

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC PHÂN ĐOẠN N-HEXANE CỦA CÂY BÙ DỄ TÍA (*UVARIA GRANDIFLORA*) THU HÁI TẠI QUẢNG TRỊ

Lê Thị Bích Hiền¹, Lê Thị Hồng Oanh², Hồ Việt Đức¹, Võ Quốc Hùng¹, Nguyễn Thị Hoài¹

(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Huế

(2) Trường Đại học Dược Hà Nội

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Bảo tồn và phát triển tri thức bản địa về sử dụng cây thuốc là một yêu cầu cấp thiết hiện nay. Dựa trên kinh nghiệm sử dụng cây thuốc của đồng bào dân tộc ở tỉnh Quảng Trị, loài Bù dễ tía *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem đã được nghiên cứu sàng lọc và cho thấy có tác dụng gây độc tế bào ung thư *in vitro*. Bài báo này tiếp tục công bố các kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học của loài này. **Đối tượng nghiên cứu:** Mẫu Bù dễ tía *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem được thu thập tại tỉnh Quảng Trị. **Phương pháp nghiên cứu:** Chiết phân đoạn bằng các dung môi hữu cơ. Thành phần dễ bay hơi được phân tích bằng hệ thống sắc ký khí khối phổ GC-MS. Nhận biết các cấu tử thực hiện thông qua so sánh dữ kiện phổ MS của chúng với phổ chuẩn đã được công bố trong thư viện phổ Wiley và NIST. **Kết quả:** Thành phần chính trong phân đoạn nghiên cứu là δ -cadinene (42,94%) và caryophyllene (9,51%). Các hợp chất γ -muurolene, ar-curcumene, calarene, β -vetivenene, β -bisabolene, cadina-1,4-diene và calacorene lần đầu tiên được phân lập từ loài *U. grandiflora* thu hái tại Quảng Trị. Theo tài liệu tham khảo, một số thành phần được công bố có nhiều tác dụng sinh học tốt như kháng vi sinh vật, chống oxy hóa, kháng viêm, đặc biệt là α -humulene và caryophyllene đã được chứng minh là có khả năng gây độc tế bào ung thư *in vitro*. **Kết luận:** Đã xác định được 16 hợp chất dễ bay hơi từ phân đoạn n-hexane của cây Bù dễ tía *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem.

Từ khóa: *Uvaria grandiflora*, δ -cadinene, α -humulene, caryophyllene

Abstract

CONSTITUENTS OF N-HEXANE FRACTION EXTRACTED FROM *UVARIA GRANDIFLORA* COLLECTED FROM QUANG TRI PROVINCE

Le Thi Bich Hien¹, Le Thi Hong Oanh², Ho Viet Duc¹, Vo Quoc Hung¹, Nguyen Thi Hoai¹

(1) Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy

(2) Hanoi University of Pharmacy

Background: Today, conservation and development of indigenous knowledge of medicinal plants are the urgent demand of science. *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem which is used by medicinal experience of people of ethnic minorities in Quang Tri province has shown *in vitro* cytotoxic activity in our previous screening tests. This article is an ongoing research to determine the chemical ingredients of this species.

- Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Hoài, email: hoai77@gmail.com

DOI: 10.34071/jmp.2013.2.11

- Ngày nhận bài: 20/2/2013 * Ngày đồng ý đăng: 5/4/2013 * Ngày xuất bản: 30/4/2013

Materials: The aerial parts of *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem were collected from Quang Tri Province. **Method:** Fractional extraction was performed by using organic solvents. Volatile components were analysed by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) and identified by comparison with published mass spectra database Wiley and NIST. **Results:** Two major components are δ -cadinene (42.94%) and caryophyllene (9.51%). Some ingredients that consist of γ -muurolene, α -curcumene, calarene, β -vetivenene, β -bisabolene, cadina-1,4-diene and calacorene have never been reported from *U. grandiflora* collected from Quang Tri province. According to others references, some of these compounds have abundant bioactivities such as antimicrobial, antioxidant, antiinflammatory activities, especially α -humulene and caryophyllene with anticancer activities *in vitro*. Fractional extraction was performed by using organic solvents. Volatile components were analysed by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) and identified by comparison with published mass spectra database Wiley and NIST. **Conclusion:** A total of sixteen volatile compounds were identified in n-hexane fraction of *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem.

