

PAEONIFLORIN VÀ BENZOYLPAEONIFLORIN PHÂN LẬP TỪ CÂY BẠCH THƯỢC (*PAEONIA LACTIFLORA* PALL.)

Đến Tòa soạn 30-11-2006

PHAN VĂN KIÊM, PHẠM HẢI YẾN, NGUYỄN XUÂN NHIỆM, NGUYỄN HỮU TÙNG,
TRẦN HỒNG QUANG, CHÂU VĂN MINH

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

SUMMARY

From the methanolic extract of the roots of *Paeonia lactiflora* Pall. two monoterpene derivatives paeoniflorin and benzoylpaeoniflorin were isolated. Their structures were identified based on the ESI and NMR (1D- and 2D-NMR) spectra in comparison with the previous reported data.

I - MỞ ĐẦU

Bạch thược (*Paeonia lactiflora* Pall.) thuộc họ Mao lương (Ranunculaceae) là cây mọc tự nhiên ở nhiều địa phương của Trung Quốc và được di thực vào Việt Nam giữa những năm 70 và được trồng tại Sa Pa. Từ lâu, bạch thược 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, tiểu tiện khó [1, 2].

Những nghiên cứu tác dụng dược lý cho thấy cao nước bạch thược có tác dụng kháng khuẩn tốt. Nước sắc rễ có tác dụng ức chế sự chuyển hóa sinh học axit arachidonic *in vivo* và *in vitro*. Những nghiên cứu về thành phần hóa học của cây thuốc này cho thấy rễ cây chứa 3,30 - 5,70% paeoniflorin, oxypeoniflorin, albiflorin, benzoylpaeoniflorin, lactiflorin, axit benzoic (vào khoảng 1%), axit palmitic, daucosterol, axit galic, metyl galat, *d*-catechin, myoinositol, 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 hóa học của các hợp chất là

các dẫn xuất monotecpen paeoniflorin và benzoylpaeoniflorin từ dịch chiết metanol của rễ cây bạch thược được trồng ở Việt Nam.

II - THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Phương pháp chung

a) Phương pháp phân lập các hợp chất

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 hơi nóng trên bếp điện 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, FujiSilisa Chemical Ltd.).

b) Phương pháp xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

Điểm nóng chảy (Mp): Điểm nóng chảy được đo trên máy Kofler micro-hotstage của

Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên.

Độ quay cực $[\alpha]_D$: Độ quay cực được đo trên máy JASCO DIP-1000 KUY polarimeter của Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phổ khối lượng (ESI-MS): Phổ khối lượng phun mù điện tử (Electrospray Ionization mass spectra) được đo trên máy AGILENT 1100 LC-MSD Trap của Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR): Phổ cộng hưởng từ nhân $^1\text{H-NMR}$ (500 M) và $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer, Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2. Mẫu thực vật

Cây bạch thược được thu hái vào tháng 01 năm 2006 tại Sapa. Mẫu cây được TS. Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định.

3. Phân lập các hợp chất

Rễ cây bạch thược (5 kg) được rửa sạch, phơi khô, nghiền nhỏ thành bột và chiết với metanol thu được 65 g dịch cô metanol. Dịch cô

metanol này được bổ sung vào 2 lít nước cất và chiết lần lượt bằng hexan, clorofoc, etyl axetat và *n*-butanol thu được 14 g dịch cô hexan, 21 g dịch cô clorofoc, 7 g dịch cô etyl axetat và 11 g dịch cô *n*-butanol. Dịch cô clorofoc (21 g) được tiến hành phân lập bằng các sắc ký cột lặp lại với chất hấp phụ là silica gel pha thường và pha ngược thu được các hợp chất **1** (4,3 g) và **2** (1,1 g) dưới dạng tinh thể hình kim có màu trắng ngà.

Paeoniflorin (1)

Nhiệt độ nóng chảy: 153 - 154°C.

Độ quay cực: $[\alpha]_D^{25}$: -31° (MeOH, *c*: 1,0).

ESI-MS *m/z*: 481,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 503,1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 479 $[\text{M}-\text{H}]^+$ ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$).

$^1\text{H-NMR}$ (500 M, CD_3OD), và $^{13}\text{C-NMR}$ (125 M, CD_3OD), xem bảng 1.

