

PHÂN LẬP HỢP CHẤT PHÂN CỰC TRUNG BÌNH TỪ CÂY RAU MÁ LÁ SEN *HYROCOTYLE BONARIENSIS* L. BẰNG SILICA GEL TÁI CHẾ

Nguyễn Duy Tuấn²², Trần Thanh Tuấn²³, Nguyễn Việt Nhân Hòa²⁴

Tóm tắt: Mẫu cây rau má Lá sen *Hydrocotyle bonariensis* L. được thu hái tại thành phố Mỹ Tho, tỉnh Tiền Giang. Cây sau khi thu hái đem về được xử lý, loại bỏ những phần vàng úa, héo và phần sâu bệnh, rửa sạch, được cắt ra thành từng phần rễ, thân rễ, lá, thân lá. Thành phần hóa học trong lá và thân lá của *Hydrocotyle bonariensis* L. được tách ra và xác định bởi sắc ký cột và phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR. Chúng tôi đã tái chế được silica gel đã qua sử dụng, định tính một số hợp chất cơ bản trong cây rau má Lá sen, cô lập được stigmasterol (C₂₉H₄₈O). Cấu trúc hóa học các chất này đã được xác định bằng các loại phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR.

Từ khóa: *Hydrocotyle bonariensis* L., components, silica gel, stigmasterol

Abstract: *Hydrocotyle bonariensis*'s sample was harvested from My Tho City, Tien Giang Province before removing yellow, wilting parts and cleaning carefully with water. After that, the sample was cut separately into root, stump, trunk, leaf. Chemical compositions in the leaf and trunk of *Hydrocotyle bonariensis* L. were further isolated and identified by column chromatography and ¹H-NMR, ¹³C-NMR respectively. In conclusion, we have successfully recycled the used silica gel. This recycled silica gel was used to isolate the compounds that have moderate polarity. Furthermore, basic components in *Hydrocotyle bonariensis* L. have been determined qualitatively. As a result, isolated stigmasterol (C₂₉H₄₈O) has been found elucidated based on the obtained spectrum from ¹H-NMR, ¹³C-NMR.

Keywords: *Hydrocotyle bonariensis* L., components, silica gel, stigmasterol

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi *Hydrocotyle*, là tập hợp hơn 30 loài, có đặc điểm chung đó là cây thảo, sống nhiều năm, vùng phân bố rộng. Ở Việt Nam, người dân quen gọi là rau má.

Ở Việt Nam có hơn mười loài rau má, đó là: *Hydrocotyle asiatica*, *Hydrocotyle chevalieri* (Chern) Tard, *Hydrocotyle chinensis* (Dunn) Craib, *Hydrocotyle nepalensis* Hook, *Hydrocotyle petelotii* Tard, *Hydrocotyle pseudosanicula* De Boiss, *Hydrocotyle siamica* Craib, *Hydrocotyle sibthorpioides* Lamk, *Hydrocotyle tonkinensis* Tard, *Hydrocotyle wilfordii* Maxim.

²² Thạc sĩ - Trường Đại học Nam Cần Thơ

²³ Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ

²⁴ Trường THPT Châu Văn Liêm - Cần Thơ

Hiện nay, trong thực tế, các nhà khoa học đã phát hiện thêm vài loài mới xuất hiện. Dược sĩ Phan Đức Bình đã định danh hai loài rau má có hình dạng khác biệt so với rau má thường là lá giống lá sen, phát hiện ở vùng đồng bằng sông Cửu Long, đó là: *Hydrocotyle bonariensis* L. và *Hydrocotyle vulgaris* L.

Hydrocotyle bonariensis L. là loại cây sống dễ trong nước, cũng sống được ở những nơi ẩm ướt, những nơi có đất cát, cũng chịu được môi trường khô. Cây thuộc loại cỏ lưu niên, nhẵn, dạng thân rễ mọc bò, tại mỗi đốt có nhiều rễ và cho ra 1 - 2 lá vươn thẳng lên, cọng lá dài 15 - 20 cm. Lá mỏng, hình lòng, phiến tròn, rộng 3 - 12 cm, có thùy cạn, mép lá khía tai bèo, cuống lá mọc ở giữa. Hoa nhỏ, năm cánh, có màu trắng hoặc vàng kem, tán hoa đường kính 1 - 6 cm gồm nhiều tua tụ tạo thành vòng tròn, cây ra hoa từ mùa xuân đến đầu mùa thu. Quả hình bầu dục, dày 0,5 - 2 cm, rộng 2,5 - 3 mm, đáy và đỉnh có khía sống lưng và phần bên gân nổi rõ.

