

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC MỘT SỐ HỢP CHẤT TỪ CÂY DIẾP CÁ (*Houttuynia cordata* Thumb) CỦA VIỆT NAM

Trần Thị Việt Hoa, Lê Thị Kim Oanh

Trường Đại học Bách Khoa, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 31 tháng 01 năm 2007, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 08 tháng 05 năm 2008)

TÓM TẮT: Phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất Sesamin, β -sitosterol và Quercitrin trong cao ete dầu hỏa và cao etyl acetat thu được từ cây Diệp cá.

1. MỞ ĐẦU

Cây Diệp cá từ lâu đã được biết đến như một loại rau ăn sống phổ biến trong bữa ăn của người Việt Nam. Không những vậy Diệp cá còn được sử dụng trong nhiều bài thuốc dân gian để trị các bệnh ho, trĩ, viêm nhiễm đường tiết niệu, nhiễm trùng, v.v [1]... Công trình này nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ cây Diệp cá (*Houttuynia cordata* Thumb.) của Việt Nam để góp phần tạo cơ sở khoa học và nâng cao giá trị sử dụng của loại cây này.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cây Diệp cá thu hái tại huyện Châu Thành, Tiền Giang. Cây tươi được rửa sạch, loại bỏ lá sâu, phần gốc già được sấy khô ở 50 – 60°C (độ ẩm dưới 13%). Diệp cá khô được bảo quản trong túi ny long và được xay nhỏ trước khi sử dụng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phân lập các hợp chất trong cao ete dầu hỏa không xà phòng hoá và cao etyl acetat bằng phương pháp sắc ký cột trên nhôm oxyt và silicagel Merck 60 F254

- Phân tích cấu trúc các hợp chất thu được bằng các phương pháp phổ nghiệm: IR, MS, NMR.

3. KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM – BÀN LUẬN

3.1. Chiết xuất cao ete dầu hỏa và cao etyl acetat từ cây Diệp cá

Bột Diệp cá khô được trích kiệt với dung môi ete dầu hỏa 60 – 90°C trên hệ thống Soxhlet. Dịch trích được lọc, loại dung môi bằng hệ thống cô quay chân không để thu được cao ete dầu hỏa.

Bã dược liệu được để bay hơi hoàn toàn dung môi ở nhiệt độ phòng, sau đó tiến hành trích kiệt với dung môi etyl acetat như qui trình trên để thu được cao etyl acetat.

3.2. Phân lập các hợp chất từ cao ete dầu hỏa

3.2.1. Xà phòng hoá

Tiến hành xà phòng hoá 5 g cao ete dầu hỏa với 100 ml KOH 10% trong cồn, đun hồi lưu cách thủy cho hỗn hợp sôi nhẹ trong 2 giờ. Hỗn hợp thu được chiết với ete dầu hỏa 60 – 90°C. Sau đó rửa dịch chiết đến hết kiềm, cô quay loại dung môi để thu được phần không xà phòng hoá.

3.2.2. Sắc ký cột chậm cao ete dầu hỏa không xà phòng hoá

Tiến hành sắc ký cột trên chất hấp phụ nhôm oxyt với các hệ dung môi rửa giải theo thứ tự tăng dần độ phân cực: ete dầu hỏa 60-90°C (100%), ete dầu hỏa-benzen (95:5, 9:1, 3:1, 1:1), benzen (100%), benzen-diclometan (9:1, 3:1, 1:1), diclometan (100%), diclometan-metanol (7:3), metanol (100%).

Kết quả thu được 16 phân đoạn, trong đó phân đoạn ứng với hệ dung môi rửa giải benzen 100% cho cao màu vàng, có tinh thể. Tiến hành tinh chế phân đoạn này bằng cách hòa tan vào dung môi ete dầu hỏa. Phần tan trong ete dầu hỏa đem loại dung môi, rửa tinh thể nhiều lần bằng ete dầu hỏa 30-60°C thu được hợp chất O-03. Phần không tan được hòa tan trong metanol, lọc lấy phần không tan, rửa nhiều lần bằng ete dầu hỏa 30-60°C thu được hợp chất O-04. Hai hợp chất O-03 và O-04 có dạng tinh thể trắng. Sắc ký lớp mỏng 2 hợp chất trên với hệ dung môi cloroform- metanol (9:1), phun thuốc thử H₂SO₄ 20%, sấy ở 105°C cho vết tròn màu tím có R_f lần lượt là: 0.64 và 0.66.

