

Khảo sát dấu vân tay hóa học của cao đặc phương thuốc Tiêu dao bằng sắc ký lớp mỏng

Bùi Hồng Cường*, Lưu Công Bình, Nguyễn Thị Diệu Linh
Trường Đại học Dược Hà Nội

Summary

The Tieu dao viscous extracts (Extractum spisum) prepared from Radix Bupleuri, Radix Angelicae sinensis, Radix Paeoniae lactiflorae, Rhizoma Atractylodis macrocephalae, Poria, Radix et Rhizoma Glycyrrhizae, Herba Menthae and Rhizoma Zingiberis Recens by hot aqueous extraction. Radix Bupleuri, Radix Angelicae sinensis, Radix Paeoniae lactiflorae, Rhizoma Atractylodis macrocephalae, Poria, Radix et Rhizoma Glycyrrhizae in the The Tieu dao viscous extracts determined by thin layer chromatography method.

Keywords: Tieu dao, extractum spisum, paeoniflorin, TLC.

Đặt vấn đề

Phương thuốc Tiêu dao có xuất xứ từ sách “Thái bình huệ dân hòa tể cục phương”, gồm các vị thuốc: sài hồ, đương quy, bạch thược, bạch truật, bạch linh, cam thảo, bạc hà và sinh khương; có công năng sơ can giải uất, kiện tỳ hòa dinh; dùng trong trường hợp can uất huyết hư gây đau hai bên sườn, đau đầu, mờ mắt, chán ăn, chướng bụng, tiêu chảy mạn tính; tinh thần mệt mỏi, trầm cảm; hồi hộp, bứt rứt; kinh nguyệt không đều, đau bụng kinh, bầu vú căng tức; phụ nữ tiền mãn kinh có cơn bốc hỏa, huyết áp dao động; hội chứng tắt dục ở nam và nữ; viêm gan virus, viêm túi mật mạn tính, sỏi mật^[1]...

Nhiều nghiên cứu được lý hiện đại cho biết bài thuốc có tác dụng bảo vệ gan^[2], hạ huyết áp^[3], tăng cường tiêu hóa^[4]. Phương thuốc Tiêu dao được sử dụng trong điều trị bệnh trầm cảm tại Trung Quốc, sử dụng riêng hoặc kết hợp với thuốc chống trầm cảm khác để điều trị cho hiệu quả tốt và ít tác dụng phụ^[5, 6], có tác dụng chống lại những căng thẳng trong trầm cảm^[5, 7]. Trong Y Dược học cổ truyền thường dùng dạng thuốc bột hoặc thuốc thang, thuốc hoàn. Dược điển Việt Nam V có 01 chuyên luận^[8] Dược điển Trung Quốc 2015 có 06 chuyên luận^[9] quy định về các chỉ tiêu chất lượng

của phương thuốc Tiêu dao nhưng chưa có tiêu chuẩn về dạng cao đặc của phương thuốc.

Cao đặc được bào chế từ phương thuốc này là bán thành phẩm để bào chế một số sản phẩm như thuốc cốm, viên nang... Việc nghiên cứu bào chế và tiêu chuẩn hóa cao đặc là cần thiết. Trong các nghiên cứu trước, chúng tôi đã xây dựng quy trình bào chế cao đặc^[10] và xây dựng phương pháp định lượng paeoniflorin trong cao đặc Tiêu dao^[11]. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát dấu vân tay hóa học của các vị thuốc trong cao đặc Tiêu dao bằng sắc ký lớp mỏng làm căn cứ để xây dựng Tiêu chuẩn chất lượng của cao này.

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Các vị thuốc được cung cấp bởi Công ty Cổ phần Dược phẩm VCP: Sài hồ (SH), đương quy (ĐQ), bạch thược (BT), bạch truật (BTr), bạch linh (BL), cam thảo (CT), bạc hà, sinh khương đạt tiêu chuẩn Dược điển Trung Quốc 2015^[8].

Cao đặc phương thuốc Tiêu dao (TD): Các vị thuốc được chiết bằng phương pháp sắc với nước 3 lần, mỗi lần 90 phút, cô đến thể chất cao đặc (độ ẩm < 20%).

Các cao đặc placebo (P): Chuẩn bị như cao đặc phương thuốc Tiêu dao, bỏ các vị thuốc tương ứng.

Hóa chất, chất chuẩn, dược liệu chuẩn

Chất chuẩn paeoniflorin (C₂₃H₂₈O₁₁): hàm lượng: 99,30% (Chengdu Must Bio-Technology Co. Ltd., Lot No. MUST-17031901).

