

## PHÂN LẬP VÀ NHẬN DẠNG SESQUITECENOIT TỪ THÂN RỄ NGHỆ XANH (*CURCUMA* AFF. *AERUGINOSA* ROXB.)

Phan Minh Giang, Đào Quốc Hùng, Phan Tổng Sơn

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

### SUMMARY

From the rhizomes of *Curcuma* aff. *aeruginosa* Roxb. (Zingiberaceae) growing in the suburb of Hanoi the sesquiterpenoids cardione and zederone were isolated and identified on the basis of their spectral data (MS, IR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT). For the first time zederone, a furanogermacrane-type epoxyketone, was isolated from *Curcuma* aff. *aeruginosa* Roxb..

### PHÂN MỞ ĐẦU

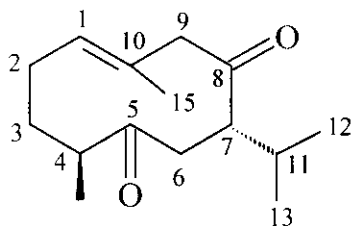
Chi *Curcuma* (Zingiberaceae) là một chi khá phổ biến ở Việt Nam với ít nhất 16 loài được tìm thấy cho đến nay, trong số đó có nhiều loài được dùng làm thuốc trong y học dân gian, như Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.), Nghệ đen (*C. zedoaria* (Berg.) Roscoe), Nghệ rễ vàng (*C. xanthorrhiza* Roxb.), Nghệ ten đồng (*C. aeruginosa* Roxb.), Nghệ trắng (*C. aromatica* Salisb.) [1,2,3]. Bên cạnh đó các loài *Curcuma* còn là nguồn cung cấp nhiều hoạt chất sinh học có giá trị.

Trong thời gian gần đây một loài *Curcuma* có hình thái thực vật khá tương tự loài Nghệ ten đồng (*C. aeruginosa* Roxb.) được trồng nhiều ở một số nơi thuộc ngoại thành Hà Nội để lấy nguyên liệu làm thuốc. Qua thực tế, nhân dân trong vùng phân biệt cây này với cây Nghệ ten đồng ở chỗ lát cắt thân rễ của nó có màu xanh thẫm hơn màu xanh ten đồng, tức ngả về màu xanh mực Cừu Long. Để phân biệt với Nghệ ten đồng (*C. aeruginosa* Roxb.) [1, 3], chúng tôi tạm gọi cây này là Nghệ xanh (*Curcuma* aff. *aeruginosa* Roxb.). Cho đến nay các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây Nghệ xanh này mới chỉ được thực hiện bởi nhóm nghiên cứu của chúng tôi [4,5,6]. Các nghiên cứu này đã cho thấy cây Nghệ xanh có thể là nguồn cung cấp một số sesquitecenoit có giá trị [5,6]. Trong bài này chúng tôi nêu kết quả nghiên cứu phân lập và nhận dạng một số sesquitecenoit chủ yếu từ thân rễ Nghệ xanh.

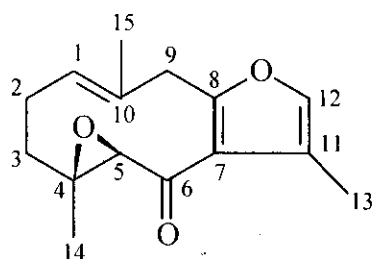
### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bột khô thân rễ Nghệ xanh (*C. aff. aeruginosa* Roxb.) được ngâm chiết nhiều lần với metanol ở nhiệt độ phòng. Sau khi gộp chung, dịch chiết metanol được cô bớt dung môi dưới áp suất giảm, rồi pha loãng với nước. Dịch metanol-nước được phân bố lần lượt với n-hexan, etyl axetat và n-butanol để thu các dịch chiết tương ứng. Sau khi cất loại dung môi, ta thu được một cách tương ứng các phần chiết n-hexan (H, hiệu suất: 3,14% so với nguyên liệu thực vật khô), etyl axetat (E, 0,60%), và n-butanol (B, 0,14%).

Thử định tính sự có mặt của các lớp chất bằng các phản ứng thử đặc trưng [7] đã cho thấy phần chiết n-hexan (H) chứa tập trung các tecpenoit. Phần chiết H được phân tách nhiều lần bằng sắc ký cột (CC và FC) trên silica gel, rồi sau khi kết tinh lại đã cho hai chất tinh khiết (1 và 2).



1. Curdion



2. Zederon

Phổ khối lượng của chất 1 (đnc: 60°C) có đỉnh ion phân tử  $M^+$  ở  $m/z$  236. Trên phổ hồng ngoại của 1 xuất hiện các dải hấp thụ đặc trưng ở 1703  $\text{cm}^{-1}$  (xiclodecanon); 1667 và 795  $\text{cm}^{-1}$  (nổi đôi với ba nhóm thế); 1416  $\text{cm}^{-1}$  (nhóm metylen ở kề sát nhóm cacbonyl).

