

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VI PHẪU CỦA CÂY THẠCH TÙNG PHI LAO (*LYCOPODIUM CASUARINOIDES* SPRING.) THU HÁI Ở LÂM ĐỒNG

MORPHO-ANATOMICAL CHARACTERIZATION OF *LYCOPODIUM CASUARINOIDES* SPRING. COLLECTED IN LAM DONG

Nguyễn Thị Hồng Hiếu¹, Lê Thị Hồng Vân¹, Lê Ngọc Tú¹, Phạm Thị Khánh Huyền², Văn Phạm Kim Thương², Nguyễn Ngọc Chương^{3*}, Trần Mạnh Hùng^{2*}

¹Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Y-Dược - Đại học Đà Nẵng

³Khoa Y học cổ truyền, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: huperzin@gmail.com; tmhung@smp.udn.vn

(Nhận bài: 03/02/2023; Chấp nhận đăng: 07/4/2023)

Tóm tắt - Thạch tùng phi lao có tên khoa học là *Lycopodium casuarinoides* Spring., thuộc họ Thạch tùng (Lycopodiaceae), là một loài thảo dược quý với nhiều công dụng hữu ích, cây này được sử dụng trong y học cổ truyền từ rất lâu để điều trị nhiều bệnh. Trong nghiên cứu này, mẫu cây Thạch tùng phi lao thu hái tại Lâm Đồng đã được mô tả đặc điểm hình thái, vi học, soi bột, khảo sát độ ẩm, độ tro và định tính các nhóm hợp chất trong bột dược liệu. Những kết quả nghiên cứu được trình bày bằng hình ảnh chụp ngoài thực địa, qua kính hiển vi và bảng kết quả. Các dữ liệu này là cơ sở dữ liệu để có thể kiểm nghiệm dược liệu ở cả dạng tươi, bột khô và định tính bằng phản ứng hóa học của loài này tại Việt Nam. Đây cũng là kết quả nghiên cứu đầu tiên về hình thái học của cây này ở Việt Nam.

Từ khóa - Thạch tùng phi lao; họ Thạch tùng; hình thái vi phẫu; định tính hóa học.

Abstract - *Lycopodium casuarinoides* Spring., a species of the Lycopodiaceae family, is a precious herb with many useful uses, used in traditional medicine for a long time to treat many diseases. In this study, we collected samples of *Lycopodium casuarinoides* Spring. in Lam Dong and used the method of morpho-anatomical characterization, microbiology, powder screening, moisture survey, ash content, and qualitative group of compounds in the medicinal powder. The research results are the database to be able to test the medicinal herbs in both fresh and dried form and qualitatively by chemical reaction of this species in Vietnam. This is also the first study on the morphology of this plant in Vietnam.

Key words - *Lycopodium casuarinoides* Spring.; Lycopodiaceae; morphology; anatomical characterization; qualitative chemical.

1. Đặt vấn đề

Thạch tùng phi lao có tên khoa học là *Lycopodium casuarinoides* Spring., thuộc họ Thạch tùng (Lycopodiaceae), loài này còn có tên đồng danh là *Lycopodium casuarinoides* (Spring) Holub ex R.D.Dixit [1-3]. Một số loài trong họ Thạch tùng được sử dụng trong y học cổ truyền từ rất lâu để điều trị nhiều bệnh, chủ yếu tập trung vào hệ thần kinh trung ương và các bệnh liên quan đến viêm nhiễm như viêm gan, viêm khớp, thấp khớp, sung cơ, giảm đau, sốt và bệnh da liễu [4-7]. Thạch tùng phi lao phân bố chủ yếu ở Châu Á như Việt Nam, Brunei, Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản, Philippin, Malaysia, Indonesia. Ở nước ta, loài này phân bố nhiều ở các vùng núi cao Sapa (Lào Cai), Đà Lạt (Lâm Đồng). Theo y học cổ truyền thì cây Thạch tùng phi lao có vị đắng, cay, tính ấm, có tác dụng thư cân hoạt huyết, tiêu viêm trừ thấp. Ở Trung Quốc, toàn cây được dùng làm thuốc trị phong thấp, viêm khớp xương, gân cốt buốt đau, kinh nguyệt không đều, ra mồ hôi trộm, trẻ em bị ngoại cảm phát sốt, ngoài ra còn dùng chữa quáng gà và hen suyễn [8]. Năm 2015, tác giả Ke Pan và cộng sự đã công bố cao phân đoạn alcaloid của cây Thạch tùng phi lao có tiềm năng ứng dụng để chữa bệnh viêm khớp dạng thấp [9]. Thực tế, hiện nay đã có một số nghiên cứu về phân lập một số hợp chất tự nhiên và đánh giá tác dụng sinh học của cây Thạch tùng phi lao [1-9]. Tuy nhiên, chưa có báo cáo chi tiết về

hình thái học của loài này ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Để bổ sung cho điểm khuyết này, nhóm tác giả công bố nghiên cứu đặc điểm thực vật Thạch tùng phi lao (*Lycopodium casuarinoides* Spring.)

