

ĐẶC ĐIỂM VI HỌC VÀ BƯỚC ĐẦU KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC THÂN CÂY VỌNG CÁCH (*Premna serratifolia* L., Verbenaceae) VÀ LÁ VÔNG NEM (*Erythrina variegata* L., Fabaceae)

• Huỳnh Anh Duy^(*), Nguyễn Bá Quân^(*), Nguyễn Thị Kim Huyền^(*)

Tóm tắt

Trong bài báo này, đặc điểm vi học và thành phần hóa học của thân cây Vọng cách và lá Vông nem đã được khảo sát. Từ bột thân cây Vọng cách lần đầu báo cáo được 6 cấu tử gồm: lông che chở đa bào, mảnh bản, mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng và mạch điểm; Từ bột lá Vông nem mô tả được 4 cấu tử gồm: tế bào khí khổng, mảnh gân lá có tế bào hình chữ nhật thành mỏng, tế bào mô cứng và mạch vòng. Bên cạnh đó, từ phân đoạn dichloromethane thân cây Vọng cách, bằng kỹ thuật sắc ký cột kết hợp các phương pháp phổ học, đã phân lập được hợp chất β -sitosterol. Từ phân đoạn ethyl acetate lá Vông nem lần đầu tiên công bố sự hiện diện của hợp chất uracil.

Từ khóa: Vọng cách, Vông nem, vi học, β -sitosterol, uracil.

1. Đặt vấn đề

Vọng cách với tên khoa học là *Premna serratifolia* L., họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae) và Vông nem có tên khoa học *Erythrina variegata* L., họ Đậu (Fabaceae). Trong dân gian, Vọng cách được dùng với tác dụng bảo vệ, tăng cường chức năng gan, trị chứng tiêu hóa kém, trị tiêu chảy, lỵ, viêm thấp khớp, đau dây thần kinh... [2]; Vông nem được dùng làm thuốc an thần, điều trị mất ngủ, điều trị bệnh trĩ, phong tê thấp, tiêu độc, sát khuẩn... [5]. Tuy nhiên, hiện có ít nghiên cứu trên hai dược liệu này về đặc điểm vi học cũng như thành phần hóa học. Trên cơ sở tiếp tục các nghiên cứu trước đây, chúng tôi mong muốn tìm hiểu rõ hơn về đặc điểm vi học của bột thân cây Vọng cách và lá Vông nem, góp phần vào tiêu chuẩn hóa dược liệu. Ngoài ra, nghiên cứu cũng tiến hành phân lập chất tinh khiết từ phân đoạn dichloromethane của thân cây Vọng cách và phân đoạn ethyl acetate lá Vông nem.



Hình 1. Vọng cách



Hình 2. Vông nem

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Thân cây Vọng cách được thu hái tại tỉnh An

Giang và lá Vông nem được thu hái tại tỉnh Hậu Giang, đầu vào tháng 10/2016. Mẫu được định danh bởi Thạc sĩ Nguyễn Kim Đua, Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, có kiểm chứng lại bằng tài liệu tham khảo [3]. Sau đó, mẫu được phơi khô, xay thành bột mịn để dùng cho quá trình nghiên cứu.

2.2. Hóa chất

Dung môi (Chemsol): n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, acetone, methanol; Silica gel 60 (Merck) dùng cho sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng silica gel F254 (Merck); Kính hiển vi quang học (Olympus).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Khảo sát đặc điểm vi học của thân cây Vọng cách và lá Vông nem

Thân cây Vọng cách và lá Vông nem được cắt nhỏ và sấy ở nhiệt độ khoảng 60°C, xay nhỏ, rây qua rây số 32. Bột dược liệu được tiến hành đánh giá cảm quan và tiến hành soi dưới kính hiển vi theo quy trình được hướng dẫn bởi tài liệu tham khảo [4], [6].

