

NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH VÀ XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC TRONG MỘT SỐ DỊCH CHIẾT CỦA LÁ VÀ RỄ NON CÂY DỨA ĐẠI Ở HỘI AN

Nhận bài:

28 – 01 – 2016

Chấp nhận đăng:

20 – 03 – 2015

<http://jshe.ued.udn.vn/>

Phùng Thị Ái Hữu^a, Bùi Ngọc Phương Châu^{a*}, Đào Hùng Cường^a

Tóm tắt: Bài báo này công bố kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố thời gian đến việc chiết tách các hợp chất từ lá và rễ non cây dứa dại trong các dung môi hữu cơ. Kết quả định danh bằng phương pháp GC-MS cho thấy trong dịch chiết của lá cây dứa dại trong các dung môi có 24 cấu tử được định danh, trong đó dịch chiết dichloromethane định danh được nhiều cấu tử nhất với 21 cấu tử. Trong dịch chiết của rễ non cây dứa dại trong các dung môi có 24 cấu tử được định danh, trong đó dịch chiết hexane định danh được nhiều cấu tử nhất với 15 cấu tử. Các cấu tử được định danh hầu hết là hydrocacbon, acid hữu cơ, hợp chất dị vòng, terpenes...; phần lớn đều có hoạt tính chống ung thư và khả năng kháng khuẩn, kháng viêm. Cao chiết methanol của lá và rễ non cây dứa dại thể hiện hoạt tính ức chế đặc hiệu với sự phát triển của chủng vi sinh vật Gram (+) *Staphylococcus aureus* và *Bacillus subtilis* với giá trị IC50 lần lượt là 80,0µg/ml, 26,0 µg/ml đối với lá dứa dại và 88,47µg/ml, 40,73 µg/ml đối với rễ non cây dứa dại.

Từ khóa: rễ dứa dại; lá dứa dại; kháng ung thư; kháng viêm.

1. Mở đầu

Dứa dại (tên khoa học là *Pandanus tectorius* Sol.) là loại cây mọc khá phổ biến ở các vùng ven biển châu Á có giá trị về mặt kinh tế như sản xuất công nghiệp, tiểu thủ công nghiệp, bảo vệ môi trường, điều trị bệnh...[2]. Trong Đông y, rễ non cây dứa dại thường được dùng để chữa phù thũng, viêm đường tiết niệu, sỏi thận, đau đầu, mất ngủ, ăn uống kém sau sinh; và lá cây dứa dại thường được dùng để điều trị các vết loét sâu, lở loét lâu ngày, tiểu ra máu... Cho đến nay trên thế giới đã có nhiều công trình nghiên cứu được công bố về thành phần hóa học cũng như công dụng trong y học của cây dứa dại. Tuy nhiên, ở Việt Nam việc nghiên cứu và khai thác dứa dại còn rất hạn chế. Dứa dại có mặt gần như trên toàn bộ lãnh thổ nước ta, đặc biệt ở Hội An cây dứa dại sinh trưởng mạnh mẽ, mọc hoang

rất nhiều. Vì vậy, vấn đề nghiên cứu một cách đồng bộ, lâu dài để có quy hoạch khai thác và sử dụng dứa dại có hiệu quả cần được quan tâm.

2. Nghiên cứu thực nghiệm

2.1. Nguyên liệu

Lá và rễ non cây của cây dứa dại được thu hái ở Hội An, Quảng Nam, đem tách bỏ những phần hư hại, rửa sạch, cắt nhỏ. Sau đó tiến hành sấy nguyên liệu bằng tủ sấy ở nhiệt độ 30⁰- 40⁰C rồi xay nhỏ.

2.2. Phương pháp chiết

Phương pháp được sử dụng để thu dịch chiết là phương pháp chiết soxhlet. Nguyên liệu được chiết lần lượt qua các dung môi có độ phân cực khác nhau: hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol.