Các nghiên cứu hóa học trên cây *Hydrocotyle bonariensis* L. cho biết khả năng hấp thụ muối NaCl của lá cây này ở những vùng đất mặn có ảnh hưởng đến hàm lượng chlorophyll và làm thay đổi hàm lượng protein trong lá. So với cây *Foeniculum vulgare* L. thì cây *Hydrocotyle bonariensis* L. nhận NaCl nhiều hơn.

Tinh dầu của rau má lá sen kháng được cả hai chủng vi khuẩn Gram âm: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* và vi khuẩn Gram dương: *Staphylococcus aureus* và một chủng nấm mốc: *Fusarium oxysporum*.

2. THỰC NGHIỆM

2.1 Dụng cụ, hóa chất

Dụng cụ: Cột sắc ký, máy cô quay, tủ sấy, bình tam giác, chai đựng dung dịch, lọ bi, cốc becher các loại 100 ml, 200 ml, 250 ml, bình chiết, đĩa thủy tinh, bếp điện, cân điện tử, ống mao quản,...

Hóa chất: Dung môi sử dụng trong đề tài là dung môi đóng chai xuất xứ Việt Nam (Chemsol). Silica gel 60 (Merck) dùng cho sắc ký cột (đã qua sử dụng và được tái chế lại), Sắc ký bảng mỏng (TLC) dùng Silica gel F254 (Merck).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Lá cây được cắt nhỏ, bỏ vào bọc vải buộc kỹ và được nấu trên nồi với 5 lít ethanol 96° ở nhiệt độ 70°C trong vòng 4 giờ, để nguội, lấy dịch chiết ra. Tiếp tục đổ ethanol vào nấu tiếp cho đến khi dịch chiết không còn màu. Tổng cộng quá trình chiết với ethanol đã sử dụng hết 20 lít ethanol. Khối lượng cây tươi đem nấu là 7,1 kg. Đem dịch chiết cô quay thu hồi dung môi ta thu được cao ethanol tổng. Khối lượng cao ethanol tổng là 104 gam (Hiệu suất đạt 1,465% so với mẫu tươi).

Điều chế cao petroleum ether (PE): Từ cao ethanol tổng pha với nước cất lọc qua giấy lọc để loại cặn. Dịch cao ethanol tổng được chiết lỏng - lỏng với petroleum ether lấy phần trên (trích nhiều lần bằng bình chiết, cho tới lúc phần lớp trên trong thì ngưng). Lấy phần dung dịch lớp trên đem cô quay thu được cao petroleum ether, khối lượng cao là 41 gam (Hiệu suất đạt 39,423% so với cao tổng).

Điều chế cao dichloromethane: Phần lớp dưới khi trích với petroleum ether sẽ được chiết với dung môi dichloromethane (DC) bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng. Khi chiết với dichloromethane ta thu lớp dưới chính là dịch chiết của dichloromethane. Chiết tới lúc lớp dưới không còn màu nữa thì ngưng. Cô quay thu hồi dung môi được cao dichloromethane. Trong quá trình chiết với dung môi dichloromethane chúng tôi thu được hai phân đoạn. Tạm gọi là phân đoạn cao C1 (15 gam) và phân đoạn cao C2 (4,2 gam). (Hiệu suất đạt 18,462% so với cao tổng).

Trong bài nghiên cứu này chúng tôi chủ yếu khảo sát trên cao dichloromethane.

Xác định cấu trúc của hợp chất đã cô lập được: Sử dụng các phương pháp phổ nghiệm: $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$.

2.3 Tái chế silica gel đã qua sử dụng

Đề tái sinh silica gel đã qua sử dụng, đặc biệt là silica gel sắc ký cột, có thể áp dụng quy trình sau:

Ngâm khuấy, gạn rửa với nước thường. Khuấy đều và ngâm trong dung dịch acid sulfuric 25%. Rửa lại bằng nước thường. Ngâm và khuấy đều trong nước Javel và rửa lại bằng nước cất cho đến khi pH trung tính. Sau khi tái chế (1 đến 2 lần) hạt silica gel có thể giảm kích thước đôi chút, tốc độ chảy có thể giảm đi nhưng không gây ảnh hưởng quan trọng.

2.4 Định tính các hợp chất phân cực trung bình

Định tính sterol và triterpene dựa vào phản ứng tạo màu với thuốc thử Liebermann - Burchard. Định tính sterol dựa vào thuốc thử Salkowski.

