

# Acid galic, methyl galat, naringenin và acid 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic phân lập từ cây bạch thược (*Paeonia lactiflora* Pall.)

Phan Văn Kiệm, Nguyễn Xuân Nhiệm  
Nguyễn Hữu Tùng, Trần Hồng Quang  
Phạm Hải Yến, Châu Văn Minh  
Viện Hoá học các Hợp chất Thiên nhiên,  
Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam,  
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

## Đặt vấn đề

Bạch thược (*Paeonia lactiflora* Pall.) thuộc họ Mao lương (Ranunculaceae) là cây mọc tự nhiên ở nhiều địa phương của Trung Quốc và được di thực vào Việt Nam giữa những năm 70. Cây được trồng tại Sa Pa, Tam Đảo... Từ lâu, bạch thược được dùng như một vị thuốc dân gian chữa đau bụng, tả lỵ do ruột cơ bóp quá mạnh, lưng ngực đau, chân tay nhức mỏi, nhức đầu, mắt hoa, bệnh về mạch như viêm mạch huyết khối, tắc mạch, nghẽn mạch não, kinh nguyệt không đều, bế kinh, xích bạch đới, mô hôi trộm, tiểu tiện khó [1, 2].

Những nghiên cứu tác dụng dược lý cho thấy cao nước bạch thược có tác dụng kháng khuẩn tốt. Nước sắc rễ có tác dụng ức chế sự chuyển hoá sinh học acid arachidonic *in vivo* và *in vitro*. Những nghiên cứu về thành phần hoá học của cây thuốc này cho thấy rễ cây chứa 3,30-5,70% paeoniflorin, oxypeoniflorin, albiflorin, benzoyl paeoniflorin, lactiflorin, acid benzoic (vào khoảng 1%), acid palmitic, daucosterol, acid galic, methyl galat, *d*-catechin, myoinositol, sucrose, glucogalin [1, 2], các triterpen [3], các flavonoid [4] và phenolic glycozid [5].

Bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc hoá học của các hợp chất acid galic, methyl galat, 4',5,7-trihydroxyflavanon và acid 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic phân lập từ dịch chiết methanol của rễ cây bạch thược thu hái tại Tam Đảo.

## Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### Mẫu thực vật

Cây bạch thược được thu hái vào tháng 01 năm

2006 tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc. Mẫu cây được TS. Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định.

### Phương pháp phân lập các hợp chất

#### Sắc ký lớp mỏng (TLC)

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F<sub>254</sub> (Merck 1,05715), RP<sub>18</sub> F<sub>254s</sub> (Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 368 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng trên bếp điện tử từ đến khi hiện màu.

#### Sắc ký cột (CC)

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

### Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất

#### Điểm nóng chảy (Mp)

Điểm nóng chảy được đo trên máy Kofler micro-hotstage của Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên.

#### Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR)

Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz) và <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

#### Phân lập các hợp chất

Rễ cây bạch thược (5 kg) được rửa sạch, phơi

## ● Nghiên cứu - Kỹ thuật

khô, nghiền nhỏ thành bột và chiết với methanol thu được 65 g dịch cô methanol. Dịch cô methanol này được bổ sung vào 2 lít nước cất và chiết lần lượt bằng hexan, cloroform, ethyl acetat và n-butanol thu được 14 g dịch cô hexan, 21 g dịch cô cloroform, 7 g dịch cô ethyl acetat và 11 g dịch cô n-butanol. Dịch cô cloroform (21 g) được tiến hành phân lập bằng các sắc ký cột lặp lại với chất hấp phụ là silica gel thu được các hợp chất acid galic (540 mg), methyl galat (230 mg), 4',5,7-trihydroxyflavanon (25 mg) và acid 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic (17 mg).

**Acid galic (1):** Nhiệt độ nóng chảy: 235-237°C

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 7,08 (2H, s, H-3 và H-7).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 170,30 (s, C-1), 121,96 (s, C-2), 110,35 (d, C-3, C-7), 139,56 (s, C-4, C-6) và 146,30 (s, C-5).

