

Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của rễ cây sâm đười gà (*Decaschistia intermedia* Craib.)

Hoàng Việt Dũng^{1*}, Nguyễn Thị Huyền¹, Đỗ Quyên²

¹Học viện Quân Y

²Trường Đại học Dược Hà Nội

Summary

Decaschistia intermedia is one of 3 species of the genus *Decaschistia* distributed in Vietnam. There is no information about using this herb as a medicinal plant. However, our research revealed that this plant was potential for treating diabetes because some compounds isolated from the radix of *Decaschistia intermedia* showed the α -glucosidase enzyme inhibitory activity significantly. This research was carried out to build its qualitative standard as a medicinal plant. Specially, the content of parvifloral C was determined as its chemical marker compound. Parvifloral C was chosen because its bis-trinorcadalen structure was typical and it was isolated from the research object with the most amount. The result of this article contributes to applying and developing *Decaschistia intermedia* as a medicinal plant in the future.

Keywords: *Decaschistia intermedia*, parvifloral C, qualitative standard.

Đặt vấn đề

Sâm đười gà (*Decaschistia intermedia* Craib.) (SDG) là một trong 3 loài thuộc chi *Decaschistia* phân bố ở Việt Nam [3, 6]. Qua tham khảo tài liệu, chưa tìm thấy thông tin về việc sử dụng cây này làm thuốc theo kinh nghiệm cổ truyền [2, 5]. Trong tài liệu Dược điển Việt Nam V (DĐVN V), chưa có chuyên luận về rễ cây SDG [1]. Quá trình nghiên cứu rễ cây SDG, chúng tôi đã phân lập được 10 hợp chất trong đó có 6 hợp chất có khung cấu trúc là bis-trinorcadalen và 3 hợp chất thuộc nhóm coumarin. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase *in vitro* của những hợp chất phân lập được cho thấy có 5 hợp chất hoạt tính ức chế enzym đáng quan tâm với giá trị IC₅₀ (43,69 – 157,14 μ g/ml) thấp hơn giá trị IC₅₀ của chất đối chứng dương acarbose (183,54 μ g/ml) ở cùng điều kiện thử nghiệm. Kết quả này cho thấy tiềm năng sử dụng rễ cây SDG để làm thuốc điều trị bệnh đái tháo đường trong thực tế.

Hiệu quả chữa bệnh của một dược liệu và những sản phẩm chứa dược liệu đó

được quyết định bởi chất lượng của nó. Chất lượng của dược liệu do thành phần hóa học quyết định. Do đó, việc kiểm soát chất lượng dược liệu và quan trọng nhất là định lượng được thành phần hợp chất đánh dấu trong dược liệu là vấn đề đang rất được quan tâm. Để tạo cơ sở cho khai thác và phát triển SDG trong thực tiễn, nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho rễ cây SDG như một dược liệu. Đặc biệt, với chỉ tiêu định lượng rễ cây SDG, hợp chất parvifloral C đã được lựa chọn làm chất đánh dấu bởi đây là hợp chất có cấu trúc bis-trinorcadalen đặc trưng cho những hợp chất hóa học khác có trong cây, đồng thời, là chất được phân lập với lượng nhiều nhất trong số những chất phân lập được trong nghiên cứu trước đó của chúng tôi.



(A)



(B)

Hình 1. Ảnh cây sâm đười gà (A) và hoa (B)
(Ảnh chụp tại thực địa tháng 9/2019)

Chịu trách nhiệm: Hoàng Việt Dũng

Email: vietdungk85@yahoo.com

Ngày nhận: 02/12/2020

Ngày phản biện: 04/01/2021

Ngày duyệt bài: 22/01/2021

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Rễ cây SDG được thu hái tại tỉnh Kiên Giang vào tháng 09/2019. Rễ được rửa sạch, thái lát và sấy khô ở 70°C đến hàm ẩm thích hợp.

Hóa chất, dung môi

- Chất đối chiếu parvifloral C (Par C), hàm lượng 95,6% (do Viện Hóa Sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp); Acid formic: đạt tiêu chuẩn tinh khiết hóa học (Trung Quốc).

