

SỰ BIẾN ĐỘNG CỦA HÀM LƯỢNG 10-DEACETYL BACCATIN III VÀ 19-HYDROXY BACCATIN III THEO THỜI GIAN THU HÁI TRONG LÁ CÂY THÔNG ĐỎ *TAXUS WALLICHIANA* Zucc. Ở TỈNH LÂM ĐỒNG

NGUYỄN HỮU TOÀN PHAN, NGUYỄN THỊ DIỆU THUẦN

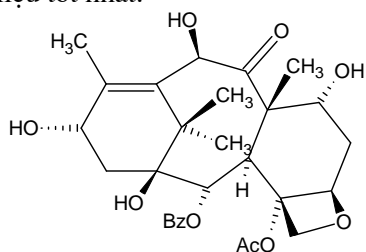
Phân viện Sinh học tại Đà Lạt

NGUYỄN CÔNG HÀO, CHÂU VĂN MINH

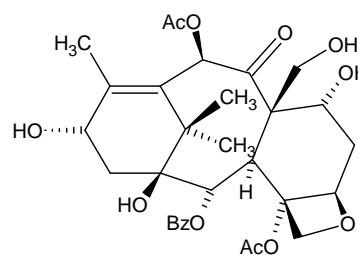
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên

Ở Việt Nam, chỉ có 2 loài thông đỏ là *Taxus chinensis* (Pilg.) Rehd. phân bố ở một số tỉnh miền Bắc và *Taxus wallichiana* Zucc. ở tỉnh Lâm Đồng [1]. Lá của các loài thông đỏ là nguồn nguyên liệu duy nhất để phân lập 10-deacetyl baccatin III (DAB) - chất đầu cho bán tổng hợp taxol và taxotere (hai trong số những hoạt chất chống ung thư hàng đầu hiện nay trên thế giới) [2, 3]. Do vậy phải khảo sát thời điểm thu hái lá để có hàm lượng DAB cao nhất, Hala N. ElSohly và cs. [4] đã khảo sát sự biến động hàm lượng của một số hợp chất taxoit theo thời gian thu hái (tháng 6-9 năm 1993 và tháng 3-10/2004) đối với lá thông đỏ *T. x media* 'Hicksii' trồng tại công ty Zelenka Nursery (Grand Haven, MI, Mỹ). Kết quả cho thấy, lá thông đỏ *T. x media* 'Hicksii' khi thu hái vào tháng 6 có hàm lượng DAB cao nhất (0,0913 %).

Trong bài báo này, chúng tôi thông báo một số kết quả khảo sát về sự biến động của hàm lượng DAB và 19-hydroxy baccatin III (HB) trong lá cây thông đỏ *Taxus wallichiana* Zucc. mọc tự nhiên ở tỉnh Lâm Đồng theo thời gian thu hái trong năm nhằm xác định thời gian thu nguyên liệu tốt nhất.



10-deacetyl baccatin III



19-hydroxy baccatin III

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu là lá cây thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) thu tại Núi Voi ở huyện Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng. Lá thông đỏ được thu hái từ 9 giờ đến 13 giờ trong ngày và bao gồm toàn bộ lá xanh.

Lá thông đỏ tươi được sấy khô ở nhiệt độ < 45°C, nghiền mịn, chiết 3 lần với metanol trong bể siêu âm (4 giờ/lần chiết với tỷ lệ lá khô/metanol = 1/5). Gộp chung các dịch chiết metanol, cô thu hồi dung môi dưới áp suất thấp cho đến dạng cao tổng hợp. Hòa tan cao trong dung dịch metanol - nước 20%. Lọc, loại bỏ phần không tan và chiết loại chất màu với *n*-hexan, sau đó chiết tổng các hợp chất taxoit với cloroform. Dịch chiết cloroform được cô thu hồi dung môi đến cạn khô.

