

CÁC HỢP CHẤT ISOFLAVON VÀ DIHYDROPHENANTHREN TỪ CÂY SỮA BẮC BỘ (*DALBERGIA TONKINENSIS*)

Đến Tòa soạn 5-12-2008

TRẦN ANH TUẤN¹, NGUYỄN TIẾN ĐẠT¹, NGUYỄN HOÀI NAM¹, NGUYỄN QUANG HUNG², TRẦN MINH HỢP², TRẦN HUY THÁI², CHÂU VĂN MINH¹, PHAN VĂN KIÊM¹

¹Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

ABSTRACT

The plants of the *Dalbergia* genus have been used for a long time in Vietnamese traditional medicine. In our continuing study on the chemical constituent and biological activities of medicinal plants, a phytochemical investigation of the methanol extract of *Dalbergia tonkinensis* led to the isolation of two isoflavones (**1**, **2**) and a dihydrophenanthrene (**3**). Their structures were identified by spectroscopic methods including ESI-MS, 1D- and 2D-NMR in comparison with the literature. Compound **3** was found for the first time from the *Dalbergia* species.

I - MỞ ĐẦU

Cây sữa Bắc bộ (*Dalbergia tonkinensis* Prain) thuộc họ Đậu (Fabaceae) là cây gỗ nhỏ phân bố chủ yếu ở vùng Bắc bộ, ngoài ra còn thấy có ở phía Nam Trung Quốc. Trong y học cổ truyền của Việt Nam và Trung Quốc, nhiều loài trong chi *Dalbergia* đã được sử dụng để chữa trị các bệnh về xương khớp, đường tiêu hóa, mụn nhọt, ngoại thương xuất huyết [1]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Dalbergia* cho thấy sự có mặt của nhóm chất flavonoid, rotenoid, quinon... cùng với hoạt tính kháng khuẩn, chống viêm, ức chế sự sản sinh NO. Tuy nhiên, hầu như chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của cây sữa Bắc bộ tại Việt Nam cũng như trên thế giới. Bài báo này thông báo những kết quả nghiên cứu ban đầu về thành phần hóa học của cây sữa Bắc bộ. Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, các hợp chất genistein (**1**), lanceolarin (**2**) và 9,10-*threo*-3-[7-(3,10-dihydroxy-9-hydroxymethyl-2,5-dimethoxy)-9,10-

dihydrophenanthrenyl]propenal (**3**) đã được phân lập. Cấu trúc hóa học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ.

II - THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Phương pháp tách chiết

- Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ và RP₁₈ F₂₅₄ (Merck-Đức). Các vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 và 368 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% phun đều lên bản mỏng rồi sấy ở nhiệt độ cao cho đến khi hiện màu.

- Sắc ký cột (CC) được tiến hành với chất hấp phụ pha thường (Silica gel 240-430 mesh, Merck) hoặc pha đảo (ODS-60-14/63, Fujisilisa-Nhật Bản).

2. Các phương pháp phổ

- Phổ khối lượng phun mù điện tử (ESI-MS) được đo trên máy AGILENT 1200 LC-MSD

Trap của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

3. Mẫu thực vật

Mẫu cây sưa Bắc bộ được thu hái vào tháng 8 năm 2008 tại Hà Nội và được TS Trần Thị Phương Anh, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật giám định. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

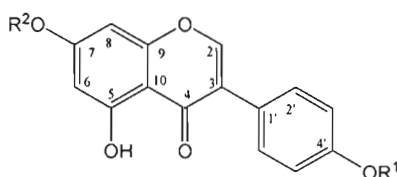
4. Phân lập các chất

Mẫu cây đã phơi khô, xay nhỏ (1,9 kg) được chiết hồi lưu ba lần với MeOH, dịch chiết được gom lại rồi cô cạn thu được 31 g cặn chiết. Cặn MeOH sau đó được hòa vào nước và chiết phân đoạn bằng CHCl_3 thu được 7 g cặn CHCl_3 . Phần nước còn lại được lọc qua cột trao đổi ion (Dianion HP20) rồi rửa giải bằng metanol/nước (30/70, 70/30 và 100/0, v/v). Phân đoạn rửa bằng 70% MeOH được chạy qua cột sắc ký silica gel với hệ dung môi CHCl_3 -MeOH- H_2O (30:10:1, v/v/v) thu được hợp chất 1 màu vàng (250 mg). Cặn chiết CHCl_3 được tách thành ba phân đoạn nhỏ (F1-3) bằng cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải CHCl_3 - Me_2CO (2/1, v/v). Hợp chất 2 (12 mg) và 3 (15 mg) thu được từ phân đoạn F2 và F3 tương ứng bằng sắc ký cột pha thường và pha đảo với hệ dung môi thích hợp.

