

CÁC HỢP CHẤT CEMBRANOIT PHÂN LẬP TỪ LOÀI SAN HỒ MỀM *SARCOPHYTON EHRENBergi*

Ninh Thị Ngọc¹, Lương Thị Mỹ Hạnh², Phạm Thị Mai Hương¹, Châu Ngọc Diệp¹, Đỗ Công Thung³,
Trần Thị Thanh Vân², Nguyễn Văn Thanh¹, Nguyễn Xuân Cường¹,
Nguyễn Hoài Nam¹, Châu Văn Minh¹

¹Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

³Viện Tài nguyên và Môi trường biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Abstract

Three cembranoids namely (-)-7 β -hydroxy-8 α -methoxydeopoxysarcophine (1), sarcophine (2), and 2-*ent*-sarcophine (3) were isolated from a methanol extract of the soft coral *Sarcophyton ehrenbergi*. Their structures were elucidated by 1D and 2D-NMR experiments and comparison of their NMR data with reported values. This is the first report of compounds 1 and 3 from *S. ehrenbergi*.

Keywords. *Sarcophyton ehrenbergi*, Alcyoniidae, soft coral, cembranoid.

1. MỞ ĐẦU

San hô mềm là động vật không xương sống thuộc bộ Alcyonacea, lớp Anthozoa và ngành Cnidaria. Các loài động vật không xương sống này là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất trao đổi thứ cấp như diterpenoid và hydroxy sterol [1]. Các loài san hô mềm thuộc các giống *Lobophytum*, *Sarcophyton* và *Sinularia* là phổ biến nhất [2]. Từ loài *Sarcophyton ehrenbergi*, một số hợp chất terpen, ceramit và cerebrosit đã được công bố [3-9].

Trong khuôn khổ các nghiên cứu của nhóm tác giả về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài san hô mềm sinh sống tại các vùng biển của Việt Nam, công trình này công bố quá trình phân lập và xác định cấu trúc của ba hợp chất cembranoit phân lập được từ loài san hô mềm *S. ehrenbergi* đó là (-)-7 β -hydroxy-8 α -methoxydeopoxysarcophine (1), sarcophine (2) và 2-*ent*-sarcophine (3).

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị và hóa chất

Phổ ¹H NMR (500 MHz) và ¹³C NMR (125 Hz) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR với TMS được sử dụng làm chất chuẩn nội. Phổ khối lượng phun mù điện tử (ESI-MS) được đo trên máy Agilent 1260 series single quadrupole LC/MS. Sắc ký lỏng trung áp (MPLC) được tiến hành trên máy Biotage - Isolera One system (SE-751 03 Uppsala, Thụy Điển). Sắc ký cột (CC) sử dụng silica gel

(Kieselgel 60, 70–230 mesh and 230–400 mesh, Merck) và YMC RP-18 (30–50 μ m, Fuji Silysia Chemical Ltd.). Sắc ký lớp mỏng (TLC) sử dụng bản tráng sẵn silica gel 60 F₂₅₄ (1.05554.0001, Merck) và RP-18 F_{254s} plates (1.15685.0001, Merck). Vết chất được phát hiện bằng cách phun đều thuốc thử axít H₂SO₄ 10% và hơi nóng từ từ đến khi hiện màu.

2.2. Mẫu san hô mềm

Mẫu loài san hô mềm *S. ehrenbergi* (v. Marenzeller, 1886) được thu tại khu vực Đá Đen, Quảng Ninh, vào tháng 03 năm 2015 và được PGS TS Đỗ Công Thung giám định. Mẫu tiêu bản được lưu tại Viện Hóa sinh biển và Viện Tài nguyên và Môi trường biển.

