramularia cynarae*):

+ Biện pháp phòng trừ: Thường xuyên thu dọn những tàn dư cây bệnh mang tiêu hủy xa vùng canh tác. Bón phân đầy đủ và cân đối nhằm tăng cường sức đề kháng cho cây.

- Bệnh héo rũ (*Verticillium dahliae*):

+ Biện pháp phòng trừ: Thường xuyên thu dọn những lá già, lá bị bệnh mang tiêu hủy xa vùng canh tác. Tránh gây vết thương cho cây tạo điều kiện cho nấm có điều kiện xâm nhiễm và gây hại. Bón phân đầy đủ và cân đối để tăng sức đề kháng cho cây.

5. Thu hoạch

a. Thời điểm thu hoạch

Thu hái cụm hoa chưa nở làm rau ăn vào tháng 12 đến tháng 2. Lá cũng được thu hái lúc cây sắp ra hoa hoặc đang có hoa, đem phơi khô hay sấy khô.

b. Kỹ thuật thu hoạch

Lá: Bắt đầu thu hoạch sau khi trồng khoảng 3-4 tháng cho đến khi cây ra hoa rộ, mỗi tháng thu hoạch 1 lần. Lá tươi thu xong có thể sử dụng để chiết xuất cynarin ngay. Nếu do một lý do nào đó không thể chiết xuất cynarin ngay thì phơi sấy khô để dùng chế biến sau [25].

Hoa: Thu hoạch để làm rau khi bông còn non, các lá bắc còn chụm lại giống như nụ sen. Thu hoạch để phơi sấy làm dược liệu khi bông sắp nở và đã nở. Thu các bông chính trước, các bông nhánh thu sau. Cắt cuống bông tới sát điểm phân nhánh gần nhất, sau đó dùng dao thái bông và cuống bông thành những lát mỏng và phơi sấy khô.

Thân và rễ: Sau khi thu hoạch hết lá và bông thì thu thân và đào lấy gốc rễ. Thân và rễ được làm sạch đất, cắt khúc hoặc thái thành lát mỏng để tiện phơi sấy, bảo quản để chế biến dược liệu sau

c. Sơ chế, vận chuyển

Cần loại bỏ những cây, những phần cây bị sâu, bệnh. Phân loại những cụm hoa làm rau ăn và phần lá và hoa đã nở để sấy khô.

Sản phẩm khô được đóng trong túi polyetylen kín, bên ngoài có bao tải để khi vận chuyển không bị rách nát, không bị hút ẩm đảm bảo chất lượng sản phẩm.

d. Sau thu hoạch

Sau khi thu hoạch, nên cắt cuống đến tận chân và bón phân để thúc cây trở mầm mới.

Đối với ươm trồng từ hạt thì nên ươm cây giống trong bầu đất trước thời điểm thu hái để có cây con trồng gối đầu vào vườn sau khi thu hoạch vụ trước.

6. Bảo quản

Đối với phần hoa dùng làm rau thì phải rửa sạch và bảo quản trong ngăn mát của tủ lạnh.

Các phần khác của cây Atiso thu hoạch để phơi sấy làm dược liệu. Các bộ phận sấy khô của cây Atiso hút ẩm rất mạnh vì vậy cần được bảo quản kỹ trong các bao nilon

kín.. Thường xuyên kiểm tra sâu mọt, mốc ẩm để có biện pháp xử lý kịp thời. Thời gian bảo quản sản phẩm trong kho tốt nhất không quá 1 năm.

Sản phẩm khô được đóng trong túi polyetylen kín, bên ngoài có bao tải để khi vận chuyển không bị rách nát, không bị hút ẩm đảm bảo chất lượng sản phẩm.

Tiêu chuẩn chất lượng sản phẩm dược liệu sạch Atiso

- Chất lượng dược liệu: Lá không nhăn nheo, dài khoảng 1-1,2 m rộng khoảng 0,5 m hay được chia nhỏ. Mặt lá màu nâu hoặc lục, mặt dưới màu xám trắng, có rãnh dọc nhỏ song song. Lá có nhiều lông trắng vón vào nhau, vị hơi chát và hơi đắng.

- Giảm khối lượng do làm khô: Không quá 13%.

- Tro toàn phần: Không quá 15%

- Giới hạn nhiễm khuẩn: Đạt mức yêu cầu 4, Phụ lục 10.7, ĐDVN III. Nấm và mốc không quá 100 trong 1 g dược liệu khô

- Không có tạp chất lạ như đất, cát, sỏi

- Không có 4 chủng vi sinh vật (Theo TCCS)

- Hàm lượng kim loại nặng (Theo TCCS)

- Độ ẩm dược liệu: Không quá 13%

Định lượng dược liệu phải chứa không ít hơn 0,5% hoạt chất tính theo cynarin [25].

3.3.1.3. Quy trình trồng Đẳng sâm - *Codonopsis javanica*

1. Lựa chọn vùng trồng

Chọn vùng đất tương đối màu mỡ và ẩm, hoặc đất sau nương rẫy, dưới tán cây gỗ, đất tơi xốp, không lẫn sỏi đá ở độ cao từ 700-1200m so với mực nước biển.

Đất có độ pH từ 4,0 - 5,5, độ dốc dưới 30° có khí hậu mát mẻ, khu vực trồng không bị ngập úng, dễ thoát nước khi có mưa lớn, gần với nguồn nước để thuận tiện cho việc tưới cho cây trồng.

Nhiệt độ trung bình từ 15 - 20°C; lượng mưa hàng năm từ 1.500 - 2.800 mm.

2. Giống

Hạt giống được gieo đều trên mặt luống vườn ươm với lượng gieo từ 0,27- 0,3 (g) hạt/m² (2,7- 3kg hạt/ha), sau đó phủ một lớp đất mỏng lên trên. Tùy theo điều kiện thời tiết, chú ý tưới giữ ẩm cho vườn ươm và làm cỏ dại, làm giàn che, phòng trừ sâu bệnh

hại kịp thời. Cây sau 3 tháng gieo trên luống ươm, ra 6 - 8 lá, cao 8 - 10cm, có thể mang đi trồng. Nếu làm đất chưa kịp có thể gieo vào bầu.

3. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

- Tưới nước

Sau khi trồng cây giống xong, phủ 1 lớp rơm khô mỏng lên bề mặt luống để giữ ẩm cho cây. Đối với giai đoạn vừa mới trồng cây và vào mùa khô, cần tưới nước đầy đủ cho cây, 2 lần/ngày tưới vào lúc sáng sớm, chiều mát. Vào mùa mưa, có thể giảm lượng nước tưới xuống, thay vào đó nên chú đến việc thoát nước kịp thời cho cây để cây không bị ngập úng.

- Bón phân

- Lượng phân bón cho 01 ha: Phân chuồng hoai mục 20 tấn, 450-500 kg Urê, 500-600 kg Super lân, 200-250 kg Kali, 500kg vôi bột.

- Phương pháp bón:

+ Bón lót: toàn bộ lượng phân chuồng và 1/3 lượng phân Lân, trộn đều bỏ theo hốc sau đó lấp đất lại.

+ Bón thúc: Năm thứ 1: bón 1/3 lượng Đạm + 1/3 lượng phân Kali. Năm thứ 2: bón 1/3 lượng Đạm + 1/3 lượng phân Lân và 1/3 lượng phân Kali. Năm thứ 3: bón 1/3 lượng Đạm + 1/3 lượng phân Lân và 1/3 lượng phân Kali.

Lưu ý: Bón lót toàn bộ phân chuồng, 1/3 phân Lân hạn chế bón sau khi đã cắm giàn; riêng phân Đạm, Lân, Kali bón định kỳ mỗi năm bón 3 - 4 lần, kết hợp với các lần làm cỏ xới xáo; Bón bằng cách đánh rạch và rắc phân đều theo hàng, cách góc 5 - 10cm, sau khi bón vun đất phủ kín phân bón, hoặc hòa nước tưới.

4. Phòng trừ sâu bệnh

Đảng sâm thường bị các loại sâu bệnh hại sau:

a) Sâu xám (*Agrotis ipsilon*):

Đặc điểm gây hại: Thường gây hại ở thời kỳ cây con. Loài sâu này thường gây hại vào ban đêm, ăn lá non hoặc cắn đứt ngang các thân và cành non. Sâu non màu xám đen hoặc màu nâu xám dọc theo hai bên thân có những chấm đen mờ.

Biện pháp phòng trừ:

- Cày, phơi ải đất trước khi trồng 2 tuần để tiêu diệt trứng và nhộng. Làm đất kỹ, sạch cỏ trước khi trồng, làm sạch cỏ quanh bờ để hạn chế nguồn ký chủ phụ của sâu.

- Có thể bắt sâu bằng tay hoặc dùng bẫy chua ngọt để bẫy bướm.

- Ruộng bị sâu hại nặng có thể sử dụng các loại thuốc trừ sâu như: Thiamethoxam, Abamectin. Hòa thuốc với nước phun vào chiều tối. Nếu mật độ sâu cao nên phun kép 2 lần cách nhau 5 ngày.

b) Rệp mềm (*Aphis gossypii*):

Đặc điểm gây hại: Ban đầu, rệp chỉ tập trung gây hại ở những búp non, lá non. Về sau do tích lũy nhiều, mật độ tăng nhanh, chúng xuất hiện trên cả những lá già và thường tập trung ở mặt dưới của lá. Rệp chích hút nhựa cây làm búp non, lá non bị quăn queo, biến dạng, lá chuyển dần sang màu vàng, cây còi cọc, sinh trưởng kém. Rệp mềm có kích thước nhỏ, có hình quả lê và thân mềm. Chúng thường tập trung lại thành từng đám, đặc biệt ở dọc các gân lá.

Biện pháp phòng trừ:

- Kiểm tra ruộng thường xuyên và diệt bỏ ngay lập tức những lá bị rệp nặng. Nhổ cỏ dại mọc xung quanh cây vì nhiều loại cỏ dại vốn là đối tượng gây hại của rệp. Rệp có thể bị gió thổi bay do đó tránh trồng đàng sâm ở cuối hướng gió của những ruộng đã bị nhiễm rệp.

- Sau mỗi vụ thu hoạch cần thu gom sạch sẽ những tàn dư của cây (thân, lá) ở vụ trước đem ra khỏi ruộng tiêu hủy hoặc ủ làm phân bón để tiêu diệt những con rệp còn sống sót trên đó, hạn chế rệp lây lan sang cho vụ sau.

- Nếu thấy mật độ rệp cao và liên tục gia tăng thì phải dùng thuốc bảo vệ thực vật để diệt trừ rệp. Có thể sử dụng các loại thuốc như: Dầu khoáng; Abamectin; Chlorpyrifos Ethyl + Permethrin.

c) Bệnh lở cổ rễ (*Rhizoctonia sp.*)

Đặc điểm gây hại: Bệnh lở cổ rễ thường xuất hiện ở giai đoạn cây con, đặc biệt trong giai đoạn vườn ươm. Triệu chứng bắt đầu với vết đốm màu nâu nhỏ ở gốc thân và lan rộng đến rễ. Vùng rễ nhiễm bệnh bị thối, cây con héo rễ và chết.

Biện pháp phòng trừ:

- Thường xuyên kiểm tra vườn ươm, loại bỏ và tiêu hủy những cây con bị nhiễm bệnh để giảm thiểu sự lây lan của bệnh.

- Nếu bệnh gây hại nặng có thể dùng một số loại thuốc trừ nấm như: Pencycuron; Validamycin + Polyoxin B; Validamycin. Tưới hoặc phun trực tiếp dung dịch thuốc trừ nấm vào gốc cây

5. Thu hoạch, sơ chế – bảo quản, vận chuyển

a. Thời điểm thu hoạch

Tiến hành thu hoạch vào cuối mùa đông năm thứ 2, khi cây vàng lụi, cần thu hái trước khi cây ra chồi mới [32].

b. Kỹ thuật thu hoạch

Trước khi thu hoạch cần dỡ bỏ giàn leo (nếu có), sau đó dùng cuốc, thuổng để đào (đào sâu, tránh sây sát, làm đứt rễ, củ). Để đạt được năng suất chất lượng tốt cần phải chú ý: Tránh thu cây sau những đợt mưa kéo dài, lúc đó hàm lượng hoạt chất thấp và tỷ lệ nước trong dược liệu cao. Nên thu hoạch dược liệu vào những ngày nắng to, có điều kiện phơi sấy đảm bảo chất lượng dược liệu tốt, không được thu dược liệu sau khi bón phân hoặc phun thuốc bảo vệ thực vật phải cách ly ít nhất 4- 5 tuần trước khi thu hoạch. Nhặt bỏ lá cây và cỏ rác bị lẫn vào khi thu hái, cắt bỏ phần gốc thân còn lại và cắt bỏ các rễ con rửa bằng nước sạch 2 lần cho hết đất cát, vớt ra rổ hoặc dàn thưa cho rút hết nước trước khi đem phơi và tiêu thụ [7].

c. Vận chuyển, sơ chế

Đảng sâm được đóng bao và chở về nơi tập kết. Lưu ý không nên nén, ép Đảng sâm trong quá trình đóng gói, tránh hiện tượng dập nát, hư hỏng trong quá trình vận chuyển.

Sau khi vận chuyển đến nơi tập kết cần rửa sạch trong nước để loại bỏ bùn đất và đổ Đảng sâm trải rộng trong không gian thoáng mát, để phòng các loài côn trùng gặm nhấm. Sau khi Đảng sâm ráo nước sẽ bắt đầu quá trình sơ chế và bảo quản.

6. Bảo quản

Phơi nắng hoặc sấy ở nhiệt độ từ thấp đến cao cho đến khi khô, ẩm độ <12 % là được. Khi Đảng sâm khô, đạt tiêu chuẩn, bảo quản trong bao nilon, bên ngoài bọc bao tải lưới hoặc các loại bao tải chống ẩm khác, để nơi khô ráo không được ẩm ướt. Khi bảo quản trong kho để trên giá hoặc kệ cao cách mặt đất ít nhất 5 cm. Đảng sâm ít bị mối mọt.

3.3.1.4. Quy trình trồng Đương quy – *Angelica acutiloba*

1. Chuẩn bị đất trồng

Chọn đất: Đất cát pha, phù sa hoặc thịt nhẹ, thoát nước tốt. pH: 6,5 - 7. Tầng canh tác trên 30cm.

Làm đất: Đất được cày bừa kỹ, nhặt sạch cỏ dại. Lên luống cao 30 - 35 cm, mặt luống rộng 90 - 120 cm, rãnh 30 cm.

2. Giống

Sử dụng 1 trong 3 phương pháp sau:

- *Phương pháp gieo hạt trên vườn ươm:*

Đất lên luống cao 20 - 25 cm, rộng 90 cm. Bón lót cho 1000m² với lượng 1 tấn phân chuồng hoai mục + 250kg supe lân + 1 kg kali clorua. Trộn đều phân vào đất, san phẳng mặt luống, sau đó rắc đều hạt trên luống.

Gieo xong phủ rơm rạ kín mặt luống và thường xuyên tưới nước để đất đủ ẩm. Sau khi hạt mọc mầm (khoảng 15 ngày) dỡ bỏ rơm rạ.

Cần tiến hành làm cỏ và tỉa bớt cây xấu. Khi cây có 6 - 7 lá tỉa định cây để khoảng cách cây 5 cm. Sau mỗi lần làm cỏ, tỉa cây có thể tưới thúc phân chuồng loãng. Khi cây được 8 - 9 lá, chọn cây khỏe mạnh, không sâu bệnh, đánh trồng ra ruộng sản xuất.

- *Gieo thẳng lên ruộng:*

Tiến hành cày bừa kỹ, dọn sạch cỏ sau đó lên luống từ 1 - 2 m, luống cao 25 - 30cm, rãnh rộng 25 - 30 cm để tiện chăm sóc đi lại. Trộn phân chuồng hoai mục với phân lân để bón lót, lượng bón 3 - 5 tấn/ha; supe lân 200 kg/ha.

Hạt giống trước khi gieo phải phơi nắng nhẹ, sau đó ngâm ủ với nước nóng (1 sôi, 3 lạnh), nhiệt độ 27 - 30 độ, ngâm 1 ngày đêm vớt ra để ráo rồi đem gieo.

Lượng hạt cần gieo: 60 - 75 kg/ha, gieo vãi hoặc hàng theo luống. Sau khi gieo phủ rơm, rạ kín mặt luống, tưới ẩm thường xuyên. Sau khi gieo khoảng 13 - 15 ngày hạt bắt đầu mọc mầm, khi hạt mọc rộ cần dỡ bỏ rơm rạ phủ mặt luống.

- *Phương pháp gieo hạt trong bầu:*

Mỗi bầu gieo 4 - 5 hạt. Sau khi gieo xong phủ rơm rạ (hoặc xếp vào giàn có mái che) để tránh mưa. Tưới ẩm hàng ngày, sau khi gieo khoảng 15 ngày hạt bắt đầu nảy mầm, dỡ bỏ rơm rạ, vẫn tiếp tục tưới cho bầu đủ ẩm. Khi cây được 2 lá tỉa bớt các cây xấu; khi cây 3 lá tỉa định cây, mỗi bầu để 2 cây. Khi cây có 3 - 4 lá có thể mang cây ra

ruộng trồng. Không để cây con quá lâu trong bầu. Trong giai đoạn cây con ở trong bầu nếu thấy cây cần còi cần tưới thúc bằng nước hòa phân đạm pha loãng 7 - 10% để cây con sinh trưởng tốt.

3. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

- *Thời vụ trồng cây đương quy:*

Gieo hạt tháng 6 - 7, thu hoạch vào tháng 10, 11 năm sau, thời gian sinh trưởng là 14 -18 tháng, dực liệu sẽ đảm bảo về hoạt chất.

- *Khoảng cách, mật độ trồng:*

Mật độ khoảng cách trồng trên luống thường là 125.000 - 130.000 cây/ha với khoảng cách cây cách cây 20 x 20cm, hàng cách hàng 30cm.

- *Bón phân:*

+ Lượng phân bón cho 01 ha: Phân chuồng hoai mục 20 tấn, 550 kg đạm urê, 750 kg supe lân, 250 kg kali/ha.

+ Bón lót: Trộn đều toàn bộ phân chuồng và phân lân sau đó phủ 1 lớp đất lên.

+ Bón thúc:

- Đợt 1: Khi cây có 5 lá bón 25% đạm urê/ha

- Đợt 2: Khi cây có 7 lá bón 25% đạm urê/ha.

- Đợt 3: Khi cây có 9 lá bón 25% đạm urê/ha + 25% kali/ha.

- Đợt 4: Khi cây có 11 lá bón 15% đạm urê + 50% kali/ha.

- Đợt 5: Khi cây có 13 lá bón nốt số đạm và kali còn lại.

4. Sâu bệnh trên cây đương quy và phương pháp phòng trừ:

Cây Đương quy thường gặp các loại sâu, bệnh sau:

+ Các loại sâu: Sâu xám, sâu xanh, rệp, nhện đỏ.

+ Các bệnh: Lở cổ rễ, đốm lá, bệnh sùi củ.

Biện pháp phòng trừ:

Thực hiện các biện pháp phòng trừ tổng hợp, xử lý hạt, xử lý đất, dọn vệ sinh đồng ruộng thường xuyên.

Đối với sâu xám thường gây hại trên vườn ươm vào giai đoạn mới trồng, có thể bắt bằng tay vào sáng sớm, hoặc rắc Basudin từ 40- 45 kg/ha. Sâu xanh, rệp có thể phun Sherpa 10EC, thuốc tập kỳ 18EC, Vipast 5ND với nồng độ theo hướng dẫn trên nhãn

thuốc, thời gian cách ly 10 - 15 ngày. Nhện đỏ (phát sinh vào tháng 5 - 6): Dùng Pegasus phun với nồng độ 0,1% hoặc Supracide 0,5% vào mặt dưới lá.

Đối với các loại bệnh có thể dùng:

- Daconil 75WP, Score 250ND phun, tưới trực tiếp dung dịch thuốc vào gốc cây.

Nồng độ, lượng dùng theo đúng chỉ dẫn nhãn thuốc.

- Thời gian cách ly 14 - 21 ngày. Ngoài ra có thể luân canh có thể cải thiện tình hình bệnh của Đương quy.

Chú ý: Không dùng các loại thuốc cấm, các loại thuốc không có trong danh mục được phép sử dụng ở Việt Nam và các loại thuốc hạn chế sử dụng.

5. Thu hoạch

a. Thời điểm thu hoạch

Thời điểm thu hoạch Đương quy thường từ tháng 11-12. Tuy nhiên, tùy vào điều kiện thời tiết từng năm có thể thu từ tháng 7 đến tháng 12.

Nên thu hoạch vào thời điểm nắng to để tiện phơi sấy, tránh làm cây bị mốc [25].

b. Kỹ thuật thu hoạch

Khi thu hoạch, cắt bỏ lá chỉ để lại cách một đoạn 5 – 10 cm, đào củ bằng cuốc hoặc thuổng, tránh làm đứt rễ củ.

Đương quy được tập kết tại điểm chế biến, dưới có bạt lót. Rửa sạch dược liệu bằng hệ thống rửa ngược dòng 3 nước, khi nước bẩn thì thay toàn bộ nước. Trong quá trình rửa đồng thời tiến hành nhặt bỏ củ hỏng, thân lá lẫn tạp. Để ráo dược liệu. Sản phẩm được đưa vào chọn lọc, phân loại và đưa vào lò sấy. Cần cố gắng đạt được độ khô đồng đều để tránh nấm, mốc [25], [26].

Không được cho gia súc, gia cầm, chim chóc, côn trùng, loài gặm nhấm và loài có hại khác vào khu vực xưởng sấy và khu vực sân phơi, rửa.

Sau khi rửa sạch dược liệu tiến hành xông diêm sinh ở 40⁰C, trong khoảng 2 ngày với tỷ lệ 1%, sau đó phơi đến khô, độ ẩm của dược liệu khi cất trữ dưới 13%.

c. Sau thu hoạch

Lá của cây đương quy có thể đem băm nhỏ, ủ làm phân xanh hoại mục để bón tiếp cho cây vào mùa vụ sau.

Gieo hạt tháng 6 - 7, thu hoạch vào tháng 11 - 12 năm sau.

6. Bảo quản

Đương quy sau khi phơi khô hoàn tất sẽ được bảo quản trong hộp hoặc bao bì nilon được đóng gói kín, để nơi khô ráo thoáng mát, tránh ánh nắng trực tiếp và ẩm mốc làm mốc đương quy.

Đương quy phải thật khô, độ ẩm còn 13 - 14%, có đầu, đầu rễ hình tròn có vân vòng đò, màu đen hoặc nâu vàng bên trong màu trắng, vàng hoặc màu vàng có dầu, không bị mốc, không có tạp chất, rễ lớn hơn 1,7mm là đạt quy cách phẩm chất [25, 32].

Bảo quản Đương quy trong túi polyetylen ngoài có bao tải, hoặc bảo quản kín trong chum vại. Dược liệu đương quy rất dễ bị mốc mọc, cần kiểm tra thường xuyên để xử lý. Bao tải ngoài ghi đầy đủ thông tin sản xuất gồm mã số lô sản xuất, đơn vị sản xuất, ngày đóng gói, khối lượng...

Bảo quản trong kho khô, thoáng, có kệ kê bao dược liệu cách nền và tường, theo hàng cho thuận tiện kiểm tra định kỳ đánh giá độ ẩm, mốc mọc...

Vận chuyển trong xe tải kín, tránh mưa nắng làm hỏng dược liệu.

3.3.1.5. Quy trình trồng sa nhân tím – *Amomum longiligulare*

1. Chuẩn bị đất trồng

Đất thung lũng, ven khe suối, chân đồi, tầng đất dày > 50 cm, nhiều mùn, độ cao dưới 1.000 m so với mặt nước biển.

Phát dọn thực bì: Điều chỉnh độ tán che từ 0,5 - 0,6. Có thể phát dọn theo rạch để trồng hoặc phát dọn quanh hố đường kính 1m.

Làm đất: Đào hố, kích thước 30 x 30 x 30 (cm)

Bón phân, lấp hố: Bón lót 0,05 kg phân NPK/ hố. Trộn đều phân, đất và lấp đầy hố trước khi trồng từ 7-10 ngày.

2. Giống

- Chọn cây mẹ: Lựa chọn cây mẹ có nguồn gốc rõ ràng, đạt các tiêu chuẩn sau: Đúng giống; Đúng tuổi: 3-4 tuổi; Sinh trưởng phát triển tốt và cho quả hàng năm.

- Xử lý hạt giống: Ngâm vào nước ấm khoảng 50 – 55°C; ngâm từ 7-8 giờ sau đó vớt ra, hong cho ráo hạt và đem gieo vào đất. Đất gieo có thể là đất cát pha hoặc đất thịt nhẹ. Hàng ngày tưới nước giữ ẩm cho luống gieo vào lúc sáng sớm và chiều mát.

Sau gieo 50-60 ngày, cây cao từ 5-7 cm, có 2-3 lá, tiến hành nhổ cây cấy vào bầu. Túi bầu có kích thước 10 x 14 (cm). Hỗn hợp ruột bầu gồm: 80% đất mặt vườn ươm

hoặc đất đồi tầng B + 18-19% phân chuồng hoai + 1-2% lân. Bầu được xếp thành luống rộng 1 m, dài tối đa 10 - 15 m, rãnh rộng 0,4 m.

- Chăm sóc cây con:

+ Che bóng cho cây: Trong 1 tháng đầu độ che 80%, sau giảm còn 50 - 60% và trước khi xuất vườn 15 - 20 ngày độ che còn 30 - 40%.

+ Tưới nước, làm cỏ: Ngày tưới 1-2 lần đảm bảo bầu cây luôn đủ ẩm. Hàng ngày tưới nước kết hợp nhổ cỏ để vườn ươm luôn sạch cỏ.

+ Bón phân: Định kỳ 15-20 ngày tưới phân NPK nồng độ 0,2% (hòa tan 20g phân trong 10 lít nước tưới 3-4 m² bầu cây) cho cây sinh trưởng chậm.

+ Phòng trừ bệnh: Khi cây được 1-2 tháng tuổi, thường bị bệnh lở cổ rễ làm cây con chết rạp. Tạm ngưng tưới nước và dùng một trong các loại thuốc có chứa gốc đồng (Cu) để trừ bệnh như: Ben lát C, Vicarben,...

+ Phòng trừ sâu: Trong giai đoạn vườn ươm, cây bị sâu ăn hại lá. Nếu phát hiện cây bị sâu hại ở mức độ ít thì bắt giết, nếu mức độ nhiều thì dùng một trong các loại thuốc sau để phun: Ofatox, Karate, Sherzol,...

+ Đảo bầu: Đảo 2 lần, lần 1 khi cây được 3,5-4,0 tháng, lần 2 trước khi trồng 15-20 ngày.

3. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

- *Khoảng cách, mật độ trồng:*

Khoảng cách trồng 1 m x 1 m/cây, tương đương với mật độ 9.800 cây/ha (hoặc 10.000 cây/ha nếu không chừa lối đi).

- *Kỹ thuật trồng:*

Cuộc 1 lỗ giữa hố sâu hơn chiều cao túi bầu, xé bỏ túi bầu và đặt cây ngay giữa lỗ, miệng bầu thấp hơn miệng hố 2-3 cm, lấp và ém chặt đất vào góc, vun đất đầy góc dạng mu rùa.

Sau khi trồng 10 - 15 ngày tiến hành kiểm tra, trồng dặm những cây chết và vun đờ những cây bị nghiêng ngã.

- *Làm cỏ, bón phân:*

+ Làm cỏ: xung quanh gốc Sa nhân. Do cây Sa nhân mọc nông, thân rễ nổi trên mặt đất, bởi vậy, trong quá trình chăm sóc không cần vun gốc. Cỏ dại rầy ra phơi dưới nắng sẽ khô sau thành mùn cho đất

Trong vòng 1,5 - 2 năm đầu tiên, khi cây Sa nhân chưa phủ kín mặt đất, cứ 2 - 3 tháng làm cỏ một lần. Khi cây Sa nhân đẻ nhiều nhánh, lan tỏa từ khóm nọ sang khóm kia, mặt đất được che phủ, cỏ dại sẽ không mọc được nữa.

+ Bón thúc phân: Mỗi năm bón 1 lần

Năm 1: Bón thúc bằng phân NPK với lượng 1 tấn/ha, bón vào tháng 6-7 (sau khi làm cỏ).

Năm thứ 2 và 3 mỗi ha bón 1 tấn NPK cộng thêm 1 tấn phân vi sinh trộn đều, bón vào tháng 3 (trước khi ra hoa).

Cách bón là rắc đều quanh gốc, khi sa nhân đã mọc đầy thành thảm thì rắc phân toàn bộ diện tích có sa nhân.

4. Thu hoạch:

Sau 3 năm (trồng bằng cây hạt) sa nhân cho thu hoạch. Bình quân mỗi ha cho thu hoạch từ 150 - 200 kg quả khô (10 kg quả tươi phơi được 1,5 - 1,8 kg quả khô, ước khoảng 0,7-0,8 kg hạt).

a. Thời điểm thu hoạch

Sa nhân tím mọc tự nhiên cũng như khi đã đưa vào trồng trọt, một năm có 2 mùa hoa quả. Vì thế, theo đó cũng có 2 vụ thu hoạch quả.

Vụ thứ nhất: Hoa nở từ tháng 5 đến tháng 6, quả già vào tháng 7-8. Thời điểm thu hoạch từ 15 tháng 7 đến 15 tháng 8 (hoặc cho đến cuối tháng 8). Đây là vụ hoa quả chính, nên cũng là vụ cho thu hoạch Sa nhân tím chủ yếu trong năm

Vụ thứ hai: Hoa nở rải rác bắt đầu ngay trong khi quả vụ thứ nhất đang già tháng 8 đến tháng 9, quả già vào tháng 10-11 và có thể kéo dài tới đầu năm sau. Thời điểm để thu hoạch từ 15/9 đến cuối tháng 10 hoặc dài hơn. Vụ này có hoa quả ít hơn vụ trên nên còn gọi là "Vụ phụ".

Dược liệu Sa nhân tím (cũng như đối với các loài Sa nhân khác) được thu hái lúc quả già. Cách nhận biết quả già như sau:

Khi quả Sa nhân tím già, quả có màu tím đen; các gai trên quả ngắn hơn so với khi còn non; bóp nhẹ thấy cứng, bóc vỏ ra thấy hạt có màu vàng nâu hay nâu; nếm phần áo hạt thấy ngọt và khi cắn vỡ một hạt có mùi thơm đặc trưng và vị hơi cay tê (tinh dầu). Ngược lại quả non màu đỏ tía, gai quả dài và khi bóp nhẹ thấy mềm. Khi quả còn non, các hạt chưa già nên có màu trắng và ít thơm [30].

b. Kỹ thuật thu hoạch

Bới lớp thảm mục dưới gốc cây Sa nhân để tìm các chùm quả. Dùng tay bẻ cả chùm cho vào túi ni lông hoặc bao tải. Khi thu hái chỉ chọn lấy chùm quả già, quả non để lại, hái sau. Mùa hoa quả của Sa nhân tím thường kéo dài, hơn nữa khi cây trưởng thành thường mọc dày tạo thành đám liên tục trên toàn bộ diện tích trồng. Để có thể thu hái được hết quả cần chú ý:

- Thu hái theo tuyến, mỗi tuyến cách nhau khoảng 3m, để dễ quan sát và tìm kiếm. Thu hái lần lượt tuyến này sang tuyến khác.

- Do mùa hoa quả kéo dài, quả già không cùng một lúc, nên trong một vụ cần thu hái 2 lần (có thể tới 3 lần), mỗi lần cách nhau từ 5-7 ngày [30].

c. Sơ chế

Loại bỏ tạp chất và làm sạch: quả thu được đem về nhà cần tiến hành ngay việc loại bỏ tạp chất, bao gồm: nhặt bỏ rác, lá mục bị lẫn vào khi thu hái. Bóc bỏ các lá vảy, lá bắc còn tồn tại trên chùm quả. Chùm quả Sa nhân mọc sát trên mặt đất, nếu thấy bẩn phải đem rửa, loại bỏ hết đất cát. Sau khi thu hoạch, rửa sạch đất, tước bỏ phần lõi cứng của quả rồi đem phơi khô để cất giữ lâu dài.

Sau khi loại hết tạp chất và làm sạch, ngắt rời từng quả, bỏ cuống trước khi đem phơi sấy. Ngoài ra, có thể không cần ngắt rời quả mà vẫn để nguyên từng chùm, nhằm tạo thông thoáng khi phơi sấy. Đến khi gần khô mới tách quả ra, sau đó tiếp tục phơi sấy cho đến khô thật.

- Phơi sấy: sau khi đã loại bỏ hết tạp chất và làm sạch, quả Sa nhân tím phải được phơi hay sấy khô ngay. Phơi trực tiếp trên sân gạch, sân xi măng hay lá cót và nong nia. Cách tốt nhất là ngày phơi, đêm sấy hoặc sấy liên tục nếu gặp mưa nhiều ngày. Hơn nữa, vụ thu hoạch Sa nhân thường tập trung vào khoảng từ 15/7 - 15/8, đây là thời gian hay có mưa ngâu. Vì thế, nếu có nhiều Sa nhân, nhất thiết phải có lò sấy. Lò sấy Sa nhân chính là lò để sấy các loại dược liệu khác hoặc có thể tận dụng lò sấy thuốc lá. Khi sấy Sa nhân cần bố trí theo kiểu sấy bằng hơi nóng, tránh khói, với nhiệt độ sấy khoảng 50-600C. Quả Sa nhân được để trên phen tre nứa hay lưới sắt, đặt trên các tầng khác nhau, cứ 5-6 giờ lại đảo vị trí giữa các sà. Sau khi thu hoạch, rửa sạch đất, tước bỏ phần lõi cứng của củ rồi đem phơi khô để cất giữ lâu dài.

Lò sấy Sa nhân chính là lò để sấy các loại dược liệu khác hoặc có thể tận dụng lò sấy thuốc lá. Khi sấy Sa nhân cần bố trí theo kiểu sấy bằng hơi nóng, tránh khói, với nhiệt độ sấy khoảng 50-60°C. Quả Sa nhân được để trên phen tre nửa hay lưới sắt, đặt trên các tầng khác nhau, cứ 5-6 giờ lại đảo vị trí giữa các sàn.

Quả Sa nhân phơi nắng (nắng to) 4-5 ngày liên tục là khô kiệt. Nếu sấy liên tục thì chỉ cần tối đa trong 2 ngày và 2 đêm [30].

d. Sau thu hoạch

Chú ý khi thu hoạch cần kết hợp lấy dây thân làm hom giống. Dùng cuốc lấp kín đất vào gốc cây vừa khai thác để mọc thành bụi mới.

5. Bảo quản

Dược liệu Sa nhân được thương mại và lưu thông trên thị trường dược liệu trong nước là dạng quả khô (còn vỏ), khi sử dụng làm thuốc hay xuất khẩu mới bóc bỏ vỏ để lấy khối hạt. Sa nhân khô còn nguyên cả vỏ là cách để giữ cho khối hạt bên trong không bị ẩm, mốc và không bị bay hơi mất tinh dầu. Sau khi phơi khô, quả Sa nhân tím được đóng gói trong 2 lớp bao bì. Lớp trong là túi polyetylen, lớp ngoài là bao tải. Tùy theo yêu cầu của khách hàng mà mỗi bao có thể là 20 hay 30kg.

Đối với người nông dân sau khi đóng gói Sa nhân khô, cần liên hệ với các doanh nghiệp để xuất bán ngay. Dược liệu Sa nhân lưu giữ ở kho vẫn được để trong các bao tải trên. Các bao phải được xếp trên kệ hoặc giá, cao cách mặt sàn trên 50cm. Kho chứa dược liệu phải đảm bảo cao ráo, kín đáo nhưng thông gió. Định kỳ kiểm tra, sớm phát hiện Sa nhân bị ẩm để định kỳ xử lý.

Một số kho chứa dược liệu hiện nay được xây kín, có máy hút ẩm hoặc điều hòa nhiệt độ, nên Sa nhân được để trong đó sẽ được bảo đảm tốt hơn về chất lượng [30].

3.3.1.6. Quy trình trồng đinh lăng – *Polyscias fruticosa*

1. Chuẩn bị đất trồng

Chọn đất thoát nước tốt, không bị ngập úng.

Đào hố rộng 40 x 40 x 40 cm, (hoặc hố rộng 1m, sâu 40cm bên dưới lót nilon, tấm nhựa PE để tiện việc thu hoạch của sau này).

Việc chuẩn bị đất cần tiến hành trước thời điểm xuống giống khoảng 15-30 ngày để đất ổn định, hệ vi sinh phát triển cân bằng, tạo điều kiện tốt nhất cho cây con phát triển.

Mỗi hecta đất trồng đinh lăng cần bón lót 10-15 tấn phân chuồng, 400 – 500kg phân NPK (loại ít kali), 50-100kg supe lân rải đều và cày xới bằng máy cày trước khi vun luống, nếu trồng bằng cách đào hố thì chia đều lượng phân kể trên cho số lượng hố trồng.

2. Giống

Cây giống cần được ương trong bầu 4-5 tháng hoặc ủ trong cát 50-60 ngày cho thật nhiều rễ, khi trồng tỷ lệ sống sẽ cao hơn .

+ Trồng bằng hom giống: Hom giống được chọn những cành khỏe, cành bánh tẻ, cành vừa hóa nâu, sau đó cắt từng khoảng dài 20cm để làm hom giống, đặt hom giống nghiêng 45o theo mặt hố đã chuẩn bị sẵn, sau đó lấp hom, để hở đầu hom trên mặt đất 5cm.

+ Trồng bằng cây giống: Sau khi xé túi bầu, cây giống đặt giữa hố trồng, lấp đất, dùng tay nén đất xung quanh túi bầu. Trồng xong, phủ rơm rạ lên mặt luống để giữ độ ẩm và tạo mùn cho đất tơi xốp. Khi trồng xong, nếu đất khô phải tưới nước đảm bảo độ ẩm cho đất trong vòng 25 ngày nhưng không để ngập nước. Nếu trời mưa liên tục phải thoát nước ngay để tránh thối hom giống.

3. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

- *Thời vụ trồng:*

Có thể trồng quanh năm, tuy nhiên nên trồng vào đầu mùa mưa để đỡ công tưới nước, thường là vào khoảng tháng 4-5.

- *Khoảng cách, mật độ trồng:*

Mật độ trồng thường rơi vào khoảng 40.000 – 50.000 cây/hecta. Tương ứng với khoảng cách cây là 40x50cm hoặc 50x50cm.

- *Kỹ thuật trồng:*

Khi trồng cần nhẹ nhàng dùng dao cắt lớp nilon bầu hoặc nhổ cây khỏi luống, tránh để cây bị đứt rễ. Đặt cây vào chính giữa luống đất (đã khơi hố) hoặc chính giữa hố trồng miệng bầu ngang với mặt đất xung quanh, cây cách cây 50cm, lấp đất đồng thời nén nhẹ xung quanh, vun cao ở góc để tránh đọng nước

Trường hợp trồng trong hố lớn (hố 1m sâu 40cm, có lót nilon) thì trồng 3 cây 1 hố theo hình tam giác cân, cây cách cây 30-40cm

Sau khi trồng cần tưới nước ngay để giữ ẩm cho cây, nên chọn ngày mát trời để trồng, nếu trồng trong mùa khô cần phủ gốc bằng rơm rạ, vỏ trấu, xác bèo... để giữ ẩm.

+Tưới nước: Giai đoạn cây còn nhỏ (6 tháng đầu) thường xuyên tưới nước để giữ ẩm cho cây nếu trời không mưa. Sau này bộ rễ phát triển thì tùy theo tình hình cây mà tưới nước phù hợp. Khi tưới chỉ nên tưới vừa đủ, không để đọng nước quá lâu, bộ rễ dễ bị nấm bệnh tấn công

+Làm cỏ: Thường xuyên dọn cỏ sạch sẽ trong vườn, tránh để cỏ rạp rạp vừa cạnh tranh dinh dưỡng với cây, cạnh tranh không gian sinh trưởng, vừa là nơi trú ngụ mầm bệnh. Mỗi năm tiến hành làm cỏ 4-5 lần tùy theo tình hình cỏ dại, khi cây qua năm thứ 2, để hạn chế cỏ dại đồng thời cải tạo đất, giữ ẩm... có thể cân nhắc trồng thêm cỏ lạc dại giữa các hàng.

+Bón phân: Ngoài việc bón lót như đã đề cập ở phần chuẩn bị đất, sau khi trồng cần tiến hành bón thúc bằng phân ure với liều lượng 80kg/hecta. Việc bón thúc thực hiện 2-3 lần suốt năm đầu tiên. Đến cuối năm thứ 2, sau khi cắt tỉa cành tiến hành bón thúc lần thứ 2 để kích thích cây ra cành mới, nhanh chóng hồi phục. Ngoài ra mỗi năm bổ sung thêm 10 tấn phân chuồng (bón 1 lần), 500-600kg NPK (chia thành 2-3 lần) cho mỗi hecta đình lăng.

+ Cắt tỉa cành: Sau khi trồng khoảng 6-9 tháng chiều cao cây đạt từ 50-100cm tiến hành hãm ngọn lần 1, hãm cách mặt đất khoảng 20cm, sau đó nuôi lại 2-3 chồi. Cuối năm thứ 2 tiến hành hãm ngọn lần 2, và nuôi lại chồi tương tự như lần đầu. Phần thân cành dư ra có thể dùng để tiếp tục nhân giống hoặc cung cấp cho các vườn ươm cây giống để cải thiện kinh tế.

4. Phòng trừ sâu bệnh cho đình lăng

Giai đoạn ươm cây trong vườn ươm: Cần tiến hành che bằng bạt nilon để hạn chế nước mưa tiếp xúc trực tiếp, cây sẽ ít bị tình trạng rụng lá. Bên cạnh đó cần kết hợp phun các thuốc trừ nấm như Ridomil Gold, COC85 và các thuốc trừ sâu bọ cắn hại cây như Furadan, Basudin.

Giai đoạn năm đầu tiên: Thường bị rầy mềm, sâu ăn lá, ốc sên ăn vỏ... có thể phòng trừ bằng các thuốc trừ sâu có tính nội hấp, lưu dẫn. Phun định kỳ 1-2 tháng 1 lần. Ngoài ra có thể sử dụng các loại thuốc trừ sâu dạng bột khơi nhẹ đất quanh gốc và rải một ít thuốc để phòng trừ các loại sâu bệnh hại rễ, hại gốc.

Các năm về sau: Nhìn chung cây đã khỏe mạnh và rất ít sâu bệnh, công tác chăm sóc chỉ đơn giản là bón phân và tưới nước, rất nhàn.

5. Thu hoạch chế biến và bảo quản đinh lăng:

a. Thời điểm thu hoạch

Việc thu hoạch rễ Đinh lăng được tiến hành vào mùa đông và chỉ thu ở những cây từ 3 năm tuổi trở lên. Cây 5 năm tuổi cho năng suất rễ và thân cao nhất [6].

b. Kỹ thuật thu hoạch

Lá: khi chăm sóc cần tỉa bớt lá chồi quá dày, khi thu vỏ rễ, vỏ thân thì thu hoạch lá trước, sau đó mới chọn hom giống. Lá thu được đem hong gió cho khô là tốt nhất. Cuối cùng sấy cho thật khô.

- Vỏ rễ, vỏ thân: Rễ và thân cây rửa sạch đất cát, cắt rời rễ lớn, hong gió một ngày cho ráo nước để riêng từng loại vỏ thân, vỏ rễ sau khi bóc. Rễ nhỏ có đường kính dưới 10 mm không bóc vỏ. Loại đường kính dưới 5 mm để riêng. Rễ cần được phơi, sấy liên tục đến khi khô giòn là được.

Củ và rễ tươi đã thu hoạch cần chế biến ngay, không nên để quá 5 ngày. Có thể thái lát mỏng 0,3 – 0,5 cm rồi rửa sạch đem phơi hoặc sấy khô.

c. Sơ chế

Rửa sạch, cắt bỏ phần rễ sát với gốc thân, hong gió cho ráo nước, để ở chỗ mát, thoáng gió. Làm như vậy sẽ giữ mùi thơm và phẩm chất của rễ Đinh lăng. Có 2 cách để phơi sấy Đinh lăng:

Cách 1: Để nguyên rễ và cành để phơi khô, sấy;

Cách 2: Thái thành rễ, thân thành lát nhỏ, phơi khô, sấy.

Rễ Đinh lăng sau khi thu hái được phân loại như sau:

Loại 1: Vỏ, rễ cây có đường kính (tươi) từ 1 cm trở lên.

Loại 2: Vỏ thân và rễ có đường kính dưới 1 cm.

Loại 3: Các rễ và thân mỏng dưới 0,2 cm.

6. Bảo quản

Bao bì đóng gói 2 lớp: Đóng gói được liệu bằng túi polyetylen dày khó rách, sau đó buộc chặt đầu tránh không khí xâm nhập làm ẩm, mất mùi thơm, ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu. Đóng ngoài là bao gai bền có ghi đầy đủ ký hiệu lô, ngày và nơi sản xuất.

Bảo quản: nơi khô, sạch, chú ý phòng ẩm và mối mọt dễ phát sinh.

Kho bảo quản: ở nơi cao ráo, thoáng mát có cửa thông thoáng, trang bị kệ sắt để đặt sản phẩm, kệ cách tường kho và cách sàn kho 20 – 30cm để tránh ẩm và mối mọt.

Nên phơi, sấy ở nơi thoáng gió để giữ mùi thơm và phẩm chất của sản phẩm.

Sản phẩm sau khi đóng gói và bảo quản trong điều kiện thường: Rễ và thân có hạn sử dụng 2 năm; Lá có hạn sử dụng 6 tháng.

3.3.2. Xây dựng các mô hình trồng dược liệu

3.3.2.1. Mô hình trồng dược liệu Atisô

3.3.2.1.1. Địa điểm

Địa điểm đặt mô hình tại xã Tà Nung, thành phố Đà Lạt thuộc khuôn viên Khu du lịch rừng macca, độ cao vùng tâm mô hình 1.255 m, tọa độ 11°54'40.5"N, 108°22'29.8"E. Diện tích 3 ha.

Địa điểm trồng Atiso có địa thế lưng sườn đồi độ dốc 15°, giáp với rừng lá kim, được trồng xen canh dưới tán cây macca đang trong thời kỳ kinh doanh, có địa thế thuận lợi, gần nguồn nước tưới, có độ chiếu sáng phù hợp.

Quy hoạch sản xuất nông nghiệp Đà Lạt định hướng các tiểu vùng sản xuất nông nghiệp của Đà Lạt một cách cụ thể dựa trên điều kiện khí hậu, phân tích các tính chất cơ học của đất đai, tập quán canh tác của nhân dân địa phương và phương hướng mục tiêu của kế hoạch phát triển sản xuất. Từ các căn cứ trên, nông nghiệp thành phố Đà Lạt được phân chia làm 3 tiểu vùng, trong đó xã Tà Nung thuộc tiểu vùng 1 với loại đất chủ yếu là nâu đỏ trên Bazan và vàng đỏ, có tầng dày trên 100 cm, độ dốc 5-20°, cây trồng chính là cà phê và cây lương thực.

- *Độ dày tầng đất*: Đây là một trong những yếu tố quan trọng góp phần quyết định sự phát triển của thảm thực vật. Khu du lịch rừng macca nằm sâu trong rừng lá kim với loại đất chủ yếu là nâu đỏ và vàng đỏ thích hợp với cây macca và các loại cây công nghiệp, để tạo độ mùn xốp, dễ thoát nước phù hợp với cây Atiso thì cần bón lót và bón thúc bằng các loại phân chuồng hữu cơ.

- *Khí hậu*:

Theo số liệu quan trắc của trạm khí tượng thủy văn thành phố Đà Lạt, nhiệt độ trung bình hàng năm là 18,3°C, nhiệt độ trung bình cao nhất vào tháng 5 và tháng 6 là 19,5°C, nhiệt độ trung bình thấp nhất vào tháng 12 năm trước và tháng 1 năm sau là 16,4°C. Nền nhiệt này rất thích hợp với sức khỏe con người, đặc biệt đối với các loại hình du lịch nghỉ dưỡng và chữa bệnh, biên độ nhiệt dao động giữa ngày và đêm khá lớn, cao nhất vào mùa khô khoảng 12-13°C/ngày.

- *Thủy văn*:

Lượng mưa trung bình năm đạt 1.729 mm. Lượng mưa bình quân thấp nhất vào tháng 1 đạt 7,5 mm, cao nhất vào tháng 9 đạt 290,2 mm. Chế độ mưa theo mùa đã ảnh

hưởng đến hoạt động du lịch.. Độ ẩm bình quân khá cao đạt 84%, nhờ tác động của hệ thống thác nước, hồ trữ nước dưới thung lũng làm cho thời tiết dễ chịu, độ ẩm tương đối cao. Nhiệt độ: Nhiệt độ trung bình từ 18-22⁰ C.



Hình 100a. Hình ảnh từ vệ tinh của địa điểm đặt mô hình

3.3.2.1.2. Các bước triển khai mô hình

3.3.2.1.2.1. Xử lý thực bì

Trước khi làm đất triển khai mô hình phải phát dọn thực bì, do khu vực đã trồng sẵn macca, nên cần phát dọn cỏ, bố trí các luống Atiso cho phù hợp để có đủ ánh sáng và thuận lợi cho việc lắp các bép nước phục vụ việc tưới tiêu.

3.3.2.1.2.2. Chuẩn bị đất trồng

- Về đất trồng: hàm lượng hữu cơ 5 - 7%, giữ ẩm và thoát nước tốt.
- Ẩm độ đất trong vụ khô cần trên 80%, tuy nhiên nếu ẩm độ đất quá cao và kéo dài trong vụ mưa sẽ dễ gây bệnh chết cây con.
- Độ pH thích hợp là 6 - 6,5. Đối với điều kiện đất Đà Lạt thì hàng năm phải bón vôi để duy trì độ pH ổn định, nhất là vùng đất thấp.
- Dọn dẹp sạch cỏ, cày bừa sâu để làm thoáng đất cũng như tiêu diệt các mầm bệnh đang ẩn trong đất. Sau đó, sử dụng phân hữu cơ hoặc phân chuồng, vôi bột, phân lân để bón lót cho cây trước 1 - 2 tuần trước khi trồng cây giống.

3.3.2.1.2.3. Chọn giống

Tạo giống cây con Atiso dùng phương pháp gieo hạt: Gieo hạt vào mùa xuân, nên dùng đất nhiều chất mùn tốt để tránh hạt giống bị hư. Sau khi mọc được hai lá mầm, thì nhẹ nhàng tách từng cây giống cho vào bầu đất để dễ chăm sóc. Khi cây giống phát triển, cây cao chừng 30 - 50 cm, thì trồng cây vào luống đã làm sẵn.



Hình 100b. Hồ nước phục vụ tưới tiêu tại mô hình

3.3.2.1.2.4. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

- Khoảng cách, mật độ trồng:

Khoảng cách tối thiểu phải là 1,2 m. Trồng quá dày làm gió không thổi luồng được và sẽ cây dễ bị bệnh nấm sương. Xuống giống trồng Atiso với mật độ 6.000 cây/ha xen canh với cây mắc ca trồng mới hoặc dưới tán cây mắc ca trong thời kỳ kinh doanh. Mật độ này ít hơn 1.000 cây/ha so với kỹ thuật trồng Atiso chuyên canh ở địa hình đất tương đối bằng phẳng tại các vùng nông nghiệp Đà Lạt.

- Tưới nước

Sau khi trồng cây giống xong, phủ 1 nilong đen lên bề mặt luống để giữ ẩm cho cây. Đối với giai đoạn vừa mới trồng cây và vào mùa khô, cần tưới nước đầy đủ cho cây, 2 lần/ngày tưới vào lúc sáng sớm, chiều mát. Vào mùa mưa, có thể giảm lượng nước tưới xuống, thay vào đó nên chú đến việc thoát nước kịp thời cho cây để cây không bị ngập úng.

- Bón phân

Sau khi trồng, phủ cỏ khô để giữ ẩm và tưới nước 2 lần/ngày (nếu trời nắng). Giữ ẩm sau 7 - 10 ngày dỡ bỏ lớp che phủ ra. Sau khi cây bén rễ (khoảng 20 ngày), sử dụng hỗn hợp phân hữu cơ, chuồng ủ mục, DAP, NPK 16-16-8 để bón thúc cho cây (1-2 tháng/ lần). Nên thường xuyên làm cỏ dại, cũng như vun xới cho cây, để tránh tình trạng cây thiếu hụt các chất dinh dưỡng.

3.3.2.1.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển của cây Atiso trên mô hình đã lựa chọn

Kích thước lá, kích thước tán lá và chiều cao lá, chiều cao hoa, thể hiện một phần khả năng sinh trưởng của cây đặc biệt là đối với giai đoạn trồng đầu từ 1-6 tháng. Nghiên cứu chỉ tiêu về kích thước để thấy được quá trình sinh trưởng và sự tăng lên về sinh khối của cây qua theo thời gian. Để từ đó có những biện pháp tác động kịp thời, tạo điều kiện tốt nhất cho cây sinh trưởng.

Kết quả theo dõi cho thấy ở giai đoạn đầu khi chưa có hoa cây Atiso tập trung phát triển về lá, cây phát triển rất nhanh về các kích thước lá và chiều cao. Tuy nhiên, khi bắt đầu có hoa cây có xu hướng tập trung dinh dưỡng lên phần hoa nhiều hơn, các kích thước lá và tán không có sự thay đổi đáng kể.

Cây Atiso rất ít bị sâu bệnh hại, thường gặp chủ yếu như bọ phấn trắng và rầy mềm hại lá cây. Bệnh chủ yếu là bệnh đốm lá, héo rũ lá và nấm.

Qua kết quả bước đầu theo dõi quá trình sinh trưởng và tình hình sâu bệnh hại trong 12 tháng tại khu vực nghiên cứu không phát hiện sâu bệnh hại Atiso.



Hình 100c. Cây Atiso 1,5 tháng tuổi dưới tán cây Macca

Với việc trồng mô hình Atiso ở giai đoạn đầu có thể tình hình sâu bệnh hại nhẹ gần như không có nhưng những năm tiếp theo thì có thể phát sinh các dịch bệnh trên

cây. Biện pháp phòng trừ tốt nhất là làm sạch đất, xử lý mầm bệnh ở đất trước khi trồng, thường xuyên theo dõi dịch bệnh để sử dụng các thuốc theo từng loại bệnh. Tăng cường bón phân, làm cỏ để tăng sức sống cho cây. Với cây dược liệu để đảm bảo chất lượng dược liệu nên sử dụng thuốc phòng trừ dịch bệnh là các dạng chế phẩm sinh học.



Hình 100d. Cây Atiso 2,5 tháng tuổi dưới tán cây Macca

3.3.2.1.4. Tính toán hiệu quả kinh tế kinh tế

Cây Atiso là cây ngắn ngày, cho thu hoạch 1 vụ/1,5 năm. Với điều kiện gây trồng mật độ 6.000 cây/ha tại mô hình, với các chi phí dự tính như sau:

Tính cho 01 ha mô hình:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung chi	Đơn vị	Số lượng	Đơn giá	Thành tiền
1	Cây giống Atiso	cây	6.000	7.000	42.000.000
2	Phân bón (Phân chuồng, phân hữu cơ vi sinh phân hóa học)	tấn	15	7.000.000	105.000.000
3	Công lao động	công	1.000	250.000	250.000.000
Tổng chi phí mô hình					397.000.000

* Thu nhập: Sau 1,5 năm trồng, năng suất thu hoạch hoa đạt 2 kg/cây, giá bán tươi là 60.000 đồng/kg và lá đạt 20 kg/cây, giá bán tươi 5.000 đồng/kg.

Kết quả tính hiệu quả kinh tế mô hình Atiso như sau:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung	Thành tiền
1	Tổng chi phí đầu tư (đồng/ha) 12 tháng	397.000.000
2	Thu nhập từ hoa = 2 x 6.000 x 60.000	720.000.000
3	Thu nhập từ lá = 20 x 6000 x 5.000	600.000.000
4	Tổng thu nhập (đồng/ha)	1.320.000.000
5	Lợi nhuận (4) - (1)	923.000.000

Kết quả trên cho thấy: với lợi nhuận thu ước tính (trong điều kiện năng suất tối đa và tỷ lệ sống 100%) thu được là 615.333.000 đồng/ha/năm. Như vậy, việc trồng mô hình Atiso mang lại thu nhập cao cho người dân tại địa phương.

Nhận xét chung về hiệu quả kinh tế và so sánh với các cây trồng khác: Mô hình trồng cây Atiso với diện tích 03 ha được bố trí trên khu vực tán rừng macca mang lại thu nhập cao hơn so với trồng cà phê và rau màu, bên cạnh nguồn thu Atiso thì nguồn thu từ cây macca cũng rất giá trị, đây là một mô hình nông lâm kết hợp thân thiện môi trường, mang lại hiệu quả kinh tế cao.

3.3.2.2. Mô hình trồng dược liệu đẳng sâm

3.3.2.2.1. Địa điểm

3.3.2.2.1.1. Vị trí địa lý:



Hình 101a. Vị trí mô hình Đẳng sâm tại xã Đạ Chais, huyện Lạc Dương, Lâm Đồng

Khu vực triển khai mô hình thuộc xã Đạ Chais vì thế chúng có những đặc trưng về điều kiện tự nhiên của huyện Lạc Dương, tỉnh Lâm Đồng. Tọa độ vị trí đặt mô hình: 12°10'16.0"N 108°40'20.7"E. Diện tích mô hình 3 ha.

Dạng địa hình thung lũng, nằm dưới chân các ngọn đồi nên đây là khu vực tập trung đất phù sa, nguồn nước mặt khá dồi dào.

3.3.2.2.1.2. Khí hậu, thủy văn

Xã Đạ Chais nằm trong vùng khí hậu ôn đới. Nhiệt độ trung bình hàng năm thấp (18-22°C) và ổn định qua các mùa trong năm. Biên độ dao động giữa ngày và đêm lớn (9°C). Khí hậu rất thuận lợi cho quá trình sinh trưởng của các loại dược liệu.

Dạng địa hình thung lũng nằm ven các sông, suối lớn, nguồn nước mặt khá dồi dào, khá thích hợp với cho việc tưới tiêu, sự sinh trưởng và phát triển của Đảng sâm.

3.3.2.2.2. Các bước triển khai mô hình trồng và chăm sóc Đảng sâm

3.3.2.2.2.1. Trồng và chăm sóc Đảng sâm:

Đảng sâm là cây ưa ẩm và có thể chịu bóng. Cây sinh trưởng mạnh từ tháng 3 - 8. Sau khi ra hoa quả, cây thường tàn lụi để tránh mùa đông. Tái sinh tự nhiên chủ yếu bằng hạt. Cây có rễ củ nên có thể chịu được lửa rừng. Nhờ phân bố rộng, khả năng chịu bóng và tái sinh tốt. Chu kỳ sinh trưởng kéo dài 1-3 năm.

Các quần thể Đảng sâm thường mọc thành đám ở nơi có độ tàn che khoảng 0,6-0,7 và độ ẩm đất cao với tầng đất mùn dày, đây là loài tương đối ưa sáng, thích hợp với đất ẩm và có độ phì cao. Đảng sâm sống ở đất màu mỡ, nhiều mùn, cao ráo, thoát nước. Nhiệt độ thích hợp 18 - 25°C, có thể chịu được nhiệt độ trên 30°C nhưng không kéo dài. Lượng mưa trung bình 1500 mm.

Đảng sâm có khả năng cạnh tranh tương đối tốt với các cây thảm tươi khác kể cả cỏ tranh, do khả năng bám và vươn lên cao rất mạnh. Dưới tán rừng thông 3 lá được phát đốt, có lớp tro dày thì mật độ của loài này tăng lên rõ rệt, tạo thành các đám dày và sinh trưởng tốt.

Đất trồng: Đảng sâm xuất hiện phổ biến trên loại đất Feralit vàng đỏ có tầng dày trên 100cm và lớp thảm mục hoặc đất mùn dày đến 30cm. Các loại đất khác có thể trồng được nhưng năng suất thấp, pH thích hợp 5,5 - 6,5.

3.3.2.2.2.2. Giống và kỹ thuật nhân giống:

Dùng hạt giống của cây đã được trồng từ 2 - 3 năm. Không nên dùng hạt của cây trồng 1 năm vì vừa ít hạt, chất lượng thấp. Nên dùng hạt mới thu hoạch, chọn hạt già, đảm bảo chất lượng, có tỷ lệ mọc cao từ 75 % trở cao, lượng hạt cần dùng 5 - 6 kg/ha.

Đang sâm sinh sản chủ yếu hữu tính bằng hạt. Ngoài ra có thể sinh sản vô tính bằng mầm của đầu rễ (khi cần thiết).

Làm đất vườn ươm: Cần chọn đất tơi xốp, bằng phẳng, ít sỏi đá, thuận tiện tưới tiêu, nhặt sạch cỏ dại, cày hoặc cuốc sâu 30 cm. Phơi ải, bừa kỹ.

Lên luống: lên luống cao 30 cm, rộng 80 - 90 cm, dài tùy ý.

Phân bón: 3 tấn.

Gieo hạt: Hạt được đãi sạch, trộn đều đất bột khô, chia đều cho các luống, gieo làm 3 lần, xong lấp đất dày 1 - 2 cm, cuối cùng phủ một lớp rơm rạ hoặc trấu mỏng lên trên mặt luống. Lượng hạt dùng để gieo cho 1ha vườn ươm là 25 - 27 kg, đủ giống trồng cho 5 - 6 ha.

Chăm sóc vườn ươm: Luôn tưới đủ ẩm bằng ô doa, nếu không mưa hàng ngày tưới 1 lần vào buổi chiều mát. Sau 10 - 15 ngày hạt mọc, khi hạt mọc chọn ngày không mưa bỏ rơm rạ tưới ẩm thường xuyên làm cỏ tỉa loại bớt cây bị sâu hại, định kỳ 15 - 20 ngày tưới nước phân đạm pha loãng 1/10.

Cây được 5 - 6 lá thật, tỉa bớt cây để khoảng cách cây 3 - 5 cm. Cây được 9 - 10 lá (khoảng 3 tháng tuổi) chọn cây khỏe mạnh, không sâu bệnh đánh trồng ra ruộng sản xuất. Khi đánh cây tránh làm xây sát và đứt rễ củ.

3.3.2.2.3. Thời vụ gieo trồng

Mỗi năm có thể gieo trồng 2 thời vụ:

- Thời vụ 1: Gieo hạt vào mùa xuân (tháng 2 - đầu tháng 3) và đánh cây con trồng vào tháng 5 - 6.

- Thời vụ 2: Gieo hạt vào mùa thu (tháng 9 - 10) và đánh cây con trồng vào tháng 2 - 3.

3.3.2.2.4. Kỹ thuật chăm sóc theo các năm

- Năm thứ nhất: định kỳ 30 ngày chăm sóc 1 lần, làm sạch cỏ, kết hợp với bón đạm, lượng đạm mỗi năm 200 - 250 kg urê được chia làm 3 lần bón thúc, mỗi lần cách nhau 3 tháng.

Tháng 7, 8 khi cây chuẩn bị ra hoa, bón bổ sung $\frac{1}{4}$ lượng kali (100kg K_2SO_4)/ha. Cuối mùa đông cây lụi, cắt bỏ phần thân leo, vệ sinh đồng ruộng.

- Năm thứ 2: Sang mùa xuân năm thứ 2 khi cây bắt đầu mọc trở lại bón lót 10 tấn phân chuồng, phân hữu cơ + ½ lượng phân lân và ¼ lượng kali. Trộn đều vùi quanh gốc kết hợp với làm cỏ vun gốc.

Lượng đạm còn lại chia làm 3 lần bón thúc, mỗi lần cách nhau 3 tháng kết hợp với làm cỏ. Tháng 7,8 năm thứ 2 tiếp tục bón ¼ lượng kali còn lại.

3.3.2.2.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển của cây Đắng sâm trên mô hình đã lựa chọn

Qua theo dõi, cho thấy có thể trồng Đắng sâm với mật độ 20.000 cây/ha. Với mật độ trồng này khả năng sinh trưởng của Đắng sâm là tốt và tỷ lệ sống cao (> 80%).



Hình 101b. Theo dõi quá trình phát triển của Đắng sâm

Chế độ bón phân được lựa chọn cho thấy khả năng sinh trưởng tốt của Đắng sâm:

- Lượng phân bón cho 01 ha: Phân chuồng hoai mục hoặc phân hữu cơ vi sinh 20 tấn, 450-500 kg Urê, 500-600 kg Super lân, 200-250 kg Kali, 500kg vôi bột.

+ Bón lót: toàn bộ lượng phân hữu cơ và 1/3 lượng phân Lân, trộn đều bỏ theo hốc sau đó lấp đất lại.

+ Bón thúc: Năm thứ 1: bón 1/3 lượng Đạm + 1/3 lượng phân Kali. Năm thứ 2: bón 1/3 lượng Đạm + 1/3 lượng phân Lân và 1/3 lượng phân Kali. Năm thứ 3: bón 1/3 lượng Đạm + 1/3 lượng phân Lân và 1/3 lượng phân Kali.

Qua quá trình theo dõi sự sinh trưởng và phát triển, khu vực mô hình triển khai chỉ sử dụng thuốc diệt cỏ trong việc xử lý lớp thực bì, tuy nhiên, không phải sử dụng các loại thuốc bảo vệ thực vật từ lúc gieo trồng cho đến lúc thu hoạch.



Hình 101c. Mô hình trồng Đảng sâm

3.3.2.2.4. Tính toán hiệu quả kinh tế mô hình trồng Đảng sâm

Cây Đảng sâm là cây ngắn ngày, cho thu hoạch 1 vụ/1-2 năm trong điều kiện gậy trồng tự nhiên địa bàn huyện Lạc Dương, như vậy phần chi phí cho mô hình chủ yếu ở giai đoạn gậy trồng đầu tiên, với kết quả nghiên cứu trên đề tài lựa chọn gậy trồng Đảng sâm với mật độ 20.000 cây/ha, cụ thể phần chi phí như sau:

Tính cho 01 ha mô hình:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung chi	Đơn vị	Số lượng	Đơn giá	Thành tiền
1	Cây giống Đảng sâm	cây	20.000	2.000	40.000.000
2	Phân bón	tấn	5	6.000.000	30.000.000
3	Công lao động	công	400	200.000	80.000.000
Tổng chi phí mô hình					150.000.000

Thu nhập: Sau 2 năm trồng, năng suất thu hoạch rễ củ đạt 0,2 kg/cây, tổng sản lượng 4 tấn/ha giá bán tươi là 60.000 đồng/kg.

Kết quả tính hiệu quả kinh tế mô hình Đảng sâm như sau:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung	Thành tiền
1	Tổng vốn đầu tư mô hình Đảng sâm	150.000.000
2	Thu nhập (sản lượng x giá thành)	240.000.000
3	Lợi nhuận	90.000.000

Kết quả trên cho thấy: với lợi nhuận thu ước tính thu được là 45.000.000 đồng/ha/năm. Như vậy, việc trồng mô hình Đấng sâm gây trồng trên trên địa bàn xã Đa Chais, huyện Lạc Dương bước đầu có thể sẽ mang lại thu nhập tương đối tốt cho người dân tại địa phương.

3.3.2.3. Mô hình trồng dược liệu đấng quy nhật bản

3.3.2.3.1. Địa điểm

3.3.2.3.1.1. Vị trí địa lý:

Khu vực triển khai mô hình thuộc xã Mê Linh vì thế chúng có những đặc trưng về điều kiện tự nhiên của huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng. Tọa độ mô hình: 11°52'04.2"N 108°18'57.1"E. Diện tích mô hình 2 ha.

3.3.2.3.1.2. Khí hậu, thủy văn

Nhiệt độ trung bình hàng năm khoảng 21°C, biên độ dao động nhiệt giữa ngày và đêm lớn, nắng nhiều, độ ẩm không khí trung bình 80% thích hợp với cây á nhiệt đới và nhiều loại cây trồng vùng ôn đới, tiềm năng năng suất cao, chất lượng sản phẩm tốt. Chịu tác động bởi vùng nhiệt đới gió mùa, hàng năm chia làm hai mùa mưa nắng rõ rệt. Mùa mưa từ tháng 5-10; riêng tháng 8 lượng mưa giảm và có các đợt hạn ngắn nên khá thuận lợi cho thu hoạch vụ hè thu. Mùa khô kéo dài từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau.



Hình 102a. Vị trí mô hình Đấng quy tại xã Mê Linh, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng

3.3.2.3.2. Các bước triển khai mô hình trồng và chăm sóc đấng quy

Đấng quy thích ứng với khí hậu mát ẩm, biên độ nhiệt độ 15-25°C, với lượng mưa trung bình 1.600-2.000 mm/năm, đất giàu mùn.

3.3.2.3.2.1. Chuẩn bị đất trồng



Hình 102b. Xử lý thực bì trên mô hình trồng Đương quy

Chọn đất: Đất cát pha, phù sa hoặc thịt nhẹ, thoát nước tốt. pH: 6,5-7. Tầng canh tác trên 30cm.

Làm đất: Đất được cày bừa kỹ, nhặt sạch cỏ dại. Lên luống cao 30 - 35 cm, mặt luống rộng 90 - 120 cm, rãnh 30 cm.

Đương quy hoàn toàn có thể trồng dưới tán cây ăn quả hay những cây lâu năm khác như cà phê, tiêu, bơ, cam...

3.3.2.3.2.2. Giống

Giống cho sản xuất dược liệu là hạt thu từ cây 2 năm tuổi, hạt chắc mẩy, tỷ lệ nảy mầm trên 70%. Hạt giống Đương quy trong điều kiện bảo quản thông thường rất dễ mất sức nảy mầm, khi gieo tỷ lệ mọc mầm kém. Vì vậy tốt nhất là nên lấy hạt giống vừa thu hoạch năm đó đem gieo thì tỷ lệ nảy mầm tốt.

Lượng hạt giống gieo cần 9 - 10 kg/ha. Trước khi gieo có thể ngâm vào nước ấm 40 - 45°C (tỷ lệ 2 sôi 3 lạnh) trong thời gian 1 - 2 giờ. Sau đó vớt ra rửa sạch nước chua, để ráo nước đem gieo. Cũng có thể ủ hạt giống (theo kiểu ngâm giá đỗ) cho hạt nảy mầm sau đó đem gieo.

Sử dụng phương pháp gieo hạt trên vườn ươm: Đất lên luống cao 20 - 25 cm, rộng 90 cm. Bón lót cho 1000m² với lượng 1 tấn phân chuồng hoai mục + 250kg supe lân +

1 kg kali clorua. Trộn đều phân vào đất, san phẳng mặt luống, sau đó rắc đều hạt trên luống. Gieo xong phủ rơm rạ kín mặt luống và thường xuyên tưới nước để đất đủ ẩm. Sau khi hạt mọc mầm (khoảng 15 ngày) dỡ bỏ rơm rạ.

Cần tiến hành làm cỏ và tỉa bớt cây xấu. Khi cây có 6 - 7 lá tỉa định cây để khoảng cách cây 5 cm. Sau mỗi lần làm cỏ, tỉa cây có thể tưới thúc phân chuồng loãng. Khi cây được 8 - 9 lá, chọn cây khỏe mạnh, không sâu bệnh, đánh trồng ra ruộng sản xuất.

3.3.2.3.2.3. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

- *Thời vụ trồng cây Dương quy:*

Gieo hạt tháng 6 - 7, thu hoạch vào tháng 10, 11 năm sau, thời gian sinh trưởng là 14 -18 tháng, được liệu sẽ đảm bảo về hoạt chất.

- *Khoảng cách, mật độ trồng:*

Mật độ khoảng cách trồng trên luống thường là 70.000 - 80.000 cây/ha với khoảng cách cây cách cây 20 x 20 cm, hàng cách hàng 30 cm.

- *Bón phân:*

Lượng phân bón cho 01 ha: 10-15 tấn/ha.