Chịu trách nhiệm: Bùi Hồng Cường
Email: cuongbh@hup.edu.vn
Ngày nhận: 17/12/2020
Ngày phân biên: 08/01/2021
Ngày duyệt bài: 22/01/2021

Dược liệu chuẩn: Sài hồ (Dược liệu chuẩn quốc gia Trung Quốc); bạch thược, đương quy, bạch truật, cam thảo; bạch linh (Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh).

Hóa chất đạt tiêu chuẩn phân tích: Ethanol tuyệt đối, methanol, acid phosphoric, acid sulfuric, toluen, acid acetic, n-butanol, n-hexan, ethyl acetat, ether ethylic, acetonitril, acid formic, cloroform, amoniac, vanilin... Bản sắc kí lớp mỏng Silica gel 60 F₂₅₄ của Hãng Merck.

Thiết bị, dụng cụ

Thiết bị sắc kí lớp mỏng hiệu năng cao Linomat 5 (Camag – Thụy Sĩ), bao gồm: Thiết bị phun mẫu Linomat 5, thiết bị triển khai tự động ADC2, thiết bị chụp ảnh Camag, phần mềm: WinCats, Videoscan. Cân phân tích AND GR200 (Nhật Bản) độ chính xác 0,1 mg, cân phân tích Mettler Toledo XPE105 (Thụy Sĩ) độ chính xác 0,01 mg; tủ sấy Memmert (Đức), các dụng cụ thủy tinh: Bình gạn, bình nón, bình định mức, cốc thủy tinh, giấy lọc... và các dụng cụ khác tại phòng thí nghiệm đạt yêu cầu chính xác dùng trong phân tích.

Phương pháp nghiên cứu

Điều kiện sắc ký chung

Pha tĩnh: Bản mỏng Silica gel 60 F₂₅₄, hoạt hóa ở 110 °C trong 60 phút.

Phun mẫu: Thiết bị Linomat 5 (Camag). Chấm các mẫu trên băng dài 6 mm, cách cạnh dưới bản mỏng 10 mm, cách cạnh bên 15 mm.

Triển khai: Máy triển khai sắc ký tự động ADC2. Kiểm soát độ ẩm: Dung dịch KSCN bão hòa trong 10 phút. Bão hòa bình triển khai 20 x 10 trong 20 phút (giấy lọc) bằng 25 ml dung môi pha động. Thể tích dung môi khai triển: 10 ml. Khoảng cách triển khai là 85 mm kể từ đáy bản mỏng. Sấy khô bản mỏng trong 5 phút.

Chụp ảnh sắc ký đồ: Buồng chụp Camag.

Phát hiện: Soi UV ở bước sóng 254 nm, 366 nm, phun thuốc thử vanilin 2,5% trong ethanol và acid sulfuric.

Xử lý kết quả: Phần mềm Wincats, Videoscan.

So sánh các vết trên sắc kí đồ giữa cao đặc Tiêu dao với các dược liệu nguyên liệu, dược liệu chuẩn, chất chuẩn và các mẫu cao placebo.

Định tính bạch thược

Mẫu nghiên cứu: Cân các mẫu bạch thược chuẩn (BT-C), bạch thược nguyên liệu (BT),

cao đặc P-BT, cao đặc TD mỗi loại 2 g vào 4 bình nón 100 ml riêng biệt. Thêm vào 40 ml methanol, siêu âm trong 30 phút. Lọc dưới áp suất thường qua giấy lọc. Cô cách thủy dịch lọc ở 90 °C đến cạn, hoà tan cạn trong 20 ml nước, chiết bằng n-buthanol bão hoà nước 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết, rửa bằng nước 3 lần, mỗi lần 20 ml, loại bỏ dịch rửa. Cô cách thủy dịch chiết n-buthanol ở 90 °C đến cạn. Hoà tan cạn trong 2 ml methanol thu được dung dịch phun sắc kí.

Dung dịch chất chuẩn paeoniflorin (PAE):

Cân chính xác 5,41 mg paeoniflorin cho vào bình định mức 10 ml, thêm 5 ml methanol, lắc cho tan hết và thêm vừa đủ đến vạch bằng methanol thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 537,21 µg/ml.

Pha động: Cloroform – ethyl acetat – methanol – amoniac (8:1:4:1).

Tốc độ phun: 150 nl/s. Thể tích phun mẫu: Dung dịch chuẩn PAE 10 µl, cao P-BT, BT-C, cao TD, BT mỗi loại 5 µl.

