

ĐÓNG GÓP VÀO VIỆC NGHIÊN CỨU HOÁ THỰC VẬT CÂY CHÈ ĐẮNG (*ILEX KAUSHUE* S.Y.HU (AQUIFOLIACEAE))

Nguyễn Văn Đậu, Lê Ngọc Thức

Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Tóm tắt: Chè đắng (*Ilex kaushue* S.Y.Hu, họ Trâm bụi, Aquifoliaceae) được dùng làm nước uống phổ biến ở Trung Quốc và Việt Nam. Mặc dù nó được biết có tác dụng chữa nhiều bệnh thông thường nhưng các thông tin về hoạt tính sinh học của cây này rất hạn chế. Nghiên cứu này được tiến hành để nhận dạng các chất chống oxi hóa, kết quả phân lập được hai chất là quercetin và axit dihydrocafeic từ lá chè đắng Cao Bằng. Các chất này được biết có tính kháng khuẩn, có tác dụng chống oxi hóa và khả năng loại gốc tự do...

Cấu trúc của các chất phân lập đã được làm sáng tỏ trên cơ sở của các phương pháp phổ và cũng như so sánh với mẫu chuẩn. Sự khảo sát hóa học sơ bộ này đã xác nhận tính đa dụng của cây chè đắng, đặc biệt trong phòng chống bệnh tật.

1. Giới thiệu

Cây chè đắng, tên địa phương là Ché khôm, Khổ đình trà, có tên khoa học *Ilex kaushue* S.Y.Hu, thuộc họ Trâm bụi (Aquifoliaceae). Cây được trồng chủ yếu ở Lào Cai, Cao Bằng, Ninh Bình,...Loài này cũng phân bố ở Trung Quốc (Hồ Bắc, Hồ Nam, Vân Nam, Quảng Tây,...).[1, 2]

Theo tài liệu của Trung Quốc đây là một sản phẩm quý lưỡng dụng (vừa làm chè uống vừa làm thuốc), có tác dụng điều hoà huyết áp, giảm béo, giảm đau, hạn chế vi khuẩn, giúp tiêu hóa tốt, chữa mụn nhọt mãn ngứa, chống lão hoá, trợ tim,...[2, 3, 4]

Về mặt hóa học, cho đến nay chưa có một công trình nghiên cứu đầy đủ nào về thành phần hoá học của cây này. Người ta phát hiện có 5 nhóm chất chủ yếu trong lá chè đắng là saponin tritecpen (khoảng 5,1-5,5% tính theo khối lượng khô tuyệt đối của lá), flavonoid (khoảng 0,5-0,6%), polisaccarit (khoảng 2,8-3,4%), carotenoit (khoảng 0,5-0,58%) và axit hữu cơ [5, 6].

Do có nhiều tác dụng chữa bệnh quý giá, việc sử dụng chè đắng làm nước uống hàng ngày đang trở nên phổ biến. Với định hướng nghiên cứu các hợp chất poliphenol có hoạt tính chống ôxi hoá và kháng khuẩn, trong bài báo này chúng tôi thông báo việc lần đầu tiên phân lập và nhận dạng quercetin và axit dihydrocafeic từ lá chè đắng có nguồn gốc từ Cao Bằng.

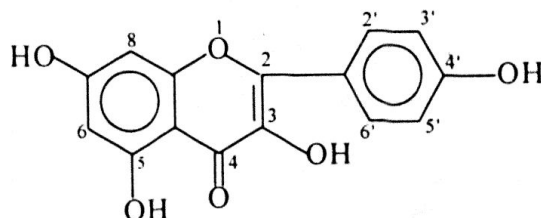
2. Kết quả và thảo luận

Phân tích sắc kí lớp mỏng phân chiết etylaxetat và phát hiện các vết chất nhờ dung dịch 3% FeCl₃ kết hợp với 5% vanilin/H₂SO₄ cho thấy cặn này có mặt nhiều các

flavonoit và các hợp chất poliphenol. Do vậy, phần chiết etyl axetat được dùng để phân tách các hoạt chất.