- *Kỹ thuật trồng cây Dương quy:*

Chọn cây có từ 4-5 lá, không sâu bệnh, không cụt ngọn đem trồng. Khi trồng đặt cây giống nhẹ nhàng vào giữa hốc đã xác định mật độ khoảng cách dùng tay vun đất xung quanh cây, lấp kín phần gốc rễ, sau đó ấn chặt đất. Trồng xong phải tưới nước ngay để cố định cây và giữ ẩm cho cây nhanh hồi xanh.

- *Chăm sóc cây Dương quy:*

Tỉa dặm và định cây: Cây mọc, nếu dày quá phải tỉa bớt những cây nhỏ, yếu và đến khi cây được 3-4 lá thật bứng ra trồng và định cây với khoảng cách 20cm một cây. Sau khi trồng 3-5 ngày cần kiểm tra kỹ, nếu gặp cây chết phải kịp thời trồng dặm cho mật độ được đồng đều để năng suất cao hơn.

Làm cỏ: Khi cây còn nhỏ phải thường xuyên nhổ cỏ, không để cỏ lấn át cây con. Khi đã định cây hay cây trồng đã bén rễ, cần làm cỏ 20-30 ngày một lần cho đến khi lá cây phủ kín luống thì thôi, kết hợp với bón thúc phân. Dùng nylon phủ luống thì sẽ hạn chế công nhổ cỏ.

Cây Đương quy thường bị các loài gặm nhấm phá hoại ảnh hưởng không tốt đến năng suất nên sử dụng các loại thuốc diệt chuột đặt ở các góc vườn hoặc sử dụng bẫy bắt chuột nhằm hạn chế sự ảnh hưởng xấu đến chất lượng Đương quy.

3.3.2.3.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển của cây Đương quy Nhật Bản trên mô hình đã lựa chọn



Hình 102c. Mô hình trồng Đương quy

Mật độ, khoảng cách trồng trên luống thường là 70.000 - 80.000 cây/ha với khoảng cách cây cách cây 20 x 20 cm, hàng cách hàng 30 cm. Với mật độ trồng này khả năng sinh trưởng của Đương quy là tốt và tỷ lệ sống cao (> 95%). Với chế độ bón phân (10-15 tấn/ha) khả năng sinh trưởng của Đương quy là tốt và cho năng suất về lá và củ là rất tốt.

Qua quá trình theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của Đương quy theo thời gian chúng tôi ghi nhận được một số kết quả về hình thái như sau:

Thời gian	2 tháng	6 tháng	12 tháng
Độ rộng tán	40 cm	50 cm	60 cm
Chiều cao tán lá	20 cm	50 cm	50 cm
Trọng lượng củ (tươi)	0,11 kg	0,59 kg	0,85 kg



Hình 102d. rễ Đương quy (cây 14 tháng tuổi)

3.3.2.3.4. Tính toán hiệu quả kinh tế mô hình trồng Đương quy

Cây Đương quy là cây ngắn ngày, cho thu hoạch 1 vụ/1-2 năm trong điều kiện gây trồng tự nhiên địa bàn huyện Lâm Hà, như vậy phần chi phí cho mô hình chủ yếu ở giai đoạn gây trồng đầu tiên, với kết quả nghiên cứu trên đề tài lựa chọn gây trồng Đương quy với hình thức bón phân, mật độ 70.000 cây/ha, cụ thể phần chi phí như sau:

Tính cho 01 ha mô hình:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung chi	Đơn vị	Số lượng	Đơn giá	Thành tiền
1	Cây giống Đương quy	cây	70.000	3.000	21.000.000
2	Phân bón	tấn	15	7.000.000	105.000.000
3	Công lao động	công	1000	200.000	200.000.000
Tổng chi phí mô hình					326.000.000

Thu nhập: Tính theo chu kỳ 2 năm trồng, năng suất thu hoạch rễ củ đạt 0,6 kg/cây, tổng sản lượng 42 tấn/ha, giá bán tươi là 35.000 đồng/kg.

Kết quả tính hiệu quả kinh tế mô hình Đương quy tính trong 2 năm như sau:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung	Thành tiền
1	Tổng vốn đầu tư mô hình Đương quy	326.000.000
2	Thu nhập (sản lượng x giá thành)	1.470.000.000
3	Lợi nhuận	1.144.000.000

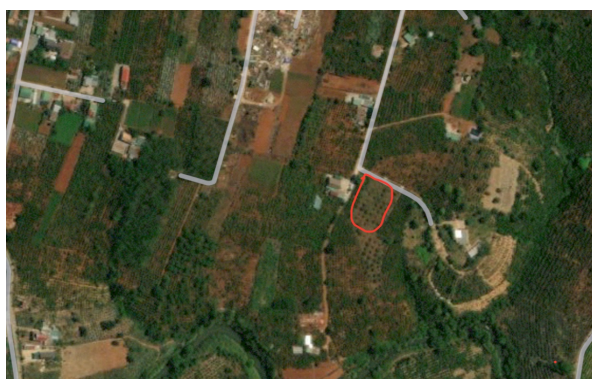
Kết quả trên cho thấy: với lợi nhuận thu ước tính thu được là 1.144.000.000 đồng/ha/2 năm. Như vậy, việc trồng mô hình Đương quy gây trồng trên địa bàn xã Mê Linh, huyện Lâm Hà bước đầu có thể sẽ mang lại thu nhập tốt cho người dân tại địa phương.

3.3.2.4. Mô hình trồng được liệu đình lãng

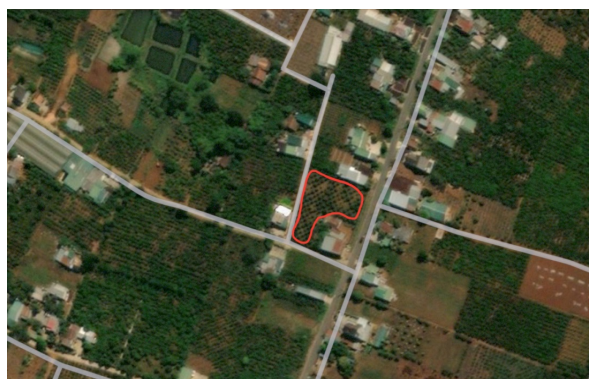
3.3.2.4.1. Địa điểm

3.3.2.4.1.1. Vị trí địa lý:

Khu vực triển khai mô hình thuộc xã Gia Lâm và thị trấn Nam Ban vì thế chúng có những đặc trưng về điều kiện tự nhiên của huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng. Diện tích mô hình 2 ha. Tọa độ mô hình tại xã Gia Lâm: 11°48'50.9"N 108°19'34.8"E; Tọa độ mô hình tại thị trấn Nam Ban: 11°50'05.9"N 108°21'34.6"E.



Hình 103a. Vị trí mô hình tại xã Gia Lâm, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng



Hình 103b. Vị trí mô hình tại Nam Ban, huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng

3.3.2.4.1.2. Khí hậu, thủy văn

Nhiệt độ trung bình hàng năm khoảng 21°C, biên độ dao động nhiệt giữa ngày và đêm lớn, nắng nhiều, độ ẩm không khí trung bình 80% thích hợp với cây đương quy, tiềm năng năng suất cao, chất lượng sản phẩm tốt.

Chịu tác động bởi vùng nhiệt đới gió mùa, hàng năm chia làm hai mùa mưa nắng rõ rệt. Mùa mưa từ tháng 5-10; riêng tháng 8 lượng mưa giảm và có các đợt hạn ngắn nên khá thuận lợi cho thu hoạch vụ hè thu. Mùa khô kéo dài từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau.

3.3.2.4.2. Các bước triển khai mô hình trồng và chăm sóc Đinh lăng

3.3.2.4.2.1. Chuẩn bị đất trồng

Chọn đất thoát nước tốt, không bị ngập úng.

Đào hố rộng 40 x 40 x 40 cm.

Đinh lăng hoàn toàn có thể trồng dưới tán cây ăn quả hay những cây lâu năm khác như cà phê, tiêu, bơ, cam...

Việc chuẩn bị đất cần tiến hành trước thời điểm xuống giống khoảng 15-30 ngày để đất ổn định, hệ vi sinh phát triển cân bằng, tạo điều kiện tốt nhất cho cây con phát triển.

3.3.2.4.2.2. Giống

Cây giống cần được ươm trong bầu 4-5 tháng hoặc ủ trong cát 50-60 ngày cho thật nhiều rễ, khi trồng tỷ lệ sống sẽ cao hơn.

+ Trồng bằng hom giống: Hom giống được chọn những cành khỏe, cành bánh tẻ, cành vừa hóa nâu, sau đó cắt từng khoảng dài 20cm để làm hom giống, đặt hom giống nghiêng 45o theo mặt hố đã chuẩn bị sẵn, sau đó lấp hom, để hở đầu hom trên mặt đất 5cm.

+ Trồng bằng cây giống: Sau khi xé túi bầu, cây giống đặt giữa hố trồng, lấp đất, dùng tay nén đất xung quanh túi bầu. Trồng xong, phủ rơm rạ lên mặt luống để giữ độ ẩm và tạo mùn cho đất tơi xốp. Khi trồng xong, nếu đất khô phải tưới nước đảm bảo độ ẩm cho đất trong vòng 25 ngày nhưng không để ngập nước. Nếu trời mưa liên tục phải thoát nước ngay để tránh thối hom giống.

3.3.2.4.2.3. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

- Thời vụ trồng:

Có thể trồng quanh năm, tuy nhiên nên trồng vào đầu mùa mưa để đỡ công tưới nước, thường là vào khoảng tháng 4-5.

- Khoảng cách, mật độ trồng:

Mật độ trồng vào khoảng 20.000 – 30.000 cây/ha. Tương ứng với khoảng cách cây là 50x50cm hoặc 70x70cm.

- Kỹ thuật trồng:

Khi trồng cần nhẹ nhàng dùng dao cắt lớp nilon bầu hoặc nhổ cây khỏi luống, tránh để cây bị đứt rễ. Đặt cây vào chính giữa luống đất (đã khơi hố) hoặc chính giữa hố trồng miệng bầu ngang với mặt đất xung quanh, cây cách cây 50cm, lấp đất đồng thời nén nhẹ xung quanh, vun cao ở góc để tránh đọng nước. Trường hợp trồng trong hố lớn (hố 1m sâu 40cm, có lót nilon) thì trồng 3 cây 1 hố theo hình tam giác cân, cây cách cây 30-40cm. Sau khi trồng cần tưới nước ngay để giữ ẩm cho cây, nên chọn ngày mát trời để trồng, nếu trồng trong mùa khô cần phủ gốc bằng rơm rạ, vỏ trấu, xác bò... để giữ ẩm.

+ Tưới nước: Giai đoạn cây còn nhỏ (6 tháng đầu) thường xuyên tưới nước để giữ ẩm cho cây nếu trời không mưa. Sau này bộ rễ phát triển thì tùy theo tình hình cây mà tưới nước phù hợp. Khi tưới chỉ nên tưới vừa đủ, không để đọng nước quá lâu, bộ rễ dễ bị nấm bệnh tấn công.



Hình 103c. Cây Đinh lăng thích hợp trồng dưới tán cây ăn quả

+ Làm cỏ: Thường xuyên dọn cỏ sạch sẽ trong vườn, tránh để cỏ rạp rạp vừa cạnh tranh dinh dưỡng với cây, cạnh tranh không gian sinh trưởng, vừa là nơi trú ngụ mầm bệnh. Mỗi năm tiến hành làm cỏ 4-5 lần tùy theo tình hình cỏ dại.

+ Bón phân: 15 tấn/ha

+ Cắt tỉa cành: Sau khi trồng khoảng 6-9 tháng chiều cao cây đạt từ 50-100cm tiến hành hãm ngọn lần 1, hãm cách mặt đất khoảng 20cm, sau đó nuôi lại 2-3 chồi. Cuối năm thứ 2 tiến hành hãm ngọn lần 2, và nuôi lại chồi tương tự như lần đầu. Phần thân cành dư ra có thể dùng để tiếp tục nhân giống hoặc cung cấp cho các vườn ươm cây giống để cải thiện kinh tế.

3.3.2.4.2.4. Phòng trừ sâu bệnh cho Đinh lăng

Giai đoạn ươm cây trong vườn ươm: Cần tiến hành che bằng bạt nilon để hạn chế nước mưa tiếp xúc trực tiếp, cây sẽ ít bị tình trạng rụng lá. Khi cây bị bệnh nấm có thể phun các thuốc trừ nấm như Ridomil Gold.

Giai đoạn năm đầu tiên: Thường bị rầy mềm, sâu ăn lá, ốc sên ăn vỏ... có thể phòng trừ bằng các thuốc trừ sâu có tính nội hấp, lưu dẫn. Phun định kỳ 1-2 tháng 1 lần. Ngoài ra có thể sử dụng các loại thuốc trừ sâu dạng bột khơi nhẹ đất quanh gốc và rải một ít thuốc để phòng trừ các loại sâu bệnh hại rễ, hại gốc.

Các năm về sau: Nhìn chung cây đã khỏe mạnh và rất ít sâu bệnh, công tác chăm sóc chỉ đơn giản là bón phân và tưới nước.

3.3.2.4.2.5. Thu hoạch chế biến và bảo quản Đinh lăng:

Lá Đinh lăng: Có thể tận dụng để bán cho các đơn vị sản xuất thuốc, tươi hoặc khô tùy theo nhu cầu, nếu muốn thu hoạch lá khô thì không nên phơi nắng, mà chỉ nên phơi mát, sau đó sấy thật kỹ, tránh làm giảm tác dụng của lá.

Thân Đinh lăng: Năm đầu tiên, cuối năm thứ 2 và năm thứ 4 là các thời điểm ta tiến hành hãm ngọn để cây nuôi chồi mới. Phần thân nên vặt bỏ lá, bó thành từng bó, bên ngoài bọc vải ẩm để cây tươi lâu. Sau đó vận chuyển đến nơi tiêu thụ.

Củ Đinh lăng: Sau 3 năm đã có thể tiến hành thu củ (rễ) Đinh lăng. Tuy nhiên nên để khoảng 5 trở lên củ sẽ to và có giá trị hơn. Củ sau khi đào lên cần cắt các rễ nhỏ, giữ lại những rễ lớn, rửa sạch đất cát. Để nguyên củ bán tươi hoặc sấy khô trước khi bán cho người có nhu cầu.

3.3.2.4.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển của cây Đinh lăng trên mô hình đã lựa chọn

Qua theo dõi, triển khai thực hiện bước đầu có thể xác định mô hình trồng Đinh lăng với mật độ 20.000 cây/ha thì khả năng sinh trưởng của Đinh lăng là tốt và tỷ lệ sống cao.



Hình 103d. Cây Đinh lăng phát triển tốt vào mùa mưa

Với chế độ bón phân (6-8 tấn/ha) thì khả năng sinh trưởng của Đinh lăng là tốt và cho năng suất củ cao.

Qua quá trình theo dõi sự sinh trưởng và phát triển, khu vực mô hình triển khai chỉ sử dụng thuốc diệt cỏ trong việc xử lý lớp thực bì, tuy nhiên, không phải sử dụng các loại thuốc bảo vệ thực vật từ lúc gieo trồng cho đến lúc thu hoạch.

3.3.2.4.4. Tính toán hiệu quả kinh tế mô hình trồng Đinh lăng

Việc tính toán dựa trên mô hình trồng Đinh lăng với mật độ 20.000 cây/ha, cụ thể phân chi phí như sau (tính cho 01 ha mô hình):

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung chi	Đơn vị	số lượng	Đơn giá	Thành tiền
1	Cây giống Đinh lăng	cây	20.000	10.000	200.000.000
2	Phân bón các loại	tấn	15	7.000.000	105.000.000
3	Công lao động	công	300	200.000	60.000.000
Tổng chi phí mô hình					365.000.000

Thu nhập: tính theo chu kỳ 3 năm trồng

Năng suất thu hoạch rễ củ đạt 1,5 kg/cây, tổng sản lượng 30 tấn/ha, giá bán tươi là 50.000 đồng/kg.

Năng suất thu hoạch thân lá đạt 2,5 kg/cây, tổng sản lượng 50 tấn/ha, giá bán tươi là 15.000 đồng/kg.

Kết quả tính hiệu quả kinh tế mô hình Đinh lăng tính trong 3 năm như sau:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung	Thành tiền
1	Tổng vốn đầu tư mô hình Đinh lăng	365.000.000
2	Thu nhập từ củ	1.500.000.000
	Thu nhập từ thân, lá	750.000.000
3	Tổng thu nhập (đồng/ha)	2.250.000.000
4	Lợi nhuận (3-1)	1.885.000.000

Kết quả trên cho thấy: với lợi nhuận thu ước tính thu được là 1.885.000.000 đồng/ha/3 năm. Như vậy, việc trồng mô hình Đinh lăng mang lại thu nhập tương đối tốt cho người dân tại địa phương.

3.3.2.5. Mô hình trồng sâm cau

3.3.2.5.1. Địa điểm

3.3.2.5.1.1. Vị trí địa lý:

Xã Ea Wy thuộc huyện Ea H'Leo, tỉnh Đắk Lắk có diện tích 60,42 km². Tọa độ địa lý của địa điểm xây dựng mô hình: 13° 12' 52" N, 108° 1' 58" E. Diện tích mô hình 2 ha.



Hình 104a. Hình ảnh từ vệ tinh của địa điểm đặt mô hình

3.3.2.5.1.2. Địa hình, địa chất, khí hậu, thủy văn

Địa hình tương đối bằng phẳng, không có dốc cao và có chiều nghiêng dần từ Tây Bắc xuống Đông Nam.

Xã Ea Wy là xã phía Bắc tỉnh Đắk Lắk, mang đầy đủ các đặc điểm khí hậu, thủy văn của thành phố và địa hình đặc trưng của vùng Tây Nguyên. Ranh giới của xã dựa trên sự chia cắt về địa hình, là ranh giới tự nhiên với các xã Ea Nam, Cư Mốt, Ea H'Leo, Ea Khăl và huyện Ea Súp.

+ Đất đai: theo kết quả điều tra thổ nhưỡng tỉnh Đắk Lắk thì trên địa bàn xã Ea Wy có các loại đất chính sau: Đất nâu đỏ trên đá Bazan; Đất nâu vàng trên đá Bazan; Đất đỏ vàng trên đá phiến sét; Đất dốc tụ thung lũng. Trong đó, đất nâu đỏ trên đá Bazan chiếm 90%.



Hình 104b. Địa điểm rừng lựa chọn đặt mô hình

+ Khí hậu: Theo số liệu của Đài thủy văn Buôn Ma Thuột, khu vực xây dựng mô hình nằm trong vùng khí hậu có những đặc điểm chủ yếu như sau: Nhiệt độ trung bình năm (23,5°C), biên độ dao động nhiệt năm (4-5°C), biên độ dao động ngày (5-10°C); độ ẩm trung bình năm (82,4%), độ ẩm trung bình mùa khô (79%), độ ẩm trung bình mùa mưa (87%); mùa mưa từ tháng 5 đến tháng 10 chiếm 87-88% lượng mưa cả năm, mùa khô từ tháng 11 đến tháng 4 sang năm.

3.3.2.5.2. Các bước triển khai mô hình

3.3.2.5.2.1. Xử lý thực bì

Trước khi làm đất triển khai mô hình phải phát dọn thực bì, làm cỏ.

3.3.2.5.2.2. Chuẩn bị đất trồng

Diện tích trồng Sâm cau đủ các điều kiện sau: độ dốc nhỏ hơn 30°, lớp thảm mục dày trên 10 cm, tầng đất không cần quá dày để cây có thể phát triển củ, thoát nước tốt; pH: 5,0 - 6,0.

Chọn lựa địa điểm dưới tán rừng có độ che bóng không quá 70%.

Cây Sâm cau là loại cây ưa ẩm, chọn các khu vực ven suối ẩm cao, đất pha cát. Lượng mưa trên 1.500 mm/năm phân bố đều từ 100 mm/tháng trở lên là điều kiện thích hợp để cây Sâm cau có thể phát triển tốt nhất. Ẩm độ không khí thích hợp là 80 - 85%, ẩm độ đất thích hợp là 70 - 75%. Nhiệt độ thích hợp cho cây Sâm cau phát triển là 22 - 27°C.

3.3.2.5.2.3. Chọn giống

Sâm cau được nhân giống bằng hạt hoặc bằng mầm. Sử dụng cây con được nhân giống từ vườn cây giống của đề tài.

3.3.2.5.2.4. Kỹ thuật trồng và chăm sóc

Khoảng cách, mật độ trồng 40.000 cây/ha phù hợp với khu vực bố trí thực tế.

Thời vụ trồng: Vào mùa mưa, khoảng tháng 5-8 dương lịch là thích hợp nhất. Sau trồng 4-5 ngày nếu trời không mưa phải tưới nước ngay cho cây.

Hố trồng: Hố được đào với kích thước 20 x 20 x 30 cm, để riêng lớp đất mặt. Trộn đều đất mặt với 0,1 kg phân hữu cơ + 0,01 kg vôi và lấp xuống hố.

Bón phân bổ sung 6 tháng/lần, sử dụng phân chuồng hoai hoặc phân hữu cơ sinh học hoặc hữu cơ vi sinh với lượng 0,05-0,1 kg/cây. Có thể bón kết hợp với một số chế

phẩm sinh học có tác dụng hạn chế phát triển của tuyến trùng và đối kháng với một số nấm bệnh gây hại trong đất.



Hình 104c. Các vị trí trồng sâm cau

Làm cỏ: Làm cỏ 3 - 4 lần trong năm trên toàn bộ diện tích. Không khuyến cáo sử dụng thuốc diệt cỏ.

Tưới nước: trong mùa khô tưới nước 1 lần/tháng, không áp dụng kỹ thuật tưới tràn.

3.3.2.5.3. Theo dõi sinh trưởng phát triển của cây Sâm cau trên mô hình đã lựa chọn



Hình 104d. Cây Sâm cau phát triển dưới tán rừng

Kết quả theo dõi cho thấy ở giai đoạn đầu cây tăng trưởng khá chậm do giai đoạn này cây bắt đầu bén rễ, sinh rất nhiều rễ phụ trong khoảng 1-2 tuần sau khi gieo trồng

đối với hình thức trồng bằng củ. Giai đoạn 3-6 tháng cây có sự phát triển tốt gia tăng về kích thước lá và củ. Giai đoạn 9 tháng trở đi cây bắt đầu rụng lá.

Cây Sâm cau sống khỏe, rất ít bị sâu bệnh hại.

Qua kết quả bước đầu theo dõi quá trình sinh trưởng và tình hình sâu bệnh hại trong 12 tháng tại khu vực nghiên cứu không phát hiện sâu bệnh hại Sâm cau.

Với việc trồng mô hình Sâm cau ở giai đoạn đầu có thể tình hình sâu bệnh hại nhẹ gần như không có nhưng những năm tiếp theo thì có thể phát sinh các dịch bệnh trên cây. Biện pháp phòng trừ tốt nhất là làm sạch đất, xử lý mầm bệnh ở đất trước khi trồng. Tăng cường bón phân, làm cỏ để tăng sức sống cho cây. Với cây dược liệu để đảm bảo chất lượng dược liệu nên sử dụng thuốc phòng trừ dịch bệnh là các dạng chế phẩm sinh học.



Hình 104e. Cây Sâm cau trồng 7 tháng



Hình 104f. Rễ Sâm cau sau 12 tháng

3.3.2.5.4. Tính toán hiệu quả kinh tế

Cây Sâm cau là cây dược liệu thu hoạch 1-2 năm/1 vụ, tuy nhiên nếu để thời gian dài hơn cây sẽ ra hoa kết trái, hạt cây rụng xuống tạo thành các bụi cây lớn hơn, năng suất sẽ cao hơn. Mặt khác, từ vụ 2 trở đi có thể sử dụng hạt, củ của vụ trước để trồng lại nên chi phí về giống sẽ giảm đi. Với điều kiện gây trồng mật độ 40.000 cây/ha tại mô hình, với các chi phí dự tính cho 1 vụ/ 2 năm như sau:

Tính cho 01 ha mô hình:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung chi	Đơn vị	Số lượng	Đơn giá	Thành tiền
1	Cây giống Sâm cau	cây	40.000	1.500	60.000.000
2	Phân bón (Phân hữu cơ, phân hóa học)	Tấn	3	6.000.000	18.000.000
3	Công lao động	công	150	200.000	30.000.000
	Tổng chi phí mô hình				108.000.000

* Thu nhập: Sau 2 năm trồng thu được 1.000 kg Sâm cau tươi với giá bán tươi hiện nay là 180.000đ/kg.

Kết quả tính hiệu quả kinh tế mô hình Sâm cau như sau:

Đơn vị tính: đồng

TT	Nội dung	Thành tiền
1	Tổng chi phí đầu tư (đồng/ha) 24 tháng	108.000.000
2	Tổng thu nhập (đồng/ha) = 1.000 x 180.000	180.000.000
3	Lợi nhuận (2) - (1)	72.000.000

Kết quả trên cho thấy, lợi nhuận thu được là 72.000.000 đồng/ha/2 năm.

Nhận xét chung về hiệu quả kinh tế: Nhìn chung mô hình trồng Sâm cau dưới tán rừng tuy chưa mang lại hiệu quả kinh tế cao. Nhưng đây là mô hình cần khuyến khích nhằm bảo tồn một loài dược liệu quý, có nguy cơ tuyệt chủng hiện đang bị khai thác quá mức, đây cũng là một mô hình nông lâm kết hợp thân thiện với môi trường, tận dụng được những vùng đất dưới tán rừng chưa được sử dụng.

Kết luận: Đã xây dựng 05 mô hình trồng Atiso, Đảng sâm, Đương quy Nhật Bản, Đinh lăng, Sâm cau và triển khai thực hiện trên địa bàn 2 tỉnh Lâm Đồng và Đắk Lắk với tổng diện tích trên 10 ha:

- Mô hình trồng Đảng sâm ở huyện Lạc Dương, tỉnh Lâm Đồng với diện tích 3 ha.

- Mô hình trồng Atiso ở Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng với diện tích 3 ha.

- Mô hình trồng Đương quy Nhật Bản ở huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng với diện tích 2 ha.

- Mô hình trồng Đinh lăng ở huyện Lâm Hà, tỉnh Lâm Đồng với diện tích 2 ha.

- Mô hình trồng Sâm cau ở huyện Ea H'Leo, tỉnh Đắk Lắk với diện tích 2 ha.

Tại các mô hình, cây được liệu đều sinh trưởng, phát triển tốt, đáp ứng yêu cầu đề ra.

Đã xác định bước đầu về hiệu quả kinh tế để có thể nhân rộng trong thời gian tới. Các mô hình trồng Atiso, Đương quy Nhật Bản, Đinh lăng có hiệu quả kinh tế cao, sản lượng lớn, phù hợp với điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng vùng Tây Nguyên nhưng cần quan tâm đến khâu chế biến, tiêu thụ để đảm bảo đầu ra cho nông dân khi phát triển ở quy mô lớn. Trong khi đó 02 mô hình trồng Đảng sâm và Sâm cau tuy rằng hiệu quả kinh tế không cao nhưng đáp ứng về yêu cầu bảo tồn, phát triển nguồn gen, đồng thời có thể tận dụng các diện tích đất đai chưa sử dụng để phát triển, nhân rộng mô hình. Khuyến khích nhân rộng mô hình này cho các đối tượng người dân quản lý, bảo vệ rừng được giao cũng như ở các vùng đệm của các khu bảo tồn, vườn quốc gia trên địa bàn Tây Nguyên

3.4. BẢO TỒN VÀ PHÁT TRIỂN ĐƯỢC MỘT SỐ NGUỒN GEN DƯỢC LIỆU CÓ GIÁ TRỊ KINH TẾ CAO Ở TÂY NGUYÊN

3.4.1. Đề xuất phương án bảo tồn đối với một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao

3.4.1.1. Phát triển mạng lưới trung tâm nghiên cứu, phòng thí nghiệm về công nghệ sinh học

Hiện nay các trung tâm nghiên cứu và phòng thí nghiệm được đầu tư, nâng cao hiệu quả hoạt động ở các tỉnh tại Tây Nguyên. Công nghệ sinh học như nuôi cấy mô được ứng dụng trong nhân giống để tạo ra số lượng lớn cây giống trong thời gian ngắn. Các cây dược liệu như Atiso, sâm cau, đẳng sâm... đã được tiến hành nhân giống ở giai đoạn khử trùng, vô mẫu, tạo mô sẹo hay phôi, tái sinh, nhân nhanh cụm chồi, ra rễ và huấn luyện cây con ngoài vườn ươm để hoàn thiện quy trình.

3.4.1.2. Bảo vệ nguyên vị (*in - situ*) và chuyển vị (*ex - situ*)

Các nỗ lực bảo tồn thường hướng đến việc bảo vệ các loài đang bị suy giảm về số lượng và đang có nguy cơ bị tuyệt chủng. Liệu quần thể của một loài đang có nguy cơ tuyệt diệt có thể tồn tại và phát triển trong một khu bảo tồn thiên nhiên được không? Ngược lại, loài đang bị suy giảm có cần sự quan tâm đặc biệt nào để tránh khỏi bị tuyệt diệt không? Vấn đề xây dựng các mô hình trồng các loài có nguy cơ tuyệt diệt trong điều kiện tự nhiên, góp phần bảo tồn, phát triển nguồn gen và khai thác bền vững của loài là vấn đề hết sức cấp thiết. Để có thể bảo tồn thành công loài trong điều kiện trong điều kiện nuôi trồng bán hoang dã, các nhà sinh học và các nhà bảo tồn cần có sự hiểu biết một số nhân tố sinh thái ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây dược liệu ngoài điều kiện tự nhiên, nơi chúng đã được sinh ra, tồn tại và phát triển trong một thời gian lịch sử lâu dài.

Điểm then chốt để bảo tồn và quản lý một loài hiếm, đang có nguy cơ tuyệt chủng là phải có hiểu biết đầy đủ về mối quan hệ sinh học của loài đó với môi trường xung quanh và tình trạng quần thể của loài. Khi đã có thông tin về sinh thái học của loài quý hiếm thì các nhà quản lý sẽ có khả năng tạo ra nhiều nỗ lực có hiệu quả hơn nhằm duy trì loài đó và xác định những yếu tố gây nên nguy cơ tuyệt chủng (Gilpin, Soule, 1986).

Để thiết kế và thực hiện một cách hiệu quả các chương trình bảo tồn ở mức quần thể cần thu thập các thông tin như: điều kiện môi trường sống của loài (nhu cầu về điều

kiện ánh sáng, nước và độ dày tầng thảm mục, loài được tìm thấy trong dạng cư trú nào?, môi trường biến đổi như thế nào qua thời gian và không gian), sự phân bố (loài được tìm thấy tại đâu trong nơi cư trú?, khả năng tạo thêm nơi cư trú mới của loài ra sao?) và những mối tương tác sinh sinh học ...

Thay vì chỉ quan sát thụ động sự tiến tới tuyệt chủng của loài đang nguy cấp, nhiều nhà sinh học bảo tồn đã bắt đầu xây dựng các cách tiếp cận nhằm bảo vệ những loài này. Một số phương pháp lý thú mới đang được xây dựng để tạo nên những quần thể hoang dã hay bán hoang dã của các loài quý hiếm đang có nguy cơ tuyệt chủng và để gia tăng kích thước những quần thể đang tồn tại (Gipps, 1991; Bowles, Whelan, 1994). Điều này giúp gia tăng số lượng và kích thước quần thể của loài, làm giảm bớt khả năng bị tuyệt chủng của loài đó.

Đối với các loài dược liệu quý tại Tây Nguyên là Atiso, Sâm cau, Đẳng sâm, Dương quy Nhật Bản, Sa nhân tím, Đinh lăng, chúng ta có thể thực hiện hình thức bảo tồn nguyên vị (*in - situ*) và bảo tồn chuyển vị (*ex - situ*). Bảo tồn nguyên vị (*in - situ*) là hình thức bảo tồn tại chỗ. Hình thức này được áp dụng cho tất cả mọi đối tượng cần được bảo tồn, những đối tượng chưa có nguy cơ tuyệt chủng hoặc bị xâm hại, hoặc trong điều kiện con người có thể can thiệp bằng các biện pháp để quản lí, bảo vệ.

Để bảo tồn nguồn tài nguyên cây thuốc một cách có hiệu quả, trước hết cần bảo tồn tính nguyên sinh của rừng, trong đó cần có sự phối hợp chặt chẽ giữa các cơ quan có liên quan trong việc bảo vệ và phát triển rừng để đảm bảo giữ được nguồn gen thiên nhiên quý hiếm cho tương lai. Bên cạnh đó cần có sự phối hợp nghiên cứu của các chuyên gia trong và ngoài nước kết hợp cùng thông tin do người dân địa phương cung cấp nhằm đánh giá được thực trạng của các loài quý, hiếm, đặc hữu, loài mới cho khoa học, các loài có giá trị kinh tế cao để có hướng vừa bảo tồn vừa khai thác bền vững một số loài dược liệu có giá trị. Dựa trên những thông tin về điều kiện sinh thái của loài, lựa chọn nơi có điều kiện sinh thái phù hợp (ven suối, dưới tán rừng nơi có cây che bóng...) để tiến hành trồng và theo dõi sự sinh trưởng, phát triển của loài tại các khu nhằm chọn nơi thích hợp để bảo tồn những cây dược liệu nói trên.

Kiểm soát và ngăn chặn các hoạt động chuyển đổi mục đích sử dụng rừng trái phép, chú ý ngăn chặn việc tự ý mở rộng diện tích canh tác hoặc sử dụng lửa trái phép, chăn thả gia súc bừa bãi... Tăng cường công tác tuần tra rừng để kịp thời phát hiện, ngăn

chặn, bắt giữ và xử lý nghiêm các đối tượng có hành vi khai thác lâm sản trái phép theo quy định của pháp luật. Hệ thống các khu rừng đặc dụng, Vườn quốc gia và Khu bảo tồn thiên nhiên là những nơi thuận lợi để bảo tồn các loài dược liệu. Trong trường hợp đặc biệt như quần thể được bảo tồn có số lượng cá thể quá ít thì cần phải bổ sung nguồn gen từ các vùng có khó hậu điều kiện tương tự.

Hình thức bảo tồn tiếp theo là bảo tồn chuyển vị (*ex - situ*), đây là cách thức di chuyển đối tượng bảo tồn khỏi vị trí mà chúng tồn tại. Thường cách thức này được áp dụng đối với những đối tượng có nguy cơ bị đe dọa và tuyệt chủng cao, những loài đặc biệt quý hiếm trong tự nhiên. Với hình thức này, đối tượng bảo tồn có thể được lưu giữ trong ngân hàng gen, bảo tàng hoặc cũng có thể di chuyển đối tượng cần bảo tồn đến vị trí, địa điểm phù hợp hơn. Với hình thức này thì chủ yếu là xây dựng được hệ thống các Vườn thực vật, vườn cây thuốc để bảo tồn các loài dược liệu quý hiếm.

Đối với cây dược liệu thì căn cứ vào tình hình thực tế của địa phương, tiến hành lựa chọn những đối tượng cây dược liệu thích hợp và những nơi có điều kiện tự nhiên phù hợp, thuận lợi và xây dựng các mô hình trồng cây dược liệu đồng thời chuyển giao kỹ thuật cho các hộ dân ở khu vực đó. Vườn dược liệu sẽ là nơi bảo tồn các loài cây thuốc, vừa là nơi nghiên cứu nhân giống, trồng trọt để phục hồi và phát triển các loài cây thuốc trong khu vực cũng như mục tiêu giáo dục cộng đồng, đặc biệt là thế hệ trẻ. Ngoài ra, cần xây dựng hệ thống các vườn cây thuốc của các hộ gia đình làm nghề thuốc nam và thuốc bắc.

Bên cạnh đó cần tập trung trồng rừng nguyên liệu, trồng các loài cây bản địa có giá trị kinh tế cao, tổ chức và quản lý tốt việc khai thác lâm sản, chú trọng khai thác có hiệu quả các loại lâm sản phụ gắn với cải tạo rừng nghèo.

3.4.1.3. Đề xuất một số cơ chế chính sách phù hợp, tăng cường công tác tuyên truyền giáo dục nâng cao nhận thức về công tác bảo vệ rừng.

3.4.1.3.1. Về cơ chế chính sách

Cần tổ chức cho các cán bộ y tế, ông lang, cán bộ kiểm lâm về nhận dạng, giá trị các cây thuốc, bài thuốc, tình hình khai thác và sử dụng của địa phương nhằm nâng cao chất lượng nguồn nhân lực cho đội ngũ cán bộ tại địa phương.

Bên cạnh đó cần chú trọng đến việc hướng dẫn các kỹ thuật trồng, thu hái, chế biến, bảo quản nhằm đảm bảo chất lượng các loại cây thuốc. Tìm hiểu các nguyên nhân

đang dần có nguy cơ làm cạn kiệt nguồn tài nguyên cây thuốc, xây dựng các giải pháp nhằm bảo tồn và phát triển bền vững một số loài cây thuốc có giá trị tại khu vực Tây Nguyên.

Cần quan tâm đầu tư về cơ sở vật chất, trang thiết bị và kinh phí để công tác bảo tồn và phát triển nguồn gen cây thuốc đáp ứng được yêu cầu, nhiệm vụ như: Quy hoạch các khu đất có các điều kiện tự nhiên thuận lợi cho sự phát triển cây thuốc để nhân giống và trồng cây thuốc.

Xây dựng và thực hiện các chính sách đặc thù hỗ trợ người dân nghèo ở các thôn giáp rừng tìm kiếm các sinh kế mới và bền vững hơn. Đối với các dự án có chính sách hỗ trợ về giống, phân bón... các gia đình tham gia chương trình và chuyển đổi cơ cấu cây trồng từ cây lương thực hiệu quả thấp sang trồng cây thuốc. Tổ chức tập huấn hoặc tổ chức các lớp trồng dược liệu ngắn ngày cho các tổ chức cá nhân có nhu cầu trồng dược liệu để phát triển kinh tế, có hỗ trợ về kinh phí đào tạo cho học viên.

Hiện nay, ở một số vùng thuộc Tây Nguyên mức sống của đồng bào các dân tộc vẫn còn gặp nhiều khó khăn, việc giao khoán bảo vệ rừng đến từng hộ gia đình chưa đảm bảo được thu nhập cho các hộ nông dân, họ vẫn phải khai thác các sản vật tự nhiên để đảm bảo cuộc sống trước mắt của mình. Bởi vậy, cây dược liệu phát triển sẽ phát huy được thế mạnh của vùng, góp phần vào việc sử dụng hợp lý đất đai, bảo vệ đất khỏi nguy cơ thoái hóa bạc màu, một khi nông dân đã ổn định cuộc sống thì sẽ chấm dứt tình trạng phá rừng làm nương rẫy, phá rừng lấy củi làm chất đốt.

Cần có những chính sách như trợ giúp về vốn, hướng dẫn kỹ thuật cho bà con nông dân, tạo thị trường đầu ra ổn định cho cây dược liệu và xúc tiến các biện pháp kinh tế vĩ mô khác.

Xây dựng và nhân rộng các mô hình, các vườn ươm giống đạt chuẩn về các loài cây bản địa, cây dược liệu có giá trị cao đặc sản của địa phương. Tập trung phát triển lựa chọn một số đối tượng, mô hình đã thành công để nhân rộng, phát triển thành hàng hóa.

Ngoài ra có thể thực hiện thêm một số cơ chế chính sách sau:

- Xây dựng, bổ sung các cơ chế chính sách về quản lý, bảo vệ, phát triển rừng theo quy định của Luật Lâm nghiệp, để người dân được thụ hưởng chính sách, tạo sinh kế và việc làm, giảm áp lực tác động tiêu cực đến rừng tự nhiên, đặc biệt là chính sách chi trả

dịch vụ môi trường rừng; chính sách khoán bảo vệ rừng; chính sách vay vốn trồng rừng, chăn nuôi xóa đói giảm nghèo.

- Thường xuyên bồi dưỡng nghiệp vụ về bảo tồn đa dạng sinh học, lâm sinh, kiểm lâm và du lịch, dịch vụ. Tạo điều kiện cho các kỹ sư theo học các lớp cao học và nghiên cứu sinh theo lộ trình của chương trình đào tạo phát triển nguồn nhân lực. Nâng cao trình độ ngoại ngữ và kỹ năng tin học, cử cán bộ tham gia các khoá đào tạo về công nghệ thông tin và ngoại ngữ. Trang bị đầy đủ các công cụ, dụng cụ hỗ trợ tiên tiến, các thiết bị hiện đại có độ chính xác cao như: Máy định vị GPS, máy tính bảng... để phục vụ quá trình công tác.

- Nâng cao vai trò, trách nhiệm của người đứng đầu trong cơ quan quản lý nhà nước, quy định trách nhiệm của người đứng đầu trong công tác quản lý, bảo vệ và phát triển rừng thuộc tổ chức, đơn vị, địa phương quản lý; Cấp ủy, chính quyền các cấp thường xuyên giám sát, kiểm tra, phát hiện và kịp thời xử lý nghiêm minh trách nhiệm người đứng đầu khi để xảy ra sai phạm trên địa bàn quản lý; Hàng năm xây dựng tiêu chí đánh giá, xếp loại thi đua và quyết định khen thưởng kịp thời các cá nhân, tổ chức có thành tích xuất sắc trong công tác Quản lý bảo vệ rừng.

- Kiểm tra, xử lý trách nhiệm đối với công chức, viên chức để xảy ra các vụ phá rừng, cháy rừng, mất rừng thuộc phạm vi lĩnh vực, địa bàn mình quản lý. Cần thực hiện chương trình giám sát, tổ chức các đợt thanh, kiểm tra nội ngành, liên ngành, công tác kiểm tra, thanh tra của cơ quan cấp trên đối với các đơn vị cấp dưới trực tiếp trong thực hiện vụ bảo vệ và phát triển rừng.

- Nâng cao vai trò của chính quyền địa phương từ cấp thôn (bản) cho đến xã trong công tác quản lý, bảo vệ tài nguyên rừng.

- Chính quyền địa phương cấp huyện, xã cần quản lý theo dõi việc sử dụng rừng của các hộ nhận rừng, trực tiếp giải quyết các thủ tục liên quan đến quyền hưởng lợi theo quy định của chính sách Nhà nước, kiểm tra giám sát việc di dân tự do, tách hộ, việc sử dụng rừng và đất lâm nghiệp, đồng thời xử lý các vi phạm hành chính trong lĩnh vực bảo vệ rừng và đất lâm nghiệp theo thẩm quyền, chú trọng việc hoà giải các tranh chấp về rừng và đất lâm nghiệp trên địa bàn.

3.4.1.3.2. Về công tác tuyên truyền

Đẩy mạnh và đa dạng hóa các hình thức, hoạt động tuyên truyền thông qua các buổi tọa đàm, giao lưu, các lớp bồi dưỡng nâng cao kiến thức hoặc bằng nhiều hình thức sinh động khác (tổ chức hội thi tìm hiểu, phát tờ rơi, lồng ghép vào các chương trình văn hóa, văn nghệ quần chúng...) nhằm nâng cao ý thức, giúp các tổ chức và nhân dân nhận ra vai trò nguồn tài nguyên cây thuốc đối với sự phát triển kinh tế - xã hội trên địa bàn Tây Nguyên; tác hại của việc khai thác bừa bãi nguồn tài nguyên có giá trị này, từ đó giúp người dân có ý thức hơn nữa trong công tác bảo tồn và phát triển bền vững nguồn tài nguyên cây thuốc, tầm quan trọng của công tác bảo tồn.

Tổ chức các lớp tuyên truyền, tập huấn cho người dân địa phương về các phương pháp khai thác, sử dụng, mở rộng gieo trồng, thu hái bền vững những loài cây thuốc quý. Đây cũng là điều kiện tốt để các ông lang, bà mẹ - những thầy thuốc dân gian truyền lại các kinh nghiệm, phát huy nghề truyền thống, đồng thời là lực lượng nòng cốt trong việc giữ gìn, bảo tồn và phát triển các cây thuốc quý, phục vụ nhu cầu chữa bệnh của nhân dân. Nó không chỉ giúp người dân nơi đây có cái nhìn đầy đủ về nguồn tài nguyên cây thuốc trong tự nhiên mà còn hướng cho bà con nếu phát triển trồng được các loại cây thuốc có giá trị hoặc quý hiếm vừa đem lại lợi ích kinh tế, vừa góp phần bảo tồn và phát triển bền vững nguồn dược liệu quý ngay tại chính mảnh đất mình sinh sống.

Tổ chức tập huấn ngoài hiện trường về trồng, chăm sóc, bảo vệ cây thuốc đến mọi người dân v.v... phát động các phong trào thi đua và kịp thời biểu dương, khen thưởng những tập thể, cá nhân điển hình tiên tiến, có đóng góp tích cực trong công tác bảo vệ nguồn tài nguyên cây thuốc trên địa bàn Tây Nguyên nhằm nâng cao nhận thức về giá trị nguồn tài nguyên cây thuốc, bài thuốc và tầm quan trọng của việc bảo vệ những cây thuốc quý tại địa phương.

Giáo dục ý thức cho người dân địa phương khi khai thác cần chú ý chỉ khai thác các cây đã trưởng thành, thu hái các bộ phận làm thuốc, tránh chặt phá cả cây. Thu hái đúng thời vụ để đạt hiệu quả kinh tế cao nhất.

Tập huấn cán bộ kỹ thuật, cán bộ kiểm lâm về bảo tồn tài nguyên cây thuốc bao gồm: Nhận biết cây được sử dụng làm thuốc, phương pháp nghiên cứu và phát triển tài nguyên cây thuốc. Phần nhận biết cây thuốc ít nhất là tập chung vào các loài đang được thu hái để bán, các loài quý hiếm. Cán bộ kiểm lâm, lực lượng bảo vệ rừng chuyên trách cần thường xuyên bám sát cơ sở; có biện pháp tuyên truyền phù hợp với các lứa tuổi,

nhóm sở thích, trong đó chú ý đến phong tục, tập quán, tri thức bản địa của đồng bào các dân tộc; quy chế xử phạt đối với trường hợp vi phạm lĩnh vực quản lý, bảo vệ rừng, giáo dục nâng cao ý thức, trách nhiệm bảo vệ rừng từ mỗi cá nhân trong cộng đồng dân cư.

Bên cạnh đó, về mặt tổ chức có thể thực hiện như sau:

- Các đơn vị, các tổ chức cần chủ động xây dựng các chương trình, dự án về phát triển cây thuốc từ nguồn cây thuốc bản địa vừa đảm bảo an toàn, chất lượng vừa có tác dụng bảo tồn, phát triển nguồn tài nguyên cây thuốc của địa phương.

- Quy hoạch và thống nhất đầu mối quản lý nguồn gen cây thuốc tập trung; củng cố, mở rộng hệ thống bảo tồn.

- Xây dựng các vườn cây thuốc tại mỗi xã trong khu vực nhằm bảo tồn các loài cây thuốc quý hiếm, có giá trị và phát triển chúng thành nguồn giống phục vụ cho chương trình phát triển cây dược liệu của địa phương.

- Quan tâm và đầu tư trong nghiên cứu bảo tồn và phát triển tài nguyên cây thuốc. Nguồn tài nguyên đã có sẵn trong tự nhiên, vấn đề chỉ là trồng ở đâu, quản lý và khai thác sử dụng như thế nào cho hợp lý. Tập trung lựa chọn bảo tồn những loài cây thuốc có nguy cơ bị tuyệt chủng hoặc đang bị đe dọa tuyệt chủng, các loại cây quý hiếm, không bảo tồn tràn lan các loài cây đã bị thoái hóa về nguồn gen. Công việc này cần được kết hợp chặt chẽ với công tác quản lý và khai thác các nguồn dược liệu tại Tây Nguyên.

- Xây dựng và thành lập hợp tác xã thuốc Nam ngay tại các xã sẽ đem lại hiệu quả trong việc bảo tồn và phát triển cây thuốc, đồng thời sẽ nâng cao năng lực tiếp cận thị trường cho người dân, làm tiền đề cho chỉ đạo trong quá trình thực hiện và duy trì, phát triển mô hình bền vững tại địa phương. Để đảm bảo thị trường cho nông dân, cần làm tốt công tác điều tra, quy hoạch kinh tế - xã hội, phát triển các vùng sản xuất cây dược liệu. Việc xây dựng mô hình hợp tác xã thuốc nam cũng là một giải pháp mà đề tài đặt ra.

3.4.1.4. Đẩy mạnh hợp tác, hội nhập quốc tế trong lĩnh vực quản lý, bảo vệ và phát triển rừng

Giải pháp kết hợp giữa các công ty Dược và Hội Đông y ở các huyện, xã... để phát triển những bài thuốc từ dược liệu tại khu vực. Việc hợp tác kinh doanh giữa các công

ty Dược liệu với các hộ gia đình trồng cây thuốc sẽ tạo đầu ra ổn định cho các sản phẩm từ cây thuốc.

Hiện nay, người dân còn phải chịu thiệt thòi từ việc cung cấp nguyên liệu thuốc và các sản phẩm chế biến từ cây thuốc với giá cả thấp. Giá trị của kiến thức bản địa chưa được coi trọng xứng đáng. Do đó cần nâng cao giá trị của các mặt hàng này bằng cách xây dựng thương hiệu cho chúng. Khi đã có thương hiệu và khẳng định được chất lượng, sản phẩm thuốc nam và các mặt hàng từ cây thuốc sẽ có giá trị xứng đáng và có sức cạnh tranh trên thị trường.

Mặt khác, việc hợp tác với các công ty Dược còn là giải pháp có tính thực tiễn trong việc đầu tư vốn cho bà con chủ động tự trồng cây thuốc tại nhà, giảm bớt việc thu hái từ thiên nhiên. Ngoài ra các công ty có thể cung cấp một số giống cây thuốc sẵn có từ các địa phương khác, đầu tư các dây chuyền kỹ thuật cho việc sơ chế, bảo quản cây thuốc sau thu hoạch, đặc biệt là tạo môi trường thực hiện các giải pháp hỗ trợ về khoa học và công nghệ nhằm nâng cao chất lượng sản phẩm.

Hoạt động hợp tác, hội nhập quốc tế về quản lý, bảo vệ và phát triển rừng cần được chú trọng thực hiện có trách nhiệm các cam kết quốc tế phù hợp với lợi ích quốc gia và thông lệ quốc tế. Đẩy mạnh hợp tác song phương với các huyện có chung đường biên giới nhằm tăng cường trao đổi thông tin, bảo đảm công tác quản lý, bảo vệ, phát triển rừng và quản lý lâm sản hiệu quả, chặt chẽ.

Tăng cường quảng bá, giới thiệu và tìm kiếm tài trợ từ các tổ chức quốc tế. Tạo điều kiện môi trường tốt cho các tổ chức quốc tế tham gia vào hoạt động điều tra, nghiên cứu trong khu bảo tồn, tạo điều kiện cho cán bộ tham gia các lớp tập huấn, hội thảo quốc tế; Tranh thủ tối đa và sử dụng hiệu quả các nguồn vốn tài trợ nước ngoài (vốn ODA, vay ưu đãi và hỗ trợ quốc tế...) cho công tác quản lý, bảo vệ và phát triển rừng như: Ngân hàng thế giới (World bank); Dự án Redd+, Quỹ môi trường toàn cầu (GEF).

3.4.1.5. Nâng cao hiệu quả công tác lãnh đạo, chỉ đạo của các cấp ủy Đảng, chính quyền địa phương

Nâng cao vai trò, trách nhiệm của người đứng đầu các cơ quan, tổ chức ở địa phương trong công tác bảo vệ và phát triển rừng cũng như nguồn tài nguyên dược liệu trên địa bàn quản lý; chủ động xây dựng và c phương án phòng ngừa, giải quyết các vấn đề về mất rừng, suy giảm nguồn tài nguyên cây thuốc ngay từ cơ sở.

Các tổ chức đoàn thể nhân dân là lực lượng góp phần quan trọng vào quá trình bảo tồn và phát triển nguồn tài nguyên cây thuốc tại địa phương, do đó công tác bảo tồn và phát triển bền vững nguồn tài nguyên rừng, tài nguyên cây thuốc phải có sự đóng góp của tất cả các lực lượng này nhằm thực hiện hiệu quả chức năng giám sát, kịp thời phát hiện, đấu tranh với các hành vi cố ý sai phạm trong việc quản lý, bảo vệ, phát triển rừng, rừng ngập mặn và nguồn dược liệu trên địa bàn các tỉnh.

Phối hợp với các đơn vị có liên quan tổ chức đào tạo về điều tra giám sát diễn biến đa dạng sinh học về kỹ năng xử lý và bảo quản mẫu, kỹ năng xây dựng và quản lý dữ liệu cho lực lượng nghiên cứu trẻ và cán bộ khu bảo tồn... Giải pháp này giúp cho công tác quản lý tài nguyên thực vật rừng nói riêng đạt hiệu quả cao hơn.

Nghiêm cấm các hoạt động khai thác bừa bãi thực vật, đặc biệt là các loài thực vật có giá trị làm thuốc và giá trị khoa học. Có chế tài xử phạt các đối tượng vi phạm pháp luật, vi phạm các quy định của tỉnh, của Khu Bảo tồn nhằm nâng cao ý nghĩa răn đe, giáo dục ý thức tự giác tuân thủ pháp luật của mỗi tổ chức, cá nhân trong công tác bảo tồn nguồn tài nguyên cây thuốc giai đoạn hiện nay.

Có sự phối hợp chặt chẽ giữa các cá nhân, tập thể đang có hoạt động khai thác tại khu bảo tồn để chủ động giám sát, quản lý lẫn nhau. Tạo cơ hội cho người dân chủ động tham gia quản lý, bảo tồn tài nguyên rừng cùng với các Vườn quốc gia, khu bảo tồn như giao đất rừng trồng, rừng phục hồi cho hộ gia đình quản lý để gắn liền lợi ích của Nhà nước với lợi ích thiết thực của họ, góp phần phát triển bảo vệ rừng, hạn chế mất mát tài nguyên thực vật.

3.4.1.6. Bảo tồn tri thức bản địa trong nhân dân

Việc bảo tồn tri thức bản địa trong sử dụng nguồn dược liệu sẵn có không những giúp cho nguồn tài nguyên này được quản lý, kiểm soát và coi trọng hơn mà còn giúp công tác bảo tồn tài nguyên dược liệu đạt hiệu quả cao nhất, bởi vì không ai hiểu rõ đặc điểm sinh trưởng, chu kỳ phát triển, khu vực phân bố của cây làm thuốc bằng chính người dân bản địa. Tri thức chữa bệnh luôn phải gắn liền với dược liệu làm thuốc nếu không bài thuốc sẽ chỉ tồn tại trong nhân gian và sẽ bị lãng quên. Do đó, để bảo tồn tri thức bản địa tại đây có thể thực hiện một số giải pháp sau:

- Triển khai kế hoạch và chương trình tổng thể về điều tra, đánh giá các bài thuốc gia truyền tại Tây Nguyên để hệ thống, ghi chép một cách đầy đủ, chọn lọc các bài thuốc

gia truyền; kinh nghiệm, cách thức sử dụng cây cỏ trong chữa bệnh; hiệu quả chữa bệnh của từng loài thực vật; tác dụng chữa bệnh của chúng đối với các loại bệnh hoặc độ tuổi v.v... trên cơ sở đó định hướng đối với việc quản lý, đầu tư, an hành chính sách hỗ trợ, bảo tồn hợp lý.

- Chọn lọc, nghiên cứu chuyên sâu một số bài thuốc độc đáo đưa ra ứng dụng rộng rãi trong thực tế sau khi đã công bố quyền sở hữu trí tuệ theo quy định để những bài thuốc, cây thuốc, tri thức bản địa có điều kiện phát huy tác dụng và đi vào cuộc sống.

- Mở các lớp tập huấn, hướng dẫn thực hành các bài thuốc đơn giản từ thảo dược trong vườn nhà để người dân nhận ra giá trị của chúng. In ấn, giới thiệu các tài liệu về cây cỏ có tác dụng chữa bệnh, hiệu quả chữa bệnh của mỗi loài... hoặc các loài đang có nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng để cộng đồng ưu tiên bảo tồn.

- Giáo dục thế hệ trẻ có ý thức giữ gìn tri thức bản địa trong sử dụng cây cỏ chữa bệnh của nhân dân địa phương, của gia đình, dòng họ, giúp họ thấy được trách nhiệm của mình trong quá trình bảo tồn, phát huy truyền thống gia đình, dòng họ. Tạo điều kiện thuận lợi cho người dân, hướng dẫn để họ biết cách đăng ý quyền sở hữu trí tuệ đối với các bài thuốc gia truyền, các bài thuốc của cộng đồng mình. Việc công bố tri thức bản địa dưới dạng tư liệu hóa là rất quan trọng, góp phần giữ gìn các bài thuốc quý để chúng không bị mất đi.

3.4.1.7. Giải pháp về nâng cao chất lượng nguồn nhân lực

Tập huấn cho người dân, cán bộ kiểm lâm nhằm nâng cao nhận thức về bảo tồn, nhận biết các loài cây thuốc quý hiếm để cùng tham gia bảo vệ; tập huấn cho các hộ dân đang sản xuất và kinh doanh trong lĩnh vực dược liệu về vấn đề trồng và thu hái dược liệu bền vững; hướng dẫn các kỹ thuật trồng, thu hái, chế biến, bảo quản nhằm đảm bảo chất lượng dược liệu; cần có nhiều hình thức, phương pháp đào tạo khác nhau để phù hợp với đặc điểm từng dân tộc, từng địa phương, theo từng lứa tuổi và trình độ khác nhau, trong đó cần đặc biệt chú ý phương pháp bồi dưỡng, đào tạo theo hướng xây dựng mô hình trình diễn. Cần nâng cao trình độ của các cán bộ làm công tác khuyến nông ở các xã và thôn bản, thông qua việc mở các lớp bồi dưỡng ngắn ngày và thường xuyên đổi mới nâng cao bằng những kiến thức mới. Đồng thời có chế độ thỏa đáng để đảm bảo đời sống cho các cán bộ làm công tác khuyến nông, khuyến lâm. Để tăng số lượng cán bộ làm công tác khuyến nông tới tận xã, bản, cần áp dụng những chính sách thu hút

trong một thời gian ngắn số học sinh, sinh viên tốt nghiệp các trường đại học, trung học chưa tìm được việc làm bổ sung vào đội ngũ này. Họ sẽ làm việc trong một thời gian ngắn, khoảng 4 - 5 năm và được hưởng chế độ chính sách đảm bảo tiền lương, thu nhập. Hết thời hạn, nếu họ muốn ở lại công tác tại địa phương, các cơ quan nhà nước có trách nhiệm bố trí công việc phù hợp với khả năng và nhu cầu của họ. Nếu họ muốn chuyển công tác, thì phải đảm bảo việc làm cho họ. Vấn đề trẻ em vào rừng vì mục đích sinh kế có thể gây lo ngại cho tương lai sự nghiệp bảo vệ rừng, do trẻ em sẽ là những người bảo vệ hoặc tàn phá rừng trong tương lai. Điều này phụ thuộc vào việc trẻ em được giáo dục về bảo vệ rừng như thế nào ngay từ bây giờ. Nếu chúng đã quen với việc vào rừng cho sinh kế gia đình mà không được giáo dục đầy đủ về bảo vệ rừng, việc thuyết phục chúng ít khai thác rừng hơn sẽ trở nên hết sức khó khăn trong tương lai khi những trẻ em này trưởng thành. Vì vậy, để tăng cường quản lý theo hướng có sự tham gia, điều hết sức quan trọng và đơn giản là bắt đầu với những hành động của trẻ em liên quan đến rừng.

Mở rộng các hình thức đào tạo nghề cho người dân gắn với chuyển giao tiến bộ khoa học kỹ thuật và công nghệ mới. Đổi mới phương thức đào tạo theo hướng đào tạo theo vùng quy hoạch, vùng chuyên canh. Tăng cường tập huấn các kỹ thuật trồng trọt, thu hái theo tiêu chuẩn (VietGAP, GlobalGAP, Hữu Cơ)... Ưu tiên tập huấn, xây dựng sản xuất theo tiêu chuẩn, chất lượng mà thị trường cần.

Củng cố, nâng cao chất lượng, hiệu quả hoạt động của các Hợp tác xã Dịch vụ nông nghiệp, có hướng hỗ trợ, tổ chức đào tạo, bồi dưỡng cho cán bộ quản lý Hợp tác xã.

3.4.1.8. Giải pháp về phát triển thị trường

Hiện tại, Tây Nguyên có nguồn tài nguyên cây thuốc phong phú nhưng ngành dược liệu vẫn luôn phải loay hoay tìm nguồn nguyên liệu cho sản xuất tân dược khi mà nguồn nguyên liệu tại chỗ không thể khai thác để cung cấp. Chính vì vậy, để kêu gọi được nhiều nhà đầu tư tham gia vào công tác phát triển dược liệu nhằm tạo ra nhiều sản phẩm thuốc chữa bệnh có giá trị, vừa góp phần giải quyết công ăn, việc làm cho người dân, đồng thời nâng cao hiệu quả kinh tế cho các doanh nghiệp sản xuất, kinh doanh có thể tham khảo những giải pháp sau:

- Tập trung đề xuất việc triển khai mô hình phối hợp giữa “4 nhà” bao gồm: Nhà nông, Nhà doanh nghiệp, Nhà khoa học và Nhà nước đối với công tác phát triển dược

liệu. Nhà nước sẽ tạo điều kiện cho các Nhà băng việc mở rộng hành lang pháp lý và các chủ trương chính sách phù hợp. Nhà Doanh nghiệp cung cấp nguồn vốn và bao tiêu sản phẩm. Nhà khoa học nghiên cứu các tiến bộ khoa học kỹ thuật để Nhà nông sử dụng nguồn vốn đầu tư hiệu quả, mở rộng quy mô sản xuất để cùng nhau tạo ra nhiều sản phẩm thuốc chữa bệnh.

- Ưu tiên hàng đầu cho việc tìm kiếm, khai thác thị trường thông qua các hoạt động xúc tiến thương mại, hội thảo, hội chợ... để ký kết các hợp đồng tiêu thụ sản phẩm, chế biến sản phẩm dược liệu. Xây dựng các chiến lược về tiêu thụ sản phẩm trên thị trường trong nước và xuất khẩu một cách chủ động...

- Đơn giản hóa các thủ tục hành chính, tăng cường công tác truyền thông, xúc tiến đầu tư: Tổ chức diễn đàn đầu tư vào nông nghiệp, giới thiệu về tiềm năng rất lớn đầu tư vào nguồn tài nguyên dược liệu và có thể đảm bảo lợi nhuận trong tương lai.

3.4.2. Phương án phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao

Đề tài lựa chọn 02 đối tượng là tam thất và lan gấm để nghiên cứu phương pháp nhân giống đáp ứng cho yêu cầu phát triển trong tương lai.

3.4.2.1. Nhân giống cây Tam thất - *Panax pseudoginseng*

Đối với Tam thất (*Panax pseudoginseng*), chưa có nhiều nghiên cứu nhân giống hữu tính có sử dụng chất điều hòa sinh trưởng để phá vỡ trạng thái ngủ của hạt, rút ngắn thời gian của quá trình nảy mầm cũng như các nghiên cứu về kỹ thuật gây trồng trong điều kiện nhà kính hay dưới tán rừng tự nhiên để phát triển sản xuất loài dược liệu này.

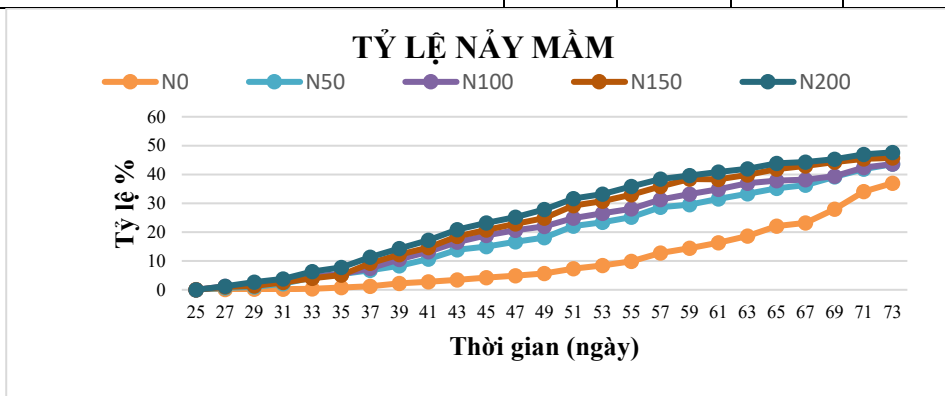
3.4.2.1.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý GA₃ đến sự nảy mầm của hạt Tam thất

Tiến hành xử lý hạt giống với dung dịch GA₃ ở các nồng độ là 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm. Quá trình nảy mầm của hạt Tam thất được trình bày ở bảng 3.4.1a và hình 99a.

Bảng 3.4.1a. Quá trình nảy mầm hạt Tam thất

		Nồng độ GA ₃				
		N0	N50	N100	N150	N200
Số hạt theo dõi		100	100	100	100	100
Tổng số hạt nảy mầm sau khi gieo	Sau 25 ngày	0	0	0	0	0
	Sau 27 ngày	0	1	1	1	1

Sau 29 ngày	0	1	2	1	3
Sau 31 ngày	0	2	3	3	4
Sau 33 ngày	0	4	5	4	6
Sau 35 ngày	1	6	5	5	8
Sau 37 ngày	1	7	7	9	11
Sau 39 ngày	2	8	11	12	14
Sau 41 ngày	3	11	13	15	17
Sau 43 ngày	3	14	17	19	21
Sau 45 ngày	4	15	19	21	23
Sau 47 ngày	5	17	21	23	25
Sau 49 ngày	6	18	22	25	28
Sau 51 ngày	7	22	25	29	32
Sau 53 ngày	8	23	27	31	33
Sau 55 ngày	10	25	28	33	36
Sau 57 ngày	13	29	31	36	38
Sau 59 ngày	14	30	33	38	40
Sau 61 ngày	16	32	35	38	41
Sau 63 ngày	19	33	37	40	42
Sau 65 ngày	22	35	38	42	44
Sau 67 ngày	23	36	38	43	44
Sau 69 ngày	28	39	39	44	45
Sau 71 ngày	34	42	42	45	47
Sau 73 ngày	37	44	44	46	48
Tỷ lệ nảy mầm sau 73 ngày gieo (%)	37	44	44	46	48



Hình 105a. Biểu đồ tỷ lệ nảy mầm hạt Tam thất theo thời gian

Hạt Tam thất bắt đầu nảy mầm sau 27 ngày gieo khi có sử dụng GA₃ và sau 35 ngày gieo khi không có sử dụng GA₃. Số hạt nảy mầm tăng dần đều và kết thúc quá trình nảy mầm vào ngày thứ 73 sau khi gieo hạt. Tỷ lệ nảy mầm giao động từ 37% đến 48%. Ở nồng độ GA₃ 200ppm cho tỷ lệ nảy mầm là cao nhất đạt 48%. Tiếp theo là 150ppm, 100ppm, 50ppm và thấp nhất là ngâm hạt trong nước với tỷ lệ nảy mầm lần lượt là 46%, 44%, 44% và 37%.

3.4.2.1.2. Ảnh hưởng của nồng độ GA₃ và thời gian ngâm hạt đến tỷ lệ nảy mầm, thể nảy mầm, tốc độ nảy mầm hạt Tam thất

a. Ảnh hưởng của nồng độ GA₃ và thời gian ngâm hạt đến tỷ lệ nảy mầm hạt Tam thất

Sử dụng độ lệch (Std.Skewness) và độ nhọn (Std. Kurtosis) để kiểm tra phân bố chuẩn của mẫu. Kết quả cho thấy Độ lệch = 0,584674 và Độ nhọn = -0,896577 đều nằm trong phạm vi -2 đến +2 nên phân bố của mẫu quan sát tiệm cận chuẩn. Kiểm tra sự bằng nhau của phương sai tổ hợp hai nhân tố theo tiêu chuẩn của Levene cho thấy P-value = 0,99 > 0,05 chứng tỏ phương sai ở các công thức thí nghiệm là bằng nhau. Từ các kết quả phân tích trên, để so sánh tỷ lệ nảy mầm ở 20 công thức thí nghiệm, phương pháp được lựa chọn là phân tích phương sai 2 yếu tố: Nồng độ GA₃ và thời gian ngâm hạt với 3 lần lặp.

Kết quả phân tích phương sai cho thấy ở các nồng độ GA₃ khác nhau thì giá trị P-value = 0,0067 < 0,05 (Df (Degree freedom) = 4; MS (Mean square) = 194,06) điều này chứng tỏ nồng độ của GA₃ khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến tỷ lệ nảy mầm của hạt. Ngược lại, ở thời gian ngâm hạt, với giá trị P-value = 0,1652 > 0,05, (Df=3; MS = 85,75) chứng tỏ thời gian ngâm không ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm của hạt.

Kiểm tra sự khác biệt ở các nồng độ GA₃ ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm của hạt Tam Thất. Kết quả xếp nhóm sự khác biệt giữa các nồng độ GA₃ theo tiêu chuẩn Duncan với độ tin cậy 95% được cho ở bảng 3.4.1b.

Bảng 3.4.1b. Xếp nhóm các nồng độ GA₃ với tỷ lệ nảy mầm của hạt Tam thất

Nồng độ	Số lần lặp	Tỷ lệ nảy mầm (%)	LS Sigma	Homogeneous Groups
N0	12	37,00	2,01	X
N50	12	43,58	2,01	X
N100	12	43,58	2,01	X
N150	12	45,75	2,01	X
N200	12	47,67	2,01	X

Kết quả xếp nhóm Duncan cho ra 2 nhóm có sự khác biệt về tỷ lệ nảy mầm của hạt. Các nồng độ 50ppm, 100ppm, 150ppm và 200ppm không có sự khác biệt có ý nghĩa về tỷ lệ nảy mầm của hạt. Như vậy, ở các nồng độ GA₃ khác nhau thì cho kết quả tỷ lệ

nảy mầm là như nhau; tuy nhiên so với đối chứng thì sử dụng bốn công thức nồng độ GA₃ trên là có sự khác biệt rõ so với đối chứng và cao hơn đối chứng.

b. Ảnh hưởng của nồng độ GA₃ và thời gian ngâm hạt đến thể nảy mầm hạt Tam thất

Phân tích tương tự tỷ lệ nảy mầm, các chỉ tiêu độ lệch, độ nhọn cũng được sử dụng để kiểm tra phân bố chuẩn của mẫu. Kết quả cho thấy độ lệch = 1,34285 và độ nhọn = 1,05708 đều nằm trong phạm vi -2 đến +2 nên phân bố của mẫu quan sát tiệm cận chuẩn.

Kiểm tra sự bằng nhau của phương sai theo tiêu chuẩn của Levene cho thấy P-value = 0,87 > 0,05 chứng tỏ phương sai ở các công thức thí nghiệm là bằng nhau. Từ các kết quả phân tích trên, để so sánh thể nảy mầm ở 20 công thức thí nghiệm, phương pháp được lựa chọn là phân tích phương sai 2 yếu tố: Nồng độ GA₃ và thời gian ngâm hạt với 3 lần lặp.

Kết quả phân tích phương sai như sau: Ở các công thức nồng độ khác nhau thì với giá trị P-value = 0,0000 < 0,05 (Df= 4; MS = 369,53) chứng tỏ nồng độ GA₃ có ảnh hưởng đến thể mầm của hạt. Đối với yếu tố thời gian ngâm hạt, với giá trị P-value = 0,7900 > 0,05 (Df= 3; MS = 7,17) chứng tỏ thời gian ngâm không ảnh hưởng đến thể mầm của hạt.