Định tính sài hồ

Mẫu nghiên cứu: Cân các mẫu sài hồ chuẩn (SH-C), sài hồ nguyên liệu (SH), cao đặc P-SH, cao đặc TD mỗi loại 2 g vào 4 bình nón 100 ml riêng biệt. Thêm vào 40 ml methanol, siêu âm trong 30 phút. Lọc dưới áp suất thường qua giấy lọc. Cô cách thủy dịch lọc ở 90 °C đến cạn. Hoà tan cạn trong 20 ml nước, chiết bằng n-buthanol bão hoà nước 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết, rửa bằng nước 3 lần, mỗi lần 20 ml, loại bỏ dịch rửa. Cô cách thủy dịch chiết n-buthanol ở 90 °C đến cạn. Hoà tan cạn trong 2 ml methanol thu được dung dịch phun sắc kí.

Pha động: Ethyl acetat - ethanol – nước (8:2:1).

Tốc độ phun: 150 nl/s. Thể tích phun mẫu: 5 µl.

Định tính đương quy

Mẫu nghiên cứu: Cân các mẫu đương quy chuẩn (ĐQ-C), Đương quy nguyên liệu (ĐQ), Cao đặc P-ĐQ, Cao đặc TD mỗi loại 2 g vào 4 bình nón 100 ml riêng biệt. Thêm vào mỗi bình nón 30 ml ethanol, siêu âm trong 30 phút, nhiệt độ 40 °C. Lọc dưới áp suất thường qua giấy lọc. Cô cách thủy dịch lọc ở 90 °C đến cạn. Hoà tan cạn trong 2 ml ethanol, thu được dung dịch phun sắc kí.

Pha động: Toluen – ethyl acetat – acid formic (5:4:1).

Tốc độ phun: 100 nl/s. Thể tích phun mẫu: 5 μ l.

Định tính bạch truật

Mẫu nghiên cứu: Cân các mẫu bạch truật chuẩn (BTr-C) 3 g, bạch truật nguyên liệu (BTr) 3 g, cao đặc P-BTr 2 g, cao đặc TD 2 g vào 4 bình nón 100 ml riêng biệt. Thêm vào mỗi bình nón 30 ml methanol, siêu âm trong 30 phút, nhiệt độ 40 $^{\circ}$ C. Lọc dưới áp suất thường qua giấy lọc. Cô cách thủy dịch lọc ở 90 $^{\circ}$ C đến cạn. Hoà tan cạn trong 2 ml methanol thu được dung dịch phun sắc kí.

Pha động: Toluen – ethyl acetat – acid formic (8:4:1).

Tốc độ phun: 150 nl/s. Thể tích phun mẫu: 5 μ l.

Định tính bạch linh

Mẫu nghiên cứu: Cân các mẫu bạch linh chuẩn (BL-C) 3 g, bạch linh nguyên liệu (BL) 3 g, cao đặc P-BL 2 g, cao đặc TD 2 g vào 4 bình nón 100 ml riêng biệt. Thêm vào mỗi bình nón 30 ml ethanol, siêu âm trong 30 phút, nhiệt độ 40 $^{\circ}$ C. Lọc dưới áp suất thường qua giấy lọc. Cô cách thủy dịch lọc ở 90 $^{\circ}$ C đến cạn. Hoà tan cạn trong 2 ml ethanol thu được dung dịch

phun sắc kí.

Pha động: Toluen – ethyl acetat – acid formic (20:5:1).

Tốc độ phun: 100 nl/s. Thể tích phun mẫu: 5 μ l.

Định tính cam thảo

Mẫu nghiên cứu: Cân các mẫu cam thảo chuẩn (CT-C), cam thảo nguyên liệu (CT), cao đặc P-CT, cao đặc TD mỗi loại 2 g vào 4 bình nón 100 ml riêng biệt. Thêm vào 40 ml methanol, siêu âm trong 30 phút. Lọc dưới áp suất thường qua giấy lọc. Cô cách thủy dịch lọc ở 90 $^{\circ}$ C đến cạn. Hoà tan cạn trong 20 ml nước, chiết bằng n-buthanol bão hoà nước 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết, rửa bằng nước 3 lần, mỗi lần 15 ml, loại bỏ dịch rửa. Cô cách thủy dịch chiết n-buthanol ở 90 $^{\circ}$ C đến cạn. Hoà tan cạn trong 2 ml methanol thu được dung dịch phun sắc kí.

Pha động: Toluen – ethyl acetat – acid formic (6:4:1).

Tốc độ phun: 150 nl/s. Thể tích phun mẫu: 5 μ l.

