

## CÁC HỢP CHẤT PHENYLPROPANOID GLUCOSIDE TỪ CÂY BẠCH ĐỒNG NỮ *CLERODENDRUM PHILIPINUM* SCHAUER

HÀ VÂN OANH, PHẠM XUÂN SINH, NGUYỄN THÁI AN, TẠ MẠNH HÙNG,  
CHÂU VĂN MINH, NGUYỄN PHƯƠNG THẢO, PHAN VĂN KIÊM

### 1. MỞ ĐẦU

Cây bạch đồng nữ có tên khoa học là *Clerodendrum philipinum* Schauer (tên đồng nghĩa: *Clerodendrum chinense*, *Clerodendrum fragrans* var. *multiplex*, *Clerodendrum fragrans*, *Clerodendrum fragrans* var. *pleniflorum*) thuộc họ Cỏ Roi ngựa (Verbenaceae) là cây nhỏ, cao khoảng 1 m, thân vuông lá đơn mọc đối, hình tim mép khía răng nhỏ thưa, màu xanh nhạt, có lông ở cả hai mặt lá, có cuống dài, có vảy tròn. Hoa màu ngà vàng, mọc thành sim, nhị dài thò ra ngoài. Quả mọng hình cầu. Cây mọc hoang khắp nước ta từ đồng bằng đến miền núi.

Các nghiên cứu về tác dụng dược lý cho thấy cây bạch đồng nữ có tác dụng hạ huyết áp do dẫn mạch ngoại vi, có tác dụng lợi tiểu, chống viêm cấp tính khá tốt, biểu hiện rõ rệt ở hiện tượng giảm phù trong mô hình gây phù thực nghiệm trên chuột Kaolin. Ngoài ra, bạch đồng nữ còn có tác dụng ức chế sự phát triển các vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* và các Proteus [1].

Theo tra cứu của chúng tôi, cho đến nay chưa có công trình nào nghiên cứu về thành phần hoá học của cây thuốc này. Bài báo này thông báo những kết quả nghiên cứu ban đầu về thành phần hoá học của cây *C. philipinum*. Bằng các phương pháp sắc kí, bốn hợp chất phenylpropanoid glucoside clerodenoside A (1), martynoside (2), acteoside (3) và isoacteoside (4) đã được phân lập. Cấu trúc hoá học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều, hai chiều và phổ khối lượng.

### 2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Nguyên liệu

Mẫu rễ cây bạch đồng nữ (*Clerodendrum philipinum* Schauer.) được thu hái tại Thanh Oai, Hà Tây vào tháng 3/2008 và được TS Trần Văn Ôn, Trường Đại học Dược Hà Nội giám định tên khoa học. Mẫu tiêu bản số HNIP/15610/08 được lưu giữ tại Phòng Tiêu bản vi phẫu khô, Trường Đại học Dược Hà Nội.

#### 2.2. Hóa chất thiết bị

- *Sắc kí lớp mỏng* (TLC): Sắc kí lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254s (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 hơi nóng trên bếp điện từ từ đến khi hiện màu.

- *Sắc kí lớp mỏng điều chế* (PTLC): Sắc kí lớp mỏng điều chế thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn Silica gel 60G F254 (Merck, kí hiệu 105875), phát hiện vết chất bằng đèn tử ngoại hai

bước sóng 254 nm và 368 nm, hoặc cắt rìa bản mỏng để phun thuốc thử là dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, hơi nóng để phát hiện vết chất, ghép lại bản mỏng như cũ để xác định vùng chất, sau đó cạo lớp Silica gel có chất, giải hấp phụ thu được chất cần tinh chế.

- *Sắc kí cột (CC)*: Sắc kí 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 mm - 0,063 mm (240 mesh - 430 mesh). Silica gel pha đảo ODS hoặc YMC (30 μm - 50 μm, FujiSilica Chemical Ltd.).

- *Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)*: Được đo trên máy Bruker DRX500 của Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- *Phổ khối lượng (ESI-MS)*: Được đo trên máy LC-MSD Agilent 1200 Series (USA) của Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### 2.3. Chiết tách và phân lập các hợp chất

Bột khô cây bạch đồng nữ (5 kg) được chiết bằng metanol 3 lần bằng thiết bị chiết siêu âm, sau đó gộp các dịch chiết lại và cất loại dung môi thu được 30 gam cần chiết metanol. Cặn chiết metanol này được bổ sung 3 lít nước cất rồi lắc thật kỹ đến khi tan hết rồi chiết lần lượt với các dung môi n-hexan, clorofoc, etyl axetat, sau khi loại dung môi dưới áp suất giảm lần lượt thu được các cặn chiết n-hexan (8,0 g), clorofoc (10,6 g), etyl axetat (4,2 g) và nước (8,3 g).

Dịch chiết etyl axetat và nước sau khi kiểm tra bằng sắc kí lớp mỏng đã được gộp lại với nhau và tiến hành phân tách bằng sắc kí cột silica gel với hệ dung môi clorofoc/metanol gradien tăng dần độ phân cực từ 20/1 đến 1/1 (v/v) thu được 4 phân đoạn kí hiệu lần lượt là XDBE1 (1,2 g), XDBE2 (2,2 g), XDBE3 (6 g) và XDBE4 (4,1 g).

