

NGHIÊN CỨU CHUYỂN HÓA 3-OXOMINOVIN THÀNH ANCALOIT MINOVIN

Đến Tòa soạn 22-6-2007

PHAN ĐÌNH CHÂU

Bộ môn Công nghệ Hóa dược-HCBVTU, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

SUMMARY

Minovine (1), an alkaloid of Vinca minor, was prepared by transformation of 3-oxominovine (3) in three steps: The first the compound 3 was reacted with P₂O₅ into 3-thioxo-minovine (4), methylation of that gave the salt 5 and in the end this product was reduced with NaBH₄ to form minovine (1).

I - ĐẶT VẤN ĐỀ

Racemic minovine (1) là ancaloit của cây *Vinca minor*, lần đầu tiên được I. Mokry và cộng sự [1, 2] phân lập ra cùng với racemic vincadifformin (2). Minovine có dạng bột trắng, vô định hình, điểm chảy 79 - 80°C, công thức nguyên C₂₂H₂₈N₂O₂.

Cũng như các ancaloit khác thuộc nhân aspidosperma. Minovine được sử dụng để biến đổi thành những hợp chất có hoạt tính sinh học thuộc khung quebrachamin sử dụng trong y dược. Với ứng dụng như thế nên ancaloit minovine được nhiều nhà hóa học quan tâm và nhiều công trình tổng hợp toàn phần về hợp chất này cũng được công bố [3, 4].

Trong công trình này chúng tôi trình bày phương pháp điều chế minovine (1) bằng cách chuyển hóa hợp chất mà chúng tôi tổng hợp ra trong một số công bố trước đây là 3-oxominovine (3) [5, 6].

II - THỰC NGHIỆM

- Để theo dõi phản ứng và thử độ tinh khiết của các hợp chất điều chế được chúng tôi dùng sắc ký bản mỏng loại Kieselgel 60 F₂₅₄ trên đế

nhôm của Merck, hiện màu bằng dung dịch Ceri-II-sunfat.

- Phân lập sản phẩm được tiến hành trên sắc ký tấm loại Kieselgel 60 F₂₅₄ + 366 rộng 20 x 20, dày 1,5 mm.

- Phổ hồng ngoại (IR) các chất tổng hợp ra được đo trên máy Spectromom 2000.

- Phổ ¹H-NMR đo trên máy VARIAN XL-100A

- Phổ khối (MS) đo trên máy JEOL-01-SG-2 (70 eV).

1-Metyl-16-(metoxi-cacbonyl)-3-thioxo-2,16-dedihidro-aspidosper-midin (3-thioxominovine (4))

Trong luồng khí argon, trong bình cầu có sinh hàn hồi lưu trên có ống ngăn ẩm CaCl₂, hòa tan 150 mg (0,4 mmol) 3-oxominovine (3) trong 10 ml hỗn hợp benzen-tetrahydrofuran khan 1:1, cho vào đó 150 g (0,68 mmol) P₂S₅, đun hồi lưu 6 giờ, lọc loại chất rắn. Dịch lọc được cất dưới áp suất giảm để loại dung môi, cặn còn lại đưa lên sắc ký tấm để phân lập (hệ dung môi benzen-hexan-metanol 10:10:0,5, R_f = 0,65).

Thu được 133 mg (85,56%) dầu màu vàng, để lạnh thì đóng rắn lại hợp chất 4.

IR (KBr), ν_{\max} : 3100, 2930 cm^{-1} (C-H), 1690 cm^{-1} (C=O este liên hợp), 1600 cm^{-1} (C=C), 1472 cm^{-1} (N-C=S).

MS (m/z, %): 382 (37); 349 (40); 267 (13); 252 (39); 241 (100); 209 (50); 182 (16); 181 (20); 168 (20); 154 (15).

