

Phân lập thành phần hóa học cây An điền lưỡng phân *Hedyotis Dichotoma* Koen.Ex Roth, họ Cà phê

Ngô Thị Châu

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành
ntchau@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Các nghiên cứu hóa dược cho thấy chi *Hedyotis* chứa rất nhiều hợp chất hữu cơ có hoạt tính sinh học hấp dẫn như triterpen, antraquinon, steroid, glicosid, flavonoid, iridoid và alkaloid. Trong bài báo này, Cây An điền lưỡng phân thuộc chi *Hedyotis*, họ Cà phê thu hái ở Bình Phước được nghiên cứu với mục đích tìm ra thành phần hóa học bằng cách phân lập và xác định cấu trúc các thành phần hóa học có trong cây. 6,50 kg thân cây An điền lưỡng phân sau khi thu hái, được rửa sạch, sấy khô ở 70 °C đến khối lượng không đổi, cắt nhỏ và xay thu được bột cây khô 1,64kg. Sử dụng phương pháp ngâm dầm với dung môi ethanol 95° để điều chế cao ethanol (80,00 g). Cao ethanol được trích pha rắn trên silica gel pha thường, giải li lần lượt bằng các đơn dung môi từ không phân cực đến phân cực thu được các loại cao: ete dầu hỏa, diclorometan, etyl acetat, methanol. Từ cao diclorometan, sắc kí cột và sắc kí điều chế nhiều lần với các hệ dung môi từ kém phân cực đến dung môi phân cực, đã phân lập được hai hợp chất, đặt tên là Dichoto.Diclo1 và Dichoto.Diclo2. Bằng các phương pháp hóa lí hiện đại ¹H-NMR, ¹³C-HMR (một chiều và hai chiều), HSQC, HMBC kết hợp với tài liệu tham khảo đã xác định được cấu trúc của hai hợp chất phân lập được là axit 4-hydroxy-3-metoxybenzoic và (22E)-5 α -Stigmasta-7,22-dien-3 β -ol. Kết quả nghiên cứu cho thấy hợp chất Dichoto.Diclo2 có cấu trúc giống Spinasterol, điều này mang lại những hiểu biết mới về mặt hóa dược của cây An điền lưỡng phân và làm tăng giá trị ứng dụng của cây vào thực tế đời sống, đồng thời bộ dữ liệu thu được sẽ có giá trị cho những nghiên cứu xa hơn.

Nhận 20.05.2021
Được duyệt 22.06.2021
Công bố 15.07.2021

Từ khóa
Cây An điền lưỡng phân, cao, thành phần hóa học, cao diclorometan

© 2021 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Cây An điền lưỡng phân có tên khoa học là *Hedyotis dichotoma* Koen.ex Roth, thuộc họ Cà phê (Rubiaceae). Cỏ nhất niên, cao đến 30 cm, có nhánh dài. Lá không lông, có phiến hẹp, dài (3 – 5) cm, rộng (3 – 5) mm. Gân phụ không rõ, lá bẹ nhỏ, có hai răng. Tụ tán lưỡng phân đều, thưa ở ngọn nhánh. Hoa nhỏ, màu lam, tứ phân. Nang dạng tròn, cỡ 3 mm, hạt nhỏ và nhiều. Phân bố ở nơi đất cát, vườn, nhất là ven biển

[1]. Đã có rất nhiều cây cùng chi *Hedyotis* được khảo sát về công dụng chữa bệnh như *Hedyotis acutangula* Champ (bò ngòi cạnh nhọn) có tính mát, tiêu viêm, giải độc, lợi tiểu, trị viêm gan, bệnh đường tiết niệu [2]. *Hedyotis herbacea* (bò ngòi cỏ) có vị đắng, bỏ và hạ nhiệt, lá có tác dụng làm long đờm, trị hen suyễn và lao phổi [3]. Về thành phần hóa học, Ahmad s và cộng sự đã phân lập từ rễ cây *Hedyotis dichotoma* được 2 anthraquinon là 1,4-dihydroxy-2,3-

