

KHẢO SÁT ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT HỌC, THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐỊNH LƯỢNG ANTHRANOID TRONG LÁ CÂY LÁ MÓNG (*LAWSONIA INERMIS*, LYTHRACEAE)

INVESTIGATION OF BOTANICAL CHARACTERISTICS, CHEMICAL COMPOSITION AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF ANTHRANOID IN HENNA LEAVES (*LAWSONIA INERMIS*, LYTHRACEAE)

Nguyễn Thị Hồng Thắm¹, Huỳnh Lôi^{2*}, Trần Thị Huyền¹

¹Khoa Y - Đại học quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Y-Dược - Đại học Đà Nẵng

*Tác giả liên hệ: hloi@smp.udn.vn

(Nhận bài: 20/9/2022; Chấp nhận đăng: 14/02/2023)

Tóm tắt - Lá móng (*Henna*, *Lawsonia inermis*, Lythraceae) dùng điều trị các bệnh như nhiễm khuẩn, các bệnh ngoài da, phong thấp, nhức mỏi,... Nghiên cứu này nhằm khảo sát các đặc điểm hình thái học, vi học, và khảo sát sơ bộ thành phần hóa học của Lá móng. Mẫu được liệu Lá móng được quan sát, mô tả trực tiếp trên cây tươi và trong phòng thí nghiệm. Mẫu cắt ngang của rễ, thân và lá được nhuộm bằng iodo và carmin và quan sát bằng cách dùng kính hiển vi quang học. Đặc điểm bột được liệu cũng được mô tả. Hàm lượng anthranoid được xác định bằng phương pháp đo quang phổ UV-Vis. Vi phẫu của lá, thân và rễ đã được mô tả chi tiết. Bột được liệu có các đặc điểm bao gồm khí khổng, tinh thể calcium oxalate, bó mạch, sợi, mảnh mô mềm, mảnh biểu bì, lông che chở đơn bào... Phân tích sơ bộ thành phần hóa học cho thấy cao chiết lá có chứa flavonoid, saponin, anthranoid, tannin, coumarin, acid hữu cơ, đường khử... Hàm lượng anthranoid toàn phần của lá Henna vào khoảng 0,37%.

Từ khóa - Lá móng; *Lawsonia inermis*; thực vật học; thành phần hóa học; anthranoid.

1. Đặt vấn đề

Lá móng, có tên khoa học là *Lawsonia inermis* (L.) thuộc họ Tử vi (Lythraceae). Lá móng không chỉ được biết đến là cây thuốc nhuộm, mà còn được trồng để làm cảnh và sử dụng lâu đời trong y học dân gian Việt Nam để chữa đau nhức xương khớp, tê bại chân tay, bẻ kinh, hoặc phụ nữ kinh nguyệt không đều. Ngoài ra, dược liệu này còn dùng khi bị chấn thương sưng tấy cơ nhục, sang lở, mụn nhọt, hắc lào, nấm móng tay, móng chân, rần cấn, phù thũng, giun sán, các bệnh ngoài da, điều trị nhiễm khuẩn [1, 2]. Ngoài ra, Lá móng cũng được trồng rải rác ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới thuộc Tây Nam Á, Ấn Độ, Bắc Phi [3] và các quốc gia khác như Campuchia, Angeri, Ả Rập Xêút,... [2].

Nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng dược lý của dược liệu này đã được thực hiện. Các hợp chất đã được báo cáo thuộc các nhóm hóa học như naphthoquinon, flavonoid, tinh dầu, saponin, tannin,... Các tác dụng dược lý đã được nghiên cứu trong ống nghiệm và trên sinh vật (in vitro và in vivo) như chống nấm, chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng ký sinh trùng, chống viêm, giảm đau, giảm đau lưng, và bảo vệ gan,... [4]. Các tác dụng này là bằng chứng

Abstract - *Henna* (*Lawsonia inermis*, Lythraceae) has been used for treatment of bacterial infections, skin diseases, rheumatism, aches. This study is to investigate the morphological, anatomical characteristics, and preliminary phytochemical screening of *Henna* leaves. Fresh samples of *Henna* were observed, described directly on field and in laboratory. Transversal sections of root, stem and leaf were stained using iodine and carmine. and observed using the optical microscope. The characteristics of powder were also examined. The total anthranoid content was determined by using UV-Vis photometric method. The anatomical examination of leaf, stem and root was detailed. The powder shows the following diagnostic characters such as stomata, calcium oxalate crystals, bundles of vessels, fibres, fragments of parenchyma, fragments of epidermis, unicellular trichomes... The leaf extract contains flavonoids, saponins, anthranoids, tannins, coumarins, organic acids, reducing sugars... The content of total anthranoid of *Henna* leaves is about 0.37%.

