ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC DÂY SƯƠNG SÂM (*TILIACORA TRIANDRA*, MENISPERMACEAE)

BOTANICAL CHARACTERISTICS AND CHEMICAL COMPOSITION OF *TILIACORA TRIANDRA*, MENISPERMACEAE

Phan Thị Vũ Kiều[1], Phạm Thị Quỳnh Duyên[1], Phạm Thị Khánh Huyền[2]*, Huỳnh Lời[2]

[1]Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam
[2]Khoa Y-Dược - Đại học Đà Nẵng, Đà Nẵng, Việt Nam

*Tác giả liên hệ / Corresponding author: ptkhuyen@smp.udn.vn

(Nhận bài / Received: 25/8/2022; Sửa bài / Revised: 17/3/2023; Chấp nhận đăng / Accepted: 04/4/2023)

Tóm tắt - Dây Sương sâm (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels, Menispermaceae) mọc nhiều ở các tỉnh miền Nam đặc biệt ở Tây Ninh, Đồng Nai. Theo y học dân gian, lá dây Sương sâm được dùng để trị táo bón, rễ dây Sương sâm dùng để hạ sốt, trị rắn cắn… Lá dây Sương sâm có tác dụng chống oxi hóa, kháng khuẩn, hạ đường huyết. Lá của cây này mới bắt đầu được nghiên cứu trong khoảng 10 năm gần đây. Hiện nay, Dược điển Việt Nam V vẫn chưa có chuyên luận về dược liệu dây Sương sâm. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu khảo sát thực vật học và phân lập các thành phần hóa học của lá dây Sương sâm. Kết quả nghiên cứu giúp cho các nghiên cứu tiếp theo về tác dụng sinh học cũng như kiểm nghiệm dược liệu này. Đặc điểm hình thái và vi phẫu lá, thân và rễ được mô tả xác định. Hơn nữa, đặc điểm bột dược liệu cũng được xác định. Hợp chất linarin và isoswertisin cũng đã được phân lập lần đầu tiên từ lá dây Sương sâm.

Từ khóa - Sương sâm; linarin; isoswertisin

Abstract - *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels, (Yanang) (Menispermaceae) distributes in many provinces of Vietnam, especially in Tay Ninh, Dong Nai. In folk medicine, Yanang leaves are used to treat constipation, its roots have antipyretic effect and can also be used in the treatment of snake bite. In recent years, Yanang leaves have been reported the antioxidant, antibacterial and antidiabetic activities. The leaves have been studied for only about ten years. Until now, the Vietnamese Pharmacopoeia V has not the monograph of materials for *T. triandra*. Therefore, the aim of this study is to determinate the botanical characteristics and isolate the compounds from Yanang leaves. The results are useful for further studies on biological activities and quality control of this plant. Morphological and microscopic characteristics of leaves, stems and roots are described. Furthermore, the medicinal powder characteristics were also determined. The compounds linarin and isoswertisin were also isolated for the first time from the leaves of *T. triandra*.

Key words - *Tiliacora triandra*; linarin; isoswertisin

1. Đặt vấn đề

Dây sương sâm còn được gọi là Xanh tam hoặc Dây xanh leo, Dây xanh ba tiểu nhị. Tên khoa học là *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels, thuộc họ Tiết dê – Menispermaceae. *T. triandra* là cây bản địa của khu vực Đông Nam Á, rất phổ biến ở vùng đông bắc Thái Lan, cây còn có ở Ấn Độ, Myanma, Trung Quốc, Lào, Campuchia và Malaysia. Cần lưu ý trong dân gian, món uống dây Sương sâm cũng làm từ một loài khác thuộc chi *Cyclea* (Menispermaceae) như *Cyclea peltata* (Lam.) Hook.f. & Thomson, lá có nhiều lông, hình tim. Ở Việt Nam, *T. triandra* phân bố chủ yếu ở Tây Ninh, Đồng Nai (Biên hòa, Trảng bom). Dây Sương sâm mọc rải rác vùng miền núi đá vôi ở độ cao dưới 300 m. Dây Sương sâm ra hoa quả vào tháng 12-6 năm sau. Bộ phận dùng là toàn cây. *T. triandra* chứa các alkaloid thuộc nhóm bisbenzylisoquinolin bao gồm nortiliacorin A, tiliacorinin 2′-N-oxid, tiliacorinin, tiliacorin, dinklacorin, yanangin, nortiliacorinin A, noryanangin, norisoyanangin, tilitriandrin, tiliagein [1-5]. Lá *T. triandra* chứa hợp chất phenol đơn giản (acid gallic, acid ferulic…), flavonoid, saponin. Dịch chiết methanol của lá *T. triandra* có khả năng chống oxi hóa mạnh [6-9] Các alkaloid khung bisbenzylisoquinolin phân lập từ rễ *T. triandra* là tiliacorinin, tiliacorin và nor-tiliacorinin A cho tác dụng trị sốt rét *in vitro* trên nhiều chủng *Plasmodium falciparum*. Các alkaloid nêu trên và dẫn xuất tổng hợp của tiliacorinin là 13′-bromo-tiliacorinin có khả năng ức chế nhiều chủng *Mycobacterium tuberculosis* đa đề kháng [10, 11]. Nghiên cứu trên chuột cho thấy, dịch chiết ethanol từ lá *T. triandra* có tác dụng giảm tiểu đường do thận và giảm suy tinh hoàn [12]. Lá dây Sương sâm có tác dụng chống oxi hóa, kháng khuẩn, hạ đường huyết [13]. Trong y học cổ truyền, các loài thuộc chi *Tiliacora* thường được sử dụng để trị rắn cắn, sốt rét, sốt, trị tiểu đường, hạ huyết áp và chữa các bệnh đường tiêu tiêu hóa và và các bệnh liên quan đến kinh nguyệt [14-16]. Ở Việt Nam, *T. triandra* thường được trồng để lấy lá làm thạch và làm rau ăn, thân làm sợi, trị kiết. Ở Campuchia, lá *T. triandra* được dùng để ăn với lẩu Samlo, thân mang lá dùng phối hợp với các vị thuốc khác để trị lỵ. Ở Thái Lan và Lào, rễ *T. triandra* được sử dụng làm thuốc hạ sốt và để trị sốt rét trong các bài thuốc dân gian [1-3]. Lá *T. triandra* được dùng trong nhiều món ăn hằng ngày, đặc biệt là món "bamboo shoot soup". Điều kiện chiết xuất tối ưu của gum polysaccharid từ lá Yanang được xác định là 1: 6,6; 85^{o}C và 100 phút theo thứ tự tương ứng là tỷ lệ lá khô /nước, nhiệt độ chiết xuất và thời gian. Monosaccharide chính của gum Yanang là xylose, cùng với một lượng đáng kể rhamnose, arabinose, glucose và galactose. Phổ FT-IR cho thấy, gum Yanang có cấu trúc

