

# Nghiên cứu đặc điểm thực vật học và thành phần hóa học của cây Tiêu dọi (*Piper retrofractum* Vahl)

Nguyễn Thị Cẩm<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Ánh<sup>2</sup>, Trần Quang Tân<sup>2</sup>, Phạm Thị Mai<sup>2</sup>, Tống Thu An<sup>2</sup>, Phạm Thị Yến Linh<sup>2</sup>, Nguyễn Huỳnh Khánh Thy<sup>2</sup>, Nguyễn Huỳnh Tuyết Nhi<sup>2</sup>, Lê Văn Huân<sup>2</sup>, Chung Khánh Linh<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Dược, Trường Cao đẳng Y tế Bình Dương, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Đào tạo và Nghiên cứu Dược học, Trường Đại học Bình Dương, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Khoa Dược, Trường Đại học Tôn Đức Thắng, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: chungkhanhlinh@tdtu.edu.vn

## Tóm tắt

Tiêu dọi (*Piper retrofractum* Vahl) được sử dụng phổ biến trong y học dân gian, tuy nhiên tại Việt Nam vẫn thiếu dữ liệu khoa học về đặc điểm thực vật và thành phần hóa học, đồng thời thường bị nhầm với Tiêu lốt (*Piper longum* L.). Nghiên cứu này nhằm hoàn thiện cơ sở định danh, kiểm nghiệm và làm nền tảng cho các nghiên cứu dược liệu tiếp theo. Mẫu Tiêu dọi được thu hái tại Bình Dương để khảo sát đặc điểm thực vật, phân tích di truyền bằng chỉ thị phân tử và đánh giá thành phần hóa thực vật. Một số đặc điểm giải phẫu và bột dược liệu đặc trưng đã được ghi nhận. Trình tự gen vùng rbcL được khuếch đại bằng PCR từ DNA lá non, giải trình tự Sanger, xử lý bằng BioEdit và so sánh BLAST với GenBank (LC461931). Kết quả xác nhận mẫu nghiên cứu là *Piper retrofractum* thuộc họ Piperaceae. Phân tích sơ bộ cho thấy sự hiện diện của chất béo, alkaloid, tinh dầu và coumarin. Hợp chất tinh khiết được phân lập từ phân đoạn cao n-hexan bằng phương pháp tái kết tinh trong dung môi lạnh, sau đó xác định cấu trúc bằng MS và NMR là piperin. Các kết quả này góp phần xây dựng cơ sở kiểm nghiệm nguyên liệu và là tiền đề cho nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học của Tiêu dọi.

Nhận 30/11/2025

Được duyệt 13/01/2026

Công bố 28/02/2026

## Từ khóa

*Piper retrofractum*, ADN, hình thái, vi phẫu, thành phần hóa học, piperin.

© 2026 Journal of Science and Technology - NTTU

## 1 Đặt vấn đề

Tiêu dọi (TD) có tên khoa học là *Piper retrofractum*, họ Hồ tiêu (Piperaceae), là loài cây thân thảo, dây leo có hoa, có nguồn gốc từ Đông Bắc Ấn Độ, phân bố rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, bao gồm Việt Nam [1, 2]. Các nghiên cứu về hóa thực vật của chi *Piper* đã dẫn đến sự phân lập nhiều hợp chất có cấu trúc đa dạng, như: alkaloid, lignan, phenylpropanoid, terpenoid,

kawapyron, piperolid, flavonoid và alkenylphenol. Sự đa dạng này góp phần tạo nên phổ hoạt tính sinh học tiềm năng của TD, đặc biệt là khả năng kháng khuẩn, kháng viêm, gây độc tế bào, chống ung thư, giãn mạch máu, chống trầm cảm, bảo vệ gan, chống béo phì, bảo vệ thần kinh, ổn định lipid máu... [3]. Những năm gần đây, giá trị dược học của TD ngày càng được quan tâm. Trong dân gian, quả TD được sử dụng rộng rãi như một loại



thuốc phổ biến để điều trị một số bệnh lý như: phòng ngừa ung thư, giảm đường huyết, bảo vệ tim mạch, bảo vệ gan, chống oxy hóa, rối loạn hô hấp, chống viêm, viêm khớp, kháng khuẩn, kháng nấm, điều hòa hệ miễn dịch và chống trầm cảm [3]. Tuy nhiên, đặc điểm hình thái vi phẫu cũng như thành phần hóa học của dược liệu này vẫn chưa được nghiên cứu và mô tả chi tiết trong Dược điển Việt Nam. Do đó, nhằm xây dựng cơ sở cho các nghiên cứu chuyên sâu về hóa học và tác dụng dược lý của TD trong tương lai, nghiên cứu này tiến hành khảo sát các đặc điểm thực vật học và thành phần hóa học của loài TD.

## 2 Phương pháp nghiên cứu

### 2.1 Vật liệu nghiên cứu

Mẫu cây tươi TD được thu hái tại Bình Dương vào tháng 10/2023, bao gồm đầy đủ rễ, thân, lá và quả. Mẫu được định danh sơ bộ bởi TS. Huỳnh Lôi và lưu tại Labo Dược liệu, Viện Dược học, Trường Đại học Bình Dương, với số hiệu mẫu NP-PP/102023. Quả TD được phơi khô, xay thành bột thô, bảo quản ở nhiệt độ phòng (25 °C).