**Methyl galat (2):** Nhiệt độ nóng chảy: 156-157°C

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 7,06 (2H, s, H-3 và H-7), 3,82 (3H, s, OCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 169,02 (s, C-1), 121,48 (s, C-2), 110,07 (d, C-3, C-7), 139,71 (s, C-4, C-6), 146,41 (s, C-5) và 52,24 (OCH<sub>3</sub>).

**4',5,7-Trihydroxyflavanone (naringenin) (3):** Nhiệt độ nóng chảy: 178-179°C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 5,33 (1H, dd, *J* = 3,0, 13,0 Hz, H-2), 2,69 (1H, dd, *J* = 3,0, 17,0 Hz, H<sub>a</sub>-3), 3,1 (1H, dd, *J* = 13,0, 17,0 Hz, H<sub>b</sub>-3), 5,88 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-6), 5,88 (1H, dd, *J* = 2,0 Hz, H-8), 7,32 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-2'), 6,83 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-3'), 116,33 (d, C-5') và 128,99 (d, C-6'), 6,831 (H, d, *J* = 8,5 Hz, H-5') và 7,32 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-6').

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 80,39 (d, C-2), 44,02 (t, C-3), 197,38 (s, C-4), 165,49 (s, C-5), 97,43 (d, C-6), 169,81 (s, C-7), 96,59 (d, C-8), 164,85 (s, C-9), 103,03 (s, C-10), 131,21 (s, C-1'), 128,99 (d, C-2', C-6'), 116,33 (d, C-3', C-5') và 158,99 (s, C-4').

**Acid 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic (4):** Nhiệt độ nóng chảy: 249-250°C

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 3,30 (1H, m, H-3), 5,33 (1H, t, *J* = 3,5 Hz, H-12), 3,55 (1H, d, *J* = 11,0 Hz, H<sub>a</sub>-23), 3,62 (1H, dd, *J* = 11,0, 4,5 Hz, H<sub>b</sub>-23), 4,63 (2H, H-29), 0,73 (3H, s), 0,84 (3H, s), 1,00 (3H, s) và 1,24 (3H, s).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>),  $\delta_C$  (ppm): 39,49 (t, C-1), 27,43 (t, C-2), 73,94 (d, C-3), 43,28 (s, C-4), 48,65 (d, C-5), 19,14 (t, C-6), 33,45 (t, C-7), 40,54 (s, C-8), 48,48 (d, C-9), 37,92 (s, C-10), 24,50 (t, C-11), 124,84 (d, C-12), 144,67 (s, C-13), 42,94 (s, C-14), 28,78 (t, C-15), 24,24 (t, C-16), 47,97 (s, C-17), 48,48 (d, C-18), 42,67 (t, C-19), 149,73 (s, C-20), 39,11 (t, C-21), 30,96 (t, C-22), 67,43 (t, C-23), 12,71 (q, C-24), 16,26 (q, C-25), 17,73 (q, C-26), 26,46 (q, C-27), 181,00 (s, C-28) và 107,21 (t, C-29).