Trên phổ  $^1\text{H}$  NMR xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng ở  $\delta$  (ppm) 1,66 (3H, s) và 5,16 (1H, d,  $J = 8,1$  Hz) có nguồn gốc từ một nhóm methyl vinylic và một proton vinylic. Các tín hiệu ở  $\delta$  (ppm) 0,88 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz), 0,95 (3H, d,  $J = 6,7$  Hz) và 1,88 (1H, dq,  $J = 2,1$  Hz, 6,7 Hz, 6,7 Hz) là của nhóm  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ; và ở 0,98 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz) là của nhóm methyl bậc hai còn lại.

Trên phổ  $^{13}\text{C}$  NMR xuất hiện rõ 15 tín hiệu, trong số đó hai tín hiệu là của hai nhóm cacbonyl ở  $\delta$  (ppm) 211,1 và 215,0, và hai là của nối đôi  $\text{C}=\text{C}$  ở  $\delta$  (ppm) 129,8 và 131,5. Các khảo sát phổ  $^{13}\text{C}$  NMR cũng cho thấy sự có mặt của bốn nhóm  $\text{CH}_2$ , bốn nhóm  $\text{CH}_3$  và bốn nhóm  $\text{CH}$  (trong số đó một nhóm là của nối đôi  $\text{C}=\text{C}$ ).

Các dữ kiện phổ nêu ở trên hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của curdion (1)[8]. Cho đến nay curdion chưa được tìm thấy trong loài *C. aeruginosa*.

Chất 2 có công thức phân tử  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$  (HR-MS). Phổ hồng ngoại của 2 có các tín hiệu của một xeton  $\alpha,\beta$ -không no (1674  $\text{cm}^{-1}$ ) và một vòng epoxit (846  $\text{cm}^{-1}$ ).

Phổ  $^{13}\text{C}$  NMR và DEPT của 2 có các tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon, bao gồm một nhóm cacbonyl xetonic ( $\delta$  192,1 ppm, s), hai cacbon của vòng epoxit ( $\delta$  63,9 (s) và 66,5 ppm (d)), ba nối đôi (4  $\text{C}=\text{C}$  và 2  $\text{CH}=\text{C}$ ), ba nhóm metylen và ba nhóm methyl.

Phổ  $^1\text{H}$  NMR chỉ ra tín hiệu đặc trưng cho  $\alpha$ -proton ( $\delta$  7,08 ppm, sbr) và  $\beta$ - $\text{CH}_3$  ( $\delta$  2,10 ppm, sbr) của vòng furan thế ba lần (IR: 1541, 1108  $\text{cm}^{-1}$ ); proton vinylic ( $\delta$  5,48 ppm, dd,  $J = 4$  Hz, 12 Hz); nối đôi này không thể liên hợp với nhóm cacbonyl, do đó nhóm cacbonyl chỉ có thể liên hợp với vòng furan và ở vị trí kề với nhóm oxometin ( $\delta$  3,81 ppm, s); một nhóm methyl gắn với vòng epoxy ( $\delta$  1,34 ppm, s); và một nhóm vinyl methyl ( $\delta$  1,60 ppm, s).

Các dữ kiện phổ nêu trên kết hợp với các phổ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY và HMQC đã chứng minh rằng 2 là zederon [9]. Trên cơ sở của phổ NOESY chúng tôi cũng đã xác định được cấu hình của zederon (2). Đây là lần đầu tiên zederon được tìm thấy ở cây Nghệ xanh (*C. aff. aeruginosa* Roxb.)

Curdion và zederon là hai sesquiterpenoit có cấu trúc lý thú. Curdion đã được thông báo là có hoạt tính chống khối u [10].

## PHÂN THỰC NGHIỆM

### Thiết bị và phương pháp

Các điểm nóng chảy được đo bằng dụng cụ Electrothermal model 9100 và không

được hiệu chỉnh. Các phổ NMR được ghi với thiết bị Bruker Avance 500 (500 MHz cho  $^1\text{H}$  NMR và 125 MHz cho  $^{13}\text{C}$  NMR). Các phổ IR được ghi trên thiết bị Nicolet Impact 410 FT-IR. Phổ HR-MS được ghi trên thiết bị Finnigan MAT 95 SQ. Các phổ EIMS (70 eV) được ghi trên các thiết bị Hewlett Packard HP 5898B và Finnigan MAT 95 SQ.