Key words: *Uvaria grandiflora*, δ -cadinene, α -humulene, caryophyllene

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một trong những quốc gia có mức độ đa dạng sinh học cao nhất trên thế giới với hệ thực vật ước tính có thể đến 20.000 – 30.000 loài [1]. Tuy vậy, số đối tượng sử dụng làm thuốc đã được ghi nhận chỉ khoảng hơn 3.900 loài, chủ yếu xuất phát từ kinh nghiệm của cộng đồng các dân tộc ở nhiều địa phương trong cả nước [5]. Là một quốc gia đa văn hóa với 54 dân tộc sinh sống trên khắp lãnh thổ [7], mỗi dân tộc lại biết đến những cây thuốc chăm sóc sức khỏe và chữa bệnh đặc thù của dân tộc mình, có thể nói nước ta đang sở hữu một kho tàng tri thức cây thuốc quý giá chưa được khám phá và nghiên cứu đầy đủ. Kinh nghiệm sử dụng thảo dược trong cộng đồng người dân tộc hầu như chỉ được phổ biến qua truyền khẩu từ đời này sang đời khác và có nguy cơ bị thất truyền do nhiều nguyên nhân [6]. Vì vậy, việc bảo tồn tri thức bản địa đóng vai trò quan trọng trong việc gìn giữ bản sắc văn hóa của mỗi dân tộc, đặc biệt nhằm phục vụ hiệu quả cho công tác chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân.

Từ việc điều tra, tìm hiểu các cây thuốc dùng để chữa bệnh của đồng bào dân tộc Pako, Vân Kiều – Tỉnh Quảng Trị, một số loài trong chi *Uvaria* (họ Na – Annonaceae) đã được phát hiện, bao gồm *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem, *Uvaria cordata* (Dun.) Wall. ex Alston. và

Uvaria fauveliana (Fin. & Gagnep.) Ast.. Trong đó, cây Bù dẻ tía (*U. grandiflora*) – còn gọi là Bù dẻ hoa to, Chuối con chồng – được người dân sử dụng để điều trị đau dạ dày, ngộ độc thực phẩm, chữa sưng u... Các nghiên cứu và công bố trước đây của chúng tôi trên thử nghiệm invitro đã cho thấy loài này có tác dụng gây độc khá mạnh trên 6 dòng tế bào ung thư thử nghiệm bao gồm LU-1 (ung thư phổi người), KB (ung thư biểu mô), MDA-BA-321 (ung thư vú), Hep G2 (ung thư gan người), SW-480 (ung thư ruột kết) và MKN7 (ung thư dạ dày) với các giá trị IC_{50} thấp [4]. Bài báo này tiếp tục công bố những kết quả nghiên cứu bước đầu về thành phần hóa học của *U. grandiflora* trong phân đoạn n-hexane.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu sử dụng là phần trên mặt đất cây Bù dẻ tía (*Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem - Annonaceae). Mẫu thu tại huyện Đakrông, Quảng Trị vào tháng 11 năm 2011. Tên khoa học được xác định bởi PGS.TS Ninh Khắc Bản – Viện Hoá Sinh Biển – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu được rửa sạch, thái nhỏ, phơi, sấy khô ở 50°C – 60°C, sau đó xay thành bột thô và bảo quản nơi khô thoáng.



Hình 1. Cây Bù dẻ tía *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp

- Tạo dịch chiết toàn phần bằng phương pháp ngâm lạnh với methanol.

- Chiết xuất phân đoạn bằng các phương pháp chiết lỏng – lỏng, rắn – lỏng [3].