Key words - *Henna*; *Lawsonia inermis*; morphology and anatomy; chemical composition; anthranoid.

cho các kinh nghiệm sử dụng trong dân gian và là tiềm năng phát triển thuốc của dược liệu Lá móng. Cao chiết methanol từ lá đã được thử nghiệm tác dụng chống oxy hóa bằng các phương pháp DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), FTC (Ferric thiocyanate) và TBA (Thiobarbituric acid) [5]. Cao chiết làm giảm màu DPPH 67,7% khi so với các đối chứng dương là α -tocopherol (49,3%) và BHT (Butylated hydroxy toluene) (58,16%). Cùng cao chiết này ở nồng độ 0,02% cho thấy, tác động đáng kể trong cả thử nghiệm FTC và TBA. Lawson, apigenin, luteolin, cosmosiin, acid *p*-coumaric, 2-methoxy-3-methyl-1,4-naphthoquinon và apiin được phân lập từ lá, thể hiện các hoạt tính chống ABTS (Acid 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) tốt hơn acid ascorbic [6]. Bên cạnh đó, khả năng ức chế sự phát triển của một số vi sinh vật bao gồm *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* của lá cây Lá móng cũng đã được chứng minh [7]. Ở Việt Nam, nghiên cứu về thành phần hóa học từ Lá móng đã báo cáo các hợp chất bao gồm rubinaphthin B, catechin và 3-O- α -L-rhamnopyranosyl 5,7,4'-trihydroxyflavon, acid augustic, acid 1 β ,2 α ,3 α ,19 α -tetrahydroxy-12-ursen-28-oic và suavissimoside R1 [8, 9].

¹ School of Medicine, Vietnam National University, Ho Chi Minh City (Nguyen Thi Hong Tham, Tran Thi Huyen)

² The University of Danang - School of Medicine and Pharmacy (Huynh Loi)

Mặc dù, đã có nhiều nghiên cứu về cây Lá móng được thực hiện. Ở Việt Nam có hai nghiên cứu của tác giả Trần Thị Oanh [10] tuy nhiên ở hai nghiên cứu nêu trên chưa mô tả chi tiết và đầy đủ các đặc điểm về giải phẫu thực vật, đặc điểm bột được liệu Lá móng. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm cung cấp các đặc điểm hình thái, vi học và đặc điểm bột được liệu; cùng với sự phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật. Hơn nữa, Dược điển Việt Nam V chưa có tiêu chí định lượng trong chuyên luận lá cây Lá móng, nên việc xác định hàm lượng anthranoid góp phần xây dựng chuyên luận và kiểm nghiệm được liệu Lá móng.

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu cụ thể bao gồm nghiên cứu về thực vật học, nghiên cứu sơ bộ thành phần hóa học có trong lá cây, định tính và xác định hàm lượng anthranoid toàn phần có trong lá cây Lá móng bằng phương pháp đo quang.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các mẫu lá, thân và rễ được liệu Lá móng được thu thập tại Long Khánh, tỉnh Đồng Nai vào tháng 01/2022. Mẫu được liệu Lá móng được định danh bởi TS Võ Văn Lèo, Bộ môn Dược liệu - Khoa Dược Đại học Y Dược Tp. HCM. Khảo sát thực vật học trên lá, thân và rễ. Khảo sát bột được liệu trên lá và thân. Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học, định tính và định lượng anthranoid trên mẫu lá móng.

2.2. Dung môi, hóa chất

Các hóa chất MeOH, EtOH, diethyl ether tiêu chuẩn phân tích. Đỏ carmin dùng trong thuốc nhuộm kép và cobalt chloride cung cấp bởi Merck, đạt chuẩn USP, hàm lượng 97%.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát đặc điểm vi phẫu: Các vật mẫu (lá, thân và rễ) được cắt mỏng tại vị trí phù hợp và được nhuộm màu bằng thuốc nhuộm kép. Quan sát vi phẫu dưới kính hiển vi quang học trong môi trường nước, chụp ảnh và mô tả các đặc điểm của vi phẫu [1].

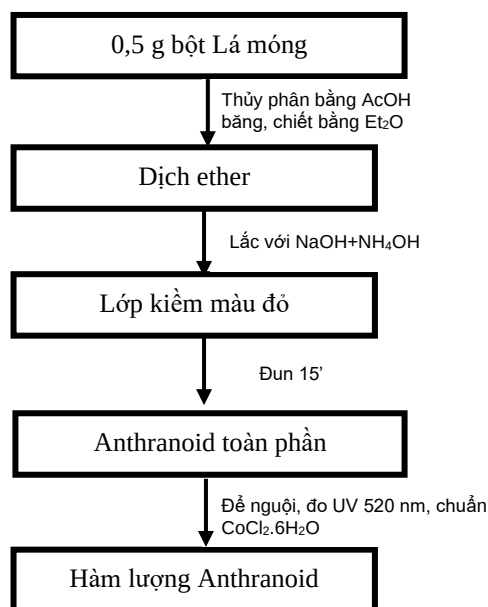
Khảo sát bột được liệu: Mẫu lá, thân được sấy khô ở nhiệt độ 50-60 °C, xay mịn và rây hoàn toàn qua rây số 32 (đường kính lỗ rây 0,1 mm). Quan sát các cấu trúc bột được liệu trực tiếp trong nước dưới kính hiển vi quang học, chụp ảnh và mô tả các cấu trúc.

Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật: Mẫu lá cây Lá móng được sấy khô và xay thành bột thô, sau đó chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần (diethyl ether, ethanol 96% và nước). Các dịch chiết được định tính các nhóm hợp chất bằng phương pháp Ciulei cải tiến [11].

Định tính nhóm anthranoid: Tiến hành phản ứng Borntraeger theo Dược điển Việt Nam V (ĐBVN V) đối với lá. Đồng thời phân tích sắc ký lớp mỏng cao chiết methanol và cao methanol thủy phân của lá Lá móng. Cao chiết được khai triển trên bản mỏng silica gel F₂₅₄ (Merck), dung môi khai triển là ethyl acetat - methanol - nước - acid acetic băng với tỉ lệ 100:17:13:1,3. Phát hiện bằng UV 254 nm, UV 365 nm và thuốc thử KOH 5%/EtOH [12].

