



Đặc điểm thực vật và thành phần hóa học của cây Đơn răng cưa (*Maesa indica* (Roxb.) Sweet)

BOTANICAL CHARACTERISTICS AND CHEMICAL CONSTITUENTS OF *MAESA INDICA* (ROXB.) SWEET

Nguyễn Thị Hiền¹, Trần Thị Hồng Nhung¹, Lê Khánh Huyền²
Ngô Thúy Vân¹, Trần Huyền Anh¹, Nguyễn Thị Bích Ngọc¹

¹ Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam

² Công ty TNHH Dược liệu HerbLab

TÓM TẮT

Mục tiêu: Mô tả đặc điểm thực vật, định tính các nhóm chất chính và định lượng saponin toàn phần trong cây Đơn răng cưa (*Maesa indica*) bằng quang phổ UV-Vis.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Đơn răng cưa được thu hái tại tỉnh Tuyên Quang. Mẫu được nghiên cứu đặc điểm hình thái, vi học và xác định sơ bộ thành phần hóa học. Khảo sát điều kiện tối ưu chiết xuất lá; định lượng saponin toàn phần tính theo diosgenin bằng phương pháp UV-Vis; tiến hành thẩm định phương pháp theo tiêu chuẩn AOAC năm 2019 và áp dụng phương pháp vừa xây dựng được đánh giá hàm lượng saponin toàn phần trong cây Đơn răng cưa.

Kết quả: Các đặc điểm hình thái, đặc điểm vi học và sơ bộ thành phần hóa học phần trên mặt đất của cây Đơn răng cưa. Quy trình chiết xuất tối ưu gồm: Dung môi ethanol 90%, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1:20 (g/mL), thời gian chiết 180 phút, tốc độ khuấy từ mức 3. Hàm lượng saponin toàn phần trong lá dao động $0,4935 \pm 0,0018\%$ (tính theo diosgenin).

Kết luận: Nghiên cứu đã cung cấp dữ liệu khoa học về đặc điểm thực vật học, góp phần giám định và tiêu chuẩn hóa dược liệu *Maesa indica*. Quy trình chiết xuất lá cây được tối ưu hóa tạo tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng trong dược phẩm.

Từ khóa: Đơn răng cưa, *Maesa indica*, saponin toàn phần, diosgenin, chiết xuất, UV-Vis.

ABSTRACT

Objectives: To describe the botanical characteristics, perform qualitative analysis of the main chemical groups, and quantitatively determine the total saponin content in *Maesa indica* (Đơn răng cưa) using UV-Vis spectrophotometry.

Subjects and methods: *Maesa indica* samples were collected from Tuyen Quang province, Vietnam. The plant material was examined for morphological features, microscopic (anatomical) characteristics, and subjected to preliminary phytochemical analysis. Optimal extraction conditions of the leaves were investigated using magnetic stirring extraction. Total saponin content was quantified as diosgenin equivalents employing UV-Vis spectrophotometry. The analytical method was validated according to AOAC (2019) guidelines and validated method was then applied to determine the total saponin content in the aerial parts of *Maesa indica*.

Results: The morphological characteristics, microscopic features, and preliminary chemical composition of the aerial parts of *Maesa indica* were documented. The optimal extraction process was established as follows: 90% ethanol as solvent, drug-to-solvent ratio of 1:20 (g/mL), extraction time of 180 minutes, and magnetic stirring speed at level 3. The total saponin content in the leaves ranged from $0,4935 \pm 0,0018\%$ (calculated as diosgenin).

Conclusion: This study provides scientific data on the botanical characteristics of *Maesa indica*, contributing to the identification and standardization of the medicinal material. The optimized leaf extraction procedure lays a foundation for further pharmaceutical application research.

Keywords: *Maesa indica*, total saponins, diosgenin, extraction, UV-Vis spectrophotometry.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Đơn răng cưa (*Maesa indica* (Roxb.) Sweet) có nguồn gốc từ Nam Á và Đông Nam Á, mọc hoang rải rác ở rừng thứ sinh, ven suối, ven rừng ẩm. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy trong cây có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quan trọng gồm phenolic acid, flavonoid,

alcaloid, glycosid, saponin và carbohydrat [1]. Đặc biệt, saponin là nhóm hợp chất nổi bật đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn [2]. Tuy nhiên cho đến nay, ở Việt Nam cũng như trên thế giới vẫn chưa có nhiều nghiên cứu khoa học về đặc điểm thực vật và thành phần hóa học về Đơn răng cưa. Với những

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hiền
Điện thoại: 0965765929
Email: hien.duochanoi@gmail.com

Ngày nhận bài: 17/7/2025
Ngày chấp nhận đăng: 15/12/2025
Mã DOI: <https://doi.org/10.60117/vjmap.v66i01.474>



tiềm năng chưa được khai thác, nghiên cứu về cây Đơn răng cưa là cần thiết, góp phần hoàn thiện cơ sở khoa học về đặc điểm thực vật, bước đầu cung cấp dữ liệu về thành phần hóa học về cây Đơn răng cưa ở Việt Nam, nhóm nghiên cứu tiến hành với mục tiêu: Mô tả đặc điểm thực vật, định tính các nhóm chất chính và định lượng saponin toàn phần trong cây đơn răng cưa (*Maesa indica*) bằng quang phổ UV-Vis.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Toàn cây trên mặt đất của cây Đơn răng cưa được thu hái tại xã Bình An, huyện Lâm Bình, tỉnh Tuyên Quang vào

tháng 04/2024. Mẫu được làm tiêu bản khô lưu tại Bộ môn Thực vật - Dược liệu, Học viện Y - Dược học cổ truyền với số hiệu tiêu bản ĐRC 01. Mẫu cây được giám định tên khoa học tại Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật. Mẫu cây tươi được xử lý để nghiên cứu đặc điểm vi phẫu và mẫu phơi sấy khô, nghiền bột nửa mịn để nghiên cứu về đặc điểm vi học bột dược liệu, định tính thành phần hóa học, định lượng saponin toàn phần bằng quang phổ UV - Vis.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được triển khai tại Bộ môn Thực vật - Dược liệu, Học viện Y - Dược học cổ truyền từ tháng 11/2024 đến tháng 4/2025.

Hóa chất, dung môi

Hóa chất, dung môi sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên dung môi, hóa chất	Nguồn gốc	Tiêu chuẩn
1	Diosgenin	Trung Quốc	Độ tinh khiết ≥ 98%, Số lô: CFN 99515
2	Ethanol tuyệt đối	Trung Quốc	Tiêu chuẩn nhà sản xuất
3	Ethyl acetat	Trung Quốc	Tiêu chuẩn nhà sản xuất
4	Anisaldehyd	Trung Quốc	Tiêu chuẩn nhà sản xuất
5	Acid sulfuric	Trung Quốc	Tiêu chuẩn nhà sản xuất
6	Nước cất	Việt Nam	Tiêu chuẩn cơ sở

Phương pháp nghiên cứu

Mô tả đặc điểm thực vật:

Nghiên cứu về đặc điểm hình thái: Theo phương pháp mô tả phân tích [3],[4].

Nghiên cứu về đặc điểm vi học:

- Vi phẫu: Mẫu tươi thân, lá, cuống lá được cắt, tẩy và nhuộm bằng phương pháp nhuộm kép, quan sát dưới kính hiển vi [4].
- Bột dược liệu: Thân, lá được sấy khô ở 60°C, nghiền nhỏ thành bột nửa mịn, lên tiêu bản, quan sát dưới kính hiển vi [4].

Định tính bằng phản ứng hóa học [5],[6]:

Định tính bằng phản ứng hóa học thường quy và sắc ký lớp mỏng [5],[6]: Tiến hành chạy sắc ký lớp mỏng dịch chiết lá, thân và chuẩn diosgenin trên bản mỏng Silicagel GF254 trong dung môi thích hợp. Quan sát ở bước sóng UV 254nm, 366nm và ánh sáng trắng. Sau đó phun thuốc thử H₂SO₄ 10% trong EtOH, sấy ở 120°C đến khi hiện vết.

Định lượng:

Xây dựng phương pháp định lượng diosgenin toàn phần

- Cơ sở chọn diosgenin làm chất chuẩn: Diosgenin là một sapogenin điển hình, có sẵn với độ tinh khiết cao, thường được sử dụng để định lượng saponin toàn phần trong nhiều loài thực vật, đảm bảo tính chính xác và khả năng so sánh của kết quả.

