

# CÁC THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA HẠT THẢO QUYẾT MINH (*CASSIA TORA* L., CAESALPINIACEAE)

Phan Minh Giang, Nguyễn Hoàng Duyên, Nguyễn Thị Hoài Thanh, Phan Tổng Sơn

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

Đến Tòa soạn 24-01-2011

## Abstract

The phytochemical study of the seeds of *Cassia tora* L. (Caesalpinaceae) of Vietnam resulted in the isolation of five main anthraquinones, chrysophanol, physcion, chryso-obtusin, aurantio-obtusin, obtusin together with  $\beta$ -sitosterol and torachryson 8-O- $\beta$ -gentibioside. Their chemical structures were determined by spectroscopic analyses.

**Keywords:** *Cassia tora*, Caesalpinaceae, anthraquinone, torachryson.

## 1. MỞ ĐẦU

Các hợp chất anthraquinon (9,10-dioxoanthracen) thiên nhiên thu hút được sự quan tâm do chúng thể hiện nhiều hoạt tính quan trọng như hoạt tính kháng các chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng methicilin, chống ung thư, chống di căn, điều chỉnh hệ miễn dịch, bảo vệ gan và chống bệnh tiểu đường trong nhiều thử nghiệm sinh học và là thành phần có nhiều trong các cây thuốc chi *Cassia* (họ Caesalpinaceae) [1, 2]. Nghiên cứu qui trình phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất thành phần chính từ chi *Cassia* của Việt Nam sẽ góp phần vào việc bổ sung các kiến thức hóa học về các hợp chất anthraquinon được sinh tổng hợp trong các cây thuốc này và khả năng sử dụng các hợp chất này trong các nghiên cứu y sinh học. Trên cơ sở đó, Thảo quyết minh (*Cassia tora* L., Caesalpinaceae), một cây thuốc được sử dụng phổ biến trong y học cổ truyền Việt Nam [3, 4] đã được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu hóa học thực vật; các anthraquinon của hạt Thảo quyết minh cùng với một số hợp chất khác đã được thông báo trong bài báo này.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Phương pháp và Thiết bị

Phổ khối lượng va chạm điện tử (EI-MS) được ghi trên thiết bị Waters Auto Spec Premier Mass spectrometer. Phổ khối lượng phun bụi điện tử (ESI-MS) được ghi trên thiết bị LC-MS-Obbitrap-XL (Thermo Scientific). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton ( $^1\text{H-NMR}$ ) (500 MHz) và cacbon 13 ( $^{13}\text{C-NMR}$ ) (125 MHz) với chương trình DEPT được ghi trên thiết bị Bruker AV500 spectrometer. Độ

chuyển dịch hóa học ( $\delta$ ) được đo theo ppm. Tetrametylsilan (TMS) là chất chuẩn nội zero ( $\delta = 0,00$ ) ppm. Sắc kí cột thường (CC), sắc kí cột nhanh (FC) và sắc kí cột tinh chế (Mini-C) được thực hiện trên silica gel (Merck, Darmstadt, CHLB Đức) với các cỡ hạt 63 - 200  $\mu\text{m}$ , 63 - 100  $\mu\text{m}$ , 40 - 63  $\mu\text{m}$  và 15 - 40  $\mu\text{m}$  và polyme Diaion HP-20 (Mitsubishi Chemicals, Nhật Bản). Sắc kí lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn silica gel chiều dày 0,2 mm trên nền nhôm Merck Alufolien 60 F<sub>254</sub>. Thuốc thử hiện màu là dung dịch vanilin/ $\text{H}_2\text{SO}_4$  đặc 1%, đèn tử ngoại (UV) ở 254 nm và dung dịch NaOH 5% trong etanol.

### 2.2. Nguyên liệu thực vật

Hạt Thảo quyết minh (*Cassia tora* L., Caesalpinaceae) được thu mua tại Hà Nội vào tháng 8 năm 2007.

