

## SODIUM BENZOYLPAEONIFLORINSULFONAT VÀ SODIUM PAEONIFLORINSULFONAT, HAI HỢP CHẤT MỚI ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ RỄ CÂY BẠCH THUỘC (*PAEONIA LACTIFLORA*)

Đến Tòa soạn 8-01-2010

PHẠM HẢI YẾN, CHÂU VĂN MINH, PHAN VĂN KIÊM, NGUYỄN XUÂN NHIỆM

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

### ABSTRACT

From the roots of *Paeonia lactiflora* Pall. two new compounds as sodium benzoypaeoniflorinsulfonate (**1**) and sodium paeoniflorinsulfonate (**2**) were isolated by various chromatography methods. Their chemical structures were elucidated by ESI-MS, HR-ESI-MS and 1D, 2D NMR experiments and by comparison of their NMR and ESI-MS data with previous reported data.

**Keywords:** *Paeonia lactiflora*, sodium benzoypaeoniflorinsulfonate, sodium paeoniflorinsulfonate.

### I - MỞ ĐẦU

Bạch thuộc (*Paeonia lactiflora* Pall.) thuộc họ Mầu đơn (Paeoniaceae) 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 thuộc được dùng như một vị thuốc dân gian chữa đau bụng, tả lỵ do ruột co 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 và tiểu tiện khó [1, 2].

Những nghiên cứu tác dụng dược lý cho thấy cao nước bạch thuộc có tác dụng kháng khuẩn tốt. Nước sắc rễ có tác dụng ức chế sự chuyển hoá sinh học axit 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, axit

benzoic (vào khoảng 1%), axit palmitic, daucosterol, axit galic, metyl galat, *d*-catechin, mynoinositol, sucrose, glucogalin [1, 2], các tritecpen [3], các flavonoit [4] và phenolic glycozit [5].

Bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc hoá học của 2 hợp chất mới là sodium benzoypaeoniflorinsulfonat (**1**) và sodium paeoniflorinsulfonate (**2**) phân lập từ dịch chiết metanol của rễ cây bạch thuộc của Việt Nam.

### II - THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Mẫu thực vật

Mẫu cây Bạch thuộc (*Paeonia lactiflora* Pall.) thu tại Sa Pa, được ThS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật giám định. Mẫu tiêu bản lưu giữ tại Viện Hóa sinh biển, 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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, 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. Phổ khối lượng phân giải cao HRESIMS đo trên thiết bị Waters Q/TOF premier tại Trường đại học Salerno, Italia.

## 3. Phân lập các chất

Rễ khô đã nghiền nhỏ thành bột (2,5 kg), ngâm chiết với metanol ba lần, sau đó gộp các dịch chiết lại loại dung môi dưới áp suất thấp thu được 145 g cặn chiết metanol.

Cặn metanol được hoà tan vào 2 lít nước cất và chiết lần lượt bằng *n*-hexan, clorofoc, etyl axetat. Sau khi đuổi dung môi dưới áp suất thấp thu được các dịch *n*-hexan (20,0 g), clorofoc (70,0 g), etyl axetat (25,0 g) và nước (25,0 g).

Cặn clorofoc được hòa tan vào dung môi clorofoc một lượng tối thiểu, sau đó tẩm vào 140 g silicagel, cô đuổi dung môi cho đến khi thu được bột tơi, khô.

Tiến hành sắc ký cột nhồi silicagel pha thường cỡ hạt 230 - 400 mesh (0,04 - 0,063 mm) và nạp mẫu khô vào cột, sau đó rửa giải với hệ dung môi clorofoc:metanol với độ phân cực tăng dần (từ 50:1 - 5:1) thu được 5 phân đoạn chính là F1 (12,0 g), F2 (8,5 g), F3 (18,5 g), F4

(7,8 g) và F5 (12,0 g).

Phân đoạn F4 (7,8 g) sử dụng sắc ký cột lặp lại trên cột nhồi silicagel pha đảo YMC RP 18 với hệ dung môi metanol:H<sub>2</sub>O (3:2) thu được hợp chất **2** (15 mg).

Cặn nước của dịch chiết MeOH được cho qua cột trao đổi ion sử dụng hạt Dianion HP-20 (Mitsubishi Kasei Co. Ltd, Tokyo, 1000 g) với hệ dung môi rửa giải là MeOH:H<sub>2</sub>O với độ phân cực giảm của dung môi từ nước tới metanol thu được các phân đoạn F6 (25% MeOH, 10,5 g), F7 (50% MeOH, 8,5 g) và F8 (100% MeOH, 5,0 g). Từ phân đoạn F7 (50% MeOH) tiến hành sắc ký cột silicagel pha thường và pha đảo, tiến hành sắc ký cột pha thường ký lập lại hệ dung môi CHCl<sub>3</sub>:MeOH (6:1) thu được hợp chất **1** (15 mg).