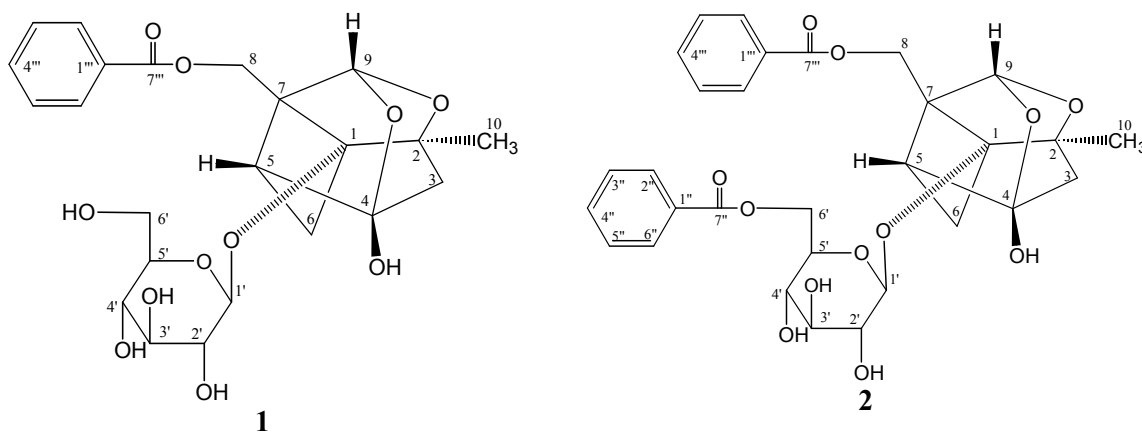
Benzoylpaeoniflorin (2)

Nhiệt độ nóng chảy: 127 - 128°C.

Độ quay cực: $[\alpha]_D^{25}$: -12,9° (MeOH, *c*: 1,0)

ESI-MS *m/z*: 585,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$).

$^1\text{H-NMR}$ (500 M, CD_3OD), và $^{13}\text{C-NMR}$ (125 M, CD_3OD), xem bảng 1.



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

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** nhận được dưới dạng tinh thể hình kim có màu trắng ngà. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **1** xuất hiện vùng tín hiệu của vòng thơm thế mono

tại δ 7,48 - 8,07 với cường độ tích phân tương ứng với 5H, một phân tử đường được nhận biết bởi các tín hiệu tại δ 4,65 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) của proton nối với carbon anome và các tín hiệu tại δ 3,27 - 3,62 (4H) của 4 proton nối với các

Bảng 1: Kết quả phổ NMR của 1 và 2

C	$\delta_C^{\#}$	1		2	
		$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)
1	88,8 s	89,34 s	-	89,27 s	-
2	85,9 s	87,23 s	-	87,04 s	-
3	44,6 t	44,53 t	2,20 (1H, d, 13,0) 1,82 (1H, dd, 13,0, 2,0)	44,41 t	1,86 (1H, d, 12,3) 1,72 (1H, dd, 12,3)
4	105,8 s	106,38 s	-	106,19 s	-
5	43,7 d	43,96 d	2,60 (1H, dd, 1,5, 6,5)	43,79 d	2,52 (1H, d, 6,9)
6	22,8 t	23,42 t	1,96 (d, 10,5) 2,51 (dd, 10,5, 6,5)	23,00 t	1,82 (d, 10,5) 2,48 (dd, 10,5, 7,0)
7	71,6 s	72,22 s	-	72,02 s	-
8	61,2 t	61,79 t	4,73 (2H, s)	61,59 t	4,73 (2H, s)
9	101,5 d	102,29 d	5,45 (1H, s)	102,19 d	5,40 (1H, s)
10	19,7 q	19,60 q	1,38 (3H, s)	19,53 q	1,25 (3H, s)
1'	100,1 d	100,18 d	4,65 (1H, d, 8,0)	100,01 d	4,58 (1H, d, 8,0)
2'	74,7 d	75,00 d	3,27 (1H, dd, 8,0, 8,0)	74,92 d	3,27 (1H, dd, 8,0, 8,0)
3'	78,0 d	77,92 d	3,41*	77,83 d	3,40*
4'	71,3 d	71,73 d	3,42*	71,94 d	3,40*
5'	74,9 d	78,04 d	3,62 (1H, ddd, 9,0, 7,0, 2,0)	75,17 d	3,62 (1H, ddd, 9,0, 7,0, 2,0)
6'	65,0 t	62,88 t	4,51 (2H, dd, 7,0, 12,0) 4,65 (dd, 12,0, 2,0)	65,12 t	4,51 (2H, dd, 7,0, 12,0) 4,65 (dd, 12,0, 2,0)
1''	130,7 s			131,67 s	-
2''	129,8 d			130,64 d	8,08 (m*)
3''	128,6 d			129,68 d	7,48 (m*)
4''	133,2 d			134,37 d	7,61 (m*)
5''	128,6 d			129,68 d	7,48 (m*)
6''	129,8 d			130,64 d	8,08 (m*)
7''	166,3 s			167,61 s	-
1'''	130,5 s	131,19, s	-	131,16 s	-
2'''	129,8 d	130,77 d	8,07 (m*)	130,52 d	8,08 (m*)
3'''	128,8 d	129,62 d	7,48 (m*)	129,59 d	7,48 (m*)
4'''	133,2 d	134,40 d	7,62 (m*)	134,44 d	7,61 (m*)
5'''	128,8 d	129,62 d	7,48 (m*)	129,59 d	7,48 (m*)
6'''	129,8 d	130,77 d	8,07 (m*)	130,52 d	8,08 (m*)
7'''	166,4 s	167,98 s	-	167,94 s	-