Xác định hàm lượng anthranoid toàn phần: Phương pháp đo mật độ quang UV - Vis để xác định hàm lượng anthranoid theo phương pháp Auterhoff [12]. Phương pháp

định lượng trên mẫu lá sau khi làm khô và xay bột mịn theo quy trình Hình 1.



Hình 1. Quy trình định lượng anthranoid trong lá cây Lá móng

Đo mật độ quang ở bước sóng 520 nm, mẫu trắng là dung dịch kiềm - amoniac. Nồng độ anthranoid trong dung dịch cần đo được biểu thị bằng 1,8- dihydroanthraquinon và xác định bằng đường cong chuẩn.

Hàm lượng phần trăm dẫn chất anthranoid (ADC) trong được liệu tính theo công thức (1).

$$ADC(\%) = \frac{250.c}{10.a.(100 - h)} \quad (1)$$

Trong đó:

- c: Nồng độ dẫn chất anthranoid tính theo đường cong chuẩn (mg/100 ml).
- a: Khối lượng được liệu (g).
- h: Độ ẩm được liệu (%).

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình định lượng được khảo sát bao gồm khối lượng được liệu, tỉ lệ được liệu/acid acetic băng, thể tích dung môi chiết, thể tích kiềm - amoniac.

3. Kết quả nghiên cứu và khảo sát

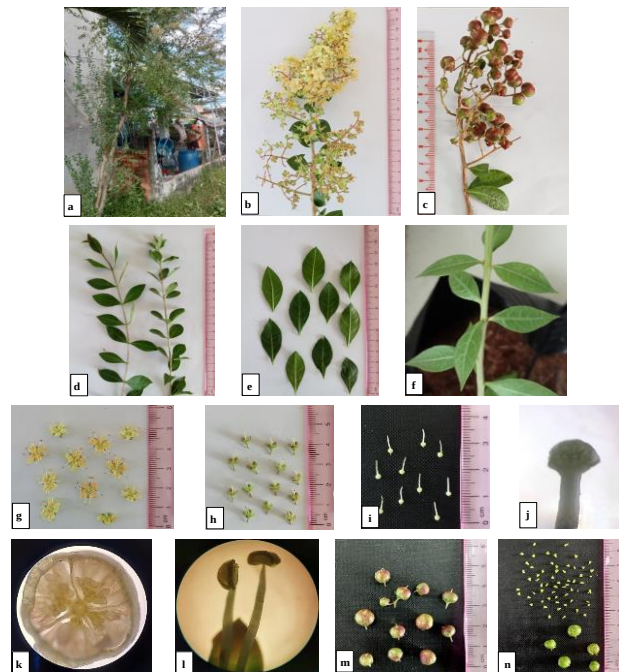
3.1. Đặc điểm hình thái

Cây thân gỗ nhỏ, sống lâu năm, trung bình cao từ 3-4 m, có thể cao hơn 6 m. Lá đơn, nhỏ, mọc đối chéo chữ thập, ở cây non còn có kiểu lá mọc vòng. Phiến lá hình bầu dục hay hình trứng, gốc lá thuôn, đầu nhọn, phiến rộng 1,5-2 cm và dài 3-4 cm, mép lá nguyên hơi lượn sóng, mặt trên màu xanh đậm hơn mặt dưới, lá nhẵn bóng. Gân lá hình lông chim, nổi rõ ở mặt dưới. Cuống lá rất ngắn, gần như không cuống, màu xanh. Ở nách lá có chồi mọc ra, chồi nhỏ có màu đỏ tím và mọc ra thành cành. Thân có tiết diện hơi vuông, có 4 góc lồi, đường kính ở cây non khoảng 5 mm, ở cây trưởng thành có khi tới 3 cm, thân non có màu xanh, thân già màu nâu xám, thân có gai nhưng không nhọn, chia nhiều nhánh và vỏ nhẵn. Rễ cọc, mùi đặc trưng, đường kính trung bình khoảng 5-8 mm, dài 5-7 cm. Hoa ban đầu có màu trắng nhưng khi già chuyển sang màu vàng

sậm. Hoa đều, nhỏ, lưỡng tính, cụm hoa mọc thành chùy ở đầu ngọn cành, cuống dài 2-4 mm. Bao hoa có kích thước khoảng 5-7 mm, có 4 lá đài, màu xanh lục, đều, dính với nhau lan ra thành chùy, tiền khai van. Tràng hoa 4 cánh rời, tràng đều, mọc xen kẽ với lá đài, cánh hoa màu vàng, hơi nhăn, dài khoảng 4-5 mm, tiền khai van. Bộ nhị có 8 nhị, chỉ nhị ngắn dài khoảng 3-4 mm, bao phấn 2 ô, nứt dọc. Bộ nhụy gồm bầu nhụy dài khoảng 2-3 mm, bầu trên 4 ô, mỗi ô mang nhiều noãn, đỉnh noãn trung trụ. Vòi nhụy dài khoảng 4-5 mm, đầu nhụy dạng hình đầu. Quả nang, hình cầu, to bằng hạt tiêu, dài khoảng 5 mm, rộng khoảng 6 mm, không nứt, phía cuống có đài bao bọc, có 4 cạnh dọc và bên trong có 4 ngăn, chứa nhiều hạt nhỏ, không đều, có cạnh góc, vỏ quả màu xanh tím, dai và dày (Hình 2).