### Sodium benzoylpaeoniflorinsulfonate (1)

Bột vô định hình có màu trắng ngà. Nhiệt độ nóng chảy: 131 - 132°C; Độ quay cực:  $[\alpha]_D^{25}$ : +21 (MeOH, c: 1,0).  $R_f = 0,45$  (TLC, silica gel, *n*-hexan:axeton tỷ lệ 4:1).

*ESI-MS m/z*: 647 [M-Na]<sup>+</sup>, 693 [M+Na]<sup>+</sup>.

*HRESI-MS m/z*: 607,1478 [M-SO<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>.

Tính toán lý thuyết cho công thức C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>12</sub>Na: 607,1580.

Khối lượng phân tử M = 670; công thức phân tử C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>NaO<sub>14</sub>S.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) và <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD), xem bảng 1.

### Sodium paeoniflorinsulfonate (2)

Chất rắn màu trắng ngà. Nhiệt độ nóng chảy: 157 - 158°C; Độ quay cực:  $[\alpha]_D^{25}$ : +17° (MeOH, c: 1,0).  $R_f = 0,5$  (TLC, silica gel, *n*-hexan:axeton tỷ lệ 4:1);

*ESI-MS m/z*: 463 [M-SO<sub>3</sub>Na]<sup>+</sup>.

*HRESI-MS m/z*: 479,1550 [M-SO<sub>2</sub>Na]<sup>+</sup>.

Tính toán lý thuyết cho công thức C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>O<sub>11</sub>: 479,1553.

Khối lượng phân tử M = 566; công thức phân tử C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>NaO<sub>13</sub>S.

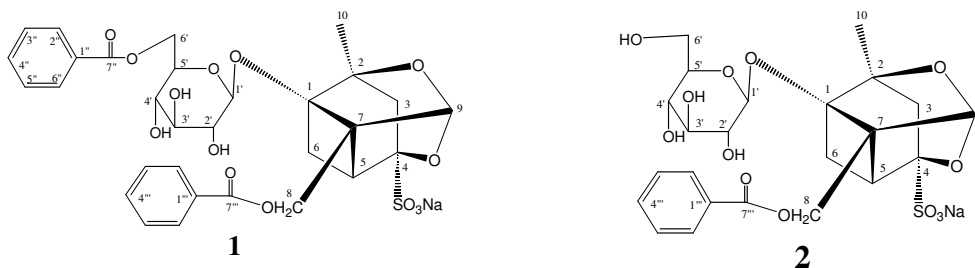
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) và <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD), xem bảng 1.

### III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** nhận được dưới dạng bột vô định hình có màu trắng ngà. Các phổ NMR của **1** phân tử gồm có hai vòng benzen thế mono, một phân tử đường glucopyranosyl nối với khung monotecpen, một dạng khung chính của các hợp chất từ chi *Paeonia*. Trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  hai vòng benzen thế mono được nhận biết bởi các tín hiệu tại  $\delta$  8,05 (4H), 7,50 (4H) và 7,61 (2H). Phân tử đường glucopyranosyl cũng được xác định bởi các tín hiệu tại  $\delta$  4,58 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'), 3,27 (1H, dd,  $J = 9,5, 8,0$  Hz, H-2'), 3,40 (H-3'), 3,40 (H-4'), 3,62 (1H, ddd,  $J = 9,0, 7,0, 2,0$  Hz, H-5'), 4,51 (2H, dd,  $J = 5,0, 12,0$  Hz, H<sub>a</sub>-6') và 4,65 (dd,  $J = 12,0, 2,0$  Hz, H<sub>b</sub>-6'). Hai nhóm CH<sub>2</sub> được xác định bởi các cặp tín hiệu tại  $\delta$  2,08 (1H, dd,  $J = 1,5, 13,0$  Hz, H<sub>a</sub>-3)/ 2,29 (d,  $J = 13,0$  Hz, H<sub>b</sub>-3) và 1,93 (d,  $J = 11,0$  Hz, H<sub>a</sub>-6), 2,64 (dd,  $J = 11,0, 7,0$  Hz, H<sub>b</sub>-6). Nhóm oxymetylen tại C-8 cũng được xác định bởi các tín hiệu tại  $\delta$  4,74/4,76 nhờ vào các tương tác

trên phổ HSQC và phổ DEPT. Nhóm methyl bậc bốn duy nhất cũng được khẳng định bởi tín hiệu singlet (3H) tại  $\delta$  1,31.

