

Khảo sát đặc điểm vi học, thành phần hóa học và hoạt tính chống oxi hóa của Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius* (L.) A. DC.)

Nguyễn Thị Thu Hiền*, Lê Thiện Đại, Hà Mỹ Nhân, Đặng Chí Cường

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

*ntthuhien@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Bài báo nghiên cứu đặc điểm thực vật (hình thái, vi học), định tính dược liệu theo chuyên luận dược điển Việt Nam V, xác định độ ẩm, sơ bộ thành phần hóa học và khảo sát hoạt tính chống oxi hóa các cao phân đoạn của Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius* (L.) A. DC). Kết quả sơ bộ thành phần hóa học cho thấy dược liệu chứa nhiều flavonoid, saponin, triterpenoid tự do; ngoài ra còn có các carotenoid, acid hữu cơ, chất khử và polyrunoid. Thử nghiệm bằng mô hình dọn dẹp gốc tự do DPPH trên sắc kí lớp mỏng cho thấy khả năng chống oxi hóa trên cả cao cồn toàn phần và các phân đoạn ethyl acetate, *n* – butanol, trong đó phân đoạn ethyl acetate có tiềm năng chống oxi hóa cao hơn.

Kết quả nghiên cứu góp phần tiêu chuẩn hóa dược liệu Rau đắng đất trong sản xuất thuốc.

© 2020 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 09.08.2020

Được duyệt 12.06.2020

Công bố 29.06.2020

Từ khóa

Rau đắng đất,
chống oxi hóa, DPPH,
Glinus oppositifolius.

1 Đặt vấn đề

Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius* (L.) A. DC) là cây thuộc họ rau đắng (Molluginaceae), mọc phổ biến ở Miền Nam Việt Nam; có tác dụng lợi tiêu hóa, nhuận gan, ích mật, thanh nhiệt, lợi tiểu, giải độc. Trong các nghiên cứu nước ngoài gần đây, Rau đắng đất đã được chứng minh có nhiều tác dụng dược lí như chống oxi hóa[2], kháng viêm giảm đau[5], ức chế enzyme α – glucosidase[6]... Trên thị trường, các chế phẩm chứa thành phần Rau đắng đất phổ biến như Boganic, BAR, Livonic,... được sử dụng nhiều với tác dụng bảo vệ gan. Tuy nhiên, ở Việt Nam hiện nay chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học với khả năng chống oxi hóa của loài cây này. Bài báo nghiên cứu đặc điểm thực vật (hình thái, vi học), xác định thành phần hóa học và hoạt tính chống oxi hóa của Rau đắng đất góp phần tiêu chuẩn hóa dược liệu Rau đắng đất trong sản xuất thuốc.

2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

Toàn cây Rau đắng đất, thu hái vào tháng 04 năm 2019, tại tỉnh Cần Thơ. Dược liệu thu về được so sánh hình thái với các tài liệu mô tả thực vật[7,8], sau đó được làm sạch và phơi khô trong râm.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Khảo sát thực vật học

Khảo sát đặc điểm hình thái: Mô tả đặc điểm thực vật học dựa trên quan sát cây tươi đối chiếu với tài liệu tham khảo để xác định.

Khảo sát vi học: vi phẫu lá, thân; đặc điểm bột dược liệu bằng các phương pháp thường qui.

2.2.2 Định tính dược liệu:

Dựa theo chuyên luận Dược điển Việt Nam V[9]

Phản ứng A: Cho vào ống nghiệm 1g bột dược liệu, thêm 5ml nước, đun sôi nhẹ, lắc nóng. Dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml nước. Lắc nhẹ trong vòng 2 phút theo chiều dọc ống nghiệm. Xuất hiện cột bọt cao khoảng 4cm và bền ít nhất 15 phút.

Phản ứng B: Lấy 2g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10ml ethanol 96%, đun nóng khoảng 80°C trong 10 phút, lọc nóng, bốc hơi dịch lọc đến cạn, hòa tan cặn trong 2ml nước, thêm 3ml n-hexan, lắc kĩ. Tách lấy lớp nước, cô cách thủy đến cạn. Thêm 1ml cloroform, lắc cho tan cặn. Thêm 1ml acid sulfuric, lắc đều, xuất hiện màu đỏ.