[1] Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city, Vietnam (Phan Thi Vu Kieu, Pham Thi Quynh Duyen)
[2] The University of Danang - School of Medicine and Pharmacy, Danang, Vietnam (Pham Thi Khanh Huyen, Huynh Loi)

xylan. Nghiên cứu gần đây đã cho thấy, cấu trúc xylan là (1,3)- và (1,4)-D-xylan, khối lượng trung bình là 3819 kDa, bán kính vòng là 120,4 nm và độ nhớt nội sinh là 14,6 dL/g. Polysaccharid/ hydrocolloid chiết từ lá *T. triandra* thường được dùng làm chất phụ gia trong công nghiệp thực phẩm do có độ nhớt và khả năng tạo gel. Ngoài ra, hydrocolloid từ *T. triandra* còn có nhiều chức năng quan trọng như ổn định nhũ tương, ngăn chặn sự tái kết tinh của nước đá và cải thiện tính chất cảm quan của thực phẩm [17-20]. Hiện nay, Dược điển Việt Nam V vẫn chưa có chuyên luận nào về dược liệu dây Sương sâm. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu khảo sát thực vật học và phân lập các thành phần hóa học của lá dây Sương sâm. Từ đó làm cơ sở để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo về tác dụng sinh học cũng như kiểm nghiệm dược liệu này.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu là toàn cây dây Sương sâm, thu hái ở An Giang, vào tháng 8 năm 2016. Lá dùng để nghiên cứu hóa học, tất cả các bộ phận dùng để nghiên cứu thực vật học. Dược liệu được xác định tên khoa học bởi Tiến Sĩ Đặng Văn Sơn, Viện Sinh học Nhiệt đới. Mẫu được lưu tại Viện Sinh học Nhiệt đới với ký hiệu 01-Tili/16.

2.2. Dung môi, hóa chất

Thuốc nhuộm kép dùng trong nghiên cứu vi phẫu. Dung môi dùng trong chiết xuất và phân lập bao gồm ethanol, methanol, *n*-hexan, dichloromethan (DCM), ethyl acetat (EtOAc)…, đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích. Bản mỏng tráng sẵn silica gel F_{254} cung cấp bởi Merck. Silicagel cỡ hạt 40-63 µm dùng trong sắc ký cột. Thuốc thử VS (vanillin 1%/ acid sulfuric 10%) được dùng để phát hiện các vết trên sắc ký lớp mỏng.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thực vật học

+ Khảo sát đặc điểm hình thái: Thân, lá, hoa, quả, hạt được phân tích và mô tả đặc điểm và chụp ảnh.

+ Khảo sát đặc điểm vi phẫu: Dược liệu được cắt và nhuộm vi phẫu bằng phương pháp nhuộm kép carmin - lục iod. Vi phẫu được quan sát dưới kính hiển vi quang học, miêu tả và chụp ảnh.

+ Khảo sát bột dược liệu: Các đặc điểm cảm quan như màu sắc, mùi vị được mô tả. Các cấu tử của bột được quan sát dưới kính hiển vi quang học và chụp ảnh.

2.3.2. Hóa học

+ Chiết xuất, phân lập

Lá dây Sương sâm (2,5 kg) được làm bột thô, làm ẩm và ngấm kiệt với 30 lít EtOH 96%. Dịch chiết được bốc hơi dưới áp suất giảm thu được 2 lít cao lỏng. Cao lỏng được hòa trong 2 lít nước, chiết phân bố lỏng - lỏng lần lượt với 6 L *n*-hexan (1,5 L × 4), sau đó với 6 L dichloromethan (1,5 L × 4), dịch dichloromethan khi bốc hơi dưới áp suất giảm xuất hiện kết tủa màu vàng (1,65 g) (**tủa DCM**), dịch còn lại tiếp tục bốc hơi thu được 29,2 g cao đặc DCM (**cao DCM**). Lấy 150 mg tủa DCM, rửa bằng EtOAc để loại tạp. Cắn thu được kết tinh lại trong MeOH thu được 25 mg hợp chất 1. Cao DCM (29,2 g) được phân tách bằng sắc ký cột (cột thủy tinh 6,5 × 70 cm), dùng 600 g Silica gel (40 – 63 µm) làm pha tĩnh, nhồi cột ướt. Pha động: Hệ dung môi gradient *n*-hexan-EtOAc (100:0→0:100), tốc độ dòng 6 ml/phút, thể tích mỗi phân đoạn là 100 ml. Kiểm tra phân đoạn bằng sắc kí lớp mỏng trên Silica gel F_{254}, khai triển với hệ dung môi *n*-hexan – EtOAc – acid formic (2:8:0,05), phát hiện bằng UV (254 và 365 nm) và thuốc thử VS. Kết quả thu được 12 phân đoạn. Hợp chất 2 thu được từ phân đoạn 12 và tinh khiết hóa bằng cách kết tinh trong MeOH.

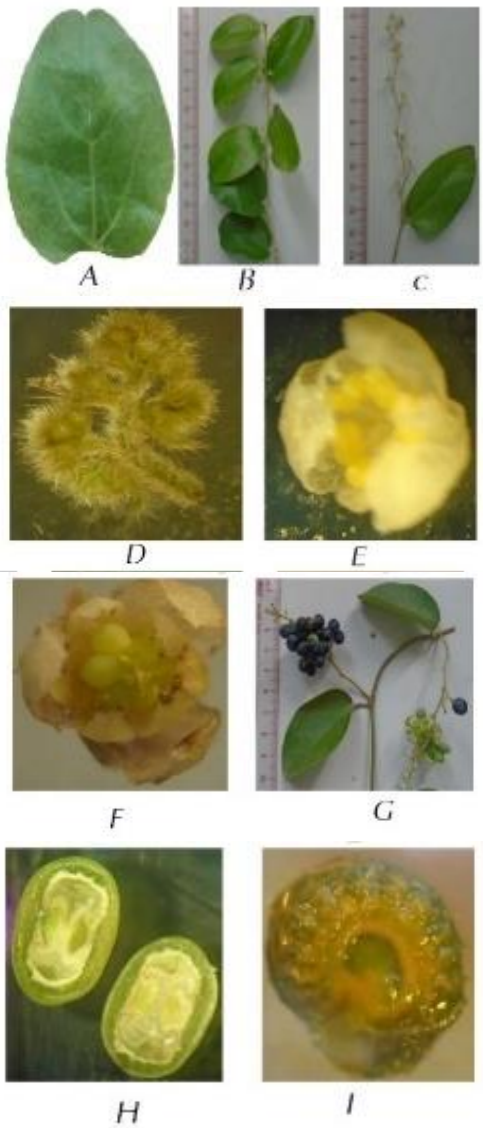
+ Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập

Các hợp chất phân lập được xác định cấu trúc bằng dữ liệu phổ UV, MS (ESI-MS, mode positve) và NMR (Bruker Avance, 500 MHz). Số liệu phổ của các chất được biện giải để xác định cấu trúc hợp chất, sau đó so sánh với các dữ liệu phổ từ tài liệu tham khảo.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Thực vật học

3.1.1. Mô tả hình thái

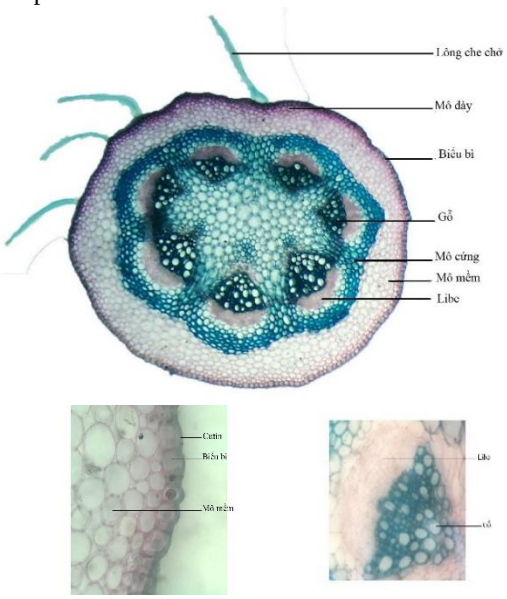


Hình 1. *Hình thái các bộ phận dây Sương sâm*
Ghi chú: A: Lá. B: Cành. C: Cành mang hoa. D: Cụm hoa non. E: Bộ nhị. F: Bộ nhuỵ. G: Cành mang quả. H: Quả cắt đôi. I: Hạt

Thân có màu xanh lục, tiết diện nhỏ, gần tròn; mọc leo bằng thân quấn, không lông. **Lá** có màu xanh lục, hình trái xoan nhọn, gốc lá có hình tim, ngọn lõm, có một gai cứng ở đầu. Lá dài 6-12 cm, rộng 3-8 cm, dai và nhẵn, bìa lá nguyên; có 3-5 gân chính, gân gốc ở giữa với 1-3 đôi gân bên; gân phụ mọc thành mạng. Cuống lá tiết diện tròn, mảnh, hơi dẹt ở phía mặt trên gân lá, đường kính 0,5-1,5 mm, dài 1-3 cm. Cuống lá có màu xanh lục, đôi khi có màu tím, đoạn gần đế hoa hơi phình, có lông mịn. Không có lá kèm. **Cụm hoa** có lông nhung, mọc ở nách lá hay ngọn thân già thành chùm thưa dài 1,5 - 3 cm, xim 1 ngả. **Hoa đực**: Lá đài màu trắng sữa, có lông mịn, phía ngoài có 3 lá đài hình tam giác; bên trong có 3 lá đài, dài và rộng hơn gấp 2-3 lần lá đài ngoài, hình trứng ngược. 6 cánh hoa màu trắng sữa, hơi lõm, hình trái xoan thuôn dài, kích thước khoảng 1,5 mm. Có 6 nhị, bao phấn hình tam giác, mở bên. **Hoa cái**: 6 lá noãn rời nhau, hình trứng, đính noãn nóc **Quả** non có màu xanh, quả già màu tím đen, hình tròn, đường kính 6-8 mm. Vỏ quả mỏng, bên trong có chứa hạt cứng được bao bởi 1 lớp nhầy, bề mặt hạt sần sùi; mầm cong hình móng ngựa, thịt mọng nước. Hạt có nội nhũ, phôi cong, dính, không đều, lá mầm nhiều thịt (Hình 1).

3.1.2. Cấu tạo giải phẫu

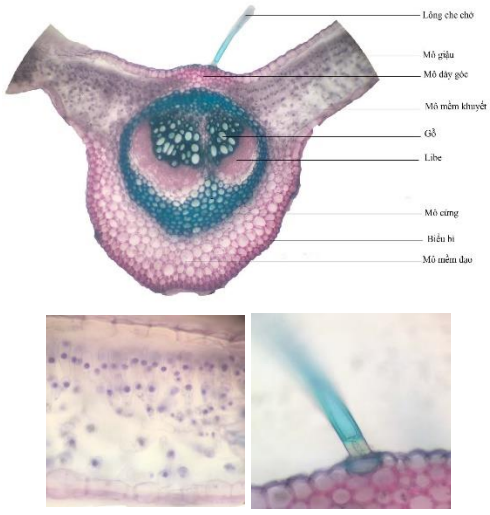
- Vi phẫu lá



Hình 2. *Vi phẫu cuống lá*

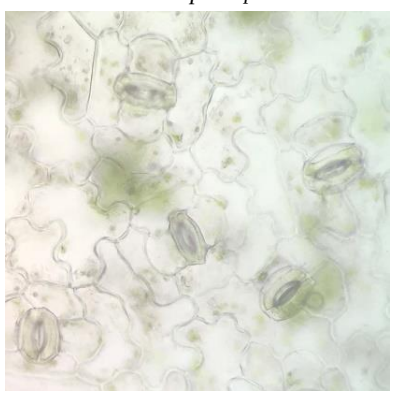
Cuống lá: Vi phẫu cuống lá cắt ngang hình bầu dục, hơi lõm ở mặt trên. Cấu tạo gồm: Biểu bì là 1 lớp tế bào hình vuông hoặc chữ nhật; lớp cutin dày, trơn nhẵn. Lông che chở đơn bào có đầu nhọn, kích thước khoảng 10 lần chiều rộng tế bào biểu bì. Ở góc có 1-3 lớp tế bào mô dày. Mô mềm là các tế bào hình đa giác gần tròn, xếp lộn xộn, để chừa giữa các tế bào những đạo. Hệ thống dẫn cấu tạo cấp 1 gồm 7- 8 bó libe- gỗ rời nhau xếp thành vòng, libe ở ngoài, gỗ ở trong với những mạch gỗ hình tròn, một số hình đa giác; mô mềm gỗ là những tế bào hình đa giác, kích thước không đều sắp xếp lộn xộn. Giữa các bó libe - gỗ và bao ngoài lớp libe là 4-6 lớp tế bào hình đa giác có tẩm lignin hoặc đã hóa mô cứng. Mô mềm tuỷ đạo, các tế bào hình đa giác gần tròn, vách tẩm lignin; kích thước to hơn mô mềm phía ngoài; càng vào trong kích thước tế bào càng tăng (Hình 2).