Sắc ký cột (CC và FC) được tiến hành trên silica gel (Merck, 63-100 ăm cho CC và 15-40 ăm cho FC). Sắc ký lớp mỏng (TLC) được tiến hành trên bản mỏng tráng sẵn silica gel DC Alufolien 60 F<sub>254</sub> (Merck), vết chất được phát hiện bằng đèn UV ở bước sóng 254 nm và phun thuốc thử vanilin/conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%.

### Nguyên liệu thực vật

Thân rễ nghệ xanh (*Curcuma aff. aeruginosa* Roxb.) (30 kg) được thu thập ở Phú Thọ, ngoại thành Hà Nội, vào tháng 2 năm 2004. Sau khi được rửa sạch và thái lát mỏng, nguyên liệu này được hong khô ở ngoài không khí, rồi sấy khô ở nhiệt độ 40-50°C và xay thành bột mịn. Kết quả thu được 5 kg bột khô thân rễ Nghệ xanh khô.

### Điều chế các phân chiết

5 kg Bột thân rễ Nghệ xanh khô được ngâm chiết với metanol ở nhiệt độ phòng (3 lần; mỗi lần trong ba ngày). Các dịch chiết metanol được gộp chung và cô quay dưới áp suất giảm cho đến còn 1/10 thể tích. Pha loãng dịch metanol bằng nước, rồi chiết lần lượt với n-hexan, etyl axetat và n-butanol. Các dịch chiết được làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, cất loại kiệt dung môi dưới áp suất giảm để thu được các phân chiết tương ứng: phân chiết n-hexan (H, 157 g), etyl axetat (E, 30 g), và n-butanol (B; 7 g).

### Phân lập curdion (1) và zederon (2) từ phân chiết n-hexan (H)

Tiến hành sắc ký cột với 10 g phân chiết n-hexan (H) trên 100 g silica gel (cỡ hạt 63-100 ăm). Giải hấp phụ bằng hệ dung môi n-hexan : etyl axetat (tỷ lệ 100:0, 98:2, 90:1, 80:2, 50:50, v/v), thu 189 phân đoạn (mỗi phân đoạn 20 ml), được gom lại thành 17 nhóm phân đoạn (H1- H17).

Nhóm phân đoạn H3 (pđ 28-33, 0,2 g) được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh (FC) với silica gel (15-40 ăm), rửa giải bằng n-hexan : etyl axetat (tỷ lệ 98:2, 90:10, v/v), rồi kết tinh lại trong n-hexan, thu được 70 mg curdion (1).

Nhóm phân đoạn H7 (pđ 68-77, 0,4 g) được kết tinh lại trong axeton, thu được 150 mg zederon (2).

### Curdion (1)

Tinh thể hình kim, không màu. Đnc: 60°C. R<sub>f</sub> = 0,65 (TLC, silica gel, hệ dung môi: n-hexan : etyl axetat, 9:1). IR (CCl<sub>4</sub>): λ<sub>max</sub> 1703, 1667, 1416, 795 cm<sup>-1</sup>. MS: m/z (%) 236 (2,9; M<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>).  $^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 0,88 (3H, d, J = 6,7 Hz, 11-CH<sub>3</sub>), 0,95 (3H, d, J = 6,7 Hz, 11-CH<sub>3</sub>), 0,98 (3H, d, J = 7,0 Hz, 4-CH<sub>3</sub>), 1,58 (1H, dddd, J = 4,1 Hz, 3,2 Hz, 3,1 Hz, 3,0 Hz; H<sub>α</sub>-3), 1,66 (3H, s, 10-CH<sub>3</sub>), 1,88 (1H, dq, J = 2,1 Hz, 6,7 Hz, 6,7 Hz, H-11), 2,07-2,16 (3H, m, 2H-2, H<sub>β</sub>-3), 2,34 (1H, m, H-4), 2,39 (1H, dd, J = 2,2 Hz, 14 Hz, H<sub>β</sub>-6), 2,69 (1H, dd, J = 8,4 Hz, 8,0 Hz, H<sub>α</sub>-6), 2,85 (1H, ddd, J = 1,9 Hz, 6,9 Hz, 7,0 Hz, H-7), 2,93 (1H, d, J = 10,9 Hz, H<sub>α</sub>-9), 3,09 (1H, d, J = 10,9 Hz, H<sub>β</sub>-9), 5,16 (1H, d, J = 8,1 Hz, H-1).  $^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 16,55 (q, C-15); 18,52 (q, C-14); 19,83 (q, C-12); 21,1 (q, C-13); 26,38 (t, C-2), 29,97 (d, C-11); 34,02 (t, C-3), 44,21 (t, C-6); 46,78 (d, C-4); 53,38 (d, C-7); 55,89 (t, C-9); 129,8 (s, C-10); 131,5 (d, C-1); 211,1 (s, C-5); 215 (s, C-8).