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Khảo sát về thực vật học

Khảo sát đặc điểm hình thái: các đặc điểm hình thái được mô tả thông qua quan sát mẫu cây tươi và so sánh với những mô tả đã công bố trong tài liệu tham khảo.

Khảo sát đặc điểm giải phẫu: tiến hành cắt mẫu lần lượt gồm: lá, thân leo, gân giữa lá, gân phiến lá và cuống lá. Đối với phiến lá, vị trí cắt được chọn tại 1/3 gân giữa tính từ điểm tiếp giáp với cuống, cùng với phần phiến lá rộng khoảng (4-6) mm ở hai bên. Đối với thân leo, cuống lá, gân giữa lá, gân phiến lá và rễ, thực hiện cắt theo mặt cắt ngang; lát cắt phải phẳng và vuông góc với trục mẫu. Mẫu được nhuộm bằng phương pháp nhuộm kép carmin - lục iod sau khi tẩy bằng nước Javen. Các tiêu bản được quan sát bằng kính hiển vi quang học dưới vật kính 4X và 10X sau đó chụp ảnh và mô tả đặc điểm vi phẫu.

Khảo sát đặc điểm bột dược liệu: Bộ phận sử dụng là quả, được nghiền mịn và sấy khô ở nhiệt độ 60 °C khoảng (30-60) phút đến khi khô hoàn toàn. Tiếp tục nghiền lần 2 và rây qua rây 0,15 µm. Tiêu bản bột dược liệu được quan sát dưới kính hiển vi với vật kính 4X,

10X và 40X; các đặc điểm quan sát được chụp ảnh và ghi nhận.

#### 2.2.2 Phân tích đặc điểm di truyền

Phương pháp chiết tách và tinh sạch DNA: mẫu lá non tươi được chiết tách và tinh sạch DNA theo phương pháp CTAB của Doyle (1990) [4].

Định danh bằng phương pháp giải trình tự DNA: từ DNA đã tinh sạch, tiến hành phân tích trình tự vùng gen *rbcL* và so sánh với dữ liệu tham chiếu trên GenBank. Quá trình giải trình tự gen được thực hiện tại Công ty Sinh hóa Phù Sa Biochem. Trình tự thu được được đối chiếu với trình tự *rbcL* công bố trên NCBI (mã số LC461931.1) để tiến hành định danh loài.

#### 2.2.3 Phân tích sơ bộ thành phần hóa học của bộ phận quả cây TD

Tiến hành phân tích sơ bộ thành phần hóa học của quả cây TD bằng phương pháp phân tích của Ciuley (Trường Đại học Dược khoa Bucharest, Romania) được cải tiến bởi Trường Dược – Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh [5].

#### 2.2.4 Chiết xuất và phân lập

**Chiết xuất:** bột nguyên liệu được làm ẩm và ngâm 24 giờ, chiết ngấm kiệt bằng ethanol 96 % (tỷ lệ 1:8), thu được dịch chiết. Cô giảm áp dịch chiết đến dạng cao sệt thu được cao ethanol thô. Dùng cao ethanol thô hòa với nước rồi lắc phân đoạn với *n*-hexan, sau khi cô giảm áp dịch *n*-hexan ta thu được cao *n*-hexan.

Tinh chế: hòa tan tủa trong methanol, đun ở 65 °C trong 2 phút, sau đó làm lạnh nhanh về 4 °C, thu được chất rắn kết tinh vô định hình, ký hiệu PR1. Phổ MS ghi trên máy HR-MS micrOTOF-Q II 10187 và phổ <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NMR được đo trong CDCl<sub>3</sub> trên máy Bruker AM500 FT-NMR.

## 3 Kết quả và thảo luận

### 3.1 Khảo sát về thực vật học

#### 3.1.1 Đặc điểm hình thái

Cây TD khác gốc, mọc leo, không lông. Nhánh hình trụ, các nhánh có hoa dày 2 mm. Lá có cuống ngắn; phiến thuôn - bầu dục, thon và nhọn ở đầu, không cân đối hoặc hầu như cân ở gốc, thon hẹp ở hai bên hoặc tròn ở bên dài hơn hoặc ít khi hình tim, chất lá dai, có nhiều điểm tuyến trong, dài (8,5-16) cm, rộng (3,5-6,5) cm, gân lông chim; gân giữa mang mỗi bên 3 gân hướng lên; cuống lá có bẹ ở gốc, dài (1-1,5) cm. Hoa

trần, cụm hoa trên cuống dài bằng hay hơi dài hơn cuống lá; bông đực dài cỡ 5 cm; lá bắc có phiến tròn đường kính cỡ 1,5 mm. Nhị 2, ít khi 3; bao phấn gần không cuống, thuôn, có 4 van. Bông cái dài (3-4) cm, dày (5-10) mm; lá bắc như ở hoa đực. Quả mọng không mang vòi nhụy, tròn và lồi ở đỉnh [6].