2.2.3 Độ ẩm

Độ ẩm được tiến hành bằng máy xác định hàm ẩm Sartorius MA 45. Trải mỏng khoảng 0,5g dược liệu đã được xay mịn lên đĩa cân. Đo độ ẩm. Thực hiện ba lần, lấy giá trị trung bình cho mỗi mẫu.

2.2.4 Sơ bộ thành phần hóa học

Dựa trên phương pháp Ciule đã được cải tiến bởi Đại học Y Dược Tp. HCM[10].



Chiết tách hỗn hợp các chất có trong nguyên liệu thành 3 phân đoạn theo độ phân cực tăng dần, bằng cách chiết lần lượt với các dung môi: ether ethylic, ethanol và nước. Xác định các nhóm hoạt chất trong từng dịch chiết bằng các phản ứng hóa học đặc trưng.

2.2.5 Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa trên các phân đoạn qua mô hình DPPH

- Chiết xuất

Bột thô Rau đắng đất (500g) được chiết nóng bằng đun hồi lưu 3 lần với 4 lít cồn 70% (2, 1, 1 lít). Gộp các dịch chiết, thu hồi dung môi thu được cao lỏng (500ml). Cao lỏng được chiết phân bố lỏng – lỏng lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần: ethyl acetat (EtOAc) và n-butanol (n-BuOH), cô thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được các cao phân đoạn tương ứng, bao gồm: cao EtOAc (2,5g) và cao n-BuOH (4g).

- Thử hoạt tính chống oxy hóa qua mô hình DPPH

Thuốc thử DPPH pha loãng trong MeOH nồng độ 1mg/ml. Các mẫu thử của từng phân được hòa trong methanol và được chấm bằng ống mao quản có khắc vạch, lấy đồng lượng các mẫu thử. Sau khi khai triển, bản mỏng được quan sát dưới đèn UV 254nm và 365nm. Nhúng bản mỏng vào thuốc thử DPPH, ủ trong tối 5 phút. Quan sát bản mỏng, dựa vào số vết và độ chuyển màu trên sắc kí đồ để sơ bộ đánh giá số chất và mức độ chống oxy hóa.

3 Kết quả và bàn luận

3.1 Khảo sát thực vật học

Đặc điểm hình thái: Đặc điểm thực vật học dựa trên quan sát cây tươi đối chiếu với tài liệu tham khảo để xác định kết quả thu được như sau:

Là cây thân thảo sống lâu năm, mọc bò lan dưới đất. Thân có tiết diện hình tròn, có lông, khi còn non thân có màu xanh, khi già cứng thân dần chuyển thành màu nâu đỏ sần xù, các mấu phình to. Lá đơn, hình mác đẹp, mọc vòng từ 3-5 lá kích thước không đều nhau, cuống lá ngắn. Cụm hoa từ 3-7 hoa mọc ở nách lá, cuống hoa hình sợi dài, màu xanh, có lông. Hoa màu lục nhạt lưỡng tính, mẫu 5, vô cánh, nhụy có 3 vòi nhụy. Quả nang, hạt nhỏ, nhiều, hình thận, có màu nâu đỏ. Kết quả cho thấy có sự tương đồng với nghiên cứu đã được công bố trước đây[7]

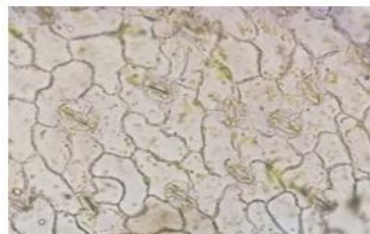


Hình 1 Cây rau đắng đất (*Glinus oppositifolius*) và bột được liệu

Khảo sát vi học bao gồm vi phẫu lá, thân và đặc điểm bột được liệu bằng các phương pháp thường qui. Kết quả khảo sát được trình bày dưới đây cho thấy có sự tương đồng với nghiên cứu đã được công bố trước đây[9]

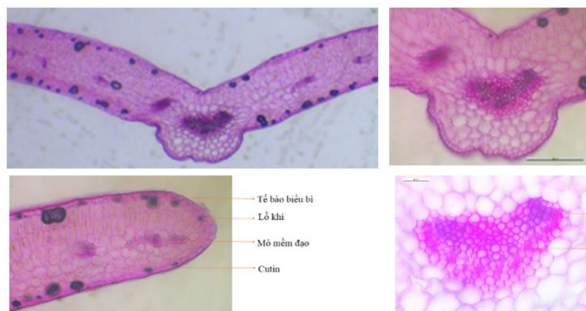
Bóc tách biểu bì lá:

Bóc tách biểu bì dưới của lá, quan sát thấy khí khổng dạng hỗn bào, bao quanh bởi 3-4 tế bào bạn.



