

NGHIÊN CỨU NHÓM LIGNAN TRONG THÂN CÂY RAU GAI THỐI

(*Acacia pennata* (L.) Willd.) TẠI SƠN LA

Nguyễn Văn Dũng^{1*}, Lò Mai Thu¹, Hà Mạnh Linh¹

Nguyễn Thị Phương², Vũ Văn Tuấn²

¹Trường Đại học Tây Bắc, ²Viện Dược liệu Trung ương

Tóm tắt: Từ căn chiết ethanol 96% thân cây rau gai thối (*Acacia pennata* (L.) Willd.) thu hái tại Sơn La, chúng tôi đã được phân lập bằng các phương pháp sắc ký một hợp chất thuộc nhóm lignan. Chất tinh sạch được xác định là icariside E₅ (I), dựa trên phân tích giải dữ liệu phổ thực nghiệm và so sánh với dữ liệu phổ đã được công bố. Lần đầu tiên một hợp chất lignan (icariside E₅) được phân lập từ một loài thuộc chi *Acacia*.

Từ khoá: Rau gai thối, icariside E₅, lignan, *Acacia pennata* (L.) Willd.

1. Đặt vấn đề

Cây rau gai thối hay còn gọi là sống rắn dây có tên khoa học là *Acacia pennata* (L.) Willd., phân họ Trinh nữ (Mimosoideae), họ Đậu (Fabaceae) [1-4]. Loài này phân bố chủ yếu ở Nam Ấn Độ và Sri Lanka. Ở nước ta, cây mọc hoang ở các tỉnh miền núi phía Bắc. Từ lâu, sống rắn dây không chỉ là món ăn đặc sản bổ dưỡng dùng ngọn luộc, làm nộm, nấu canh của người Thái ở Sơn La mà còn được biết đến là vị thuốc chữa sỏi thận, viêm khớp, mát gan thông tiểu, lợi mật [4]. Trên thế giới đã có một vài nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học của loài *Acacia pennata*. Tuy nhiên, ở Việt Nam chưa có nghiên cứu khoa học nào về tách chiết, tinh sạch các hợp chất tự nhiên về loài này được công bố. Bài báo này trình bày kết quả chiết xuất, phân lập 1 hợp chất thuộc nhóm lignan từ thân của cây rau gai thối (*Acacia pennata* (L.) Willd.).

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là bộ phận thân của cây sống rắn dây được thu hái tại Sơn La. Mẫu được xác định tên khoa học là *Acacia pennata* (L.) Willd. bởi Tiến sĩ Đỗ Thị Xuyên, Bộ môn Thực vật, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội. Mẫu nghiên cứu hiện được lưu giữ tại Khoa Hóa Phân tích - Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu và Khoa Sinh Hóa – Trường Đại học Tây Bắc.

2.2. Hóa chất, dung môi

Hóa chất: Dung môi công nghiệp *n*-hexan, ethyl acetat, *n*-butanol, dicloromethan (CH₂Cl₂), methanol (MeOH), nước cất (H₂O).

Ngày nhận bài: 19/12/2018. Ngày nhận đăng: 06/05/2019.

Liên lạc: Nguyễn Văn Dũng, e-mail: dungsinhdhtb@gmail.com

2.3. Thiết bị, dụng cụ

Bản mỏng tráng sẵn pha thường silica gel F₂₅₄ (Merck), pha đảo RP₁₈ F_{254s} (Merck), chất hấp phụ silica gel pha thường (cỡ hạt 63-200 µm, Merck), pha đảo RP-18 (30-50 µm, Merck), acid sulfuric 10%/ethanol. Các loại cột sắc ký, đèn tử ngoại, máy đo phổ hồng ngoại FT-IR Spectrophotometer (Perkin Elmer, Mỹ), máy đo phổ khối Agilent 1100 LC/MSD, máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC) Bruker AM500 FT-NMR. Các thí nghiệm được tiến hành ở Phòng thí nghiệm Khoa Sinh Hóa – Trường Đại học Tây Bắc và Khoa Hóa – Tiêu chuẩn – Viện Dược liệu Trung ương.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất, phân lập các hợp chất