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Toàn cây Thạch tùng phi lao bao gồm rễ, thân, lá và bông bào tử thu hái tại tỉnh Lâm Đồng 5/2022 (Hình 1). Mẫu tiêu bản ký hiệu TTPL 0522 được lưu tại đơn vị Y dược cổ truyền – Khoa Y học cổ truyền – Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh.



Hình 1. Loài Thạch tùng phi lao
(hình chụp tại thực địa vào tháng 5 năm 2022)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát đặc điểm hình thái: Mẫu nghiên cứu được quan sát, mô tả đặc điểm hình thái tại thực địa, chụp ảnh,

¹ Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city (Hieu Nguyen Thi Hong, Van Le Thi Hong, Tu Le Ngoc)

² The University of Danang - School of Medicine and Pharmacy (Huyen Pham Thi Khanh, Kim Thuong Van Pham, Manh Hung Tran)

³ Faculty of Traditional Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city (Chuong Nguyen Ngoc)

thu hái và làm tiêu bản thực vật khô. Tên khoa học được xác định bằng phương pháp so sánh đặc điểm hình thái, đối chiếu với tài liệu đã công bố ở Việt Nam của Phạm Hoàng Hộ [10] và khóa phân loại thực vật họ Thạch tùng của Trung Quốc [11].

Khảo sát đặc điểm vi học và bột dược liệu: Vi phẫu rễ, thân và lá được cắt ngang bằng dao lam và nhuộm bằng phương pháp nhuộm kép carmin - lục iod. Bột dược liệu được tiến hành khảo sát đặc điểm các cấu tử trên toàn cây của Thạch tùng phi lao. Quan sát tiêu bản vi phẫu và bột dược liệu dưới kính hiển vi ở các vật kính 4x, 10x, 40x và chụp lại bằng máy ảnh trực tiếp qua thị kính.

Xác định độ tinh khiết: Xác định mất khối lượng do làm khô và **Xác định độ tro:** Tiến hành theo Dược điển Việt Nam V (phụ lục 9.6, phụ lục 9.8). Các chỉ tiêu trên đều được lấy kết quả là giá trị trung bình của 3 lần thử nghiệm độc lập có kết quả ổn định [12].

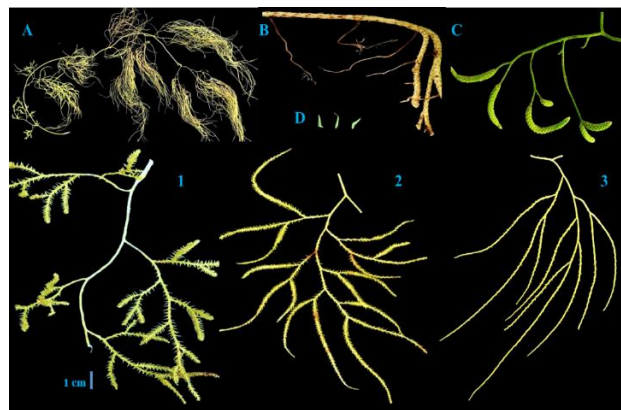
Xác định sơ bộ thành phần hóa học: Chiết tách nguyên liệu thành các phân đoạn theo độ phân cực tăng dần với các dung môi (ether etylic, ethanol và nước). Thực hiện trên 15 g dược liệu khô. Chiết bột dược liệu bằng ether etylic trong Soxhlet trong 30 phút. Chiết cho tới khi dịch chiết ether sau khi bốc hơi không còn để lại lớp cặn mờ trên mặt kính đồng hồ. Gộp dịch chiết, lọc và cô lại đến khi còn khoảng 50ml dịch chiết ether. Bã dược liệu được chiết tiếp bằng ethanol 96% trong bình nón với sinh hàn hồi lưu 30 phút trên bếp cách thủy, thực hiện 3 lần. Gộp các dịch chiết, lọc và cô lại đến khi còn khoảng 50ml dịch chiết còn. Phần lớn dịch chiết còn được dùng để định tính trực tiếp các nhóm hợp chất. Một phần dịch chiết được thủy phân để định tính các aglycon sau khi thủy phân. Lấy 15ml dịch chiết còn cho vào bình nón 100ml, thêm 10ml acid hydrocloric 10% và đun hồi lưu trên bếp cách thủy 30 phút. Để nguội, cho hỗn hợp vào bình lắng gạn và chiết bằng ether etylic (15ml x 3 lần). Dịch ether được dùng để định tính các aglycon. Bã dược liệu sau khi chiết bằng cồn được đem chiết nóng với nước trong bình nón trên bếp cách thủy sôi. Gộp các dịch chiết, để nguội, lọc để thu được khoảng 50ml dịch chiết nước. Phần lớn dịch chiết nước được dùng để định tính trực tiếp các nhóm chất. Một phần dịch chiết được thủy phân để định tính các aglycon sau khi thủy phân. Lấy 15ml dịch chiết nước cho vào bình nón 100ml, thêm 10ml acid hydrocloric 10% và đun hồi lưu trên bếp cách thủy 30 phút. Để nguội, cho hỗn hợp vào bình lắng gạn và chiết bằng ether etylic (15ml x 3 lần). Dịch ether được dùng để định tính các aglycon. Xác định các nhóm hợp chất trong từng dịch chiết bằng các phản ứng hóa học đặc trưng theo phương pháp phân tích hóa thực vật cải tiến của bộ môn Dược liệu - khoa Dược - Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Đặc điểm hình thái

