

# PHÂN LẬP VÀ NHẬN DANH CẤU TRÚC MỘT CHALCONE TỪ DỊCH CHIẾT ETHYL ACETATE CỦA CÂY CỎ LÀO-*EUPATORIUM ODORATUM* L.

Ngô Quốc Luân<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Châu<sup>1</sup> và Nguyễn Ngọc Hạnh<sup>2</sup>

## ABSTRACT

The ethyl acetate extracts of the aerial parts of *Eupatorium odoratum* L. from Phu Yen province were investigated. One of chalcones (4,2'-dihydroxy-4',5',6'-trimethoxychalcone) was isolated from ethyl acetate extracts. Its structure was interpreted from spectra including IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, HMBC, MS and based on published data. At the first time, this chalcone was tested on antimicrobial activity. The result showed that it inhibited lightly to *P. aeruginosa*, *C. albicans* and *S. cerevisiae*.

**Keywords:** *Eupatorium odoratum*, *Chromolaena odorata*

**Title:** Isolation and identification of chalcone from ethyl acetate extracts of *Eupatorium odoratum* L.

## TÓM TẮT

Từ dịch chiết ethyl acetate của cây Cỏ Lào ở Phú Yên, chúng tôi đã cô lập được một chalcone là 4,2'-dihydroxy-4',5',6'-trimethoxychalcone. Cấu trúc được nhận danh bằng các phương pháp phổ hiện đại và so sánh với tài liệu đã công bố. Lần đầu tiên, chalcone trên được thử hoạt tính kháng vi sinh vật. Kết quả cho thấy chất này có hoạt tính kháng yếu đối với *P. aeruginosa*, *C. albicans* and *S. cerevisiae*.

**Từ khóa:** Cây Cỏ Lào

## 1 GIỚI THIỆU

Trong bài báo Một số kết quả nghiên cứu thành phần hóa học của tinh dầu và flavonoid trong cây Cỏ Lào (Ngô Quốc Luân, Lâm Thanh Phong, Nguyễn Ngọc Hạnh, Tạp chí khoa học, Trường Đại học Cần Thơ, Số 6, 2006), chúng tôi đã báo cáo một số kết quả nghiên cứu bước đầu về thành phần hóa học của tinh dầu và flavonoid từ cây Cỏ Lào mọc ở Phú Yên. Trong bài báo này, chúng tôi tiếp tục trình bày một số kết quả khảo sát thành phần hóa học và thử hoạt tính sinh học của một chalcone cô lập từ dịch chiết ethyl acetate.

### 1.1 Nguyên liệu

Toàn bộ phần trên mặt đất của cây Cỏ Lào được thu hái khi cây bắt đầu ra hoa vào tháng 12-2005 tại các vùng ven đồi núi thuộc xã Hòa Hiệp Nam, huyện Đông Hòa, tỉnh Phú Yên.

<sup>1</sup> Khoa Sư Phạm – Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Công nghệ Hóa học - TP. HCM

## 1.2 Phương pháp chiết xuất, cô lập

Nguyên liệu tươi (100 kg) sau khi tách tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước được tiếp tục trích nóng với 320 lít cồn 50° trong 3 giờ, sau đó cô đặc đến còn 8 kg dịch chiết sệt. Dịch này được lắc chiết với ethyl acetate (EtOAc) và cô loại dung môi dưới áp suất kém thu được cao Ac (139 g).

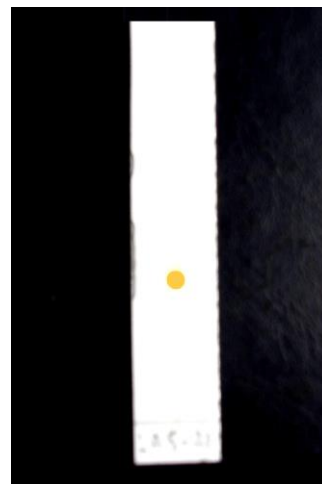
Từ cao Ac (129 g), tiến hành sắc ký nhanh trên cột silicagel với hệ dung môi giải ly (Xăng dung môi, EtOAc) có độ phân cực tăng dần. Kết quả thu được 15 phân đoạn (LA1, LA2, ... và LA15).

