

Nhiệt độ cột: 25 °C ± 1 °C.

Detector tán xạ ánh sáng bay hơi. Điều chỉnh detector để đạt được tỷ số tín hiệu trên nhiễu là tốt nhất theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 15 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

| Thời gian (min) | Nước (% tt/tt) | Methanol (% tt/tt) |
|-----------------|----------------|--------------------|
| 0 → 23 | 75 → 52 | 25 → 48 |
| 23 → 28 | 52 | 48 |
| 28 → 30 | 52 → 25 | 48 → 75 |
| 30 → 35 | 25 → 10 | 75 → 90 |
| 35 → 40 | 10 → 75 | 90 → 25 |
| 40 → 50 | 75 | 25 |

Tiến hành sắc ký lần lượt với các dung dịch chuẩn. Xác định các pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn bằng cách so sánh với sắc ký đồ cung cấp kèm theo ginkgo terpen lacton chuẩn. Vẽ đồ thị tương quan giữa logarit của nồng độ (mg/ml) và logarit của diện tích pic của từng chất.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Sắc ký đồ thu được từ các dung dịch chuẩn phải tương tự sắc ký đồ cung cấp kèm theo ginkgo terpen lacton chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic bilobalid không được lớn hơn 2,0 %. Hệ số tương quan của đường hồi qui được lập từ kết quả phân tích các dung dịch chuẩn không được nhỏ hơn 0,995.

Từ đồ thị thu được, xác định nồng độ (C) của mỗi terpen lacton trong dung dịch thử. Tính hàm lượng phần trăm (X %) của mỗi terpen lacton là bilobalid (C₁₅H₁₈O₈), ginkgolid A (C₂₀H₂₄O₉), ginkgolid B (C₂₀H₂₄O₁₀), ginkgolid C (C₂₀H₂₄O₁₁) trong cao khô theo công thức sau:

$$X(\%) = (C/W) \times 2000$$

Trong đó:

C là nồng độ của mỗi terpen lacton trong dung dịch thử (mg/ml).

W là lượng cân cao khô đã dùng để chuẩn bị dung dịch thử (mg).

Tính hàm lượng terpen lacton toàn phần bằng tổng hàm lượng mỗi terpen lacton được tính ở trên, tính theo cao khô kiệt.

Hàm lượng terpen lacton toàn phần trong cao khô: 5,4 % - 12,0 %.

Hàm lượng bilobalid: 2,6 % - 5,8 %.

Tổng hàm lượng ginkgolid A (C₂₀H₂₄O₉), ginkgolid B (C₂₀H₂₄O₁₀), ginkgolid C (C₂₀H₂₄O₁₁): 2,8 % - 6,2 %.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, chống ẩm, ở nhiệt độ phòng.

CỎ SỮA LÁ LỚN

Herba Euphorbiae hirtae

Toàn cây tươi hoặc đã phơi hay sấy khô của cây cỏ sữa lá lớn (*Euphorbia hirta* L.), họ Thầu dầu (Euphorbiaceae). Thu hái vào cuối mùa hạ đến đầu mùa thu, khi cây bắt đầu có hoa. Nhổ cả cây, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, dùng tươi hoặc phơi hay sấy khô.

Mô tả

Dược liệu tươi: Cây thảo, sống một năm, thường mọc thẳng đứng, cao từ 20 - 40 cm, phân nhánh ít. Rễ dạng cọc, hơi phân nhánh. Thân chính và nhánh đều hình trụ, có nhiều đốt, đường kính 2 - 3 mm, thường có màu nâu tía hay vàng ngà, phủ lông dày. Lá mọc đối, phiến lá màu xanh lục hay nâu tía nhạt, hình bầu dục hoặc hình mác, dài 2 - 3 cm, rộng 1,2 - 2 cm, gốc lệch, đầu nhọn, mép có răng cưa, mặt dưới phủ lông dày, gân chính và hai gân bên rõ. Lá kèm nhỏ. Cụm hoa gần hình cầu, mọc ở kẽ lá, gồm nhiều hoa, tổng bao hình chuông, có lông ở mặt ngoài, có 4 tuyến, đầu của tổng bao xẻ 5 thùy tam giác nhọn. Nhị 5. Bầu có lông, núm nhụy xẻ 3. Quả nang, gần tròn, đường kính khoảng 1,5 mm. Hạt nhỏ, vỏ nhăn nheo. Toàn cây tươi có nhựa mù màu trắng, dính.