Sử dụng tiêu chuẩn Duncan ở độ tin cậy 95% để kiểm tra mức độ ảnh hưởng các công thức nồng độ GA₃ đến thể nảy mầm của hạt Tam thất. Kết quả như sau:

Bảng 3.4.1c. Xếp nhóm các nồng độ GA₃ đồng nhất về thể nảy mầm của hạt Tam thất

Nồng độ	Số lần lặp	Thể nảy mầm (%)	LS Sigma	Homogeneous Groups
N0	12	2,75	1,31	X
N50	12	10,67	1,31	X
N100	12	13,25	1,31	XX
N150	12	14,67	1,31	XX
N200	12	17,25	1,31	X

Kết quả xếp nhóm Duncan, các nồng độ 50ppm, 100ppm, 150ppm và 200ppm và đối chứng có sự khác biệt về thể nảy mầm của hạt. Như vậy, các nồng độ được xếp vào bốn nhóm có sự khác biệt nhau, đồng thời khác biệt so với đối chứng và cao hơn đối chứng. Nhóm có thể nảy mầm cao nhất gồm 2 nồng độ 150ppm và 200ppm. Ở nồng độ 150ppm cho thể nảy mầm đạt 14,67% và ở 200ppm là 17,25%, so với đối chứng là

2,75%, tăng 14,5%. Như vậy nên chọn nồng độ từ 150ppm đến 200ppm trong sản xuất để kích thích hạt nảy mầm.

c. Ảnh hưởng của nồng độ GA₃ và thời gian ngâm hạt đến tốc độ nảy mầm hạt Tam thất

Tương tự tỷ lệ nảy mầm và thể nảy mầm, để lựa chọn phương pháp phân tích và đánh giá ảnh hưởng của GA₃ và thời gian ngâm hạt đến tốc độ nảy mầm hạt Tam thất, phân bố chuẩn của mẫu cũng được kiểm tra thông qua các chỉ tiêu độ lệch, độ nhọn. Kết quả cho thấy độ lệch = 0,529678 và độ nhọn = 0,836637 đều nằm trong phạm vi -2 đến +2 nên phân bố của mẫu quan sát tiệm cận chuẩn.

Kiểm tra sự bằng nhau của phương sai theo tiêu chuẩn của Levene cho thấy P-value = 0,85 > 0,05 chứng tỏ phương sai ở các công thức thí nghiệm là bằng nhau. Từ các kết quả phân tích trên, phương pháp tối ưu để đánh giá tốc độ nảy mầm ở 20 công thức thí nghiệm là phương pháp phân tích phương sai 2 yếu tố: Nồng độ GA₃ và thời gian ngâm hạt với 3 lần lặp.

Kết quả cho thấy: Ở các công thức nồng độ khác nhau cho giá trị P-value = 0,0000 < 0,05 (Df= 4; MS = 2,78E-04), điều này chứng tỏ nồng độ GA₃ khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến tốc độ nảy mầm của hạt Tam thất. Ngược lại, ở các công thức thời gian ngâm hạt, với giá trị P-value = 0,5776 > 0,05 (Df= 3; MS = 6,54E-06), chứng tỏ thời gian ngâm hạt không ảnh hưởng đến tốc độ nảy mầm của hạt Tam thất.

So sánh ảnh hưởng của các nồng độ GA₃ đến tốc độ nảy mầm của hạt Tam thất theo tiêu chuẩn Duncan ở độ tin cậy 95%. Kết quả như sau:

Bảng 3.4.1d. Xếp nhóm các nồng độ GA₃ đồng nhất về tốc độ nảy mầm của hạt Tam thất

Nồng độ	Số lần lặp	Tốc độ nảy mầm (%/ngày)	LS Sigma	Homogeneous Groups
N0	12	2,44	0,00	X
N50	12	3,11	0,00	X
N100	12	3,36	0,00	XX
N150	12	3,52	0,00	XX
N200	12	3,67	0,00	X

Kết quả xếp nhóm Duncan cho thấy có sự khác biệt về tốc độ nảy mầm của hạt. Ở các nồng độ khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa về tốc độ nảy mầm của hạt, đồng thời khác biệt so với đối chứng và cao hơn đối chứng. Nồng độ càng tăng thì tốc độ nảy mầm

của hạt càng tăng. Nhóm có tốc độ nảy mầm nhanh nhất là 2 nồng độ 150ppm và 200ppm và chưa có sự khác biệt rõ về tốc độ nảy mầm ở hai nồng độ này. Ở nồng độ 150ppm tốc độ nảy mầm đạt 3,52%/ ngày và ở 200ppm là 3,67%/ngày, tăng 1,23%/ngày ngày so với đối chứng. Như vậy nên chọn nồng độ từ 150ppm đến 200ppm trong sản xuất để tăng tốc độ nảy mầm của hạt.

Kết quả cho thấy GA₃ có tác dụng tăng tỷ lệ nảy mầm, thể nảy mầm của hạt, rút ngắn thời gian nảy mầm và làm tăng tốc độ nảy mầm của hạt. Sử dụng GA₃ ở nồng độ từ 150ppm đến 200ppm cho hạt nảy mầm là tốt hơn so với các nồng độ khác và tốt hơn hẳn so với đối chứng. Điều này được giải thích là do GA₃ có tác dụng phá vỡ trạng thái ngủ của hạt. Kết quả này có ý nghĩa rất quan trọng trong thực tiễn sản xuất, nó làm tăng tỷ lệ nảy mầm và sớm hoàn thành giai đoạn nảy mầm của hạt.



Hình 105b. Tam thất nảy mầm trên khay cát

3.4.2.1.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của thành phần giá thể đến sinh trưởng của cây con trong giai đoạn vườn ươm

Quá trình sinh trưởng của cây được đánh giá thông qua tỷ lệ sống, lượng tăng trưởng bình quân về chiều cao cuống lá (H) và chiều dài phiến lá (L). Kết quả tỷ lệ sống sau 8 tháng theo dõi được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 3.4.1e. Tỷ lệ sống (%) của Tam thất trên các nghiệm thức

Công thức	Sau 2 tháng (%)	Sau 4 tháng (%)	Sau 6 tháng (%)	Sau 8 tháng (%)
80Dat20XD	87	83	75	57
60Dat40XD	93	92	80	67
40Dat60XD	92	88	69	57
20Dat80XD	91	85	64	46

Tỷ lệ sống là chỉ tiêu đánh giá rất quan trọng trong chăm sóc cây con tại vườn ươm. Tỷ lệ sống của Tam thất giảm dần ở tất cả các công thức thí nghiệm. Qua 4 công thức thí nghiệm cũng cho thấy công thức phối trộn cho tỷ lệ sống cao nhất sau 4 tháng là 60Dat40XD đạt 92% và sau 8 tháng là 67%. Kết quả sau 8 tháng theo dõi, thấp nhất là công thức 20Dat80XD, tỷ lệ sống chỉ đạt 46%. Điều này có thể được giải thích là do tỷ lệ xơ dừa phối trộn chiếm một lượng lớn (80% tổng số) làm cho giá thể này xốp, nhẹ, nhanh thoát hơi nước đồng thời rễ cây khó bám chặt, dẫn đến dễ bị khô và tổn thương. Tuy nhiên giá thể 80Dat20XD cũng chỉ cho tỷ lệ sống đạt 57%. Điều này có thể là do lượng đất phối trộn chiếm tỷ lệ lớn (80% tổng số) làm cho giá thể có kết cấu chặt, hạn chế sự phát triển của hệ rễ. Như vậy giá thể tốt nhất để đảm bảo tỷ lệ sống cao nhất trong gây trồng là 60Dat40XD.

a. Chiều cao cuống lá (H)

Qua bảng 3.4.1f cho thấy các công thức thí nghiệm đều cho thấy sự tăng trưởng về chiều cao cuống lá. Hai công thức phối trộn là 80Dat-20XD, 60Dat-40XD cho kết quả khá thấp so với hai công thức 40Dat-60XD và 20Dat-80XD. Hai công thức cho kết quả tốt nhất về chiều cao cuống lá là 20Dat-80XD ($9,62 \pm 1,77$ cm) và 40Dat-60XD ($9,17 \pm 1,84$ cm) so với chiều dài cuống lá ban đầu lần lượt là $4,29 \pm 1,17$ cm và $3,64 \pm 1,78$ cm.

Bảng 3.4.1f. Chiều cao cuống lá trung bình theo tuổi (H)

Công thức phối trộn	Ban đầu (cm)	2 tháng (cm)	4 tháng (cm)	6 tháng (cm)	8 tháng (cm)
80Dat-20XD	$3,39 \pm 1,19$	$7,00 \pm 1,56$	$7,22 \pm 1,66$	$7,36 \pm 1,51$	$7,45 \pm 1,69$
60Dat-40XD	$4,13 \pm 1,31$	$6,95 \pm 1,77$	$7,16 \pm 1,76$	$6,97 \pm 1,72$	$7,11 \pm 1,85$
40Dat-60XD	$3,64 \pm 1,78$	$8,60 \pm 1,76$	$8,89 \pm 1,75$	$9,05 \pm 1,82$	$9,17 \pm 1,84$
20Dat-80XD	$4,29 \pm 1,17$	$8,81 \pm 1,81$	$9,18 \pm 1,79$	$9,20 \pm 1,66$	$9,62 \pm 1,77$

Sau tám tháng theo dõi, sinh trưởng về chiều cao cuống lá đều tăng lên rõ rệt ở các công thức thí nghiệm. Để đánh giá sự khác biệt về sinh trưởng của cây trên các công thức giá thể khác nhau, các số liệu đo đếm được đưa vào phân tích, so sánh. Đánh giá phân bố của mẫu bằng độ nhọn và độ lệch, kết quả như sau.

Bảng 3.4.1g. Kiểm tra phân bố chuẩn của mẫu dựa vào độ lệch và độ nhọn

Công thức	Độ lệch (Std.Skewness)	Độ nhọn (Std. Kurtosis)
80DAT-20XD	0,668739	-0,166103
60DAT-40XD	1,28465	-0,409604

40DAT-60XD	-2,10212	3,20972
20DAT-80XD	0,102175	-0,889176

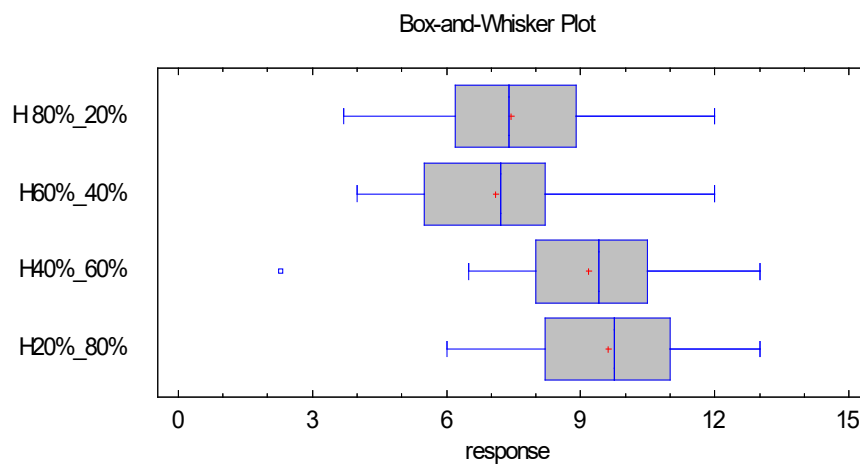
Bảng 3.4.1g cho thấy ở công thức phối trộn 40DAT-60XD có độ lệch = -2,10212 nằm ngoài khoảng (-2, +2) và độ nhọn = 3,20972 nằm ngoài khoảng (-2, +2) nên có thể kết luận phân bố của dữ liệu chưa đạt chuẩn. Do đó cần kiểm định sự khác biệt giữa các công thức thí nghiệm bằng phương pháp phi tham số Kruskal-Wallis.

Kết quả kiểm tra Kruskal-Wallis (Bảng 3.4.1h) cho thấy các trung vị trong bốn công thức thí nghiệm là khác nhau. Với giá trị P-Value = 0,0 nhỏ hơn 0,05, như vậy có ít nhất một sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các trung vị ở mức độ tin cậy 95%. Dựa vào biểu đồ (Hình 98c) chỉ ra sinh trưởng chiều cao cuống lá ở hai công thức 40Dat-60XD và 20Dat-80XD là khác biệt và cao hơn so với các công thức còn lại. Tuy nhiên giữa hai công thức này là như nhau với giá trị P-Value = 0,263339.

Bảng 3.4.1h. Bảng kiểm tra theo Kruskal-Wallis

Công thức	Dung lượng mẫu (Sample Size)	Trung bình xếp hạng (Average Rank)
80DAT-20XD	57	88,04
60DAT-40XD	67	78,57
40DAT-60XD	57	146,30
20DAT-80XD	46	157,76

Test statistic = 62,7832 P-Value = 0,0



Hình 105c. Biểu đồ Box-and-Whisker về biến động sinh trưởng chiều cao cuống lá

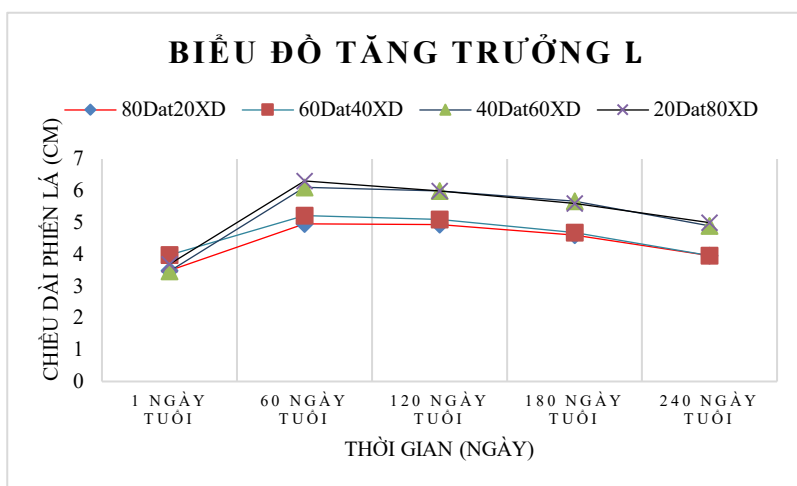
b. Chiều dài phiến lá (L)

Qua bảng 3.4.1i và hình 99d, sau 60 ngày, các công thức thí nghiệm đều cho thấy sự tăng trưởng về chiều dài phiến lá. Đến 4 tháng tuổi (khoảng tháng 7 tại Đà Lạt), cây

bắt đầu chuyển sang giai đoạn rụng lá, nên hầu hết chiều dài phiến lá trung bình ở các công thức đều giảm dần. Cho đến 8 tháng, hai công thức phối trộn là 40Dat-60XD và 20Dat-80XD cho kết quả sinh trưởng chiều dài phiến lá cao hơn các công thức còn lại và có giá trị lần lượt là $4,90 \pm 1,53$ cm và $5,00 \pm 1,91$ cm.

Bảng 3.4.1i. Chiều dài phiến lá trung bình (L) theo tuổi

Công thức	Ban đầu (cm)	2 tháng (cm)	4 tháng (cm)	6 tháng (cm)	8 tháng (cm)
80DAT-20XD	$3,49 \pm 0,99$	$4,96 \pm 1,00$	$4,94 \pm 1,04$	$4,60 \pm 0,91$	$3,96 \pm 1,22$
60DAT-40XD	$3,98 \pm 0,89$	$5,22 \pm 1,24$	$5,10 \pm 1,33$	$4,69 \pm 0,95$	$3,96 \pm 1,58$
40DAT-60XD	$3,47 \pm 0,94$	$6,11 \pm 1,21$	$5,99 \pm 1,16$	$5,67 \pm 1,02$	$4,90 \pm 1,53$
20DAT-80XD	$3,69 \pm 0,78$	$6,31 \pm 1,20$	$5,99 \pm 1,05$	$5,60 \pm 1,28$	$5,00 \pm 1,91$



Hình 105d. Biểu đồ tăng trưởng chiều dài phiến lá trung bình

Để đánh giá sự khác biệt về sinh trưởng của cây trên các công thức giá thể khác nhau, các số liệu đo đếm được đưa vào phân tích, so sánh.

Đánh giá phân bố của mẫu bằng độ nhọn và độ lệch, kết quả như sau.

Bảng 3.4.1j. Kiểm tra phân bố chuẩn của mẫu dựa vào độ lệch và độ nhọn của mẫu

Công thức	Độ lệch (Std. Skewness)	Độ nhọn (Std. Kurtosis)
80DAT-20XD	-1,97308	2,05228
60DAT-40XD	-2,69437	0,380322
40DAT-60XD	-3,5756	3,33902
20DAT-80XD	-3,49785	1,60648

Bảng 3.4.1j cho thấy mẫu ở tất cả các công thức phối trộn giá thể có độ và độ nhọn đều nằm ngoài khoảng (-2, +2) nên có thể kết luận phân bố của dữ liệu ở các mẫu

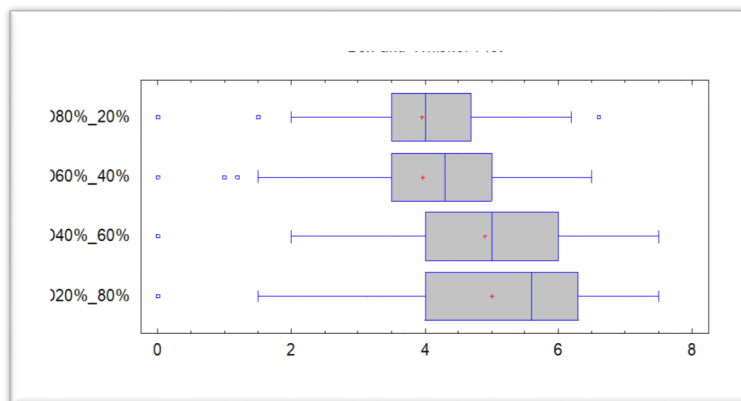
đều chưa đạt chuẩn. Do đó tiêu chuẩn phi tham số Kruskal-Wallis được sử dụng để kiểm tra, so sánh các công thức thí nghiệm. Kết quả được cho ở bảng sau:

Kết quả kiểm tra Kruskal-Wallis (Bảng 3.4.1k) cho thấy các trung vị trong bốn công thức thí nghiệm là khác nhau. Với giá trị P-Value = 0,00000153731 nhỏ hơn 0,05, như vậy có ít nhất một sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các trung vị ở mức độ tin cậy 95%. Dựa vào biểu đồ (Hình 99e) chỉ ra sinh trưởng chiều dài phiến lá ở hai công thức 40Dat-60XD và 20Dat-80XD là khác biệt và cao hơn so với các công thức còn lại. Tuy nhiên sinh trưởng của cây giữa hai công thức này là như nhau với giá trị P-Value = 0,281652

Bảng 3.4.1k. Bảng kiểm tra theo Kruskal-Wallis

Công thức	Dung lượng mẫu (Sample Size)	Trung bình xếp hạng (Average Rank)
80DAT-20XD	57	88,193
60DAT-40XD	67	96,5299
40DAT-60XD	57	135,833
20DAT-80XD	46	144,37

Test statistic = 29,7772 P-Value = 0,00000153731



Hình 105e. Biểu đồ Box-and-Whisker về biến động sinh trưởng chiều dài phiến lá

Như vậy sinh trưởng của Tam thất trên bốn loại giá thể khác nhau được đánh giá thông qua sinh trưởng chiều cao cuống lá và chiều dài phiến lá cho thấy, ở hai công thức giá thể 40Dat-60XD và 20Dat-80XD cho sinh trưởng tốt hơn các giá thể còn lại. Điều này được giải thích là do các giá thể này có tỷ lệ xơ dừa lớn hơn các giá thể khác, trong thành phần xơ dừa xử lý có một lượng dinh dưỡng đã được phối trộn nên đã tạo điều kiện cho cây phát triển tốt hơn. Tuy nhiên theo kết quả nghiên cứu cho thấy chưa có sự

khác biệt về sinh trưởng của cây ở hai công thức giá thể này. Mặt khác khi tỷ lệ xơ dừa tăng lên thì tỷ lệ sống của cây lại giảm, và tỷ lệ sống cao nhất là ở giá thể 60Dat-40XD. Đây là cây dược liệu sống lâu năm, có chu kỳ rụng lá hàng năm, sản phẩm chính là thân củ nên giá thể tốt nhất được chọn để gây trồng là 60Dat-40XD, đồng thời cần kết hợp những biện pháp chăm sóc và quản lý sâu bệnh nhằm nâng cao tỷ lệ sống trong trồng trọt.



Hình 105f. Tam thất sinh trưởng trên các giá thể khác nhau

Qua kết quả trên cho thấy khi xử lý hạt bằng chất kích thích sinh trưởng thực vật GA_3 với nồng độ GA_3 khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến sự nảy mầm của hạt. Xử lý hạt ở nồng độ 150ppm và 200 ppm trước khi gieo đã có ảnh hưởng tích cực đến sự nảy mầm của hạt. Ở 200ppm, so với đối chứng tỷ lệ nảy mầm đạt 47,67% tăng 10,67%; thể nảy mầm là cao nhất đạt 17,25%, tăng 14,5% so với đối chứng và làm tăng tốc độ nảy mầm 1,23%/ngày so với đối chứng và đạt cao nhất là 3,67%/ngày. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thành phần giá thể đến sinh trưởng của cây con trong giai đoạn vườn ươm sau tám tháng theo dõi, công thức phối trộn giá thể theo tỷ lệ Đất:Xơ dừa là 6:4 (60Dat:40 XD) cho tỷ lệ sống cao nhất là 67%.

3.4.2.2. Nhân giống cây lan gấm – *Anoectochilus roxburghii*

3.4.2.2.1. Nghiên cứu phương pháp khử trùng chồi ngủ

Tạo nguồn vật liệu ban đầu là một khâu hết sức quan trọng quyết định sự thành công trong việc nuôi cấy mô. Vật liệu khởi đầu phải được khử trùng để đảm bảo sản phẩm tạo ra khi nuôi cấy là sạch nấm bệnh, khuẩn... Các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ mẫu sạch và mẫu sống là nguồn mẫu, hoá chất khử trùng và thời gian khử trùng. Nếu dung dịch khử trùng không có tính sát trùng cao thì khi vào mẫu tỷ lệ bị nhiễm cao. Còn

nếu thời gian khử trùng quá ít thì mẫu sẽ nhiễm, còn thời gian quá dài thì mẫu sẽ bị tổn thương và chết. Phương pháp nhân giống *in vitro* sử dụng chồi cây làm vật liệu khởi đầu có ưu điểm cây con vẫn giữ được đặc tính di truyền của cây mẹ, hệ số nhân giống cao hơn so với các phương pháp nhân giống vô tính truyền thống. Tuy nhiên, do chồi được lấy ngoài tự nhiên nên cần phải khử trùng đảm bảo cho mẫu đưa vào sạch và có khả năng phát sinh hình thái. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu phương pháp khử trùng đối với đoạn thân Lan gấm. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 3.4.2a.

Bảng 3.4.2a. Ảnh hưởng của phương pháp khử trùng đến khả năng sống, vô trùng của mẫu cây (sau 8 tuần)

Chỉ tiêu NT	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu sống, vô trùng (%)
H ₂ O ₂ 2% (L1: 5 phút, L2: 1 phút)	40	26,67	33,33
HgCl ₂ 1‰ (L1: 3 phút, L2: 1 phút)	12,33	7,67	80
Streptomycine 2‰ 5 phút + HgCl₂ 1‰ (vài giọt Tween 80) 8 phút	4,13	5,0	90,87

Các công thức khử trùng trên đã được bố trí theo cấp độ tăng dần tác động của hóa chất vào mẫu cây. Trong các nghiệm thức thí nghiệm, nghiệm thức 3 (Sử dụng Streptomycine 2‰ 5 phút + HgCl₂ 1‰ (vài giọt Tween 80) 8 phút) cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất đạt 90,87%.

Như vậy các đoạn thân được khử trùng theo nghiệm thức 3 để tiếp tục các thí nghiệm tiếp theo. Mẫu sau khi khử trùng được cấy trên môi trường ½ MS có bổ sung 0,1 mg/l NAA; 1,0 mg/l BA nhằm tạo nguồn mẫu trong nuôi cấy *in vitro*.

3.4.2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của BA, Kinetin và các dịch nghiên cứu quả lên hệ số nhân Chồi của đốt ngọn

3.4.2.2.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của BA lên sự tái sinh chồi *in vitro*.

Khả năng cảm ứng tạo đa chồi ở đốt ngọn trên môi trường bổ sung chất điều hòa sinh trưởng đều không có. Điều này có thể giải thích bởi sự phân cực tái sinh của mẫu cấy do sự di chuyển của các chất điều hòa sinh trưởng nội sinh trong mẫu cấy, đặc biệt là sự di chuyển hữu cực của auxin từ đỉnh chồi đi xuống các phần dưới. Đốt ngọn đã được khử lá nhưng vẫn còn đỉnh ngọn và lá non, đây là nơi auxin nội sinh được tổng hợp và vận chuyển xuống dưới làm cho các chồi bên tích lũy nhiều auxin nên ức chế

sinh trưởng và gây ra hiện tượng ưu thế ngọn. Tuy nhiên, khả năng nhân nhanh chồi còn được đánh giá dựa trên số đốt hình thành trên chồi tái sinh. Số lượng đốt hình thành trên một chồi thể hiện hệ số nhân ở lần cấy chuyền tiếp theo của chồi đó.

Bảng 3.4.2b. Ảnh hưởng của BA đến khả năng tái sinh chồi sau 60 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức	Số đốt/mẫu cấy	Chiều dài đốt (cm)	Chiều cao cây (cm)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)
1	2,11	0,82	3,13	293,63	24,87
2	3,67	0,82	3,02	245,83	29,73
3	4,11	0,79	3,35	254,07	23,59
4	4,56	1,07	4,23	270,03	27,11
5	5,00	1,20	5,52	298,57	33,17
6	4,78	1,35	5,53	274,33	28,77
LSD	0,34	0,17	0,26	8,64	1,42

Sau 60 ngày nuôi cấy trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS bổ sung BA (0; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 mg/l), khả năng hình thành và sinh trưởng chồi cây *Anoectochilus roxburghii* được thể hiện ở bảng 3.4.2b. Kết quả trên bảng 89b cho thấy, BA có ảnh hưởng tích cực đến sự tái sinh chồi, tuy nhiên ở những nồng độ khác nhau thì có sự tái sinh chồi khác nhau. Chồi cây ở những môi trường có bổ sung chất kích thích sinh trưởng mọc nhiều lông hút, trong khi đó, chồi cây ở môi trường không có chất kích thích sinh trưởng thì không có. Trong đó, sự hình thành và sinh trưởng chồi cây tốt nhất trên môi trường MS bổ sung 2,5 mg/L BA, với 5 đốt/chồi, chiều cao chồi đạt 5,52 cm và mỗi đốt dài trung bình 1,2 cm; chồi phát triển có thân to tròn chắc, diện tích lá lớn và số lá mở là nhiều nhất. Nồng độ của BA tăng 0 - 2 mg/L thì sự hình thành chồi và sinh trưởng của chồi tăng lên, nhưng khi nồng độ BA tăng lên trên 3 mg/L thì sự hình thành chồi và sinh trưởng chồi cây giảm xuống. Điều này cho thấy, nồng độ BA từ 0 - 2 mg/L có tác dụng thúc đẩy sự phát triển của chồi, nhưng khi nồng độ BA tăng lên trên 3 mg/L sẽ có tác dụng kìm hãm sự phát triển chồi cây. BA là chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin có vai trò quan trọng trong phân chia tế bào và kích thích sự hình thành chồi. Bởi vậy, trong nuôi cấy mô tế bào thực vật BA thường được sử dụng trong giai đoạn nhân nhanh. So sánh với các kết quả đã công bố thì kết quả của thí nghiệm này khác với kết quả nghiên cứu khi nghiên cứu nhân giống *in vitro* loài *Anoectochilus formosaus*. Kết quả cho thấy, BA ở nồng độ 1 mg/l tái sinh chồi cao nhất là 5,10 chồi/mẫu. Kết quả này tương tự khi nghiên

cứu nhân giống *in vitro* loài *Anoectochilus setaceus*, khi BA ở nồng độ 1 mg/l thì tái sinh chồi nhiều nhất là 5,22 chồi/mẫu. Nồng độ của BA được sử dụng trong nhân giống *in vitro* ở những loại cây khác nhau là khác nhau, có loại cây thích hợp ở nồng độ thấp, có loại cây thích hợp ở nồng độ cao.

3.4.2.2.2. Ảnh hưởng của Kinetin (Kin) lên hệ số nhân chồi của đốt ngọn lan gấm *Anoectochilus roxburghii in vitro*

Bảng 3.4.2c. Ảnh hưởng của Kin đến khả năng tái sinh chồi sau 60 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức	Số đốt/mẫu cây	Chiều dài đốt (cm)	Chiều cao cây (cm)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)
1	2,11	0,82	3,13	293,63	24,87
2	3,30	0,95	3,42	246,87	23,23
3	4,33	0,98	4,70	239,07	21,13
4	4,89	1,26	4,97	282,10	27,83
5	4,78	1,10	4,70	271,13	25,73
6	3,67	0,89	4,47	279,27	25,43
LSD	0,50	0,14	0,3	6,89	3,14
CV	7,2	7,5	3,8	1,4	7,0

Kết quả ở bảng 3.4.2c cho thấy, KIN ảnh hưởng đến tỷ lệ tái sinh chồi và số chồi một cách rõ rệt. Sự tái sinh chồi tăng dần khi tăng nồng độ KIN từ 0,5 - 2,5 mg/L, đạt tối ưu ở nồng độ 2,0 mg/L KIN với số đốt chồi đạt 4,89 đốt/chồi, chiều dài đốt đạt 1,26 cm và chồi cao trung bình 4,97 cm; đặc biệt, hình thái chồi với lá xanh tốt, thân mập sau 2 tháng nuôi cấy. Tăng nồng độ KIN lên đến 3,0 mg/L thì khả năng tái sinh chồi (3,67 đốt/chồi), chiều dài trung bình mỗi đốt đạt (0,89 cm) chiều cao chồi trung bình (4,97 cm) giảm. Trọng lượng khô và trọng lượng tươi không có sự khác biệt rõ rệt so với nghiệm thức khác. Kết quả nghiên cứu này cho thấy việc bổ sung nồng độ KIN quá cao vào môi trường nuôi cấy ảnh hưởng đến sự nhân chồi lan gấm. Như vậy, mẫu cây có nguồn gốc từ đốt thân được nuôi cấy trên môi trường có bổ sung 2,0 mg/L KIN là thích hợp cho sự tái sinh chồi lan *Anoectochilus roxburghii*.

3.4.2.2.3. Ảnh hưởng của dịch chiết củ, quả lên hệ số nhân chồi của đốt ngọn

Cấy vào mỗi bình thí nghiệm 3 đốt thân đưa vào nuôi cấy trên nền môi trường MS có bổ sung các dịch chiết (khoai tây, chuối, cà rốt) qua đó xác định được ảnh hưởng của các chất bổ sung này đến sự hình thành và sinh trưởng chồi cây. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.4.2d.

Kết quả thu được cho thấy, đối với môi trường bổ sung dịch chiết sự hình thành và phát triển chồi cây tốt hơn môi trường không bổ sung dịch chiết. Các dịch chiết chuối, khoai tây, khoai sọ có chứa niacin và một số vitamin; kích thích sự nảy mầm và sinh trưởng của cây lan. Trong nghiên cứu này, khi bổ sung riêng lẻ dịch chiết khoai tây, cà rốt vào môi trường nuôi cấy chồi cây sinh trưởng tốt nhất trên môi trường MS bổ sung 100 g /lít chuối vào môi trường cho số đốt/mẫu cây nhiều nhất (5,78 đốt/mẫu cây), chiều cao chồi đạt 5,62 cm/chồi và chồi có màu xanh đậm. Như vậy, môi trường MS bổ sung 100 g chuối/lít môi trường là tối ưu sinh trưởng chồi cây *Anoectochilus roxburghii in vitro*.

Bảng 3.4.2d. Ảnh hưởng của dịch chiết củ, quả lên sự hình thành và sinh trưởng chồi cây

Nghiệm thức	Số đốt/mẫu cây	Chiều dài đốt (cm)	Chiều cao cây (cm)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)
1	2,11	0,82	3,13	293,6	24,87
2	4,56	1,2	5,18	281,67	29,07
3	5,78	1,5	5,62	298,77	33,67
4	3,67	0,93	4,6	285,03	24,87
LSD %	0,53	0,1	0,16	7,52	2,17
CV%	6,6	4,5	1,8	1,3	3,9

3.4.2.2.3. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tái sinh rễ *in vitro*.

Rễ đóng vai trò hấp thu nước và chất dinh dưỡng từ môi trường nuôi cấy đưa lên lá để tiến hành quá trình quang hợp và tổng hợp các chất hữu cơ. Do đó, số lượng và chất lượng rễ ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất cây trồng. Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật Auxin thường được sử dụng nhằm kích thích sự phân chia tế bào và hình thành rễ. Bên cạnh đó mỗi loại cây thích hợp với một nồng độ auxin khác nhau. Trong thí nghiệm này chúng tôi tiến hành khảo sát ảnh hưởng của NAA ở các nồng độ khác nhau lên sự hình thành và phát triển rễ Lan gấm *Anoectochilus roxburghii*. Kết quả sau 60 ngày nuôi cấy được thể hiện ở bảng 3.4.2e.

Kết quả sau 60 ngày nuôi cấy cho thấy ở các nồng độ NAA khác nhau sẽ ảnh hưởng đến khả năng hình thành rễ của mẫu cấy. Các mẫu đều ra rễ nhưng tỷ lệ ra rễ khác nhau giữa các nghiệm thức có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng với nghiệm thức đối chứng. Khi bổ sung chất điều hòa sinh trưởng NAA vào môi trường nuôi cấy sẽ rút ngắn được thời gian tạo rễ và rễ phát triển đồng đều hơn, tỷ lệ ra rễ đều đạt trên 90%. Ở

thực nghiệm thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng tỷ lệ chồi ra rễ thấp chỉ đạt 88.83 %, số rễ trung bình/ mẫu cây là 1.33 và chiều dài rễ trung bình chỉ đạt 1.13 cm, rễ mảnh, yếu. Khi bổ sung NAA ở các nồng độ 0,5 g/l thì tỷ lệ mẫu ra rễ 95.67 %, số rễ trung bình/ mẫu là 2.22 và chiều dài rễ là 1.9 cm. Khi nồng độ NAA tăng 1 g/l thì các chỉ tiêu theo dõi tỷ lệ ra rễ, số rễ/mẫu cây và chiều dài rễ đạt mức cao nhất lần lượt là 99.67 %, 3.56 rễ/mẫu cây và 2.42 cm.

Bảng 3.4.2e. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tái sinh rễ *in vitro*

Auxin	Nồng độ	Tỷ lệ ra rễ %	Số rễ/mẫu cây	Chiều dài rễ (cm)
	0,0	88,33	1,33	1,13
NAA	0,5	95,67	2,22	1,90
	1	99,67	3,56	2,42
	1,5	98,00	3,22	2,20
	2	95,67	2,78	1,63
	3	92,33	2,00	1,03
LSD %			0,4	0,21
CV%			8,9	6,9

Tuy nhiên, khi nồng độ NAA tăng 1.5; 2 và 3 thì các chỉ tiêu theo dõi lại giảm xuống. Cây *in vitro* trên môi trường bổ sung 1,5 và 2 mg/l NAA sinh trưởng tốt, nhưng ở môi trường 3 mg/l sinh trưởng kém, có màu xanh nhạt và yếu không thích hợp khi chuyển cây ra điều kiện *ex vitro*.

Kết quả của thí nghiệm này tương đương với kết quả nghiên cứu tạo rễ *in vitro* loài *Anoectochilus formosaus*, đã cho thấy, tất cả chồi cây ở môi trường không có chất kích thích sinh trưởng đều tái sinh rễ 100%, với số rễ 2,00 rễ/mẫu, khi NAA ở nồng độ 1 mg/l thì số rễ tái sinh nhiều nhất, với số rễ 4,80 rễ/mẫu. Tương tự khi nghiên cứu tái sinh rễ *in vitro* loài *Anoectochilus setaceus*, kết quả cho thấy, tất cả mẫu ở môi trường không có chất kích thích sinh trưởng cũng đều tái sinh rễ 100%, khi môi trường bổ sung 1 mg/l NAA thì số rễ tái sinh nhiều nhất, với 4,21 rễ/mẫu

Như vậy, nồng độ NAA từ 1 – 2 mg/l đều phù hợp sự tái sinh rễ *in vitro* loài *Anoectochilus roxburghii*.

3.4.2.2.4. Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống và chất lượng cây con loài *Anoectochilus roxburghii*.

Khả năng thích nghi và sinh trưởng của cây cấy mô *Anoectochilus roxburghii* ở giai đoạn vườn ươm sau 30 ngày trồng và chăm sóc trên giá thể xơ dừa, dớn xay, 1/2 dớn xay phối trộn 1/2 xơ dừa được thể hiện trên bảng 3.4.2f.

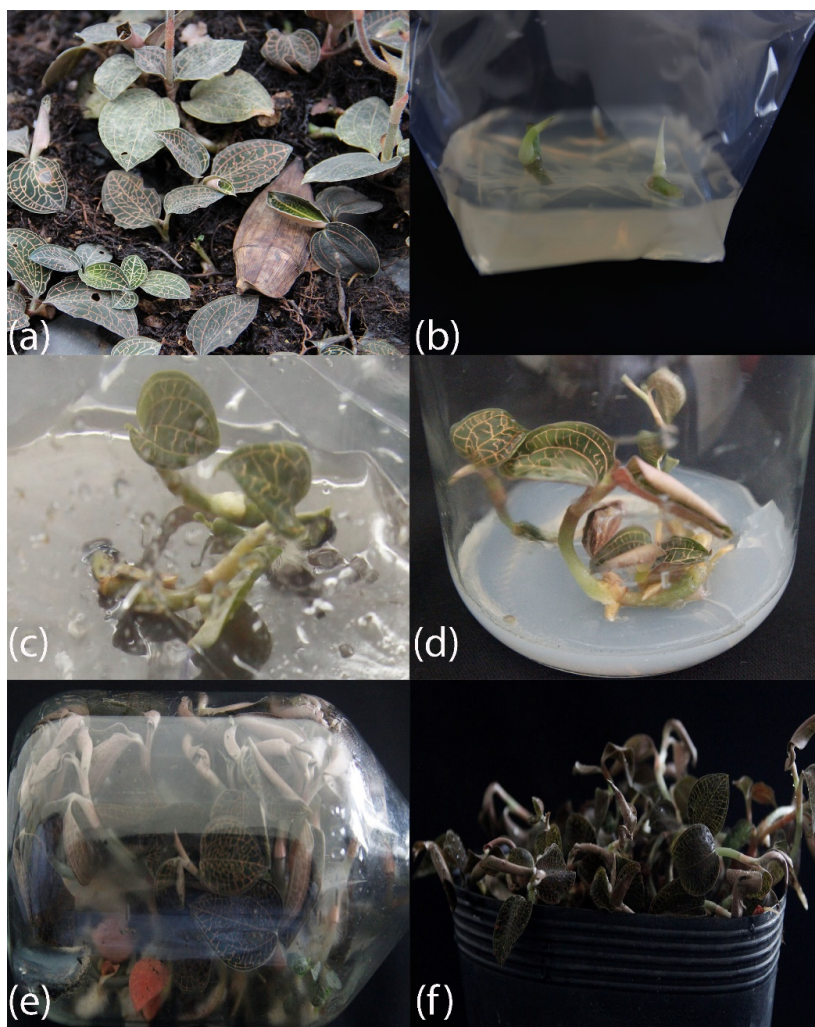
Bảng 3.4.2f. Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống và chất lượng cây con

Giá thể	Tỷ lệ sống (%)	Đặc điểm cây con
Xơ dừa	100	Rễ dài 2,4 -3,2 cm, có rất nhiều lông hút, rễ trắng, mập; cây cao 4,5 - 5,2 cm, mập; lá dày, xanh đậm.
dớn mùt	92,78	Rễ dài 2-2,6 cm, có rất nhiều lông hút, đầu rễ đui và có hiện tượng teo đi; lá dày, xanh non.
1/2 dớn mùt phối trộn 1/2 xơ dừa	94,33	Rễ dài 2,2-2,9 cm, có rất nhiều lông hút, đầu rễ trắng và một vài rễ hiện tượng teo đi; lá dày, xanh.

Qua kết quả trên bảng 3.4.2f cho thấy, các loại giá thể khác nhau cũng có ảnh hưởng khác nhau đến tỷ lệ sống của cây con. Trên giá thể bột xơ dừa, cây con có tỷ lệ sống cao nhất (100%) lá dày màu xanh đậm, rễ dài 2,4 -3,2 cm, có rất nhiều lông hút, rễ trắng, mập; cây cao 4,5 - 5,2 cm, mập. Trên giá thể dớn xay, 1/2 dớn xay kết hợp 1/2 xơ dừa có tỉ lệ sống của lan con là thấp hơn. Mặc dù có độ thông thoáng khí cao nhưng đi cùng với nó là khả năng giữ nước kém hơn giá thể xơ dừa. Dớn mùt có khả năng giữ nước và tạo độ thông thoáng tốt. Tuy nhiên, do thời tiết ở Đà Lạt thấp đặc biệt là vào ban đêm dễ làm các đầu rễ đui đi và bộ rễ teo dần làm cây không thể hấp thu chất dinh dưỡng từ môi trường. Mặt khác, giá thể dớn làm acid hóa môi trường, độ pH thấp là nguyên nhân hạn chế sự hấp thu nước và muối khoáng của cây kết quả là cây phát triển ẻo uột.

Giá thể xơ dừa là một loại nguyên liệu rẻ tiền, thông dụng và dễ dàng sử dụng. Loại giá thể có khả năng giữ nước tạo độ ẩm cao, độ thông thoáng khá tốt thích hợp cho loài lan ưa ẩm như lan gấm. Trong quá trình nuôi trồng, các lông hút của rễ lan gấm liên kết chặt với giá thể xơ dừa giúp cây dễ dàng hấp thu được các chất khoáng từ giá thể và phân bón. Giá thể xơ dừa ảnh hưởng đến khả năng gia tăng chiều cao và gia tăng trọng lượng tươi của cây. Lá của cây lan gấm xòe rộng, thân cây to tròn, chắc khỏe.

Giá thể xơ dừa là giá thể thích hợp cho cây lan Gấm *Anoectochilus roxburghii* sinh trưởng và phát triển trong điều kiện *ex vitro*.



Hình 106. Nhân giống *in vitro* *Anoectochilus roxburghii* a. Cây *Anoectochilus roxburghii*; b. chồi *in vitro*; c. tạo chồi khi bổ sung 100mg/l Chuối; d. tạo chồi khi bổ sung 2,5 mg/l BA; e. cây con *in vitro* khi bổ sung 1 mg/l NAA; h. Cây con ngoài vườn ươm sau 1 tháng

Kết luận:

Đã xây dựng thành công quy trình kỹ thuật nhân giống Lan kim tuyến (*Anoectochilus roxburghii*) bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* với một số thông số sau: Đoạn thân được khử trùng bằng Sử dụng Streptomycine 2‰ 5 phút + HgCl₂ 1‰ (vài giọt Tween 80) 8 phút. Môi trường cơ bản MS bổ sung 100ml/l dịch chiết Chuối hoặc môi trường MS bổ sung 2,5 mg/l BA hay môi trường MS bổ sung 2 mg/l KIN đều là môi trường thích hợp cho sự sinh trưởng, phát triển của chồi lan Gấm *Anoectochilus roxburghii in vitro*. Môi trường thích hợp cho sự tạo rễ *in vitro* là: MS bổ sung 1 - 2 mg/L NAA. Giá thể thích hợp chuyển cây con *in vitro* ra ngoài vườn ươm là xơ dừa.

3.5. NGHIÊN CỨU TẠO THỰC PHẨM CHỨC NĂNG

Từ các kết quả nghiên cứu ở các nội dung ở trên, đề tài đã lựa chọn 3 loài dược liệu để tiếp tục nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng:

- Đẳng sâm (*Codonopsis javanica*).
- Sâm cau (*Curculigo orchioides*).
- Đương quy (*Angelica acutiloba*).

Các quá trình nghiên cứu phát triển sản phẩm và xây dựng các quy trình sản xuất thử được tiến hành tại Công ty cổ phần Dược S.P.M.

3.5.1. Nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng viên nang mềm Đẳng sâm TN

Đẳng sâm nam còn có tên gọi khác như Sâm leo, Dùi gà, Sâm dây, tên khoa học là *Codonopsis javanica* (Blume) Hook f. (họ Campanulaceae), phân bố chủ yếu ở các tỉnh Sơn La, Lai Châu, Hà Giang, Cao Bằng, Lạng Sơn, Hoà Bình, Kontum, Lâm Đồng. Cũng thường được trồng lấy củ làm thuốc, gieo trồng bằng hạt vào mùa xuân. Sau 3 năm có thu hoạch. Đẳng sâm có vị ngọt, tính bình; có tác dụng bổ tỳ vị, ích khí, sinh tân dịch, giải khát. Quả Đẳng sâm ăn được, rễ củ có thể ăn sống. Ngọn và lá non có thể dùng xào hay nấu canh ăn. Củ thường được dùng làm thuốc như Đẳng sâm Trung Quốc để chữa cơ thể suy nhược, mỗi một ăn không ngon, đại tiện lỏng, phế hư, phiền khát, thiếu máu, vàng da, bệnh bạch huyết, viêm thượng thận, nước tiểu có albumin, chân phù đau. Còn dùng làm thuốc bổ dạ dày, chữa ho, tiêu đờm, lợi tiểu. Liều dùng 6-12g cho tới 20-40g, dạng thuốc sắc, viên hoàn hay bột. Thường phối hợp với các vị thuốc bổ khác.

Từ những công dụng trên cùng với các kết quả nghiên cứu hóa học đã xác định trong rễ củ đẳng sâm có chứa các hợp chất có giá trị như codojavanoside A-C, (3R,6E,10S)-2,6,10-trimethyl-3-hydroxydodeca-6,11-diene-2,10-diol, (E)-2-hexenyl-O-β-D-glucopyranoside, oct-1-en-3-ol O-α-L-arabinopyranosyl-(1"→6')-O-β-D-glucopyranoside, (Z)-3-hexenyl O-α-L-arabinopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside, tangshenoside I, tangshenoside II, tangshenoside V, tangshenoside VI, corchoionoside C, codojavanyol, codobenzylside, (2E,8E)-9-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)nona-2,8-diene-4,6-diyl-1-ol, lobetyol, lobetyolin, lobetyolinin, cordifolioidyne B, benzyl-α-L-arabinopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside, (Z)-8-β-Dglucopyranosyl-oxycinnamic acid, syringin, syringaresinol, tryptophan, chúng tôi nhận thấy đẳng sâm rất có tiềm năng để nghiên cứu sản xuất thành dạng bào chế đăng ký là thực phẩm chức năng hoặc dược

phẩm, góp phần đưa các sản phẩm điều trị có hiệu quả và an toàn từ dược liệu ra thị trường.

Việc nghiên cứu, xây dựng công thức và quy trình sản xuất sản phẩm thử được thực hiện, chúng tôi lựa chọn dạng bào chế là viên nang mềm do đây là dạng bào chế cho khả năng tan rã và phóng thích các thành phần trong nang nhanh, sinh khả dụng cao, là dạng viên uống phân liều nên đơn giản, thuận tiện trong đóng gói, bảo quản, vận chuyển, dễ sử dụng.

Kết quả nghiên cứu phát triển sản phẩm mẫu và xây dựng quy trình sản xuất thử được trình bày như sau:

3.5.1.1. Xử lý nguyên liệu đảng sâm

a. Loại tạp, rửa:

- Tiến hành loại tạp bản.
- Rửa sạch nguyên liệu, để ráo.
- Cắt, băm nhỏ với kích thước <1cm.

b. Chiết, tạo cao chiết

Chiết nguyên liệu với cồn 95%. Lọc, cô loại dung môi còn đến cao chiết (độ ẩm <10%).

3.5.1.2. Quy trình bào chế

3.5.1.2.1. Công thức vỏ nang:

Vỏ nang được tạo theo phương pháp 2.5.1.1.

3.5.1.2.2. Công thức - quy trình pha dịch thuốc

STT	Nguyên liệu	Số lượng (mg/ viên)	Chức năng
1	Dầu cọ	100	Tá dược độn
2	Dầu nành	350	Tá dược độn
3	Lecithin	80	Chất nhũ hóa
4	Cremophor RH40	20	Chất nhũ hóa
5	Magie oxid	60	Tá dược phân tán
6	Metyl paraben	1,2	Tá dược bảo quản
7	Propyl paraben	0,2	Tá dược bảo quản
8	Aerosil	15	Tá dược tạo độ đặc
9	Cao đảng sâm	100	Hoạt chất
Khối lượng dịch thuốc: 726 mg/viên			

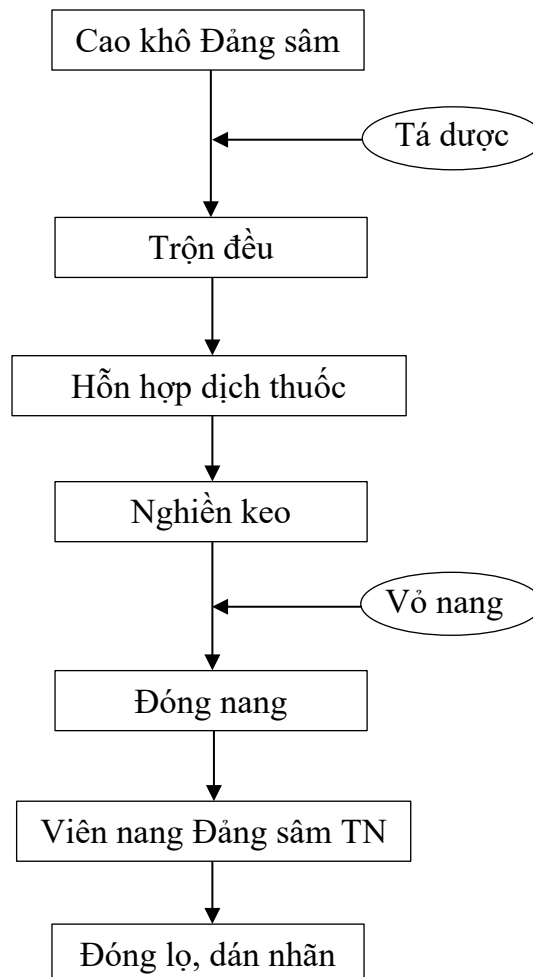
Quy trình:

- Đun dầu cọ cho chảy hoàn toàn, cho dầu nành và lecithin, cremophor RH 40 vào khuấy đều.
- Cho magie oxid, metyl paraben, propyl paraben vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp aerosil vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp cao đẳng sâm vào khuấy để phân tán đều.
- Tiến hành nghiền keo hỗn hợp dịch thuốc để đạt cảm quan kích thước hạt mịn, đều.

3.5.1.2.3. Quy trình đóng nang

Thực hiện theo phương pháp 2.5.1.3.

Quy trình bào chế viên nang mềm Đảng sâm TN được mô tả theo sơ đồ sau:



Hình 107a. Sơ đồ các giai đoạn bào chế viên nang mềm Đảng sâm TN

3.5.1.3. Kiểm tra chất lượng sản phẩm mẫu

Sản phẩm Viên nang mềm đẳng sâm TN sau khi đóng gói được kiểm tra chất lượng với các chỉ tiêu:

- Hình thức: Hộp 3 vi, hộp 5 vi, hộp 10 vi, vi 10 viên. Hộp 1 chai, chai 50 viên, chai 100 viên.

- Tính chất: Viên nang mềm, chứa dịch thuốc màu nâu, mùi thơm dược liệu

- Độ đồng đều khối lượng : $\pm 5,0 \%$ so với KLTB bột thuốc trong nang

- Độ rã: Không quá 30 phút

- Định tính: Phải thể hiện phép thử định tính của Đẳng sâm Việt Nam

- Định lượng: Không ít hơn 0,1 mg lobetyolin ($C_{20}H_{28}O_8$) tính theo khối lượng trung bình dịch thuốc trong nang.

- Độ nhiễm khuẩn:

+ Tổng số vi khuẩn hiếu khí: Không quá 10.000 cfu/g

+ Tổng số nấm mốc: Không quá 100 cfu/g

+ Tổng số vi khuẩn gram âm: Không quá 100 cfu/g

+ Các vi khuẩn gây bệnh: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*: Không được có.

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi đã xây dựng quy trình sản xuất hoàn chỉnh cho sản phẩm mẫu viên nang mềm đẳng sâm TN, đáp ứng các chỉ tiêu chất lượng yêu cầu về hình thức, độ ẩm, độ đồng đều khối lượng, định tính, độ nhiễm khuẩn.

Như vậy, việc sản xuất viên nang mềm đẳng sâm TN hoàn toàn có khả năng thực hiện ở quy mô công nghiệp, sản phẩm có thể đăng ký là thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm có công dụng hỗ trợ điều trị.





Hình 107b. Thực phẩm chức năng đăng sâm TN

3.5.2. Nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng viên nang mềm Sâm cau TN

Sâm cau còn có tên gọi khác như Cò nóc lan, ngải cau, nam sáng ton, sọng ca, thài léng, tiên mao, tên khoa học là *Curculigo orchoides Gaertn.* (họ Hypoxidaceae), phân bố chủ yếu ở các tỉnh Lai Châu, Cao Bằng, Tuyên Quang, các tỉnh Tây Nguyên. Sâm cau thường được dùng bởi các thầy lang với tên gọi Tiên mao, Tam lăng. Tại các vùng đồng bào dân tộc miền núi có bài thuốc ngâm Sâm cau với rượu để trị các trường hợp vô sinh, khó thụ thai và để chống lại cái lạnh giá của núi rừng cũng như làm thuốc tăng lực cho người mệt mỏi. Sâm cau, có vị cay, tính ấm, quy vào 2 kinh tỳ và thận, làm tăng cái nóng, làm hết cái lạnh, cường dương, mạnh gân cốt.

Từ những công dụng trên cùng với các kết quả nghiên cứu hóa học đã xác định trong rễ củ sâm cau có chứa các hợp chất có giá trị như Orcinol, glyceryl monosterate, curculigoside, 2,6-dimethoxy benzoic acid, methyl 2,4-dihydroxybenzoate, curculigoside C, orcinol glucoside, (+)-episyringaresinol..., chúng tôi nhận thấy sâm cau rất có tiềm năng để nghiên cứu sản xuất thành dạng bào chế đăng ký là thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm, góp phần đưa các sản phẩm điều trị có hiệu quả và an toàn từ dược liệu ra thị trường.

Việc nghiên cứu, xây dựng công thức và quy trình sản xuất sản phẩm thử được thực hiện, chúng tôi lựa chọn dạng bào chế là viên nang mềm do đây là dạng bào chế cho khả năng tan rã và phóng thích các thành phần trong nang nhanh, sinh khả dụng cao, là dạng viên uống phân liều nên đơn giản, thuận tiện trong đóng gói, bảo quản, vận chuyển, dễ sử dụng.

Kết quả nghiên cứu phát triển sản phẩm mẫu và xây dựng quy trình sản xuất thử được trình bày như sau:

3.5.2.1. Xử lý nguyên liệu sâm cau

a. Loại tạp, rửa:

- Tiến hành loại tạp bản.
- Rửa sạch nguyên liệu, để ráo.
- Cắt, băm nhỏ với kích thước <1cm.

b. Chiết, tạo cao chiết

Chiết nguyên liệu với cồn 95%. Lọc, cô loại dung môi còn đến cao chiết (độ ẩm <10%).

3.5.2.2. Quy trình bào chế

3.5.2.2.1. Công thức vỏ nang

Thực hiện theo phương pháp 2.5.1.1.

3.5.2.2.2. Công thức - quy trình pha dịch thuốc

Công thức

STT	Nguyên liệu	Số lượng (mg/ viên)	Chức năng
1	Dầu cọ	100	Tá dược độn
2	Dầu nành	400	Tá dược độn
3	Lecithin	60	Chất nhũ hóa
4	Magie oxid	60	Tá dược phân tán
5	Metyl paraben	1,2	Tá dược bảo quản
6	Propyl paraben	0,2	Tá dược bảo quản
7	Cao sâm cau	100	Hoạt chất
8	Aerosil	10	Tá dược tạo độ đặc
Khối lượng dịch thuốc: 731 mg/viên			

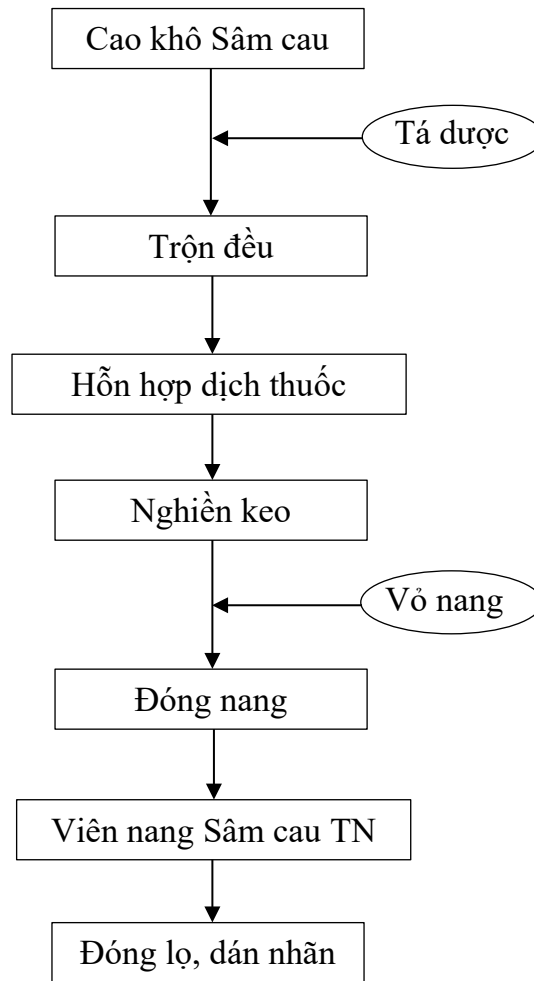
Quy trình:

- Đun dầu cọ cho chảy hoàn toàn, cho dầu nành và lecithin vào khuấy đều.
- Cho magie oxid, metyl paraben, propyl paraben vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp cao sâm cau vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp aerosil vào khuấy để phân tán đều.
- Tiến hành nghiền keo hỗn hợp dịch thuốc để đạt cảm quan kích thước hạt mịn, đều.

3.5.2.2.3. Quy trình đóng nang

Thực hiện theo phương pháp 2.5.1.3.

Quy trình bào chế viên nang mềm Sâm cau TN được mô tả theo sơ đồ sau:



Hình 108a. Sơ đồ các giai đoạn bào chế viên nang mềm Sâm cau TN

3.5.2.3. Kiểm tra chất lượng sản phẩm mẫu

Sản phẩm Viên nang mềm sâm cau TN sau khi đóng gói được kiểm tra chất lượng với các chỉ tiêu:

- Hình thức: Hộp 3 vỉ, hộp 5 vỉ, hộp 10 vỉ, vỉ 10 viên. Hộp 1 chai, chai 50 viên, chai 100 viên.
- Tính chất: Viên nang mềm, chứa dịch thuốc màu nâu, mùi thơm dược liệu
- Độ đồng đều khối lượng : $\pm 5,0 \%$ so với KLTB bột thuốc trong nang
- Độ rã: Không quá 30 phút
- Định tính: Phải thể hiện phép thử định tính của sâm cau

- Định lượng: Không ít hơn 10,0 µg curculigoside (C₂₂H₂₆O₁₁) tính theo khối lượng trung bình dịch thuốc trong nang.

- Độ nhiễm khuẩn:

+ Tổng số vi khuẩn hiếu khí: Không quá 10.000 cfu/g

+ Tổng số nấm mốc: Không quá 100 cfu/g

+ Tổng số vi khuẩn gram âm: Không quá 100 cfu/g

+ Các vi khuẩn gây bệnh: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*: Không được có.

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi đã xây dựng quy trình sản xuất hoàn chỉnh cho sản phẩm mẫu viên nang mềm sâm cau TN, đáp ứng các chỉ tiêu chất lượng yêu cầu về hình thức, độ ẩm, độ đồng đều khối lượng, định tính, độ nhiễm khuẩn.

Như vậy, việc sản xuất viên nang nang mềm sâm cau TN hoàn toàn có khả năng thực hiện ở quy mô công nghiệp, sản phẩm có thể đăng ký là thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm có công dụng hỗ trợ điều trị.



Hình 108b. Thực phẩm chức năng sâm cau TN

3.5.3. Nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng viên nang mềm Đương quy TN

Đương quy Nhật Bản có tên khoa học là *Angelica acutiloba* (Sieb. et. Zucc) Kitagawa (họ Hoa tán Apiaceae), trồng nhiều ở các tỉnh miền núi phía Bắc, các tỉnh Tây

Nguyên. Đương quy Nhật Bản được dùng bổ huyết, hành huyết, hoạt huyết, điều kinh, nhuận tràng, thông đại tiện. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, đau bụng khi thấy kinh, thất lưng đau, băng lậu, đại tiện khô táo, đi lỵ đau bụng.

Từ những công dụng trên cùng với các kết quả nghiên cứu hóa học đã xác định trong rễ củ đương quy có chứa các hợp chất có giá trị như tinh dầu, coumarin, polysacharid, acid amin, polyacetylen, sterol... tương tự như đương quy Trung Quốc, chúng tôi nhận thấy đương quy rất có tiềm năng để nghiên cứu sản xuất thành dạng bào chế đăng ký là thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm, góp phần đưa các sản phẩm điều trị có hiệu quả và an toàn từ dược liệu ra thị trường.

Việc nghiên cứu, xây dựng công thức và quy trình sản xuất sản phẩm thử được thực hiện, chúng tôi lựa chọn dạng bào chế là viên nang mềm do đây là dạng bào chế cho khả năng tan rã và phóng thích các thành phần trong nang nhanh, sinh khả dụng cao, là dạng viên uống phân liều nên đơn giản, thuận tiện trong đóng gói, bảo quản, vận chuyển, dễ sử dụng.

Kết quả nghiên cứu phát triển sản phẩm mẫu và xây dựng quy trình sản xuất thử được trình bày như sau:

3.5.3.1. Xử lý nguyên liệu đương quy

a. Loại tạp, rửa:

- Tiến hành loại tạp bản.
- Rửa sạch nguyên liệu, để ráo.
- Cắt, băm nhỏ với kích thước <1cm.

b. Chiết, tạo cao chiết

Chiết nguyên liệu với cồn 95%. Lọc, cô loại dung môi còn đến cao chiết (độ ẩm <10%).

3.5.3.2. Quy trình bào chế

3.5.3.2.1. Công thức vỏ nang

Thực hiện theo phương pháp 2.5.1.1.

3.5.3.2.2. Công thức - quy trình pha dịch thuốc

Công thức

STT	Nguyên liệu	Số lượng (mg/ viên)	Chức năng
1	Dầu cọ	100	Tá dược độn

2	Dầu nành	340	Tá dược độn
3	Lecithin	60	Chất nhũ hóa
4	Cremophor RH40	40	Chất nhũ hóa
5	Magie oxid	60	Tá dược phân tán
6	Metyl paraben	1,2	Tá dược bảo quản
7	Propyl paraben	0,2	Tá dược bảo quản
8	Aerosil	10	Tá dược tạo độ đặc
9	Cao đương quy	100	Hoạt chất
Khối lượng dịch thuốc: 711 mg/viên			

Quy trình:

- Đun dầu cọ cho chảy hoàn toàn, cho dầu nành và lecithin, cremophor RH 40 vào khuấy đều.
- Cho magie oxid, metyl paraben, propyl paraben vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp aerosil vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp cao đương quy vào khuấy để phân tán đều.
- Tiến hành nghiền keo hỗn hợp dịch thuốc để đạt cảm quan kích thước hạt mịn, đều.

3.5.3.2.3 Quy trình đóng nang

Thực hiện theo phương pháp 2.5.1.3.

Quy trình bào chế viên nang mềm Sâm cau TN được mô tả theo sơ đồ trong hình 101e.

3.5.3.3. Kiểm tra chất lượng sản phẩm mẫu

Sản phẩm Viên nang mềm đương quy TN sau khi đóng gói được kiểm tra chất lượng với các chỉ tiêu:

- Hình thức: Hộp 3 vỉ, hộp 5 vỉ, hộp 10 vỉ, vỉ 10 viên. Hộp 1 chai, chai 50 viên, chai 100 viên.
- Tính chất: Viên nang mềm, chứa dịch thuốc màu nâu, mùi thơm dược liệu
- Độ đồng đều khối lượng : $\pm 5,0 \%$ so với KLTB bột thuốc trong nang
- Độ rã: Không quá 30 phút
- Định tính: Phải thể hiện phép thử định tính của Đương quy di thực
- Định lượng: Không ít hơn 5 μg Z-ligustilid tính theo khối lượng trung bình dịch thuốc trong nang.

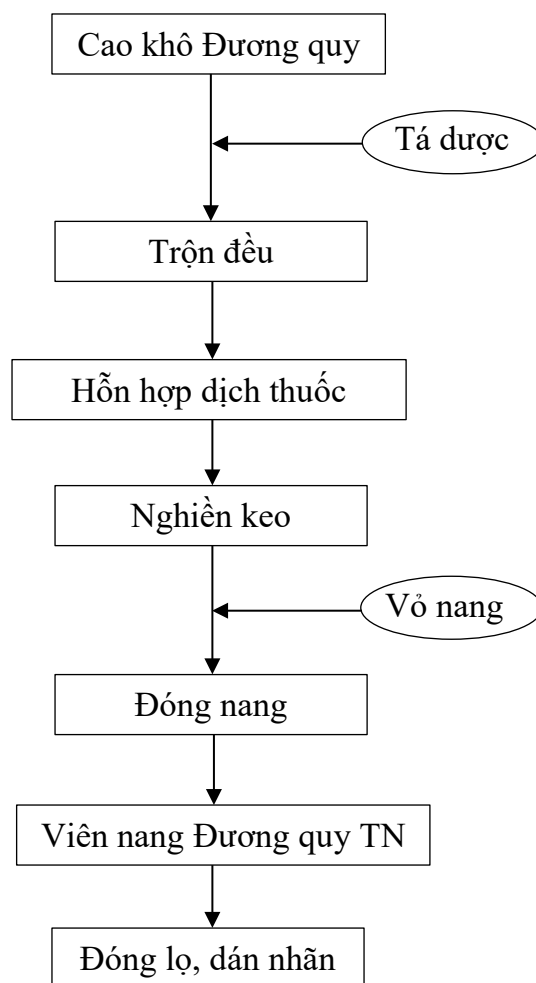
- Độ nhiễm khuẩn:

+ Tổng số vi khuẩn hiếu khí: Không quá 10.000 cfu/g

+ Tổng số nấm mốc: Không quá 100 cfu/g

+ Tổng số vi khuẩn gram âm: Không quá 100 cfu/g

+ Các vi khuẩn gây bệnh: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*: Không được có.



Hình 109a. Sơ đồ các giai đoạn bào chế viên nang mềm Đương quy TN

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi đã xây dựng quy trình sản xuất hoàn chỉnh cho sản phẩm mẫu viên nang mềm đương quy TN, đáp ứng các chỉ tiêu chất lượng yêu cầu về hình thức, độ ẩm, độ đồng đều khối lượng, định tính, độ nhiễm khuẩn.

Như vậy, việc sản xuất viên nang nang mềm đương quy TN hoàn toàn có khả năng thực hiện ở quy mô công nghiệp, sản phẩm có thể đăng ký là thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm có công dụng hỗ trợ điều trị.



Hình 109b. Thực phẩm chức năng đương quy TN

3.5.4. Nghiên cứu tạo thực phẩm chức năng viên nang mềm Đẳng sâm – Sâm cau TN

Phối hợp dược tính của 2 loại dược liệu là Đẳng sâm và Sâm cau, chúng tôi nghiên cứu tạo ra viên nang mềm chứa hỗn hợp 2 cao chiết theo tỷ lệ 1:1.

Việc nghiên cứu, xây dựng công thức và quy trình sản xuất sản phẩm thử được thực hiện, chúng tôi lựa chọn dạng bào chế là viên nang mềm do đây là dạng bào chế cho khả năng tan rã và phóng thích các thành phần trong nang nhanh, sinh khả dụng cao, là dạng viên uống phân liều nên đơn giản, thuận tiện trong đóng gói, bảo quản, vận chuyển, dễ sử dụng.

Kết quả nghiên cứu phát triển sản phẩm mẫu và xây dựng quy trình sản xuất thử được trình bày như sau:

3.5.4.1. Cao chiết đẳng sâm, sâm cau

Sử dụng cao chiết đẳng sâm tạo ra như trong mục 3.5.1.1 và 3.5.2.1 ở trên.

3.5.4.2. Quy trình bào chế

3.5.4.2.1. Công thức vỏ nang

Thực hiện theo phương pháp 2.5.1.1.

3.5.4.2.2. Công thức - quy trình pha dịch thuốc

Công thức

STT	Nguyên liệu	Số lượng (mg/ viên)	Chức năng
1	Dầu cọ	70	Tá dược độn
2	Dầu nành	324	Tá dược độn
3	Lecithin	80	Chất nhũ hóa
4	Cremophor RH40	20	Chất nhũ hóa
5	Magie oxid	60	Tá dược phân tán
6	Metyl paraben	1,2	Tá dược bảo quản
7	Propyl paraben	0,2	Tá dược bảo quản
8	Cao sâm cau	100	Hoạt chất
9	Aerosil	8	Tá dược tạo độ đặc
10	Cao đẳng sâm	100	Hoạt chất
Khối lượng dịch thuốc: 763 mg/viên			

Quy trình:

- Đun dầu cọ cho chảy hoàn toàn, cho dầu nành và lecithin, cremophor RH 40 vào khuấy đều.
- Cho magie oxid, metyl paraben, propyl paraben vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp cao sâm cau vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp aerosil vào khuấy để phân tán đều.
- Cho tiếp cao đẳng sâm vào khuấy để phân tán đều.
- Tiến hành nghiền keo hỗn hợp dịch thuốc để đạt cảm quan kích thước hạt mịn, đều.

3.5.4.2.3 Quy trình đóng nang

Thực hiện theo phương pháp 2.5.1.3.

Quy trình bào chế viên nang mềm Sâm cau TN được mô tả theo sơ đồ trong hình 101g.

3.5.4.3. Kiểm tra chất lượng sản phẩm mẫu

Sản phẩm Viên nang mềm đẳng sâm – sâm cau TN sau khi đóng gói được kiểm tra chất lượng với các chỉ tiêu:

- Hình thức: Hộp 3 vỉ, hộp 5 vỉ, hộp 10 vỉ, vỉ 10 viên. Hộp 1 chai, chai 50 viên, chai 100 viên.
- Tính chất: Viên nang mềm, chứa dịch thuốc màu nâu, mùi thơm dược liệu

- Độ đồng đều khối lượng : $\pm 5,0 \%$ so với KLTB bột thuốc trong nang
- Độ rã: Không quá 30 phút
- Định tính: Phải thể hiện phép thử định tính của Đảng sâm Việt Nam, Sâm cau
- Định lượng: Trong mỗi viên phải chứa:

+ Không ít hơn 0,1 mg lobetyolin ($C_{20}H_{28}O_8$)

+ Không ít hơn 0,01 mg curculigoside ($C_{22}H_{26}O_{11}$)

tính theo khối lượng trung bình dịch thuốc trong nang.

