

MỘT SỐ NGHIÊN CỨU BƯỚC ĐẦU VỀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA LÁ DIẾP CÁ (*HOULTUYNIA CORDATA*) THU hái TẠI QUẢNG NAM - ĐÀ NẴNG

INITIAL RESEARCH ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF *HOULTUYNIA CORDATA* LEAVES FROM QUANG NAM, VIETNAM

Huỳnh Thị Thủy¹, Đào Hùng Cường¹, Nguyễn Quang Trung²

¹Trường Đại học Sư phạm – Đại học Đà Nẵng; cuongdh128@gmail.com

²Trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng 2; nqtrung.quatest2@gmail.com

Tóm tắt - Lá diếp cá sau khi xử lý được chiết với các dung môi n-hexane, chloroform, ethyl acetate và methanol. Bằng phương pháp thử hoạt tính bắt gốc tự do với 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), trong số các dịch chiết từ lá diếp cá thu được, dịch chiết chloroform thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao nhất với IC₅₀ là 18,38 µg/mL. Bảng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ, một số thành phần hóa học trong các dịch chiết từ lá diếp cá đã được xác định, trong đó dịch chiết chloroform xác định được nhiều cấu tử nhất với 28 cấu tử. 4 dịch chiết có chung những cấu tử với hàm lượng cao là: beta-myrcene, L-menthol, phytol. Từ phân đoạn của dịch chiết chloroform, đã phân lập được hợp chất HC2. Với các dữ kiện thu được từ phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H, ¹³C-NMR và đối chiếu với hợp chất ở tài liệu tham khảo, hợp chất HC2 được xác định là aristolactam BII.

Từ khóa - Lá diếp cá; dịch chiết chloroform; hoạt tính chống oxy hóa; cộng hưởng từ hạt nhân; aristolactam BII

1. Đặt vấn đề

Diếp cá hay còn có tên khác Cây lá giầy, Rau giầy cá, Rau diếp tanh, tên khoa học là *Houttuynia cordata* Thunb, thuộc chi *Houttuynia*, họ Saururaceae, bộ Piperales, lớp Magnoliopsida, ngành Magnoliophyta, phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới ở Châu Á, từ Nhật Bản, Trung Quốc đến Việt Nam, Lào, Ấn Độ và các nước Đông Nam Á khác [1], [2]. Ở Việt Nam, cây mọc hoang dại các tỉnh miền núi, trung du và đồng bằng. Cây còn được trồng ở nhiều nơi để làm rau và làm thuốc [3]. Thành phần chính của tinh dầu Diếp cá là các nhóm aldehyde và các dẫn chất ketone. Chất có tác dụng kháng khuẩn là 3-Oxododecanal. Các flavonoid đáng chú ý trong diếp cá gồm quercetin, quercitrin, isoquercitrin, hyperin và phloretin được coi là những hợp chất có tác dụng kháng ung thư và tác dụng ngăn chặn gốc tự do nên được dùng để điều trị những bệnh liên quan đến gốc tự do [7].

Số lượng lớn các công trình nghiên cứu về lá diếp cá đến từ nhiều quốc gia khác nhau (Mỹ, Braxin, Ấn Độ, Trung Quốc, Nhật Bản) đã cho thấy tầm quan trọng của cây thuốc cổ truyền này trong đời sống của các dân tộc trên thế giới. Đại học Chiết Giang, Sở Khoa học và Kỹ thuật Y học Trung Quốc đã dùng sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) phân tích về tinh dầu của HC bằng cách sử dụng methyl hóa cột với acetate tetramethylammonium (TMAA). Kết quả cho thấy, acid béo thiết yếu của tinh dầu khoảng 81%, trong số các axit béo được tìm thấy đã được methyl hóa có methyl caporic (43,66%) methyl laurate (16,15%), methyl hexadecanoate (9,27%), methyl undecanoic acid (5,62%), methyl oleate (1,98%), và methyl linoleate (1,40%) [12].

Theo một nghiên cứu được công bố trên tạp chí China Chinese materia medica về thành phần flavonoid của Diếp

Abstract - After the pretreatment, the chemical substances in *Houttuynia Cordata* leaf are extracted inn-hexane, chloroform, ethyl acetate, and methanolsolvents. Among those extracts, the chloroform extract shows the highest antioxidant activity when using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) as free radical scavenging assay. The constituents of those extracts are investigated using gas chromatography-mass spectrometry. In which, the chloroform extract shows the highest number with 28 compounds identified. Three compounds, including beta-myrcene, L-menthol and phytol are found in a high concentration in the 4 above extracts. The compound HC2, known as aristolactam BII, is isolated from chloroform extract with its structure clearly identified using nuclear magnetic resonance (¹H and ¹³C-NMR), as well as compared with the reported data.