Phân đoạn XDBE2 (2,2 g) sau khi tiến hành phân tách bằng sắc kí cột pha ngược YMC-RP-18 với hệ dung môi metanol/nước 1/3 (v/v) thu được hợp chất XDBE2C (1, 18 mg). Tiến hành sắc kí cột ngược pha YMC-RP-18 với hệ dung môi metanol/nước 2/3 (v/v) phân đoạn XDBE3 (6 g) thu được hợp chất XDBE3A (2, 17 mg). Phân đoạn XDBE4 (4,1 g), sau khi tiến hành phân tách bằng sắc kí cột silica gel với hệ dung môi clorofoc /metanol (5/1, v/v) thu được hai hợp chất XDBE4A (3, 30 mg) và XDBE4B (4, 11 mg). Các hợp chất 1-4 thu được đều dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt.

**Clerodenside A: {2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethanol 1-O-[2,3-di-O-acetyl-α-L-rhamnopyranosyl-(1→3)-[4-hydroxy-3-methoxy-E-cinnamoyl-(→4)]-β-D-glucopyranoside], 1}**: Chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z: 759 [M+Na]<sup>+</sup>, 735 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>44</sub>O<sub>17</sub>, M= 736.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 6,59 (d, J = 2,0 Hz, H-2), 6,82 (d, J = 8,5 Hz, H-5), 6,70 (dd, J = 2,0, 8,5 Hz, H-6), 2,83 (dt, J = 2,5, 7,0 Hz, H-7), 3,75 và 4,06 (m, H-8), 4,39 (d, J = 8,0 Hz, H-1'), 3,65 (m, H-2'), 3,87 (m, H-3'), 3,77 (m, H-4'), 3,67 (m, H-5'), 3,59/3,72 (m, H-6'), 5,21 (d, J = 2,0 Hz, H-1''), 5,37 (m, H-2''), 5,00 (m, H-3''), 3,77 (m, H-4''), 3,80 (m, H-5''), 1,16 (d, J = 6,5 Hz, H-6''), 7,21 (d, J = 2,0 Hz, H-2'''), 6,84 (d, J = 5,5 Hz, H-5'''), 7,13 (dd, J = 2,0, 8,0 Hz, H-6'''), 7,69 (d, J = 16,0 Hz, H-7'''), 6,41 (d, J = 16,0 Hz, H-8'''), 2,07 (s, 2''-OCOCH<sub>3</sub>), 1,98 (s, 3''-OCOCH<sub>3</sub>), 3,82 (s, 3'''-OCH<sub>3</sub>) và 3,89 (s, 4-OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 132,89 (C-1), 117,05 (C-2), 147,47 (C-3), 147,29 (C-4), 112,88 (C-5), 121,16 (C-6), 36,47 (C-7), 72,03 (C-8), 104,12 (C-1'), 75,86 (C-2'), 81,98 (C-3'), 70,52 (C-4'), 75,91 (C-5'), 62,35 (C-6'), 100,28 (C-1''), 71,33 (C-2''), 71,10 (C-3''), 72,03 (C-4''), 70,39 (C-5''), 18,40 (C-6''), 127,60 (C-1'''), 111,87 (C-2'''), 149,31 (C-3'''), 150,73 (C-4'''), 116,50 (C-5'''), 124,29 (C-6'''), 147,89 (C-7'''), 114,97 (C-8'''), 168,13 (C-9'''),

20,66 (2''-OCOCH<sub>3</sub>), 20,83 (3''-OCOCH<sub>3</sub>), 172,20 (2''-OCOCH<sub>3</sub>), 171,63 (3''-OCOCH<sub>3</sub>), 56,51 (3'''-OCH<sub>3</sub>) và 56,47 (4-OCH<sub>3</sub>).

