

CÁC HỢP CHẤT PTEROCARPAN PHÂN LẬP TỪ GỖ CÂY CẨM LAI (*Dalbergia oliveri* Gamble ex Prain)

Phạm Thanh Loan¹, Trần Huy Thái², Phan Văn Kiệm^{3*}, Hoàng Lê Tuấn Anh³, Châu Văn Minh³,
Nguyễn Xuân Nhiệm³, Đan Thị Thúy Hằng³, Dương Thị Hải Yến³, Nguyễn Thị Cúc³

¹Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ

²Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đến Tòa soạn 02-11-2013

Abstract

Three pterocarp-an-type flavonoids: 3-hydroxy-8,9-methylenedioxypterocarp-an (1), 3,8-dihydroxy-9-methoxypterocarp-an (2), and 3-hydroxy-9-methoxypterocarp-an (3) were isolated from the ethyl acetate extract of heartwood of the *Dalbergia oliveri* by various chromatographic experiments. Their structures were elucidated using 1D, 2D NMR spectroscopic methods and in comparison with the literature values. This is the first report of compounds 2 and 3 from *D. oliveri*.

Keywords: *Dalbergia oliveri*, pterocarp-an.

1. MỞ ĐẦU

Chi Trắc (*Dalbergia* L.) ở Việt Nam có khoảng 27 loài, trong đó nhiều loài trong chi được sử dụng làm thuốc chữa các bệnh về tiêu hóa, ho suyễn, xương khớp và mụn nhọt [1-3]. Cây cẩm lai có tên khoa học là *Dalbergia oliveri* Gamble ex Prain, thuộc chi Trắc (*Dalbergia* L.) họ Đậu (Fabaceae). Cây thường mọc ở nơi ẩm ven sông suối, nơi đất tương đối bằng hay mọc rải rác hoặc thành đám nhỏ trong rừng rậm nhiệt đới. Ở Việt Nam, cây mọc tự nhiên trong các tỉnh phía nam như Gia Lai, Kon Tum, Đắk Lắk, Đồng Nai, Tây Ninh... và còn phân bố ở Mianma, Thái Lan, Lào, Campuchia [1, 2]. Cây được phân hạng ở mức nguy cấp (EN A1a,c,d) [2]. Thành phần hóa học của cây cẩm lai đã được các nhà khoa học nước ngoài quan tâm nghiên cứu. Những nghiên cứu cho thấy cẩm lai chứa các hoạt chất như isoflavonoid và neoflavonoid [5]. Tuy nhiên, hiện nay ở trong nước có rất ít công trình nghiên cứu về thành phần hóa học của cây Cẩm lai. Bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc của ba hợp chất dạng khung pterocarp-an từ dịch chiết etyl axetat của cây *D. oliveri*.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu thực vật

Gỗ cây *D. oliveri* được thu hái tại Vườn Quốc Gia Yok Đôn vào tháng 4/2012 và được lưu mẫu tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tên khoa học được PGS. TS. Trần Huy Thái giám định. Mẫu tiêu bản lưu tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

2.2. Hóa chất thiết bị

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254s (Merck); phát hiện chất bằng đèn tử ngoại (254 nm và 368 nm) hoặc dùng thuốc thử H₂SO₄ 10%.

Sắc ký cột (CC): Được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường (0,040-0,063 mm) and silica gel pha đảo ODS hoặc YMC (30-50 μm, Fuji Silica Chemical Ltd.).

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Đo trên máy Bruker AM500 của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Phân lập các chất

Gỗ *D. oliveri* được sấy khô ở 50 °C và nghiền thành bột (3,5 kg) sau đó được ngâm chiết với metanol ba lần, sau đó gộp các dịch chiết lại cất loại dung môi dưới áp suất thấp thu được 245 g cặn chiết metanol. Cặn chiết này được hòa tan vào 2 lít nước

cát rồi bổ sung cloroform, lắc đều để phân lớp qua đêm (3 lần). Cát loại cloroform thu được phân đoạn cloroform (100 g). Phần nước còn lại tiếp tục được chiết với etyl axetat (qua đêm, 3 lần). Cát loại etylaxetat thu được phân đoạn etyl axetat (70 g).

Cặn chiết etyl axetat (70 g) được phân tách thành năm phân đoạn DO1-DO5 trên cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient hexan/etyl axetat (50/1→1/1, v/v). Phân đoạn DO4 (2 g) tiếp tục được phân tách thành 4 phân đoạn nhỏ hơn (DO4A-DO4D) trên cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải clorofoc/axeton (15/1, v/v). Hợp chất **1** (10 mg) thu được sau khi tinh chế phân đoạn DO4A trên cột sắc ký silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải hexan/etyl axetat (4/1, v/v).

