NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA THÂN CÂY CỎ XƯỚC (*ACHYRANTHES ASPERA*. L) Ở TRÀ VINH

Tôn Nữ Liên Hương[1], *Nguyễn Minh Hiền*[2] *và Trần Đình Luận*[3]

ABSTRACT

From the chloroform and ethyl acetate extracts, we have isolated and identified four compounds: stigmasterol, the mixture of stigmasterol and spinasterol with the ratio of 1:3, sitosterol 3-β-O-D-glucopyranoside and quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside. Their structures were evaluated by spectrum data of MS, ^{1}H, ^{13}C, DEPT NMR and 2D-NMR.

Keywords: Achyranthes aspera. L, Quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside

Title: Study on the chemical composition of Achyranthes aspera L. growing in Tra Vinh Province

TÓM TẮT

Từ cao chloroform và cao ethyl acetate, chúng tôi đã cô lập và nhận danh bốn hợp chất: stigmasterol, hỗn hợp stigmasterol và spinasterol với tỷ lệ 1:3, sitosterol 3-O-β- D-glucopyranoside và quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside. Cấu trúc của các chất này được đề nghị căn cứ vào phổ nghiệm từ dữ liệu MS, ^{1}H, ^{13}C, DEPT NMR và phổ 2 chiều NMR.

Từ khóa: Achyranthes aspera. L, Quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside

1 MỞ ĐẦU[1]

Cây cỏ xước có tên khoa học: *Achyranthes aspera* L., thuộc chi *Achyranthes*, họ *Amaranthaceae* (Rau giền, Dền). Tên thông thường: cỏ xước, ngưu tất nam, nhả khoanh ngù (Tài), cỏ nhả lìn ngu (Thái), hà ngù.

Cỏ xước là loại cây thảo, cao gần 1 m, có lông mềm nhiều hay ít. Thân cứng, phình lên ở những mấu. Lá mọc đối, hình trứng hay mũi mác, nhẵn hoặc hơi có lông, gốc thuôn, đầu tù hoặc nhọn, dày 3–12 cm; cuống lá dài. Cụm hoa mọc thành bông đơn ở ngọn thân, dài 20-30 cm; lá bắc con hình gai; hoa mọc rủ xuống áp sát vào cuống cụm hoa; dài gồm 5 phiến hình mũi mác nhọn, những phiến phía trong rất nhỏ; nhị 5, nhị lép có nhiều tua viền ở đầu; bầu hình trụ. Quả nang có lá bắc còn lại, nhọn thành gai dễ mắc vào quần áo khi đụng phải; vỏ rất mỏng, dính vào hạt; hạt hình trứng dài, dày 1 mm. Mùa hoa quả tháng 7–12.

Cỏ xước phân bố rải rác ở hầu hết các tỉnh vùng đồng bằng, trung du tại Việt Nam; ngoài ra có ở Lào, Campuchia, Thái Lan, Ấn Độ, Trung Quốc và một số nước khác.

Trong y học cổ truyền Trung Quốc, cỏ xước được dùng để điều trị nhức đầu, cảm nắng, sốt rét, sỏi niệu, viêm thận mạn tính. Y học cổ truyền Ấn Độ lại dùng nước

[1] Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Cao học hóa hữu cơ K16
[3] Cao học hóa hữu cơ K15

sắc cỏ xước làm thuốc lợi tiểu và trị gan. Đối với phụ nữ, cỏ xước giúp làm giảm rối loạn kinh nguyệt, đau kinh, kinh bế, đau bụng sau sanh.

Trên thế giới đã có một số công trình nghiên cứu về cây cỏ xước và công bố những hợp chất phân cực thuộc nhóm saponin. Ở nước ta cho đến nay chỉ thấy nghiên cứu về hoạt tính và công dụng của nó mà chưa thấy nghiên cứu về thành phần hóa học của cây cỏ xước. Do đó, trong bài báo này chúng tôi công bố một số hợp chất phân cực yếu và trung bình cô lập được từ nguyên liệu cỏ xước thu hái tại Trà Vinh.

