

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC TRONG LÁ CÂY NGẢI CỨU (*ARTEMISIA VULGARIS* L.) THU HÁI Ở PHƯỜNG TÂN LẬP - THÁI NGUYÊN

Đến tòa soạn 4-10-2018

Mai Thanh Nga, Nguyễn Thị Thanh Hương

Khoa Hóa học - Trường Đại học Sư phạm- Đại học Thái Nguyên

SUMMARY

INVESTIGATION ON THE CHEMICAL COMPOSITIONS OF THE *ARTEMISIA VULGARIS* L. GENUS COLLECTED IN TAN LAP - THAI NGUYEN DISTRICT

From chloroform, ethyl acetate extracts of the ethanol extracts *Artemisia vulgaris* L. genus collected in Tan Lap - Thai Nguyen district, we described here the isolation and structure elucidation of two compounds: (*E*)-phyt-2-en-1-ol (**H1**), 3,5,7,4'-tetrahydroxy flavones (**H2**).

This is the first information published about compounds from the *Artemisia vulgaris* L. genus collected in Tan Lap - Thai Nguyen district.

Keywords: *Artemisia vulgaris* L, (*E*)-phyt-2-en-1-ol; (*E*)-Phytol; 3,5,7,4'-tetrahydroxy flavones, kaempferol.

1. MỞ ĐẦU

Ngày nay, cùng với sự phát triển không ngừng của khoa học kỹ thuật, các sản phẩm có tác dụng chữa bệnh đã được tổng hợp và sử dụng rộng rãi. Tuy nhiên, các sản phẩm tổng hợp này cũng có những mặt hạn chế là gây ra các tác dụng phụ cho người sử dụng. Vì vậy, việc nghiên cứu các hợp chất có tác dụng chữa bệnh từ cây cỏ trong thiên nhiên đang ngày càng trở thành là một xu hướng được rất nhiều nhà khoa học quan tâm. Với mục tiêu tìm ra những loại thuốc có hiệu quả cao, an toàn hơn đối với sức khỏe con người, hầu như không gây tác dụng phụ điều mà các dược phẩm tổng hợp không thể thay thế được. Cùng với xu hướng chung đó, các nhà hóa học cũng đã tiến hành tách chiết, cô lập, bán tổng hợp ngày càng nhiều những hợp chất có hoạt tính sinh học, tạo ra những sản phẩm hữu ích từ cây cỏ thiên nhiên để nâng cao chất lượng cuộc sống, chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) được dùng phổ biến trong y học dân gian, để chữa một số bệnh như đau đầu,

thuốc điều kinh, rong kinh, sảy thai, tăng cường sức khỏe... [1]. Trong khuôn khổ bài báo này chúng tôi trình bày kết quả phân lập và xác định cấu trúc của hợp chất hóa học (*E*)-phytol, kaempferol thu được từ dịch chiết chloroform và ethylacetat của mẫu lá khô loài Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) được thu hái tại phường Tân Lập - Thành phố Thái Nguyên.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

Hóa chất: Sử dụng các dung môi etanol, *n*-hexan, etyl axetat, metanol Tất cả các hoá chất có độ tinh khiết phân tích. Sắc ký bản mỏng phân tích: silicagel 60 F254, Merck; 0,2 mm. Sắc ký cột: silicagel cỡ hạt 197–400 mesh (0,040–0,063 mm).

Thiết bị: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được đo trong dung môi CDCl₃ trên máy Bruker Avance 500 MHz tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Chiết, phân lập các chất

2.2.1. Xử lý mẫu thực vật

Mẫu lá Ngải cứu được thu hái vào thời điểm

cây phát triển mạnh và hoa chưa nở (tháng 10/2017). Mẫu lá tươi được rửa sạch, sau khi hong gió 3-4 giờ, xử lý diệt men mẫu bằng cách hấp nguyên liệu bởi hơi etanol 70⁰ trong 3-4 phút. Nguyên liệu sau diệt men tiếp tục sấy khô trên máy sấy mẫu thực vật ở 40⁰ C, được 2,5kg mẫu lá khô; xay nhỏ và tiến hành ngâm chiết trong dung môi.

