

CẤU TRÚC HÓA HỌC CỦA MỘT SỐ CHẤT PHÂN LẬP TỪ QUẢ NGŨ VỊ TỬ THU HÁI Ở KON TUM

Bùi Thị Bằng (1), Nguyễn Bá Hoạt (1); Nguyễn Thị Nụ (1);

Phan Văn Kiệm (2); Nguyễn Xuân Nhiệm (2); Phạm Hải Yến (2); Nguyễn Hải Đăng (2)

(1): Viện Dược liệu; (2) Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên

(Nhận bài ngày 19 tháng 3 năm 2007)

Summary

Chemical Structure of Some Compounds

Isolated from Fruits of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. Collected in Kon Tum

Gomisin A, C, J, N, Schisandrin and β -sitosterol have been isolated from methanolic extract of Schisandra sphenanthera Rehd. et Wils. collected in Kon Tum by column and preparative thin layer chromatography. Their chemical structures have been elucidated by physical properties and $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H-NMR}$ as well as DEPT spectrometry.

1. Đặt vấn đề

Quả ngũ vị tử (*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.) được sử dụng trong y học cổ truyền Trung Quốc làm thuốc bổ, trấn thống, chữa phế hư, ho tức ngực, suyễn, mệt mỏi, di tinh, lạnh tay chân ở người già, kiệt lý v.v... và đã được chứng minh có tác dụng giảm enzym gan ở bệnh nhân viêm gan siêu vi mạn [1, 2]. Ở Việt Nam, một loài ngũ vị tử (NVT) đã được phát hiện tại Kon Tum với trữ lượng lớn. Tên khoa học của loài này đã được xác định là *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. (họ *Schisandraceae*) [3]. Trong quả ngũ vị tử có anthraglycosid, carotenoid, phytosterol, flavonoid, polyphenol, tinh dầu, tương tự như thành phần hóa học của NVT mua tại Trung Quốc. Một hợp chất thuộc nhóm lignan đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học là gomisin B [4].

Để có cơ sở khoa học đưa quả NVT Việt Nam vào sử dụng thay thế NVT Trung Quốc, mà hàng năm chúng ta phải nhập từ 50-70 tấn, chúng tôi đã nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc hóa học một số thành phần hóa học của

quả NVT thu hái tại Kon Tum.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Quả của loài NVT thu hái trong tự nhiên tại huyện Đắc Tô, Kon Tum. Quả già sau khi thu hái được làm sạch, sấy khô ở nhiệt độ 50-60°C, nghiền thành bột.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bột khô quả NVT (100 g) được chiết với methanol bằng thiết bị chiết siêu âm ở nhiệt độ 50°C. Sau khi thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 8g cao đặc. Bổ sung 700 ml nước cất vào cao đặc, lắc đều, sau đó chiết lần lượt bằng n-hexan, cloroform, ethyl acetat và n-butanol. Bốc hơi dung môi, thu được các phân đoạn n-hexan (1,2g), cloroform (4,1g), ethyl acetat (0,7g) và n-butanol. (0,6g).

4,1 g cao cloroform được tiến hành phân lập bằng phương pháp sắc ký cột với các dung môi rửa giải khác nhau. Các phân đoạn thu được tiếp tục tinh chế bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM) điều chế. Kết tinh trong các dung môi thích hợp, thu được 6 chất tinh khiết ký hiệu: NVT1A1, NVT1A2, NVT1A3, NVT1A4, NVT1A6 và

NVT1A7. Cấu trúc hóa học được xác định dựa trên các đặc trưng lý, hóa học và các dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H-NMR}$, phổ DEPT.

3. Kết quả

3.1. Hợp chất NVT1A1 (*Gomisin N*)

Hợp chất NVT1A1 thu được dưới dạng tinh thể hình kim từ dịch chiết methanol sau khi phân lập bằng sắc ký cột (SKC) kết hợp với SKLM điều chế. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất này xuất hiện hai tín hiệu singlet của 2 proton của vòng thơm tại δ 6,55 và 6,48, hai nhóm methyl đều xuất hiện dưới dạng doublet tại δ 0,95 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-17); 0,73 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-18), hai tín hiệu multiplet tại δ 1,89 (1H, m, H-7); 1,78 (1H, m, H-8) được xác định cho hai nhóm metin (CH) và hai cặp tín hiệu của hai nhóm methylen tại δ 2,50 (1H, m, Ha-6), /2,57 (1H, m, Hb-6); 2,02 (d, $J = 14,5$ Hz, Ha-9); 2,23 (d, $J = 10,0, 14,5$ Hz, Hb-9). Trên các phổ còn xuất hiện các tín hiệu của 4 nhóm methoxy tại δ 3,54 (3H, s, 1-OCH₃); 3,82 (3H, s, 2-OCH₃); 3,88 (3H, s, 3-OCH₃); 3,89 (3H, s, 14-OCH₃), và một tín hiệu với cường độ phân tích 2H tương ứng với nhóm dioxymethylen (s, -O-CH₂-O-) tại δ 5,93.