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cùng với các phổ DEPT cũng xuất hiện các tín hiệu tương ứng với 30 nguyên tử cacbon. Trong đó khẳng định sự có mặt của 2 vòng benzoyl tại  $\delta$  131,16 (C-1''), 130,73 (C-2'', C-6''), 129,80 (C-3'', C-5''), 134,47 (C-4''), 168,03 (C-7''), 131,22 (C-1'''), 130,44 (C-2''', C-6'''), 129,60 (C-3''', C-5'''), 134,31 (C-4''') và 167,83 (C-7''') và một phân tử đường glucopyranosyl tại  $\delta$  100,04 (C-1'), 74,98 (C-2'), 77,85 (C-3'), 71,94 (C-4'), 75,29 (C-5') và 65,25 (C-6'). So sánh các giá trị phổ của **1** với các giá trị phổ tương ứng của của hợp chất benzoylpaconiflorin [6] có thể thấy hầu hết các vị trí đều trùng khớp, ngoại trừ các vị trí liền kề cacbon C-4 có sự thay đổi. Đặc biệt, tín hiệu độ dịch chuyển hóa học của cacbon C-4 đã giảm từ  $\delta$  106,19 xuống còn  $\delta$  95,47. Điều này cho thấy tại C-4 đã có nhóm thế khác mà không phải là nhóm hydroxy.



Hình 1: Cấu trúc hoá học của **1** và **2**

Các giá trị độ dịch chuyển hoá học của **1** còn được xác định thông qua các tương tác H-C trên phổ HSQC và tương tác HMBC của các proton và cacbon. Chi tiết các tương tác này được nêu ra trên bảng 1 và hình 2. Đáng chú ý là các tương tác HMBC giữa H-9 ( $\delta$  5,57) với các cacbon C-8 ( $\delta$  61,52)/C-7 ( $\delta$  72,61)/C-2 ( $\delta$  88,47)/C-4 ( $\delta$  95,47), tương tác của H-10 ( $\delta$  1,31) với các cacbon C-1 ( $\delta$  89,38)/C-2 ( $\delta$  88,47), C-3 ( $\delta$  40,00), tương tác của H<sub>a</sub>-3 ( $\delta$  2,08) với C-2 ( $\delta$  88,47)/C-4 ( $\delta$  95,47)/C-5 ( $\delta$  43,17), và tương tác của H-6 ( $\delta$  1,93/2,4) với C-2 ( $\delta$  88,47)/C-4 ( $\delta$  95,47)/C-5 ( $\delta$  43,17)/C-7

( $\delta$  72,61) đã khẳng định được cấu trúc của **1** tương tự như cấu trúc của benzoylpaconiflorin [49]. Việc xác định nhóm thế tại C-4 được căn cứ vào kết quả phổ khối lượng. Trên phổ khối lượng ESI-MS xuất hiện các tín hiệu với cường độ rất mạnh tại  $m/z$  647 [M-Na] và 693 [M+Na]<sup>+</sup> (M=670). Nếu so sánh với khối lượng phân tử của benzoylpaconiflorin thì hợp chất **1** nhiều hơn 86 đvC, đúng bằng sự thay thế nhóm SO<sub>3</sub>Na cho nhóm OH. Như vậy dự đoán công thức phân tử của **1** là C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>NaO<sub>14</sub>S. Kết quả này được khẳng định bằng phổ khối lượng phân giải cao với việc xuất hiện pic ion tại 607,1478 [M-SO<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup> trên phổ HR-ESIMS (positive), phù hợp

với tính toán lý thuyết cho công thức hợp chất **1** được xác định là sodium  $C_{30}H_{32}O_{12}Na$  là 607,1580. benzoylpaeoniflorinsulfonat, một hợp chất mới

Từ những kết quả và phân tích phổ nêu trên, lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên.