1-Metyl-16-(metoxi-cacbonyl)-2,16-dedihidro-aspidospermidin (minovin (1))

Trong luồng khí argon, trong bình cầu có mắc sinh hàn ngược và ống ngăn ẩm có chứa CaCl_2 , hòa tan 120 mg (0,3 mmol) 3-thioxominovin (**4**) trong 20 ml THF, cho vào đó 10 ml metyl iodua khuấy nhẹ qua 1 ngày đêm ở nhiệt độ phòng. Hôm sau đem cất loại dung môi và metyl iodua ở dưới áp suất giảm. Cặn còn lại hòa tan vào 15 ml metanol sau đó ở nhiệt độ phòng vừa khuấy vừa cho 130 mg (0,31 mol) natri borohidrua vào hỗn hợp nêu trên. Sau khi cho xong, tiếp tục khuấy thêm 1 giờ nữa. Tiếp sau đó dùng dung dịch HCl 3 M để đưa pH về 7, khuấy 30 phút, sau đó dùng diclometan chiết hỗn hợp 3 lần (30, 20, 20 ml). Gộp dịch chiết diclometan lại, làm khan bằng Na_2SO_4 . Lọc loại chất làm khan, bốc hơi loại dung môi dưới áp suất giảm. Cặn còn lại đưa lên sắc khí tẩm để phân lập lấy minovin (**1**) (hệ dung môi benzen-hexan-metanol 10: 10: 0,5) $R_f = 0,78$.

Thu được 66 mg (62,25%) dầu màu vàng nhạt hợp chất **1**.

IR (film), ν_{\max} : 3100, 2930 cm^{-1} (C-H), 1680 cm^{-1} (C=O este liên hợp), 1600 cm^{-1} (C=C).

MS (m/z, %): 352 (20); 327 (7); 241 (8); 228 (10); 168 (30); 124 (100); 110 (17); 41 (13).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); δ : 0,68 - 1,1 (5H, m, C18- H_3 + C19- H_2); 1,2 - 2,5 (6H, m, C6- H_2 + C14- H_2); 2,05 (1H, d, $j_{\text{gem}} = 16$ Hz; C17- H_A); 2,70 (1H, dd, $j_{\text{longrange}} = 2,0$ Hz, C17- H_B); 3,75 (3H, s, COOCH_3); 4,2 (2H, m, C3- H_B + C5- H_B); 6,8 - 7,4 (4H, m, aromatic-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3), δ : 7,15 (C18); 23,52 (C14); 25,80 (C17); 29,54 (C19); 32,85 (C15); 36,41 (N- CH_3); 38,21 (C20); 44,36 (C6); 50,56 (C5); 50,86 (COOCH_3); 51,82 (C3); 55,65 (C7); 71,68 (C21); 92,53 (C16); 109,65 (C12); 120,49 (C10); 121,05 (C9); 127,48 (C11); 137,53 (C8); 143,75 (C13);

166,78 (C2); 169,18 (COOCH_3)ppm.

III - PHƯƠNG PHÁP, KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

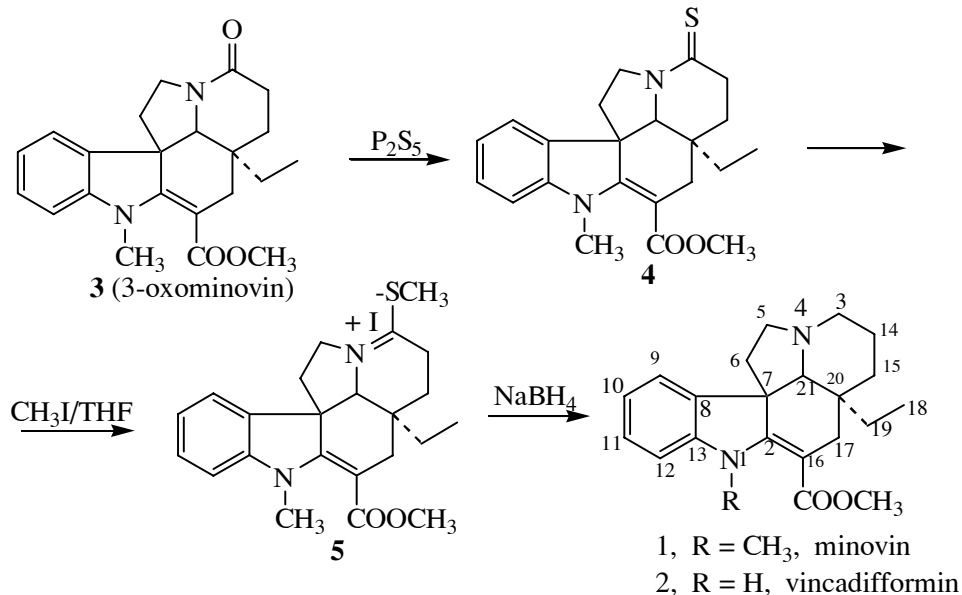
Nhìn vào cấu trúc phân tử 3-oxo-minovin (**3**) và phân tử ancaloit minovin (**1**) thì thấy hai phân tử chỉ khác nhau ở vị trí thứ 3, là trong phân tử 3-oxo-minovin tại vị trí này là nhóm C=O, còn trong phân tử minovin là nhóm CH_2 , như vậy cần phải tiến hành chuyển hóa bằng cách khử hoá để chuyển nhóm C=O amit thành nhóm CH_2 mà không gây ảnh hưởng đến độ nhạy cảm của các nhóm khác trong phân tử.