[#] δ_C của benzoylpaconiflorin [6], *Tín hiệu bị che khuất, ^aĐo trong CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz.

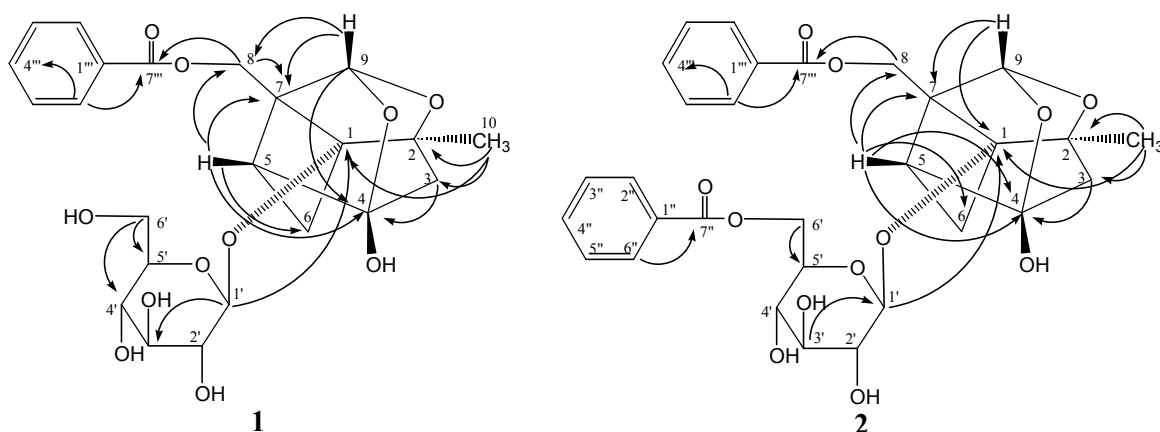
carbon oximetin và hai tín hiệu của nhóm oximetylen tại δ 4,51 (2H, dd, $J = 7,0, 12,0$ Hz) và 4,65 (dd, $J = 12,0, 2,0$ Hz). Ngoài ra, trên phổ này còn xuất hiện tín hiệu tại δ 5,45 (1H, s), 2,60 (1H, dd, $J = 1,5, 6,5$ Hz) của hai nhóm metin. Hai nhóm metylen được xác định bởi các cặp tín hiệu tại δ 2,20 (1H, d, $J = 13,0$ Hz)/1,82

(1H, dd, $J = 13,0, 2,0$ Hz) và δ 1,96 (d, $J = 10,5$ Hz)/2,51 (dd, $J = 10,5, 6,5$ Hz). Nhóm methyl duy nhất được nhận biết bởi tín hiệu singlet tại δ 1,38. Phổ ¹³C-NMR của hợp chất này xuất hiện các tín hiệu của vòng benzoyl tại δ 134,40 (C), 131,19 (CH), 130,77 (CH), 129,62 (CH) và 167,98 (C=O), trong đó hai cặp tín hiệu tại δ