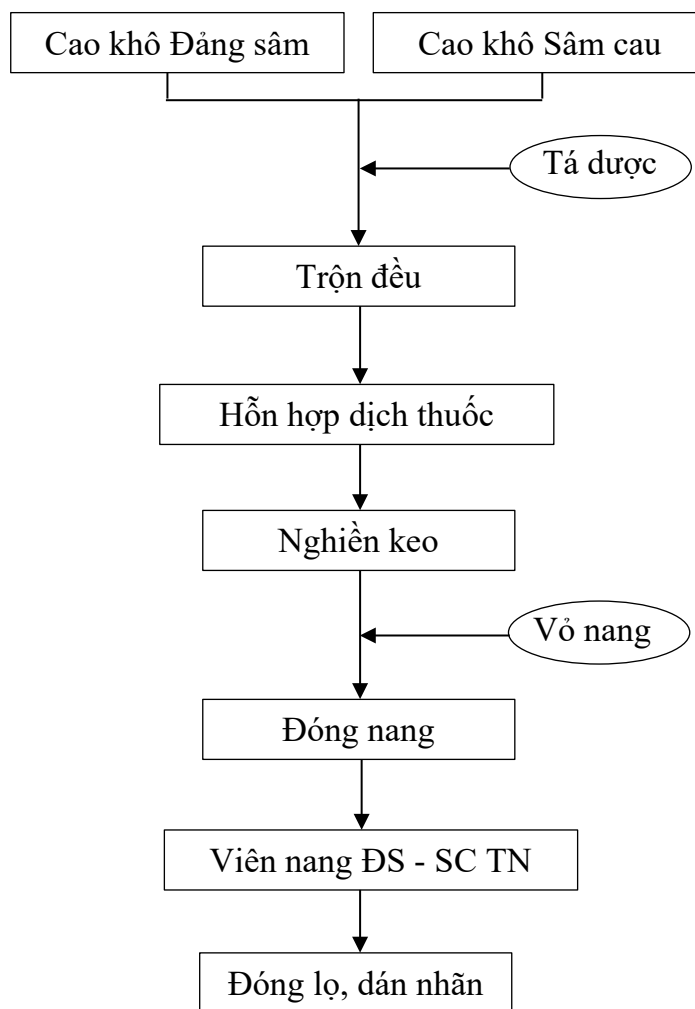
- Độ nhiễm khuẩn:

+ Tổng số vi khuẩn hiếu khí: Không quá 10.000 cfu/g

+ Tổng số nấm mốc: Không quá 100 cfu/g

+ Tổng số vi khuẩn gram âm: Không quá 100 cfu/g

+ Các vi khuẩn gây bệnh: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*: Không được có.



Hình 110a. Sơ đồ các giai đoạn bào chế viên nang mềm Đảng sâm – Sâm cau TN

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi đã xây dựng quy trình sản xuất hoàn chỉnh cho sản phẩm mẫu viên nang mềm đẳng sâm – sâm cau TN, đáp ứng các chỉ tiêu chất lượng yêu cầu về hình thức, độ ẩm, độ đồng đều khối lượng, định tính, độ nhiễm khuẩn.

Như vậy, việc sản xuất viên nang nang mềm đẳng sâm – sâm cau TN hoàn toàn có khả năng thực hiện ở quy mô công nghiệp, sản phẩm có thể đăng ký là thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm có công dụng hỗ trợ điều trị.



Hình 110b. Thực phẩm chức năng đẳng sâm – sâm cau TN

3.5.5. Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của 4 loại thực phẩm chức năng

3.5.5.1. Độc tính cấp đường uống của các mẫu thử nghiệm

Độc tính cấp đường uống của mỗi mẫu được khảo sát trên 10 chuột nhắt trắng (5 đực, 5 cái).

Viên ĐQ được phân tán trong nước cất ở nồng độ cao nhất có thể qua được kim cho chuột uống là 2 viên/ml; các mẫu viên ĐS, SC và SCDQ được phân tán trong nước cất ở nồng độ cao nhất có thể qua được kim cho chuột uống là 0,77 viên/ml. Sau khi cho uống với thể tích cho uống tối đa là 50 ml/kg, tương ứng với liều 100 viên/kg đối với viên ĐQ và 38,5 viên/kg đối với các mẫu viên ĐS, SC và SCDQ, chuột thử nghiệm không có dấu hiệu bất thường nào, di chuyển ăn uống bình thường. Trong 72 giờ quan

sát, không có chuột nào chết. Tiếp tục theo dõi chuột trong 14 ngày ở điều kiện chăm sóc bình thường, kết quả cho thấy không có chuột nào chết; chuột sống không có bất thường về hành vi, trạng thái lông, ăn uống, tiêu tiểu. Chuột sống đến cuối thử nghiệm được mổ, quan sát đại thể các cơ quan không thấy dấu hiệu bất thường. Kết quả được trình bày trong các bảng PL3.5.1a-PL3.5.1d.



Viên ĐQ

Viên ĐS

Viên SC

Viên SCDQ

Hình 111a. Hình ảnh đại thể chuột trong thử nghiệm độc tính cấp

Như vậy, không xác định được LD_{50} của viên ĐQ, ĐS, SC và SCDQ; các viên nang không thể hiện độc tính cấp đường uống với liều tối đa có thể cho uống qua kim (D_{max}) là 100 viên/kg đối với viên ĐQ và 38,5 viên/kg đối với viên ĐS, SC và SCDQ.

3.5.5.2. Độc tính bán trường diễn của các mẫu thử nghiệm

3.5.5.2.1. Ảnh hưởng lên tình trạng chung và sự thay đổi cân nặng của chuột

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở các lô đều sống, hoạt động, ăn uống bình thường, lông mượt, không có hiện tượng rụng lông hoặc khô cứng lông, mắt sáng, phân khô, nước tiểu bình thường.

Trọng lượng cơ thể của chuột trong quá trình thử nghiệm được trình bày ở Bảng PL3.5.2

Chuột sinh lý có trọng lượng cơ thể tăng đều trong thời gian thử nghiệm, trung bình tăng khoảng 1,5 g – 3,5 g mỗi tuần. Trọng lượng cơ thể của chuột được cho uống các mẫu thử nhìn chung đều tăng theo thời gian và khác biệt không đáng kể so với lô sinh lý ở cùng thời điểm khảo sát ($p > 0,05$), ngoại trừ lô chuột uống viên nang SCDQ liều 0,43 viên/kg có cân nặng trung bình vào ngày 7 và ngày 28 thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với chuột sinh lý ($p < 0,05$). Khi so sánh trong từng lô, tại một vài thời điểm thử nghiệm, trọng lượng cơ thể của chuột cái thấp hơn có ý nghĩa so với chuột đực cùng lô ($p < 0,05$), điều này có thể do khác biệt sinh lý tự nhiên giữa chuột đực và chuột cái.

Giữa hai liều thử nghiệm của cùng mẫu thử, sự khác biệt về trọng lượng không đáng kể ở phần lớn các thời điểm khảo sát ($p > 0,05$).

Nhìn chung, việc cho chuột uống viên nang ĐQ, ĐS, SC và SCDQ ở hai mức liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày hoặc 28 ngày liên tiếp không làm thay đổi thể trọng chuột thử nghiệm so với lô sinh lý.

3.5.5.2.2. Ảnh hưởng lên các thông số huyết học

Kết quả về các thông số huyết học được thể hiện qua Bảng PL3.5.3a và Bảng PL3.5.3b.

a. Viên nang ĐQ

Về số lượng bạch cầu, sau 14 ngày thử nghiệm, chỉ số WBC của cả hai lô uống viên ĐQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg thay đổi không đáng kể so với chuột sinh lý cùng thời điểm ($p > 0,05$). Sau 28 ngày, số lượng bạch cầu ở lô uống viên ĐQ liều 0,43 viên/kg thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý ($p < 0,05$); ở lô liều 0,86 viên/kg khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Phân tích riêng theo từng giới nhận thấy chuột đực uống viên ĐQ liều 0,86 viên/kg sau 14 ngày và ở cả hai mức liều thử nghiệm sau 28 ngày có WBC giảm đáng kể khi so với chuột đực sinh lý cùng thời điểm ($p < 0,05$). Phân tích sự khác biệt giữa hai giới trong cùng lô cho thấy chuột đực ở lô uống viên ĐQ liều 0,86 viên/kg trong 14 ngày có WBC thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với chuột cái cùng lô ($p < 0,05$).

Đối với các thông số về hồng cầu, sau 14 ngày, lô chuột uống viên ĐQ liều 0,43 viên/kg có hầu hết các thông số thay đổi không đáng kể so với chuột sinh lý ($p > 0,05$). Trong khi đó, lô chuột cho uống viên ĐQ liều 0,86 viên/kg có một vài chỉ số về hồng cầu giảm có ý nghĩa thống kê so với sinh lý gồm Hgb, HCT, MCV ($p < 0,05$); điều này thể hiện rõ trên chuột đực với sự giảm có ý nghĩa trên các chỉ số HGB, RBC, HCT, MCV, MCH khi so với chuột đực sinh lý ($p < 0,05$). Sau 28 ngày cho uống viên ĐQ liều 0,43 và 0,86 viên/kg, các thông số về hồng cầu khác biệt không có ý nghĩa so với lô sinh lý cho uống nước cất ($p > 0,05$). Giữa hai giới trong cùng lô, phần lớn các thông số khảo sát khác biệt không đáng kể ($p > 0,05$).

Số lượng tiểu cầu ở 2 lô cho viên ĐQ 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 và 28 ngày thay đổi không đáng kể so với lô sinh lý cùng thời điểm ($p > 0,05$). Kết quả phân

tích riêng theo giới cho thấy chuột cái ở lô uống viên ĐQ liều 0,86 viên/kg trong 14 ngày có PLT thấp hơn đáng kể so với chuột đực cùng lô ($p < 0,05$).

Khi so sánh giữa 2 liều thử nghiệm, một vài chỉ số như Hgb, HCT, MCV và MCH ở lô uống viên ĐQ liều 0,86 viên/kg trong 14 ngày thấp có ý nghĩa so với lô uống liều 0,43 viên/kg cùng thời điểm ($p < 0,05$), các chỉ số còn lại khác biệt không đáng kể.

Nhìn chung, việc cho chuột uống viên ĐQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 hoặc 28 ngày liên tiếp không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu của chuột thử nghiệm.

b. Viên nang ĐS

Sau 14 và 28 ngày cho chuột uống viên ĐS liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg, số lượng bạch cầu thay đổi không đáng kể với lô sinh lý cùng thời điểm ($p > 0,05$), đồng thời không có sự khác biệt đáng kể giữa chuột đực và chuột cái trong cùng lô ($p > 0,05$).

Đối với các thông số về hồng cầu, sau 14 ngày và 28 ngày cho chuột uống viên ĐS ở hai liều thử nghiệm, hầu hết các thông số về hồng cầu thay đổi không có ý nghĩa so với lô sinh lý cùng thời điểm ($p > 0,05$). So sánh giữa hai giới trong cùng lô, phần lớn các chỉ số khác biệt không đáng kể ($p > 0,05$), ngoại trừ Hgb, HCT và MCV ở chuột cái uống viên ĐS liều 0,43 viên/kg trong 14 ngày thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với chuột đực ($p < 0,05$).

Số lượng tiểu cầu ở lô cho uống viên ĐS ở hai liều thử nghiệm trong 14 ngày khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý ($p > 0,05$). Tuy nhiên, sau 28 ngày, lô uống viên ĐS liều 0,43 viên/kg có số lượng tiểu cầu tăng có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý cùng thời điểm ($p < 0,05$). Sự khác biệt về chỉ số PLT giữa chuột đực và chuột cái trong cùng lô không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Khi so sánh giữa hai mức liều thử nghiệm, các thông số về chức năng tạo máu đa phần không khác biệt đáng kể ($p > 0,05$).

Nhìn chung, việc cho chuột uống viên ĐS liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 hoặc 28 ngày liên tiếp không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu của chuột thử nghiệm.

c. Viên nang SC

Về số lượng bạch cầu, sau 14 ngày và 28 ngày thử nghiệm, lô viên SC liều 0,43 và 0,86 viên/kg có số lượng bạch cầu khác biệt không đáng kể so với lô sinh lý ($p > 0,05$).

Phân tích riêng theo giới cho thấy chuột đực thuộc lô SC liều 0,86 viên/kg trong 28 ngày có WBC thấp hơn có ý nghĩa so với chuột đực sinh lý cùng thời điểm ($p < 0,05$). Chỉ số WBC giữa hai giới trong cùng lô khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Về dòng hồng cầu, sau 14 ngày cho uống viên SC ở hai liều thử nghiệm, đa phần các thông số thay đổi không đáng kể so với lô sinh lý, trừ RBC ở chuột đực uống viên SC ở cả 2 mức liều đều giảm so với chuột đực sinh lý cùng thời điểm ($p < 0,05$). Sau 28 ngày, RBC tăng ở cả hai lô uống viên nang SC nhưng chỉ có ý nghĩa thống kê ở liều 0,43 viên/kg. Các chỉ số về hồng cầu khác nhìn chung thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý ($p > 0,05$). So sánh giữa chuột đực và chuột cái trong cùng lô, các chỉ số hồng cầu hầu hết đều khác biệt không đáng kể ($p > 0,05$), ngoại trừ RBC, MCV, MCHC có tăng nhẹ ở chuột cái được cho uống liều 0,43 viên/kg khi so với chuột đực cùng lô ($p < 0,05$).

Số lượng tiểu cầu ở hai lô chuột uống viên SC liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý cùng thời điểm, đồng thời sự khác biệt giữa chuột đực và chuột cái trong cùng lô thử nghiệm khác biệt không đáng kể ($p > 0,05$).

Khi so sánh hai mức liều thử nghiệm, các thông số về chức năng tạo máu đa phần không khác biệt đáng kể ($p > 0,05$).

Nhìn chung, việc cho chuột uống viên SC liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 hoặc 28 ngày liên tiếp không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu của chuột thử nghiệm.

d. Viên nang SCDQ

Sau 14 và 28 ngày cho chuột uống viên SCDQ liều 0,43 viên/kg, WBC thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với chuột sinh lý ($p < 0,05$), sự giảm thể hiện rõ rệt ở chuột đực; trong khi đó, lô uống viên SCDQ liều 0,86 viên/kg có WBC thay đổi không đáng kể so với lô sinh lý ($p > 0,05$). Phân tích giữa hai giới trong một lô thì sự khác biệt về WBC không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Đối với các thông số về hồng cầu, sau 14 ngày và 28 ngày cho chuột uống viên SCDQ ở hai liều thử nghiệm, hầu hết các thông số về hồng cầu thay đổi không đáng kể so với lô sinh lý cùng thời điểm ($p > 0,05$), ngoại trừ MCHC ở lô uống liều 0,86 viên/kg thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Khi phân tích riêng theo giới, một vài chỉ số

thay đổi so với sinh lý như: chuột đực uống liều 0,43 viên/kg trong 14 ngày có RBC giảm và MCH tăng, chuột đực uống liều 0,43 viên/kg trong 28 ngày có HCT và MCV tăng và chuột cái uống liều 0,43 viên/kg có PLT giảm có ý nghĩa thống kê so với chuột sinh lý cùng giới cùng thời điểm ($p < 0,05$). Giữa chuột đực và chuột cái trong cùng lô, hầu hết các thông số về hồng cầu khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Số lượng tiểu cầu ở lô cho uống viên SCĐQ ở hai liều thử nghiệm trong 14 và 28 ngày giảm nhưng không có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý ($p > 0,05$), riêng chuột cái được cho uống liều 0,43 viên/kg trong 28 ngày có PLT thấp hơn đáng kể so với chuột cái sinh lý cùng thời điểm ($p < 0,05$). So sánh trong cùng lô thử nghiệm, chuột cái thuộc lô SCĐS liều 0,86 viên/kg có PLT thấp hơn đáng kể so với chuột đực cùng lô ($p < 0,05$).

Khi so sánh giữa 2 lô dùng hai liều thử nghiệm, các thông số về chức năng tạo máu đa phần không khác biệt đáng kể ($p > 0,05$).

Nhìn chung, việc cho chuột uống viên SCĐQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 hoặc 28 ngày liên tiếp không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu của chuột thử nghiệm.

3.5.5.2.3. Ảnh hưởng lên chức năng gan

Kết quả khảo sát các thông số ALT và AST được trình bày ở Bảng 3.5.4a và Bảng 3.5.4b.

a. Viên ĐQ

Sau 14 ngày và 28 ngày cho chuột uống viên ĐQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg, các thông số chức năng gan (AST, ALT) thay đổi không đáng kể so với lô sinh lý cùng thời điểm ($p > 0,05$). Phân tích giữa 2 giới trong cùng lô thử nghiệm, AST của chuột cái ở cả lô sinh lý và lô uống viên ĐQ liều 0,86 viên/kg trong 14 ngày cao hơn có ý nghĩa thống kê so với chuột đực cùng lô ($p < 0,05$), do đó điều này có thể do sự khác biệt ngẫu nhiên sinh lý chuột. Giữa hai liều thử nghiệm, AST và ALT khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy, việc cho chuột uống viên ĐQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày liên tiếp không làm ảnh hưởng đến chức năng gan chuột.

b. Viên ĐS

Sau 14 ngày, lô chuột đực cho uống viên ĐS liều 0,43 và 0,86 viên/kg có AST và ALT thay đổi không đáng kể so với lô sinh lý và không có sự khác biệt có ý nghĩa

thống kê giữa hai giới trong cùng lô ($p > 0,05$). Sau 28 ngày, nhìn chung AST ở cả hai lô uống viên ĐS khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô sinh lý và khi so sánh giữa hai giới trong cùng lô ($p > 0,05$), ngoại trừ chuột cái uống liều 0,86 viên/kg có AST tăng đáng kể so với chuột cái sinh lý và so với chuột đực cùng lô ($p < 0,05$). Chỉ số ALT ở lô chuột uống liều 0,43 viên/kg giảm đáng kể ($p < 0,05$) trong khi ở liều 0,86 viên/kg thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với chuột sinh lý.

So sánh các thông số chức năng gan giữa 2 liều thử nghiệm nhận thấy lô chuột uống viên ĐS liều 0,86 viên/kg trong 28 ngày có ALT cao hơn đáng kể so với liều 0,43 viên/kg ($p < 0,05$).

Như vậy, việc cho chuột uống viên ĐS liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày liên tiếp không làm ảnh hưởng đến chức năng gan chuột.

c. Viên SC

Sau 14 ngày, lô chuột đực cho uống viên SC liều 0,43 viên/kg có AST và ALT thay đổi không đáng kể so với sinh lý ($p > 0,05$) trong khi liều 0,86 viên/kg làm nồng độ AST tăng cao có ý nghĩa thống kê, đặc biệt ở chuột đực ($p < 0,05$). Sau 28 ngày, các thông số chức năng gan thay đổi không đáng kể ở cả hai lô cho uống viên SC ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt đáng kể về các thông số chức năng gan giữa 2 giới trong cùng lô thử nghiệm và giữa hai mức liều thử nghiệm ($p > 0,05$).

Như vậy, việc cho chuột uống viên SC liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày liên tiếp không làm ảnh hưởng đến chức năng gan chuột.

d. Viên SCDQ

Sau 14 ngày, AST và ALT ở lô chuột đực cho uống viên SCDQ liều 0,43 viên/kg thay đổi không đáng kể so với sinh lý ($p > 0,05$) trong khi liều 0,86 viên/kg làm nồng độ AST tăng cao có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Sau 28 ngày, hai thông số chức năng gan ở hai lô chuột đực cho uống viên SCDQ thay đổi không đáng kể so với sinh lý cùng thời điểm ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt đáng kể về AST và ALT giữa 2 giới trong cùng lô và giữa hai liều thử nghiệm ($p > 0,05$).

Như vậy, việc cho chuột uống viên SCDQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày liên tiếp không làm ảnh hưởng đến chức năng gan chuột.

3.5.5.2.4. Ảnh hưởng lên chức năng thận

Kết quả về các thông số đánh giá chức năng thận được trình bày trong Bảng PL3.5.5a và PL3.5.5b.

a. Viên ĐQ

Sau 14 ngày cho chuột uống viên ĐQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg, các thông số urê và creatinin thay đổi không đáng kể so với lô sinh lý ($p > 0,05$). Phân tích riêng theo giới nhận thấy chuột cái uống viên ĐQ 0,86 viên/kg có nồng độ creatinin thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với chuột cái sinh lý cùng thời điểm ($p < 0,05$). So sánh giữa hai giới trong cùng lô cho kết quả urê và creatinin ở chuột cái thấp hơn chuột đực cùng lô ($p < 0,01$). Sau 28 ngày, chỉ số ure và creatinin ở hai lô uống viên ĐQ ở hai liều thử nghiệm đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với sinh lý ($p > 0,05$), riêng chuột đực uống liều 0,86 viên/kg có creatinin thấp hơn đáng kể so với chuột đực sinh lý ($p < 0,05$). Hầu như không có sự khác biệt đáng kể về hai chỉ số chức năng thận giữa chuột đực và cái trong cùng lô, ngoại trừ chuột cái ở lô ĐQ liều 0,43 viên/kg có creatinin cao hơn chuột đực cùng lô ($p < 0,05$).

So sánh giữa hai mức liều thử nghiệm, sau 14 ngày, hai chỉ số ure và creatinin khác biệt không đáng kể; sau 28 ngày, chỉ số urê giữa hai lô tương đương nhau trong khi creatinine ở lô liều 0,86 viên/kg thấp hơn đáng kể so với lô liều 0,43 viên/kg ($p < 0,05$).

Như vậy, việc cho chuột uống viên ĐQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày liên tiếp không làm ảnh hưởng đến chức năng thận chuột.

b. Viên ĐS

Sau 14 ngày, lô chuột đực cho uống viên ĐS ở hai liều thử nghiệm 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg có ure và creatinin thay đổi không đáng kể so với lô sinh lý ($p > 0,05$). So sánh giữa chuột đực và chuột cái trong cùng lô, hai chỉ số chức năng thận khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Sau 28 ngày, chỉ số ure ở hai lô uống viên ĐS khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với sinh lý, ngoại trừ chuột cái uống liều 0,86 viên/kg có urê giảm rõ rệt so với chuột cái sinh lý ($p < 0,05$). Chỉ số creatinin ở lô chuột uống viên ĐS liều 0,43 viên/kg khác biệt không đáng kể trong khi chỉ số này tăng có ý nghĩa so với lô sinh lý ở liều 0,86 viên/kg ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt đáng kể về các thông số chức năng thận giữa 2 giới trong cùng lô thử nghiệm ($p > 0,05$), ngoại trừ chuột cái lô ĐS 0,86 viên/kg có urê giảm có ý nghĩa thống kê so với chuột đực ($p < 0,01$).

Nhìn chung, không có sự khác biệt về ure và creatinin giữa hai lô chuột uống hai mức liều thử nghiệm của viên ĐS ($p > 0,05$).

Như vậy, việc cho chuột uống viên ĐS liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày liên tiếp không làm ảnh hưởng đến chức năng thận chuột.

c. Viên SC

Sau 14 và 28 ngày, lô chuột được cho uống viên SC liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg có ure và creatinin thay đổi không đáng kể so với sinh lý ($p > 0,05$). Phân tích riêng theo giới cho thấy chuột cái uống liều 0,43 viên/kg trong 14 ngày có creatinin tăng có ý nghĩa thống kê so với chuột cái sinh lý cùng lô. So sánh trong cùng lô cho kết quả ure ở chuột cái thuộc lô SC 0,86 viên/kg trong 14 ngày giảm và ure ở chuột cái lô uống SC 0,43 viên/kg trong 28 ngày tăng có ý nghĩa thống kê khi so với chuột đực cùng lô ($p < 0,05$).

Không có sự khác biệt đáng kể về các thông số chức năng thận giữa 2 mức liều thử nghiệm của viên SC ($p > 0,05$).

Như vậy, việc cho chuột uống viên SC liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày liên tiếp không làm ảnh hưởng đến chức năng thận chuột.

d. Viên SCDQ

Sau 14 ngày, ure và creatinin ở lô chuột được cho uống viên SCDQ liều 0,43 viên/kg giảm đáng kể so với sinh lý ($p < 0,05$) trong khi hai thông số này ở lô uống liều 0,86 viên/kg khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Phân tích riêng theo giới nhận thấy creatinin ở chuột cái ở cả hai mức liều giảm đáng kể so với chuột cái sinh lý ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai giới trong cùng lô ($p > 0,05$). Sau 28 ngày, chuột đực cho uống viên SCDQ liều 0,43 viên/kg có ure và creatinin thay đổi không đáng kể ($p > 0,05$), trong khi lô uống liều 0,86 viên/kg có creatinin tương đương và ure giảm đáng kể so với lô sinh lý cùng thời điểm ($p < 0,05$). Nồng độ ure riêng trên chuột cái uống viên SCDQ ở hai mức liều đều giảm có ý nghĩa thống kê so với chuột cái sinh lý ($p < 0,05$).

Giữa hai mức liều thử nghiệm hầu như không có sự khác biệt đáng kể về hai thông số ure và creatinin ($p < 0,05$).

Như vậy, việc cho chuột uống viên SCDQ liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày và 28 ngày liên tiếp không làm ảnh hưởng đến chức năng thận chuột.

3.5.5.2.5. Ảnh hưởng lên đại thể các cơ quan

Quan sát đại thể cho thấy sau 28 ngày thử nghiệm, các cơ quan như tim, phổi, gan, thận, hệ thống tiêu hóa của chuột ở các lô không có hiện tượng bất thường.

Đại thể gan: toàn bộ gan màu đỏ tươi, bề mặt láng mịn, không có hiện tượng phù nề hay sung huyết, dịch mật vàng trong, túi mật bình thường.

Đại thể thận: tất cả chuột đều có thận bình thường, màu đỏ thẫm, mặt nhẵn, không xuất hiện sung huyết và tổn thương.



Hai lô uống viên nang ĐQ



Hai lô uống viên nang ĐS



Hai lô uống viên nang SC



Hai lô uống viên nang SCĐQ



Hình 111b. Hình ảnh đại thể gan, thận ở các lô thử nghiệm độc tính bán trường diễn

3.5.5.2.6. Kết luận

a. Độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt

Không xác định được LD_{50} của viên ĐQ, ĐS, SC và SCĐQ; các viên nang không thể hiện độc tính cấp đường uống với liều tối đa có thể cho uống qua kim (D_{max}) là 100 viên/kg đối với viên ĐQ và 38,5 viên/kg đối với viên ĐS, SC, SCĐQ.

b. Độc tính bán trường diễn trên chuột nhắt

Việc cho chuột uống viên nang ĐQ, ĐS, SC và SCĐQ ở hai mức liều 0,43 viên/kg và 0,86 viên/kg trong 14 ngày hoặc 28 ngày liên tiếp:

+ Không làm thay đổi thể trọng chuột thử nghiệm so với lô sinh lý.

- + Không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu của chuột thử nghiệm.
- + Không làm ảnh hưởng đến chức năng gan chuột.
- + Không làm ảnh hưởng đến chức năng thận chuột.
- + Không gây hiện tượng bất thường trên đại thể các cơ quan tim, phổi, gan, thận, hệ tiêu hóa.

CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ ĐẠT ĐƯỢC

4.1. Sản phẩm Dạng I:

1. Thực phẩm chức năng:

Đề tài đã tạo ra 4 thực phẩm chức năng theo quy định của Bộ Y tế và nộp hồ sơ đăng ký Giấy chứng nhận lưu hành:

- Viên nang mềm Đảng sâm TN với số lượng 14.400 viên.
- Viên nang mềm Sâm cau TN với số lượng 10.000 viên.
- Viên nang mềm Đương quy TN với số lượng 10.000 viên.
- Viên nang mềm Đảng sâm – Sâm cau TN với số lượng 5.000 viên.

2. Mô hình trồng 5-6 loài dược liệu (2-3 ha/loài):

Đã triển khai 5 mô hình trồng dược liệu ở Tây Nguyên:

- Mô hình trồng Atisô ở Đà Lạt, Lâm Đồng với diện tích 3 ha.
- Mô hình trồng Đảng sâm ở Lạc Dương, Lâm Đồng với diện tích 3 ha.
- Mô hình trồng Đương quy Nhật Bản ở Lâm Hà, Lâm Đồng với diện tích 2 ha.
- Mô hình trồng Đinh lăng ở Lâm Hà, Lâm Đồng với diện tích 2 ha.
- Mô hình trồng Sâm cau ở Ea H'leo, Đắk Lắk với diện tích 2 ha.

Các mô hình có năng suất cao, chất lượng dược liệu đáp ứng làm nguyên liệu cho chế biến, làm cơ sở cho xây dựng, phát triển các vùng dược liệu ở quy mô lớn cho khu vực Tây Nguyên.

Như vậy, các sản phẩm 1,2 đáp ứng theo đúng yêu cầu và diện tích của 5 mô hình trong đó sản phẩm 2 vượt so với nội dung đăng ký (12 ha so với yêu cầu 10 ha).

4.2. Sản phẩm Dạng II:

1. Danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên:

Đề tài đã xây dựng được danh mục các loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên với 22 loài dược liệu kèm theo dữ liệu về khả năng sử dụng và tiềm năng phát triển của chúng.

Như vậy, sản phẩm 1 đáp ứng theo đúng yêu cầu.

2. Bộ kết quả nghiên cứu thành phần hóa học và động thái của chúng ở một số loài dược liệu chủ lực:

Đề tài đã chọn 09 loài dược liệu trong danh mục dược liệu chủ lực (07 loài gồm atisô, đảng sâm, sâm cau, đương quy trung quốc, đương quy nhật bản, đinh lăng, sa nhân tím) và cần bảo tồn, phát triển (xoan nhừ, cuồng hiệp) đề tiến hành nghiên cứu sâu về thành phần hóa học, đã phân lập và xác định cấu trúc 80 hợp chất với đầy đủ các số liệu phổ NMR và MS, trong đó có 09 hợp chất mới.

Như vậy, sản phẩm 2 vượt yêu cầu về số lượng loài nghiên cứu (09 loài so với yêu cầu 5-6 loài) và số lượng hợp chất phân lập được (80 chất so với yêu cầu là 50 chất).

3. Quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản cho 5-6 loài dược liệu chủ lực

Từ 06 loài dược liệu chủ lực gồm atisô, đảng sâm, sâm cau, đương quy, đinh lăng, sa nhân tím, đề tài đã xây dựng, hoàn thiện 06 Quy trình trồng trọt, 06 Quy trình thu hoạch và 06 Quy trình bảo quản.

Như vậy, sản phẩm 3 đáp ứng theo đúng yêu cầu.

4. Quy trình công nghệ tạo ra 3-4 sản phẩm có chất lượng cao:

Đề tài đã xây dựng được 4 quy trình tạo thực phẩm chức năng là viên nang mềm đảng sâm TN, viên nang mềm sâm cau TN, viên nang mềm đương quy TN, là viên nang mềm đảng sâm – sâm cau TN. Các sản phẩm này đã được sản xuất thử tại Công ty cổ phần Dược S.P.M. với số lượng: viên nang mềm Đảng sâm TN (14.400 viên), viên nang mềm Sâm cau TN (10.000 viên), viên nang mềm Đương quy TN (10.000 viên), viên nang mềm Đảng sâm - Sâm cau TN (5.000 viên).

Như vậy, sản phẩm 4 đáp ứng theo yêu cầu.

5. Bảo tồn và phát triển được một số nguồn gen dược liệu có giá trị kinh tế cao:

Đề tài đã xây dựng được quy trình nhân giống 02 loài có triển vọng (Lan gấm, Tam thất) và phương án bảo tồn dược liệu ở Tây Nguyên.

Đề xuất phương án bảo tồn dược liệu.

Như vậy, sản phẩm 5 đáp ứng theo đúng yêu cầu.

4.3. Sản phẩm Dạng III:

1. Bài báo khoa học quốc tế:

Một số kết quả mới của đề tài đã được công bố trong 04 công trình đăng trên các Tạp chí quốc tế:

1. Nguyen Huu Toan Phan, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Thi Thu Hien, Pham Van Huyen, Tran Thi Hong Hanh, Le Thi Vien, Tran Hong Quang, Nguyen Xuan Cuong, Nguyen Hoai Nam, Phan Van Kiem, Chau Van Minh. Limonoids from *Choerospondias axillaris*. *Natural Product Communications*, 15(8), 1–5 (2020). (ISI)

2. Nguyen Huu Toan Phan, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Thi Thu Hien, Pham Van Huyen, Nguyen Huu Huong Duyen, Tran Thi Hong Hanh, Nguyen Xuan Cuong, Tran Hong Quang, Nguyen Hoai Nam, Chau Van Minh. Polyacetylene and phenolic constituents from the roots of *Codonopsis javanica*. *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2020.1833200 (2020). (ISI)

3. Nguyen Huu Toan Phan, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Thi Thu Hien, Pham Van Huyen, Nguyen Huu Huong Duyen, Tran Thi Hong Hanh, Nguyen Xuan Cuong, Tran Hong Quang, Nguyen Hoai Nam, Chau Van Minh. Codojavanosides A-C, three new sesquiterpenoid glycosides from the roots of *Codonopsis javanica*. *Phytochemistry Letters*, 40, 166-170 (2020). (ISI)

4. Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Dieu Thuan, Tran Thi Ngoc Hanh, Pham Van Huyen¹, Nguyen Huu Toan Phan. Chemical constituents of the leaves of *Aralia hiepihana*. *Journal of Research in Pharmaceutical Science*, 6 (3), 01-05 (2020).

Số lượng bài báo quốc tế (3 ISI và 1 quốc tế) vượt so với yêu cầu (2 bài báo ISI).

2. Bài báo khoa học trong nước

1. Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Dieu Thuan, Tran Thi Ngoc Hanh, Pham Van Huyen, Nguyen Huu Toan Phan. Triterpenoid saponins from the leaves of *Aralia hiepihana*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 58 (6A), 135-141 (2020).

Số lượng bài báo trong nước mới chỉ đạt 01 bài còn thiếu 01 bài so với yêu cầu.

3. Kết quả đào tạo:

Đề tài đã hỗ trợ 02 thành viên tham gia đề tài được đào tạo bậc tiến sỹ, đào tạo 05 thạc sỹ với các đối tượng nghiên cứu trong nội dung thực hiện của đề tài (trong đó 03 người đã nhận bằng Thạc sỹ và 02 người đã bảo vệ thành công luận văn Thạc sỹ tháng 01 năm 2021).

1. Nguyễn Thị Thu Hiền, nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với đề tài “Nghiên cứu hóa học và hoạt tính sinh học của một số loài *Aralia* thuộc họ nhân sâm *Araliaceae* ở Tây Nguyên”.

2. Phạm Văn Huyền, trúng tuyển nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam với đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học của hai loài *Magnolia lamdongensis* và *Magnolia tiepii* thuộc họ Mộc lan (*Magnoliaceae*)”.

3. Trần Minh Hảo, Luận văn Cao học “Phân tích một số hợp chất flavonoid từ lá cây *Aralia hiepiana* J. Wen & Lowry (*Araliaceae*) bằng phương pháp HPLC”, bảo vệ thành công Luận văn Cao học tại trường Đại học Đà Lạt tháng 01/2019.

4. Nguyễn Hà Như Trúc, Luận văn Cao học “Phân lập và xác định cấu trúc của một số hợp chất chính từ rễ cây Đương quy *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels (*Apiaceae*) ở Lâm Đồng”, bảo vệ thành công Luận văn Cao học tại trường Đại học Đà Lạt tháng 01/2020.

5. Từ Phan Nhật Phương, Luận văn Cao học “Xây dựng quy trình xác định hàm lượng Curculigoside trong cây *Curculigo orchioides* Gaertn. (*Hypoxidaceae*) bằng phương pháp HPLC”, bảo vệ thành công Luận văn Cao học tại trường Đại học Đà Lạt tháng 01/2020.

6. Đinh Xuân Hậu, Luận văn Cao học “Phân tích cấu trúc một số hợp chất saponin chính phân lập từ rễ cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* L. Harms) trồng ở Lâm Đồng”, bảo vệ thành công Luận văn Cao học tại trường Đại học Đà Lạt tháng 01/2021.

7. Nguyễn Thị Tường Vân, Luận văn Cao học “Nghiên cứu thành phần hóa học của loài lan kim tuyến (*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.) thu ở Lâm Đồng”, bảo vệ thành công Luận văn Cao học tại trường Đại học Đà Lạt tháng 01/2021.

Theo đăng ký, đề tài hỗ trợ đào tạo 1 nghiên cứu sinh và 1 học viên Cao học. Kết quả đào tạo cao hơn so với đăng ký.

KẾT LUẬN

Từ kết quả thu được trong quá trình điều tra, nghiên cứu, đề tài đưa ra các kết luận chính sau đây:

1. Nguồn tài nguyên dược liệu ở Tây Nguyên rất đa dạng và phong phú về thành phần loài, nhiều loài đã được nhân trồng, phát triển ở các quy mô khác nhau. Dựa trên quy hoạch phát triển dược liệu của vùng, của các tỉnh Tây Nguyên, kết quả điều tra hiện trạng thực tế cũng như phân tích các tiềm năng phát triển, đề tài đã xây dựng danh mục dược liệu chủ lực của vùng với 22 loài dược liệu có khả năng phát triển quy mô lớn phù hợp với điều kiện sinh thái của vùng cũng như có các đặc trưng riêng để có thể tạo thế mạnh riêng cho phát triển dược liệu của vùng Tây Nguyên cũng như tạo liên kết vùng phục vụ không chỉ nhu cầu nội địa mà còn tiến đến xuất khẩu góp phần phát triển kinh tế - xã hội cho vùng Tây Nguyên.

2. Không chỉ đa dạng về thành phần loài, mà thành phần hóa học của các loài dược liệu ở Tây Nguyên cũng vô cùng đa dạng về cấu trúc và hoạt tính. Chỉ với 09 loài dược liệu chọn lọc là Atisô (*Cynara scolymus*), Đảng sâm (*Codonopsis javanica*), Đương quy Trung Quốc (*Angelica sinensis*), Đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba*), Sâm cau (*Curculigo orchioides*), Đinh lăng (*Polyscias fruticosa*), Sa nhân tím (*Amomum longiligulare*) (dược liệu chủ lực định hướng phát triển), Xoan nhừ (*Choerospondias axillaris*), Cuồng hiệp (*Aralia hiepiana*) (dược liệu định hướng bảo tồn) mà đề tài đã phân lập được 80 hợp chất trong đó có 09 hợp chất mới. Từ đó, đã xây dựng một số phương pháp mới phân tích chất chỉ thị từ các hợp chất phân lập được để định tính, định lượng thành phần của chúng trong dược liệu hướng đến kiểm soát chất lượng dược liệu khi sản xuất ở quy mô lớn về sau.

3. Hướng đến nhân trồng dược liệu ở quy mô lớn, đề tài đã hoàn thiện các quy trình trồng trọt, thu hoạch, bảo quản 06 loài dược liệu (Atisô, Đảng sâm, Đương quy Nhật Bản, Sâm cau, Đinh lăng, Sa nhân tím) dựa trên các tài liệu hướng dẫn trồng trọt làm cơ sở cho việc triển khai 05 mô hình trồng dược liệu ở Tây Nguyên (Atisô, Đảng sâm, Đương quy Nhật Bản, Sâm cau, Đinh lăng) với quy mô 2-3 ha/loài. Các kết quả từ triển khai mô hình đã chứng minh tính hiệu quả về kinh tế cũng như khả năng bảo tồn,

phát triển các nguồn gen dược liệu hướng đến phát triển bền vững dược liệu cho vùng Tây Nguyên.

4. Nhằm nâng cao giá trị của dược liệu, tham gia vào chuỗi giá trị của sản phẩm nông nghiệp với việc ứng dụng khoa học công nghệ, đề tài đã liên kết với doanh nghiệp để nghiên cứu, sản xuất thử 04 thực phẩm chức năng dạng viên nang mềm phục vụ cho công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Các kết quả thu được cho thấy vai trò của khoa học, công nghệ kết hợp với doanh nghiệp tạo ra động lực quan trọng cho việc phát triển nông nghiệp, dược liệu đối với vùng Tây Nguyên.

5. Bên cạnh các dược liệu chủ lực cần phát triển lớn trong thời gian tới, nhiều loài dược liệu khác cần phải có kế hoạch bảo tồn cho nên đề tài đã đề xuất một số giải pháp nhằm bảo tồn và sử dụng hiệu quả, bền vững nguồn gen dược liệu của vùng Tây Nguyên cũng như xây dựng các phương pháp nhân giống, trồng trọt đối với 2 loài Lan gấm và Tam thất làm cơ sở để tiếp tục xây dựng các giải pháp phát triển đối với các loài có giá trị khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Chương trình số 15-CTr/TU ngày 30 tháng 6 năm 2016 của Tỉnh ủy Gia Lai về tái cơ cấu ngành nông nghiệp gắn với xây dựng nông thôn mới theo hướng nâng cao giá trị gia tăng, chất lượng sản phẩm, đẩy mạnh ứng dụng công nghệ sinh học chất lượng cao vào sản xuất trong điều kiện biến đổi khí hậu.*
2. *Đề án Bảo tồn và phát triển dược liệu tỉnh Đắk Nông đến năm 2030 của Sở Y tế Đắk Nông nghiệm thu năm 2020.*
3. *Kế hoạch số 3368/KH-UBND ngày 12 tháng 08 năm 2015 của UBND tỉnh Gia Lai về phát triển y, dược học cổ truyền tỉnh Gia Lai đến năm 2020.*
4. *Nghị quyết số 09/2018/NQ-HĐND ngày 19 tháng 7 năm 2018 của HĐND tỉnh Kon Tum về Đề án đầu tư, phát triển và chế biến dược liệu trên địa bàn tỉnh Kon Tum đến năm 2020, định hướng đến năm 2030.*
5. *Nghị quyết số 23/2017/NQ-HĐND ngày 14 tháng 12 năm 2017 của HĐND tỉnh Đắk Nông về quy hoạch xây dựng vùng tỉnh Đắk Nông đến năm 2035, tầm nhìn đến năm 2050.*
6. *Quy trình hướng dẫn kỹ thuật trồng cây đing lãg tạm thời trên địa bàn tỉnh Bình Thuận. Kèm theo Quyết định số 603/QĐ-SNN ngày 17 tháng 7 năm 2015 của Sở Nông Nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Bình Thuận.*
7. *Quy trình kỹ thuật trồng, chăm sóc cây Đang sâm. Kèm theo Quyết định số 271/QĐ-SNN, ngày 20/12/2017 của Sở Nông nghiệp & PTNT tỉnh Lào Cai.*
8. *Quyết định số 206/QĐ-BYT ngày 22 tháng 01 năm 2015 của Bộ Y tế về việc ban hành danh mục cây dược liệu ưu tiên phát triển giai đoạn 2015-2020.*
9. *Quyết định số 756/QĐ-UBND ngày 19 tháng 04 năm 2017 của UBND tỉnh Lâm Đồng Ban hành kế hoạch thực hiện nghị quyết số 05-NQ/TU ngày 11/11/2016 của Tỉnh ủy về phát triển nông nghiệp toàn diện, bền vững và hiện đại giai đoạn 2016-2020 và định hướng đến năm 2025.*
10. *Quyết định số 1976/QĐ-TTg ngày 30/10/2013 “Phê duyệt quy hoạch tổng thể phát triển dược liệu đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030”.*
11. *Quyết định số 2325/QĐ-UBND ngày 10 tháng 08 năm 2016 của UBND tỉnh Đắk Lắk về việc phê duyệt Đề án tái cơ cấu ngành nông nghiệp theo hướng nâng cao giá trị gia tăng và phát triển bền vững đến năm 2020, định hướng đến năm 2030.*
12. *Quyết định số 439/QĐ-TTg ngày 16 tháng 4 năm 2012 của Thủ tướng Chính phủ Về việc Phê duyệt Danh mục sản phẩm quốc gia thực hiện từ năm 2012 thuộc Chương trình phát triển sản phẩm quốc gia đến năm 2020.*
13. *Quyết định số 787/QĐ-TTg ngày 05 tháng 6 năm 2017 của Thủ tướng Chính phủ Về việc Phê duyệt bổ sung Danh mục sản phẩm quốc gia thuộc Chương trình phát triển sản phẩm quốc gia đến năm 2020.*
14. *Quyết định số 3057/QĐ-BKHHCN ngày 30 tháng 9 năm 2011 của Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ. Chương trình Khoa học và Công nghệ trọng điểm cấp Nhà nước 2011-2015 “Nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ phục vụ sản xuất các sản phẩm chủ lực”.*
15. *Viện Dược liệu, Kỹ thuật trồng cây thuốc. Nhà xuất bản Nông nghiệp, (2013).*
16. *V.A.T. Anh, Báo cáo tổng kết Đề tài "Vấn đề quản lý và sử dụng đất đai ở Tây Nguyên" thuộc Chương trình Tây Nguyên 3, mã số TN3/X12, (2014).*

17. N.T. Bân, *Cẩm nang tra cứu và nhận biết các họ thực vật hạt kín ở Việt Nam*. Hà Nội: Nxb. Nông nghiệp, (1997).
18. N.T. Biên, *Danh lục Tài nguyên Dược liệu tỉnh Lâm Đồng*. (2016).
19. Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Bộ Khoa học và Công nghệ, *Sách Đỏ Việt Nam, Phần II - Thực vật*. (2007).
20. L.Đ. Cư, *Báo cáo tổng kết đề tài “Nghiên cứu tri thức bản địa trong sử dụng và bảo tồn tài nguyên sinh vật phục vụ phát triển kinh tế - xã hội và bảo tồn bản sắc dân tộc của các cộng đồng dân tộc thiểu số khu vực Tây Nguyên” (mã số TN3/T13)*, (2015).
21. Đ.T. Đàm, *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học, (2014).
22. L.T. Diên, *Kỹ thuật gây trồng và bảo tồn một số cây thuốc nam có giá trị kinh tế*. Hà Nội: Nhà xuất bản Nông Nghiệp. trang 94-95, (2015).
23. Đề tài cấp Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Lâm Đồng, *Điều tra đánh giá nguồn tài nguyên dược liệu tỉnh Lâm Đồng và định hướng phát triển một số loài đặc hữu và có giá trị kinh tế cao* (2011).
24. N.V. Dư, *Báo cáo tổng kết đề tài “Điều tra, nghiên cứu các cây thuốc được sử dụng trong các bài thuốc dân tộc tại Tây Nguyên và đề xuất các biện pháp bảo tồn” (mã số TN3/T10)* (2015).
25. N.B. Hoạt, N.D. Thuần, *Kỹ thuật trồng, sử dụng và chế biến cây thuốc*. Hà Nội: Nhà xuất bản Nông Nghiệp. trang 14-15, (2005).
26. T.T. Huế, *Quy trình kỹ thuật trồng, chăm sóc và sơ chế cây dược liệu đương quy*. Sở Khoa học và Công nghệ Sơn La, (2017).
27. *Nghị định 32/2006/NĐ-CP về Danh mục các loài động, thực vật nguy cấp quý hiếm*, (2006).
28. N.H.T. Phan, *Báo cáo tổng kết đề tài “Điều tra, sàng lọc nguồn tài nguyên dược liệu tỉnh Lâm Đồng theo định hướng hoạt tính sinh học nhằm phát triển các loài dược liệu có giá trị cao” (mã số TN3/T14)*, (2016).
29. Đ.T. Phòng, *Báo cáo tổng kết đề tài “Nghiên cứu tính đa dạng nguồn gen di truyền và thành phần hóa học một số loài lá kim ở Tây Nguyên, đề xuất giải pháp bảo tồn, sử dụng và phát triển bền vững” thuộc Chương trình Tây Nguyên 3, mã số TN3/T15*, (2015).
30. N.V. Tập, *Nghiên cứu kỹ thuật trồng sa nhân tím (Amomum longiligulare T. L. Wu) trên đất sau nương rẫy thuộc vùng đệm vườn quốc gia Tam Đảo, tại một số xã ở huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên, Đề tài thuộc dự án Khoa học công nghệ nông nghiệp vốn vay ADB, Viện Dược liệu*, (2011).
31. Bộ Y tế, *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*, p. 10-15, 24, (2015).
32. Bộ Y Tế, *Dược điển Việt Nam V. Vol. tập 2*, Hà Nội: Nhà Xuất bản Y học, (2017).
33. P. C. Thành, *Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng*. Hà Nội: Nhà xuất bản nông nghiệp, (1976).
34. N. N. Thìn, *Cẩm nang nghiên cứu đa dạng sinh vật*. Hà Nội: Nxb Nông nghiệp, (1997).
35. C. Balachandran, V. Duraipandiyar, N.A. Al-Dhabi, K. Balakrishna, N.P. Kalia, V.S. Rajput, I.A. KhanS. Ignacimuthu, *Antimicrobial and Antimycobacterial*

- Activities of Methyl Caffeate Isolated from Solanum torvum Swartz. Fruit.* Indian J. Microbiol. **52**(4): p. 676-681, (2012).
36. J.Y. Cho, K.U. Baik, J.H. Jung, M.H. Park, *In vitro anti-inflammatory effects of cynaropicrin, a sesquiterpene lactone, from Saussurea lappa.* Eur J Pharmacol. **398**(3): p. 399-407, (2000).
 37. S.Z. Choi, S.U. Choi, K.R. Lee, *Cytotoxic sesquiterpene lactones from Saussurea calcicola.* Arch Pharm Res. **28**(10): p. 1142-6, (2005).
 38. M. Gulluce, F. Orhan, D. Yanmis, T. Arasoglu, Z. Guvenalp, L.O. Demirezer, *Isolation of a flavonoid, apigenin 7-O-glucoside, from Mentha longifolia (L.) Hudson subspecies longifolia and its genotoxic potency.* Toxicology and Industrial Health. **31**(9): p. 831-840, (2015).
 39. Z. Güvenalp, L.O. Demirezer, *Flavonol Glycosides from Asperula arvensis L.* Turk J. Chem. **29**(2): p. 163-169, (2005).
 40. M. López-Rodríguez, V. P García, H. Zater, S. Benayache, F. Benayache, *Cynatriol, a sesquiterpene lactone from Centaurea musimomum.* Acta crystallographica. Section E, Structure reports online. **65**(Pt 8): p. o1867-o1868, (2009).
 41. S. Urgaonkar, J.T. Shaw, *Synthesis of Kaempferitrin.* J. Org. Chem. **72**(12): p. 4582-4585, (2007).
 42. C.Z. WangZ.J. Jia, *Neolignan glycosides from Pedicularis longiflora.* Planta Med. **63**(3): p. 241-4, (1997).
 43. D. Youssef, A.W. Frahm, *Constituents of the Egyptian Centaurea scoparia; Part II. Guaianolides of the Aerial Parts.* Planta Med. **60**(6): p. 572-5, (1994).
 44. S. Zimmermann, M. Kaiser, R. Brun, M. Hamburger, M. Adams, *Cynaropicrin: the first plant natural product with in vivo activity against Trypanosoma brucei.* Planta Med. **78**(6): p. 553-6, (2012).
 45. S. Gao, J. Kong, *Pharmaceutical composition containing riligustilide and use thereof.* World intellectual property organization, (2013).
 46. V. Laurence, L. Catherine, M. Georges, S. Thierry, A.H. Hamid, *Cytotoxic polyisoprenes and glycosides of long-chain fatty alcohols from Dimocarpus fumatus.* Phytochemistry. **50**: p. 63-69, (1999).
 47. R. Spitalert., E.-P. Ellmerer-Müller., C. Zidorn., H. Stuppner, *Phenylpropanoids and Polyacetylenes from Ligusticum mutellina (Apiaceae) of Tyrolean Origin* Scientia Pharmaceutica (SCI. Pharm.). **70**: p. 101-109, (2002).
 48. P.S. Svilen, A.S.C. Jaime, A.M.A. Carlos, *Synthensis of 5- (Hydroxymethyl) furfural (HMF).* Org. Synth. **93**: p. 29-36, (2016).
 49. J.F. Ayafor, B.L. Sondengam, A.N. Bilon, J.D. Connolly, *Limonoids of Teclea ouabanguiensis.* J Nat Prod. **49**(4): p. 583-7, (1986).
 50. R. Bentley, J. Jenkins, E.R. Jones, V. Thaller, *Natural acetylenes. Part XXIX. Polyacetylenes from the Campanulaceae plant family. Tetrahydropyranyl polyacetylenic alcohols from the clustered bellflower (Campanula glomerata L.).* Journal of the Chemical Society C: Organic(5): p. 830-832, (1969).
 51. M. Bruno, J.G. Diaz, W. Herz, *Guaianolides and lignans from Centaurea solstitialis subs Schouwii.* Phytochemistry. **30**(12): p. 4165-4166, (1991).

52. V.S.P. Chaturvedula, I. Prakash, *Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of Rubus suavissimus*. International Current Pharmaceutical Journal. **1**(9): p. 239-242, (2012).
53. C. Cren-Olivé, J.-M. Wieruszkeski, E. Maes, C. Rolando, *Catechin and epicatechin deprotonation followed by ^{13}C NMR*. Tetrahedron Letters. **43**(25): p. 4545-4549, (2002).
54. M. Cuendet, O. Potterat, K. Hostettmann, *Flavonoids and phenylpropanoid derivatives from Campanula barbata*. Phytochemistry. **56**(6): p. 631-636, (2001).
55. S. De Rosa, A. De Giulio, G. Tommonaro, *Aliphatic and aromatic glycosides from the cell cultures of Lycopersicon esculentum*. Phytochemistry. **42**(4): p. 1031-1034, (1996).
56. T. Deyama, T. Ikawa, S. Nishibe, *The Constituents of Eucommia ulmoides OLIV. II. Isolation and Structures of Three New Lignan Glycosides*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. **33**(9): p. 3651-3657, (1985).
57. F. Clematis, J. Tedeschini, M. Dolci, V. Lanzotti, B. Cangelosil, S. Fascella, P. Curir. *Phenol Composition and Susceptibility to Fusarium oxysporum Dianthi in Carnation*. 2011. (Year).
58. L.G.-Q. Fu Da-Xu, Cheng Xiao-Wei, Chen Jia-Kuan, Zhou Tong-Shui, *Curculigoside C, A New Phenolic Glucoside from Rhizomes of Curculigo orchoides*. Journal of Integrative Plant Biolog. **46**(5): p. 621-624, (2004).
59. M. Ganzera, *Quality control of herbal medicines by capillary electrophoresis: potential, requirements and applications*. Electrophoresis. **29**(17): p. 3489-503, (2008).
60. .Government of India, *Report of the Task Force on Conservation and Sustainable Use of Medicinal Plants*, (2000).
61. H. Hajimehdipoor, B.M. Kondori, G.R. Amin, N. Adib, H. Rastegar, M. Shekarchi, *Development of a validated HPLC method for the simultaneous determination of flavonoids in Cuscuta chinensis Lam. by ultra-violet detection*. Daru. **20**(1): p. 57, (2012).
62. X. Hao, J. Zhang, G. Zhan, Y. Xue, Z. Luo, G. YaoY. Zhang, *Chemical constituents from Teucrium viscidum*. Biochemical Systematics and Ecology. **51**: p. 78-82, (2013).
63. X. He, W. Yang, M. Ye, Q. Wang, D. Guo, *Differentiation of Cuscuta chinensis and Cuscuta australis by HPLC-DAD-MS analysis and HPLC-UV quantitation*. Planta Med. **77**(17): p. 1950-7, (2011).
64. K. Ishimaru, H. Yonemitsu, K. Shimomura, *Lobetyolin and lobetyol from hairy root culture of Lobelia inflata*. Phytochemistry. **30**(7): p. 2255-2257, (1991).
65. Javier Gonzalez-Platas, Catalina Ruiz-Perez, Antonio G. Gonzalez, Jaime Bermejo, and K. Medjroubi., *4 β ,15-dihydro-3-dehydrosolstitialin A*. Acta crystallographica. **C55**: p. 1837-1839, (1999).
66. Z.-H. Jiang, T. Tanaka, M. Sakamoto, T. Jiang, I. Kouno, *Studies on a Medicinal Parasitic Plant : Lignans from the Stems of Cynomorium songaricum*. Chemical & pharmaceutical bulletin. **49**(8): p. 1036-1038, (2001).
67. H. Kim, B.-G. Kim, J.-H. Ahn, *Regioselective synthesis of flavonoid bisglycosides using Escherichia coli harboring two glycosyltransferases*. Applied microbiology and biotechnology. **97**, (2013).

68. H. Kim, B.-G. Kim, J.-H. Ahn, *Regioselective synthesis of flavonoid bisglycosides using Escherichia coli harboring two glycosyltransferases*. Applied microbiology and biotechnology. **97**(12): p. 5275–5282, (2013).
69. C.A. Kingsbury, *Conformational preferences in diastereomers. V. Hydrogen-bonding systems*. The Journal of Organic Chemistry. **35**(5): p. 1319-1323, (1970).
70. J. Kitajima, C. Okamura, T. Ishikawa, Y. Tanaka, *Monoterpenoid Glycosides of Glehnia littoralis Root and Rhizoma*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. **46**(10): p. 1595-1598, (1998).
71. J. Kitajima, T. Ishikawa, *Water-Soluble Constituents of Amomum Seed*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. **51**(7): p. 890-893, (2003).
72. W. Kraus, K. Kypke, M. Bokel, W. Grimminger, G. Sawitzki, G. Schwinger, *Surenolacton, ein neues Tetranortriterpenoid-A/B-Dilacton aus Toona sureni [Blume] Merrill (Meliaceae)*. Liebigs Annalen der Chemie. **1982**(1): p. 87-98, (1982).
73. S.E. Kuipers, *Trade in Medicinal Plants. In FAO, 1997. Medicinal plants for forest conservation and healthcare, Non-Wood Forest Products 11, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*. p. 45, (1997).
74. S. Li, Q. Han, C. Qiao, J. Song, C. Lung Cheng, H. Xu, *Chemical markers for the quality control of herbal medicines: an overview*. Chin Med. **3**: p. 7, (2008).
75. Y.Z. Liang, P. Xie, K. Chan, *Quality control of herbal medicines*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. **812**(1-2): p. 53-70, (2004).
76. The IUCN Red List, (2014).
77. J.-Q. Liu, C.-F. Wang, Y. Li, J.-C. Chen, L. Zhou, M.-H. Qiu, *Limonoids from the leaves of Toona ciliata var. yunnanensis*. Phytochemistry. **76**: p. 141-149, (2012).
78. Liu Rong, Hsieh Kun-Lung, L. Ji-Kai., *A new sesquiterpene lacton from the leaves of Cynara scolymus (Compositae)*. Acta Botanica Yunnanica. **31**(4): p. 383-385, (2009).
79. T.I. Lopes, R.G. Coelho, N.C. Yoshida, N.K. Honda, *Radical-scavenging activity of orsellinates*. Chem Pharm Bull (Tokyo). **56**(11): p. 1551-4, (2008).
80. S.S. M. Nasir, A. M. Moradi, A. R. Gohari, *Sterols from the red algae, Gracilaria salicornia and Hypnea flagelliformis, from Persian Gulf*. Pharmacognosy Magazine. **7**(26), (2011).
81. A. Manayi, S. Saeidnia, S.N. Ostad, A. Hadjiakhoondi, M.R. Ardekani, M. Vazirian, Y. Akhtar, M. Khanavi, *Chemical constituents and cytotoxic effect of the main compounds of Lythrum salicaria L.* Z Naturforsch C J Biosci. **68**(9-10): p. 367-75, (2013).
82. R.-Q. Mei, Q. Lu, Y.-F. Hu, H.-Y. Liu, F.-K. Bao, Y. Zhang, Y.-X. Cheng, *Three New Polyynes (=Polyacetylene) Glucosides from the Edible Roots of Codonopsis cordifolioides*. Helvetica Chimica Acta. **91**(1): p. 90-96, (2008).
83. R.Q. Mei, Q. Lu, Y.F. Hu, H.Y. Liu, F.K. Bao, Y. Zhang, Y.X. Cheng, *Three new polyynes (= polyacetylene) glucosides from the edible roots of Codonopsis cordifolioides*. Helvetica Chimica Acta. **91**(1): p. 90-96, (2008).

84. T. Miyase, M. Kuroyanagi, T. Noro, A. Ueno, S. Fukushima, *Studies on Sesquiterpenes from Macroclinidium trilobum MAKINO. II*. Chemical & pharmaceutical bulletin. **33**(10): p. 4445-4450, (1985).
85. T. Miyase, K.I. Shiokawa, D.M. Zhang, A. Ueno, *Araliasaponins I-XI, triterpene saponins from the roots of Aralia decaisneana*. Phytochemistry. **41**(5): p. 1411-8, (1996).
86. K. Mizutani, M. Yuda, O. Tanaka, Y.-i. Saruwatari, M.-R. Jia, Y.-K. Ling, X.-F. Pu, *Tanghenosides I and II from chuan-dangshen, the root of Codonopsis tangshen Oliv.* Chemical & pharmaceutical bulletin. **36**(7): p. 2726-2729, (1988).
87. W. Monthong, S. Pitchuanchom, A. Pompimon, *(+)-Syringaresinol Lignan from New Species Magnolia Thailandica*. American Journal of Applied Sciences. **8**(12): p. 1268-1271, (2011).
88. Y. Nagatani, T. Warashina, T. Noro, *Studies on the Constituents from the Aerial Part of Baccharis dracunculifolia DC. II*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. **50**(5): p. 583-589, (2002).
89. J.O. Neto, M.F.d.G.F.d. Silva, E.R. Fo, J.B. Fernandes, P.C. Vieira, A.L. Pinheiro, *Norlimonoids from seeds of toona ciliata*. Phytochemistry. **49**(5): p. 1369-1373, (1998).
90. H. Nie, S. Huang, X. Li, J. Gong, F. Wu, J. Yin, Y. Liao, S. Wu, Y. Luo, *Identification of compounds from chufa (Eleocharis dulcis) peels with inhibitory acrylamide formation activity* Revista Brasileira de Farmacognosia. **29**: p. 483-487, (2019).
91. F.J.T.M. P. F. Bunyola, J. F. L. Oyola, I. B. Martin, R. G. Alonso, J. J. S. Rodríguez, *Chemical constituents derived from the canaries marine sponge Myxilla sp.* Quim. Nova. **4**(3): p. 292-296, (2018).
92. Workshop on Medicinal Plants: Bangalore, India, (22-26 July 2004).
93. B. Rodríguez, *Complete assignments of the 1H and 13C NMR spectra of 15 limonoids*. Magnetic Resonance in Chemistry. **41**(3): p. 206-212, (2003).
94. R. Sacchi, F. Addeo, L. Paolillo, *1H and 13C NMR of virgin olive oil. An overview*. Magnetic Resonance In Chemistry. **35**(13): p. S133-S145, (1997).
95. R. Saijo, G.-i. Nonaka, I. Nishioka, *Gallic acid esters of bergenin and norbergenin from Mallotus japonicus*. Phytochemistry. **29**(1): p. 267-270, (1990).
96. O. Salama, R.K. Chaudhuri, O. Sticher, *A lignan glucoside from Euphrasia rostkoviana*. Phytochemistry. **20**(11): p. 2603-2604, (1981).
97. T. Sato, S. Hara, M. Sato, K. Ogawa, M. Adams, T. Usuki, *Synthesis of cynaropicrin-d4*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. **25**(23): p. 5504-5507, (2015).
98. N. Sharma, A. Sharma, B. Singh, J. Singh, S. Kaur, R. Bhardwaj, G. Bhatia, M. Landi, *Isolation of Phytochemicals from Bauhinia variegata L. Bark and Their In Vitro Antioxidant and Cytotoxic Potential*. Antioxidants (Basel). **8**(10): p. 492, (2019).
99. C.-C. Shen, Y.-S. Chang, L.-K. Hott, *Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids*. Phytochemistry. **34**(3): p. 843-845, (1993).

100. S. Shimizu, N. Ishihara, K. Umehara, T. Miyase, A. Ueno, *Sesquiterpene Glycosides and Saponins from Cynara cardunculus L.* Chemical & Pharmaceutical Bulletin. **36**(7): p. 2466-2474, (1988).
101. D. Song, G.-X. Chou, G.-Y. Zhong, Z.-T. Wang, *Two New Phenylpropanoid Derivatives from Codonopsis tangshen Oliv.* Helvetica Chimica Acta. **91**(10): p. 1984-1988, (2008).
102. Malaysia Department of Statistics, (2000).
103. M. Sugiyama, E. Nagayama, M. Kikuchi, *Lignan and phenylpropanoid glycosides from Osmanthus asiaticus.* Phytochemistry. **33**(5): p. 1215-1219, (1993).
104. H. Tsukamoto, S. Hisada, S. Nishibe, *Lignans from bark of Fraxinus mandshurica var. japonica and F. japonica.* Chemical & Pharmaceutical Bulletin. **32**(11): p. 4482-4489, (1984).
105. K. Umehara, I. Hattori, T. Miyase, A. Ueno, S. Hara, C. Kageyama, *Studies on the Constituents of Leaves of Citrus unshiu MARCOV.* Chemical & pharmaceutical bulletin. **36**(12): p. 5004-5008, (1988).
106. N.T.H. Van, N.T.H. Anh, T.V. Sung, K. Franke, L. Wessjohann, *Four phthalides from the roots of Angelica sinensis.* Journal of Chemistry **43**(2): p. 228-231, (2005).
107. T.-M. Wang, K.-J. Wang, J. Tang, N. Li, *A New Oligostilbenoid from Rhizomes of Curculigo Sinensis.* **56**(5): p. 881-884, (2009).
108. X.-N. Wang, S. Yin, C.-Q. Fan, L.-P. Lin, J. Ding, J.-M. Yue, *Eight new limonoids from Turraea pubescens.* Tetrahedron. **63**(34): p. 8234-8241, (2007).
109. S. Werner, N. Simic, W. Robert, S. Robert, O. Kunert, *Complete assignments of 1H and 13C NMR resonances of oleanolic acid, 18a-oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives.* Magn. Reson. Chem. **41**: p. 636-638, (2003).
110. *WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants, p. 1:* Geneva, (2003).
111. S. Wu, Z. Zhao, Y. Okada, Y. Watanabe, T. Takahata, T. Inoue, E. Otsubo, J. Wang, Y. Lu, M. Nomura, *Physiological Activity of Chinese Lichen (Gyrophora esculenta) Component Methyl 2,4-Dihydroxy-6-methylbenzoate and the Related Compounds.* Asian Journal of Chemistry. **26**(3): p. 702-708, (2014).
112. D. Yang, Z. Li, X. Wang, Y. Yang, W. Peng, K. Liu, X. Li, *Chemical constituents from roots of Campanumoea javanica and their antiangiogenic activities.* Zhongcaoyao. **46**: p. 470-475, (2015).
113. M. Ye, P. Zhou, Y. Yan, Y. Li, H. Liu, *[Identification of seeds of Cuscuta australis and C. chinensis by TLC and HPLC].* Zhong Yao Cai. **24**(2): p. 97-9, (2001).
114. M. Yoshikawa, H. Shimada, M. Saka, S. Yoshizumi, J. Yamahara, H. Matsuda, *Medicinal Foodstuffs. V. Moroheiya. (1) : Absolute Stereostructures of Corchoionosides A, B, and C, Histamine Release Inhibitors from the Leaves of Vietnamese Corchorus olitorius L. (Tiliaceae).* Chemical & pharmaceutical bulletin. **45**(3): p. 464-469, (1997).
115. H.S. Young, M.S. Kim, H.J. Park, H.Y. Chung, J.S. Choi, *Phytochemical study on Catalpa ovata.* Archives of Pharmacal Research. **15**(4): p. 322-327, (1992).

116. F. Zhang, S.G. Liao, C.R. Zhang, X.F. He, W.S. Chen, J.M. Yue, *Limonoids and Diterpenoids from Toona ciliata Roem. var. yunnanensis*. *Planta Med.* **77**(14): p. 1617-22, (2011).
117. L. Zhang, C.-J. Chen, J. Chen, Q.-Q. Zhao, Y. Li, K. Gao, *Thiophene acetylenes and furanosesquiterpenes from Xanthopappus subacaulis and their antibacterial activities*. *Phytochemistry.* **106**: p. 134-140, (2014).

