

CÁC HỢP CHẤT LIGNAN VÀ STEROIT PHÂN LẬP TỪ CÂY MỠ PHÚ THỌ (MANGLIETIA PHUTHOENSIS)

MAI ĐÌNH TRỊ¹, PHAN VĂN KIỆM¹,
LÊ VÕ ĐỊNH TƯỜNG¹, NGUYỄN NGỌC HẠNH²
TRẦN HỒNG QUANG¹, CHÂU VĂN MINH¹

¹Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên

Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Công nghệ Hóa học

Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

SUMMARY

From the methanolic extract of the leaves of *Manglietia phuthoensis* Dandy (*Magnolia phuthoensis* Dandy), Magnoliaceae four compounds (+)-lariciresinol (**1**), (+)-syringaresinol (**2**), β -sitosterol (**3**), daucosterol (**4**) were isolated. Their structures were identified by means of ESI-MS spectrometry and 2D NMR techniques, namely, ¹H-¹H COSY, HMQC and HMBC in comparison with the literature.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây mỡ Phú Thọ có tên khoa học là *Manglietia phuthoensis* Dandy (*Magnolia phuthoensis* Dandy) thuộc họ Magnoliaceae [1] là loài cây đặc hữu của Việt Nam, cây cao đến 20m và thường được trồng để lấy gỗ. Những nghiên cứu về Chi *Magnolia* (*Manglietia*) cho thấy, nhóm chất chính là các lignan, oligolignan, các polyphenol và flavonoid [2-5]. Tuy nhiên, cho tới nay chưa có một công trình nghiên cứu nào ở trong và ngoài nước về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của cây thuốc này. Trong chương trình nghiên cứu

sàng lọc các cây thuốc dân tộc Việt Nam theo định hướng chống oxy hoá của chúng tôi, dịch chiết metanol của cây mỡ Phú Thọ có hoạt tính cao và được lựa chọn là đối tượng nghiên cứu tiếp theo về thành phần hoạt tính của cây thuốc này. Bằng các phương pháp sắc ký cột kết hợp với sắc ký lớp mỏng điều chế, hai hợp chất lignan (+) lariciresinol (**1**), (+)-syringaresinol (**2**) và hai hợp chất steroid là β -sitosterol (**3**) và daucosterol (**4**) đã được phân lập. Cấu trúc hoá học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Phương pháp chung

a. Phương pháp phân lập các hợp chất

⊞ Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP₁₈ F_{254s} (Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254nm và 368nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng trên bếp điện từ từ đến khi hiện màu.

⊞ Sắc ký cột (CC) được tiến hành với chất hấp phụ là Silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063mm (240-430 mesh). Silica gel pha đảo YMC (30-50 μ m, Fujisilica Chemical Ltd.).

b. Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất

⊞ Điểm nóng chảy (Mp) được đo trên máy Kofler

micro-hotstage.

Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer.

2. Mẫu thực vật

Cây mỡ Phú Thọ được thu hái vào tháng 12 năm 2006 tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc. Mẫu cây được TS Chu Văn Cường, Vườn Quốc Gia Tam Đảo và TS. Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định.

3. Phân lập các hợp chất

Lá cây mỡ Phú Thọ (7kg) được rửa sạch, phơi khô, nghiền nhỏ thành bột và chiết với metanol thu được 120g dịch cô metanol. Dịch cô metanol này được bổ sung vào 4 lít nước cất và chiết lần lượt bằng hexan, clorofoc, etyl axetat và n-butanol thu được 21g dịch cô

hexan, 25g dịch cô clorofoc, 18g dịch cô etyl axetat và 15g dịch cô n-butanol. Dịch cô clorofoc (25g) được tiến hành phân lập bằng các sắc ký cột lặp lại với chất hấp phụ là silica gel thu được các hợp chất **1** (80mg) và **2** (34mg) dưới dạng chất rắn không màu, hợp chất **3** (210mg) dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng và **4** (25mg) dưới dạng chất rắn vô định hình có màu trắng.

(+) **Lariciresinol (1)**: Nhiệt độ nóng chảy 166-167°C; ESIMS m/z 361 [M+H]⁺ (C₂₀H₂₄O₆). ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) (bảng 1).

(+) **Syringaresinol (2)**: Nhiệt độ nóng chảy 175-176°C; [α]²⁵_D 62,5° (CHCl₃); ESIMS m/z 419 [M+H]⁺ (C₂₂H₂₆O₈). ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) (bảng 2).

