

VERBENIASIDE A, MỘT SESQUITECPEN GLYCOSIT MỚI TỪ CÂY CỎ ROI NGỰA (*VERBENA OFFICINALIS*)

Đến Tòa soạn 26-5-2010

LÀNH THỊ NGỌC¹, TRẦN HỒNG HẠNH¹, CHÂU VĂN MINH¹, NGUYỄN HOÀI NAM¹,
HOÀNG THANH HƯƠNG, NGUYỄN XUÂN CUỒNG¹, PHẠM QUỐC LONG¹,
NGUYỄN TIẾN ĐẠT¹, NINH KHẮC BẢN², VŨ HƯƠNG GIANG³, PHAN VĂN KIÊM¹

¹Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Đại học Hùng Vương

ABSTRACT

From the aerial parts of *Verbena officinalis* L. (Verbenaceae), a new sesquiterpene glycoside 12-hydroxynerolidol 12-O- $[\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside], named verbenaside A was isolated by various chromatography methods. Its chemical structure was elucidated by ESI-MS and 1D, 2D NMR experiments and by comparison of their NMR and ESI-MS data with previous reported data.

Key words: *Verbena officinalis*, Verbenaceae, verbenaside A.

I - MỞ ĐẦU

Cỏ roi ngựa, tên khoa học là *Verbena officinalis* L., thuộc họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae) là một cây thuốc mọc hoang ở hầu hết các tỉnh trong cả nước ta. Theo Đông y, cỏ roi ngựa có tác dụng hoạt huyết, tán ứ, thanh nhiệt, giải độc, thông kinh, lợi tiểu, tiêu thũng [1, 2]. Trên thế giới, chi *Verbena* có tới khoảng 250 loài, tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu về hoạt tính sinh học và thành phần hóa học của chi này. Cho đến nay người ta mới phát hiện gần 40 hợp chất từ chi *Verbena* mà thành phần chủ yếu là các chất có khung iridoid. Trong đó, từ loài *Verbena officinalis*, các nhà khoa học đã phát hiện ra các iridoid như stanside, hastatoside, verbenalioside, 3,4-dihydroverbenalin, phenyl propanoid như eukovoside, tritecpen như axit 3 α ,24-dihydroxy-12-ursen-28-oic và hợp chất steroid stigmast-5-ene-3 α ,7 α ,22S-triol [3]. Ở Việt Nam hầu như chưa có nghiên cứu nào về

thành phần hóa học của cây thuốc này. Bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc hóa học của hợp chất sesquiterpen glycosit mới verbenaside A (**1**) từ phần trên mặt đất của cây *Verbena officinalis*.

II - THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Mẫu thực vật

Mẫu cây cỏ roi ngựa (*Verbena officinalis* L.) được thu hái tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc, vào tháng 10 năm 2008. Tên khoa học được TS Ninh Khắc Bản giám định. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2. Hóa chất thiết bị

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Sắc ký 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 H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng từ 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 μm, Fuji Silica 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.

3. Phân lập các chất

Phần trên mặt đất của cây cỏ roi ngựa (7,0 kg khô) được nghiền nhỏ thành bột và được chiết ba lần với MeOH bằng thiết bị siêu âm Ultrasonic 2010 ở nhiệt độ 40 - 50°C (3 × 60 phút). Dịch chiết sau đó được cô đặc bằng máy cất quay với áp suất giảm thu được 500 g cặn chiết MeOH. Cặn này được hòa vào nước và chiết lần lượt với *n*-hexan và CHCl₃ thu được các dịch cô *n*-hexan (150 g) và CHCl₃ (100 g). Phần dịch nước sau chiết được tiến hành sắc ký qua cột DIANION sử dụng hệ dung môi MeOH-H₂O (0:100; 50:50; 100:0; v/v) thu được các dịch cô tương ứng ký hiệu là FC1 (30 g), FC2 (20 g) và FC3 (50 g). Phần đoạn FC3 (50 g) được tiếp tục phân tách trên cột sắc ký với chất hấp phụ là silica gel pha thường, hệ dung môi rửa giải gradient CHCl₃/MeOH từ 100/0 đến 0/100 thu được 3 phần đoạn ký hiệu FC3A (9,5 g), FC3B (10,0 g) và FC3C (9,0 g). Hợp chất **1** (6 mg) thu được sau khi tiến hành phân lập phần đoạn FC3C (9,0 g) trên sắc ký cột nhờ YMC RP18 sử dụng dung môi rửa giải là axeton/nước 3/1 (v/v), sau đó tinh chế tiếp bằng sắc ký cột silica gel pha thường rửa giải bằng hệ dung môi CHCl₃ - MeOH-nước 2/1/0,2 (v/v/v).