- Phân đoạn n-hexane được phân tích định tính bằng hệ thống sắc ký khí khối phổ GCMS-QP2010Plus/Shimadzu tại Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc, mỹ phẩm, thực phẩm Thừa Thiên Huế. Việc xác nhận các cấu tử được thực hiện bằng cách so sánh dữ kiện phổ MS của chúng với phổ chuẩn đã được công bố trong thư viện phổ Wiley và NIST.

2.2.2. Tiến hành

Bột Bù dẻ tía, khối lượng 6,0 kg, chiết với methanol tuyệt đối bằng phương pháp ngâm lạnh (48 giờ/lần x 3 lần). Gộp dịch chiết methanol và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, ở 56°C cho đến cạn thu được cao cần toàn phần.

Phân tán cần trong nước, sau đó lắc với các dung môi có độ phân cực tăng dần là n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate và n-butanol. Cô quay cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được các cao cần ký hiệu theo thứ tự từ UGA đến UGD. Phần dịch nước còn lại đem sấy ở 50°C cho bay hơi hết các dung môi hữu cơ, sau đó đưa lên cột Dianion-HP, rửa nhiều lần bằng nước cất rồi cho methanol tuyệt đối chảy qua cột, thu được dịch chiết pha nước, ký hiệu UGW.

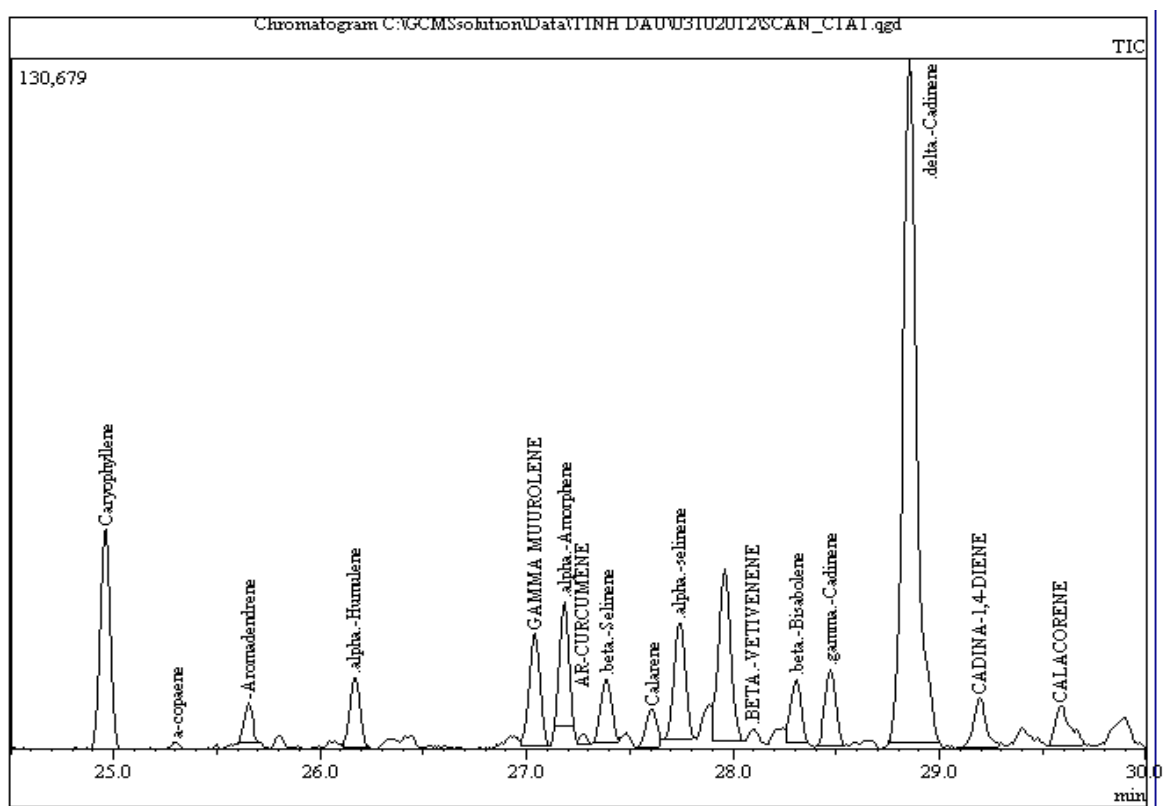
Tiến hành chiết pha rắn UGA với hệ dung môi