Cây Thạch tùng phi lao có các đặc điểm: Loài cỏ mọc ở sát đất, thân trườn dài ở đất hay trên thân cây khác. Thân cứng, đường kính khoảng 2 – 4 mm, mang nhiều lá nhỏ. Rễ phát sinh đơn lẻ dọc theo phía dưới của thân cây. Lá thưa, xếp xoắn ốc, dạng hình mác hay dải nhọn, kích thước 2 – 3 x 0,5 mm, không cuống, đỉnh nhọn. Thân phân nhánh

luôn là phân đôi, nhánh đứng hoặc treo thông xuống đất. Thông thường các phân đôi liên tiếp và phân đôi về góc bên phải với nhau. Thân nhánh mang lá có 3 dạng kiểu hình tùy thuộc vào các giai đoạn sinh trưởng của cây: (1) Kiểu thân non 3 - 5 cm, lá xếp dày đặt theo hình xoắn ốc, lá tập trung nhiều ở đỉnh nhánh; (2) Kiểu thân trưởng thành dài khoảng 6 -14 cm, lá thưa, kích thước lá lớn hơn nhìn rõ dạng hình mác; (3) Kiểu thân già dài khoảng 15 - 20 cm, lá thưa, nhỏ và ngắn 0,5 – 1 mm, một số lá gần như tiêu biến, thân nhánh đẹp có rãnh giữa dọc theo chiều dài, nhìn thấy hai hàng lá rất nhỏ không đối xứng dọc hai bên mép của thân nhánh. Thân nhánh có màu xanh, chuyển thành nâu đỏ khi già. Bông bảo tử nằm ở đỉnh nhánh, dài khoảng 2 – 4 cm. Lá bảo tử khác lá thường, các lá bảo tử có hình tam giác, mép lá có răng cưa, mỗi lá mang một túi bảo tử hình thận, hợp lại thành bông bảo tử ở ngọn, dạng chùy, phân nhánh rẽ đôi (Hình 2).



Hình 2. Đặc điểm hình thái cây Thạch tùng phi lao

Chú thích: (A) Toàn cây trên mặt đất; (B) Thân mang rễ; (C) Thân nhánh mang bông bảo tử; (D) Lá; (1) (2) (3) Các kiểu hình thân nhánh mang lá.

3.2. Đặc điểm vi học và bột dược liệu

3.2.1. Vi phẫu rễ

Vi phẫu cắt ngang của rễ có tiết diện tròn. Cấu tạo của rễ gồm: Lớp biểu bì, vùng vỏ và vùng trung trụ. Lớp tế bào biểu bì chết đi bong ra dần. Dưới lớp biểu bì là các lớp tế bào mô mềm vỏ hình tròn to, kích thước không đều, sắp xếp không trật tự bị hóa mô cứng, tạo thành vòng đai mô cứng. Dưới lớp mô cứng là lớp trụ bì, xếp thành 3-4 lớp bao quanh vùng trung trụ. Vùng trung trụ gồm các bó libe và các bó gỗ xếp xen kẽ bên ngoài, bên trong từng dãy các bó gỗ và các bó libe xếp xen kẽ nhau. (Hình 3).