2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của yếu tố thời gian chiết đến quá trình chiết

Lấy 5 mẫu, mỗi mẫu 10g nguyên liệu. Tiến hành chiết soxhlet với 150ml dung môi hexane ở các khoảng

^a Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

* Liên hệ tác giả

Bùi Ngọc Phương Châu

Email: buingocphuongchau@gmail.com

thời gian là 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ và 12 giờ đối với lá cây dứa dại và 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 14 giờ, 16 giờ đối với rễ non cây dứa dại. Dịch chiết đem cô đuổi dung môi. Cân khối lượng cao thu được. Tiến hành tương tự như trên với các dung môi dichloromethane và ethyl acetate.

2.4. Xác định thành phần hóa học các dịch chiết

Thành phần hoá học các dịch chiết hexane, dịch chiết dichloromethane và dịch chiết ethyl acetate của lá, rễ non cây dứa dại được xác định bằng hệ thống sắc ký khí khối phổ 7890A/5975C, Agilent technology, Mỹ; cột tách mao quản HP - 5MS (5% Phenyl Methyl Silox): 3m x 250µm x 0,25µm tại Trung tâm Kỹ thuật 02 Ngô Quyền, TP. Đà Nẵng.

2.5. Thử hoạt tính sinh học

Các cao chiết methanol của lá và rễ non cây được thử hoạt tính kháng sinh tại phòng Hóa sinh ứng dụng, Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khảo sát ảnh hưởng của yếu tố thời gian chiết đến quá trình chiết bằng phương pháp chiết soxhlet

3.1.1. Đối với nguyên liệu lá dứa dại

Thời gian chiết thích hợp 10g bột lá cây dứa dại và khối lượng cao chiết thu được khi chiết với dung môi hexane, dichloromethane và ethyl acetate lần lượt là 8 giờ (0,771g), 10 giờ (1,421g) và 8 giờ (1,080g).

3.1.2. Đối với nguyên liệu rễ non cây dứa dại

Thời gian chiết thích hợp 10g rễ non cây dứa dại và khối lượng cao chiết thu được khi chiết với dung môi hexane, dichloromethane và ethyl acetate lần lượt là 12 giờ (1,473g), 12 giờ (0,430g) và 14 giờ (0,662g).

3.2. Thành phần hóa học của các dịch chiết lá dứa dại trong các dung môi hữu cơ

3.2.1. Thành phần hóa học dịch chiết lá dứa dại trong các dung môi hữu cơ

Kết quả định danh bằng phương pháp GC-MS cho thấy trong dịch chiết lá cây dứa dại trong các dung môi hữu cơ có 24 cấu tử được định danh. Trong đó số cấu tử được định danh của dịch chiết hexane, dichloromethane và ethyl acetate lần lượt là 15 cấu tử, 21 cấu tử và 17 cấu tử. Kết quả định danh bằng phương pháp GC-MS trong một số dịch chiết từ lá dứa dại được tổng hợp ở Bảng 1.

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, dung môi có nhiều cấu tử được định danh nhất là dichloromethane và ít nhất là hexane. Dịch chiết dichloromethane và ethyl acetate có nhiều cấu tử giống nhau. Trong đó, Benzofuran, 6-ethenyl - 4,5,6,7 - tetrahydro - 3,6 -dimethyl-5-isopenyl, trans có mặt ở cả 3 dịch chiết với hàm lượng cao. Nó là chất kháng nấm và kháng oxi hóa rất tốt, đã được ứng dụng trong điều trị tăng tuần hoàn máu và ngăn ngừa tiền ung thư vú. Gamma-Elementine là chất có hoạt tính chống tăng sinh tế bào ung thư và kháng khuẩn rất cao. Hai loại acid béo là n-hexadecanoic acid và 9,12,15-octadecatrienoic acid. Hai acid này có khả năng kháng ung thư rất cao và còn được sử dụng trong một số dạng sữa thành phẩm giảm béo phì. Đồng thời nó còn tăng khả năng hấp thụ các loại vitamin A, E... bảo vệ collagen trong da, giảm tính viêm sưng [1].

Trong thành phần dịch chiết dichloromethane có chứa Squalene, chất này gần đây gần đây được sử dụng như là một chất bổ trợ miễn dịch vắc xin, có tác dụng ngăn ngừa ung thư bằng cách loại bỏ các tế bào gây hại. Điều này hứa hẹn tiềm năng chống ung thư của lá dứa dại rất lớn [1].

