

**THÀNH PHẦN FLAVONOIT TỪ CÂY CỎ LÀO *CHROMOLAENA ODORATA*
(L.) KING & ROBISON (ASTERACEAE)
FLAVONOID CONSTITUENTS FROM *CHROMOLAENA ODORATA*
(L.) KING & ROB ISON (ASTERACEAE)**

**Châu Văn Minh¹, Nguyễn Tiến Đạt¹, Nguyễn Hải Đăng
Phan Văn Kiệt¹, Alessandra Braca²**

¹Viện Hoá học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Khoa Sinh hóa và Dược, trường Đại học Pisa, Italia

TÓM TẮT

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, một dẫn xuất flavon mới 6,7-dihydroxy-5,4'-dimetoxylavanon (1), và 6 flavonoid đã biết khác là 5,7-dihydroxy-4'-metoxylavanon (2), 3,5,7-trihydroxy-4'-metoxyflavon (3), 5,7-dihydroxy-4'-metoxyflavon (4), 5-hydroxy-4',6,7-trimethoxyflavon (5), 3,5-dihydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavon (6), 3,5, 4'-trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavon (7) đã được phân lập từ dịch chiết metanol lá cây cỏ Lào. Cấu trúc của chúng được xác định bằng các phổ FAB-MS, HR-FAB-MS và các phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR.

ABSTRACT

By combination of various chromatography methods, a new flavanon derivative 6,7-dihydroxy-5,4'-dimethoxyflavanon (1), and six known flavonoids 5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavanon (2), 3,5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavon (3), 5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavon (4), 5-hydroxy-4',6,7-trimethoxyflavon (5), 3,5-dihydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavon (6), 3,5, 4'-trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavon (7) were isolated from the methanolic extract of the leaves of *Chromolaena odorata* (L.) King & Robison. Their structures were elucidated from the combination of FAB-MS, HR-FAB-MS and NMR spectra.

I. MỞ ĐẦU

Cỏ Lào có tên khoa học là *Chromolaena odorata* (L.) King & Robison (Asteraceae) là cây thảo, mọc hoang ở các tỉnh đồng bằng, trung du và vùng núi thấp ở miền Bắc nước ta. Những nghiên cứu cho thấy cỏ Lào chứa tinh dầu, tanin, flavonoid, coumarin và alcaloit. Các hợp chất đã được phân lập từ cây cỏ Lào của Việt Nam bao gồm odoratin, 2',4-dihydroxy-4',5',6'-trimethoxyflavanon, anisic acid, isosakuranetin, tamarixetin, salvigerin, 7-methylisocuranetin, 4',5-dihydroxy-3',7-dimethylflavon và epoxylupeol [1]. Kết quả nghiên cứu tác dụng dược lý cho thấy dịch chiết cồn của lá cỏ Lào có tác dụng chống co thắt cơ trơn gây bởi histamin và acetylcholin, có tác dụng cầm máu và làm liền sẹo nhanh. Đặc biệt các nghiên cứu trên lâm sàng cho thấy cỏ Lào có tác dụng rất tốt trong điều trị vết thương phần

mền nhiễm khuẩn. Dịch nước ép cỏ Lào còn có tác dụng sát trùng tốt và được dùng để băng bó vết thương và trị nhiễm khuẩn [1]. Trong chương trình sàng lọc tìm kiếm các hoạt chất sinh học từ thiên nhiên có tác dụng kháng yếu tố nhân NF-κB hoạt hoá, dịch chiết MeOH cỏ Lào đã thể hiện hoạt tính cao. Bài báo này thông báo quá trình phân lập, xác định cấu trúc hoá học của 7 flavonoid được phân lập từ dịch chiết methanol của cỏ Lào, đó là 6,7-dihydroxy-5,4'-dimethoxyflavanon (1), 5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavanon (2), 3,5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavon (3), 5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavon (4), 5-hydroxy-4',6,7-trimethoxyflavon (5), 3,5-dihydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavon (6) và 3,5, 4'-trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavon (7), trong đó có hợp chất 6,7-dihydroxy-5,4'-dimethoxyflavanon được phân lập lần đầu tiên từ thiên nhiên.

II. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mẫu thực vật

Cây cỏ lào được thu hái vào tháng 11 năm 2005 tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc. Mẫu cây được TS. Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định.

2. Phương pháp phân lập các hợp chất

Sắc ký lớp mỏng (TLC)

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP₁₈ F_{254s} (Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 368 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng trên bếp điện từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột (CC)

Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là Silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh). Silica gel pha đảo ODS hoặc YMC (30-50 μ m, FujiSilica Chemical Ltd.).

3. Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất

Phổ khối lượng

Phổ khối lượng FAB-MS và HR FAB-MS đo trên máy JEOL JMS-DX 300 spectrometer của Viện KRIBB Hàn Quốc.

Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR)

Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): ¹H-NMR (400 MHz) và ¹³C-NMR (100 MHz) được đo trên máy Bruker AM400 FT-NMR Spectrometer; ¹H-NMR (600 MHz) và ¹³C-NMR (150 MHz) được đo trên máy Bruker AM600 FT-NMR Spectrometer của Viện KRIBB Hàn Quốc.

4. Tách chiết các hợp chất

Cây cỏ lào (5kg) được phơi khô, nghiền nhỏ thành bột, sau đó chiết với methanol thu được 80 gam dịch cô methanol. Dịch cô này được hoà tan vào nước cất sau đó được chiết lần lượt bằng hexan, chloroform, ethyl acetate, n-butanol. Dịch chiết ethyl acetate

được cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 35 gam dịch cô. Dịch cô ethyl acetate này được phân lập bằng sắc ký cột lập lại trên silica gel pha thường và pha đảo thu được các hợp chất 1 (25 mg), 2 (287 mg), 3 (208 mg), 4 (27,7 mg), 5 (33,7 mg), 6 (344 mg) và 7 (329 mg) đều là các chất kết tinh có màu vàng nhạt.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

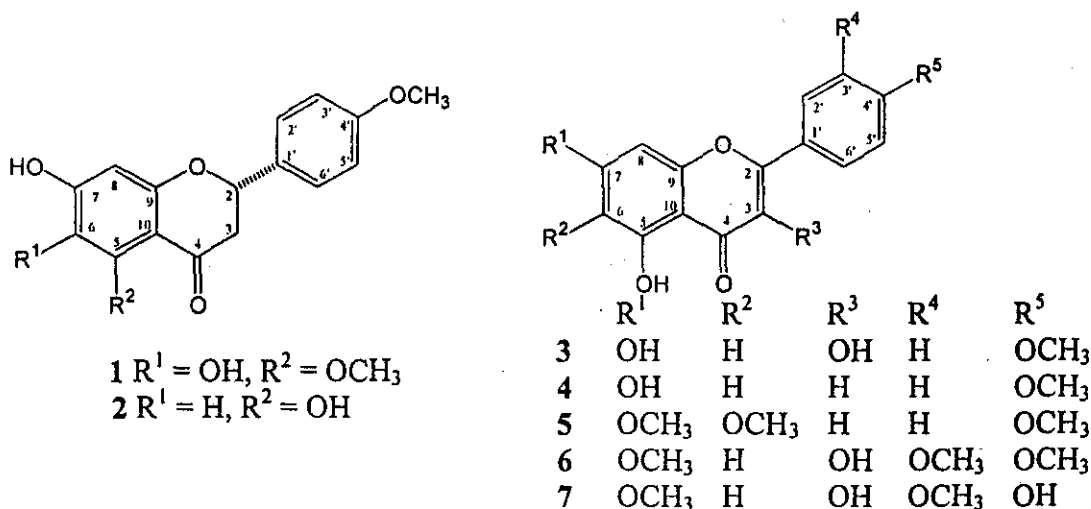
Các hợp chất 1-7 đều nhận được từ dịch chiết ethyl acetate dưới dạng chất kết tinh tinh thể hình kim có màu vàng nhạt cho thấy chúng là các hợp chất flavon.