n-hexane: ethyl acetate theo tỷ lệ lần lượt là 100:1, 50:1, 25:1, 10:1, 5:1, 1:1 và ethyl acetate 100%, thể tích 0,5 lít mỗi hệ, thu được 7 phân đoạn ký hiệu từ A1 đến A7. Phân đoạn A1 được phân tích bằng sắc ký cột pha thường, hệ dung môi rửa giải lần lượt là n-hexane 100% và n-hexane : acetone (7,5:1). Kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng, gộp chung những phân đoạn giống nhau thu được 4 phân đoạn ký hiệu từ A1A đến A1D.

Phân đoạn A1A (khối lượng 1,06 g) tách ra từ dịch rửa giải n-hexane có dạng dầu không tan trong nước, màu vàng trong suốt. Phân tích qua sắc ký lớp mỏng cho thấy đây là một hỗn hợp khó phân tách bằng các phương pháp sắc ký cột thông thường. Vì vậy, sắc ký khí khối phổ trên máy GCMS-QP2010Plus/Shimadzu được sử dụng để phân tích các thành phần trong phân đoạn này. Cột DB-5MS có kích thước 0,25 μm $\times$ 30 m $\times$ 0,25 mm. Chương trình nhiệt độ cài đặt với điều kiện 40°C/1 phút, tăng 5°C/1 phút đến 280°C, duy trì ổn định trong 20 phút, khí mang là Heli.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Từ phân đoạn A1A, quá trình phân tích cho thấy có 16 hợp chất dễ bay hơi. Trong đó δ -cadinene là thành phần chính (42,94%), hợp chất có hàm lượng thấp hơn và giảm dần theo thứ tự là caryophyllene (9,51%), β -vetivenene (8,89%), α -selinene (5,83%), γ -muurolene (5,31%), α -amorphene (4,87%), một số thành phần khác có hàm lượng từ 0,27% đến 3,82%.



Hình 2. Sắc ký đồ phân đoạn **A1A** trên hệ thống GCMS-QP2010Plus/Shimadzu

Thông tin về hợp chất, thời gian lưu và tỉ lệ diện tích peak được trình bày chi tiết ở bảng 1.

Bảng 1. Các hợp chất được nhận biết trong phân đoạn A1A bằng sắc ký khí khối phổ

STT	Thời gian lưu	Hợp chất	Tỷ lệ %
1	24,96	caryophyllene	9,51
2	25,31	α -copaene	0,27
3	25,65	aromadendrene	1,56
4	26,17	α -humulene	3,16
5	27,04	γ -muurolene	5,31
6	27,18	α -amorphene	4,87
7	27,78	<i>ar</i> -curcumene	0,30
8	27,39	β -selinene	3,07
9	27,61	calarene	1,85
10	27,75	α -selinene	5,83
11	27,96	β -vetivenene	8,89
12	28,31	β -bisabolene	2,74
13	28,48	γ -cadinene	3,82
14	28,86	δ-cadinene	42,94
15	29,19	cadina-1,4-diene	3,01
16	29,59	calacorene	2,89

Trong các thành phần đã nhận biết ở trên, có 8 hợp chất tương tự với nghiên cứu của Đỗ Ngọc Đại và cộng sự (2010), sử dụng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước để chiết xuất tinh dầu từ lá Bù dẻ tía [2]. Tuy nhiên, do khác nhau ở phương pháp phân lập nên thành phần cũng như hàm lượng tương đối có sự khác biệt. Theo đó, thành phần chính trong 33 hợp chất phân lập bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước của nhóm tác giả trên là bicyclogermacrene (35,7%), β -caryophyllene (13,9 %) và (Z)- β -ocimene (10,7 %).