Hình 2 Khí khổng dạng hỗn bào lá Rau đắng đất

Vi phẫu lá rau đắng đất



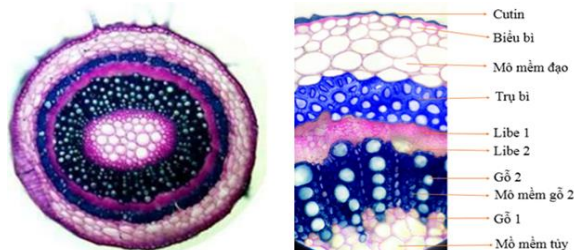
Hình 3 Vi phẫu lá Rau đắng đất

Mô tả:

Gân giữa: Mặt trên lõm, mặt dưới lồi. Tế bào biểu bì hình đa giác, kích thước không đều, tế bào biểu bì trên to hơn tế bào biểu bì dưới. Lớp cutin mỏng, có răng cưa. Libe và gỗ tạo thành vòng cung; gỗ ở trên, libe ở dưới. Gỗ phân hóa li tâm. Các tế bào libe nhỏ, hình đa giác, sắp xếp lộn xộn, tập trung thành từng đám úp trên đầu gỗ.

Phiến lá: Tế bào biểu bì trên và biểu bì dưới kích thước bằng nhau, trên biểu bì có nhiều lỗ khí. Mô mềm đạo gồm 2 dạng: 1 lớp tế bào hình chữ nhật dài, kế tiếp là các tế bào mô mềm hình đa giác không đều. Trong mô mềm có nhiều hạt tinh bột, nhiều bó gân phụ bị cắt ngang, cấu tạo tương tự như bó mạch gân giữa nhưng số lượng bó libe gỗ ít hơn và một số bó mạch bị cắt xéo.

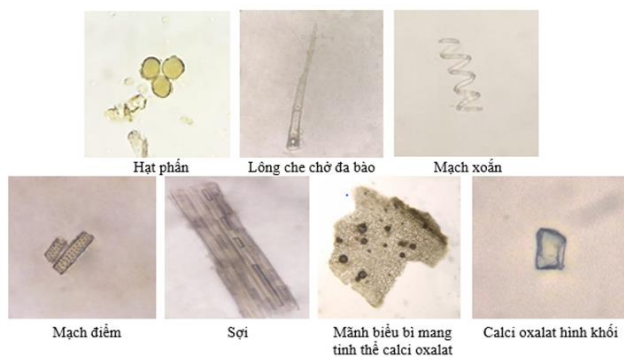
Vi phẫu thân rau đắng đất



Hình 4 Vi phẫu và sơ đồ tổng quát cây Rau đắng đất

Mô tả: Mặt cắt thân cây có hình tròn, từ ngoài vào trong tế bào biểu bì hình chữ nhật, kích thước không đều, mang lông che chở đơn bào, đa bào. Lớp cutin mỏng, có răng cưa. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình bầu dục, không đều nhau, sắp xếp lộn xộn chứa những khuyết nhỏ. Trụ bì gồm 3 – 4 lớp tế bào hình đa giác, không đều, hóa mô cứng tạo thành vòng liên tục. Bó libe – gỗ tạo thành vòng tròn. Tia tủy hẹp, 1-2 dài tế bào. Libe nằm bên ngoài gồm các tế bào nhỏ, thành một vòng bao quanh mô gỗ. Gỗ có các mạch gỗ to xếp thành hàng hướng tâm. Mô mềm ruột ở chính giữa thân. Gồm nhiều tế bào lớn hình tròn, kích thước không đều nhau, có thành rất mỏng.