β **Sitosterol (3)**: Nhiệt độ nóng chảy 136-137°C; [α]²⁵_D - 35,0° (CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5,37 (br d, J = 5,1 Hz, H-6), 3,54 (tt, J = 5,1, 11,7 Hz, H-3), 0,68 (3H, s, H-18), 1,01 (3H, s, H-19), 0,92 (3H, d, J = 6,5 Hz), 0,83 (3H, d, J = 7,3 Hz, H-26), 0,81 (3H, d, J = 6,8 Hz, H-27) và 0,84 (3H, t, J = 7,5 Hz, H-29); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 37,67 (C-1), 32,05 (C-2), 72,19 (C-3), 42,70 (C-4), 141,17 (C-5), 122,50 (C-

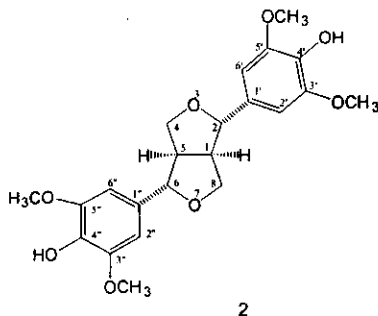
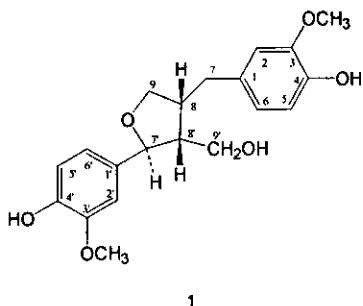
6), 32,32 (C-7), 32,32 (C-8), 50,55 (C-9), 36,91 (C-10), 21,49 (C-11), 40,19 (C-12), 42,73 (C-13), 57,18 (C-14), 24,71 (C-15), 28,65 (C-16), 56,48 (C-17), 12,26 (C-18), 19,79 (C-19), 36,55 (C-20), 19,18 (C-21), 34,36 (C-22), 26,51 (C-23), 46,25 (C-24), 29,57 (C-25), 20,24 (C-26), 19,44 (C-27), 23,48 (C-28) và 12,39 (C-29).

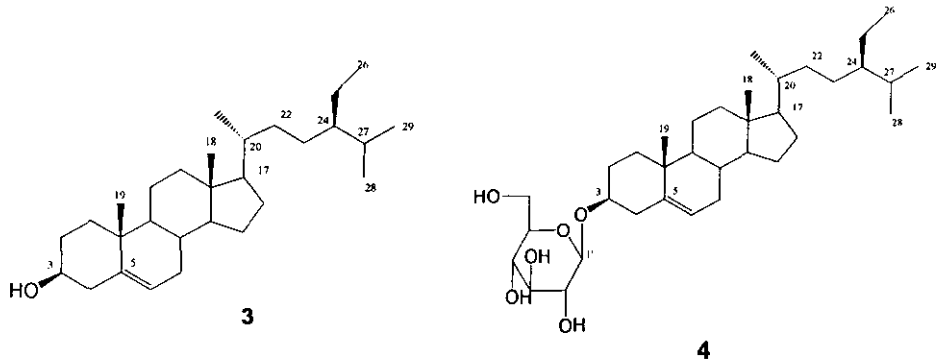
Daucosterol (3): Nhiệt độ nóng chảy 283-286°C; [α]²⁵_D - 41,5° (MeOH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 3,52 (1H, dd, J = 11,7, 5,1 Hz, H-3), 5,35 (1H, br d, J = 5,0 Hz, H-6), 0,68 (3H, s, H-18), 1,00 (3H, s, H-19), 0,92 (3H, d, J = 6,5 Hz, H-21), 0,84 (3H, t, J = 7,6 Hz, H-26), 0,81 (3H, d, J = 6,8 Hz, H-28), 0,83 (3H, d, J = 7,3 Hz, H-29) và 4,30 (1H, d, J = 7,8 Hz, H-1'). ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 36,8 (C-1), 31,3 (C-2), 76,9 (C-3), 39,3 (C-4), 140,4 (C-5), 121,1 31,4 (C-7), (C-6), 31,3 (C-8), 49,9 (C-9), 36,1 (C-10), 20,5 (C-11), 38,2 (C-12), 41,8 (C-13), 55,2 (C-14), 25,4 (C-15), 29,2 (C-16), 56,0 (C-17), 11,6 (C-18), 19,0 (C-19), 35,4 (C-20), 18,5 (C-21), 33,3 (C-22), 27,7 (C-23), 45,0 (C-24), 28,9 (C-25), 19,6 (C-26), 18,9 (C-27), 22,5 (C-28), 11,7 (C-29), 100,7 (C-1'), 73,4 (C-2'), 76,7 (C-3'), 70,0 (C-4'), 76,6 (C-5') và 61,0 (C-6').