2.3. Phân lập các hợp chất

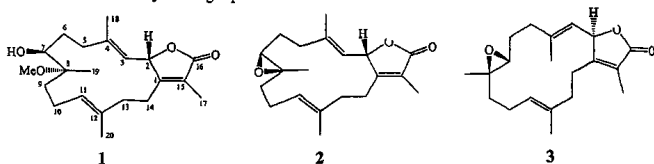
Mẫu san hô mềm *S. ehrenbergi* sau khi thu về được rửa sạch, cắt nhỏ, sấy khô ở nhiệt độ 50°C sau đó xay nhỏ thu được (2 kg). Bột khô của san hô mềm được chiết 3 lần với methanol có dung siêu âm, dịch chiết sau đó được cô quay dưới áp suất giảm thu được cặn chiết methanol (250 g). Cặn chiết methanol được hòa vào nước, sau đó chiết phân lớp lần lượt với các dung môi là *n*-hexan, diclometan thu được các cặn chiết *n*-hexan (80 g), cặn diclometan (40 g) và dịch nước.

Cặn chiết *n*-hexane được tiến hành phân tách thô trên hệ thống sắc ký trung áp (MPLC) sử dụng cột

nhồi silica gel pha thường và pha động gradient *n*-hexane:acetone (50:1→1/1) thu được 8 phân đoạn SEH1- SEH6. Phân đoạn H4 (7,4 g) được đưa lên được tiếp tục phân tách trên MPLC với cột nhồi silica gel pha đảo RP-18 sử dụng pha động gradient (MeOH:H₂O 2/1→4/1→6/1→10/1→100% MeOH) thu được 11 phân đoạn H4A- H4L. Phân đoạn H4A (2g) được đưa lên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải ethyl acetate:ethyl acetate (15/1) thu được 12 phân đoạn H4A1-H4A12. Phân đoạn H4A3 (200 mg) tiếp tục được phân tách trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane:ethyl acetate (5/1) thu được 2 phân đoạn H4A3A và H4A3B. Phân đoạn H4A3A (30 mg) được tiếp tục tinh chế trên cột sắc ký silica gel pha đảo YMC

(acetone:nước 2/1) thu được hợp chất 2 (15 mg). Phân đoạn H4A3B (55 mg) tiếp tục tinh chế trên cột sắc ký silica gel pha đảo YMC (acetone:H₂O 2/1) thu được hợp chất 3 (18 mg). Phân đoạn H4A6 (100 mg) được đưa lên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane:acetone (8/1) thu được 3 phân đoạn H4A6A-H4A6C. Phân đoạn H4A6E (20 mg) được tinh chế trên cột sắc ký YMC rửa giải với acetone:H₂O 1,5/1 thu được hợp chất 1 (1,5 mg).

(-)-7β-Hydroxy-8α-methoxydepoxy sarcophine
(1): Chất dầu không màu; [α]_D²⁵ (c 0,1, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) và ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), xem bảng 1; ESI-MS: *m/z* 371 [M+Na]⁺ (C₂₁H₃₂O₄, M = 348).



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

Bảng 1: Số liệu phổ ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) và ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) của các hợp chất 1, 2 và các chất tham khảo

C	δ _C	1		δ _C	2	
		δ _C	δ _H (J = Hz)		δ _C	δ _H (J = Hz)
1	163,1	163,11	-	162,2	162,24	-
2	80,4	80,39	5,40 d (10,0)	78,8	78,78	5,57 d (10,0)
3	118,2	118,27	4,94 d (10,0)	120,6	120,62	5,04 d (10,0)
4	146,7	146,70	-	144,0	144,00	-
5	38,8	38,73	2,17 m/2,27 m	37,4	37,36	2,38 m
6	28,3	28,42	1,52 m/1,80 m	25,2	25,22	1,90 m/1,68 m
7	73,7	73,72	3,26 dd (6,0, 8,5)	61,5	61,42	2,68 t (4,5)
8	79,3	79,36	-	59,9	59,91	-
9	31,5	31,62	1,55 m/1,76 m	39,0	38,98	2,09 m
						1,10 dt (3,0, 13,0)
10	21,3	21,40	1,95 m/2,15 m	23,3	23,29	2,25 m/1,93 m
11	127,9	127,89	5,33 t (7,5)	124,9	124,92	5,14 dd (5,5, 9,0)
12	135,7	135,69	-	135,5	135,50	-
13	36,8	36,80	2,27 m/2,40 m	36,4	36,34	2,18 m/2,03 m
14	26,9	26,90	1,95 m/2,71 m	27,5	27,52	2,74 m/2,08 m
15	123,1	123,15	-	122,9	122,92	-
16	175,0	175,12	-	175,0	174,68	-
17	9,6	9,57	1,91 s	8,9	8,97	1,85 s
18	16,7	16,80	1,86 s	16,1	16,11	1,89 s
19	18,1	18,19	1,06 s	17,7	17,14	1,28 s
20	16,2	16,25	1,64 s	15,5	15,43	1,62 s
8-OMe	48,9	48,92	3,17 s			