Key words - *Houttuynia Cordata* leaves; chloroform extract; antioxidant activity; nuclear magnetic resonance; aristolactam BII

cá, 5 thành phần đã được phân lập và xác định gồm quercetin-3-O-beta-D-galactoside-7- O -beta-D-glucoside, kaempferol-3- O -alpha- L -rhamnopyranosyl-beta- D -glucopyranoside, quercitrin, hyperin và quercetin 3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-7-O-beta-D-glucopyranoside [6]. Cũng trên tạp chí này, tác giả Lean-Teik Ng trong một nghiên cứu của ông và cộng sự về hoạt tính chống oxy hóa của Cây diếp cá đã chỉ ra rằng, hoạt tính chống oxy hóa chất béo của Cây diếp cá là tương đương với vitamin E [8]

Tác giả Seong-Kie Kim và cộng sự, trong một nghiên cứu về thành phần alkaloid của Cây diếp cá đã phân lập một số alkaloid có hoạt tính sinh học từ dịch chiết methanol là aristolactam B, aristolactam A, piperolactam A, norcepharadion B, cepharadion, splendidin. Những chất này có tác dụng ức chế 5 dòng tế bào ung thư ở người [9].

Tác giả Hoàng Thanh Hương từ nghiên cứu về thành phần flavonoid chiết xuất từ lá Cây diếp cá chỉ ra rằng, trong lá cây chứa một số thành phần flavonoid chủ yếu gồm phloretin-2"-O-beta-D-glucopyranosid, quercetin-3-beta-D-galactopyranosid, quercetin-3-O-alpha-L-arabino-furanosid và isoquercitrin. Tổng phenolic và phân đoạn DC-5 được tách ra bằng SKC/sephadex cho hiệu quả hạn chế sự peroxy hóa lipid màng tế bào gan khá tốt. Tác dụng thải độc gan của F.DC và DC-5 bước đầu cho kết quả khá quan [4].

Nghiên cứu gần đây của tác giả Trần Thị Việt Hoa về phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ cây Diếp cá (*Houttuynia cordata* Thunb) của Việt Nam, đã phân lập được cấu tử β -sitosterol từ cây Diếp cá ở tỉnh Tiền Giang [5].

Có thể thấy, ở Việt Nam Cây diếp cá chưa được các nhà khoa học quan tâm nhiều, số công trình nghiên cứu là rất ít và mang tính riêng lẻ. Vì vậy, bài báo này tiếp tục cung cấp thêm thông tin về thành phần hóa học, hoạt tính chống oxy

hóa của một số dịch chiết lá diếp cá, cũng như phân lập, xác định cấu trúc chất sạch từ lá diếp cá thu hái tại Quảng Nam – Đà Nẵng.

2. Thực nghiệm

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

2.1.1. Nguyên liệu

Cây Diếp cá được thu mua tươi tại chợ Tam Kỳ, phường Phước Hòa, TP. Tam Kỳ, tỉnh Quảng Nam và chợ Cồn, quận Hải Châu, TP. Đà Nẵng với tên khoa học *Houttuynia cordata* Thunb., Saururaceae (đã được giám định khoa học bởi tác giả ThS. Nguyễn Thị Oanh – Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh).

Nguyên liệu được ngắt riêng lá, rửa sạch, phơi đến khô, xay nhỏ đến kích thước từ (2,0 ÷ 2,5) mm.

2.1.2. Hóa chất

Các dung môi dùng để chiết tách và tinh chế gồm: n-hexane (≥99,9%, Fisher), chloroform (≥99,8%, Fisher) ethyl acetate (≥99,5%, Fisher), methanol (≥99,9%, Fisher) và acetone (≥99,5%, Fisher)

Ngoài ra còn sử dụng Na₂SO₄ khan (≥99,0%, Sigma Aldrich) và một số hóa chất khác.

Thuốc thử phun lên bản mỏng là vanilin 1% trong dung dịch methanol – H₂SO₄ đặc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định thành phần kim loại nặng

Mẫu lá diếp cá sau khi tro hoá được hoà tan bằng dung dịch HNO₃ đặc 65-68% và định mức đến 250 ml. Lấy dung dịch đã định mức trên để xác định hàm lượng một số kim loại nặng là Pb, Cu, Zn, As bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (sử dụng kỹ thuật ngọn lửa đôi với Pb, Cu, Zn (TCVN 6193:1996) và kỹ thuật hóa hơi đối với As (TCVN 6826:2000)).