2.3.2. Phân lập chất tinh khiết từ phân đoạn dichloromethane thân cây Vọng cách

Bột thân cây Vọng cách (5 kg) được ngâm dầm trong ethanol 70%, thu dịch chiết, sau khi cô quay thu được cao tổng ethanol dạng lỏng có màu nâu đậm, mùi thơm nhẹ (khoảng 2,7 lít). Từ cao tổng ethanol, tiến hành chiết phân bố lỏng - lỏng với dichloromethane kết hợp thay đổi pH. Thu dịch chiết, cô quay, thu được phân đoạn dichloromethane (4 g).

^(*) Trường Đại học Cần Thơ.

Phân đoạn dichloromethane được tiến hành phân lập chất bằng sắc ký cột kết hợp các kỹ thuật để tinh chế mẫu. Mẫu chất tinh khiết được gửi đo phổ NMR tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Từ dữ liệu phổ, tiến hành xác định cấu trúc chất phân lập được.

2.3.3. Phân lập chất tinh khiết từ phân đoạn ethyl acetate lá Vông nem

Bột lá Vông nem (2 kg) được ngâm đậm trong ethanol 70%, thu dịch chiết, cô quay thu được cao ethanol tổng (3,5 lít). Cao ethanol tổng được tiến hành chiết phân bố lỏng - lỏng với ethyl acetate kết hợp thay đổi pH, thu được phân đoạn ethyl acetate (9 g).

Phân đoạn ethyl acetate được tiến hành sắc ký cột để phân lập, kết hợp các phương pháp tinh chế để thu chất tinh khiết. Mẫu chất tinh khiết được gửi đo phổ NMR tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Từ dữ liệu phổ, tiến hành xác định cấu trúc chất phân lập được.

3. Kết quả và thảo luận

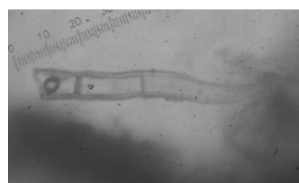
3.1. Kết quả trên thân cây Vông cách

Đặc điểm vi học bột thân cây Vông cách

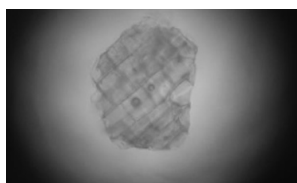
Bột thân cây Vông cách có màu vàng nâu, mùi thơm nhẹ, vị hăng đắng.

Sau khi quan sát dưới kính hiển vi, bột thân cây Vông cách lần đầu tìm thấy 6 cấu tử, bao gồm: lông che chở đa bào, mảnh bản, mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng, mạch điểm.

Hiện tại chưa có nhiều nghiên cứu về đặc điểm vi học thân cây Vông cách. Bên cạnh đó, dược liệu Vông cách cũng chưa có trong các chuyên luận của Dược điển Việt Nam IV nên kết quả cũng góp phần đánh giá chất lượng dược liệu.



Hình 3. Lông che chở đa bào



Hình 4. Mảnh bản



Hình 5. Mạch vạch



Hình 6. Mạch xoắn



Hình 7. Mạch mạng



Hình 8. Mạch điểm

Phân lập chất tinh khiết từ phân đoạn dichloromethane thân cây Vông cách

Phân đoạn dichloromethane được tiến hành sắc ký cột pha thường (silica gel với cỡ hạt 40 - 60 μm) với hệ dung môi n-hexane - ethyl acetate với tỷ lệ tăng dần. Kết quả thu được 9 phân đoạn, ký hiệu PD-1 đến PD-9. Từ phân đoạn PD-1 với tỷ lệ n-hexane - ethyl acetate (95:5) thu được 1 chất rắn màu trắng có lẫn tạp màu vàng. Tiến hành rửa tinh thể nhiều lần và kết tinh lại trong n-hexane, thu được 1 chất kết tinh hình kim, ký hiệu PS4 (15 mg). Sau khi kiểm tra độ tinh khiết hợp chất PS4 với 3 hệ dung môi khác nhau trên sắc ký lớp mỏng, mẫu được gửi đo phổ NMR để xác định cấu trúc.