**Martynoside: {2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethanol 1-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[4-hydroxy-3-methoxy-E-cinnamoyl-( $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-glucopyranoside], 2):** Chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z: 675 [M+Na]<sup>+</sup>, 651 [M-H]<sup>-</sup> C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>O<sub>15</sub>, M= 652.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 6,76 (d,  $J = 2,5$  Hz, H-2), 6,84 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-5), 6,70 (dd,  $J = 2,5, 8,5$  Hz, H-6), 2,84 (dt, 2,5, 7,5 Hz, H-7), 4,06/3,77 (m, H-8), 4,39 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'), 3,42 (dd,  $J = 8,0, 9,0$  Hz, H-2'), 3,85 (dd,  $J = 8,5, 9,0$  Hz, H-3'), 4,93 (t,  $J = 9,0$  Hz, H-4'), 3,54 (m, H-5'), 3,67 và 3,57 (m, H-6'), 5,22 (d,  $J = 1,5$  Hz, H-1''), 3,94 (dd,  $J = 1,5, 3,0$  Hz, H-2''), 3,61 (m, H-3''), 3,38 (m, H-4''), 3,63 (m, H-5''), 1,13 (d,  $J = 6,0$  Hz, H-6''), 7,17 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2'''), 6,79 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-5'''), 7,07 (dd,  $J = 2,0, 8,0$  Hz, H-6'''), 7,67 (d,  $J = 15,5$  Hz, H-7'''), 6,33 (d,  $J = 15,5$  Hz, H-8'''), 3,83 (s, 4-OCH<sub>3</sub>) và 3,89 (s, 3'''-OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 132,99 (C-1), 117,11 (C-2), 147,56 (C-3), 147,45 (C-4), 112,99 (C-5), 121,13 (C-6), 36,53 (C-7), 72,10 (C-8), 104,22 (C-1'), 76,20 (C-2'), 81,50 (C-3'), 70,93 (C-4'), 76,07 (C-5'), 62,39 (C-6'), 102,92 (C-1''), 72,35 (C-2''), 72,06 (C-3''), 73,82 (C-4''), 70,37 (C-5''), 18,04 (C-6''), 126,38 (C-1'''), 111,72 (C-2'''), 148,25 (C-3'''), 150,03 (C-4'''), 117,06 (C-5'''), 124,78 (C-6'''), 147,56 (C-7'''), 113,97 (C-8'''), 168,50 (C-9'''), 56,39 (4-OCH<sub>3</sub>) và 56,57 (3'''-OCH<sub>3</sub>).

**Acteoside: (hydroxytyrosol 1-glycoside 1-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[3,4-dihydroxy-E-cinnamoyl-( $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-glucopyranoside], 3):** Chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z: 647 [M+Na]<sup>+</sup>, 623 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>O<sub>15</sub>, M= 624.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 6,74 (d,  $J = 9,5$  Hz, H-2), 6,74 (d,  $J = 9,5$  Hz, H-5), 6,57 (d,  $J = 7,0$  Hz, H-6), 3,60/3,77 (m, H- $\alpha$ ), 2,79 (m, H- $\beta$ ), 7,11 (brs, H-2'''), 6,83 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-5'''), 6,96 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-6'''), 6,31 (d,  $J = 16,5$  Hz, H- $\beta$ ), 7,62 (d,  $J = 16,5$  Hz, H- $\gamma$ ), 4,39 (d,  $J = 7,5$  Hz, H-1'), 3,55 (dd,  $J = 7,5, 9,0$  Hz, H-2'), 3,85 (t,  $J = 9,0$  Hz, H-3'), 4,97 (t,  $J = 9,0$  Hz, H-4'), 3,45 (m, H-5'), 3,67/3,58 (m, H-6'), 5,24 (brs, H-1''), 3,68 (H-2''), 4,03 (m, H-3''), 3,37 (m, H-4''), 3,62 (m, H-5'') và 1,13 (d,  $J = 5,5$  Hz, H-6'').

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 131,38 (C-1), 116,47 (C-2), 144,20 (C-3), 145,67 (C-4), 117,03 (C-5), 121,24 (C-6), 72,04 (C- $\alpha$ ), 36,19 (C- $\beta$ ), 127,43 (C-1'''), 115,23 (C-2'''), 149,35 (C-3'''), 146,37 (C-4'''), 116,28 (C-5'''), 123,16 (C-6'''), 168,23 (C- $\alpha$ ), 114,48 (C- $\beta$ ), 147,99 (C- $\gamma$ ), 103,76 (C-1'), 75,50 (C-2'), 81,50 (C-3'), 70,14 (C-4'), 75,81 (C-5'), 62,06 (C-6'), 103,0 (C-1''), 71,94 (C-2''), 72,04 (C-3''), 73,55 (C-4''), 70,31 (C-5'') và 18,28 (C-6'').

**Isoacteoside: (isoverbascoside, hydroxytyrosol 1-glycoside 1-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[3,4-dihydroxy-E-cinnamoyl-( $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside], 4)**

Chất rắn màu vàng nhạt. Nhiệt độ nóng chảy 148-149°C;

ESI-MS m/z: 647 [M+Na]<sup>+</sup>, 623 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>O<sub>15</sub>, M= 624.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 131,48 (C-1), 116,57 (C-2), 144,62 (C-3), 146,09 (C-4), 117,10 (C-5), 121,28 (C-6), 72,29 (C- $\alpha$ ), 36,65 (C- $\beta$ ), 127,74 (C-1'''), 114,90 (C-2'''), 149,57 (C-3'''), 146,74 (C-4'''), 116,93 (C-5'''), 123,11 (C-6'''), 169,13 (C- $\alpha$ ), 115,17 (C- $\beta$ ), 147,22 (C- $\gamma$ ), 104,38 (C-1'), 75,63 (C-2'), 84,14 (C-3'), 70,44 (C-4'), 75,04 (C-5'), 64,64 (C-6'), 102,71 (C-1''), 71,34 (C-2''), 72,29 (C-3''), 74,18 (C-4''), 70,06 (C-5'') và 17,86 (C-6'').