Cây Tiều đội  
(*Piper retrofractum*)



Quả non và lá



Quả Tiều đội



Hình 1 Một số đặc điểm hình thái cây TD

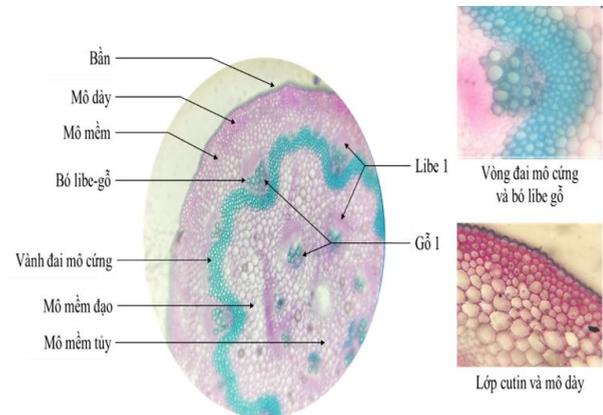
**Bảng 1** So sánh đặc điểm hình thái của cây TD và cây Tiêu lốt (*Piper longum*), hai loài có hình thái tương đồng

Bộ phận	TD	Tiêu lốt [6]
Thân	Mọc leo	Mọc bò, thân đứng
Lá	Lá thuôn – bầu dục, gốc lá không cân đối hoặc gần cân, hiếm khi hình tim	Lá thuôn – dài, gốc lá hình tim hơi lệch
Cụm hoa và hoa	Bông đực dài cỡ 5 cm, nhị 2 có khi 3 (rất ít). Bông cái dài (3-4) cm, dày (5-10) mm	Bông đực dài khoảng 5,5 cm, nhị 2. Bông cái khoảng 1,5 cm, bầu 3 nhụy hình trứng.
Quả	Quả mọng	Quả mọng

### 3.1.2 Đặc điểm giải phẫu

#### - Vi phẫu thân

Thân: vi phẫu cắt ngang từ mẫu thân non và thân già hình tròn hoặc gần tròn. Vùng vỏ chiếm khoảng 2/5 tổng diện tích vi phẫu và vùng trung trụ chiếm 3/5. Vùng vỏ: biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình đa giác, có lớp cutin dày; lỗ khí phân bố đều trên các bó libe. Lông che chở rất ngắn, hiếm gặp, đầu tròn. Mô dày tạo thành từng cụm (7-9) lớp tại các gờ lồi và (2-3) lớp ở các vùng còn lại; vách dày đồng đều. Mô mềm vỏ gồm (5-8) lớp tế bào hình bầu dục hoặc đa giác gần vuông. Nội bì là một lớp tế bào hình bầu dục hoặc đa giác, đai Caspary quan sát rõ. Vùng trung trụ: trụ bì hoá mô cứng thành từng cụm trên đầu bó libe gỗ, là các tế bào hình đa giác, vách dày, xếp khít nhau. Có (10-12) bó libe gỗ xếp thành 1 vòng đều, tương ứng (10-12) bó vết lá bao quanh một ống tiết trung tâm. Mỗi bó gồm cụm libe nằm phía ngoài cụm gỗ, gỗ cấp 1 gồm các mạch gỗ không đều phân hóa ly tâm. Cụm mô cứng có thể có trên libe và dưới gỗ cấp 1. Mô mềm tủy rộng, tế bào hình tròn, vách mỏng, xếp chứa những đạo nhỏ. Tế bào tiết tinh dầu có nhiều trong mô mềm tủy, ít hơn trong vùng vỏ.

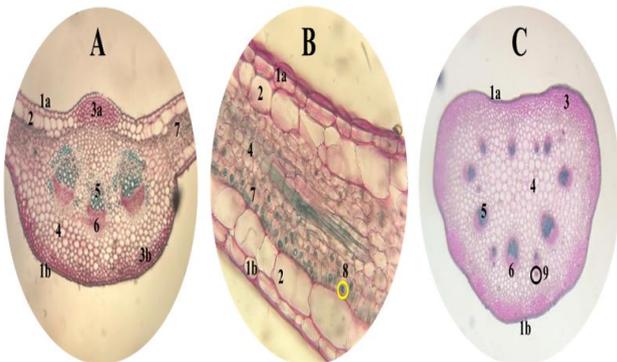


Hình 2 Vi phẫu thân TD

#### - Vi phẫu lá

Gân giữa lá có dạng lồi và tròn ở cả 2 mặt, mặt dưới lồi nhiều hơn mặt trên. Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào hình bầu dục hoặc đa giác, lớp cutin mỏng; lỗ khí hiếm gặp. Lông che chở không nhìn thấy, lông tiết rất ít gặp. Mô dày phía trên gồm (4-5) lớp tế bào có vách dày, đều. Mô dày dưới gồm (5-6) lớp tế bào, hình gần tròn hoặc đa giác có vách dày, phân bố không đồng đều. Mô mềm tế bào hình gần tròn hoặc đa giác, xếp khít nhau theo dạng vòng cung. Vòng đai libe-gỗ sắp xếp đều nhau ở giữa; bó libe bao lấy bó gỗ, tế bào libe gần gỗ có hình đa giác và xếp thành hàng; gỗ gồm các