- Hợp chất PS4: tinh thể hình kim, màu trắng, tan tốt trong n-hexane, ether dầu hỏa. Trên sắc ký lớp mỏng, cho vết có $R_f = 0,2$ với hệ dung môi ether dầu hỏa - chloroform (7:3), hiện vết trên sắc ký lớp mỏng bằng thuốc thử H_2SO_4 10% cho vết tròn, màu tím. Bước đầu dự đoán PS4 có thể là 1 sterol. Dữ liệu phổ của hợp chất PS4 như sau:

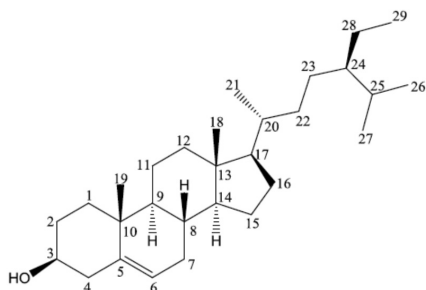
Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ 3,51 (1 H, m), δ 5,35 (1 H, d), δ 0,68 (3 H, s), δ 1,01 (3 H, s), δ 0,92 (3 H, d, 6,5 Hz), δ 0,82 (3 H, d, J = 4 Hz), δ 0,80 (3 H, d, J = 8 Hz), δ 0,85 (3 H, t).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6): δ 36,8 (CH_2 , C1), δ 31,4 (CH_2 , C2), δ 69,9 (CH, C3), δ 41,9 (CH_2 , C4), δ 141,2 (Cq, C5), δ 120,0 (CH, C6), δ 31,2 (CH_2 , C7), δ 31,4 (CH, C8), δ 49,6 (CH, C9), δ 35,9 (Cq, C10), δ 20,4 (CH_2 , C11), δ 39,8 (CH_2 , C12), δ 41,9 (Cq, C13), δ 56,0 (CH, C14), δ 23,6 (CH_2 , C15), δ 28,8 (CH_2 , C16), δ 55,4 (CH, C17), δ 11,4 (CH_3 , C18), δ 18,8 (CH_3 , C19), δ 35,9 (CH, C20), δ 18,8 (CH_3 , C21), δ 33,3 (CH_2 , C22), δ 25,7 (CH_2 , C23), δ 45,89 (CH, C24), δ 28,8 (CH, C25), δ 19,4 (CH_3 , C26), δ 18,8 (CH_3 , C27), δ 22,6 (CH_2 , C28), δ 11,5 (CH_3 , C29).

Từ dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) cho thấy các tín hiệu đặc trưng proton của hai nhóm methyl vị trí C-18 và C-19 tương ứng ở δ 0,69 (3

H, *s*) và δ 1,02 (3 H, *s*). Proton của ba nhóm methyl vị trí C-27, C-26 và C-21 tương ứng xuất hiện ở δ 0,80 (3 H, *d*, $J = 8$ Hz), δ 0,82 (3 H, *d*, $J = 4$ Hz), δ 0,92 (3 H, *d*, $J = 6,5$ Hz). Proton của nhóm methyl ở δ 0,85 (3 H, *t*) vị trí C-29. Nhận thấy giá trị δ 5,35 (1 H, *d*) cho thấy proton của cầu nối olefin, đặc trưng cho khung sườn sterol. Vị trí δ 3,51 (1 H, *m*) là tín hiệu proton của C-3 có gắn nhóm -OH.

Dựa vào dữ liệu phổ trên kết hợp với tài liệu tham khảo [1], xác định được PS4 là β -sitosterol.