PHỤ LỤC

PL3.1.1. Sâm Ngọc Linh (<i>Panax vietnamensis</i> Ha et Grushv.)	341
PL3.1.2. Đảng sâm (<i>Codonopsis javanica</i> (Blume) Hook. f. & Thomson)	342
PL3.1.3. Atisô (<i>Cynara scolymus</i> L.)	343
PL3.1.4. Đinh lăng (<i>Polyscias fruticosa</i> (L.) Harms).....	344
PL3.1.5. Ý dĩ (<i>Coix lacryma-jobi</i> L.)	345
PL3.1.6. Nghệ vàng (<i>Curcuma longa</i> L.).....	345
PL3.1.7. Đương quy (<i>Angelica</i> sp.).....	347
PL3.1.8. Ngũ vị tử (<i>Schisandra sinensis</i> Baill)	348
PL3.1.9. Sa nhân tím (<i>Amomum longiligulare</i> T.L.Wu).....	348
PL3.1.10. Lan Kim tuyến (<i>Anoectochilus</i> sp.)	350
PL3.1.11. Gấc (<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng.)	351
PL3.1.12. Tam thất (<i>Panax pseudoginseng</i> Wall.).....	352
PL3.1.13. Diệp hạ châu (<i>Phyllanthus urinaria</i> L.).....	353
PL3.1.14. Ba kích tím (<i>Morinda officinalis</i> F.C.How)	353
PL3.1.15. Gừng (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)	355
PL3.1.16. Sả (<i>Cymbopogon</i> sp.).....	356
PL3.1.17. Hương nhu trắng (<i>Ocimum gratissimum</i> L.).....	357
PL3.1.18. Trinh nữ hoàng cung (<i>Crinum latifolium</i> L.).....	357
PL3.1.19. Bạch truật (<i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz.)	358
PL3.1.20. Đỗ trọng (<i>Eucommia ulmoides</i> Oliv.).....	359
PL3.1.21. Thông đỏ (<i>Taxus wallichiana</i> Zucc.).....	360
PL3.1.22. Sâm cau (<i>Curculigo orchioides</i> Gaertn.)	360
PL3.1.23. Tiêu bản các loài dược liệu bổ sung vào danh mục	362
PL3.2.1.1a. Phổ ¹³ C NMR của CS1	363
PL3.2.1.1b. Phổ HSQC của CS1	363
PL3.2.1.2a. Phổ ¹³ C NMR của CS3	363
PL3.2.1.2b. Phổ HSQC của CS3	363
PL3.2.1.3a. Phổ ¹³ C NMR của CS5	364
PL3.2.1.3b. Phổ HSQC của CS5	364
PL3.2.1.4a. Phổ ¹³ C NMR của CS10	365
PL3.2.1.4b. Phổ HSQC của CS10	365
PL3.2.1.5a. Phổ ¹³ C NMR của CS12	366
PL3.2.1.5b. Phổ HSQC của CS12	366
PL3.2.1.6a. Phổ ¹³ C-NMR của CS14.1	367
PL3.2.1.6b. Phổ HSQC của CS14.1	367
PL3.2.1.7a. Phổ ¹³ C NMR của CS14.2	367
PL3.2.1.7b. Phổ HSQC của CS14.2	367
PL3.2.1.8a. Phổ ¹³ C NMR của CS15	368
PL3.2.1.8b. Phổ HSQC của CS15	368
PL3.2.1.9a. Phổ ¹³ C NMR của CS16	369
PL3.2.1.9b. Phổ HSQC của CS16	369
PL3.2.2.1a. Phổ ¹³ C của CO1	370
PL3.2.2.1b. Phổ HMBC của CO1	370
PL3.2.2.2a. Phổ ¹³ C NMR (CDCl ₃ , 125 MHz) của hợp chất CO2	370
PL3.2.2.3a. Phổ ¹³ C-NMR của CO4	371

PL3.2.2.3b. Phổ HSQC của CO4	371
PL3.2.2.4a. Phổ ¹³ C-NMR của CO5.....	372
PL3.2.2.4b. Phổ HMBC của CO5	372
PL3.2.2.5a. Phổ ¹³ C-NMR của CO6.....	372
PL3.2.2.5b. Phổ HMBC của CO6	372
PL3.2.2.6a. Phổ ¹³ C-NMR của CO7.....	373
PL3.2.2.6b. Phổ HSQC của CO7	373
PL3.2.2.7a. Phổ ¹³ C-NMR của CO8.....	374
PL3.2.2.7b. Phổ HSQC của CO8	374
PL3.2.2.8a. Phổ ¹³ C-NMR của CO9.....	374
PL3.2.2.8b. Phổ HSQC của CO9	374
PL3.2.2.9a. Phổ ¹³ C-NMR của CO11	375
PL3.2.2.9b. Phổ DEPT của CO11	375
PL3.2.3.1a. Phổ ¹³ C NMR của CJ1	376
PL3.2.3.1b. Phổ HSQC của CJ1	376
PL3.2.3.2a. Phổ ¹³ C NMR của CJ2	377
PL3.2.3.2b. Phổ HSQC của CJ2.....	377
PL3.2.3.3a. Phổ ¹³ C NMR của CJ3	378
PL3.2.3.3b. Phổ HSQC của CJ3.....	378
PL3.2.3.4a. Phổ ¹³ C NMR của CJ6.1	378
PL3.2.3.4b. Phổ HSQC của CJ6.1	378
PL3.2.3.5a. Phổ ¹³ C NMR của CJ9	379
PL3.2.3.5b. Phổ HSQC của CJ9.....	379
PL3.2.3.5c. Phổ HSQC của hợp chất CJ9	379
PL3.2.3.6a. Phổ ¹³ C NMR của CJ10.....	380
PL3.2.3.7a. Phổ ¹³ C NMR của CJ12.....	381
PL3.2.3.7b. Phổ HSQC của CJ12.....	381
PL3.2.3.8a. Phổ ¹³ C NMR của CJ19	382
PL3.2.3.8b. Phổ HSQC của CJ19.....	382
PL3.2.3.9a. Phổ ¹³ C NMR của CJ20	383
PL3.2.3.9b. Phổ HSQC của CJ20.....	383
PL3.2.3.10a. Phổ ¹³ C NMR của CJ25	384
PL3.2.3.10b. Phổ HSQC của CJ25.....	384
PL3.2.3.11a. Phổ HRESITOFMS của hợp chất CJ37	385
PL3.2.3.11b. Phổ COSY của CJ37.....	385
PL3.2.3.11c. Phổ NOESY của CJ37	385
PL3.2.4.1a. Phổ ¹³ C-NMR của AS1	385
PL3.2.4.1b. Phổ HSQC của AS1	385
PL3.2.4.2a. Phổ khối HRMS của AS4	386
PL3.2.4.2b. Phổ ¹³ C-NMR của AS4.....	386
PL3.2.4.3a. Phổ ¹³ C-NMR của AS5	387
PL3.2.4.3b. Phổ HSQC của AS5	387
PL3.2.4.3c. Phổ HMBC của hợp chất AS5	387
PL3.2.4.4a. Phổ ¹³ C-NMR của AS7	387
PL3.2.4.4b. Phổ HSQC của AS7	387
PL3.2.4.5a. Phổ ¹³ C-NMR (CDCl ₃ , 125 MHz) của hợp chất AS8.....	388
PL3.2.4.6a. Phổ ¹³ C-NMR (CDCl ₃ , 125 MHz) của hợp chất AS10.....	389

PL3.2.4.7a. Phổ ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 500 MHz) của hợp chất AS11	389
PL3.2.4.8a. Phổ ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) của hợp chất AS12.....	390
PL3.2.4.8b. Phổ HSQC của AS12	390
PL3.2.4.8c. Phổ HMBC của AS12	390
PL3.2.4.9a. Phổ ^{13}C -NMR của AS13	391
PL3.2.37b. Phổ HMBC của AS13	391
PL3.2.4.10a. Phổ ^{13}C NMR của AC3.....	392
PL3.2.4.10b. Phổ DEPT của AC3	392
PL3.2.4.11a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất AC5.....	392
PL3.2.4.12a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất AC6.....	393
PL3.2.4.13a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất AC7	393
PL3.2.4.14a. Phổ ^{13}C của AC9.....	394
PL3.2.4.14b. Phổ HSQC của AC9	394
PL3.2.4.15a. Phổ ^{13}C của AC10.....	394
PL3.2.4.15c. Phổ HMBC của AC10.....	394
PL3.2.4.16a. Phổ ^{13}C của AC13.....	395
PL3.2.4.16b. Phổ HMBC của AC13	395
PL3.2.4.17a. Phổ ^{13}C của AC15.....	395
PL3.2.4.17c. Phổ HMBC của AC15.....	395
PL3.2.4.18a. Phổ ^{13}C của AC16.....	395
PL3.2.4.18b. Phổ HSQC của AC16	395
PL3.2.5.1a. Phổ ^{13}C NMR của SN3	396
PL3.2.5.1b. Phổ HMBC của SN3.....	396
PL3.2.5.2a. Phổ ^{13}C NMR của SN8	397
PL3.2.5.2b. Phổ HSQC của SN8.....	397
PL3.2.5.3a. Phổ ^{13}C NMR của SN9	397
PL3.2.5.3b. Phổ HSQC của SN9.....	397
PL3.2.5.4a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất SN11.....	398
PL3.2.5.5a. Phổ ^{13}C NMR của SN14	399
PL3.2.5.5b. Phổ HSQC của SN14	399
PL3.2.5.6a. Phổ ^{13}C -NMR của SN15	400
PL3.2.5.6c. Phổ HMBC của SN15	400
PL3.2.5.7a. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất SN16	400
PL3.2.6.1a. Phổ ^{13}C -NMR của PF2.....	401
PL3.2.6.2a. Phổ ^{13}C -NMR (CD_3OD , 125 MHz) của hợp chất PF3	401
PL3.2.6.3a. Phổ ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) của hợp chất PF4	402
PL3.2.6.4a. Phổ ^{13}C -NMR của PF5.....	403
PL3.2.6.4c. Phổ HMBC của PF5.....	403
PL3.2.6.5a. Phổ ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) của hợp chất PF6	403
PL3.2.6.6a. Phổ ^{13}C -NMR (DMSO , 125 MHz) của hợp chất PF7	404
PL3.2.6.7a. Phổ ^{13}C -NMR của PF8.....	405
PL3.2.6.7b. Phổ HSQC của PF8.....	405
PL3.2.6.8a. Phổ ^{13}C NMR của PF9	406
PL3.2.6.8b. Phổ ^{13}C NMR của PF9.....	406
PL3.2.6.9a. Phổ ^{13}C NMR của PF10	407
PL3.2.6.9b. Phổ HSQC của PF10.....	407
PL3.2.7.1a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CA1	409

PL3.2.7.1b. Phổ COSY và NOESY của CA1	409
PL3.2.7.2a. Phổ ^{13}C NMR của CA2	410
PL3.2.7.2b. Phổ HSQC của CA2	410
PL3.2.7.3a. Phổ ^{13}C NMR của CA3	411
PL3.2.7.3b. Phổ HSQC của CA3	411
PL3.2.7.4a. Phổ ^{13}C NMR của CA4	412
PL3.2.7.4b. Phổ HSQC của CA4	412
PL3.2.7.5a. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất CA5	413
PL3.2.7.5a. Phổ ^{13}C NMR của CA7	414
PL3.2.7.5b. Phổ HSQC của CA7	414
PL3.2.7.6a. Phổ ^{13}C NMR của CA9	415
PL3.2.7.6b. Phổ HSQC của CA9	415
PL3.2.7.7a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CA10	416
PL3.2.7.8a. Phổ ^{13}C NMR của CA11	417
PL3.2.7.8b. Phổ ROESY của CA11	417
PL3.2.7.9a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CA12	418
PL3.2.7.10a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CA16	419
PL3.2.7.11a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CA17	420
PL3.2.8.1a. Phổ ^{13}C NMR của AH2	420
PL3.2.8.1b. Phổ HSQC của AH2	420
PL3.2.8.2a. Phổ ^{13}C NMR của AH4	421
PL3.2.8.2b. Phổ HSQC của AH4	421
PL3.2.8.3a. Phổ ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) của hợp chất AH6	423
PL3.2.8.5a. Phổ ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) của hợp chất AH10	424
PL3.2.8.6a. Phổ ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) của hợp chất AH11	425
PL3.2.8.7a. Phổ ^{13}C NMR của AH15	426
PL3.2.8.7b. Phổ HSQC của AH15	426
PL3.2.8.8a. Phổ ^{13}C NMR của AH18	427
PL3.2.8.8b. Phổ HSQC của AH18	427
PL3.2.8.9a. Phổ ^{13}C NMR của AH19	428
PL3.2.8.9b. Phổ HSQC của AH19	428
PL3.2.8.10a. Phổ ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) của hợp chất AH20	429
PL3.2.8.11a. Phổ ^{13}C NMR của AH22	430
PL3.2.8.11b. Phổ HSQC của AH22	430
Bảng PL3.2.1.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS3 và chất so sánh	364
Bảng PL3.2.1.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS5 và chất so sánh	364
Bảng PL3.2.1.4. Số liệu phổ của chất CS10 và chất so sánh	365
Bảng PL3.2.1.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS12 và chất so sánh	366
Bảng PL3.2.1.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS14.1 và chất so sánh	367
Bảng PL3.2.1.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS14.2 và chất so sánh	368
Bảng PL3.2.1.8. Số liệu phổ của chất CS15	368
Bảng PL3.2.2.1. Giá trị phổ NMR của hợp chất CO1	370
Bảng PL3.2.2.2. Giá trị phổ của hợp chất CO2	370
Bảng PL3.2.2.3. Giá trị phổ NMR của CO4	371
Bảng PL3.2.2.4. Giá trị phổ NMR của hợp chất CO5	372
Bảng PL3.2.2.5. Giá trị phổ NMR của hợp chất CO6	372

Bảng PL3.2.2.6. Giá trị phổ của hợp chất CO7.....	373
Bảng PL3.2.2.7. Giá trị phổ NMR của hợp chất CO8.....	374
Bảng PL3.2.2.8. Giá trị phổ NMR của hợp chất CO9.....	375
Bảng PL3.2.2.9. Giá trị phổ NMR của hợp chất CO11.....	376
Bảng PL3.2.3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ1 và chất so sánh.....	376
Bảng PL3.2.3.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ2 và chất so sánh.....	377
Bảng PL3.2.3.3. Số liệu phổ của chất CJ3 và chất so sánh.....	378
Bảng PL3.2.3.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ6.1 và chất so sánh.....	379
Bảng PL3.2.3.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ9 và chất so sánh.....	380
Bảng PL3.2.3.6. Số liệu phổ của hợp chất CJ10 và chất so sánh.....	380
Bảng PL3.2.3.7. Số liệu phổ của hợp chất CJ12 và chất so sánh.....	381
Bảng PL3.2.3.8. Số liệu phổ của hợp chất CJ19 và chất so sánh.....	382
Bảng PL3.2.3.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ20 và chất so sánh.....	383
Bảng PL3.2.3.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ25.....	384
Bảng PL3.2.4.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất AS1.....	386
Bảng PL3.2.4.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất AS5.....	387
Bảng PL3.2.4.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất AS7.....	388
Bảng PL3.2.4.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất AS8.....	388
Bảng PL3.2.4.7. Giá trị phổ ¹³ C-NMR của hợp chất AS11.....	389
Bảng PL3.2.4.8. Số liệu phổ của hợp chất AS12.....	390
Bảng PL3.2.4.9. Số liệu phổ của hợp chất AS13.....	391
Bảng PL3.2.4.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất AC5 và chất so sánh.....	392
Bảng PL3.2.4.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất AC7 và hợp chất tham khảo.....	393
Bảng PL3.2.4.14. Số liệu phổ của hợp chất AC9 và hợp chất so sánh.....	394
Bảng PL3.2.4.18. Số liệu phổ của hợp chất AC16 và hợp chất so sánh.....	395
Bảng PL3.2.5.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất SN3.....	396
Bảng PL3.2.5.3. Số liệu phổ của chất SN9 và chất so sánh.....	398
Bảng PL3.2.5.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất SN11 và chất so sánh.....	398
Bảng PL3.2.5.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất SN14 và chất so sánh.....	399
Bảng PL3.2.5.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất SN15 và SN16.....	400
Bảng PL3.2.6.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất PF2.....	401
Bảng PL3.2.6.2. Số liệu phổ của hợp chất PF3.....	402
Bảng PL3.2.6.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất PF4.....	402
Bảng PL3.2.6.4. Số liệu phổ của hợp chất PF5.....	403
Bảng PL3.2.6.5. Số liệu phổ của hợp chất PF6.....	404
Bảng PL3.2.6.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất PF8.....	405
Bảng PL3.2.6.8. Giá trị phổ của hợp chất PF9 và hợp chất tham khảo.....	406
Bảng PL3.2.6.9. Giá trị phổ của hợp chất PF10 và hợp chất tham khảo.....	407
Bảng PL3.2.7.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA1.....	409
Bảng PL3.2.7.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA2.....	410
Bảng PL3.2.7.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA3.....	412
Bảng PL3.2.7.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA4.....	413
Bảng PL3.2.7.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA9.....	415
Bảng PL3.2.7.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA10.....	416
Bảng PL3.2.7.8. Số liệu phổ NMR của CA11.....	417
Bảng PL3.2.7.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA12.....	418
Bảng PL3.2.7.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA16.....	419

Bảng PL3.2.7.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA17	420
Bảng PL3.2.8.1. Giá trị phổ NMR của hợp chất AH2 và hợp chất tham khảo.	421
Bảng PL3.2.8.2. Giá trị phổ NMR của hợp chất AH4 và hợp chất tham khảo	422
Bảng PL3.2.8.3. Giá trị phổ của hợp chất AH6 và hợp chất tham khảo.	423
Bảng PL3.2.8.4. Giá trị phổ của hợp chất AH7 và hợp chất tham khảo.	424
Bảng PL3.2.8.5. Giá trị phổ của hợp chất AH10.....	425
Bảng PL3.2.8.6. Giá trị phổ của hợp chất AH11	425
Bảng PL3.2.8.7. Giá trị phổ của hợp chất AH15 và hợp chất tham khảo	426
Bảng PL3.2.8.8. Giá trị phổ của hợp chất AH18 và hợp chất tham khảo	428
Bảng PL3.2.8.9. Giá trị phổ của hợp chất AH19.....	429
Bảng PL3.2.8.10. Giá trị phổ của hợp chất AH20.....	429
Bảng PL3.2.8.11. Số liệu phổ của hợp chất AH22 và hợp chất tham khảo	430
Bảng PL3.5.1a. Cân nặng chuột thử độc tính cấp đường uống của viên ĐQ liều 100 viên/kg	431
Bảng PL3.5.1b. Cân nặng chuột thử độc tính cấp đường uống của viên ĐS liều 38,5 viên/kg	431
Bảng PL3.5.1c. Cân nặng chuột thử độc tính cấp đường uống của viên SC liều 38,5 viên/kg	431
Bảng PL3.5.1d. Cân nặng chuột thử độc tính cấp đường uống của viên SCDQ liều 38,5 viên/kg	431
Bảng PL3.5.3a. Kết quả về các thông số huyết học sau 14 ngày	433
Bảng PL3.5.3b. Kết quả về các thông số huyết học sau 28 ngày	434
Bảng PL3.5.4a. Kết quả về hoạt tính của các enzym gan sau 14 ngày	436
Bảng PL3.5.4b. Kết quả về hoạt tính của các enzym gan sau 28 ngày	436
Bảng PL3.5.5a. Kết quả về thông số của chức năng thận sau 14 ngày	437
Bảng PL3.5.5b. Kết quả về thông số của chức năng thận sau 28 ngày	437

PL3.1.1. Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.)

a. Quy hoạch:

Sâm Ngọc Linh nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg, quy hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Kon Tum và đặc biệt là sản phẩm quốc gia theo Quyết định số 787/QĐ-TTg ngày 05/06/2017 của Thủ tướng Chính phủ

b. Hiện trạng phát triển:

Nguồn dược liệu trong tự nhiên chủ yếu ở Kon Tum hiện còn với số lượng ít và được bảo tồn nghiêm ngặt phục vụ cho công tác phát triển giống về sau. Loài dược liệu này hiện nay chủ yếu được trồng ở Kon Tum trên diện tích khoảng 400 ha. Nguồn giống chủ yếu để phát triển là từ hạt (thu hoạch hàng năm). Bên cạnh đó, nguồn giống từ các kỹ thuật nhân giống *in vitro* cũng đã được sử dụng, tuy nhiên còn nhiều vấn đề cần tiếp tục nghiên cứu để có thể ứng dụng.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Các nghiên cứu về thành phần hóa học tương đối đầy đủ, cung cấp nhiều dẫn liệu quan trọng cho thấy giá trị của loài sâm này. Sâm Ngọc Linh chứa chủ yếu các saponin triterpen, trong đó hàm lượng saponin khung dammaran khá cao (khoảng 12-15%) và số lượng saponin nhiều nhất so với các loài khác của chi *Panax*. Trong sâm Ngọc Linh còn có 14 axit béo, 16 axit amin (trong đó có 8 axit amin không thay thế được) và nhiều nguyên tố đa lượng, vi lượng.

d. Dược tính:

Bộ phận dùng làm thuốc chủ yếu là thân rễ, củ và ngoài ra cũng có thể dùng lá và rễ con. Sâm Ngọc Linh có tác dụng chống stress vật lý, stress tâm lý và trầm cảm, kích thích hệ miễn dịch, kháng khuẩn, chống ôxy hóa, lão hóa, phòng chống ung thư, bảo vệ tế bào gan, tăng cường hiệu quả khi sử dụng chung với thuốc kháng sinh, thuốc trị bệnh tiểu đường.

e. Khả năng tiêu thụ:

Do nguồn cung hiện nay còn rất hạn chế nên việc tiêu thụ hiện nay chủ yếu là sử dụng củ tươi, và một số dạng chế biến đơn giản. Tuy nhiên, khi nguồn cung đủ lớn thì tiềm năng phát triển của loài dược liệu này sẽ vô cùng lớn không chỉ đối với thị trường trong nước mà cả thị trường xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Do đòi hỏi nghiêm ngặt về địa hình, nhiệt độ, khí hậu nên Kon Tum là địa phương ưu tiên trong phát triển quy mô lớn. Các tỉnh khác của Tây Nguyên có thể nghiên cứu thử nghiệm để lựa chọn khu vực phù hợp để phát triển trong tương lai.

Kết luận: Sâm Ngọc Linh là đối tượng ưu tiên nhất trong danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên do đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra.

PL3.1.2. Đảng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. & Thomson)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Đảng sâm nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg, quy hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Kon Tum, Lâm Đồng.

b. Hiện trạng phát triển (tự nhiên, trồng trọt):

Nguồn dược liệu trong tự nhiên với số lượng không lớn chủ yếu ở Lâm Đồng, Kon Tum, Đắk Nông. Loài dược liệu này hiện nay chủ yếu được trồng ở Lâm Đồng, Kon Tum. Còn ở các địa phương khác cũng có triển khai thử nghiệm tuy nhiên ở quy mô nhỏ. Nguồn giống chủ yếu để phát triển là từ hạt (thu hoạch hàng năm). Bên cạnh đó, nguồn giống bằng kỹ thuật nhân giống *in vitro* đã được sử dụng và hoàn toàn đáp ứng nhu cầu phát triển.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Các nghiên cứu về hóa học của đảng sâm đã được khảo sát ở trong và ngoài nước, cho thấy thành phần của đảng sâm chủ yếu là saponin, alkaloid, polysaccharide, inulin. Tuy nhiên cần nghiên cứu đầy đủ hơn với dược liệu này trồng ở khu vực Tây Nguyên để có thể mở rộng hơn khả năng sử dụng của chúng.

d. Dược tính:

Đảng sâm là vị thuốc giúp tăng cường sức khỏe, chống mệt mỏi và tăng sự thích nghi của cơ thể, tăng khả năng miễn dịch của cơ thể, tốt cho tim mạch, hệ tiêu hóa và hệ thần kinh.

e. Khả năng tiêu thụ:

Do nguồn cung hiện nay còn ít nên việc tiêu thụ hiện nay chủ yếu là sử dụng củ tươi và một số dạng chế biến đơn giản nên chỉ sử dụng trong nước. Nguồn nguyên liệu đáp ứng nhu cầu trong và ngoài nước hiện nay chủ yếu là từ Trung Quốc. Vì vậy cần quan tâm phát triển đối tượng này.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Đây là đối tượng dễ phát triển nên phụ thuộc vào quy hoạch của từng tỉnh có thể lựa chọn khu vực và diện tích phù hợp cho phát triển.

Kết luận: Đảng sâm đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.3. Atisô (*Cynara scolymus* L.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Atisô nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg, quy hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Kon Tum, Lâm Đồng, Gia Lai.

b. Hiện trạng phát triển:

Loài dược liệu này hiện nay chủ yếu phát triển ở Lâm Đồng. Còn ở các địa phương khác cũng bước đầu phát triển với sự hỗ trợ của các công ty dược. Nguồn giống chủ yếu để phát triển là từ hạt, nhân giống hữu tính. Bên cạnh đó, nguồn giống bằng kỹ thuật nhân giống *in vitro* đã được sử dụng và hoàn toàn đáp ứng nhu cầu phát triển.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Các nghiên cứu về hóa học của atisô đã được khảo sát ở trong và ngoài nước, cho thấy thành phần chủ yếu là acid hữu cơ và flavonoid. Hoạt chất chính là Cynarin (acid 1-3-Dicafeyl quinic) và các sản phẩm của sự thủy phân (acid cafeic, acid clorogenic, acid neoclorogenic). Tuy nhiên cần nghiên cứu đầy đủ hơn với dược liệu này trồng ở khu vực Tây Nguyên để có thể mở rộng hơn khả năng sử dụng của chúng.

d. Dược tính:

Atisô là vị thuốc giúp giảm cholesterol, hỗ trợ tiêu hóa và bảo vệ gan.

e. Khả năng tiêu thụ:

Hiện nay nguồn cung cấp atisô đủ đáp ứng nhu cầu trong nước với nhiều sản phẩm, ngoài trà sử dụng dược cả thân, lá, hoa và rễ, trong đó khoảng 10% thân non và hoa dùng chế biến ăn tươi; 25% thân, lá, hoa, rễ sấy khô dùng nấu nước uống; 65% được các công ty sử dụng thân, lá, hoa, rễ chế biến trà có giá trị xuất khẩu với một số sản phẩm chiến lược như cao khô atisô, viên nén atisô, trà túi lọc atisô, thực phẩm chức năng... Một vài mặt hàng có nguồn gốc từ atisô đã xuất khẩu ra thị trường nước ngoài, tuy nhiên cần đầu tư thêm chất lượng để có thể mở rộng thị trường xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Đây là đối tượng dễ phát triển nên phụ thuộc vào quy hoạch của từng tỉnh có thể lựa chọn khu vực và diện tích phù hợp cho phát triển.

Kết luận: Atisô đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.4. Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms).

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Atisô nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg, quy hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Kon Tum, Lâm Đồng, Đắk Nông.

b. Hiện trạng phát triển:

Cây phát triển nhiều ở cả 5 tỉnh Tây Nguyên phục vụ cho cả nhu cầu của từng hộ gia đình cũng như cho ngành dược.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Trong rễ đinh lăng có một số loại saponin oleanane, các vitamin B1, B2, B6, C và 20 acid amin cần thiết cho cơ thể và những acid amin không thể thay thế được như lyzin, cystein, methionin. Tuy nhiên cần nghiên cứu đầy đủ hơn với dược liệu này trồng ở khu vực Tây Nguyên để có thể mở rộng hơn khả năng sử dụng của chúng.

d. Dược tính:

Rễ cây có vị ngọt, hơi đắng, tính mát, có tác dụng thông huyết mạch, bồi bổ khí huyết; lá đinh lăng có vị đắng, tính mát có tác dụng giải độc thức ăn, chống dị ứng, chữa ho ra máu, kiết lỵ. Toàn cây đinh lăng bao gồm rễ, thân, lá đều có thể sử dụng làm thuốc. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, cây có tác dụng tăng thể lực, chống stress, kích thích các hoạt động của não bộ, giải tỏa lo âu, mệt mỏi, chống oxy hóa, bảo vệ gan, kích thích miễn dịch. Lá có thể nghiền nhỏ và đặt trên vết thương để ngăn chặn sưng và viêm. Rễ có thể được đun sôi và uống để kích thích đi tiểu, làm dịu thần kinh, giảm đau khớp và hít phải để kích thích đổ mồ hôi. Dịch chiết còn của cây đinh lăng có tác dụng chống hen, chống histamin và ức chế tế bào mast hỗ trợ trong việc điều trị hen suyễn.

e. Khả năng tiêu thụ:

Hiện nay đinh lăng chủ yếu phục vụ cho nhu cầu của người dân địa phương, các bệnh viện y học cổ truyền, phần lớn phục vụ cho việc sản xuất thực phẩm chức năng của các công ty dược. Một vài mặt hàng có nguồn gốc từ đinh lăng đã xuất khẩu ra thị trường nước ngoài, tuy nhiên doanh số còn ở mức thấp.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Đây là đối tượng dễ phát triển nên phụ thuộc vào quy hoạch của từng tỉnh có thể lựa chọn khu vực và diện tích phù hợp cho phát triển.

Kết luận: Đinh lăng đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.5. Ý dĩ (*Coix lacryma-jobi* L.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Ý dĩ nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg, quy hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Kon Tum.

b. Hiện trạng phát triển:

Cây chủ yếu phát triển ở Kon Tum, diện tích hiện nay đủ đáp ứng nhu cầu cho nên chưa cần phát triển ở các địa phương khác.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Hạt chứa cacbohydrat, protit, lipit và các axit amin như leucin, arginin, tyrosin, lysin, coixol, coixenolid, sitosterol, dimethyl glucozit...

d. Dược tính:

Thuốc bồi dưỡng cơ thể do có hàm lượng protit và lipit cao. Chữa viêm ruột và ỉa chảy kéo dài ở trẻ em, phù thũng, sỏi thận, tê thấp, nhức mỏi chân tay.

e. Khả năng tiêu thụ:

Hiện nay ý dĩ chủ yếu phục vụ cho nhu cầu của người dân địa phương, các bệnh viện y học cổ truyền và trong một số loại thực phẩm chức năng. Đủ đáp ứng nhu cầu trong nước.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Đây là đối tượng dễ phát triển nhưng chỉ nên duy trì trên diện tích đang phát triển ở Kon Tum.

Kết luận: Ý dĩ đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.6. Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Nghệ vàng nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg, quy hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên.

b. Hiện trạng phát triển:

Cây phát triển ở khắp Tây Nguyên, tập trung chủ yếu ở Gia Lai, Đắk Lắk và Đắk Nông. Tuy nhiên thời gian gần đây diện tích trồng nghệ vàng phát triển quá nhanh dẫn đến lượng cung vượt quá nhu cầu thị trường nên giá thành giảm làm ảnh hưởng đến thu nhập nông dân.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Các thành phần hóa học quan trọng nhất của nghệ là nhóm curcuminoid, trong đó bao gồm curcumin (diferuloylmethane), demethoxycurcumin, và bisdemethoxy curcumin. Hợp chất được nghiên cứu nhiều nhất là curcumin. Ngoài ra còn có các loại tinh dầu quan trọng khác như turmerone, atlantone, và zingiberene. Củ nghệ chứa khoảng 5% tinh dầu và đến 5% curcumin. Curcumin là hoạt chất chính trong củ nghệ, với ký hiệu C.I. 75300, hay Natural Yellow 3. Tên hóa học của nó là (1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadien-3,5-dion.

d. Dược tính:

Nghệ đã được sử dụng trong y học cổ truyền để chữa các bệnh về dạ dày và gan, cũng như thường dùng để chữa lành các vết loét, do những tính chất kháng khuẩn cơ bản của nó. Nước ép nghệ tươi thường được sử dụng trong nhiều tình trạng về da, bao gồm cả bệnh chàm, thủy đậu, bệnh zona, dị ứng, và ghẻ. Hợp chất hoạt động curcumin được cho là có một loạt các hiệu ứng sinh học bao gồm chống viêm, chống oxy hóa, hóa trị liệu, kháng sinh, kháng virus và các hoạt động của virus, cho thấy tiềm năng trong y học lâm sàng.

Hiện nay, nghệ vẫn đang được đánh giá về hiệu quả tiềm năng của nó trong các thử nghiệm lâm sàng, liên quan đến bệnh thận và tim mạch, viêm khớp, vài loại ung thư và bệnh ruột kích thích. Curcumin, thành phần hoạt động của nghệ, cũng đã được chứng minh là một phối tử của thụ thể vitamin D với các quan hệ mật thiết trong việc ngăn chặn hóa học đối với ung thư ruột kết.

e. Khả năng tiêu thụ:

Nghệ được sử dụng nhiều làm thực phẩm, chất màu, chất nhuộm nhưng giá trị chính vẫn là do dược tính của chúng. Các sản phẩm nanocurcumin với nhiều tính năng vượt trội đang cho thấy tiềm năng phát triển thành nhiều sản phẩm khác nhau phục vụ nhu cầu trong nước và xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Đây là đối tượng dễ phát triển ở các tỉnh Tây Nguyên nhưng cần đảm bảo quy hoạch về diện tích để phát triển bền vững.

Kết luận: Nghệ vàng đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.7. Đương quy (*Angelica sp.*)

Hiện nay tại Tây Nguyên đang phát triển hai loài đương quy: Đương quy Trung Quốc (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels) và Đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* (Siebold & Zucc.) Kitag.).

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Đương quy nằm trong quy hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên.

b. Hiện trạng phát triển:

Hiện nay ở Tây Nguyên, đương quy được phát triển nhiều ở Kon Tum, Đăk Nông, Lâm Đồng với diện tích trên 100 ha. Tuy nhiên, diện tích trồng Đương quy Nhật Bản đang phát triển nhiều hơn so với Đương quy Trung Quốc.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Rễ chứa 0,2% tinh dầu, trong đó có chứa 40% acid tự do. Tinh dầu gồm có các thành phần chủ yếu sau: Ligustilide, o-valerophenon carboxylic acid, sesquiterpen, safrol, p-cymen, vitaminB12 0,25-0,40%, acid folinic, biotin.

d. Dược tính:

Đương quy có tác dụng bổ huyết, hoạt huyết, điều kinh, giảm đau, nhuận tràng, thông đại tiện

e. Khả năng tiêu thụ:

Đương quy được sử dụng nhiều làm thực phẩm, sử dụng trong các bệnh viện y học cổ truyền. Các công ty dược đã dùng đương quy trong nhiều loại thực phẩm chức năng nhưng chủ yếu sử dụng trong nước. Cần nghiên cứu tạo thêm nhiều sản phẩm để có thể xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Đây là đối tượng dễ phát triển ở các tỉnh Tây Nguyên nhưng cần kiểm soát về chất lượng.

Kết luận: Đương quy đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.8. Ngũ vị tử (*Schisandra sinensis* Baill)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Đương quy nằm trong quy hoạch phát triển dược liệu của Kon Tum, Gia Lai, Lâm Đồng.

b. Hiện trạng phát triển:

Diện tích phát triển hiện nay ở Kon Tum, Gia Lai, Lâm Đồng khoảng 10 ha.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Trong quả có chứa axit xitric, axit malic, axit tactric, vitamin C, schizandrin, đường, tanin, ngoài ra trong quả còn chứa rất nhiều khoáng chất có lợi cho sức khỏe.

d. Dược tính:

Ngũ vị tử có tác dụng điều trị liệt dương, yếu sinh lý, xuất tinh sớm; bổ thận dương, điều trị thận dương hư, tiểu đục, đau lưng, lưng lạnh; điều trị ho, viêm phế quản lâu ngày không khỏi; bồi bổ, tăng cường sức khỏe; điều trị suy nhược thần kinh, mất ngủ, mệt mỏi. Về tác dụng dược lý có độc tính cấp đường uống thấp với LD50 là 13,4g cao chiết/kg thể trọng (tương đương với 140g dược liệu/ kg thể trọng). Cao Ngũ vị tử Ngọc Linh khi sử dụng một liều duy nhất có tác dụng kéo dài giấc ngủ gây bởi pentobarbital, thể hiện tác động an thần (liều càng cao thì tác dụng gây an thần càng rõ), tác động phục hồi chức năng giải độc của gan, chữa bệnh và dự phòng bảo vệ tế bào gan.

e. Khả năng tiêu thụ:

Ngũ vị tử được sử dụng nhiều làm thực phẩm, sử dụng trong các bệnh viện y học cổ truyền và là thành phần của một số loại thực phẩm chức năng. Cần nghiên cứu tạo thêm nhiều sản phẩm để có thể xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Đây là đối tượng dễ phát triển ở các tỉnh Tây Nguyên nhưng cần kiểm soát về chất lượng.

Kết luận: Ngũ vị tử đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.9. Sa nhân tím (*Amomum longiligulare* T.L.Wu)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Sa nhân tím nằm trong quy hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên.

b. Hiện trạng phát triển:

Chủ yếu được trồng ở quy mô nhỏ tại Kon Tum, Đắk Nông, Đắk Lắk, Lâm Đồng trên diện tích khoảng 10 ha.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Trong quả có khoảng 2-3% tinh dầu và 0,6% saponin. Thành phần chủ yếu của tinh dầu là borneol (19%), camphor (33%), bornylacetate (26%), limonene (7%)...

d. Dược tính:

Quả Sa nhân tím ngoài tác dụng làm thuốc chữa nhiều loại bệnh về đường ruột, còn dùng để chiết tinh dầu làm hương liệu thực phẩm, nước hoa, dầu gội, gia vị... Sa nhân có vị cay, tính ôn, có tác dụng hành khí, điều trung, hòa vị, làm cho tiêu hóa dễ dàng nên thường được dùng trong các trường hợp: đầy bụng, ợ hơi, ăn chậm tiêu, tả lỵ đau bụng.

e. Khả năng tiêu thụ:

Sa nhân tím được sử dụng nhiều làm thực phẩm, sử dụng trong các bệnh viện y học cổ truyền và là thành phần của một số loại thực phẩm chức năng. Cần nghiên cứu tạo thêm nhiều sản phẩm để có thể xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Là loại cây có giá trị kinh tế, đặc biệt không chỉ giúp nâng cao đời sống cho người dân sống ven rừng mà việc trồng sa nhân tím dưới tán rừng còn giải quyết tình trạng rửa trôi và xói mòn đất, tạo nên thảm thực vật đa dạng phong phú, góp phần bảo vệ và phát triển rừng, hạn chế xói mòn, ngăn chặn và hạn chế lũ lụt nhằm phục vụ cho sản xuất nông nghiệp và đời sống. Cây sa nhân tím không tranh chấp đất với một số loại cây trồng khác mà chỉ tận dụng đất dưới tán rừng để tăng nguồn thu nhập trên một đơn vị diện tích.

Kết luận: Sa nhân tím đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.10. Lan Kim tuyến (*Anoectochilus sp.*)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Lan Kim tuyến nằm trong kế hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên.

b. Hiện trạng phát triển:

Chủ yếu được trồng ở quy mô nhỏ tại các tỉnh Tây Nguyên và đang được nghiên cứu nhân giống, trồng thử nghiệm ở Đắk Nông, Đắk Lắk, Lâm Đồng.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Kết quả nghiên cứu thành phần hóa học cho thấy trong cao chiết nước có các nhóm chất: anthraquinon glycosid, glycosid tim, cacbohydrad, phenolic, tannin, flavonoid và saponin. Một số hợp chất có hoạt tính chính là kinsenoside, sorghumol và dẫn xuất.

d. Dược tính:

Trong y học, Lan Kim tuyến được sử dụng làm thuốc trị lao phổi, ho do phế nhiệt, phong thấp, đau nhức khớp xương, chấn thương, viêm dạ dày mãn tính, viêm khí quản, viêm gan mãn tính, suy nhược thần kinh; giúp tăng cường sức khỏe, làm khí huyết lưu thông, có tính kháng khuẩn.

e. Khả năng tiêu thụ:

Lan Kim tuyến được sử dụng nhiều trong các bệnh viện y học cổ truyền và xuất khẩu nhiều sang Trung Quốc, Đài Loan. Cần nghiên cứu tạo thêm nhiều sản phẩm để có thể gia tăng giá trị xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Là loại cây có giá trị kinh tế cao, phù hợp phát triển ở Tây Nguyên nhưng cần xây dựng các quy trình canh tác cho phù hợp.

Kết luận: Lan Kim tuyến đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.11. Gấc (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Gấc nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg và trong quy hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên.

b. Hiện trạng phát triển:

Chủ yếu được trồng ở quy mô nhỏ, quy mô hộ gia đình tại các tỉnh Tây Nguyên.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Kết quả nghiên cứu thành phần hóa học cho thấy hạt gấc có chứa 12 acid béo, trong đó có 6 acid béo không no. Ba acid bao gồm acid oleic, acid linoleic, acid α -linoleic có hàm lượng cao nhất. Ngoài ra beta-carotene và lycopene là hợp chất đặc trưng.

d. Dược tính:

Gác được sử dụng nhiều làm thực phẩm. Trong y học, gác được sử dụng chữa trĩ, Chữa sang chấn đưng giập trong những trường hợp bị ngã, bị thương, tụ máu.

e. Khả năng tiêu thụ:

Gác đã được sử dụng trong ngành công nghiệp dược phẩm, chiết xuất dầu gác với thành phần vitamin A và E... Cần nghiên cứu tạo thêm nhiều sản phẩm để có thể gia tăng giá trị dược liệu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, cây gác được trồng khá phổ biến ở quy mô hộ gia đình.

Kết luận: Gác đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.12. Tam thất (*Panax pseudoginseng* Wall.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Tam thất nằm trong kế hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên.

b. Hiện trạng phát triển:

Chủ yếu được trồng ở quy mô nhỏ, quy mô hộ gia đình, trạm y tế cấp xã tại các tỉnh Tây Nguyên.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Kết quả nghiên cứu thành phần hóa học cho thấy tam thất chứa nhiều saponin, trong đó có một số loại saponin tương tự trong sâm ngọc linh như ginsenosid Rg1, ginsenosid Re, ginsenosid Rd, ginsenosid Rb1, ginsenosid Rg3 và ginsenosid Rh1.

d. Dược tính:

Tam thất tăng cường sức đề kháng cũng như hệ miễn dịch; giảm tình trạng căng thẳng thần kinh, ức chế, đồng thời giảm stress, tăng cường trí nhớ; giúp chống lại được tình trạng lão hóa, giúp tăng cường máu và dưỡng chất trong cơ thể; phòng ngừa chống tai biến mạch máu não, giúp máu lưu thông bình thường... được dùng trong các trường hợp huyết áp cao, viêm động mạch vành, đau nhói vùng ngực, đái tháo đường, các chấn thương sưng tấy đau nhức, viêm khớp xương đau loét dạ dày tá tràng, trước và sau phẫu thuật để chống nhiễm khuẩn và chống lành vết thương, cho những người kém trí nhớ, ăn uống kém, ra mồ hôi trộm, lao động quá sức.

e. Khả năng tiêu thụ:

Nhu cầu sử dụng trong y học cổ truyền khá lớn. Cần nghiên cứu tạo thêm nhiều sản phẩm để có thể gia tăng giá trị dược liệu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô hộ gia đình.

Kết luận: Tam thất đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.13. Diệp hạ châu (*Phyllanthus urinaria* L.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Tam thất nằm trong kế hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Lâm Đồng, Đắk Nông.

b. Hiện trạng phát triển:

Diệp hạ châu được trồng chủ yếu ở Lâm Đồng, Đắk Nông, Gia Lai trong thời gian gần đây với diện tích khoảng 15 ha.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Flavonoid, alkaloid phyllanthin và các hợp chất hypophyllanthin, niranthin, phylteralin.

d. Dược tính:

Diệp hạ châu vị đắng, hơi ngọt, tính mát, có tác dụng thanh can lương huyết, lợi tiểu, sát trùng, giải độc. Có khả năng hỗ trợ trong điều trị các bệnh lý về gan.

e. Khả năng tiêu thụ:

Được sử dụng nhiều trong các loại thực phẩm chức năng để hỗ trợ điều trị bệnh gan, Tuy nhiên cần nghiên cứu tạo thêm nhiều sản phẩm để có thể gia tăng giá trị dược liệu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Diệp hạ châu đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.14. Ba kích tím (*Morinda officinalis* F.C.How)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Ba kích tím nằm trong kế hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Lâm Đồng, Kon Tum.

b. Hiện trạng phát triển:

Loài dược liệu này đang được phát triển ở Kon Tum, Lâm Đồng với diện tích khoảng 10 ha.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Ba kích chứa nhiều oligosaccharide (sucrose, kestose, nystose, 1F-Fructofuranosyniystose và bajjiasu), polysaccharide, anthraquinon (1,2-dimethoxyanthraquinon, alizarin-2-methyl ether và rubiadin-1-methyl ether), glycosid iridoid (monotropein).

d. Dược tính:

Chữa các bệnh phong thấp, giảm huyết áp, bổ dương. Người âm hư, hỏa thịnh, táo bón cầm dùm. Một số món ăn cũng sử dụng ba kích làm nguyên liệu chế biến như một thực phẩm chức năng tăng cường sức khỏe sinh dục cho nam giới.

e. Khả năng tiêu thụ:

Dược sử dụng nhiều trong y học cổ truyền và đã có nhiều loại thực phẩm chức năng sử dụng dược liệu này. Tuy nhiên cần nghiên cứu tạo thêm nhiều sản phẩm để có thể gia tăng giá trị dược liệu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Ba kích tím đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.15. Gừng (*Zingiber officinale* Roscoe)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Gừng nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg và quy hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên.

b. Hiện trạng phát triển:

Cây gừng được trồng phổ biến ở Tây Nguyên, Gia Lai và Đắk Lắk là 2 địa phương có diện tích trồng gừng nhiều nhất với diện tích trên 50 ha.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Tinh dầu (1-3%) trong đó thành phần chính gồm zingiberene, sesquiphellandrene và beta-bisabolene. Chất cay (1-2,5%) gồm nhóm gingerols và shogaols, phần lớn trong số đó là 6-gingerol. Các thành phần beta-sesquiphellandrene và (-)-zingiberene cao nhất

trong gừng tươi, và phân hủy khi sấy và lưu trữ. Các gingerols dần dần phân hủy thành shogaols.

d. Dược tính:

Gừng tươi chữa cảm mạo, phong hàn, nhức đầu, ngạt mũi, ho có đờm, nôn mửa, bụng đầy trướng. Dùng làm thuốc kích thích tiêu hoá, tăng bài tiết, sát trùng, hành thủy, giải độc ngứa do bán hạ, cua cá, chim, thú độc. Gừng nướng chữa đau bụng, lạnh dạ, đi ngoài. Gừng khô, gừng sao chữa đau bụng lạnh, đầy trướng không tiêu, thổ tả, chân tay giá lạnh, mạch nhỏ, đàm ẩm, ho suyễn và thấp khớp. Gừng than chữa đau bụng lạnh, máu hàn, tay chân lạnh, nhức mỏi, tê bại, băng huyết. Vỏ gừng có vị cay mát chữa phù thũng.

e. Khả năng tiêu thụ:

Được sử dụng làm thực phẩm, dùng trong y học cổ truyền và đã có nhiều loại thực phẩm chức năng sử dụng dược liệu này. Không chỉ sử dụng trong nội địa mà còn xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Gừng đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.16. Sả (Cymbopogon sp.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Sả nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg và quy hoạch phát triển dược liệu của các tỉnh Tây Nguyên.

b. Hiện trạng phát triển:

Các loại sả được trồng phổ biến ở Tây Nguyên.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Chủ yếu là tinh dầu. Tùy thuộc vào các loài sả khác nhau mà thành phần của tinh dầu cũng khác nhau. Thành phần chính của tinh dầu là monoterpene và sesquiterpene như citral, citronellal, citronellol, geraniol...

d. Dược tính:

Giúp tiêu hóa tốt, chữa đau bụng, rối loạn tiêu hóa; giải độc; hạ huyết áp...

e. Khả năng tiêu thụ:

Được sử dụng làm thực phẩm, dùng trong y học cổ truyền và chủ yếu là dùng trong công nghiệp hương liệu. Sử dụng rộng rãi trong nước. bên cạnh đó, tinh dầu được dùng trong nước và xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Sản phẩm đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.17. Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Hương nhu trắng nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg.

b. Hiện trạng phát triển:

Hương nhu trắng được trồng ở quy mô nhỏ chưa tương xứng với yêu cầu phát triển.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Trong hoa, lá khô đều có tinh dầu (ở hoa 2,77%, ở lá 1,38% ở phần cây trên mặt đất 1,14%) mà thành phần chủ yếu là eugenol 74%. D-germacren 8,8%, cis b-ocimen 7%.

d. Dược tính:

Giải cảm nhiệt, lợi tiểu.

e. Khả năng tiêu thụ:

Được sử dụng trong y học cổ truyền, sản xuất thực phẩm chức năng và sản xuất tinh dầu. Sử dụng rộng rãi trong nước. bên cạnh đó, tinh dầu được dùng trong nước và xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Hương nhu trắng đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.18. Trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium* L.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Trinh nữ hoàng cung nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg.

b. Hiện trạng phát triển:

Trinh nữ hoàng cung được trồng ở quy mô nhỏ chưa tương xứng với yêu cầu phát triển.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Có glucoalcaloid như latisolin; alcaloid pirolophenanthrindon như pratorimin, pratosin, pratorinmin, ambelin và lycorin; một số dẫn chất alcaloid có tác dụng chống ung thư như crinafolin và crinafolidin; alcaloid pyrrolophenanthridin như 2-epilycorin và 2-epipancrassidin.

d. Dược tính:

Lá cây trinh nữ hoàng cung để chữa những trường hợp u xơ, ung thư tử cung, u xơ và ung thư tiền liệt tuyến do khả năng ngăn chặn sự phát triển của tế bào u và kích thích tế bào lympho T hoạt động và phát triển.

e. Khả năng tiêu thụ:

Được dùng trong y học cổ truyền và đã có nhiều loại thực phẩm chức năng sử dụng dược liệu này. Không chỉ sử dụng trong nội địa mà còn xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Trinh nữ hoàng cung đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.19. Bạch truật (*Atractylodes macrocephala* Koidz.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Bạch truật nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg và ưu tiên phát triển ở Lâm Đồng.

b. Hiện trạng phát triển:

Bạch truật được trồng ở Lâm Đồng và một số địa phương khác nhưng diện tích còn nhỏ.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Trong Bạch truật có tinh dầu với thành phần chính là các sesquiterpene (Humulene, b-Elemol, a-Curcumene, Atractylone, 3b-Acetoxyatractylone, Selian-4(14),7(11)-Diene-8-One, Eudesmon...), acid béo (Palmitic acid)

d. Dược tính:

Bổ khí, kiện Tỳ, táo thấp, lợi thủy, cầm mô hôi và an thai. Chủ trị các chứng Tỳ Vị khí hư, chứng thủy thũng, chứng đàm ẩm, chứng khí hư tự hãn và thai động.

e. Khả năng tiêu thụ:

Được dùng trong y học cổ truyền và đã có nhiều loại thực phẩm chức năng sử dụng dược liệu này. Không chỉ sử dụng trong nội địa mà còn xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Bạch truật đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.20. Đỗ trọng (*Eucommia ulmoides* Oliv.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Đỗ trọng nằm trong quy hoạch của vùng theo Quyết định 1976/QĐ-TTg và ưu tiên phát triển ở Lâm Đồng.

b. Hiện trạng phát triển:

Đỗ trọng được trồng ở nhiều nơi tại vùng Tây Nguyên, tuy nhiên quy mô không lớn.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Vỏ cây chứa gutta-percha, chất nhựa, glucosid aucubin, loganin, lipid, protid, tinh dầu, acid chlorogenic.

d. Dược tính:

Điều trị phong thấp, tê ngứa, đau lưng dưới, đau đầu gối cũng như để ngăn ngừa sảy thai và hạ huyết áp tùy theo cách dùng như dùng sống, sao đen, tẩm muối (rượu) đem sao. Ngoài ra còn có tác dụng bổ Thận, là một vị thuốc chủ đạo trong các phương thuốc điều trị bệnh về thận và xương khớp.

e. Khả năng tiêu thụ:

Được dùng trong y học cổ truyền và đã có nhiều loại thực phẩm chức năng sử dụng dược liệu này. Không chỉ sử dụng trong nội địa mà còn xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển

Phù hợp với điều kiện ở Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Đỗ trọng đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.21. Thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Thông đỏ nằm trong quy hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Lâm Đồng.

b. Hiện trạng phát triển:

Thông đỏ được trồng chủ yếu ở Lâm Đồng..

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Chủ yếu là các hợp chất taxoid như 10-DAB III, taxol, cephalomannine...

d. Dược tính

Taxol có khả năng điều trị ung thư vú và một số loại ung thư khác

e. Khả năng tiêu thụ:

Có khả năng sử dụng trong nước cũng như xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở một số khu vực thuộc Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Thông đỏ đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.

PL3.1.22. Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.)

a. Quy hoạch (quốc gia, vùng, tỉnh):

Sâm cau nằm trong quy hoạch phát triển dược liệu của tỉnh Lâm Đồng, Kon Tum và Đắk Nông.

b. Hiện trạng phát triển:

Được trồng thử nghiệm ở Lâm Đồng, Đắk Nông.

c. Tình hình nghiên cứu hóa học:

Chủ yếu là các hợp chất curculigoside.

d. Dược tính:

Sâm cau có vị cay, ngọt, tính ấm, quy kinh vào hai kinh can thận. Sâm cau có tác dụng ôn thận, tráng dương, kiện gân cốt, cố tinh, trừ lạnh, giảm chân tay tê mỏi, đau nhức xương khớp cho cả nam và nữ. Đặc trị: thận dương yếu, liệt dương, lạnh kinh niên, viêm khớp, đau do lạnh.

e. Khả năng tiêu thụ:

Có khả năng sử dụng trong nước cũng như xuất khẩu.

f. Mức độ phù hợp phát triển:

Phù hợp với điều kiện ở một số khu vực thuộc Tây Nguyên, có thể phát triển ở quy mô lớn.

Kết luận: Sâm cau đáp ứng đầy đủ các tiêu chí đề ra nên được chọn lựa để đưa vào danh mục dược liệu chủ lực của vùng Tây Nguyên.



Ardisia tinctoria



Ardisia thyrsoiflora



*Arisaema
roxburghii*



*Anadendrum
latifolium*



*Alphonsea
gaudichaudiana*



*Hypolytrum
nemorum*



*Polygonum
posumbu*



Smilax cuculloides



Smilax megalantha



Smilax verticalis



*Ophiopogon
pierrei*



*Hedychium
stenopetalum*



*Commersonia
bartramia*



Curculigo latifolia



*Molineria
capitulata*



*Peliosanthes
violacea*



Fibraurea recisa



*Syzygium
stictanthum*



Popowia pisocarpa



*Fissistigma
oldhamii*



*Fissistigma
rufinerve*



*Fissistigma
taynguyenense*



*Uvaria
calamistrata*



*Beilschmiedia
tsangii*



Licuala fatua



Calamus viminalis



Litsea verticillata



Litsea lancifolia



Litsea clongata



Olea salicifolia



*Diospyros
susarticulata*



Piper thomsonii



*Vaccinium
bracteatum*



*Ardisia
sanguinolenta*



*Timonius
jambosella*

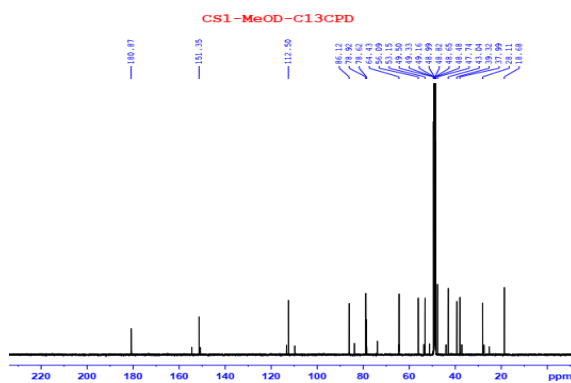


Piper penangense

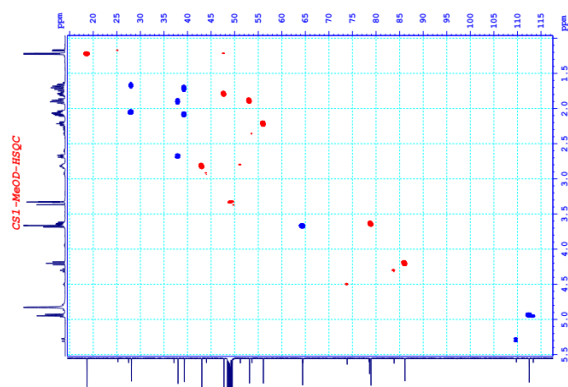


*Aglaia
odotratissima*

Hình PL3.1.23. Tiêu bản các loài dược liệu bổ sung vào danh mục



PL3.2.1.1a. Phổ ^{13}C NMR của CS1

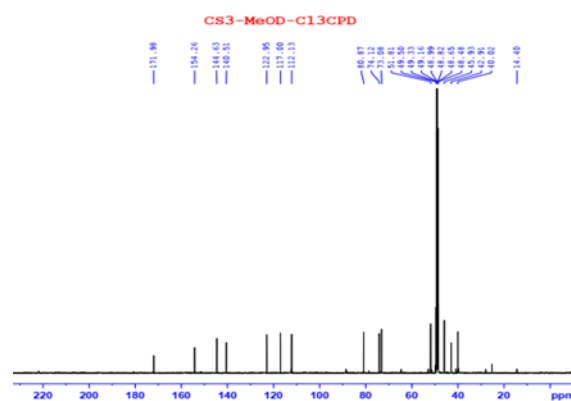


PL3.2.1.1b. Phổ HSQC của CS1

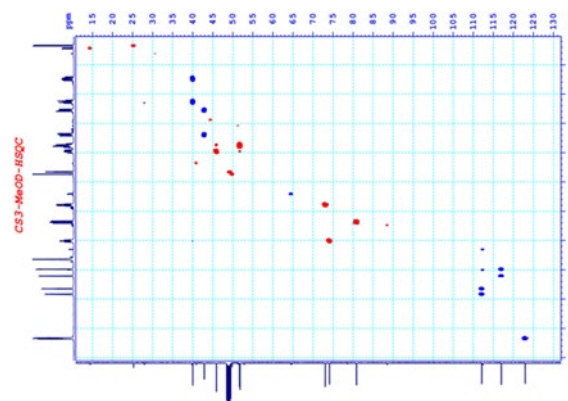
Bảng PL3.2.1.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS1 và chất so sánh

Position	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	42.7	43.04	CH	2.80 m	2, 5, 6, 10, 14
2	39.4	39.32	CH ₂	1.70/2.09	3, 5, 10
3	78.1	78.92	CH	3.63 m	15
4	47.6	47.74	CH	1.80 m	3, 5, 6
5	52.6	53.15	CH	1.87 m	1, 4, 6, 7, 15
6	78.6	86.12	CH	4.20 t (10.0)	1, 4, 8
7	55.8	56.09	CH	2.22 m	5, 6, 8, 9, 11, 13
8	28.0	28.11	CH ₂	1.67 dd (3.5, 13.0) 2.04 m	6, 7, 9
9	37.8	37.99	CH ₂	1.90 m 2.68 td (4.0, 13.0)	1, 7, 8, 14
10	150.9	151.35	C	-	
11	85.2	78.62	C	-	
12	180.3	180.87	C	-	
13	64.8	64.43	CH ₂	3.66 s	7, 11, 12
14	112.1	112.50	CH ₂	4.93 s 4.95 s	1, 9
15	19.0	18.68	CH ₃	1.22 d (6.5)	3, 4, 5

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#] δ_{C} của Cynaratriol đo trong pyridin



PL3.2.1.2a. Phổ ^{13}C NMR của CS3

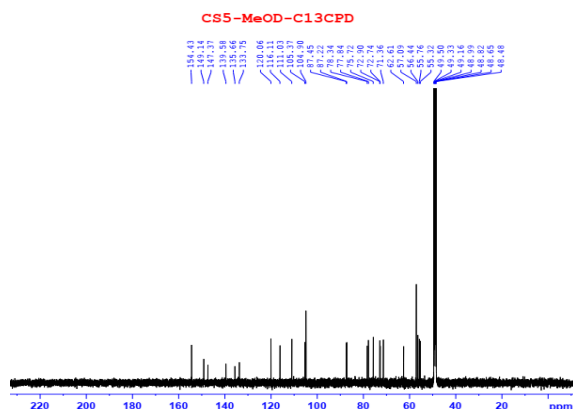


PL3.2.1.2b. Phổ HSQC của CS3

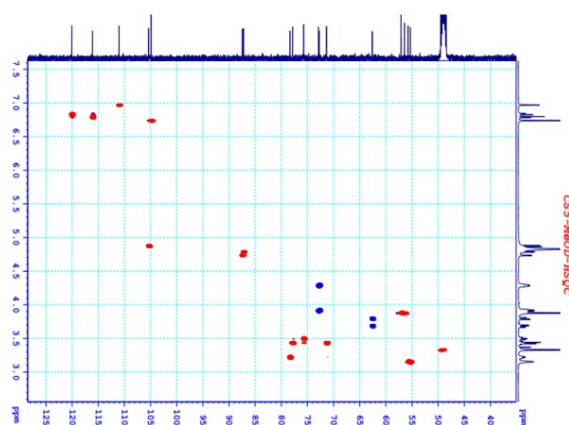
Bảng PL3.2.1.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS3 và chất so sánh

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	46.0	45.93	CH	2.99 m	2, 5, 6, 10, 14
2	40.0	40.02	CH ₂	1.73 m/2.13 m	1, 3, 5, 10
3	73.1	74.12	CH	4.50 m	4, 15
4	154.3	154.26	C	-	
5	51.9	51.81	CH	2.90	
6	80.9	80.87	CH	4.19 dd (9.0, 10.5)	4, 5, 7, 8
7	51.7	51.79	CH	2.90	
8	74.1	73.08	CH	3.89 m	7, 10, 11
9	42.9	42.91	CH ₂	2.27 dd (4.5, 14.0) 2.69 dd (5.0, 14.0)	1, 7, 8, 10, 14
10	144.7	144.63	C	-	
11	140.6	140.51	C	-	
12	172.0	171.98	C	-	
13	122.9	122.95	CH ₂	6.17 s	7, 11, 12
14	117.0	117.00	CH ₂	4.99 d (2.0) 5.10 d (2.0)	1, 9, 10
15	112.1	112.13	CH ₂	5.32 s/5.42 s	3, 4, 5

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, # δ_C của Deacyleynaropicrin methanol-d₄



PL3.2.1.3a. Phổ ¹³C NMR của CS5



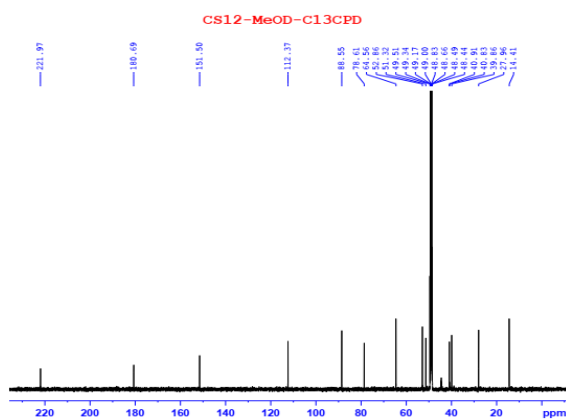
PL3.2.1.3b. Phổ HSQC của CS5

Bảng PL3.2.1.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS5 và chất so sánh

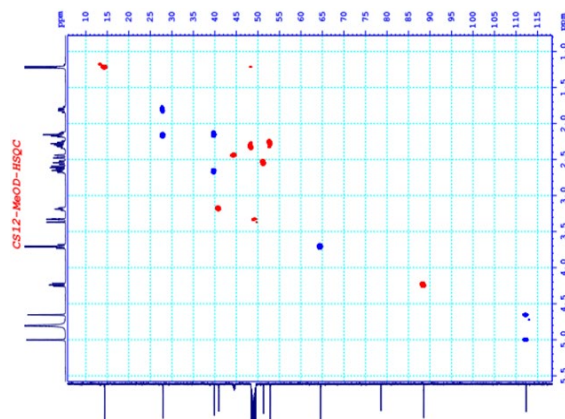
Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	132.3	133.75	C	-	
2	110.7	111.03	CH	6.97 d (2.0)	
3	147.6	149.14	C	-	
4	146.0	147.35	C	-	
5	115.2	116.11	CH	6.79 d (8.0)	1, 3, 4, 6
6	118.7	120.06	CH	6.84 dd (2.0, 8.0)	
7	85.1	87.45	CH	4.73 d (3.5)	1, 2, 6, 8', 9'
8	53.8	55.32	CH	3.15 br s	
9	71.1	72.74	CH ₂	3.92/4.29	

11	137.4	139.71	C	-	
12	169.4	171.23	C	-	
13	122.9	122.40	CH ₂	5.67 d (3.0) 6.14 d (3.0)	7, 11, 12
14	118.3	118.14	CH ₂	5.16 s/4.94 s	1, 9
15	113.6	112.75	CH ₂	5.36 s/5.46 s	3, 4, 5
16	165.4	166.60	C	-	
17	139.4	141.39	C	-	
18	126.8	126.00	CH ₂	5.99 d (1.0) 6.33 d (1.0)	16, 19
19	62.1	61.64	CH ₂	4.33 s	16, 17, 18

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#]δ_C của Cynaropicrin trong CDCl₃



3.2.1.5a. Phổ 13C NMR của CS12



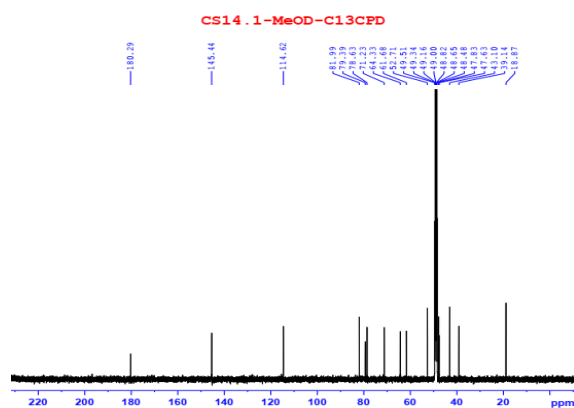
PL3.2.1.5b. Phổ HSQC của CS12

Bảng PL3.2.1.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS12 và chất so sánh

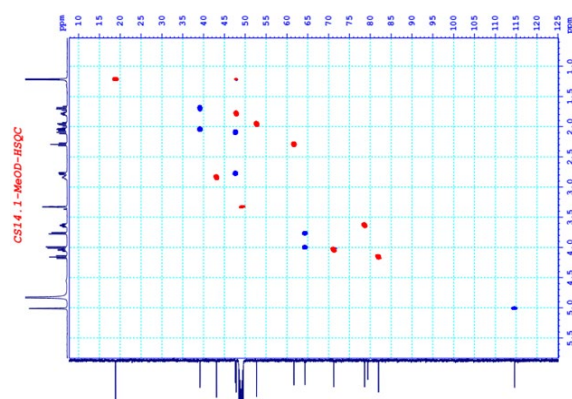
Position	#δ _C	δ _C ^{a,b}	DEPT	δ _H ^{a,c} mult. (J = Hz)	HMBC
1	47.17	40.91	CH	3.19 m	2, 5, 6, 10, 14
2	43.67	44.80	CH ₂	2.47 m	3, 5, 10
3	218.45	222.97	C	-	15
4	39.73	48.20	CH	2.32 m	3, 5, 6
5	51.47	52.86	CH	2.26 m	1, 4, 6, 7, 15
6	86.68	88.55	CH	4.24 dd (8.5, 10.0)	1, 4, 8
7	49.75	51.32	CH	2.54 m	5, 6, 8, 9, 11, 13
8	27.26	27.96	CH ₂	1.80 m/2.15 m	6, 7, 9
9	38.44	39.86	CH ₂	2.15 m/2.67 m	1, 7, 8, 14
10	148.83	151.50	C	-	
11	75.58	78.61	C	-	
12	175.90	180.69	C	-	
13	64.10	64.56	CH ₂	3.70 dd (10.5, 15.0)	7, 11, 12
14	112.28	112.37	CH ₂	4.65 s 5.00 s	1, 9
15	14.15	14.41	CH ₃	1.22 d (6.5)	3, 4, 5

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz,

[#]δ_C của 11,13-dihydroxy-3-oxo-10(14)-guaien-12,6-olide 11-acetat trong CDCl₃



PL3.2.1.6a. Phổ ^{13}C -NMR của CS14.1

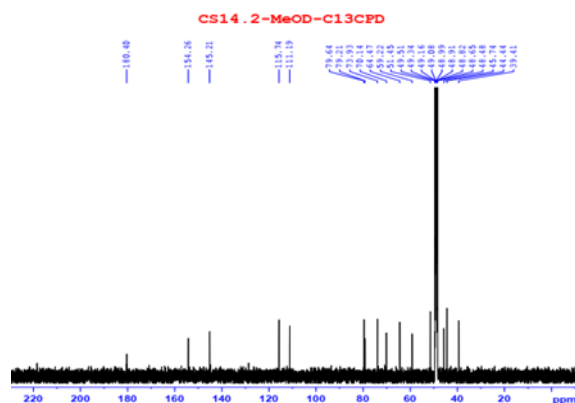


PL3.2.1.6b. Phổ HSQC của CS14.1

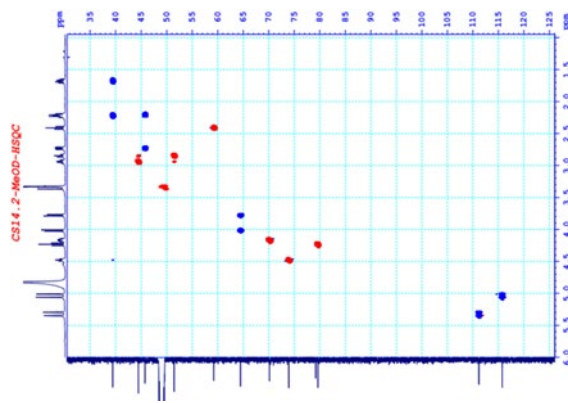
Bảng PL3.2.1.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS14.1 và chất so sánh

Position	CS1	δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	43.04	43.1	43.10	CH	2.84 m	
2	39.32	39.1	39.14	CH_2	1.70 m/2.03 m	1, 3, 10
3	78.92	78.6	78.63	CH	3.63 m	15
4	47.74	47.8	47.63	CH	1.79 m	3, 6
5	53.15	52.6	52.71	CH	1.97 m	1, 2, 4, 6, 7, 15
6	86.12	82.0	81.99	CH	4.16 t (10.0)	1, 4, 8
7	56.09	61.7	61.68	CH	2.29 t (10.0)	5, 6, 8, 9, 11, 13
8	28.11	71.2	71.23	CH	4.05 dt (4.5, 10.5)	7, 10, 11
9	37.99	47.7	47.83	CH_2	2.10 d (12.0) 2.78 dd (4.0, 12.0)	1, 7, 8, 14
10	151.35	145.4	145.44	C	-	
11	78.62	79.4	79.39	C	-	
12	180.87	180.4	180.29	C	-	
13	64.43	64.3	64.33	CH_2	3.76 d (10.5) 4.00 d (10.5)	7, 11, 12
14	112.50	114.7	114.62	CH_2	5.01 br s	1, 9, 10
15	18.68	18.9	18.87	CH_3	1.21 d (6.5)	3, 4, 5

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#] δ_{C} của 3 β ,8 α ,11 α ,13-tetrahydroxy-10(14)-guiaen-1 α ,4 β ,5 α ,6H β -6 α ,12-olide



PL3.2.1.7a. Phổ ^{13}C NMR của CS14.2

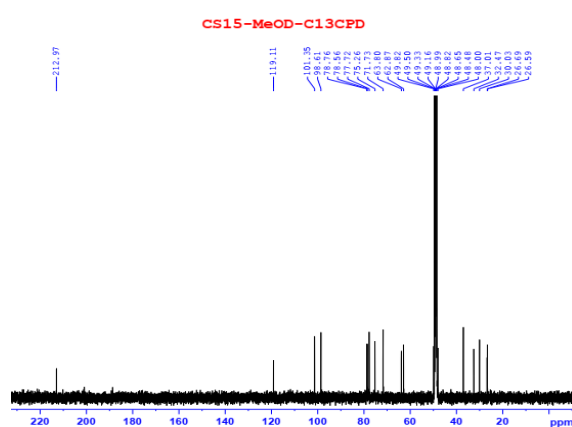


PL3.2.1.7b. Phổ HSQC của CS14.2

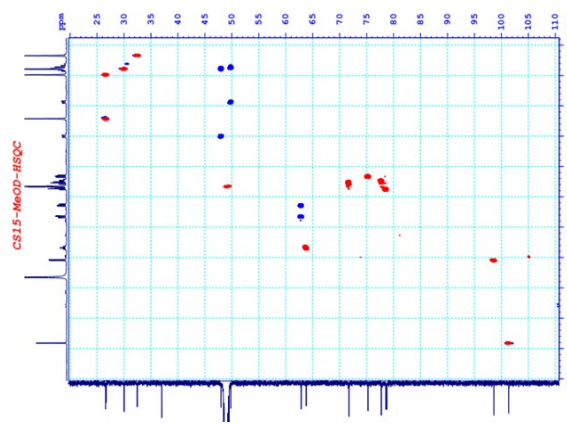
Bảng PL3.2.1.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS14.2 và chất so sánh

Position	CS14.1	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	43.10	44.44	CH	2.94 m	5, 6, 14
2	39.14	39.41	CH ₂	1.67/2.21	1, 3, 10
3	78.63	73.93	CH	4.48 m	4, 15
4	47.63	154.26	C	-	
5	52.71	51.45	CH	2.85 m	1, 4, 6, 15
6	81.99	79.64	CH	4.23 t (10.0)	1, 4, 8
7	61.68	59.22	CH	2.41 t (10.0)	5, 8, 9, 11, 13
8	71.23	70.14	CH	4.16 m	7, 10, 11
9	47.83	45.74	CH ₂	2.23 m 2.73 dd (5.0, 13.0)	1, 7, 8, 10, 14
10	145.44	145.21	C	-	
11	79.39	79.21	C	-	
12	180.29	180.40	C	-	
13	64.33	64.47	CH ₂	3.78 d (10.5) 4.01 d (10.5)	7, 11, 12
14	114.62	115.74	CH ₂	5.01 s/5.06 s	1, 9, 10
15	18.87	111.19	CH ₂	5.30 s/5.35 s	3, 4, 5

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz



PL3.2.1.8a. Phổ ¹³C NMR của CS15



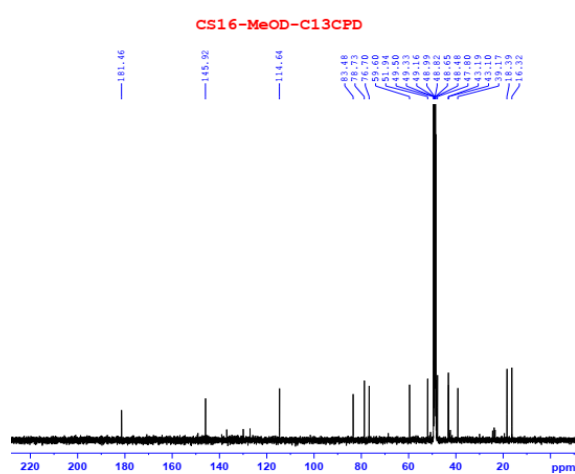
PL3.2.1.8b. Phổ HSQC của CS15

Bảng PL3.2.1.8. Số liệu phổ của chất CS15

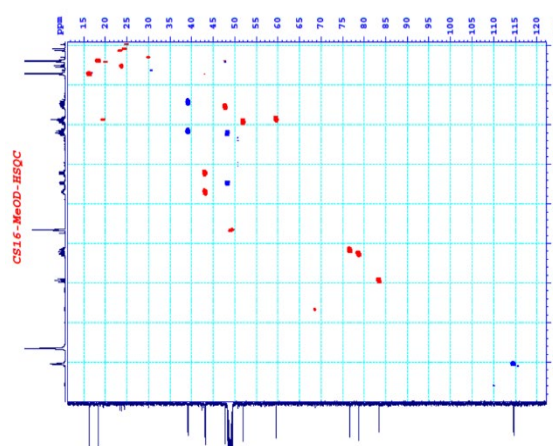
Position	¹ δ_C	² δ_C	$\delta_C^{a,c}$	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	36.4	36.2	37.01	C	-	
2	50.1	50.1	49.82	CH ₂	1.39/1.93 m	3, 4, 6
3	62.5	62.4	63.80	CH	4.34 m	
4	47.5	46.8	48.00	CH	1.40/2.49 m	2, 3, 5, 6
5	78.1	78.6	78.76	C	-	
6	118.7	118.8	119.11	C	-	
7	197.6	199.0	212.97	C	-	
8	100.8	100.9	101.35	CH	5.91 s	5, 6, 9, 10, 11, 12
9	211.4	211.2	201.0	C	-	