Để đảm bảo cơ sở cho việc định lượng, đề tài đã sử

dụng sắc ký lớp mỏng (TLC) để xác nhận sự hiện diện của Diosgenin trong dịch chiết từ Đơn răng cưa. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu nội bộ (chưa công bố) của nhóm, trong đó Diosgenin đã được phân lập thành công từ *Maesa indica*, củng cố tính phù hợp của lý do lựa chọn hợp chất này làm chất chuẩn.

- Khảo sát bước sóng hấp thụ cực đại.

Hút chính xác 1,0 ml dung dịch chuẩn, thêm 1 ml dung dịch A (anisaldehyd pha trong ethyl acetat tỷ lệ 1% (v/v)) và 1 ml dung dịch B (H₂SO₄ và ethyl acetat, tỷ lệ thể tích 1:1). Hỗn hợp dung dịch được đun cách thủy trong nước phòng 15 phút. Chuyển dung dịch vào bình định mức, bổ sung ethyl acetat vừa đủ 10,0 ml, lắc đều. Quét phổ dung dịch sau phản ứng trong vùng từ 200 nm đến 800 nm, tìm cực đại hấp thụ. Mẫu chứng được thực hiện tương tự nhưng không có dung dịch A và dung dịch B.

- Khảo sát quy trình chiết xuất: Khảo sát phương pháp chiết hồi lưu, khuấy từ, siêu âm. Khảo sát dung môi nước, EtOH 30%, 60%, 90%. Khảo sát tỉ lệ dược liệu/dung môi 1: 10, 1: 20, 1:30, 1: 40. Khảo sát thời gian chiết 60 phút, 120 phút, 180 phút, 240 phút. Khảo sát tốc độ khuấy mức 2 (300-500 vòng/ phút), mức 3 (500-700 vòng/ phút), mức 4 (700-1000 vòng/ phút).

- Xây dựng phương pháp định lượng saponin toàn phần bằng quang phổ UV-Vis.

Nguyên tắc: Dựa trên phản ứng tạo màu của saponin



steroid với H_2SO_4 [2], H_2SO_4 đặc proton hóa oxy trong vòng spiroketal của diosgenin, dẫn đến mở vòng và tạo thành enol ở vị trí C20–C22. Đồng thời, H_2SO_4 proton hóa nhóm carbonyl của anisaldehyd, qua đó hoạt hóa carbonyl. Enol sinh ra từ diosgenin thực hiện phản ứng tấn công carbon carbonyl đã được hoạt hóa, gây ra sự ngưng tụ aldol, sau đó là quá trình loại nước (dehydration). Sản phẩm hình thành có hệ liên hợp π mở rộng (vòng thơm – cầu nối $C=C - C=O$) và hấp thụ ánh sáng trong vùng khả kiến.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1g dược liệu, chiết với dung môi ethanol, các điều kiện chiết khác đã được khảo sát. Lọc, lấy dịch chiết đem cô cách thủy tới cạn. Hòa tan cặn trong 8,0 ml ethyl acetat, siêu âm cho tan, lọc rồi thêm Ethyl acetat đến vừa đủ 10,0 ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 1,0 mg Diosgenin và hòa tan bằng 5ml dung dịch Ethyl acetat, siêu âm cho tan hoàn toàn. Chuyển dung dịch vào bình định mức, bổ sung Ethyl acetat vừa đủ 10,0 ml, lắc đều.

Phản ứng tạo màu: Hút chính xác 1,0 ml dung dịch thử/chuẩn, thêm 1 ml dung dịch A (anisaldehyd pha trong ethyl acetat tỷ lệ 1% (v/v)) và 1 ml dung dịch B (H_2SO_4 và ethyl acetat, tỷ lệ thể tích 1:1). Hỗn hợp dung dịch được đun cách thủy trong nước $60^\circ C$ trong 20 phút, làm lạnh trong bể nước ở nhiệt độ phòng 15 phút. Chuyển dung dịch vào bình định mức, bổ sung Ethyl acetat vừa đủ 10,0 ml, lắc đều. Thẩm định quy trình định lượng saponin toàn phần bằng phương pháp quang phổ UV - Vis [8]

Độ đặc hiệu:

So sánh phổ hấp thụ của 3 mẫu: mẫu chứng, mẫu thử và mẫu chuẩn sau phản ứng tạo màu. Yêu cầu: Phổ hấp thụ của mẫu thử phải tương đồng với phổ hấp thụ của mẫu chuẩn về vị trí đỉnh hấp thụ và dạng đường cong phổ.

Độ tuyến tính:

Tiến hành pha 1 dãy dung dịch chuẩn có nồng độ biến thiên, ít nhất 5 điểm nồng độ khác nhau. Đo phổ hấp thụ của các dung dịch chuẩn từ đó xác định sự phụ thuộc tuyến tính giữa mật độ quang và nồng độ bằng phương trình hồi quy tuyến tính. Yêu cầu: hệ số tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ $R^2 \geq 0,995$.

Độ lặp lại:

Tiến hành định lượng ít nhất 6 lần trên cùng một mẫu dược liệu. Xác định kết quả định lượng theo phương trình đường chuẩn đã xây dựng. Tính độ lệch chuẩn tương đối

giữa các giá trị của các lần định lượng. Yêu cầu: đối với mẫu có hàm lượng 0,1 - 1,0%, độ lặp lại của phương pháp $RSD \leq 5\%$; đối với mẫu có hàm lượng 0,01-0,1%, độ lặp lại của phương pháp $RSD \leq 8\%$.

Độ đúng:

Độ đúng được xác định bằng phương pháp thêm vào mẫu thử một lượng chính xác dung dịch chuẩn sao cho tổng nồng độ của chúng vẫn nằm trong khoảng tuyến tính đã khảo sát, chiết và tiến hành phân tích. Tính lượng chuẩn tìm lại được. Làm 6 lần song song. Yêu cầu: đối với mẫu có hàm lượng 0,1 - 1,0% lượng chuẩn tìm lại phải nằm trong khoảng 95 - 105%; đối với mẫu có hàm lượng 0,01 - 0,1%, lượng chuẩn tìm lại phải nằm trong khoảng 90 - 110%.

Đánh giá hàm lượng diosgenin toàn phần trong cây

Đơn rằng cưa:

Áp dụng phương pháp định lượng saponin toàn phần để đánh giá các mẫu cây Đơn rằng cưa. Hàm lượng saponin toàn phần được tính theo công thức:

$$HL = \frac{C \times k \times V_{\text{ban đầu}} \times 100}{m_{\text{cán đo}} \times 10^6 \times (100\% - A\%)} \times \frac{m_{\text{cán ban đầu}}}{m_{\text{dược liệu}} \times (100\% - B\%)} (\%)$$

Trong đó: C là nồng độ diosgenin trong dung dịch thử ($\mu g/ml$); A là độ ẩm của cặn (%); B là độ ẩm của dược liệu (%); $V_{\text{ban đầu}}$ là thể tích ban đầu (ml); $m_{\text{cán ban đầu}}$ là khối lượng cặn sau khi cô (g); $m_{\text{cán đo}}$ là khối lượng cặn đem đi đo (g); $m_{\text{dược liệu}}$ là khối lượng dược liệu đem đi chiết (g); k là hệ số pha loãng.