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** thu được dưới dạng chất rắn không màu. Phổ ¹H-NMR xuất hiện các tín hiệu của hai vòng benzen thế 1,2,4 tại δ 6,83 (d, J = 8,0 Hz)/6,69 (d, J = 2,0 Hz)/6,68 (dd, J = 8,0, 2,0 Hz) và δ 6,87 (d, J = 8,0 Hz)/6,86 (d, J = 2,0 Hz)/6,79 (dd, J = 8,0, 2,0 Hz), tín hiệu của hai nhóm oximetylen tại δ 3,74 (dd, J = 7,0, 8,5 Hz)/4,04 (dd, J = 7,0, 8,5 Hz) và δ 3,76 (dd, J = 7,0, 10,5 Hz)/3,91 (dd, J = 7,0, 10,5 Hz), một nhóm oximetin tại δ 4,77 (d, J = 6,5 Hz). Ngoài ra trên phổ còn xuất hiện hai tín hiệu đơn của hai nhóm metoxi tại δ 3,86 và 3,87. Phổ ¹³C-NMR xuất hiện tín hiệu của 20 cacbon trong đó có 12 tín hiệu nằm trong vùng δ 108,38 - 146,68 thuộc vào hai vòng thơm thế 1,2,4. Hai nhóm

oximetylen tại δ 72,95 và 60,95 cùng với các tín hiệu tại δ 82,56 (CH)/42,44 (CH)/52,62 (CH) và 33,35 (CH₂) cho thấy đây là một hợp chất lignan [6]. Hai nhóm metoxi được khẳng định thêm bằng tín hiệu tại δ 56,1 với cường độ cao gấp đôi các tín hiệu của nhóm metyl khác. Những kết quả trên cùng với hằng số tương tác của các proton H-7, H-7', H-9 và H-9' phù hợp với các dữ kiện phổ của hợp chất (+) lariciresinol, một lignan đã được phân lập từ loài *Parsonsia laevigata* và *Araucaria angustifolia* [6]. Hơn nữa phổ khối lượng ESIMS xuất hiện pic ion tại m/z 361 [M+H]⁺ tương ứng với công thức phân tử C₂₀H₂₄O₆ cùng với sự phù hợp về nhiệt độ nóng chảy và độ quay cực cho phép khẳng định hợp chất **1** là (+) lariciresinol.





Hình 1: Cấu trúc hoá học của các hợp chất 1-4

Bảng 1: Kết quả phổ NMR của 1

C	δ^a	1		
		$\delta_c^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)
1	132,7	132,31	-	-
2	113,5	111,36	CH	6,69 d (2,0)
3	146,3	144,05	-	-
4	148,6	146,68	-	-
5	116,5	114,46	CH	6,83 d (8,0)
6	119,4	118,78	CH	6,68 dd (2,0, 8,0)
7	35,5	33,35	CH ₂	2,55 dd (13,0, 12,0) 2,91 dd (13,0, 5,0)
8	43,3	42,44	CH	2,73 m
9	73,2	72,95	CH ₂	3,74 dd (7,0, 8,5) 4,04 dd (7,0, 8,5)
1'	136,0	134,82	-	-
2'	110,9	108,38	CH	6,86 d (2,0)
3'	147,3	145,08	-	-
4'	148,6	146,57	-	-
5'	116,3	114,22	CH	6,87 d (8,0)
6'	121,8	121,23	CH	6,79 dd (2,0, 8,0)
7'	83,5	82,86	CH	4,77 d (6,5)
8'	53,7	52,62	CH	2,40 m
9'	60,2	60,95	CH ₂	3,76 dd (7,0, 10,5) 3,91 dd (7,0, 10,5)
3-OMe	56,1	56,1	CH ₃	3,86 s
3'-OMe	56,1	56,1	CH ₃	3,87 s

^aĐo trong CDCl₃, ^b125MHz, ^c500MHz, [#] δ_C của (+)-lariciresinol đo trong Py-d₅[6]