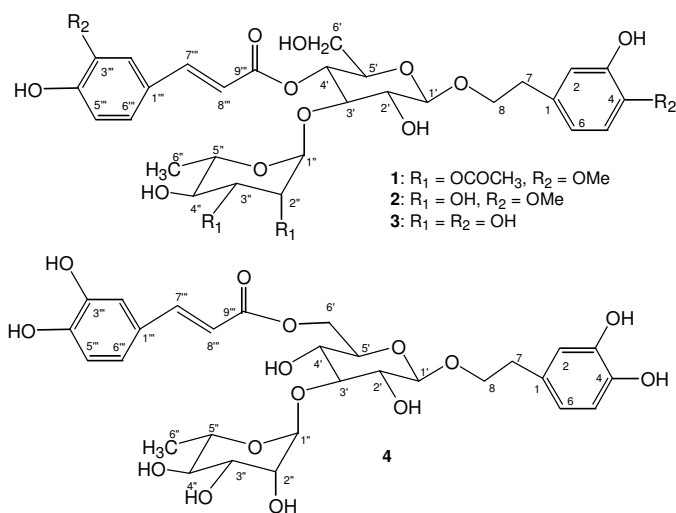
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6,69 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2), 6,65 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-5), 6,55 (dd,  $J = 2,0, 8,0$  Hz, H-6), 2,79 (dt,  $J = 2,0, 7,0$  Hz, H- $\alpha$ ), 3,73/4,03 (m, H- $\beta$ ), 7,05 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2''), 6,79 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-5''), 6,90 (dd,  $J = 2,0, 8,0$  Hz, H-6'''), 6,31 (d,  $J = 16,0$  Hz, H- $\beta$ ), 7,58 (d,  $J = 16,0$  Hz, H- $\gamma$ ), 4,37 (d,  $J = 7,0$  Hz, H-1'), 3,36 (dd,  $J = 7,0, 8,0$  Hz, H-2'), 3,54 (t,  $J = 8,0$  Hz, H-3'), 4,02 (m, H-4'), 3,06 (m, H-5'), 4,52 (dd,  $J = 2,0, 12,0$  Hz, Ha-6'), 4,38 (dd,  $J = 5,0, 12,0$  Hz, Hb-6'), 5,20 (d,  $J = 1,5$  Hz, H-1''), 3,74 (dd, 1,5, 3,0 Hz, H-2''), 3,97 (m, H-3''), 3,42 (m, H-4''), 4,02 (m, H-5'') và 1,26 (d,  $J = 6,0$  Hz, H-6'').