Genistein (1): $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$. Chất rắn màu nâu nhạt; *ESI-MS* *m/z*: 271 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 6,22 (1H, br s, H-8), 6,32 (1H, br s, H-6), 6,86 (2H, br d, $J = 8,0$ Hz, H-3', H-5'), 7,37 (2H, br d, $J = 8,0$ Hz, H-2', H-6'), 8,00 (1H, br s, H-2); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 182,1 (C-4), 165,7 (C-4'), 163,6 (C-7), 159,5 (C-5), 158,6 (C-9), 154,5 (C-2), 131,2 (C-2',6'), 124,6 (C-1'), 123,2 (C-3), 116,2 (C-3',5'), 106,2 (C-10), 100,0 (C-6) và 94,7 (C-8).

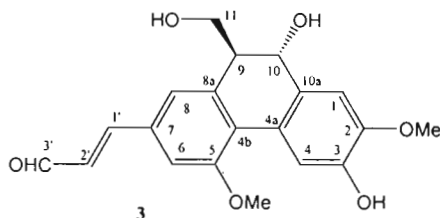
Lanceolarin (2): $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$. Chất rắn màu nâu nhạt; *ESI-MS* *m/z*: 579 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : aglycone: 3,85 (3H, br s, OMe), 6,56 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,74 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 7,00 (2H, br d, $J = 8,0$ Hz,

H-3', H-5'), 7,50 (2H, br d, $J = 8,0$ Hz, H-2', H-6'), 8,15 (1H, br s, H-2); Glucose: 5,00 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1"), 3,50 (1H, m, H-2"), 3,69 (1H, m, H-3'), 3,36 (1H, m, H-4"), 3,51 (1H, m, H-5"), 3,65 (1H, m, H_a-6"), 4,08 (1H, m, H_b-6"); Apiose: 4,99 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H-1'''), 3,96 (1H, m, H-2'''), 4,04 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-4a'''), 3,80 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-4b''') và 3,63 (2H, br s, H-5'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : aglycone: 182,4 (C-4), 159,2 (C-4'), 161,5 (C-7), 163,5 (C-5), 157,2 (C-9), 155,4 (C-2), 131,3 (C-2',6'), 124,5 (C-1'), 124,8 (C-3), 115,0 (C-3',5'), 108,1 (C-10), 101,4 (C-6), 96,2 (C-8), 55,8 (OMe); Glucose: 101,8 (C-1''), 74,8 (C-2''), 78,1 (C-3''), 71,7 (C-4''), 77,3 (C-5''), 69,0 (C-6''); Apiose: 111,2 (C-1'''), 78,3 (C-2'''), 80,4 (C-3'''), 75,1 (C-4''') và 66,0 (C-5''').



1: $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$

2: $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = -\beta\text{-D-apiofuranosyl-(1->6)-}\beta\text{-D-glucopyranoside}$



Hình 1: Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-3

9,10-threo-3-[7-(3,10-dihydroxy-9-hydroxymethyl-2,5-dimethoxy)-9,10-dihydrophenanthrenyl]propenal (3): $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$. Chất rắn màu vàng. *ESI-MS* *m/z*: 357 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ_{H} : 3,67 (1H, m, H-9), 3,89 (3H, s, 2-OMe), 3,93 (3H, s, 5-OMe), 3,97 (2H, m, H-11), 5,64 (1H, d, $J = 7,0$ Hz, H-10), 6,60 (1H, dd, $J = 7,5, 15,5$ Hz, H-2'), 6,89 (1H, br s, H-4), 6,90 (1H, br s, H-1), 7,04 (1H, s, H-6), 7,13 (1H, s, H-8), 7,40 (1H, d, $J = 15,5$ Hz,

H-1') và 9,63 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-3'); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ_c : 53,0 (C-9), 56,0 (2-OMe), 56,1 (5-OMe), 63,9 (C-11), 88,9 (C-10), 108,7 (C-4), 112,3 (C-6), 118,1 (C-8), 119,4 (C-1), 126,4 (C-2'), 128,1 (C-7), 129,1 (C-8a), 132,2 (C-4a, C-10a), 144,5 (C-5), 145,9 (C-3), 146,7 (C-2), 151,5 (C-4b), 153,0 (C-1') và 193,5 (C-3').

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** được tách ra dưới dạng bột màu nâu nhạt, phổ khối lượng ESI-MS cho thấy **1** có công thức phân tử $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ với sự xuất hiện của pic ion m/z 271 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **1** có các tín hiệu proton của hệ spin A_2B_2 [δ_H 6,86 (2H, br d, $J = 8,0$ Hz, H-3' và H-5') và 7,37 (2H, br d, $J = 8,0$ Hz, H-2' và H-6')] chứng tỏ sự có mặt của một vòng thơm thế *para*, hai proton ở vị trí *meta* của vòng thơm [δ_H 6,22 (1H, br s, H-8) và 6,32 (1H, br s, H-6)] và một tín hiệu singlet ở trường thấp δ_H 8,00 (1H, br s, H-2) gợi ý **1** có dạng khung isoflavone. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ khẳng định **1** là một isoflavone với sự xuất hiện của 13 pic (trong đó có hai pic chập với cường độ cao hơn) với một tín hiệu cacbon bậc 3 tại trường thấp δ_c 154,5 là do liên hợp với một nhóm cacbonyl ở vị trí *beta*. Kết hợp các dữ kiện này và so sánh với tài liệu tham khảo cho thấy hợp chất **1** là genistein, một hợp chất rất phổ biến trong các cây thuộc họ Đậu [2, 3].

