

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CÂY CHÓC MÁU (*SALACIA CHINENSIS* L.) THU TẠI THỪA THIÊN HUẾ

Đến Tòa soạn 14-6-2007

TRẦN THỊ MINH¹, NGUYỄN THỊ HOÀNG ANH², VŨ ĐÀO THẮNG¹, TRẦN VĂN SUNG²

¹Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

²Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

SUMMARY

Three triterpenoids, betuline, 29-nor-21- α H-hopane-3,22-dione and 21- α H-hop-22(29)-ene-3 β ,30-diol have been isolated from the *n*-hexane extract of *Salacia chinensis* stems. The structures of these compounds have been elucidated on the basis of spectral studies.

I - MỞ ĐẦU

Cây chóc máu hay chóp máu, chóp mào (*Salacia chinensis* L.) là loài cây bụi, phân bố ở Ấn Độ, Myanma, Trung Quốc, Thái Lan, Malaysia, Indonesia và Philippin. Ở nước ta, cây mọc tự nhiên rải rác ở rừng thứ sinh, rừng thưa, đồi cây bụi, sinh cảnh hở thuộc các vùng trung du ven biển từ Nghệ An, Quảng Trị đến Thừa Thiên Huế. Dân gian dùng rễ và thân chữa viêm khớp, phong thấp, đau lưng, mỏi bắp, cơ thể suy nhược.... Trong những năm gần đây loài *Salacia chinensis* có nguồn gốc từ Thái Lan đã được nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học [1]. Về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *Salacia chinensis* ở Việt Nam cho đến nay chưa có tài liệu nào công bố. Trong bài báo này chúng tôi bước đầu thông báo về việc phân lập và nhận dạng các triterpenoit từ cành của loài cây này.

II - THỰC NGHIỆM

1. Phương pháp chung

Điểm nóng chảy được đo trên máy Botius của Đức. Phổ IR(KBr) được ghi trên máy IMPACT-410 của hãng Nicolet. Phổ EI-MS ghi trên máy MS-Engine-5989B-HP kèm ngân hàng

dữ liệu DATABASEWILEY 275L. Các phổ ¹H-NMR, ¹³C-NMR ghi trên máy Bruker Avance-500, chất nội chuẩn TMS.

Sắc ký lớp mỏng (TLC) được tiến hành trên bản mỏng nhôm tráng sẵn silicagel 60 F₂₅₄, độ dày 0,2 mm; sắc ký cột (CC) trên silcagel cỡ hạt 40 - 60 μ m.

2. Mẫu thực vật

Mẫu cây chóc máu *Salacia chinensis*, chi *Salacia*, họ Dây gối (Celastraceae) được thu hái tại xã Lộc Trì, huyện Phú Lộc tỉnh Thừa Thiên Huế vào tháng 3 năm 2006 và được TS. Ngô Văn Trại, Viện Dược liệu, Bộ Y tế xác định tên khoa học.

Mẫu thực vật được phân loại và sấy khô ở 30°C, xay nhỏ. Bột khô cành cây chóc máu (2,1 kg) được ngâm chiết bằng metanol (80%) 3 lần (24 tiếng/1 lần) ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết metanol được cất loại dung môi, sau đó thêm nước và chiết phân bố lần lượt bằng *n*-hexan, etyl axetat và *n*-butanol. Các dịch chiết được làm khô và cất loại dung môi để thu được các cặn chiết tương ứng *n*-hexan (6,81 g), etyl axetat (7,4 g) và *n*-butanol (11,5 g).

3. Phân lập các hợp chất

6,81 g cặn chiết *n*-hexan được phân tách

bằng sắc ký cột trên silicagel, rửa giải bằng dung môi *n*-hexan/etylaxetat với tỷ lệ etylaxetat tăng dần từ 0% đến 100%. Kiểm tra các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng thu được 16 phân đoạn.

Phân đoạn 7 thu được khi giải hấp bằng hỗn hợp *n*-hexan : etyl axetat tỉ lệ 90 : 10 có một chất chính với $R_f = 0,41$ (*n*-hexan : etyl axetat = 7:1), kết tinh lại trong *n*-hexan thu được 0,045 g **chất S2** (0,66%) ở dạng tinh thể hình kim màu

trắng $t_{nc}^0 = 272 - 273^\circ\text{C}$. IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 2945, 2873, 1701, 1453, 1378, 1164. EI-MS (m/z): 426 [M^+], 411 (46,8), 340 (15,7), 203 (48,2), 189 (59,3), 163 (63,0), 147 (47,2), 121 (68,9), 107 (73,8), 95 (100,0), 81 (93,5), 67 (71,6), 55 (88,0). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,61 (1H, m); 2,44 (2H, m); 2,15 (3H, s); 2,05 (1H, m); 1,87 (2H, m); 0,97 (3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm), xem bảng 1.