### Kết quả và thảo luận

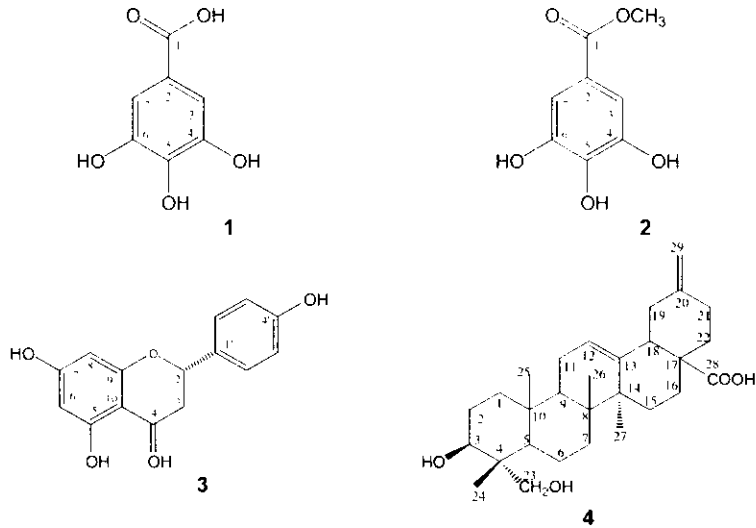
Hợp chất **1** nhận được dưới dạng tinh thể hình kim không màu có nhiệt độ nóng chảy 235-237°C. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của **1** chỉ xuất hiện một tín hiệu singlet duy nhất của một proton của vòng thơm ở  $\delta$  7,08 ppm với cường độ tích phân tương ứng là 2H, chứng tỏ sự tồn tại của một vòng benzen thế 4 vị trí và phân tử có trục đối xứng bậc hai. Phổ <sup>13</sup>C-NMR xuất hiện 5 tín hiệu tại  $\delta$  170,30 (s, C-1), 121,96 (s, C-2), 110,35 (d, C-3, C-7), 139,56 (s, C-4, C-6), 146,30 (s, C-5) của 7 carbon trong đó có hai tín hiệu có cường độ cao gấp đôi các tín hiệu tương ứng khác. Điều này khẳng định thêm tính đối xứng của phân tử. Tín hiệu của nhóm carboxylic liên hợp với vòng thơm được xác định tại  $\delta$  170,30. Các dữ kiện phổ NMR của **1** hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của acid galic, một hợp chất đã được phân lập từ cây *P. lactiflora* và có hoạt tính kháng khuẩn mạnh [6].

Các phổ NMR của **2** khá tương tự như các phổ của **1**. Ngoài tín hiệu singlet  $\delta$  7,06 (2H, s, H-3 và H-7) trên phổ <sup>1</sup>H-NMR với cường độ tích phân là 2H của hai proton của vòng thơm còn xuất hiện thêm tín hiệu của một nhóm methoxy tại  $\delta$  3,82 (3H, s, OCH<sub>3</sub>). Trên phổ <sup>13</sup>C-NMR, ngoài 7 tín hiệu tại  $\delta$  169,02 (s, C-1), 121,48 (s, C-2), 110,07 (d, C-3, C-7), 139,71 (s, C-4, C-6) và 146,41 (s, C-5) còn có tín hiệu của nhóm methoxy tại  $\delta$  52,24 (OCH<sub>3</sub>). Kết quả này cho thấy đây là dẫn xuất methyl ester của hợp chất **1** và chính là methyl galat, một hợp chất có hoạt tính ức chế quá trình phiên mã ngược và cũng đã được phân lập từ cây *P. lactiflora* [6].

**Hình 1.** Cấu trúc hoá học của các hợp chất **1-4** (Xem hình trang bên)

Hợp chất **3** nhận được dưới dạng tinh thể hình kim có màu vàng của một hợp chất flavon. Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR xuất hiện tín hiệu doublet của một proton gắn với oxymethin carbon tại  $\delta$  5,33 (*J* = 3,0, 13,0 Hz, H-2), hai tín hiệu doublet của hai proton của nhóm methylen tại 2,69 (*J* = 3,0, 17,0 Hz, H<sub>a</sub>-3) và 3,1 (*J* = 13,0, 17,0 Hz, H<sub>b</sub>-3). Dữ kiện này cho thấy đây là một flavanon. Ngoài ra cũng trên phổ này