Công thức chuyển đổi từ hàm lượng mg/l sang hàm lượng mg/kg như sau:

$$C_{\left(\frac{mg}{kg}\right)} = \frac{C_{\left(\frac{mg}{L}\right)}}{m_0} 250$$

Trong đó, m₀ là khối lượng mẫu lá diếp cá trước khi tro hóa.

2.2.2. Phương pháp ngâm chiết

Cân 1 kg nguyên liệu khô và ngâm chiết trong methanol (1,0 lít x 4 lần) ở nhiệt độ phòng trong thời gian 2 ngày, thu lấy dịch chiết. Cát loại dung môi phần dịch chiết dưới áp suất thấp thu được cao tổng methanol. Thêm 200 mL nước vào cao tổng này và chiết phân lớp lần lượt với các dung môi n-hexane, ethyl acetate, methanol và chloroform, mỗi dung môi tiến hành chiết 3 lần, thu được các phân đoạn dịch chiết tương ứng. Làm khan các dịch chiết này bằng Na₂SO₄, sau đó cất loại dung môi các dịch chiết dưới áp suất thấp thu được các cao chiết tương ứng (cao n-hexane, ethyl acetate, methanol và chloroform) để tiếp tục nghiên cứu.

2.2.3. Phương pháp thử hoạt tính chống oxy hóa

Được tiến hành theo phương pháp của Yuvaraj và cộng sự [11].

Dung dịch gốc của mẫu thử được pha trong dimethyl

sulfoxide ở nồng độ 2 mg/ml, sau đó pha thành dải nồng độ (100; 50; 25; 12,5) µg/ml với nước cất khử ion. Thêm 1 ml DPPH (0,25 mM, pha trong methanol) vào mỗi ống nghiệm đã chứa 1 ml cao chiết tại các nồng độ khác nhau. Ủ 30 phút trong điều kiện không có ánh sáng ở nhiệt độ phòng, sau đó tiến hành đo mật độ quang OD tại bước sóng 517 nm. Chứng dương trong thí nghiệm là ascorbic acid (15 µg/ml), chứng âm là nước cất khử ion.

Tỉ lệ phần trăm hoạt tính chống oxy hóa được xác định theo công thức sau:

$$I = \frac{A_c - A_s}{A_c} 100 (\%)$$

Với A_c là giá trị mật độ quang của chứng âm

A_s là giá trị mật độ quang của dung dịch mẫu thử.

Từ tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, tiến hành xây dựng phương trình tương quan tuyến tính, từ đó xác định giá trị IC₅₀ (là nồng độ mà tại đó bắt 50% gốc tự do DPPH) để làm cơ sở so sánh khả năng chống oxy hóa giữa các mẫu. Mẫu nào có giá trị IC₅₀ càng thấp thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao.

2.2.4. Phương pháp định danh thành phần hóa học của các cao chiết

Thành phần hoá học trong các cao chiết n-hexane, ethyl acetate, methanol và chloroform của lá diếp cá được định danh bằng phương pháp đo sắc kí khí ghép phổ khối (GC-MS).

Thiết bị được sử dụng là hệ thống GS-MS Agilent 7890A. Hệ thống GC-MS với cột mao quản DB-5MS, khí mang He 10psi, thể tích tiêm mẫu 1µl (split 10:1), đầu dò MS EI+ kèm ngân hàng dữ liệu, chương trình gradient nhiệt độ từ 50°C đến 300°C (5 phút); nhiệt độ buồng tiêm mẫu và đầu dò lần lượt là 250 °C và 500°C, chế độ quét fullscan.

2.2.5. Phương pháp tách và tinh chế chất

Phân lập chất trong cao chiết sử dụng phương pháp sắc ký cột với hạt nhồi là silicagel Merck cỡ hạt 0,04 - 0,06mm, cột sắc kí thủy tinh Isolab có kích thước 2 cm x 80 cm.

Chạy sắc ký bản mỏng với các hệ dung môi có tỷ lệ khác nhau để lựa chọn hệ dung môi phù hợp cho sắc ký cột, bao gồm: n-hexane/ ethyl acetate (95/5, 90/10, 85/15, v/v), chloroform/ methanol (99/1, v/v), chloroform/ acetone (80/20, v/v). Bản mỏng sắc ký được sử dụng là TLC Silicagel 60 F254 hãng Merck, dày 0,25mm tráng trên nền nhôm. Thuốc thử vanilin 1% trong dung dịch methanol – H₂SO₄ đặc được sử dụng để phun lên bản mỏng, sau đó sấy bản mỏng ở nhiệt độ 110°C. Hệ dung môi phù hợp được lựa chọn là n-hexane/ ethyl acetate.