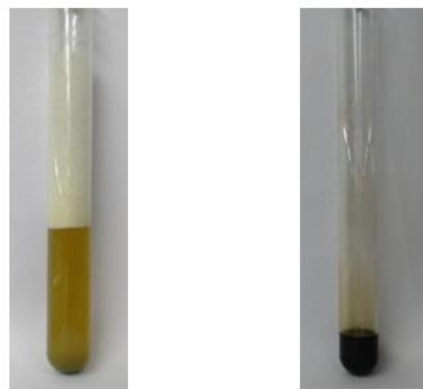
3.2 Khảo sát bột dược liệu:



Hình 5 Các cấu tử trong bột thân lá cây rau đắng đất

Bảng 2 Kết quả sơ bộ hóa thực vật

Nhóm hợp chất	Th. thử / Phản ứng	Dịch chiết ether	Dịch chiết cồn	Dịch chiết nước
Chất béo	Mỡ giấy lọc	-		
Carotenoid	Carr-Price	+		
Tinh dầu	Có mùi thơm	-		
Triterpenoid tự do	Liebermann-Burchard	+++		
Alkaloid	Các thuốc thử chung	-	-	-
Coumarin	Phát quang / kiểm	-	-	
Anthraglycosid	KOH 10%	-		
Flavonoid	Mg/HCl đđ	-	+++	++
	TT vòng lacton			
Anthocyanosid	HCl/KOH		±	-
Proanthocyanin	HCl/to		±	-
	Dd FeCl3		-	-
Tannin	Dd gelatin muối		-	-
Saponin	Liebermann-Burchard			
	Lắc mạnh/nước		++++	++++
Acid hữu cơ	Na2CO3		++	+
Chất khử	Thuốc thử Fehling		+	+
Hợp chất Polyrunoid	Pha loãng/cồn 90%			+++
Ghi chú:	(-) : không có	(+) : có ít	(++) : có nhiều	
	(±) : không rõ	(++) : có	(++++): có rất nhiều	



Hình 6 Kết quả định tính

Nhận xét: Kết quả 2 phản ứng đạt theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V

3.3 Xác định độ ẩm

Bảng 1 Kết quả xác định độ ẩm

	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình
Độ ẩm (%)	7,77	7,63	7,82	7,74

Nhận xét: Độ ẩm dược liệu 7,74%. Đạt tiêu chuẩn độ ẩm theo Dược điển Việt Nam V (độ ẩm không quá 14%)[9]

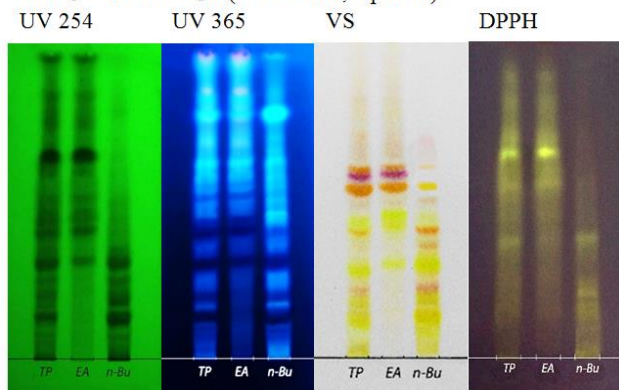
3.4 Sơ bộ thành hóa thực vật

Nhận xét: Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học cho thấy dược liệu chứa nhiều flavonoid, saponin, triterpenoid tự do; ngoài ra còn có các carotenoid, acid hữu cơ, chất khử và polyrunoid. Kết quả cho thấy có sự tương đồng với nghiên cứu đã được công bố trước đây[4] .

3.5 Khảo sát hoạt tính chống oxi hóa trên các phân đoạn qua mô hình DPPH

Tiến hành khảo sát hoạt tính chống oxi hóa trên các phân đoạn qua mô hình DPPH, kết quả được trình bày ở Hình 7.

CHCl_3 - MeOH - H_2O (65 : 35 : 10; lớp dưới)



Hình 7 Sắc ký kết quả khảo sát hoạt tính chống oxi hóa

Nhận xét: Sau khi thực hiện nhúng thuốc thử DPPH và quan sát trên sắc ký lớp mỏng thì cao ethyl acetate, cao n-Butanol đều xuất hiện các vết màu vàng trên nền tím của thuốc thử DPPH, chứng tỏ cả hai phân đoạn đều có tác

dụng chống oxi hóa, nhưng trên cao ethyl acetate xuất hiện nhiều vết vàng sáng hơn, cho thấy tác dụng chống oxi hóa cao hơn. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về thành phần hóa học chủ yếu trong cây là các polyphenol có hoạt tính chống oxi hóa mạnh[1,3]