Dược liệu khô: Các đoạn thân có vài đốt hoặc mang rễ dạng cọc hơi phân nhánh và phần lá hoa quả nhỏ bị rụng khỏi cành. Đoạn thân hình trụ, đường kính 1 - 3 mm, bên ngoài màu vàng ngà, điểm nổi các đốt màu nâu sẫm. Lá nguyên có phiến lá hình mác - thuôn, elip dài, hoặc hình trứng - mác, dài 1 - 3 cm, rộng 0,5 - 1,5 cm, màu nâu, mép lá răng cưa nhỏ, gân chính và hai gân bên nổi rõ. Cụm hoa gần hình cầu, gồm nhiều hoa nhỏ. Quả nang 3 góc, có nhiều lông ngắn, mịn. Mùi thơm nhẹ, vị hơi chát.

Vi phẫu

Thân: Mặt cắt thân hình gần tròn, từ ngoài vào trong có: Biểu bì gồm một lớp tế bào hình trứng xếp đều đặn mang lông che chở đa bào. Lông che chở đa bào gồm 3 - 4 tế bào, thành nhẵn, đầu nhọn. Mô mềm vỏ gồm 5 - 6 hàng tế bào hình trứng, xếp tương đối đều đặn thành các vòng tròn đồng tâm. Các bó sợi xếp rải rác không liên tục nằm sát libe. Các bó libe-gỗ xếp sát nhau tạo thành vòng hướng tâm, mỗi bó gồm libe ở phía ngoài, gỗ ở phía trong và được ngăn cách với libe bởi tầng phát sinh libe-gỗ. Mô mềm ruột chiếm phần lớn tiết diện thân, gồm các tế bào thành mỏng, hình gần tròn, càng vào trong các tế bào có kích thước càng lớn.

Gân lá: Mặt trên hơi lõm, mặt dưới lồi. Biểu bì trên và dưới gồm một hàng tế bào hình trứng xếp đều đặn, mang lông che chở. Lông che chở đa bào gồm 4 - 5 tế bào, thành nhẵn. Mô mềm gồm 4 - 5 hàng tế bào hình gần tròn, kích thước không đều, xếp lộn xộn. Gân lá có 1 - 2 bó libe-gỗ hình cung, libe ở phía ngoài, gỗ ở trong, rải rác trong libe

có các tế bào chứa chất tiết màu nâu tập trung nhiều ở phía sát mô mềm.

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới gồm 1 hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn và mang lông che chở đa bào. Mô giậu gồm một hàng tế bào xếp tương đối đều đặn nằm sát biểu bì trên. Mô mềm gồm 2 - 3 hàng tế bào kích thước không đều, xếp lộn xộn. Bó gân phụ nằm rải rác, có cấu trúc tương tự bó gân chính nhưng ít libe gỗ hơn và được bao quanh bởi một vòng tế bào mô mềm có kích thước lớn.

Bột (đối với dược liệu khô)

Bột màu xanh nhạt, không mùi, vị hơi đắng. Quan sát trên kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào gồm 4 - 5 tế bào, thành nhẵn. Mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu song bào hoặc hỗn bào. Mảnh mô mềm chứa tinh bột, các hạt tinh bột hình tròn, hình chuông hoặc hình trứng, rốn hạt hình vạch hoặc hơi phân nhánh, vân tăng trưởng không rõ. Các mảnh mạch xoắn, mạch điềm. Hạt phấn hoa hình bầu dục hoặc gần tròn, màu vàng nhạt (nếu có).

Định tính

A. Cân khoảng 2 g bột dược liệu khô cho vào bình nón dung tích 100 ml. Thêm 20 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun trên cách thủy sôi trong 10 min, lọc nóng. Dịch lọc thu được đem cô trên cách thủy cho bay hết dung môi. Cẩn thu được hòa trong 10 ml *nước cất (TT)* đun sôi, lọc nóng. Dịch lọc thu được đem cô trên cách thủy cho bay hơi hết nước, cẩn còn lại được hòa tan trong 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, lọc. Dùng dịch thu được làm các phản ứng định tính sau:

Cho vào ống nghiệm 1 ml dịch lọc. Thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* thấy xuất hiện tủa vàng. Thêm 1 ml *nước cất (TT)* thấy tủa tan và màu vàng của dung dịch tăng lên.

Cho vào ống nghiệm 1 ml dịch lọc. Thêm vào 2 - 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* thấy xuất hiện tủa xanh đen.

Cho vào ống nghiệm 1 ml dịch lọc, thêm một ít *bột magnesi (TT)*. Nhỏ từ từ 3 - 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*. Để yên vài phút, dung dịch sẽ chuyển từ màu vàng sang màu đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel F₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - methanol - acid formic (3 : 6 : 1 : 1)*.