Nhồi hạt silicagel vào cột sắc ký bằng hệ dung môi n-hexane/ ethyl acetate (95/5, v/v). Cao chiết chloroform được lựa chọn để phân lập thu chất sạch. Tiến hành nạp mẫu và chạy sắc ký cột với hệ dung môi n-hexane/ ethyl acetate (50/1, 25/1, 10/1, 5/1, 2,5/1, 1/1, v/v). Cao chiết chloroform được tách thô thành 5 phân đoạn từ HC1-HC5. Phân đoạn HC5 được tiếp tục chạy sắc ký cột và rửa giải bằng hệ dung môi n-hexane/ ethyl acetate (3/1, v/v) thành 8 phân đoạn từ HC5A-HC5H. Tinh chế phân đoạn HC5B bằng dung môi acetone thu được hợp chất HC2.

2.2.6. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học

Chất HC2 được đo bằng phương pháp phổ hồng ngoại (FT-IR) trên máy quang phổ Nicolet-IMPACT 410. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ($^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 500 Hz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz)) được đo trên máy Bruker Avance-500 MHz.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Hàm lượng kim loại

Kết quả xác định hàm lượng một số kim loại trong lá diếp cá được tổng hợp ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xác định hàm lượng kim loại trong lá diếp cá

Kim loại	Kết quả (mg/L)	Kết quả (mg/kg)	Hàm lượng cho phép (mg/kg) (*)
Pb	0,0425	0,8458	2
Cu	0,3799	7,5423	20
Zn	0,7667	15,2580	20
As	0,0098	0,1950	1

(*) QCVN 8-2:2011/BYT

Căn cứ Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm, có thể thấy hàm lượng kim loại trong lá diếp cá nằm trong khoảng cho phép. Tuy nhiên, do ảnh hưởng của điều kiện sinh thái, thời tiết mà hàm lượng kim loại trong lá diếp cá trồng ở các địa phương theo từng thời gian lấy mẫu có thể khác nhau.

3.2. Hoạt tính chống oxy hoá

Kết quả thử hoạt tính chống oxy hoá (Bảng 2) của các cao chiết cho thấy, dịch cao chloroform từ lá diếp cá thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao nhất, do vậy cao chiết này được lựa chọn phân lập để thu chất sạch.

Bảng 2. Kết quả thử hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	I (%)			
	n-hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Methanol
100	58,62 \pm 1,08	82,71 \pm 0,01	83,10 \pm 0,10	51,11 \pm 0,30
50	34,01 \pm 1,28	79,42 \pm 0,00	82,13 \pm 1,08	25,59 \pm 0,79
25	22,25 \pm 0,79	69,89 \pm 1,48	58,41 \pm 1,97	10,57 \pm 0,98
12,5	9,25 \pm 0,49	32,34 \pm 1,28	34,91 \pm 0,59	4,03 \pm 1,18
IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	82,49	18,38	20,53	97,83

3.3. Thành phần hóa học trong các cao chiết

3.3.1. Thành phần hóa học cao chiết n-hexane (Bảng 3)

Bảng 3. Thành phần hóa học cao chiết n-hexane lá diếp cá được xác định bằng phương pháp GC-MS

STT	T _R	Area%	Tên cấu tử
1	7,211	27,39	Beta- Myrcene
2	8,248	0,37	D-limonene
3	8,793	7,05	Cis-ocimene
4	9,765	1,10	n-undecane
5	11,613	0,32	Cyclopentane,1,1,3-24,22trimethyl-

			3-(2-methyl-2-propenyl)
6	11,969	2,61	2,4,6-octatriene,2,6-dimethyl
7	12,748	6,38	Cyclopentene,3-heptyl
8	13,087	1,17	n-dodecane
9	14,179	1,24	L-(-)-menthol
10	18,648	1,39	endobornylacetate
11	18,985	4,35	2-hendecanone
12	19,644	2,24	n-tetradecane
13	20,452	0,67	Germacrene B
14	21,423	4,19	Trans-caryophyllene
15	21,712	1,02	Cyclohexane
16	22,493	0,92	Beta-farnesene
17	22,585	1,15	Dehydroaromadendrane
18	23,377	2,93	Gamma-selinene
19	23,706	1,05	Alpha-selinene
20	24,148	3,81	Endo-isofenchol
21	24,502	0,72	Alpha-panasinsen
22	25,246	2,25	Beta-myrcene
23	25,833	2,09	2-tridecanone
24	29,401	3,4	Hexadecane
25	29,861	18,78	Heptadecane
26	33,340	0,96	Cyclohexane,1,5-diisopropyl-2,3-dimethyl
27	35,729	0,45	n-eicosane

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, đã định danh được 27 cấu tử trong cao chiết n-hexane từ lá diếp cá.