Liebermann - Burchard: anhydride acetic (1 ml), chloroform (1 ml), làm lạnh ống nghiệm rồi thêm 1 giọt H_2SO_4 đậm đặc. Cho mẫu ở dạng rắn hoặc pha trong chloroform. Phản ứng dương tính là dung dịch đổi thành màu xanh dương, lục, cam hoặc đỏ; màu này bền không đổi.

Salkowski: Mẫu được hòa tan trong chloroform (1 ml) và nhỏ thêm vào H_2SO_4 đậm đặc (1 ml). Phản ứng dương tính là dung dịch đổi thành màu đỏ đậm, xanh, xanh - tím.

Thí nghiệm: lấy một ít bột khô hòa tan trong chloroform khoảng 30 phút, sau đó cho vào 2 ống nghiệm, thêm từ từ thuốc thử vào 2 ống nghiệm.

Ống 1: Sau khi cho thuốc thử Salkowski có màu nâu đỏ, chứng tỏ có sterol.

Ống 2: Sau khi cho thuốc thử Liebermann có màu lục đậm, chứng tỏ có sterol và triterpene.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khảo sát ban đầu

3.1.1 Khảo sát cao C1

Cao C1 được điều chế từ quá trình chiết với dichloromethane, khối lượng cao 15 gam. Tiến hành sắc ký cột cao C1 theo dõi đồng thời bằng sắc ký lớp mỏng, để gom các lọ có vết giống nhau thành một phân đoạn.

Cao C1 trước khi nạp vào cột được tiền hấp phụ với khoảng 5 gam silica gel, dung môi giải ly đầu tiên là *n*-hexane (H).

Cột sau khi nạp mẫu hứng mỗi lọ 100 ml, dung môi trong lọ được cô quay chắt được để ra lọ bi riêng. Rồi dùng sắc ký lớp mỏng để theo dõi, những lọ nào có vết giống nhau thì gom lại. Thuốc hiện hình sử dụng là H₂SO₄ đậm đặc trong methanol (Me). Bản mỏng sau khi nhúng thuốc hiện hình được hơ nóng trên bếp điện.

Các hệ dung môi đã sử dụng để giải ly cột là: H 100%, H:DC = 9:1, H:DC = 1:1, DC 100%, DC:Me = 95:5, DC:Me = 9:1, DC:Me = 7:3, DC:Me = 1:1, Me 100%.

Sắc ký cột cao C1 thu được tổng cộng 12 phân đoạn, các phân đoạn có vết đặc trưng và rõ ràng được chúng tôi chọn khảo sát tiếp. Các phân đoạn còn lại do vấn đề về thời gian nên tạm thời chưa khảo sát. Qua quá trình sắc ký cột cao C1 chúng tôi chọn 3 phân đoạn sau để xử lý tiếp đó là: Phân đoạn HB₃C1; Phân đoạn HB₅C1; Phân đoạn HB₁₀C1.

3.1.2 Khảo sát cao C2

Cao C2 được điều chế từ quá trình chiết với dichloromethane, khối lượng cao 4,2 gam. Tiến hành sắc ký cột cao C2 theo dõi đồng thời bằng sắc ký lớp mỏng, để gom các lọ có vết giống nhau thành một phân đoạn.

Nạp chất hấp phụ là silica gel 6H Merch đã được tái chế, khối lượng silica gel được nạp vào cột là 42 gam. Cao C2 trước khi nạp vào cột được tiền hấp phụ với khoảng 3 gam silica gel tái chế, dung môi giải ly đầu tiên là petroleum ether.

Cột sau khi nạp mẫu hứng mỗi lọ 100 ml, dung môi trong lọ được cô quay chắt được để ra lọ bi riêng. Rồi dùng sắc ký lớp mỏng để theo dõi, những lọ nào có vết giống nhau thì gom lại.

Thuốc hiện hình sử dụng là H₂SO₄ đậm đặc trong methanol. Bản mỏng sau khi nhúng thuốc hiện hình được hơ nóng trên bếp điện.

Các hệ dung môi đã sử dụng để giải ly cột là: PE 100%, PE:DC = 3:7, DC 100%, DC:Me = 95:5, DC:Me = 9:1, DC:Me = 1:1.