Bảng 2. So sánh tỷ lệ của các thành phần tinh dầu tương đồng trong hai nghiên cứu về loài *Uvaria grandiflora*

STT	Hợp chất	Tỷ lệ %	
		Phân đoạn A1A	TLTK [2]
1	caryophyllene	9,51	13,9
2	α -copaene	0,27	0,3
3	aromadendrene	1,56	0,4
4	α -humulene	3,16	3,9
5	α -amorphene	4,87	1,8
6	β -selinene	3,07	1,7
7	γ -cadinene	3,82	vết
8	δ -cadinene	42,94	0,6

Các hợp chất còn lại trong A1A là γ -muurolene, *ar*-curcumene, calarene, β -vetivenene, β -bisabolene, cadina-1,4-diene và calacorene chưa có trong thành phần tinh dầu đã công bố của nhóm tác giả này.

δ -cadinene là một trong những thành phần chính của tinh dầu chiết từ một số loài như *Annona muricata* (Pelissier *et al.*, 1993), *Uvaria charnae* (Oguntimein *et al.*, 1989), *Xylopiya pynaertii* (Fournier *et al.*, 1994), tinh dầu hoa *Cananga odorata* (Lawrence, 1982), quả của *Monodora tenuifolia* (Adesomaju *et al.*, 1991) và có trong rễ, quả của loài *Cleistopholis patens* (Ekundayo *et al.*) [11]. Hợp chất caryophyllene cũng là một trong các thành phần chủ yếu trong tinh dầu chiết từ lá của một số loài thuộc chi *Uvaria* trên thế giới [13].

Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn cho thấy hai chất này có tác dụng kháng khuẩn

vi khuẩn *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* và *Staphylococcus epidermidis*. Đồng thời chúng cũng có hoạt tính kháng nấm được khảo sát với các chủng *Aspergillus niger*, *Penicillium ochrochloron*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* và *Candida albicans* [12].

Một nhóm nghiên cứu ở Tây Ban Nha (2010) đã khảo sát thành phần tinh dầu của loài *Salvia officinalis* và hoạt tính chống ung thư của chúng. Kết quả cho thấy phân đoạn chứa chủ yếu α -humulene (76,34%) có hoạt tính kháng ung thư mạnh ở dòng tế bào RAW264.7 (ung thư đại thực bào ở chuột) và HCT-116 (ung thư ruột kết) với giá trị IC_{50} tương ứng là 41,9 và 77,3 μ g/mL. Phân đoạn chứa caryophyllene (54,23 %) cũng có hoạt tính gây độc tế bào trên hai dòng này với IC_{50} tương ứng là 90,5 và 145,8 μ g/mL [8]. Nghiên cứu trước đó trên hai thành phần α -humulene và caryophyllene phân lập từ loài *Cordia verbenacea* cũng chỉ ra rằng chúng có khả năng kháng viêm rõ rệt trên mô hình gây viêm ở chuột [10].

Như vậy, có thể thấy, nhiều thành phần hoá học trong phân đoạn n-hexan của Bù dẻ tía là các chất có hoạt tính sinh học tốt: tác dụng kháng sinh và kháng nấm (cadinene và caryophyllene), kháng ký sinh trùng sốt rét (cadina-1,4-diene), chống oxy hóa và gây độc tế bào ung thư *in vitro* (α -humulene và caryophyllene)... Những kết quả trên đã góp phần làm sáng tỏ kinh nghiệm sử dụng dân gian và đặt tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của loài này trong thời gian tới.