### 3. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

Hợp chất **1** nhận được dưới dạng chất bột màu vàng nhạt. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **1** xuất hiện các tín hiệu của hai vòng thơm đều thể 1,3,4 tại  $\delta$  6,59 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2), 6,82 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-5), 6,70 (dd,  $J = 2,0, 8,5$  Hz, H-6) và 7,21 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2''), 6,84 (d,  $J = 5,5$  Hz, H-5''), 7,13 (dd,  $J = 2,0, 8,0$  Hz, H-6''') sau khi phân tích các hằng số tương tác  $J$ . Sự có mặt của hai phân tử đường (glucose và rhamnose) được nhận biết bởi các tín hiệu đặc trưng của hai proton anome tại  $\delta$  4,39 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-1') và  $\delta$  5,21 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-1'') và tín hiệu doublet của một nhóm methyl đặc trưng tại  $\delta$  1,16 (d,  $J = 6,5$  Hz, H-6''). Các tín hiệu khác của hai phân tử đường này cũng được nhận biết tại  $\delta$  3,65 (m, H-2'), 3,87 (m, H-3'), 3,77 (m, H-4'), 3,67 (m, H-5'), 3,59/3,72 (m, H-6'), 5,37 (m, H-2''), 5,00 (m, H-3''), 3,77 (m, H-4'') và 3,80 (m, H-5''). Ngoài ra trên phổ còn xuất hiện một nối đôi cấu hình *trans* tại  $\delta$  7,69 (d,  $J = 16,0$  Hz, H-7''') và 6,41 (d,  $J = 16,0$  Hz, H-8'''), hai tín hiệu singlet của hai nhóm axetyl tại  $\delta$  2,07 (2''-OCOCH<sub>3</sub>) và 1,98 (3''-OCOCH<sub>3</sub>), và hai tín hiệu singlet khác của hai nhóm metoxi tại  $\delta$  3,82 (3'''-OCH<sub>3</sub>) và 3,89 (4-OCH<sub>3</sub>), và hai nhóm metylen, trong đó có một nhóm nối với nguyên tử oxi tại  $\delta$  2,83 (dt,  $J = 2,5, 7,0$  Hz, H-7), 3,75 và 4,06 (m, H-8). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  xuất hiện tín hiệu của 35 nguyên tử cacbon, trong đó bằng các phổ DEPT 90, DEPT 135, HSQC và HMBC đã xác định được sự có mặt của hai vòng thơm với 12 tín hiệu cacbon tại  $\delta$  132,89 (C-1), 117,05 (C-2), 147,47 (C-3), 147,29 (C-4), 112,88 (C-5), 121,16 (C-6), 127,60 (C-1'''), 111,87 (C-2'''), 149,31 (C-3'''), 150,73 (C-4'''), 116,50 (C-5'''), 124,29 (C-6'''); một nối đôi tại  $\delta$  147,89 (C-7''') và 114,97 (C-8'''); một phân tử đường glucose và một rhamnose tại  $\delta$  104,12 (C-1'), 75,86 (C-2'), 81,98 (C-3'), 70,52 (C-4'), 75,91 (C-5'), 62,35 (C-6'), 100,28 (C-1''), 71,33 (C-2''), 71,10 (C-3''), 72,03 (C-4''), 70,39 (C-5'') và 18,40 (C-6''); hai nhóm axetyl được xác định tại  $\delta$  20,66 (2''-OCOCH<sub>3</sub>), 20,83 (3''-OCOCH<sub>3</sub>), 172,20 (2''-OCOCH<sub>3</sub>), 171,63 (3''-OCOCH<sub>3</sub>); hai nhóm metoxi tại  $\delta$  56,51 (3'''-OCH<sub>3</sub>) và 56,47 (4-OCH<sub>3</sub>). Và ngoài ra còn có tín hiệu của cacbon carbonyl khác tại  $\delta$  168,13 (C-9''') và hai nhóm metylen tại  $\delta$  36,47 (C-7) và 72,03 (C-8). Các dữ kiện trên cho thấy công thức phân tử của **1** sẽ là  $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{O}_{17}$  với khối lượng phân tử là  $M = 736$ . Kết quả phổ khối lượng ESI-MS đã khẳng định thêm điều đó với sự xuất hiện của các pic ion tại  $m/z$ : 759  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (positive ion mode) và 735  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (negative ion mode). Trên phổ HMBC, các cấu trúc từng phần của **2** cũng được xác định. Tương tác HMBC của H-8 với C-1', C-7 và C-1, của H-7 với C-1, C-2 và C-6 chứng tỏ phân tử đường glucose nối với C-8 bằng liên kết ete. Tương tác của H-1'' với C-3', của H-2'' và H-3'' với hai cacbon carbonyl chứng tỏ phân tử đường rhamnose nối vào vị trí C-3' của đường glucose và hai nhóm axetyl nối vào C-2'' và C-3'' của đường rhamnose. Ngoài ra, tương tác HMBC giữa H-4' với cacbon C-9'''' cũng như tương tác của H-7'''' và H-8'''' với C-9'''' chứng tỏ sự có mặt của nhóm caffeoyl đồng thời nhóm này nối với C-4' bằng liên kết este. Như vậy, cấu trúc hoá học của **1** là clerodenoside A. Kết quả so sánh các dữ kiện phổ của **1** với của hợp chất clerodenoside A là hoàn toàn phù hợp tại tất cả các vị trí [2, 3]. Hợp chất này cũng đã được tìm thấy từ cây *Aegiphila obducta*,

*Lippia dulcis* và *Lippia canescens* và đặc biệt, hợp chất này cũng đã được tìm thấy từ một loài khác là *C. japonicum* thuộc cùng chi *Clerodendrum* [4].

Hợp chất **2** cũng nhận được dưới dạng chất bột có màu vàng nhạt. Phổ NMR của **4** có dạng phổ gần tương tự như các phổ tương ứng của hợp chất **1**. Điểm khác biệt có thể nhận biết được đó là các tín hiệu của hai nhóm axetyl không còn nữa. Điều này có thể cho phép dự đoán được hợp chất **4** chính là một dẫn xuất deaxyl của **1**. Trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  một nhóm hydroxytyrosol được xác định bởi các tín hiệu  $\delta$  6,76 (d,  $J = 2,5$  Hz, H-2), 6,84 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-5), 6,70 (dd,  $J = 2,5, 8,5$  Hz, H-6), 2,84 (dt, 2,5, 7,5 Hz, H-7) và 4,06/3,77 (m, H-8); nhánh cinnamoyl được nhận biết tại  $\delta$  7,17 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2'''), 6,79 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-5'''), 7,07 (dd,  $J = 2,0, 8,0$  Hz, H-6'''), 7,67 (d,  $J = 15,5$  Hz, H-7''') và 6,33 (d,  $J = 15,5$  Hz, H-8'''); hai phân tử đường được xác định bởi các tín hiệu  $\delta$  4,39 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'), 3,42 (dd,  $J = 8,0, 9,0$  Hz, H-2'), 3,85 (dd,  $J = 8,5, 9,0$  Hz, H-3'), 4,93 (t,  $J = 9,0$  Hz, H-4'), 3,54 (m, H-5'), 3,67 và 3,57 (m, H-6'), 5,22 (d,  $J = 1,5$  Hz, H-1''), 3,94 (dd,  $J = 1,5, 3,0$  Hz, H-2''), 3,61 (m, H-3''), 3,38 (m, H-4''), 3,63 (m, H-5''), 1,13 (d,  $J = 6,0$  Hz, H-6''); và hai nhóm metoxi gắn vào các vòng thơm tại  $\delta$  3,83 (4-OCH<sub>3</sub>) và 3,89 (3'''-OCH<sub>3</sub>). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất **2** xuất hiện tín hiệu của 31 nguyên tử cacbon, trong đó có 12 tín hiệu của hai vòng thơm tại  $\delta$  132,99 (C-1), 117,11 (C-2), 147,56 (C-3), 147,45 (C-4), 112,99 (C-5), 121,13 (C-6), 126,38 (C-1'''), 111,72 (C-2'''), 148,25 (C-3'''), 150,03 (C-4'''), 117,06 (C-5''') và 124,78 (C-6'''); 12 tín hiệu của hai phân tử đường  $\delta$  104,22 (C-1'), 76,20 (C-2'), 81,50 (C-3'), 70,93 (C-4'), 76,07 (C-5'), 62,39 (C-6'), 102,92 (C-1''), 72,35 (C-2''), 72,06 (C-3''), 73,82 (C-4''), 70,37 (C-5'') và 18,04 (C-6''); 2 tín hiệu của nối đôi tại  $\delta$  147,56 (C-7''') và 113,97 (C-8'''); hai tín hiệu của hai nhóm metylen  $\delta$  36,53 (C-7), 72,10 (C-8); hai tín hiệu của hai nhóm metoxi  $\delta$  56,39 (4-OCH<sub>3</sub>) và 56,57 (3'''-OCH<sub>3</sub>) và tín hiệu còn lại của cacbon carbonyl của nhánh caffeoyl  $\delta$  168,50 (C-9''').