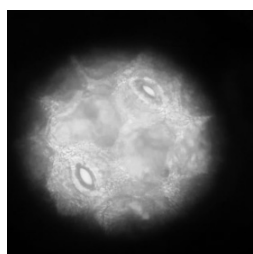


Hình 9. Công thức của β -sitosterol

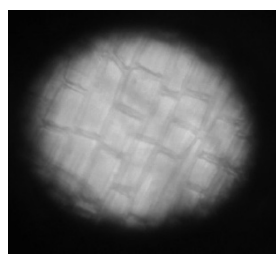
3.2. Kết quả trên lá Vông nem

Đặc điểm vi học bột lá Vông nem

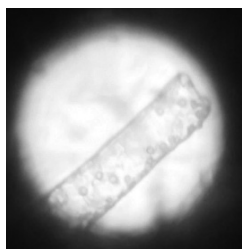
Bột lá Vông nem có màu xanh, mùi thơm nhẹ, vị đắng. Khi soi mẫu bột lá Vông nem dưới kính hiển vi, quan sát được 4 cấu tử như sau: tế bào khí khổng, mảnh gân lá tế bào hình chữ nhật thành mỏng, tế bào mô cứng, mạch vòng. Sau khi quan sát, nhận thấy các đặc điểm bột dược liệu phù hợp với chuyên luận trong Dược điển Việt Nam IV.



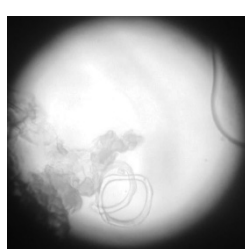
Hình 10. Tế bào khí khổng



Hình 11. Tế bào hình chữ nhật thành mỏng (Mảnh gân lá)



Hình 12. Tế bào mô cứng



Hình 13. Mạch vòng

Phân lập chất tinh khiết từ phân đoạn ethyl acetate lá Vông nem

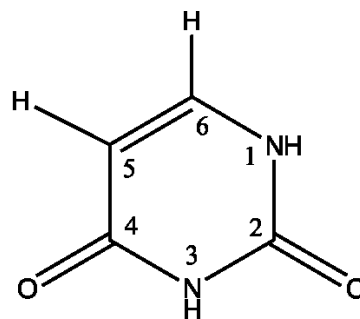
Phân đoạn ethyl acetate được tiến hành sắc ký cột pha thường (silica gel cỡ hạt 40 - 60 μ m) với hệ dung môi n-hexane - ethyl acetate tỷ lệ tăng dần. Kết quả thu được 7 phân đoạn, ký hiệu từ ER1 đến ER7. Phân đoạn ER5 với tỷ lệ n-hexane - ethyl acetate (60:40), sau khi để bay hơi tự nhiên xuất hiện tinh thể, rửa nhiều lần với dung môi thích hợp được hợp chất VN1.

- Hợp chất VN1: Dạng vô định hình màu vàng nhạt. Tan tốt trong ethyl acetate, ít tan trong n-hexane. Trên ESI-MS, phổ $[M+Na]^+$ cho mũi ion phân tử giả tại m/z 135, kết hợp với thông tin từ phổ NMR cho thấy phân tử khối của VN1 là 112 đvC phù hợp với công thức $C_4H_4O_2N_2$.

Phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) kết hợp với phổ DEPT cho thấy hai tín hiệu ở δ 100,2 và δ 142,1 dự đoán là của 2 nhóm $>C=CH-$. Hai tín hiệu ở δ 151,4 và δ 164,2 dự đoán là của 2 nhóm $>C=O$.

Phổ 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) cho thấy hai tín hiệu proton nhóm methin tương tác ortho tại δ 5,44 (1 H, *d*, 7,5 Hz) và δ 7,37 (1 H, *d*, 7,5 Hz). Hai tín hiệu proton của nhóm NH- tại δ 10,78 (1 H, *brs*) và δ 10,97 (1 H, *brs*).