2.2.2. Chiết, phân lập các chất

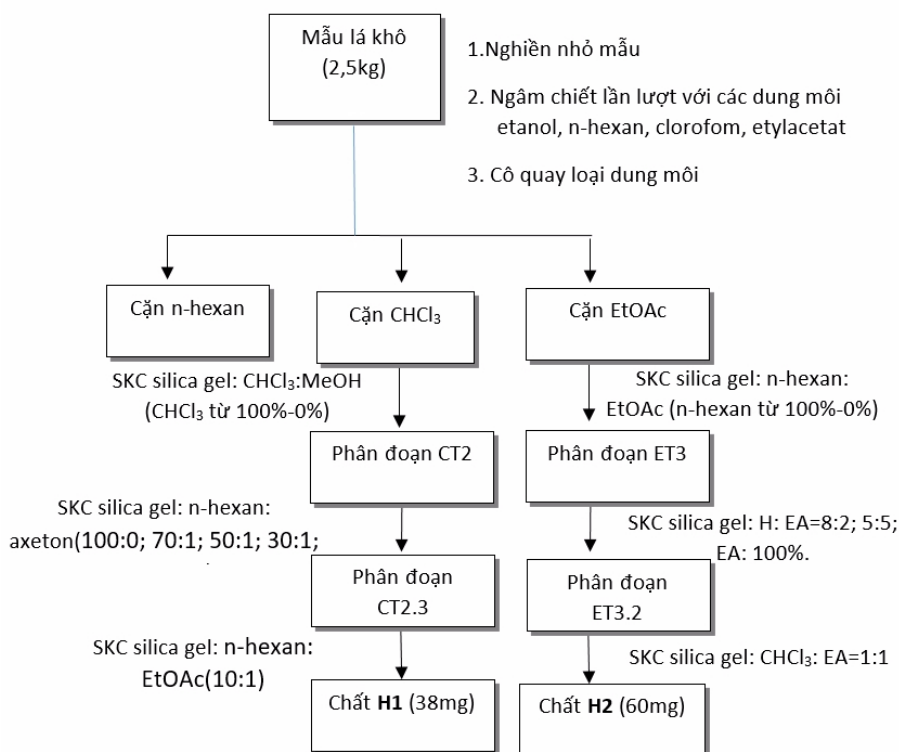
Mẫu lá Ngải cứu khô (2,5 kg) được ngâm chiết với etanol 90⁰ (4 x 24 giờ) ở nhiệt độ phòng. Quay cất dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn chiết etanol, chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần: n-hexan, clorofom, etyl axetat. Quay cất dung môi dưới áp suất giảm thu được các cặn chiết tương ứng có khối lượng: 21,08g, 40,35g, 36,0g. Sau đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học trên cặn clorofom và cặn etyl axetat.

Cặn chiết clorofom được đưa lên cột silica gel, giải hấp bằng dung môi CHCl₃-MeOH (100:0;

40:1; 20:1; 10:1; 5:1; 2:1;1:1; 0:100 (v/v) được các phân đoạn khác nhau. Phân đoạn CT2(6,2 g) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi giải ly n-hexan-axeton theo tỉ lệ 100:0; 70:1; 50:1; 30:1; 10:1; 5:1 (v/v). Thu được 5 phân đoạn. Phân đoạn CT 2.3 tiếp tục tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi giải ly n-hexan- EtOAc (10:1, (v/v) thu được 38mg (chất H1).

Cặn chiết etyl acetat được đưa lên cột silica gel, giải hấp bằng dung môi n-hexane: EtOAc (với lượng n-hexan giảm dần dần: 100%-0) thu được các phân đoạn khác nhau. Phân đoạn ET3(6,2 g) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi giải ly n-hexan- EtOAc =8:2; 5:5; EtOAc: 100%, thu được 4 phân đoạn. Phân đoạn ET 3.2 tiếp tục tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi giải ly CHCl₃:EtOAc=1:1 thu được 60mg (chất H2).