Vấn đề chủ yếu của việc chuyển hóa này là thực hiện việc khử hóa chọn lọc để làm sao chuyển hóa được nhóm C=O lactam trong phân tử ở vòng D thành amin mà các nhóm chức khác như C=C, COOCH_3 không bị phá huỷ. Với yêu cầu này không thể dùng LiAlH_4 , hay H_2 /xúc tác hoặc Raney-Niken để khử, vì vậy để tiến hành được việc này chúng tôi lựa chọn một phương pháp khử gián tiếp tương đối đặc hiệu và sử dụng chất khử êm dịu là NaBH_4 thông qua hợp chất thioxo của chúng. Trước hết chúng tôi cho 3-oxo-minovin (**3**) tác dụng với photphopentaxen (P_2S_5) trong hỗn hợp dung môi benzen-THF khan 1:1 để được 3-thioxo-minovin (**4**). Sự tạo thành thiolactam **4** được khẳng định qua các loại phổ; Trong phổ khối với việc xuất hiện đỉnh phân tử ở 382, trong phổ IR đỉnh 1650 cm^{-1} đặc trưng của C=O amit biến mất thay vào đó sự xuất hiện đỉnh hấp phụ ở 1472 cm^{-1} , đặc trưng cho liên kết N-C=S. Tiếp theo là cho 3-thioxo-minovin (**4**) tác dụng metyl iodua trong dung môi THF ở 25 - 30°C để tạo ra muối imino **5**, sau đó muối này được khử hóa với natri borohidrua trong metanol cũng ở nhiệt độ phòng để cho minovin (**1**).

Việc tạo thành của minovin cũng được khẳng định qua các số liệu thu được từ các loại phổ. Trên phổ IR thấy sự biến mất của dao động ở 1472 cm^{-1} có trong hợp chất 3-thioxominovin (**3**), điều đó chứng tỏ nhóm C=S lactam đã không còn, thay vào đó trong phổ khối (MS) thay vì đỉnh phân tử 382 của hợp chất trung gian 3-thioxominovin thì sau lúc khử hóa thu được hợp chất có đỉnh phân tử là 352 đúng bằng phân

tử lượng của minovin, cũng như sự xuất hiện của các proton ở vị trí C3-Ha, C3-Hb trong phổ 1H-

NMR, cũng như giá trị pic ở C3 trong phổ ¹³C-NMR.



IV - KẾT LUẬN

- Đã chuyển hóa được 3-oxominovin thành ancaloit minovin.

- Cấu trúc của minovin cũng như hợp chất chuyển hóa trung gian 3-thioxo-minovin đều được nhận dạng qua các số liệu về phổ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J. Mokry, L. Bravkova, P. Sefcovic. *Experientia*, **18**, 564 (1962).
2. J. Mokry Kempis, L. Bravkova, P. Sefcovic. *Experientia*, **19**, 311 (1963).
3. F. E. Ziegler, E. B. Spitzner. *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 5930 (1971).
4. F. E. Ziegler, E. B. Spitzner. *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 7146 (1973).
5. Phan Đình Châu, Kalaus Gyorgy, Szantay Csaba. *Tạp chí Hóa học*, **29** (2), 18 - 20 (1991).
6. Phan Đình Châu, Kalaus Gyorgy. *Tạp chí Hóa học*, **30** (3), 43 - 46 (1992).

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP PLUMBAGIN Từ Lá Bạch Hoa Xà Và Thử Tác Dụng GÂY NGÁN ĂN CỦA NÓ VỚI SÂU KHOANG VÀ CHÂU CHẤU.

STUDY ON ISOLATION OF PLUMBAGIN FROM THE LEAVES OF PLUMBAGO ZEYLANICA LINN AND TEST ANTIFEEDANT ACTIVITY AGAINST SPODOPTERA LITURA AND OXYA VELOX.