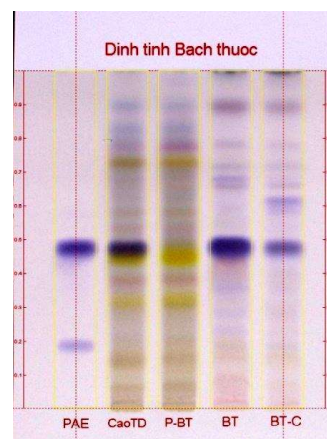
Kết quả

Định tính bạch thược trong cao đặc Tiêu dao bằng SKLM

Kết quả được thể hiện trong bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Kết quả SKLM định tính bạch thược trong cao đặc Tiêu dao sau khi phun thuốc thử

Vết	R_f	Màu sắc	Mẫu nghiên cứu				
			PAE	Cao TD	P-BT	BT	BT-C
1	0,14	Nâu		+++	++	+	+
2	0,19	Xanh	*				
3	0,32	Vàng		++	++		
4	0,39	Nâu		++	++		
5	0,44	Vàng		++	+++		
6	0,48	Xanh	+++	+++		+++	++
7	0,62	Xanh					++
8	0,68	Xanh		+	+	+	
9	0,73	Vàng		+	++		
10	0,79	Tím		+	++	+	+
11	0,83	Xanh		++	++		
12	0,90	Tím		++	+	+++	++



Hình 1. SKĐ định tính bạch thược (thuốc thử vanilin 2,5% trong ethanol và acid sulfuric)

Ghi chú: (+): Có vết, (++) : Vết đậm, (+++) : Vết rất đậm, (*) : Vết tạp của chất chuẩn; PAE: Chất chuẩn paeoniflorin, Cao TD: Cao đặc Tiêu dao, P-BT: Cao đặc placebo bạch thược, BT: Bạch thược nguyên liệu, BT-C: Bạch thược chuẩn.

Nhận xét

Trên SKĐ quan sát sau khi phun TT vanilin 2,5% trong ethanol và acid sulfuric các vết tách tốt và có vết tương ứng với nhau. Trong đó: Bạch thược nguyên liệu có 4 vết tương ứng với bạch thược chuẩn ($R_f = 0,14; 0,48; 0,79; 0,90$) và có 1 vết tương ứng với PAE ($R_f = 0,48$). Cao đặc Tiêu dao có 10 vết, trong đó: Có 5 vết tương ứng với bạch thược nguyên liệu

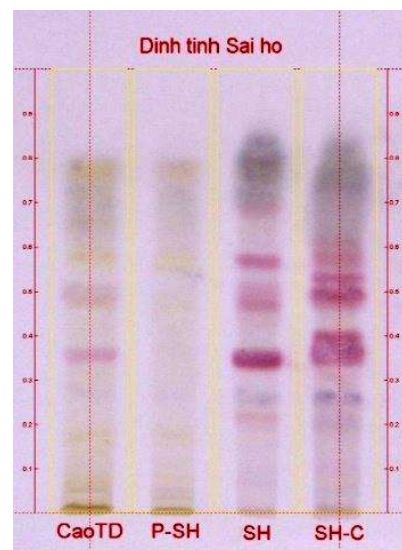
($R_f = 0,14; 0,48; 0,68; 0,79; 0,90$) và có 4 vết tương ứng với bạch thược chuẩn ($R_f = 0,14; 0,48; 0,79; 0,90$). Cao đặc Tiêu dao và bạch thược nguyên liệu có 1 vết đặc hiệu tương ứng với bạch thược chuẩn và chất chuẩn PAE mà cao đặc placebo không có ($R_f = 0,48$).

Định tính sai hồ trong cao đặc Tiêu dao bằng SKLM

Kết quả được thể hiện trong bảng 2 và hình 2.

Bảng 2. Kết quả SKLM định tính Sai hồ trong cao đặc Tiêu dao sau khi phun thuốc thử

Vết	R_f	Màu sắc	Mẫu nghiên cứu			
			Cao TD	P-SH	SH	SH-C
1	0,17	Vàng	+	+		
2	0,25	Tím			+	+
3	0,34	Hồng	++		+++	+++
4	0,38	Hồng				++
5	0,48	Hồng	++		++	+++
6	0,52	Hồng	+			+
7	0,55	Hồng	+	+	++	+
8	0,60	Xanh	+			+
9	0,68	Xanh			+	+
10	0,76	Vàng	+	+		



Hình 2. SKĐ định tính sai hồ (thuốc thử vanilin 2,5% trong ethanol và acid sulfuric)

Ghi chú: (+): Có vết, (++) Vết đậm, (+++) Vết rất đậm, Cao TD: Cao đặc Tiêu dao, P-SH: Cao đặc placebo sai hồ, SH: Sai hồ nguyên liệu, SH-C: Sai hồ chuẩn