4. KẾT LUẬN

Từ loài Bù dẻ tía (*Uvaria grandiflora* Roxb. - Annonaceae), thu mẫu tại huyện Đakrông, Quảng Trị, đã xác định được 16 thành phần từ phân đoạn n-hexane bằng các phương pháp chiết xuất, sắc ký kết hợp và hệ thống sắc ký khí khối phổ. Thành phần có hàm lượng lớn là δ -cadinene (42,94 %), caryophyllene (9,51%). Đây cũng là thông báo mới về những hợp chất γ -muurolene, *ar*-curcumene, calarene, β -vetivenene, β -bisabolene, cadina-1,4-diene, calacorene lần đầu tiên được xác định có trong loài *U. Grandiflora*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2005), “Bảo cáo hiện trạng môi trường quốc gia - Chuyên đề Đa dạng sinh học”, tr. 9-11.
2. Đỗ Ngọc Đài, Trần Đình Thắng, Trần Minh Hới, Nguyễn Xuân Dũng (2010), “Thành phần hóa học của tinh dầu lá Chuối con chồng (*Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem) thu hái ở Tỉnh Hà Tĩnh”, *Tạp chí sinh học*, 32(3), tr. 62-64.
3. Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu (1985), *Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*, Nxb. Y học, Thành phố Hồ Chí Minh, tr. 19-23, 43-52, 58-74.
4. Nguyễn Thị Hoài, Trịnh Thị Điệp, Đỗ Thị Thảo, Nguyễn Khánh Thuỳ Linh, Nguyễn Bích Hiền, Hoàng Thị Diệu Hương (2012), “Sàng lọc hoạt tính diệt tế bào ung thư một số cây thuốc của đồng bào Pako, Vân Kiều ở Quảng Trị”, *Tạp chí Dược liệu*, 17(2), tr. 95-100.
5. Trần Văn Ôn (2005), “Tài nguyên cây thuốc và xoá đói giảm nghèo ở cộng đồng các dân tộc vùng miền núi Việt Nam”, *Tạp chí Dân tộc học*, 2, tr. 31-41.
6. Đỗ Thị Phương (2005), “Khảo sát kinh nghiệm sử dụng thuốc nam của người dân tộc Vân Kiều huyện Đakrong, Tây Nguyên”, *Tạp chí Y học thực hành*, 12, tr. 32-36.
7. Quỹ dân số Liên hiệp Quốc (2011), “Các dân tộc Việt Nam: Phân tích các chỉ tiêu chính từ Tổng điều tra dân số và nhà ở Việt Nam năm 2009”, tr. 7-8.
8. Adil el Hadri, María Ángeles Gómez del Río, Jesús Sanz, Azucena González Coloma, Mohamed Idaomar, Bartolomé Ribas Ozonas, Juana Benedí González, María Isabel Sánchez Reus (2010), “Cytotoxic activity of α -humulene and trans-caryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells”, *An. R. Acad. Nac. Farm.*, 76(3), pp. 343-356.
9. Afoulous Samia, Hicham Ferhout, Emmanuel Guy Raelison, Alexis Valentin, Béatrice Moukarzel, François Couderc, Jalloul Bouajila (2013), “Chemical composition and anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of *Cedrelopsis grevei*”, *Food and Chemical Toxicology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.02.008>.
10. Fernandes Elizabeth S., Giselle F. Passos, Rodrigo Medeiros, Fernanda M. da Cunha, Juliano Ferreira, Maria M. Campos, Luiz F. Pianowski, João B. Calixto (2007), “Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*”, *European Journal of Pharmacology*, 569(3), 228-236, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.04.059>.
11. Gilbert Fournier, Abbas Hadjiakhoondi, Brigitte Charles, Michel Leboeuf, André Cavé (1994), “Volatile components of *Anaxagorea dolichocarpa* fruit”, *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(6), pp. 605-608.
12. Helen D. Skaltsa, Costas Demetzos, Diamanto Lazari, Marina Sokovic (2003), “Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece”, *Phytochemistry*, 64, pp. 743-752.
13. Muriel K. A., T. Z. Felix, G. Figueredo, P. Chalard, T. N’Guessan Y (2011), “Essential oil of three *Uvaria* species from Ivory Coast”, *Nat. Prod. Commun.*, 6(11), 1715-8.