Gân giữa lồi nhiều ở mặt dưới, hơi lồi ở mặt trên. Biểu bì trên và dưới gồm 1 lớp tế bào hình đa giác gần tròn, kích thước không đều, lớp cutin mỏng, trơn nhẵn. Rải rác có lông che chở đơn bào đầu nhọn. Ở phía trên, mô dày góc gồm 3 lớp tế bào nằm sát biểu bì trên, thu hẹp lại ở phần chính giữa gân lá; ở dưới mô dày gồm 1 lớp tế bào trải rộng gần hết phần gân lá. Mô mềm đạo, tế bào hình đa giác gần tròn, vách cellulose mỏng, kích thước không đều, sắp xếp lộn xộn. 2- 3 bó libe gỗ xếp thành hình vòng cung ở vùng trung tâm, gỗ ở trên, libe ở dưới. Libe là những tế bào vách cellulose kích thước nhỏ, méo mó, sắp xếp lộn xộn. Mô mềm gỗ vách dày hóa gỗ, xếp lộn xộn, mạch gỗ hình đa giác đầu tù, kích thước lớn nhỏ không đều. Khoảng gian bó là những tế bào vách cellulose xếp thành dãy, càng về phía ngọn lá khoảng gian bó càng hẹp, các bó libe gỗ gần như nhập lại. Bao quanh hệ thống dẫn là một vòng mô cứng, tế bào hình đa giác, vách dày, xếp khít nhau (Hình 3).



Phiến lá dị thể *Lông che chở*

Hình 3. *Vi phẫu phiến lá*



Hình 4. *Biểu bì mang lỗ khí*

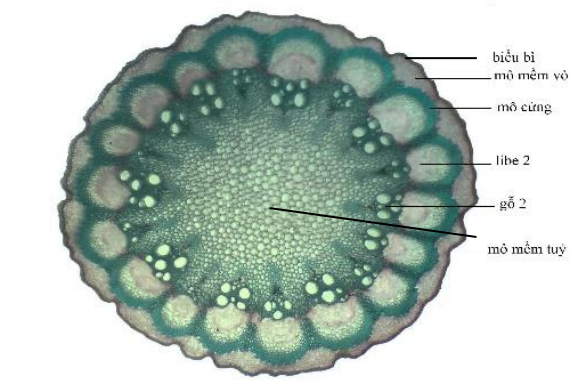
Phiến lá có cấu tạo dị thể. Biểu bì tế bào hình chữ nhật, kích thước không đều, tế bào biểu bì dưới to hơn tế bào biểu bì trên. Lớp cutin mỏng, trơn nhẵn có ở cả mặt trên và mặt dưới. Biểu bì dưới có nhiều lỗ khí kiểu hỗn bào. Mô mềm giậu gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật dài, xếp vuông góc với biểu bì trên, chừa những đạo, chứa nhiều lục lạp. Mô mềm khuyết tế bào hình chữ Y, xếp lộn xộn, chừa những khuyết lớn. Bó libe gỗ của gân phụ rải rác, gỗ ở trên, libe ở dưới, bao quanh bởi một vòng mô mềm, tế bào hình đa giác kích thước không đều, xếp sát nhau (Hình 3-4).

- Vi phẫu thân

Mặt cắt ngang vi phẫu thân tiết diện tròn, có những chỗ lồi lõm không đều, vùng vỏ chiếm khoảng ⅙ bán kính vi phẫu. Từ ngoài vào trong gồm có:

- **Vùng vỏ**: Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều nhau, trên bề mặt biểu bì được phủ một lớp cutin dày, trơn nhẵn. Sát lớp biểu bì là 1 lớp mô dày phiến gồm những tế bào xếp thành vòng không liên tục. Dưới mô dày là lớp mô mềm vỏ gồm 4-6 lớp tế bào hình bầu dục kích thước không đều nhau, sắp xếp lộn xộn, có vách cellulose mỏng; những chỗ thân lõm vào thì các tế bào có hình dạng hơi dẹt chừa những đạo.

- **Vùng trung trụ**: Trụ bì hóa mô cứng thành từng cụm hình vòng cung bao trên đầu bó libe gỗ, tế bào hình đa giác, vách dày, xếp khít nhau. Bên trong vòng mô cứng là những tế bào có màng mỏng bằng cellulose, hình đa giác, không đều nhau, có kích thước lớn hơn các tế bào mô mềm ở phía ngoài. Hệ thống dẫn kiểu hậu thể liên tục, gồm 16-18 bó libe gỗ không đều xếp thành 1 vòng. Mỗi bó gồm libe 1 là các tế bào có vách cellulose hình đa giác nhỏ, xếp lộn xộn, bị ép dẹp ở trên cùng; gỗ 1 sắp xếp ly tâm; libe 2 gồm nhiều lớp tế bào vách cellulose, hình chữ nhật hay đa giác, xếp xuyên tâm; mạch gỗ 2 hình đa giác hay tròn, kích thước to nhỏ không đều, xếp lộn xộn; mô mềm gỗ 2 là những tế bào hình đa giác, vách tẩm chất gỗ, xếp xuyên tâm. Mô mềm tủy đạo có hình đa giác, vách tẩm lignin, sắp xếp lộn xộn, kích thước không đều, càng vào trong tế bào càng to. Ở thân già, mô mềm tủy hóa mô cứng (Hình 5).



Hình 5. *Vi phẫu thân*

- Vi phẫu rễ

- Cấu tạo cấp 1

Vi phẫu rễ non có tiết diện bầu dục gần tròn, đối xứng qua trục, có 2 chỗ hơi lõm dọc theo trục.

Vùng vỏ: Chiếm khoảng ⅔ bán kính vi phẫu (đường kính vi phẫu 1mm). Tầng lông hút: 1 lớp tế bào hình đa giác, kích thước khá đều, nhiều tế bào mọc dài ra thành lông hút. Tầng chất bần gồm 1 lớp tế bào hình đa giác, xếp sát nhau. Mô mềm vỏ ngoài là mô mềm đạo, tế bào hình đa giác, kích thước không đều, xếp lộn xộn; mô mềm vỏ trong: 2-4 lớp tế bào hình đa giác gần bầu dục nằm ngang sắp xếp khá đều; kích thước nhỏ hơn các tế bào ở ngoài, để hở những đạo nhỏ ở góc tế bào. Giữa 2 lớp mô mềm là mô khuyết; thân càng già thì diện tích vùng mô này càng lớn. Nội bì đai Caspary rõ.

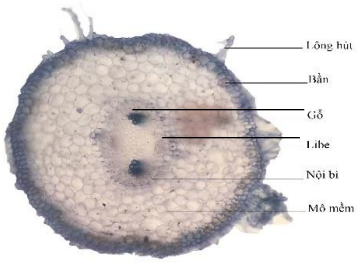
Vùng tủy: Trụ bì gồm 1 lớp tế bào hình đa giác, vách cellulose, xếp xen kẽ nội bì. Hệ thống dẫn gồm: 2 bó gỗ 1 và 2 bó libe 1 xếp xen kẽ nhau trên một vòng tròn. 2 bó gỗ xếp dọc theo trục đối xứng, 2 bó libe xếp đối xứng 2 bên trục. Mô mềm tủy gồm các tế bào hình đa giác, kích thước không đều, xếp khít nhau. Khi thân già hơn, 2 bó gỗ nhập lại với nhau thành một và chiếm tâm.