Nhận xét

Trên SKĐ quan sát sau khi phun TT vanilin 2,5% trong ethanol và acid sulfuric, các vết tách tốt và có vết tương ứng với nhau. Trong đó: Sai hồ nguyên liệu có 5 vết tương ứng với sai hồ chuẩn ($R_f = 0,25; 0,34; 0,48; 0,55; 0,68$). Cao đặc Tiêu dao có 7 vết, trong đó: Có 3 vết tương ứng với Sai hồ nguyên liệu ($R_f = 0,34; 0,48;$

$0,55$), có 4 vết tương ứng với sai hồ chuẩn ($R_f = 0,34; 0,48; 0,55; 0,60$). Cao đặc Tiêu dao và sai hồ nguyên liệu có 2 vết đặc hiệu tương ứng với sai hồ chuẩn mà cao đặc placebo không có ($R_f = 0,34; 0,48$).

Định tính được liệu đương quy trong cao đặc Tiêu dao bằng SKLM

Kết quả được thể hiện trong bảng 3 và hình 3.

Bảng 3. Kết quả SKLM định tính đường quy trong cao đặc Tiêu dao (bước sóng 366 nm)

Vết	R_f	Màu sắc	Mẫu nghiên cứu			
			Cao TD	P-ĐQ	ĐQ	ĐQ-C
1	0,08	Xanh mờ	+	+	+	+
2	0,24	Xanh mờ	+	+		
3	0,35	Xanh mờ	+	+		
4	0,42	Xanh sáng	+++	++	+	+
5	0,48	Xanh	+			
6	0,49	Xanh	+	+		
7	0,51	Xanh			+	+
8	0,54	Vàng mờ	++		+	++
9	0,55	Vàng mờ			++	++
10	0,72	Xanh mờ			++	++
11	0,80	Xanh sáng	++		+++	+++

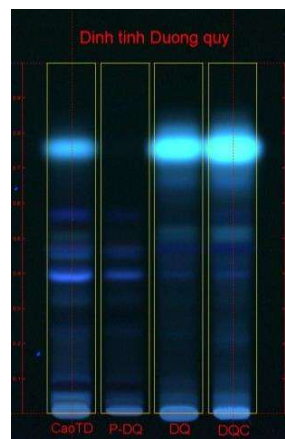
Ghi chú: (+): Có vết, (++) : Vết đậm, (+++): Vết rất đậm, Cao TD: Cao đặc Tiêu dao, P-ĐQ: Cao đặc placebo đường quy, ĐQ: Đường quy nguyên liệu, ĐQ-C: Đường quy chuẩn.

Nhận xét: Trên SKĐ quan sát ở bước sóng 366 nm, các vết tách tốt và có vết tương ứng với nhau. Trong đó: Đường quy nguyên liệu có 7 vết tương ứng với Đường quy chuẩn ($R_f = 0,08; 0,42; 0,51; 0,54; 0,55; 0,72; 0,80$). Cao đặc Tiêu dao có 8 vết, trong đó: Có 4 vết tương ứng với đường quy nguyên liệu và đường quy chuẩn

($R_f = 0,08; 0,42; 0,54; 0,80$). Cao đặc Tiêu dao và đường quy nguyên liệu có 2 vết đặc hiệu tương ứng với đường quy chuẩn mà cao đặc placebo không có ($R_f = 0,54; 0,80$).

Định tính bạch truyệt trong cao đặc Tiêu dao bằng SKLM

Kết quả được thể hiện trong bảng 4 và hình 4.



Hình 3. SKĐ định tính đường quy trong cao đặc Tiêu dao (bước sóng 366 nm)

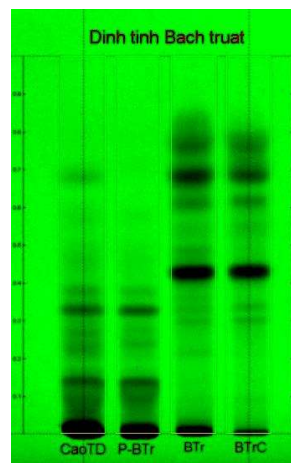
Bảng 4. Kết quả SKLM định tính bạch truyệt trong cao đặc Tiêu dao (bước sóng 254 nm)

Vết	R_f	Mẫu nghiên cứu			
		Cao TD	P-BTr	BTr	BTr-C
1	0,09	++	+	+	+
2	0,14	++	++		
3	0,23	+	+		
4	0,26	++	+		
5	0,30			+	++
6	0,32	++	+++	+	+
7	0,38	++	+		
8	0,44			+++	+++
9	0,62			++	++
10	0,68	++		+++	++
11	0,76			++	++