Phân đoạn DO5 được phân tách thành ba phân đoạn nhỏ DO5A-DO5C bằng sắc ký cột silicagel pha đảo với hệ dung môi rửa giải axeton/nước (1/1, v/v). Hợp chất **2** (8 mg) và **3** (12 mg) thu được sau khi tinh chế phân đoạn DO5A bằng cột sắc ký sephadex sử dụng hệ dung môi rửa giải metanol/nước (1/1, v/v).

3-Hydroxy-8,9-methylenedioxypterocarpan

(**1**): Chất bột màu trắng; Công thức phân tử $C_{16}H_{12}O_5$ ($M = 284$); 1H -NMR và ^{13}C -NMR, xem bảng 1.

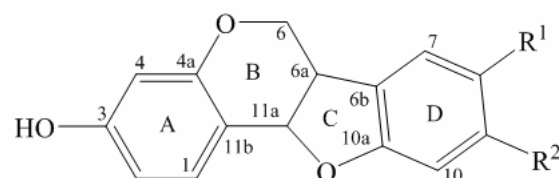
3,8-dihydroxy-9-metoxipterocarpan (2): Chất rắn màu trắng; Công thức phân tử $C_{16}H_{14}O_5$, ($M = 286$); 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 1.

3-hydroxy-9-metoxipterocarpan (3): Chất bột màu trắng; Công thức phân tử $C_{16}H_{14}O_4$, ($M = 270$); 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** được phân lập dưới dạng bột, màu trắng. Phổ proton 1H -NMR của **1** xuất hiện tín hiệu của một hệ tương tác spin ABX δ_H 7,25 (d, $J = 8,0$ Hz), 6,50 (dd, $J = 2,0; 8,0$ Hz), và 6,32 (d, $J = 2,0$ Hz); hai tín hiệu khác của hydro thơm tại δ_H 6,76 (s), 6,36 (s), tín hiệu của nhóm dioximetylen tại δ_H 5,85 (2H). Các phân tích trên phổ ^{13}C -NMR, DEPT, và HSQC cho thấy **1** có 16 nguyên tử cacbon bao gồm một nhóm dioximetylen (δ_H 5,85/ δ_C 102,44), một nhóm oximetylen (δ_H 3,53 và 4,18/ δ_C 67,39), một nhóm oximetin (δ_H 5,40/ δ_C 79,98), một nhóm metin (δ_H 3,42/ δ_C 41,49), và 12 tín hiệu của cacbon olefin.

Những dữ kiện phổ NMR cho thấy cấu trúc của **1** thuộc dạng khung pterocarpan [4]. Tiếp đó, vị trí các nhóm thế trong **1** cũng được xác định dựa trên phân tích phổ 2 chiều HMBC (hình 2). Cặp tín hiệu tương tác HMBC giữa H-11a (δ_H 5,40) và C-1 (δ_C 133,07), giữa H-1 (δ_H 7,25) và C-11a (δ_C 79,98)



- | | |
|----------|-----------------------|
| 1 | $R^1, R^2 = OCH_2O$ |
| 2 | $R^1 = OH, R^2 = OMe$ |
| 3 | $R^1 = H, R^2 = OMe$ |

Hình 1: Cấu trúc hoá học của **1-3**

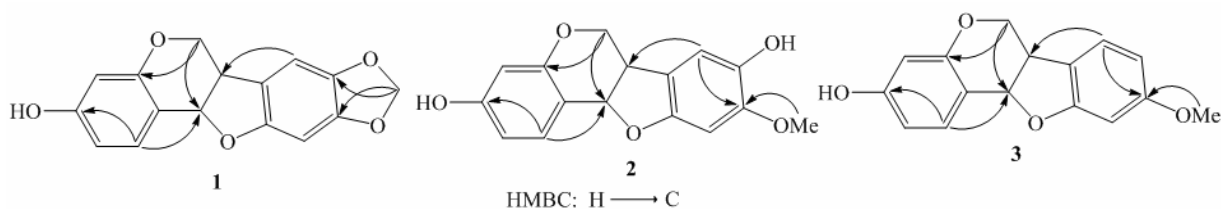
cùng với tín hiệu doublet của H-1 ($J_{H-1/H-2} = 8,0$ Hz) cho thấy vòng A của **1** bị thế tại vị trí C-3 để hình thành hệ tương tác spin ABX và hai tín hiệu của hydro thơm còn lại thuộc vòng D. Đồng thời dạng singlet của hai tín hiệu này cũng cho thấy vòng D bị thế tại vị trí C-8 và C-9. Tương tác HMBC giữa hydro của nhóm dioximetylen (δ_H 5,85) với C-8 (δ_C 143,04) và C-9 (δ_C 149,37) chứng tỏ nhóm dioximetylen liên kết với C-8 và C-9. Cấu hình tương đối của H-6a/H-11a cũng được xác định là *cis* dựa trên độ lớn của hằng số tương tác $J_{H-6a/H-11a} = 7,0$ Hz (cho thấy góc nhị diện tạo thành bởi H-6a, C-6a, C-11a, H-11a gần bằng 0°) [4]. Từ những dữ kiện phổ trên kết hợp so sánh với số liệu phổ của hợp chất 3-hydroxy-8,9-dioximetylen-pterocarpan [4] (bảng 1) cho phép khẳng định **1** là 3-hydroxy-8,9-methylenedioxypterocarpan (hay maackiain) một hợp chất đã được phân lập từ cây *D. oliveri*.