tế bào gỗ hình đa giác, không đều, xếp lẫn lộn; mô mềm gỗ tế bào nhỏ và đều, hình đa giác hoặc hình gần tròn, xếp khít nhau. Tinh thể calci oxalat hình kim rất ngắn trong mô mềm. Phiến lá có biểu bì gồm một lớp tế bào hình gần tròn hoặc đa giác, kích thước không đồng đều, lớp cutin mỏng, không quan sát được lỗ khí và lông tiết. Dưới biểu bì trên là lớp hạ bì, gồm các tế bào hình đa giác, xếp khít nhau. Dưới lớp hạ bì là mô mềm, lớp sát hạ bì kích thước nhỏ, to dần ở (6-7) lớp tiếp theo. Mô mềm khuyết gồm tế bào có hình dạng gần tròn hoặc đa giác không đều, chứa lục lạp. Không quan sát thấy tế bào tiết trong vùng mô mềm khuyết, hạ bì trên hoặc biểu bì dưới. Tinh thể calci oxalat hình khối, kích thước nhỏ, rải rác trong biểu bì. Cuống lá có mặt trên lõm, mặt dưới lõm không theo trật tự, có dạng hình gần tròn. Mô dày có (5-6) lớp tế bào gần tròn hoặc đa giác sắp xếp khít nhau, không theo trật tự. Mô mềm đạo (5-6) lớp tế bào gần tròn hoặc đa giác, kích thước tăng dần về phía trung tâm. Trụ bì gồm (2-3) lớp tế bào mô cứng, có kích thước gần bằng với tế bào mô mềm, vách dày, sắp xếp không đồng đều tạo thành một vòng đai nằm dưới lớp tế bào mô dày. Mô mềm tùy to, tế bào gần tròn hoặc đa giác, một số có dạng hình bầu dục, kích thước không đều, to hơn mô mềm đạo. Tinh thể calci oxalat hình khối nhỏ có nhiều trong mô mềm. Tế bào tiết phân bố rải rác trong các mô mềm và libe.



**Hình 3** Vi phẫu lá, phiến lá và cuống lá TD

- A. Vi phẫu lá; B. Vùng phiến lá; C. Vi phẫu cuống lá;  
 1. Biểu bì (a. trên, b. dưới); 2. Hạ bì; 3. Mô dày (a. trên, b. dưới); 4. Mô mềm khuyết; 5. Gỗ; 6. Libe; 7. Mô giậu; 8. Hạt lục lạp; 9. Calci oxalat

3.2 Đặc điểm bột dược liệu

- *Bột quả*

Bột quả cây TD có màu đỏ cam, mùi tinh dầu nhẹ, vị cay, thể chất mịn sau khi rây qua rây 0,15  $\mu$ m. Quan sát bột cây TD dưới kính hiển vi thu được các cấu tử: mảnh biểu bì, mạch vòng, mạch rây, mảnh bản, hạt tinh bột, tinh thể calci oxalat hình khối và hình cầu, sợi đa bào chứa chất màu, lông che chở và tế bào tiết tinh dầu sợi.



**Hình 4** Cấu tử trong bột quả cây TD

3.3 Kết quả đặc điểm trình tự gen *rbcL*

Dựa trên các trình tự đã công bố, đoạn môi được thiết kế và khuếch đại thành công đoạn *rbcL* bằng kỹ thuật PCR, tạo ra sản phẩm có kích thước 552 bp. Sản phẩm có tỷ lệ A260/280 trong khoảng 1,8-2,0 được xem là đủ chất lượng để tiến hành giải trình tự bằng Phương pháp Sanger. Trình tự gen *rbcL* của mẫu lá TD thu hái tại Bình Dương được phân tích bằng phần mềm BioEdit 7.0.5:

```

CTGGTGTAAAGATTACAAATTA ACTTATTAT
ACTCCTGAGTATGAAACCAAAGATACGGATAT
CTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCGCAACCCG
GAGTTCCGCCCCAAGAAGCAGGGGGCTGCAGT
AGCTGCCGAATCCTCTACTGGTACATGGACAA
CTGTATGGACCGACGGACTTACCAGCCTTGAT
CGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCC
CGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTTGCT
ATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAG
GTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGG
GTAATGTATTTGGCTTCAAAGCCCTACGAGCC
CTACGTCTGGAAGATCTACGAATTCCTCCTGCT
TATTCCAA AACTTTCCAAGGCCACCCCATGG
AATCCAAGTTGAAAGAGATAAATTGAACAAGT
ATGGTCGTCCTTTATTGGGATGTACTATTAAC
CAAAGTTGGGGTTATCGGCTAAGAACTACGGT
AGGGCGGTTTATGAATGTCTC.
    
```

Kết quả BLAST cho đoạn *rbcL* của mẫu lá TD thu hái tại Bình Dương cho thấy, tỷ lệ bao phủ (%) và mức độ tương đồng (%) cao nhất đều thuộc về các loài trong họ Piperaceae, đặc biệt là các loài cùng chi *Piper*. Cụ thể, các loài *Piper boehmeriifolium*, *Piper hainanense* và *Piper mutabile* cho kết quả lần lượt (100/99,81), (100/99,81) và (100/99,81). Các giá trị này chứng tỏ mức độ tương đồng di truyền rất cao giữa mẫu khảo sát và các loài trong chi *Piper*, hỗ trợ cho việc định danh mẫu là *Piper retrofractum*.