Hoa thức: $\ast \text{ } \overline{\text{K}}(4) \text{ C}_4 \text{ A}_8 \text{ G}(4)$

Hoa đồ:



Hình 2. Hình thái thực vật học cây Lá móng

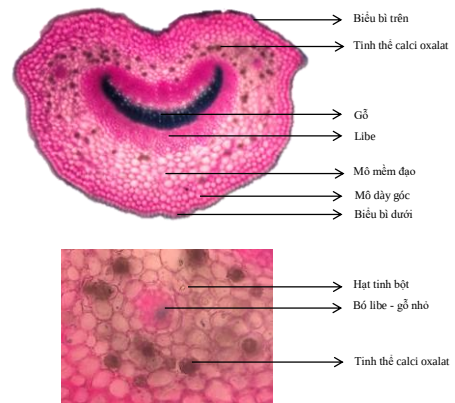
Chú thích: a. Toàn cây Lá móng; b. Cụm hoa; c. Cụm quả; d. Lá mọc đối/mọc vòng; e. Lá cây; f. Chồi nách; g. Hoa; h. Đài; i. Bộ nhị; j. Đầu nhụy; k. Bầu 4 ô; l. Bao phấn 2 ô; m. Quả; n. Hạt

3.2. Đặc điểm vi học

3.2.1. Đặc điểm vi phẫu cuống lá

Mặt cắt ngang cuống lá có hình như cánh bướm. Biểu bì là một lớp tế bào hình chữ nhật hoặc hình bầu dục, kích thước không đều, uốn lượn theo chiều dài cuống lá, với lớp cutin mỏng có răng cưa. Dưới biểu bì là mô dày góc, 3-4 lớp tế bào hình bầu dục, kích thước không đều. Mô mềm gồm 5-6 lớp tế bào hình đa giác, kích thước không đều, có những lỗ khuyết nhỏ, rải rác có hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat hình cầu gai (Hình 3).

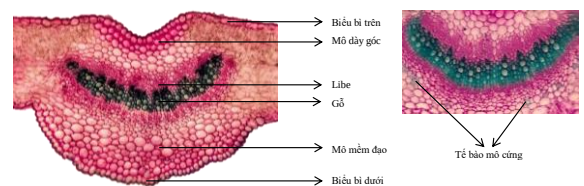
xếp thành hình cung, libe ở phía trên và dưới, các bó gỗ ở trong. Mạch gỗ hình đa giác hay tròn, kích thước nhỏ khá đều nhau, xếp thành dãy gần liên tục; Mô mềm gỗ là tế bào hình đa giác nhỏ, vách tầng cellulose; libe là nhiều lớp tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ, vách uốn lượn, xếp lộn xộn. Ở hai cánh có thêm hai bó libe-gỗ nhỏ; Vài tế bào chứa đầy tinh thể calci oxalat hình cầu gai (Hình 3).



Hình 3. Đặc điểm vi phẫu cuống lá cây Lá móng

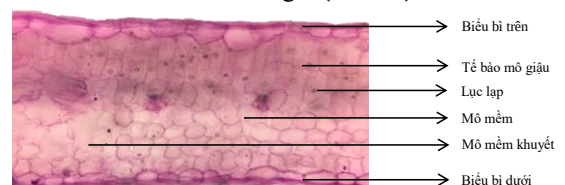
3.2.2. Đặc điểm vi phẫu lá

Gân lá: Vi phẫu cắt ngang ở phía gốc lá thể hiện mặt lõm ở phía dưới, hơi lõm và nhọn ở phía trên. Biểu bì trên và dưới là một lớp tế bào hình bầu dục, xếp đều đặn, lớp cutin mỏng răng cưa. Dưới biểu bì trên và trên biểu bì dưới là lớp mô dày góc, 2-3 lớp tế bào hình bầu dục hoặc tròn, kích thước lớn hơn tế bào biểu bì. Mô mềm đạo gồm 4-5 lớp tế bào hình đa giác thành mỏng, kích thước không đều, xếp sát nhau, rải rác trong mô mềm có các tế bào mô cứng. Hệ thống dẫn gồm những bó libe-gỗ xếp thành hình cung, libe ở phía trên và dưới, các bó gỗ ở trong. Mạch gỗ hình tròn hoặc bầu dục, kích thước khá đều xếp thành dãy; Mô mềm gỗ tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ, vách tầng chất gỗ. Libe 8-10 lớp tế bào hình đa giác kích thước nhỏ, vách uốn lượn, xếp lộn xộn bao quanh mạch gỗ (Hình 4).



Hình 4. Đặc điểm vi phẫu gân lá cây Lá móng

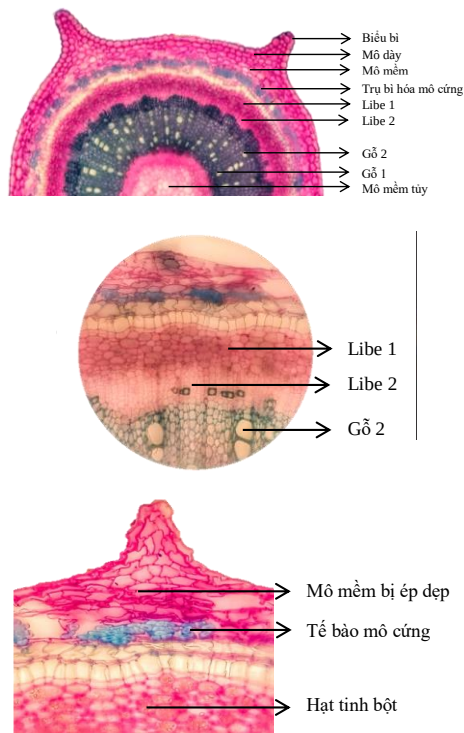
Phiến lá: Cấu tạo dị thể bất đối xứng. Biểu bì trên và biểu bì dưới là một lớp tế bào hình bầu dục, xếp đều đặn. Dưới lớp biểu bì trên là 2-3 lớp tế bào mô giậu, hình đa giác thuôn dài, chứa nhiều lục lạp. Mô mềm là 4-5 lớp tế bào hình đa giác hoặc bầu dục, xếp chứa những khuyết lớn hay nhỏ, hình dạng và kích thước tế bào thay đổi, rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai (Hình 5).