Phân đoạn LA5 (11 g) được tiếp tục tiến hành sắc ký cột silicagel lần 2 cũng với hệ dung môi giải ly có độ phân cực tăng dần là (Xăng dung môi, EtOAc). Kết quả thu được 30 phân đoạn (LA5-1, LA5-2, ... và LA5-30).

Tại phân đoạn LA5-21 (dung môi giải ly Xăng dung môi: EtOAc = 9:1) thu được cặn màu vàng cam có vết chính với  $R_f = 0,43$  (PE:EtOAc = 1:1). Kết tinh lại trong EtOAc thu được tinh thể hình vảy màu da cam (hình 1, 2), ký hiệu là LA5-21 (24 mg).



Hình 1: Tinh thể LA5-21



Hình 2: Bản mỏng sắc ký LA5-21

## 1.3 Phương pháp nhận dạng cấu trúc

Điểm tan chảy được đo trên máy Electrothemat 9100 (U.K), mao quản không hiệu chỉnh. Phổ hồng ngoại được đo trên máy VECTOR 22, dùng viên nén KBr. Phổ UV-VIS được đo trên máy UV-2450 (Japan).

Các phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , HMQC, HMBC được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz, độ dịch chuyển hóa học được tính theo  $\delta$  ppm, hằng số tương tác (J) tính bằng Hz. Phổ khối lượng được đo trên máy 1100 series LC/MS Trap Agilent, sắc ký lớp mỏng sử dụng bản nhôm silicagel 60F<sub>254</sub> (Merck) tráng sẵn độ dày 0,2 mm.

## 1.4 Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn được thực hiện ở Phòng thử nghiệm hoạt tính sinh học thuộc Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên-Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam tại Hà Nội theo phương pháp hiện đại của Vanden Benergher và Vlietlinck.

## 2 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

### 2.1 Nhận danh cấu trúc flavonoid

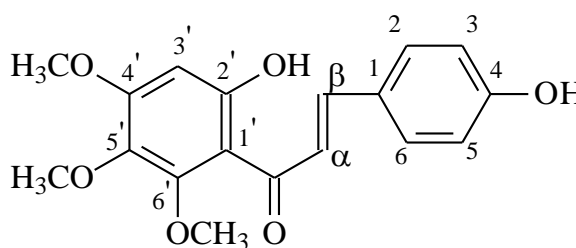
LA5-21 kết tinh trong EtOAc thu được tinh thể vẩy, màu da cam, có nhiệt độ nóng chảy mp = 145-146°C, sắc ký bản mỏng trong hệ dung môi (PE: EtOAc = 1:1), hiện vết bằng thuốc thử H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% trong cồn cho vết màu da cam có R<sub>f</sub> = 0,43.