- N-Hexan, acetone, methanol: đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích (Trung Quốc); Methanol: đạt tiêu chuẩn dùng cho HPLC (Hãng Merck).

Thiết bị

Hệ thống **HPLC** Waters 2695D; Detector PDA 2998; Cột Lichrospher RP-18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m, 100 Å⁰); Kính hiển vi Leica (Đức); Đèn soi tử ngoại Viber Lourmat 2 bước sóng 254 và 365 nm; Máy đo hàm ẩm tự động ADAM AMB 310...

Phương pháp nghiên cứu

Mô tả: Bằng cảm quan.

Vĩ phẫu: Phần thân của rễ cây SDG được cắt, nhuộm và làm tiêu bản. Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi và mô tả.

Bột: Rễ cây SDG được cắt lát, sấy khô, nghiền mịn và làm tiêu bản. Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi và mô tả.

Độ ẩm: Thực hiện theo hướng dẫn của chuyên luận xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 giờ) theo ĐCVN V^[1].

Định tính:

Phản ứng hóa học

Lấy khoảng 1,0 g bột rễ cây SDG, thêm 5 ml ethanol 90%, lắc đều, đun sôi trên cách thủy khoảng 5 phút, lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 2 - 3 ml (dung dịch A). Lấy 1 ml dung dịch A cho vào một ống nghiệm, thêm 1 ml dung dịch NaOH 10%, đun cách thủy khoảng 3 phút, để nguội. Cho từ từ từng giọt thuốc thử Diazo vào. Quan sát hiện tượng.

Hiện tượng huỳnh quang

Nhỏ 3 giọt dung dịch A ở trên lên một tờ giấy lọc, để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Sắc ký lớp mỏng

Bản mỏng: silicagel 60 F₂₅₄ được hoạt hóa

ở 110 °C trong 30 phút.

Dung môi triển khai: n-Hexan : acetone (1,5:1).

Dung dịch mẫu: Chiết siêu âm 1,0 g bột rễ cây SDG chuẩn với 5 ml ethanol 90% trong 15 phút, lọc. Dịch lọc được cô đặc còn khoảng 2 ml dùng làm dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành: chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, để khô bản mỏng ngoài không khí ở nhiệt độ phòng sau đó quan sát dưới ánh sáng 365 nm.

Ghi kết quả: Tính giá trị R_f và mô tả màu sắc với các vết hiện rõ trên bản mỏng sắc ký.

Định lượng: Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

Điều kiện sắc ký: Cột Lichrospher RP-C18 (5 μ m, 100 Å⁰, 250 x 4,6 mm) hoặc tương đương; Bước sóng phát hiện: 226 nm; Tốc độ dòng: 1 ml/phút; Thể tích tiêm: 20 μ l; Nhiệt độ cột: 25 °C; Pha động: Gồm methanol : acid formic 0,1% (81:19).

Chuẩn bị mẫu thử và mẫu chuẩn

- Chuẩn bị dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g bột rễ cây SDG (đã được nghiền và qua rây 355) cho vào bình cầu dung tích 100 ml. Thêm khoảng 25 ml methanol, chiết hồi lưu trong thời gian 30 phút. Để yên, gạn và lọc vào bình định mức 100 ml (lâm lập lại 4 lần). Gộp các dịch chiết, thêm methanol vừa đủ đến vạch, lắc đều. Dung dịch trong bình được lọc qua màng 0,45 μ m sau đó được phân tích sắc ký **HPLC**.

- Chuẩn bị dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10,0 mg chất chuẩn Par C vào bình định mức 10 ml. Hòa tan bằng lắc siêu âm 15 phút và thêm methanol vừa đủ đến vạch, lắc đều để được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 1000 μ g/ml. Từ dung dịch chuẩn gốc, pha loãng về các nồng độ làm việc thích hợp bằng dung môi methanol.

Cách tiến hành:

Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu, ghi thời gian lưu và diện tích của pic Par C của từng dung dịch.