Hình 1. Cấu trúc hoá học của **1-4**

Các giá trị độ dịch chuyển hoá học của proton và cacbon cũng được xác định bởi các phổ DEPT 90, DEPT 135, HSQC và HMBC. Các tương tác HMBC cho phép xác định các vị trí liên kết của các nhóm trong cấu trúc phân tử. Chi tiết các tương tác HMBC được nêu ra trên bảng 4.3.4.a. Trong đó, tương tác HMBC của H-7 và H-8 với C-1' và C-1, của H-1'' (rham) với C-3' (gluc), của H-4' (gluc) với C-9''' khẳng định rõ phân tử đường rhamnose nối vào vị trí C-3' của đường glucose, nhóm caffeoyl đồng thời nối với C-4' của phân tử glucose bằng liên kết este, và

phân tử đường glucose nối với C-8 của nhánh hydroxytyrosol 1-glycosides bằng liên kết ete. Như vậy, cấu trúc hoá học của **2** chính là martynoside. Các dữ kiện phổ NMR của **2** hoàn toàn phù hợp với các dữ kiện phổ tương ứng của martynoside [2] (bảng 4.3.4.a). Ngoài ra, phổ khối lượng ESI-MS cũng xuất hiện pic ion tại  $m/z$  675  $[M+Na]^+$  (positive ion mode) và 651  $[M-H]^-$  (negative ion mode) hoàn toàn phù hợp với công thức phân tử  $C_{31}H_{40}O_{15}$  của martynoside ( $M=652$ ). Hợp chất này đã được biết đến từ các loài *Martynia louisiana* and *Leonurus japonicum* [2, 4], tuy nhiên đây là lần đầu nó được phân lập từ chi *Clerodendrum*.