- Phổ UV (MeOH) λ<sub>max</sub> (nm): 267; **365**.
- Phổ IR (KBr) ν<sup>cm-1</sup>: 3473; 3126; 2939; 1621; 1555; 1508; 1001.
- Phổ khối cho pic ion phân tử m/z [M+H]<sup>+</sup> = 331; [M-H]<sup>+</sup> = 329
- Phổ <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) (Bảng 1) cho các tín hiệu proton của 3 nhóm OCH<sub>3</sub> (3,84; 3,89; 3,95); 7 CH ở các vị trí C<sub>3</sub> và 5 (6,88), C<sub>2</sub> và 6 (7,55), C<sub>α</sub> và β (7,83), C<sub>3'</sub>(6,30) và 2OH ở các vị trí C<sub>2'</sub>; C<sub>4</sub> (13,77).
- Phổ <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) (Bảng 1) cho thấy chất LA5-21 có tất cả 18 Carbon trong đó gồm 3 nhóm OCH<sub>3</sub> (56,1; 61,3; 62,0), 7 nhóm CH tại các vị trí C<sub>2</sub> và 6 (130,5), C<sub>3</sub> và 5 (116,0), C<sub>α</sub> (123,9), C<sub>β</sub> (143,5), C<sub>3'</sub> (96,6), 1 nhóm C=O (192,9) và 7 C tứ cấp ở các vị trí C 1, 4, 1', 2', 4', 5', 6' (128,1; 158,1; 108,8; 162,6; 160,0; 135,3; 155,0).
- Phổ HSQC cho thấy sự tương tác giữa H với C tại vị trí C mà H gắn vào.
- Phổ HMBC (Bảng 1) cho thấy sự tương tác giữa H với C tại các vị trí C mà H có thể tương tác: H<sub>3'</sub>→C<sub>3'</sub>,C<sub>1'</sub>,C<sub>5'</sub>,C<sub>4'</sub>,C<sub>2'</sub>; H<sub>3</sub> và 5→C<sub>3</sub> và 5,C<sub>1</sub>, C<sub>4</sub>; H<sub>2</sub> và 6→C<sub>2</sub> và 6, C<sub>4</sub>, C<sub>β</sub>; H<sub>α</sub> và β→C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> và 6; H<sub>OH</sub>→C<sub>3'</sub>, C<sub>1'</sub>, C<sub>2'</sub>.

**Bảng 1: Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT, HSQC và HMBC của LA5-21**

Vị trí C/H	<sup>1</sup> H-NMR δ ppm (số H; dạng mũ; J = Hz)	<sup>13</sup> C-NMR δ ppm	Loại carbon	HMBC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C
1		128,1	=C<	
2	7,55 (2H; d; J = 8,5)	130,5	=CH-	H <sub>2</sub> →C <sub>2</sub> và 6, C <sub>β</sub> , C <sub>4</sub>
3	6,88 (2H; d; J = 8,5)	116,0	=CH-	H <sub>3</sub> →C <sub>3</sub> và 5, C <sub>1</sub> , C <sub>4</sub>
4		158,1	=C<	
5	6,88 (2H; d; J = 8,5)	116,0	=CH-	H <sub>5</sub> →C <sub>3</sub> và 5, C <sub>1</sub> , C <sub>4</sub>
6	7,55 (2H; d; J = 8,5)	130,5	=CH-	H <sub>6</sub> →C <sub>2</sub> và 6, C <sub>β</sub> , C <sub>4</sub>
1'		108,8	=C<	
2'		162,6	=C<	
3'	6,30 (1H; s)	96,6	=CH-	H <sub>3'</sub> →C <sub>3'</sub> , C <sub>1'</sub> ,C <sub>5'</sub> ,C <sub>2'</sub> ,C <sub>4'</sub>
4'		160,0	=C<	
5'		135,3	=C<	
6'		155,0	=C<	
α	7,83 (2H; s)	123,9	=CH-	H <sub>α</sub> →C <sub>α</sub> , C <sub>β</sub> ,C <sub>2</sub> và 6,C <sub>1</sub>
β	7,83 (2H; s)	143,5	=CH-	H <sub>β</sub> →C <sub>α</sub> , C <sub>β</sub> ,C <sub>2</sub> và 6,C <sub>1</sub>
C=O		192,9	>C=O	
4'OCH <sub>3</sub>	3,89 (3H; d; J = 5,0)	56,1	-CH <sub>3</sub>	4'OCH <sub>3</sub> →C <sub>4'</sub>
5'OCH <sub>3</sub>	3,84 (3H; s)	61,3	-CH <sub>3</sub>	5'OCH <sub>3</sub> →C <sub>5'</sub>
6'OCH <sub>3</sub>	3,95 (3H; t; J = 9,0 và 16,5)	62,0	-CH <sub>3</sub>	6'OCH <sub>3</sub> →C <sub>6'</sub>
4OH	13,77 (2H; s)			OH→C <sub>4</sub> , C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub>
2'OH	13,77 (2H; s)			OH→C <sub>1'</sub> , C <sub>2'</sub> , C <sub>3'</sub>

