

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CÂY SONG MÔI TÀU
[MILIUSA SINENSIS FINET ET GAGNEP.], HỌ NA
(ANNONACEAE)**

PHẦN I - CÁC HỢP CHẤT FLAVONOID

Đến Tòa soạn 23-3-2009

TRẦN THỊ THANH THỦY, TRẦN ĐỨC QUÂN, NGUYỄN THỊ HOÀNG ANH,
TRẦN VĂN SUNG

Viện Hóa Học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

ABSTRACT

Four methoxy flavanones: pinostrobin (1), 5-hydroxy-7,4-dimethoxy flavanone (2), 5-hydroxy-6,7-dimethoxy flavanone (3) and 5-hydroxy-7,8-dimethoxy flavanone (4) were isolated from the n-hexane extract of Miliusa sinensis. Their structures were elucidated by analysis of MS and NMR spectra and comparison with the published data.

I - MỞ ĐẦU

Họ Na là một họ thực vật lớn với nhiều hợp chất có cấu trúc và hoạt tính sinh học quý báu. ở Việt Nam, chi Mài liễu (*Miliusa*) gồm 9 loài [1] nhưng đa số các loài đó chưa được nghiên cứu nhiều. Gần đây các nhà khoa học thuộc Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã có một số công bố lý thú về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của cây Mài liễu (*Miliusa balansae*) [2, 3]. Ngoài ra, từ cây Song môi tàu (*Miliusa sinensis*) thu hái tại rừng Cúc Phương các nhà khoa học thuộc dự án hợp tác quốc tế về nhóm đa dạng sinh học (ICBG) đã tách được một lớp chất mới có tên gọi là miliusane với nhiều đặc tính đáng chú ý về cấu trúc và hoạt tính sinh học [4]. Cây Song môi tàu là loại cây bụi cao từ 2 - 4 m, phân bố ở Việt Nam và miền Nam Trung Quốc [5]. Trong bài báo này chúng tôi thông báo về việc phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 4 flavonoid phân lập từ cây Song môi tàu thu hái tại Hòa Bình.

II - THỰC NGHIỆM

1. Phương pháp nghiên cứu

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz, phổ khối EI-MS được đo trên máy HP 5989B-MS tại Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Sắc ký bản mỏng được tiến hành trên bản silica gel Merck 60F₂₅₄. Sắc ký cột sử dụng silica gel cỡ hạt 0,04 - 0,063 mm.

2. Mẫu thực vật

Mẫu được thu hái tại huyện Mai Châu, tỉnh Hòa Bình vào tháng 4 năm 2007 và được TS. Ngô Văn Trại — Viện Dược liệu — Bộ Y tế xác định tên khoa học.

3. Chiết mẫu thực vật và phân lập các chất

Mẫu thực vật (1200 g cành và lá) được sấy khô, nghiền nhỏ và ngâm chiết 3 lần trong hỗn hợp metanol : nước (95 : 5) ở nhiệt độ phòng. Sau khi cất loại dung môi dưới áp suất giảm, dịch nước còn lại được chiết lần lượt với các

dung môi *n*-hexan, etyl axetat, *n*-butanol. Cát loại dung môi dưới áp suất giảm thu được các cặn dịch chiết tương ứng.

Cặn *n*-hexan (18,6 g) được phân tách bằng sắc ký cột trên silica gel, dung môi rửa giải là hỗn hợp *n*-hexan : etyl axetat với lượng etyl axetat tăng dần (từ 0 - 100%), thu được 40 phân đoạn. Tiến hành kết tinh lại các phân đoạn F8, F14, F21 và F22 lần lượt thu được các chất sạch là **1** (80 mg), **2** (98 mg), **3** (202 mg) và **4** (55 mg).

Chất 1: tinh thể dạng phiến, không màu, $C_{16}H_{14}O_4$; mp. 91 - 92°C; EI-MS (m/z): 270 (M^+), 193, 166, 138, 95, 77; hàm lượng 0,0067% so với mẫu khô.