Quy trình chiết mẫu lá khô loài Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.) theo Sơ đồ 1.



Sơ đồ 1: Sơ đồ chiết, tách chất H1, H2 từ ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Cấu trúc của **H1**, **H2** được xác định dựa vào dữ liệu phổ $^1\text{H-NRM}$, $^{13}\text{C-NRM}$, HSQC, HMBC, DEPT và so sánh tài liệu tham khảo.

3.1. Kết quả phân lập hợp chất **H1**

Hợp chất **H1** được tách ở dạng dầu, không màu.

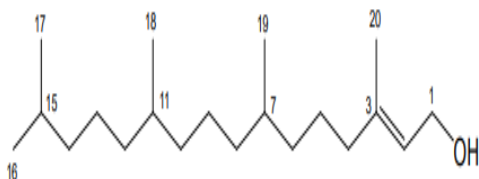
Phổ $^1\text{H-NMR}$ chỉ ra tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefin tại δ_{H} 5,41; 1 nhóm oxymethylene tại δ_{H} 4,15; 5 nhóm methyl tại δ_{H} 0,86 (H3-16, H3-17, H3-18, H3-19 và δ_{H} 1,67 (s, H3-20).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HMQC cho thấy có tín hiệu của 20 cacbon. Trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như 2 cacbon olefin tại δ_{C} 123,2 (C-2), 140,4 (C-3); cacbon oxymethylene tại δ_{C} 59,5 (C-1). Các dữ kiện phổ ^1H -, $^{13}\text{C-NMR}$ cho phép dự đoán hợp chất **H1** là một diterpenoid.

Phổ HMBC thể hiện sự tương tác giữa H₃ - 16/H₃ -17 và C-14 (δ_{C} 39,5)/C-15 (δ_{C} 28,1), giữa H₃-18 và C-10 (δ_{C} 37,5)/C-11 (δ_{C} 32,9)/C-12 (δ_{C} 37,4), giữa H₃-19 và C-6 (δ_{C} 36,8)/C-7 (δ_{C} 32,8)/C-8 (δ_{C} 37,6) cho phép định vị các methyl tại C-7, C-11 và gem-dimethyl tại C-15. Tương tác HMBC giữa H-1 (δ_{H} 4,15)/H₃-20 và C2/C-3 chứng tỏ nhóm hydroxyl tại C-1 và liên kết đôi C-2 (Hình 1)

Cấu hình (*E*) của liên kết đôi được khẳng định qua việc so sánh giá trị độ chuyển dịch hóa học của C-4 (δ_{C} 40,0), 3-Me (δ_{C} 16,3) với các giá trị tương ứng của geraniol [*E*): δ_{C} 39,7 (C-4), 16,0 (3-Me)] và nerol [*Z*): δ_{C} 32,1 (C-4), 23,5 (3-Me)] [2], [7].

Từ các dữ kiện đã phân tích trên, so sánh các dữ liệu phổ của **H1** với (*E*)-phytol trong tài liệu tham khảo [7] thấy hoàn toàn phù hợp, Từ đó, hợp chất **H1** được kết luận là (*E*)-phyt-2-en-1-ol hay (*E*)-phytol (CTPT là $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$). Công thức cấu tạo của (*E*)-phytol được mô tả ở hình 1.



Hình 1: Cấu trúc của hợp chất (*E*)-phytol

Hợp chất (*E*)-phytol có tác dụng ức chế enzyme aromatase, enzyme xúc tác cho quá trình sinh tổng hợp estrogen, do đó được xem

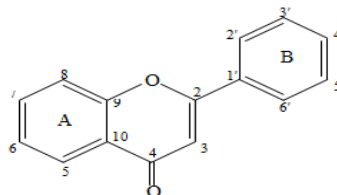
là chất tiềm năng trong việc kháng ung thư [3]

3.2. Kết quả phân lập hợp chất **H2**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ có sáu proton vòng thơm, trong đó hai tín hiệu proton vòng thơm xuất hiện với cường độ gấp đôi [δ_{H} 8,15 (2H, d) và 7.02 (2H, d)], có hằng số ghép $J = 8,5$ cho thấy đây là 2 cặp proton tương đương nằm ở vị trí ortho với nhau.