Từ những kết quả trên và so sánh với các tài liệu đã công bố (Nguyễn Thị Diễm Trang, Lê Việt Ngọc Phương, Nguyễn Xuân Dũng, 1993; Apichart Suksamrarn, Apinya Chotipong, Tananit Suavansri, Somnuk Boongird, Puntip Timsuksai, Saovaluk Vimuttipong and Aporn Chuaynugul, 2004...) chất LA5-21 được nhận danh là 4,2'-dihydroxy-4',5',6'-trimethoxychalcone có công thức phân tử là C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub> (M = 330 đvC) và công thức cấu tạo như Hình 3.



Hình 3: 4,2'-dihydroxy-4',5',6'-trimethoxychalcone

## 2.2 Thử hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả cho thấy chất LA5-21 có hoạt tính kháng được 3 vi sinh vật kiểm định (Bảng 2).

**Bảng 2: Nồng độ ức chế tối thiểu của LA5-21 đối với các vi sinh vật kiểm định**

Tên chất	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC : µg/ml)								
	Vi khuẩn Gr (-)			Vi khuẩn Gr (+)			Nấm mốc		Nấm men
<i>E.coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>ASP. niger</i>	<i>F. oxyporum</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>		
LA5-21	-	200	-	-	-	-	200	200	

## 3 KẾT LUẬN

Các kết quả nghiên cứu trên đây cho thấy từ Cỏ Lào Phú Yên đã cô lập được thêm một chalcone thuộc nhóm hợp chất flavonoid là 4,2'-dihydroxy-4',5',6'-trimethoxychalcone. Chất này có hoạt tính kháng yếu đối với các vi sinh vật kiểm định.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Apichart Suksamrarn, Apinya Chotipong, Tananit Suavansri, Somnuk Boongird, Puntip Timsuksai, Saovaluk Vimuttipong and Aporn Chuaynugul, 2004. *Antimycobacterial activity and cytotoxicity of flavonoids from the flowers of Chromolaena odorata* . Arch Pharm Res, Vol. 27, No. 5, pages 507-511.
- Ngô Quốc Luận, Lâm Thanh Phong, Nguyễn Ngọc Hạnh, 2006. *Một số kết quả nghiên cứu thành phần hóa học của tinh dầu và flavonoid trong cây Cỏ Lào*. Tạp chí khoa học, Trường Đại học Cần Thơ, Số 6-2006, trang 103-110.
- Nguyen Thi Diem Trang, Le Viet Ngoc Phuong, Nguyen Xuan Dung, 1993. *Chalcones of Eupatorium odoratum L. from Vietnam*. Journal of chemistry (in Vietnam), Vol 31, No 2, pages 79-80.

- Nguyễn Thị Ngọc Tú, Lê Thị Hải Yến, 2000. *Nghiên cứu tác dụng kháng khuẩn của một số thành phần trong cao Cỏ Lào*. Tạp chí Dược học, Số 7, trang 17-19.
- R.N. Barua, R. P. Sharma, G. Thyagarajan, Werner Hertz, 1978. *Flavonoids of Chromolaena odorata*. *Phytochemistry*, Vol 17, pages 1807-1808.
- Toan Thang Phan, Lingzhi Wang, Patrick See, Renee Jacqueline Grayer, Sui Yung Chan and Seng Teik Lee, 2001. *Phenolic Compounds of Chromolaena odorata Protect Cultured Skin Cells from Oxidative Damage: Implication for Cutaneous Wound healing*. *Biol. Pharm. Bull*, Vol 24, issue 12, pages 1373-1379.