- Cấu tạo cấp 2

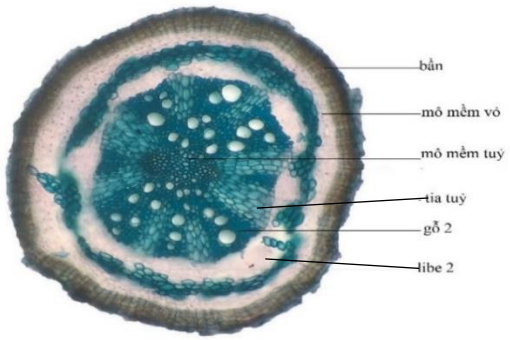
Vi phẫu rễ già có tiết diện bầu dục hơi tròn, đối xứng qua trục

Vùng vỏ: Chiếm khoảng 1/3 bán kính vi phẫu. Bần gồm 4-5 lớp tế bào hình chữ nhật xếp khá đều thành dãy xuyên tâm hay vòng đồng tâm. Mô mềm vỏ là mô mềm đạo gồm 2-3 lớp tế bào hình đa giác kích thước không đều, sắp xếp lộn xộn.

Vùng tủy: 2-3 lớp tế bào mô cứng bao quanh hệ thống dẫn; libe 2 gồm 4-5 lớp tế bào hình chữ nhật, sắp xếp đều thành dãy xuyên tâm; gỗ 2 nhiều; mạch gỗ to, tròn hay đa giác gần tròn. Mô mềm gỗ 2 là những tế bào hình đa giác, kích thước không đều; sắp xếp lộn xộn. Tia gỗ gồm 4-6 dãy tế bào hình đa giác, sắp xếp xuyên tâm giữa các bó gỗ. Vùng tuỷ đã hoá mô cứng (Hình 6-7).



Hình 6. *Vi phẫu rễ non*

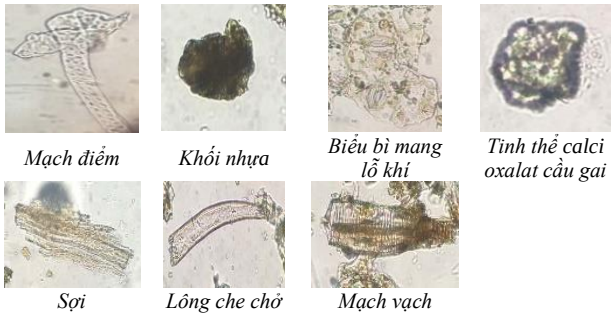


Hình 7. *Vi phẫu rễ già*

3.1.3. Các cấu tử trong bột dược liệu

Cảm quan: bột dược liệu có màu xanh đậm; có mùi thơm nhẹ.

Quan sát trên kính hiển vi, lá có các cấu tử bao gồm mạch điểm, khối nhựa, biểu bì mang lỗ khí, tinh thể calci oxalat cầu gai, sợi, lông che chở đơn bào, và mạch vạch (Hình 8).

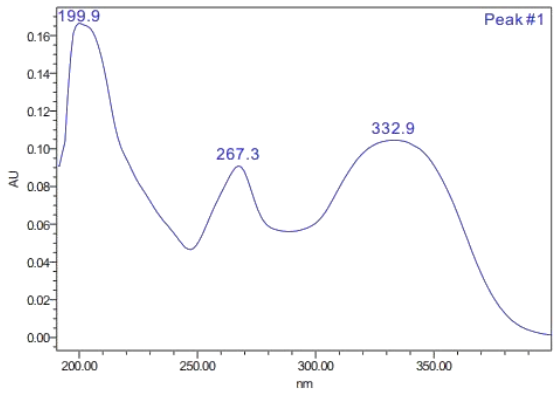


Hình 8. *Các cấu tử trong bột lá dây Sương Sâm*

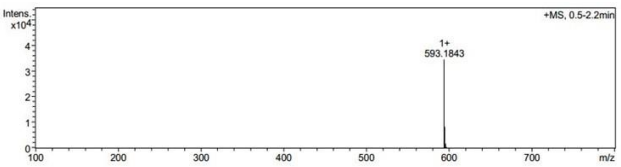
3.2. Kết quả nghiên cứu hóa học

*3.2.1. Hợp chất **1***

Dạng bột màu trắng, kém tan trong MeOH, không tan trong EtOAc. Trên bản mỏng Silica gel F_{254}, cho một vết tắt quang dưới UV 254 nm, hiện màu vàng với thuốc thử VS. Phổ UV cho thấy hợp chất **1** có 2 band hấp thu với λ_{max} ở 267,3 nm và 332,9 nm, có dạng của một flavonoid như tài liệu công bố (Hình 9, 10) [21].



Hình 9.** Phổ UV của hợp chất **1



Hình 10.** Phổ MS của hợp chất **1

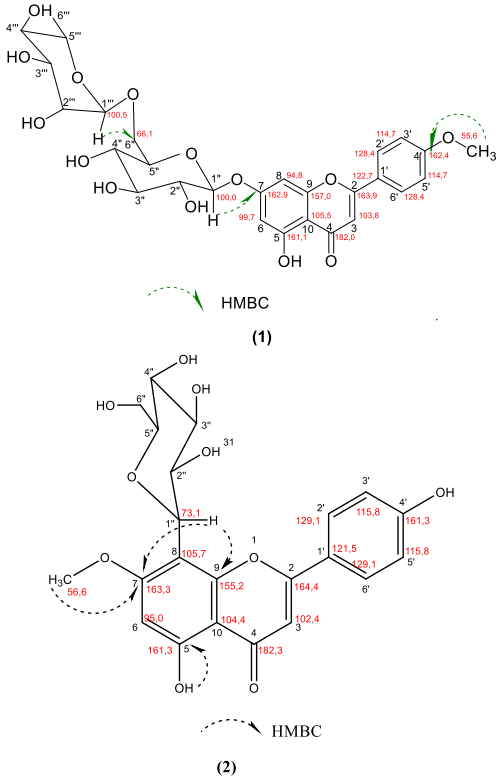
Phổ khối ESI-MS (positive) có mảnh căn bản *m/z* 593,1843 = $[M+H]^+$. Do đó, hợp chất **1** có số khối là 592,1843 (số khối chính xác (exact mass) theo lý thuyết là 592,17921), tương ứng với công thức phân tử dự đoán là $C_{28}H_{32}O_{14}$ với độ bất bão hòa **Ω** =13 (Hình 10).