dimethoxyantraquinon và 2,3 dimetoxi-9-hydroxy-1,4-antraquinon [4],[5]. Đặc biệt, khảo sát thành phần hóa học của một số cây cùng chi cũng đã được thực hiện và cho kết quả nổi bật. Nghiên cứu thành phần hóa học trên cây *Hedyotis acutangula* tìm thấy các hợp chất arborinone, isoarborinol, taraxerol, germanicol, erythoroldiol, olean-12-ene-3 α ,28,29-triol, axit oleanolic, axit ursolic và stigmasterol [6],[7]. Cây *Hedyotis herbacea* có chứa các hợp chất 1,4-dihydroxy-2-hydroxymetylantraquinone, 1,4-dihydroxy-2,3-dimethoxyantraquinone, axit ursolic, kaempferol-3-O-arabinopyranoside và kaempferol-3-O-rutinoside [8],[9]. Cây *Hedyotis diffusa* có chứa rhamnose, arabinose, mannose, 2,3-dimethoxy-6-metylantraquinone, 2-metyl-3-hydroxy-4-metoxyantraquinone, asperuloside, ester metyl scandosid, axit asperulosidic, axit geniposidic, axit deacetylasperulosidic, scandoside, 6-O-p-coumaroil, 6-O-p-metoxi cinnamoil scandosid metyl ester, 6-O-p-feruloil scandosid metyl ester [10], [11],[12]. Chính vì vậy nghiên cứu về cây An điền lưỡng phân để phân lập và xác định cấu trúc các thành phần hóa học có trong cây sẽ giúp ngành hóa dược có thêm các thông tin để so sánh các đặc tính hóa thực vật với các cây cùng chi để tăng giá trị ứng dụng của cây vào thực tế đời sống.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên vật liệu, thiết bị và hóa chất

2.1.1 Nguyên vật liệu

Từ 6,50 kg thân cây An điền lưỡng phân tươi thu hái ở tỉnh Bình Phước, rửa sạch, sấy khô ở 70 °C bằng tủ sấy đến khối lượng không đổi, cắt nhỏ và xay thu được bột cây khô 1,64 kg.

2.1.2 Thiết bị

Thiết bị dùng để tách chiết: lọ thủy tinh, becher, máy cô quay RE 111 Rotavapor, bếp đun cách thủy, hệ

thống máy hút chân không, cột sắc kí, máy đo nhiệt độ nóng chảy khối Maquenne, ... Các thiết bị dùng để ghi phổ: các phổ MS, ¹H-NMR, ¹³C – NMR, DEPT 90, 135.

2.1.3 Hóa chất sử dụng

Dung môi ethanol 95 %, ete dầu hỏa (60 °C - 90 °C), diclorometan, etyl acetat, methanol. Thuốc thử hiện hình: dung dịch H₂SO₄ 50 %, dung dịch FeCl₃ trong alcohol. Trích pha rắn silica gel 60H loại dùng cho sắc kí lớp mỏng, của Merck. Sắc kí nhanh cột khô với silica gel pha thường 60 (0,040 - 0,063) mm, của Merck. Sắc kí lớp mỏng, sắc kí điều chế loại 25 DC – Alufolein (20 x 20) cm, Kiesel gel 60 F₂₅₄, Merck. Các hóa chất sử dụng thuộc hãng Xilong Scientific, Trung Quốc.