3.3. Phân lập các hợp chất từ cao etyl acetat

3.3.1. Phân lập cao etyl acetat trên hệ thống lọc hút chân không

Điều kiện tiến hành:

Cao etyl acetat: 2g.

Chất hấp phụ: silicagel Merck 60 F254 (0.063-0.200mm)

Hệ dung môi rửa giải: ete dầu hỏa 60-90°C (100%), ete dầu hỏa-diclometan (9:1, 7:3, 3:7), diclometan (100%), diclometan-etyl acetat (9:1, 7:3, 3:7), etyl acetat (100%), etyl acetat-metanol (9:1, 7:3, 3:7), metanol (100%), metanol-nước (9:1, 7:3).

Kết quả thu được 6 phân đoạn, trong đó phân đoạn tương ứng với hệ dung môi giải ly từ etyl acetat (100%) đến metanol-nước (7:3) có khối lượng lớn nhất, sắc ký lớp mỏng cho ít vết nên được chọn để tiếp tục chạy qua sắc ký cột chậm.

3.3.2. Sắc ký cột chậm phân đoạn gộp của cao etyl acetat

Tiến hành sắc ký cột trên chất hấp phụ silicagel Merck 60 F254 (0.063-0.200mm) với các hệ dung môi rửa giải theo thứ tự tăng dần độ phân cực: ete dầu hỏa 60-90°C (100%), ete dầu hỏa- diclometan (9:1, 7:3), diclometan (100%), diclometan-etyl acetat (9:1, 7:3), etyl acetat (100%), etyl acetat-metanol (9:1, 7:3), metanol (100%), metanol-nước (7:3).

Kết quả thu được 10 phân đoạn, trong đó phân đoạn tương ứng với hệ dung môi rửa giải từ diclometan-etyl acetat (7:3) đến etyl acetat (100%) có khối lượng lớn nhất, sắc ký lớp mỏng cho ít vết. Tiến hành tinh chế phân đoạn này thu được một hợp chất (O-8) có dạng bột mịn màu vàng, phản ứng dương tính với thuốc thử Shibata. Sắc ký lớp mỏng hợp chất trên với hệ dung môi n-butanol-acid acetic-nước (4:1:5), phun thuốc thử H₂SO₄ 20%, sấy ở 105°C: cho một vết tròn màu vàng có R_f = 0.64.

3.4. Phân tích cấu trúc các hợp chất thu được

3.4.1. Xác định cấu trúc của hợp chất O-03

a. Phổ IR: cho mũi hấp thụ đặc trưng ở 2855.15-2926.71 cm⁻¹ của dao động liên kết nhóm CH và CH₂. Dao động liên kết C=C của vòng thơm có mũi hấp thụ ở 1624.44 cm⁻¹ và CH của vòng thơm ở 1461.42 cm⁻¹. Mũi hấp thụ đặc trưng cho dao động liên kết của nhóm C-O ở 1218.90 cm⁻¹.

b. Phổ 1H-NMR: các proton của nhóm CH₂ ở vị trí C2 và C22 có độ dịch chuyển hóa học δ = 5.94 ppm (2H). Các proton của vòng thơm ở vị trí C6 và C19 có δ = 6.84 ppm (1H, d), ở vị

trí C8 và C26 có $\delta = 6.79 - 6.81$ ppm (1H, q), ở vị trí C9 và C25 có $\delta = 6.78$ ppm (1H). Các proton CH ở vị trí C10 và C17 có $\delta = 4.71 - 4.72$ ppm (1h, d). Độ dịch chuyển hóa học của proton nhóm CH₂ ở vị trí C12 và C15 có $\delta = 3.85 - 3.88$ ppm (2H, 2d). Các proton của nhóm CH ở vị trí C13 và C14 có $\delta = 3.03 - 3.05$ ppm (1H, q).