Ghi chú: (+): Có vết, (++) : Vết đậm, (+++): Vết rất đậm, Cao TD: Cao đặc Tiêu dao, P-BTr: Cao đặc placebo bạch truyệt, BTr: Bạch truyệt nguyên liệu, BTr-C: Bạch truyệt chuẩn

Nhận xét: Trên SKĐ quan sát ở bước sóng 254 nm, các vết tách tốt và có vết tương ứng với nhau. Trong đó: Bạch truyệt nguyên liệu có 7 vết tương ứng với bạch truyệt chuẩn ($R_f = 0,09; 0,30; 0,32; 0,44; 0,62; 0,68; 0,76$). Cao đặc Tiêu dao có 7 vết, trong đó: Có 3 vết tương ứng

với bạch truyệt nguyên liệu và bạch truyệt chuẩn ($R_f = 0,09; 0,32; 0,68$). Cao đặc Tiêu dao và bạch truyệt nguyên liệu có 1 vết đặc hiệu tương ứng với bạch truyệt chuẩn mà cao đặc placebo không có ($R_f = 0,68$).



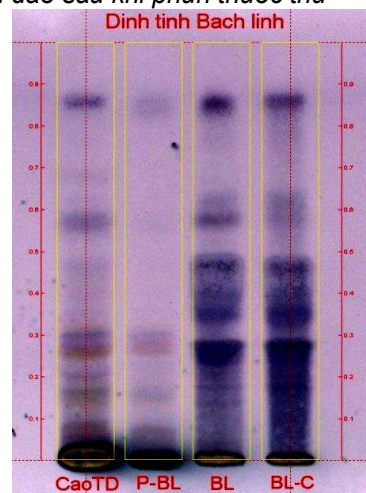
Hình 4. SKĐ định tính bạch truyệt trong cao đặc Tiêu dao (bước sóng 254 nm)

Định tính bạch linh trong cao đặc Tiêu dao bằng SKLM

Kết quả được thể hiện trong bảng 5 và hình 5.

Bảng 5. Kết quả SKLM định tính bạch linh trong cao đặc Tiêu dao sau khi phun thuốc thử

Vết	R_f	Màu sắc	Mẫu nghiên cứu			
			Cao TD	P-BL	BL	BL-C
1	0,08	xanh	+	+		
2	0,15	xanh	+	+		
3	0,17	xanh			+	+
4	0,20	xanh	+			
5	0,25	vàng	++	+		
6	0,26	xanh			+++	+++
7	0,29	xanh	+	+		
8	0,34	xanh			++	++
9	0,46	xanh	+		++	++
10	0,57	xanh	++		++	++
11	0,62	xanh			+	+
12	0,85	xanh	++		++	++



Hình 5. SKĐ định tính bạch linh (thuốc thử vanilin 2,5% trong ethanol và acid sulfuric)

Ghi chú: (+): Có vết, (++): Vết đậm, (+++): Vết rất đậm, Cao TD: Cao đặc Tiêu dao, P-BL: Cao đặc placebo bạch linh, BL: Bạch linh nguyên liệu, BL-C: Bạch linh chuẩn.

Nhận xét: Trên SKĐ quan sát sau khi phun thuốc thử, các vết tách tốt và có vết tương ứng với nhau. Trong đó: Bạch linh nguyên liệu có 7 vết tương ứng với bạch linh chuẩn ($R_f = 0,17; 0,26; 0,34; 0,46; 0,57; 0,62; 0,85$). Cao đặc Tiêu dao có 8 vết, trong đó: Có 3 vết đặc hiệu

tương ứng với bạch linh nguyên liệu và bạch linh chuẩn mà cao đặc placebo không có ($R_f = 0,46; 0,57; 0,85$).

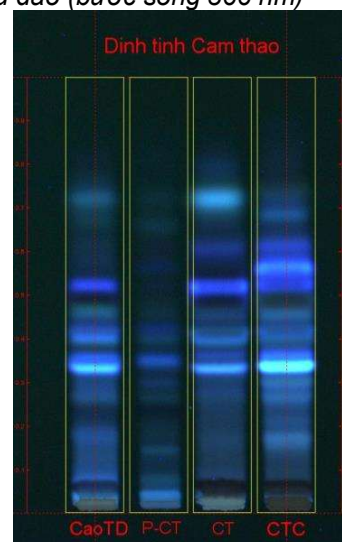
Định tính dược liệu cam thảo trong cao đặc Tiêu dao bằng SKLM

Kết quả được thể hiện trong bảng 6 và hình 6.