Dương Anh Tuấn(1), Dương Ngọc Tú (1), Nguyễn Văn Giáp(1), Lưu Tham Mtu(1), Phan Đình Châu (2).

1. Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt nam

2. Đại học Bách khoa Hà nội.

SUMMARY

Study on isolation of plumbagin from the leaves of *Plumbago zeylanica* Linn and test antifeedant activity against *Spodoptera litura* and *Oxya velox*.

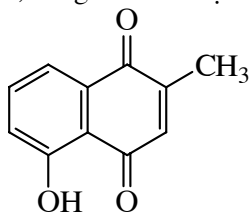
From the leaves of Dong Anh *Plumbago zeylanica* the 5-hydroxy-2-methyl-1,4-naphtho-quinone (plumbagin) have been isolated. The isolated plumbagine was tested against the *Spodoptera litura* and *Oxya velox* which were reared on ohlrahi and corn foliages.

I. Đặt Vấn Đề.

Cây bạch hoa xà (*Plumbago zeylanica* Lin) còn gọi là cây bạch tuyết hoa, cây đuôi công trắng, cây lá đinh, cây chiến (Lạng sơn), pit phi khao (Luang Prabang), thuộc họ đuôi công (*Plumbaginaceae*) [1, 2]. Cây phân bố khắp nơi ở nước ta từ Nam đến Bắc, cả miền núi lẫn đồng bằng đều có. Cây này còn thấy ở Ấn độ, Malaixia, nam Trung quốc, Nhật bản, Indonexia, Châu phi [1].

Chế phẩm của lá cây bạch hoa xà có tác dụng khu phong trừ thấp, tác ứ, tiêu sưng, thư căn hoạt huyết, làm sáng mắt, *plumbagin* hoạt chất chính của cây là một tác nhân làm viêm tấy và sát trùng tốt, nó kích thích mô cơ với liều thấp và gây tê liệt với liều cao, gây co thắt mô cơ của tim, của giun, ký sinh trùng [2]. Rễ bạch hoa xà sắc nước để bôi ghẻ, lá giã nát đắp lên đầu chốc lở. ở một số nước như Ấn độ, Nhật bản người ta dùng rễ cây này làm chất gây sẩy thai [1], có nhiều tác dụng dược lý khác nhau của cây bạch hoa xà và *plumbagin* cũng đã được nghiên cứu như: tác dụng chống thụ tinh [3], tác dụng làm sẩy thai ở bạch chuột [4], tác dụng làm giảm lipid máu và chống xơ vữa động mạch [5].

Về mặt hóa học cây bạch hoa xà đã được nghiên cứu từ lâu: trong rễ bạch hoa xà có một chất gọi là *plumbagin* đã được Dulong dAstafor [6] phân lập ra đầu tiên từ năm 1826 và cấu trúc của nó được Fieser, Dunn [7] xác định vào năm 1936, công thức cấu tạo như sau:



Plumbagin tinh thể hình kim màu vàng cam, có vị đắng, điểm nóng chảy 78-79 °C (từ etanol loãng), là chất dễ thăng hoa, dễ cất kéo hơi nước, hòa tan trong ancol, aceton, cloroform, benzen, axit axetic, DL50 với chuột là 0,015 g/kg thể trọng.

ở nước ta vài năm trước đây Đỗ Đình Rãng và cộng sự [8], bằng phương pháp sắc ký khí mao quản (CGC) và sắc ký khí-khối phổ đã nghiên cứu thành phần hóa học của các bộ phận thân, lá, rễ ở dạng khô của cây bạch hoa xà.

Nhằm góp phần tìm kiếm thêm về thành phần hóa học của cây bạch hoa xà trồng ở Đông anh chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu chiết xuất, phân lập plumbagin- hoạt chất chính từ lá tươi của cây bạch hoa xà và sử dụng tính độc của nó và việc diệt trừ côn trùng có hại với mùa màng mà cụ thể là bước đầu sơ bộ thử tác dụng ngăn ăn với sâu khoang và châu chấu.

2. PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM, KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN.

Bao gồm hai phần: Phần A. Chiết xuất, phân lập plumbagin từ lá tươi cây bạch hoa xà. Phần B là thử tác dụng gây ngán ăn với sâu khoang và châu chấu..