δ_C của (-)-7β-hydroxy-8α-methoxydepoxy sarcophine [10], δ_C của sarcophine [10].

Bảng 2: Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR của hợp chất 3 và chất tham khảo

C	δ_{C}	3			HMBC (H $\rightarrow$ C)
		$\delta_{\text{C}}^{\text{b, c}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b, d}}$ (J = Hz)		
1	163,0	162,88	-		
2	79,9	79,85	5,46 dd (1,5, 10,0)		1, 3, 4
3	119,0	119,19	5,00 dd (1,0, 10,0)		5, 18
4	145,0	144,89	-		
5	36,9	35,11	2,30 m/2,34 m		3, 4, 6, 7, 18
6	25,7	26,80	1,81 m/1,72 m		4, 5, 7, 8
7	61,9	61,78	2,66 t (5,5)		5, 6, 9, 10
8	60,3	60,10	-		
9	38,4	38,38	2,04 m/1,22 dt (3,0, 13,0)		8, 10, 11, 19
10	23,0	22,97	2,20 m/1,94 m		8, 9, 11, 12
11	124,5	124,64	5,11 dt (1,0, 6,5)		13, 20
12	134,5	134,48	-		
13	35,0	36,88	2,41 m/2,05 m		1, 11, 12, 14
14	26,7	25,75	2,69 m/1,98 m		1, 2, 12, 13, 15
15	123,1	123,13	-		
16	175,1	174,93	-		
17	9,2	9,18	1,84 s		1, 15, 16
18	18,1	18,11	1,93 br s		3, 4, 5
19	16,7	16,73	1,27 s		7, 8, 9
20	15,5	15,52	1,61 s		11, 12, 13

$^{\text{a}}\delta_{\text{C}}$ của 2-*epi*-sarcophine [11], $^{\text{b}}\delta_{\text{C}}$ trong CDCl_3 , $^{\text{c}}125\text{MHz}$, $^{\text{d}}500\text{MHz}$.

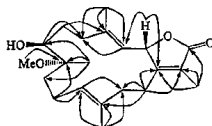
Sarcophine (2): Chất dầu không màu; Colorless oil; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +90$ (c 0,1, CHCl_3); ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3), xem bảng 1; ESI-MS m/z 339 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_3$, M = 316).

2-*epi*-Sarcophine (3): Chất dầu không màu; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -15$ (c 0,1, CHCl_3); ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3), xem bảng 2; ESI-MS m/z 339 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_3$, M = 316).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất 1 được phân lập dưới dạng chất dầu không màu. Các phổ NMR của nó đặc trưng cho một hợp chất cembranoit, một lớp chất chính của các loài san hô mềm thuộc giống *Sarcophyton* [2, 12]. Trên phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR xuất hiện các tín hiệu của một liên kết đôi bị thế hoàn toàn [δ_{C} 163,11 (s, C-1) và 123,15 (s, C-15)], hai liên kết đôi bị thế ba vị trí [δ_{C} 118,27 (d, C-3), 146,70 (s, C-4), 127,89 (d, C-11) và 135,69 (s, C-12)/ δ_{H} 4,94 (1H, d, J = 10,0 Hz, H-3) và 5,33 (1H, t, J = 7,5 Hz, H-11)] và một nhóm carbonyl [δ_{C} 175,12 (s, C-16)]. Ngoài ra, sự xuất hiện của hai nhóm oximetin [δ_{C} 80,39 (d, C-2) và 73,72 (d, C-7)/ δ_{H} 5,40 (1H, d, J = 10,0 Hz, H-2) và 3,26 dd (J = 6,0, 8,5 Hz, H-7)], một carbon bậc bốn mang ôxi [δ_{C} 79,36 (s, C-8)], bốn nhóm methyl bậc ba [δ_{C} 9,57 (q, C-17), 16,80 (q, C-18), 18,19 (q, C-19) và 16,25 (q, C-20)/ δ_{H} 1,91 (H-17), 1,86 (H-18), 1,06 (H-19) và 1,64 (H-20), mỗi tín hiệu 3H, s] và