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



còn xuất hiện hai tín hiệu doublet với hằng số tương tác nhỏ ( $J = 2,0$  Hz) của hai proton của vòng thơm tại  $\delta$  5,88 và 5,88 chứng tỏ chúng nằm ở vị trí meta với nhau, tức là vị trí H-6 và H-8. Vòng B thế para được xác định bởi sự xuất hiện của hai tín hiệu tại  $\delta$  7,32 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2', H-6') và 6,83 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3', H-5'). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và các phổ DEPT 90 và DEPT 135 khẳng định sự có mặt của 15 carbon, trong đó hai tín hiệu tại  $\delta$  116,33 (d, C-3', C-5') và 128,99 (d, C-2, C-6') có cường độ cao gấp đôi các tín hiệu CH khác, chứng tỏ vòng B thế para. Tín hiệu của carbon oxymethin tại  $\delta$  80,39 (d, C-2) và tín hiệu của carbon methylen tại  $\delta$  44,02 (t, C-3), cùng với tín hiệu ở trường thấp tại  $\delta$  197,38 (s, C-4) chứng tỏ đây là hợp chất flavanon. Các kết quả phổ NMR của **3** hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của 4',5,7-trihydroxyflavanone (naringenin) [7], một hợp chất lần đầu tìm thấy từ cây *P. lactiflora*. [7]

Hợp chất **4** nhận được dưới dạng tinh thể hình kim không màu. Phổ NMR của hợp chất này cho thấy đây là một hợp chất triterpen có 5 vòng 6. Một nối đôi nội vòng thế ba vị trí được xác định bởi tín hiệu tại  $\delta_{\text{H}}$  5,33 (1H, t,  $J = 3,5$  Hz, H-12) /  $\delta_{\text{C}}$  124,84 (d, C-12), 144,67 (s, C-13), nối đôi ngoại vòng được xác định bởi các tín hiệu tại  $\delta_{\text{H}}$  3,55 (1H, d,  $J = 11,0$  Hz, Ha-23), 3,62 (1H, dd,  $J = 11,0, 4,5$  Hz, Hb-23) /  $\delta_{\text{C}}$  149,73 (s, C-20) và 107,21 (t, C-29), nhóm cacboxylic tại  $\delta_{\text{C}}$  181,00 (s, C-28). Nhóm oxymethin được xác định bởi tín hiệu tại  $\delta_{\text{H}}$  3,30 (1H, m, H-3) /  $\delta_{\text{C}}$  73,94 (d, C-3), và nhóm oxymethylen được xác định tại  $\delta_{\text{H}}$  3,62 (1H, dd,  $J = 11,0, 4,5$  Hz, Hb-23) /  $\delta_{\text{C}}$  67,43 (t, C-23). Các kết quả phổ NMR cho thấy

sự phù hợp hoàn toàn với các dữ kiện phổ đã được thông báo cho hợp chất 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid, một hợp chất cũng đã được phân lập từ *Paeonia Japornica* [8], nhưng đây là lần đầu hợp chất này được tìm thấy từ cây *P. lactiflora* [8] trồng tại Việt Nam.

### Kết luận

Từ dịch chiết methanol của rễ cây bạch thược, các hợp chất acid galic, methyl galat, 4',5,7-trihydroxyflavanon và acid 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic đã được phân lập. Cấu trúc hoá học của các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Hai hợp chất 4',5,7-trihydroxyflavanon và acid 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic đều được tìm thấy lần đầu tiên từ cây *P. lactiflora* trồng tại Việt Nam.

### Summary

From methanolic extracts from the roots of *Paeonia lactiflora* Pall., gallic acid, methyl gallate, 4',5,7-trihydroxyflavanone and 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid were isolated. Their structures were identified based on the NMR spectra in comparison with the previous reported data. This is first report of 4',5,7-trihydroxyflavanone and 3 $\beta$ ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid from the *P. lactiflora*.

**Lời cảm ơn:** Các tác giả xin chân thành cảm ơn TS Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật đã giám định tên khoa học của cây. Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài nghiên cứu cơ bản Nhà nước (No 514206).

(Xem tiếp trang 31)