Chất 2: tinh thể hình kim, không màu, $C_{17}H_{16}O_5$, mp. 118°C; EI-MS (m/z): 300 (M^+), 285, 223, 196, 181, 168, 153, 125; hàm lượng 0,0082%.

Chất 3: tinh thể hình kim, không màu $C_{17}H_{16}O_5$; mp. 97°C; EI-MS (m/z): 300 (M^+), 285, 223, 196, 181, 168, 153, 125; hàm lượng 0,01683%.

Chất 4: tinh thể màu vàng nhạt, $C_{17}H_{16}O_5$; mp. 159 - 160°C; EI-MS (m/z): 300 (M^+), 285, 223, 196, 181, 168, 153, 125; hàm lượng 0,0046%.

Số liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1H - và ^{13}C -NMR của các chất **1** — **4** được đưa ở bảng 1 và bảng 2.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Chất 1 được phân lập dưới dạng tinh thể không màu. Phổ khối EI-MS cho pic phân tử M^+ = 270 amu. Công thức phân tử $C_{16}H_{14}O_4$ của chất **1** được đưa ra dựa vào việc phân tích dữ liệu phổ MS kết hợp với phổ NMR. Các dữ liệu phổ này cũng gợi ý hợp chất **1** có cấu trúc thuộc khung flavanon. Trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện 16 tín hiệu gồm 6 tín hiệu của cacbon bậc 4 trong đó có 1 tín hiệu của nhóm carbonyl liên hợp (195,7 ppm), 7 tín hiệu của nhóm CH nhân thơm (94 - 128 ppm), 1 tín hiệu của nhóm metylen (43,3 ppm) và 1 tín hiệu của nhóm

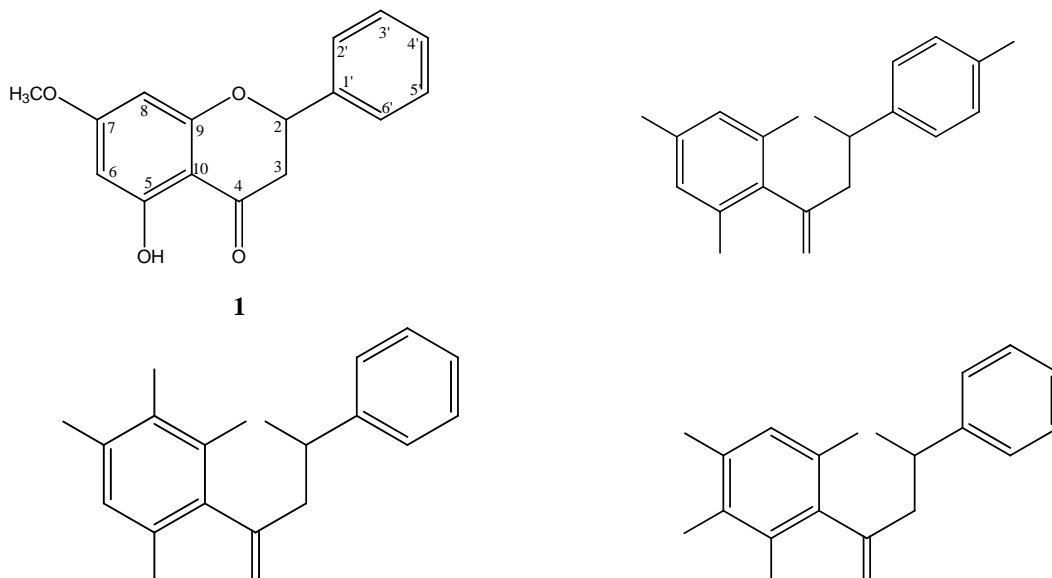
metoxy (55,6 ppm). Vùng nhân thơm trên phổ 1H NMR chỉ cụm tín hiệu của 5 proton của vòng thơm ở độ dịch chuyển d_H 7,36 - 7,45 và hai tín hiệu duplet ở độ dịch chuyển d_H 6,06 ($J = 2$ Hz) và 6,02 ($J = 2$ Hz). Các tín hiệu này chỉ ra rằng vòng A của chất **1** đã bị thế ở vị trí 5, 7 trong khi vòng B không bị thế. Tín hiệu OH ở d_H 12,01 đặc trưng cho OH có liên kết cầu hidro nội phân tử, như vậy vị trí của nhóm hydroxy này là vị trí 5 và nhóm metoxy thế ở vị trí 7. Cụm 3 tín hiệu duplet kép d_H 5,39 (H-2, $J = 13$ và 2Hz); 2,80 (H-3A, $J = 17$ và 2Hz) và 3,06 (H-3B, $J = 17$ và 13 Hz) được xem là “vân tay” nhận dạng của nhóm hợp chất khung flavanon. Từ việc phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân kết hợp so sánh tài liệu [6] cho phép xác định chất **1** là 5-hydroxy-7-metoxy-flavanon hay còn gọi pinostrobin. Gần đây, pinostrobin được biết đến là một trong những hợp chất lí tưởng chống ung thư vú [7].