Verbenaside A (12-Hydroxynerolidol 12-O- $[\beta$ -D-xylopyranosyl-(1→2)- β -D-glucopyranoside], **1**)

Chất bột không màu. Nhiệt độ nóng chảy 187 - 188°C.

Độ quay cực $[\alpha]_{25}^D +32^\circ$ (MeOH, c 0,5).

ESI MS *m/z*: 533 [M+H]⁺, 555 [M+Na]⁺, CTPT C₂₆H₄₄O₁₁, KLPT 532.

HR-FT-ICR-MS: *m/z* 555,27810 [M+Na]⁺ (lý thuyết cho C₂₆H₄₄O₁₁Na: 555,27813)

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD), xem bảng 1.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** nhận được dưới dạng chất bột không màu. Phổ ¹³C-NMR của **1** cho các tín hiệu của 26 nguyên tử cacbon, trong đó có 3 cacbon CH₃, 8 cacbon CH₂, 12 cacbon CH và 3 cacbon không còn nguyên tử hydro gắn vào. Sự xuất hiện của 2 phân tử đường được nhận biết bởi các tín hiệu tại δ δ 101,58 (C-1'), 83,46 (C-2'), 78,3 (C-3'), 71,46 (C-4'), 77,47 (C-5'), 62,71 (C-6'), 106,16 (C-1''), 75,77 (C-2''), 77,76 (C-3''), 71,17 (C-4''), 67,23 (C-5''), trong đó hai cacbon anome dễ dàng nhận biết tại δ 101,58 và 106,16. Ngoài tín hiệu của 11 cacbon của hai phân tử đường, còn lại 15 tín hiệu được xác định là thuộc vào một aglycon có khung sesquiterpen. Phân tích các tín hiệu của phân aglycon thấy rằng ba nối đôi, trong đó có hai nối đôi thế ba lần tại 125,98 (CH, C-6)/135,71 (C, C-7) và 129,44 (CH, C-10)/132,94 (C, C-11), và một nối đôi thế mono tại δ 112,02 (CH₂, C-1)/146,37 (CH, C-2); ba nhóm methyl tại δ 14,11 (C-13), 16,04 (C-14), 27,61 (C-15); bốn cacbon metylen tại δ 43,4 (C-4), 23,71 (C-5), 40,40 (C-8), 27,38 (C-9), một cacbon oximetylen tại δ 76,04 (C-12), và một cacbon bậc ba nối với oxi tại δ 73,88 (C-3). Các tín hiệu cacbon của phân aglycon hoàn toàn phù hợp với các dữ kiện phổ cacbon của hợp chất 12-hydroxynerodiol [4] (bảng 1). Phân tích các tín hiệu của hai phân tử đường cho thấy các tín hiệu CH tại δ 101,58, 83,46, 78,3, 71,46, 77,47 và CH₂ tại 62,71 phù hợp cho một phân tử đường

glucose có sự tạo thành liên kết ete tại C-3', các CH₂ tại δ 67,23 phù hợp cho đường xylose. tín hiệu CH tại δ 106,16, 75,77, 77,76, 71,17, và

