

**NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP HỢP CHẤT HỮU CƠ TRONG CÂY RAU MÁ  
(*Centella asiatica* L. – Apiaceae) THU HÁI TẠI CẦN THƠ**

**Nguyễn Vinh<sup>1\*</sup>, Lê Thị Thủy Ngọc<sup>1</sup>, Đặng Cao Nguyên<sup>1</sup>,  
Thạch Trần Minh Uyên<sup>1</sup>, Dương Thị Trúc Ly<sup>1</sup>**

*Trường Đại học Y Dược Cần Thơ*

*\*Email: nguyenvinh2526@gmail.com*

**TÓM TẮT**

**Đặt vấn đề:** Rau má - *Centella asiatica* (L.), họ Apiaceae – là một loài rau phổ biến ở Việt Nam. Bài báo trình bày cách chiết xuất, phân lập, tinh chế, xác định cấu trúc hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất của Rau má thu hái tại Cần Thơ. **Mục tiêu nghiên cứu:** Phân lập và xác định được cấu trúc một hợp chất từ Rau má đã thu hái. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Phần trên mặt đất của Rau má thu hái tại Cần Thơ. Nguyên liệu được chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt với cồn 50%. Các chất trong dịch chiết cồn được hấp phụ vào than hoạt và giải hấp phụ bằng methanol. Cao methanol được tách thành các phân đoạn bằng sắc ký cột chân không. Thu chất tinh khiết từ phân đoạn bằng cách kết tinh lại. Cấu trúc chất này được xác định bằng cách so sánh thông tin về điểm chảy và dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR với các tài liệu chuyên ngành. **Kết quả:** Một chất tinh khiết đã được phân lập và xác định là acid palmitic. **Kết luận:** Kết quả góp phần vào việc so sánh thành phần hóa học của Rau má giữa các địa phương tạo cơ sở cho việc mở rộng phạm vi ứng dụng của Rau má tại Cần Thơ.

**Từ khóa:** *Centella asiatica* (L.) Urb, Apiaceae, Rau má, phân lập.

## ABSTRACT

**STUDY THE METHOD OF ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SOME ORGANIC COMPOUNDS PRESENTING IN CENTELLA ASIATICA L. – APIACEAE COLLECTED IN CAN THO**

*Nguyen Vinh<sup>1\*</sup>, Le Thi Thuy Ngoc<sup>1</sup>, Dang Cao Nguyen<sup>1</sup>,  
Thach Tran Minh Uyen<sup>1</sup>, Duong Thi Truc Ly*  
*Can Tho University of Medicine and Pharmacy*

**Background:** *Centella asiatica* (L.) Urb, Apiaceae, also known as asiatic pennywort, is a common plant in Viet Nam. This paper studies the extraction, isolation, refinement, structural identification and determination of some compounds in terrestrial part of *Centella asiatica* collected in Can Tho. **Objectives:** The result shows that at least one chemical compound presenting in *Centella asiatica* was isolated and determined the structure. **Materials and methods:** The terrestrial part of *Centella asiatica* was collected in Can Tho. The terrestrial part of *Centella asiatica* with suitable size is extracted by immersion with 50% ethanol. The extract is purified by adsorption on activated carbon then desorption through methanol. The methanol solution is fractioned by vacuum column chromatography. These fractions are further recrystallized for pure compounds. Chemical structures of the compounds are elucidated by NMR (<sup>1</sup>H-NMR). **Results:** From *Centella asiatica* (L.) Urb, one pure compound was isolated: palmitic acid (CA1). **Conclusion:** The obtained results are consistent with the research objectives. This result may contribute to the determination of the active components in asiatic pennywort and support further research in order to increase commercial value of asiatic pennywort.

**Keywords:** *Centella asiatica* (L.) Urb, Apiaceae, asiatic pennywort, isolation.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Với chiến lược phát triển của ngành Dược nước nhà, các chế phẩm đông dược hoặc sản phẩm có nguồn gốc dược liệu ngày càng được chú trọng nhiều hơn. Để sản xuất được sản phẩm chất lượng thì kiểm soát nguyên liệu đầu vào là một trong những yếu tố quan trọng hàng đầu, trong đó định tính và định lượng hoạt chất là một trong các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả sử dụng có được từ sản phẩm.