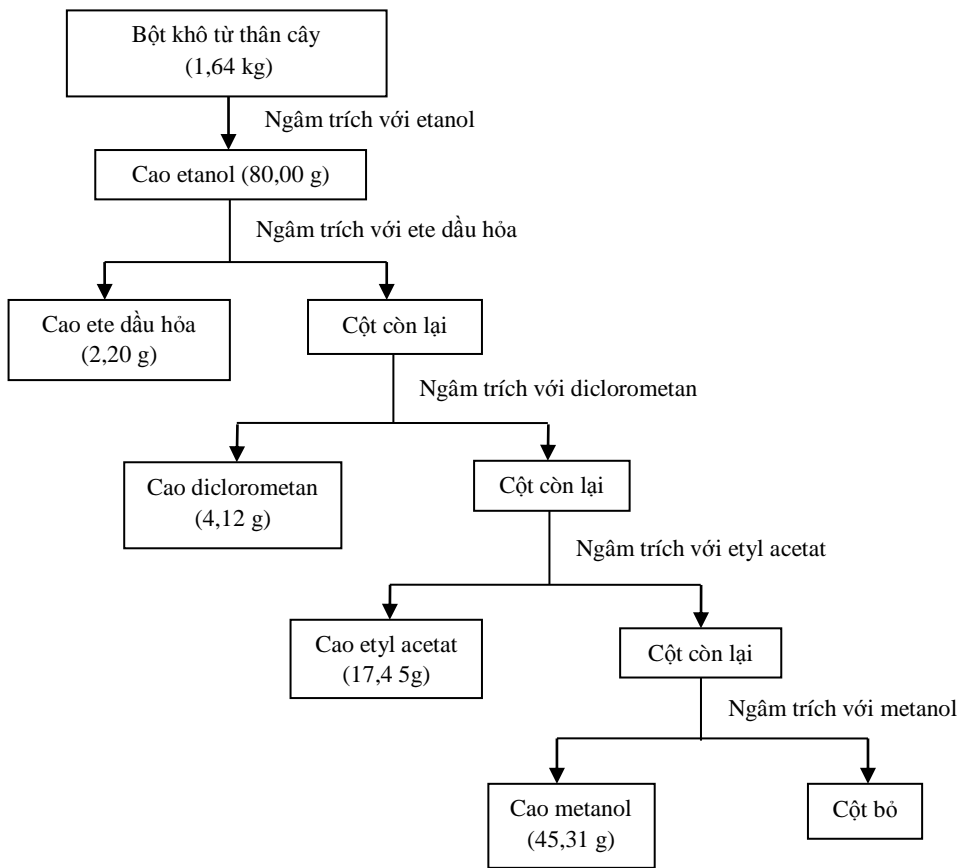
2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp tách chiết

Phương pháp ngâm dầm: bột cây khô (1,64 kg) được trích kiệt bằng ethanol 95 % theo phương pháp ngâm dầm ở nhiệt độ phòng, lọc, cô quay, thu hồi dung môi, thu được cao ethanol (80,00 g). Phương pháp chiết pha rắn: phân chia cao thô ban đầu thành các loại cao có độ phân cực khác nhau: cao ete dầu hỏa, cao diclorometan, cao etyl acetat, cao methanol. Phương pháp sắc kí cột cố định, sắc kí lớp mỏng, sắc kí điều chế: tách các hợp chất trong hỗn hợp thành đơn chất.

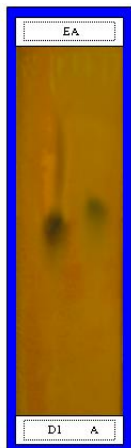
2.2.2 Điều chế các loại cao

Cao ethanol được trích pha rắn trên silica gel pha thường, giải li lần lượt bằng các đơn dung môi từ không phân cực đến phân cực: ete dầu hỏa, diclorometan, etyl acetat, methanol. Dung dịch được hứng mỗi lần là 300 mL, đem cô quay, thu hồi dung môi, chắt sắc kí lớp mỏng, đến khi thấy lượng chất ít đi (dựa vào vết trên bảng mỏng đã mờ hoặc khối lượng sau khi cô quay giảm nhiều) thì có thể đổi sang dung môi phân cực hơn. Qui trình điều chế các loại cao được trình bày trong Hình 1.