Tính kết quả:

Hàm lượng Par C (% , kl/kl) trong rễ cây SDG khô kiệt được tính theo công thức:

$$HL (\%) = \frac{(S - b) \times 100 \times 10^{-6} \times 100 \times 100}{a \times m_c \times (100 - h)}$$

Trong đó: S: Diện tích pic của mẫu thử ($\mu V \cdot s$); a: Hệ số góc của đường chuẩn; b: Hệ số chặn của đường chuẩn; m: Khối lượng mẫu cân để chiết xuất (g); h: Hàm ẩm của mẫu (%).

Tro toàn phần: Tiến hành theo phương pháp TCVN 5611:2007, thực hiện tại Trung tâm phân tích và giám định thực phẩm quốc gia, Viện Công nghệ thực phẩm.

Kim loại nặng: Tiến hành định lượng Pb và Cd theo phương pháp AOAC 999.11 và định lượng Hg theo phương pháp AOAC 971.21, thực hiện tại Trung tâm phân tích và giám định thực phẩm quốc gia, Viện Công nghệ thực phẩm.

Kết quả và bàn luận

Mô tả

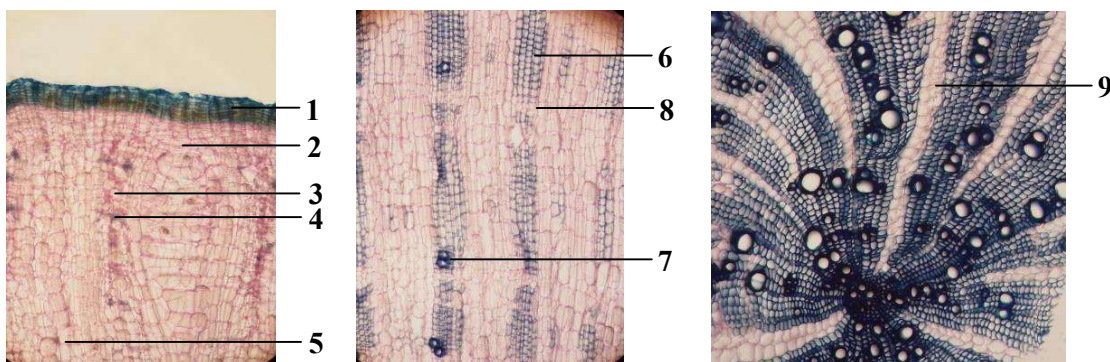
Rễ củ khô có hình trụ, đầu dưới thuôn nhỏ, dài khoảng từ 8 cm trở lên, đường kính khoảng 0,5 – 2,0 cm. Vỏ ngoài màu nâu sẫm đến sáng, hơi nhăn nheo, rải rác có các vết sẹo của rễ con. Mặt cắt ngang màu trắng, thể chất mịn, có nhiều bột. Có mùi thơm. Rễ cây được cắt lát dày 0,3 – 0,7 cm, thỉnh thoảng có các đoạn rễ con dài 3,0 – 6,0 mm.