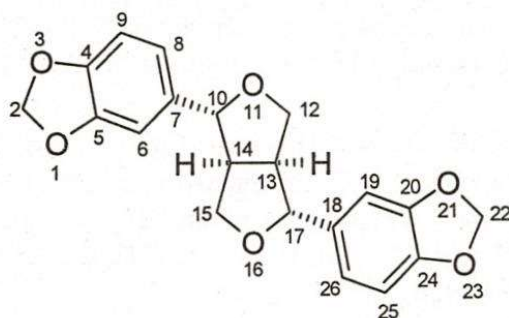
c. Phổ ¹³C-NMR: các cacbon của nhóm CH₂ ở vị trí C2 và C22 có độ dịch chuyển hóa học $\delta = 101.08$ ppm. Các cacbon tứ cấp của vị trí C4, C24 có $\delta = 147.99$ ppm và vị trí C5, C20 có $\delta = 147.13$ ppm. Nhóm CH của cacbon C6 và C19 có $\delta = 106.51$ ppm. Ở vùng $\delta = 135.09$ ppm tương ứng với cacbon tứ cấp ở vị trí C7 và C18. Các nhóm CH ở vị trí C8, C26 có $\delta = 119.36$ ppm, vị trí C9, C25 có $\delta = 108.20$ ppm và ở vị trí C10, C17 có $\delta = 85.82$ ppm. Nhóm CH₂ ở vị trí C12, C15 có $\delta = 71.73$ ppm và nhóm CH của vị trí C13, C14 có $\delta = 54.36$ ppm.

Nhận xét và bàn luận:

Kết quả so sánh phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR của hợp chất O-03 với Sesamin có sự trùng lặp. Sesamin có công thức cấu tạo gồm 2 phần đối xứng nhau nên trên phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR và phổ DEPT của hợp chất O-03 chỉ thể hiện phân nửa số cacbon và hydro.

Hợp chất O-03 có đặc điểm: tinh thể không màu, nhiệt độ nóng chảy 119-1200C (nhiệt độ nóng chảy của Sesamin: 121-122⁰C).

Dựa vào kết quả phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR kết hợp với phổ DEPT xác định được hợp chất O-03 là Sesamin có công thức phân tử là C₂₀H₁₈O₆, công thức cấu tạo:



3.4.2. Xác định cấu trúc của hợp chất O-04

a. Phổ IR: cho mũi hấp thụ đặc trưng ở 3428.99 cm⁻¹ của dao động liên kết nhóm OH. Các dao động liên kết của nhóm CH và CH₂ có mũi hấp thụ ở 2865.11-2936.49 cm⁻¹. Dao động liên kết C=C có mũi hấp thụ ở 1657.19 cm⁻¹ và C-O ở 1220.54 cm⁻¹.

b. Phổ ¹H-NMR: các proton bão hòa có độ dịch chuyển hóa học $\delta = 0.8-1.51$ ppm. Các nhóm >C=C, >C=CH có $\delta = 3.35$ ppm và proton của nhóm >CH-OH có $\delta = 3.52$ ppm.