Ở nước ta, vùng trồng Rau má phân bố rất rộng từ Bắc vào Nam với diện tích đáng kể. Rau má có nhiều tác dụng như hỗ trợ làm lành vết thương, trị bệnh lao, ngăn ngừa bệnh tim mạch [1], tinh dầu Rau má ở Nam Phi còn có hoạt tính kháng khuẩn rộng đối với vi khuẩn Gram dương [7]. Mặt khác, Rau má có tác dụng sinh học là nhờ vào các triterpenoid, chủ yếu có các khung ursan hoặc khung oleanan [6], [10]. Ngoài ra, Rau má còn một số thành phần hóa học khác như: sesquiterpen [8], acid phenolic [2], các hợp chất flavonoid [2] và hợp chất polyacetylen [4]. Tuy nhiên, liệu thành phần hóa học cũng như hàm lượng hoạt chất có trong dược liệu Rau má được thu hái từ các địa phương khác nhau có hoàn toàn giống nhau và hiệu quả sử dụng có tương tự nhau. Câu hỏi này cho thấy nhu cầu có được thông tin về thành phần cũng như hàm lượng hoạt chất tương ứng với từng loại Rau má thu hái ở các địa phương khác nhau là một nhu cầu cần thiết trước khi tiến hành nghiên cứu hay sản xuất các sản phẩm từ loại dược liệu này. Vì vậy, đề tài “Nghiên cứu phân lập hợp chất hữu cơ trong cây Rau má (*Centella asiatica* L. - Apiaceae) thu hái tại Cần Thơ” đã được thực hiện với mục tiêu phân lập được một chất có trong Rau má đã thu hái và xác định được cấu trúc của chất phân lập được.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng

Nguyên liệu: Mẫu cây rau má *Centella asiatica* L. được thu hái tại Cần Thơ vào tháng 12 năm 2018 được định danh bởi bộ môn Sinh di truyền Trường Đại học Cần Thơ bằng phương pháp giải trình tự gen. Dược liệu được loại bỏ tạp, phơi khô, xay kích cỡ khoảng 3x3 mm trước khi chiết xuất.

### 2.2. Hóa chất và thiết bị

Ether dầu hỏa (PE), methanol, chloroform, thuốc thử vanilin-sulfuric (VS), than hoạt.

Thiết bị: Tủ sấy Memmert, bếp cách thủy Memmert, Cân kỹ thuật Kern ABJ-NM/ABS-N, máy cô quay chân không Heidolph, đèn UV 254 và 365 nm Camag, bể siêu âm Grant, cân phân tích âm hồng ngoại AND Model MX50, máy đo điểm chảy Stuart SMP3, máy đo cộng hưởng từ hạt nhân Bruker.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng nghiên cứu tại LBM Dược liệu – Dược cổ truyền – Thực vật dược, Khoa Dược, trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Chiết xuất và phân lập

Dược liệu được chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt với cồn 50%. Các chất trong dịch chiết cồn được cho hấp phụ vào than hoạt theo tỷ lệ 10 gam than hoạt cho 1 lít dịch chiết. Sau khi đậy kín và để yên trong 24 giờ, than hoạt được lọc và sấy khô ở 60°C. Sau đó, các chất có trong than hoạt được phản hấp phụ bằng methanol. Quá trình phản hấp phụ được thực hiện trên bếp cách thủy có nhiệt độ là 60°C với thời gian là 30 phút/lần, thực hiện 07 lần. Dịch methanol phản hấp phụ được cô bay hơi dung môi thu được cao đặc (cao M).