10	26.5	27.1	26.69	CH ₃	2.21 s	8, 9
11	27.0	32.5	32.47	CH ₃	1.17 s	1, 2, 6, 12
12	29.7	29.6	30.03	CH ₃	1.39 s	1, 2, 6, 11
13	32.3	27.6	26.56	CH ₃	1.49 s	4, 5, 6
1'	98.4	98.4	98.61	CH	4.54 d (7.5)	5
2'	75.1	75.2	75.26	CH	3.16 dd (8.0, 9.0)	
3'	79.0	79.1	78.56	CH	3.37	
4'	71.7	71.7	71.73	CH	3.27 t (9.5)	
5'	78.0	78.0	77.72	CH	3.21 m	
6'	62.8	62.8	62.87	CH ₂	3.63 dd (5.0, 12.0) 3.83 dd (2.5, 12.0)	

¹δ_C Citroside A, ²δ_C Citroside B, ^b đo trong methanol-d₄, ^c125MHz, ^d500MHz



PL3.2.1.9a. Phổ ¹³C NMR của CS16

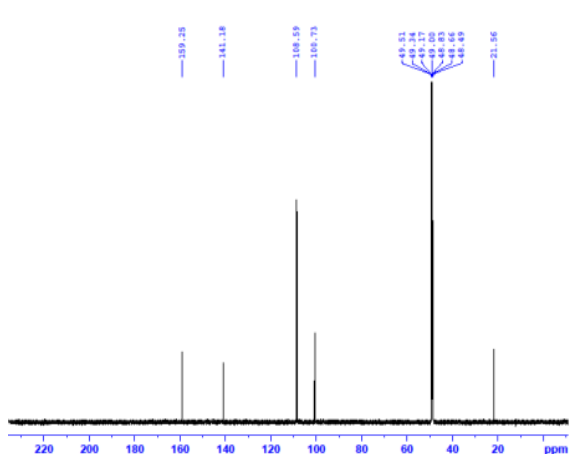


PL3.2.1.9b. Phổ HSQC của CS16

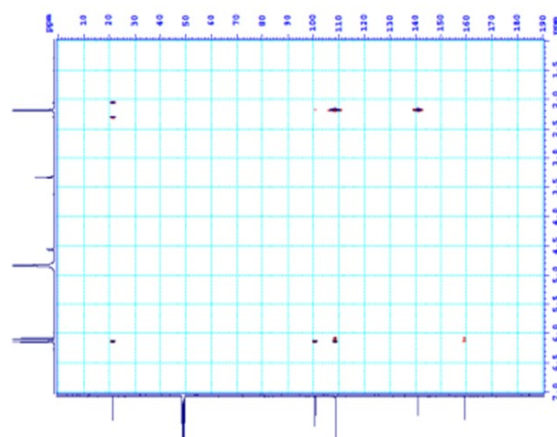
Bảng PL3.2.1.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất CS16 và chất so sánh

Position	#δ _C	δ _C ^{a,b}	DEPT	δ _H ^{a,c} mult. (J = Hz)	HMBC
1	43.0	43.19	CH	2.86 m	2, 5, 6, 10, 14
2	39.4	39.17	CH ₂	1.70 m/2.08 m	1, 3, 10
3	78.0	78.73	CH	3.64 m	15
4	47.7	47.80	CH	1.78 m	
5	51.6	51.94	CH	1.97 m	1, 4, 7, 15
6	82.2	83.48	CH	3.97 t (10.0)	4, 8, 11
7	58.9	56.60	CH	1.93 m	5, 6, 8, 11, 13
8	76.1	76.70	CH	3.57 m	6, 7, 11
9	48.7	48.48	CH ₂	2.10 m 2.73 m	
10	145.8	145.92	C	-	
11	42.6	43.10	C	-	
12	179.0	181.46	C	-	
13	16.7	16.32	CH ₃	1.35 d (7.0)	7, 11, 12
14	113.9	114.64	CH ₂	5.01 s/5.02 s	1, 9, 10
15	18.6	18.39	CH ₃	1.19 d (6.5)	3, 4, 5

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#]δ_C isolipidio trong pyridin



Hình PL3.2.2.1a. Phổ ^{13}C của CO1

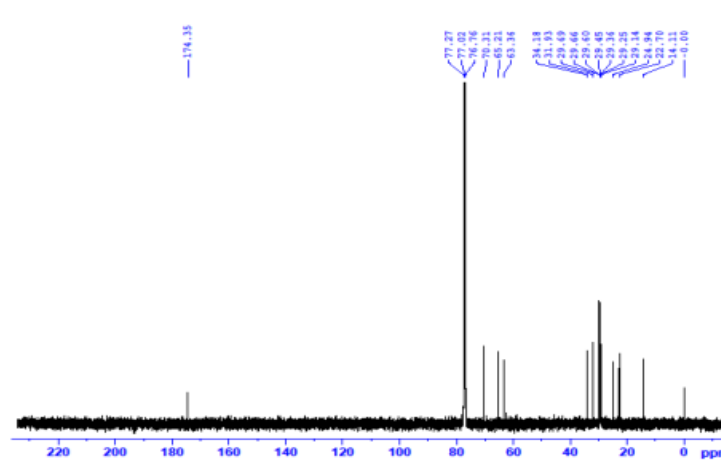


PL3.2.2.1b. Phổ HMBC của CO1

Bảng PL3.2.2.1. Giá trị phổ NMR của hợp chất CO1

Position	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	139.7	141.18	C		
2,6	107.4	108.59	CH	6.14 d (1.0)	2, 6, 7, 4, 3, 5
3, 5	158.2	159.25	C		
4	99.7	100.73	CH	6.09 dt (0.5, 2.0)	2, 3, 5, 6
7	20.6	21.56	CH ₃	2.17 s	1, 2, 6

^a đo trong MeOD, ^b125MHz, ^c500MHz, # δ_{C} orcinol trong acetone-*d*₆



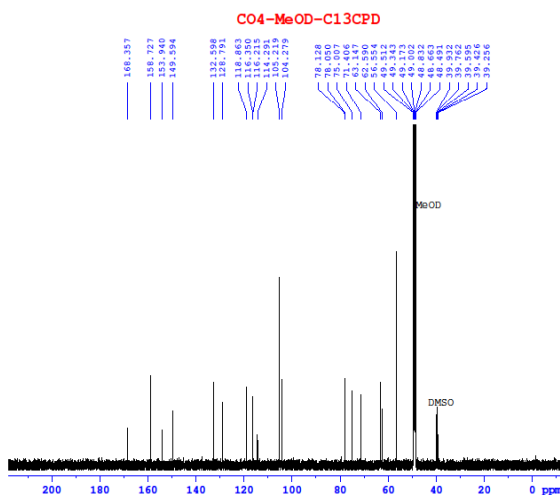
PL3.2.2.2a. Phổ ^{13}C NMR (CDCl₃, 125 MHz) của hợp chất CO2

Bảng PL3.2.2.2. Giá trị phổ của hợp chất CO2

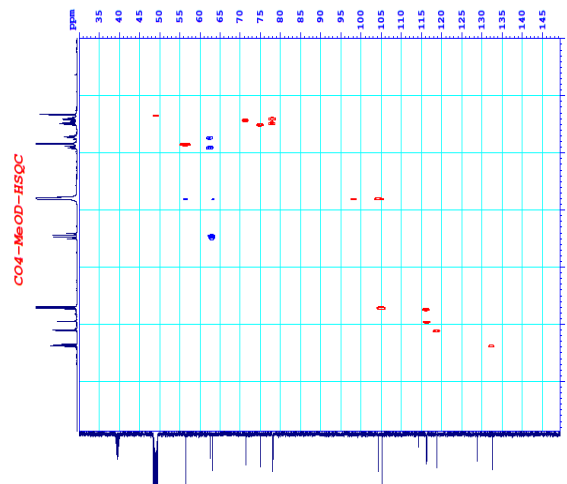
Position	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ multi. ($J = \text{Hz}$)
1	174.35	C	
2	34.18	CH ₂	2.35 t (7.5)
3	24.94	CH ₂	1.63 t (8.0)
4→14	29.1-29.6	CH ₂	
15	29.14	CH ₂	
16	31.93	CH ₂	
17	22.70	CH ₂	
18	14.11	CH ₃	0,89 t (7.0)

1'	65.21	CH ₂	4.21 dd (4.5, 11.5) 4.15 dd (6.0, 11.5)
2'	70.31	CH	3.93 m
3'	63.36	CH ₂	3.70 dd (4.0, 11.5) 3.60 dd (5.5, 11.5)

^a đo trong CDCl₃, ^b 125MHz, ^c 500MHz



PL3.2.2.3a. Phổ ¹³C-NMR của CO4



PL3.2.2.3b. Phổ HSQC của CO4

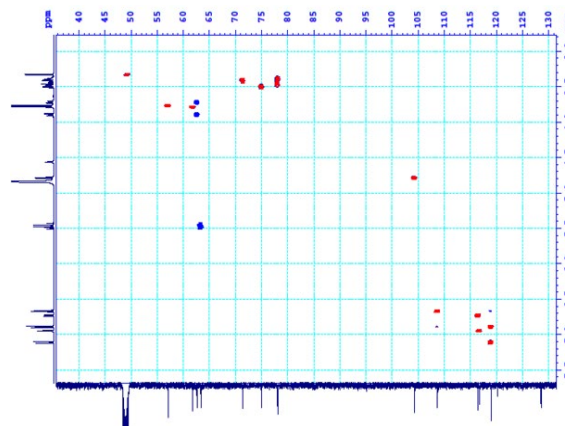
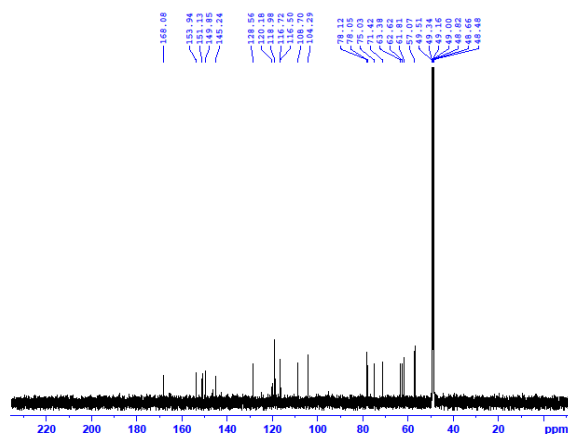
Bảng PL3.2.2.3. Giá trị phổ NMR của CO4

Position	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ multi. ($J = \text{Hz}$)
1	128.8	128.8	C	
2	154.2	153.9	C	
3	116.5	116.4	C	7.11 d (9.0)
4	119.1	118.9	CH	6.73 dd (3.0, 9.0)
5	149.9	149.6	C	
6	116.4	116.2	CH	6.95 d (3.0)
1'	114.5	114.3	C	
2'	159.0	158.7	C	
3'	105.4	105.2	CH	6.70 d (8.5)
4'	132.8	132.6	C	7.37 t (8.5)
5'	105.4	105.2	CH	6.70 d (8.5)
6'	159.0	158.7	C	
1''	104.6	104.3	CH ₂	4.79 d (7.0)
2''	75.3	75.0	CH	3.50 m
3''	78.4	78.1	CH	3.39 m
4''	71.6	71.4	CH	3.41 m
5''	78.3	78.0	CH	3.46 m
6''	62.8	62.6	CH	3.73 m/3.90 m
OCH ₃	56.7	56.6	CH ₃	3.84 s
7	63.4	63.1	CH ₂	5.49 d (13.0)/5.43 d (13.0)
7'	168.8	168.4	C	

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, * δ_C Curculigoside (CD₃OD, 100MHz)

6	131.74	136.33	CH	7.41 t (8.5)	1, 2, 3, 4, 5
1'	170.08	172.89	C		
2'	51.98	57.21	CH ₃	3.98 s	

^aMeOD, ^b125MHz, ^c500MHz, * δ_C Methyl 2,4-dihydroxybenzoate trong MeOD



PL3.2.2.6a. Phổ ¹³C-NMR của CO7

PL3.2.2.6b. Phổ HSQC của CO7

Bảng PL3.2.2.6. Giá trị phổ của hợp chất CO7

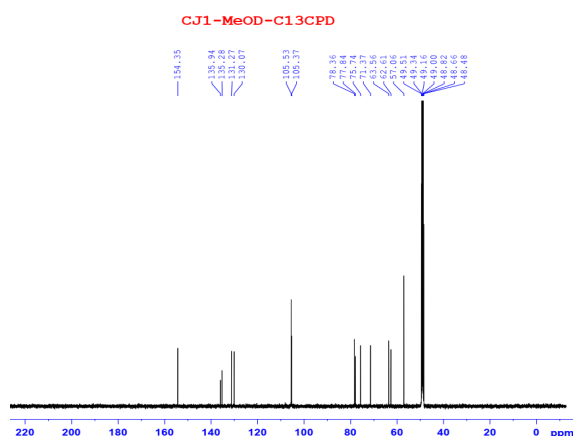
Position	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ multi. (J = Hz)	HMBC
1	126.5	128.56	C		
2	147.6	149.85	C		
3	117.2	118.98	CH	7.11 d (8.5)	1, 2, 5, 6, 7
4	114.9	116.5	CH	6.73 dd (3.0, 8.5)	2, 5, 6
5	152.3	153.94	C		
6	114.6	116.72	CH	6.95 d (3.0)	2, 4, 5, 7
1'	118.7	120.18	C		
2'	144.6	146.60	C		
3'	143.8	145.24	C		
4'	117.6	118.98	CH	6.89 d (9.0)	1', 2', 3', 6'
5'	107.3	108.70	CH	6.67 d (9.0)	1', 3', 6', 7'
6'	148.5	151.13	C		
1''	102.5	104.29	CH	4.79 d (7.5)	2
2''	73.3	75.03	CH	3.50 m	1'', 3'', 5''
3''	77.0	78.12	CH	3.39 m	
4''	69.8	71.42	CH	3.41 m	3'', 5''
5''	76.5	78.05	CH	3.47 m	
6''	60.8	62.62	CH ₂	3.72 m, 3.90 m	4'', 5'', 6''
7	61.5	63.38	CH ₂	5.47 q	1, 2, 6, 7'
2'-OCH ₃	60.5	61.81	CH ₃	3.79 s	2'
6'-OCH ₃	56.1	57.07	CH ₃	3.77 s	6'

^ađo trong MeOD, ^b125MHz, ^c500MHz, * δ_C Curculigoside C (CD₃OD, 125MHz)

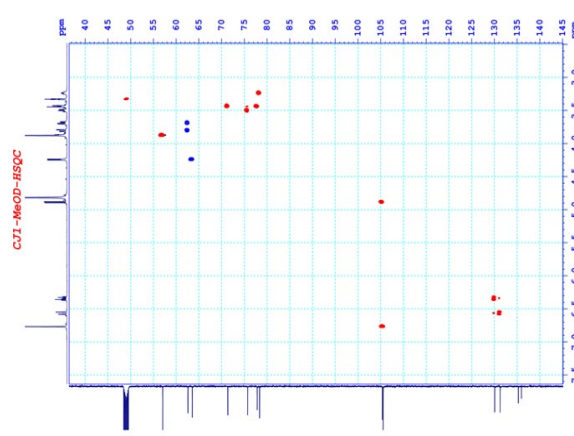
Bảng PL3.2.2.9. Giá trị phổ NMR của hợp chất CO11

C	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ ($J = Hz$)	C	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ ($J = Hz$)
1	37,27	37,27	CH ₂		16	28,25	28,25	CH ₂	
2	31,64	31,66	CH ₂		17	56,08	56,09	CH	
3	71,77	71,81	CH	3,54 m	18	11,89	11,87	CH ₃	0,68 s
4	42,29	42,33	CH ₂		19	19,39	19,40	CH ₃	1,00 s
5	140,76	140,77	C		20	36,15	36,16	CH	
6	121,69	121,72	CH	5,35 brd	21	18,8	18,79	CH ₃	0,92 d (6,5)
7	31,92	31,93	CH ₂		22	33,96	33,97	CH ₂	
8	31,92	31,93	CH		23	26,11	26,13	CH ₂	
9	50,15	50,16	CH		24	45,85	45,87	CH	
10	36,51	36,52	C		25	29,18	29,19	CH ₂	
11	21,1	21,10	CH ₂		26	19,82	19,82	CH ₃	0,81 d (7,0)
12	39,8	39,80	CH ₂		27	19,05	19,05	CH	0,83 d (7,0)
13	42,33	42,31	C		28	23,08	23,09	CH ₃	
14	56,78	56,79	CH		29	11,99	11,99	CH ₃	0,84 t (7,0)
15	24,31	24,31	CH ₂						

^ađo trong CDCl₃, ^b125MHz, ^c500MHz, * δ_C β -sitosterol (CDCl₃; 75MHz)



PL3.2.3.1a. Phổ ¹³C NMR của CJ1



PL3.2.3.1b. Phổ HSQC của CJ1

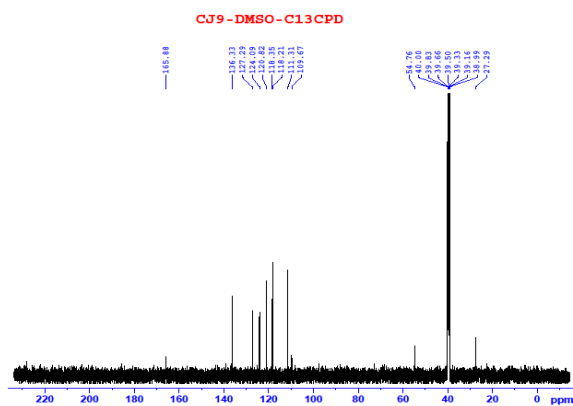
Bảng PL3.2.3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ1 và chất so sánh

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = Hz$)	HMBC
1	135.9	135.94	C	-	
2,6	154.4	154.38	C	-	
3,5	105.5	105.53	CH	6.77 s	1, 4, 6
4	135.3	135.28	C	-	
7	131.7	131.27	CH	6.56 d (16.0)	3, 4, 5, 8, 9
8	130.1	130.07	CH	6.34 td (5.5, 16.0)	
9	63.6	63.56	CH ₂	4.24 dd (1.5, 5.5)	
2,6-OCH ₃	57.1	57.06	CH ₃	3.88 s	2, 6
1'	105.4	105.37	CH	4.88 d (7.5)	
2'	75.8	75.74	CH	3.51	

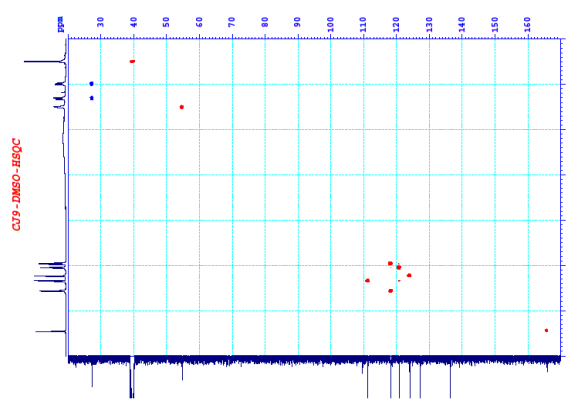
Bảng PL3.2.3.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ6.1 và chất so sánh

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	138.1	139.11	C		
2,6	129.4	129.18	CH	7.45	
3,5	129.3	129.27	CH	7.34	
4	129.0	128.65	CH	7.29	
7	72.2	71.92	CH ₂	4.68 d (7.0) 4.93 d (7.0)	1, 2, 6, 1'
1'	102.7	103.39	CH	4.38 d (8.0)	7
2'	74.4	75.09	CH	3.28	1', 3'
3'	77.1	77.96	CH	3.38	
4'	70.7	71.70	CH	3.38	
5'	76.2	76.98	CH	3.47 m	4'
6'	69.3	69.53	CH ₂	3.77 dd (5.5, 11.5) 4.14 dd (2.0, 11.5)	4'
1''	104.8	105.18	CH	4.36 d (7.0)	6'
2''	71.9	72.39	CH	3.63 dd (6.5, 8.5)	
3''	73.6	74.19	CH	3.54	
4''	69.4	69.45	CH	3.82 m	
5''	67.0	66.67	CH ₂	3.54/3.89 dd (3.0, 12.0)	

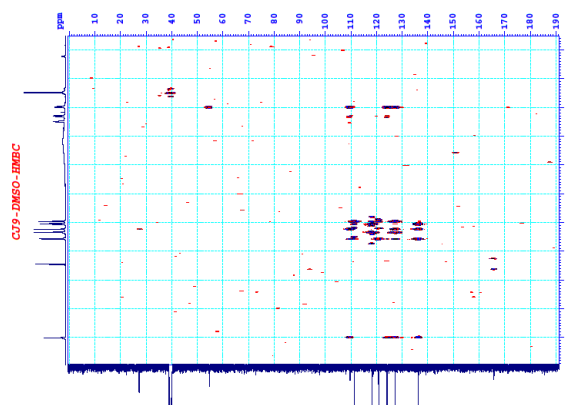
^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, # δ_C benzyl- α -L-arabinopyranosyl (1-6)- β -D-glucopyranoside trong methanol



PL3.2.3.5a. Phổ ¹³C NMR của CJ9



PL3.2.3.5b. Phổ HSQC của CJ9

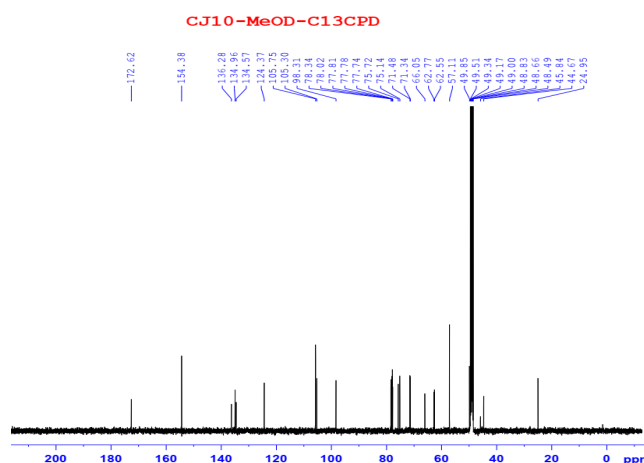


PL3.2.3.5c. Phổ HSQC của hợp chất CJ9

Bảng PL3.2.3.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ9 và chất so sánh

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
2	110.31	109.67		
3	124.30	124.09	7.24 br s	2,8,9
4	118.40	118.35	7.57 d (8.0)	5,8,9
5	121.09	120.82	7.06 t (7.5)	6,9
6	117.44	118.21	6.96 t (7.5)	7,8
7	111.07	111.31	7.35 d (8.0)	6,8
8	134.93	136.33		
9	125.32	127.29		
α	53.94	54.76	3.50 dd (4.0, 8.5)	2,3,C=O
β	24.98	27.29	3.31 dd (4.0, 15.0) 3.29 dd (8.5, 15.0)	C=O
C=O	173.19	165.88		

^a đo trong DMSO-d₆, ^b 125MHz, ^c 500MHz, # δ_C tryptophan



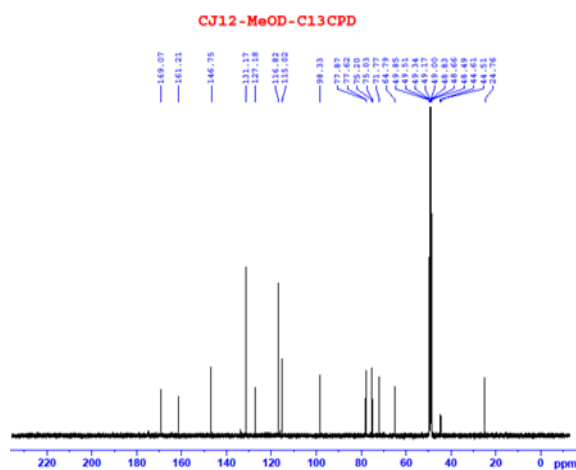
PL3.2.3.6a. Phổ ¹³C NMR của CJ10

Bảng PL3.2.3.6. Số liệu phổ của hợp chất CJ10 và chất so sánh

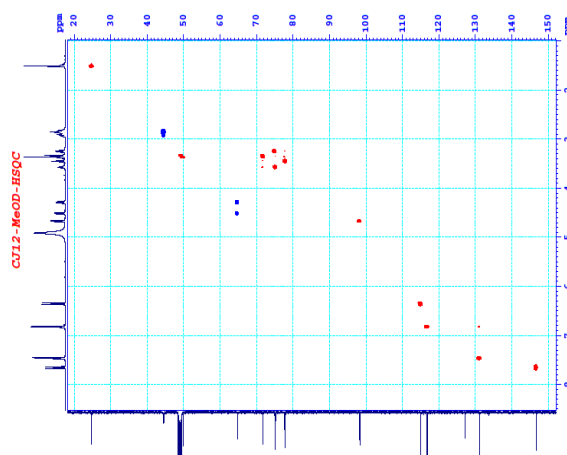
Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	134.2	134.57	C	-	
2,6	105.1	105.75	CH	6.79 s	3, 4, γ
3,5	153.2	154.38	C	-	
4	134.4	136.28	C	-	
α	66.3	66.05	CH ₂	4.75 d (5.5)	β , γ , 1'
β	124.3	124.37	CH	6.32 td (6.5, 16.0)	α , 1
γ	134.4	134.96	CH	6.65 d (16.0)	1, 2, α
3, 5-OCH ₃	57.0	57.11	CH ₃	3.88 s	3, 5
1'	173.3	172.62	C	-	
2'	44.3	44.67	CH ₂	2.93 d (15.0) 3.00 d (15.0)	1', 3', 4'
3'	78.2	77.44	C	-	
4'	47.4	45.84	CH ₂	2.80 d (11.0)	2', 3', 5', 6'

5'	176.7	176.0	C	-	
6'	24.8	24.95	CH ₃	1.05 s	2', 3', 4'
1''	103.8	105.30	CH	4.90 d (7.5)	4
2''	74.5	75.72	CH	3.50	
3''	77.0	77.78	CH	3.29	
4''	70.3	71.34	CH	3.43	
5''	76.6	78.02	CH	3.40	
6''	61.5	62.55	CH ₂	3.67/3.84	
1'''	97.2	98.31	CH	4.63 d (8.0)	3'
2'''	74.0	75.14	CH	3.19 dd (8.0, 9.0)	
3'''	76.6	77.81	CH	3.43	
4'''	70.0	71.48	CH	3.29	
5'''	76.5	78.34	CH	3.24	
6'''	61.2	62.77	CH ₂	3.67/3.84	

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#]δ_C tangshenoside I đo trong methanol



PL3.2.3.7a. Phổ ¹³C NMR của CJ12



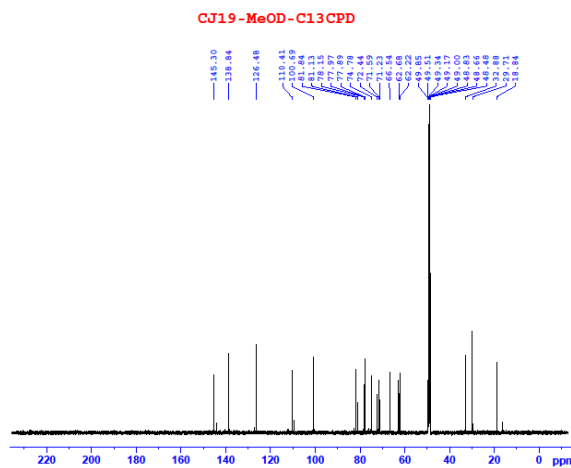
PL3.2.3.7b. Phổ HSQC của CJ12

Bảng PL3.2.3.7. Số liệu phổ của hợp chất CJ12 và chất so sánh

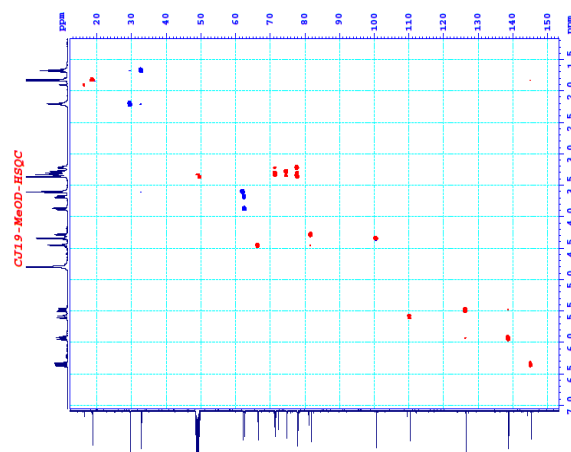
Position	#δ _C	δ _C ^{a,b}	DEPT	δ _H ^{a,c} mult. (J = Hz)	HMBC
1	127.5	127.18	C	-	
2, 6	131.4	131.17	CH	7.46 d (8.5)	4, γ
3, 5	117.1	116.82	CH	6.82 d (9.0)	1
4	161.5	161.21	C	-	
γ	147.0	146.75	CH	7.64 d (16.0)	2, 6, β, α
β	115.3	115.02	CH	6.35 d (16.0)	1, α
α	169.3	169.07	C	-	
1'	174.6	175.0	C	-	
2'	44.5	44.51	CH ₂	2.87	
3'	77.8	77.62	C	-	
4'	44.5	44.61	CH ₂	2.87	
5'	174.7	175.0	C	-	
6'	25.0	24.76	CH ₃	1.51 s	2', 3', 4'
1''	98.6	98.33	CH	4.67 d (7.5)	3'
2''	75.3	75.03	CH	3.25 t (8.5)	

3''	78.2	77.87	CH	3.45 t (9.0)	
4''	72.1	71.77	CH	3.33	
5''	75.5	75.20	CH	3.58 m	
6''	65.1	64.79	CH ₂	4.28 dd (7.0, 12.0) 4.51 dd (2.0, 12.0)	9'

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz,
[#]δ_C of tangshenoside V, recorder in methanol



PL3.2.3.8a. Phổ ¹³C NMR của CJ19

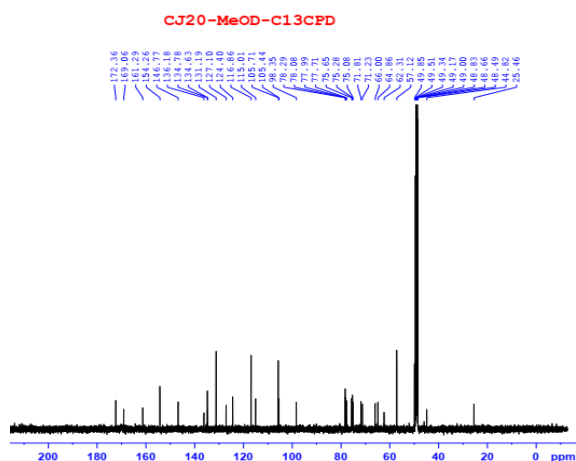


PL3.2.3.8b. Phổ HSQC của CJ19

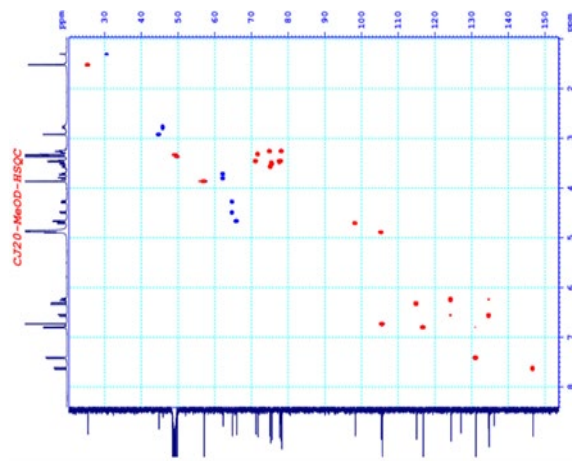
Bảng PL3.2.3.8. Số liệu phổ của hợp chất CJ19 và chất so sánh

Position	¹ δ _C	² δ _C	δ _C ^{a,b}	DEPT	δ _H ^{a,c} mult. (<i>J</i> = Hz)	HMBC
1	19.2	62.6	18.84	CH ₃	1.83 dd (2.0, 7.0)	2, 3
2	145.8	148.3	145.30	CH	6.35 m	1, 4
3	110.4	108.4	110.41	CH	5.60 ddd (1.0, 2.0, 16.0)	
4	82.4	77.5	77.97	C	-	
5	78.2	74.2	72.44	C	-	
6	72.9	71.0	71.59	C	-	
7	70.8	81.8	81.13	C	-	
8	66.5	66.5	66.54	CH	4.45 d (6.5)	6
9	81.8	81.7	81.84	CH	4.29 dd (6.0, 7.5)	7, 8, 10, 11, 1'
10	126.4	126.5	126.48	CH	5.48 m	12
11	138.6	138.9	138.84	CH	5.94 m	12, 13
12	29.7	29.7	29.71	CH ₂	2.21 m	10, 11, 13, 14
13	33.0	32.9	32.88	CH ₂	1.68 m	11, 12, 14
14	61.9	62.2	62.62	CH ₂	3.61 t (6.5)	12, 13
1'	100.8	100.6	100.69	CH	4.35 d (7.5)	9
2'	74.7	74.8	74.78	CH	3.30	
3'	77.9	78.0	77.89	CH	3.22	
4'	71.5	71.6	71.23	CH	3.30	
5'	77.8	77.9	78.15	CH	3.33	
6'	62.7	62.6	62.68	CH ₂	3.68 dd (5.5, 12.0) 3.88 dd (2.5, 12.0)	

^a đo trong MeOD, ^b 125MHz, ^c 500MHz,
¹δ_C of Lobetyolin, in Me₂CO-*d*₆ [1], ²δ_C of Cordifoliodyne A, in CD₃OD-*d*₄



PL3.2.3.9a. Phổ ^{13}C NMR của CJ20



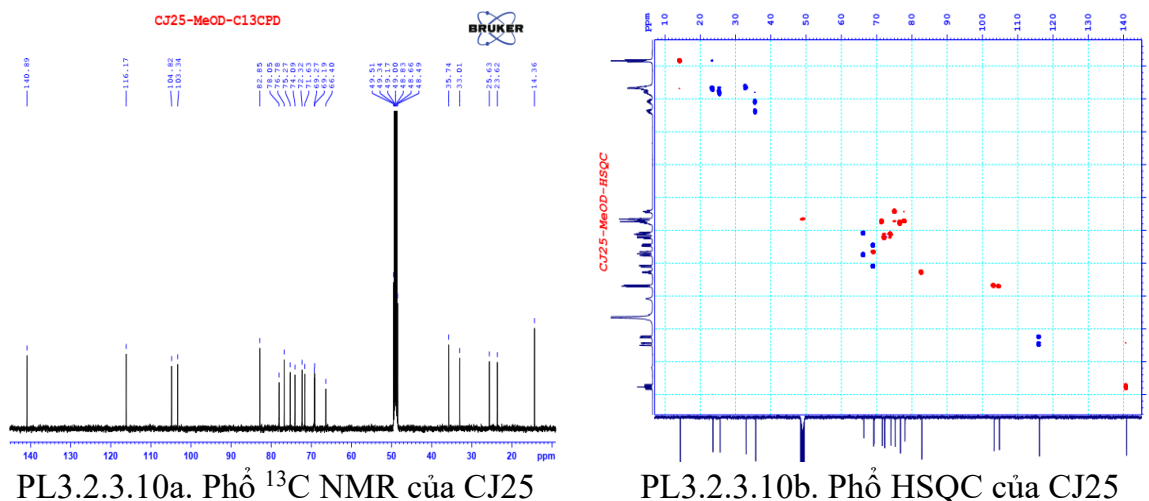
PL3.2.3.9b. Phổ HSQC của CJ20

Bảng PL3.2.3.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ20 và chất so sánh

Position	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	134.0	134.63	C	-	
2,6	106.3	105.71	CH	6.73 s	3, 4, γ
3,5	154.6	154.26	C	-	
4	136.6	136.18	C	-	
α	66.3	66.09	CH ₂	4.66 d (6.5)	β , γ , 1'
β	124.6	124.40	CH	6.24 td (6.0, 15.5)	α , 1
γ	135.2	134.78	CH	6.56 d (15.5)	1, 2, α
3, 5-OCH ₃	57.4	57.12	CH ₃	3.87 s	3, 5
1'	174.6	nd	C	-	
2'	44.5	44.86	CH ₂	2.92	1', 3', 4'
3'	77.9	77.99	C	-	
4'	44.7	44.28	CH ₂	2.92	2', 3', 5', 6'
5'	172.6	172.36	C	-	
6'	25.4	24.58	CH ₃	1.50 s	3', 4'
1''	127.5	127.10	C	-	
2'', 6''	131.5	131.19	CH	7.41 d (8.5)	
3'', 5''	117.1	116.86	CH	6.80 d (8.5)	
4''	161.5	161.26	C	-	
α'	169.3	169.06	C	-	
β'	115.4	115.01	CH	6.32 d (16.0)	α' , 1''
γ'	147.0	146.77	CH	7.62 d (16.0)	α' , 2''
1'''	98.7	98.29	CH	4.70 d (8.0)	3'
2'''	75.4	75.08	CH	3.26	
3'''	78.1	78.29	CH	3.26	
4'''	72.2	71.23	CH	3.45	
5'''	75.5	75.65	CH	3.51	
6'''	65.1	64.86	CH ₂	4.28 dd (7.0, 12.0) 4.49 dd (2.0, 12.0)	α'
1''''	105.7	105.44	CH	4.89	4

2''''	76.0	75.28	CH	3.57	
3''''	78.6	77.71	CH	3.43	
4''''	71.6	71.81	CH	3.33	
5''''	78.2	78.08	CH	3.43	
6''''	62.9	62.31	CH ₂	3.67/3.84	

^a đo trong CD₃OD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#]δ_C Tangshenoside VI



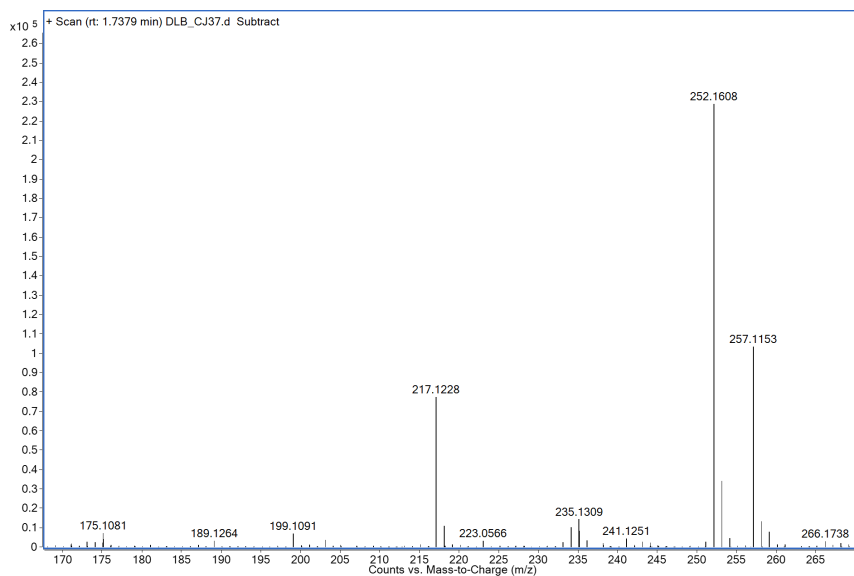
PL3.2.3.10a. Phổ ¹³C NMR của CJ25

PL3.2.3.10b. Phổ HSQC của CJ25

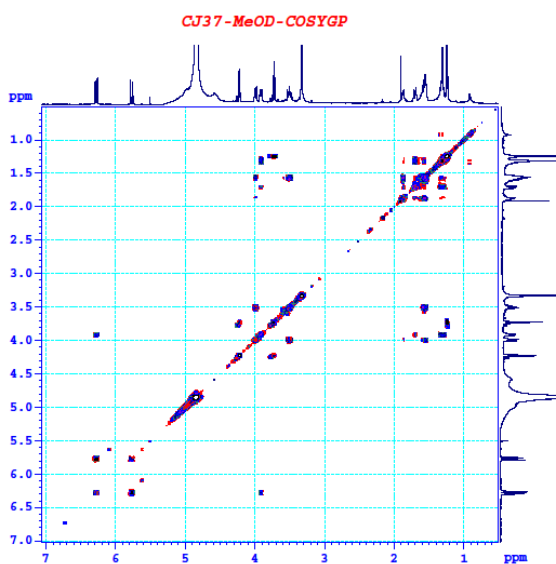
Bảng PL3.2.3.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất CJ25

Position	δ _C ^{a,b}	DEPT	δ _H ^{a,c} mult. (<i>J</i> = Hz)	HMBC
1	116.17	CH ₂	5.12 ddd (1.0, 1.5, 10.5) 5.23 ddd (1.0, 2.0, 17.5)	2, 3
2	140.89	CH	5.88 m	
3	82.82	CH	4.14 dd (6.5, 13.0)	1, 2, 4, 5
4	35.74	CH ₂	1.55/1.70	2, 3, 6
5	25.63	CH ₂	1.40	
6	33.01	CH ₂	1.34	
7	23.63	CH ₂	1.34	
8	14.36	CH ₃	0.92 t (7.0)	6, 7
1'	103.34	CH	4.34 d (7.0)	3
2'	75.27	CH	3.21 t (8.5)	1', 3'
3'	78.05	CH	3.36	
4'	71.63	CH	3.36	
5'	76.78	CH	3.38	
6'	69.19	CH ₂	3.72 dd (5.0, 11.0) 4.04 dd (2.0, 11.0)	4', 5', 1''
1''	104.82	CH	4.35 d (5.5)	6'
2''	72.23	CH	3.60 dd (6.5, 8.5)	1'', 3''
3''	74.09	CH	3.56	
4''	69.27	CH	3.83 br s	
5''	66.40	CH ₂	3.53 dd (1.5, 6.0) 3.87 dd (3.5, 11.0)	

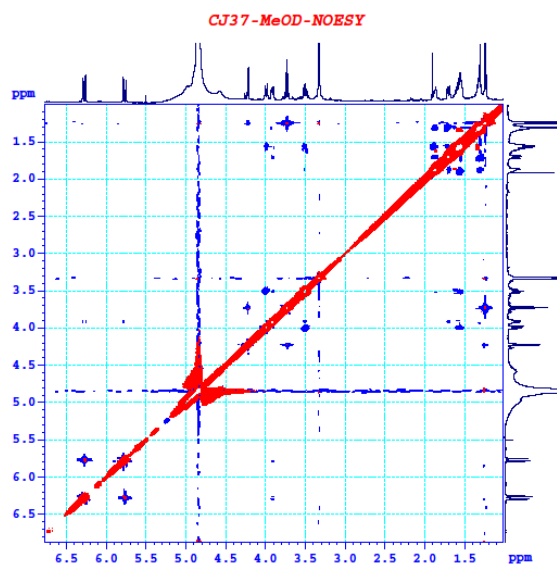
^a đo trong CD₃OD, ^b 125MHz, ^c 500MHz



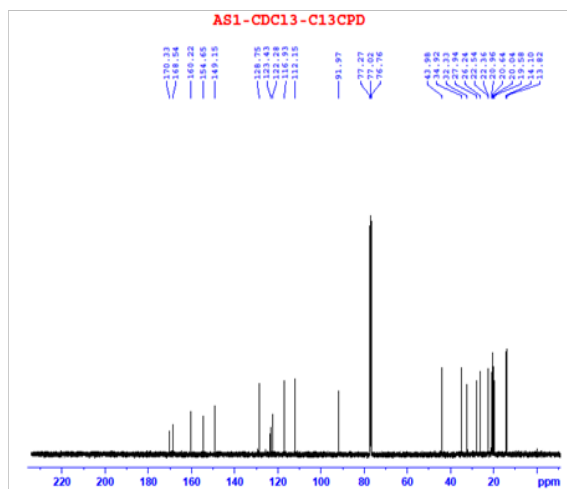
PL3.2.3.11a. Phổ HRESITOFMS của hợp chất CJ37



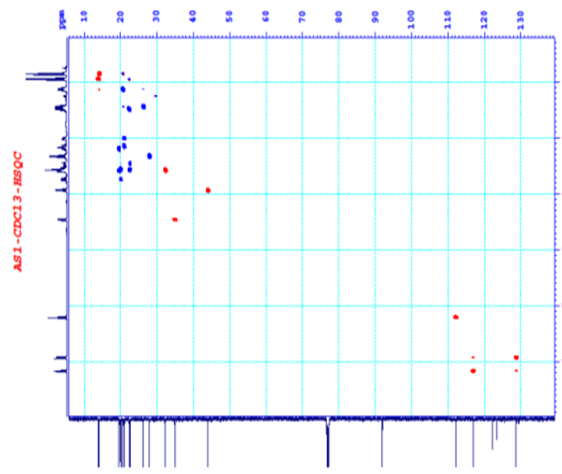
PL3.2.3.11b. Phổ COSY của CJ37



PL3.2.3.11c. Phổ NOESY của CJ37



PL3.2.4.1a. Phổ ^{13}C -NMR của ASI

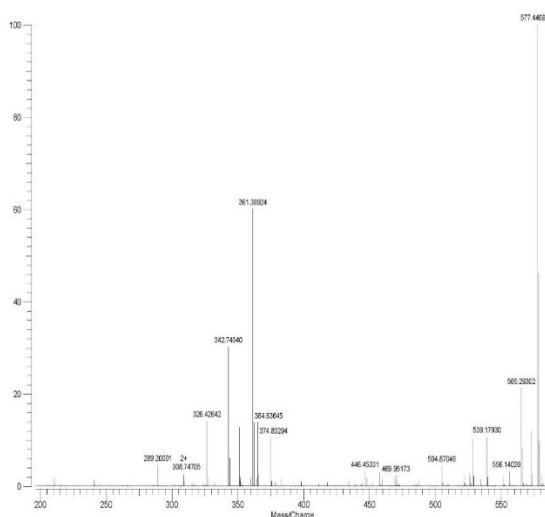


PL3.2.4.1b. Phổ HSQC của ASI

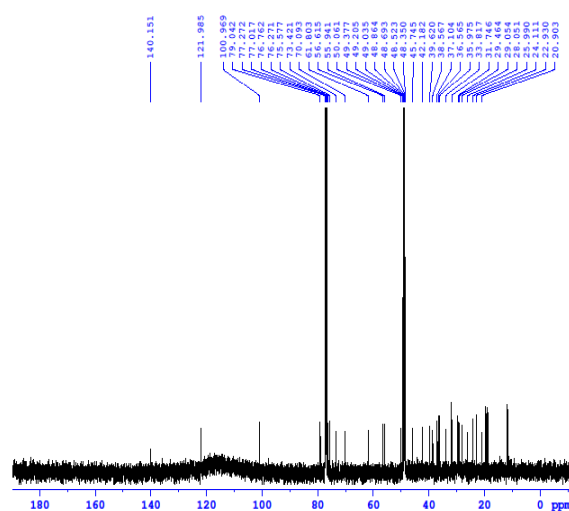
Bảng PL3.2.4.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất AS1

Position	* δ_C	$\delta_C^{a,c}$	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ mult. ($J = Hz$)	HMBC
1	168.5	168.54	C		
3	149.1	149.15	C		
3a	154.6	154.65	C		
4	20	20.04	CH ₂	2.18 m; 2.56 m	5, 6, 9, 3a, 7a
5	20.9	20.96	CH ₂	2.18 m; 2.01 m	4, 7, 3a
6	32.3	32.33	CH	2.59 m	
7	34.9	34.92	CH	3.46 d (7.5)	5,6,3',7a,3,3a,3'a,1
7a	122.3	122.28	C		
8	112.1	112.15	CH	5.21 t (8.0)	10, 3, 3a
9	27.9	27.94	CH ₂	2.33 m	3, 8, 10, 11
10	22.4	22.36	CH ₂	1.49 m	9, 11
11	14.1	14.1	CH ₃	0.95 t (7.5)	9, 10
1'	170.3	170.33	C		
3'	92	91.97	C		
3'a	160.1	160.22	C		
4'	19.6	19.58	CH ₂	2.74 m; 2.56 m	3', 6', 3'a
5'	22.5	22.54	CH ₂	2.56 m; 2.47 m	4'
6'	128.7	128.75	CH	5.93 dt (9.5, 4.0)	4', 7', 7'a, 3'a, 1'
7'	116.9	116.93	CH	6.17 dt (9.5, 2.0)	5', 3'a, 7'a
7'a	123.4	123.43	C		
8'	44	43.98	CH	2.94 dd (7.5, 15.5)	5, 6, 9', 3', 3'a
9'	26.2	26.24	CH ₂	1.44 m	5, 6, 8', 11'
10'	20.6	20.64	CH ₂	1.14 m	8', 9', 10'
11'	13.8	13.82	CH ₃	0.86 t (7.5)	9', 10'

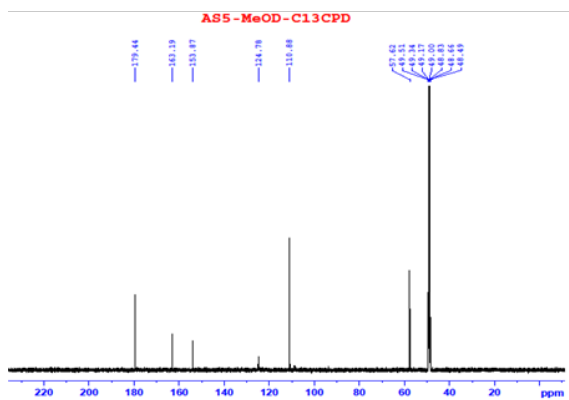
^aĐo trong dung môi CDCl₃, ^b500Hz, ^c125Hz, * δ_C Riligustilide (CDCl₃, 75MHz



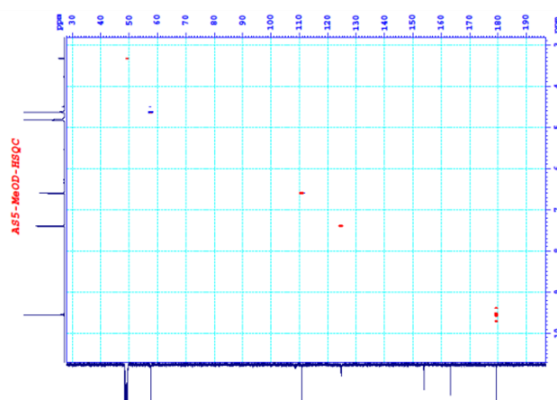
PL3.2.4.2a. Phổ khối HRMS của AS4



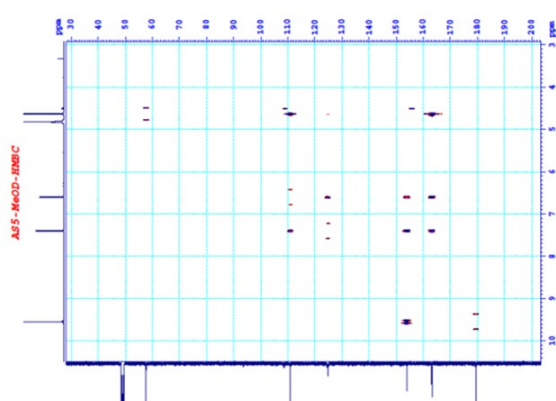
PL3.2.4.2b. Phổ ¹³C-NMR của AS4



PL3.2.4.3a. Phổ ^{13}C -NMR của AS5



PL3.2.4.3b. Phổ HSQC của AS5

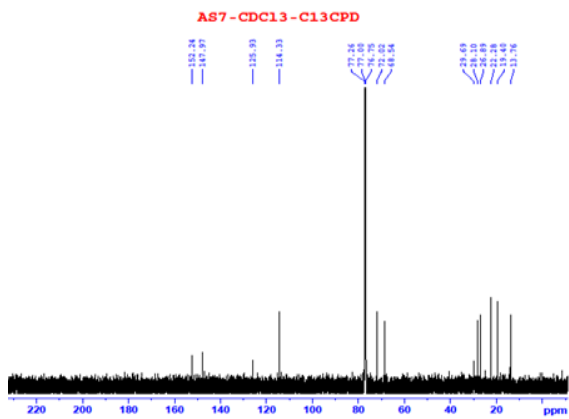


PL3.2.4.3c. Phổ HMBC của hợp chất AS5

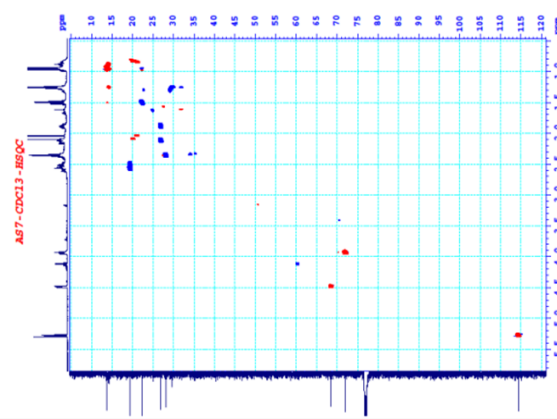
Bảng PL3.2.4.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất AS5

Position	* δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	152.0	153.87	C		
2	123.8	124.78	CH	7.40 d (3.5)	1, 3, 4
3	110.0	110.88	CH	6.60 d (3.5)	1, 2, 4
4	161.2	163.19	C		
5	57.1	57.62	CH ₂	4.63 s	3, 4
1'	177.9	179.44	CH		1

^aĐo trong CDCl_3 , ^b500Hz, ^c125Hz, * δ_{C} 5HMF (CDCl_3 , 100MHz)



PL3.2.4.4a. Phổ ^{13}C -NMR của AS7

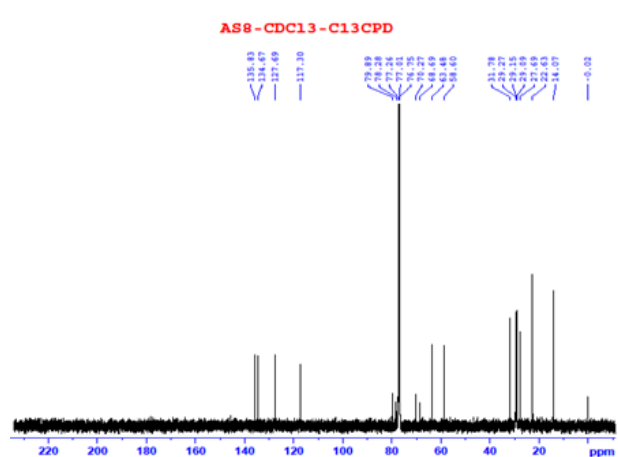


PL3.2.4.4b. Phổ HSQC của AS7

Bảng PL3.2.4.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất AS7

Position	* δ_C	$\delta_C^{a,c}$	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ mult. ($J = Hz$)	HMBC
1	168.9	169.00	C		
3	152.6	152.24	C		
3a	148.0	147.97	C		
4	19.2	19.40	CH ₂	2.57 m/2.49 m	3, 7a, 6
5	26.6	26.89	CH ₂	1.89 m/2.11 m	3, 4, 6, 7
6	71.8	72.02	CH	3.94 ddd (3.3, 6.6, 10.1)	4, 7
7	68.0	68.54	CH	4.49 d (6.0)	7a, 3, 6
7a	125.9	125.93	C		
8	114.3	114.33	CH	5.29 t (8.3)	3a, 3, 10
9	28.1	28.10	CH ₂	2.36 dt (7.5, 7.5)	11, 8, 3a
10	22.2	22.28	CH ₂	1.50 sext (7.3)	
11	13.7	13.76	CH ₃	0.95 t (7.3)	

^aĐo trong CDCl₃, ^b500 MHz, ^c125 MHz, * δ_C senkyunolide I đo trong CDCl₃



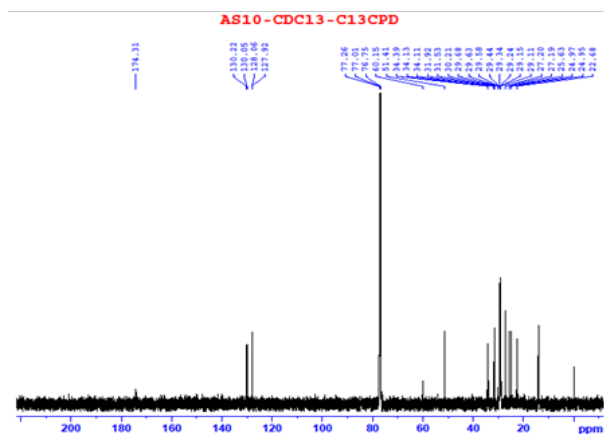
PL3.2.4.5a. Phổ ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) của hợp chất AS8

Bảng PL3.2.4.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất AS8

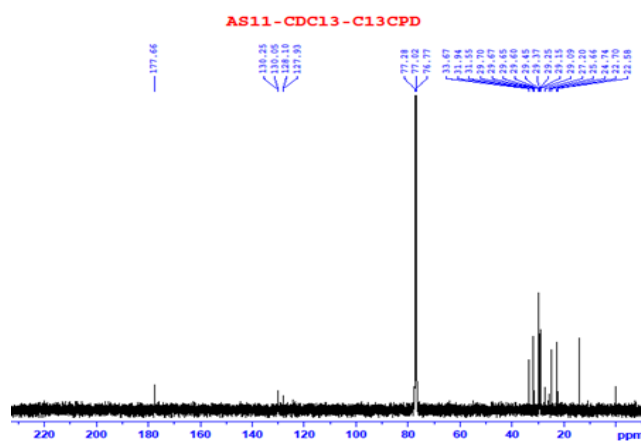
Position	* δ_C	$\delta_C^{a,c}$	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ mult. ($J = Hz$)
1	117.2	117.3	CH ₂	5.26 d (10.5) 5.47 d (17.0)
2	135.9	135.83	CH	5.94 ddd (5.5, 10.0, 15.5)
3	63.4	63.48	CH	4.94 d (5.5)
4	78.3	78.28	C	
5	70.2	70.27	C	
6	68.7	68.69	C	
7	79.9	79.89	C	
8	58.5	58.60	CH	5.20 d (8.5)
9	127.7	127.69	CH	5.52 d (8.5)
10	134.5	134.67	CH	5.61 m
11	27.6	27.69	CH ₂	2.11 dq (1.5, 6.0)

12	29.2	29.27	CH ₂	1.39 t (7.0)
13	29.1	29.15	CH ₂	1.29 m
14	29.1	29.09	CH ₂	1.29 m
15	31.7	31.78	CH ₂	1.29 m
16	22.6	22.63	CH ₂	1.29 m
17	14	14.07	CH ₃	0.88 (t. 7.0)

^aĐo trong dung môi CDCl₃, ^b500Hz, ^c125Hz, * δ_c falcarindiol đo trong CDCl₃



PL3.2.4.6a. Phổ ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) của hợp chất AS10

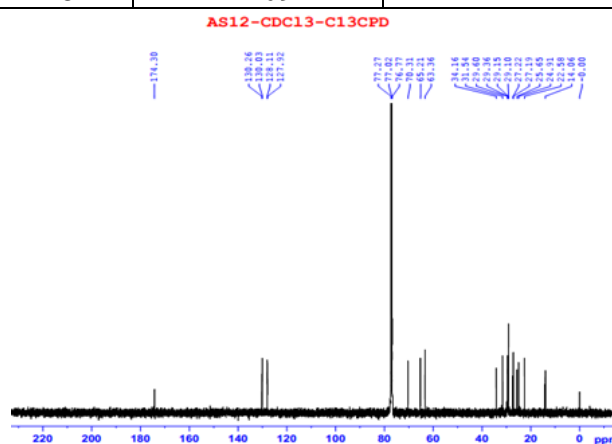


PL3.2.4.7a. Phổ ¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz) của hợp chất AS11

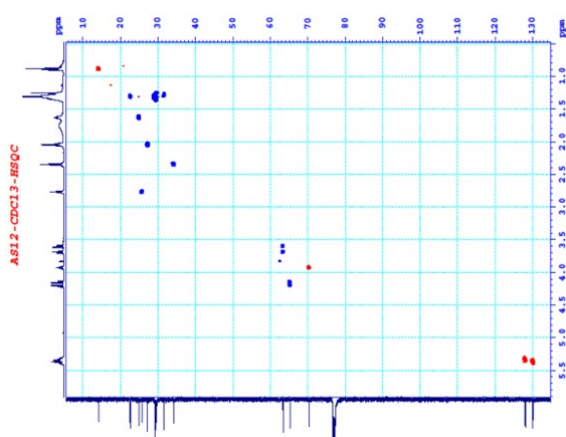
Bảng PL3.2.4.7. Giá trị phổ ¹³C-NMR của hợp chất AS11

Position	* δ_c	$\delta_c^{a,b}$
1	180.54	177.66
2	34.15	33.67
3	24.7	24.74
4	29.1-29.7	29.1-29.7
5	29.1-29.7	29.1-29.7
6	29.1-29.7	29.1-29.7
7	29.1-29.7	29.1-29.7
8	27.22	27.20
9	130.24	130.05
10	128.12	128.1

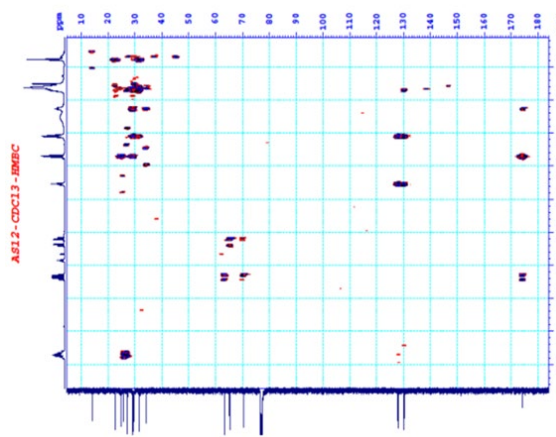
11	25.67	25.66
12	127.95	127.93
13	130.21	130.25
14	27.25	29.1-29.7
15	29.19	29.15
16	31.58	31.55
17	22.61	22.70
18	14.09	14.11



PL3.2.4.8a. Phổ ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) của hợp chất AS12



PL3.2.4.8b. Phổ HSQC của AS12



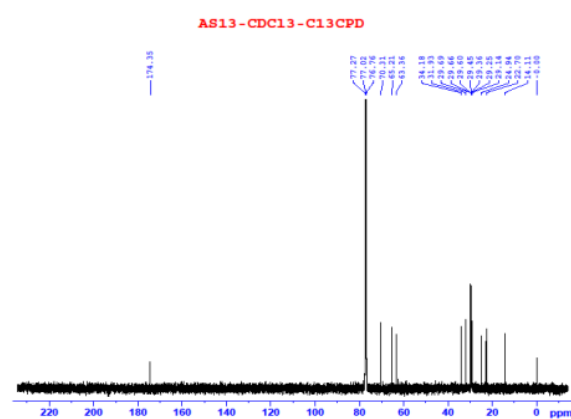
PL3.2.4.8c. Phổ HMBC của AS12

Bảng PL3.2.4.8. Số liệu phổ của hợp chất AS12

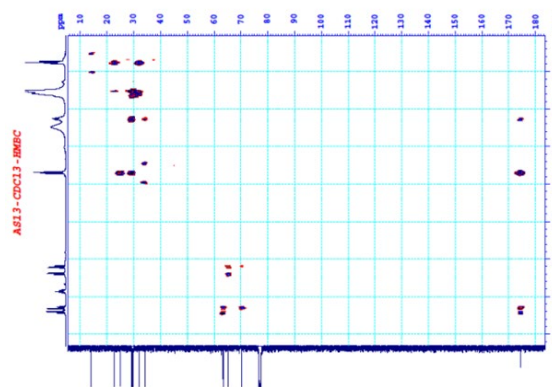
Position	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC	COSY
1	174.30	C			
2	34.16	CH_2	2.35 t (7.5)		
3	24.91	CH_2	1.63 t (7.0)		
4	29.1-29.6	CH_2	1.34-1.28 m		
5	29.1-29.6	CH_2	1.34-1.28 m		
6	29.1-29.6	CH_2	1.34-1.28 m		
7	29.1-29.6	CH_2	1.34-1.28 m		
8	27.22	CH_2	2.06 q (6.5)		9
9	130.03	CH	5.35 m	8, 11	8

10	128.11	CH	5.35 m	11	
11	25.65	CH ₂	2.77 t (6.5)	9, 10, 12, 13	
12	127.92	CH	5.35 m	11	11
13	130.26	CH	5.35 m	11	14
14	29.1-29.6	CH ₂	2.06 q (6.5)		
15	29.15	CH ₂	1.34-1.28 m		
16	31.54	CH ₂	1.34-1.28 m		
17	22.58	CH ₂	1.34-1.28 m		
18	14.06	CH ₃	0.89 t (7.0)		
1'	65.21	CH ₂	4.21 dd (4.5, 11.5) 4.15 dd (6.0, 11.5)	2', 3', 1	2'
2'	70.31	CH	3.93 m		3'
3'	63.36	CH ₂	3.70 dd (4.0, 11.5) 3.60 dd (6.0, 11.5)	1', 2'	2'

^a Đo trong dung môi CDCl₃, ^b 500MHz, ^c 125MHz



PL3.2.4.9a. Phổ ¹³C-NMR của AS13

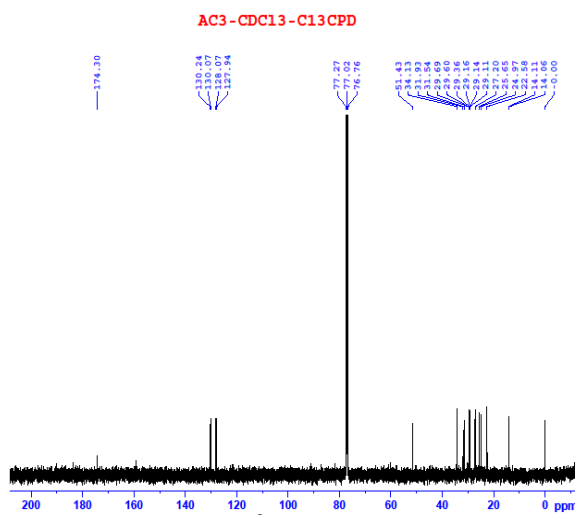


PL3.2.37b. Phổ HMBC của AS13

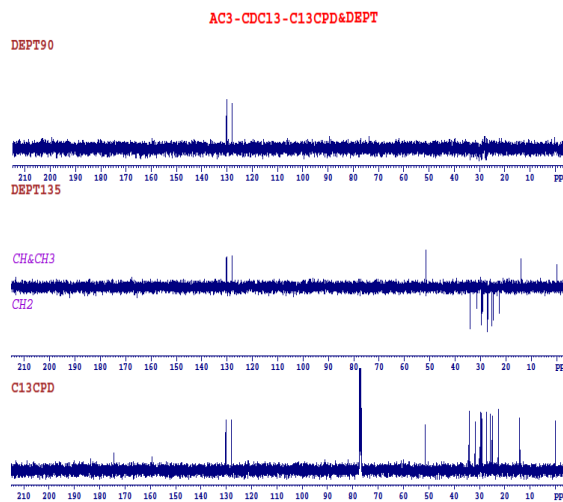
Bảng PL3.2.4.9. Số liệu phổ của hợp chất AS13

Position	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = Hz$)	HMBC
1	174.35	C		
2	34.18	CH ₂	2.35 t (7.5)	3
3	24.94	CH ₂	1.63 t (7.5)	2
4-14	29.1-29.6	CH ₂	1.29 m	
15	29.14	CH ₂	1.29 m	
16	31.93	CH ₂	1.29 m	
17	22.70	CH ₂	1.29 m	
18	14.11	CH ₃	0.88 t (7.0)	16, 17
1'	65.21	CH ₂	4.21 dd (4.5, 11.5) 4.15 dd (6.0, 11.5)	2', 3', 1
2'	70.31	CH	3.93 m	
3'	63.36	CH ₂	3.70 dd (4.0, 11.5) 3.60 dd (6.0, 11.5)	1', 2'

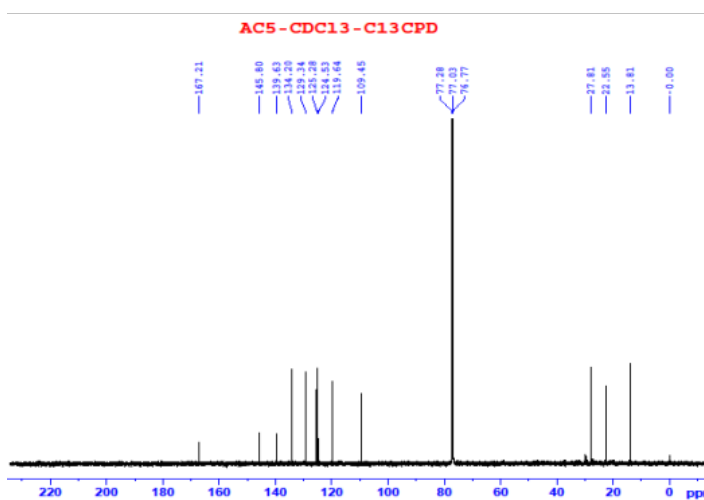
^a Đo trong dung môi CDCl₃, ^b 500MHz, ^c 125MHz



PL3.2.4.10a. Phổ ^{13}C NMR của AC3



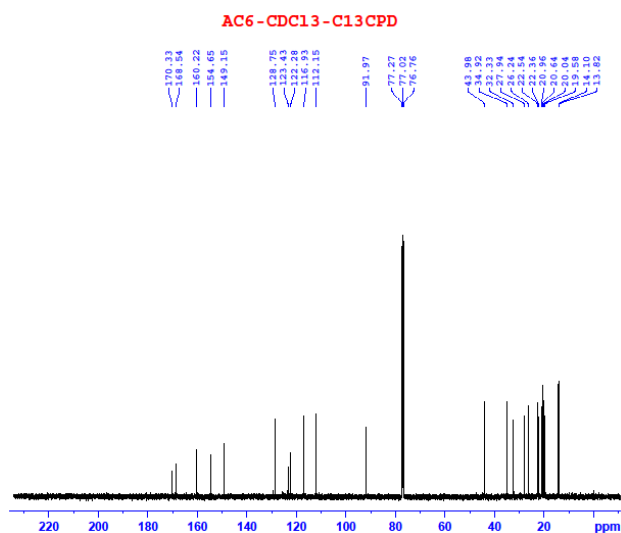
PL3.2.4.10b. Phổ DEPT của AC3



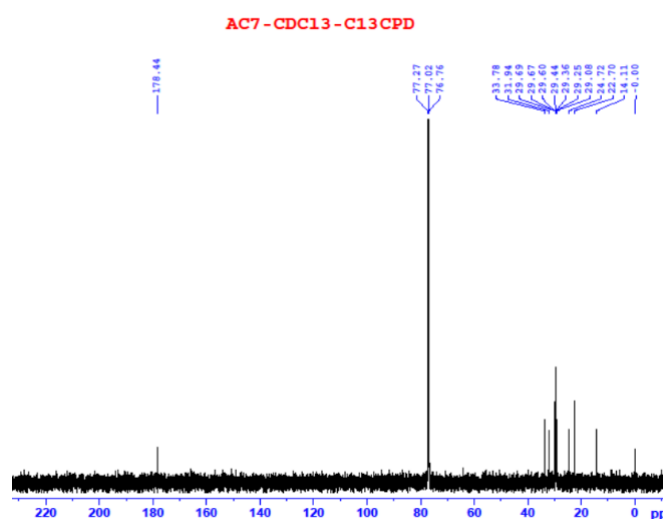
PL3.2.4.11a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất AC5

Bảng PL3.2.4.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất AC5 và chất so sánh

Position	* δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ (ppm)
1	167.0	167.21	C	
3	145.6	145.80	C	
4	119.5	119.64	CH	7.50 m
5	134.1	134.20	CH	7.66 m
6	125.1	125.28	CH	77.64 m
7	129.2	129.34	CH	7.89 d (7.5)
8	109.4	109.45	CH	5.64 t (7.5)
9	27.8	27.81	CH ₂	2.46 dt (7.5, 7.5)
10	22.6	22.55	CH ₂	1.56 q (7.5)
11	13.9	13.81	CH ₃	0.99 t (7.5)
3a	139.4	139.63	C	
7a	124.3	124.53	C	