### 2.3. Chiết và Phân lập các hợp chất

Hạt Thảo quyết minh (2 kg) được sấy ở nhiệt độ 40 - 45°C trong 2 ngày, sau đó nghiền thành bột mịn (1,75 kg). Bột hạt được ngâm chiết trong MeOH ở nhiệt độ phòng (7 lần, mỗi lần trong 4 ngày). Các dịch chiết MeOH được lọc loại bã và cất loại kiệt MeOH dưới áp suất giảm cho một phần chiết MeOH. Hoà phần chiết này trong một lượng nước cất tối thiểu và chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần, *n*-hexan,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  và EtOAc để thu được các dịch chiết tương ứng. Các dịch chiết này được làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sau đó được cất loại dung môi dưới áp suất giảm cho các phần chiết *n*-hexan (hiệu suất chiết 2,08% so với lượng nguyên liệu khô),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,11%) và EtOAc (0,18%). Dịch nước còn lại được cô kiệt dung môi dưới áp suất

giảm cho phần chiết nước. Phần chiết *n*-hexan (10 g) được phân tách bằng CC trên silica gel (63–200  $\mu\text{m}$ ), rửa giải với gradient *n*-hexan-EtOAc 49:1, 20:1, 12:1, 5:1, 4:1 và 2:1, thu 20 ml/phân đoạn, cho 8 nhóm phân đoạn. Nhóm phân đoạn 3 (1,85 g) và 4 (2,87 g) được rửa với *n*-hexan và  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , sau đó kết tinh lại trong  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  cho tương ứng chrysophanol (1) và  $\beta$ -sitosterol (2) và physcion (3). Nhóm phân đoạn 7 (50 mg) được rửa bằng *n*-hexan,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  và MeOH, sau đó kết tinh trong axeton cho hỗn hợp chryso-obtusin (4) và aurantio-obtusin (5). Phần chiết  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1,9 g) được phân tách bằng CC trên silica gel (63–200  $\mu\text{m}$ ) với gradient  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  và  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -axeton 25:1, 15:1 và 10:1, thu 20 ml/phân đoạn, cho 14 nhóm phân đoạn. Rửa nhóm phân đoạn 6 (0,38 g) với hệ dung môi *n*-hexan- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  và  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , sau đó kết tinh lại trong axeton cho obtusin (6). Nhóm phân đoạn 7 (0,4 g) được rửa bằng  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , MeOH và kết tinh lại trong axeton cho chryso-obtusin (4). Phần chiết EtOAc (2,8 g) được phân tách bằng CC trên silica gel (63–200  $\mu\text{m}$ ) với gradient  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  và  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 19:1, 9:1 và 6:1, thu 20 ml/phân đoạn, cho 7 nhóm phân đoạn. Nhóm phân đoạn 5 (40 mg từ 0,36 g) được tinh chế bằng Mini-C trên silica gel (63–100  $\mu\text{m}$ ) với gradient *n*-hexan và *n*-hexan-axeton 9:1, 6:1, 5:1, 3:1 và 2:1, sau đó kết tinh lại trong axeton cho aurantio-obtusin (5). Phần chiết nước được hòa tan trong MeOH, lọc hút chân không bằng phễu lọc Büchner và đưa trực tiếp lên cột phân tách CC pha đảo trên chất hấp phụ polime Diaion HP-20, rửa giải bằng  $\text{H}_2\text{O}$  và gradient MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  20%, 40% và 60%, và MeOH. Các phân đoạn được rửa giải với cùng hệ dung môi được gộp lại, sau đó được cất loại kiệt dung môi dưới áp suất giảm cho 5 nhóm phân đoạn  $\text{H}_2\text{O}$ , 20% MeOH (0,2 g), 40% MeOH (4 g), 60% MeOH (5,5 g) và MeOH (2,1 g). Nhóm phân đoạn 60% MeOH được phân tách sắc kí cột CC trên silica gel (63–100  $\mu\text{m}$ ) với các hệ dung môi rửa giải EtOAc, EtOAc-MeOH 20:1 và 10:1, EtOAc-MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  10:2:1 và MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  3:2, thu 20 ml/phân đoạn, cho 15 nhóm phân đoạn. Nhóm phân đoạn 1 (0,1 g) được chạy sắc kí cột CC trên silica gel (40–63  $\mu\text{m}$ ) với các hệ dung môi rửa giải *n*-hexan và *n*-hexan-axeton 3:1 và 1:1, thu 5 ml/phân đoạn, sau đó kết tinh lại trong axeton cho aurantio-obtusin (5). Nhóm phân đoạn 2 (0,1 g) được chạy sắc kí cột CC trên silica gel (40–63  $\mu\text{m}$ ) với các hệ dung môi *n*-hexan và *n*-hexan-axeton 15:1, 9:1, 3:1 và 1:1, thu 5 ml/phân đoạn, sau đó kết tinh lại trong axeton cho chrysophanol (1). Nhóm phân đoạn 10 (0,3 g) được phân tách bằng CC trên silica gel (40–63  $\mu\text{m}$ ) với EtOAc và EtOAc-MeOH 10:1 và 3:1, thu 10 ml/phân đoạn, sau đó kết tinh lại trong MeOH cho torachryson 8-*O*- $\beta$ -gentibiosid (7).