Dung dịch thử: Cân khoảng 1 g bột dược liệu khô, cho vào bình nón 50 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ, đun hồi lưu trong 10 min, để nguội. Lọc, lấy dịch lọc đem cô cách thủy cho đến khi còn khoảng 1 ml dùng để chấm sắc ký.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan quercitrin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Cỏ sữa lá lớn (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi

được 12 cm đến 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. **Phun dung dịch nhôm clorid 3 % (TT)**, sấy bản mỏng ở 105 °C trong khoảng 5 min. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết tương đương về vị trí (giá trị R_f khoảng 0,44), và cùng màu sắc tương đương với vết quercitrin chuẩn trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu và phải có các vết cùng màu sắc và tương đương về vị trí với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không được quá 13,0 %, đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 15,0 %, đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 3,5 % (Phụ lục 12.11).

Dược liệu tươi: Không ủa, thối nát.

Chất chiết được trong dược liệu (đối với dược liệu khô)

Không được ít hơn 3,5 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 5,0 mg quercitrin chuẩn, cho vào bình định mức 50 ml, thêm 6 ml *methanol (TT)*, lắc cho tan hoàn toàn. Bổ sung *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều (mỗi ml chứa 100 µg quercitrin).

Xây dựng đường cong chuẩn: Lấy chính xác 0,9; 1,0; 1,1; 1,2; 1,3; 1,4 ml dung dịch chuẩn cho vào lần lượt 6 bình định mức 10 ml, thêm vào mỗi bình 0,3 ml dung dịch *nhôm clorid (TT) 10 %* và 0,3 ml dung dịch *natri acetat (TT) 1 M*. Bổ sung *nước cất* tới vạch, trộn kỹ. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm (Phụ lục 4.1). Xây dựng đường hồi quy biểu diễn sự phụ thuộc của độ hấp thụ theo nồng độ của quercitrin chuẩn.

Dung dịch thử gốc: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu khô, thêm 200 ml *ether dầu hòa (40 °C đến 60 °C) (TT)*. Chiết bằng bình Soxhlet trong 6 h, lấy bã, để bay hơi hết ether, chiết tiếp như trên bằng 200 ml *methanol (TT)* trong 2 h. Lấy dịch chiết methanol, cô trên cách thủy đến còn khoảng 10 ml, chuyển vào bình định mức 20 ml, bổ sung *methanol (TT)* vừa đủ tới vạch.

Dung dịch thử: Lấy chính xác 0,4 ml dung dịch thử gốc vào bình định mức 10 ml, thêm 0,6 ml *methanol (TT)*; 0,3 ml dung dịch *nhôm clorid (TT) 10 %* và 0,3 ml dung dịch *natri acetat (TT) 1 M*, bổ sung *nước cất* tới vạch. Trộn đều. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm (Phụ lục 4.1).

Song song thực hiện một mẫu trắng.

Căn cứ độ hấp thụ đo được từ dung dịch thử, đường cong

chuẩn đã lập, tính nồng độ quercitrin của dung dịch thử từ đó tính hàm lượng phần trăm flavonoid toàn phần (X %) trong dược liệu theo quercitrin (C₂₁H₂₀O₁₁) trên dược liệu khô kiệt theo công thức sau:

$$X \% = \frac{C}{20 \times m \times (100 - r)}$$

Trong đó:

C là nồng độ thu được của dung dịch thử (µg/ml).

m là khối lượng cân dược liệu thử (g).

r là độ ẩm của dược liệu (%).

Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,4 % flavonoid toàn phần, tính theo quercitrin, C₂₁H₂₀O₁₁, theo dược liệu khô kiệt.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Vị cay, chua, tính lương, hơi có độc. Vào các kinh phế, bàng quang, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, khu phong lợi thấp, thông sữa. Chủ trị: Dùng trị phế ung, nhũ ung, mụn nhọt đỉnh độc, ly trực khuẩn, ly amip, tiết tả, nhiệt lâm, huyết niệu, thấp chân, ngứa ngoài da, sau đẻ ít sữa.

Cách dùng, liều dùng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Sắc lấy nước để ngâm, rửa. Lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai dùng thận trọng.

CỎ SỮA LÁ NHỎ

Herba Euphorbiae thymifoliae

Toàn cây tươi hoặc đã phơi hay sấy khô của cây cỏ sữa lá nhỏ (*Euphorbia thymifolia* L.), họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*). Thu hái vào cuối mùa hạ đến đầu mùa thu, khi cây bắt đầu có hoa. Nhổ cả cây, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, dùng tươi hoặc phơi hay sấy khô.