Cao M được tách thành các phân đoạn đơn giản bằng sắc ký cột chân không với pha tĩnh là silica gel 40 - 63 µm (Merck) với pha động lần lượt là ether dầu hỏa - chloroform (1:1), và ether dầu hỏa - chloroform (4:6) thu các phân đoạn. Các phân đoạn có thành phần đơn giản có thể tiến hành phân lập chất tinh khiết bằng phương pháp kết tinh lại.

#### 2.3.2. Xác định cấu trúc chất

Cấu trúc của chất phân lập được được xác định bằng cách so sánh thông tin về điểm chảy và dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR với các tài liệu chuyên ngành.

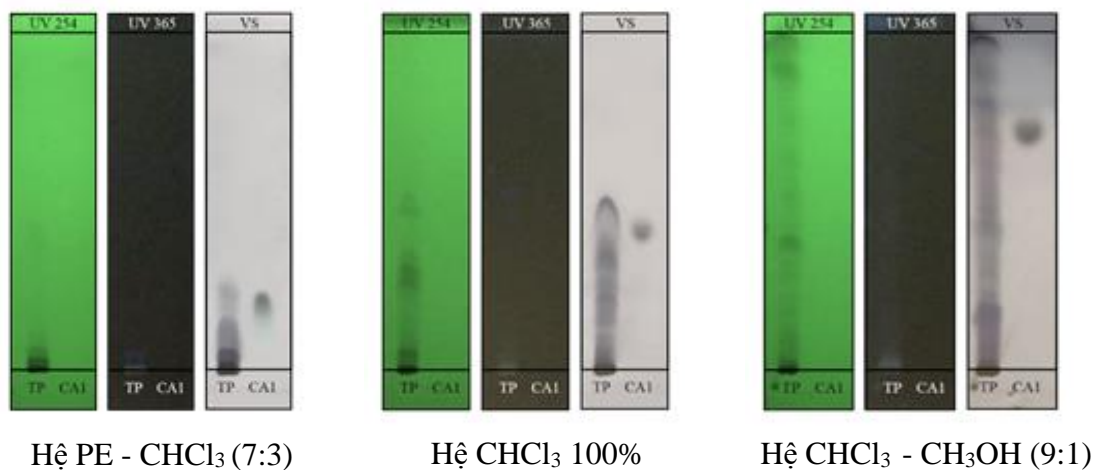
## III. KẾT QUẢ

### 3.1. Phân lập và tinh chế

Từ 3,2 kg Rau má khô chiết với cồn 50% bằng phương pháp ngâm kiệt thu được 25,71 lít dịch chiết đầu đậm đặc và 30 lít dịch chiết loãng. Xử lý dịch chiết cồn với than hoạt và phản hấp phụ bằng methanol. Dịch methanol được cô quay bay hơi dung môi thu được 67 gam cao (cao M). 50 gam cao M được nạp lên sắc ký cột chân không và triển khai lần lượt với hai hệ dung môi:

- Ether dầu hỏa – chloroform (1:1) thu được 24 phân đoạn từ A1 – A24.
- Ether dầu hỏa – chloroform (4:6) thu được 4 phân đoạn từ A25 – A28.

Phân đoạn A9 có khối lượng tương đối lớn và thành phần khá đơn giản nên được chọn để phân lập chất tinh khiết bằng phương pháp kết tinh và tinh chế bằng cách kết tinh lại. Kết quả từ phân đoạn này thu được 9 mg chất đặt tên là CA1. Chất này cho thấy sự tinh khiết trên sắc ký lớp mỏng khi kiểm tra qua 03 hệ dung môi dung môi có độ phân cực khác nhau.



Hình 1: Sắc ký đồ kiểm tra độ tinh khiết của CA1

### 3.2. Xác định cấu trúc chất CA1

Hợp chất CA1 có dạng tinh thể hình kim, ngấn, không màu, nhiệt độ nóng chảy 62,3°C. Trên sắc ký lớp mỏng, CA1 không hiện vết dưới UV 365 và 254 nm; với thuốc thử VS (hơ nóng) thì cho vết trắng hình cung.

