

## CÁC HỢP CHẤT DIHYDROFLAVONOL GLYCOSIT VÀ APORPHIN ALKALOIT TỪ CÂY LÃNH CÔNG GÂN HOE

Lê Quốc Thắng<sup>1</sup>, Trịnh Thị Thủy<sup>2</sup>, Trần Văn Sung<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế

<sup>2</sup>Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đến Tòa soạn 5-3-2011

### Abstract

Chemical investigation of *Fissistigma rufinerve* (Hook. f. & Thoms.) Merr. growing in Hoa Binh province, Vietnam led to the isolation of two dihydroflavonol glycosides named astilbin [(2R,3R)-3',4',5,7-tetrahydroxydihydroflavonol 3 $\beta$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside], engeletin [(2R,3R)-4',5,7-trihydroxydihydroflavonol 3 $\beta$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside], and 8-hydroxy-9-methoxy-1,2-methylenedioxyaporphine. Their structures were determined on the basis of MS, NMR spectra and comparison with reported data.

**Key words:** *Fissistigma rufinerve*, astilbin, engeletin, aporphine.

### 1. MỞ ĐẦU

Cây Lãnh công gân hoe [*Fissistigma rufinerve* (Hook. F. & Thoms.) Merr.] là cây dây leo thân gỗ, mọc rải rác trong rừng thứ sinh ở độ cao 300 - 1200 m ở các tỉnh Hòa Bình, Lào Cai, Hà Giang, Cao Bằng, Quảng Ninh, Khánh Hòa [1]. Cây này chưa được nghiên cứu về thành phần hóa học ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Tiếp tục nghiên cứu thành phần hóa học chi *Fissistigma* ở Việt Nam, bài báo này sẽ thông báo việc phân lập và xác định cấu trúc hoá học của hai dihydroflavonol glycosid là astilbin [(2R,3R)-3',4',5,7-tetrahydroxydihydroflavonol 3 $\beta$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid, **1**], engeletin [(2R,3R)-4',5,7-trihydroxydihydroflavonol 3 $\beta$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid, **2**] và 8-hydroxy-9-methoxy-1,2-methylenedioxyaporphin (**3**). Cấu trúc hoá học của các chất được xác định bằng cách kết hợp các phương pháp phổ khối (ESI-, HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton, cacbon 13 một chiều, hai chiều (<sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR) và so sánh với các tài liệu đã công bố.

### 2. THỰC NGHIỆM

#### 2.1. Thiết bị, máy móc

Phổ khối HR-ESI-MS: FT-ICR-MS Varian (USA). ESI-MS: LC-MSD-Trap-SL Agilen. NMR: BRUKER Avance 500 spectrometer [499,8 MHz (<sup>1</sup>H) và 125 MHz (<sup>13</sup>C, DEPT)]. Chất nội chuẩn TMS ( $\delta$  = 0 cho <sup>1</sup>H) và tín hiệu dung môi CDCl<sub>3</sub> ( $\delta$  = 77,0), CD<sub>3</sub>OD ( $\delta$  = 49,0 ppm) cho <sup>13</sup>C. Tất cả các

loại phổ được đo tại Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. CC: Silica gel 60, 0,06 - 0,20 mm (Merck) cho cột đầu, silica gel 60, 40 - 63  $\mu$ m (Merck) cho các cột tiếp theo. Silica gel 60 F-254 (Merck) được dùng cho sắc ký lớp mỏng.

#### 2.2. Mẫu thực vật

Mẫu lá cây Lãnh công gân hoe được thu hái vào tháng 4/2007, tại Pà Cò, Mai Châu, Hòa Bình. Tên cây do TS. Ngô Văn Trại xác định, tiêu bản số PC-04 được giữ tại Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

#### 2.3. Chiết, tách và số liệu phổ

Mẫu lá *F. rufinerve* được phơi khô, xay nhỏ; 1,7 kg mẫu được ngâm chiết bằng MeOH-H<sub>2</sub>O (95:5) ở nhiệt độ phòng, cất loại MeOH dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 45°C. Dịch nước còn lại được chiết phân lớp bằng *n*-hexan, EtOAc và *n*-BuOH. Cất loại dung môi thu được 17,5; 22,3 và 35,5 g cặn các dịch chiết tương ứng. Dịch chiết EtOAc (22 g) được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, dung môi *n*-hexan-EtOAc (80:20→20:80) thu được 10 phân đoạn (PCE-1→PCE-10).