3.2.2. Thành phần hóa học dịch chiết rễ non cây dứa dại trong các dung môi hữu cơ

Kết quả định danh bằng phương pháp GC-MS cho thấy trong dịch chiết rễ non cây dứa dại trong các dung môi hữu cơ có 24 cấu tử được định danh. Trong đó số cấu tử được định danh của dịch chiết hexane, dichloromethane và ethyl acetate lần lượt là 15 cấu tử, 7 cấu tử và 19 cấu tử. Kết quả định danh bằng phương pháp GC-MS trong một số dịch chiết từ rễ non cây dứa dại được tổng hợp ở Bảng 2.

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy dịch chiết rễ non cây dứa dại trong dung môi hexane có nhiều cấu tử được định danh nhất, trong khi đó dịch chiết hexane của lá cây dứa dại số cấu tử định danh được lại là ít nhất. Tổng số cấu tử định danh được từ dịch chiết lá cũng như rễ non cây dứa dại đều là 24 cấu tử. Nhìn chung, dịch chiết từ lá và rễ non cây dứa dại trong các dung môi có nhiều cấu tử được định danh giống nhau. Đáng lưu ý là trong dịch chiết hexane của rễ non cây dứa dại cấu tử Ar-tumerone có hàm lượng cao nhất, chiếm đến 32,52%. Ar-tumerone có ý nghĩa lớn trong y học. Chất này gây ức chế sự kích hoạt thần kinh đệm, sở hữu đặc tính kháng viêm do sự phong tỏa các con đường tín hiệu quan trọng trong tiểu thần kinh đệm, tạo thành một tác

nhân điều trị đầy hứa hẹn cho các triệu chứng rối loạn thần kinh khác nhau [1].

3.3. Kết quả thử hoạt tính sinh học các cao

chiết methanol của lá và rễ non cây dứa dại

Kết quả khảo sát hoạt tính sinh học của cao chiết methanol được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 1. Tổng hợp thành phần hóa học của lá dứa dại trong một số dịch chiết hữu cơ

STT	Tên chất	% Diện tích pic trong các dung môi		
		Hexane	Dichlorometane	Ethylacetate
1	Bicyclo[2.2.1]heptan-2- one, 1,7,7- trimethyl-, (1R)-	0,29	0,22	0,09
2	Cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-,3R- trans)-	1,04	0,39	0,64
3	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis (1 - ethylethenyl) [1S-(1 .alpha.,2.beta.,4.beta.)]	0,23	2,20	2,22
4	gamma. -Elemene	11,09	8,64	8,96
5	alpha. -Caryophyllene	0,84	0,61	0,57
6	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	0,16	0,18	0,18
7	1,6-Cyclodecadiene, 1- methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s- (E,E)]-	1,16	0,75	0,88
8	Benzofuran, 6-ethenyl- 4,5,6,7-tetrahydro-3, 6-dimethyl-5- isopropenyl-, trans-	26,60	12,07	23,88
9	Cyclohexene, 3-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-6-methylene-,[S-(R*,S*)]-	0,41	0,41	0,45
10	Cadina-1(10),6,8-triene	0,20	-	0,23
11	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-1 -methylethylidene)-	0,34	-	0,40
12	Ar-tumerone	2,43	3,90	2,88
13	Tumerone	5,02	4,91	5,32
14	Curlone	3,67	5,30	4,24
15	Pentacosane	0,22	-	0,15
16	n-Hexadecanoic acid	-	0,73	0,22
17	9,12,15-Octadecatrienoic acid,(Z,Z,Z)-	-	1,12	0,57
18	Isoborneol	-	0,13	-
19	2-Methoxy-4-vinylphenol	-	0,38	-
20	beta.-Elemenone	-	8,23	-
21	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	-	0,51	-
22	Squalene	-	0,44	-
23	Vitamin E	-	0,32	-
24	gamma. -Sitosterol	-	0,74	-
Tổng các chất		15	21	17

Bảng 2. Tổng hợp thành phần hóa học của rễ non cây dứa dại trong một số dịch chiết hữu cơ