130,77 (CH), 129,62 (CH) có cường độ cao gấp đôi các tín hiệu CH khác. Các tín hiệu của phân tử đường tại δ 100,18, 75,00, 77,92, 71,73, 78,04 và 62,88 hoàn toàn phù hợp với các giá trị của đường glucopyranozơ. Trên phổ ^{13}C -NMR còn có 10 tín hiệu cacbon khác của cấu trúc monotepen cơ bản của các hợp chất thuộc chi *Paeonia*. Bằng các phổ HSQC và HMBC, độ dịch chuyển hóa học của từng cacbon và proton được xác định chính xác và được nêu ra trên bảng 1 và hình 2. Nhóm benzoyl được khẳng định nối với C-8 bởi tương tác HMBC của H-8 với C-7'' của nhóm carbonyl. Giá trị δ 62,88 (C-6') hoàn toàn phù hợp với nhóm oximetylen của đường glucose. Tương tác của H-1' của phân tử đường với C-1 trên phổ HMBC chứng tỏ phân tử đường này được nối với C-1. Sự phù hợp hoàn toàn về giá trị phổ NMR của **1** với các giá trị tương ứng của benzoylpaconiflorin (ngoại trừ tín hiệu tại C-6' của benzoylpaconiflorin bởi nhóm benzoyl thứ hai nối với đường tại C-6') (bảng 1) cùng với sự xuất hiện các pic m/z : 481,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 503,1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (positive), 479 $[\text{M}-\text{H}]^+$ (negative) trên phổ khối lượng (ESI-MS) tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$ đã

khẳng định hợp chất **1** chính là paconiflorin, một hợp chất chính trong rễ cây *Paeonia lactiflora*.

Các phổ NMR của **2** rất tương tự như các phổ tương ứng của **1**, ngoại trừ sự xuất hiện thêm tín hiệu của một nhóm benzoyl thứ hai. Nhóm này được khẳng định nối với C-6' của phân tử đường thông qua liên kết este bởi xuất hiện tương tác HMBC của H-6' với C-7'', cũng như sự dịch chuyển về phía trường cao hơn của tín hiệu nhóm oximetylen tại C-6' (δ 65,12). Các giá trị độ dịch chuyển hóa học của **2** được xác định nhờ vào sự so sánh trực tiếp với các giá trị tương ứng đã được thông báo của benzoylpaconiflorin [6] và được kiểm tra chi tiết bằng các phổ HSQC và HMBC. Các tương tác trên phổ HMBC (hình 2) cho thấy cấu trúc hóa học của **2** hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của benzoylpaconiflorin. Hơn nữa phổ khối lượng (ESI) còn xuất hiện pic ion m/z 585,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$ của cấu trúc nêu trên. Các kết quả phân tích nêu trên khẳng định hợp chất **2** là benzoylpaconiflorin, một dẫn xuất monotecpen cũng đã được phân lập từ rễ cây *Paeonia lactiflora*.



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

IV - KẾT LUẬN

Từ dịch chiết metanol của rễ cây bạch thược, hai hợp chất là các dẫn xuất monotecpen paconiflorin và benzoylpaconiflorin đã được phân lập. Cấu trúc hóa học của các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phổ cộng

hưởng từ hạt nhân và phổ khối lượng ESI.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin chân thành cảm ơn TS. Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật đã giám định tên khoa học của cây. Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ

kinh phí của đề tài nghiên cứu cơ bản Nhà nước, mã số 514206.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích và cs. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tr. 158 - 160, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội (2003).
2. Võ Văn Chi. Từ Điển Cây thuốc Việt Nam, Tr. 63 - 64, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội (1999).
3. I. Akira, K. Kohei, S. Toshiko and S. Yasuhisa. *Phytochemistry*, Vol. 38, 1203 - 1207 (1995).
4. K. Kohei, Y. Kazuko, S. Yasushisa, I. Akira and S. Toshiko. *Phytochemistry*, Vol. 44, 141 - 144 (1997).
5. D. Guo, G. Ye, H. Guo. *Fitoterapia*, Vol. 77, 613 - 614 (2006).
6. L. C. Hang, D. Y. Hsiou, W. S. Tian and W. L. Pei. *Phytochemistry*, Vol. 41, 237 - 242 (1996).