Chiết xuất các hợp chất từ dược liệu bằng ethanol 96% theo phương pháp ngâm ở nhiệt độ phòng. Phân đoạn dịch chiết bằng dung môi có độ phân cực tăng dần *n*-hexan, ethyl acetat và *n*-butanol. Phân lập các chất bằng sắc ký cột với các chất hấp phụ silica gel pha thường, pha đảo RP-18. Sắc ký lớp mỏng dùng để theo dõi vết các chất từ dịch chiết phân đoạn và kiểm tra độ tinh khiết các chất phân lập.

Xác định cấu trúc các chất phân lập

Xác định cấu trúc của các chất phân lập được dựa trên phân tích kết quả phổ hồng ngoại (IR), phổ khối (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMBC, HSQC) sử dụng chất nội chuẩn là TMS (tetramethyl silan) và so sánh các dữ liệu thu được từ thực nghiệm với các dữ liệu đã công bố.

2.5. Chiết xuất, phân lập và dữ kiện phổ của các hợp chất phân lập

Thân Rau gai thối đã phơi khô (7,0 kg) được cắt nhỏ, ngâm chiết với ethanol 96% ở nhiệt độ phòng (chiết 3 lần, mỗi lần 4 ngày). Dịch chiết được gộp lại và cất loại còn nước dưới áp suất giảm thu được cặn chiết còn bã khô (158 g). Cặn chiết được hòa tan vào nước cất (1,0 lít) thành hỗn dịch rồi lọc, chiết phân đoạn lần lượt với *n*-hexan (1,0 lít × 3 lần), ethyl acetat (1,0 lít × 3 lần), *n*-butanol (1,0 lít × 3 lần). Các dịch chiết *n*-hexan, ethyl acetat và *n*-butanol được tách riêng, cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được các phần cặn tương ứng: cặn phân đoạn *n*-hexan (14 g), cặn phân đoạn ethyl acetat (EtOAc; 36 g) và cặn phân đoạn *n*-butanol (20 g).

Cặn phân đoạn EtOAc (36 g) được đưa lên cột sắc ký silica gel pha thường, rửa giải bằng hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH với tỷ lệ methanol tăng dần từ 0 đến 100 % thu được 5 phân đoạn (PD1-PD5). Phân đoạn PD3 tiếp tục được phân tách bằng cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂-MeOH (15/1; 10/1; 8/1) thu được 5 phân đoạn (PD3.1 đến PD3.5). Phân đoạn PD3.2 được đưa lên cột silica gel pha đảo RP-18 rửa giải gradient với hệ dung môi MeOH/H₂O (1/1; 2/1; 3/1) thu được 1 chất kí hiệu là I (14 mg).