STT	Tên chất	% Diện tích pic trong các dung môi
-----	----------	------------------------------------

		Hexane	Dichlorometane	Ethyl acetate
1	gamma. –Elemene	0,08	-	-
2	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	0,39	-	-
3	1,3-Cyclohexadiene, 5- (1,5-dimethyl -4- hexenyl)-2-methyl-, [S-(R*,S*)]-	0,43	-	-
4	Cyclohexene, 1- methyl-4-(5-methyl- 1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-	0,14	-	-
5	Cyclohexene, 3-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-6-methylene-, [S- (R*,S*)]-	0,60	-	-
6	Cyclopropyl phenyl carbinol	1,44	-	-
7	Ar-tumerone	32,52	1,15	4,90
8	Tumerone	10,76	0,53	-
9	Curlone	16,89	0,85	-
10	n-Hexadecanoic acid	0,23	-	6,07
11	Phytol	0,12	-	-
12	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester	0,51	-	-
13	gamma. –Tocopherol	0,28	-	-
14	Vitamin E	0,10	-	-
15	gamma. –Sitosterol	2,07	-	-
16	1,2,3-Propanetriol,monoacetate	-	1,21	1,58
17	2-Methoxy-4-vinylphenol	-	1,18	5,08
18	Tributyl phosphate	-	2,74	-
19	Ethyl citrate	-	0,92	-
20	Benzaldehyde, 3- hydroxy-	-	-	0,55
21	Vanillin	-	-	2,16
22	2-Butanone, 4-(4- hydroxyphenyl)-	-	-	1,34
23	3-Buten-2-one, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	-	-	10,52
24	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	-	-	3,63
Tổng các chất		15	7	9

Bảng 3. Kết quả thử hoạt tính thử hoạt tính kháng vi sinh vật và nấm kiểm định của các cao chiết methanol lá và rễ non cây dứa dại

Vi sinh vật và nấm kiểm định		Nồng độ ức chế 50% sự phát triển của vi sinh vật và nấm kiểm định IC50 (Mg/ml)	
		Cao methanol - lá dứa dại	Cao methanol - rễ non cây dứa
Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	80,0	88,47
	<i>Bacillus subtilis</i>	26,0	40,73
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	>128	>128
Gram (-)	<i>Salmonellaenterica</i>	>128	>128
	<i>Escherichia coli</i>	>128	>128
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>128	>128
Nấm	<i>Candida albican</i>	>128	>128

Kết quả khảo sát hoạt tính sinh học của cao chiết methanol cho thấy các cao chiết methanol của lá và rễ

non cây dứa dại thể hiện hoạt tính ức chế đặc hiệu với sự phát triển của chủng vi sinh vật Gram (+)

Staphylococcus aureus và *Bacillus subtilis* với giá trị IC_{50} lần lượt là 80,0 μ g/ml, 26,0 μ g/ml đối với lá dứa dại và 88,47 μ g/ml, 40,73 μ g/ml đối với rễ non cây dứa dại. Như vậy, với khả năng ức chế được các dòng vi sinh vật này thì cao chiết methanol có thể dùng để nghiên cứu điều trị các bệnh do 2 chủng vi sinh vật này gây ra như bệnh ngoài da, bệnh đường hô hấp, nhiễm trùng... phù hợp với ứng dụng chữa bệnh của rễ non và lá cây dứa dại trong Đông y.

Tuy nhiên, các cao chiết methanol của lá và rễ non cây dứa dại lại không thể hiện hoạt tính đối với các chủng vi khuẩn Gram (-) và nằm ở nồng độ IC_{50} < 128 μ g/ml.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã đạt được một số kết quả như sau:

- Thời gian chiết thích hợp 10g bột lá cây dứa dại và khối lượng cao chiết thu được khi chiết với dung môi hexane, dichloromethane và ethyl acetate lần lượt là 8 giờ (0,771g), 10 giờ (1,421g) và 8 giờ (1,080g).