Trong cao chiết n-hexane, beta-myrcene có hàm lượng cao nhất. Nhiều nghiên cứu cho rằng, beta-myrcene có thể ức chế viêm do sự hoạt hóa các tế bào hệ miễn dịch tự nhiên mà chủ đạo là các thực bào đơn nhân xuất hiện khi cơ thể phản ứng với lipopolysaccharide gây ra. Hơn nữa, beta-myrcene được phát hiện có hoạt tính điều hòa miễn dịch, ức chế sản xuất nitrogen oxide cũng như cytokine interferon gamma ($\text{IFN}\gamma$) và interleukin-4 (IL-4), thường được sản sinh quá mức trong quá trình viêm phổi [13], [14].

Dịch chiết còn chứa những cấu tử khác có hoạt tính sinh học cao đáng quan tâm như D-limonene, L-menthol, germacrene B. Một số nghiên cứu xác nhận rằng, việc sử dụng D-limonene có thể làm giảm mức chất béo trung tính và cholesterol, giảm huyết áp, có nhiều lợi ích đối với sức khỏe tim mạch [15], [16]. L-menthol có vai trò ngăn chặn đáng kể việc sản xuất của ba trong số các chất trung gian gây viêm bởi các tế bào đơn nhân trong ống nghiệm. Bên cạnh đó, các thử nghiệm lâm sàng cho thấy tiềm năng của L-menthol để điều trị các rối loạn viêm mãn tính như hen phế quản, viêm đại tràng và viêm mũi dị ứng [17].

3.3.2. Thành phần hóa học cao chiết chloroform (Bảng 4)

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy, 28 cấu tử đã được định danh trong cao chiết chloroform từ lá diếp cá, trong đó các chất có hàm lượng cao như: beta-myrcene, cis-ocimene, L-menthol, phytol, germacrene-A, 2-tridecanone, 2-hendecanone.

Nerolidol tồn tại ở hai đồng phân hình học, dạng trans và dạng cis với các hoạt động dược lý và sinh lý học đa dạng. Nerolidol được sử dụng phổ biến trong các ngành

công nghiệp khác nhau trong công nghiệp sản xuất các sản phẩm mỹ phẩm (dầu gội, nước hoa) và trong các sản phẩm phi mỹ phẩm như chất tẩy rửa [18].

Spathulenol thể hiện các hoạt động chống oxy hóa tốt với các giá trị IC₅₀ dao động từ (26,13÷85,60) µg/mL, khả năng chống viêm, chống nhiễm trùng và kháng khuẩn tốt. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng spathulenol có tác dụng ức chế đáng kể chứng phù chân và mô viêm màng phổi ở chuột [19].

Bảng 4. Thành phần hóa học cao chiết chloroform lá diếp cá được xác định bằng phương pháp GC-MS

STT	TR	Area%	Tên cấu tử
1	7,25	7,06	Beta-Myrcene
2	8,287	0,3	Cis-ocimene
3	8,827	1,66	Cis-Ocimene
4	10,833	0,51	Cyclohexylazide
5	11,652	1,8	Benzeneacetaldehyde
6	11,852	0,48	1,4- heptadiene,3,3,6-trimethyl
7	11,985	0,38	2,4,6 – octatriene,2,6-dimethyl
8	12,762	7,91	Cyclopentene, 3-heptyl
9	13,988	1,34	1-nonanol
10	14,197	17,24	L-menthol
11	17,264	0,68	Geraniol
12	18,992	7,4	2-hendecanone
13	21,425	1,71	Trans-caryophyllene
14	22,943	2,11	Cyclopentanone
15	23,379	1,66	Gamma-selinene
16	24,149	5,43	Endo-isofenchol
17	25,252	6,32	2-tridecanone
18	25,834	1,76	Nonadecan
19	26,752	0,8	Nerolidol
20	27,877	0,53	Spathulenol
21	28,838	1,19	Caryophyllene oxide
22	29,406	4,7	n-heptadecane
23	29,865	18,55	Germacrane-A
24	30,903	0,64	Dihydroactinidiolide
25	35,728	3,89	Phytol
26	36,090	0,65	Trans-beta-ionon-5,6-Epoxyde
27	36,863	0,69	Neophytadiene
28	38,714	2,61	2-pentadecanone,6,10,14- trimethyl

3.3.3. Thành phần hóa học cao chiết ethyl acetate (Bảng 5)

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy, phương pháp GC-MS đã định danh được 12 cấu tử trong cao chiết ethyl acetate từ lá diếp cá.