Hình 1 Quy trình điều chế các loại cao trên thân cây An điều lưỡng phân

2.2.3 Khảo sát cao diclorometan



Hình 2 Sắc kí lớp mỏng trên tủa ban đầu và Dichoto.Diclo1

- Xử lí kết tủa trong dịch chiết diclorometan: khi cô quay thu hồi dung môi của dịch chiết diclorometan, thấy xuất hiện tủa. Tủa dạng rắn, lẫn trong cao màu xanh khối lượng là 200,30 mg. Rửa tủa nhiều lần bằng

cloroform, màu xanh tan theo dung môi, tách rời khỏi tủa. Hòa tan tủa trong hệ dung môi cloroform : methanol (1:1), giải li bằng etyl acetat. Chấm sắc kí lớp mỏng, hiện hình trong $FeCl_3$. Kết quả sắc kí lớp mỏng được trình bày trong Hình 2, tiếp tục sắc kí cột và sắc kí điều chế, thu được chất rắn màu trắng, kết tinh dạng hình kim. Cho vết trên bảng mỏng màu xanh đậm khi hiện hình trong $FeCl_3$. Chất được đặt tên là Dichoto.Diclo1.

- Sắc kí nhanh cột khô trên cao diclorometan: tiến hành sắc kí nhanh cột khô trên cao diclorometan (sau khi loại tủa, m=3,92 g), giải li bằng các hệ dung môi có độ phân cực tăng dần từ ete dầu hỏa đến methanol. Dung dịch được hứng vào các lọ (200 mL), đem cô quay để loại dung môi. Chấm sắc kí lớp mỏng, cho hiện hình trong thuốc thử H_2SO_4 50 %, các lọ có vết giống nhau được gom thành một phân đoạn. Kết quả được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1 Kết quả sắc kí nhanh cột khô trên cao diclorometan

Phân đoạn	Số thứ tự lọ	Dung môi giải li	Khối lượng (mg)	Vết trên lớp mỏng
D ₁	1 - 13	E E:C (1:99) E:C (5:95)	456,20	Vết dài Không khảo sát
D ₂	14 - 17	E :C (10:90)	124,70	Nhiều vết, có một vết tròn, đậm Khảo sát thu được Dichoto.Diclo2
D ₃	18 - 45	E :C (20:80) C, C:M (1:1), M	1 020,00	Nhiều vết Không khảo sát

E: Ete dầu hỏa C: Cloroform M: Methanol

- Khảo sát phân đoạn D₂: cao của phân đoạn D₂ (124,70 mg) được sắc kí cột cổ điển nhiều lần trong các hệ dung môi có độ phân cực tăng dần và sắc kí điều chế, giải li trong hệ dung môi ete dầu hỏa : aceton (8:2). Kết quả thu được một chất rắn màu trắng, cho vết trên bảng mỏng tròn, đen trong thuốc thử hiện hình H₂SO₄ 50 %. (Hình 3). Chất được đặt tên là Dichoto.Diclo2.

**Hình 3** Sắc kí lớp mỏng phân đoạn D₂ và hợp chất Dichoto.Diclo2

3 Kết quả nghiên cứu

3.1 Khảo sát cấu trúc của hợp chất Dichoto.Diclo1

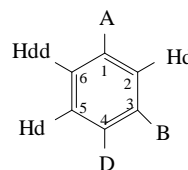
3.1.1 Hợp chất Dichoto.Diclo1 có hình kim, màu trắng. Nhiệt độ nóng chảy 210 °C. Sắc kí lớp mỏng: giải li bằng etyl acetat, thuốc thử hiện hình là FeCl₃, cho một vết tròn duy nhất, màu xanh đậm. Phổ ¹H-NMR (CDCl₃ : CD₃OD) (δ ppm): 7,60 (1H, dd, *J* = 2 và 8,5 Hz, H-6); 7,57 (1H, d, *J* = 2 Hz, H-2); 6,87 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-5); 3,92 (3H, s, -OCH₃). Phổ ¹³C-NMR (CDCl₃ : CD₃OD) kết hợp với phổ DEPT 90 và 135 cho thấy hợp chất có 8 carbon với độ dịch chuyển hóa học được trình bày trong Bảng 2. Phổ HSQC và HMBC cho thấy sự tương quan giữa H và C được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2 Độ dịch chuyển hóa học của proton, carbon và các tương quan hóa học giữa H và C trong phổ HSQC, HMBC của hợp chất Dichoto.Diclo1