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho thấy CA1 có 31H, cụ thể:  $\delta\text{H}$  (ppm),  $J$  (Hz): 0,88 (3H,  $t$ ,  $J = 7$  Hz, H-16); 1,30 (24H,  $m$ , H-14); 1,63 (2H,  $m$ , H-15); 2,34 (2H,  $t$ ,  $J = 7.5$  Hz, H-2).

Sau khi so sánh các đặc điểm lý hóa và dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  của CA1 với tài liệu tham khảo có thể kết luận CA1 chính là acid palmitic, một acid béo khá phổ biến trong thực vật.

## IV. BÀN LUẬN

### 4.1. Phân lập và tinh chế

Từ 50 gam cao M, qua sắc ký cột chân không thu được 27 phân đoạn từ kém phân cực đến phân cực. Với kỹ thuật sắc ký này, từ cao toàn phần nhanh chóng tách thành các phân đoạn đơn giản hơn.

Khi kết tinh chất từ phân đoạn A9, qua khảo sát thấy hệ dung môi thích hợp để kết tinh là PE - chloroform (4:6). Nếu tăng hay giảm độ phân cực bằng cách tăng hay giảm tỷ lệ những dung môi trong hệ kết tinh thì hình dạng kết tinh sẽ thay đổi, càng xa độ phân cực của dung môi tối ưu thì tinh thể kết tinh sẽ càng ngấn lại và hiệu suất kết tinh sẽ không cao.

Sau khi kết tinh bằng hệ dung môi là PE - chloroform (4:6) thu được mẫu 1. Kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng nhận thấy còn 2 vết tạp có  $R_{f1} = 0,75$  và  $R_{f2} = 0$ . Để loại các tạp này, mẫu 1 tiếp tục được kết tinh trong n-hexan và methanol. Đây là hai dung môi đại diện cho nhóm kém phân cực (n-hexan) và nhóm phân cực (methanol) phù hợp để hòa tan tạp kém phân cực ( $R_{f1} = 0,75$ ) và tạp phân cực ( $R_{f2} = 0$ ). Việc rửa mẫu bằng dung môi lạnh giúp chất kết tinh ít bị hao hụt hơn. Sau 3 lần kết tinh bằng các dung môi có độ phân cực khác nhau, từ phân đoạn A9 đã thu được chất CA1.

Khi kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng với 3 hệ dung môi có độ phân cực khác nhau, CA1 chỉ cho 1 vết khi phát hiện bằng thuốc thử VS còn dưới đèn UV 254 và 365 nm thì không thấy tạp chất lẫn chất CA1. Điều này chứng tỏ chất này không phát hiện được bằng UV và có thể gọi là tinh khiết trên sắc ký lớp mỏng.

#### 4.2. Xác định cấu trúc chất CA1

Hợp chất CA1 có dạng tinh thể hình kim, ngấn, không màu, nhiệt độ nóng chảy 62,3°C. Chất này thu được từ phân đoạn kém phân cực, tan trong n-hexan, PE chứng tỏ đây là chất có độ phân cực kém.

Trên sắc ký lớp mỏng, CA1 không hiện vết dưới UV 365 và 254 nm; với thuốc thử VS (hơ nóng) thì cho vết trắng hình cung. Điều này có thể gợi ý rằng CA1 không có hoặc có rất ít nối đôi trong cấu trúc và các nối đôi này (nếu có) không liên hợp với nhau.

Phổ <sup>1</sup>H-NMR cho thấy CA1 có 31H, dự đoán trong đó có 3H nằm trong nhóm CH<sub>3</sub>, 28H nằm trong nhóm CH<sub>2</sub>.