Phổ ^{13}C-NMR (Bảng 1) có 26 tín hiệu carbon, trong đó 2 tín hiệu có cường độ cao có thể là tín hiệu của carbon đối xứng, nên hợp chất **1** có thể có 28 carbon trong cấu trúc. Thông tin từ các phổ đã nêu cùng với 9 tín hiệu cộng hưởng trong vùng 61 – 82 *ppm* và tín hiệu ở 17,8 *ppm* cho thấy, hợp chất **1** là một flavonoid glycosid với 2 đường, trong đó có một đường rhamnose. Trên phần khung flavonoid, hợp chất **1** có một carbon bậc IV cộng hưởng ở δ_C 182,0 *ppm* đặc trưng cho nhóm carbonyl C4. Cùng với tín hiệu cộng hưởng ở δ_C 103,8 *ppm* (C3) và δ_H (6,94 *ppm*; *s*) của một carbon bậc III cho thấy, hợp chất **1** là một dẫn chất flavon (không có nhóm OH ở C3). Hai tín hiệu carbon đối xứng ở 114,7 *ppm* và 128,4 *ppm* cho thấy 2 cặp carbon đối xứng này nằm ở vòng B có 1 nhóm thế O-R ở vị trí 4′. Tín hiệu ở 55,6 *ppm* cùng với thông tin trên phổ HMBC giúp xác định nhóm thế OR vừa nêu chính là nhóm O-methyl. Quan sát tương tác HSQC, tín hiệu δ_C 100,0 *ppm* có tương tác với tín hiệu δ_H 5,07 *ppm* (*d*; 7,5 Hz) cho thấy một đường còn lại của hợp chất **1** là O-*β*-D-glucose gắn ở vị trí C7. Quan sát tương quan HMBC cho thấy H-1 của rhmanose tương tác với H-6 của glucose. Vì vậy, hợp chất **1** được xác định là acacetin-7-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl (1→6)-*β*-D-glucopyranosid (acacetin 7-*O*-rutinosid), còn gọi là **linarin**. (Hình 11-(1))

***Bảng 1.** Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **1** (500 MHz, DMSO-d_6) so sánh với linarin (DMSO-d_6)*

Vị trí		Hợp chất 1			Linarin [22]	
		δ_C [A]	δ_H [B]	HMBC (H → Cn)	δ_C [C]	δ_H [D]
Acacetin	2	163,9	-	-	164,1	-
	3	103,8	6,94 *s* (1H)	2; 4; 10; 1′	103,9	6,93 *s* (1H)
	4	182,0	-	-	182,1	-
	5	161,1	-	-	161,3	-
	6	99,7	6,45 *d* (1H; 2,5 Hz)	5, 8, 10	99,8	6,44 *d* (1H; 2,5 Hz)
	7	162,9	-	-	163,0	-
	8	94,8	6,79 *d* (1H; 2,0 Hz)	6, 7, 9, 10	94,9	6,78 *d* (1H; 2,1 Hz)
	9	157,0	-	-	157,1	-
	10	105,5	-	-	105,6	-
	1′	122,7	-	-	122,8	-
	2′, 6′	128,4	8,05 *d* (2H; 9,0 Hz)	2′, 6′, 4′	128,6	8,04 *d* (2H, 8,9 Hz)
	3′, 5′	114,7	7,15 *d* (2H; 9,0 Hz)	1′, 4′, 3′, 5′	114,8	7,14 *d* (2H; 9,0 Hz)
	4′	162,4	-	-	162,5	-
	5-OH	-	12,9 *s* (1H)	5, 6, 10	-	12,92 *s* (1H)
	4′-OMe	55,6	3,86 *s* (3H)	4′	55,7	3,85 *s* (3H)
Glu	1″	100,0	5,07 *d* (1H; 7,5 Hz)	7, 5″	99,8	5,05 *d* (1H; 7,0 Hz)
	2″	73,1	3,28 *m* (1H)	3″	73,2	3,27 *m*
	3″	76,3	3,32 *m* (1H)	2″	76,4	3,29 *m*
	4″	70,7	3,48 *m* (1H)	–	70,9	3,14 *m*
	5″	75,7	3,61 *m* (1H)	3″, 6″	75,8	3,60 *m*
	6″	66,1	3,46 *m* (1H), 3,87 *s* (1H)	1‴	66,2	3,44 *m*
Rha	1‴	100,5	4,55 *s* (1H)	6″, 2‴, 5‴	100,5	4,55 *s* (1H)
	2‴	70,3	3,67 *m* (1H)	4‴	70,5	3,66 *m*
	3‴	69,6	3,17 *m* (1H)	5‴	69,8	3,46 *m*
	4‴	72,1	3,16 *m* (1H)	5‴, 6‴	72,2	3,14 *m*
	5‴	68,3	3,43 *m* (1H)	1‴, 4‴	68,5	3,40 *m*
	6‴	17,8	1,08 *d* (3H; 6,5 Hz)	4‴, 5‴	17,9	1,07 *d* (6,0)

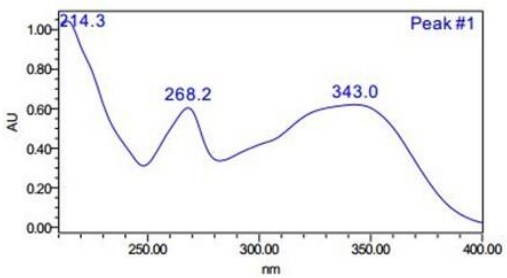
Ghi chú: [A]: 125 MHz; DMSO-d_6; [B]: 500 MHz, DMSO-d_6; [C]: 100 MHz; DMSO-d_6; [D]: 400 MHz, DMSO-d_6



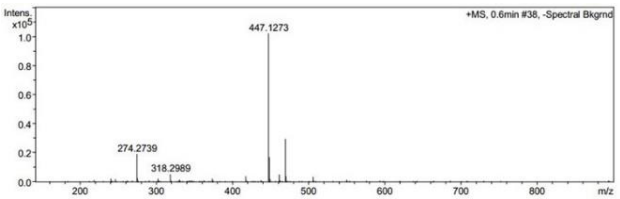
Hình 11. *Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất* ***1*** *(linarin) và* ***2*** *(isoswertisin)*

3.2.2. Hợp chất ***2***

Hợp chất **2** có màu vàng, kém tan trong EtOAc, tan trong MeOH. Trên bản mỏng Silica gel F_{254}, hợp chất **2** cho một vết tắt quang dưới UV 254, hiện màu vàng với thuốc thử VS. Phổ UV cho thấy, hợp chất **2** có hai band hấp thu, có λ_{max} ở 268,2 nm và 343,0 nm, có dạng của một flavonoid như tài liệu công bố [21]. Phổ ESI-MS (positive) của hợp chất **2** cho mảnh căn bản có *m/z* 447,1273 = $[M+H]^+$. Do đó hợp chất **2** có số khối 446,1273, dự đoán công thức phân tử là $C_{22}H_{22}O_{10}$, số khối chính xác theo tính toán là 446.1213, độ bất bão hòa **Ω** =12 (Hình 12 và 13).