Bảng 1: Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các chất S2, S3 và S4 (125 MHz)

C	S2 (CDCl_3)	S4 ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$)	S3 ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$)
1	39,8 t	39,9 t	38,9 t
2	34,1 t	27,6 t	27,2 t
3	218,1 s	79,5 d	79,0 d
4	47,3 s	39,7 s	38,9 s
5	54,8 d	56,5 d	55,4 d
6	19,7 t	19,2 t	18,4 t
7	33,5 t	35,3 t	34,4 t
8	40,7 s	41,8 s	41,0 s
9	49,6 d	49,8 d	50,5 d
10	36,9 s	38,1 s	37,2 s
11	21,5 t	22,0 t	20,9 t
12	27,2 t	27,8 t	25,4 t
13	49,5 d	44,8 d	37,4 d
14	42,8 s	43,7 s	42,8 s
15	34,9 t	28,4 t	27,1 t
16	27,7 t	36,4	29,3 t
17	52,6 d	51,6 d	47,8 s
18	43,1 s	43,9 s	48,8 d
19	39,5 t	40,7 t	47,8 d
20	27,3 t	32,6 t	150,7 s
21	37,2 d	39,2 d	29,9 t
22	212,7 s	155,6 s	34,1 t
23	26,8 q	28,5 q	28,0 q
24	21,0 q	15,0 q	15,4 q
25	15,7 q	16,0 q	16,1 q
26	16,0 q	16,5 q	16,0 q
27	18,0 q	16,6 q	14,8 q
28	14,4 q	18,1 q	60,2 t
29	-	107,0 t	109,6 t
30	29,2 q	64,9 t	19,1 q

Khi giải hấp với hệ dung môi sắc ký cột là *n*-hexan : etyl axetat = 80 : 20 thu được phân đoạn 10 và 13. Phân đoạn 10 chứa một cấu tử chính được làm sạch bằng cách kết tinh lại trong *n*-hexan thu được 0,25 g **S3** (3,67%), $R_f = 0,53$ (*n*-hexan : etylaxetat = 5:1) dưới dạng tinh thể hình kim, $t_{nc} = 217 - 218^\circ\text{C}$; IR (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}): 3377, 3084, 2934, 2876, 1642, 1459, 1379, 1027; EI-MS (m/z): 442 $[\text{M}]^+$, 427 (5,2), 411 (24,6), 393 (5,1), 368 (3,9), 234 (17,5), 203 (33,0), 189 (38,2), 175 (18,9), 147 (23,3), 121 (43,2), 107 (51,3), 95 (72,1), 69 (80,5), 55(100,0); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) $\delta(\text{ppm})$: 4,68 (1H, s); 4,57 (1H, s); 3,77 (1H, d); 3,38 (1H, m); 3,29 (1H, d); 2,37 (1H, m), 1,94 (2H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) $\delta(\text{ppm})$, xem bảng 1.

Phân đoạn 13 được tinh chế bằng cách kết tinh trong hệ dung môi *n*-hexan : $\text{CHCl}_3 = 15 : 1$ thu được 0,036 g **S4** (0,53%) tinh thể hình kim màu trắng, $R_f = 0,34$ (*n*-hexan : etyl axetat = 5 : 2); $t_{nc} = 246 - 247^\circ\text{C}$; IR (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}): 3321, 2936, 2865, 1650, 1452, 1040, 915; ESI-MS cho pic ở m/z 425 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) $\delta(\text{ppm})$; $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) $\delta(\text{ppm})$, xem bảng 1.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Sắc ký cột cận dịch chiết *n*-hexan (6,81 g) trên cột silica gel với dung môi rửa giải là hỗn hợp *n*-hexan/etyl axetat theo tỉ lệ tăng dần lượng etyl axetat (0 - 100%) thu được 3 hợp chất, kí hiệu là **S2**, **S3** và **S4**.