S	T	Loại C	¹ H-NMR (δppm) (<i>J</i> -Hz)	¹³ C-NMR (δppm)	HSQC	HMBC
1		=C-COOH		122,6		
2		=C-H	7,57; <i>J</i> = 2	113,2	C-2	COOH, C-1, C-3, C-4, C-6
3		=C-OCH ₃		147,7		
4		=C-OH		151,5		
5		=C-H	6,87; <i>J</i> = 8,5	115,5	C-5	C-1, C-3, C-4
6		=C-H	7,60; <i>J</i> = 2, <i>J</i> = 8,5	124,7	C-6	COOH, C-2, C-4

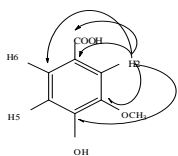
3.1.2 Biện luận cấu trúc

Phổ ¹H-NMR có 3 tín hiệu proton của vòng thơm - vùng từ trường (6 – 8) ppm: 7,60 (1H, dd, *J* = 2 và 8,5 Hz); 7,57 (1H, d, *J* = 2 Hz); 6,87 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) kết hợp phổ DEPT cho 3 tín hiệu CH, 3 tín hiệu carbon tứ cấp, hợp chất bước đầu được đề nghị là dẫn xuất của benzen với 3 nhóm thế A, B, D như Hình 4.

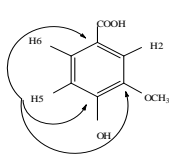
**Hình 4** Cấu trúc hợp chất Dichoto.Diclo1 được đề nghị

Phổ ¹³C-NMR cho thấy tín hiệu tại 169,7 ppm là carbon nhóm carbonyl của axit hoặc ester, tại 151,5 ppm và 147,7 ppm là carbon sp² kề nguyên tử O, tại 56,1 ppm là carbon nhóm metoxy. Kết hợp HMBC cho tương quan giữa proton của nhóm metoxy với mũi 147,7 ppm nên mũi 169,7 ppm là COOH (không phải là COOCH₃). Vậy 3 nhóm thế trên vòng sẽ là COOH, -OCH₃ và OH. Phổ HSQC cho thấy δ = 7,60 ppm (1H, dd, *J* = 2 Hz và 8,5 Hz) có tương quan với mũi 124,7 ppm nên mũi đôi này (H-6) gắn với C

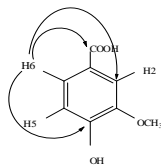
có $\delta = 124,7$ ppm. $\delta = 7,57$ ppm (1H, d, $J = 2$ Hz) có tương quan với mũi 113,21 ppm nên mũi đôi này (H-2) gắn với C có $\delta = 113,21$ ppm và ghép meta với H-6. $\delta = 6,87$ ppm (1H, d, $J = 8,5$ Hz) có tương quan với mũi 115,2 ppm nên mũi đôi này (H-5) gắn với C có $\delta = 115,2$ ppm và ghép orto với H-6. $\delta = 3,92$ ppm (OCH₃) có tương quan với mũi 56,1 ppm. Phổ HMBC cho thấy $\delta = 3,93$ (3H, s, OCH₃) có tương quan với mũi 147,7 ppm. Vậy tại carbon có $\delta = 147,7$ ppm sẽ gắn nhóm OCH₃, carbon có $\delta = 151,5$ ppm sẽ gắn nhóm OH và carbon có $\delta = 122,6$ ppm sẽ gắn COOH. $\delta = 7,60$ ppm (H-6) và $\delta = 7,57$ ppm (H-2) có tương quan với mũi 169,71 ppm (COOH) nên nhóm COOH có là A. $\delta = 7,60$ ppm (H-6) và $\delta = 6,87$ ppm (H-5) có tương quan với mũi 151,5 ppm (C gắn OH) nên D là OH. Vậy B là OCH₃.