Từ các dữ liệu phổ trên kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [7], cho phép xác định VN1 là pyrimidine-2,4-(1*H*, 3*H*)-dione hay uracil. Đây là lần đầu tiên công bố hợp chất này từ lá Vông nem.



Hình 14. Công thức cấu tạo của uracil

Bảng 1. So sánh dữ liệu phổ NMR của VN1 với tài liệu tham khảo

Vị trí C/H	VN1		uracil [7]	
	δ_C (125 MHz, DMSO- d_6)	δ_H (500 MHz, DMSO- d_6)	δ_C (100 MHz, DMSO- d_6)	δ_H (400 MHz, DMSO- d_6)
1		10,78 (1 H, brs)		10,81 (1 H, brs)
2	151,4		151,5	
3		10,97 (1 H, brs)		11,01 (1 H, brs)
4	164,2		164,3	
5	100,2	5,44 (1 H, d, 7,5 Hz)	100,2	5,44 (1 H, d, 7,6 Hz)
6	142,1	7,37 (1 H, d, 7,5 Hz)	142,2	7,38 (1 H, d, 7,6 Hz)

4. Kết luận

Lần đầu tiên mô tả 6 cấu tử từ bột thân cây Vọng cách gồm: lông che chở đa bào, mảnh bản, mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng, mạch điểm. Kết quả góp phần vào các chỉ tiêu kiểm tra chất lượng dược liệu. Ngoài ra, cũng phân lập được hợp

chất β -sitosterol, phù hợp với các công bố trước đây về Vọng cách.

Từ lá Vông nem mô tả được 4 cấu tử gồm: tế bào khí khổng, mảnh gân lá có tế bào hình chữ nhật thành mỏng, tế bào mô cứng, mạch vòng. Nghiên cứu này cũng lần đầu tiên báo cáo sự hiện diện của uracil từ lá Vông nem./.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Ahmed, Y. et al. (2013), "Isolation of steroids from n-hexane extract of the leaves of *Saurauia roxburghii*", *International Food Research Journal*, (20), p. 2939-2943.
- [2]. Đỗ Huy Bích và cộng sự (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam - tập 2*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 1063-1064.
- [3]. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam - tập 2*, NXB Y học, Hà Nội.
- [4]. Khoa Dược-Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh (2013), *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*, tr. 4-5.
- [5]. Đỗ Tất Lợi (2005), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội, tr. 787.
- [6]. Nguyễn Việt Thân (2003), *Kiểm nghiệm dược liệu bằng phương pháp hiển vi*, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, Hà Nội.
- [7]. Yeon, S.L. et al. (2004), "Constituents of the Halophyte *Salicornia herbacea*", *Archives of Pharmacol Research*, (27), p. 1034-1036.

INVESTIGATING PHARMACOGNOSTIC CHARACTERISTICS AND CHEMICAL CONSTITUENTS FROM STEMS OF *Premna serratifolia* L., Verbenaceae AND LEAVES OF *Erythrina variegata* L., Fabaceae

Summary

In this paper, pharmacognostic characteristics and chemical constituents of *Premna serratifolia* stems and *Erythrina variegata* leaves were investigated. Powder from *Premna serratifolia* stems was initially found to be made up of 6 constituents: protective multicellular hair, heartwood, striped tissue, curly tissue, net tissue and dot tissue; *Erythrina variegata* powder comprised 4 constituents: aerocells, leafpiece of thin rectangular cells, hard cells and ring net. In addition, from the dichloromethane extract of *Premna serratifolia* stems, β -sitosterol compound was isolated by means of chemical column analysis and spectrum methods. From the ethyl acetate extract of *Erythrina variegata* leaves, the presence of uracil compound was first found.

Keywords: *Premna serratifolia*, *Erythrina variegata*, pharmacognostic, β -sitosterol, uracil.

Ngày nhận bài: 27/4/2017; **Ngày nhận lại:** 26/5/2017; **Ngày duyệt đăng:** 15/8/2017.