**Zederon (2)**

Tinh thể hình kim, không màu, đnc 150 °C.  $R_f = 0,77$  (TLC, silica gel, hệ dung môi: n-hexan : etyl axetat, 8:2). IR ( $CCl_4$ ):  $\lambda_{max}$  1674, 1541, 1108, 846  $cm^{-1}$ . HR-MS:  $C_{15}H_{18}O_3$ . MS: m/z (%): 246 (7,8;  $M^+$ ,  $C_{15}H_{18}O_3$ ).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3, \delta$ , ppm): 1,27 (1H, ddd,  $J = 4,1$  Hz, 13,3 Hz, 13,5 Hz;  $H_{\beta-3}$ ), 1,34 (3H, s, 4- $CH_3$ ), 1,60 (3H, s, 10- $CH_3$ ), 2,10 (3H, sbr, 11- $CH_3$ ), 2,24 (1H, dbr,  $J = 13,5$  Hz,  $H_{\beta-2}$ ), 2,28 (1H, ddd,  $J = 3,5$  Hz, 3,5 Hz, 13,0 Hz,  $H_{\alpha-3}$ ), 2,50 (1H, dddd,  $J = 3,5$  Hz, 12,0 Hz, 13,5 Hz, 13,5 Hz,  $H_{\alpha-2}$ ), 3,66 (1H) và 3,73 (1H), hệ AB,  $J = 16,0$  Hz (2H-9), 3,81 (1H, s, H-5), 5,48 (1H, dd,  $J = 4$  Hz, 12 Hz, H-1), 7,08 (1H, sbr, H-12).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3, \delta$ , ppm): 10,2 (q, C-13), 15,1 (q, C-15), 15,7 (q, C-14), 24,6 (t, C-2), 37,9 (t, C-3), 41,8 (t, C-9), 63,9 (s, C-4), 66,5 (d, C-5), 122,1 (s) và 131,0 (s) (C-7 và C-10), 123,2 (s, C-11), 131,1 (d, C-1), 138,0 (d, C-12), 157,0 (s, C-8), 192,1 (s, C-6).

**KẾT LUẬN**

Từ thân rễ cây Nghệ xanh (*Curcuma aff. aeruginosa* Roxb., Zingiberaceae) được trồng ở ngoại thành Hà Nội đã phân lập được các sesquiterpenoit curdion và zederon; cấu trúc của các hợp chất này đã được xác định dựa trên các dữ kiện phổ (IR, MS,  $^1H$  NMR,  $^{13}C$  NMR, DEPT) của chúng. Đây là lần đầu tiên zederon, một hợp chất epoxyxeton kiểu furanogermacran, được phân lập từ cây Nghệ xanh.

Công trình này được hoàn thành với sự hỗ trợ của Chương trình Nghiên cứu cơ bản trong lĩnh vực Khoa học tự nhiên và International Foundation for Science (IFS).

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Phạm Hoàng Hộ, *Cây cỏ Việt Nam*, An Illustrated Flora of Vietnam, Tome III, Fascicle 1, p. 562-567, Published by the Author, Montreal (1993).
2. Nguyễn Quốc Bình, *Tạp chí Sinh học*, T.17, số 4, tr. 135-137 (1995).
3. Võ Văn Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, tr. 836-838, Nhà Xuất bản Y học, Hà Nội và Thành phố Hồ Chí Minh (1997).
4. Văn Ngọc Hương, Phan Minh Giang, Phan Tổng Sơn, *Tạp chí Hóa học*, T. 35, số 2, tr. 52-56 và 74 (1997).
5. Phan Minh Giang, Văn Ngọc Hương, Phan Tổng Sơn, *Tạp chí Hóa học*, T. 36, số 3, tr. 67-72 (1998).
6. Phan Minh Giang, Văn Ngọc Hương, Phan Tổng Sơn, *Tạp chí Hóa học*, T. 38, số 1, tr. 91-94 (2000).
7. Richard J. P. Cannell (editor), *Natural Products Isolation*, p. 217-222, Humana Presss, New Jersey (1998).
8. Y. Asakawa, H. Takahashi and M. Toyota, *Phytochemistry*, Vol. 30, p. 3993-3997 (1991).
9. H. Shibuya, Y. Hamamoto, Y. Cai, and I. Kitagawa, *Chem. Pharm. Bull.*, Vol. 35, p. 924-927 (1987).
10. R. Zhao, Y. Wu, *Acta chim. Sin.* (Engl. Ed.) 1989 (1), p. 86-87; x. Chem. Abstr. Vol. 112, 98868t (1990).