Hình 12. *Phổ UV của hợp chất* ***2***



Hình 13. *Phổ MS của hợp chất* ***2***

Phổ ^{13}C-NMR (Bảng 2**)** hợp chất **2** cho 19 tín hiệu của carbon, trong đó có 2 tín hiệu cao có thể là của 2 cặp carbon đối xứng, 1 tín hiệu cao bất thường ở vùng trường thấp có thể là tín hiệu của 2 carbon bậc 4 trùng nhau. Do đó dự đoán hợp chất **2** có 22 carbon trong phân tử. Trong vùng 61-82 *ppm* có 6 tín hiệu đặc trưng cho đường C-glycosid. Với cấu trúc và tính chất như đã nêu, hợp chất **2** có thể là một flavonoid C-glycosid với phần đường 6 carbon, khung aglycon có 1 nhóm thế O-methyl. Tín hiệu 182,3 *ppm* đặc trưng cho nhóm carbonyl C_4. Tín hiệu cộng hưởng ở δ_C 102,4 *ppm* (C3) và δ_H (6,82 *ppm*; *s*) của một carbon bậc III cho thấy rằng hợp chất **2** là một dẫn chất flavon (không có nhóm OH ở C3). 2 tín hiệu carbon đối xứng ở δ_C 115,8 *ppm* và 129,1 *ppm* cho thấy 2 cặp carbon đối xứng này nằm ở vòng B có 1 nhóm thế OR ở vị trí 4′. Ở vùng trên 133 *ppm* có 6 tín hiệu carbon bậc 4 gắn với oxy, trong đó có các carbon ở vị trí 2, 4, 5, 9 và 4′. Do đó, trên vòng A của hợp chất **2** còn một carbon mang oxy ở vị trí 6, 7 hoặc 8.

Dựa vào thông tin từ phổ HSQC và HMBC, xác định được C_6 là carbon bậc 3, nhóm OMe gắn ở C_7 và đường glucose gắn vào C_8. Vậy nhóm thế trên vòng B là 4′-OH. Dựa vào tín hiệu của proton anomer, xác định được phần đường là *β*-D-glucose. Vì vậy, hợp chất **2** được xác định là 8-C-*β*-D-glucopyranosyl-genkwanin, còn được gọi là **isoswertisin** ((Hình 11-(2))

Bảng 2. *Dữ liệu phổ NMR của hợp chất* ***2*** *(500 MHz, DMSO-d6) so sánh với isoswertisin (DMSO-d6)*

Vị trí	**Hợp chất 2**			**Isoswertisin [23]**	
	δ_C [A]	δ_H [B]	HMBC (H → C_n)	δ_C [C]	δ_H [D]
2	164,4	-	-	164,4	-
3	102,4	6,82 *s* (1H)	2, 3, 4, 10, 1′	102,3	6,82 *s*
4	182,3	-	-	182,2	-
5	161,3	-	-	161,4	-
6	95,0	6,52 *s* (1H)	5, 10	95,2	6,49 *s*
7	163,3	-	-	163,0	-
8	105,7	-	-	105,6	-
9	155,2	-	-	154,9	-
10	104,4	-	-	104,6	-
1′	121,5	-	-	121,3	-
2′, 6′	129,1	8,04 *d* (2H; 9,0 Hz)	4′, 2′, 6′	129,0	8,04 *d* (9,0 Hz)
3′, 5′	115,8	6,90 *d* (2H; 9,0 Hz)	1′, 4′, 3′, 5′	115,9	6,89 *d* (9,0 Hz)
4′	161,3	-	–	161,0	N/A
5–OH	-	13,34 *s* (1H)	5, 6, 10	-	13,20 *s*
4′–OH	-	10,38 *s* (1H)	–	-	N/A
7–OMe	56,6	3,88 *s* (3H)	7	56,6	3,88 *s*
1″	73,1	4,73 *d* (1H; 10,0 Hz)	7, 8, 9, 2″, 3″	73,4	4,80 *d* (10,0 Hz)
2″	70,8	3,86 *m* (1H)	8, 1″, 3″	-	N/A
3″	78,6	3,28 *m* (1H)	4″	79,8	3,38 *m*
4″	70,5	3,39 *m* (1H)	5″, 6″	70,5	3,38 *m*
5″	81,9	3,24 *m* (1H)	3″, 6″	81,8	3,22 *m*
6″	61,3	3,77 *m* (1H); 3,54 *m* (1H)	4″, 5″	61,0	3,75 *br d* (12,5 Hz); 3,54 *dd* (4,5; 12,5 Hz)
6″–XH_2 OH	-	4,58 *t* (1H; 5,5 Hz)	5″, 6″	-	N/A

Ghi chú: [A]: 125 MHz; DMSO-d6; [B]: 500 MHz, DMSO-d6; [C]: 125 MHz; DMSO-d6; [D]: 500 MHz, DMSO-d6. N/A: Không có dữ liệu

4. Bàn luận

So với tài liệu đã công bố về hình thái học dây Sương sâm [1], nghiên cứu này đã mô tả chi tiết đồng thời có đầy đủ hình minh họa các bộ phận của cây, kết quả về hình thái học này giúp xác định dược liệu dây Sương sâm.

Cho đến nay, hiện chưa tìm thấy công bố nào về vi phẫu và các cấu tử trong bột dược liệu dây Sương sâm. Công bố trong nghiên cứu này hữu ích trong việc xác định và xây dựng tiêu chuẩn cho dược liệu lá dây Sương sâm.

Linarin đã được công bố là thành phần của một số loài như *Buddleia cordata* Scrophulariaceae. *Valeriana officinalis, Valeriana wallichii* Valerianaceae, *Mentha avensis* Lamiaceae. Một số nghiên cứu cho thấy, linarin là một chất ức chế chọn lọc acetylcholinesterase, có tác dụng an thần, gây ngủ, bảo vệ thần kinh [24-27]. Cho đến nay, linarin chưa thấy công bố trong chi *Tiliacora*. Lần đầu tiên, linarin được tìm thấy trong *T. triandra*.

Isoswertisin đã được tìm thấy, ở một số loài như *Mollugo distica* Molluginaceae, *Deschampsia antarctica* Poaceae, *Passiflora sexflora* Passifloraceae, *Andrographis paniculata* Acanthaceae, *Peperomia obtusifolia* Piperaceae [23], [28-32]. Isoswertisin và các flavonoid khác từ rễ *Cayaponia tayuya* có tác dụng chống viêm [33]. Cho đến nay, isoswertisin cũng chưa thấy có tài liệu công bố trong chi *Tiliacora* và lần đầu tiên được tìm thấy ở *T. triandra*.