Bảng 6. Kết quả SKLM định tính cam thảo trong cao đặc Tiêu dao (bước sóng 366 nm)

Vết	R_f	Màu sắc	Mẫu nghiên cứu			
			Cao TD	P-CT	CT	CT-C
1	0,14	Vàng mờ		+		
2	0,23	Xanh đen	++	++		
3	0,27	Xanh mờ	+	+	+	++
4	0,30	Xanh mờ				++
5	0,34	Xanh sáng	++		+	+++
6	0,37	Xanh	+	++	+	++
7	0,42	Xanh xám	++	+	++	++
8	0,46	Xám	++		+	+
9	0,50	Xanh đen	++		++	++
10	0,54	Xanh sáng	++		++	++
11	0,64	Xanh mờ			+	++
12	0,74	Xanh mờ	++		+++	+

Ghi chú: (+): Có vết, (++): Vết đậm, (+++): Vết rất đậm, Cao TD: Cao đặc Tiêu dao, P-CT: Cao đặc placebo cam thảo, CT: Cam thảo nguyên liệu, CT-C: Cam thảo chuẩn.



Hình 6. SKĐ định tính cam thảo (bước sóng 366 nm)

Nhận xét: Trên SKĐ quan sát ở bước sóng 366 nm, các vết tách tốt và có vết tương ứng với nhau. Trong đó: Cam thảo nguyên liệu có 9 vết tương ứng với cam thảo chuẩn ($R_f = 0,27; 0,34; 0,37; 0,42; 0,46; 0,50; 0,54; 0,64; 0,74$). Cao đặc Tiêu dao có 9 vết, trong đó: Có 8 vết tương ứng với cam thảo nguyên liệu và cam thảo chuẩn ($R_f = 0,27; 0,34; 0,37; 0,42; 0,46; 0,50; 0,54; 0,74$). Cao đặc Tiêu dao và cam thảo nguyên liệu có 5 vết đặc hiệu tương ứng với cam thảo chuẩn mà cao đặc placebo không có ($R_f = 0,34; 0,46; 0,50; 0,54; 0,74$).

Bàn luận

Sắc ký lớp mỏng là một trong những phương pháp được sử dụng để xác định dấu vân tay hoá học của dược liệu, vị thuốc và các chế phẩm Đông dược. Để khảo sát dấu vân tay của các vị dược liệu trong cao đặc Tiêu dao bằng sắc ký lớp mỏng, chúng tôi đã tiến hành khảo sát và lựa chọn được những cách chiết phù hợp, cho kết quả tách vết tốt: Các vị dược liệu bạch linh, đương quy được lựa chọn chiết bằng ethanol, bạch truật được chiết bằng methanol. Các vị dược liệu bạch thược, sài hồ, cam thảo sau khi chiết bằng methanol được cô đến cạn, hòa vào nước và chiết bằng n-butanol. Cao đặc Tiêu dao và các mẫu cao đặc placebo được chiết bằng các dung môi tương ứng với phương pháp chiết để định tính từng vị dược liệu.

Về khảo sát hệ dung môi: Phương pháp định tính được tham khảo các chuyên luận trong Dược điển Việt Nam (ĐDVN) V và Dược điển Trung Quốc (ĐDTQ) 2015, so sánh với dược liệu chuẩn và chất chuẩn đối chiếu. Trong đề tài này, chúng tôi tiến hành sắc ký so sánh cao và dược liệu chuẩn để sơ bộ đánh giá sự có mặt của dược liệu ở trong cao. Cao là hỗn hợp thành phần nhiều dược liệu, do đó khả năng tách vết khó hơn trong dược liệu. Bước đầu, chúng tôi khảo sát quy trình và hệ dung môi theo ĐDVN V và ĐDTQ 2015 thì thấy khi so sánh sắc ký đồ của cao Tiêu dao với sài hồ, bạch thược, cam thảo cho khả năng tách và hiện vết tốt, đáp ứng yêu cầu của 2 dược điển này, còn các dược liệu khác thì cao đặc

Tiêu dao không tách vết rõ. Tham khảo tài liệu về định tính các dược liệu bằng sắc ký lớp mỏng, chúng tôi đã khảo sát để tìm được hệ dung môi thích hợp có thể tách vết rõ cho các mẫu cao đặc và dược liệu. Như vậy, việc cải tiến hệ dung môi so với dược điển đã đáp ứng yêu cầu định tính các dược liệu này trong cao đặc Tiêu dao. Bên cạnh đó, giữa cao đặc, dược liệu và dược liệu chuẩn có một số vết không tương ứng với nhau hoặc một số vết tương ứng nhưng độ đậm khác nhau, có thể do sự biến đổi hoặc tương tác giữa các thành phần trong quá trình bào chế cao.