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Xử lý kết quả thực nghiệm bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010 và được biểu diễn dưới dạng $M \pm SE$ (M: Giá trị trung bình từng lô, SE: Sai số chuẩn). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

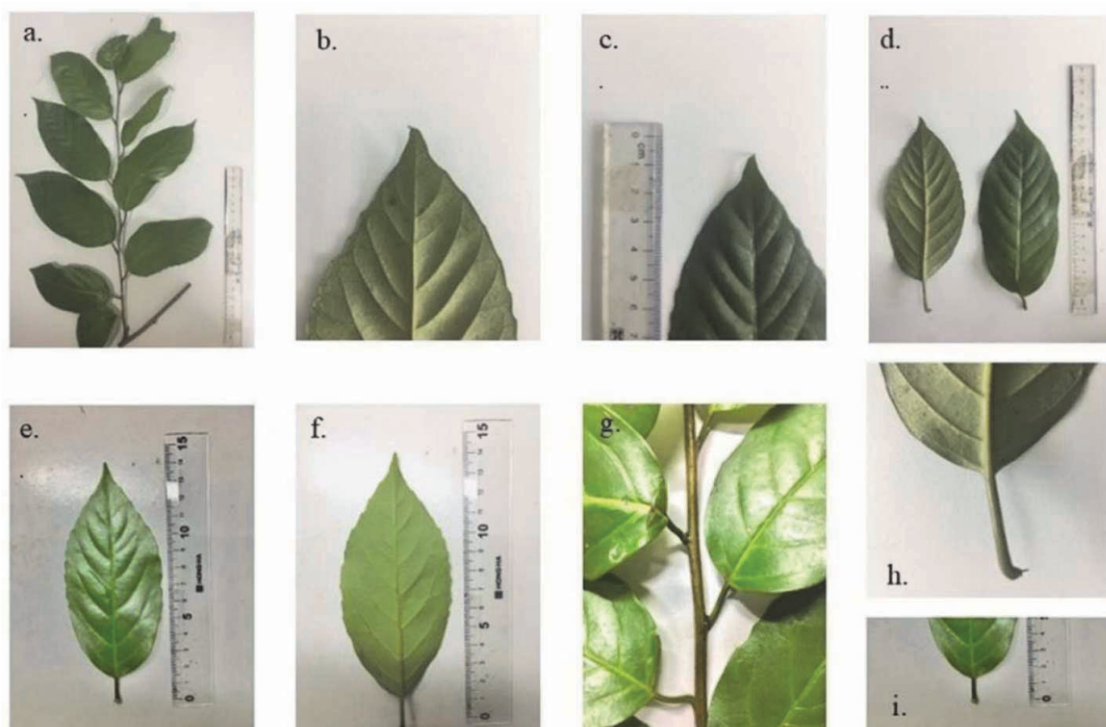
Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các quy định đạo đức trong khoa học và kiểm nghiệm. Mẫu Đơn rằng cưa được thu hái hợp pháp, giám định chính xác tên khoa học, xử lý đúng quy trình. Dữ liệu phân tích được ghi nhận trung thực, đảm bảo độ tin cậy và khách quan.

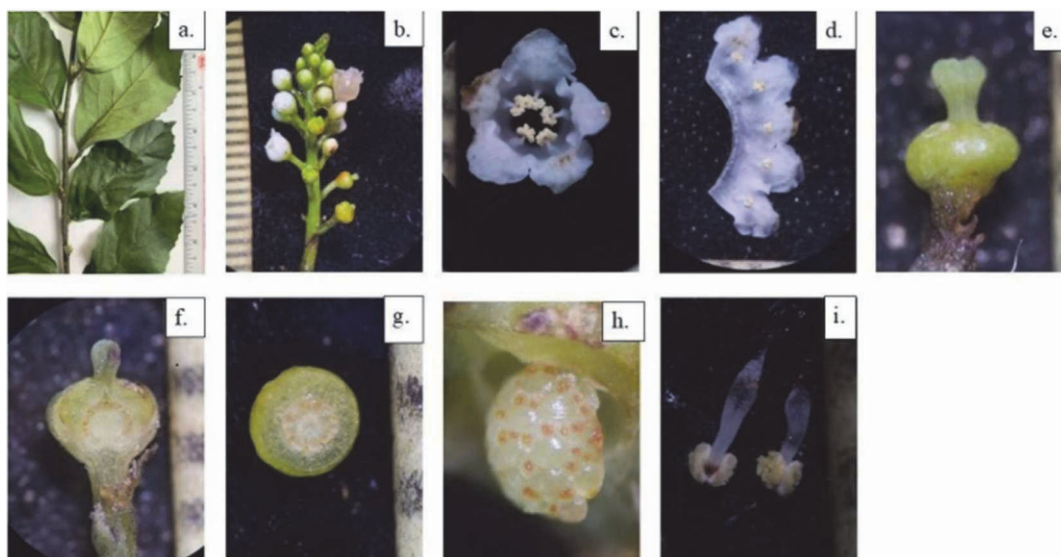
KẾT QUẢ

Mô tả đặc điểm thực vật

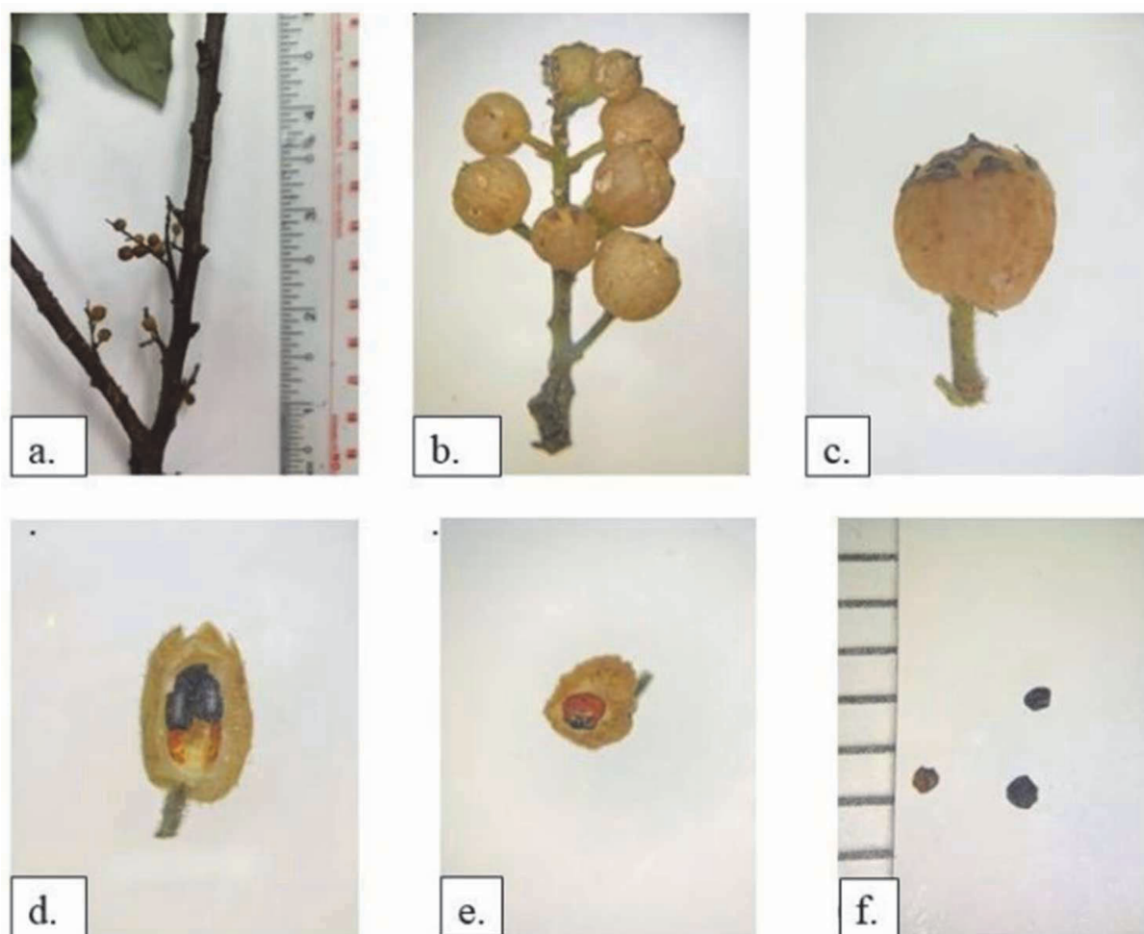
Đặc điểm hình thái thực vật:



Hình 1. Hình ảnh cơ quan sinh dưỡng loài Đôn rắng cưa
(a- Cành mang lá, b- Ngọn lá mặt dưới, c- Ngọn lá mặt trên, d- Hai mặt của lá, e- Lá mặt trên, f- Lá mặt dưới, g- Thân cành, h- Gốc lá mặt dưới, i- Gốc lá trên mặt)



Hình 2. Hình ảnh cơ quan sinh sản loài Đôn rắng cưa- Hoa
(a,b- Cành mang hoa, c- Hoa, d- Cành hoa và nhị hoa, e- Nhụy hoa, f- Mặt cắt dọc của bộ nhụy, g- Mặt cắt ngang của bầu nhụy, h- Noãn, i- Nhị hoa)



Hình 3. Hình ảnh cơ quan sinh sản loài Đơn răng cưa - Quả, hạt
(a,b- Cảnh mang quả, c- Quả, d- Mặt cắt bổ dọc quả, e- Mặt cắt ngang quả, f- hạt)