**Bảng 2** Kết quả BLAST đoạn gen *rbcL* của cây TD trên NCBI

Mẫu	Kết quả BLAST trên NCBI					Mã số
	Loài tương đồng	Độ che phủ trình tự (%)	Giá trị E	Tỷ lệ tương đồng (%)	Độ dài trình tự tham chiếu	
Lá TD	<i>Piper retrofractum</i>	100	0,0	100	552	LC461931.1

**Piper retrofractum chloroplast gene for ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase**  
**CHULA-011**  
 Sequence ID: [LC461931.1](#) Length: 552 Number of Matches: 1

Range 1: 17 to 552 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
990 bits(536)	0.0	536/536(100%)	0/536(0%)	Plus/Plus
Query 1	CTGGTGTAAAGATTACAAATTAACCTATTATATACCTCTGAGTATGAAACCAAAGATACGG	60		
Sbjct 17	CTGGTGTAAAGATTACAAATTAACCTATTATATACCTCTGAGTATGAAACCAAAGATACGG	76		
Query 61	ATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACCTCCGCAACCCGGAGTTCCGCCCGAAGAAGCAGGGG	120		
Sbjct 77	ATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACCTCCGCAACCCGGAGTTCCGCCCGAAGAAGCAGGGG	136		
Query 121	CTGCAGTAGCTGCCGAATCCTCTACTGGTACATGGACAACCTGTATGGACCGACGGACTTA	180		
Sbjct 137	CTGCAGTAGCTGCCGAATCCTCTACTGGTACATGGACAACCTGTATGGACCGACGGACTTA	196		
Query 181	CCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGGGAGGAAA	240		
Sbjct 197	CCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGGGAGGAAA	256		
Query 241	ATCAATATATTTGCTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTA	300		
Sbjct 257	ATCAATATATTTGCTATGTAGCTTATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTA	316		
Query 301	ACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGCTTCAAAGCCCTACGAGCCCTACGTC	360		
Sbjct 317	ACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGCTTCAAAGCCCTACGAGCCCTACGTC	376		
Query 361	TGGAAGATCTACGAATTCCTCTGCTTATTCAAAACCTTCCAAAGGCCACCCCATGGAA	420		
Sbjct 377	TGGAAGATCTACGAATTCCTCTGCTTATTCAAAACCTTCCAAAGGCCACCCCATGGAA	436		
Query 421	TCCAAGTTGAAAGAGATAAATGAAACAAGTATGGTCGTCCTTTATTGGGATGTACTATTA	480		
Sbjct 437	TCCAAGTTGAAAGAGATAAATGAAACAAGTATGGTCGTCCTTTATTGGGATGTACTATTA	496		
Query 481	AACCAAAGTTGGGGTTATCGGCTAAGAACTACGGTAGGGCGGTTTATGAATGTCTC	536		
Sbjct 497	AACCAAAGTTGGGGTTATCGGCTAAGAACTACGGTAGGGCGGTTTATGAATGTCTC	552		

**Hình 5** Kết quả đối chiếu trình tự giữa mẫu lá PR (query) và mẫu đối chứng (subject).

Kết quả giải trình tự DNA và so sánh trình tự DNA vùng *rbcL* của cây TD thu hái tại Bình Dương với trình tự DNA vùng *rbcL* loài *Piper retrofractum* (được công bố trên NCBI với các mã tương ứng LC461931.1) là cơ sở tin cậy để khẳng định tên khoa học của cây TD thu hái tại Bình Dương là *Piper retrofractum*, thuộc họ Piperaceae.

3.4 Phân tích sơ bộ thành phần hóa học của bộ phận quả cây TD

Bột dược liệu được chiết tách bằng những dung môi có độ phân cực tăng dần: diethyl ether, ethanol và nước

cát. Các phân đoạn chiết sau đó được định tính nhanh bằng các phản ứng hóa học đặc trưng theo phương pháp phân tích sơ bộ.

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học quả cây TD cho thấy sự hiện diện của các nhóm hợp chất chính gồm: chất béo, alkaloid, tinh dầu, carotenoid, coumarin, anthocyanosid, acid hữu cơ, và các hợp chất polyuronic.