#### Chất astilbin [(2R,3R)-3',4',5,7-tetrahydroxydihydroflavonol 3 $\beta$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid, **1**]

Từ phân đoạn PCE-7 được chạy sắc ký cột silica gel, dung môi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (80:20), thu được chất

**1** (17,2mg); Phổ HR-ESI-MS:  $m/z$  473,10594  $[M+Na]^+$  ( $C_{21}H_{22}O_{11}Na$ , theo tính toán 473,10598). Số liệu phổ  $^1H$ -NMR: bảng 1 và  $^{13}C$ -NMR, bảng 2.

**Chất engeletin [(2R,3R)-4',5,7-trihydroxydihydroflavonol 3 $\beta$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid, 2]**

Từ phân đoạn PCE-6 được chạy sắc ký cột silica gel, dung môi  $CH_2Cl_2$ -MeOH (80:20), thu được chất **2** (21,6mg). Phổ HR-ESI-MS:  $m/z$  457,12656  $[M+Na]^+$  ( $C_{21}H_{22}O_{10}Na$ , theo tính toán 457,11107). Số liệu phổ  $^1H$ -NMR, bảng 1 và  $^{13}C$ -NMR, bảng 2.

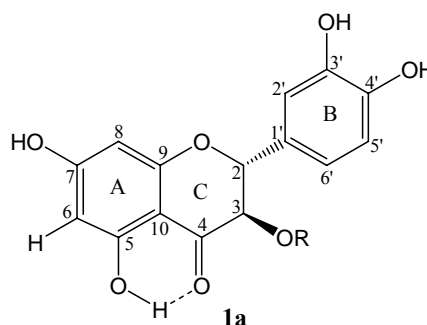
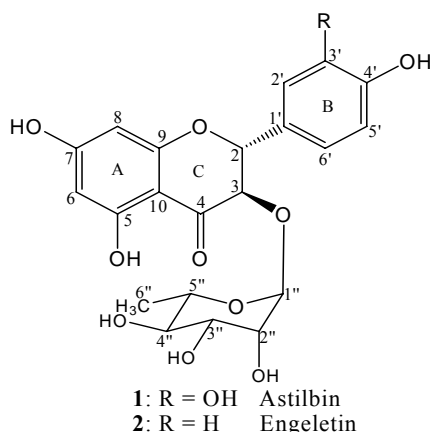
**Chất 8-hydroxy-9-metoxo-1,2-metylendioxyaporphin (3)**

Từ phân đoạn PCE-3 được tiếp tục chạy sắc ký cột silica gel, dung môi EtOAc-MeOH

(80:20→30:70). Phân đoạn chính được làm sạch lại bằng cột sephadex LH-20 (MeOH), thu được chất **3** (22 mg). Chất này hiện màu da cam với thuốc thử Dragendorff. Phổ HR-ESI-MS:  $m/z$  326,13879  $[M+H]^+$  ( $C_{19}H_{20}NO_4$ , theo tính toán 326,13923). Số liệu phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR, bảng 3.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

Dịch chiết MeOH-H<sub>2</sub>O (95:5) của lá cây Lành công gân hoe sau khi loại dung môi dưới áp suất giảm được phân bố lần lượt trong các dung môi *n*-hexan, etyl axetat và *n*-butanol. Cát loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn các dịch chiết tương ứng. Từ cặn dịch chiết etyl axetat, bằng sắc ký cột (SKC) thường, sắc ký cột nhanh (flash chromatography) trên silica gel hoặc sephadex LH-20 với các hệ dung môi thích hợp đã phân lập được ba chất **1**, **2** và **3** sạch.



Kết hợp pic ion  $m/z$  485,8  $[M+Cl]^-$  ở phổ khối ESI-MS ion âm (negative ions) và pic ion  $m/z$  473,10594  $[M+Na]^+$  (tính toán  $C_{21}H_{22}O_{11}Na$  là 473,10598) trong phổ khối HR-ESI-MS (positive ions) đã xác định được công thức phân tử của chất **1** là  $C_{21}H_{22}O_{11}$  ( $M = 450$ ). Chất **1** có gắn với một đường rhamnose được thấy rõ qua tín hiệu của nhóm methyl ( $\delta_H$ 1,20,  $d$ ,  $J = 6,2$  Hz,  $\delta_C$ 17,88), nhóm methin anome ( $\delta_H$ 4,08,  $\delta_C$ 102,17) và cụm tín hiệu của 4 methin proton ở  $\delta_H$ 3,3 - 4,3 ( $\delta_C$  70,54; 71,8; 72,2; 73,85) ở phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR. Ngoài các tín hiệu của đường rhamnose, phổ  $^{13}C$ -NMR và DEPT ở phía trường thấp ( $\delta_C$  96 - 195 ppm) còn có tín hiệu của 15 carbon bao gồm: 8 cacbon bậc 4 (trong đó có 1 nhóm carbonyl ở  $\delta$  195,94) và 7 nhóm CH. Kết hợp với công thức phân tử, chúng tôi dự đoán chất **1** là một dihydroflavonol glycosid. Phổ  $^1H$ -NMR, phía trường thấp có tín hiệu của 3 proton thơm: một duplét kép ở  $\delta$  6,85 ( $dd$ ,  $J = 1,7$ ; 8,1 Hz, H-6') và  $\delta$  6,83 ( $d$ ,  $J = 8,1$  Hz, H-5') cho biết vòng B có nhóm thế ở C-3' và C-4'. Vòng A có hai proton ở vị trí *meta* với nhau được thấy rõ tín hiệu của 2 proton ở