Bảng 1: Số liệu phổ NMR của **1**, **2** và của paeoniflorin

C	$\delta_C^{\#}$	<b>1</b>		<b>2</b>	
		$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)
1	89,34	89,38	-	89,27	-
2	87,23	88,47	-	88,62	-
3	44,53	40,00	2,08 (1H, dd, 1,5, 13,0) 2,29 (1H, d, 13,0)	39,39	2,08 (1H, dd, 1,5, 13,0) 2,29 (1H, d, 13,0)
4	<b>106,38</b>	<b>95,47</b>	-	<b>95,59</b>	-
5	43,96	43,17	3,24*	43,27	3,24*
6	23,42	23,92	1,93 (1H,d, 11,0) 2,64 (1H, dd, 11,0, 7,0)	24,20	1,93 (1H, d, 11,0) 2,64 (1H, dd, 11,0, 7,0)
7	72,22	72,61	-	72,84	-
8	61,79	61,52	4,75*	61,56	4,74*
9	102,29	105,39	5,57 (1H, s)	105,48	5,57 (1H, s)
10	19,60	19,76	1,31 (3H, s)	19,76	1,31 (3H, s)
1'	100,18	100,04	4,58 (1H, d, 8,0)	100,18	4,58 (1H, d, 8,0)
2'	75,00	74,98	3,27 (1H, dd, 9,5, 8,0)	75,02	3,27 (1H, dd, 9,5, 8,0)
3'	77,92	77,85	3,40*	77,90	3,40*
4'	71,73	71,94	3,40*	71,70	3,40*
5'	78,04	75,29	3,62 (1H, ddd, 9,0, 7,0, 2,0)	78,04	3,62 (1H, ddd, 9,0, 7,0, 2,0)
6'	62,88	65,25	4,51 (1H, dd, 5,0, 12,0) 4,65 (1H, dd, 12,0, 2,0)	62,79	4,51 (1H, dd, 6,0, 12,0) 4,65 (1H, dd, 12,0, 2,0)
1''		131,16	-		
2''		130,73	8,05 (1H, m)		
3''		129,80	7,50 (1H, m)		
4''		134,47	7,61 (1H, m)		
5''		129,80	7,50 (1H, m)		
6''		130,73	8,05 (1H, m)		
7'		168,03	-		
1'''	131,19	131,22	-	131,23	-
2'''	130,77	130,44	8,05 (1H, m)	130,74	8,05 (1H, m)
3'''	129,62	129,60	7,50 (1H, m)	129,63	7,50 (1H, m)
4'''	134,40	134,31	7,61 (1H, m)	134,34	7,61 (1H, m)
5'''	129,62	129,60	7,50 (1H, m)	129,63	7,50 (1H, m)
6'''	130,77	130,44	8,05 (1H, m)	130,74	8,05 (1H, m)
7'''	167,98	167,83	-	168,01	-

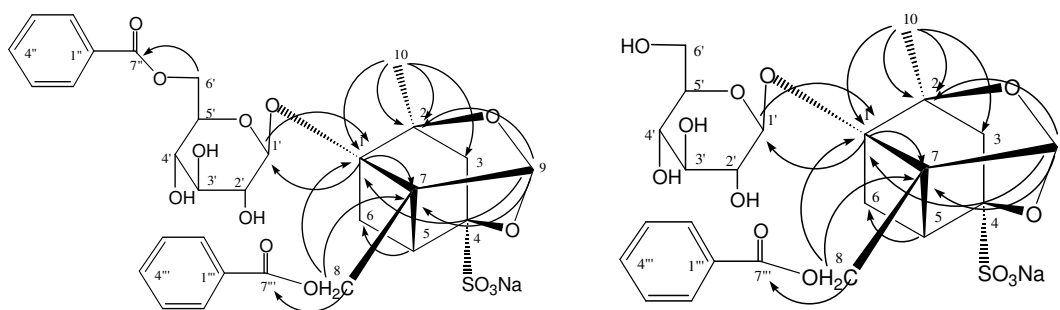
$\delta_C^{\#}$  của paeoniflorin [6],  $^a$ Đo trong  $CD_3OD$ ,  $^b$ 125 MHz,  $^c$ 500 MHz, \*tín hiệu bị che khuất.