**Chrysophanol (1):** Bột vô định hình màu vàng,  $R_f$  0,4 (TLC, silica gel, *n*-hexan-EtOAc 20:1, v/v).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12,1 (1H, s, 8-OH), 11,9 (1H, s, 1-OH), 7,8 (1H, dd,  $J = 8,5$  Hz, 1,0 Hz, H-5), 7,66 (1H, t,  $J = 8,5$  Hz, H-6), 7,63 (1H, d,  $J = 1,0$  Hz, H-4), 7,28 (1H, dd,  $J = 8,5$  Hz, 1,0 Hz, H-7), 7,08 (1H, br s, H-2), 2,46 (3H, s, 3- $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  192,5 (C-9), 181,9 (C-10), 162,7 (C-1), 162,4 (C-8), 149,3 (C-3), 136,9 (C-6), 133,7 (C-11), 133,3 (C-14), 124,6 (C-7), 124,4 (C-2), 121,4 (C-4), 119,9 (C-5), 115,9 (C-12), 113,8 (C-13), 22,3 (C-15).

**$\beta$ -Sitosterol (2):** Tinh thể hình kim không màu,  $R_f$  0,44 (TLC, silica gel, *n*-hexan-EtOAc 4:1, v/v).

**Physcion (3):** Bột vô định hình màu vàng,  $R_f$  0,38 (TLC, silica gel, *n*-hexan-EtOAc 20:1, v/v). EI-MS:  $m/z$  284 ( $\text{M}^+$ ,  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$ ).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12,3 (1H, s, 1-OH), 12,1 (1H, s, 8-OH), 7,61 (1H, m, H-5), 7,35 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-4), 7,07 (1H, m, H-7), 6,68 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-2), 3,94 (3H, s, 6- $\text{OCH}_3$ ), 2,45 (3H, s, 3- $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  190,8 (C-9), 182,0 (C-10), 166,6 (C-6), 165,2 (C-8), 162,5 (C-1), 148,5 (C-3), 135,3 (C-11), 133,2 (C-14), 124,5 (C-2), 121,3 (C-4), 113,7 (C-13), 110,3 (C-12), 108,2 (C-5), 106,8 (C-7), 56,1 (6- $\text{OCH}_3$ ), 22,2 (C-15).

**Chryso-obtusin (4):** Bột vô định hình màu vàng nhạt,  $R_f$  0,5 (TLC, silica gel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -axeton 25:1, v/v). EI-MS:  $m/z$  358 ( $\text{M}^+$ ,  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$ ).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,62 (1H, s, H-5), 7,8 (1H, s, H-4), 4,03 (3H, s, 6- $\text{OCH}_3$ ), 3,98 (3H, s, 8- $\text{OCH}_3$ ), 3,95 (3H, s, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3,91 (3H, s, 1- $\text{OCH}_3$ ), 2,34 (3H, s, 3- $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  183,7 (C-9), 183 (C-10), 158,7 (C-6), 155,4 (C-2), 149,4 (C-8), 147,9 (C-1), 142,6 (C-7), 132,5 (C-11), 131,7 (C-3), 128 (C-4), 127,3 (C-14), 126,6 (C-13), 126 (C-12), 106,8 (C-5), 62,3 (8- $\text{OCH}_3$ ), 62,1 (7- $\text{OCH}_3$ ), 61,6 (1- $\text{OCH}_3$ ), 56,8 (6- $\text{OCH}_3$ ), 16,6 (C-15).