Bảng 1: Số liệu phổ NMR của **1** đo trong CD₃OD và của các cấu trúc tham khảo

C	@δ _C	#δ _C	δ _C ^a	DEPT	δ _H ^b (J = Hz)	HMBC (H→C)
1	111,8		112,02	CH ₂	5,21 dd (17,5,1,5) 5,04 dd (10,5, 1,5)	2, 3
2	144,8		146,37	CH	5,93dd (17,5, 10,5)	3, 4, 15
3	74,4		73,88	C	-	
4	41,4		43,4	CH ₂	1,53 m	2, 3, 6, 15
5	23,1		23,71	CH ₂	2,03 m	3, 6, 7
6	125,1		125,98	CH	5,16 t (7,0)	4, 5, 7, 8, 14
7	135,9		135,71	C	-	
8	39,3		40,40	CH ₂	2,06 m	6, 7, 9, 10, 14
9	25,5		27,38	CH ₂	2,17 m	7, 10, 11
10	125,8		129,44	CH	5,48 t (7,0)	9, 11, 12, 14
11	135,7		132,94	C	-	
12	68,7		76,04	CH ₂	4,02 d (11,5) 4,22 d (11,5)	1', 10, 11, 13
13	13,7		14,11	CH ₃	1,69 s	10, 11, 12
14	15,8		16,04	CH ₃	1,63 s	6, 7, 8
15	28,2		27,61	CH ₃	1,27 s	2, 3, 4
1'		104,4	101,58	CH	4,38 d (7,5)	12, 3
2'		84,6	83,46	CH	3,40 dd (7,5, 9,0)	
3'		78,3	78,03	CH	3,55 t (9,0)	2', 4'
4'		71,7	71,46	CH	3,35 t (9,0)	
5'		78,0	77,47	CH	3,36*	
6'		63,0	62,71	CH ₂	3,68 dd (5,5, 11,5) 3,88 dd (2,5, 11,5)	4', 5'
1''		107,1	106,16	CH	4,53 d (7,5)	2', 5''
2''		76,5	75,77	CH	3,27 dd (7,5, 9,0)	
3''		78,3	77,76	CH	3,25 t (9,0)	1''
4''		71,0	71,17	CH	3,50 m	
5''		67,6	67,23	CH ₂	3,20 dd (10,5, 11,5) 3,88 dd (5,0, 11,5)	3''

^a125 MHz, ^b500 MHz, @δ_C của **1a** (CDCl₃)[4]; #δ_C của nhánh đường của hosenkoside L [5],

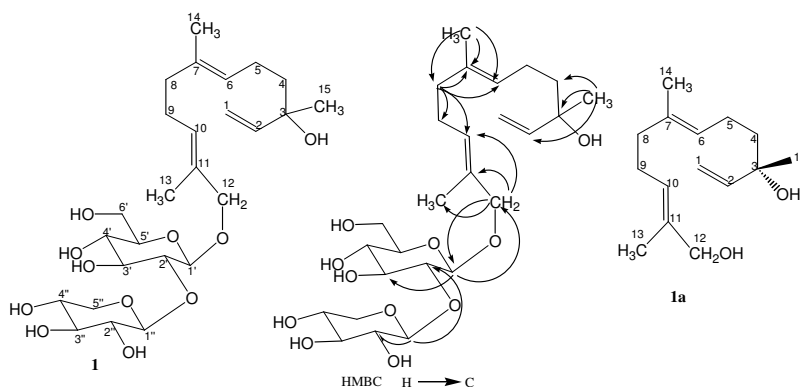
*tín hiệu bị che khuất.

Giá trị độ dịch chuyển hóa học của C-3' đã tăng khá mạnh (δ 83,46) so với cũng giá trị này của đường glucose không tạo các liên kết ete khác (δ ~ 78 ppm) chứng tỏ đường xylose đã liên kết với đường glucose tại C-3'. Dự đoán này hoàn toàn phù hợp với các dữ kiện phổ đã công

bổ cho nhánh đường tương tự như của hợp chất hosenkoside L [5] (bảng 1).

Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **1** xuất hiện các tín hiệu singlet của 3 nhóm methyl bậc ba tại δ 1,69, 1,63 và 1,27; tín hiệu của một nối đôi thế mono tại δ 5,21 (1H, dd, $J = 1,5, 17,5$ Hz, H_a -1), 5,04 (1H, dd, $J = 1,5, 10,5$ Hz, H_b -1) và 5,93 (1H, dd, $J = 10,5, 17,5$ Hz, H-2), hai proton của hai nối đôi thế ba lần tại δ 5,16 (1H, t, $J = 7,0$ Hz, H-6) và 5,48 (1H, t, $J = 7,0$ Hz, H-10). Ngoài ra còn có các tín hiệu của 4 nhóm metylen no tại δ 1,53 (1H, m, H-4), 2,03 (1H, m, H-5), 2,06 (2H, m, H-8) 2,17 (2H, m, H-9). Trong vùng các tín hiệu của hai phân tử đường, tín hiệu tại δ 4,38 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1') có tương tác với cacbon tại δ 101,58 trên phổ HSQC và được xác định là của proton gắn với cacbon anome của đường glucose, tín hiệu tại 4,53 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'') tương tác HSQC với cacbon tại δ 106,16 (C-1'') và được xác định là proton gắn với cacbon anome của đường xylose. Phân tích chi tiết các tín hiệu trên phổ $^1\text{H-NMR}$, đặc biệt là tương tác spin-spin của các proton cho thấy $J_{\text{H-1'}/\text{H-2'}} = 7,5$ Hz, $J_{\text{H-2'}/\text{H-3'}} = 9,0$ Hz, $J_{\text{H-3'}/\text{H-4'}} = 9,0$ Hz, $J_{\text{H-4'}/\text{H-5'}} = 7,5$ Hz chứng tỏ các proton H-1', H-2', H-3', H-4', H-5' đều chiếm các vị trí *axial* cũng như sự có mặt của liên kết *O*- β -glycosit. Các giá trị $J_{\text{H-1''}/\text{H-2''}} = 7,5$ Hz, $J_{\text{H-2''}/\text{H-3''}} = 9,0$ Hz, $J_{\text{H-3''}/\text{H-4''}} = 9,0$ Hz cũng cho thấy trong phân tử đường này các proton H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' cũng đều chiếm các vị trí *axial* và sự tồn tại liên kết *O*- β -glycosit giữa phân tử đường xylose với C-2' của đường glucose. Xét phần aglycon có thể thấy các giá trị

phổ NMR của **1** đều phù hợp với các dữ liệu của hợp chất 12-hydroxynerolidol [4] ngoại trừ tín hiệu tại δ 76,04 (C-12) đã tăng đáng kể so với giá trị này của 12-hydroxynerolidol (**1a**) (δ 68,7). Nguyên nhân chính là sự hình thành liên kết glycosit giữa C-1' của đường glucose với cacbon C-12 của aglycon. Cấu trúc hóa học của **1** còn được chứng minh bằng các tương tác trên phổ HSQC và HMBC. Các tương tác của proton gắn trực tiếp với nguyên tử cacbon được xác định bằng phổ HSQC. Từ đó, các tương tác HMBC được xác định. Trên phổ HMBC, proton H-1' (δ 4,38) tương tác với cacbon C-12 (δ 68,7), proton H-1'' (δ 4,53) tương tác với cacbon C-2' (δ 83,46) chứng tỏ đường xylose nối vào cacbon C-2' và đường glucose nối vào C-12 của khung aglycon. Các tương tác HMBC khác được nêu cụ thể trên hình 1 và bảng 1. Tuy nhiên, cấu hình tuyệt đối tại C-3 vẫn chưa được xác định. Như vậy, công thức phân tử của **1** được xác định là $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_{11}$ với khối lượng phân tử là 532. Kết quả này còn được chứng minh bằng phổ khối lượng với việc xuất hiện các pic ion m/z : 533 $[\text{M}+\text{H}]^+$ và 555 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ với cường độ cao trên phổ ESI MS. Ngoài ra, phổ khối lượng phân giải cao HR-FT-ICR-MS còn cho pic m/z 555,27810 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, hoàn toàn chính xác cho công thức $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_{11}\text{Na}$ với tính toán lý thuyết là 555,27813. Từ những phân tích nêu trên, hợp chất **1** được xác định là 12-hydroxynerolidol 12-*O*- $[\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside], một chất mới và được đặt tên là verbenaside A.



Hình 1: Cấu trúc hóa học của **1**, **1a** và một số tương tác HMBC chính của **1**

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn hành với sự tài trợ kinh phí của Đề tài KC10.20/06-10.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học Hà Nội (2001).
2. Đỗ Huy Bích và cộng sự. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập II, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội (2004).
3. Dictionary of Natural Products on CD-ROM, Version 15:1, Copyright @ 1982-2007 Chapman & Hall/CRC.
4. Hiroshi Wada, Takao Murakami, Nobutoshi Tanaka, Masaahi Nakamura, Yasuhisa Saki, and Chu-Ming Chen. Yakugaru Zasshi, 106 (11), 989-994 (1986).
5. Noboru Shoji, Akemi Umeyama, Kazuko Yoshikawa, Masahiro Nagai and Shigenobu Arihara. Phytochemistry, 37(5), 1437 - 1441 (1994).

Liên hệ: Phan Văn Kiệm

Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
E-mail: phankiem@vast.ac.vn.