Tín hiệu δ_{H} 12,16 ppm trên phổ $^1\text{H-NMR}$ khẳng định nhóm -OH phải gắn vào C- 5 khung flavon.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **H2** xuất hiện 13 tín hiệu, trong đó có 2 tín hiệu ở δ_{C} 130,465 ppm và δ_{C} 116.351 ppm có cường độ gấp đôi. Vậy trong công thức cấu tạo của hợp chất **H1** có tổng cộng 15 cacbon, gồm 12 cacbon vòng thơm [δ_{C} 165.02 (C-4'); 162.34 (C-7); 160.5 (C-5); 157.82 (C-9); 130.46 (C-2' và C-6'); 123.34 (C-1'); 116.35 (C-3' và C-5'); 104.17 (C-10); 99.21(C-6) và 94.52 (C-8)], và 2 cacbon olefin mang oxygen [δ_{C} 147.06 (C-2) và 136.63 (C-3)], 1 cacbon carbonyl [δ_{C} 176,61 (C- 4)] cho phép dự đoán hợp chất **H2** có khung flavones (hình 2).



Hình 2: Khung flavone

Phổ DEPT NMR kết hợp với phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy hợp chất **H2** có 6 nhóm -CH= và 9 nhóm C tứ cấp.

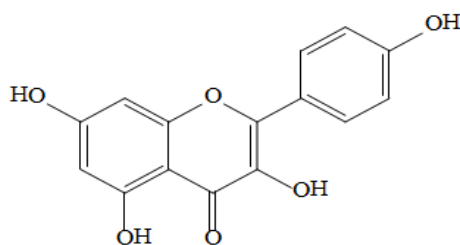
Phổ HSQC cho tín hiệu proton tại δ_{H} 6,26 ppm gắn trực tiếp với C tại 99,21ppm; H tại 6,52 gắn trực tiếp với C tại 94,52 ppm; H tại δ_{H} 7.02 ppm gắn trực tiếp với cacbon tại δ_{C} 116.35 ppm và tín hiệu proton tại δ_{H} 8,15 ppm gắn trực tiếp với C tại δ_{C} 130.46 ppm. Điều này chứng tỏ bốn proton này cùng nằm trên vòng B có tính đối xứng.

Phổ HMBC (xét vòng A) proton của -OH kiểm tra tương quan với một cacbon vòng thơm mang oxygen [δ_{C} 162.3 ppm], một cacbon vòng thơm tứ cấp [δ_{C} 104.1ppm] và một cacbon vòng thơm mang hydrogen [δ_{C} 99.2 ppm] khẳng định ba tín hiệu cacbon này lần lượt là C-5, C-10 và C-6. Proton H-6 [δ_{H} 6,26 ppm] ghép meta với proton δ_{H} 6,52 ppm, nên

proton này chỉ có thể là H-8. Mặt khác, hai proton H-6 và H-8 cùng tương quan với cacbon δ_C 162.3 ppm trên phổ HMBC, nên cacbon này phải là C-7. Cacbon δ_C 157.8 ppm cũng cho tương quan với proton H-8 trên phổ HMBC nên cacbon này là cacbon C-9.

Phổ HMBC (xét vòng B), tín hiệu proton δ_H 8,15 ppm cho tương quan với hai cacbon sp^2 mang oxygen [δ_C 160.1 ppm và 147.0 ppm] và một cacbon sp^2 tứ cấp [δ_C 123.3 ppm]. Tín hiệu proton δ_H 7.02 ppm cũng cho tương quan với hai trong ba cacbon trên là δ_C 160.2 ppm và δ_C 123.3 ppm. Do đó có thể suy ra tín hiệu proton [δ_H 8,15 ppm] ứng với H-2' và H-6', tín hiệu proton [δ_H 7.02 ppm] ứng với H-3' và H-5', ba cacbon sp^2 δ_C 130.4 ppm; δ_C 147.0 ppm và δ_C 123.3 ppm lần lượt là C-6', C-2 và C-1'. Như vậy, trong 13 tín hiệu cacbon của khung flavone trên phổ ^{13}C NMR chỉ còn tín hiệu cacbon sp^2 [δ_C 136.6 ppm] nên cacbon này phải là C-3.