**Aurantio-obtusin (5):** Bột vô định hình màu vàng,  $R_f$  0,5 (TLC, silica gel, *n*-hexan-axeton 2:1, v/v). EI-MS:  $m/z$  330 ( $\text{M}^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$ ).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7,85 (1H, s, H-4), 7,2 (1H, s, H-5), 3,97 (3H, s, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3,91 (3H, s, 1- $\text{OCH}_3$ ), 2,35 (3H, s, 3- $\text{CH}_3$ ).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$  &  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,89 (1H, s, H-4), 7,36 (1H, s, H-5), 4,02 (3H, s, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3,93 (3H, s, 1- $\text{OCH}_3$ ), 2,37 (3H, s, 3- $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$  &  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  187,6 (C-9), 181,7 (C-10), 156,7 (C-8), 156,0 (C-6), 154,9 (C-2), 146,8 (C-1), 139,5 (C-7), 132,1 (C-3), 129,1 (C-11), 126,7 (C-4), 125,8 (C-14), 123,6 (C-13), 111,8 (C-12), 108,1 (C-5), 61,6 (7- $\text{OCH}_3$ ), 60,5 (1- $\text{OCH}_3$ ), 16,1 (C-15).  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  13,3 (1H, s, 8-OH), 7,76 (1H, s, H-4), 7,16 (1H, s, H-5), 3,85 (3H, s, 7- $\text{OCH}_3$ ), 3,81 (3H, s, 1- $\text{OCH}_3$ ), 2,29 (3H, s, 3- $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  187,1 (C-9), 180,3 (C-10), 156,9 (C-8), 156,6 (C-6), 155,4 (C-2), 147,2 (C-1),

139,4 (C-7), 131,9 (C-3), 128,5 (C-11), 125,8 (C-4), 124,9 (C-14), 123,7 (C-13), 111,1 (C-12), 107,6 (C-5), 61,2 (7-OCH<sub>3</sub>), 59,9 (1-OCH<sub>3</sub>), 16,4 (3-CH<sub>3</sub>).

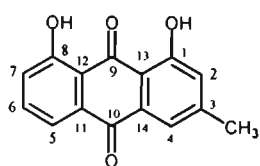
**Obtusin (6):** Bột vô định hình màu vàng, R<sub>f</sub> 0,69 (TLC, silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-axeton 25:1, v/v). EI-MS: *m/z* 344 (M<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 13,0 (1H, s, 8-OH), 7,95 (1H, s, H-4), 7,42 (1H, s, H-5), 6,76 (1H, s, 2-OH), 4,04 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 4,02 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 4,01 (3H, s, 1-OCH<sub>3</sub>), 2,4 (3H, s, 3-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 187,8 (C-9), 181,3 (C-10), 158,1 (C-8), 156,7 (C-6), 153,9 (C-2), 146,3 (C-1), 141,5 (C-7), 131,7 (C-3), 128,9 (C-11), 126,9 (C-4), 126,3 (C-14), 123,2 (C-13), 113,0 (C-12), 103,4 (C-5), 62,3 (7-OCH<sub>3</sub>), 60,9 (1-OCH<sub>3</sub>), 56,5 (6-OCH<sub>3</sub>), 16,3 (C-15).

**Torachryson 8-O-β-gentibiosid (7):** Tinh thể hình kim màu vàng, R<sub>f</sub> 0,2 (TLC, silica gel, EtOAc-MeOH 3:1, v/v). ESI-MS: *m/z* 569,18 ([M-H]<sup>-</sup>, C<sub>26</sub>H<sub>33</sub>O<sub>14</sub>). <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ 7,09 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H-4), 7,07 (1H, s, H-7), 6,85 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-5), 5,14 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-1'), 4,41 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-1''), 4,23 (1H, d, *J* = 10,5 Hz, H-6'), 3,92 (s, 6-OCH<sub>3</sub>), 2,61 (s, 2-COCH<sub>3</sub>), 2,31 (3H, s, 3-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ 209 (2-COCH<sub>3</sub>), 160,3 (C-6), 156,8 (C-8), 153,5 (C-1), 139,1 (C-10), 135,4 (C-3), 124 (C-2), 120,4 (C-4), 110,3 (C-9), 104,9 (C-1''), 104,7 (C-7), 103,8 (C-1'), 102,3 (C-5), 77,9 (C-5''), 77,8 (C-3''), 77,7 (C-3').

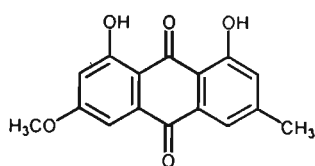
77,4 (C-5'), 74,9 (C-2''), 74,8 (C-2'), 71,5 (C-4''), 71,4 (C-4'), 70,3 (C-6'), 62,6 (C-6''), 56,1 (6-OCH<sub>3</sub>), 32,6 (2-COCH<sub>3</sub>), 20,2 (3-CH<sub>3</sub>).