- Thời gian chiết thích hợp 10g rễ non cây dứa dại và khối lượng cao chiết thu được khi chiết với dung môi hexane, dichloromethane và ethyl acetate lần lượt là 12 giờ (1,473g), 12 giờ (0,430g) và 14 giờ (0,662g).

- Bằng phương pháp GC-MS đã định danh được 24 cấu tử trong dịch chiết lá cây dứa dại trong các dung môi hữu cơ. Trong đó số cấu tử được định danh của dịch chiết hexane, dichloromethane và ethyl acetate lần lượt là 15 cấu tử, 21 cấu tử và 17 cấu tử. Trong dịch chiết rễ non cây dứa dại trong các dung môi hữu cơ có 24 cấu tử được định danh. Trong đó số cấu tử được định danh của dịch chiết hexane, dichloromethane và ethyl acetate lần lượt là 15 cấu tử, 7 cấu tử và 19 cấu tử.

- Cao chiết methanol của lá và rễ non cây dứa dại thể hiện hoạt tính ức chế đặc hiệu với sự phát triển của chủng vi sinh vật Gram (+) *Staphylococcus aureus* và *Bacillus subtilis* với giá trị IC_{50} lần lượt là 80,0 μ g/ml, 26,0 μ g/ml đối với lá dứa dại và 88,47 μ g/ml, 40,73 μ g/ml đối với rễ non cây dứa dại.

Các cấu tử được định trong lá và rễ non cây dứa dại hầu hết đều có hoạt tính sinh học mạnh, chống tăng sinh tế bào ung thư, kháng khuẩn, kháng viêm... Điều đó đã minh chứng một cách khoa học cho việc sử dụng cây dứa dại để chữa bệnh trong dân gian từ trước đến nay.

Tài liệu tham khảo

- [1] Đái Duy Ban (2008), Các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học phòng chống một số bệnh cho con người và vật nuôi, Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ.
- [2] Đỗ Tất Lợi (2001), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
- [3] Bungihan ME, Tan MA, Kitajima M, Kogure N, Franzblau SG, Dela Cruz TE, Takayama H, Nonato MG (2011), Bioactive metabolites of *diaporthe* sp. P133, an endophytic fungus isolated from *Pandanus amaryllifolius*, *Journal of Natural Medicine*, 65 (3-4), pp. 606-9.
- [4] Englberger L., W. Aalbersberg, M.H. Fitzgerald, G.C. Marks, and K.Chand (2003), "Provitamin A carotenoid content of different cultivars of edible pandanus fruit", *Journal of Food Composition and Analysis*, 16, pp. 237-247.
- [5] Huiling Liu, Xiaopo Zhang, Chongming Wu, Haifeng Wu, Peng Guo, Xudong Xu (2013), "Anti-hyperlipidemic caffeoylquinic acids from the fruits of *Pandanus tectorius* Soland", *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(08), pp. 016-019.

EXTRACTING AND IDENTIFYING CHEMICAL CONSTITUENTS IN THE EXTRACTS OF *PANDANUS TECTORIUS* SOL.'S LEAVES AND ROOTS IN HOI AN

Abstract: This paper presents the results of a study on the influence of time on the extraction of the compounds from *Pandanus tectorius* Sol.'s leaves and roots in organic solvents. The findings via the GC-MS method show that 24 compounds have been identified in the extract of *Pandanus tectorius* Sol.'s leaves, among which the dichloromethane extract has fostered the most compounds – 21. Besides, 24 compounds have been identified in the extract of *Pandanus tectorius* Sol.'s roots, among which the hexane extract has fostered the most compounds – 15. Most of the identified compounds are hydrocarbon, organic acids, heterocyclic compounds, terpenes, ...; the majority of them are anti-cancerous, anti-bacterial and anti-inflammatory. The methanol extracts from both the leaves and the roots of the *Pandanus tectorius* Sol. prove to have their specific antibacterial activities against the growth of Gram-positive *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* with IC_{50} values of 80.0 μ g/ml, 26.0 μ g/ml and 88.47 μ g/ml, 40.73 μ g/ml respectively.

Key words: *Pandanus tectorius* Sol.'s leaves; *Pandanus tectorius* Sol.'s roots; anti-cancerous; anti-inflammatory.