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 ở xã Hưng Mỹ, huyện Châu Thành, tỉnh Trà Vinh vào tháng 3/2010. Mẫu cây đã được ThS. Nguyễn Thị Kim Huê (Bộ môn Sinh học, Khoa KHTN, Trường ĐHCT) định danh khoa học và mẫu tiêu bản (ký hiệu CX 1) được lưu tại Phòng thí nghiệm Hóa hữu cơ, Khoa KHTN, Trường ĐHCT.

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, TLC dùng Silica gel F_{254} (Merck).

2.2 Thiết bị

Phổ khối lượng (ESI-MS) được ghi trên máy MS 5989 B (Hewlett Pakard). Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): ^{1}H-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. Điểm nóng chảy được đo trên máy Electrothermal IA 9000 series, dùng mao quản không hiệu chỉnh.

2.3 Chiết xuất và cô lập

Thân cây cỏ xước (10kg) được chiết ngâm dầm với methanol 98%, cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cao tổng (250 g), tiếp theo thêm 0,5 lít nước cất và lần lượt chiết phân bố lỏng-lỏng cao này với petroleum ether (PE), chloroform (C), ethyl acetate (E) và *n*-butanol (B) thu được các cao PE (61,27 g), cao C (60,65 g), cao E (40,15 g), cao B (33 g). Tiến hành sắc ký cột cao C, cao E.

Từ cao C (50 g) 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 các chất rắn màu trắng, khi kết tinh lại đều có dạng tinh thể trắng. Chất (**1**) (3,8 g) là tinh thể hình kim, chất (**2**) là tinh thể hình phiến (30 mg) và chất (**3**) có dạng vô định hình (20 mg). Từ cao E (20 g) tiến hành sắc ký cột với hệ dung môi petroleum ether: ethyl acetate từ (9:1) đến (0:10) và hệ dung môi ethyl acetate: methanol từ (99:1) đến (30:70), xả methanol, thu được 6 phân đoạn chính có khối lượng lần lượt là 3,57; 3,52; 4,56; 3,12; 2,32; 1,13 (g). Tiếp tục sắc ký cột phân đoạn số 4 (3,12 g) hai lần trên cột silica gel 60 và 1 lần với silica gel RP-18, thu được chất (**4**) có dạng tinh thể hạt mịn màu vàng chanh (18 mg).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Nhận danh cấu trúc của các chất trong cao C

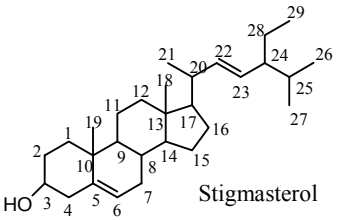
3.1.1 Stigmasterol (chất 1)

Chất (**1**) là tinh thể hình kim, màu trắng, kết tinh trong chloroform (3,8 g). Nhiệt độ nóng chảy 169 - 170°C. Sắc ký bản mỏng cho vết R_f = 0,43 khi giải ly bản mỏng trong chloroform. Phổ ^{1}H-NMR (500, $CDCl_3$), δ (ppm): 3,52 (1H, *m*, H-3); 5,35 (1H, *d*, H-6); 5,16 (1H, *d*, H-22), 5,04 (1H, *d*, H-23). Phổ ^{13}C-NMR cho thấy có 4 tín hiệu 140,79; 121,70; 138,37 và 129,32 ppm lần lượt thuộc về liên kết đôi tại các vị trí C_5; C_6; C_{22} và C_{23}. Từ phổ DEPT cho thấy hợp chất có 29 C trong đó có: 6 C dạng -CH_3, 8 C dạng -CH_2- và 10 C dạng -CH; 3 C tứ cấp (gồm 1 >C= và 2 >*C*<). Khi so sánh với phổ của hợp chất stigmasterol trong tài liệu tham khảo [2], các số liệu trùng khớp hoàn toàn.