Hình 5



Hình 6

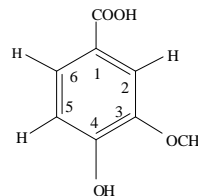


Hình 7

Tương quan giữa H-2 và carbon, giữa H-5 và carbon và giữa H-6 và carbon

Sự tương quan HMBC giữa H-2, H-5 và H-6 với các carbon được trình bày trong Hình 5, Hình 6 và Hình 7 [13], [14], [15].

Vậy hợp chất Dichoto.Diclo1 được đề nghị là axit 4-hydroxy-3-metoxibenzoic. Cấu trúc hợp chất được thể hiện ở Hình 8.



Hình 8 Axit 4-hydroxy-3-metoxibenzoic

3.2 Khảo sát cấu trúc của hợp chất Dichoto.Diclo2

3.2.1 Hợp chất Dichoto.Diclo2 thu được từ phân đoạn D₂ của cao diclorometan là chất rắn, màu trắng. Nhiệt độ nóng chảy 160 °C. Sắc kí lớp mỏng, giải li bằng hệ dung môi ete dầu hỏa : acetone (8:2), thuốc thử hiện hình là H₂SO₄ 50 %, kết quả cho một vết tròn duy nhất, màu đen. Phổ ¹H-NMR (CDCl₃) có độ dịch chuyển hóa học của các proton được trình bày trong Bảng 3. Phổ ¹³C-NMR (CHCl₃) kết hợp với phổ DEPT 135 và 90 (δ ppm), hợp chất có 29 carbon với độ dịch chuyển hóa học trình bày trong Bảng 3.

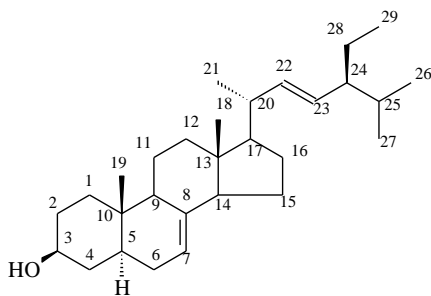
Bảng 3 So sánh phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR giữa Dichoto.Diclo2 với (22E)-5 α -Stigmasta-7,22-dien-3 β -ol (Spinasterol)

STT	Loại C	Dichoto.Diclo2 ¹³ C (δ ppm)	Dichoto.Diclo2 ¹ H (δ ppm)	Spinasterol ¹ H (δ ppm)	Spinasterol ¹³ C (δ ppm)
1	-CH ₂ -	37,2			37,2
2	-CH ₂ -	31,5			31,6
3	O-CH<	71,1	3,594	3,599	71,1
4	-CH ₂ -	38,0			38,1
5	>CH-	40,3			40,4
6	-CH ₂ -	29,6			29,7
7	=CH-	117,5	5,162	5,159	117,5
8	>C=	139,6			139,6
9	>CH-	49,5			49,6
10	>C<	21,6			21,6
11	-CH ₂ -	34,3			34,3
12	-CH ₂ -	39,5			39,6
13	>C<	43,3			43,3
14	>CH-	55,2			55,2

15	-CH ₂ -	23,0			23,1
16	-CH ₂ -	28,5			28,5
17	>CH-	56,0			56,0
18	-CH ₃	12,0	0,546	0,551	12,1
19	-CH ₃	13,0			13,1
20	>CH-	40,8			40,8
21	-CH ₃	21,1	1,023	1,025	21,3
22	=CH-	138,2	5,162	5,163	138,2
23	=CH-	129,5	5,03	5,027	129,5
24	>CH-	51,3			51,3
25	>CH-	31,9			32,0
26	-CH ₃	19,0			19,0
27	-CH ₃	21,4	0,852	0,849	21,4
28	-CH ₂ -	25,4			25,5
29	-CH ₃	12,2			12,3