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

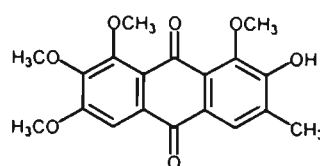
Các anthraquinon từ hạt Thảo quyết minh được chiết 2 pha lỏng theo độ phân cực tăng dần từ một phần chiết MeOH vào *n*-hexan, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> và EtOAc. Phản ứng Bornträger đã xác định sơ bộ sự có mặt của các anthraquinon trong cả 3 phần chiết nhận được. Các phần chiết này đều được phân tách theo một qui trình chung: 1) sắc ký cột gradient trên silica gel và 2) tinh chế các nhóm phân đoạn nhận được bằng các phương pháp sắc ký và kết tinh, dẫn đến sự phân lập của 5 anthraquinon thành phần chính, chrysophanol (1), physcion (3), chryso-obtusin (4), aurantio-obtusin (5) và obtusin (6) cùng với β-sitosterol (2). Phần chiết nước chứa các hợp chất tan trong nước của phần chiết MeOH được phân tách theo một qui trình bao gồm: 1) sắc ký cột gradient trên pha tĩnh Diaion HP-20 với các hệ dung môi MeOH-H<sub>2</sub>O; 2) sắc ký cột gradient các nhóm phân đoạn nhận được trên silica gel; và 3) tinh chế các nhóm phân đoạn nhận được bằng các phương pháp sắc ký và kết tinh để cho các hợp chất 1, 5 và torachryson 8-O-β-gentibiosid (7).



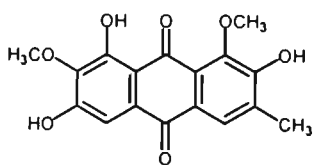
1



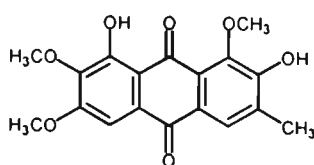
3



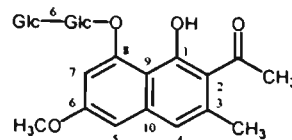
4



5



6



7

Hợp chất 1 đã được phân lập từ phần chiết *n*-hexan dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Phổ <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) của 1 xác định sự có mặt của một nhóm methyl ở δ<sub>H</sub> 2,46 (3H, s), 5 proton của vòng thơm ở δ<sub>H</sub> 7,08 (1H, br s), 7,28 (1H, dd, *J* = 8,5 Hz, 1,0 Hz), 7,63 (1H, d, *J* = 1,0 Hz), 7,66 (1H, t, *J* = 8,5 Hz) và 7,8 (1H, dd, *J* = 8,5 Hz, 1,0 Hz) và các tín hiệu của 2 nhóm hydroxi ở δ<sub>H</sub> 11,9 (1H, s) và 12,1 (1H, s). Các proton của vòng thơm ở δ<sub>H</sub> 7,08 và 7,63 cho thấy sự tồn tại của một cặp proton tương tác *meta* trong một vòng benzen thế 4 lần và một nhóm 3 proton trong một vòng benzen thế 3 lần 1,2,3. Phổ

<sup>13</sup>C-NMR và DEPT của 1 cho thấy sự có mặt của 2 nhóm carbonyl liên hợp ở δ<sub>C</sub> 192,5 và 181,9, 12 nguyên tử carbon của 2 vòng benzen ở δ<sub>C</sub> 162,7; 162,4; 149,3; 136,9; 133,7; 133,3; 124,6; 124,4; 121,4; 119,9; 115,9 và 113,8 và một nhóm methyl gắn với vòng benzen ở δ<sub>C</sub> 22,3 của một cấu trúc anthraquinon. Sự chuyển dịch về phía trường thấp của 2 nhóm hydroxi cho thấy chúng phải tạo liên kết hydro với nhóm carbonyl của quinon và phải ở các vị trí *peri*. Độ chuyển dịch hóa học của 2 nhóm carbonyl quinon (δ<sub>C</sub> 192,5 và 181,9) cho thấy các nhóm *peri*-hydroxi phải ở vị trí C-1 và C-8 của

khung anthraquinon, dẫn đến cấu trúc của **1** là 1,8-đihydroxi-3-metylanthraquinon (chrysophanol); các dữ kiện phổ này hoàn toàn phù hợp với các dữ kiện của tài liệu tham khảo [5 · 7].