Cây bụi, sống lâu năm, cao đến 3 m. Vỏ thân màu xanh, có chấm nhỏ màu nâu đỏ, lõi thân già có màu đỏ. Phiến lá hình trứng, trái xoan cỡ 6 - 18 x 4 - 10 cm. Phiến lá mỏng, hai mặt nhẵn, gốc lá hình tròn hay gần tròn, đầu có mũi nhọn, gân lông chim, nổi rõ ở 2 mặt, mép lá có khía răng. Cuống có lông mềm, màu trắng, kích thước cỡ 0,5 - 1 cm. Hoa mọc thành chùm ở nách lá, 4 - 6 hoa mỗi cụm, cụm hoa dài 2 - 4 cm; cuống dài 0,5 - 1 cm; Lá bắc hình trứng dài 1,0-1,5 mm, vẩy dày, mép nguyên, đỉnh nhọn, mọc ở sát đế hoa; đài hoa hình trứng rộng, mép nguyên; tràng hoa gồm 5 cánh, màu trắng, hình chuông, chỉ nhị dạng mảnh, dài trong suốt hoặc hơi trắng, thuôn dần về phía gốc, bộ nhị 5, đều, rời, dính vào giữa ống tràng hoa; bao phấn màu vàng nhạt, nằm ở đầu chỉ nhị, bao phấn dạng bầu dục hoặc gần tròn, chia thành hai túi phần đối xứng; bao phấn dính gốc, nứt dọc, hướng trong; bầu nhụy một ô chứa nhiều noãn, bầu trên, hình cầu, đường kính cỡ 1 cm; vòi nhụy hình ống dài cỡ 0,8 mm, núm nhụy hình bán cầu, chia 2-3 thùy, dính

noãn vách. Loại quả mọng; quả hình tròn hoặc gần tròn, đường kính cỡ 4 mm; mọc thành chùm ở nách lá, màu cam đến nâu nhạt, nhẵn bóng hoặc có lông ngắn màu trắng, vỏ quả mỏng; lá bắc hình tam giác- hình trứng mọc xen kẽ gần gốc quả; cuống dài 1 - 3 mm; các thùy đài hoa khép lại ở đỉnh quả. Hạt nhiều, màu đen hoặc nâu sẫm có góc cạnh, dài cỡ 0,5 mm.

Xác định tên khoa học:

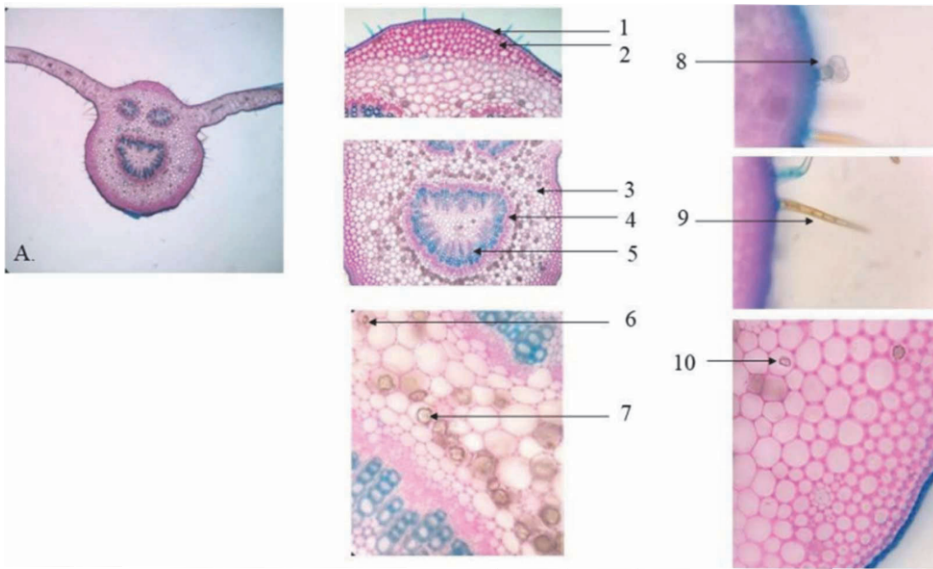
Sơ sánh đặc điểm hình thái của mẫu nghiên cứu với loài *M. indica* trong Hệ thực vật chí Trung Quốc, khóa lưỡng phân chi *Maesa* và kết quả giám định tại Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật đã xác định được tên khoa học của cây Đơn răng cưa như sau:

Tên khoa học: *Maesa indica* (Roxb.) Sweet.

Tên Việt Nam: Đơn Ấn Độ, Đơn răng cưa, Đơn lộc ốt.

Họ thực vật: Primulaceae (Họ Anh thảo).

Đặc điểm vi phẫu thực vật:

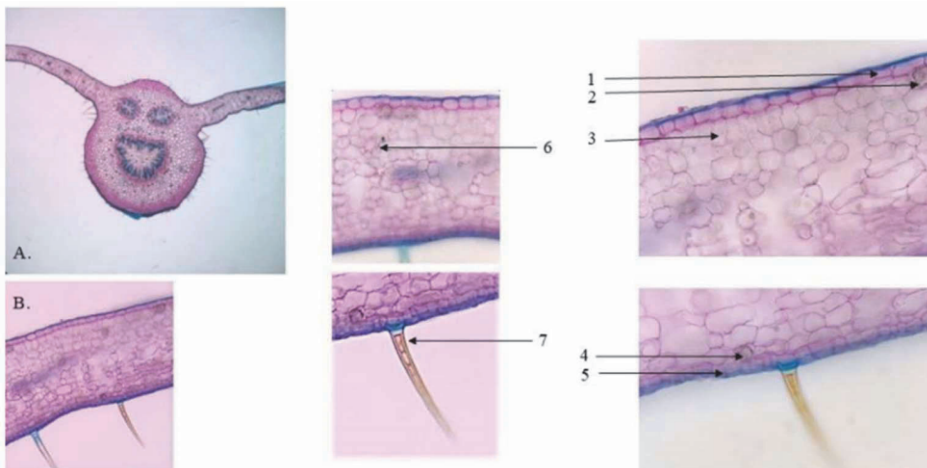


Hình 4. Hình ảnh vi phẫu gân lá cây Đơn răng cưa (10x)

(A- Vi phẫu gân lá; 1- Biểu bì trên; 2- Mô dày góc; 3- Mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hình khối; 4- Libe; 5- Gỗ; 6, 10- Tinh thể calci oxalat hình khối; 7- Tinh thể calci oxalat hình cầu gai; 8- Lông tiết; 9- Lông che chở đầu đa bào chân đơn bào)

Gân lá: Biểu bì có lớp cutin thành mỏng. Biểu bì trên là 1 hàng tế bào hình chữ nhật, xếp khít nhau mang lông che chở đa bào và lông tiết đầu đa bào, chân đơn bào. Ngay sát biểu bì là 2-4 lớp mô dày góc xếp chồng khít lên nhau. Ngay sát mô dày là mô mềm khuyết với những tế bào tròn,

thành mỏng, kích thước không đều, chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai và rải rác tinh thể calci oxalat hình khối. Hệ thống dẫn gồm nhiều bó dẫn với gỗ bắt màu xanh nằm giữa libe là nhiều tế bào nhỏ, bắt màu hồng đậm bao xung quanh. Biểu bì dưới tương tự biểu bì trên.