Bảng 5. Thành phần hóa học cao chiết ethyl acetate lá diếp cá được xác định bằng phương pháp GC-MS

STT	TR	AREA%	Tên cấu tử
1	7,255	15,22	Beta-myrcene
2	8,827	2,29	Cis-ocimene
3	11,664	3,13	Benzeneacetaldehyde
4	12,765	6,51	Cyclopentene,3-heptyl
5	13,096	3,46	n-dodecane
6	14,202	31,87	L-menthol

7	18,996	5,8	2-hendecanone
8	19,652	2,94	n-tetradecane
9	20,623	5,27	decanoic acid
10	25,253	4,61	2-tridecanone
11	35,709	13,83	Neophytadiene
12	37,675	5,07	Phytol

Trong cao chiết ethyl acetate, L-menthol có hàm lượng cao nhất và có một số hợp chất có hoạt tính sinh học đáng quan tâm như neophytadiene, phytol.

Neophytadiene đã được báo cáo là có khả năng kháng khuẩn cũng như hỗ trợ trong việc điều trị nhứt đầu, thấp khớp và một số bệnh về da [20].

Phytol được sử dụng rộng rãi như một chất phụ gia thực phẩm và một thành phần thơm, bên cạnh đó còn có khả năng gây độc tế bào ung thư dạ dày. Ngoài ra, một số nghiên cứu chỉ ra rằng phytol còn có tác dụng trong việc kiểm soát và điều trị bệnh sán máng, một loại bệnh do ký sinh trùng gây nên [21], [22].

3.3.4. Thành phần hóa học cao chiết methanol (Bảng 6)

Bảng 6. Thành phần hóa học cao chiết methanol lá diếp cá

STT	TR	%	Tên cấu tử
1	7,216	42,3	Beta-myrcene
2	8,807	14,06	Cis-ocimene
3	9,756	5,88	n-undecane
4	11,994	7,46	2,4,6-octatriene,2,6-dimethyl
5	14,228	12,46	L-menthol
6	18,665	3,78	Exobornylacetate
7	19,004	6,35	2-hendecanone
8	19,381	4,68	Methy caprate
9	21,433	3,03	Trans-caryophyllene

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy, phương pháp GC-MS đã định danh được 9 cấu tử trong cao chiết methanol từ lá diếp cá, trong đó các chất có hàm lượng cao như: beta-myrcene, cis-ocimene, L-menthol. Các chất này có hoạt tính sinh học khá cao.

Như vậy, bằng phương pháp GC-MS, một số thành phần hóa học trong các cao chiết từ lá diếp cá đã được xác định. Trong đó cao chiết chloroform định danh được nhiều cấu tử nhất với 28 cấu tử. Trong 4 dịch chiết có chung những cấu tử với hàm lượng cao là: beta- myrcene, L-menthol, phytol.

3.4. Kết quả phân lập chất sạch trong phân đoạn cao chiết chloroform

Từ cao chiết Chloroform, hợp chất HC2 được tách ra dưới dạng tinh thể hình kim, màu vàng nhạt.

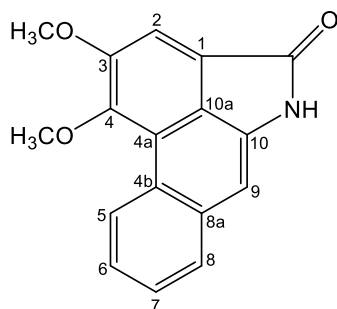
R_f = 0,5 (H/E 1,5/1, v/v).

Phổ ¹H-NMR (đo trong DMSO-d₆) của hợp chất này chỉ ra tín hiệu đặc trưng của 4 proton thơm thuộc nhân benzene thế 1,2 tại δH 9,13 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-5), 7,95 (1H, dd, J = 8,5, 1,0 Hz, H-8) và 7,57 (2H, m, H-6 & H-7). Ngoài ra, tín hiệu singlet của 2 proton thơm không tương tác tại δH 7,86 (H-2), 7,14 (H-9) cũng được quan sát. Ở vùng trường cao, 2 nhóm methoxy gắn với nhân thơm

cộng hưởng tại δ_H 4,06 (3-OCH₃), 4,04 (4-OCH₃) dưới dạng 2 singlet cường độ lớn.