**Bảng 3** Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học quả TD

Nhóm hợp chất	Thuốc thử/ Cách thực hiện	Phản ứng dương tính	Kết quả	Kết luận
Chất béo	Nhỏ dung dịch lên giấy	Vết trong mờ	+++	Có
Carotenoid	Carr-Price	Xanh chuyển sang đỏ	+	Có
Tinh dầu	Bốc hơi tới cạn	Có mùi thơm	++	Có
Triterpenoid tự do	Liebermann-Burchard	Đỏ nâu-tím	-	Không
Alkaloid	Thuốc thử Alkaloid	Tủa	+++	Có
Coumarin	Phát quang trong kiềm	Phát quang mạnh hơn	+++	Có
Anthraglycosid	KOH 10 %	Dung dịch kiềm có màu hồng tới đỏ	-	Không
Flavonoid	Mg/HCl đđ	Dung dịch có màu hồng tới đỏ	-	Không
Glycosid tim	Thuốc thử vòng lacton	Tím	-	Không
	Thuốc thử đường	Đỏ mật	-	Không
Anthocyanosid	HCl	Đỏ	+++	Có
	KOH	Xanh	+++	Có
Proanthocyanidin	HCl/t°	Đỏ	±	Nghi ngờ
Tanin	Dung dịch FeCl <sub>3</sub>	Xanh rêu/xanh đen	±	Nghi ngờ
Triterpenoid thủy phân	Liebermann-Burchard	Đỏ nâu-tím, lớp trên có màu xanh lục	-	Không
Saponin	Thuốc thử Libermann	Có vòng màu tím nâu		Không
Acid hữu cơ	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Sủi bọt	+	Có
Chất khử	TT Fehling	Tủa đỏ gạch		Không
Hợp chất polyuronic	Pha loãng/Cồn 90 %	Tủa bông trắng	+	Có

*Đánh giá theo mức độ: (-) Không có, (±) Nghi ngờ, (+) Có ít, (++) Có, (+++) Có nhiều.*

### 3.5 Kết quả chiết xuất, tinh chế piperin

Tiến hành chiết ngấm kiệt 4 kg bột quả TD bằng ethanol 96 % với tỷ lệ dung môi nguyên liệu 1:8, thu được khoảng 32 L dịch chiết ethanol. Dịch chiết được cô quay giảm áp, thu được 592,78 g cao còn toàn phần. Lấy 500 g cao còn toàn phần, hòa tan trong 1 L nước, sau đó tiến hành lắc phân bố với *n*-hexan (khoảng 20 L). Phân đoạn *n*-hexan sau khi cô giảm áp thu được 131,29 g cao *n*-hexan. Trong quá trình cô đặc, quan sát thấy có kết tủa tạo thành ở đáy và thành bình. Kết tủa được thu hồi bằng cách lọc qua phễu thủy tinh xộp, sau đó rửa bằng *n*-hexan lạnh, thu được 8,63 g kết tủa vô định hình, ký hiệu T<sub>Hex</sub>.

*Tinh chế T<sub>Hex</sub>*: hòa tan T<sub>Hex</sub> trong methanol, đun ở 65 °C trong 2 phút, sau đó làm lạnh nhanh về 4 °C, thu được 1,5595 g chất rắn kết tinh vô định hình, ký hiệu PR1. Hợp chất PR1 thu được dưới dạng chất rắn kết tinh vô định hình, màu trắng, tan trong methanol và chloroform, không tan trong *n*-hexan và ethyl acetat. Khi tiến hành sắc ký lớp mỏng (SKLM) với hệ dung môi *n*-hexan - chloroform - methanol (7:2:1), PR1 cho vết tắt quang dưới UV 254 nm và 365 nm. Phát hiện bằng thuốc thử VS thu được vết mờ màu vàng; khi phun thuốc thử Dragendorff, cho vết màu đỏ cam với R<sub>f</sub> = 0,52.

**Bảng 4** Dữ liệu phổ NMR của hợp chất PR1 ( $\delta$ (ppm); *m*, *J* (Hz), DMSO, <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz) và <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz))

PR1					Piperine	
Vị trí	$\delta$ C	DEPT	$\delta$ H	HMBC	$\delta$ C	$\delta$ H
1	165,4	C	-		164,2	-
2	120,1	CH	6,44 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 14,6; 1H)	C-1, C-3, C-4, C-5,	120,7	6,67 ( <i>d</i> ; <i>J</i> = 14,6; 1H)
3	142,4	CH	7,38 ( <i>dd</i> ; <i>J</i> = 14,6; 10,8; 1H)	C-1, C-2, C-4, C-5	141,7	7,21 ( <i>dd</i> ; <i>J</i> = 14,5; 10,8; 1H)
4	125,6	CH	6,70 ( <i>dd</i> ; <i>J</i> = 15,6; 10,9; 1H)	C-2, C-19, C- 18, C-20, C-4, C-3, C-5	125,6	6,96 ( <i>dd</i> ; <i>J</i> = 15,6; 10,9; 1H)