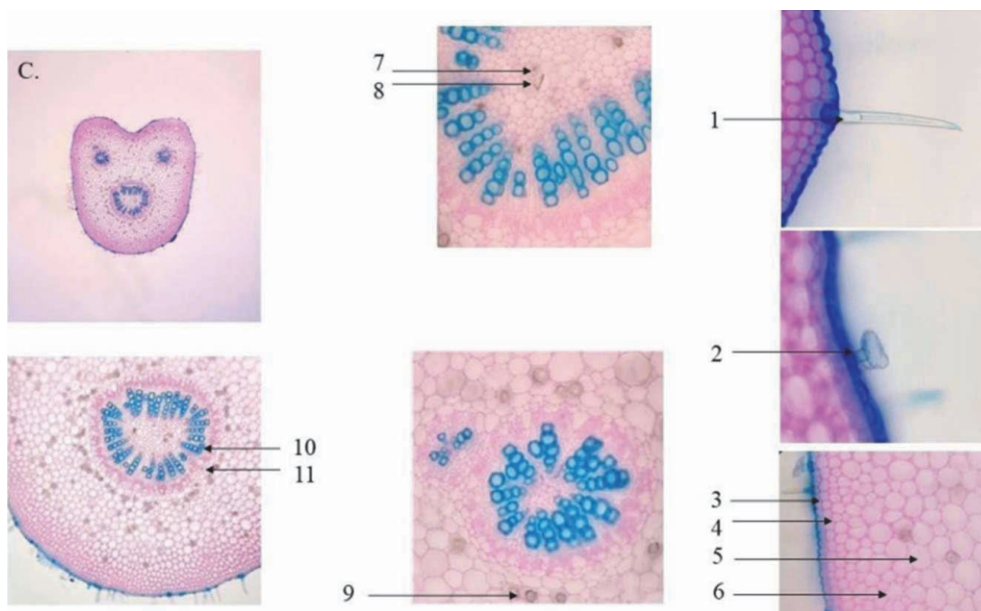
Hình 5. Hình ảnh vi phẫu phiến lá cây Đơn răng cưa (10x)

(A, B- Vi phẫu phiến lá; 1- Biểu bì trên; 2, 4- Tinh thể calci oxalat hình cầu gai; 3- Mô giậu; 5- Biểu bì dưới; 6- Mô mềm khuyết; 7- Lông che chở đầu đa bào chân đơn bào)

Phiến lá: Biểu bì có lớp cutin thành mỏng. Biểu bì trên cấu tạo bởi các tế bào hình chữ nhật đều đặn xếp khít nhau.

Dưới biểu bì là 1 hàng tế bào mô giậu xếp vuông góc

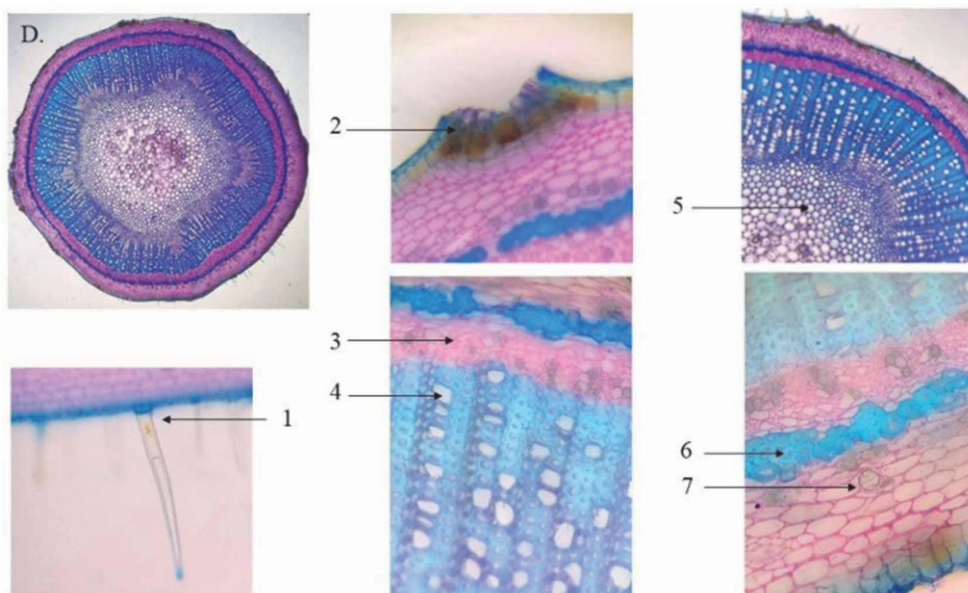
với bề mặt lá, chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mô khuyết được cấu tạo bởi những tế bào có kích thước to nhỏ khác nhau, để hở những khoảng gian bào lớn. Biểu bì dưới có lông che chở đầu đa bào chân đơn bào.



Hình 6. Hình ảnh vi phẫu cuống lá cây Đơn răng cưa (10x)
(C- Vi phẫu cuống lá; 1- Lông che chở đa bào; 2- Lông tiết; 3- Biểu bì; 4- Mô dày; 5- Mô mềm mang tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hình khối; 6- Mô mềm khuyết; 7,8- Tinh thể calci oxalat hình khối; 9- Tinh thể calci oxalat hình cầu gai; 10- Gỗ; 11- Libe)

Cuống lá: Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật đều đặn mang lông tiết đầu đơn bào hoặc đa bào, chân đơn bào và lông che chở đầu đa bào. Dưới biểu bì là 3-5 lớp mô dày góc. Mô mềm là những tế bào hình

tròn thành mỏng chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối. Hệ thống dẫn gồm các bó xếp thành 3-4 hình tròn riêng biệt. Libe xếp bao quanh gỗ, phía trong là mô mềm ruột có chứa tinh thể calci oxalat hình khối.



Hình 7. Hình ảnh vi phẫu thân cây Đơn răng cưa (10x)
(D- Vi phẫu thân cây; 1- Lông che chở đa bào; 2- Bần; 3- Libe; 4- Gỗ; 5- Mô mềm; 6- Trụ bì hóa mô cứng; 7- Tinh thể calci oxalat hình cầu gai)

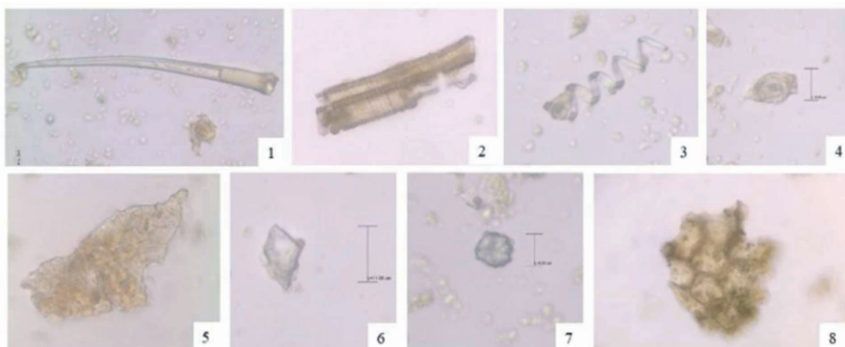


Thân: Mặt cắt ngang thân có thiết diện tròn. Quan sát dưới kính hiển vi từ ngoài vào trong: Một số góc của thân hóa bản xuất hiện lỗ vỏ. Biểu bì gồm một lớp tế bào hình đa giác mang lông che chở đầu đa bào. Mô dày cấu tạo bởi 2-3 lớp tế bào đa giác thành dày. Mô mềm vỏ gồm các tế

bào đa giác, chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Phần trụ giữa rất phát triển, bên ngoài là 1 lớp trụ bì hóa mô cứng. Hệ thống dẫn bao gồm các bó libe-gỗ xếp chồng, libe ở ngoài gỗ ở trong thành 1 vòng liên tục.

Đặc điểm bột dược liệu

Bột lá:



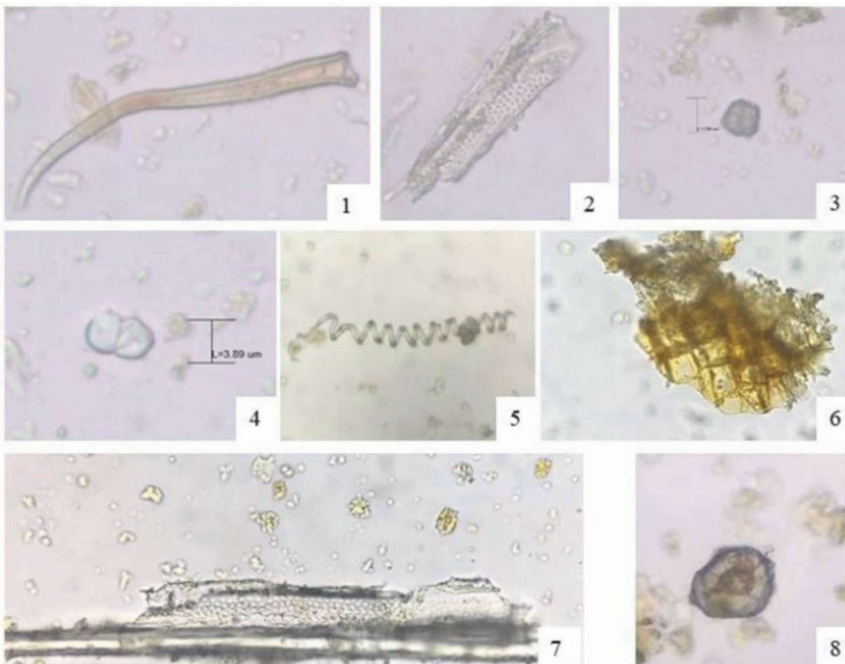
Hình 8. Đặc điểm bột lá cây Đơn răng cưa (40x)

(1- Lông che chở đa bào; 2,3- Mạch xoắn; 4- Lỗ khí; 5- Biểu bì mang lỗ khí; 6- Tinh thể calci oxalat hình khối; 7- Tinh thể calci oxalat hình cầu gai; 8- Mô mềm)

Bột lá có màu xanh, quan sát dưới kính hiển vi có các đặc điểm: Lông che chở đa bào đầu đa bào chân đơn bào, mảnh biểu bì mang lỗ khí, lỗ khí, mảnh mạch xoắn,

tinh thể calci oxalat hình cầu gai kích thước 6-9 μm , tinh thể calci oxalat hình khối kích thước 11-15 μm và mảnh mô mềm.