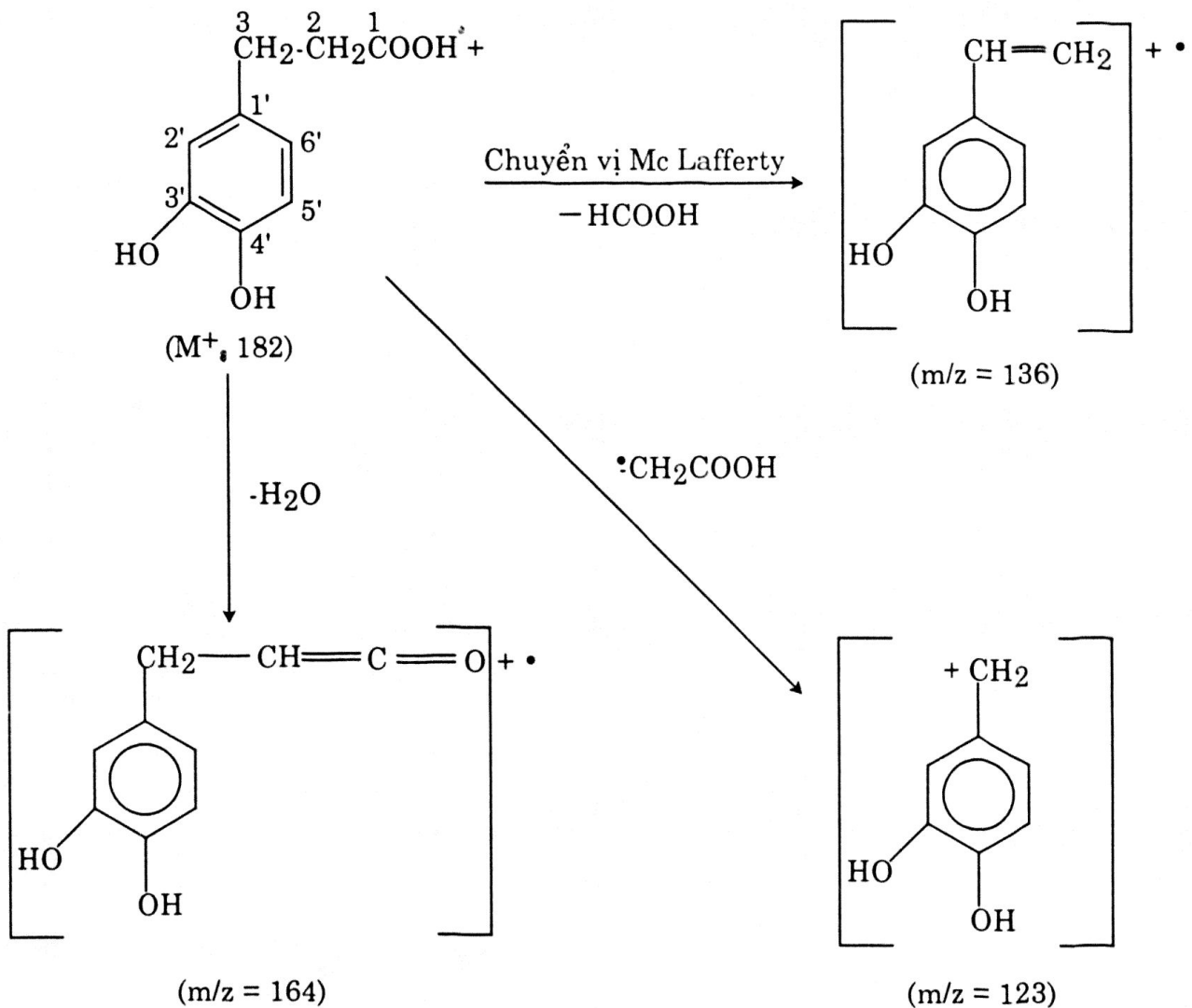
Sự phân tách được tiến hành trên thiết bị trung áp BACKSTROM SEPARATO AB, chất hấp phụ silica gel, rửa giải với hỗn hợp clorofom-axeton (tăng dần tỉ lệ axeton từ 0 đến 100%). Thu được 6 nhóm phân đoạn, kí hiệu E₀₁ đến E₀₆. Phân đoạn E₀₃ được tinh chế tiếp bằng sắc kí cột cho một chất kết tinh, kí hiệu E₁. Tương tự, từ phân đoạn E₀₄ đã cho một chất tinh khiết, kí hiệu E₂.

Chất E₁ cho màu vàng sáng với dung dịch 5%vanillin/H₂SO₄, và màu xanh sẫm với dung dịch 3% FeCl₃. Phổ hồng ngoại của nó (cm⁻¹) cho các dải đặc trưng của nhóm OH (3305), CH- vòng thơm (2923, 2850, 821), C=O (1672), C=C vòng thơm (1606, 1525, 1451) và C-O-C (1207, 1264). Như vậy, có thể kết luận sơ bộ E₁ là một flavonoit. So sánh phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H- và ¹³C-NMR) của E₁ với các phổ tương ứng của quercetin, cũng như so sánh R_f với mẫu quercetin chuẩn trong cùng một điều kiện sắc kí lớp mỏng đã đưa đến kết luận rằng chất E₁ là **quercetin**. Quercetin là một flavoinoit phân bố rộng rãi trong thực vật, có khả năng loại gốc tự do, có tính kháng viêm, tác dụng lên tim mạch và nhiều hoạt tính quan trọng khác.