$\delta_H$ 5,92; 5,94 ( $d$ ,  $J \approx 2$ Hz). Như vậy, cấu trúc của aglycon được dự kiến là 3',4',5,7-tetrahydroxydihydroflavonol. Cặp doublet ở  $\delta_H$  5,09 và 4,59 có cùng hằng số tương tác ( $J = 10,7$  Hz), cho thấy hai proton H-2 và H-3 ở khác phía với nhau (2 $\beta$ -H và 3 $\alpha$ -H). Đường rhamnose gắn với C-3 được khẳng định qua tương tác của proton anome H-1''/C-3 trong phổ HMBC (bảng 2). Phổ NMR của chất **1** (bảng 1 và 2) hoàn toàn phù hợp với phổ của astilbin [2, 3], ngoại trừ cường độ tín hiệu của H-6/C-6 là khá yếu, hiện tượng này có thể được giải thích bởi proton này bị ảnh hưởng cầu liên kết hidro của nhóm 5-OH/C=O (**1a**), do vậy proton H-6 dễ bị deuteri hóa trong quá trình đo phổ [2 - 5]. Qua phân tích số liệu phổ và so sánh với tài liệu [2, 3], cấu trúc của chất **1** được xác định là (2R,3R)-3',4',5,7-tetrahydroxydihydroflavonol 3 $\beta$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid (astilbin). Chất này lần đầu tiên đã được tách ra từ cây *Astilbe microphylla* và sau này được tìm thấy trong cây *Taxillus kaempferi*, *Vitis vinifera*, *Eucryphia cordifolia* [2 - 5, 8].



Bảng 1: Số liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  của chất **1**, **2** [500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ (ppm),  $J$ (Hz)] và astilbin [3], engeletin [5]

H	Astilbin [3], $\text{CD}_3\text{OD}+\text{D}_2\text{O}$	<b>1</b>	Engeletin [5], Aceton- $d_6$	<b>2</b>
H-2	5,08 <i>d</i> (10,7)	5,09 <i>d</i> (10,7)	5,22 <i>d</i> (11)	5,15 <i>d</i> (10,8)
H-3	4,58 <i>d</i> (10,7)	4,59 <i>d</i> (10,7)	4,70 <i>d</i> (11)	4,62 <i>d</i> (10,8)
H-6	5,92 <i>d</i> (2,2)	5,94 <i>d</i> (2)*	6,01 <i>d</i> (2)	5,90 <i>d</i> (1,8)
H-8	5,90 <i>d</i> (2,2)	5,92 <i>br s</i>	5,98 <i>d</i> (2)	5,92 <i>d</i> (1,8)
H-2'	6,95 <i>d</i> (1,9)	6,98 <i>d</i> (1,7)	7,42 <i>d</i> (8,6)	7,36 <i>d</i> (8,4)
H-3'	-	-	6,93 <i>d</i> (8,6)	6,84 <i>d</i> (8,4)
H-5'	6,81 <i>d</i> (8,3)	6,83 <i>d</i> (8,1)	6,93 <i>d</i> (8,6)	6,84 <i>d</i> (8,4)
H-6'	6,84 <i>dd</i> (1,9; 8,3)	6,85 <i>dd</i> (1,7; 8,1)	7,42 <i>d</i> (8,6)	7,36 <i>d</i> (8,4)
H-1''	4,06 <i>d</i> (1,5)	4,08 <i>br s</i>	4,07 <i>br s</i>	4,01 <i>br s</i>
H-2''	3,54 <i>dd</i> (1,5; 3,3)	3,56 <i>dd</i> (1,5; 3,3)	3,61 <i>br s</i>	3,50 <i>br s</i>
H-3''	3,67 <i>dd</i> (3,3; 9,6)	3,68 <i>dd</i> (3,3; 9,5)	3,74 <i>dd</i> (3,2; 9,5)	3,64 <i>dd</i> (3,3; 9,7)
H-4''	3,31 <i>m</i>	3,32 <i>m</i> **	3,41 <i>t</i> (9,5)	3,32**
H-5''	4,25 <i>m</i>	4,26 <i>m</i>	4,24 <i>m</i>	4,25 <i>m</i>
H-6''	1,18 <i>d</i> (6,2)	1,20 <i>d</i> (6,2)	1,16 <i>d</i> (6,3)	1,18 <i>d</i> (6,2)

