

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA THÂN CÂY CỎ XƯỚC (*ACHYRANTHES ASPERA*. L)

Tôn Nữ Liên Hương¹, Nguyễn Minh Hiền² và Trần Đình Luận³

ABSTRACT

Continuing to the chemical study on *Achyranthes aspera* L. (Vietnamese: Nguru tất, family *Amaranthaceae*), after the previous paper described the result study on materials of Tra Vinh province, we now focus on the raw materials collected in Vinh Long province. From the different polarity extracts, we have isolated and identified four compounds: dodecanoic acid, stigmasterol, α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranoside, and quercetin. Their structures were evaluated by spectrum data of MS, ¹H, ¹³C, DEPT NMR and 2D-NMR.

Keywords: *Achyranthes aspera*. L, Stigmasterol, α -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranoside, Quercetin

Title: Study on the chemical composition of *Achyranthes aspera* L.

TÓM TẮT

Trong quá trình nghiên cứu thành phần hóa học cho cây Cỏ xước, (Nguru tất nam, *Achyranthes aspera* L., họ Rau dền, *Amaranthaceae*), tiếp theo bài báo đã công bố trước đây khi khảo sát cây Cỏ xước thu hái ở Trà Vinh, chúng tôi tiến hành cô lập chất trên nguyên liệu được thu hái ở Vĩnh Long. Từ các cao có độ phân cực khác nhau, chúng tôi đã cô lập và nhận danh thêm bốn hợp chất: dodecanoic acid, stigmasterol, α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranoside và quercetin. Cấu trúc của các chất này được đề nghị căn cứ vào các dữ liệu phổ MS, ¹H, ¹³C, DEPT-NMR và phổ 2 chiều NMR.

Từ khóa: *Achyranthes aspera*. L, cỏ xước, sterol, dodecanoid acid, α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranoside, quercetin

1 MỞ ĐẦU

Cây Cỏ xước có tên khoa học: *Achyranthes aspera* L., thuộc chi *Achyranthes*, họ *Amaranthaceae* (Rau giền, Dền). Tên thông thường: Cỏ xước, Nguru tất nam, Nhà khoanh ngù (Tài), Cỏ nhả lin ngu (Thái), Hà ngù.

Cỏ xước là loại cây thảo, cao gần 1 m, có lông mềm, thân cứng, phình lên ở những mấu. Lá mọc đối, hình trứng, nhẵn hoặc hơi có lông, gốc thuôn, đầu tù, dày 3–12 cm; cuống lá dài. Cụm hoa mọc thành bông đơn ở ngọn thân, dài 20-30 cm, hoa mọc rủ xuống áp sát vào cuống cụm hoa. Quả nang có lá bắc còn lại tạo hình gai nhọn dễ mắc vào sợi vải khi chạm phải; vỏ quả rất mỏng, dính vào hạt; hạt hình trứng dài, dày 1 mm. Mùa hoa quả tháng 7–12. Hình dáng cỏ xước rất gần giống với cây nguru tất, cũng là loại dược thảo rất hữu dụng ở nhiều nước Trung Quốc, Ấn độ, Nepal,...

¹ Khoa Khoa học tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

² Cao học hóa hữu cơ K16, Trường Đại học Cần Thơ

³ Cao học hóa hữu cơ K15, Trường Đại học Cần Thơ

Cây cỏ xước đã được sử dụng trong y học cổ truyền nước ta từ lâu, vì những công dụng hữu hiệu trong điều trị đau khớp, nhức đầu, sốt rét, viêm thận, sỏi niệu và trĩ gan. Đối với phụ nữ, cỏ xước giúp làm giảm rối loạn kinh nguyệt, đau do kinh bế, đau bụng sau sanh. Cây cỏ xước vừa là phương thuốc vừa là một nguyên liệu tốt trong nhiều bài thuốc hiện đang có tên trong danh mục thuốc điều trị của Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, Viện dược liệu Trung ương.

Tiếp theo kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học của cây cỏ xước thu hái ở Trà Vinh mà chúng tôi đã công bố trước đây, (Tôn Nữ Liên Hương *et al.*, 2011), hiện nay nghiên cứu được thực hiện trên nguyên liệu thu hoạch ở Vĩnh Long. Do đó, trong bài báo này chúng tôi công bố thêm một số hợp chất phân cực trung bình và khá vừa cô lập được.

2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Nguyên liệu

Mẫu nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là phần thân cây cỏ xước được thu hái vào tháng 3/2010 tại tỉnh Vĩnh Long.