3.2.2 Biện luận

Phổ ¹³C-NMR có bốn mũi đặc trưng với độ dịch chuyển hóa học lần lượt là δ ppm: 139,58 (>C=); 138,17 (=CH-); 129,49 (=CH-); 117,48 (=CH-). Phổ ¹H-NMR có mũi δ = 5,16 ppm (2H); δ = 5,03 ppm (1H, dd, *J* = 8,5 và 15 Hz) thể hiện hợp chất có 3 proton vinyl (C=CH) là H-7, H-22, H-23; δ = 1,023 ppm (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-21); δ = 0,852 ppm (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-27); δ = 0,546 ppm (3H, s, H-18); δ = 0,8 ppm (9H, H-19, H-26, H-29). So sánh các số liệu của phổ ¹³C-NMR của hợp chất Dichoto.Diclo2 với (22*E*)-5α-Stigmasta-7,22-dien-3β-ol (Spinasterol) thấy có sự trùng khớp [16],[17],[18]. Hợp chất Dichoto.Diclo2 được đề nghị là (22*E*)-5α-Stigmasta-7,22-dien-3β-ol với cấu trúc hóa học như Hình 9.



Hình 9 (22*E*)-5α-Stigmasta-7,22-dien-3β-ol

4 Kết luận

Từ 6,50 kg thân cây An điền lương phân sau thu hái được sấy khô, cắt và xay, rồi ngâm dầm trong ethanol 95 % thu được 80,00 g cao ethanol. Cao này được trích pha rắn trên silicagel để thu được bốn loại cao: 2,20 g cao ete dầu hòa, 4,12 g cao diclorometan, 17,45 g cao etyl acetat và 45,30 g cao methanol. Từ cao diclorometan, sắc kí cột và sắc kí điều chế nhiều lần với các hệ dung môi từ kém phân cực đến phân cực đã phân lập được 2 hợp chất, được đặt tên là Dichoto.Diclo1 và Dichoto.Diclo2. Bằng các phương pháp hóa lí hiện đại ¹H-NMR, ¹³C-HMR (một chiều và hai chiều), HSQC, HMBC kết hợp với tài liệu tham khảo đã xác định được cấu trúc của hai hợp chất phân lập là axit 4-hydroxy-3-metoxibenzoic và (22*E*)-5α-Stigmasta-7,22-dien-3β-ol. Với kết quả của nghiên cứu là một quy trình điều chế các loại cao và cấu trúc hóa học của hai hợp chất, điều này đã mang lại những hiểu biết mới về mặt hóa dược của cây An điền lương phân và làm tăng giá trị ứng dụng của cây vào thực tế đời sống, đồng thời bộ dữ liệu các cao thu được sẽ là nền tảng rất có giá trị cho những nghiên cứu xa hơn.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2020.01.088/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Kim Phi Phụng (2000). *Hoạt tính sinh học của những hợp chất hữu cơ tự nhiên, học phần cao học chuyên ngành Hóa hữu cơ*, Đại học Khoa học Tự nhiên
2. Đỗ Tất Lợi (1999). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà Xuất bản Y học
3. Võ Văn Chi (1997). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà Xuất bản Y học
4. Ahmad s. Hamzah, Nordin. J. Lajis, et.al (1994). *Planta Medica*, **60**(4), 388-389
5. Houming wu, Shengyu Huang, et.al (1992). *Youji Huaxue*, **12**(4), 428-31, CA 117:230117
6. Shuzo Takagi, Masae Yakami, et.al (1982). *Shoyakugaku Zasshi*, **36**(4), 366-9, , CA 98 : 204264
7. K.C.Wong, G.L.Tan (1998). *Journal of Essential Oil Research*, **7**(5), 537-9, 1995, CA 123:28092
8. Phan Đức Bình (1998). Tạp chí Thuốc và Sức khỏe, số 125, 131
9. Phạm Hoàng Hộ (1970). *Cây cỏ miền Nam Việt Nam*, tập 2, 415-429
10. Ahmad s. Hamzah, Norio Aimi (1996). *Biochemical Systematics and Ecology*, **24** (3), 273, CA 126: 155076
11. Lê Hoàng Duy (2008). Góp phần tìm hiểu thành phần hóa học cây Bò ngòi lá thông *Hedyotis pinifolia*, luận văn thạc sĩ khoa học Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Tp. HCM
12. L. John Goal, Toshihiro Akihisa (1997). *Analysis of sterols*, Blackie Academic and Professional. London, New York
13. H.Y. Cheung, M.L. Law, et.al (2006), Simultaneous determination of key bioactive components in *Hedyotis diffusa* by capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography B*, City University, Hong Kong.
14. Rohaya Ahmad, Khozirah Shaari, et.al (2005). Anthraquinones from *Hedyotis capitellata*, *Phytochemistry*, Japan
15. Youngleem Kim, Eun Jung Park, et.al (2001). Neuroprotective constituents from *Hedyotis diffusa*, Seoul University, Korea
16. Ngô Thị Thùy Dương, Cao Duy Chí Trung, Nguyễn Kim Phi Phụng (2007). Tìm hiểu thành phần hóa học của cây *Hedyotis dichotoma* Koen.Ex Roth, Tạp chí Hóa học, 45, 491-495
17. Ngô Thị Thùy Dương (2009). Góp phần tìm hiểu thành phần hóa học cây *Hedyotis dichotoma* Koen.Ex Roth, luận văn thạc sĩ khoa học Hóa học, khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên
18. Hoàng Minh Hào, Nguyễn Bình Kha (2010). Khảo sát thành phần hóa học cao etyl acetat và methanol của cây *Hedyotis dichotoma* Koen.Ex Roth, thuộc họ Cà phê. Hội nghị Khoa học lần thứ 7, Đại học Lạc Hồng