Từ các dữ liệu phổ, kết hợp so sánh với kết quả của Rahaman M. et al. 2006, chúng tôi kết luận hợp chất **H2** là 3,5,7,4'- tetrahydroxy flavones hay còn gọi là kaempferol (CTPT $C_{15}H_{10}O_6$). Công thức cấu tạo của kaempferol được mô tả ở hình 3.



Hình 3: Cấu trúc của kaempferol

Các kết quả nghiên cứu về hợp chất 3,5,7,4'-tetrahydroxy flavones cho thấy đây là hợp chất có tác dụng tích cực trong việc chống ung thư và bệnh tim mạch, chống động kinh, chống viêm, kháng khuẩn, chống oxy hóa, chống co thắt, trị đái tháo đường, giảm đau và làm giảm ho[4],[5][6][9].

4. KẾT LUẬN

Từ căn chiết chloroform, etyl axetat của dịch chiết ethanol mẫu (*Artemisia vulgaris* L.) được thu hái tại phường Tân Lập-Thành phố Thái Nguyên. Chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc của hai chất là (*E*)-phytol và kaempferol. Theo các kết quả nghiên cứu cho thấy cả hai hợp chất này đều có tác dụng tích cực trong

phòng chống ung thư, đặc biệt là (*E*)-phytol có thể gây ức chế trên một số dòng tế bào ung thư khác nhau như MCF-7, PC-3, HeLa, HT-29, A-549, Hs294T với IC50 từ 15,51 đến 69,67 μM [3]. Việc chiết tách các hợp chất có hoạt tính sinh học cao này sẽ góp phần tạo ra các sản phẩm có nguồn gốc thiên nhiên có hoạt tính tốt, phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2006). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. *Nhà xuất bản Y học*, tr 36.
2. Bohlmann, F., Zeisberg, R., and Klein, E. (1975), " ^{13}C -NMR-Spektren von monoterpenen", *Organic Magnetic Resonance*, 7, pp.426-432.
3. Islam, M. T., de Alencar, M. V., da Conceição, M. KA., da Conceição M. KE., de Carvalho Melo-Cavalcante, A. A., de Sousa, D. P., and de Freitas, R. M. (2015), "Phytol in a pharma-medico-stance", *Chemico-Biological Interactions*, 240, pp.60-73
4. Jaganathan SK, Mandal M (2009). "Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols: a review". *Journal of Biomedicine & Biotechnology*
5. Khalil MI, Sulaiman SA (2010). "The potential role of honey and its polyphenols in preventing heart diseases: a review". *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 7 (4): pp. 315-21
6. Kim SH, Choi KC (December 2013). "Anti-cancer Effect and Underlying Mechanism(s) of Kaempferol, a Phytoestrogen, on the Regulation of Apoptosis in Diverse Cancer Cell Models". *Toxicological Research*. 29 (4): pp. 229-34.
7. Pongprayoon, U., Baeckström, P., Jacobsson, U., Lindström, M., and Bohlin, L. (1992), "Antispasmodic activity of beta-damascenone and *E*-phytol isolated from *Ipomoea pes-caprae*", *Planta Medica*, 58 (1), pp. 19-21.
8. Rahaman M. S., AJM Moynul Hasan, M. Y. Ali and M. U. Ali (2006), "*A Flavone from the Leaves of Cassia Alata*", *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.*, 41(1-2), pp. 93-96
9. Veeresham C, Rama Rao A, Asres K (March 2014). "Aldose reductase inhibitors of plant origin". *Phytotherapy Research*. 28 (3): pp. 317-33.