Mô tả

Dược liệu tươi: Cây thảo sống một năm, phân nhánh nhiều, mọc lan tỏa trên mặt đất. Dạng rễ cọc, màu vàng nhạt, đôi khi phân nhánh. Thân hình trụ, màu đỏ tía, gồm nhiều đốt, đường kính 1,0 - 1,5 mm và phủ lông che chở. Lá mọc đối, hình bầu dục, dài 5,5 - 7 mm, rộng 3,5 - 4,0 mm, gốc lá và đầu lá tù, mép có răng cưa nhỏ, mặt dưới phủ lớp lông mịn, gân chính và hai gân bên rõ. Có lá kèm hình vẩy, rất nhỏ. Cụm hoa dạng xim, mọc ở kẽ lá, gồm ít hoa, tổng bao hình chén, phủ lông mịn (quan sát bằng kính lúp soi nổi), có 5 thùy hình tam giác nhọn, có tuyến hình trái xoan; nhị nhiều, bao phấn nứt ngang. Bầu có lông, vòi nhụy chia 5,

uốn cong xuống. Quả nang có 3 góc, đường kính khoảng 1,5 mm, có lông. Hạt rất nhỏ, nhiều, có 4 cạnh. Toàn cây tươi có nhựa mù màu trắng, dính.

Dược liệu khô: Thường cuộn lại với nhau thành bó, lá và hoa quạ dễ rơi rụng. Dạng rễ cọc, rễ có màu nâu hơi đỏ, to hơn thân, mang chùm nhánh thân tỏa tròn ở đầu rễ. Thân mảnh nhỏ, hình trụ, có nhiều đốt, đường kính 1 - 1,5 mm, màu nâu đỏ, nâu hoặc lục vàng. Lá đơn nguyên, màu lục xám, lá nguyên có phiến hình bầu dục, đỉnh và gốc lá hơi tù, dài 2 - 4 mm, rộng 1 - 3 mm; các lá vẩy nhỏ, thuôn hoặc hình tim không đều. Cụm hoa rất nhỏ, màu nâu nhạt. Quả nang nhỏ, có 3 góc, màu lục hơi vàng, có lông khắp bề mặt.

Vi phẫu

Thân: Mặt cắt thân hình gần tròn, từ ngoài vào trong có: Biểu bì gồm một hàng tế bào hình trứng xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào. Mô mềm vỏ gồm 5 - 6 hàng tế bào hình đa giác kích thước không đều, xếp lộn xộn. Trụ bì hóa sợi thành từng cụm, tế bào hình đa giác uốn lượn, kích thước không đều. Libe-gỗ xếp thành từng bó liên tục tạo thành vòng hướng tâm, mỗi bó gồm libe ở phía ngoài, gỗ ở phía trong, ngăn cách với libe bởi tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng liên tục. Mô mềm ruột ở giữa thân, gồm nhiều tế bào thành mỏng, hình gần tròn, căng vào trong các tế bào có kích thước càng lớn.

Gân lá: Biểu bì trên và dưới gồm một hàng tế bào hình trứng xếp đều đặn mang lông che chở đa bào, thành nhẵn. Mô giậu gồm 1 hàng tế bào nằm sát biểu bì trên. Chính giữa gân lá là bó libe-gỗ hình gần tròn, libe ở phía ngoài, gỗ ở trong. Bao quanh bó libe gỗ là một vòng tế bào mô mềm có kích thước lớn. Mô dày gồm 4 - 5 hàng tế bào có thành dày, hình đa giác, xếp lộn xộn ở giữa biểu bì dưới và bó libe-gỗ.

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới gồm một hàng tế bào hình trứng xếp đều đặn. Mô giậu gồm 1 hàng tế bào nằm sát biểu bì trên. Mỗi bên phiến lá có 6 - 7 bó libe-gỗ hình gần tròn, mỗi bó gồm libe ở dưới, gỗ ở trên. Bao quanh bó libe gỗ là một vòng tế bào mô mềm có kích thước lớn. Mô mềm gồm 3 - 4 hàng tế bào, kích thước không đều, xếp lộn xộn.

Bột (đối với dược liệu khô)

Bột màu xanh xám, không mùi, vị hơi đắng. Quan sát trên kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào, thành nhẵn; hạt phấn hoa hình gần tròn hoặc bầu dục, màu vàng nhạt; mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu hõn bảo hoặc song bào; mảnh mô mềm chứa tinh bột, các hạt tinh bột có hình dạng khác nhau: hình tròn, hình chuông, hình trứng, rón hạt hình vạch, vân tầng trường không rõ; mảnh mạch mạng; mảnh mô mềm mang mạch xoắn.

Định tính

A. Lấy khoảng 2 g bột dược liệu khô cho vào bình nón dung tích 100 ml. Thêm 50 ml ethanol 90 % (TT), đun sôi