c. Phổ ¹³C-NMR: các cacbon của nhóm CH₂ ở vị trí C1, C2, C4, C7, C11, C12, C15, C16, C22 và C28 có độ dịch chuyển hóa học lần lượt là $\delta = 37.28, 31.68, 42.31, 31.93, 21.10, 39.80, 24.32, 28.26, 33.98, 23.10$ ppm. Các cacbon tứ cấp của vị trí C10, C13 có $\delta = 36.52, 42.34$ ppm. Nhóm CH của các cacbon C3, C8, C9, C14, C17, C20, C23, C24 và C25 có độ dịch chuyển hóa học $\delta = 71.82, 31.93, 50.17, 56.79, 56.09, 36.16, 26.13, 45.87$ và 29.19 ppm. Ở vùng $\delta = 140.78$ ppm tương ứng với cacbon tứ cấp >C= ở vị trí C5. Nhóm -CH= ở vị trí C6 có $\delta = 121.72$ ppm. Các cacbon của nhóm CH₃ ở vị trí C18, C19, C21, C26, C27 và C29 có độ dịch chuyển hóa học $\delta = 11.87, 19.41, 18.80, 19.83, 19.06$ và 12.32 ppm.

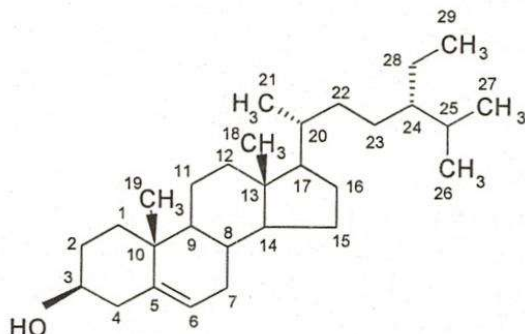
Nhận xét và bàn luận:

Hợp chất O-04 có đặc điểm: tinh thể không màu, nhiệt độ nóng chảy 132-1330C. Dựa vào phổ IR, ¹H-NMR và phổ ¹³C-NMR cho thấy hợp chất O-04 có 29 cacbon, có chứa nhóm OH

và $>C=CH$. Kết quả phổ ^{13}C -NMR kết hợp phổ DEPT cho thấy có 3 cacbon tứ cấp, 11 nhóm CH_2 , 6 nhóm CH_3 và 9 nhóm CH .

So sánh phổ ^{13}C -NMR của hợp chất O-04 và β -sitosterol có sự trùng lặp.

Phổ GC-MS của hợp chất O-04 cho một tín hiệu ở phút 4.52 có mũi m/z = 414 tương ứng với khối lượng phân tử của β -sitosterol. Do vậy có thể kết luận hợp chất O-04 là β -sitosterol có công thức phân tử là $C_{29}H_{50}O$, công thức cấu tạo:



3.4.3. Xác định cấu trúc của hợp chất O-8

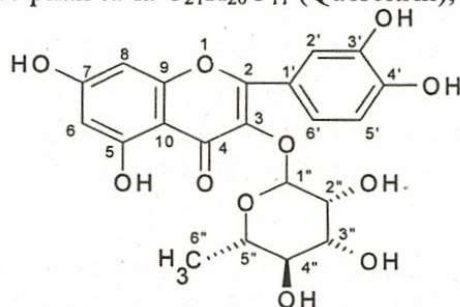
A. Phổ IR: cho mũi hấp thụ đặc trưng ở 3422 cm^{-1} của dao động liên kết nhóm OH. Dao động liên kết $C=C$ của vòng thơm có mũi hấp thụ ở 1607 cm^{-1} và CH của vòng thơm ở 1499 cm^{-1} . Dao động liên kết của nhóm CH có mũi hấp thụ ở 2928 cm^{-1} . Mũi hấp thụ ở 1657 đặc trưng cho dao động liên kết của nhóm $>C=O$. Dao động liên kết $>C=C$ có mũi hấp thụ ở 1607 cm^{-1} và $C-O$ ở 1202 cm^{-1} .

