

CÔ LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CỦA ALKALOID TỪ LÁ CÂY DIỆP HẠ CHÂU ĐẮNG (*Phyllanthus niruri*. L.)

Nguyễn Trọng Tuấn¹,
Phạm Ngọc Thành và Nguyễn Ngọc Hạnh²

ABSTRACT

From the ethanol 98% extract of the dried leaves of *Phyllanthus niruri*.L.(Euphorbiaceae), nirurine, a securineage alkaloid, has been isolated. The structure of this compound has been elucidated by means of UV, IR, MASS and NMR spectroscopy as well as by comparison with literature.

Keywords: *Phyllanthus niruri*.L, alkaloid.

Title: Isolation and structure determination of Alkaloid from the leaves of *Phyllanthus niruri*. L.

TÓM TẮT

Từ dịch chiết etanol 98% của bột lá cây khô Diệp Hạ Châu Đắng và bằng phương pháp sắc ký cột thường để khảo sát thành phần hóa học của dịch cao thô này, một Alkaloid thuộc họ Securinine đã được cô lập tại phân đoạn giải ly cột với hệ dung môi giải ly là chloroform-metanol=97:3. Hợp chất này có tên là nirurine. Cấu trúc của hợp chất này được xác định bằng các phương pháp hóa lý hiện đại như: phổ tử ngoại, phổ hồng ngoại, phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân.

Từ khóa: Diệp Hạ Châu Đắng, Cao thô, phổ hồng ngoại, phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân Alkaloid, Securinine.

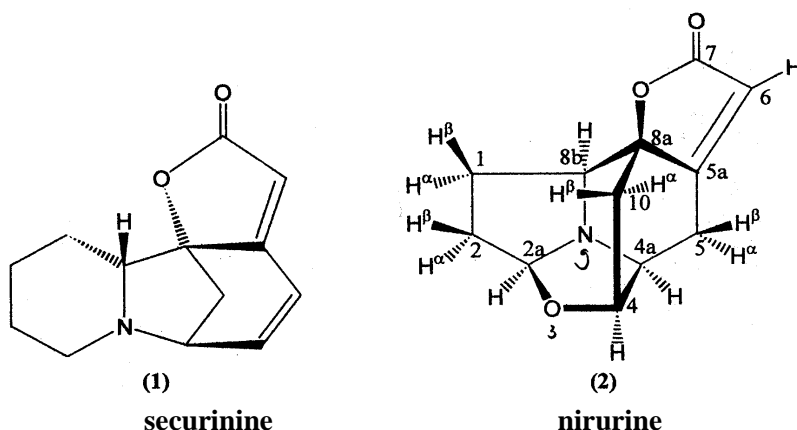
1 MỞ ĐẦU

Cây Diệp Hạ Châu đắng có tên khoa học là *Phyllanthus niruri*.L., thuộc họ Thầu Dầu Euphorbiaceae (Đỗ Tất Lợi, 1995), mọc hoang ở Việt Nam, Ấn Độ, các nước Đông Dương... Trong dân gian người ta sử dụng cây Diệp Hạ Châu đắng để chữa các bệnh viêm thận phù thũng, sỏi thận, trẻ em suy dinh dưỡng, viêm ruột, kiết lỵ, viêm gan, điều kinh, lọc máu, điều huyết, ung nhọt, đình rêu, lở ngứa, rần rết cắn.

Theo các nghiên cứu gần đây, các alkaloid cô lập được từ cây đều thuộc loại **securinine** (Hassarajani, S.A., 1986), (Joshi B. S., 1986) Công trình nghiên cứu này tìm hiểu thành phần hóa học từ dịch chiết etanol 98% của bột lá cây Diệp Hạ Châu đắng và đã phân lập được một alkaloid. Bằng các phương pháp vật lý như đo điểm nóng chảy, phổ hồng ngoại (IR), tử ngoại (UV), khối phổ (MS), ¹H-NMR, ¹³C-NMR, H-H COSY, ¹H-¹³C HMBC và ¹H-¹³C HMQC, so sánh với tài liệu đã công bố đã xác định được cấu trúc hóa học của alkaloid này là **nirurine** (Petchnaree, Prapaisri; Bunyapraphatsara, Nuntavan; Cordell, Geoffrey A. ; Cowe Heather J. ; Cox, Philip J.J. , 1986) (Hình 1).