Hợp chất **3** đã được phân lập từ phần chiết *n*-hexan dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Phổ EI-MS của **3** cho pic ion phân tử ở  $m/z$  284, cho giả thiết về một công thức phân tử  $C_{16}H_{12}O_5$ . Phổ  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ) của **3** cho 2 tín hiệu singlet ở  $\delta_H$  12,1 (s) và 12,3 (s) đặc trưng cho 2 nhóm hydroxi tạo các liên kết hydro với nhóm cacbonyl, các tín hiệu của 2 cặp proton *meta* của vòng thơm [ $\delta_H$  6,68 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz) và 7,35 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz); 7,07 (1H, m) và 7,61 (1H, m)], một nhóm methyl vòng thơm của một anthraquinon [ $\delta_H$  2,45 (3H, s)] và một nhóm metoxi [ $\delta_H$  3,94 (3H, s)]. Phổ  $^{13}C$ -NMR và DEPT của **3** cho thấy sự có mặt của một hợp chất anthraquinon bao gồm 2 nhóm cacbonyl liên hợp ở  $\delta_C$  190,8 và 182,12 nguyên tử cacbon của vòng thơm ở  $\delta_C$  166,6, 165,2, 162,5, 148,5, 133,2, 135,3, 121,3, 124,5, 113,7, 110,3, 108,2 và 106,8, một nhóm methyl gắn với vòng thơm ở  $\delta_C$  22,2 và một nhóm metoxi gắn với vòng thơm ở  $\delta_C$  56,1. Trên cơ sở các dữ kiện phổ EI-MS và NMR cấu trúc của **3** được phân biệt với chrysophanol bởi nhóm metoxi ở vị trí C-6; do đó **3** đã được xác định là physcion [5].

Hỗn hợp 2 chất **4** và **5** đã được phân lập từ phần chiết *n*-hexan dưới dạng bột vô định hình màu nâu nhạt. Phổ EI-MS của hỗn hợp **4** và **5** cho một pic ion phân tử ở  $m/z$  358, cho giả thiết về một công thức phân tử  $C_{19}H_{18}O_7$ . Phổ  $^1H$ -NMR ( $CD_3OD$ ) cho thấy đây là một hỗn hợp của **4** và **5** với tỉ lệ 5:2. Cả 2 chất này đều có 2 tín hiệu riêng biệt của 2 proton vòng thơm [**4**:  $\delta_H$  7,62 (1H, s) và 7,8 (1H, s); **5**:  $\delta_H$  7,2 (1H, s) và 7,85 (1H, s)] và nhóm methyl vòng thơm của anthraquinon [**4**:  $\delta_H$  2,34 (3H, s); **5**:  $\delta_H$  2,35 (3H, s)] và phân biệt nhau về số nhóm metoxi trong phân tử [**4**:  $\delta_H$  3,91 (3H, s), 3,95 (3H, s), 3,98 (3H, s) và 4,03 (3H, s) (4 nhóm metoxi); **5**:  $\delta_H$  3,91 (3H, s) và 3,97 (3H, s) (2 nhóm metoxi)]. Phổ  $^{13}C$ -NMR và DEPT cho thấy sự có mặt của các tín hiệu của **4** bao gồm 2 nhóm cacbonyl ở  $\delta_C$  183,7 và 183,12 nguyên tử cacbon của vòng thơm của một anthraquinon ở  $\delta_C$  158,7; 155,4; 149,4; 147,9; 142,6; 132,5; 131,7; 128; 127,3; 126,6; 126 và 106,8, 4 nhóm metoxi gắn với vòng thơm ở  $\delta_C$  62,3; 62,1; 61,6 và 56,8 và một nhóm methyl gắn với vòng thơm ở  $\delta_C$  16,6. Trên cơ sở các dữ kiện phổ EI-MS và  $^1H$ -NMR cấu trúc của các hợp chất này đã được xác định là chryso-obtusin (**4**) và aurantio-obtusin (**5**) [5, 8]. Các dữ kiện phổ  $^{13}C$ -NMR của **4** phù hợp với các dữ kiện của tài liệu tham khảo [5].

Chryso-obtusin (**4**) cũng đã được phân lập sạch từ phần chiết  $CH_2Cl_2$  dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt và được xác định bằng các dữ kiện phổ  $^1H$ -NMR. Aurantio-obtusin (**5**) cũng đã được