Sắc ký cột cao C2 thu được tổng cộng 10 phân đoạn, cũng như quá trình sắc ký cột cao C1 các phân đoạn có vết đặc trưng và rõ ràng được chúng tôi chọn khảo sát tiếp. Các phân đoạn còn lại do vấn đề về thời gian nên tạm thời chưa khảo sát. Qua quá trình sắc ký cột cao C2 chúng tôi chọn 2 phân đoạn sau để xử lý tiếp đó là: Phân đoạn HB₂C2; Phân đoạn HB₈C2.

3.2 Xử lý một số phân đoạn thu được từ cao C1 và C2

3.2.1 Phân đoạn HB₃C1

Phân đoạn HB₃C1 thu được từ sắc ký cột cao C1. Phân đoạn có dạng màu vàng đậm có khối lượng 150 mg. Sắc ký lớp mỏng (SKLM) phân đoạn HB₃C1 với hệ giải ly H:DC = 9:1 thấy có 5 vết màu vàng rất rõ. Phân đoạn được xử lý trên cột nhỏ, khối lượng silica gel tái chế dùng là 3 gam. Giải ly cột đầu tiên bằng *n*-hexane 100%.

Sau khi giải ly cột tới lọ số 5 với hệ giải ly là H:DC = 7:3 thì thu được chất ở dạng tinh thể hình kim màu trắng (0,013 gam). Sắc ký lớp mỏng với ba hệ H:DC = 3:7, DC 100%, H:Et = 1:1 cho một vết tròn. Tạm gọi là hợp chất **C1.1Hb**. Nhưng do khối lượng hợp chất **C1.1Hb** nhỏ nên chúng tôi cần phải khảo sát thêm thì mới xác định được cấu trúc.

3.2.2 Phân đoạn HB_5C1

Phân đoạn HB_5C1 thu được từ sắc ký cột cao C1. Phân đoạn có dạng sáp xanh có khối lượng 179 mg. Sắc ký lớp mỏng phân đoạn HB_5C1 với hệ giải ly H:DC = 2:8 cho thấy 1 vết màu xanh, 2 vết màu hồng, 1 vết màu đen. Phân đoạn được xử lý trên cột nhỏ lần 1, khối lượng silica gel tái chế dùng là 20 gam. Giải ly cột đầu tiên bằng petroleum ether 100%. Hứng mỗi lọ 10 ml.

Sắc ký cột với hệ giải ly DC 100% từ lọ 129 - 139 chúng tôi thu được chất ở dạng dầu vàng (32 mg). Sắc ký lớp mỏng với hệ giải ly DC 100% cho thấy có 2 vết, 1 vết hồng và một vết loang màu đen (sau khi nhúng vào thuốc thử hiện hình là H_2SO_4 20% trong methanol, hơ nóng trên bếp điện).

Lọ 129 - 139 của phân đoạn HB_5C1 được chúng tôi xử lý tiếp bằng sắc ký cột lần 2 với 3 gam silica gel tái chế để tách riêng 2 chất ở trên. Chúng tôi thu được kết quả như sau: Thu được ở lọ 2 với hệ giải ly cột DC 100% một chất ở dạng dầu màu vàng (13 mg), tạm gọi là hợp chất **C1.3Hb**. Sắc ký lớp mỏng lọ 2 với ba hệ giải ly DC:Me = 99:1, DC:Me = 98:2, DC:Me = 95:5 cho một vết loang màu đen. Nhưng do hợp chất **C1.3Hb** có khối lượng nhỏ nên chúng tôi chưa thể xác định cấu trúc của hợp chất.

3.2.3 Phân đoạn $HB_{10}C1$

Phân đoạn $HB_{10}C1$ thu được từ sắc ký cột cao C1. Phân đoạn $HB_{10}C1$ có dạng sáp nâu. Khối lượng của phân đoạn là 0,6 gam. Sắc ký lớp mỏng phân đoạn $HB_{10}C1$ với hệ giải ly DC:Me = 8:2 cho một vết chính màu tím, phía trên và phía dưới của vết màu tím còn có nhiều vết nhỏ kéo theo. Phân đoạn này được xử lý trên cột nhỏ với khoảng 20 gam silica gel tái chế. Giải ly đầu tiên bằng H:DC = 1:1.

Sau khi xử lý phân đoạn trên cột nhỏ hơn chúng tôi thu được 5 phân đoạn nhỏ. Ở phân đoạn 3 khi Sắc ký lớp mỏng cho một vết chính màu tím. Phía trên và phía dưới của vết màu tím vẫn còn có vết kéo theo nhưng thấy đã sạch hơn lúc đầu. Chúng tôi tiếp tục xử lý trên cột khác với mong muốn sẽ thu được chất tinh khiết hơn.