Chất **S2**, tinh thể hình kim, màu trắng, điểm nóng chảy $272 - 273^\circ\text{C}$. Phổ IR cho đỉnh hấp thụ đặc trưng của nhóm xeton ở 1701 cm^{-1} , và không thấy đỉnh hấp thụ của nối đôi. Phổ EI-MS của chất này cho pic ion phân tử tại m/z 426 $[\text{M}]^+$. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy phân tử chất **S2** có 29 cacbon. Công thức phân tử được suy ra từ số liệu phổ DEPT và phổ khối là $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_2$. Sự có mặt của 6 nhóm methyl bậc ba trong vùng từ $\delta = 0,78 - 1,07 \text{ ppm}$ và sự vắng mặt của các proton ở vùng $\delta > 4,0 \text{ ppm}$ có thể dự đoán **S2** có cấu trúc của một nor-triterpen. Khi so sánh độ dịch

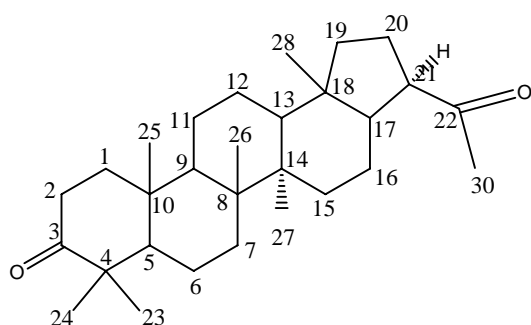
chuyển hóa học của các tín hiệu methyl của chất **S2** với số liệu trong tài liệu [2]: δ_{H} 1,07 (CH_3 -23), 1,06 (CH_3 -24), 0,92 (CH_3 -25), 1,02 (CH_3 -26), 0,98 (CH_3 -27) và 0,78 (CH_3 -28) có thể kết luận chất **S2** có khung hopan. Kết luận này được khẳng định thêm nhờ các ion phân mảnh đặc trưng của khung này ở m/z 383, 220, 205, 191, 177 và 149 [3, 4]. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT cho biết 29 nguyên tử cacbon của **S2** bao gồm hai nhóm xeton ($\text{C}=\text{O}$), 10 nhóm metylen (CH_2), 5 nhóm metin (CH), 7 cacbon bậc bốn và 7 nhóm methyl: trong đó có 1 nhóm CH_3CO ở δ_{H} 2,15 và δ_{C} 29,2. Với các số liệu phổ phân tích ở trên, kết hợp so sánh với số liệu trong tài liệu [2], cấu trúc của **S2** được xác định là 29-nor-21 α H-hopan-3,22-dion, chất này đã được phân lập trước đây từ loài *Mallotus paniculatus* thuộc họ Euphorbiaceae song chưa có số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (bảng 1) được sắp xếp dựa vào cách so sánh với số liệu trong tài liệu của các chất tương tự.

Phổ $^1\text{H-}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của chất **S4** tương tự như của chất **S2**, 6 nhóm methyl bậc ba trong vùng từ 0,76 - 1,07 ppm như ở chất **S2** cho phép dự đoán chất này cũng có khung hopan. Bên cạnh đó, sự có mặt của các nhóm: CH_2OH thể hiện qua tín hiệu singulet từ ở δ_{H} 4,05 (2H), $\text{C}=\text{CH}_2$ có δ_{H} 4,87; 4,95 (mỗi tín hiệu 1H, s từ); δ_{C} 107,0 t; 155,6] và proton ở δ_{H} 3,14 (1H, m) đặc trưng cho nhóm metin C-3 có gắn hydroxy. Sự dịch chuyển về trường thấp của tín hiệu proton ở nhóm $\text{C}=\text{CH}_2$ được giải thích là do nó có gắn nhóm $-\text{CH}_2\text{OH}$. Phân cấu trúc $\text{CH}_2=\text{C}-\text{CH}_2\text{OH}$ có mặt trong phân tử **S4** được khẳng định thêm bằng các đỉnh hấp thụ ở 1650, 915 cm^{-1} trong phổ hồng ngoại [5]. Phổ khối ESI-MS cho pic ở m/z 425 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]^+$, tương ứng với công thức phân tử là $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$. Các số liệu phổ (bảng 1) hoàn toàn đồng nhất với số liệu của chất 21- α H-hop-22(29)-en-3 β ,30-diol trong tài liệu [6]. Chất này đã được phân lập trước đây từ cây *Rhodomirtus tomentosa*, họ Myrtaceae.