Hình 5. Đặc điểm vi phẫu phiến lá cây Lá móng

3.2.3. Đặc điểm vi phẫu thân

Vi phẫu cắt ngang của thân có tiết diện hơi vuông và lõm ở bốn góc. Vùng vỏ chiếm khoảng 1/4, vùng trung trụ chiếm khoảng 3/4 tiết diện vi phẫu.



Hình 6. Đặc điểm vi phẫu thân Lá móng

Biểu bì là một lớp tế bào hình chữ nhật hay hình bầu dục do bị ép dẹp, kích thước khá đều. Mô mềm vỏ là 5-7 lớp tế bào hình đa giác, kích thước không đều, có những khuyết nhỏ, ở thân già các tế bào mô mềm hơi bị ép dẹp có những khuyết lớn. Trụ bì là 2-4 lớp tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ, hóa mô cứng thành từng đám liên tục tạo thành vòng. Tầng bì sinh xuất hiện dưới trụ bì tạo bản là lớp tế bào hình chữ nhật vách ngoài dày xếp xuyên tâm, và lục bì ở trong gồm 1-2 lớp tế bào vách cellulose. Ở thân già bản bị bong tróc cùng với các lớp bên ngoài. Hệ thống dẫn kiểu hậu thể liên tục, vùng gỗ lớn gấp 5-6 lần vùng libe. Libe 1 gồm 4-5 lớp tế bào hình bầu dục, hơi bị ép dẹp thành cụm. Libe 2 gồm 5-7 lớp tế bào hình chữ nhật, vách uốn lượn, xếp xuyên tâm. Gỗ 2 nhiều, mạch gỗ hình đa giác, kích thước to và không đều, phân bố đều trong vùng mô mềm gỗ; Mô mềm gỗ bao quanh mạch, tế bào hình đa giác nhỏ, vách tấm chất gỗ rất dày, xếp xuyên tâm rõ. Gỗ 1, mỗi bó 1-2 mạch xếp thành vài cụm, mỗi cụm gồm 1-4 bó. Tia tủy hẹp 1-2 dãy tế bào thuôn dài. Libe trong khá dày, 8-10 lớp tế bào vách uốn lượn, xếp lộn xộn tạo thành vòng gần liên tục hay tập trung thành từng cụm ngay dưới gỗ 1. Mô mềm tủy đạo, tế bào hình bầu dục hoặc tròn, rải rác có tế bào chứa tinh bột (Hình 6).

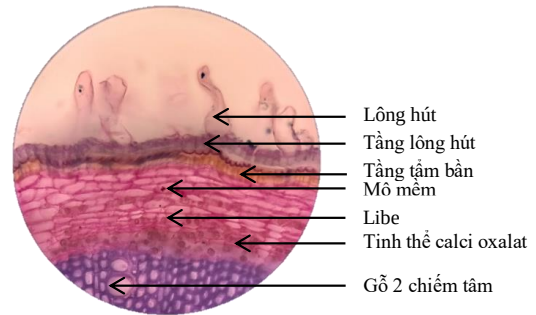
3.2.4. Đặc điểm vi phẫu rễ

Vi phẫu rễ có hình gần tròn, chia làm 2 vùng, từ ngoài vào trong gồm có:

Vùng vỏ chiếm 1/5 bán kính vi phẫu. Bao gồm tầng lông hút là 1 lớp tế bào hình đa giác, kích thước không đều, xếp khít nhau, một số tế bào mọc dài ra thành lông hút. Tầng tấm suberoid là 1 lớp tế bào hình đa giác, không đều,

vách tấm chất bản, xếp khít nhau. Mô mềm là 8-10 lớp tế bào hình bầu dục theo hướng tiếp tuyến, xếp chứa những khuyết nhỏ, rải rác trong mô mềm có tinh thể calci oxalat.

Vùng trung trụ chiếm 4/5 bán kính vi phẫu. Bao gồm libe 2 là các tế bào ở gần vùng tượng tầng bị ép dẹp, vách mỏng, uốn lượn, các libe ở xa vùng tượng tầng có vách dày, rải rác trong libe có nhiều tinh thể calci oxalat. Gỗ 2 chiếm tâm, mạch gỗ to không đều. Tia tủy gồm 2-4 dãy tế bào (Hình 7).