một nhóm metoxi [δ_{C} 48,92/ δ_{H} 3,17 (3H, s)] cũng được xác định trên phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR của 1.

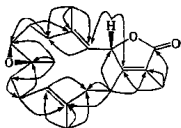


Hình 2: Các tương tác HMBC chính của 1

Sự dịch chuyển rất mạnh về phía vùng trường thấp của tín hiệu proton H-2 tại δ_{H} 5,40 cùng với sự dịch chuyển rất mạnh về phía vùng trường cao của tín hiệu carbon C-17 tại δ_{C} 9,57 chứng minh sự tạo vòng lacton giữa C-2 và C-16 [10]. Nhận định này được khẳng định thêm bởi tương tác HMBC giữa H-17 (δ_{H} 1,91) và C-1 (δ_{C} 163,11)/C-15 (δ_{C} 123,15)/C-16 (δ_{C} 175,12). Vị trí của hai nhóm OH tại C-7 và C-8 được xác định bằng tương tác HMBC của H-19 (δ_{H} 1,06) với C-7 (δ_{C} 73,72)/C-8 (δ_{C} 79,36)/C-9 (δ_{C} 31,62) và của H-3 (δ_{H} 4,94)/H-7 (δ_{H} 3,26) với C-5 (δ_{C} 38,73). Ngoài ra, tương tác HMBC nhận được giữa proton metoxi (δ_{H} 3,17) với C-8 (δ_{C} 79,36) cho phép xác định vị trí liên kết của nhóm metoxi tại carbon này. Phân tích chi tiết các tương tác HMBC khác (hình 2) cùng với sự phù hợp hoàn toàn về số liệu phổ ^{13}C -NMR của 1 so với các số liệu đã công

bổ (bảng 1) cho phép xác định hợp chất 1 chính là (-)-7 β -hydroxy-8 α -methoxydepoxy sarcophine [10]. Hợp chất 1 đã được phân lập từ loài san hô mềm *Sarcophyton trocheliophorum* [10], tuy nhiên đây là lần đầu tiên hợp chất này được phân lập từ loài *S. ehrenbergi*.

Các phổ NMR của hợp chất 2 tương tự như các phổ của hợp chất 1. Sự thay đổi dễ nhận thấy nhất là sự mất đi các tín hiệu của nhóm metoxi trên các phổ của 2 so với các phổ tương ứng của 1. Ngoài ra, các tín hiệu cacbon tại C-7 và C-8 của 2 bị dịch chuyển rất mạnh về phía vùng trường cao tại δ c 61,42 (C-7) 59,91 (C-8) so với các tín hiệu tương ứng của 1 tại δ c 73,72 (C-7) và 79,36 (C-8), cho phép dự đoán sự tạo cấu epoxi tại C-7/C-8. Sự phù hợp hoàn toàn về số liệu phổ ^{13}C -NMR với các số liệu tương ứng đã được công bố (bảng 1) cùng với kết quả phổ HMBC (hình 3) cho phép khẳng định hợp chất 2 chính là sarcophine [10].