A. CHIẾT XUẤT, PHÂN LẬP PLUMBAGIN.

1. Các dụng cụ thiết bị

- Phổ hồng ngoại (IR) đo trên máy Perkin Elmer 1615 FT-IR
- Phổ tử ngoại (UV) ghi trên máy UV-VIS spectrophotometer CARY 1 E VARIAN.
- Điểm chảy được xác định trên máy đo độ chảy Bojetus KM, nhiệt kế không chuẩn độ lại

2. Nguyên liệu và dung môi

- Lá cây bạch hoa xà (*Plumbagin zeylancia*) thu hái từ vùng Đông anh, Hà nội vào tháng 10 năm 2000, lá được rửa sạch và để ráo hết nước sau đó dùng máy xay sinh tố xay nhỏ
- Tất cả các dung môi sử dụng trong thí nghiệm đều được cất lại trước lúc dùng.

3. Chiết xuất và phân lập plumbagin.

1000 g lá bạch hoa xà tươi được xay nhỏ trong máy xay sinh tố, sau đó được ngâm chiết với n-hexan (3 lần, mỗi lần 1200 ml, thời gian mỗi lần ngâm là 24 giờ, ở nhiệt độ phòng). Lọc loại bã, dịch chiết được gộp lại, làm khan với 10 g natri sunphát khan. Lọc loại chất làm khan, bốc hơi loại dung môi ở áp suất giảm, thu được 3,0 g cặn (0,3%). Cặn được kết tinh lại trong hỗn hợp etanol-nước tỷ lệ 1:1 thu được plumbagin tinh khiết là tinh thể hình kim màu vàng da cam. Độ chảy 78-79 °C (Tài liệu [9] 78-79 °C) IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3415 (OH), 2990 (CH_3), 1666, 1644 (C=O xeton liên hợp với C=C), 1609, 1455, 1364, 1258, 1239, 1161, 1931, 901, 836, 752, đặc biệt tại số sóng cực đại 3415 cm^{-1} có một dải rộng từ 3250-3650 cm^{-1} đặc trưng cho liên kết hydro tạo thành giữa nhóm —OH ...O=C có trong phân tử plumbagin. UV/EtOH, λ_{\max} , nm: 209, 266, 416.

B. THỬ NGHIỆM TÁC DỤNG GÂY NGÁN ĂN

1. Đối tượng côn trùng thử nghiệm:

- Sâu khoang (*Spodoptera litora*): do phòng Công nghệ nhân nuôi, Viện Sinh thái và tài nguyên cung cấp; sâu ở vào tuổi 2,3.
- Châu chấu là loài châu chấu lúa ngán cánh (*Oxya vetox*) ở dạng trưởng thành bắt về cho vào hộp nhựa có dùi lỗ để cho châu chấu thở.

2. Công thức thí nghiệm và cách thử:

2.1. Thử với sâu khoang:

Thử tác dụng gây ngán ăn với sâu khoang theo phương pháp “chọn” thức ăn của T.M. Caasi [10] và M.J. Mende [11]. Cách làm: dùng một ống đồng tròn mỏng để đọt lá su hào thành miếng hình tròn đồng đều có diện tích 2 cm^2 . Pha dung dịch 0,25% plumbagin trong axeton rồi nhúng các miếng lá su hào vào dung dịch đó. Đối chứng là những miếng lá su hào nhúng vào axeton không có plumbagin. Tất cả các miếng lá đã xử lý đều để cho axeton bay hơi hết rồi mới đặt vào hộp petri.

Mỗi thí nghiệm được đặt 5 lá su hào có xử lý thuốc và 5 miếng lá không có thuốc xen kẽ nhau trong cùng một hộp petri, dưới đáy tất cả các hộp petri đã đặt sẵn một tờ giấy lọc vừa bằng đáy hộp có thấm nước (giữ độ ẩm 100%) để giữ cho các miếng lá không bị khô. Sau đó thả vào ở giữa hộp petri 5 sâu non tuổi 3 để sâu tự tìm lấy thức ăn. Nhiệt độ trong phòng thí nghiệm là 25-27°C. Hộp đối chứng đặt 10 miếng lá su hào chỉ xử lý axeton không có thuốc. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Sau khi thả sâu 24 giờ tiến hành theo dõi các chỉ tiêu sau:

- Cân trọng lượng của từng miếng lá (trước khi xử lý thuốc và sau khi thả sâu 24 giờ) để tính lượng thức ăn đã bị sâu ăn ở các công thức thuốc và đối chứng của từng thí nghiệm.
- Xác định tỷ lệ trọng lượng lá bị ăn của các công thức đối chứng ở các thí nghiệm.
- Xác định tỷ lệ giữa tổng trọng lượng lá bị ăn cả lá có thuốc lẫn lá không thuốc ở các công thức trong thí nghiệm.
- Tính chỉ số ngán ăn (CSNA) theo công thức sau:

$$CSNA = 100 - \frac{A}{B} \cdot 100$$

Trong đó A: Trọng lượng lá thí nghiệm bị sâu ăn
B: Trọng lượng lá đối chứng do sâu ăn.

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1: Kết quả thử nghiệm gây ngán ăn với sâu khoang

TT	Trọng lượng lá trước lúc thí nghiệm (g)		Trọng lượng lá sau lúc thí nghiệm (g)		Chỉ số ngán ăn
	Lá thí nghiệm	Lá đối chứng	Lá thí nghiệm	Lá đối chứng	
1	1,2311	1,0223	0,9908	0,0000	77,48
2	1,2985	1,3957	1,0969	0,7152	70,38
3	1,1830	1,3238	1,0225	0,5176	80,10

Nhận xét: ở nồng độ 0,25 % plumbagin trong axeton có tác dụng gây ngán ăn từ 70,38% đến 80,10% đối với sâu khoang.

2.2. Trong quá trình thử tác dụng gây ngán ăn với châu chấu

TT	Trọng lượng lá trước lúc thí nghiệm (g)		Trọng lượng lá sau lúc thí nghiệm (g)		Chỉ số ngán ăn	Số châu chấu bị chết
	Lá thí nghiệm	Lá đối chứng	Lá thí nghiệm	Lá đối chứng		
1	0,8870	1,0276	0,6340	0,3479	62,94	2 con
2	1,3237	1,3926	1,1707	0,6954	78,81	1 con
3	1,3288	0,9509	1,0371	0,1938	61,48	2 con

Nhận xét: ở nồng độ plumbagin 0,25% trong axeton có tác dụng gây ngán ăn từ 61,48% đến 78,84% đối với châu chấu nhưng đồng thời ở nồng độ này cũng đã làm gây chết với châu chấu nên trong 3 trường hợp thí nghiệm hộp nào cũng có 1-2 con chết.

3. KẾT LUẬN

- Bước đầu đã tìm được phương pháp đơn giản để chiết, phân lập, tinh chế plumbagin từ lá tươi cây bạch hoa xà Đông anh.
- Đã sơ bộ thử tác dụng gây ngán zum của plumbagin trên sâu khoang và châu chấu. Kết quả thử nghiệm cho thấy ở nồng độ 0,25% plumbagin có tác dụng gây ngán ăn khá (70-80% với sâu khoang và châu chấu là khoảng 61-79%), đồng thời ở nồng độ này cũng có tác dụng diệt chết châu chấu trong khi ăn phải lá có phun thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi: Những cây thuốc và vị thuốc Việt nam. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật. 1979, tập I, trang 179.
2. Võ Văn Chi: Từ điển cây thuốc Việt nam. Nhà xuất bản Y học, 1997 trang 497-498
3. Azad. Chowdhury A. K.; Sushanta K.C.; Azad. Khan A. K.: India J. Med. Res. 76suppl 99-101(1982).
4. Devasrshi P.; Patil S. Kanase A: Indian J. Exp. Biol 29 (6) 521-22 (1991).
5. Sharma I.; Gusain D.; Dixit V.P. : Indian J. physiol. Pharmacol. 35 (1) 10-14 (1991).
6. Dulong d Astafort : J. Pharm. Chim. 14, 441 (18280).
7. Fiesser, Dunn : J. Chem. Soc. 58 , 572 (1936).
8. Đỗ Đình Rãng: Nguyễn xuân Dũng: Tạp chí Hóa học 34 (2), 67-70 (1996).
9. Windholz M. : The Merck Index. Tenth Edition 1983, p. 1086.
10. Caasi M. T. : B.S. Thesis College of Agriculture, University of Philipin Los Banos College, Laguna 1983, p. 79.
11. Mendel M. J. ; Alford A.R.; Bentley M. D. : Entomol. Exp. Appl. 58, 191-194 (1991).