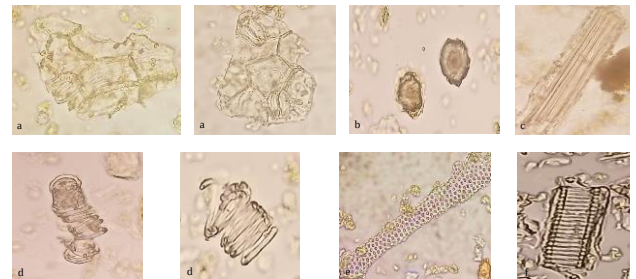


Hình 7. Đặc điểm vi phẫu rễ Lá móng

3.3. Đặc điểm bột dược liệu

3.3.1. Bột dược liệu lá

Bột dược liệu lá cây Lá móng có màu xanh lục đậm, mịn, mùi đặc trưng, vị hơi đắng. Quan sát dưới kính hiển vi thấy các cấu tử bao gồm mảnh mô mềm mang tinh bột, tế bào lỗ khí, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, mảnh mạch xoắn, mạch điểm, mạch vạch, nhóm sợi (Hình 8).

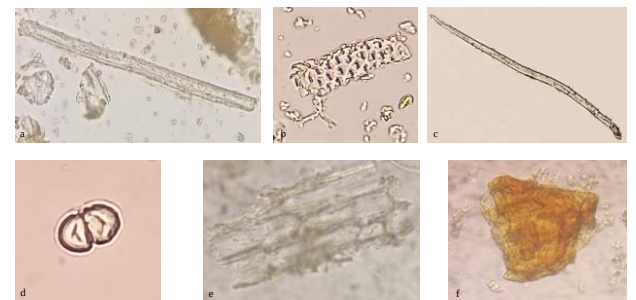


Hình 8. Các cấu tử của bột dược liệu lá cây Lá móng

Chủ thích: a. Mảnh mô mềm chứa tế bào lỗ khí; b. Tinh thể calci oxalat; c. Nhóm sợi; d. Mảnh mạch xoắn; e. Mạch điểm; f. Mạch vạch

3.3.2. Bột dược liệu thân

Bột dược liệu thân Lá móng có màu nâu đất, mùi đặc trưng. Quan sát dưới kính hiển vi thấy, các cấu tử bao gồm mảnh mạch điểm, sợi, lông che chở, hạt tinh bột, mảnh biểu bì, khối nhựa (Hình 9).



Hình 9. Các cấu tử của bột dược liệu thân Lá móng

Chủ thích: a. Sợi mô cứng; b. Mạch điểm; c. Lông che chở đơn bào; d. Hạt tinh bột; e. Mảnh biểu bì; f. Khối nhựa

3.4. Phân tích sơ bộ hóa thực vật

Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật lá cây Lá móng cho thấy, ở phần đoạn kém phân cực có sự hiện diện của chất béo, carotenoid, tinh dầu, triterpenoid tự do, và coumarin; Các phần đoạn phân cực trung bình đến rất phân cực phát hiện sự hiện diện của triterpenoid, anthranoid, flavonoid, tannin, saponin, acid hữu cơ, đường khử.

3.5. Định tính nhóm anthranoid

3.5.1. Phương pháp phản ứng hóa học

Phản ứng Borntraeger cho lớp kiểm màu đỏ (ở lớp dung dịch kiềm).



Hình 10. Phản ứng Borntraeger của bột lá cây Lá móng

Chuyên luận lá Lá móng trong DĐVN V có nêu thành phần anthranoid, mẫu bột dược liệu trong nghiên cứu này cũng có chứa thành phần anthranoid vì dương tính với phản ứng Borntraeger.

3.5.2. Phương pháp sắc ký lớp mỏng



Hình 11. Sắc ký đồ SKLM của dịch chiết EtOH (A) và của dịch chiết EtOH thủy phân (B)

Sắc ký lớp mỏng trong nghiên cứu này giúp xác định thành phần dưới dạng dấu vân tay (fingerprint). Do chưa có điều kiện mua hay phân lập các chất chuẩn nên việc xác định dấu vân tay bao gồm màu sắc, kích thước, số lượng, các R_f của các vết với hệ dung môi đã khảo sát.

Sắc ký đồ của mẫu thử của dịch chiết EtOH và của dịch chiết EtOH thủy phân khi soi UV 254 nm cho các vết màu đen xám, soi UV 365 nm cho các vết phát quang màu xanh, đen và đỏ. Khi nhúng thuốc thử KOH 5%/EtOH có các vết hiện màu vàng cam.

(A) Sắc ký đồ có 4 vết khi nhúng thuốc thử KOH 5%/EtOH. Đo khoảng cách di chuyển của vết, với chiều dài đường đi của dung môi là 7,5 cm; Tính được hệ số di chuyển R_f của các vết lần lượt là 0,23; 0,41 0,67; 0,76.

(B) Sắc ký đồ có 2 vết khi nhúng thuốc thử KOH 5%/EtOH. Đo khoảng cách di chuyển của vết, với chiều dài đường đi của dung môi là 7,5 cm; Tính được hệ số di chuyển R_f của các vết lần lượt là 0,78; 0,83.

Dựa vào kết quả sắc ký lớp mỏng, sơ bộ kết luận trong cao chiết lá có thể chứa hợp chất thuộc nhóm anthranoid (Hình 11).