Chất 2 kết tinh dưới dạng tinh thể không màu hình kim, có pic ion phân tử trên phổ EI-MS ở $m/z = 300$ tương ứng với công thức phân tử $C_{17}H_{16}O_5$. Các dữ liệu phổ cho thấy chất **2** cũng có cấu trúc khung flavanon tương tự như chất **1**. Chất **2** có khối lượng phân tử lớn hơn chất **1** là 30 đơn vị khối, điều này gợi ý phân tử có gắn thêm 1 nhóm metoxy. Giả thiết này được khẳng định thêm qua việc xuất hiện tín hiệu của nhóm metoxy ở d_C 55,7 và d_H 3,83 trên phổ ^{13}C - và 1H -NMR, tương ứng. Nhóm metoxy này được thế vào vị trí 4' trên vòng B thể hiện qua sự dịch chuyển của C4' về phía trường thấp (d_C 160,1). Tín hiệu của 4 proton nhân thơm thuộc vòng B của chất **2** chia thành 2 duplet ở d 7,38 ($J = 8,5$) và d 6,95 ($J = 8,5$) trên phổ 1H NMR một lần nữa khẳng định giả thiết trên. Các dữ liệu phổ phù hợp với chất đã công bố là: 5-hydroxy-7,4'-dimetoxy-flavanon [6]. Hợp chất này có hoạt tính kháng nấm với hàm lượng tối thiểu để ức chế sự phát triển nấm trên sắc lí lớp mỏng là 25 mg [8].

Chất 3 và **chất 4** cùng có giá trị m/z của ion phân tử là 300 ứng với công thức phân tử $C_{17}H_{16}O_5$. Hai chất này có phổ 1H và ^{13}C NMR hoàn toàn tương tự nhau. Cả hai chất đều có cấu trúc cơ bản giống chất **1** và có thêm 1 nhóm metoxy thế vào vị trí 6 hoặc 8 trên vòng A của

khung flavanon. Khi có thêm nhóm metoxy ở vị trí 6 hoặc 8 thì độ dịch chuyển của C5 và C9 đều chuyển dời về phía trường cao. Nếu nhóm thế ở vị trí 6 thì ảnh hưởng lên C5 sẽ mạnh hơn C9 và ngược lại nếu nhóm thế ở vị trí C8 thì ảnh

hưởng lên C9 sẽ mạnh hơn C5. Qua việc phân tích phổ kết hợp tham khảo các tài liệu đã công bố [9], chúng tôi xác định cấu trúc của chất **3** là 5-hydroxy-7,8-dimethoxy-flavanon và chất **4** là 5-hydroxy-6,7-dimethoxy-flavanon.