3.2.2. Vi phẫu thân

Vi phẫu cắt ngang của thân có tiết diện tròn ở thân chính hoặc đôi khi có những u lồi tạo thành dạng hình bướm. Cấu tạo gồm: Biểu bì là một lớp tế bào, kích thước không đều, bên ngoài có phủ lớp cutin dày. Vùng vỏ gồm các mô mềm vỏ, mô mềm có vách dày và một số bó dẫn phụ. Các mô có vách dày kích thước nhỏ hơn tập trung thành vòng bao quanh mạch gỗ tạo thành bó dẫn. Có 3 - 4 bó dẫn nằm rải rác trong lớp mô có vách dày, sát gần vùng trung trụ. Vòng đai mô cứng gồm 2 - 3 lớp tế bào bao quanh vùng trung trụ. Dưới vòng đai mô cứng là lớp trụ bì. Vùng trung trụ gồm gỗ và libe xếp thành dãy song song cắt ngang. Dãy libe và gỗ xếp xen kẽ nhau (Hình 4).

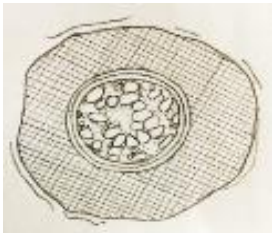
3.2.3. Vi phẫu lá

Vi phẫu lá cây Thạch tùng phi lao có tiết diện gần tròn, cấu tạo gồm biểu bì có vách phủ cutin dày, rải rác có mang lỗ khí. Mô mềm giậu gồm nhiều lớp tế bào hình đa giác kích thước không đều, chiếm tỉ lệ gần 2/3 tiết diện lá, trên

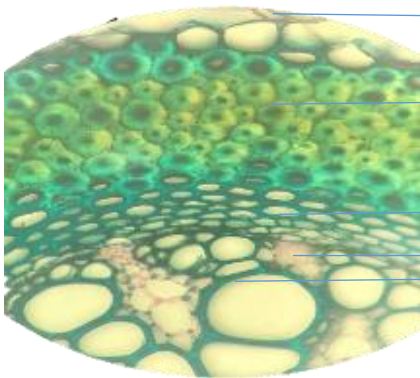
có nhiều hạt diệp lục và lục lạp. 2-3 lớp tế bào mô mềm có vách dày sắp xếp không trật tự bao quanh hệ thống dẫn chưa phân hóa rõ. Bó dẫn có cấu tạo đơn giản chỉ mang một bó dẫn phụ và tiếp giáp bên ngoài bó dẫn là nhiều lớp tế bào có vách dày (Hình 5).



Vi phẫu toàn phần



Sơ đồ cấu tạo



Biểu bì mang lông hút

Mô cứng

Trụ bì

Libe

Gỗ (Tiền mộc)



Biểu bì mang lông hút



Mô cứng



Trụ bì



Libe



Gỗ (Tiền mộc)

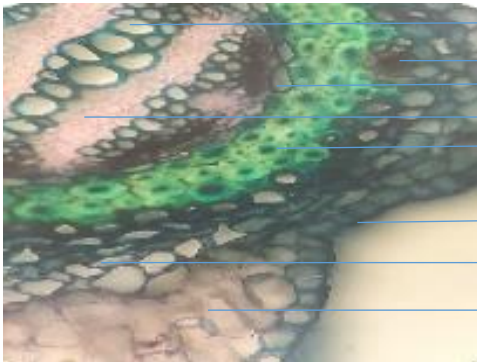
Hình 3. Vi phẫu rễ cây Thạch tùng phi lao



Vi phẫu toàn phần



Sơ đồ cấu tạo



Gỗ (Tiền mộc)

Bó dẫn

Trụ bì

Libe

Mô cứng

Biểu bì phủ lớp cutin

Mô mềm có vách dày

Mô mềm



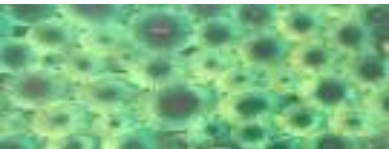
Biểu bì có lớp cutin dày



Mô mềm



Mô mềm vách dày và bó dẫn phụ



Mô cứng

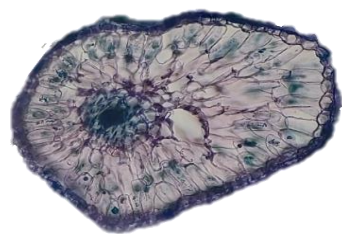


Libe

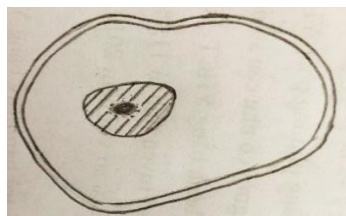


Gỗ (Tiền mộc)

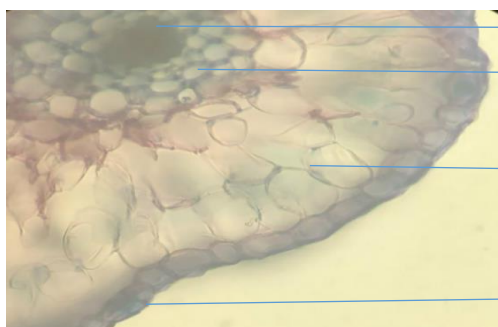
Hình 4. Vi phẫu thân cây Thạch tùng phi lao