Hợp chất **2** thu được dưới dạng chất rắn màu trắng ngà, nhiệt độ nóng chảy 157 - 158°C. Phổ NMR của hợp chất **2** khá tương tự như các phổ của **1**, tức là cấu trúc phân tử gồm có một vòng benzoyl và một phân tử đường glucopyranosyl nối vào phần aglycon là một monotecpen. Các tín hiệu đặc trưng của một vòng benzoyl được nhận biết trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  tại  $\delta$  8,05 (2H), 7,50 (2H) và 7,61 (1H), và tương ứng các tín hiệu trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  tại  $\delta_{\text{C}}$  131,23 (C-1'''), 130,74 (C-2''', C-6'''), 129,63 (C-3''', C-5'''), 134,34 (C-4''') và 168,01 (C-7'''). Phân tử đường glucopyranosyl được xác định bởi các tín hiệu tại  $\delta_{\text{H}}$  4,58 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1'), 3,27 (1H, dd,  $J = 9,5, 8,0$  Hz, H-2'), 3,40 (H-3'), 3,40 (H-4'), 3,62 (1H, ddd,  $J = 9,0, 7,0, 2,0$  Hz, H-5'), 4,51 (2H, dd,  $J = 7,0, 12,0$  Hz, H<sub>A</sub>-6')/4,65 (dd,  $J = 12,0, 2,0$  Hz, H<sub>B</sub>-6') và các tín hiệu cacbon tại  $\delta_{\text{C}}$  100,18 (C-1'), 75,02 (C-2'), 77,90 (C-3'), 71,70 (C-4'), 78,04 (C-5') và 62,79 (C-6').

Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và phổ HSQC có thể thấy hợp chất này có 23 nguyên tử cacbon. Như vậy khung monotecpen còn lại 10 cacbon chính là khung cơ bản của các hợp chất của chi *Paeonia*. So sánh các dữ kiện phổ từng vị trí của hợp chất **2** với **1** (bảng 1) cho thấy giá trị độ dịch chuyển hóa học ở hầu hết các vị trí đều khá trùng khớp, ngoại trừ các vị trí liền kề cacbon C-4. Điều này cũng gợi ý đến sự khác nhau về

nhóm thế tại C-4 tương tự như hợp chất **1** gợi ý sự có mặt của nhóm  $\text{SO}_3\text{Na}$  thay cho nhóm OH tại C-4. Ngoài ra, cấu trúc hoá học của **2** còn được khẳng định bằng phổ HMBC. Trên phổ HMBC, tương tác của H-8 ( $\delta$  4,78/4,84) với C-7''' ( $\delta$  168,01), và tương tác của H-1' ( $\delta$  4,57) với C-1 ( $\delta$  89,27) đã chứng tỏ nhóm benzoyl nối với C-8 bằng liên kết este còn phân tử đường nối với C-1 bằng liên kết ete. Cũng trên phổ này, tương tác của H-10 ( $\delta$  1,42) với C-2 ( $\delta$  88,62)/C-3 ( $\delta$  39,99)/C-1 ( $\delta$  89,27), tương tác của H-3 ( $\delta$  2,15, H<sub>A</sub>-3/2,44, H<sub>B</sub>-3) với C-4 ( $\delta$  95,59), của H<sub>A</sub>-3 với C-1 ( $\delta$  89,27)/C-2 ( $\delta$  88,62)/C-5 ( $\delta$  43,27) cũng như tương tác của H<sub>B</sub>-6 ( $\delta$  2,61) với C-4 ( $\delta$  95,59)/C-5 ( $\delta$  43,27) chứng tỏ cấu trúc phân khung monotecpen của **2** giống như của hợp chất **1**, trong đó nhóm methyl tại C-10 và nhóm  $\text{SO}_3\text{Na}$  tại C-4.

Trên phổ ESI-MS của **2** xuất hiện tín hiệu ion tại  $m/z$  463  $[\text{M-SO}_3\text{Na}]^+$ , tương ứng với công thức phân tử  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{NaO}_{13}\text{S}$  và phù hợp với cấu trúc được nêu ra trên hình 1. Ngoài ra, phổ khối lượng phân giải cao đã cho pic  $m/z$  479,1550  $[\text{M-SO}_2\text{Na}]^+$  phù hợp với tính toán lý thuyết cho công thức phân tử  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{O}_{11}$ : 479,1553. Từ những dữ kiện phổ nêu trên, hợp chất **2** được xác định là một chất mới với có tên là natri paeoniflorinsulfonat và có công thức phân tử là  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{NaO}_{13}\text{S}$ .



Hình 2: Một số tương tác HMBC chính của **1** và **2**

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nxb. Y học Hà Nội (2001).
2. Đỗ Huy Bích và cộng sự. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 2, 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).
  6. Lin H. C., Ding H. Y., Wu T. S., Wu P. L. *Phytochemistry*, 41, pp. 237-242 (1996).

*Liên hệ:* **Phan Văn Kiêm**

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

*Sodium benzoylpaeoniflorinsulfonate and sodium paeoniflorinsulfonate, two new compounds from the roots of Paeonia lactiflora.*