Hình 2. Ảnh chụp rễ cây SDG đã được cắt lát và sấy khô

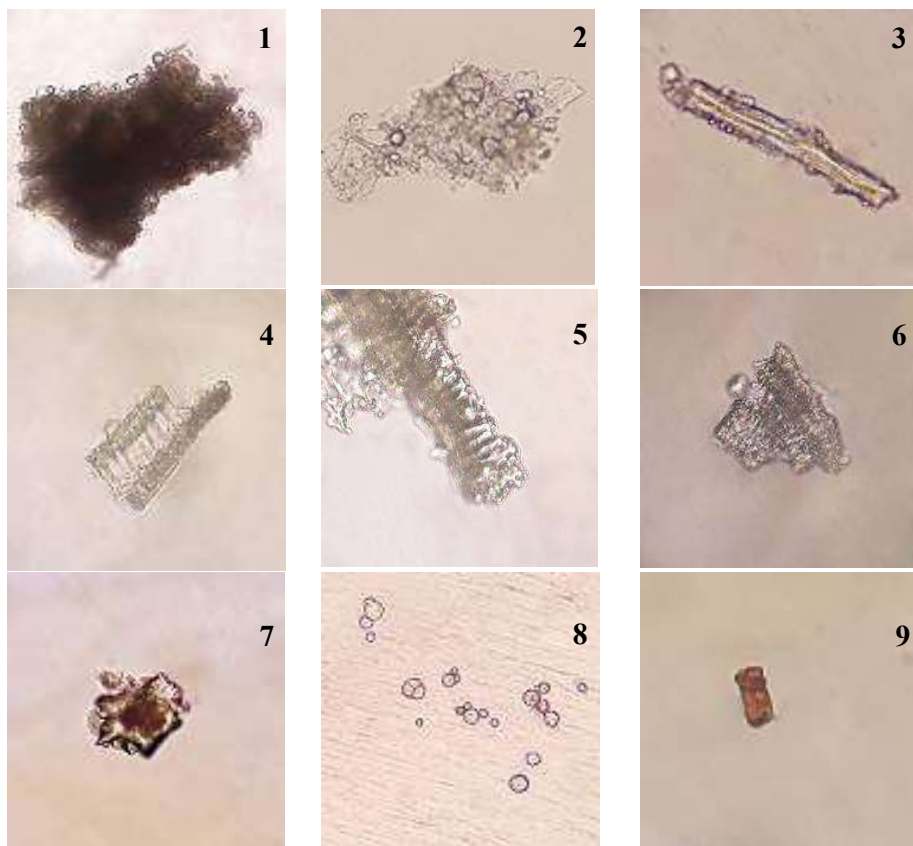
Vi phẫu

Ngoài cùng là lớp vỏ tạo thành 6 - 15 hàng tế bào hình chữ nhật, đa giác xếp chồng nhau (1). Mô mềm vỏ là các tế bào hình chữ nhật dẹt nằm ngay sát dưới lớp vỏ (2). Bó libe bất hồng trải dài từ vỏ vào đến ruột (3), rải rác có các sợi hóa gỗ (4). Tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm ở tế bào mô mềm (5). Xen lẫn trong phần mô mềm gỗ (6) là các mạch gỗ đơn lẻ hoặc thành bó 2 - 3 ống (7). Ngăn cách các đoạn mô mềm gỗ là tầng phát sinh (8) nằm rải rác từ ngoài vào chia phần mô mềm thành nhiều lớp. Tia ruột gồm 2 - 3 hàng tế bào mô mềm chạy từ trong ruột ra đến gần bó libe thì loe ra thành hình phễu (9).



Hình 3. Ảnh chụp vi phẫu rễ cây SDG

Bột



Hình 4. Ảnh chụp đặc điểm bột của rễ cây SDG

Bột màu trắng ngà, soi dưới kính hiển vi thấy tế bào bản hình đa giác thành dày có màu nâu xám (1). Tế bào mô mềm hình chữ nhật hoặc đa giác bên trong có chứa rất nhiều hạt tinh bột (2). Sợi dài có thành dày, khoang hẹp (3). Mạch mạch vòng (4) và mạch xoắn (5). Mạch mô cứng gồm các tế bào hình gần chữ nhật, thành dày, khoang hẹp (6). Tinh thể calci oxalat hình cầu gai (7). Hạt tinh bột kích thước không đều, hình cầu hoặc hình chuông, đứng riêng lẻ hoặc kép đôi, kép ba (8). Mảnh mang màu (9).

Độ ẩm

Kết quả xác định độ ẩm của mẫu nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Độ ẩm của rễ cây SDG

Mẫu	Khối lượng mẫu (g)	Độ ẩm (%)
1	2,17	9,37
2	2,24	8,26
3	2,11	8,71
$\bar{X} \pm SD$		$8,78 \pm 0,45$
RSD (%)		5,12

Như vậy, độ ẩm của mẫu nghiên cứu khoảng 8,78 %. Dựa trên kết quả thực nghiệm và mức độ ẩm thường áp dụng đối với dược liệu trong ĐVN V ^[1], đề nghị giới hạn độ ẩm của rễ cây SDG là không quá 13,0%.