Vi phẫu toàn phần



Sơ đồ cấu tạo

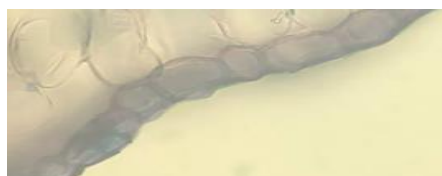


Bó dẫn

Mô mềm có vách dày

Mô mềm giậu

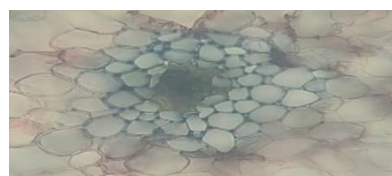
Biểu bì có lớp cutin và tế bào lỗ khí



Biểu bì có vách phủ cutin dày và tế bào lỗ khí



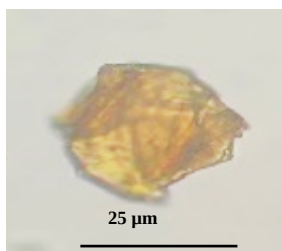
Mô mềm giậu



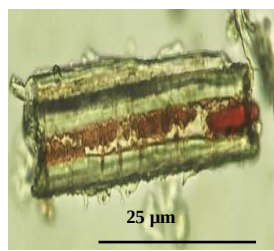
Mô mềm có vách dày bao quanh bó dẫn

Hình 5. Vi phẫu lá cây Thạch tùng phi lao

Bột dược liệu



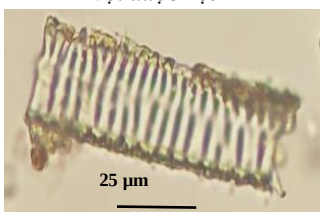
Khối nhựa



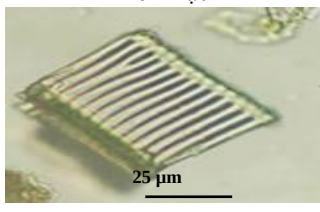
Ống nhựa mũi



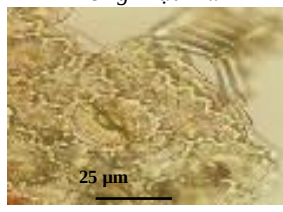
Bào tử



Mảnh mạch mạng



Mảnh mạch vạch



Mảnh biểu bì mang tế bào lỗ khí



Lông che chở đa bào

Hình 6. Đặc điểm bột toàn cây Thạch tùng phi lao

3.2.4. Bột dược liệu

Bột toàn cây có màu vàng nâu, tơi, xốp. Các cấu tử đặc trưng bao gồm lông che chở đa bào, mảnh bản có 3 lớp tế bào, màu vàng nâu, mảnh biểu bì có mang tế bào lỗ khí, mảnh mạch mạng, mảnh mạch vạch và bào tử. Bột dược liệu còn được phát hiện rất nhiều ống nhựa mũ và khối nhựa màu vàng nâu (Hình 6).

3.3. Xác định độ tinh khiết

Tiến hành theo Dược điển Việt Nam V (phụ lục 9.6 và 9.8), tiến hành trên 3 mẫu lấy kết quả trung bình. Độ ẩm là

tác nhân chính ảnh hưởng đến chất lượng dược liệu. Độ ẩm an toàn cho dược liệu được quy định theo Dược điển Việt Nam V tối đa là 15%. Cụ thể như độ ẩm của quả Kim Anh tử được quy định không quá 15%, của rễ cam thảo là không được quá 12%. Đối với chỉ tiêu tro toàn phần, một số dược liệu có quy định không được quá 10% như của Kinh giới hay của rễ Cam thảo nguyên vỏ. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy các chỉ tiêu đều đạt theo yêu cầu chung của Dược điển Việt Nam V. Với kết quả độ ẩm trung bình 8,36% cho thấy, bột Thạch tùng phi lao đạt yêu cầu hàm ẩm an toàn, thuận lợi cho quá trình bảo quản và đánh giá chất lượng dược liệu.

Độ tro toàn phần 3,77% được ghi nhận là số liệu tham chiếu cụ thể khi tiến hành kiểm tra chất lượng và đánh giá mức độ tinh khiết hay lẫn một số tạp chất trong đất vào dược liệu. Kết quả được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xác định độ tinh khiết

Chỉ tiêu	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình
Độ ẩm (%)	8,51	8,36	8,22	8,36
Tro toàn phần (%)	3,77	3,80	3,74	3,77

3.4. Xác định sơ bộ thành phần hóa học

Tiến hành theo phương pháp phân tích hóa thực vật cải

tiến của bộ môn Dược liệu, khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh. Kết quả được trình bày trong Bảng 2.