2.2 Thiết bị

Phổ khối lượng (ESI-MS) được ghi trên máy MS 5989 B (Hewlett Pakard). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): ^1H -NMR (500 MHz) và ^{13}C -NMR (125 MHz), COSY, DEPT, HSQC, HMBC được ghi trên máy Bruker AM500 FT-NMR của Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3 Chiết xuất và cô lập

Bột khô từ thân cây cỏ xước (2,1 kg) được chiết với ethanol, cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cao tổng (204 g). Với mỗi 100 g cao tổng cho thêm 0,5 lít nước cất và lần lượt chiết phân bố lỏng-lỏng cao này với các dung môi petroleum ether (PE), chloroform (C), ethyl acetate (E) và *n*-butanol (B), cô quay đuôi dung môi của dịch chiết thu được các cao PE (41 g), cao C (19,2 g), cao E (6,2 g), cao B (21 g). Tiến hành sắc ký cột cao PE, cao C, E.

Từ cao PE (41g) tiến hành sắc ký cột với hệ dung môi có tính phân cực tăng dần từ petroleum ether pha tỷ lệ với ethyl acetate, xả cột với methanol, thu được 13 phân đoạn P.1 – P.13. Tiếp tục sắc ký vài lần trên 2 phân đoạn P.3 và P.10 thu được hai chất, khi kết tinh lại đều có tinh thể trắng. Chất (1) tinh thể hình kim (4,20 g), chất (2) dạng bột mịn (70 mg).

Từ cao C (19 g) tiến hành sắc ký cột với hệ dung môi PE:E tăng dần độ phân cực từ (9:1) đến (0:10) và hệ dung môi E:M từ (99:1) đến (30:70), sau đó xả cột với methanol thu được 12 phân đoạn, C1–C12. Tiếp tục sắc ký cột phân đoạn C10 (3,12 g) hai lần trên cột silica gel, thu được chất (3) tinh thể màu vàng (15 mg).

Tiến hành sắc ký cột cao E (2 g) với hệ dung môi PE:E tăng dần độ phân cực [từ (40:60) đến (0:100)] và hệ dung môi E:M tăng dần độ phân cực từ (90:10) đến (30:70), sau đó xả cột bằng methanol, thu được 7 phân đoạn: E1-E7. Tiếp tục sắc ký cột đối với phân đoạn E.4 (4,12 g) hai lần trên cột silica gel, thu được chất (4) (25 mg).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Nhận danh cấu trúc của các chất trong cao PE

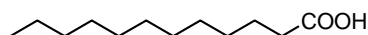
3.1.1 Stigmasterol (chất 1)

Chất (1) là tinh thể hình kim, màu trắng, kết tinh trong chloroform (4,2 g). Nhiệt độ nóng chảy 169-170°C. Sắc ký bản mỏng cho vết $R_f = 0,43$ khi giải ly bằng CHCl_3 . Khi so sánh phổ của hợp chất với stigmasterol trong tài liệu tham khảo (J. Goad và T.H.Akihisa), các số liệu trùng khớp hoàn toàn.

3.1.2 Dodecanoic acid (chất 2)

Chất (2) là tinh thể dạng bột, màu trắng, kết tinh trong E (70 mg). Sắc ký bản mỏng cho vết $R_f = 0,31$ khi giải ly bản mỏng trong hexane.

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) cho tổng cộng 3 loại proton của $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$ và $-\text{COOH}$. Từ 0,85 đến 2,36 ppm là proton gắn với carbon bão hòa. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm) kết hợp với phổ DEPT-NMR cho thấy chất (2) có 12 carbon. Trong đó có 1 nhóm carbonyl $-\text{COOH}$ ($\delta = 179,7$ ppm), 10 nhóm $-\text{CH}_2-$ ($\delta = 22,7 \rightarrow 34,0$), 1 nhóm $-\text{CH}_3$ ($\delta = 14,1$). Vậy chất (2) là dodecanoic acid.