Phổ ¹³C-NMR của hợp chất HC22 chỉ ra tín hiệu cộng hưởng của 17 carbon. Dựa vào giá trị độ chuyển dịch hóa học cho phép đề nghị sự hiện diện của 1 carbon amide (δ_C 168,36), 2 carbon thơm mang oxy (δ_C 150,41, 154,22), 2 carbon methoxy (δ_C 56,93, 59,90). Các tín hiệu trong khoảng δ_C 104,58-135,09 được gán cho carbon của nhân thơm.

Cấu trúc hóa học của hợp chất HC2 (Hình 1):



Hình 1. Cấu trúc hóa học của hợp chất HC2

Các dữ kiện phổ ¹H, ¹³C-NMR chứng tỏ HC2 sở hữu bộ khung aporphinoid chứa nhóm mang màu phenanthrene. Đối chiếu với hợp chất tham khảo ở tài liệu [10], hợp chất HC2 được xác định là Aristolactam BII.

Số liệu phổ NMR của hợp chất HC2 và chất tham khảo được cho trên Bảng 7.

Bảng 7. Phổ NMR của hợp chất HC2 và chất tham khảo

C	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (J, Hz)
1	121,72	121,53	-
2	110,8	109,91	7,86 s
3	155,32	154,22	-
4	150,66	150,41	-
4a	135,19	135,09	-
4b	120,19	119,90	-
5	127,74	127,44	9,13 d (8,0)
6	125,72	125,45	7,57 m
7	127,12	126,82	7,57 m
8	129,28	129,01	7,95 dd (8,5, 1,0)
8a	126,21	125,90	-
9	104,90	104,58	7,14 s
10	135,08	134,80	-
10a	123,52	123,32	-
C=O	168,63	168,36	-
NH	-	-	10,83 br.s
3-OCH ₃	57,04	56,93	4,06 s
4-OCH ₃	60,09	59,90	4,04 s

δ_C^a của Aristolactam BII [1], ^ađo trong DMSO, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz

Aristolactam BII có hoạt tính sinh học khá cao. Hợp chất này có hoạt tính kháng Streptococcus mutans với tỉ lệ 72,8% [23], tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ các tế bào vỏ não bị tổn thương do glutamate bằng cách ức chế trực tiếp việc sản xuất nitric oxide [24].

4. Kết luận

Đã xác định hàm lượng các kim loại nặng trong lá diếp cá lần lượt là Cu 7,5423 mg/kg; Pb 0,8458 mg/kg; Zn 15,2580 mg/kg và As 0,1950 mg/kg. Kết quả này nằm trong giới hạn cho phép theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm.

Dịch chiết chloroform từ lá diếp cá thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt với IC₅₀ là 18,38 μ g/mL.

Bằng phương pháp GC-MS đã định danh được có 27 cấu tử trong cao chiết n-hexane, 28 cấu tử trong cao chiết chloroform, 12 cấu tử trong cao chiết ethyl acetate, 9 cấu tử trong cao chiết methanol, trong đó có nhiều cấu tử có hoạt tính sinh học cao như beta-myrcene, cis-ocimene; L-menthol; geraniol; gamma-selinene; nerolidol; spathulenol; caryophyllene oxide; germacrane-A; phytol.

Từ cao chiết chloroform, bằng các phương pháp sắc ký cột silicagel, kết hợp với sắc ký bản mỏng và các phương pháp phổ NMR, DEPT, HMBC, HSQC, đã phân lập và xác định cấu trúc của chất sạch aristolactam BII.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Võ Văn Chi (2004), *Từ điển thực vật thông dụng*, tập 2, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 1386-1387.
- [2] *Sách tra cứu tên cây cỏ Việt Nam*, NXB Giáo dục.
- [3] *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập 1, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr. 672-673.
- [4] Hoàng Thanh Hương, Trần Quỳnh Hoa, Hà Việt Bảo, Nguyễn Danh Thục (2002), "Góp phần nghiên cứu thành phần flavonoid chiết xuất từ lá cây Diếp cá-Houttuynia cordata Thunb. của Việt Nam", Tạp chí Dược học, (9), 13-15.
- [5] Trần Thị Việt Hoa, Lê Thị Kim Oanh, "Phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ cây Diếp cá (Houttuynia cordata Thunb) của Việt Nam", Tạp chí Phát triển KH&CN, tập 11, số 07, (2008).
- [6] Cho E. J., Yokozawa T., Rhyu D. Y., Kim S. C., Shibahara N., and Park J. C. (2003), "Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical", Phytomedicine, 10 (6-7), 544-551.
- [7] Cho E. J., Yokozawa T., Rhyu D. Y., Kim H. Y., Shibahara N., Park J. C. (2003), "The inhibitory effects of 12 medicinal plants and their component compound on lipid peroxidation", Am. J. Chin. Med., 31 (6), 907-917.
- [8] Ng LT, Yen FL, Liao CW, Lin CC (2007), "Protective effect of Houttuynia cordata extract on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats", Am J Chin Med, 35(3), 465-75.
- [9] Kim S. K., Ryu S. Y., No J., Choi S. U., Kim Y. S. (2001), "Cytotoxic alkaloids from Houttuynia cordata", Arch. Pharm. Res., 24 (6), 518-521.
- [10] E. Iqbal, L.B.L. Lim, K.A. Salim, S. Faizi, A. Ahmed, A.J. Mohamed, "Isolation and characterization of Aristolactam alkaloids from the stem bark of Goniothalamus velutinus (Airy Shaw) and their Biological activities", Journal of King Saud University - Science (2017).
- [11] Yuvaraj P, Subramoniam A, Louis T, Madhavachandran V, Narasu M.L. "Attenuation of expression of cytokines, oxidative stress and inflammation by hepatoprotective phenolic acids from Thespesia populnea Soland ex Correa stem bark", Annals of Phytomedicine. 2013, 2, pp.47-56.
- [12] Ch MI., Wen YF., Cheng Y. (2007), "Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of the essential oil of Houttuynia cordata Thunb by using on-column methylation with tetramethylammonium acetate", J AOAC Int., 90 (1), 60-67.
- [13] Souza, M. C., et al., "Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two Asteraceae species", Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences 58.8 (2003): 582-586.
- [14] Gour N, Wills-Karp M (2015), "IL-4 and IL-13 signaling in allergic