Phân đoạn	Lộ hứng	Dung môi giải ly cột	SKLM	Kết quả SKLM	Dạng chất	Khối lượng (gam)
1	1 - 23	H:DC 1:1	DC:Me 98:2	5 vết	Sáp nâu	0,095
2	24 - 62	DC 100%	DC:Me 9:1	3 vết	Vàng	0,150
3	63 - 81	DC:Me 97:3	DC:Me 8:2	1 vết chính tím	Sáp nâu	0,135
4	82 - 119	DC:Me 9:1	//	2 vết xanh	Sáp xanh	0,120
5	120 - 150	DC:Me 1:1	DC:Me 2:8	1 vết nâu kéo dài	Sáp xanh	0,069
Tổng khối lượng thu được của phân đoạn						0,569

Sau khi sắc ký cột với hệ giải ly Ea 100% (ethyl acetate) chúng tôi thu được một chất kết tinh ở dạng mảng trắng (30 mg). Sắc ký lớp mỏng với hệ giải ly DC:Me = 8:2 cho một vết màu tím. Tạm gọi là hợp chất **C1.2Hb**. Chất được chúng tôi chọn gửi đi đo phổ $^1\text{H-NMR}$.

3.2.4 Phân đoạn HB_2C_2

Phân đoạn HB_2C_2 thu được từ sắc ký cột cao C2. Phân đoạn HB_2C_2 có dạng tinh thể hình kim có lẫn chất kém phân cực. Khối lượng của phân đoạn là 0,032 gam. Sắc ký lớp mỏng phân đoạn HB_2C_2 với hệ giải ly DC 100% cho một vết chính màu hồng tím để một lúc có màu xanh thẫm nhưng vẫn còn vết kém phân cực ở trên vết chính màu xanh thẫm. Phân đoạn này được xử lý bằng cách rửa với dung môi kém phân cực hơn để loại bỏ chất kém phân cực lẫn trong tinh thể. Kết quả chúng tôi thu được một chất tinh khiết kết tinh hình kim màu trắng (0,025 gam). Tạm gọi là hợp chất **C2.1Hb**. Sắc ký lớp mỏng hợp chất **C2.1Hb** với ba hệ dung môi khác nhau thấy xuất hiện một vết tròn màu xanh thẫm.

Hợp chất **C2.1Hb** được chúng tôi chọn gửi đi đo phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$.

3.2.5 Phân đoạn HB_8C_2

Phân đoạn HB_8C_2 thu được từ sắc ký cột cao C2. Phân đoạn có dạng sáp xanh có khối lượng 145 mg. Sắc ký lớp mỏng phân đoạn HB_8C_2 với hệ giải ly DC:Me = 8:2 cho thấy có 3 vết, 1 vết màu tím, 1 vết chính màu vàng và một vết màu xanh. Phân đoạn được chúng tôi xử lý trên cột nhỏ, khối lượng silica gel tái chế dùng là 20 gam. Giải ly cột đầu tiên bằng DC 100%. Sau khi sắc ký cột với hệ giải ly là DC:Ea = 9:1 thì thu được chất ở dạng bột màu vàng (0,010 gam). Sắc ký lớp mỏng với ba hệ dung môi khác nhau cho một vết tròn màu vàng. Tạm gọi là hợp chất **C2.2Hb**. Tuy nhiên do khối lượng hợp chất **C2.2Hb** nhỏ nên chúng tôi chưa thể xác định cấu trúc.

3.3 Khảo sát cấu trúc của hợp chất cô lập được

3.3.1 Biện luận phổ hợp chất C1.2Hb

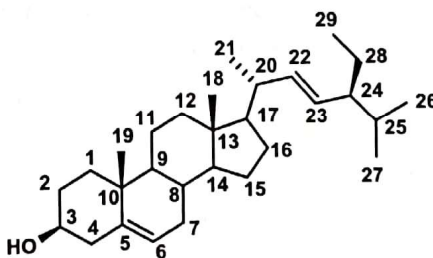
Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), cho thấy ở δ_{ppm} : 5,36 mũi đôi có chứa H-olefin, *d, dd* ($-\text{CH}=\$); 5,1 (mũi đa có liên kết $>\text{CH}=\text{CH}<$). 4,43 (mũi đa, có chứa H-anomer, có thể gắn với đường); 3,23 - 3,87 (1H, mũi đa, có chứa liên kết C-O, có thể là liên kết ($>\text{CH-OH}$)). Phần lớn tín hiệu xuất hiện ở vùng trường cao 0 - 2,41 là những liên kết của hydro bão hòa ($>\text{CH-}$, $>\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$). So sánh với phổ của một số hợp chất phân cực trung bình, nhận thấy phổ của hợp chất C1.2Hb tương tự như phổ của các sterol. Từ đây có thể kết luận hợp chất C1.2Hb là một loại hợp chất sterol.