Hợp chất **2** cũng thu được dưới dạng bột màu nâu nhạt. Phổ ^1H và $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy **2** cũng có khung isoflavone giống hợp chất **1** nhưng có thêm sự xuất hiện của một nhóm methoxy, một nhóm đường glucose và một nhóm đường apiose. Phổ ESI-MS của **2** cho pic ion m/z 579 $[\text{M}+\text{H}]^+$ lớn hơn 208 Da so với chất **1** khẳng định sự có thêm các nhóm methoxy, glucose và apiose. Tín hiệu C-6'' của đường glucose dịch chuyển về trường thấp δ_c 69,0 chứng tỏ nhóm apiose gắn vào vị trí này. Phổ HMBC của **1** cho thấy tương tác của proton của nhóm methoxy với C-4' (δ_c 159,2), proton anome H-1'' (δ_H 5,00) của glucose tương tác với C-7 (δ_c 164,8) và proton anome H-1''' (δ_H 4,99) của apiose tương tác với C-6'' (δ_c 69,0) của glucose. Các dữ kiện

phổ của **2** hoàn toàn phù hợp với các dữ kiện đã công bố cho hợp chất lanceolarin [4]. Như vậy chất **2** được xác định là lanceolarin, một isoflavone glucosid đã biết từ chi *Dalbergia* [4].

Hợp chất **3** là một chất bột màu vàng. Phổ ^1H và $^{13}\text{C-NMR}$ của **3** cho thấy sự xuất hiện của một nhóm propenal nhờ vào các tín hiệu của hệ spin AMX với δ_H 7,40 (1H, d, $J = 15,5$ Hz, H-1'), 6,60 (1H, dd, $J = 7,5, 15,5$ Hz, H-2'), 9,63 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-3') và δ_c 153,0 (C-1'), 126,4 (C-2'), 193,5 (C-3'). Hằng số tương tác $J = 15,5$ Hz giữa hai proton H-1' và H-2' chứng tỏ nối đôi này có cấu hình *trans*. Các tín hiệu singlet của 4 proton trên hai vòng thơm cùng với sự có mặt của một nhóm metin tại δ_c 53,0 (C-9), một nhóm oximetin tại δ_c 88,9 (C-10) và một nhóm oximetilen δ_c 63,9 (C-11) cho thấy **3** có dạng khung dihydrophenanthrene [5, 6]. Cấu hình tương đối ở hai vị trí H-9 và H-10 được xác định có dạng *threo*- do hai proton này có hằng số tương tác $J = 7,0$ Hz. Phổ hai chiều HMBC của **3** cho thấy tương tác giữa H-2' (δ_H 6,60) với C-7 (δ_c 128,1), giữa H-1' (δ_H 7,40) với C-6 (δ_c 112,3) và C-8 (δ_c 118,1) khẳng định nhóm propenal dính vào vị trí C-7. Ngoài ra trong cấu trúc của **3** còn có hai nhóm methoxy có δ_H 3,89 (2-OMe) và 3,93 (5-OMe) được xác định gắn vào vị trí C-2 (δ_c 146,7) và C-5 (δ_c 144,5) dựa trên tương tác H \rightarrow C quan sát thấy trên phổ HMBC. Ngoài ra, sự xuất hiện pic m/z 357 $[\text{M}+\text{H}]^+$ trên phổ ESI-MS hoàn toàn phù hợp công thức phân tử là $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$. Kết hợp các dữ kiện này và so sánh với tài liệu tham khảo [5], hợp chất **3** được xác định là 9,10-*threo*-3-[7-(3,10-dihydroxy-9-hydroxymethyl-2,5-dimethoxy)-9,10-dihydrophenanthrenyl]-propenal. Đây là lần đầu tiên khung dihydrophenanthren được tìm thấy trong chi *Dalbergia*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, 1252 - 1255 (1999).
2. P. K. Agrawal. Carbon-13 NMR of Flavonoids, Elsevier, the Netherlands, trang 196 (1989).

3. R. A. Dixon, F. Daneel. *Phytochemistry*, Vol 60, 205 - 211 (2002).
4. P. S. Rao, Y. Asheervadam, M. Khalilullah, V. V. S. Murti. *Phytochemistry*, Vol. 28, 957 - 958 (1989).
5. M. G. Dijoux-Franca, D. N. Tchamo, B. Cherel, M. Cussac, E. Tsamo, A. M. Mariotte. *Journal Natural Products*, Vol. 64, 832 - 835 (2001).
6. P. L. Majumder, S. Banerjee, D. C. Maiti, S. Sen. *Phytochemistry*, Vol. 39, 649 - 653 (1995).

Liên hệ: **Phan Văn Kiêm**

Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
Email: phankiem@yahoo.com