phân lập sạch từ phần chiết etyl axetat dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Các dữ kiện phổ EI-MS, và  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR và DEPT ( $CDCl_3$  &  $CD_3OD$ ) của **5** đã được bổ sung ở Phần thực nghiệm. Từ phần chiết nước **5** cũng đã được phân lập sạch dưới dạng bột vô định hình màu vàng và được xác định cấu trúc bằng các phân tích phổ NMR được ghi trong DMSO- $d_6$ . Phổ  $^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ ) của **5** cho thấy sự có mặt của 2 tín hiệu singlet của 2 proton cô lập của vòng thơm [ $\delta_H$  7,16 (1H, s) và 7,76 (1H, s)], 2 nhóm metoxi [ $\delta_H$  3,85 (3H, s) và 3,81 (3H, s)] và nhóm methyl liên kết với vòng thơm của một anthraquinon [ $\delta_H$  2,29 (3H, s)]. Phổ  $^{13}C$ -NMR và DEPT xác định các tín hiệu của 2 nhóm metoxi ( $\delta_C$  61,2 và 59,9), nhóm methyl ( $\delta_C$  16,4) và vòng anthraquinon thế 6 lần ( $\delta_C$  187,1 và 180,3 (2 nhóm cacbonyl); 156,9; 156,6; 155,4; 147,2; 139,4; 131,9; 128,5; 125,8; 124,9; 123,7; 111,1 và 107,6 (các nguyên tử cacbon của vòng thơm)]; 2 tín hiệu ở  $\delta_C$  125,8 và 107,6 phù hợp với 2 tín hiệu cộng hưởng từ proton singlet ở  $\delta_H$  7,76 và 7,16. Sự khác biệt giữa độ chuyển dịch hóa học các tín hiệu cộng hưởng từ cacbon-13 đã được tìm thấy cho vòng A của anthraquinon. Sự so sánh với các tín hiệu cacbon 13 của chryso-obtusin (**4**) [9] đã cho thấy sự demethyl hóa đã xảy ra ở vòng này. Sự xuất hiện của tín hiệu ở  $\delta_H$  13,3 (s) cho thấy C-8 phải được liên kết với một nhóm hydroxi; nhóm này tạo liên kết hydro với nhóm cacbonyl ở C-9. Nhóm hydroxi thứ hai của vòng A đã được xác định là ở C-6 trên cơ sở so sánh trực tiếp các dữ kiện phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR của **5** với các hợp chất anthraquinon có cấu trúc tương tự [5, 8], hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của aurantio-obtusin (**5**) [5].

Hợp chất **6** đã được phân lập từ phần chiết  $CH_2Cl_2$  dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Phổ EI-MS của **6** cho pic ion phân tử ở  $m/z$  344 phù hợp với công thức phân tử  $C_{18}H_{16}H_7$ . Phổ  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ) của **6** cho thấy các tín hiệu cộng hưởng từ proton của một nhóm hydroxi liên kết hydro với nhóm cacbonyl [ $\delta_H$  13,0 (1H, s)], 2 proton cô lập của vòng thơm của anthraquinon [ $\delta_H$  7,42 (1H, s) và 7,95 (1H, s)], một nhóm methyl gắn vào vòng thơm [ $\delta_H$  2,4 (3H, s)] và 3 nhóm metoxi ở vòng thơm [ $\delta_H$  4,01 (3H, s), 4,02 (3H, s) và 4,04 (3H, s)]. Phổ  $^{13}C$ -NMR và DEPT của **6** cho thấy sự có mặt của 2 nhóm cacbonyl ở  $\delta_C$  187,8 và 181,3, 12 nguyên tử cacbon của vòng thơm của một anthraquinon ở  $\delta_C$  158,1; 156,7; 153,9; 146,3; 141,5; 131,7; 128,9; 126,9; 126,3; 123,2; 113,0 và 103,4, 3 nhóm metoxi gắn với vòng thơm ở  $\delta_C$  56,5; 60,9 và 62,3 và một nhóm methyl gắn với vòng thơm ở  $\delta_C$  16,3. Các dữ kiện phổ EI-MS và NMR cho thấy **6** có cấu trúc của obtusin khi được so sánh với các dữ kiện phổ của chryso-obtusin (**4**) (hơn một nhóm  $CH_2$ ) do sự demethyl nhóm 8- $OCH_3$  của **4**. Các dữ kiện phổ này phù hợp

với các dữ kiện của tài liệu tham khảo [5, 8].