5	138,2	CH	6,72 ( <i>d</i> ; $J = 15,7$ ; 1H)	C-3, C-4, C-18, C-19	137,5	6,87 ( <i>d</i> ; $J = 15,6$ ; 1H)
(8,12)	43,2; 46,9	CH <sub>2</sub>	3,52 ( <i>br.s</i> , 4H)		42,4; 46,0	3,51 ( <i>br.s</i> , 4H)
(9,11)	26,7; 25,6	CH <sub>2</sub>	1,59 ( <i>br.s</i> , 4H)	C-8, C-12, C-10	25,3; 26,4	1,48 ( <i>br.s</i> , 4H)
10	24,7	CH <sub>2</sub>	1,66 ( <i>p</i> ; $J = 6,1$ ; 2H)	C-8, C-12, C-11	24,1	1,60 ( <i>p</i> ; $J = 6,0$ ; 2H)
14	101,3	CH <sub>2</sub>	5,96 ( <i>s</i> ; 2H)	C-16, C-17	101,2	6,04 ( <i>s</i> ; 2H)
16	148,2	C	-	-	147,9	-
17	148,1	C	-	-	147,7	-
18	105,7	CH	6,88 ( <i>d</i> ; $J = 15,6$ ; 1H)	C-20, C-5, C-17	105,4	7,16 ( <i>d</i> ; $J = 15,2$ ; 1H)
19	131,0	C	-	-	130,8	-
20	122,5	CH	6,89 ( <i>dd</i> ; $J = 8,0$ ; 14,1; 1H)	C-16, C-17, C-18, C-5	122,4	6,98 ( <i>dd</i> ; $J = 8,0$ ; 14,1; 1H)
21	108,5	CH	6,74 ( <i>d</i> ; $J = 7,9$ ; 1H)	C-18, C-19	108,4	6,92 ( <i>d</i> ; $J = 8,0$ ; 1H)

Phổ MS (ESI-MS) cho mũi ion  $[M+H]^+$  ở 286.38 m/z; suy ra  $M_{PR1} = 285,38$  đvC, tương ứng với công thức phân tử  $C_{17}H_{19}NO_3$ .

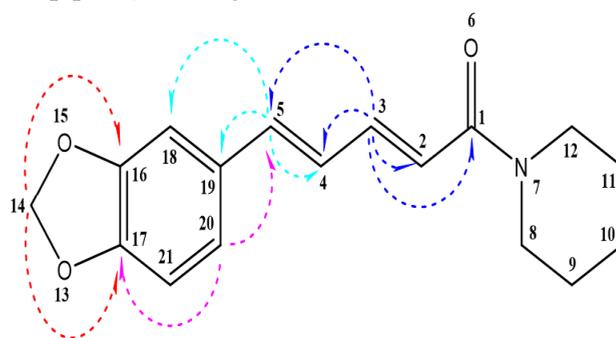
Phổ  $^{13}C$ -NMR kết hợp với phổ DEPT-90 và DEPT-135 cho 17 tín hiệu cộng hưởng, trong đó có 4 carbon bậc IV, 7 carbon methin và 6 carbon methylen. Dựa vào độ dời hóa học xác định được 1 carbon carbonyl ở  $\delta C$  165,43 (C-1).

Phổ  $^1H$ -NMR cho bảy tín hiệu proton ở  $\delta H$  6,44 (1H, *d*, H-2);  $\delta H$  7,38 (1H, *dd*, H-3),  $\delta H$  6,70 (1H, *dd*, H-4),  $\delta H$  6,72 (1H, *d*, H-5),  $\delta H$  6,89 (1H, *dd*, H-20),  $\delta H$  6,74 (1H, *d*, H-21),  $\delta H$  7,88 (1H, *d*, H-18), cho thấy đây là tín hiệu của nhóm (CH-). Sáu tín hiệu proton ở  $\delta H$  3,52 (4H, *br.s*, H-12);  $\delta H$  1,59 (4H, *br.s*, H-11);  $\delta H$  1,66 (2H, *p*, H-10),  $\delta H$  1,59 (4H, *br.s*, H-9),  $\delta H$  3,52 (4H, *br.s*, H-8),  $\delta H$  5,96 (2H, *s*, H-14) cho thấy đây là tín hiệu proton của nhóm ethyl (CH<sub>2</sub>-).

Phổ HSQC, proton của H-14 (5,96; *s*, 2H) cho tương quan với  $\delta C$  101,3 (C-14); proton của H-9 (1,59; *br.s*, 4H) với  $\delta C$  (25,6; 26,7) (C-9, C-11); proton của H-21 (6,74; *d*,  $J = 7,9$ ; 1H) với  $\delta C$  108,5 (C-21); proton của H-2 (6,44; *d*,  $J = 14,6$ ; 1H) với  $\delta C$  120,1 (C-2); proton của H-20 (6,97; *dd*,  $J = 8,0$ ; 1H) với  $\delta C$  122,4 (C-20), H-4 (6,97; *dd*,  $J = 15,6$ ; 1H) với  $\delta C$  125,6 (C-4), proton H-5 (6,72; *d*,  $J = 15,6$ ; 1H) với  $\delta C$  138,2 (C-5), proton H-3 (7,38; *dd*,  $J = 14,6$ ; 1H) với  $\delta C$  142,4 (C-3), proton H-8 (3,52; *br.s*, 4H) với  $\delta C$  (43,2; 46,9) (C-8, C-12), có thể thấy rằng đây là 11 tín hiệu proton tương ứng tại C-14, C-9, C-11, C-21, C-2, C-C20, C-4, C-5, C-3, C-8 và C12.