Kết quả định tính cho thấy thành phần hóa học các nhóm chất có trong dịch chiết cồn của cây Thạch tùng phi lao gồm có các nhóm hợp chất alcaloid, flavonoid, triterpenoid, acid hữu cơ, coumarin, saponin và các chất khử. Trong đó, kết quả phản ứng hóa học của nhóm alcaloid, flavonoid và triterpenoid tự do được thể hiện rõ nhất và là những nhóm hợp chất hóa học đặc trưng của cây Thạch tùng phi lao. Các phương pháp định tính thường quy về alcaloid, flavonoid và triterpenoid sẽ góp phần trong xây dựng chỉ tiêu kiểm nghiệm dược liệu Thạch tùng phi lao bằng phản ứng hóa học.

Bảng 2. Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học cây Thạch tùng phi lao

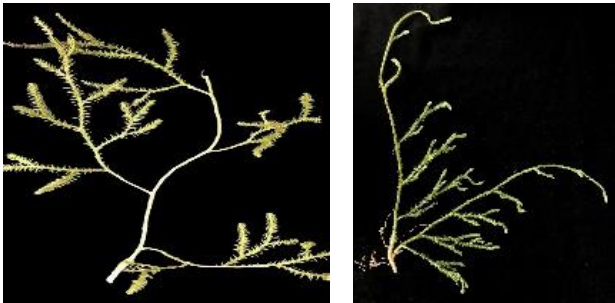
Nhóm hợp chất	Thuốc thử - Cách thực hiện	Phản ứng dương tính	Kết quả định tính trên các dịch chiết			Kết quả định tính chung
			Dịch chiết ether	Dịch chiết cồn	Dịch chiết nước	
Chất béo	Nhỏ dung dịch lên giấy, hơi nóng	Vết trong mờ	–			Không
Carotenoid	TT Carr-Price	Xanh chuyển sang đỏ	–			Không
	H ₂ SO ₄	Xanh lục ngả sang xanh dương	–			
Tinh dầu	Bốc hơi tới cạn	Có mùi thơm	–			Không
Triterpenoid tự do	Liebermann-Burchard	Đỏ nâu - tím, lớp trên có màu lục	+	++		Có
Alcaloid	các TT chung	Kết tủa	+	++	–	Có
Coumarin	Phát quang trong kiềm	Phát quang mạnh hơn	+	–		Có ít
Anthraglycosid	KOH 10%	Dung dịch kiềm có màu đỏ	–			Không
Flavonoid	Mg/HCl _{dđ}	Dd có màu hồng tới đỏ	–	++	–	Có
Glycosid tim	TT vòng lacton	Tím		–	–	Không
	TT đường 2-desoxy	Đỏ mặn		–	–	
Anthocyanosid	HCl / KOH	Đỏ / Xanh		–	–	Không
Proanthocyanin	HCl/t ^o	Đỏ		–	–	Không
Tanin	Dd FeCl ₃	Xanh rêu /xanh đen (Polyphenol)		–	–	Không
	Dd gelatin muối	Tủa bông trắng (Tannin)		–	–	
Saponin	TT Liebermann-Burchard	Có vòng tím nâu		+	+	Có ít
	Lắc mạnh dung dịch nước	Bọt bền		+	–	
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	Sủi bọt		+	+	Có ít
Chất khử	TT Fehling	Tủa đỏ gạch		++	–	Có
Hợp chất polyuronic	Pha loãng với cồn 90%	Tủa bông trắng – vàng nâu			–	Không

Ghi chú: Không có mặt của nhóm hợp chất trong dịch chiết; Có thể có phản ứng nhưng không thực hiện
(–) - Không có, (+) - Có ít, (++) Có

4. Thảo luận

4.1. Đặc điểm hình thái

Sự đa dạng về hệ sinh thái là cơ sở hình thành nên sự phong phú các loài Thạch tùng trong phân họ Lycopodioideae. Đặc điểm hình thái thực vật của một số loài trong cùng phân họ rất đa dạng. Ở Việt Nam, đã ghi nhận được 3 loài trong phân họ Lycopodioideae được mô tả là *L. clavatum* Linnaeus, *L. complanatum* Linnaeus và *L. casuarinoides* Spring. Đặc điểm hình thái của Thạch tùng phi lao có những cấu tạo tương đồng với loài *L. clavatum* Linnaeus cùng chi *Lycopodium* trong họ Thạch tùng. Thân phát triển phân đôi, lá thưa, xếp xoắn ốc, dạng hình mác hay dải, cây sinh sản bằng bào tử. Đặc điểm riêng của cây Thạch tùng phi lao thể hiện các dạng kiểu hình đặc trưng. Trong tự nhiên, loài này tồn tại ba dạng thân lá khác nhau.