Isolation Procedure of Chemical Composition from *Hedyotis Dichotoma* Koen.Ex Roth, Rubiaceae

Ngo Thi Chau

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

ntchau@ntt.edu.vn

Abstract Pharmaceutical chemistry studies show that the genus *Hedyotis* contains many organic compounds with biological activities such as triterpen, anthraquinon, steroid, glicosid, flavonoid, iridoid and alkaloid. In this study, *Hedyotis dichotoma* Koen.Ex Roth, Rubiaceae were picked in Binh Phuoc province and studied with the aim of finding out the chemical composition by isolating and determining the structure of the chemical component. *Hedyotis dichotoma* Koen.Ex Roth after being harvested, dried, cut finely and soaked in ethanol to prepare ethanol gel. This gel was extracted from the solid phase on silicagel to obtain four different gels petroleum ether, dicloromethane, ethyl acetate and methanol. Diclorometan gel was studied by column chromatography method with variety of solvent from less polar to polar. Two compounds were isolated and one isolation procedure was built. The compound structures were determined by analysis of their NMR-spectroscopic data with ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR HSQC, HMBC and they were named acid 4-hydroxy-3-methoxybenzoic (Dichoto.Diclo1) and (22E)-5 α -Stigmasta-7,22-dien-3 β -ol (Dichoto.Diclo2). Research results show that the compound Dichoto.Diclo2 has the same structure as Spinasterol, which brings new information into pharmaceutical chemistry field of *Hedyotis dichotoma* Koen and increases its application value in real life. Furthermore, the obtained data will be valuable foundation for further study

Keywords *hedyotis dichotoma* koen, gel, chemical composition, *hedyotis dichotoma* from dicloromethan gel