5. Kết luận

Trong nghiên cứu này, các đặc điểm hình thái thực vật đã được mô tả chi tiết. Cấu tạo vi phẫu rễ, thân, lá đã được khảo sát đầy đủ. Bên cạnh đó, các cấu tử trong bột lá dây Sương sâm đã được làm sáng tỏ. Kết quả về thực vật học trong nghiên cứu này rất hữu ích trong việc xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu dây Sương sâm. Trong nghiên cứu hóa học, hai hợp chất thuộc nhóm flavonoid là linarin và isoswertisin lần đầu tiên được phân lập từ lá dây Sương sâm. Kết quả nghiên cứu hóa học làm sáng tỏ thành phần hóa học cũng như cách phân lập các thành phần dùng để làm chất chuẩn trong kiểm nghiệm dược liệu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] V. V. Chi, *Dictionary of Vietnamese Medicinal Plants*, Medical Publishing House, Hanoi, 2012, tr. 774, 775.

[2] J. Singthong *et al.*, "Extraction and physicochemical characterisation of polysaccharide gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves", *Food Chemistry*, vol. 114, no. 4, pp. 1301-1307, 2009.

[3] B. Tantisewie *et al.*, *The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology*, Elservier, 41, 1992, pp. 1-40.

[4] P. H. Ho, *Vietnamese Flora. Volume 1*. Youth Publishing House, 2007, p. 336.

[5] N. T. Ban, *Catalogue of Vietnamese Plant Species*, Volume 2, Agriculture Publishing House, Hanoi, 2003.

[6] P. Sriket, "Chemical components and antioxidant activities of Thai local vegetables", *KMITL Science and Technology Journal* Part B, vol. 14, no. 1, pp. 18-24, 2014.

[7] N. Phunchago *et al.*, "*Tiliacora triandra*, an anti-intoxication plant, improves memory impairment, neurodegeneration, cholinergic function, and oxidative stress in hippocampus of ethanol dependence rats", *Oxidative medicine and cellular longevity*, p. 1-5, 2015.

[8] AK. Ray *et al.*, "A diphenylbisbenzylisoquinoline alkaloid from *Tiliacora racemosa*", *Phytochemistry*, vol. 29, no. 3, pp. 1020-1022, 1990.

[9] M. Phadungkit *et al.*, "Phytochemical screening, antioxidant and antimutagenic activities of selected Thai edible plant extracts", *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 6, no. 5, pp. 662-666, 2012.

[10] K. Pavanand *et al.*, "Antimalarial activity of *Tiliacora triandra* diels against *Plasmodium falciparum* in vitro", *Phytotherapy Research*, vol. 3, no. 5, pp. 215-217, 1989.

[11] S. Sureram *et al.*, "Antimycobacterial activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Tiliacora triandra* against multidrug-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis*", *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 22, no. 8, pp. 2902-2095, 2012.

[12] P. Song *et al.*, "*Tiliacora triandra* extract and its major constituent attenuates diabetic kidney and testicular impairment by modulating redox imbalance and pro-inflammatory responses in rats", *Journal of the science of food and agriculture*, vol. 101, no. 4, pp. 1598–1608, 2021.

[13] E. A.. Makinde *et al.*, "Antidiabetic, antioxidant and antimicrobial activity of the aerial part of *Tiliacora triandra*", *South African Journal of Botany*, vol. 125, pp. 337-343, 2019.

[14] J. D. Phillipson *et al.*, "Can ethnopharmacology contribute to the development of antimalarial agents?", *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 32, no. 1-3, pp. 155-165, 1991.

[15] M. Molander *et al.*, "Cross-cultural comparison of medicinal floras used against snakebites", *Journal of ethnopharmacology*, vol. 139, no. 3, pp. 863-872, 2012.

[16] T. Nutmakul *et al.*, "Phytochemical and pharmacological activity of *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels", *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, vol. 43, no. 5, pp.5-8, 2021.

[17] A. Chaveerach *et al.*, "Chemical constituents, antioxidant property, cytotoxicity and genotoxicity of *Tiliacora triandra*", *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, vol. 8, no. 5, pp. 722-729, 2016.

[18] F. Ikegami *et al.*, "Chemical and biological studies on some Thai medicinal plants", *Journal of Science Society*, vol. 16, pp. 25-31, 1990.

[19] R.F. Norman *et al.*, "Thai Medicinal Plants Recommended for Primary Health Care System", *Mahidol University, Bangkok*, p. 402, 1992.

[20] J. Singthong, R. Oonsivilai, Structural and Rheological Properties of Yanang Gum (*Tiliacora triandra*). *Foods.* 2022, 11, 2003.

[21] T. Mabry *et al.*, *The systematic identification of flavonoids*, Springer Science & Business Media, 2012.

[22] L. Huynh, "Iridoids and flavonoids from *Valeriana hardwickii* Wall". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 5, no. 3, p. 245, 2016.

[23] J. d. S. Mota *et al.*, "Isoswertisin flavones and other constituents from *Peperomia obtusifolia*", *Natural product research*, vol. 25, no. 1, pp. 1-7, 2011.

[24] M. Martínez-Vázquez *et al.*, "Analgesic and antipyretic activities of an aqueous extract and of the flavone linarin of *Buddleia cordata*", *Planta medica*, vol. 62, no. 02, pp. 137-140, 1996.

[25] P. P. Oinonen *et al.*, "Linarin, a selective acetylcholinesterase inhibitor from *Mentha arvensis*", *Fitoterapia*, vol. 77, no. 6, pp. 429-434, 2006.

[26] P. W. Thies, "Linarin-isovalerianate, a currently unknown flavonoid from *Valeriana wallichii* DC 6. Report on the active substances of Valeriana", *Planta medica*, vol. 16, no. 4, p. 363, 1968.

[27] S. Fernández *et al.*, "Sedative and sleep-enhancing properties of linarin, a flavonoid-isolated from *Valeriana officinalis*", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 77, no. 2, pp. 399-404, 2004.

[28] J. Chopin *et al.*, "New C-glycosylflavones from *Mollugo distica*", *Phytochemistry*, vol. 17, no. 2, pp. 299-300, 1978.

[29] K. R. Markham, "Isoswertiajaponin 2″-O-β-arabinopyranoside and other flavone-C-glycosides from the Antarctic grass *Deschampsia antarctica*", *Phytochemistry*, vol. 36, no. 5, pp. 1323-1326, 1994.

[30] S. McCormick *et al.*, "The flavonoids of *Passiflora sexflora*", *Journal of Natural Products*, vol. 45, no. 6, pp. 782-782, 1982.

[31] W. Tian-Shung *et al.*, "Flavonoids and ent-labdane diterpenoids from *Andrographis paniculata* and their antiplatelet aggregatory and vasorelaxing effects", *Journal of Asian natural products research*, vol. 10, no. 1, pp. 17-24, 2008.

[32] J. d. S. Mota *et al.*, "Isoswertisin flavones and other constituents from *Peperomia obtusifolia*", *Natural product research*, vol. 25, no. 1, pp. 1-7, 2011.

[33] A. Silvia *et al.*, "Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Cayaponia tayuya* roots", *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 121, no. 2, pp. 333-337, 2009.