b. Phổ 1H -NMR: proton của nhóm CH ở vị trí $C1''$ có độ dịch chuyển hóa học $\delta = 5.37$ ppm (1H, d). Các proton của vòng đường rhamnose ở vị trí $C2''$, $C3''$, $C4''$ và $C5''$ có $\delta = 3.30$ - 4.24 ppm. Độ dịch chuyển hóa học của proton nhóm CH ở vị trí $C6$, $C8$, $C2'$, $C5'$ và $C6'$ lần lượt là 6.22 (1H, d), 6.39 (1H, d), 7.78 (1H, d), 7.32 (1H, d), 7.33 (1H, d). Proton của nhóm CH_3 tại vị trí $C6''$ có $\delta = 0.9$ (3H, d)

c. Phổ ^{13}C -NMR: các cacbon tứ cấp của vị trí $C2$, $C3$, $C4$, $C5$, $C7$, $C9$, $C10$, $C1'$, $C3'$, và $C4'$ có độ dịch chuyển hóa học lần lượt là $\delta = 158.53$, 136.25 , 179.66 , 163.22 , 165.85 , 159.31 , 105.92 , 122.87 , 146.42 và 149.79 ppm. Nhóm CH của các cacbon $C6$, $C8$, $C2'$, $C5'$, $C6'$, $C1''$, $C2''$, $C3''$, $C4''$ và $C5''$ có $\delta = 99.81$, 94.72 , 116.38 , 116.96 , 122.99 , 103.55 , 72.12 , 73.28 , 71.91 và 72.14 ppm. Ở vùng $\delta = 17.65$ ppm tương ứng với cacbon của nhóm CH_3 ở vị trí $C6''$.

Nhận xét và bàn luận:

Hợp chất O-08 có đặc điểm: bột mịn màu vàng, nhiệt độ nóng chảy 146 - $147^\circ C$. Phổ LC-MS của hợp chất O-08 cho một mũi ở 0.3 phút có $[M+H]^+=449$ tương ứng với $m/z=448$. Dựa vào kết quả phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR kết hợp với phổ DEPT xác định được O-08 là một hợp chất flavonoid có công thức phân tử là $C_{21}H_{20}O_{11}$ (Quercitrin), công thức cấu tạo:



4. KẾT LUẬN

Công trình nghiên cứu đã đạt được kết quả: tách chiết và xác định cấu trúc của các hợp chất Sesamin, β -sitosterol và Quercitrin từ cây Diếp cá (*Houttuynia cordata* Thumb.), trong đó Sesamin lần đầu tiên được phân lập từ cây Diếp cá.

ISOLATING AND IDENTIFYING THE STRUCTURE OF COMPOUNDS FROM THE HOUTTUYNIA CORDATA THUMB. OF VIETNAM

Tran Thi Viet Hoa, Le Thi Kim Oanh
University of Technology, VNU-HCM

ABSTRACT: *Isolating and identifying the structure of Sesamin, β -sitosterol and Quercitrin from petroleum ether and ethyl acetat fraction received from the Houttuynia cordata Thumb.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Võ Văn Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, 406-407 (1999)
- [2]. Hoàng Thanh Hương, Trần Quỳnh Hoa, Hà Việt Bảo, Nguyễn Danh Thục, *Dược học 9*, Nhà xuất bản Y học, 13-15 (2002)
- [3]. Xueqin Xu, Hongzhi Ye, Wei Wang, Lishuang Yu, Guonan Chen, *Determination of flavonoids in Houttuynia cordata Thunb. and Saururus Chinensis (Lour.) Bail. by capillary electrophoresis with electrochemical detection*, *Talanta*, 68, 759-764 (2006).
- [4]. Meiling Qi, Xiaoxia Ge, Minmin Liang, Ruonong Fu, *Flash gas chromatography for analysis of volatile compounds from Houttuynia cordata Thunb.*, *Analytica Chimica Acta*, 69-72, (2004) 527.
- [5]. Cheng-Jian Xu, Yi-Zeng Liang, Foo-Tim Chau, *Identification of essential components of Houttuynia cordata by gas chromatography/mass spectrometry and the integrate chemometric approach*, *Talanta*, 108-115, (2005) 68.
- [6]. Minmin Liang, Meiling Qi, Changbin Zhang, Shan Zhou, Ruonong Fu, Junxiong Huang, *Gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile compounds from Houttuynia cordata Thunb after extraction by solid-phase microextraction, flash evaporation and steam distillation*, *Analytica Chimica Acta*, 97-104, (2005) 531.