- airway disease", Cytokine. 75 (1): 68-78.
- [15] Kim JH1, Lee HJ, Jeong SJ, Lee MH, Kim SH, "Essential oil of *Pinus koraiensis* leaves exerts antihyperlipidemic effects via up-regulation of low-density lipoprotein receptor and inhibition of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase", *Phytother Res.* 2012 Sep; 26(9):1314-9.
- [16] Jesudoss Victor Antony Santiago, Jayaraman Jayachitra, Madhavan Shenbagam, Namasivayam Nalini, "D-limonene attenuates blood pressure and improves the lipid and antioxidant status in high fat diet and L-NAME treated rats". Jesudoss Victor Antony Santiago et al / *J. Pharm. Sci. & Res.* Vol.2 (11), 2010,752-758.
- [17] McKay DL1, Blumberg JB, "A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.)", *Phytother Res.* 2006 Aug; 20(8):619-33.
- [18] Weng-Keong Chan, Loh Teng-Hern Tan, Kok-Gan Chan, Learn-Han Lee, and Bey-Hing Goh, "Nerolidol: A Sesquiterpene Alcohol with Multi-Faceted Pharmacological and Biological Activities", *Molecules* 21(5):529 April 2016.
- [19] Kamilla Felipe do Nascimento, Flora Moreira, Joyce Alencar Santos, Candida Aparecida Leite Kassuya, "Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol", *Journal of Ethnopharmacology*, S0378-8741(17)31747-6.
- [20] Suresh L, Veerabah RM, Gnanasingh SR (2010), "GC-MS analysis of ethanolic extract of *Zanthoxylum rhetsa* (roxb.)", *dc spines. J. Herbal Med. Toxicol.* 4:191-192.
- [21] YeonWoo Song and Somi Kim Cho, "Phytol Induces Apoptosis and ROS-Mediated Protective Autophagy in Human Gastric Adenocarcinoma AGS Cells", *Biochem Anal Biochem* 2015, 4:4.
- [22] Josué de Moraes, Rosimeire N. de Oliveira, Jéssica P. Costa, "Phytol, a Diterpene Alcohol from Chlorophyll, as a Drug against Neglected Tropical Disease *Schistosomiasis Mansonii*", *PLoS Negl Trop Dis.* 2014 Jan; 8(1): e2617.
- [23] Erum Iqbal, Linda B.L. Lim, Kamariah Abu Salim, Shaheen Faizi, Ayaz Ahmed, Abddalla Jama Mohamed, "Isolation and characterization of Aristolactam alkaloids from the stem bark of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) and their Biological activities", S1018-3647(16)30604-8.
- [24] Kim SR1, Sung SH, Kang SY, Koo KA, Kim SH, Ma CJ, Lee HS, Park MJ, Kim YC, "Aristolactam BII of *Saururus chinensis* attenuates glutamate-induced neurotoxicity in rat cortical cultures probably by inhibiting nitric oxide production", *Planta Med.* 2004 May; 70(5):391-6.

(BBT nhận bài: 30/1/2019, hoàn tất thủ tục phản biện: 20/4/2019)