Bảng 1: Phổ NMR của chất (1) so với tài liệu tham khảo (J. Goad và T. H. Akihisa) δ ppm

TT	Chất (1)		Stigmasterol	TT	Chất (1)		Stigmasterol
	^1H (J, Hz)	^{13}C			^{13}C	^1H (J, Hz)	
1		37,2	37,2	15		24,3	24,3
2		31,6	31,6	16		28,8	28,9
3	3,52 m	71,8	71,8	17		54,4	56,1
4		42,3	42,2	18	1.01 s	12,0	12,0
5		140,7	140,7	19	0.89 s	19,3	19,4
6	5,35 (5,0)	121,7	121,7	20		40,5	40,5
7		31,9	31,8	21		21,2	21,2
8		31,8	32,1	22	5.16 (d; 7,5)	138,3	138,3
9		50,2	50,2	23	5.04 (d; 7,5)	129,3	129,3
10		36,5	36,5	24	1.53 brd	51,2	51,2
11		21,1	21,1	25		31,9	31,8
12		39,8	39,8	26	0.79 d	19,0	19,0
13		42,3	42,3	27	0.81 d	21,1	21,1
14		56,9	56,8	28		25,4	25,4
				29	0.80 t	12,2	12,2

3.2 Nhận danh cấu trúc của các chất trong cao C và cao E

3.2.1 Quercetin (chất 3)

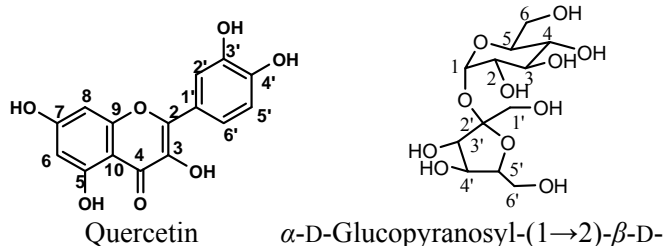
Chất (3) là tinh thể dạng bột màu vàng, tan trong methanol. Sắc ký bản mỏng cho vết $R_f = 0,3$ khi giải ly bản mỏng trong E:M = 85:15.

Khối phổ có peak ion giả phân tử $m/z = 303$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_7$ (khối lượng phân tử là 302 u). Ngoài ra, mảnh ion có $m/z = 285$ là ứng với ion được hình thành từ ion giả phân tử mất đi một phân tử H_2O .

Từ phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO) nhận thấy có 12 tín hiệu proton. Trong vùng từ trường: (6,0-8,0) ppm có 5 proton của vòng thơm gồm 2 proton ở vị trí *meta* với nhau ($J = 2,5$ Hz) thuộc vòng A, và 3 proton khác thuộc vòng B, trong đó 1 H ở vị trí *meta* và *para* với 2 H còn lại, ($J_{meta} = 2,0$ Hz; $J_{orto} = 8,5$ Hz).

Trong phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT-NMR: chất (3) gồm 15 C, trong đó có 1 carbon carbonyl 175,8 ppm. Vùng δppm (135,7 - 163,8) gồm 7 carbon bậc 4 kề nối đôi và mang nhóm thế oxy tương ứng với các vị trí 2, 3, 5, 7, 9, 3', 4'. Tại δppm : 103,0 và 121,9 là 2 carbon bậc 4 kề nối đôi $>\text{C}=\text{C}<$ ứng với C_{10} , $\text{C}_{1'}$. Vùng δppm (93,3-119,9) là vùng tín hiệu của 5 carbon olefin dạng $=\text{CH}-$ tương ứng với C_6 , C_8 , C_2 , C_5 , C_6 .

Dựa vào các dữ liệu phổ, chúng tôi đề nghị công thức của hợp chất (3) là Quercetin. Các số liệu phổ của chất này hoàn toàn khớp với tài liệu tham khảo (John Goad).



fructofuranoside

3.2.2 $\alpha\text{-D-Glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-fructofuranoside}$ (chất 4)

Chất (4) có tinh thể dạng hạt hình khối, không màu, tan tốt trong methanol, kết quả sắc ký bản mỏng cho vết $R_f = 0,55$ khi giải ly bản mỏng trong hệ etyl acetate pha trong methanol và nước E:M:N = 4:1:1. Chất (4) có nhiệt độ nóng chảy: 184-185°C.

Trong phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) cho thấy hợp chất (4) có 14 H, trong đó tín hiệu ở vùng (3,0-4,0) ppm là những proton của phần đường, tín hiệu tại 5,41 ppm là proton anomer. Phần đường có 13 H vậy trong phân tử chất (4) có thể gồm 2 gốc đường. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD) và DEPT-NMR có 12 tín hiệu carbon, trong đó có 8 mũi dương của 8 carbon $>\text{CH}-$; 3 mũi âm của 3 carbon $-\text{CH}_2\text{OH}$ và 1 carbon tứ cấp $>\text{C}<$.