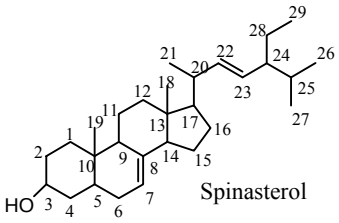
3.1.2 Hỗn hợp stigmasterol và spinasetrol tỉ lệ 1:3 (chất 2)

Chất (**2**) có dạng tinh thể hình phiến, màu trắng, kết tinh trong chloroform. Sắc ký bản mỏng cho vết R_f = 0,39 khi giải ly bản mỏng trong chloroform.

Phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO): ngoài các tín hiệu mũi đơn của proton methyl ở vùng từ trường cao giúp nhận ra khung sterol, còn có các proton olefin ở vùng (4,9 - 5,3 ppm), gồm 2 loại tín hiệu với cường độ tích phân theo tỷ lệ 1:3. Cụ thể, ngoài các tín hiệu đặc trưng của proton olefin mạch hở dạng **HC=CH** tại C_{22} và C_{23} của khung stigmastan như: 5,14 (1H, *d*, 9,5 Hz, H-22), 5,11 (1H, *d*, 8,5 Hz, H-23), có tín hiệu đặc trưng cho proton của liên kết đôi dạng **>C=CH** ở C_5 và C_6 là 5,30 (*d*, 4,5 Hz); và mũi 5,01 (*m*) với cường độ tích phân gấp 3 lần tín hiệu vừa nêu, là tín hiệu của liên kết đôi ở C_8 và C_7. Phổ ^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO): cho thấy 58 tín hiệu nhưng các tín hiệu của carbon methyl (vùng 11,0 ppm - 21,3 ppm), và các nhóm –CH_2– và –CH rất khó nhận dạng trong vùng xen phủ dày đặc các tín hiệu (vùng 21,4 - 56,8 ppm). Phổ còn có 4 tín hiệu của carbon tứ cấp ở 35,9 - 44,8 ppm; có 2 tín hiệu 70,8 và 71,5 ppm dạng carbon hydroxymethin và 8 tín hiệu của carbon olefin. Ngoài sự hiện diện của stigmasterol còn có mặt một sterol khác với 2 liên kết đôi trong phân tử gồm **HC=C<** (117,3 ppm và 139,4 ppm) và **HC=CH** trên mạch carbon hở (138,2 ppm và 129,3 ppm). Các dữ liệu từ phổ proton, ^{13}C, DEPT NMR cho phép dự đoán chất (**2**) là hỗn hợp của 2 loại sterol: stigmasterol và spinasterol tỉ lệ mol lần lượt là 1:3.



Stigmasterol



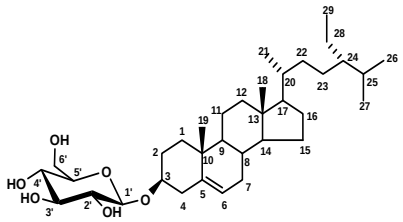
Spinasterol

3.1.3 Sitosterol 3-O-β-D-glucopyranoside (chất 3)

Chất (**3**) dạng bột mịn, màu trắng, kết tinh trong methanol. Nhiệt độ nóng chảy 269-270°C. Sắc ký cho 1 vết có R_f = 0,41 khi giải ly bản mỏng trong hệ dung môi ethyl acetate: methanol (9:1).

Phổ ^{1}H-NMR (500MHz, DMSO), δ (ppm): 1,0 (3H, s, H_{19}); 5,32 (1H, *m*, H_6); 3,56 (1H, *m* H_3). Phổ ^{1}H-NMR xác nhận sự có mặt của một proton liên kết đôi ở 5,32 ppm; nhóm proton của đường ở vùng 3,02 - 4,43 ppm; 6 tín hiệu proton của methyl đặc trưng của hợp chất sterol trong vùng 0,86-1,08 ppm. Trong ^{13}C-NMR cho thấy 35 tín hiệu của nguyên tử carbon, trong đó có 7 tín hiệu dạng hydroxy methin (vùng từ 61,08- 76,89 ppm); có 2 tín hiệu 140,17 và 121,82 ppm thuộc về liên kết đôi tại vị trí C_5 và C_6; có 6 nhóm methyl, 12 nhóm methylen, 14 nhóm methin, 3 nhóm C tứ cấp. Tại 100,77 ppm là carbon anomeric của đường. Từ dữ liệu phổ COSY giúp nhận diện các tương quan của proton trong đường, kết hợp với phổ HSQC, HMBC chúng tôi đề nghị cấu trúc hóa học của chất (**3**) là sitosterol 3-O-*β*-D-glucopyranoside.