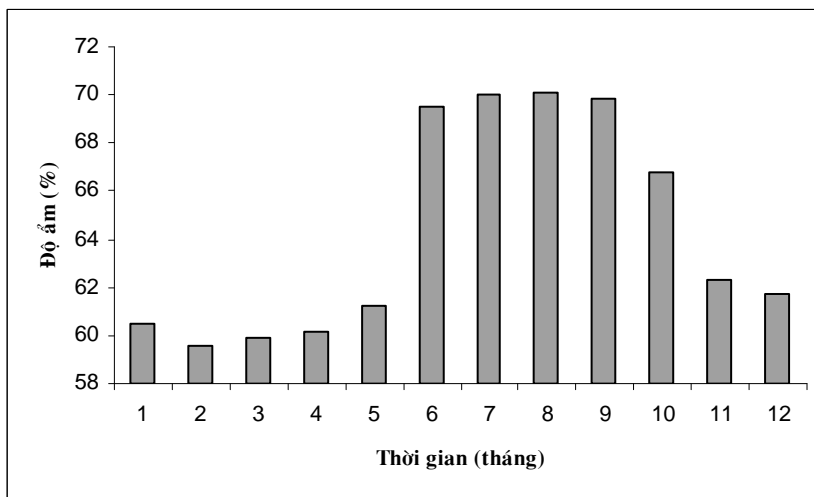
Cặn khô từ dịch chiết cloroform được hòa tan trong metanol theo tỷ lệ 0,1-0,4 g cặn khô/5 ml metanol để tiến hành phân tích định lượng DAB và HB bằng máy sắc ký lỏng cao áp (HPLC) Agilent 1100 sử dụng cột Zorbax Eclipse XDB-C18 với hệ dung môi (metanol/nước = 65/35).

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Độ ẩm của lá thông đỏ theo thời gian thu hái trong năm

Lá thông đỏ được thu từ 20 cá thể mọc tự

nhiên, mỗi cá thể được thu 100 g lá tươi. Thời gian thu hái từ tháng 5/2005 đến tháng 4/2006. Hỗn hợp lá tươi, sau khi được sấy khô, được xác định độ ẩm, rồi tiến hành chiết toàn phần với metanol. Độ ẩm của lá thông đỏ theo thời gian được trình bày trong hình 1.

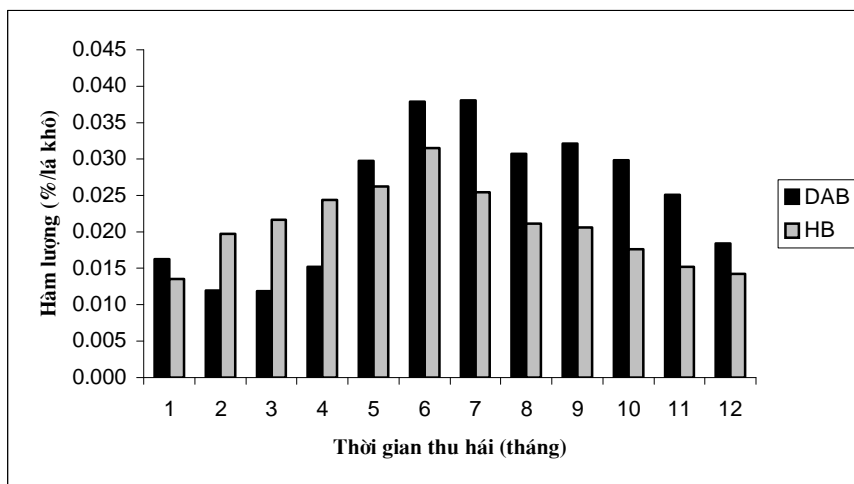


Hình 1. Độ ẩm của lá thông đỏ theo thời gian thu hái trong năm

Độ ẩm của nguyên liệu tăng mạnh trong giai đoạn từ tháng 6 đến tháng 10 và sau đó giảm dần, phù hợp với mùa mưa ở tỉnh Lâm Đồng. Đồng thời, đây cũng là giai đoạn ra chồi và phát

triển lá non của cây thông đỏ.