Dựa vào phổ HSQC, xác định được carbon anomer δ_C 93,7 ppm ứng với proton anomer δ_H 5,41 ppm (1H, *d*, $J=3,5$ Hz). Căn cứ vào phổ COSY, tương tác của proton này với proton của 4 nhóm hydroxymethin, 1 nhóm $-\text{CH}_2\text{OH}$ và dữ liệu J nói trên, nên xác định một gốc đường ở dạng $\alpha\text{-glucopyranose}$. Theo phổ HMBC, proton anomer có tương quan với carbon tứ cấp tại δ_C 105,4 ppm, C-2'. Mạch còn lại có 2 nhóm $-\text{CH}_2\text{OH}$ mà một nhóm có proton gây tương quan với carbon tứ cấp (δ_H 3,63 ppm có tín hiệu giao với δ_C 105,4 ppm), chứng tỏ đường còn lại là đường $\beta\text{-fructofuranoside}$.

Phổ khối lượng (FT-MS) không thấy xuất hiện peak ion phân tử nhưng có các peak: $m/z = 274$ (100 %), ion $m/z = 149$ tương ứng với $[\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_5]^+$ hay $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 - \text{CH}_2\text{OH}]^+$ và peak có $m/z = 130$ tương ứng với $[\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_4]^+$ hay $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5 -$

CH₃OH]^{*}. Vậy suy ra công thức phân tử chất (4) là C₁₂H₂₂O₁₁ với ít nhất 2 nhóm –CH₂OH trong phân tử, và peak có m/z = 274 tương ứng với [M – CH₂OH – 2 H₂O]^{*}. Kết hợp những dữ kiện trên, chất (4) được định danh là α-D-Glucopyranosyl-(1→2)-β-D-fructofuranoside

Bảng 2: Phổ NMR của chất (3) δ ppm

TT	Chất (3) (MeOD)		Quercetin ^[2] ¹³ C
	¹ H (J, Hz)	¹³ C	
2		156,1	156,2
3		135,7	133,5
4		175,8	177,5
5		160,7	161,1
6	6,18 (d; 2,0)	98,2	98,6
7	6,40 (d; 2,0)	163,8	164,1
8		93,3	93,6
9		147,7	156,2
10		103,0	103,9
1'		121,9	121,6
2'	7,69 (d; 7,5)	115,6	116,2
3'		145,0	144,8
4'		146,8	148,4
5'	6,89 (dd; 7,5; 2)	115,0	115,2
6'	7,54 (d; 7,5)	119,9	121,1

Bảng 3: Phổ NMR của chất (4) δ ppm

TT	Chất (4) (MeOD)		
	¹ H (J, Hz)	¹³ C	HMBC
1	5,41(d; 3,5)	93,7	2', 3
2	3,45 (dd; 4,0; 10,0)	73,3	3
3		74,7	2
4		71,4	5, 6
5		74,4	4
6	3,75 m; 3,84 m	62,3	4
1'	3,63 m; 3,74 m	64,1	2'
2'		105,4	-
3'		79,4	1'
4'	4,11 (d; 8,0)	75,8	3', 6'
5'		83,8	4', 6'
6'	3,74 m; 3,86 m	63,4	5'

4 KẾT LUẬN

Như vậy chúng tôi đã cô lập và đề nghị cấu trúc của 4 hợp chất là stigmasterol, dodecanoid acid, α-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-fructofuranoside và quercetin. Các kết quả này là đóng góp mới về thành phần hóa học của cây cỏ xước vùng Vĩnh Long. Quercetin có vai trò kháng oxy hóa rất tốt và ức chế phát triển tế bào ung thư, (theo Kai Jin Wang *et al.*, 2007).

Các nghiên cứu trên những phân đoạn còn lại đang được tiếp tục thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thuận Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mân, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn, Viện dược liệu, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội, **2004**, Tập II.
- Tôn Nữ Liên Hương, Nguyễn Minh Hiền, Trần Đình Luận, *Nghiên cứu thành phần hóa học của thân cây Cỏ xước (Achyranthes aspera L.) thu ở Trà Vinh*, Tạp chí Khoa học Trường ĐHTC, **2011**, số 19b, 56-61.
- John Goad and Tosh Hiro Akihisa, *Analysis of Steroid*, Springer Publisher, 1st edition, **1997**
- Kai Jin Wang, Chong Ren Yang and Ying Jun Zhang, *Phenolic antioxidants from Chinese toon (fresh young leaves and shoots of Toona sinensis)*, Food Chemistry, **2007**, 101, pp. 365 – 371.