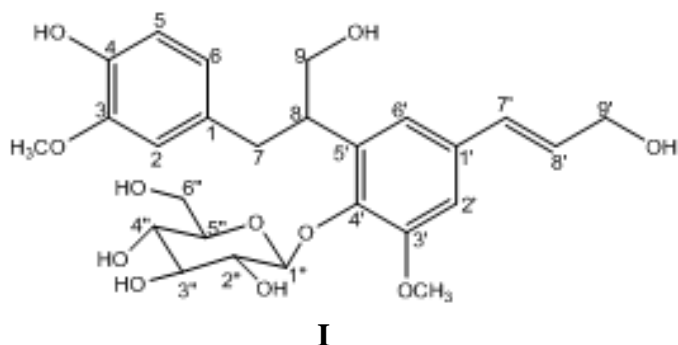
3. Kết quả và bàn luận

Chất I được đo phổ thu được kết quả như sau: Bột màu trắng ngà. Phổ IR (cm^{-1}): 3285; 1644; 1618; 1540; 1445; 1248; 1038. Phổ APCI-MS (m/z)=521 [M-H]⁻. Phổ ¹H-NMR (CD_3OD ; 500 MHz): 6,95 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-2'), 6,94 (1H, d, $J=1,5$ Hz, H-6'), 6,60 (1H, d, $J=8,0$ Hz, H-5), 6,59 (1H, d, $J=2,5$ Hz, H-2), 6,58 (1H, d, $J=16,5$ Hz, H-7'), 6,50 (1H, dd, $J=2,0$; 8,0 Hz, H-6), 6,33 (1H, dt, $J=6,0$; 16,5 Hz, H-8'), 4,70 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H-1''), 4,24 (2H, d, $J=5,5$ Hz, H-9'), 3,98 (1H, m, H-8), 3,85 (3H, s, H-10'), 3,82 (1H, m, H-6a''), 3,79 (1H, m, H-9a), 3,72 (3H, s, H-10), 3,70 (1H, m, H-9b), 3,68 (1H, m, H-6b''), 3,48 (1H, m, H-4''), 3,45 (1H, m, H-3''), 3,39 (1H, m, H-2''), 3,15 (1H, m, H-5''), 2,98 (1H, dd, $J=5,5$; 14,0 Hz, H-7a), 2,74 (1H, dd, $J=9,0$; 13,5 Hz, H-7b). Phổ ¹³C-NMR (CD_3OD ; 125 MHz): 153,5 (C-3'), 148,4 (C-3), 145,4 (C-4), 145,0 (C-4'), 138,9 (C-5'), 135,4 (C-1'), 133,2 (C-1), 131,5 (C-7'), 129,7 (C-8'), 122,6 (C-6), 119,1 (C-6'), 115,7 (C-2), 113,8 (C-5), 109,1 (C-2'), 105,4 (C-1''), 78,1 (C-5''), 77,9 (C-3''), 75,9 (C-2''), 71,2 (C-4''), 66,8 (C-9), 63,7 (C-9'), 62,5 (C-6''), 56,4 (C-10), 56,3 (C-10''), 42,8 (C-8), 39,2 (C-7).

Chất I thu được dưới dạng bột màu trắng ngà. Phổ IR cho biết trong phân tử **I** có các nhóm chức: nhóm OH (dải hấp thụ có đỉnh 3285 cm^{-1}), liên kết C=C (1644 cm^{-1}), liên kết C=C nhân thơm (1618 ; 1540 ; 1445 cm^{-1}), liên kết C-O (1248 ; 1038 cm^{-1}). Phổ khối ESI-MS có pic ion tại m/z : 521 [M-H] (negative) cho biết khối lượng phân tử của **I** là $M=522$. Phổ ¹H-NMR của **I** xuất hiện tín hiệu của 02 proton olefin, một proton xuất hiện dưới dạng doublet với hằng số ghép cặp $J=16,5$ Hz ở $\delta_{\text{H}}=6,58$ ppm và một proton xuất hiện dưới dạng double triplet với $J=6,0$; $16,5$ Hz ở độ chuyển dịch $\delta_{\text{H}}=6,33$ ppm. Hai tín hiệu này được xác định là các proton của liên kết đôi với cấu hình *trans*. Quan sát trên phổ ¹H-NMR của **1** còn xuất hiện tín hiệu của 05 proton thơm và 02 proton methoxy ở $\delta_{\text{H}}=3,85$ và $3,72$ ppm. Năm proton thơm bao gồm 02 proton ghép cặp dưới dạng *meta* và 03 proton ghép cặp dưới dạng ABX. Phổ ¹³C-NMR của **I** xuất hiện tín hiệu của 26 nguyên tử cacbon trong đó có 14 nguyên tử cacbon của liên kết đôi hay nhân thơm. Kết hợp với dữ kiện phổ ¹H-NMR khẳng định hợp chất **1** có 2 vòng thơm [1]. Sự có mặt của gốc đường với cấu hình β trong cấu trúc của **I** được thể hiện thông qua tín hiệu của proton anome ở δ_{H} 4,70 (d, $J=7,5$ Hz, H-1'') và tín hiệu $\delta_{\text{C}}=62,5$ ppm (C-6''). Gốc đường này được đính vào cacbon ở độ chuyển dịch $\delta_{\text{C}}=145,0$ (C-4') do xuất hiện tương tác của $\delta_{\text{H}}=4,70$ và $\delta_{\text{C}}=145,0$ trên phổ HMBC. Ngoài ra, khi quan sát các phổ ¹H và ¹³C-NMR, DEPT cho thấy, phần aglycon của hợp chất **1** còn có thêm 01 nhóm methylen, 01 nhóm methin và 02 nhóm oxymethylen. Phân tích các dữ kiện phổ, tra cứu tài liệu, dự đoán chất số **1** là hợp chất icariside E₅ [5], [6]. Các tương tác trên phổ 2D-NMR (HMBC, HSQC, COSY) và phổ khối đều khẳng định chất số **1** là hợp chất icariside E₅. Icariside E₅ là một lignan glycoside, lần đầu tiên được phân lập từ phần trên mặt đất của loài *Epimedium diphyllum* vào năm 1989 [7]. Sau đó, hợp chất này được tìm thấy trong một số loài thực vật như *Albizia julibrissin*, *Ehretia ovalifolia*, *Capsicum annum* [5], [6]. Đây là lần đầu tiên sự có mặt của hợp chất icariside E₅ trong một loài thuộc chi *Acacia* được công bố.