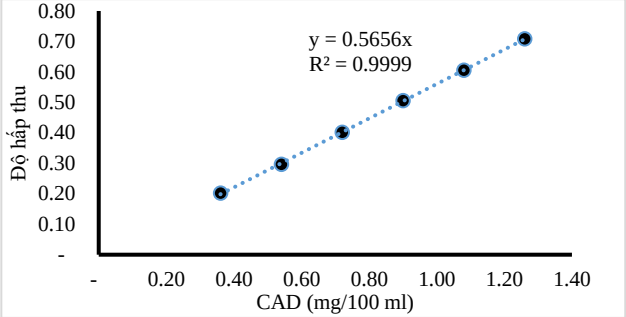
3.6. Xác định hàm lượng dẫn chất anthranoid trong lá Lá móng

3.6.1. Xây dựng đường cong chuẩn dung dịch CoCl₂.6H₂O

Bảng 1. Độ hấp thụ dung dịch cobalt theo nồng độ và CAD tương ứng

Nồng độ cobalt chloride (%)	Độ hấp thụ	CAD (mg/100 ml)
1,0	0,2013	0,3600
1,5	0,2965	0,5400
2,0	0,4014	0,7200
2,5	0,5051	0,9000
3,0	0,6053	1,0800
3,5	0,7079	1,2600

Với CAD: Nồng độ dẫn chất anthranoid



Hình 12. Tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ dẫn chất anthranoid

Từ mối tương quan giữa độ hấp thụ dung dịch cobalt chloride với nồng độ dẫn chất anthranoid là tuyến tính, xây dựng được phương trình hồi quy tuyến tính: $y = 0,5656x$ với $r^2 = 0,9999$ trong đó y là độ hấp thụ và x là nồng độ dẫn chất anthranoid.

3.6.2. Khảo sát quy trình định lượng anthranoid

- Khảo sát khối lượng dược liệu

Tiến hành thí nghiệm theo tài liệu [12], kết quả định lượng được ghi nhận ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả định lượng dẫn chất anthranoid

KL cân (g)	Độ hấp thụ	CAD (mg/100 ml)	ADC (%)
0,4998	0,3172	0,5608	0,31

Vậy chọn khối lượng dược liệu 0,5 g để khảo sát vì cho độ hấp thụ nằm trong khoảng hấp thụ (Abs) [0,2-0,8].

- Khảo sát tỉ lệ dược liệu/acid acetic bằng (Bảng 3)

Bảng 3. Khảo sát tỉ lệ dược liệu/acid acetic bằng

Tỉ lệ dược liệu (g): acid acetic (ml)	0,5:5	0,5:10	0,5:15	0,5:20
Khối lượng cân (g)	0,5020	0,5044	0,5079	0,5087
Độ hấp thụ	0,3193	0,3359	0,3884	0,3957
CAD (mg/100ml)	0,5645	0,5939	0,6867	0,6996
ADC (%)	0,31	0,32	0,37	0,37

Chọn thể tích acid acetic bằng là 15 ml để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

- Khảo sát thể tích dung môi chiết ether ethylic

Tiến hành chiết với ether ethylic 3 lần, nếu lần thứ 3 còn màu chiết tiếp với 10 ml ether ethylic, rửa bông và bình nón đến khi hết màu để lấy hết hoạt chất trong dịch chiết.

- Khảo sát thể tích kiềm cho vào để tạo màu phản ứng

Qua các thí nghiệm ở trên, nhận thấy ở lần chiết thứ 2 lớp kiềm đã mất màu đỏ, nếu còn màu đỏ thêm 5 ml kiềm vào chiết tiếp cho đến khi hết màu đỏ.

Nhận xét: Qua khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình định lượng anthranoid, rút ra được quy trình định lượng anthranoid cho được liệu Lá móng.

- Định lượng anthranoid trong lá Lá móng

Tiến hành đo 3 lần theo quy trình trên, thu được kết quả ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả hàm lượng dẫn chất anthranoid mẫu Lá móng

Lần	KL cân (g)	Độ hấp thu	C _{AD} (mg/100 ml)	ADC (%)
1	0,4998	0,3791	0,6703	0,37
2	0,5015	0,3851	0,6809	0,37
3	0,5038	0,3936	0,6959	0,37
Trung bình ± SD				0,37 ± 0,01

Dựa vào phương pháp Auterhoff, khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình định lượng anthranoid trong mẫu lá Lá móng, xác định được hàm lượng anthranoid toàn phần là $0,37 \pm 0,01$ (%).

4. Bàn luận

Về nghiên cứu thực vật học các đặc điểm hình thái, vi phẫu rễ, thân, cuống lá, lá và các cấu tử bột dược liệu Lá móng đã được mô tả chi tiết trong báo cáo này. Các đặc điểm vi học và bột dược liệu lá Lá móng tương tự với các mô tả trong Dược điển Việt Nam V và nghiên cứu của Rawiwan Charoensup [13] trên loài Lá móng được thu hái tại Thái Lan. Với hình ảnh chi tiết trong nghiên cứu này giúp cho việc xác định loài Lá móng (*Lawsonia inermis*) được dễ dàng hơn. Các mô tả về vi phẫu và bột của nghiên cứu này tương tự với ĐĐVN V, tuy nhiên các hình ảnh giúp nhận diện dễ dàng bột dược liệu lá Lá móng. Ngoài ra, các mô tả vi phẫu rễ lần đầu được báo cáo. Nghiên cứu thực vật học giúp cho việc nghiên cứu một dược liệu có nguồn gốc rõ ràng và cung cấp tài liệu tham khảo cho các nghiên cứu tiếp theo về cây Lá móng.

Về phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật, kết quả cho thấy sự hiện diện của các nhóm hợp chất đa dạng với độ phân cực khác nhau. Trong đó, chiếm hàm lượng lớn là nhóm anthraquinon và flavonoid. So sánh với các kết quả từ nghiên cứu của Onuh Olukemi [14], Das Suman [15] hay Dahake Pavan [16] cũng cho thấy, hầu hết có sự tương đồng. Khác biệt có thể là sự hiện diện của alkaloid trong tài liệu [14] và [15], trong khi thử nghiệm của nghiên cứu này lại không cho thấy sự có mặt của nhóm hợp chất alkaloid, điều này có thể do sự đa dạng hóa học dựa trên sự phân bố khác nhau.