Số liệu phổ 1D- NMR của các chất (**1**), (**2**), (**3**) được trình bày trong bảng (1).

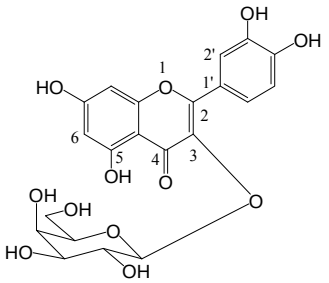


Sitosterol 3-O-*β*–D-glucopyranoside

3.1.4 Quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside (chất 4)

Từ phổ ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD-d_4) nhận thấy có 12 tín hiệu proton. Trong vùng 6,0-8,0 ppm cho thấy có 5 proton của vòng thơm gồm 2 proton ở vị trí meta với nhau (J=2,0 Hz) thuộc vòng A, vòng B với 3proton trong đó 1H ở vị trí meta và para với 2H còn lại, J_{meta}=2,5Hz; J_{orto}= 8,5Hz. Từ phổ ^{1}H và COSY xác định các tín hiệu proton tại (3,0-4,0 ppm) là proton của phần đường. Dựa vào HSQC xác định được tín hiệu δ_H 5,19 ppm là proton annomer (*d*, J=7,5 Hz), ứng với δ_C 105,1 ppm.

Từ phổ ^{13}C-NMR và phổ DEPT-NMR: Hợp chất (**4**) gồm 21 C, trong đó có 1 carbon carbonyl 179 ppm; 1 carbon anomer tại 105 ppm. Trong vùng (60-70 ppm) có 5 tín hiệu gồm 4 carbon hydroxymethin và 1 nhóm $–OCH_2$- (62,0 ppm) nên khả năng đây là đường glucose hoặc galactose dạng pyranoside với nhóm $–CH_2$ cuối mạch. Căn cứ vào COSY, cho thấy hằng số ghép cặp của các proton $H_{4"}$, $H_{3"}$, $H_{5"}$ đều nhỏ (*J* = 3,5 Hz), nên phần đường được đề nghị là galactose. Dựa vào HSQC, HMBC xác định được tương quan của proton anomer tại δ_H 5,19 ppm là tín hiệu doublet (J=7,5 Hz), với carbon tại δ_C 132 ppm (ứng với C_3), nên dự đoán đường ở dạng *β*-pyranoside liên kết glycosid với khung flavonol tại C_3. Dựa vào các dữ liệu phổ 1D và 2D-NMR của hợp chất (**4**), chúng tôi đề nghị công thức của hợp chất là Quercetin 3-*O*-*β*-D-galactopyranoside. Các số liệu phổ của chất này hoàn toàn khớp với tài liệu tham khảo [3].



Quercetin 3-*O*-*β*–D-galactopyranoside

Bảng 1: Phổ NMR của các chất (1), (2), (3) so với tài liệu tham khảo **δ, ppm (*J* = Hz)**