¹ Bộ Môn Hóa, Khoa Khoa Học, Đại Học Cần Thơ

² Phòng Hóa học các hợp chất thiên nhiên-Viện Công Nghệ Hóa Học-Viện Khoa học và Công Nghệ Việt Nam



Hình 1: Cấu trúc của securinine và nirurine

2 THỰC NGHIỆM

2.1 Nguyên liệu

Mẫu lá cây Diệp Hạ Châu đắng do Trung tâm giống cây trồng và dược liệu miền Trung-Công ty cổ phần dược liệu Trung ương 2 cung cấp. Cây được thu hoạch vào mùa mưa tháng 9 vào mùa khô tháng 3.

2.2 Thiết bị

- Điểm chảy được đo trên máy Electrothermal IA 9000 Series, dùng mao quản không hiệu chỉnh tại Viện Công Nghệ Hóa Học.
- Phổ hồng ngoại IR ghi trên máy quang phổ hồng ngoại Bruker 40, dùng viên nén KBr tại Viện Công Nghệ Hóa Học.
- Phổ UV-Vis đo trên máy Jasco 500, cuvet thạch anh 1 = 1cm tại Viện Công Nghệ Hóa Học.
- Phổ khối lượng được đo trên thiết bị 1100 Series MSD-Ion TRAP tại Viện Công Nghệ Hóa Học.
- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân: $^1\text{H-NMR}$; $^{13}\text{C-NMR}$; H-HCOSY; $^1\text{H-}^{13}\text{CHMBC}$ và $^1\text{H-}^{13}\text{C HMQC}$ được đo trên máy IEOL – JNM –LA-400 tại Đại Học Y Dược TOYAMA Nhật Bản. Dung môi CDCl_3 , MeOD, chất nội chuẩn TMS, máy cộng hưởng tần số 400MHz.
- Phổ DEPT được thực hiện tại trung tâm phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3 Chiết xuất và cô lập alkaloid Nirurine

Bột lá khô của cây Diệp Hạ Châu đắng (19kg) được tẩm với dung dịch amoniac 12%, để khô ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ, sau đó được chiết 3 lần với etanol 98% ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết etanol được cô quay dưới áp suất kém thu được cặn sệt etanol. Hòa tan cặn này với dung dịch acid clohydric 1N, lọc. Dịch lọc được kiềm hóa đến pH = 8-9, sau đó trích với chloroform. Dịch trích chloroform sau khi rửa với nước cất đến pH = 7, làm khan với natri sunfat, được cô quay với áp suất kém thu được 23,2 gam cặn alkaloid thô (Hiệu suất: 0,12 %).

Từ cặn alkaloid thô, dùng sắc ký cột với silicagel 60H Merck (230 – 400 Mesh Asim) để tách **nirurine**, với hệ dung môi giải phân cực tăng dần: ete dầu hỏa, ete dầu hỏa- clorofoc, clorofoc, clorofoc- metanol. Mỗi phân đoạn giải ly được hứng là 500ml, cô thu hồi dung

môi và kiểm tra trên sắc ký bản mỏng để gộp các phân đoạn có R_f giống nhau. Tất cả thu được 55 phân đoạn. Tại phân đoạn clorofoc- metanol = 97:3 thu được 2,46 gam cặn màu xanh, kết kinh nhiều lần trong metanol thu được 1,42 gam (Hiệu suất: 0,007%) tinh thể **nirurine** hình kim màu trắng ($R_f = 0,64$; hệ dung môi chloroform: metanol = 6:1)

3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Nirurine được phân lập từ dịch chiết etanol 98% của lá cây Diệp Hạ Châu đắng dưới dạng tinh thể hình kim, màu trắng. Điểm nóng chảy 205 – 208⁰C.

Phổ hồng ngoại (IR) chỉ ra sự hiện diện của nhóm carbonyl của một α,β - bất bão hòa γ -lacton tại ν_{max} 1755 cm^{-1} . Kết luận này được chứng minh bởi phổ tử ngoại U.V.(λ_{max} = 261 nm).

Phổ khối lượng (MS) có pic $[M+H]^+$ ở $m/z = 220.18$. Công thức phân tử $C_{12}H_{13}NO_3$ (M = 219) được suy ra từ cấu trúc của **nirurine** hoàn toàn phù hợp với phổ khối lượng.