Về nghiên cứu hợp chất anthranoid, kết quả định tính bằng sắc ký lớp mỏng và phản ứng Borntraeger sơ bộ kết luận trong Lá móng có chứa anthranoid. Đồng thời, ĐĐVN chưa có tiêu chí định lượng dược liệu Lá móng nên việc xác định hàm lượng anthranoid trong Lá móng là cần thiết. Kết quả cho hàm lượng anthranoid toàn phần trong mẫu Lá móng là 0,37%. Phương pháp UV định lượng anthranoid toàn phần trong nghiên cứu này nhanh, dễ thực hiện, rẻ tiền và không cần chất chuẩn.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã đạt được các mục tiêu đề ra:

Về khảo sát thực vật học: Đặc điểm hình thái thực vật của cây Lá móng đã được mô tả chi tiết, vi phẫu các bộ phận của cây và đặc điểm bột dược liệu đã được xác định. Các đặc điểm này có thể giúp nhận dạng và phân biệt cây Lá móng với các dược liệu khác. Đã thẩm định mẫu nghiên cứu có tên khoa học là: *Lawsonia inermis*, Lythraceae (họ Tử vi).

Về khảo sát thành phần hóa học: Đã tiến hành các phản ứng định tính các nhóm hợp chất khác nhau, xác định trong lá cây Lá móng có chứa flavonoid, saponin, anthranoid, tannin, acid hữu cơ, đường khử, chất béo, carotenoid, tinh dầu, triterpenoid.

Về định tính, định lượng anthranoid: Đã tiến hành xác định sự có mặt của dẫn chất anthranoid và xác định trong mẫu lá cây Lá móng có chứa 0,37% anthranoid toàn phần bằng phương pháp UV-Vis.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn ông Châu Xuân Phúc (Suối cát, Xuân lộc, Đồng Nai) và DS Phạm Văn Khôi đã nhiệt tình giúp đỡ trong việc cung cấp thông tin và thu hái mẫu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y Tế, *Dược điển Việt Nam V*, NXB Y Học, 2017.
- [2] Đỗ Huy Bích, *Cây thuốc và Động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Hà Nội, NXB Khoa Học và Kỹ Thuật, 2004.
- [3] Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y Học, 2004.
- [4] R. Badoni Semwal, D. K. Semwal, S. Combrinck, C. Cartwright-Jones, A. Viljoen, "Lawsonia inermis L. (Henna): Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects", *Journal of ethnopharmacology*, 155(1), 2014, 80-103.
- [5] Farrukh Aqil, Iqbal Ahmad, Z. Mehmood, "Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants", *Turkish Journal of Biology*, 30, 2006, 177-183.
- [6] B. R. Mikhaeil, F. A. Badria, G. T. Maatooq, M. M. Amer, "Antioxidant and immunomodulatory constituents of Henna leaves", *Z Naturforsch C J Biosci*, 59(7-8), 2004, 468-476.
- [7] Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B, *The systematic identification of the flavonoids*, New York, Springer-Verlag, 1970.
- [8] Nguyễn Thị Bình, Phạm Thanh Kỳ, Trần Thị Oanh, Nguyễn Phương Thảo, Phan Văn Kiêm, "Catechin và rubinaphthin B phân lập từ rễ cây Lá móng (*Lawsonia inermis* L.)", *Tạp chí Dược học*, 48(8), 2008, 22-24.
- [9] Nguyễn Thị Bình, Phạm Thanh Kỳ, Trần Thị Oanh, Phan Văn Kiêm, "3-O- α -L-rhamnopyranosyl 5,7,4'-trihydroxyflavon phân lập từ lá cây Lá móng (*Lawsonia inermis* L.)", *Tạp chí Dược học*, 48(9), 2008, 20-21.
- [10] Trần Thị Oanh, "Nghiên cứu về thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Lá móng (*Lawsonia inermis* L.)", *Viện Dược liệu*, 2010.
- [11] Bộ môn Dược liệu, *Giáo trình phương pháp nghiên cứu dược liệu*, Đại học Y Dược Tp.HCM, 2016.
- [12] Ngô Văn Thu và cộng sự, *Bài giảng dược liệu*, NXB Y Học, 2011.
- [13] Rawiwan Charoensup, Thidarat Duangyod, Chanida Palanuvej, Nijisiri Ruangrungsi, "Pharmacognostic specifications and lawsone content of *Lawsonia inermis* leaves", *Pharmacognosy Res*, 9(1), 2017, 60-64.
- [14] Onuh Olukemi, Odugbo Moses, Oladipo Olusola, Olobayotan Ifeyomi, "Phytochemical investigation of the crude and fractionated extracts of two Nigerian herbs, *Mitragyna inermis* (Wild) and *Lawsonia inermis* (Linn.)", *Nigeria, Scientific Figure on Research Gate*, 2021.
- [15] Das Suman, "In vitro evaluation of phytochemicals and antimicrobial activities of extracts of seeds and leaves of *Lawsonia inermis* Linn.", *American Journal of PharmTech Research*, 4(2), 2014, 710-719.
- [16] Dahake Pavan, Kamble Dr Sanjay, "Study on antimicrobial potential and preliminary phytochemical screening of *Lawsonia inermis* Linn.", *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6, 2015, 3344-3350.