TT	Chất (1)		Stigmasterol[2]	Spinasterol[2]	Chất (2)		Chất (3)	
	^{1}H (Hz)	^{13}C	^{13}C	^{13}C	^{1}H (Hz)	^{13}C	^{1}H (Hz)	^{13}C
1		37,2	37,2	37,1		37,1		37,0
2		31,6	31,6	31,5		31,4		29,3
3	3,52 *m*	71,7	**71,8**	**71,0**	3,60 *m*	**70,8**	3,56 *m*	76,3
4		42,3	42,2	39,0		40,2		39,5
5		140,7	**140,7**	40,3		**140,8**		**140,1**
6	5,35 *d* (5,0)	121,6	**121,7**	29,6	5,30 *d* (4,5)	**121,4**	**5,32 *d*** (5,0)	**121,8**
7		31,9	31,8	**117,4**	5,01 *m*	**117,3**		31,6
8		31,9	32,1	**139,3**		**139,4**		31,6
9		50,1	50,2	49,4		50,1		50,0
10		36,5	36,5	34,2		36,5		36,4
11		21,0	21,1	21,5		21,1		20,8
12		39,7	39,8	39,5		39,6		38,4
13		42,2	42,3	43,3		43,3		42,1
14		56,8	56,8	55,1		56,7		56,5
15		24,3	24,3	23,0		23,0		24,0
16		28,9	28,9	28,4		29,6		27,9
17		55,9	56,1	55,9		56,0		55,8
18	1,01 *s*	12,0	12,0	12,0	0,90 *s*	18,7		11,6
19	0,89 *s*	19,4	19,4	13,0	0,55 *s*	19,3		19,1
20		40,5	40,5	40,7		40,7		35,9
21		21,23	21,2	21,0		20,4		18,9
22	5,16 *d (7,5)*	138,3	**138,3**	**138,1**	5,11 *d* (8,5)	**138,0**		**33,7**
						138,2		
23	5,04 *d (7,5)*	129,2	**129,3**	**129,4**	5,14 *d* (9,5)	**129,2**		**25,9**
						129,3		
24	1,53 *brd*	51,2	51,2	51,2		51,1		45,7
25		31,9	31,8	31,8		31,8		28,9
26	0,79 *s*	19,0	19,0	21,3	0,79 *s*	18,8		18,6
27	0,81 *s*	21,0	21,1	19,0	0,85 *s*	19,7		19,7
28		25,4	25,4	25,3		25,3		22,8
29	0,80 *t*	12,3	12,2	12,2	0,80 *t*	18,7		11,7
1'							**4,43 (7,5)**	**100,7**
2'							3,52 *d* (5,5)	76,8
3'							3,4 *dd* (4,0; 3,0)	73,4
4'							3,64 *d* (5,5)	70,0
5'							3,73 *d* (3,0)	76,7
6'							3,66 *m*	61,0
							3,54 *m*	

Như vậy từ thân cây cỏ xước thu gom tại Trà Vinh, chúng tôi đã cô lập và xác định cấu trúc của 4 thành phần có hàm lượng cao trong cây là: 3 hợp chất gồm stigmasterol, sitosterol 3-*O*-*β*-D-glucopyranoside, quercetin 3-*O*-*β*-D-galactopyranoside và hỗn hợp stigmasterol và spinasterol với tỉ lệ 1:3. Các kết quả này là đóng góp mới về thành phần hóa học của cây cỏ xước tại Việt Nam.

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

Các chất sterol và sterol glycosid này có tác dụng tốt trong chuyển hóa đường huyết, còn quercetin glycosid có vai trò kháng oxy hóa rất tốt và ức chế phát triển tế bào ung thư [3, 4].

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thuận Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiển, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn, Viện dược liệu, 2004, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập II, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội, Trang 575/II.

[2] John Goad and Tosh Hiro Akihisa, *Analysis of Steroid.*

[3] Malgorzata Materska, 2008, *Quercetin and its derivatives: chemical structure and bioactivity – a review*, Pol. J. Food Nutr. Sci.

[4] P.J.D. Bouic, S. Etsebeth, R.W. Liebenberg, C.F. Albrecht, K. pegel, P.P. Vajaarsveld, 1996, Beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: Implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination, Int. J. Immunopharmac., Vol.18, No.12, pp. 693-700

[5] Ripu M. Kunwar, Y. Uprety, C. Burlakoti, C.L.Chowdhary and R.W., 2009, *Bussmann Indigenous use and ethnopharmacology of medicinal plants in far-west Nepal.*, Ethnobotany Research & applications, Vol 7, pp. 005-028.