Hợp chất **3** cũng nhận được dưới dạng chất bột có màu vàng nhạt. Phổ  $^1H$ -NMR của **3** cũng có dạng phổ tương tự như các phổ tương ứng của hợp chất **1** và **2** với sự xuất hiện các tín hiệu của một nhóm caffeoyl, một nhóm hydroxytyrosol 1-glycosides và hai phân tử đường glucose và rhamnose. Sự khác biệt giữa các phổ NMR của **3** so với **2** là sự vắng mặt của hai nhóm metoxi. Như vậy đây cũng là một dẫn xuất của hợp chất **2**. Trên phổ  $^1H$ -NMR nhóm caffeoyl được nhận ra bởi các tín hiệu tại  $\delta$  7,11 (brs, H-2''), 6,83 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-5''), 6,96 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-6''), 6,31 (d,  $J = 16,5$  Hz, H- $\beta$ ) và 7,62 (d,  $J = 16,5$  Hz, H- $\gamma$ ) với nối đôi có cấu hình *trans*. Nhánh hydroxytyrosol 1-glycosides được xác định bởi các tín hiệu tại  $\delta$  6,74 (d,  $J = 9,5$  Hz, H-2), 6,74 (d,  $J = 9,5$  Hz, H-5), 6,57 (d,  $J = 7,0$  Hz, H-6), 3,60/3,77 (m, H- $\alpha$ ), 2,79 (m, H- $\beta$ ), trong đó với hệ tương tác ABX của vòng thơm cho thấy vòng thơm này thể 1,3,4. Hai phân tử đường cũng được xác định bằng các tín hiệu tại  $\delta$  4,39 (d,  $J = 7,5$  Hz, H-1'), 3,55 (dd,  $J = 7,5, 9,0$  Hz, H-2'), 3,85 (t,  $J = 9,0$  Hz, H-3'), 4,97 (t,  $J = 9,0$  Hz, H-4'), 3,45 (m, H-5'), 3,67/3,58 (m, H-6'), 5,24 (brs, H-1''), 3,68 (H-2''), 4,03 (m, H-3''), 3,37 (m, H-4''), 3,62 (m, H-5'') và 1,13 (d,  $J = 5,5$  Hz, H-6''). Phổ  $^{13}C$ -NMR xuất hiện tín hiệu của 29 nguyên tử cacbon. So với hợp chất **2** đã mất đi 2 cacbon, tương ứng với sự vắng mặt của hai nhóm metoxi. Như vậy công thức phân tử dự đoán của **3** là  $C_{29}H_{36}O_{15}$ ,  $M = 624$ . Điều này đã được khẳng định bằng sự xuất hiện các pic ion tại  $m/z$  647  $[M+Na]^+$  (positive ion mode) và 623  $[M-H]^-$  (negative ion mode) trên phổ ESI-MS. Phổ  $^{13}C$ -NMR, DEPT 90, DEPT 135 và HSQC đã cho phép xác định độ dịch chuyển hoá học của từng proton và cacbon trong phân tử. Trong đó, nhánh aglycon có cấu trúc hydroxytyrosol 1-glycosides được xác định tại  $\delta$  131,38 (C-1), 116,47 (C-2), 144,20 (C-3), 145,67 (C-4), 117,03 (C-5), 121,24 (C-6), 72,04 (C- $\alpha$ ) và 36,19 (C- $\beta$ ). Nhánh caffeoyl được xác định tại  $\delta$  127,43 (C-1''), 115,23 (C-2''), 149,35 (C-3''), 146,37 (C-4''), 116,28 (C-5''), 123,16 (C-6''), 168,23 (C- $\alpha$ ), 114,48 (C- $\beta$ ), và 147,99 (C- $\gamma$ ). Phân tử đường glucose được xác định tại  $\delta$  103,76 (C-1'), 75,50 (C-2'), 81,50 (C-3'), 70,14 (C-4'), 75,81 (C-5') và 62,06 (C-6'). Phân tử đường rhamnose được xác định tại  $\delta$  103,0 (C-1''), 71,94 (C-2''), 72,04 (C-3''), 73,55 (C-4''), 70,31 (C-5'') và 18,28 (C-6''). Cũng tương tự như các hợp chất **1-2**, phổ HMBC của **3** đã cho phép kiểm tra các liên kết trong phân tử. Với những kết quả phân tích trên phổ HMBC cùng với sự so sánh các dữ kiện phổ của hợp chất **3** với các dữ kiện phổ tương ứng của acteoside [6] cho thấy hợp chất **3** chính là acteoside. Hợp chất này cũng được tìm thấy từ nhiều loài thực vật bậc cao khác [4].

Hợp chất **4** cũng nhận được dưới dạng chất bột có màu vàng nhạt. Các phổ NMR của **4** cũng tương tự như các phổ tương ứng của **3**. Với các tín hiệu đặc trưng cho một phenethylalcohol diglycozít với hai đơn vị đường là rhamnose và glucose. Phổ  $^1H$ -NMR cho thấy sự xuất hiện của một nhóm methyl bậc hai tại  $\delta$  1,26 (d,  $J = 6,0$  Hz), các proton metylen tại  $\delta$  2,79 (2H, dt,  $J = 7,0, 2,0$  Hz)/  $\delta$  3,73 (m) và 4,03 (m), hai proton olefinic dạng *trans* tại  $\delta$  6,31 (d,  $J = 16$  Hz)/  $\delta$  7,58 (d,  $J = 16$  Hz) và các proton của vòng hai thơm khác nhau tại  $\delta$  6,69 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2), 6,65 (d,  $J = 8,5$  Hz, H-5), 6,55 (dd,  $J = 2,0, 8,0$  Hz, H-6), 7,05 (d,  $J = 2,0$  Hz, H-2''), 6,79 (d,  $J = 8,0$  Hz, H-5'') và 6,90 (dd,  $J = 2,0, 8,0$  Hz, H-6''). Hai phân tử đường glucose và rhamnose cũng xuất hiện các tín hiệu proton tại  $\delta$  4,37 (d,  $J = 7,0$  Hz, H-1'), 3,36