Phổ ¹H NMR, H – H COSY, ¹³C NMR, HMQC, HMBC của **nirurine** được dẫn trong Bảng 1 và Bảng 2.

Bảng 1: Phổ ¹H NMR và H – H COSY của nirurine

Proton	δ ¹ H (ppm)	H, H – COSY
H-6	5.732 (1H,t,J = 1.95 Hz)	H-5 α , H - 5 β
H-2a	4.956 (1H,dd, J=2.92 Hz)	H-2 α , H - 2 β
H-4	4.212 (1H,dd,J= 4.36, 6.23 Hz)	H- 4, H-4a, H- 10 α , H - 10 β
H- 4a	3.533 (1H,dd,J= 3.16, 4.36)	H-4a, H-4, H-5 α , H - 5 β
H-8b	3.264 (1H,dt,J= 1.92, 6.07)	H-8b, H-1 α , H - 1 β
H-5 β	3.336 (1H,dt,J= 19.50, 2.96, 2.16)	H-5 β , H-5 α , H – 6, H-4a
H-5 α	2.954 (1H,dt,J= 19.50, 2.20)	H-5 α , H-5 β , H-6, H-4a
H-10 β	2.282 (1H, d, J = 14.15)	H-10 α , H-4, H-8b
H-1 β	2.218 (1H,m)	H-1 α , H – 8b, H-2 β , H - 2 α
H-1 α	2.191 (1H,m)	H-1 β , H – 8b, H-2 β , H - 2 α
H-2 β	2.102 (1H,m)	H-2 α , H – 1 α , H-1 β , H – 2a
H-2 α	2.036 (1H,m)	H-2 β , H – 1 α , H-1 β , H – 2a
H-10 α	1.615 (1H, ddd, 1.96, 4.36, 14.15)	H-8b, H- 10 β , H – 4a

Bảng 2: Phổ ¹³C NMR, DEPT, HMQC và HMBC của nirurine

Carbon	δ ¹³ C (ppm)	DEPT	HMQC	HMBC
7	173.315	Triệt tiêu		H-6
5a	172.632	Triệt tiêu		H-6, H-5 α , H-5 β , H-10 α , H-10 β
6	109.818	Mũi dương	H-6	H-5 α
2a	98.465	Mũi dương	H-2a	H-4, H-8b, H-2 α , H-2 β
8a	82.463	Triệt tiêu		H-6, H-4, H-8b, H-1 α , H-1 β , H-10 α , H-10 β
4	70.114	Mũi dương	H-4	H-5 β , H-10 α , H-10 β
8b	63.425	Mũi dương	H-8b	H-2a, H-2 α , H-2 β , H-10 α , H-10 β
4a	58.316	Mũi dương	H-4a	H-5 β , H-10 β
10	33.997	Mũi âm	H-10 α , H-10 β	H-8b
2	30.081	Mũi âm	H-2 α , H-2 β	H-2a, H-1 α , H-1 β
5	23.746	Mũi âm	H-5 α , H-5 β	
1	23.224	Mũi âm	H-1 α , H-1 β	H-2a, H-2 α , H-2 β

4 KẾT LUẬN

- Từ lá cây Diệp Hạ Châu Đắng (*Phyllanthus nirurii*. L.) đã tách được 1 hợp chất alkaloid.

- Bằng các kỹ thuật phân tích hóa lý hiện đại đã xác định được hợp chất alkaloid đó là **Nirurine**.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, trang 133, NXB Khoa học và Kỹ thuật (1995).
- Hassarajani, S.A. and Mulchandani, N.B. Indian J.Chem.Sect.B,29 (9),801 – 803 (1990)
- Joshi B. S., Gawad D.H., Pelletier S.W., Kartha G. and Bhandary K.J. Nat.Prod., 49 (4), 614 – 20 (1986).
- Petchnaree, Prapaisri; Bunyaphatsara, Nuntavan; Cordell, Geoffrey A. ; Cowe Heather J. and Cox, Philip J.J. Chem. Soc. Perkin Trans.1, 1551 – 1556 (1986).
- Peter J. Houghton, Tibebe Z. Woldemariam, Siobhan O'shea and S.P. Thyagarajan. Phytochemistry, 43 (3), 715- 717 (1996).
- Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam, trang 235, NXB Y học (1999).