Phổ ¹H-NMR của 1 xuất hiện hai tín hiệu doublet kộp tại δ 7.30 (2H) và 6.81 (2H) với hằng số tương tác $J = 8,0$ và $2,0$ Hz. Điều này gợi ý rằng vòng B có nhóm thế para. Trên phổ này còn xuất hiện tín hiệu singlet tại δ 6,40 của một proton vòng thơm chứng tỏ các vị trí tại vòng A đã có thêm 3 nhóm thế. Các tín hiệu tại δ 5,28 (1H, dd, $J = 13,2, 2,8$ Hz), 2,63 (1H, dd, $J = 16,8, 2,8$ Hz) và 3,00 (1H, dd, $J = 16,8, 13,2$ Hz) chứng tỏ rằng đây là hợp chất flavanon. Ngoài ra phổ ¹H-NMR còn có 2 tín hiệu singlet rất đặc trưng cho 2 nhóm metoxy tại δ 3,87 và 3,81. Sự vắng mặt của tín hiệu OH-5 (δ 11,0-12,5 ppm) cho thấy vị trí C-5 không phải là nhóm hydroxy mà là nhóm metoxy [2].

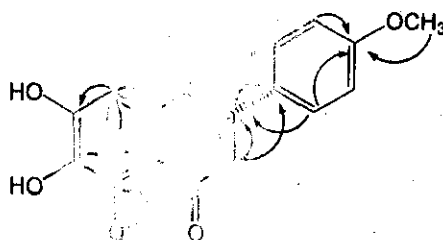
Phổ ¹³C-NMR của 1 xuất hiện tín hiệu của 17 cacbon bao gồm 1 nhóm CH₂, 6 nhóm CH (trong đó có hai cặp nhóm CH chập vào nhau do vòng B thế para), 8 C bậc bốn và 2 nhóm metoxy (δ 56,5 và 61,3). Tín hiệu tại δ 189,7 của nhóm carbonyl hoàn toàn phù hợp với hợp chất flavanon [2]. Để có thể khẳng định vị trí của các nhóm thế và cấu trúc toàn bộ phân tử, các phổ HMQC và HMBC đã được thực hiện. Các tương tác chủ yếu được nêu ra trên hình 2. Tương tác HMBC của H-8 (δ 6,40) với các cacbon C-9 (δ 147,5) và với C-10 (109,7) chứng tỏ vị trí C-8 của cacbon methine. Tương tác HMBC của proton metoxy tại δ 3,87 với C-4' (δ 158,5) và tương tác HMBC của H-2' (δ 7,30) với C-4' (158,5) đã xác định

được một nhóm metoxy tại C-4'. Với việc xác định được các vị trí 4'-OCH₃, 5-OCH₃ thì hợp chất 1 được xác định là 6,7-dihydroxy-5,4'-dimetoxyflavanon và có công thức cộng C₁₇H₁₆O₆. Công thức này còn được chứng minh bằng phổ FAB-MS (positive) với sự xuất hiện pic ion *m/z* 317,1. Kết quả phổ khối phân giải cao (HRFAB-MS) cho pic ion *m/z* 317,1022 (C₁₇H₁₇O₆), phù hợp hoàn toàn với kết quả phân tích nguyên tố (C₁₇H₁₇O₆: 317,1025).

Ngoài ra, sự phù hợp về giá trị hằng số tương tác cũng như độ dịch chuyển hoá học của các proton H-2 và H-3 của hợp chất 1 với isosakuranetin [3] chứng tỏ cấu hình α-H tại C-2 (2*R*). Từ các kết quả nêu trên, cấu trúc của hợp chất 1 được khẳng định là 6,7-dihydroxy-5,4'-dimetoxyflavanon, đây là chất mới được phân lập lần đầu từ thiên nhiên.



Hình 1. Cấu trúc hoá học của các hợp chất 1-7



Hình 2. Một số tương tác chính trên phổ HMBC của 1

Các hợp chất 2-7 được xác định lần lượt là 5,7-dihydroxy-4'-metoxyflavanon (2) [3], 3,5,7-trihydroxy-4'-metoxyflavanon (3) [2], 5,7-dihydroxy-4'-metoxyflavanon (4) [2, 4], 5-hydroxy-4',6,7-trimetoxylflavanon (5) [5], 3,5-dihydroxy-7,3',4'-trimetoxylflavanon (6) [2] và 3,5, 4'-trihydroxy-7,3'-dimetoxylflavanon (7) [4] bằng sự so sánh các giá trị phổ NMR của chúng với các giá trị phổ tương ứng đã được công bố.