Về chọn 6 trong số 8 vị thuốc để định tính: Trong phương thuốc Tiêu dao, ngoài 6 vị dược liệu đã được chúng tôi thực hiện định tính bằng phương pháp **SKLM**, còn có 2 vị là bạc hà và sinh khương. Tuy nhiên, các chuyên luận về các dạng bào chế của phương thuốc Tiêu dao trong ĐDVN V^[8] và ĐDTQ 2015^[9] cũng không yêu cầu định tính 2 vị dược liệu này. Mặt khác, ở phương thuốc Tiêu dao gốc (Tiêu dao tán), chỉ có 6 vị thuốc là bạch thược, sài hồ, đương quy, bạch linh, bạch truật, cam thảo được tán bột, khi dùng mới thêm nước sinh khương, một ít bạc hà, sắc nước uống lúc còn ấm^[1]. Hai vị này đóng vai trò là “tá” trong phương thuốc, với chức năng hỗ trợ và điều hòa phương thuốc. Hơn nữa, khối lượng của bạc hà trong phương thuốc có tỉ lệ thấp hơn so với các vị dược liệu khác. Do đó, đề tài chọn nghiên cứu định tính 6 vị thuốc chính của phương thuốc Tiêu dao.

Kết quả phân tích sắc ký lớp mỏng từ cao đặc Tiêu dao, các mẫu cao đặc placebo và các vị thuốc đối chiếu cho thấy, trên sắc ký đồ của cao đặc có các vết tương ứng với các vết của các vị thuốc trong phương thuốc; bên cạnh đó, cao đặc Tiêu dao còn có các vết đặc hiệu với từng vị dược liệu mà cao đặc placebo tương ứng không có. Như vậy, có thể sử dụng phương pháp sắc ký lớp mỏng để xác định dấu vân tay hoá học các vị dược liệu trong cao đặc Tiêu dao nhằm góp phần xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cao đặc phương thuốc Tiêu dao.

Kết luận

Đã định tính khảo sát dấu vân tay hóa học

của các vị thuốc sài hồ, đương quy, bạch thược, bạch truật, bạch linh, cam thảo trong cao đặc Tiêu dao bằng sắc ký lớp mỏng, so sánh với chất chuẩn paeoniflorin và các dược liệu chuẩn làm căn cứ để xây dựng Tiêu chuẩn chất lượng của cao này. Cần tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện tiêu chuẩn chất lượng cao đặc Tiêu dao.

Tài liệu tham khảo

1. Trình Nhu Hải, Lý Gia Canh (2004), *Trung Quốc danh phương toàn tập*, NXB Y học, Hà Nội, tr. 132.
2. Chen C. C. et al (2020), "Studies on the potential link between antidepressant effect of Xiaoyao San and its pharmacological activity of hepatoprotection based on multi-platform metabolomics", *Journal of Ethnopharmacology*, 249, e112432.
3. Xiong X. J. et al (2019), "Efficacy and safety of Chinese herbal medicine Xiao Yao San in hypertension: A systematic review and meta-analysis", *Phytomedicine*, 61, e152849.
4. Qin F., X. Huang and P. Ren (2009), "Chinese herbal medicine modified xiaoyao san for functional dyspepsia: Meta-analysis of randomized controlled trials", *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 24 (8), pp. 1320-5.
5. Jing L. L. et al (2015), "Effect of Xiaoyaosan on major depressive disorder", *Chin. Med.*, 10, e18.
6. Zhang Y. et al (2012), "Chinese herbal formula xiao yao san for treatment of depression: A systematic review of randomized controlled trials", *Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine.*, 2012, e931636.
7. Lu J. D. et al (2018), "The regulatory effect of Xiaoyao San on glucocorticoid receptors under the condition of chronic stress", *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*, 64 (6), pp. 103–109.
8. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, NXB Y học, Hà Nội.
9. China Pharmacopoeia Commission (2015), *Pharmacopoeia of the people's republic of China*.
10. Bùi Hồng Cường, Nguyễn Trần Linh, Lưu Công Bình (2020), "Tối ưu hóa quy trình chiết xuất bào chế cao đặc phương thuốc Tiêu dao", *Nghiên cứu Dược & Thông tin thuốc*, 11 (1+2), tr. 23-28.
11. Bùi Hồng Cường, Lưu Công Bình (2020), "Định lượng paeoniflorin trong cao đặc tiêu dao bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao", *Tạp chí Dược học*, 60 (527), tr. 29-33.