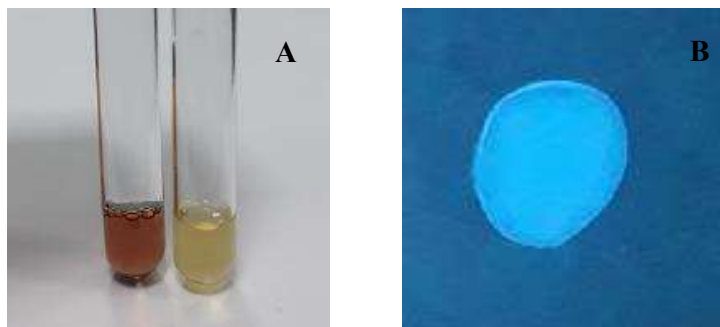
Định tính

Phản ứng hóa học

Sau khi thêm thuốc thử Diazo vào ống nghiệm, màu của dung dịch trong ống nghiệm chuyển từ vàng sang đỏ nâu.

Hiện tượng huỳnh quang

Khi soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm thấy giọt trên giấy lọc xuất hiện màu xanh da trời.

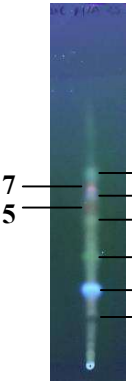


Hình 5. Ảnh chụp phản ứng Diazo (A) và ảnh soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm (B) của dịch chiết rễ SĐG

Sắc ký lớp mỏng Sau khi khai triển sắc ký lớp mỏng và hiện màu bằng soi dưới ánh sáng bước sóng 365 nm, trên bản mỏng sắc ký của mẫu dịch chiết rễ cây SĐG cho thấy các vết tách nhau và hiện màu rõ. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh chụp, R_f và màu sắc của các vết trên bản mỏng sắc ký mẫu dịch chiết SĐG

Vết	Màu sắc	R_f	Vết	Màu sắc	R_f
1	Đen	0,17	5	Nâu	0,59
2	Xanh da trời đậm	0,28	6	Xanh da trời nhạt	0,63
3	Xanh lá cây	0,39	7	Hồng nhạt	0,67
4	Xanh lá cây	0,56	8	Xanh lá cây	0,72

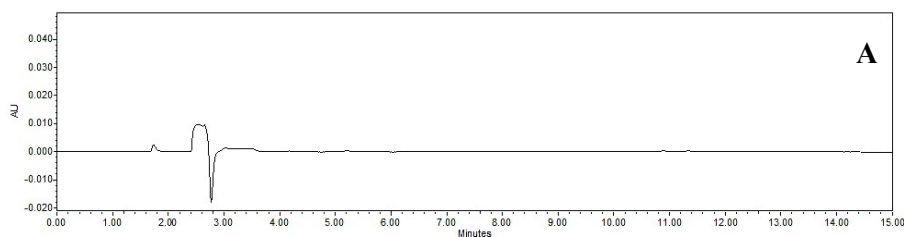


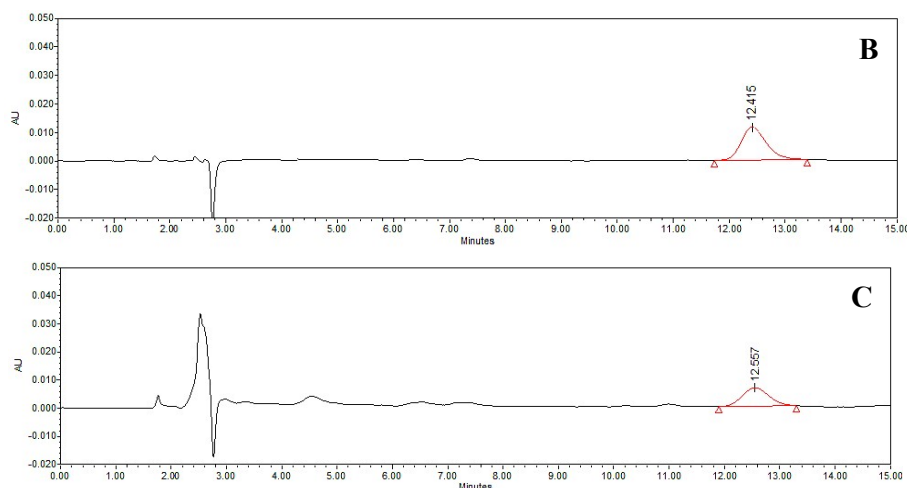
Kết quả trên cho thấy hệ dung môi pha động n-hexan:aceton (1,5:1) và hiện màu dưới ánh sáng 365 nm là điều kiện phù hợp để phân tích sắc ký lớp mỏng mẫu dịch chiết rễ cây SĐG. Dưới điều kiện phân tích này, bản sắc ký lớp mỏng mẫu dịch chiết rễ cây SĐG phải có