Bột thân:



Hình 9. Đặc điểm bột thân cây Đơn răng cưa (40x)

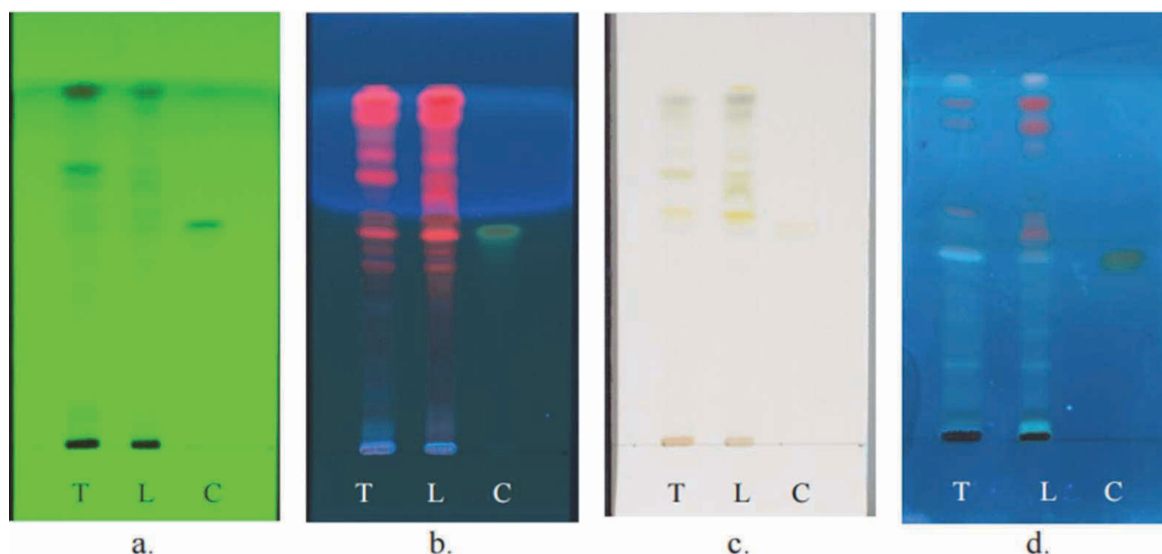
(1- Lông che chở đa bào; 2,7- Mạch điểm; 3- Tinh thể calci oxalat hình cầu gai; 4- Tinh bột kép đôi; 5- Mạch xoắn; 6- Mảnh mô mềm; 8- Tế bào cứng)

Bột thân màu nâu, quan sát dưới kính hiển vi có đặc điểm: lông che chở đa bào đầu đa bào chân đơn bào, mảnh biểu bì, mảnh mạch xoắn, mảnh mạch điểm, tinh

thể calci oxalat hình cầu gai kích thước 5-8 μm , tinh bột kép đôi, tế bào cứng thành dày, có ống trao đổi rõ và mảnh mô mềm mang tinh bột.



Định tính bằng phản ứng hóa học và sắc ký lớp mỏng



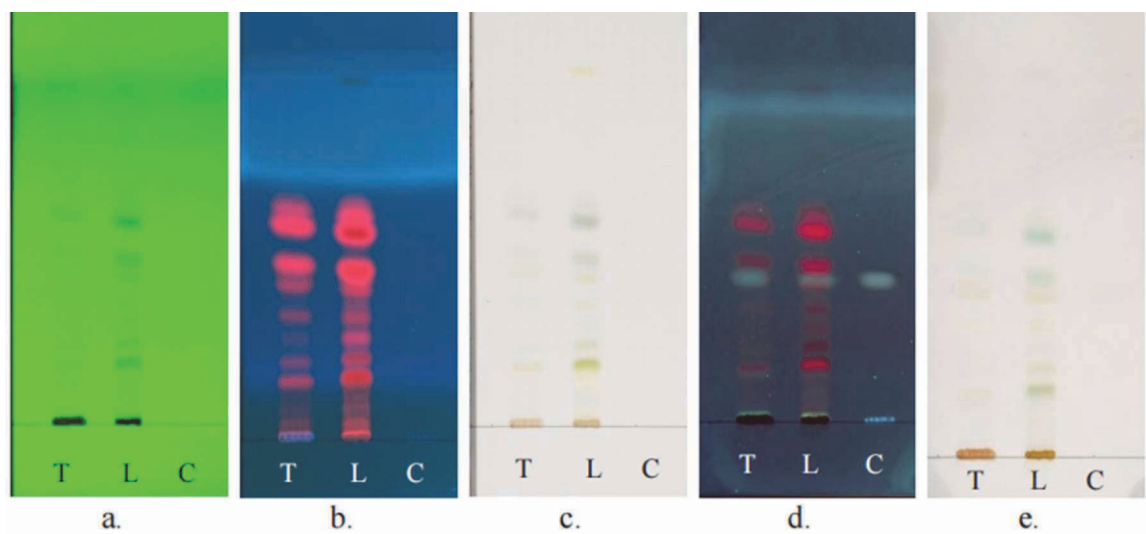
Hình 10. Sắc ký đồ dịch chiết lá, thân sau khi khai triển với hệ Toluene: Ethyl acetat : acid acetic = 5 : 2 : 0,5 được quan sát ở các bước sóng khác nhau (a. $\lambda = 254$ nm, b. $\lambda = 366$ nm, c. Ánh sáng trắng trước khi phun thuốc thử, d. $\lambda = 366$ nm sau khi phun thuốc thử, T: dịch chiết thân, L: dịch chiết lá, C: chuẩn Kaempferol)

Bảng 1. Kết quả R_f các vết định tính flavonoid bằng SKLM

R _f của mẫu lá		R _f của mẫu thân		R _f của chuẩn Kaempferol	
254 nm	366 nm	254 nm	366 nm	254 nm	366 nm
	0,5		0,5		
	0,54		0,56		
0,6	0,59	0,6	0,59	0,59	0,59
0,64	0,63		0,65		
	0,69				
0,72	0,73	0,73	0,74		
0,76	0,79	0,77	0,8		
0,93	0,91		0,9		
0,98	0,97	0,97	0,95		

Dựa vào kết quả định tính sơ bộ bằng các phản ứng hóa học, kết luận sơ bộ cây Đờn rằng cưa có các nhóm chất: Flavonoid, saponin, tanin, chất béo, đường khử, polysacharid.

Dựa vào kết quả sắc ký cho thấy hệ Toluene: Ethyl acetat : Acid acetic = 5 : 2 : 0,5 là hệ dung môi phù hợp để định tính nhóm chất flavonoid khi cho sắc ký đồ có các vết tách rõ ràng và nhiều vết nhất.