PL3.2.4.12a. Phổ ¹³C NMR của hợp chất AC6

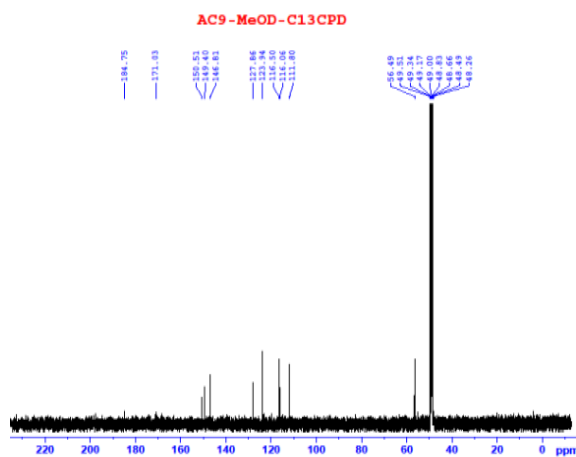


PL3.2.4.13a. Phổ ¹³C NMR của hợp chất AC7

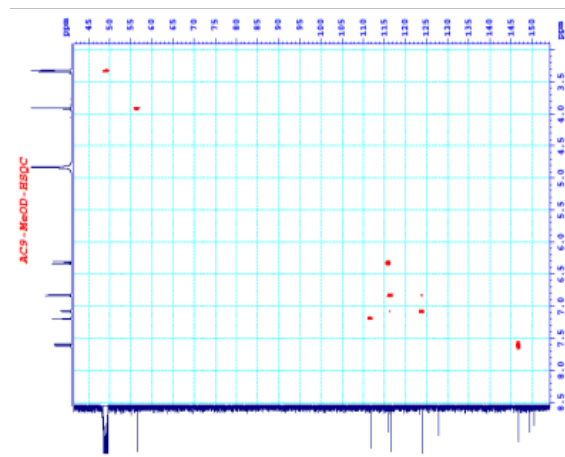
Bảng PL3.2.4.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất AC7 và hợp chất tham khảo

Position	* δ_c (ppm)	$\delta_c^{a,c}$ (ppm)	DEPT
1	180.58	178.44	C
2	34.23	33.78	CH ₂
3	24.8	24.72	CH ₂
4	29.21	29.1-29.7	CH ₂
5	29.37	29.1-29.7	CH ₂
6	29.57	29.1-29.7	CH ₂
7-12	29.81	29.1-29.7	CH ₂
13	29.49	29.1-29.7	CH ₂
14	32.05	31.94	CH ₂
15	22.80	22.7	CH ₂
16	14.14	14.11	CH ₃

^aĐo trong CDCl₃, ^c125 MHz, *Số liệu của palmitic acid đo trong CDCl₃



PL3.2.4.14a. Phổ ^{13}C của AC9

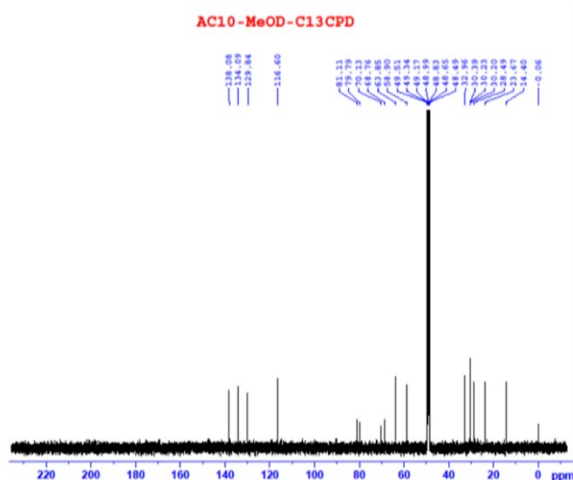


PL3.2.4.14b. Phổ HSQC của AC9

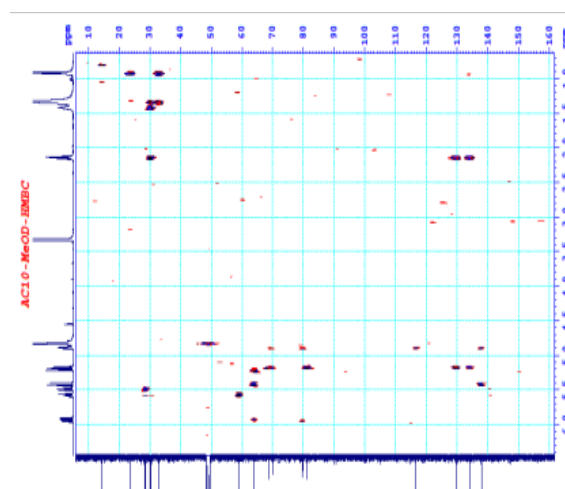
Bảng PL3.2.4.14 . Số liệu phổ của hợp chất AC9 và hợp chất so sánh

Position	* $\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	DEPT	* $\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$	HMBC
1	125.8	127.86	C			
2	111.2	111.80	CH	7.27 d (1,7)	7.20 d (2.0)	6, 7, 4
3	147,9	149.40	C			
4	149.0	150.51	C			
5	115.5	116.06	CH	6.79 d (8.1)	6.83 d (8.0)	1, 3
6		122.7	CH	7.07 dd (8.1, 1.7)	7.08, dd (8.0, 2.0)	2, 7, 4
7	144.4	146.81	CH	7.49 d (15.8)	7.61 d (16.0)	2, 5, 6, 1, 9
8		115.6	CH	6.35 d (15.8)	6.33 d (16.0)	1, 9
9	167.9	171.03	C			
OCH ₃	55.7	56.49	CH ₃	3.82 s	3.92 s	3

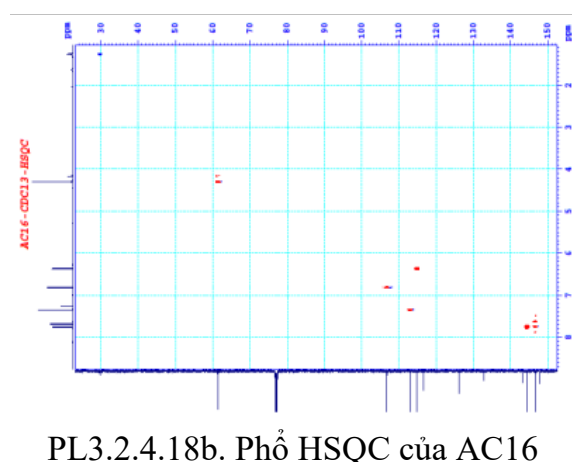
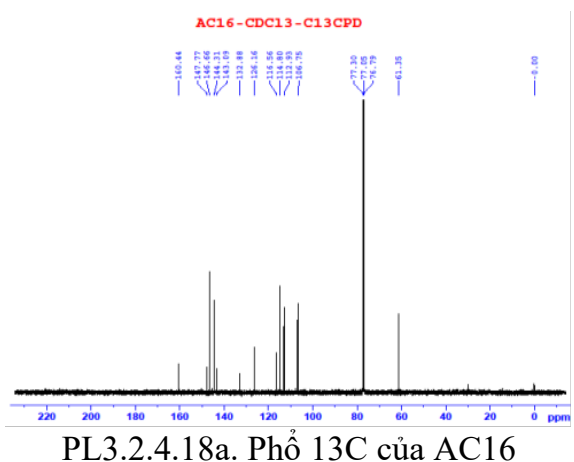
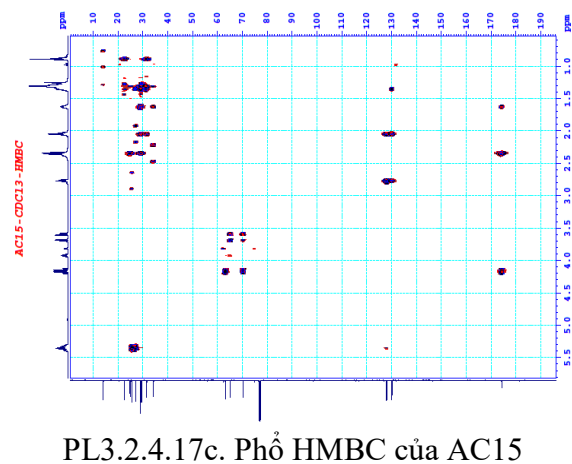
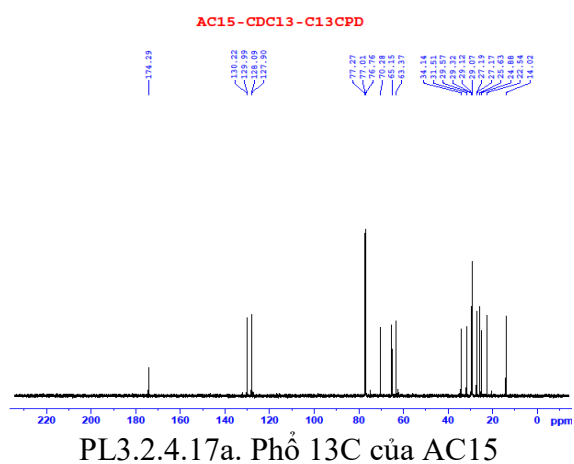
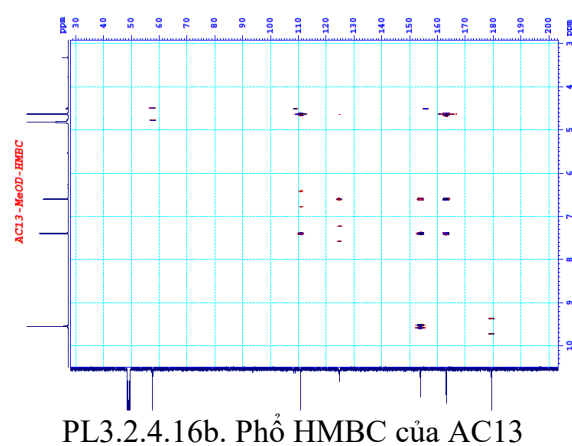
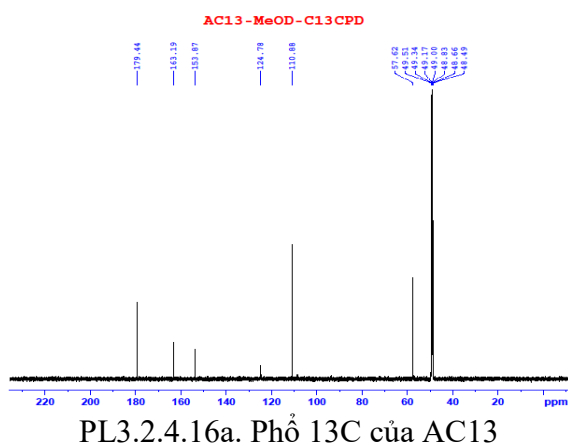
* $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$) của acid ferulic
^aĐo trong CDCl_3 , ^b500 MHz ^c125 MHz



PL3.2.4.15a. Phổ ^{13}C của AC10



PL3.2.4.15c. Phổ HMBC của AC10



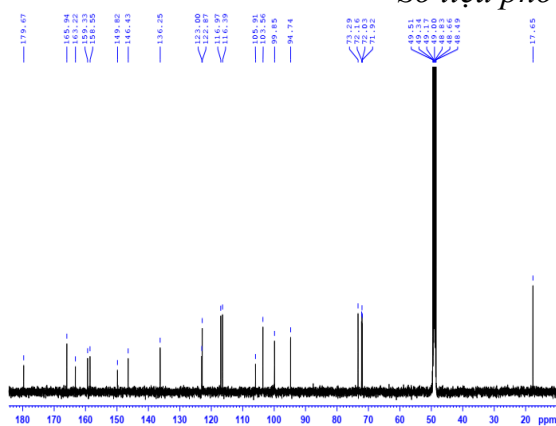
Bảng PL3.2.4.18. Số liệu phổ của hợp chất AC16 và hợp chất so sánh

Vị trí	* $\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$ (ppm)	DEPT	* $\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ (ppm) (J in Hz)	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,b}}$ (ppm) (J in Hz)	HMBC (H-C)
2	160.6	160.44	C			
3	114.8	114.8	CH	6.36 d, 9.4	6.37 d, 10.0	10, 2
4	144.4	144.31	CH	7.76 d, 9.4	7.76 d, 10.0	5, 10, 8, 9, 2
5	113.0	112.93	CH	7.33 s	7.35 s	3', 10, 8, 9
6	126.2	126.16	C			
7	147.8	147.77	C			

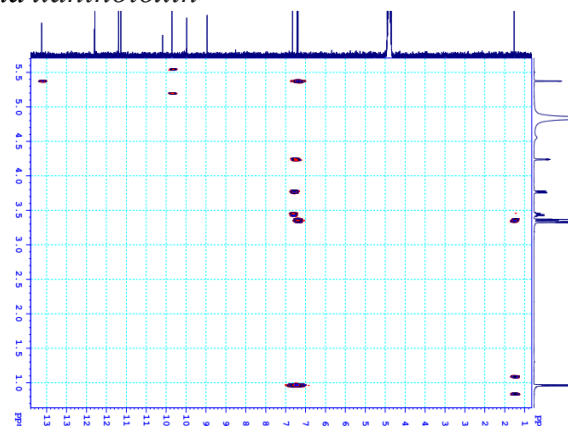
8	132.9	132.88	C			
9	143.1	143.09	C			
10	116.5	116.56	C			
2'	146.7	146.66	CH	7.68 d, 2.3	7.69 d, 2.0	6, 7, 3'
3'	106.8	106.75	CH	6.81 d, 2.3	6.82 d, 2.5	6, 7
OCH ₃	61.4	61.35	CH ₃	4.29 s	4.30 s	8

^aĐo trong CDCl₃, ^b 500MHz, ^c 125 MHz

* Số liệu phổ của xanthotoxin



PL3.2.5.1a. Phổ ¹³C NMR của SN3

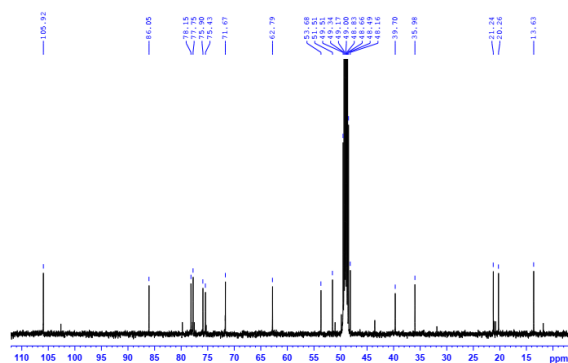


PL3.2.5.1b. Phổ HMBC của SN3

Bảng PL3.2.5.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất SN3

Position	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J=$ Hz)	HMBC
2	158.55	C	-	
3	136.25	C	-	
4	179.67	C	-	
5	163.22	C	-	
6	99.85	CH	6.22 d (2.0)	5, 7, 8, 10
7	165.94	C	-	
8	94.74	CH	6.39 d (2.0)	6, 7, 9, 10
9	159.33	C	-	
10	105.91	C	-	
1'	123.00	C	-	
2'	116.97	CH	7.35 d (2.0)	2, 3', 4', 6'
3'	146.43	C	-	
4'	149.82	C	-	
5'	116.39	CH	6.93 d (8.0)	1', 3', 4'
6'	122.87	CH	7.32 dd (2.0, 8.0)	2, 2', 4'
1''	103.56	CH	5.37 d (1.5)	3
2''	71.92	CH	4.24 dd (2.0, 3.5)	
3''	72.29	CH	3.76 dd (3.5, 9.5)	
4''	73.29	CH	3.35	
5''	72.03	CH	3.43 m	
6''	17.65	CH ₃	0.96 d (6.0)	

^a đo trong MeOD-d₄, ^b 125MHz, ^c 500MHz



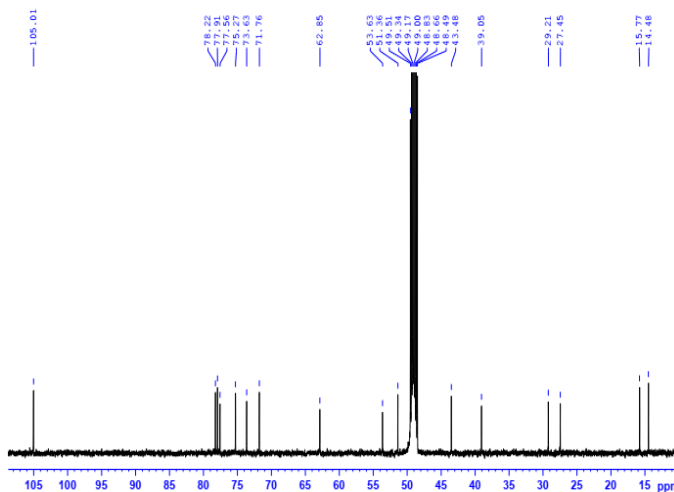
Bảng PL3.2.5.3. Số liệu phổ của chất SN9 và chất so sánh

Position	$^1\delta_C$	$^2\delta_C$	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. (J= Hz)	HMBC
1	53.35	53.87	54.28	C	-	
2	82.89	84.89	86.07	CH	3.96 dd (3.5, 10.0)	1, 3, 4, 6, 1'
3	35.86	37.49	37.64	CH ₂	1.17 dd (3.5, 13.5) 2.24 m	2, 4, 5, 7
4	45.11	45.22	45.99	CH	1.67 t (4.5)	1, 2, 6
5	41.65	41.82	41.23	CH ₂	1.76 m/1.85 m	1, 3, 4, 6, 7
6	70.13	70.26	71.73	CH	4.37 dd (4.0, 8.0)	1, 2, 4, 7
7	48.29	47.89	48.37	C	-	
8	21.76	21.70	21.58	CH ₃	1.03 s	1, 4, 7, 9
9	20.28	20.24	20.32	CH ₃	0.87 s	1, 4, 7, 8
10	10.42	10.83	10.24	CH ₃	1.03 s	1, 2, 6
1'	103.64	105.99	105.83	CH	4.29 d (8.0)	2
2'	73.36	75.61	75.47	CH	3.20 dd (8.0, 9.0)	
3'	78.73	78.76	78.13	CH	3.30 t (8.5)	
4'	71.95	71.72	71.65	CH	3.30	
5'	78.36	78.35	77.75	CH	3.24 m	
6'	63.02	62.86	62.75	CH ₂	3.67 dd (5.5, 11.5) 3.85 dd (2.0, 11.5)	

^a đo trong CD₃OD, ^b 125MHz, ^c 500MHz.

¹ δ_C của (1R,2R,4S,6R)-bornane-2,6-diol 2-O- β -D-glucopyranoside (pyridin-d₅)

² δ_C của (1S,2S,4R,6S)-bornane-2,6-diol 2-O- β -D-glucopyranoside (pyridin-d₅)



PL3.2.5.4a. Phổ ¹³C NMR của hợp chất SN11

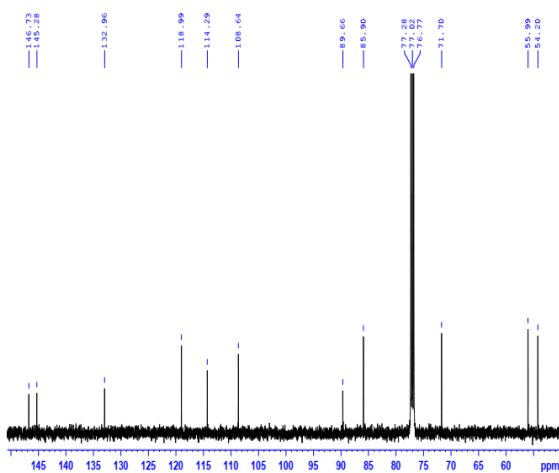
Bảng PL3.2.5.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất SN11 và chất so sánh

Position	$^1\delta_C$	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. (J= Hz)	HMBC
1	52.98	53.63	C	-	
2	76.01	77.56	CH	4.05 m	
3	39.44	39.04	CH ₂	1.02 /2.31	
4	42.85	43.48	CH	1.99	2, 6

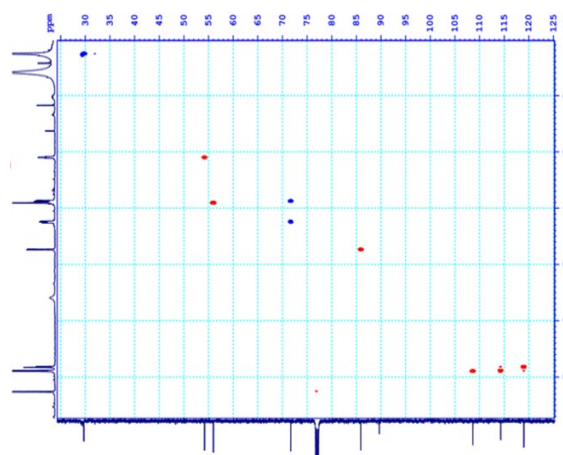
5	28.86	29.21	CH ₂	1.27/1.75	
6	27.08	27.45	CH ₂	1.22/2.02	
7	50.91	51.36	C	-	
8	15.88	15.17	CH ₃	1.05 s	1, 4, 7, 9
9	73.10	73.63	CH ₂	3.52 d (10.0) 3.84 d (10.0)	1, 4, 7, 8, 1'
10	14.69	14.48	CH ₃	0.92 s	1, 2, 6, 7
1'	105.52	105.01	CH	4.22 d (8.0)	9
2'	75.40	75.24	CH	3.19 dd (8.0, 9.0)	
3'	78.65	78.22	CH	3.36	
4'	71.76	71.76	CH	3.30	
5'	78.52	77.91	CH	3.27 m	
6'	62.87	62.85	CH ₂	3.69 dd (5.5, 12.0) 3.89 dd (2.0, 12.0)	

^a đo trong CD₃OD, ^b 125MHz, ^c 500MHz

¹δ_C của (1R,2S,4R,7S)-vicodiol 9-O-β-D-glucopyranoside đo trong pyridin-d₅



PL3.2.5.5a. Phổ ¹³C NMR của SN14

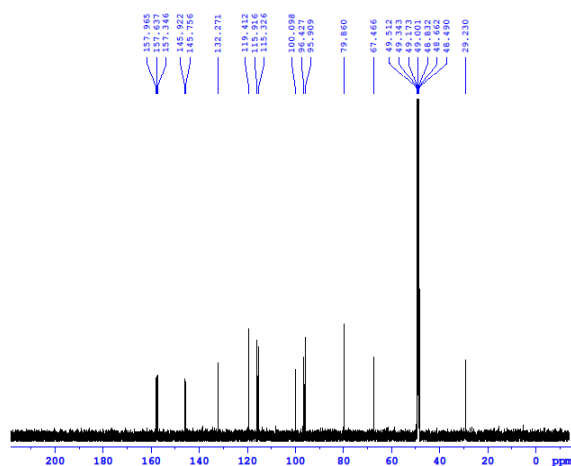


PL3.2.5.5b. Phổ HSQC của SN14

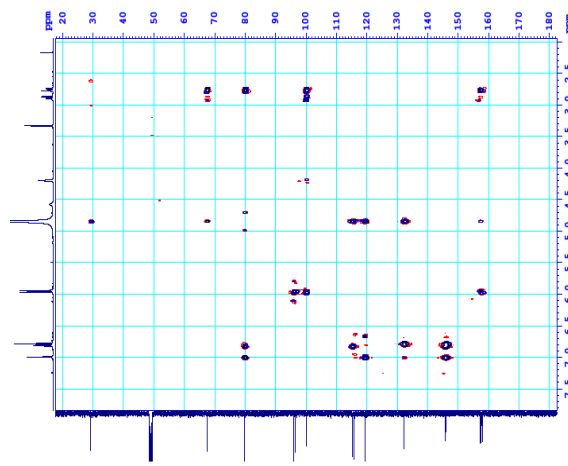
Bảng PL3.2.5.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất SN14 và chất so sánh

Position	#δ _C	δ _C ^{a,b}	δ _H ^{a,c} mult. (J = Hz)
1, 5	53.6	54.20	3.10 br s
2, 6	85.2	85.90	4.73 d (4.5)
4, 8	70.9	71.70	3.88 dd (4.0, 9.5) 4.24 dd (7.0, 9.5)
1', 1''	132.3	132.96	-
2', 2''	110.5	108.64	6.90 s
3', 3''	147.6	146.73	-
4', 4''	145.9	145.28	-
5', 5''	115.2	114.29	6.88 d (8.0)
6', 6''	118.6	118.99	6.81 dd (2.0, 8.0)
5', 5''-OCH ₃	55.6	55.99	3.91 s

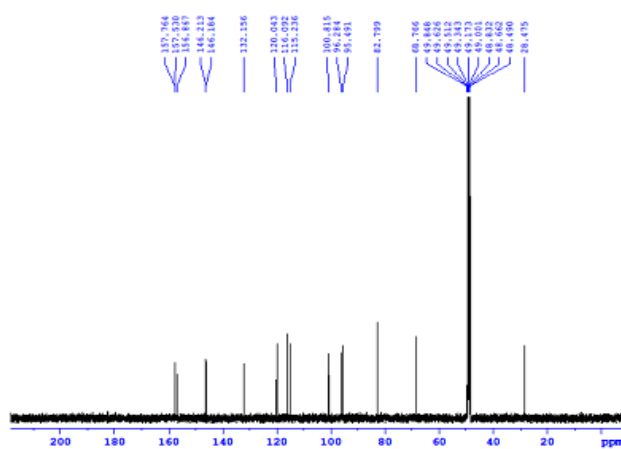
#δ_C của (+)-pinoresinol đo trong DMSO-d₆ [97], ^a đo trong CDCl₃, ^b 125MHz, ^c 500MHz



PL3.2.5.6a. Phổ ^{13}C -NMR của SN15



PL3.2.5.6c. Phổ HMBC của SN15



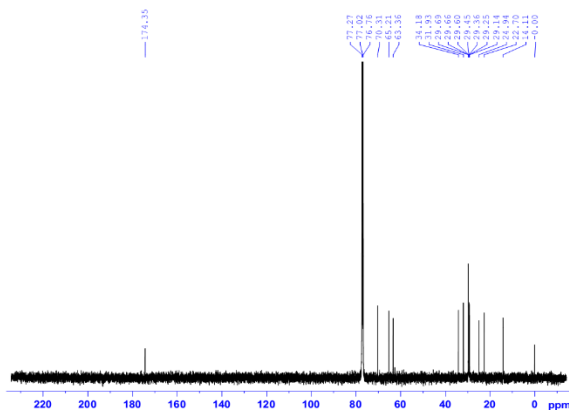
PL3.2.5.7a. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất SN16

Bảng PL3.2.5.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất SN15 và SN16

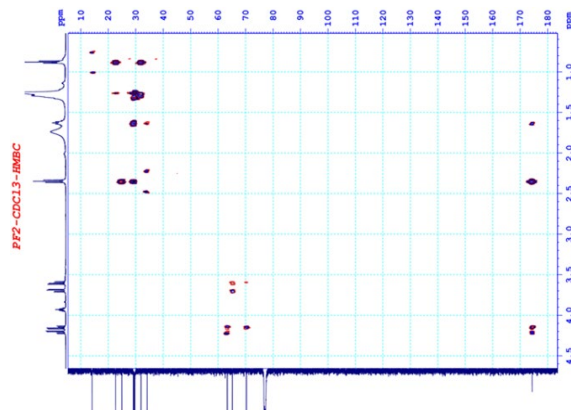
Position	Hợp chất SN15			Hợp chất SN16		
	* $\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{d,c}}$ ($J = \text{Hz}$)	* $\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{d,c}}$ ($J = \text{Hz}$)
2	79.1	79.8	4.85 br t	81.1	82.8	4.59 d (7.5)
3	65.7	67.4	4.20 m	66.4	68.7	4.00 m
4	29.1	29.3	2.76 dd (3.0, 16.5) 2.88 dd (4.5, 16.5)	28.0	28.5	2.53 dd (8.0, 16.0) 2.86 dd (5.5, 16.0)
5	157.4	157.9		156.3	156.9	
6	96.0	96.4	5.97 d (2.0)	95.2	96.3	5.96 d (2.5)
7	157.1	157.6		156.6	157.7	
8	95.0	95.1	5.94 d (2.0)	95.0	95.5	5.88 d (2.5)
9	156.7	157.3		155.5	157.5	
10	99.4	100.1		99.2	100.8	
1'	131.5	132.2		130.7	132.1	
2'	115.9	115.3	7.00 d (1.5)	114.6	115.2	6.86 d (1.5)
3'	145.4	145.9		145.0	146.1	

4'	145.4	145.7		145.0	146.2	
5'	115.7	115.9	6.78 d (8.0)	115.2	116.0	6.78 d (8.0 Hz)
6'	118.8	119.4	6.82 dd (2.0, 8.0)	118.6	120.0	6.74 dd (1.5, 8.0)

^a125 MHz, ^bđo trong acetone, ^cđo trong CD₃OD, ^d500 MHz,
* δ_C của epi-catechin và catechin



PL3.2.6.1a. Phổ ¹³C-NMR của PF2

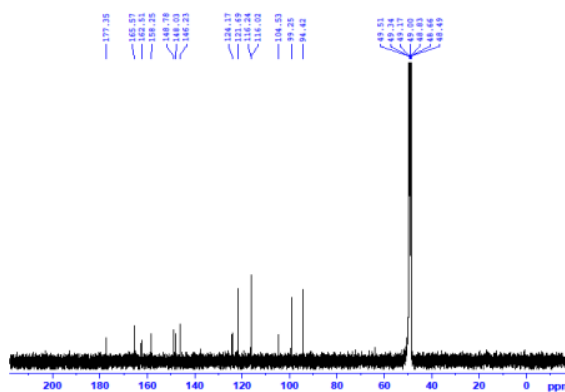


PL3.2.6.1c. Phổ HMBC của PF2

Bảng PL3.2.6.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất PF2

Position	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ ($J = Hz$)	* $\delta_H^{a,c}$ ($J = Hz$)	HMBC
1	174.35	C			
2	34.18	CH ₂	2.35 t (7.5)	2.40 m	3
3	24.94	CH ₂	1.63 t (7.5)	1.65 m	2
4-14	29.1-29.6	CH ₂	1.29 m	1.28 m	
15	29.14	CH ₂	1.29 m	1.28 m	
16	31.93	CH ₂	1.29 m	1.28 m	
17	22.70	CH ₂	1.29 m	1.28 m	
18	14.11	CH ₃	0.88 t (7.0)	0.88 t	16, 17
1'	65.21	CH ₂	4.21 dd (4.5, 11.5) 4.15 dd (6.0, 11.5)	4.23 d	2', 3', 1
2'	70.31	CH	3.93 m	3.95 m	
3'	63.36	CH ₂	3.70 dd (4.0, 11.5) 3.60 dd (6.0, 11.5)	3.68 m	1', 2'

^aĐo trong CDCl₃, ^b125 MHz, ^c500 MHz, * δ_H của 1-Stearoyl-sn-glycerol

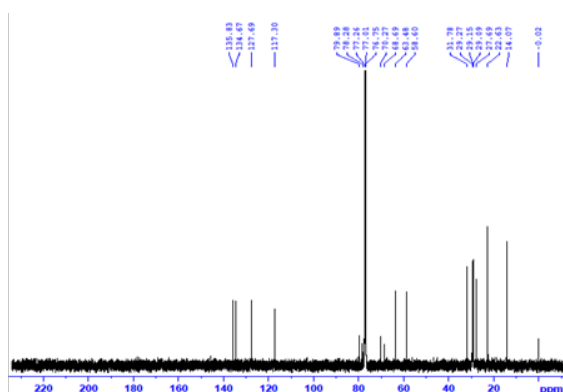


PL3.2.6.2a. Phổ ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) của hợp chất PF3

Bảng PL3.2.6.2. Số liệu phổ của hợp chất PF3

Vị trí	* $\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = Hz$)
2	147,9	148,03	C	
3	137,2	137,20	C	
4	177,3	177,35	C	
5	162,5	162,51	C	
6	99,3	99,25	CH	6,21 (1H, s)
7	165,7	165,57	C	
8	94,4	94,42	CH	6,41 (1H,s)
9	158,2	158,25	C	
10	104,4	104,53	C	
1'	124,1	124,17	C	
2'	116,0	116,02	CH	7,76 (1H, s)
3'	146,2	146,23	C	
4'	148,7	148,03	C	
5'	116,2	116,24	CH	6,91 (1H, d, 8,5)
6'	121,6	121,69	CH	7,66 (1H, d, 8,0)

^aĐo trong CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz, * δ_C của Quercetin



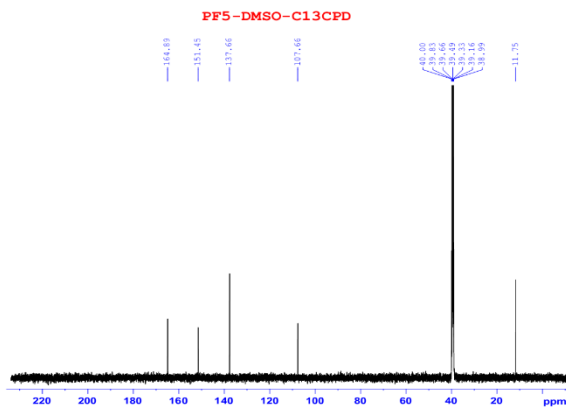
PL3.2.6.3a. Phổ ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) của hợp chất PF4

Bảng PL3.2.6.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất PF4

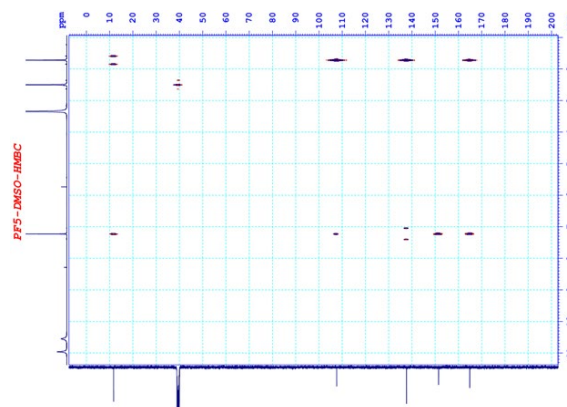
Position	* δ_C	$\delta_C^{a,c}$	DEPT	$\delta_H^{a,b}$ mult. ($J = Hz$)
1	117.2	117.3	CH ₂	5.26 d (10.5) 5.47 d (17.0)
2	135.9	135.83	CH	5.94 ddd (5.5, 10.0, 15.5)
3	63.4	63.48	CH	4.94 d (5.5)
4	78.3	78.28	C	
5	70.2	70.27	C	
6	68.7	68.69	C	
7	79.9	79.89	C	
8	58.5	58.60	CH	5.20 d (8.5)
9	127.7	127.69	CH	5.52 d (8.5)
10	134.5	134.67	CH	5.61 m
11	27.6	27.69	CH ₂	2.11 dq (1.5, 6.0)

12	29.2	29.27	CH ₂	1.39 t (7.0)
13	29.1	29.15	CH ₂	1.29 m
14	29.1	29.09	CH ₂	1.29 m
15	31.7	31.78	CH ₂	1.29 m
16	22.6	22.63	CH ₂	1.29 m
17	14	14.07	CH ₃	0.88 (t. 7.0)

^aĐo trong dung môi CDCl₃, ^b500Hz, ^c125Hz, * δ_C falcariindiol đo trong CDCl₃



PL3.2.6.4a. Phổ ¹³C-NMR của PF5

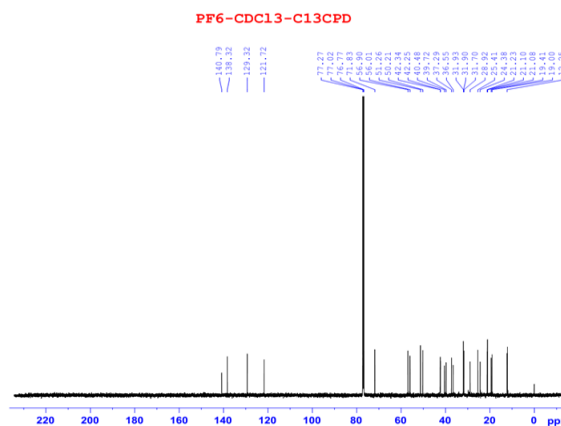


PL3.2.6.4c. Phổ HMBC của PF5

Bảng PL3.2.6.4. Số liệu phổ của hợp chất PF5

Position	* $\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ (J = Hz)	* $\delta_H^{a,c}$ (J = Hz)	HMBC
1				10.55 brs	10.63 brs	
2	151.7	151.45	C			
3				10.96 brs	11.02 brs	
4	165.2	164.89	C			
5	107.9	107.66	C			
6	138.0	137.66	CH	7.23 d (1.0)	7.26 brs	2, 4, 5, 7
7	12.0	11.75	CH ₃	1.72 d (1.0)	1.73 brs	4, 5, 6

^aĐo trong MeOD, ^b125 MHz, ^c500 MHz, * δ_H và δ_C của thymine

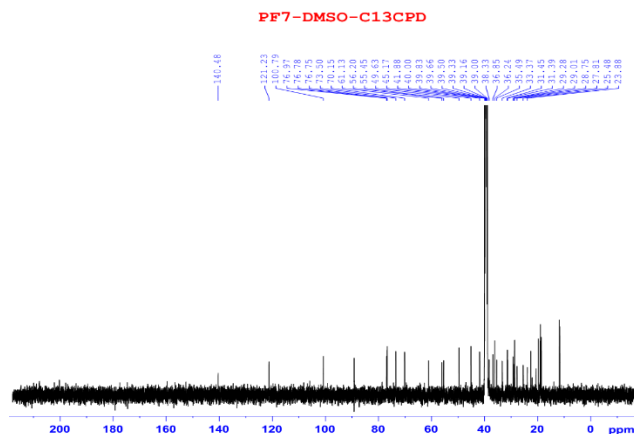


PL3.2.6.5a. Phổ ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) của hợp chất PF6

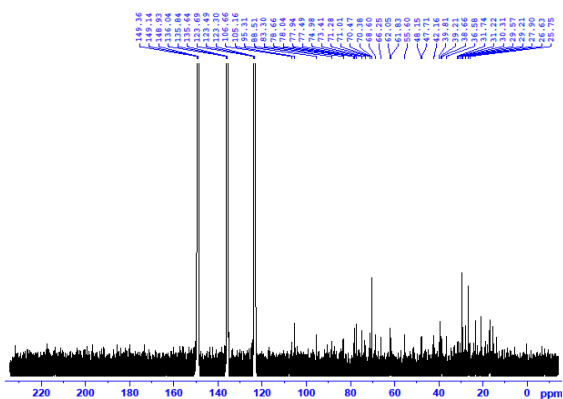
Bảng PL3.2.6.5. Số liệu phổ của hợp chất PF6

Vị trí	* $\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = Hz$)
1	37.3	37.29	CH ₂	1.85 m
2	31.7	31.70	CH ₂	1.82 m
3	71.8	71.83	CH	3.51 m
4	42.2	42.25	CH ₂	2.29 m, 2.23 m
5	140.8	140.79	C	
6	121.7	121.72	CH	5.34 m
7	31.9	31.90	CH ₂	
8	31.9	31.93	CH ₂	1.99 m, 1.95 m
9	50.2	50.21	CH	0.92 t (5.5)
10	36.4	36.55	C	
11	21.1	21.10	CH ₂	1.49 m
12	39.7	39.72	CH ₂	1.99 m
13	42.2	42.34	C	
14	56.9	56.90	CH	1.00 m
15	24.4	24.38	CH ₂	1.05 m
16	28.9	28.92	CH ₂	1.70 m, 1.26 m
17	56	56.01	CH	1.14 m
18	12	12.07	CH ₃	0.70 s
19	19.4	19.41	CH ₃	1.00 s
20	40.5	40.48	CH	2.03 m
21	21.2	21.23	CH ₃	1.01 d (6.5)
22	138.3	138.32	CH	5.04 dd (9.0, 15.0)
23	129.3	129.32	CH	5.16 dd (8.5, 15.0)
24	51.6	51.26	CH	1.53 m
25	31.9	31.90	CH	1.44 m
26	19.0	19.00	CH ₃	0.79 d (6.5)
27	21.1	21.08	CH ₃	0.84 d (6.5)
28	25.4	25.41	CH ₂	1.40 m
29	12.2	12.25	CH ₃	0.80 t (7.5)

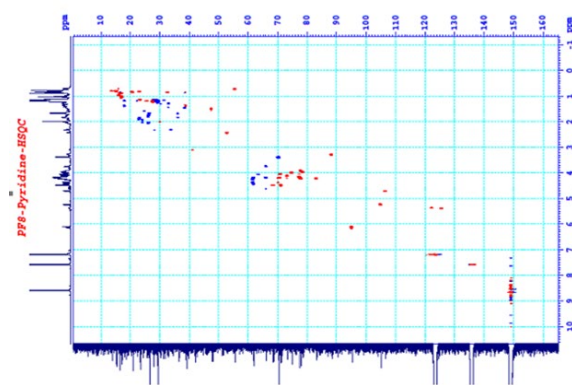
^aĐo trong CDCl₃, ^b125 MHz, ^c500 MHz, * δ_C của stigmasterol



PL3.2.6.6a. Phổ ¹³C-NMR (DMSO, 125 MHz) của hợp chất PF7



PL3.2.6.7a. Phổ ^{13}C -NMR của PF8



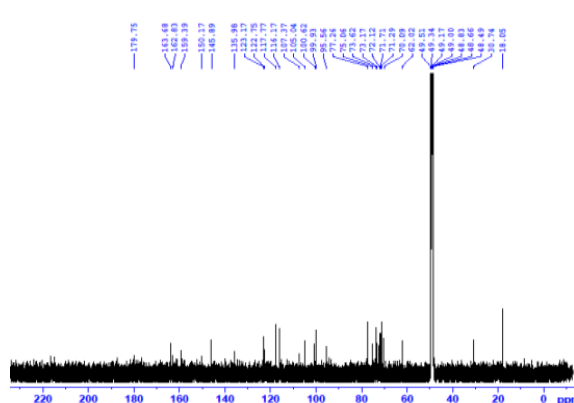
PL3.2.6.7b. Phổ HSQC của PF8

Bảng PL3.2.6.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất PF8

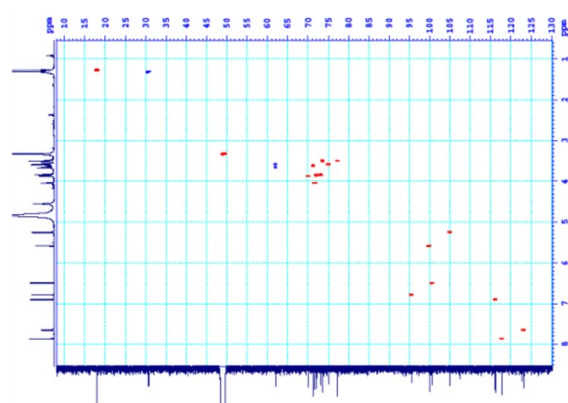
Position	* $\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	38.7	38.66	CH ₂	1.45 m	
2	26.5	25.75	CH ₂	2.02 m, 1.79 m	
3	89.3	88.51	CH	3.28 m	1', 23, 24
4	39.5	39.81	C		
5	55.8	55.6	CH	0.71 m	
6	18.5	18.71	CH ₂	1.37 m, 1.18 m	
7	33.1	33.00	CH ₂	1.42 m, 1.28 m	
8	40	39.81	C		
9	48.1	47.71	CH	1.50 m	
10	37	37.00	C		
11	23.8	23.33	CH ₂	1.85 m	
12	122.9	122.2	CH	5.43 m	
13	144.2	144.00	C		
14	42.2	42.16	C		
15	28.3	28.20	CH ₂	2.31 m, 1.18 m	
16	23.7	23.33	CH ₂	1.85 m	
17	47	48.15	C		
18	41.8	41.2	CH	3.05 m	
19	46.3	45.7	CH ₂	1.69 m, 1.18 m	
20	30.8	30.31	C		
21	34.1	34.20	CH ₂	2.31 m	
22	33.1	33.20	CH ₂	1.42 m, 1.28 m	
23	28.2	27.90	CH ₃	1.21 brs	3, 24
24	17	16.69	CH ₃	0.90 brs	22
25	15.5	15.41	CH ₃	0.80 brs	
26	17.5	17.30	CH ₃	1.04 s	
27	26.1	26.00	CH ₃	1.20 brs	
28	176.4	177.00	C		
29	32.6	32.60	CH ₃	0.83 brs	
30	23.5	23.47	CH ₃	0.81 brs	

1'		106.66	CH	4.71 d (7.5)	3
2'		71.01	CH	4.02 m	
3'		83.3	CH	4.21 m	
4'		68.6	CH	4.48 m	
5'		66.25	CH ₂	4.18 m, 3.74 m	3', 4', 1'
1''		105.16	CH	5.24 d (7.5)	
2''		74.98	CH	3.97 m	
3''		77.49	CH	3.91 m	
4''		71.28	CH	4.48 m	
5''		77.94	CH	3.91 m	
6''		62.05	CH ₂	4.43 m 4.18 m	
1'''		95.31	CH	6.10 d (8.0)	
2'''		73.41	CH	4.12 m	28
3'''		78.04	CH	4.21 m	
4'''		70.47	CH	4.18 m	
5'''		78.66	CH	4.21 m	
6'''		61.83	CH ₂	4.37 m 4.23 m	

^a Đo trong pyridine, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz



PL3.2.6.8a. Phổ ¹³C NMR của PF9



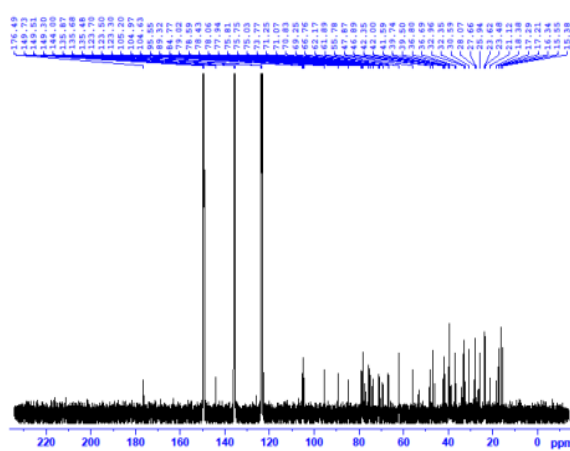
PL3.2.6.8b. Phổ ¹³C NMR của PF9

Bảng PL3.2.6.8. Giá trị phổ của hợp chất PF9 và hợp chất tham khảo

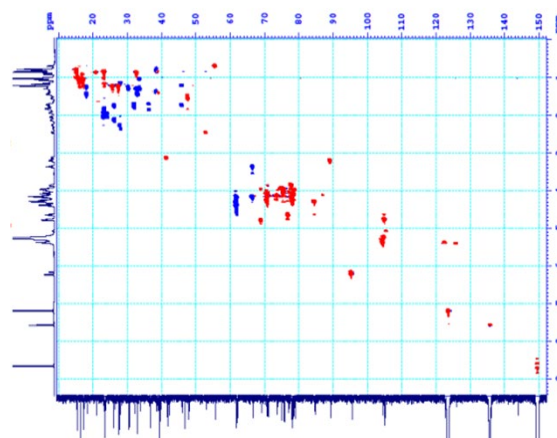
Position	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = Hz$)	HMBC
2	156.7	159.39	C		
3	133.5	135.98	C		
4	177.5	179.75	C		
5	160.8	162.83	C		
6	99.3	100.62	CH	6.50 d (2.0)	8, 10
7	161.5	163.68	C		
8	94.3	95.56	CH	6.79 d (2.0)	6, 7, 9, 10
9	155.9	158.10	C		
10	105.6	107.37	C		

1'	121.9	122.75	C		
2'	116.2	117.77	CH	7.86 d (2.5)	2', 4', 6', 2
3'	144.8	145.89	C		
4'	148.6	150.17	C		
5'	115.2	116.17	CH	6.90 d (8.5)	1', 3', 4'
6'	121.7	123.17	CH	7.65 dd (2.5, 8.5)	2', 4', 2
1''	100.6	105.04	CH	5.25 d (8.0)	3
2''	74.0	73.62	CH	3.49 m	
3''	76.4	75.06	CH	3.57 m	
4''	69.8	71.29	CH	3.62 m	
5''	77.5	77.26	CH	3.49 m	
6''	60.9	62.02	CH ₂	H _a : 3.65 dd (6.0, 11.0) H _b : 3.58 m	
1'''	98.3	99.93	CH	5.59 d (1.5)	7, 3'''
2'''	69.7	70.09	CH	3.87 m	
3'''	70.0	71.71	CH	4.04 m	
4'''	71.5	73.95	CH	3.49 m	
5'''	70.1	73.17	CH	3.83 m	
6'''	17.87	17.88	CH ₃	1.27 d (6.0)	

^aĐo trong CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz, * δ_C của quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside-7-O- α -L-rhamnopyranoside



PL3.2.6.9a. Phổ ¹³C NMR của PF10



PL3.2.6.9b. Phổ HSQC của PF10

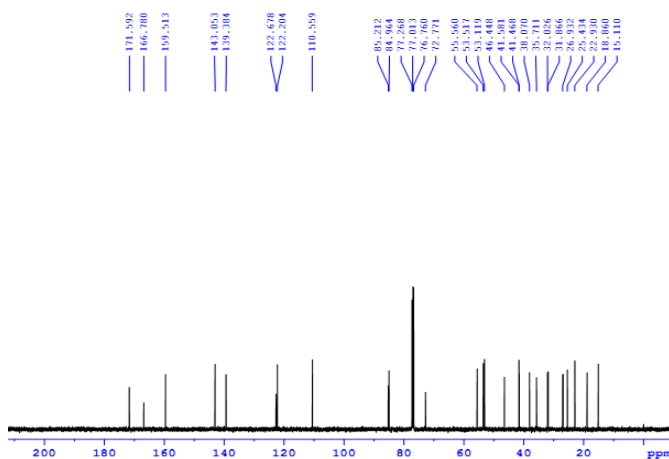
Bảng PL3.2.6.9. Giá trị phổ của hợp chất PF10 và hợp chất tham khảo

Vị trí	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ ($J = Hz$)	* $\delta_H^{a,c}$ ($J = Hz$)	HMBC
1	38.8	38.63	CH ₂	1.37 m, 0.78 m		
2	26.6	28.07	CH ₂	2.12 m, 1.13 m		
3	89.2	89.32	CH	3.20 dd (4.0, 12.0)	3.27 dd (12.0, 4.0)	1'
4	39.8	39.50	C			
5	56.0	55.78	CH	0.69 d (12.0)		
6	18.6	18.38	CH ₂	1.44 m, 1.28 m		
7	33.1	32.35	CH ₂	1.78 m, 1.70 m		
8	40.0	39.74	C			

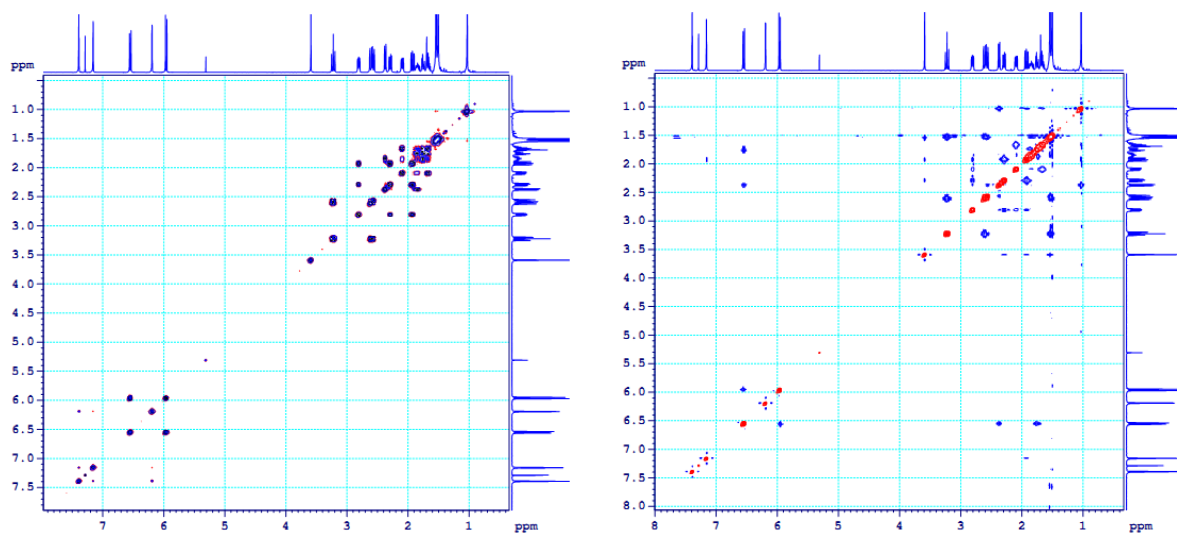
9	48.1	47.87	CH	1.56 m		
10	37.0	36.69	C			
11	23.5	23.24	CH ₂	2.04 m, 1.92 m		
12	123.0	122.73	CH	5.38 m	5.43 t-like	14, 9
13	144.2	144.00	C			
14	42.2	42.00	C			
15	28.3	26.48	CH ₂	2.12 m, 1.75 m		
16	23.9	23.48	CH ₂	1.83 m		
17	47.1	46.89	C			
18	41.8	41.59	CH	3.13 dd (3.5, 13.5)	3.20 dd (14.4)	
19	46.3	46.09	CH ₂	1.70 m, 1.20 m		
20	30.8	30.59	C			
21	34.1	33.83	CH ₂	1.30 m, 1.05 m		
22	32.8	32.96	CH ₂	1.41 m, 1.28 m		
23	27.9	27.66	CH ₃	1.21 s	1.27 s	24
24	16.6	16.34	CH ₃	1.01 s	1.08 s	24, 4
25	15.6	15.38	CH ₃	0.80 s	0.86 s	
26	17.5	17.29	CH ₃	1.03 s	1.09 s	
27	26.2	25.94	CH ₃	1.22 s	1.27 s	
28	176.5	176.49	C			
29	33.2	32.96	CH ₃	0.86 s	0.91 s	
30	23.7	23.62	CH ₃	0.83 s	0.89 s	
Glc						
	105.0	105.2	CH	4.76 d (7.5)	4.81 d (8)	3
	79.0	77.11	CH	4.64 m	4.28*	
	88.9	84.77	CH	4.28 m	4.23*	
	70.2	69.25	CH	4.78 m	3.81 m	
	77.8	75.75	CH	4.01 m		
	62.4	61.89	CH ₂	4.30 m		
Xyl						
	104.7	104.63	CH	5.37 d (8.0)	5.57 d (8)	2'
	76.3	77.94	CH	3.85 m	4.03;	
	79.4	78.43	CH	4.24 m	4.21*	
	71.4	71.07	CH	4.14 m	3.60*	
	67.3	66.76	CH ₂	4.18 m, 3.37 m		
Glc						
	104.8	104.97	CH	5.22 d. (8.0)	5.34 d (8)	3'
	75.4	75.81	CH	3.95 m	4.03*	
	78.6	79.02	CH	4.24 m	4.17*	
	71.7	70.83	CH	4.07 m	4.02*	
	78.7	78.59	CH	4.39 m		
	62.7	62.05	CH ₂	4.18 m 4.08 m		
28-Glc						

	95.8	95.55	CH	6.22 d (8.0)	6.31 d (8)	28
	74.2	73.77	CH	4.14 m	4.20*	
	79.0	75.03	CH	3.93 m		
	71.3	71.25	CH	4.08 m	4.02*	
	79.3	78.06	CH	4.14 m		
	62.4	62.17	CH ₂	4.40 m, 4.16 m		

^aĐo trong Pyridin, ^b125 MHz, ^c500 MHz, *¹H NMR và ¹³C NMR của Araliasaponin IV
đo trong pyridin 400 MHz và 100 MHz



PL3.2.7.1a. Phổ ¹³C NMR của hợp chất CA1



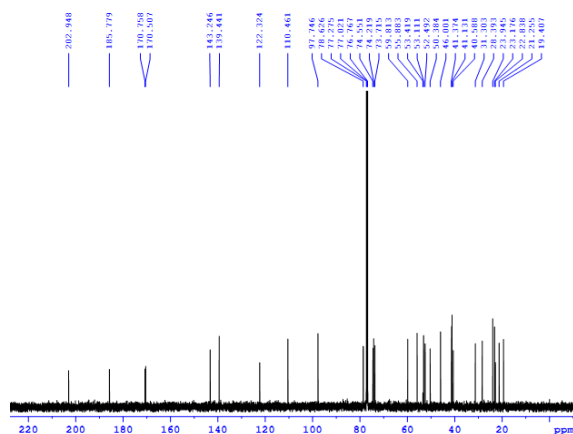
PL3.2.7.1b. Phổ COSY và NOESY của CA1

Bảng PL3.2.7.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA1

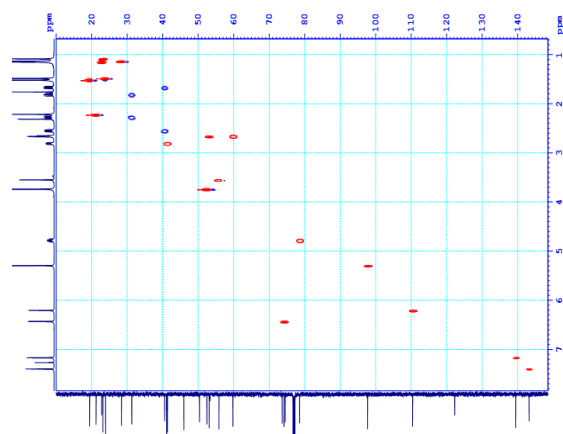
Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = Hz$)	HMBC (H \rightarrow C)
1	159.5	159.51	CH	6.53 d (12.0)	3, 5, 10
2	121.9	122.20	CH	5.95 d (12.0)	3, 10
3	166.5	166.78	C		
4	84.7	85.21	C		
5	52.9	53.12	CH	2.55 dd (2.0, 14.0)	6, 10, 19, 28, 29

6	37.8	38.07	CH ₂	2.60 dd (2.0, 13.5) 3.21 t (13.5)	5, 7, 10
7	171.3	171.59	C		
8	84.5	84.96	C		
9	53.3	53.52	CH	2.36 d (11.0)	1, 8, 10, 11, 12, 19, 30
10	46.3	46.45	C		
11	25.2	25.43	CH ₂	1.74 dd (6.0, 14.5) 1.84 m	
12	35.5	35.71	CH ₂	1.65 m 2.08 dd (6.0, 13.0)	9, 13, 18
13	41.3	41.47	C		
14	72.6	72.77	C		
15	55.3	55.56	CH	3.58 s	16, 17
16	31.7	31.87	CH ₂	1.91 dd (11.5, 13.5) 2.28 dd (6.0, 13.5)	14, 15, 17
17	41.4	41.58	CH	2.80 dd (6.5, 12.0)	12, 13, 16, 18, 20, 21, 22
18	22.7	22.93	CH ₃	1.02 s	12, 13, 14
19	18.6	15.11	CH ₃	1.49 s	1, 5, 9, 10
20	122.6	122.68	C		
21	139.2	139.38	CH	7.14 s	20, 22, 23
22	110.4	110.56	CH	6.18 s	20, 21, 23
23	142.8	143.65	CH	7.38 s	20, 21, 22
28	31.8	32.03	CH ₃	1.53 s	4, 5, 29
29	14.9	26.93	CH ₃	1.49 s	4, 5, 28
30	26.7	18.86	CH ₃	1.53 s	8, 9, 14

^a đo trong CDCl₃, ^b 125MHz, ^c 500MHz, # δ_C Sureanolacton



PL3.2.7.2a. Phổ ¹³C NMR của CA2



PL3.2.7.2b. Phổ HSQC của CA2

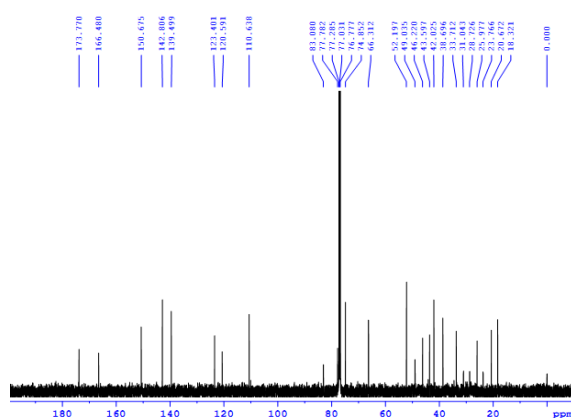
Bảng PL3.2.7.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA2

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = Hz$)	HMBC
1	185.9	185.78	C		
2	97.7	97.75	CH	5.30 s	4, 10
3	203.1	202.95	C		

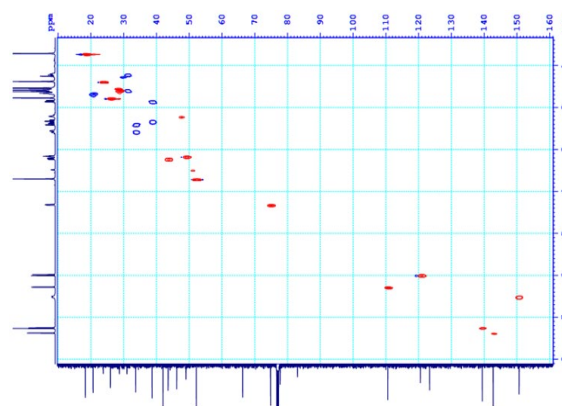
Bảng PL3.2.7.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA3

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J= Hz$)	HMBC
1	159.3	159.17	CH	6.55 d (12.0)	3, 5, 10
2	121.7	121.78	CH	5.90 d (12.0)	3, 10
3	168.2	168.16	C		
4	85.7	85.64	C		
5	47.6	47.65	CH	2.60 dd (3.5, 13.5)	
6	29.3	29.35	CH ₂	1.60*, 2.02*	
7	69.2	69.34	CH	3.88 br s	
8	42.7	41.73	C		
9	37.8	47.58	CH	1.44*	1,8,10, 11, 12, 19, 30
10	41.7	43.31	C		
11	19.5	19.52	CH ₂	1.63*, 1.80 m	
12	34.6	34.57	CH ₂	1.60* 2.02*	
13	43.3	42.22	C		
14	61.2	61.34	CH	2.69 s	7, 8, 15, 17, 18, 30
15	221.5	221.38	C		
16	47.6	43.21	CH ₂	2.52 d (10.0)	14, 15, 17, 20
17	43.3	37.93	CH	3.53 t (10.0)	12, 13, 16, 18, 20, 21, 22
18	27.7	27.72	CH ₃	0.80 s	12, 13, 14, 17
19	15.7	15.46	CH ₃	1.29 s	1, 5, 9, 10
20	122.8	122.81	C		
21	142.9	140.18	CH	7.29 s	20, 22, 23
22	110.8	110.8	CH	6.29 s	20, 21, 23
23	140.2	142.98	CH	7.41 s	20, 21, 22
28	27.2	27.17	CH ₃	1.45 s	4, 5, 29
29	32.2	32.27	CH ₃	1.45 s	4, 5, 28
30	18.1	18.18	CH ₃	1.11 s	7, 8, 9, 14

^a đo trong CDCl₃, ^b 125MHz, ^c 500MHz. # δ_C Ouabanginone



PL3.2.7.4a. Phổ ¹³C NMR của CA4

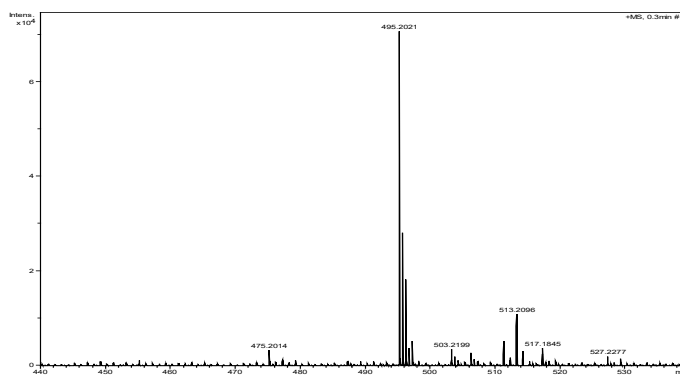


PL3.2.7.4b. Phổ HSQC của CA4

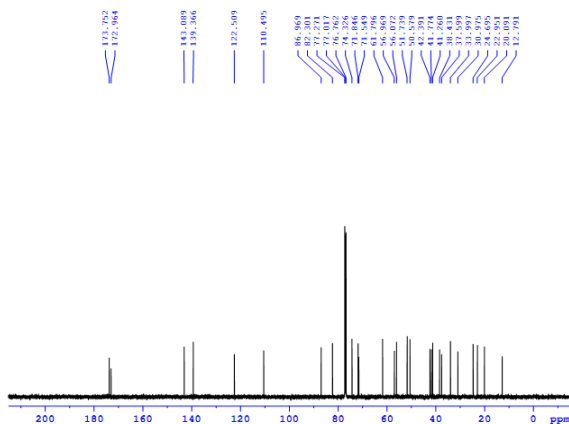
Bảng PL3.2.7.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA4

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J=Hz$)	HMBC
1	151.0	150.67	CH	6.51 d (12.0)	
2	120.6	120.59	CH	5.99 d (12.0)	1, 4, 10
3	166.7	166.48	C		
4	83.3	83.08	C		
5	49.0	49.03	CH	3.16 t (5.0)	1, 4, 6, 7, 10
6	31.0	33.71	CH ₂	2.39 dd (5.5, 17.5) 2.58 dd (5.5, 17.5)	4, 5, 7
7	13.8	173.77	C		
8	66.4	66.31	C		
9	47.9	45.56	CH	2.21 br s	
10	46.2	46.22	C		
11	20.6	20.67	CH ₂	1.68 m	
12	33.7	31.04	CH ₂	1.22 td (4.0, 13.0) 1.60*	
13	42.0	42.02	C		
14	77.8	77.78	C		
15	74.7	74.85	CH	4.32 dd (3.0, 5.5)	14, 17
16	38.7	38.69	CH ₂	1.85 dd (5.5, 13.5) 2.32 dd (5.5, 13.5)	13, 14, 15, 17
17	43.5	43.60	CH	3.22 dd (5.5, 13.5)	12, 13, 16, 18, 20, 21, 22
18	18.4	18.32	CH ₃	0.71 s	12, 13, 14, 17
19	23.9	23.77	CH ₃	1.38 s	1, 5, 9, 10
20	123.5	123.40	C		
21	139.5	139.50	CH	7.25 s	20, 22, 23
22	110.7	110.64	CH	6.28 d (1.5)	20, 21, 23
23	142.8	142.80	CH	7.37 t (1.5)	20, 21, 22
28	28.8	28.73	CH ₃	1.58 s	3, 4, 5, 29
29	28.8	28.73	CH ₃	1.54 s	3, 4, 5, 28
30	26.0	25.98	CH ₃	1.77 s	8, 9, 14
7-OMe	52.1	52.20	CH ₃	3.70 s	7

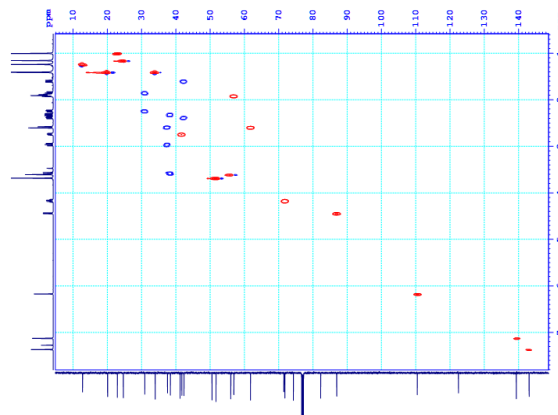
^a đo trong CDCl₃, ^b 125MHz, ^c 500MHz. # δ_C Toonaciliatin H



PL3.2.7.5a. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất CA5



PL3.2.7.5a. Phổ ^{13}C NMR của CA7



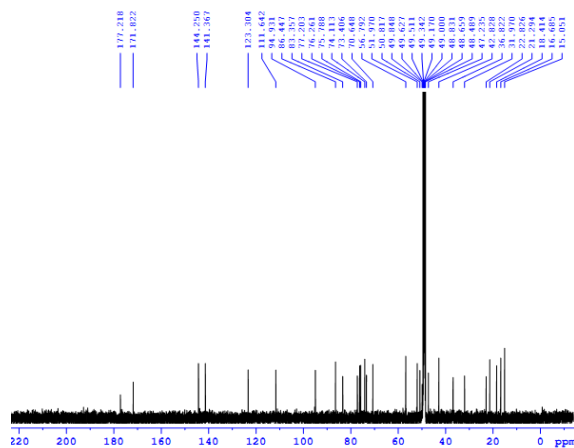
PL3.2.7.5b. Phổ HSQC của CA7

Bảng PL3.2.7.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA7

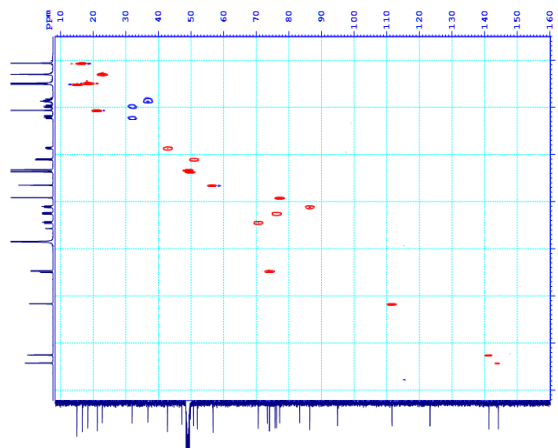
Position	# δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	87.0	86.97	CH	4.44 d (8.0)	2, 3, 5, 10, 19
2	38.5	38.43	CH ₂	2.32 dd (8.5, 13.5) 3.58 d (13.5)	1, 3, 10
3	173.8	173.52	C		
4	74.4	74.32	C		
5	57.0	56.97	CH	1.92 m	1, 4, 6, 7, 9, 10, 19, 28, 29
6	37.6	37.60	CH ₂	2.59 dd (2.0, 13.5) 2.96 dd (12.0, 13.5)	
7	173.0	172.96	C		
8	82.3	82.30	C		
9	61.8	61.79	CH	2.60 s	5, 8, 10, 11, 12, 19, 30
10	50.6	50.58	C		
11	71.9	71.85	CH	4.17 m	8, 9
12	42.4	42.39	CH ₂	1.60 dd (8.5, 13.0) 2.39 dd (7.5, 13.0)	11, 13, 14, 18
13	41.3	41.26	C		
14	71.6	71.56	C		
15	56.1	56.07	CH	3.61 s	16, 17
16	31.0	30.97	CH ₂	1.85 dd (2.0, 13.5) 2.24 dd (6.5, 13.5)	14, 15, 17
17	41.8	41.77	CH	2.74 dd (6.5, 11.0)	13, 16, 18, 20, 21, 22
18	23.0	22.95	CH ₃	1.00 s	12, 13, 14, 17
19	12.8	12.79	CH ₃	1.24 s	1, 5, 9, 10
20	122.5	122.51	C		
21	139.4	139.36	CH	7.12 s	20, 22, 23
22	110.8	110.49	CH	6.17 d (1.0)	20, 21, 23
23	142.6	143.09	CH	7.36 t (1.0)	20, 21, 22

28	25.6	24.69	CH ₃	1.16 s	4, 5, 29
29	34.1	34.00	CH ₃	1.41 s	4, 5, 28
30	20.1	20.09	CH ₃	1.41 s	8, 9, 14
3-OCH ₃	51.8	51.74	CH ₃	3.68 s	