số lượng, màu sắc và thứ tự các vết như mô tả ở bảng 2.

Định lượng

Kết quả xác định hàm lượng Par C trong mẫu rễ cây SĐG bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao được trình bày ở hình 6 và bảng 3.





Hình 6. Sắc ký đồ mẫu trắng (A), dung dịch Par C (B) và dịch chiết rễ cây SDG (C)

Bảng 3. Kết quả định lượng Par C trong rễ cây SDG

Mẫu	Khối lượng cân (g)	Diện tích pic ($\mu V \cdot s$)	Hàm lượng Par C (%)
1	0,2014	235852	0,0694
2	0,2053	247342	0,0713
3	0,2008	234897	0,0694
4	0,2017	223010	0,0656
5	0,2022	232642	0,0682
6	0,2004	228292	0,0676
$X \pm SD$			$0,0686 \pm 0,0019$
RSD (%)			2,82

Kết quả bảng 3 cho thấy hàm lượng Par C trong mẫu nghiên cứu khoảng 0,0686 % tính theo mẫu khô kiệt. Dựa trên kết quả thực nghiệm, đề nghị giới hạn hàm lượng Par C trong rễ cây SDG là không ít hơn 0,05 %.

Tro toàn phần

Kết quả xác định tro toàn phần của mẫu nghiên cứu là 4,06%. Dựa trên kết quả thực nghiệm, đề nghị giới hạn tro toàn phần trong rễ cây SDG là không quá 5,0 %.

Kim loại nặng

Kết quả xác định hàm lượng Pb, Cd và Hg trong mẫu nghiên cứu lần lượt là 0,155 mg/kg; 0,648 mg/kg và < 0,015 mg/kg. Dựa trên kết quả thực nghiệm, đề nghị giới hạn kim loại nặng trong rễ cây SDG phải phù hợp với quy định an toàn thực phẩm theo QCVN 8-2: 2011/BYT - Giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm^[4].

Kết luận

Đã đánh giá được tiêu chuẩn chất lượng của rễ cây SDG về một số chỉ tiêu gồm: mô tả, vi phẫu, bột, độ ẩm, định tính, định lượng, tro toàn phần và kim loại nặng. Dựa trên kết quả thực nghiệm và tài liệu tham khảo, đã đề xuất các mức giới hạn tương ứng với những chỉ tiêu chất lượng đã được đánh giá của rễ cây SDG. Kết quả của nghiên cứu này có thể được sử dụng để xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho rễ cây SDG như một dược liệu trong tương lai.

Nội dung của bài báo này là một phần nội dung của đề tài mã số KHCN-TNB.ĐT/14-19/C15. Đề tài này được tài trợ kinh phí bởi Chương trình “Khoa học và Công nghệ phục vụ phát triển bền vững vùng Tây Nam Bộ” (chương trình Tây Nam Bộ), mã số KHCN-TNB/14-19.

Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, NXB. Y học, Hà Nội, tr. 1310-1311, PL 203.
2. Đỗ Tất Lợi (2015), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB. Hồng Đức.
3. Đỗ Thị Xuyên (2008), Nghiên cứu phân loại họ Bông (*Malvaceae* Juss.) ở Việt Nam, *Luận án Tiến sĩ, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật*, tr. 20.
4. QCVN 8-2:2011/BYT, Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm, tr. 3, 6, 7.
5. Viện Dược liệu (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập 2, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
6. <http://www.theplantlist.org>, *Decaschistia*.