Bảng 1: Số liệu phổ ^{13}C NMR (125 MHz) của các chất **1**, **2**, **3**, **4** (trong dung môi CDCl_3)

C	1	2	3	4
2	79,2	79,0	79,2	79,6
3	43,3	43,2	43,4	43,4
4	195,7	196,0	196,0	196,3
5	164,1	164,2	159,9	155,1
6	95,1	95,1	93,1	130,7
7	168,0	168,1	161,6	161,0
8	94,2	94,3	129,9	91,7
9	162,8	162,9	153,6	158,7
10	103,1	103,2	103,0	103,1
1'	138,4	130,5	138,5	138,3
2'	126,1	127,7	126,0	126,1
3'	128,8	114,3	128,8	128,9
4'	128,8	160,1	128,7	129,0
5'	128,8	114,3	128,8	128,9
6'	126,1	127,7	126,0	126,1
7-OCH ₃	55,6	55,6	56,3	56,1
4'-OCH ₃	H ₃ CO	55,7	O	-
8-OCH ₃	-	-	61,3	-
6-OCH ₃	-	-	-	60,8

Bảng 2: Số liệu phổ ¹H NMR (500 MHz) của các chất **1**, **2**, **3**, **4** trong dung môi CDCl₃

H	1	2	3	4
2	5,39 (dd, 13, 2)	5,37 (dd, 13, 3)	5,48 (dd, 12, 3)	5,42 (dd, 13, 3)
3	2,80 (dd, 17, 2) 3,06 (dd, 17, 13)	2,80 (dd, 17, 3) 3,10 (dd, 17, 13)	2,80 (dd, 17, 3) 3,10 (dd, 17, 12)	2,80 (dd, 17, 3) 3,10 (dd, 17, 13)
6	6,06 (d, 2)	6,07 (d, 2)	6,12 (s)	-
8	6,02 (d, 2)	6,04 (d, 2)	-	6,13 (s)
2'	7,36 - 7,45 (m)	7,38 (d, 8,5)	7,36 - 7,48 (m)	7,38 - 7,48 (m)
3'		6,95 (d, 8,5)		
4'		-		
5'		6,95 (d, 8,5)		
6'		7,38 (d, 8,5)		
5-OH	12,01	12,02 (s)	11,95 (s)	11,90 (s)
7-OCH ₃	3,79 (s)	3,80 (s)	3,89 (s)	3,88 (s)
4'-OCH ₃	-	3,83 (s)	-	-
8-OCH ₃	-	-	3,79 (s)	-
6-OCH ₃	-	-	-	3,85 (s)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam. Quyển I, 271, Nxb. Trẻ (1999).
- Do Thu Hương, Dang Vu Luong, Tran Thi Phuong Thao, Tran Van Sung. Pharmazie, **60**, 627-629 (2005).
- Do Thu Hương, Nguyen Thi Hong Van, Christine Kamperdick, Nguyen Thi Hoang Anh, Tran Van Sung. Z. Naturforsch, **63b**, 335 - 338 (2008).
- Zhang Hong-Jie, Cuiying ma, Nguyen Van Hung, Nguyen Manh Cuong, Ghee Teng Tan, D. Santarsiero Bernard, Mesecar Andrew D. Milusanes Journal of medicinal chemistry, **49** (2), 693 - 708 (2006).
- Nguyễn Tiến Bản. Thực Vật Chí Việt Nam. 1-Họ Na- Annonaceae Juss- Nxb. Khoa học và kỹ thuật , 307 - 308 (2000).
- Nguyen Manh Cuong, Christine Kamperdick, Tran Van Sung, Gueter Adam. Pharmazie, **51**, 128 (1996).
- Jean-Christophe Le Bail, Lucie Aubourg, Gerard Harbrioux. Cancer Letter, **156**, 37 - 44 (2000).
- Joao Henrique G. Iago, Maria Claudia M. Young, Juliana B. Reigada. Química Nova, **30** (5), 1222 - 1224 (2007).
- Christine Kamperdick, Nguyen Hong Van, Tran Van Sung. Phytochemistry, **61**, 991 - 994 (2002).

Liên hệ: **Trần Văn Sung**

Viện Hóa học
Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy Hà Nội