Hợp chất 7 đã được phân lập từ phần chiết nước dưới dạng tinh thể hình kim màu vàng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) của 7 cho thấy sự có mặt của một cấu trúc của torachryson [27] và 2 proton anomeric của 2 gốc đường [ $\delta_{\text{H}}$  5,14 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz) và 4,41 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz);  $\delta_{\text{C}}$  104,9 và 103,8]. Cấu trúc torachryson của 7 đã được xác định qua các tín hiệu cộng hưởng từ proton và cacbon 13 bao gồm một singlet vòng thơm [ $\delta_{\text{H}}$  7,07 (1H, s)], 2 doublet vòng thơm tương tác *meta* với nhau [ $\delta_{\text{H}}$  7,09 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz) và 6,85 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz)], một nhóm metoxi [ $\delta_{\text{H}}$  3,92 (3H, s) và  $\delta_{\text{C}}$  56,1], một nhóm axetyl [ $\delta_{\text{H}}$  2,61 (3H, s) và  $\delta_{\text{C}}$  32,6] và một nhóm methyl gắn vào vòng thơm [ $\delta_{\text{H}}$  2,31 (1H, s) và  $\delta_{\text{C}}$  20,2]. Các gốc đường đã được xác định là 2 nhóm glucopyranosyl chủ yếu bằng các dữ kiện phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT [ $\delta_{\text{C}}$  103,8; 77,7; 77,4; 74,8; 71,4 và 70,3 (**Glc-I**) và  $\delta_{\text{C}}$  104,9; 77,9; 77,8; 74,9; 71,5 và 62,6 (**Glc-II**). Sự chuyển dịch về phía trường thấp của nhóm 6- $\text{CH}_2$  của một nhóm glucopyranosyl ( $\delta_{\text{C}}$  70,3) cho thấy 2 nhóm đường được liên kết với nhau theo kiểu Glc(1 $\rightarrow$ 6)Glc (nhóm gentibiosyl). Các cấu hình  $\beta$  của các nhóm glucopyranosyl đã được xác định từ các hằng số tương tác của các proton anomeric ( $J = 7,5$  Hz và 8 Hz). So sánh các dữ kiện phổ của 7 với của các torachryson glycosit [9, 10] đã xác định sự liên kết của nhóm gentibiosyl qua O vào C-8 của khung torachryson. Do đó, cấu trúc của 7 đã được xác định là torachryson 8-O- $\beta$ -gentibiosid; chất này đã được phân lập cùng torachryson triglycosid và torachryson tetraglycosid từ hạt *Cassia tora* [9, 10]. Phổ ESI-MS của 7 cho một pic ion  $[\text{M}-\text{H}]^-$  ở  $m/z$  569,18, phù hợp với công thức phân tử  $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$  của torachryson 8-O- $\beta$ -gentibiosid.

$\beta$ -Sitosterol (2) đã được phân lập từ phần chiết *n*-hexan và được nhận dạng bằng các phương pháp TLC và co-TLC.

**Lời cảm ơn:** Công trình nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ của Đề tài Đặc biệt Đại học Quốc gia Hà Nội (QG-08-05).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. G. C. Yen, P. D. Duh, D. Y. Chuang. Food Chemistry, **70**, 437 - 441 (2000).
2. J. M. Cherng, W. Chiang, J. H. Wang, C. M. Lin, C. Y. Lee, C. M. Shih, L. C. Chiang. Food Chemistry, **107**, 1576 - 1580 (2008).
3. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội (1994).
4. Vũ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nxb. Y học, Thành phố Hồ Chí Minh (1997).
5. J. S. Choi, J. H. Jung, J. H. Lee, S. S. Kang, Arch. Pharm. Res., **19**, 302-306 (1996).
6. K. Garua-Sosa, N. Villarreal-Alvarz, P. Liibben, L.M. Pěna-Rodriguez. J. Mex. Chem. Soc., **50**, 76 - 78 (2006).
7. B. K. Rao, T. Hanumaiah, C. P. Rao, G. S. Rao, K. V. J. Rao, R. U. Thomson. Phytochemistry, **22**, 2883 - 2885 (1983).
8. L. Zhu, S. Yu, X. Zeng, X. Fu, M. Zhao. Separation and Purification Technology, **63**, 665 - 669 (2008).
9. A. M. El-Halawany, M. H. Chung, N. Nakamura, C. M. Ma, T. Nishihara, M. Hattori. Chem. Pharm. Bull., **55**, 1476 - 1482 (2007).
10. T. Hatano, H. Uebayashi, H. Ito, S. Shiota, T. Tsuchiya, T. Yoshida. Chem. Pharm. Bull., **47**, 1121 - 1127 (1999).

**Liên hệ: Phan Tổng Sơn**

Khoa Hóa học,

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội

19 Lê Thánh Tông - Hoàn Kiếm - Hà Nội