(dd,  $J = 7,0, 8,0$  Hz, H-2'), 3,54 (t,  $J = 8,0$  Hz, H-3'), 4,02 (m, H-4'), 3,06 (m, H-5'), 4,52 (dd,  $J = 2,0, 12,0$  Hz, Ha-6'), 4,38 (dd,  $J = 5,0, 12,0$  Hz, Hb-6'), 5,20 (d,  $J = 1,5$  Hz, H-1''), 3,74 (dd, 1,5, 3,0 Hz, H-2''), 3,97 (m, H-3''), 3,42 (m, H-4''), 4,02 (m, H-5'') và 1,26 (d,  $J = 6,0$  Hz, H-6''). Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của **4** cũng tương tự như phổ của **3** ngoại trừ cho sự thay đổi của hai cacbon về phía trường thấp. Cụ thể là cacbon C-3' của đường glucose chuyển dịch về  $\delta$  84,14 (so với giá trị tương ứng của **3** là  $\delta$  81,50,  $\Delta +2,64$ ) và cacbon C-6' của đường glucozơ chuyển dịch về  $\delta$  64,64 (so với giá trị tương ứng của **3** là  $\delta$  62,06,  $\Delta +2,58$ ). Do đó có thể nhận định rằng cấu trúc của **4** là một isomer của **3** với sự thay đổi vị trí liên kết este của nhóm caffeoyl vào C-6' (của **4**) thay cho C-4' (của **3**). Các phân tích trên phổ HMBC đã chứng minh điều này. Tương tác giữa các proton H-6' [ $\delta_{\text{H}}$  4,52 (dd,  $J = 2,0, 12,0$  Hz)/4,38 (dd,  $J = 5,0, 12,0$  Hz)] của đường glucozơ với C-5' ( $\delta_{\text{C}}$  75,04)/C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  70,44) và với cacbon của nhóm cacboxylat của nhánh caffeoyl ( $\delta_{\text{C}}$  169,13), tương tác giữa proton H-1'' [ $\delta_{\text{H}}$  5,20 (d,  $J = 1,5$  Hz)] của đường rhamnozơ và C-3' của glucozơ ( $\delta_{\text{C}}$  84,14) đã được quan sát thấy trên phổ HMBC. Ngoài ra, tương tác giữa proton của nhóm metylen [ $\delta_{\text{H}}$  4,03 (m)/3,73 (m)] với C-1' đường glucozơ ( $\delta_{\text{C}}$  104,38) và với C-1 của vòng benzen ( $\delta_{\text{C}}$  131,48) đã xác nhận vị trí liên kết của aglycon. Từ các phân tích nêu trên và sự phù hợp hoàn toàn về các dữ liệu phổ NMR của **4** với các dữ liệu phổ tương ứng của hợp chất isoacteoside (bảng 4.3.6.a) [5], cùng với kết quả thu được từ phổ khối lượng ESI-MS { $m/z$ : 647 [M+Na] $^{+}$ , 623 [M-H] $^{-}$ ,  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$ ,  $M = 624$ } hợp chất **4** đã được khẳng định là isoacteoside [5, 6, 7]. Hợp chất này còn được phân lập từ *Leucoseptum japonicum* ở Nhật Bản [4].

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích và cộng sự - Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập II, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2004, 143-145.
2. Suzana G. Leitão, Maria Auxiliadora C. Kaplan - Phenylpropanoid glucosides from *Aegiphila obducta*, Journal of Natural Products **57** (12) (1994) 1703-1707.
3. Fumiko Abe, Tsuneatsu Nagao, and Hikaru Okabe - Antiproliferative constituents in plants 9, Aerial parts of *Lippia dulcis* and *Lippia canescens*, Bio. Pharm. Bull. **25** (7) (2002) 920-922.
4. Dictionary of Natural Products on CD-ROM, Version 15:1, Copyright @ 1982-2007 Chapman & Hall/CRC.
5. Miyase T., Koizumi A., Ueno A., Noro T., Kuroyanagi M., Fukushima S., Akiyama Y., and Takemoto T. - Studies on the acyl glycosides from *Leucoseptum japonicum* (Miq.) Kitamura et Murata, Chem. Pharm. Bull. **30** (1982) 2732-2737.
6. Hiroshi Sasaki, Hiroaki Nishimura, Masao Chin (Chen Zhengxiong) and Hiroshi Mitsuhashi - Hydroxycinnamic acid esters of phenethylalcohol glycosides from *Rehmannia glutinosa* var. *Purpurea*, Phytochemistry **28** (3) (1989) 876-879.
7. Kasai R., Ogawa K., Ohtani K., et al. - Phenolic glucoside from Nuo-Mi-Xiang-Cao, a chinese *acanthaceous herb* [J], Chem Pharm Bull **39** (4) (1991) 927-929.

## SUMMARY

### PHENYLPROPANOID GLUCOSIDES FROM *CLERODENDRUM PHILIPPINUM*

From the methanolic extract of the roots of *Clerodendrum philippinum* four phenylpropanoid glucosides were isolated by various chromatography methods. Their structures were identified as clerodenoside A (1), martynoside (2), acteoside (3), and isoacteoside (4) by means of spectroscopic methods including 1D-, 2D-NMR, and MS in comparison with previous literature data. Compounds 2-4 were found for the first time from the *Croderodendrum* species.

**Keywords:** *Clerodendrum philippinum*, phenylpropanoid glucoside

*Địa chỉ:*

*Nhận bài ngày 12 tháng 10 năm 2009*

Hà Vân Oanh, Phạm Xuân Sinh Nguyễn Thái An,

Trường Đại học Dược, Hà Nội.

Tạ Mạnh Hùng,

Viện Kiểm nghiệm thuốc TW.

Châu Văn Minh, Nguyễn Phương Thảo, Phan Văn Kiệt,

Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện KH và CN Việt Nam.