Từ những dữ liệu phổ thu được kết hợp với so sánh dữ liệu phổ [7], đề nghị kết luận PR1 là (2*E*,4*E*)-5-(1,3-

benzodioxol-5-yl)-1-piperidin-1-ylpenta-2,4-dien-1-one (piperin) có công thức cấu tạo như Hình 5.



**Hình 5** Cấu trúc hóa học của PR1

() Tương quan HMBC)

#### 4 Kết luận và đề xuất

Nghiên cứu đã khảo sát đặc điểm hình thái của mẫu dược liệu và ghi nhận các đặc điểm trùng khớp với loài TD (*Piper retrofractum*) được mô tả [6]. Kết quả phân tích giải phẫu, soi bột dược liệu và đối chiếu trình tự gen *rbcL* đều cho thấy sự tương đồng rất cao với các mẫu thuộc họ Piperaceae, đồng thời khẳng định mẫu TD thu hái tại Bình Dương chính là *Piper retrofractum*. Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học quả TD cho thấy sự hiện diện của các nhóm chất: chất béo, alkaloid, tinh dầu, carotenoid, coumarin, anthocyanosid, acid hữu cơ và hợp chất polyuronic. Từ phân đoạn cao chiết *n*-hexan của quả TD, bằng kỹ thuật tái kết tinh kết hợp các phương pháp phân tích phổ, nghiên cứu đã phân lập và xác định cấu trúc hợp chất piperin, ký hiệu PR1. Hợp chất PR1 thu được là cơ sở quan trọng cho các thử nghiệm dược lý tiếp theo và có thể góp phần vào quá trình tiêu chuẩn hóa dược liệu quả TD.

## Tài liệu tham khảo

1. Salleh, W. M. N. H. W., & Ahmad, F. (2020). Phytopharmacological investigations of *Piper retrofractum* Vahl. a review. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 85(3), 193-202.
2. Panphut, W., Budsabun, T., & Sangsuriya, P. (2020). In vitro antimicrobial activity of *Piper retrofractum* fruit extracts against microbial pathogens causing infections in human and animals. *International Journal of Microbiology*, (1), 5638961.
3. Dongsheng F. et al. (2023). Lignans from the genus *Piper L.* and their pharmacological activities: An updated review. *Fitoterapia*, 165, pp. 105403.
4. Doyle J.J. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 13-15.
5. Đỗ Thị Thúy Vân. (2017). Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học, đặc điểm vi phẫu và hình thái của cây lá đắng. *Tạp chí Khoa học Đại học Đà Nẵng*.
6. Võ Văn Chi. (2011). *Từ điển Cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 281-382, 956.
7. Nikitin, S. (2020). Structure elucidation and complete assignment of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data of piperine. *Magnetic Resonance Chemistry*, 20(1), 1-4.

## Botanical characteristics and preliminary phytochemical screening in *Piper retrofractum* (Piperaceae)

Nguyen Thi Cam<sup>1</sup>, Nguyen Ngoc Anh<sup>2</sup>, Tran Quang Tan<sup>2</sup>, Pham Thi Mai<sup>2</sup>, Tong Thu An<sup>2</sup>, Pham Thi Yen Linh<sup>2</sup>, Nguyen Huynh Khanh Thy<sup>2</sup>, Nguyen Huynh Tuyet Nhi<sup>2</sup>, Le Van Huan<sup>2</sup>, Chung Khanh Linh<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy, Binh Duong Medical College, Ho Chi Minh City, Viet Nam

<sup>2</sup>Institute of Pharmaceutical Education and Research, Binh Duong University, Ho Chi Minh City, Viet Nam

<sup>3</sup>Faculty of Pharmacy, Ton Duc Thang University, Ho Chi Minh City, Viet Nam

\*Corresponding Author: chungkhanhlinh@tdtu.edu.vn

**Abstract** *Piper retrofractum* Vahl is widely used in traditional medicine; however, scientific data on its botanical characteristics and chemical composition in Vietnam remain limited, and it is often confused with *Piper longum* L. This study aimed to establish identification criteria, support quality control, and provide a foundation for further medicinal research. Plant materials collected in Binh Duong, Vietnam were investigated for botanical features, molecular identification, and phytochemical composition. Diagnostic anatomical characteristics and powdered drug features were recorded. The *rbcL* gene region was amplified from young leaf DNA by PCR, sequenced using the Sanger method, analyzed with BioEdit, and compared with GenBank sequences (LC461931) via BLAST. The results confirmed the sample as *Piper retrofractum* belonging to the Piperaceae family. Preliminary phytochemical screening revealed the presence of lipids, alkaloids, essential oils, and coumarins. A pure compound was isolated from the n-hexane fraction using cold-solvent recrystallization and subsequently identified by MS and NMR as piperine. These findings provide a scientific basis for raw material quality control and serve as a starting point for further studies on the chemical constituents and biological activities of *Piper retrofractum*.

**Keywords** *Piper retrofractum*, DNA, medicinal plants, microscopy, phytochemistry, piperine.