Hợp chất 2 cũng thu được dưới dạng chất rắn không màu. Các phổ NMR của 2 cũng có dạng phổ của một hợp chất lignan có khung phân tử đối xứng trục bậc hai với sự xuất hiện các tín hiệu 18 cacbon của hai đơn vị lignan trong đó hai vòng thơm được xác định tại δ 147,28 (C), 134,12 (C), 132,18 (C) và 102,91 (CH), và bốn nhóm metoxi tại δ 55,99. Các tín hiệu tại δ 54,39 (CH), 86,10 (CH) và 71,85 (CH₂) trên phổ ¹³C-NMR cùng với hằng số tương tác của các proton H-1, H-2 và H-8 (bảng 2) cho thấy hợp chất 2 có cấu trúc lập thể tương tự như hợp chất

(+)-syringaresinol [7]. Phổ khối lượng của 2 xuất hiện pic ion m/z 419 [M+H]⁺ tương ứng với công thức phân tử C₂₂H₂₆O₈ của syringaresinol. Sự phù hợp hoàn toàn về các giá trị phổ NMR cũng như nhiệt độ nóng chảy và độ quay cực của hợp chất 2 với tài liệu đã công bố [7] cho phép khẳng định hợp chất này là (+)-syringaresinol, một hợp chất đã biết từ cây Liriodendron tulipifera.

Các hợp chất 3 và 4 được nhận dạng lần lượt là β -sitosterol [8] và daucosterol [9] nhờ sự so sánh các dữ kiện phổ của chúng với các tài liệu đã công bố.

Bảng 2: Kết quả phổ NMR của 2

C	δ_c^*	$\delta_c^{a,b}$	DEPT	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	HMBC (H to C)
1, 5	55.0	54.39	CH	3.09 (2H, m)	2, 6
2, 6	86.6	86.10	CH	4.73 (2H, d, 4.0)	1, 5, 4, 8, 1', 1''
4, 8	72.4	71.85	CH ₂	4.28 (2H, dd, 7.0, 9.5) 3.90 (2H, dd, 4.0, 9.5)	1, 5, 2, 6
1', 1''	132.2	132.18	-	-	
2', 6'	104.8	102.91	CH	6.58 (2H, br s)	2, 4', 3'
3', 5'	149.3	147.28	-	-	
4', 4''	137.3	134.12	-	-	
3'', 5''	149.3	147.28	CH	-	
2'', 6''	104.8	102.91	CH	6.58 (2H, br s)	6, 3'', 4''
4 x OCH ₃	56.6	55.99	CH ₃	3.88 (12H, s)	3', 5', 3'', 5''
4', 4''-OH				5.88 (2H, s)	3', 4', 5'

^aĐo trong CDCl₃, ^b125MHz, ^c500MHz, # δ_c của (+)-syringaresinol [7]

IV. KẾT LUẬN

❖ Bằng các phương pháp sắc ký, bốn hợp chất (+) lariciresinol (1), (+)-syringaresinol (2), -sitosterol (3) và daucosterol (4) đã được phân lập từ lá cây mã Phú Thọ (*Manglietia phuthoensis* Dandy). Cấu trúc hoá học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ. Đây là lần đầu tiên các hợp chất 1-4 được tìm thấy từ

cây *M. phuthoensis*.

❖ Các tác giả xin chân thành cảm ơn TS Chu Văn Cường, Vườn Quốc Gia Tam Đảo và TS. Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giám định tên khoa học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ, *Cây cỏ Việt Nam*, NXB Trẻ, 1999.
2. Wantanabe K., Wantanabe H., Goto Y., Yamaguichi M., Yamamoto N., Hagino K., *Planta Medica*, Vol. 49, 103-108 (1983).
3. Kim Y. K., Ryu S. Y., *Planta Medica*, Vol. 65, 291-292 (1999).
4. Kijjoa A., Pinto M. M. M., *Phytochemistry*, Vol. 28, 1284-1286 (1989).
5. Iida T., Ichino K., and Ito K., *Phytochemistry*, Vol. 21, 2939-2941 (1982).
6. Abe F., and Yamauchi T., *Phytochemistry*, Vol. 28, 1737-1741 (1989).
7. Goad J. L. and Akihisa T., *Analysis of sterols*, Blackie Academic and Professional Pub., First edition, p.378 (1997).
8. Voutquenne L., Lavaud C., Massiot G., Sevenet T., Hadi H. A., Vol. 50, 63-69 (1999) ❖