Kiểu hình (1)

L. clavatum Linnaeus

Hình 7. Hình ảnh so sánh dạng kiểu hình (1) của Thạch tùng phi lao với *L. clavatum* Linnaeus

Trong đó, kiểu hình (1) có đặc điểm lá hẹp, mũi dài 4-8 mm, hơi ộp vào thân tương tự như loài *L. clavatum*

Linnaeus. Những hình ảnh về hình thái trong nghiên cứu này là dữ liệu khoa học để phân biệt Thạch tùng phi lao với *L. clavatum* Linnaeus.

4.2. Đặc điểm vi học và bột dược liệu

Các đặc điểm vi phẫu và cấu tử của bột dược liệu được trình bày đầy đủ là điều kiện cần thiết để đối chiếu so sánh từ đó xác định vi phẫu của các bộ phận rễ, thân, lá, bột của cây Thạch tùng phi lao. Khi tiến hành kiểm nghiệm dược liệu bằng phương pháp vi học, đối chiếu so sánh với mẫu vi phẫu rễ Thạch tùng phi lao thì cần thiết mẫu kiểm tra phải có đặc điểm vòng đai mô cứng đặc trưng và cách sắp xếp các tế bào tương tự như kết quả của nghiên cứu đã trình bày. Tương tự như trên, vi phẫu thân, lá các cấu tử bột dược liệu của mẫu kiểm tra cũng phải có những đặc điểm hình ảnh tương đồng với những kết quả của nghiên cứu này.

4.3. Xác định độ tinh khiết

Thử nghiệm nghiệm tinh khiết đã xác định bột dược liệu có độ ẩm 8,36 %, tro toàn phần 3,77 %. Độ ẩm càng cao sẽ là điều kiện thuận lợi cho sâu mọt, nấm mốc phát triển, dược liệu bị nhiễm nấm mốc sẽ sinh nhiệt, hoạt chất trong dược liệu dễ bị phân hủy, chất lượng dược liệu sẽ giảm dần. Bột Thạch tùng phi lao đạt mức thủy phân an toàn từ 8-12 % trong điều kiện bảo quản theo quy định của ĐCVN V. Chỉ tiêu tro toàn phần cho biết tỉ lệ nhiễm tạp chất không bị đốt cháy, chủ yếu là kim loại nhằm mục đích đánh giá chất lượng, mức độ tinh khiết của dược liệu. Độ tro toàn phần của Thạch tùng phi lao được xác định trong nghiên cứu này sẽ góp phần xây dựng chỉ tiêu kiểm tra độ tinh khiết của dược liệu.

4.4. Xác định sơ bộ thành phần hóa học

Các chất trong nguyên liệu thực vật được phân thành các nhóm theo độ phân cực của chúng. Thông thường, chúng được phân thành 3 nhóm: Nhóm các chất không hoặc kém phân cực, nhóm các chất có độ phân cực trung bình và nhóm các chất có độ phân cực mạnh. Việc tách các chất có trong nguyên liệu thực vật thành các phân đoạn có thành phần đơn giản trước khi tiến hành định tính là cần thiết để có thể thu được một kết quả tốt, đạt yêu cầu về độ đặc hiệu, độ nhạy của các phản ứng hóa học đặc trưng. Trong phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật, tách các phân đoạn đơn giản chủ yếu dựa vào tính tan của các nhóm hợp chất trong các môi dung môi khác nhau.

Trong cây Thạch tùng phi lao có chứa các thành phần hóa học như flavonoid, triterpenoid, alkaloid, acid hữu cơ, coumarin, saponin và các chất khừ. Một số hợp chất alkaloid, triterpenoid của loài này đã được nghiên cứu chiết xuất phân lập và đánh giá tác dụng kháng enzyme acetylcholinesterase. Hiện nay, chưa có công bố về hợp chất tinh khiết thuộc khung cấu trúc flavonoid phân lập được từ cây Thạch tùng phi lao. Trong khi đó, loài cùng chi là *Lycopodium japonicum* đã được nhóm tác giả ở Trung Quốc phân lập một số hợp chất flavonoid như tricin, tricetin 3',4',5' -OMe, 5,7,4' -trihydroxy-3' - methoxy flavon và một hợp chất flavolignan mới trong tự nhiên là lycopodon. Hợp chất Tricin và lycopodon này thể hiện tác dụng sinh học đáng quan tâm là hoạt tính gây độc mạnh trên dòng tế bào ung thư phổi A549 và ung thư bạch cầu K562 [13].