\* Tín hiệu rất yếu; \*\* Tín hiệu bị che phủ bởi tín hiệu dung môi  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

Bảng 2: Số liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của chất **1**, **2** [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ (ppm)] và astilbin [2], engeletin [5]

C	Astilbin [2]	<b>1</b>	Engeletin [5], axeton- $d_6$	<b>2</b>
		Tương tác HMBC (C/H)		
2	84,8	83,97	H2',H6', H-3	83,1
3	79,4	78,60	H-2, H-1''	77,6
4	196,7	195,94	H-2, H-3	195,8
5	166,3	165,45		165,1
6	98,2	97,47*		97,3
7	169,7	168,79	H-8	167,9
8	97,2	96,36		96,1
9	164,9	164,10	H-8	163,6
10	103,2	102,48		101,4
1'	130,0	129,52	H-2, H-3	128,2
2'	117,1	115,53		116,3
3'	147,3	146,56		129,2
4'	148,1	147,39		158,9
5'	116,3	116,37		129,2
6'	121,3	120,52		116,3
1''	102,9	102,17	H-3, H-6''	102,3
2''	72,6	71,81	H-1''	71,3
3''	72,9	72,2		72,1
4''	74,6	73,85		73,4
5''	71,3	70,54		69,9
6''	18,6	17,88		18,0

\* Tín hiệu rất yếu. \*\* Tín hiệu bị che phủ bởi tín hiệu của dung môi  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

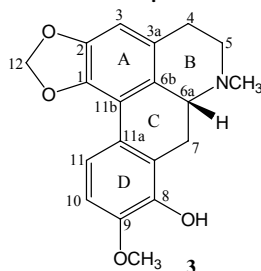


Phổ khối HR-ESI-MS của chất **2** có pic ion ở  $m/z$  457,12656  $[M+Na]^+$  (tính toán  $C_{21}H_{22}O_{10}Na$  là 457,11107), có ít hơn một nguyên tử oxy so với chất **1**. Khi so sánh phổ NMR của chất **2** với phổ của chất **1** (bảng 1 và 2) ta thấy chúng khá giống nhau, trừ các tín hiệu ở vòng B. Phổ  $^1H$ -NMR ở chất **2** có cặp doublet kép của 4 proton ở  $\delta_H = 7,36$  và  $6,84$  (mỗi tín hiệu 2H,  $d$ ) có hằng số tương tác của hai proton ở vị trí *ortho* ( $J = 8,4$  Hz) và  $\delta_C$  116,4 và 130,04 (mỗi tín hiệu 2C), cho thấy vòng B có nhóm thế ở C-4'. Chất **2** có cấu hình  $2R, 3R$  giống chất **1** được khẳng định qua sự phù hợp độ chuyển dời hóa học ở  $\delta_C$  83,85; 78,69 và cặp doublet ở  $\delta_H$  5,15; 4,62 có cùng hằng số tương tác ( $d, J = 10,8$  Hz) [2 - 5]. Kết hợp số liệu phổ MS, NMR và so sánh với tài liệu [5] đã khẳng định được cấu trúc của chất **2** là (2*R*,3*R*)-4',5,7-trihydroxydihydroflavonol  $3\beta$ -O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid (engeletin). Chất này đã được tách ra từ một số loài thuộc chi *Engelhardtia*, *Smilax*, *Vitis*, *Eucalyptus*, *Eucryphia*, *Flindersia*, và

*Pradosia* [4 - 8].