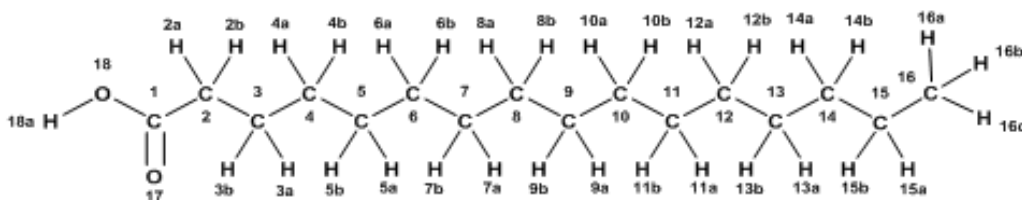
Từ các đặc điểm trên có thể cho thấy khả năng CA1 là một acid béo. Kiểm tra số lượng H với các acid béo thường hiện diện trong thực vật thì nhận thấy có sự tương đồng giữa CA1 và acid palmitic. Tiếp tục so sánh dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR và điểm chảy của CA1 với acid palmitic thì nhận thấy có sự phù hợp với nhau. Như vậy có thể nói CA1 chính là acid palmitic. Kết quả này cũng phù hợp với tài liệu công bố về các hợp chất hóa học có trong Rau má đã công bố [3].

Bảng 1. Dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR của CA1 so với acid palmitic [9]

STT	CA1 (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHz)	Acid palmitic (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz)
	δ <sub>H</sub> , J (Hz)	δ <sub>H</sub> , J (Hz)
1	2,31 (2H, t, 7,5)	2,36 (2H, t, 7,6)
2	1,63 (2H, m)	1,64 (2H, m)
3	1,3 (24H, m)	1,24 (24H, m)
4	0,88 (3H, t, 7)	0,89 (3H, t, 6,4)

Bảng 2. So sánh điểm nóng chảy của CA1 với acid palmitic [5]

	CA1	Acid palmitic
Điểm nóng chảy (°C)	62,3	62,5



Hình 2: Cấu trúc của CA1 = acid palmitic

## V. KẾT LUẬN

Từ phần trên mặt đất của loài Rau má *Centella asiatica* (L.) Urb. - Apiaceae thu hái tại Cần Thơ, bằng các phương pháp sắc ký kết hợp với kỹ thuật kết tinh lại đã phân lập được một chất tinh khiết. Dựa vào các đặc điểm lý hóa và dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR đã xác định được hợp chất này là acid palmitic. Đây là một acid béo có chuỗi dài bão hòa, đã được sử dụng rộng rãi trong các ngành phụ gia và mỹ phẩm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2006), Cây rau má, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, tr 631-632.
2. Chong N.J. and Aziz Z. (2011), A systematic review on the chemical constituents of *Centella asiatica*, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2(3), pp 445-459.
3. Gohil K.J., Patel J.A. and Gajjar A.K. (2010), Pharmacological Review on *Centella asiatica*: A Potential Herbal Cure-all, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(5), pp 546-556.
4. Govindan G. (2007), A Bioactive Polyacetylene Compound Isolated from *Centella asiatica*, *Planta Medica*, 73(6), pp 597-599.
5. Haynes W.M. (2015), *CRC Handbook of Chemistry and Physics 95th Edition*, CRC Press LLC, Boca Raton.
6. Oydefi O.A. and Afolayan A.J. (2005), Chemical composition and Antibacterial activity of the Essential oil of *Centella asiatica* Growing in South Africa, *Pharmaceutical Biology*, 43(3), pp 249-252.
7. P. Puttarak, P. Panichayupakaranant (2012), Factors affecting the content for pentacyclic triterpenes in *Centella asiatica* raw materials, *Pharmaceutical Biology*, 5(12), pp 1508-1512.
8. Qin L.P., Ding R.X., Zhang W.D. and *et al* (1998), Essential oil from *Centella asiatica* and its antidepressant activity, *Di Er Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 19 (2), pp 186-187.
9. The metabolomics innovation centre (2016), <sup>1</sup>H-NMR Spectrum (HMDB0000220), *Biological Magnetic Resonance Data Bank*.
10. Zheng, L. Qin (2007), Chemical components of *Centella asiatica* and their bioactivities, *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 5(3), pp 348-351.

(Ngày nhận bài: 02/08/2020 - Ngày duyệt đăng: 06/09/2020)

---