Kết quả định tính thành phần hóa học trong nghiên cứu này cho thấy, cây Thạch tùng phi lao có nhóm hợp chất

flavonoid. Do đó cần thiết có những nghiên cứu phân lập flavonoid, đánh giá tác dụng sinh học của chúng để góp phần khẳng định giá trị sử dụng của cây Thạch tùng phi lao ở Việt Nam.

5. Kết luận

Nghiên cứu này đã mô tả chi tiết đặc điểm thực vật của cây Thạch tùng phi lao qua phương pháp chụp hình thái, cấu tạo vi phẫu của rễ, thân, lá, và cấu tử bột toàn cây bằng cách quan sát dưới ánh sáng tự nhiên và kính hiển vi. Kết quả cho thấy đặc điểm quan trọng về hình thái của ba dạng kiểu hình thân lá khác biệt nhau tùy thuộc vào các giai đoạn sinh trưởng, phát triển và sinh sản góp phần cho việc xác định đúng loài Thạch tùng phi lao ngoài môi trường tự nhiên. Các đặc điểm đặc trưng về vi phẫu rễ, thân, lá và cấu tử bột dược liệu này là cơ sở tham khảo để định danh và xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu. Cấu tạo vi phẫu rễ và thân có vòng đai mô cứng, vi phẫu cắt ngang của thân có tiết diện tròn ở thân chính hoặc đôi khi có những u lồi tạo thành dạng hình bướm. Có một số bó dẫn phụ nằm rải rác trong vùng mô mềm vỏ. Vi phẫu lá có cấu tạo đơn giản chỉ mang một bó dẫn phụ. Thêm vào đó, kết quả đo độ ẩm và độ tro của bột toàn cây sẽ góp phần xây dựng chỉ tiêu kiểm nghiệm nguyên liệu đầu vào của Thạch tùng phi lao. Những nhóm hợp chất flavonoid, triterpenoid, alkaloid được phát hiện trong Thạch tùng phi lao cũng sẽ làm cơ sở để kiểm tra và phân tích các thành phần hoạt chất trong dược liệu trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Hirasawa, Yusuke, et al. "Lycoparins a-C, New Alkaloids from *Lycopodium Casuarinoides* Inhibiting Acetylcholinesterase". *Bioorganic & medicinal chemistry* 16.11, 2008, 6167-6171.
- [2] Liu, Yang, et al. "Anti-Cholinesterase Activities of Constituents Isolated from *Lycopodium Casuarinoides*". *Fitoterapia* 139, 2019, 104366.
- [3] Liu, Yang, et al. "Lycodine-Type Alkaloids from *Lycopodium Casuarinoides* and Their Cholinesterase Inhibitory Activities". *Fitoterapia* 130, 2018, 203-209.
- [4] Tang, Yu, et al. "Casuarinines a-J, Lycodine-Type Alkaloids from *Lycopodium Casuarinoides*". *Journal of Natural Products* 76.8, 2013, 1475-1484.
- [5] Wang, Lu-Lu, et al. "Lycodine-Type Alkaloids and Their Glycosides from *Lycopodium Casuarinoides*". *Phytochemistry* 154, 2018, 63-72.
- [6] Wang, Lu-Lu, et al. "Lycocasarines a-C, *Lycopodium* Alkaloids from *Lycopodium Casuarinoides*". *Tetrahedron letters* 58.52, 2017, 4827-4831.
- [7] Zhu, Xin-Liu, et al. "Lycocasarines I-Q, New *Lycopodium* Alkaloids Isolated from *Lycopodium Casuarinoides*". *Fitoterapia* 134, 2019, 474-480.
- [8] Gao, Ziting, and Wenwan Zhong. "Recent (2018-2020) Development in Capillary Electrophoresis". *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2021, 1-16.
- [9] Pan, Ke, et al. "Suppressive Effects of Total Alkaloids of *Lycopodium Casuarinoides* on Adjuvant-Induced Arthritis in Rats". *Journal of ethnopharmacology* 159, 2015, 17-22.
- [10] Hồ, Phạm Hoàng. *Cây Có Việt Nam*. Vol. 1. Nhà xuất bản Trẻ, 1999. 22-26.
- [11] al, Zhengyi W. et. *Flora of China*. Vol. 2-3. Science press, Beijing, 2013. 33-34.
- [12] Nam, Hội đồng dược điển Việt. *Dược Điển Việt Nam V*. Vol. 2: Nhà xuất bản Y học, 2017. PL-203-204.
- [13] Yan, Jian, et al. "A New Flavone from *Lycopodium Japonicum*". *Heterocycles-Sendai Institute of Heterocyclic Chemistry* 65.3, 2005, 661-666.