Các kết quả thu được trên phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy cấu trúc của hợp chất NVT1A1 phù hợp với khung cơ bản của các hợp chất Gomisin thu được từ quả NVT đã công bố. Tuy nhiên để khẳng định chính xác cấu trúc của nó, chúng tôi đã đo thêm phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ DEPT 90, DEPT 135. Kết quả thu được cho thấy hợp chất NVT1A1 có công thức cộng là $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_6$. Các dữ kiện phổ của hợp chất này hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của *Gomisin N* – đã được phân lập từ quả *Schisandra chinensis* [5, 6].

3.2. Hợp chất NVT1A2 (*Gomisin J*)

Hợp chất NVT1A2 thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất này tương tự phổ của hợp chất NVT1A1, chứng tỏ chúng có cùng một kiểu cấu trúc. Tuy nhiên ở hợp chất này đã không xuất hiện tín hiệu của nhóm dioxymethylen nhưng lại xuất

hiện thêm tín hiệu của hai nhóm OH tại δ 5,67 và 5,71 (s).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ xuất hiện các tín hiệu của 22 carbon, ít hơn hợp chất NVT1A1 một nguyên tử carbon, phù hợp với dự đoán rằng hợp chất này không có nhóm dioxymethylen. Bằng các phổ DEPT 90 và DEPT 135 đã xác định hợp chất NVT1A2 có 10 C, 4 CH, 2 CH₂ và 2 nhóm methyl.

So sánh các dữ kiện phổ của NVT1A2 với dữ kiện phổ của deoxyschisandrin (demethylgomisin J) cho thấy ở các vị trí tương tự nhau. Với sự vắng mặt của nhóm dioxymethylen có thể thấy rằng các dữ liệu phổ NMR của NVT1A2 hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của *Gomisin J* ($\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_6$).

3.3. Hợp chất NVT1A3 (*Gomisin C*)

Hợp chất NVT1A3 thu được dưới dạng tinh thể hình kim, màu trắng. Nhiệt độ nóng chảy 144-145°C. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất này xuất hiện tín hiệu của 4 nhóm methoxy, 1 nhóm dioxymethylen và 2 tín hiệu singlet của 2 proton vòng thơm chứng tỏ NVT1A3 có cấu trúc khung tương tự như NVT1A1 với 2 vòng benzen nối với vòng tám và nhóm dioxymethylen. Sự xuất hiện thêm tín hiệu của một vòng benzen nữa tại δ 7,31 -7,53 (5H, H-2', 3', 4', 5', 6') và sự mất đi tín hiệu multiplet của một nhóm CH cho thấy hợp chất này có thêm nhóm hydroxy tại C-7 và một nhóm benzyl tại C-6, tức là hợp chất Gomisin C. Từ sự phân tích trên các phổ NMR có thể tính được công thức cộng của NVT1A3 là $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_9$ – phù hợp với công thức phân tử của *Gomisin C* đã được biết từ *S. chinensis* và *S. sphenanthera* của Trung Quốc.

3.4. Hợp chất NVT1A6 (*Schisandrin*)

Hợp chất này thu được dưới dạng tinh thể hình kim, nhiệt độ nóng chảy 128-129°C. Các phổ NMR của NVT1A6 cùng có dạng của hợp chất Gomisin nêu trên. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xác định được 6 nhóm methoxy gắn vào hai vòng thơm như hợp chất deoxyschisandrin. Những tín hiệu còn lại cho thấy sự có mặt của 2 nhóm

methyl, 2 nhóm methylen và chỉ có 1 nhóm metin tương ứng với một multiplet tại 2,35 (1H, Ha-5). Như vậy có thể nhóm hydroxy đã đính thêm vào C-7.

Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và các phổ DEPT thấy rõ NVT1A6 có 24 nguyên tử carbon và có cùng khung với NVT1A2 và NVT1A3. Tuy nhiên trên phổ NMR không xuất hiện các tín hiệu của vòng benzyl và của nhóm dioxymethylen. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy NVT1A6 có 6 nhóm methoxi tại δ 60,61 (q, 1-OCH₃); 60,95 (q, 2-OCH₃); 56,00 (q, 3-OCH₃); 55,92 (q, 10-OCH₃); 60,95 (q, 11-OCH₃) và 60,65 (q, 12-OCH₃). Hai carbon methylen tại δ 41,86 (d, C-6); 40,86 (t, C-8) cùng với tín hiệu carbon bậc ba có nối với oxy tại δ 71,84 (s, C-7), và hai carbon methyl tại δ 15,88 (q, 6-CH₃); 29,82 (q, 7-CH₃) chứng tỏ nhóm hydroxy nối với C-7. So sánh trực tiếp các dữ kiện phổ NMR của NVT1A6 với các dữ kiện phổ tương ứng của Schizandrin cho thấy sự phù hợp hoàn toàn các giá trị phổ NMR giữa hai hợp chất. Điều đó chứng tỏ NVT1A6 chính là *Schizandrin*, một hợp chất đã được biết từ *S. chinensis*.

3.5. Hợp chất NVT1A7 (*Gomisin A*)

Hợp chất NVT1A7 có các phổ NMR rất tương tự các phổ tương ứng của NVT1A6. Điểm khác biệt dễ nhận thấy nhất là các phổ NMR của hợp chất NVT1A7 xuất hiện thêm tín hiệu của nhóm dioxymethylen tại δ_c 100,84/ δ_c

5,95 (2H, d, 1,5 Hz, -O-CH₂-O-), và thay vào đó là sự thiếu vắng 2 nhóm methoxy tại C-2 và C-3. Như vậy có thể dự đoán được hợp chất NVT1A7 là *Gomisin A*. Các giá trị phổ NMR tương ứng của *Gomisin A*. Kết quả cho thấy tất cả các giá trị độ dịch chuyển hóa học tại các vị trí đều tương ứng phù hợp. Điều này có thể khẳng định được hợp chất NVT1A7 là *Gomisin A*, hợp chất có công thức phân tử $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_7$ và đã được phân lập từ *S. chinensis*.

3.6. Hợp chất NVT1A4 (β -sitosterol)

Hợp chất NVT1A4 thu được dưới dạng tinh thể hình kim, có nhiệt độ nóng chảy 136-137°C. Trên SKLM, với thuốc thử acid sulfuric 10% và hơi nóng cho vết có màu hồng tươi, sau đó chuyển dần sang xanh tím, chứng tỏ đây là một hợp chất steroid. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của NVT1A4 xuất hiện tín hiệu của 27 carbon, với một nối đôi tại δ 141,17 (s, C-5)/122,50 (d,C-6), và một carbon metin có nối với oxy tại δ 72,19 (d, C-3). Phổ NMR của NVT1A4 có dạng phổ của β -sitosterol. So sánh trực tiếp phổ NMR của NVT1A4 với các phổ tương ứng của β -sitosterol cho thấy hợp chất NVT1A4 chính là β -sitosterol [7].

4. Kết luận

Từ quả NVT (*Schisandra sphenanthera*) thu hái tại Kon Tum, đã chiết tách, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất – *Gomisin A, C, J, N*; *Schizandrin* và β -sitosterol.

Tài liệu tham khảo

1. Liu CS. et al. 1978. Studies on active principles of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.. The structure of schisantherin A,B,C,D,E and the related compounds. *Sci. Sin.* 21(4): 483-502.
2. Wang YH et al. 2003. Determination of lignans of *Schisandra* medicinal plants by HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 28(12), 1155-60.
3. Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Công Luận, Lê Thanh Sơn, 2006. Nghiên cứu phát triển ngũ vị tử Ngọc Linh và tác dụng bảo vệ gan. Nghiên cứu phát triển dược liệu và đông dược ở Việt Nam, nxb KH-KT, 160-173.
4. Trần Công Luận, Trần Thị Ý Nhi, Đỗ Thanh Phú, Nguyễn Bá Hoạt. 2006. Khảo sát thành phần hóa học quả ngũ vị tử mọc ở Kon Tum (*Schisandra* SP.). Nghiên cứu phát triển dược liệu và đông dược ở Việt Nam, nxb KH-KT, 154-159.
5. Yukinobu Ikeya et al. 1982. The constituents of *Schisandra chinensis* Baill. Isolation and structure of a new Lignan, *Gomisin R*, the absolute structure of *Wuwaizisu C* and isolation of *Schisanthrin D*, *Chem. Pharm. Bull.* 30(9), 3207-3211.
6. Miyazawa M. et al. 1998. *Nat. Prod. Lett.*, 12, 175-180.
7. Goad L.J., T. Akihisa. 1997. Analysis of sterols. Academic Press, First Edition, P. 363, 366.