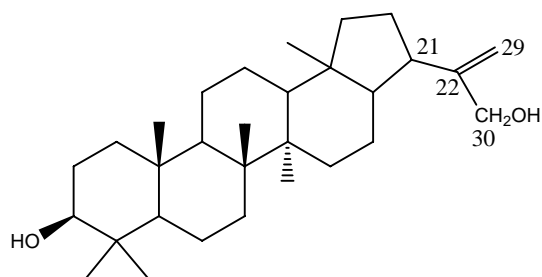
Chất **S3**, tinh thể hình kim, $t_{nc} = 217 - 218^\circ\text{C}$. Phổ khối EI-MS cho pic ion phân tử tại m/z 442, ứng với công thức phân tử là $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$. Phổ ^1H và $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy **S3** là một tritecpen, có các nhóm chức giống như chất **S2**

bao gồm 6 nhóm methyl bậc ba, 1 nhóm isopropenyl: δ_H 4,68, 4,57 (mỗi tín hiệu d, $J = 2,1$ Hz), δ_C 150,7 s và 109,6 t, một nhóm metylen có gắn với nhóm hydroxy (CH_2OH): δ_H : 3,77 (1H, dd, $J = 1,2$; 10,9) và 3,30 (1H, d, $J = 10,9$), δ_C 60,2 t và nhóm hydroxy đính ở C-3 thể hiện qua tín hiệu ở δ_H 3,19. Khi so sánh độ dịch chuyển hóa học của 6 nhóm methyl bậc ba của **chất S3** với hai **chất S2** và **S4** thấy rằng **chất S3** không phải là khung hopan. Các số liệu phổ cho phép kết luận **chất S3** là 20(29)-lupen-3,28-diol, có tên là betulin [7]. Đây là một tritecpen có

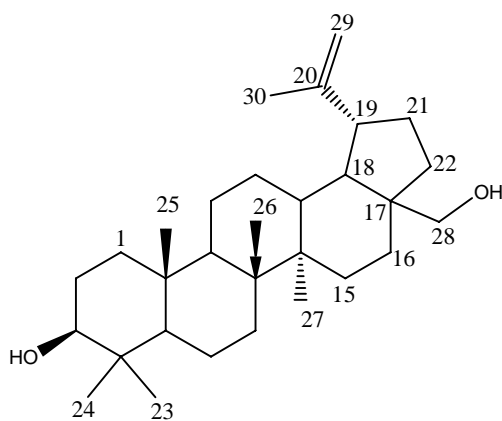
mặt trong nhiều loài thực vật thuộc các họ khác nhau. Betulin thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng HeLa và Hep-2 với cùng giá trị IC_{50} là 40 $\mu g/ml$. Betulin cũng thể hiện hoạt tính chống HIV với giá trị IC_{50} là 6,1 $\mu g/ml$. Các nghiên cứu của Miura còn cho thấy betulin có tác dụng bảo vệ gan và làm giảm khả năng gây độc của $CdCl_2$ ở nồng độ thấp 0,1 $\mu g/ml$. Cơ chế có thể là do betulin thúc đẩy sự tổng hợp các protein có tác dụng bảo vệ các tế bào khỏi ảnh hưởng của $CdCl_2$ [7, 8].



S2: 29-nor-21- α H-hopan-3,22-dion



S4: 21- α H-hop-22(29)-en-3 β ,30-diol



S3: Betulin

IV - KẾT LUẬN

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp với các phương pháp phổ hiện đại đã phân lập và nhận dạng được 3 chất tritecpen từ cận chiết *n*-hexan của cành cây chóc máu của Việt Nam.

Đây là lần đầu tiên 3 tritecpen khung hopan và lupan được phân lập từ loài cây này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam, quyển 2, 159, Nxb. Trẻ (2000).

2. W-H Hui, M-M Li. *Phytochemistry*, 15, 985 (1976).
3. M. N. Galbraith, C. J. Miller, J. W. L. Ritche, W. C. Taylor. *Austral. J. Chem.*, 18, 226 (1965).
4. H. Budzikiewicz, J. M. Wilson, C. Djerassi. *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 3688 (1963).
5. W. H. T. Davison, G. R. Bates, *J. Chem. Soc.*, 2607 (1953).
6. W-H. Hui, M-M. Li, *Phytochemistry*, 15, 1741 - 1743 (1976).
7. K. S. El Deed, R. A. Al-Haidari, J. S. Mossa, A. A. Abdel Monem. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 11(4), 184 - 191 (2003).
8. N. Muira, Y. Matsumoto, S. Miyairi, S. Nishiyama, A. Naganuma. *Molecular Pharmacology*, 56, 1324 - 1328 (1999).