3.3.2 Biện luận phổ hợp chất C2.1Hb

- Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), cho thấy ở $\delta_{\text{Hppm}} = 5,34$ (1H, *dd*, $J = 2,0$ và $2,0$ Hz, $-\text{CH}=\$); 5,16 (1H, *dd*, $J = 8,5$ và $15,1$ Hz; $-\text{CH}=\$); 5,05 (1H, *dd*, $J = 8,5$ và $15,2$ Hz; $-\text{CH}=\$); 3,54 (1H, *m*, $>\text{CH-O-}$); ở vùng trường cao $\delta_{\text{Hppm}} = 0,69 - 2,32$ là proton của các nhóm $>\text{CH-}$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_3$ bão hòa.

- Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) cho thấy ở vùng trường thấp có cặp mũi ở $\delta_{\text{Cppm}} = 140,8$ ($=\text{C}<$); 121,8 ($-\text{CH}=\$) và cặp mũi ở $\delta_{\text{C}} \text{ ppm} = 138,2$ ($-\text{CH}=\$); 129,2 ($-\text{CH}=\$) cho thấy sự hiện diện của hai liên kết đôi $>\text{C}=\text{CH-}$ và $-\text{CH}=\text{CH-}$, là cặp mũi cộng hưởng đặc trưng của khung stigmasta-5,22-diene. Ngoài ra, có mũi cộng hưởng ở $\delta_{\text{Cppm}} = 71,8$ được quy kết cho carbon mang nhóm hydroxyl $>\text{CH-OH}$ ở vị trí C_3 .

- Từ những thông tin trên phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, đồng thời so sánh với tài liệu tham khảo từ đó chúng tôi đề nghị hợp chất C2.1Hb là stigmasterol ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$) với cấu trúc được trình bày dưới đây:



Stigmasterol (C2.1Hb)

4. KẾT LUẬN

Đã tái chế được silica gel qua sử dụng, điều này góp phần giảm chi phí khi thực hiện đề tài và cũng chứng minh được silica gel tái chế vẫn phân lập được chất. Đã định tính được sự hiện diện của các hợp chất phân cực trung bình có trong cây rau má Lá sen và phân lập được stigmasterol ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$). Điều này đã góp phần đóng góp thêm vào thành phần hóa học của cây rau má Lá sen *Hydrocotyle bonariensis* L..

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lê Văn Đăng. *Chuyên đề một số hợp chất thiên nhiên*. NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 2007.
- [2] Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Việt Thụ. *Các phương pháp khoa học nghiên cứu cây thuốc*. NXB Y Học TPHCM, 1985.
- [3] Phạm Hoàng Hộ. *Cây cỏ Việt Nam tập II*, nhà xuất bản trẻ năm 1972.
- [4] Nguyễn Ngọc Hạnh. *Giáo trình cao học tách chiết và cô lập hợp chất tự nhiên*, 2002.
- [5] Ths. Tôn Nữ Liên Hương. *Bài giảng Hóa học hợp chất thiên nhiên*. Khoa khoa học trường đại học Cần Thơ, 2008.
- [6] Trần Hùng, Nguyễn Việt Kinh, Bùi Mỹ Linh, Võ Văn Lẹo, Ngô Thị Xuân Mai, Phạm Thanh Tâm, Huỳnh Ngọc Thụy, Võ Thị Bạch Tuyết, *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*. Đại học Y Dược TP.HCM, 2005.
- [7] Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, nhà xuất bản Y học năm 2004
- [8] Vũ Thị Nhung. *Khảo sát cao ethyl acetate của cây rau má Lá sen Hydrocotyle vulgaris*, 2008.
- [8] Bùi Thị Bích Nương. *Phân tích sắc ký cao chloroform trong cây rau má Lá sen thuộc họ ngò*, 2007.
- [9] Phạm Thị Thanh Nga. *Khảo sát cao ethyl acetate của cây Rau má Lá sen Hydrocotyle bonariensis*, 2007.
- [10] Nguyễn Kim Phi Phụng. *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 2007.