Kết hợp phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR và pic ion  $m/z$  326,13879  $[M+H]^+$  ( $C_{19}H_{20}NO_4$  theo tính toán 326,13923) trong phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS đã xác định được công thức phân tử của chất **3** là  $C_{19}H_{19}NO_4$ . Phổ  $^{13}C$ -NMR và DEPT cho thấy phân tử có 19 carbon trong đó có 2 nhóm methyl, 4 nhóm metylen, 4 nhóm methin và 9 carbon bậc bốn. Phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR có tín hiệu của một nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,92;  $\delta_C$  56,0), một nhóm N-methyl ( $\delta_H$  2,59;  $\delta_C$  43,9), một nhóm metylenedioxy ( $\delta_H$  6,05; 5,91;  $\delta_C$  100,61). Phía trường thấp có tín hiệu singlet của H-3 ở  $\delta_H$  6,52 và cặp doublet của hai proton có cùng hằng số tương tác *ortho* ở  $\delta_H$  6,82; 7,62 ( $d, J = 8,8$  Hz), như vậy vòng C có thể có nhóm thế ở C-8 và C-9 hoặc C-10 và C-11. Từ số liệu phổ (bảng 3) và so sánh với tài liệu [8], đã xác định được cấu trúc của chất **3** là 8-hydroxy-9-methoxy-1,2-metylenedioxyaporphin. Chất này gần đây đã được Trần Thị Thanh Thủy và cộng sự tách ra từ cây *F. polanei* [8].

Bảng 3: Số liệu phổ  $^{13}C$ - và  $^1H$ -NMR của tài liệu và chất **3** [125/500 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  ppm]



C	8-Hydroxy-9-methoxy-1,2-methylenedioxyaporphin [6]		<b>3</b>	
	$\delta_C$	$\delta_H, J$ (Hz)	$\delta_C$	$\delta_H, J$ (Hz)
1	142,3	-	142,2	-
2	146,7	-	146,6	-
3	106,9	6,52 s	106,9	6,52 s
3a	126,4	-	126,6	-
4	28,9	3,16 m 2,65 m	29,2	3,11 m 2,62 m
5	53,5	3,11 m 2,55 m	53,7	3,05 m 2,53 m
6a	61,8	3,17 dd (4,5, 15)	61,8	3,11 m
7	26,2	3,67 dd (4,5, 15) 2,32 t (15)	26,4	3,67 dd (4,5, 14,5) 2,29 t (14,5)
7a	121,4	-	121,5	-
8	142,3	-	142,2	-
9	145,8	-	145,8	-
10	108,6	6,82 d (8,5)	108,5	6,82 d (8,5)
11	118,7	7,62 d (8,5)	118,7	7,62 d (8,5)
11a	124,8	-	124,9	-
11b	116,7	-	116,7	-
11c	126,4	-	126,59*	-
CH <sub>2</sub>	100,6	6,10 d (1,5) 5,92 d (1,5)	100,6	6,05 d (1,4) 5,92 d (1,4)
9-OCH <sub>3</sub>	56,1	3,93 s	56,0	3,93 s
N-CH <sub>3</sub>	43,6	2,61 s	43,9	2,59 s

Tín hiệu có cường độ yếu.



TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Tiến Bản. Thực vật chí Việt Nam, Họ Na-  
Annonaceae Juss. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà  
Nội, tập 1, 215 (2000).
2. John De Britto, Visuvasam Soosai Manikam,  
Subbarayan Gopalakrishnan. Chem. Pharm. Bull., **43**  
(2), 338 - 339 (1995).
3. M. D. Lucas-Filho, G. C. Silva, S. F. Cortes, T. R.  
Mares-Guia, V. Perpetua Ferraz, C. P. Serra, F. C.  
Braga. Phytomedicine, **17**, 383 - 387 (2010).
4. Dulce H. S. Silva, Massaayoshi Yoshida, Massuo J.  
Kato. Phytochemistry, **46** (3), 579 - 582 (1997).
5. Franco Delle Monache, Luis Enrique Cuca Suarez,  
1992. Phytochemistry, (7), 2481 - 2482 (1992).
6. Tran Thi Thanh Thuy, Tran Duc Quan, Nguyen Thi  
Hoang Anh, Tran Van Sung, 2008. Aporphine and  
oxoaporphine from *Fissistigma poilanei* (Ast) Tsiang  
& P. T. Li (Annonaceae). International Scientific  
Conference on "Chemistry for Development and  
Intergration"-Proceeding, Nxb. Viện Khoa học và  
Công nghệ Việt Nam, 9/2008, 234-239.
7. Abbas Shafiee, Katayoun Morteza-Semnani, Mohsen  
Amini. J. Nat. Prod., **61**, 1564 - 1565 (1998).
8. Dictionary of Natural Products, Copyright © 1982-  
2009 Chapman&Hall/CRC (2009).