Chất E₂ kết tinh hình phiến, màu trắng. Phổ hồng ngoại (cm⁻¹) của nó cho các dải đặc trưng của nhóm OH (3362), CH vòng thơm (3015, 821), C=O (1674), C=C vòng thơm (1607, 1528, 1446), C-O (1113) và C-C ankan (1359, 1290, 1219). Phổ cộng hưởng từ proton (¹H-NMR, δ, ppm) của E₂ cho thấy tín hiệu của 3 proton vòng thơm ở δ 6,73 (1H, d, J=2,0 Hz, H-2'); 6,72 và 6,71 (1H, dd, J=2,0 Hz và J=8,0 Hz, H-6'); 5,56 (1H, d, J=8,0 Hz, H-5'), tương tự như trong phổ của axit cafeic. Tuy nhiên, trong phổ của chất E₂, vắng mặt các tín hiệu của hai proton vinylic H-2 (ở khoảng δ 7,40 (d, J=16,0 Hz) và H-3 (ở khoảng δ 6,16 (d, J=16,0 Hz), nhưng lại có thêm tín hiệu của 4 proton nhóm etylen, -CH₂CH₂ ở δ 2,75 (2H, t, J=7,7Hz, H-3) và 2,53 (2H, t, J=7,7Hz, H-2).

Điều này cho phép kết luận rằng chất E₂ là axit 3-(3',4'-đihydroxyphenyl) propionic hay **axit dihidrocafeic**.



Cấu trúc này phù hợp với các mảnh phân rã quan sát thấy trong phổ khối lượng (EI-MS): ion phân tử, m/z M^+ (182) và các mảnh 164 $[M-\text{H}_2\text{O}]^+$, 136 $[M-\text{HCOOH}]^+$, 123 $[M-\text{CH}_2\text{COOH}]^+$... (xem Sơ đồ phân mảnh).

3. Thực nghiệm

Thiết bị và phương pháp

- Điểm nóng chảy được đo trên máy HMK 70/3159.
- Phổ hồng ngoại được ghi trên máy FT-IR Impact-410; phổ khối lượng (EI-MS) được ghi trên máy HP 5989B MS và phổ NMR được đo trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS là chất nội chuẩn.
- Sắc kí lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC 60 F₂₅₄ (Merck); sắc kí cột sử dụng silica gel cỡ hạt 63-100 μm (Merck).

Qui trình chiết

Bột lá chè đắng (450 g) được chiết theo qui trình chung với etanol 96^o, sau đó được phân bố lần lượt với ete dầu hoả và với etyl axetat thu được các cặn chiết **ete dầu hoả** (chiếm 14,44% tính theo lượng nguyên liệu khô) và cặn chiết **etyl axetat** (chiếm 2,22% tính theo lượng nguyên liệu khô).

Phân tách cặn chiết etyl axetat

Cặn chiết **etylaxetat** đã được phân tách trên thiết bị trung áp BACKSTROM SEPARATO AB, chất hấp phụ silica gel, rửa giải với hỗn hợp clorofom-axeton (tăng dần tỉ lệ axeton từ 0 đến 100%). Thu được 6 nhóm phân đoạn, kí hiệu E₀₁ đến E₀₆. Phân đoạn E₀₃ được tinh chế tiếp bằng sắc lí cột thường, rửa giải với hỗn hợp clorofom-axeton, đã thu được một chất kết tinh (từ clorofom-metanol), kí hiệu E₁. Tương tự, sắc kí cột phân đoạn E₀₄ đã cho một chất tinh khiết, kí hiệu E₂.

Chất E₁

Tinh thể kim màu vàng nhạt, đnc. 315-316^oC; R_f 0,72 (toluen-axeton, 4:6, v/v), cho màu vàng sáng với dung dịch 5%vanillin/H₂SO₄, và màu xanh sẫm với dung dịch 3% FeCl₃.

Phổ hồng ngoại (KBr, v_{max}, cm⁻¹): 3305; 2923, 2850, 821; 1672; 1606, 1525, 1451) và C-O-C (1207, 1264).