4. Kết luận

Từ căn chiết ethanol bộ phận thân của cây Rau gai thối (*Acacia pennata* (L.) Willd.) thu hái tại Sơn La, bằng các phương pháp sắc ký, nhóm nghiên cứu đã phân lập được 01 hợp chất thuộc nhóm lignan. Hợp chất này được xác định là icariside E₅ (**I**). Hợp chất này lần đầu tiên phân lập được từ chi *Acacia*. Đây là đóng góp mới của nghiên cứu nhằm làm phong phú thêm tri thức về hóa thực vật học của chi *Acacia* nói chung và loài *Acacia pennata* nói riêng.



Hình 1. Công thức cấu tạo của hợp chất (**I**) phân lập được từ thân cây rau gai thối

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Tất Lợi (2004). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nxb Y học, 537-538.
- [2] Võ Văn Chi (1997), Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nxb Y học, Tập I, 579-580.
- [3] Đặng Thị Oanh (2010), Tri thức dân gian về nước của người Thái Đen Điện Biên xưa, Nxb Thời Đại.
- [4] Đặng Thị Oanh (2011), Văn hóa thái - Những tri thức dân gian, Nxb Thanh Niên.
- [5] Lee DY, Lee DG, Cho JG, Bang MH, Lyu HN, Lee YH, Kim SY, Baek NI (2009), Lignans from the fruits of the red pepper (*Capsicum annuum* L.) and their antioxidant effects, *Archives of Pharmacal Research*, 32(10), 1345-1349.
- [6] Iorizzi M, Lanzotti V, De Marino S, Zollo F, Blanco-Molina M, Macho A, Muñoz E (2001), New glycosides from *Capsicum annuum* L. var. *acuminatum*. Isolation, structure determination, and biological activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 2022-2029.
- [7] Miyase T, Ueno A, Takizawa N, Kobayashi H, Oguchi H (1989), Ionone and lignan glycosides from *Epimedium diphyllum*, *Phytochemistry*, 28(12), 3483-3485.

**A STUDY ON THE GROUP OF LIGNAN IN THE STEM OF ACACIA PENNATA (L.)
WILLD. IN SON LA**

Nguyen Van Dung¹, Lo Mai Thu¹, Ha Manh Linh¹

Nguyen Thi Phuong², Vu Van Tuan²

¹Tay Bac University, ²National Institute Medicinal Materials

Abstract: *From the ethanol 96% extracts of the stems of *Acacia pennata* (L.) Willd. collected in Son La, one compound of lignans (**I**) is isolated by chromatographic methods. The purified substance is identified as icariside E₅ (**I**) by spectroscopic analyses and comparison with literature data. This is the first time Icariside E₅ has been isolated from species of genus *Acacia*.*

Keywords: *Acacia pennata (L.) Willd., icariside E₅, lignan.*