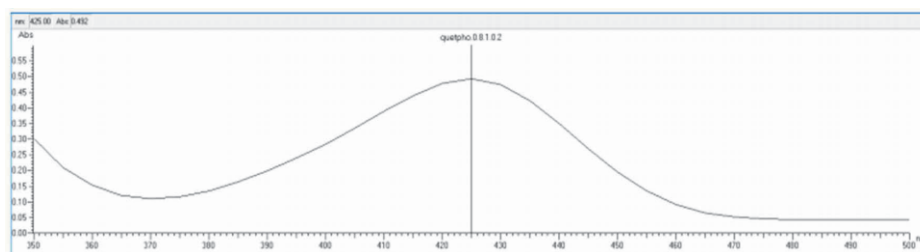
Hình 11. Sắc ký đồ cần thân, lá sau khi triển khai với hệ *n*-hexan : Ethyl acetat = 8 : 3 được quan sát ở các bước sóng khác nhau (a. $\lambda = 254\text{ nm}$, b. $\lambda = 366\text{ nm}$, c. Ánh sáng trắng trước khi phun thuốc thử, d. $\lambda = 254\text{ nm}$ sau khi phun thuốc thử, e. Ánh sáng trắng sau khi phun thuốc thử; T: dịch chiết thân, L: dịch chiết lá, C: chuẩn Diosgenin)

Bảng 2. Kết quả R_f các vết định tính saponin bằng SKLM

R _f của mẫu lá		R _f của mẫu thân		R _f của chuẩn Diosgenin
254 nm	366 nm	254 nm	366 nm	254 nm
	0,05			
	0,09			
0,16	0,16	0,16	0,15	
0,21	0,21		0,2	
	0,27		0,26	0,27
0,3	0,32		0,32	
0,39	0,39	0,39	0,4	
0,44	0,44	0,46	0,47	
0,54	0,53	0,56	0,55	
	0,61		0,61	

Dựa vào kết quả sắc ký cho thấy hệ *n*-hexan: Ethyl acetat = 8:3 là hệ dung môi phù hợp để định tính nhóm chất saponin khi cho sắc ký đồ có các vết tách rõ ràng và nhiều vết nhất.

Định lượng
Xây dựng phương pháp định lượng diosgenin toàn phần:
Bước sóng hấp thụ cực đại:



Biểu đồ 1. Hình ảnh cực đại hấp thụ của diosgenin

Dựa vào phổ đồ, dung dịch chuẩn diosgenin có đỉnh hấp thụ tại 425 nm. Bước sóng này được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Khảo sát quy trình xử lý mẫu:

Qua khảo sát đơn biến, lựa chọn được quy trình chiết xuất tối ưu: chiết khuấy từ, dung môi EtOH 90%, tỉ lệ được liệu/ dung môi 1:20, lá: 3 giờ/thân: 2 giờ, tốc độ khuấy từ mức 3.

Quy trình định lượng saponin toàn phần trong Đơn răng cưa:

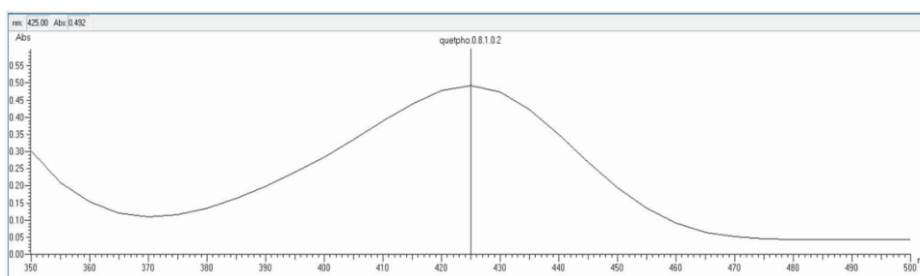
Cân chính xác 2g bột lá Đơn răng cưa, thêm 40 ml dung môi EtOH 90%, tiến hành chiết khuấy từ mức 3 trong 180 phút. Lọc lấy dịch chiết, đem cô tới gần. Cân chính xác 0,1g cặn, hòa tan bằng 8,0 ml Ethyl acetat, siêu âm cho tan, lọc rồi thêm Ethyl acetat đến vừa đủ 10,0 ml. Hút chính xác 0,8 ml dịch hòa tan cho vào từng bình định mức 10,0 ml,

thêm Ethyl acetat đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 1,0 ml dung dịch, thêm 1 ml dung dịch A (anisaldehyd pha trong ethyl acetat tỷ lệ 1% (v/v)) và 1 ml dung dịch B (H_2SO_4 và ethyl acetat, tỷ lệ thể tích 1:1). Hỗn hợp dung dịch được đun cách thủy trong nước $60^\circ C$ trong 20 phút, làm lạnh trong bể nước ở nhiệt độ phòng 15 phút. Chuyển dung dịch vào bình định mức, bổ sung Ethyl acetat vừa đủ 10,0 ml, lắc đều. Đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 425nm. Mẫu chứng được thực hiện tương tự nhưng không có dung dịch A và dung dịch B.

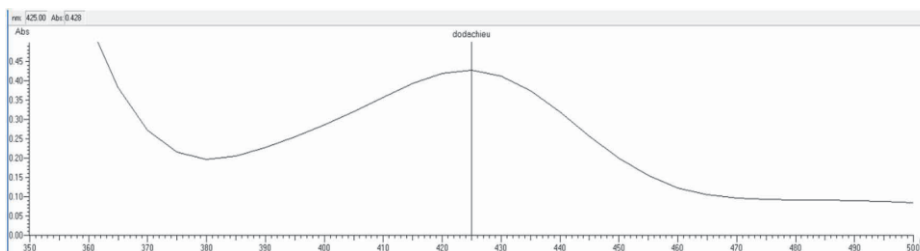
Thẩm định quy trình định lượng saponin toàn phần bằng phương pháp quang phổ UV – Vis:

Độ đặc hiệu:

Tiến hành quét phổ dung dịch chuẩn, mẫu thử lá, mẫu thử thân ở vùng sóng 350 – 500 nm.



Chuẩn diosgenin



Mẫu thử lá

Biểu đồ 2. Phổ hấp phụ UV - Vis của dung dịch mẫu thử lá và dung dịch mẫu chuẩn

Phổ hấp thụ của mẫu thử lá tương đồng với phổ hấp thụ của mẫu chuẩn diosgenin về dạng đường cong và có cùng vị trí đỉnh hấp phụ ở bước sóng 425nm, đáp ứng về độ đặc hiệu.

Độ tuyến tính:

Chuẩn bị mẫu chuẩn: Từ dung dịch chuẩn gốc Diosgenin pha loãng chính xác để được các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ 2,6; 4; 5; 6; 7; 8 $\mu g/ml$.

Đo độ hấp thụ của các dung dịch này ở bước sóng 420nm.



Bảng 3. Kết quả khảo sát tính tuyến tính của quy trình định lượng

Nồng độ (µg/ml)	2,6	4	5	6	7	8
Độ hấp phụ	0,025	0,279	0,479	0,685	0,858	1,043
Phương trình hồi quy	$y = 0,1909x - 0,4766$					
Hệ số tương quan	$R^2=0,9992$					

Trong khoảng nồng độ khảo sát của diosgenin từ 2,6 µg/ml đến 8 µg/ml có sự tuyến tính giữa nồng độ diosgenin và độ hấp thụ quang, đạt yêu cầu AOAC với hệ

số tương quan $R^2 = 0,9992 \geq 0,995$.
Độ lặp lại: Tiến hành chiết 6 mẫu độc lập, đo UV - Vis 3 lần tại bước sóng 425 nm và lấy giá trị trung bình.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp

Mẫu	STT	Hàm ẩm (%)	Khối lượng bột (g)	Khối lượng cân (g)	Hiệu suất (%)	Hàm ẩm cân (%)	Khối lượng cần đem đi đo (g)	Độ hấp thụ	Hàm lượng saponin toàn phần trong dược liệu (%)
Lá	1	4,21	2,0021	0,2015	10,507	0,87	0,1025	0,244	0,4879
	2		2,0019	0,2047	10,675	0,72	0,1035	0,241	0,4881
	3		2,0013	0,2007	10,469	0,98	0,1018	0,247	0,4921
	4		2,0026	0,2034	10,603	0,84	0,1031	0,239	0,4860
	5		2,0009	0,2051	10,701	0,63	0,1044	0,238	0,4826
	6		2,0012	0,2022	10,548	0,81	0,1029	0,243	0,4869
Hàm lượng trung bình RSD (%)									0,4873 ± 0,0031 0,63

Độ lặp lại khi tiến hành 6 lần với mỗi mẫu thử lá cho thấy độ lệch chuẩn RSD $\leq 5\%$ với mức lượng 0,1-1,0%.

Độ đúng:

Tiến hành chiết mẫu lá Đơn răng cưa theo phương pháp định lượng đã xây dựng và thêm một lượng chính xác chuẩn Diosgenin có nồng độ lần lượt bằng 80, 100,

120% nồng độ tuyến tính bất kỳ vào mẫu thử đã xác định hàm lượng sao cho tổng nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính đã khảo sát. Thực hiện mỗi nồng độ 3 mẫu lặp lại riêng biệt. Sau đó đem đo mật độ quang và dựa vào phương trình đường chuẩn, tính được hàm lượng chuẩn thu hồi.