2. Hàm lượng DAB và HB trong lá thông đỏ theo thời gian thu hái trong năm



Hình 2. Sự biến động của hàm lượng DAB và HB trong lá thông đỏ theo thời gian thu hái trong năm

Cần khô được hòa tan trong metanol HPLC để định lượng DAB và HB trên máy sắc ký lỏng cao áp, có kèm với mẫu chuẩn. Kết quả định lượng các hợp chất này theo 12 tháng liên tục được trình bày trong hình 2.

Vào các tháng 6-7, cây phát triển mạnh nên hàm lượng của hai hoạt chất DAB và HB cũng tăng mạnh trong giai đoạn này và sau đó giảm dần đến những tháng cuối năm. Do vậy, để thu được lá thông đỏ với hàm lượng hai hoạt chất

DAB và HB cao nhất, cần thu lá vào giai đoạn các tháng 6-7. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của ElSohly trên loài *T. x media* 'Hicksii'.

III. KẾT LUẬN

1. Độ ẩm của lá thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) dao động trong khoảng 59-71% và đạt cao nhất trong thời gian từ tháng 6 đến tháng 9

2. Hàm lượng 10-deacetylbaaccatin III trong lá thông đỏ khô tăng dần theo thời gian thu hái từ tháng 1 đến các tháng 6-7 và sau đó giảm dần cho đến tháng 12. Hàm lượng cao nhất (0,037%) đạt được khi thu hái lá vào tháng 6 và tháng 7.

3. Hàm lượng 19-hydroxybaaccatin III trong lá thông đỏ khô tăng dần theo thời gian thu hái từ tháng 1 đến tháng 6 và sau đó giảm dần cho đến tháng 12. Hàm lượng cao nhất (0,032%) đạt được khi thu hái lá vào tháng 6.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, 1996: Sách Đỏ Việt Nam (phần thực vật). Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
2. J. N. Denis et al., 1988: J. A. C. S., 110: 5917.
3. Nguyễn Hữu Toàn Phan và cs., 1998: Tạp chí Hóa học, 36(2): 76-78. Hà Nội.
4. Hala N. ElSohly et al., 1997: Phytochemical Analysis, Vol.8: 124-129.

SEASONAL EFFECTS ON THE 10-DEACETYLBACCATIN III AND 19-HYDROXYBACCATIN III CONTENTS OF THE NEEDLES OF *TAXUS WALLICHIANA* ZUCC. IN LAMDONG PROVINCE

NGUYEN HUU TOAN PHAN, NGUYEN THI DIEU THUAN
NGUYEN CONG HAO, CHAU VAN MINH

SUMMARY

In Vietnam, there are two *Taxus* species (*Taxus chinensis* (Pilg.) Rehd. in Northern provinces and *Taxus wallichiana* Zucc. in Western Highland). Previous examinations show that content of taxoid compounds in the needles of *T. chinensis* is lower than in the needles of *T. wallichiana*, so that materials from *T. chinensis* don't meet the requirements of pharmaceutical industry. *Taxus wallichiana* Zucc. (Taxaceae) only distributes in Lamdong province of Vietnam. Its needles were collected monthly from May 2005 to April 2006. The humidity of fresh needles was variety from 59 to 71 percent depending on seasonal conditions. Uniformly dried samples of *Taxus wallichiana* Zucc. were extracted and analyzed for their contents of two taxanes, namely 10-deacetylbaaccatin III (DAB) and 19-hydroxybaaccatin III (HB) using high pressure liquid chromatography instrument with the standard compounds. The content of DAB in the dried needles gradually increases according to the harvest time from January to July and sequentially decreases to the end of year. The maximum content of DAB is 0.037% in the dried needles collected in June or July. The lowest level was reached in February – March (0.012%). Similarity, the highest content of HB is 0.032% based on dried needles collected in June. The minimum level of HB is 0.014% on needles collected in January.

Data obtained from a seasonal study showed that the best time to harvest of the yew clippings for the production of these two taxanes is approximately one month from the start of flushing (June to July). At that time the clippings have reached reasonable size to provide high quality biomass.

Ngày nhận bài: 16-7-2007