^a đo trong CDCl₃, ^b 125MHz, ^c 500MHz. # δ_C Toonaciliatin D



PL3.2.7.6a. Phổ ¹³C NMR của CA9



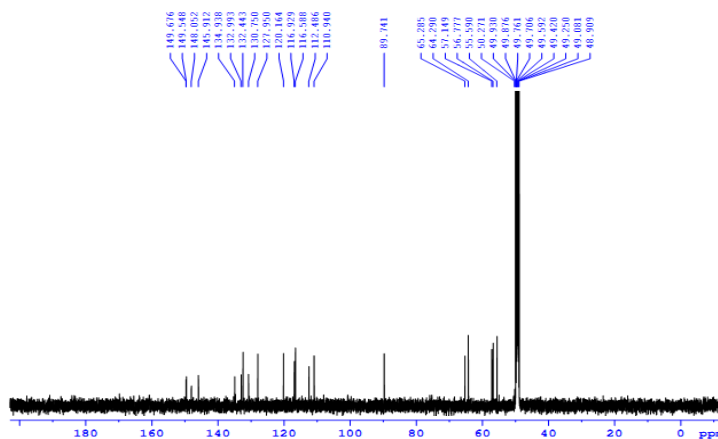
PL3.2.7.6b. Phổ HSQC của CA9

Bảng PL3.2.7.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA9

Position	# δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	86.9	86.45	CH	4.11 dd (7.0, 11.0)	10, 11, 19
2	37.3	36.82	CH ₂	1.85 m	1, 3, 10
3	71.1	70.65	CH	4.45 dd (5.0, 12.5)	2, 4
4	95.4	94.93	C		
5	83.8	83.36	C		
6	77.7	77.20	CH	3.92 s	4, 5
7	177.7	177.22	C		
8	76.7	75.79	C		
9	51.3	50.82	CH	3.10 d (12.5)	5, 8, 10, 11, 12, 19, 30
10	52.4	51.97	C		
11	76.3	76.26	CH	4.25 dd (6.0, 12.5)	8, 9, 12
12	74.6	74.41	CH	5.48 d (6.0)	9,11,13,17,18,12-OAc
13	47.7	47.23	C		
14	73.9	73.40	C		
15	57.3	56.79	CH	3.65 s	16, 17
16	32.4	31.97	CH ₂	1.98 dd (11.5, 14.0) 2.22 dd (7.0, 14.0)	13, 14, 15, 17, 20
17	43.3	42.83	CH	2.86 dd (7.0, 11.5)	12,13,16,18,20,21,22
18	17.2	16.68	CH ₃	1.06 s	12, 13, 14, 17
19	18.9	18.41	CH ₃	1.49 s	1, 5, 9, 10
20	123.8	123.30	C		
21	141.9	141.36	CH	7.25 br s	20, 22, 23
22	112.1	111.64	CH	6.17 d (1.5)	20, 21, 23

23	144.8	144.25	CH	7.42 t (1.5)	20, 21, 22
28	15.6	15.05	CH ₃	1.51 s	4, 5, 29
30	23.3	22.82	CH ₃	1.30 s	8, 9, 14
12-OAc	172.3	171.82	C		
	21.8	21.29	CH ₃	2.06 s	

^a đo trong CD₃OD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, # δ_C Toonaciliatin O

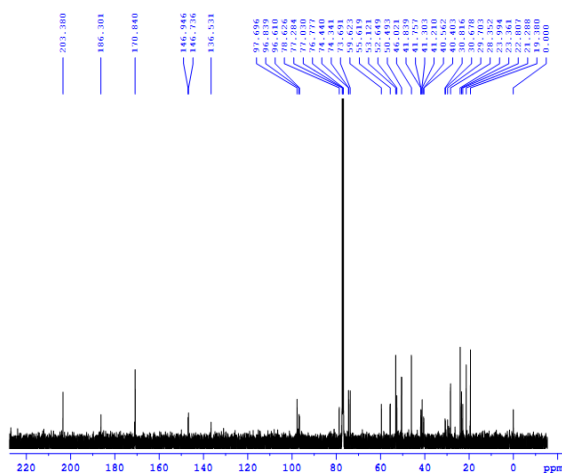


PL3.2.7.7a. Phổ ¹³C NMR của hợp chất CA10

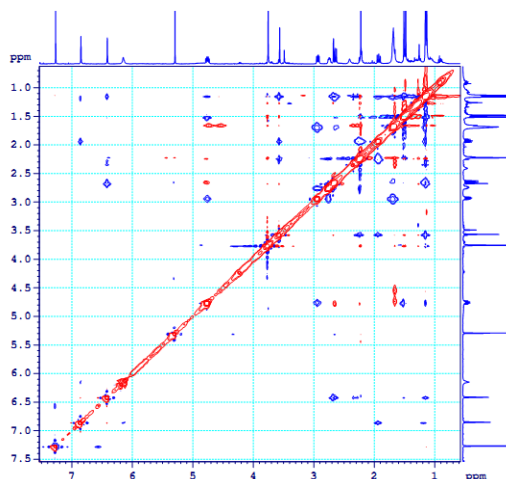
Bảng PL3.2.7.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA10

Position	# δ_C^a	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = Hz$)
1	134.5	134.93	C	
2	110.5	110.94	CH	6.96 d (2.0)
3	149.1	149.54	C	
4	147.5	148.05	C	
5	116.1	116.59	CH	6.79 d (8.0)
6	119.7	120.16	CH	6.85 dd (2.0, 8.0)
7	89.3	89.74	CH	5.55 d (6.5)
8	56.7	55.59	CH	3.51 m
9	64.8	65.28	CH ₂	3.80 dd (4.0, 11.0) 3.86 dd (5.5, 11.0)
1'	132.3	132.99	C	
2'	112.1	112.48	CH	6.96 s
3'	145.5	145.91	C	
4'	149.4	149.67	C	
5'	130.3	130.75	C	
6'	116.7	116.93	CH	6.98 s
7'	134.2	132.44	CH	6.56 d (16.0)
8'	124.2	127.95	CH	6.25 td (5.5, 16.0)
9'	70.9	64.29	CH ₂	4.21 dd (1.5, 6.0)
3-OCH ₃	55.1	56.77	CH ₃	3.83 s
3'-OCH ₃	56.4	57.15	CH ₃	3.89 s

^a đo trong CD₃OD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, # δ_C (7S, 8R) dehydroniciferyl alcohol 9'- β -glucopyranoside



PL3.2.7.8a. Phổ ^{13}C NMR của CA11



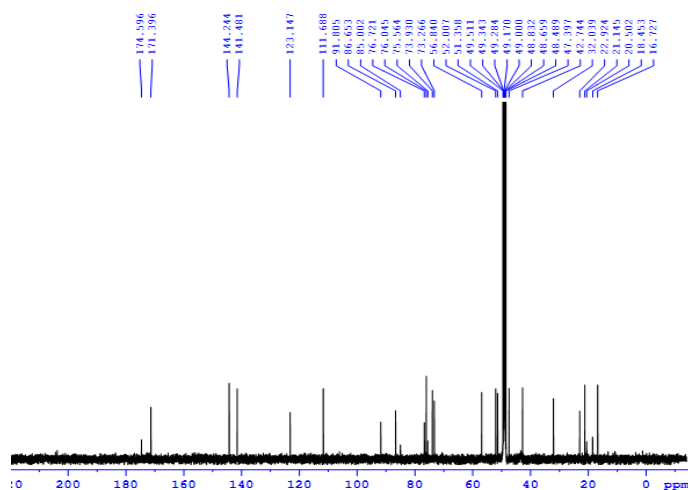
PL3.2.7.8b. Phổ ROESY của CA11

Bảng PL3.2.7.8. Số liệu phổ NMR của CA11

Position	$^1\delta_{\text{C}}$	$^2\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J= \text{Hz}$)	HMBC
1	185.9		186.30	C		
2	97.7		97.69	CH	5.29 s	1, 4, 10
3	203.1		203.38	C		
4	46.0		46.02	C		
5	53.0		53.12	CH	2.67 br s	1, 4, 7, 9, 10, 19, 28, 29
6	74.2		74.34	CH	6.41 br s	4, 5, 7, 10
7	170.6		170.84	C		
8	74.4		74.44	C		
9	59.8		59.62	CH	2.63 d (12.0)	8, 11, 12
10	50.3		50.49	C		
11	78.7		78.62	CH	4.76 m	
12	40.5		40.40 40.56	CH ₂	1.67 2.93 dd (7.5, 13.5)	11, 13, 14, 18
13	41.1		41.21 41.30	C		
14	73.7		73.69	C		
15	55.9		55.62	CH	3.56 s	16, 17
16	31.3		31.81	CH ₂	1.92 dd (11.5, 13.5) 2.24 dd (13.5)	13, 14, 15
17	41.3		41.75	CH	2.74 m	
18	23.1		23.36	CH ₃	1.13 s	12, 13, 14, 17
19	19.4		19.38	CH ₃	1.50 s	1, 5, 9, 10
20	122.3	137.99 137.68	136.53	C		
21	139.4	171.54 170.43	170.84	C		
22	110.4	145.60 145.74	145.60 145.74	CH	6.48 s	17, 20, 21, 23

23	143.3	96.62 96.49	96.34 96.61	CH	6.14 s	
28	23.9		23.99	CH ₃	1.47 s	3, 4, 5, 29
29	28.4		28.35	CH ₃	1.15 s	3, 4, 5, 28
30	22.7		22.80	CH ₃	1.13 s	8, 9, 14
7-OMe	52.5		52.65	CH ₃	3.75 s	7
6-OAc	170.8		170.84	C		
	21.2		21.28	CH ₃	2.22 s	

^a CDCl₃, ^b 125MHz, ^c 500MHz. ¹δ_C Toonayunnarin I [70], ²δ_C 1α,3α,7α-triacetoxy-23ζ-hydroxy-24,25,26,27-tetranor-apotirucalla-14,20(22)-dien-21,23-olide



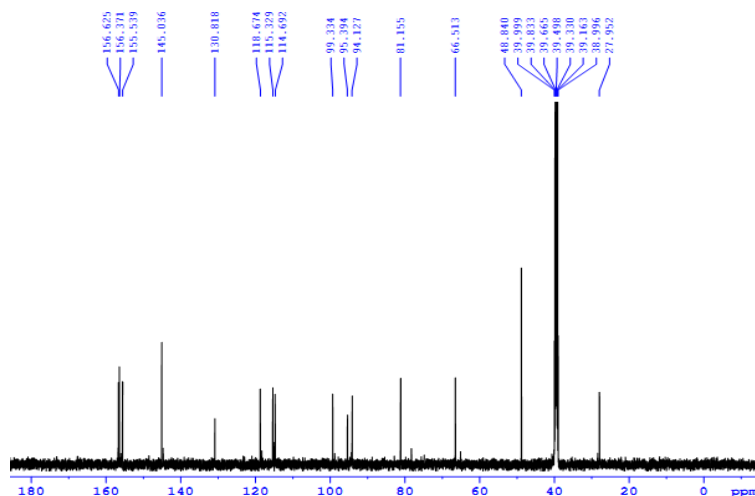
PL3.2.7.9a. Phổ ¹³C NMR của hợp chất CA12

Bảng PL3.2.7.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA12

Position	#δ _C	δ _C ^{a,b}	DEPT	δ _H ^{a,c} mult. (J= Hz)	HMBC
1	87.1	86.65	CH	4.28 d (10.0)	10, 11, 19
2	44.3	43.30	CH ₂	2.95 d (9.0)	1, 3
3	204.9	204.50	C		
4	92.3	91.80	C		
5	85.5	85.00	C		
6	76.0	75.56	CH	3.90 s	4, 5
7	175.1	174.59	C		
8	76.5	76.04	C		
9	51.8	51.35	CH	3.33	8, 10, 11, 19, 30
10	52.5	52.00	C		
11	77.2	76.72	CH	4.37 dd (5.5, 12.5)	9, 12
12	74.4	73.93	CH	5.53 d (5.5)	8, 11, 13, 17,18, 12-OAc
13	47.9	47.39	C		
14	73.7	73.26	C		
15	57.3	56.84	CH	3.69 s	16, 17
16	32.5	32.04	CH ₂	1.99 dd (2.0, 13.0) 2.24 dd (7.0, 14.0)	13, 14, 15, 17, 20
17	43.5	42.74	CH	2.90 dd (6.5, 11.0)	12, 13, 16, 18, 20, 21, 22

18	17.3	16.72	CH ₃	1.08 s	12, 13, 14, 17
19	18.9	18.45	CH ₃	1.53 s	1, 5, 9, 10
20	123.7	123.14	C		
21	142.0	141.48	CH	7.26 br s	20, 22, 23
22	112.1	111.68	CH	6.18 br d	20, 21, 23
23	144.8	144.24	CH	7.42 t (1.5)	20, 21, 22
28	21.0	20.50	CH ₃	1.67 s	4, 5, 29
30	23.4	22.92	CH ₃	1.34 s	8, 9, 14
12-OAc	171.9	171.39	C		
	21.7	21.14	CH ₃	2.03 s	

^a đo trong CD₃OD, ^b 125MHz, ^c 500MHz, [#]δ_C Toonaciliatin N

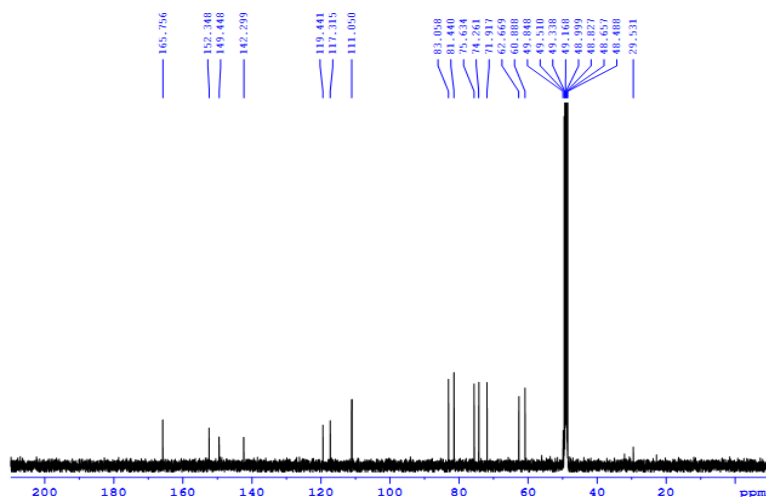


PL3.2.7.10a. Phổ ¹³C NMR của hợp chất CA16

Bảng PL3.2.7.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA16

Position	#δ _C ^a	δ _C ^{a,b}	DEPT	δ _H ^{a,c} mult. (<i>J</i> = Hz)
2	81.0	81.1	CH	4.48 d (8.0)
3	66.4	66.5	CH	3.83m
4	27.7	27.9	CH ₂	2.36 dd (8.0, 16.0) 2.65 dd (5.0, 16.0)
5	156.1	156.6	C	
6	95.3	95.3	CH	5.70 br s
7	156.4	156.3	C	
8	94.0	94.1	CH	5.89 br s
9	155.3	155.5	C	
10	99.2	99.3	C	
1'	130.7	130.8	C	
2'	114.5	114.6	CH	6.72 br s
3'	144.8	145.0	C	
4'	144.8	145.0	C	
5'	115.1	115.3	CH	6.59 d (8.0)
6'	118.4	118.6	CH	6.69 d (8.0)

^a đo trong DMSO, ^b 125MHz, ^c 500MHz. [#]Số liệu phổ theo chất (+)-catechin

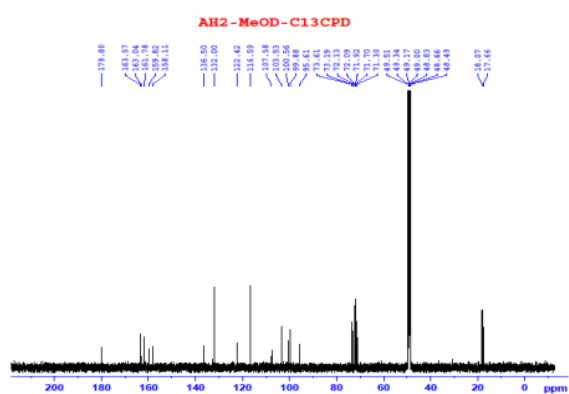


PL3.2.7.11a. Phổ ^{13}C NMR của hợp chất CA17

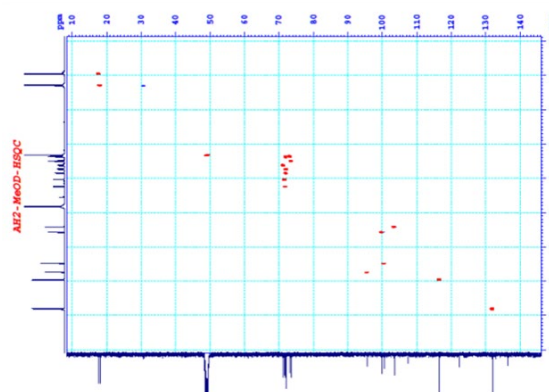
Bảng PL3.2.7.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất CA17

Position	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
2	82.3	83.06	CH	3.69 m	
3	71.3	71.92	CH	3.45 t (9.0)	2, 4, 11
4	74.7	75.63	CH	3.83 t (9.0)	3, 4 ^a
4a	80.7	81.44	CH	4.08 dd (10.5, 9.0)	10a
6	165.2	165.76	C		
6a	118.9	119.44	C		
7	110.6	111.50	CH	7.11 s	6, 6a, 9, 10a
8	151.7	152.35	C		
9	141.7	142.30	C		
10	149.0	149.45	C		
10a	116.9	117.31	C		
10b	73.4	74.26	CH	4.97 d (10.5)	4, 10 ^a
11	62.0	62.67	CH ₂	3.72 dd (6.5, 12.0) 4.06 dd (3.0, 12.0)	
9-OMe	60.8	60.89	CH ₃	3.93 s	9

^aĐo trong CD_3OD , ^b125 MHz, ^c500MHz, [#] δ_{C} của bergenin



PL3.2.8.1a. Phổ ^{13}C NMR của AH2

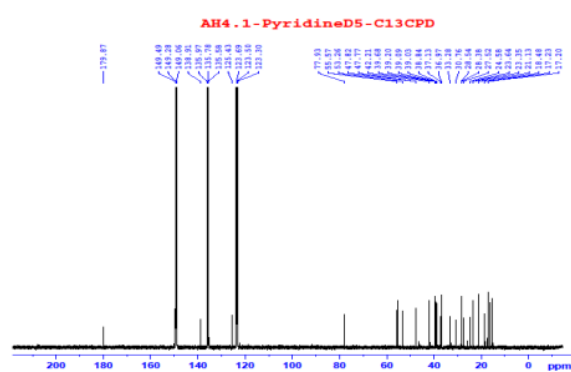


PL3.2.8.1b. Phổ HSQC của AH2

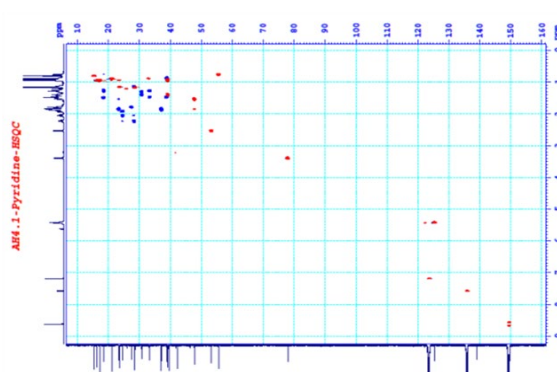
Bảng PL3.2.8.1. Giá trị phổ NMR của hợp chất AH2 và hợp chất tham khảo.

Position	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	* δ_H (J = Hz)	$\delta_H^{a,c}$ (J = Hz)	HMBC
2	159.90	159.82	C			
3	136.60	136.50	C			
4	179.90	179.80	C			
5	163.10	163.04	C			
6	100.56	100.56	CH	6.46 s	6.46 d (2.0)	8, 10,5
7	163.60	163.57	C			
8	95.70	95.61	CH	6.72 s	6.75 d (2.0)	6, 7, 9, 10
9	158.20	158.11	C			
10	107.60	107.58	C			
1'	122.50	122.42	C			
2'	132.00	132.00	CH	7.80 d (8.0)	7.81 d (8.5)	6',4',3',5'
3'	116.60	116.59	CH	6.94 d (7.5)	6.96 d (8.5)	5', 1', 4'
4'	161.80	161.78	C			
5'	116.60	116.59	CH	6.94 d (7.5)	6.96 d (8.5)	3', 1', 4'
6'	132.00	132.00	CH	7.80 d (8.0)	7.81 d (8.5)	4', 2', 3', 5'
1''	103.53	103.53	CH	5.39 s	5.42 d (2.0)	3
2''	71.92	71.92	CH	3.83-3.81 m	4.24 m	4'', 6''
3''	72.20	72.13	CH	3.71-3.70 m	3.74 m	
4''	73.20	73.19	CH	3.34-3.32 m	3.38 m	6'', 3''
5''	72.00	72.00	CH	3.34-3.32 m	3.38 m	
6''	17.70	17.66	CH ₃	1.26 d (5.5)	1.28 d (6.0)	
1'''	99.90	99.88	CH	5.55 s	5.58 d (2.0)	7
2'''	71.70	71.70	CH	4.00 brs	4.04 m	
3'''	72.14	72.09	CH	3.83-3.81 m	3.85 m	4'''
4'''	73.60	73.61	CH	3.60-3.57 m	3.50 t (9.5)	5'''', 6'''
5'''	71.30	71.30	CH	3.60-3.57 m	3.63 m	4'''', 6'''
6'''	18.10	18.07	CH ₃	0.93 d (4.5)	0.96 d (6.0)	

*Số liệu phổ của kaempferitrin. ^aĐo trong CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz



PL3.2.8.2a. Phổ ¹³C NMR của AH4



PL3.2.8.2b. Phổ HSQC của AH4

Bảng PL3.2.8.2. Giá trị phổ NMR của hợp chất AH4 và hợp chất tham khảo

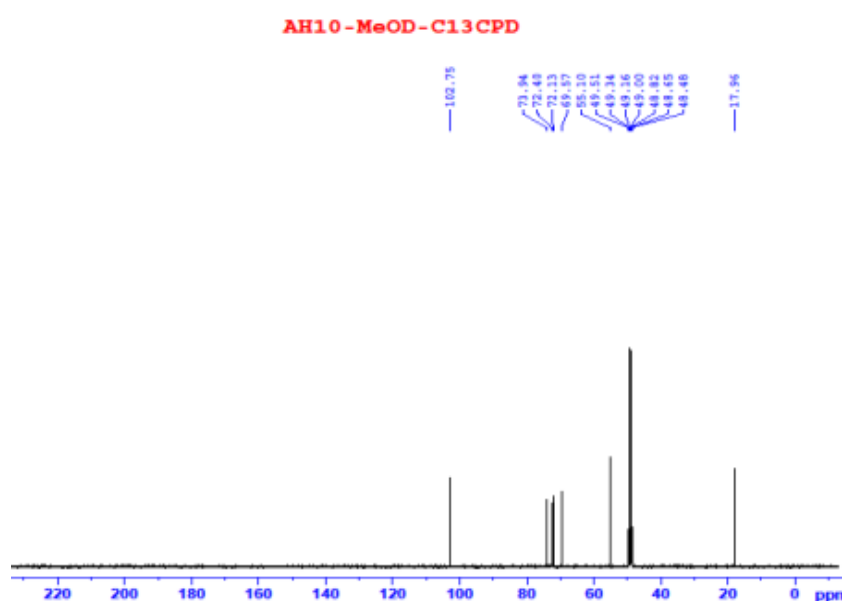
Position	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	39.2	38.84	CH ₂	1.46 m, 0.87 m	10, 4, 3, 5
2	28.2	27.52	CH ₂	1.80 m, 1.77 m	1, 3, 4, 10
3	78.2	77.93	CH	3.40 dd (9.0, 7.0)	23, 24, 4
4	39.6	39.03	C		
5	55.9	55.57	CH	0.76 d (11.5)	24, 6, 23, 7, 10, 1
6	18.8	18.48	CH ₂	1.51 m, 1.28 m	26, 11, 10, 8, 5, 9
7	33.7	33.28	CH ₂	1.49 m, 1.27 m	26, 11, 8, 5, 9
8	40.1	39.68	C		
9	48.1	47.77	CH	1.54 m	26, 11, 8, 14
10	37.5	36.97	C		
11	23.7	23.35	CH ₂	1.90 m, 1.88 m	8, 9, 12, 13
12	125.7	125.43	CH	5.42 t (4.0)	11, 14, 17, 9, 18
13	139.3	138.91	C		
14	42.6	42.21	C		
15	28.8	28.38	CH ₂	2.23 m, 1.14 m	14, 27, 13, 17
16	25.0	24.58	CH ₂	2.05 m, 1.93 m	15, 17, 28, 14, 18
17	48.1	47.82	C		
18	53.6	53.26	CH	2.54 d (11.5)	16, 14, 17, 12, 28
19	39.5	39.2	CH	1.4 m	29, 30, 20, 17, 18
20	39.4	39.09	CH	0.94 (m)	18
21	31.1	30.76	CH ₂	1.42 m, 1.32 m	20, 17
22	37.4	37.13	CH ₂	1.86 m, 1.85 m	16, 21, 18, 28, 20
23	28.8	28.54	CH ₃	1.17 s	4, 5
24	16.5	16.3	CH ₃	0.94 s	23, 3, 5, 4
25	15.7	15.37	CH ₃	0.80 s	10, 1, 9, 5
26	17.5	17.23	CH ₃	0.96 s	7, 14, 9
27	24.0	23.64	CH ₃	1.15 s	13, 14, 15
28	179.7	179.87	C		
29	17.5	17.2	CH ₃	0.95 s	17
30	21.4	21.13	CH ₃	0.89 s	20, 21

*¹³C NMR của acid ursolic, ^aĐo trong CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz

Bảng PL3.2.8.4. Giá trị phổ của hợp chất AH7 và hợp chất tham khảo.

Position	* δ_C	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ Mult. (J = Hz)	HMBC
2	164.9	164.31	C		
3	103.8	103.09	CH	6.86 s	10, 1', 2, 4
4	182.7	182.00	C		
5	162.1	161.10	C		
6	100.2	99.54	CH	6.45 d (2.0)	8, 10, 9, 5
7	163.6	162.97	C		
8	95.5	94.87	CH	6.84 d (2.0)	6,10, 9, 7
9	157.6	156.95	CH		
10	106.0	105.34	C		
1'	121.7	120.99	C		
2'	129.3	128.61	CH	7.96 d (8.5)	6', 3', 4', 2
3'	116.7	116.03	CH	6.96 d (8.5)	5', 1', 4'
4'	161.7	161.42	C		
5'	116.7	116.03	CH	6.96 d (8.5)	3', 1', 4'
6'	129.3	128.61	CH	7.96 d (8.5)	2', 4', 2
1''	100.6	99.93	CH	5.07 d (7.3)	7
2''	73.8	73.11	CH	3.26 m	5''
3''	77.8	77.17	CH	3.44 m	1''
4''	70.2	69.58	CH	3.18 m	
5''	77.1	76.44	CH	3.31 m	2''
6''	61.3	60.61	CH ₂	H _a 3.48 m H _b 3.72 m	3''
OH-5				12.95 s	
OH-4'				10.48 brs	

* δ_C của apigenin 7-O- β -D-glucoside. ^aĐo trong DMSO, ^b125 MHz, ^c500 MHz

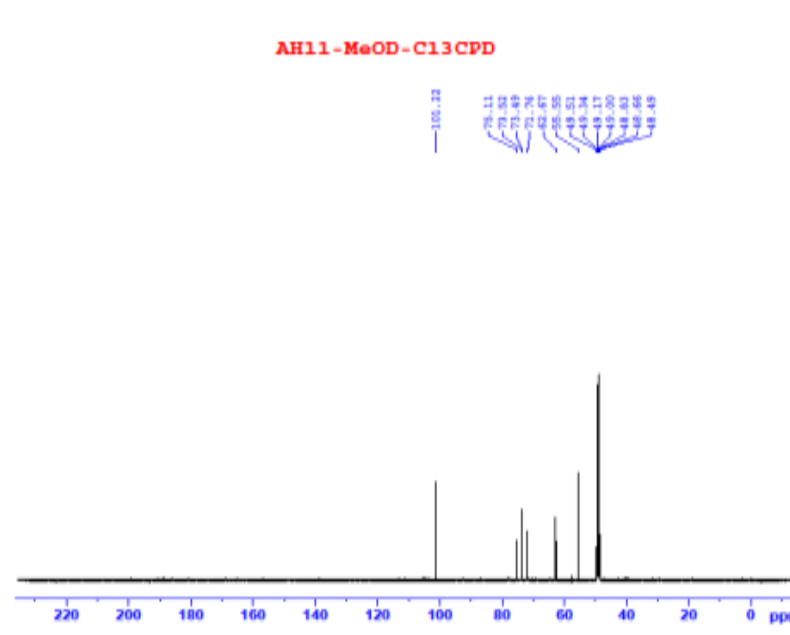


PL3.2.8.5a. Phổ ¹³C NMR (MeOD, 125 MHz) của hợp chất AH10

Bảng PL3.2.8.5. Giá trị phổ của hợp chất AH10

Vị trí	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)
1	102.75	CH	4.58 d (1.5)
2	72.13	CH	3.80 dd (1.5, 3.0)
3	72.4	CH	3.63 dd (3.0, 9.5)
4	73.94	CH	3.39 d (9.5)
5	69.57	CH	3.56 m
6	17.96	CH ₃	1.29 d (6.0)
OCH ₃	55.10	CH ₃	3.67 s

^aĐo trong CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz

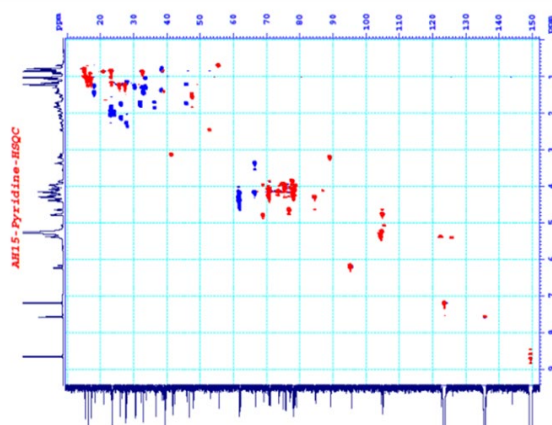
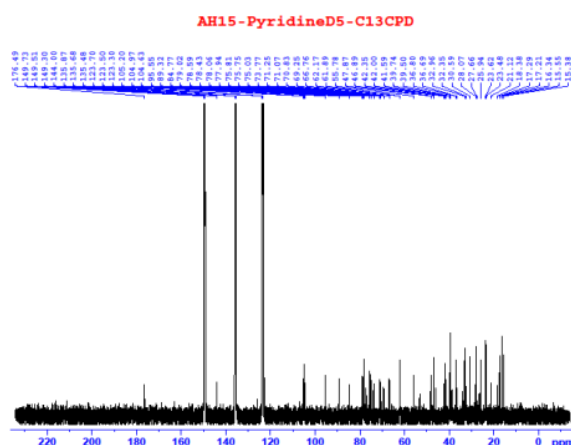


PL3.2.8.6a. Phổ ¹³C NMR (MeOD, 125 MHz) của hợp chất AH11

Bảng PL3.2.8.6. Giá trị phổ của hợp chất AH11

Position	$\delta_C^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ mult. ($J = \text{Hz}$)
1	101.22	CH	4.7 d (4.0)
2	71.76	CH	3.41 d (3.5)
3	73.52	CH	3.64 dd (9.5, 9.5)
4	73.49	CH	3.31 dd (9.5, 9.5)
5	75.11	CH	3.55 m
6	62.67	CH ₂	3.83 dd (2.0, 12.0) 3.70 dd (5.5, 12.0)
OCH ₃	55.55	CH ₃	3.42 s

^aĐo trong MeOD, ^b125 MHz, ^c500 MHz



PL3.2.8.7a. Phổ ^{13}C NMR của AH15

PL3.2.8.7b. Phổ HSQC của AH15

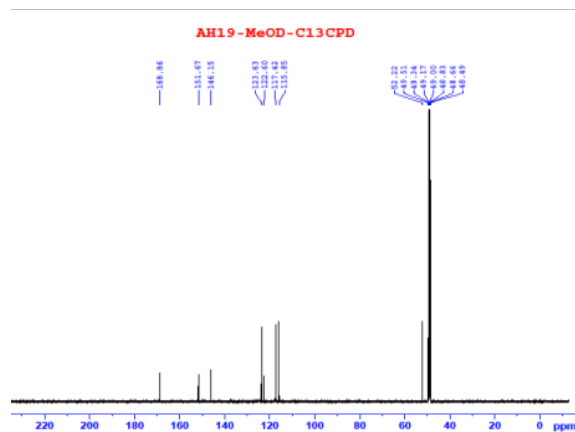
Bảng PL3.2.8.7. Giá trị phổ của hợp chất AH15 và hợp chất tham khảo

Position	* δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	* $\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ ($J = \text{Hz}$)	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ ($J = \text{Hz}$)	HMBC
1	38.8	38.63	CH ₂		1.37 m, 0.78 m	
2	26.6	28.07	CH ₂		2.12 m, 1.13 m	
3	89.2	89.32	CH	3.27 dd (12, 4)	3.20 dd (4.0. 12.0)	1'
4	39.8	39.50	C			
5	56.0	55.78	CH		0.69 d (12.0)	
6	18.6	18.38	CH ₂		1.44 m, 1.28 m	
7	33.1	32.35	CH ₂		1.78 m, 1.70 m	
8	40.0	39.74	C			
9	48.1	47.87	CH		1.56 m	
10	37.0	36.69	C			
11	23.5	23.24	CH ₂		2.04 m, 1.92 m	
12	123.0	122.73	CH	5.43 t-like	5.38 m	14, 9
13	144.2	144.00	C			
14	42.2	42.00	C			
15	28.3	26.48	CH ₂		2.12 m, 1.75 m	
16	23.9	23.48	CH ₂		1.83 m	
17	47.1	46.89	C			
18	41.8	41.59	CH	3.20 br dd (14.4)	3.13 dd (3.5. 13.5)	
19	46.3	46.09	CH ₂		1.70 m, 1.20 m	
20	30.8	30.59	C			
21	34.1	33.83	CH ₂		1.30 m, 1.05 m	
22	32.8	32.96	CH ₂		1.41 m, 1.28 m	
23	27.9	27.66	CH ₃	1.27 s	1.21 s	24
24	16.6	16.34	CH ₃	1.08 s	1.01 s	24, 4
25	15.6	15.38	CH ₃	0.86 s	0.80 s	
26	17.5	17.29	CH ₃	1.09 s	1.03 s	
27	26.2	25.94	CH ₃	1.27 s	1.22 s	
28	176.5	176.49	C			
29	33.2	32.96	CH ₃	0.91 s	0.86 s	20

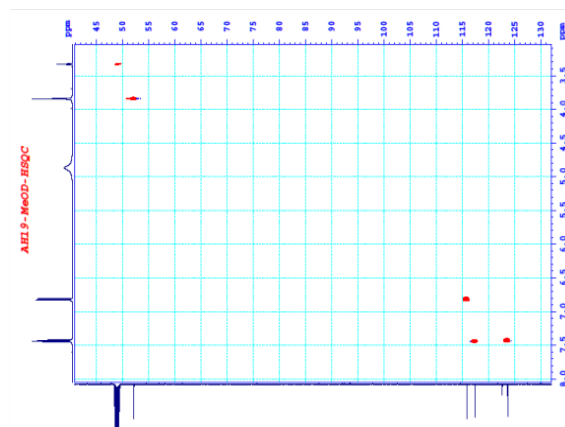
Bảng PL3.2.8.8. Giá trị phổ của hợp chất **AH18** và hợp chất tham khảo

Position	* δ_C	δ_C ^{a,b}	DEPT	δ_H ^{a,c} mult. ($J = Hz$)	HMBC
2	156.7	159.39	C		
3	133.5	135.98	C		
4	177.5	179.75	C		
5	160.8	162.83	C		
6	99.3	100.62	CH	6.50 d (2.0)	8, 10
7	161.5	163.68	C		
8	94.3	95.56	CH	6.79 d (2.0)	6,7, 9, 10
9	155.9	158.10	C		
10	105.6	107.37	C		
1'	121.9	122.75	C		
2'	116.2	117.77	CH	7.86 d (2.5)	2', 4', 6', 2
3'	144.8	145.89	C		
4'	148.6	150.17	C		
5'	115.2	116.17	CH	6.90 d (8.5)	1', 3', 4'
6'	121.7	123.17	CH	7.65 dd (2.5, 8.5)	2', 4', 2
1''	100.6	105.04	CH	5.25 d (8.0)	3
2''	74.0	73.62	CH	3.49 m	
3''	76.4	75.06	CH	3.57 m	
4''	69.8	71.29	CH	3.62 m	
5''	77.5	77.26	CH	3.49 m	
6''	60.9	62.02	CH ₂	3.65 dd (6.0, 11.0) 3.58 m	
1'''	98.3	99.93	CH	5.59 d (1.5)	7, 3'''
2'''	69.7	70.09	CH	3.87 m	
3'''	70.0	71.71	CH	4.04 m	
4'''	71.5	73.95	CH	3.49 m	
5'''	70.1	73.17	CH	3.83 m	
6'''	17.87	17.88	CH ₃	1.27 d (6.0)	

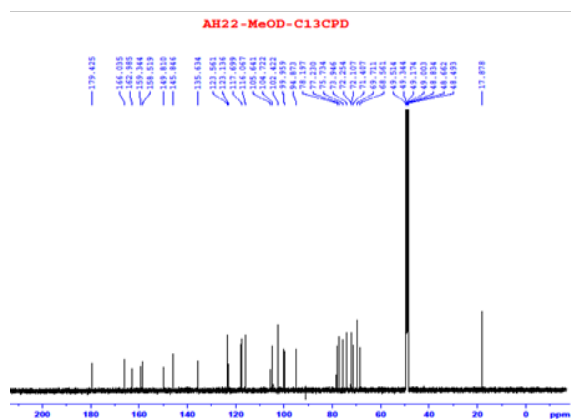
* δ_C của quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside-7-O- α -L-rhampyranoside, ^aĐo trong CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz



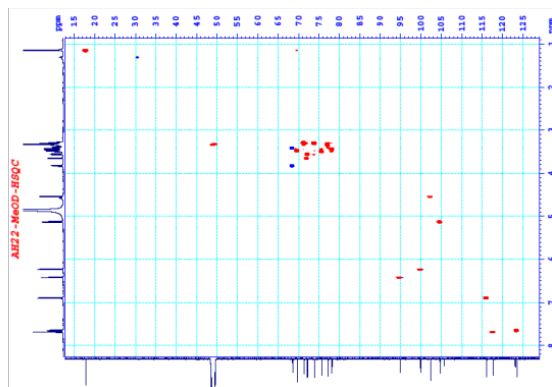
PL3.2.8.9a. Phổ ¹³C NMR của AH19



PL3.2.8.9b. Phổ HSQC của AH19



PL3.2.8.11a. Phổ ^{13}C NMR của AH22



PL3.2.8.11b. Phổ HSQC của AH22

Bảng PL3.2.8.11. Số liệu phổ của hợp chất AH22 và hợp chất tham khảo

Position	$^*\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	DEPT	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult. ($J = \text{Hz}$)	HMBC
2	158.52	158.52	C		
3	135.62	135.63	C		
4	179.44	179.43	C		
5	162.98	162.99	C		
6	99.95	99.96	CH	6.23 d (2.0)	5, 7, 8, 10
7	166.01	166.04	C		
8	94.87	94.87	CH	6.42 d (2.0)	7, 6
9	159.35	159.34	C		
10	105.66	105.64	C		
1'	123.15	123.14	C		
2'	117.69	117.70	CH	7.69 d (2.0)	1', 3', 4'
3'	145.84	145.85	C		
4'	149.81	149.81	C		
5'	116.06	116.07	CH	6.90 d (8.5)	1', 3', 4'
6'	123.55	123.56	CH	7.65 dd (2.0, 8.5)	
1''	104.69	104.72	CH	5.13 d (7.5)	3, 5''
2''	75.74	75.73	CH	3.49 m	
3''	78.20	78.20	CH	3.44 m	
4''	71.42	71.41	CH	3.29 m	
5''	77.25	77.23	CH	3.35 m	
6''	68.56	68.56	CH ₂	3.82 (dd. 1.0; 11.0) 3.38 m	
1'''	102.42	102.42	CH	4.54 (d. 1.0)	5''', 3''', 6''
2'''	72.12	72.11	CH	3.66 m	
3'''	72.26	72.25	CH	3.56 m	
4'''	73.94	73.95	CH	3.30 m	
5'''	69.71	69.71	CH	3.47 (m)	
6'''	17.87	17.88	CH ₃	1.14 d (6.0)	

* ^{13}C NMR của rutin. ^aĐo trong MeOD, ^b125 MHz, ^c500 MHz

Bảng PL3.5.1a. Cân nặng chuột thử độc tính cấp đường uống của viên ĐQ liều 100 viên/kg

Chuột thử nghiệm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Phái	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♀	♀	♀	♀
Trọng lượng N1 (g)	21,5	20,0	24,7	21,5	19,0	21,4	19,7	21,0	18,4	17,2
Trọng lượng N3(g)	25,7	26,2	26,7	23,6	20,5	23,7	27,8	29,4	19,1	19,6
Trọng lượng N7 (g)	28,2	28,4	31,4	26,0	23,9	25,3	27,5	31,9	22,8	21,8
Trọng lượng N14 (g)	29,5	29,2	31,7	28,1	26,1	26,7	28,1	32,1	26,7	23,5

Bảng PL3.5.1b. Cân nặng chuột thử độc tính cấp đường uống của viên ĐS liều 38,5 viên/kg

Chuột thử nghiệm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Phái	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♀	♀	♀	♀
Trọng lượng N1 (g)	22,5	25,8	23,1	20,4	18,2	18,7	18,3	17,8	19,2	18,6
Trọng lượng N3(g)	24,6	27,1	30,2	21,8	17,3	20,5	24,7	20,8	20,5	18,0
Trọng lượng N7 (g)	24,8	27,2	31,7	26,7	20,7	20,9	24,9	22,8	25,5	21,0
Trọng lượng N14 (g)	29,8	31,7	35,8	29,0	23,7	19,3	27,1	28,0	28,3	23,4

Bảng PL3.5.1c. Cân nặng chuột thử độc tính cấp đường uống của viên SC liều 38,5 viên/kg

Chuột thử nghiệm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Phái	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♀	♀	♀	♀
Trọng lượng N1 (g)	22,7	21,7	22,8	17,0	17,1	21,3	19,3	22,2	17,6	18,3
Trọng lượng N3(g)	31,7	27,2	25,4	18,3	20,0	21,1	20,0	26,2	17,3	17,9
Trọng lượng N7 (g)	33,7	27,8	25,7	20,6	21,6	21,3	20,3	25,3	19,9	21,7
Trọng lượng N14 (g)	29,9	28,0	29,1	23,5	24,8	23,8	26,7	27,4	22,6	24,5

Bảng PL3.5.1d. Cân nặng chuột thử độc tính cấp đường uống của viên SCDQ liều 38,5 viên/kg

Chuột thử nghiệm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Phái	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♀	♀	♀	♀
Trọng lượng N1 (g)	23,1	20,9	27,6	17,7	18,3	18,4	24,0	19,8	18,0	18,6
Trọng lượng N3(g)	27,0	29,1	28,0	17,3	18,5	22,0	26,7	25,8	18,9	20,5
Trọng lượng N7 (g)	28,2	30,0	28,9	19,6	22,5	21,8	29,8	25,1	20,4	22,5
Trọng lượng N14 (g)	29,4	31,6	31,1	25,6	26,8	24,2	30,3	27,7	24,0	25,8

Bảng PL3.5.2. Cân nặng trung bình của chuột thí nghiệm

Thời điểm	Cân nặng trung bình \pm SEM (g)									
	Lô Giới	Sinh lý	ĐQ 0,43 viên/kg	ĐQ 0,86 viên/kg	ĐS 0,43 viên/kg	ĐS 0,86 viên/kg	SC 0,43 viên/kg	SC 0,86 viên/kg	SCĐS 0,43 viên/kg	SCĐS 0,86 viên/kg
Ngày 0	Đực	19,9 \pm 0,5	19,4 \pm 0,3	20,0 \pm 0,6	20,6 \pm 0,4	20,6 \pm 0,5	20,8 \pm 0,5	19,3 \pm 0,3 ^s	18,5 \pm 0,3	19,2 \pm 0,7
	Cái	18,6 \pm 0,4	18,4 \pm 0,4	19,0 \pm 0,7	19,1 \pm 0,3 [#]	18,1 \pm 0,7 [#]	18,9 \pm 0,3 [#]	18,7 \pm 0,4	18,2 \pm 0,3	18,6 \pm 0,3
	Chung	19,2 \pm 0,3	18,9 \pm 0,3	19,5 \pm 0,4	19,8 \pm 0,3	19,4 \pm 0,5	19,9 \pm 0,4	19,0 \pm 0,2	18,3 \pm 0,2	18,9 \pm 0,4
Ngày 7	Đực	21,2 \pm 0,6	19,4 \pm 0,5	22,6 \pm 0,6 ^{ss}	22,4 \pm 0,6	22,4 \pm 0,5	21,6 \pm 0,4	21,4 \pm 0,5	19,9 \pm 0,6	22,5 \pm 1,1
	Cái	20,1 \pm 0,5	20,9 \pm 0,5 [#]	19,9 \pm 0,6 ^{##}	21,1 \pm 0,4	20,4 \pm 0,8 [#]	20,4 \pm 0,5	19,4 \pm 0,4 ^{##}	18,8 \pm 0,5 [*]	20,3 \pm 0,8 ^s
	Chung	20,6 \pm 0,4	20,2 \pm 0,4	21,3 \pm 0,5	21,7 \pm 0,4	21,4 \pm 0,5	21,0 \pm 0,3	20,4 \pm 0,4	19,4 \pm 0,4 [*]	21,4 \pm 0,7 ^s
Ngày 14	Đực	24,8 \pm 0,7	22,8 \pm 0,7	26,4 \pm 0,5 ^{ss}	23,3 \pm 0,5	24,8 \pm 0,7 ^s	25,4 \pm 0,7	22,4 \pm 0,4 ^{ss}	24,4 \pm 0,7	22,6 \pm 0,9
	Cái	22,1 \pm 0,5 [#]	22,8 \pm 0,8	23,1 \pm 0,6 ^{##}	22,3 \pm 0,4	22,9 \pm 0,8	23,4 \pm 0,4 [#]	23,1 \pm 0,4	21,7 \pm 0,4 ^{##}	23,0 \pm 0,6
	Chung	23,4 \pm 0,5	22,8 \pm 0,5	24,8 \pm 0,5 ^s	22,8 \pm 0,3	23,9 \pm 0,5	24,4 \pm 0,5	22,7 \pm 0,3 ^s	23,0 \pm 0,5	22,8 \pm 0,5
Ngày 21	Đực	26,8 \pm 0,6	27,6 \pm 1,5	28,4 \pm 1,1	28,8 \pm 1,6	26,0 \pm 2,0	28,5 \pm 0,8	26,3 \pm 0,9	23,8 \pm 1,0 [*]	27,0 \pm 1,3
	Cái	25,1 \pm 0,9	26,1 \pm 2,0	26,8 \pm 1,0	26,3 \pm 0,7	25,7 \pm 1,2	25,1 \pm 0,7 [#]	24,9 \pm 0,9	25,2 \pm 0,3	24,7 \pm 0,5
	Chung	26,0 \pm 0,6	26,9 \pm 1,2	27,6 \pm 0,8	27,6 \pm 0,9	25,8 \pm 1,1	26,8 \pm 0,8	25,6 \pm 0,7	24,5 \pm 0,6	25,9 \pm 0,8
Ngày 28	Đực	30,5 \pm 0,4	31,1 \pm 1,4	31,8 \pm 1,3	30,6 \pm 1,9	29,7 \pm 1,5	29,4 \pm 1,7	30,3 \pm 2,0	27,7 \pm 0,6 [*]	29,1 \pm 0,8
	Cái	28,3 \pm 1,1	28,2 \pm 1,5	28,3 \pm 1,2	29,9 \pm 0,8	28,1 \pm 0,5	27,5 \pm 0,8	27,6 \pm 1,4	26,5 \pm 0,8	28,0 \pm 1,3
	Chung	29,4 \pm 0,7	29,7 \pm 1,1	30,0 \pm 1,0	30,3 \pm 1,0	28,9 \pm 0,8	28,5 \pm 0,9	29,0 \pm 1,2	27,1 \pm 0,5 [*]	28,5 \pm 0,8

*p < 0,05; **p < 0,01 khi so sánh với lô sinh lý ở cùng thời điểm

#p < 0,05; ##p < 0,01 khi so sánh với nhóm khác giới cùng lô

^sp < 0,05; ^{ss}p < 0,01 khi so sánh với liều thấp của cùng mẫu thử

Bảng PL3.5.3a. Kết quả về các thông số huyết học sau 14 ngày

Thông số	Sau 14 ngày									
	Lô Giới	Sinh lý	ĐQ 0,43 viên/kg	ĐQ 0,86 viên/kg	ĐS 0,43 viên/kg	ĐS 0,86 viên/kg	SC 0,43 viên/kg	SC 0,86 viên/kg	SCDS 0,43 viên/kg	SCDS 0,86 viên/kg
WBC (10 ⁹ /L)	Đực	9,8 ± 1,5	7,3 ± 0,6	6,2 ± 0,4*	9,8 ± 0,8	8,2 ± 0,8	8,1 ± 0,9	7,2 ± 0,7	5,8 ± 1,0*	8,4 ± 1,0
	Cái	10,4 ± 2,2	7,2 ± 0,9	7,5 ± 0,4 [#]	8,8 ± 0,4	8,0 ± 1,1	8,1 ± 0,4	7,3 ± 0,8	7,8 ± 0,6	9,0 ± 0,9
	Chung	10,1 ± 1,3	7,3 ± 0,5	6,9 ± 0,4	9,3 ± 0,5	8,1 ± 0,6	8,1 ± 0,5	7,3 ± 0,5	6,8 ± 0,6*	8,7 ± 0,6
Hgb (g/dL)	Đực	13,5 ± 0,4	13,4 ± 0,4	11,4 ± 0,3 ^{**\$\$}	13,5 ± 0,8	14,0 ± 0,3	12,1 ± 0,6	12,8 ± 0,4	12,8 ± 2,0	12,4 ± 1,1
	Cái	12,9 ± 0,6	12,9 ± 0,7	12,3 ± 0,8	12,6 ± 0,4	13,9 ± 0,5	12,9 ± 0,4	12,8 ± 0,5	12,8 ± 0,5	12,8 ± 0,4
	Chung	13,2 ± 0,4	13,2 ± 0,4	11,9 ± 0,4 ^{*\$}	13,0 ± 0,4	13,7 ± 0,3	12,5 ± 0,4	12,8 ± 0,3	12,8 ± 0,3	12,6 ± 0,5
RBC (10 ¹² /L)	Đực	8,75 ± 0,16	8,28 ± 0,17	8,14 ± 0,11*	8,54 ± 0,42	8,90 ± 0,22	7,56 ± 0,21 ^{**}	8,20 ± 0,13 ^{*\$}	5,99 ± 2,33*	8,08 ± 0,46
	Cái	7,99 ± 0,30	8,02 ± 0,30	7,87 ± 0,46	7,91 ± 0,22	8,97 ± 0,27 ^{*\$}	8,30 ± 0,19 [#]	8,40 ± 0,22	8,54 ± 0,24	8,37 ± 0,29
	Chung	8,37 ± 0,20	8,15 ± 0,17	8,01 ± 0,23	8,22 ± 0,25	8,85 ± 0,19	7,93 ± 0,18	8,30 ± 0,12	7,63 ± 0,80	8,22 ± 0,26
HCT (%)	Đực	49,3 ± 2,5	50,0 ± 1,9	41,0 ± 1,3 ^{**\$}	47,0 ± 2,7	49,7 ± 1,3	44,8 ± 2,7	45,8 ± 1,6	35,2 ± 14,1	46,8 ± 3,6
	Cái	45,8 ± 1,9	45,7 ± 2,6	42,4 ± 3,1	44,8 ± 1,1	49,6 ± 1,8	45,5 ± 1,9	45,1 ± 1,9	46,3 ± 2,0	46,0 ± 1,7
	Chung	47,6 ± 1,6	47,9 ± 1,7	41,7 ± 1,6 ^{*\$}	45,9 ± 1,4	48,9 ± 1,0	45,2 ± 1,5	45,5 ± 1,2	42,5 ± 4,6	46,4 ± 1,9
MCV (fL)	Đực	56,3 ± 1,9	60,4 ± 1,3	50,5 ± 1,8 ^{*\$}	55,0 ± 0,9	56,0 ± 0,9	59,3 ± 2,6	56,0 ± 1,8	57,5 ± 1,9	57,6 ± 1,7
	Cái	57,5 ± 1,8	56,9 ± 1,3	53,9 ± 2,1	56,9 ± 1,8	55,4 ± 1,2	54,8 ± 1,3	53,7 ± 1,1	54,2 ± 1,4	55,0 ± 0,5
	Chung	56,9 ± 1,3	58,7 ± 1,0	52,2 ± 1,4 ^{**\$}	56,0 ± 1,0	55,4 ± 0,8	57,0 ± 1,5	54,8 ± 1,1	55,6 ± 1,1	56,3 ± 0,9
MCH (pg)	Đực	15,4 ± 0,2	16,2 ± 0,3	14,0 ± 0,4 ^{*\$}	15,7 ± 0,2	15,7 ± 0,3	15,9 ± 0,5	15,6 ± 0,4	33,6 ± 17,6*	15,2 ± 0,5
	Cái	16,2 ± 0,4	16,0 ± 0,4	15,6 ± 0,5 [#]	15,9 ± 0,5	15,4 ± 0,2	15,5 ± 0,2	15,2 ± 0,3	14,9 ± 0,4 [#]	15,3 ± 0,3
	Chung	15,8	16,1	14,8	15,8	15,5	15,7	15,4	23,2	15,3

		± 0,3	± 0,2	± 0,4 ^s	± 0,2	± 0,2	± 0,3	± 0,3	± 7,9	± 0,3
MCHC (g/dL)	Đực	27,5 ± 0,7	26,9 ± 0,3	27,8 ± 0,3	28,6 ± 0,3	28,1 ± 0,4	26,9 ± 0,4	27,9 ± 0,4	61,3 ± 33,8	26,4 ± 0,3
	Cái	28,2 ± 0,4	28,1 ± 0,2 [#]	29,1 ± 0,6	28,0 ± 0,3	27,8 ± 0,3	28,3 ± 0,4 [#]	28,4 ± 0,4	27,5 ± 0,1	27,9 ± 0,3 [#]
	Chung	27,9 ± 0,4	27,5 ± 0,3	28,5 ± 0,4	28,3 ± 0,2	28,1 ± 0,3	27,6 ± 0,3	28,1 ± 0,3	42,6 ± 15,0	27,2 ± 0,3
RDW (%)	Đực	21,5 ± 0,9	20,5 ± 1,1	21,7 ± 0,5	23,4 ± 0,8	21,5 ± 1,2	20,9 ± 1,3	21,1 ± 1,0	22,6 ± 1,6	22,3 ± 0,9
	Cái	21,4 ± 0,7	21,2 ± 1,0	21,5 ± 0,7	21,2 ± 0,6 [#]	22,4 ± 0,8	20,5 ± 1,0	23,0 ± 0,6	20,3 ± 1,3	17,9 ± 4,3
	Chung	21,4 ± 0,5	20,9 ± 0,7	21,6 ± 0,4	22,3 ± 0,6	21,7 ± 0,9	20,7 ± 0,8	22,1 ± 0,7	21,3 ± 1,0	20,1 ± 2,2
PLT (10⁹/L)	Đực	938 ± 101	830 ± 57	1071 ± 66 ^s	711 ± 99	847 ± 108	863 ± 55	667 ± 80	669 ± 114	742 ± 42
	Cái	861 ± 120	739 ± 71	704 ± 109 [#]	850 ± 109	1089 ± 248	686 ± 22	740 ± 56	806 ± 125	744 ± 89
	Chung	900 ± 75	785 ± 46	887 ± 86	781 ± 73	968 ± 132	775 ± 41	704 ± 48	745 ± 84	743 ± 46

Bảng PL3.5.3b. Kết quả về các thông số huyết học sau 28 ngày

Thông số	Sau 28 ngày									
	Lô Giới	Sinh lý	ĐQ 0,43 viên/kg	ĐQ 0,86 viên/kg	ĐS 0,43 viên/kg	ĐS 0,86 viên/kg	SC 0,43 viên/kg	SC 0,86 viên/kg	SCDS 0,43 viên/kg	SCDS 0,86 viên/kg
WBC (10⁹/L)	Đực	8,5 ± 0,3	6,5 ± 0,5*	7,0 ± 0,1**	7,0 ± 0,6	7,1 ± 1,0	7,2 ± 1,1	6,4 ± 0,6*	6,7 ± 0,4*	8,0 ± 0,9
	Cái	7,5 ± 0,6	7,0 ± 0,3	7,8 ± 0,6	7,6 ± 0,7	7,6 ± 0,2	7,6 ± 0,4	8,2 ± 0,6	6,6 ± 0,9	8,8 ± 0,7
	Chung	8,0 ± 0,4	6,7 ± 0,3*	7,4 ± 0,3	7,3 ± 0,5	7,4 ± 0,5	7,4 ± 0,5	7,3 ± 0,5	6,6 ± 0,5*	8,4 ± 0,6
HgB (g/dL)	Đực	13,1 ± 0,2	13,0 ± 0,4	12,3 ± 0,5	14,0 ± 0,4	13,5 ± 0,6	13,3 ± 0,6	13,8 ± 0,3	13,6 ± 0,4	13,5 ± 0,8
	Cái	13,7 ± 0,3	12,7 ± 0,4*	13,4 ± 0,5	12,2 ± 0,4**	13,5 ± 1,1	14,2 ± 0,3	13,2 ± 0,5	12,8 ± 0,4	14,0 ± 0,8
	Chung	13,4 ± 0,2	12,8 ± 0,3	12,9 ± 0,4	13,1 ± 0,4	13,5 ± 0,6	13,8 ± 0,4	13,5 ± 0,3	13,2 ± 0,3	13,8 ± 0,5
RBC (10¹²/L)	Đực	8,56 ± 0,15	8,54 ± 0,26	8,60 ± 0,29	8,91 ± 0,13	8,59 ± 0,17	9,01 ± 0,25	8,89 ± 0,11	8,48 ± 0,19	8,50 ± 0,44
	Cái	8,59	8,40	8,56	8,06	8,40	9,06	8,60	8,25	8,91

		± 0,25	± 0,21	± 0,16	± 0,32	± 0,82	± 0,20	± 0,27	± 0,20	± 0,42
	Chung	8,58 ± 0,14	8,47 ± 0,16	8,58 ± 0,16	8,48 ± 0,22	8,49 ± 0,40	9,03 ± 0,15*	8,74 ± 0,15	8,36 ± 0,14	8,70 ± 0,29
HCT (%)	Đực	46,2 ± 0,8	47,2 ± 2,0	43,2 ± 2,0	50,0 ± 1,2*	42,4 ± 5,2	46,9 ± 1,9	49,8 ± 1,1*	49,4 ± 1,2*	49,1 ± 2,8
	Cái	48,3 ± 1,1	45,2 ± 1,7	42,2 ± 5,9	42,9 ± 1,5**#	47,4 ± 3,9	50,8 ± 0,9	46,7 ± 1,8	44,4 ± 2,0	50,0 ± 2,7
	Chung	47,3 ± 0,7	46,2 ± 1,3	42,7 ± 3,0	46,5 ± 1,5	44,9 ± 3,2	48,8 ± 1,2	48,3 ± 1,1	46,9 ± 1,4	49,6 ± 1,8
MCV (fL)	Đực	54,0 ± 1,3	55,3 ± 1,8	50,2 ± 1,0*	56,3 ± 1,3	50,4 ± 5,7	52,0 ± 0,8	56,1 ± 1,8	58,4 ± 1,0*	57,9 ± 0,9
	Cái	56,4 ± 0,6	53,9 ± 1,8	50,2 ± 6,0	51,4 ± 1,0**#	57,0 ± 1,4\$\$	56,2 ± 0,8##	54,7 ± 1,1	53,9 ± 2,0	56,2 ± 1,1
	Chung	55,2 ± 0,8	54,6 ± 1,2	50,2 ± 2,9	53,8 ± 1,1	53,7 ± 3,0	54,1 ± 0,9	55,4 ± 1,0	56,1 ± 1,3	57,0 ± 0,7
MCH (pg)	Đực	15,3 ± 0,2	15,2 ± 0,4	14,2 ± 0,3**	15,7 ± 0,3	15,7 ± 0,5	14,7 ± 0,3	15,5 ± 0,4	16,0 ± 0,5	15,8 ± 0,1
	Cái	16,0 ± 0,1#	15,0 ± 0,4*	15,7 ± 0,5	15,1 ± 0,3	16,2 ± 0,4	15,7 ± 0,4	15,3 ± 0,3*	15,5 ± 0,4	15,6 ± 0,3
	Chung	15,6 ± 0,2	15,1 ± 0,3	14,9 ± 0,4	15,4 ± 0,2	16,0 ± 0,3	15,2 ± 0,3	15,4 ± 0,2	15,7 ± 0,3	15,7 ± 0,1
MCHC (g/dL)	Đực	28,4 ± 0,4	27,5 ± 0,4	28,3 ± 0,2	28,0 ± 0,4	27,9 ± 0,3	28,3 ± 0,5	27,6 ± 0,4	27,5 ± 0,3	27,5 ± 0,4
	Cái	28,4 ± 0,2	28,0 ± 0,4	27,9 ± 0,3	28,4 ± 0,3	28,5 ± 0,2	28,0 ± 0,4	28,1 ± 0,1	28,8 ± 0,5#	27,9 ± 0,2
	Chung	28,4 ± 0,2	27,8 ± 0,3	28,1 ± 0,2	28,2 ± 0,3	28,2 ± 0,2	28,1 ± 0,3	27,9 ± 0,2	28,2 ± 0,4	27,7 ± 0,2*
RDW (%)	Đực	23,7 ± 1,0	22,7 ± 0,4	22,6 ± 1,3	19,9 ± 0,8*	21,1 ± 1,3	22,9 ± 0,5	20,0 ± 1,0*\$	21,8 ± 0,8	23,3 ± 0,7
	Cái	20,8 ± 1,2	22,2 ± 0,5	20,1 ± 1,0	21,9 ± 0,4	21,5 ± 0,2	20,0 ± 0,8#	22,3 ± 0,5\$	23,2 ± 0,6	21,8 ± 0,5
	Chung	22,3 ± 0,9	22,5 ± 0,3	21,3 ± 0,9	20,9 ± 0,5	21,3 ± 0,6	21,4 ± 0,7	21,1 ± 0,7	22,5 ± 0,5	22,5 ± 0,5
PLT (10⁹/L)	Đực	817 ± 141	1105 ± 117	876 ± 86	1119 ± 97	1077 ± 124	1059 ± 103	853 ± 111	790 ± 130	1097 ± 137
	Cái	905 ± 68	1004 ± 164	753 ± 196	1266 ± 178	968 ± 56	904 ± 162	891 ± 222	664 ± 67*	682 ± 132#
	Chung	861 ± 75	1054 ± 96	815 ± 103	1193 ± 99*	1022 ± 67	982 ± 94	872 ± 117	727 ± 72	889 ± 113

*p < 0,05, **p < 0,01 khi so sánh với lô sinh lý ở cùng thời điểm

#p < 0,05, ##p < 0,01 khi so sánh với nhóm khác giới cùng lô

\$p < 0,05; \$\$p < 0,01 khi so sánh với liều thấp của cùng mẫu thử

Chú thích:

WBC: Số lượng bạch cầu

RBC: Lượng hồng cầu

HGB: huyết sắc tố

HCT: Tỷ số huyết cầu/thể tích máu

MCV: Thể tích trung bình hồng cầu

RDW: Sự thay đổi hình dáng hồng cầu

MCH: Lượng huyết sắc tố trung bình trong hồng cầu

MCHC: Nồng độ huyết sắc tố trung bình trong hồng cầu

PLT: Số lượng tiểu cầu

Bảng PL3.5.4a. Kết quả về hoạt tính của các enzym gan sau 14 ngày

Thông số	Sau 14 ngày									
	Lô Giới	Sinh lý	ĐQ 0,43 viên/kg	ĐQ 0,86 viên/kg	ĐS 0,43 viên/kg	ĐS 0,86 viên/kg	SC 0,43 viên/kg	SC 0,86 viên/kg	SCĐS 0,43 viên/kg	SCĐS 0,86 viên/kg
AST (U/L)	Đực	79,2 ± 6,2	90,3 ± 2,7	88,6 ± 3,5	114,7 ± 11,6*	130,5 ± 18,2	82,7 ± 4,3	120,2 ± 13,3*\$	122,3 ± 18,8	125,8 ± 15,8*
	Cái	123,1 ± 12,1#	96,7 ± 6,5	121,8 ± 12,4#	91,9 ± 5,2*	131,7 ± 23,8	100,3 ± 9,7	145,5 ± 13,0\$	130,6 ± 21,6	142,7 ± 18,5
	Chung	101,2 ± 9,7	93,5 ± 3,5	105,2 ± 8,2	103,3 ± 7,1	125,5 ± 16,1	91,5 ± 5,8	132,8 ± 9,7*\$\$	126,5 ± 13,6	134,3 ± 11,8*
ALT (U/L)	Đực	52,1 ± 2,8	49,5 ± 2,8	56,2 ± 7,4	50,6 ± 4,2	58,4 ± 9,8	46,2 ± 4,1	54,6 ± 5,5	48,9 ± 3,8	52,8 ± 8,9
	Cái	55,7 ± 5,7	58,3 ± 5,9	62,8 ± 7,2	58,1 ± 5,4	66,1 ± 9,4	53,2 ± 2,4	65,1 ± 6,3	54,4 ± 6,1	67,1 ± 8,1
	Chung	53,9 ± 3,1	53,9 ± 3,4	59,5 ± 5,0	54,3 ± 3,5	61,2 ± 7,8	49,7 ± 2,5	59,9 ± 4,3	51,6 ± 3,5	59,9 ± 6,2

Bảng PL3.5.4b. Kết quả về hoạt tính của các enzym gan sau 28 ngày

Thông số	Sau 28 ngày									
	Lô Giới	Sinh lý	ĐQ 0,43 viên/kg	ĐQ 0,86 viên/kg	ĐS 0,43 viên/kg	ĐS 0,86 viên/kg	SC 0,43 viên/kg	SC 0,86 viên/kg	SCĐS 0,43 viên/kg	SCĐS 0,86 viên/kg
AST (U/L)	Đực	123,8 ± 9,8	101,4 ± 12,9	111,7 ± 13,7	112,3 ± 16,8	117,9 ± 8,2	125,8 ± 13,3	115,6 ± 19,8	146,6 ± 14,1	140,0 ± 14,1
	Cái	114,9 ± 15,0	120,1 ± 21,1	104,3 ± 11,0	110,9 ± 18,8	147,8 ± 4,3*#	120,8 ± 13,2	160,3 ± 18,2	137,9 ± 9,4	130,9 ± 27,3
	Chung	119,3 ± 8,6	110,8 ± 12,1	108,0 ± 8,4	111,6 ± 11,9	132,8 ± 6,6	123,3 ± 8,9	138,0 ± 14,7	142,2 ± 8,1	135,4 ± 14,6

ALT (U/L)	Đực	52,0 ± 2,6	55,4 ± 2,1	59,5 ± 7,4	37,7 ± 2,9*	60,8 ± 5,8 ^{\$}	59,6 ± 10,4	40,2 ± 4,8	54,3 ± 5,5	50,1 ± 5,2
	Cái	81,2 ± 23,8	57,0 ± 5,9	56,5 ± 2,7	48,0 ± 4,3 [#]	50,9 ± 3,5	44,9 ± 4,6	59,7 ± 10,0	44,4 ± 3,5	67,0 ± 4,3 ^{\$\$}
	Chung	66,6 ± 12,3	56,2 ± 3,0	58,0 ± 3,7	42,9 ± 3,0*	55,8 ± 3,6 ^{\$}	52,3 ± 5,9	50,0 ± 6,1	49,4 ± 3,5	58,5 ± 4,3

*p < 0,05, **p < 0,01 khi so sánh với lô sinh lý ở cùng thời điểm

#p < 0,05, ##p < 0,01 khi so sánh với nhóm khác giới cùng lô

\$p < 0,05; \$\$p < 0,01 khi so sánh với liều thấp của cùng mẫu thử

Bảng PL3.5.5a. Kết quả về thông số của chức năng thận sau 14 ngày

Thông số	Sau 14 ngày									
	Lô Giới	Sinh lý	ĐQ	ĐQ	ĐS	ĐS	SC	SC	SCDS	SCDS
			0,43 viên/kg	0,86 viên/kg	0,43 viên/kg	0,86 viên/kg	0,43 viên/kg	0,86 viên/kg	0,43 viên/kg	0,86 viên/kg
Ure (mg/dL)	Đực	10,6 ± 2,2	10,5 ± 0,2	12,6 ± 0,4 ^{\$\$}	9,5 ± 0,4	10,4 ± 2,5	9,1 ± 0,5	10,4 ± 0,5	7,3 ± 0,3	8,0 ± 0,5
	Cái	9,3 ± 0,6	10,2 ± 0,8	9,1 ± 0,6 ^{##}	9,7 ± 0,3	11,9 ± 3,3	8,6 ± 0,5	7,7 ± 0,9 [#]	7,3 ± 1,0	9,2 ± 0,6
	Chung	10,0 ± 1,1	10,3 ± 0,4	10,9 ± 0,7	9,6 ± 0,2	10,1 ± 1,7	8,8 ± 0,4	9,0 ± 0,7	7,3 ± 0,5*	8,6 ± 0,4
Creatinin (mg/dL)	Đực	52,9 ± 4,3	54,2 ± 5,1	52,9 ± 1,5	51,6 ± 2,0	55,5 ± 3,7	51,7 ± 0,6	49,9 ± 4,1	48,4 ± 1,2	48,8 ± 1,5
	Cái	52,3 ± 1,0	54,3 ± 3,4	46,5 ± 1,1 ^{##\$}	51,3 ± 1,0	58,3 ± 4,8	49,1 ± 1,4	52,6 ± 0,7	43,7 ± 2,4*	48,9 ± 1,0*
	Chung	52,6 ± 2,1	54,3 ± 2,9	49,7 ± 1,4	51,4 ± 1,0	55,1 ± 2,6	50,4 ± 0,8	51,2 ± 2,0	46,1 ± 1,5*	48,9 ± 0,8

Bảng PL3.5.5b. Kết quả về thông số của chức năng thận sau 28 ngày

Thông số	Sau 28 ngày									
	Lô Giới	Sinh lý	ĐQ	ĐQ	ĐS	ĐS	SC	SC	SCDS	SCDS
			0,43 viên/kg	0,86 viên/kg	0,43 viên/kg	0,86 viên/kg	0,43 viên/kg	0,86 viên/kg	0,43 viên/kg	0,86 viên/kg
Ure (mg/dL)	Đực	9,3 ± 0,3	10,2 ± 0,4	10,6 ± 0,5	10,2 ± 1,0	11,2 ± 0,9	8,6 ± 0,8	10,0 ± 0,8	12,2 ± 1,7*	9,0 ± 0,4 ^{\$\$}
	Cái	10,1 ± 0,6	11,4 ± 0,9	11,0 ± 0,6	10,6 ± 0,6	7,9 ± 0,5 ^{###\$\$}	10,9 ± 0,5 [#]	11,4 ± 0,3	8,1 ± 0,4 ^{##}	7,9 ± 0,4*
	Chung	9,7 ± 0,4	10,8 ± 0,5	10,8 ± 0,4	10,4 ± 0,5	9,5 ± 0,8	9,8 ± 0,6	10,7 ± 0,5	10,1 ± 1,1	8,4 ± 0,3*
	Đực	54,4	53,0	48,9	57,3	56,5	55,1	53,2	56,2	52,7

Creatinin (mg/dL)		± 1,7	± 0,4	± 1,5*	± 2,3	± 1,1	± 1,4	± 1,3	± 4,3	± 1,1
	Cái	52,9 ± 1,7	57,3 ± 1,5 ^{##}	52,9 ± 3,0	52,9 ± 0,8	63,5 ± 4,0 ^{\$}	60,8 ± 3,9*	56,3 ± 1,2	55,1 ± 1,9	59,3 ± 3,2
	Chung	53,6 ± 1,1	55,1 ± 1,0	50,9 ± 1,7 ^{\$}	55,1 ± 1,4	60,0 ± 2,3*	58,0 ± 2,2	54,8 ± 1,0	55,7 ± 2,2	56,0 ± 1,9

*p < 0,05, **p < 0,01 khi so sánh với lô sinh lý ở cùng thời điểm

#p < 0,05, ##p < 0,01 khi so sánh với nhóm khác giới cùng lô

\$p < 0,05; \$\$p < 0,01 khi so sánh với liều thấp của cùng mẫu thử