Phổ cộng hưởng từ proton (¹H-NMR, Me₂CO-d₆) (δ, ppm): 6.20 (1H,d, J=2.0 Hz, H-6); 6.50 (1H, d, J=2.0 Hz, H-8); 7.80 (1H, d, J= 2.0 Hz, H-2'); 7.00 (1H, d, J= 2.0 Hz, H-5'); 7.70 (1H, dd, J=2.0 và 8.3 Hz, H-6')

Phổ cộng hưởng từ cacbon¹³ (¹³C-NMR, Me₂CO-d₆) (δ, ppm): 146.0 (C-2); 135.6 (C-3); 176.5 (C-4); 161.0 (C-5); 98.2 (C-6); 165.0 (C-7); 93.5 (C-8); 152.6 (C-9); 103.0 (C-10); 122.0 (C-1'); 117.1 (C-2'); 140.0 (C-3'); 146.2 (C-4'); 115.6 (C-5'); 120.0 (C-6').

Chất E₂

Tinh thể hình phiến, màu trắng, đnc= 140-143^oC; R_f 0,70 (clorofom-axeton, 7:3, v/v), dưới ánh sáng tử ngoại có màu xanh sáng, cho màu xanh sẫm với dung dịch 3% FeCl₃.

Phổ hồng ngoại (KBr, v_{max}, cm⁻¹): 3362; 3015, 821; 1674; 1607, 1528, 1446; 1113; và 1359, 1290, 1219.

Phổ cộng hưởng từ proton (¹H-NMR, Me₂CO-d₆) (δ, ppm): 6,73 (1H, d, J=2,0 Hz, H-2'); 6,72 và 6,71 (1H, dd, J=2,0 Hz và J=8,0 Hz, H-6'); 5,56 (1H, d, J=8,0 Hz, H-5').

Phổ khối lượng (EI-MS), m/z: 182(M⁺), 164, 136, 123.

4. Kết luận

Từ lá chè đắng lần đầu tiên *quercetin* và *axit dihydrocafeic* đã được phân lập và nhận dạng thông qua khảo sát các phương pháp phổ IR, MS và NMR và so sánh với các tính chất vật lí của chúng. Kết quả ban đầu này cho thấy các hợp chất poliphenol luôn đóng góp một phần quan trọng vào hoạt tính của các cây thuốc, đặc biệt về tính kháng vi khuẩn, chữa mụn nhọt mẩn ngứa, chống lão hoá,...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam), *Danh mục các loài thực vật ở Việt Nam*, tập 2, NXB Nông nghiệp, 2003, 1342 tr.
2. Nguyễn Tiến Bản, Nguyễn Khắc Khôi, *Tạp chí Sinh học*, Vol. 21, No 1(1999), tr. 1-3.
3. Hoàng Quốc Lâm, *Tạp chí hoạt động Khoa học*, No 8(2002), tr.34-35.
4. Zhen-Yu-Chen, Ivan Yuen Fan Won, Magnolia Wing Shan Leung, Zhen-Dan He and Yu Huang, *J. of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50, No 26(2002), p. 7530-35.
5. Nông Văn Hải, Hoàng Thị Lệ, *Tạp chí Dược liệu*, Vol. 6, No 1(2001), tr.3-6.
6. Ivan Yuen Fan Won, Zhen-Dan He, Yu Huang and Zhen-Yu-Chen, *J. of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 49, No 6(2001), p.3113-19.

VNU. JOURNAL OF SCIENCE, Nat., Sci., & Tech., T.XXII, N_o1, 2006

CONTRIBUTION TO THE STUDY ON PHYTOCHEMISTRY OF BITTER TEA (*ILEX KAUSHUE* S.Y.HU (AQUIFOLIACEAE))

Nguyen Van Dau, Le Ngoc Thuc

Department of Chemistry, College of Science, VNU

Bitter tea (*Ilex kaushue* S.Y.Hu, Aquifoliaceae) is a popular beverage consumed in China and Vietnam. It is stated to treat many common diseases, but there are very limited data on the biological activities of bitter tea. The present study was carried out to characterize the antioxidants which led to isolation of two compounds quercetin and dihydrocaffeic acid, for the first time from the Cao Bang bitter tea. These compounds are known to possess anti-bacterial and anti-oxidative activities, radical scavenging ability,...

The structure of the isolated compounds was elucidated on the basis of spectroscopic methods and a comparison with the authentic samples as well. This preliminary chemical examination supported the medicinally versatile usage of bitter tea, specially in disease prevention.