6,7-Dihydroxy-5,4'-dimetoxylflavanon (1).

FAB-MS *m/z*: 317,1 [M+H]⁺

HRFAB-MS *m/z*: 317.1022 (phân tích nguyên tố: 317,1025 C₁₇H₁₇O₆)

¹H-NMR (400MHz, acetone-d₆) δ (ppm): 5,28 (1H, dd, J = 13,2, 2,8 Hz, H-2), 2,63 (1H, dd, J = 16,8, 2,8 Hz, H_a-3), 3,00 (dd, J = 16,8, 13,2 Hz, H_b-3), 6,40 (1H, s, H-8), 7,30 (2H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz, H-2', H-6'), 6,81 (2H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz, H-3', H-5'), 3,81 (3H, s, 5-OCH₃), 3,87 (3H, s, 4'-OCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, acetone- d_6) δ (ppm): 80,0 (d, C-2), 46,2 (t, C-3), 189,7 (s, C-4), 155,4 (s, C-5), 135,6 (s, C-6), 157,7 (s, C-7), 97,1 (d, C-8), 147,5 (s, C-9), 109,7 (s, C-10), 131,4 (s, C-1'), 128,9 (d, C-2', C-6'), 116,1 (d, C-3', C-5'), 158,5 (s, C-4'), 61,3 (q, 5-OCH₃) và 56,5 (q, 4'-OCH₃).

5,7-Dihydroxy-4'-metoxyflavanon (2)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CD₃OD- d_6) δ (ppm): 5,33 (1H, dd, J = 13,0, 2,8 Hz, H-2), 2,63 (1H, dd, J = 16,8, 2,8 Hz, Ha-3), 3,06 (dd, J = 16,8, 13,0 Hz, Hb-3), 5,88 và 5,89 (2H, d, J = 2,0 Hz, H-6 và H-8), 7,37 (2H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz, H-2' và H-6'), 6,92 (2H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz, H-3' và H-5'), 3,78 (3H, s, 4'-OCH₃), 12,00 (5-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CD₃OD- d_6) δ (ppm): 80,33 (d, C-2), 44,08 (t, C-3), 197,72 (s, C-4), 165,54 (s, C-5), 97,25 (d, C-6), 168,46 (s, C-7), 96,36 (d, C-8), 164,88 (s, C-9), 103,48 (s, C-10), 132,38 (s, C-1'), 129,04 (d, C-2', C-6'), 115,12 (d, C-3', C-5'), 161,50 (s, C-6'), 55,88 (4'-OCH₃).

3,5,7-Trihydroxy-4'-metoxyflavon (3)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 6,45 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6), 6,19 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-8), 8,11 (2H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz, H-2', H-6'), 7,10 (2H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz, H-3', H-5'), 3,84 (3H, s, 4'-OCH₃), 12,9 (1H, br s, 5-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 146,3 (s, C-2), 136,1 (s, C-3), 176,1 (s, C-4), 160,5 (s, C-5), 98,3 (d, C-6), 164,0 (s, C-7), 93,6 (d, C-8), 156,3 (s, C-9), 103,2 (s, C-10), 123,3 (s, C-1'), 129,4 (d, C-2', C-

6'), 114,1 (d, C-3', C-5'), 160,5 (s, C-4'), 55,4 (q, 4'-OCH₃).