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp

Mẫu	Mức (%)	STT	Lượng diosgenin thêm vào (µg/ml)	Lượng diosgenin tìm thấy (µg/ml)	Độ thu hồi (%)	Trung bình (%)	RSD (%)
Lá	80%	1	2,8	2,79	99,83	$99,89 \pm 2,1521$	2,15
		2	2,8	2,74	97,77		
		3	2,8	2,86	102,07		
	100%	1	3,5	3,52	100,67	$98,47 \pm 2,2467$	2,28
		2	3,5	3,45	98,57		
		3	3,5	3,37	96,18		
	120%	1	4,2	4,09	97,48	$99,23 \pm 2,0418$	2,06
		2	4,2	4,15	98,73		
		3	4,2	4,26	101,47		

Định lượng saponin toàn phần (tính theo Diosgenin) đã nghiên cứu trên nền mẫu thử lá có độ thu hồi từ 96,18 – 102,07%, đạt yêu cầu độ thu hồi đối với mẫu có mức hàm

lượng 0,1 – 1% lượng chuẩn tìm lại phải nằm trong khoảng 95 – 105%.

Áp dụng để định lượng mẫu lá cây đơn răng cưa:



Bảng 6. Kết quả định lượng mẫu lá đơn răng cưa

Mẫu	Hàm ấm	Khối lượng	Khối lượng cần (g)	Hiệu suất (%)	Hàm ấm cần (%)	Khối lượng cần đem đi đo (g)	Độ hấp thụ	Hàm lượng	SD (%)	RSD (%)
1	4,78	2,0018	0,2031	10,655	0,87	0,1025	0,243	0,4941	0,0018	0,36
2		2,0051	0,2016	10,559	0,72	0,1031	0,251	0,4915		
3		2,0021	0,2007	10,528	0,98	0,1018	0,247	0,4948		

Hàm lượng saponin trong lá cây đơn răng cưa là $0,4935 \pm 0,0018\%$.

BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã mô tả đặc điểm hình thái và vi phẫu của *Maesa indica*, góp phần bổ sung dữ liệu thực vật học của loài tại Việt Nam. Định tính hóa học bằng phản ứng hóa học và SKLM cho thấy sự hiện diện của flavonoid và saponin, trong đó Diosgenin được xác nhận qua sắc ký là sapogenin đặc trưng, làm cơ sở lựa chọn chất chuẩn cho định lượng saponin toàn phần.

Phương pháp định lượng saponin toàn phần bằng quang phổ UV-Vis được xây dựng dựa trên phản ứng tạo màu với anisaldehyd – H_2SO_4 và đo tại 425 nm. Phổ hấp thụ của mẫu thử tương đồng với Diosgenin, chứng tỏ tính đặc hiệu cao. Đường chuẩn tuyến tính trong khoảng 2,6-8 $\mu g/mL$ với hệ số tương quan $R^2 = 0,9992$, đáp ứng tiêu chuẩn AOAC [8]. Độ lặp lại ($RSD \leq 5\%$) và độ đúng (thu hồi 95-102%) cho thấy phương pháp ổn định và chính xác, phù hợp áp dụng cho phân tích dược liệu. Hàm lượng saponin toàn phần ở lá (0,48%) thấp hơn so với các loài giàu saponin khác, nhưng đây là dữ liệu đầu tiên được công bố cho *M. indica* ở Việt Nam, có ý nghĩa thiết lập thông số nền cho loài. Nghiên cứu không tiến hành định lượng saponin toàn phần trong thân tương đối thấp (SKLM vết diosgenin trong mẫu thử của thân không rõ nét). Vì vậy, chúng tôi đề xuất tiếp tục mở rộng nghiên cứu trên các nhóm hợp chất khác ở thân nhằm xác định rõ hơn thành phần hoạt chất chính.

Quy trình chiết tối ưu được xác định với phương pháp chiết khuấy từ, dung môi EtOH 90%, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1:20, thời gian 180 phút cho lá, tốc độ khuấy từ mức 3. Các điều kiện này cho hiệu suất chiết cao nhất do bảo đảm khả năng thẩm ướt, hòa tan và khuếch tán hoạt chất. Những yếu tố kỹ thuật này cùng với kết quả định lượng tạo cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về chuẩn hóa dược liệu, đánh giá sự thay đổi hoạt chất trong Đơn răng cưa.

Phương pháp UV-Vis được sử dụng rộng rãi do đơn giản,

nhANH và chi phí thấp, nhưng tồn tại một số nhược điểm.

+ Ảnh hưởng lớn bởi điều kiện môi trường: Dung môi, pH, nhiệt độ có thể làm thay đổi dạng tồn tại của chất phân tích (tạo phức...), dẫn đến thay đổi phổ hấp thụ. Cần xây dựng mẫu trắng và mẫu đối chứng cẩn thận để loại trừ ảnh hưởng nền.

+ Yêu cầu chất phân tích phải có khả năng hấp thụ UV-Vis: Nhiều hợp chất không màu hoặc hấp thụ yếu ở vùng khả kiến/UV gần phải được chuyển thành dẫn xuất màu (phản ứng tạo phức, tạo màu), có thể kéo theo sai số và mất thời gian.

+ Độ tuyến tính giới hạn: Tuân theo định luật Beer-Lambert chỉ trong một khoảng nồng độ nhất định (thường $A = 0,3-0,8$). Quá thấp hoặc quá cao đều gây sai số lớn.

KẾT LUẬN

Mô tả đầy đủ và chính xác đặc điểm hình thái và đặc điểm vi học của cây Đơn răng cưa (*Maesa indica*) gồm đặc điểm vi phẫu thân, phiến lá, cuống lá và đặc điểm bột dược liệu. Các dữ liệu thu được góp phần quan trọng trong việc giám định tên khoa học, nhận biết và tiêu chuẩn hóa dược liệu. Nghiên cứu đã định tính được các nhóm hợp chất chính trong lá gồm flavonoid, saponin, tanin, chất béo, đường khử và polysaccharid, đồng thời xác nhận sự hiện diện của diosgenin và flavonoid bằng phương pháp SKLM.

Quy trình chiết xuất saponin toàn phần đã được khảo sát và tối ưu hóa: chiết khuấy từ với ethanol 90%, tỷ lệ dược liệu/dung môi 1:20 (g/ml), thời gian 180 phút, tốc độ khuấy từ mức 3. Quy trình này đơn giản, hiệu quả và phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm.

Phương pháp định lượng saponin toàn phần bằng quang phổ UV-Vis đã được xây dựng và thẩm định theo tiêu chuẩn AOAC, với các yêu cầu về độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ lặp lại và độ đúng đều đạt tiêu chuẩn. Hệ số tương



quan $R^2 = 0,9992$ thể hiện tính tuyến tính cao; độ lặp lại và tỷ lệ thu hồi nằm trong giới hạn cho phép, chứng minh phương pháp ổn định và đáng tin cậy. Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng saponin toàn phần ở lá đạt $0,4935 \pm 0,0018\%$ (tính theo diosgenin).

Khuyến nghị, tiếp tục nghiên cứu định lượng về các nhóm hợp chất khác và nghiên cứu động thái tích lũy theo thời gian sinh trưởng của cây; đánh giá hoạt tính sinh học của cây Đơn răng cưa dựa trên định hướng nghiên cứu về thành phần hóa học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Barman, Anuva, et al.** Traditional medicinal, uses, phytochemistry, bioactivities and toxicity of the Genus *Maesa* (Primulaceae): A comprehensive review. *Journal of Herbal Medicine*, 2023, 41, pp.100720.
2. **Bộ Y tế.** *Dược liệu học*, Nhà xuất bản Y học, 2011.
3. **Nguyễn Bá.** *Hình thái học thực vật*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội, 2010.
4. **Nguyễn Viết Thân.** *Kiểm nghiệm dược liệu bằng phương pháp hiển vi*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2003.
5. **Bộ Y tế.** *Dược điển Việt Nam V*, Tập 2, Phụ lục 12, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2017.
6. **Nguyễn Văn Đàn.** *Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 1985.
7. **Đào Hữu Vinh, Nguyễn Xuân Dũng, Trần Thị Mỹ Linh và Cs.** *Các phương pháp sắc ký*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1985.
8. **George W. Latimer, Jr.** *Official Methods of Analysis of AOAC international*, The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence, 21st Edition, 2019, pp.6-9.