4 Kết luận và kiến nghị

Sau khi thực hiện, đề tài đã mô tả được hình thái thực vật, đặc điểm vi phẫu thân, lá và bột dược liệu, từ đó làm cơ sở để nhận dạng Rau đắng đất. Sơ bộ định tính thành phần có trong Rau đắng đất: saponin, flavonoid, triterpenoid tự do, carotenoid, acid hữu cơ, chất khử và polyrunoid. Đánh giá qua mô hình DPPH trên sắc ký lớp mỏng cho thấy hoạt tính chống oxi hóa của cao cồn toàn phần và các phân đoạn ethyl acetate, n-butanol, trong đó phân đoạn ethyl acetate cho thấy hoạt tính chống oxi hóa cao hơn. Từ đó, giúp định hướng phân lập các hợp chất có tác dụng chống oxi hóa trong cây. Đề tài sẽ tiếp tục tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học phân đoạn ethyl acetat theo định hướng chống oxi hóa và thử hoạt tính chống oxi hóa trên mô hình khác như ABTs, FRAP... để củng cố kết quả nghiên cứu.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành, mã số đề tài D2019.19.11/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. AsokKumar K., UmaMaheswari M., Sivashanmugam A., SubhadraDevi V., Subhashini N, et al. (2009), "Free radical scavenging and antioxidant activities of *Glinus oppositifolius* (carpet weed) using different *in vitro* assay systems", *Pharmaceutical biology*, 47(6), pp. 474-482.
2. Hoque N., Imam M. Z., Akter S., Mazumder M. E. H., Hasan S. M. R., Ahmed J., & Rana M. S. (2011), "Antioxidant and antihyperglycemic activities of methanolic extract of *Glinus oppositifolius* leaves", *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(7), pp. 5.
3. Martin-Puzon J J R and Rivera W L (2015), "Free-radical scavenging activity and bioactive secondary metabolites from various extracts of *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC.(Molluginaceae) roots, stems and leaves", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(9), pp. 711-715.
4. Ragasa, C. Y., Espineli, D. L., Mandia, E. H., Don, M. J., & Shen, C. C. (2012). A new triterpene from *Glinus oppositifolius*. *Chinese journal of natural medicines*, 10(4), 284-286.
5. Vasincu A., Miron A., & Bild V. (2014), "Preliminary research concerning antinociceptive and antiinflammatory effects of two extracts from *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC.", *Revista Medico-Chirurgical a Societatii de Medici Si Naturalisti Din Iasi*, 118(3), pp. 866-872.
6. Kumar D., Shah V., Ghosh R., & Pal B. C. (2013), "A new triterpenoid saponin from *Glinus oppositifolius* with α -glucosidase inhibitory activity", *Natural Product Research*, 27(7), pp. 624-630.
7. Võ Văn Chi (2003), *Từ điển thực vật học thông dụng II*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, pp. 1275 - 1276.
8. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam II*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, pp. 511-512.
9. Bộ Y Tế (2018), *Dược điển Việt Nam V*, NXB Y Học, pp. 1298
10. Trần Hùng, Nguyễn Viết Kinh và cộng sự (2015), *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*, Đại học Y dược thành phố Hồ Chí Minh, pp. 2-126.

Study on botanical properties, chemical components and anti-oxidant of *glinus oppositifolius* (L.) a. dc. Molluginaceae

Nguyen Thi Thu Hien*, Le Thien Dai, Ha My Nhan, Dang Chi Cuong
Department of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University
*ntthuhien@ntt.edu.vn

Abstract This article studies both biological characteristics (morphology and anatomical) and qualitative research of *Glinus oppositifolius* (L.) A. DC according to The Fifth Vietnamese Pharmacopoeia. Beside that, conducting humidity determination, chemical constituents and evaluating antioxidant activity from this herbal extracted segments. The chemical constituent determination has been indicated that *Glinus oppositifolius* has more not only Flavonoids, Saponins and Triterpenoids but also Carotenoids, Organic acid, Reductin agents and Polyrunoids. Moreover, DPPH assays have shown antioxidant activity of ethanol extract, ethyl acetate and n – butanol segments in which ethyl acetate segment has shown the best capability. The result of this study contributes to *Glinus oppositifolius* manufacturing standardization.

Keywords *Glinus oppositifolius*, anti – oxidant, DPPH.