Hình 3: Các tương tác HMBC chính của 2

Các số liệu phổ NMR của 3 gần như trùng khớp với các số liệu tương ứng của 2. Tuy nhiên khi xem xét kỹ số liệu phổ cho thấy sự thay đổi đáng kể ở một số vị trí. Cụ thể, tín hiệu cacbon C-2 và C-18 của 3 bị dịch chuyển về phía vùng trường thấp tại δ c 79,85 và 18,11 so với các tín hiệu tương ứng của hợp chất 2 tại δ c 78,78 (C-2) và 16,11 (C-18) cho phép dự đoán sự khác nhau về lập thể tại C-2 giữa hai hợp chất. Sự phù hợp hoàn toàn về số liệu phổ ^{13}C -NMR của 3 với các số liệu đã được công bố (bảng 2) cho phép xác định hợp chất này chính là 2-*epi*-sarcophine [11]. Đây là lần đầu tiên hợp chất này được công bố từ loài san hô mềm *S. ehrenbergi*.

Lời cảm ơn. Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam, đề tài mã số: VAST.TĐ.ĐAB.02/13-15.

Liên hệ: Nguyễn Hoài Nam

Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
E-mail: namnguyenhoai@imbc.vast.vn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J. C. Coll. *The chemistry and chemical ecology of octocorals (Coelenterata, Anthozoa, Octocorallia)*. Chem. Rev., 92(4), 613–631 (1992).
2. X. T. Liang, W. S. Fang. *Medicinal Chemistry of Bioactive Natural Products*. New Jersey: John Wiley & Sons; 2006: 257–300
3. S. Y. Cheng, S. K. Wang, S. F. Chiou, C. H. Hsu, C. F. Dai, M. Y. Chiang, C. Y. Duh. *Cembranoids from the octocoral Sarcophyton ehrenbergi*. J Nat Prod, 73(2), 197–203 (2010).
4. S. Y. Cheng, S. K. Wang, M. K. Hsieh, C. Y. Duh. *Polyoxygenated cembrane diterpenoids from the soft coral Sarcophyton ehrenbergi*. Int J Mol Sci, 16(3), 6140–6152 (2015).
5. S. Y. Cheng, Z. H. Wen, S. F. Chiou, C. W. Tsai, S. K. Wang, C. H. Hsu, C. F. Dai, M. Y. Chiang, W. H. Wang, C. Y. Duh. *Ceramides and cerebroside from the octocoral Sarcophyton ehrenbergi*. J Nat Prod, 72(3), 465–468 (2009).
6. A. Elkhateeb, A. A. El-Beih, A. M. Gamal-Eldeen, M. A. Alhammady, S. Ohta, P. W. Fare, M. K. Hegazy. *New terpenes from the Egyptian soft coral Sarcophyton ehrenbergi*. Mar Drugs, 12(4), 1971–1986 (2014).
7. K. H. Shaker, M. Muller, M. A. Ghani, H. M. Dahse, K. Seifert. *Terpenes from the soft corals Litophyllum arboreum and Sarcophyton ehrenbergi*. Chem Biodivers, 7(8), 2007–2015 (2010).
8. S. K. Wang, M. K. Hsieh, C. Y. Duh. *Three new cembranoids from the Taiwanese soft coral Sarcophyton ehrenbergi*. Mar Drugs, 10(7), 1431–1444 (2012).
9. S. K. Wang, M. K. Hsieh, C. Y. Duh. *New diterpenoids from soft coral Sarcophyton ehrenbergi*. Mar Drugs, 11(11), 4318–4327 (2013).
10. D. Grote, H. S. Soliman, K. H. Shaker, M. Hamza, K. Seifert. *Cembranoid diterpenes and a brianar diterpene from corals*. Nat Prod Res, 20(3), 285–291 (2006).
11. N. A. Eltahawy, A. K. Ibrahim, M. M. Radwan, M. A. ElSohly, H. A. Hassanain, S. A. Ahmed. *Cytotoxic cembranoids from the Red Sea soft coral Sarcophyton auritum*. Tetrahedron Letters, 55(28), 3984–3988 (2014).
12. L. F. Liang, Y. W. Guo. *Terpenes from the soft corals of the genus Sarcophyton: chemistry and biological activities*. Chem Biodivers, 10(12), 2161–2196 (2013).