5,7-Dihydroxy-4'-metoxyflavon (4)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 6,81 (1H, s, H-3), 6,48 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6), 6,18 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-8), 7,98 (2H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz, H-2', H-6'), 7,07 (2H, dd, J = 8,0, 2,0 Hz, H-3', H-5'), 3,84 (3H, s, 4'-OCH₃), 12,9 (1H, br s, 5-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 163,3 (s, C-2), 103,5 (d, C-3), 181,8 (s, C-4), 161,5 (s, C-5), 98,9 (d, C-6), 164,2 (s, C-7), 94,1 (d, C-8), 157,3 (s, C-9), 103,8 (s, C-10), 122,8 (s, C-1'), 128,3 (d, C-2', C-6'), 114,6 (d, C-3', C-5'), 55,6 (4'-OCH₃).

5-Hydroxy-4',6,7-trimethoxyflavon (5)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6,51 (1H, s, H-3), 6,54 (s, H-8), 7,81 (2H, dd, J = 7,9, 2,0 Hz, H-2', H-6'), 7,00 (2H, dd, J = 7,9, 2,0 Hz, H-3', H-5').

$^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CDCl₃) δ (ppm): 163,91 (s, C-2), 103,96 (d, C-3), 182,57 (s, C-4), 153,12 (s, C-5), 132,51 (s, C-6), 158,63 (s, C-7), 90,49 (d, C-8), 152,94 (s, C-9), 106,01 (s, C-10), 123,39 (s, C-1'), 127,89 (d, C-2', C-6'), 114,42 (d, C-3', C-5'), 162,53 (s, C-4'), 56,23 (OCH₃), 55,47 (OCH₃), 60,77 (OCH₃).

3,5-Dihydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavon (6)

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 6,74 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6), 6,32 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-8), 7,83 (1H, J = 2,0 Hz, H-2'), 9,31 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-5'), 7,11 (1H, dd,

$J = 8,0, 2,0$ Hz, H-6'), 3,85 (6H, 2 x OCH₃), 3,87 (3H, OCH₃), 12,41 (1H, br s, 5-OH).

¹³C-NMR (125MHz, DMSO) δ (ppm): 146,2 (s, C-2), 136,5 (s, C-3), 176,1 (s, C-4), 160,4 (s, C-5), 97,5 (d, C-6), 165,0 (s, C-7), 91,9 (d, C-8), 156,1 (s, C-9), 104,1 (s, C-10), 123,4 (s, C-1'), 111,7 (d, C-2'), 146,8 (s, C-3'), 149,5 (s, C-4'), 114,8 (d, C-5'), 119,9 (d, C-6'), 56,0 (OCH₃), 55,7 (OCH₃), 55,6 (OCH₃).

3,5, 4'-Trihydroxy-7,3'-dimetoxyflavon (7)

¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 6,68 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 6,31 (1H, d,

$J = 2,0$ Hz, H-8), 7,65 (1H, d, 2,0 Hz, H-2'), 7,06 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-5'), 7,70 (1H, dd, $J = 8,0, 2,0$ Hz, H-6'), 3,84 (6H, 2 x OCH₃).

¹³C-NMR (125MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 146,23 (s, C-2), 136,47 (s, C-3), 176,09 (s, C-4), 160,41 (s, C-5), 97,50 (d, C-6), 165,00 (s, C-7), 91,93 (d, C-8), 156,15 (s, C-9), 104,07 (s, C-10), 123,37 (s, C-1'),

114,78 (d, C-2'), 146,78 (s, C-3'), 149,49 (s, C-4'), 111,77 (d, C-5'), 119,87 (d, C-6'), 56,04 (OCH₃), 55,66 (OCH₃).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1 Đỗ Huy Bích và cộng sự, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập II, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2003.
- 2 P. K. Agrawal, Carbon-13 NMR of flavonoids, Elsevier Science Publishers B. V., p. 127, 132, 154-155 (1989).
- 3 Joao M. J. Vasconcelos, Artur M. S. Silva and Jose A. S. Cavaleiro, Chromones and flavanons from *Artemisia campestris* SUBSP. Maritima, Phytochemistry, Vol. 49(5), 1421-1424 (1998).
- 4 H. Wagner, V. M. Chari and J. Sonnenbichler, Tetrahedron Letters, 1799 (1976)
- 5 Binayak Das and Ajit K. Chakravarty, Three flavon glycosides from *Gelonium multiflorum*, Phytochemistry, Vol. 33 (2), 493-496 (1993).