Sự tương đồng về các dữ kiện phổ 1 chiều của **2** so với **1** cho thấy chất **2** cũng có cấu trúc của một pterocarpan. Với vòng A bị thế tại vị trí C-3 tạo thành hệ tương tác spin ABX với các tín hiệu đặc trưng H-1 (δ_H 7,29, d, $J = 8,5$ Hz), H-2 (δ_H 6,51, dd, $J = 2,5; 8,5$ Hz), và H-4 (δ_H 6,32, d, $J = 2,5$ Hz). Hai tín hiệu singlet của H-7 (δ_H 6,80) và H-10 (δ_H 6,50) cho thấy vòng D bị thế tại vị trí C-8 và C-9. Tuy nhiên, khác với **1** sự xuất hiện tín hiệu của một nhóm metoxi và sự vắng mặt của tín hiệu của nhóm dioximetylen nhận được trên phổ 1H - và ^{13}C -NMR cho thấy nhóm dioximetylen ở **1** được thay thế bằng một nhóm metoxi ở **2**. Vị trí nhóm metoxi cũng được xác định liên kết với C-9 nhờ tương tác HMBC (hình 2) với cường độ mạnh nhận được giữa H-7 (δ_H 6,80) với C-9 (δ_C 149,54) và giữa proton của nhóm OMe (δ_H 3,82) với C-9. Hằng số tương tác spin-spin $J_{H-6a/H-11a} = 7,0$ Hz cũng cho thấy cấu hình tương đối của H-6a/H-11a có dạng *cis* [4, 5]. Các dữ kiện phổ NMR của **2** hoàn toàn phù hợp với các dữ kiện phổ tương ứng của hợp chất 3,8-dihydroxy-9-metoxipterocarpan đã được công bố [5]. Như vậy, cấu trúc hóa học của chất **2** được xác định là 3,8-dihydroxy-9-metoxipterocarpan, một hợp chất được phân lập lần đầu tiên từ cây *D. oliveri*.

Bảng 1: Dữ kiện phổ NMR của 1-3

C	1		2		3	
	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)
1	133,07	7,25 (d, 8,0)	133,13	7,29 (d, 8,5)	133,15	7,31 (d, 8,5)
2	110,68	6,50 (dd, 2,0, 8,0)	110,69	6,51 (dd, 2,5, 8,5)	110,77	6,51 (dd, 2,5, 8,5)
3	159,98	-	159,98	-	160,16	-
4	104,08	6,32 (d, 2,0)	104,09	6,32 (d, 2,5)	104,13	6,33 (d, 2,5)
4a	157,96	-	158,00	-	158,08	-
6	67,39	3,53 (t, 11,0)	67,52	3,56 (t, 11,0)	67,58	4,23 (dd, 3,0, 9,5)
		4,18 (dd, 5,0, 11,0)		4,22 (dd, 5,0, 11,0)		3,54*
6a	41,49	3,42 (m)	41,64	3,48 (m)	40,94	3,54*
6b	119,73	-	119,48	-	120,88	-
7	105,89	6,76 (s)	112,48	6,80 (s)	125,94	7,18 (d, 8,0)
8	143,04	-	141,65	-	107,27	6,45 (dd, 2,5, 8,0)
9	149,37	-	149,54	-	162,63	-
10	94,21	6,36 (s)	96,33	6,50 (s)	97,60	6,40 (d, 2,5)
10a	155,46	-	154,07	-	162,05	-
11a	79,98	5,40 (d, 7,0)	79,59	5,42 (d, 7,0)	80,12	5,48 (d, 6,5)
11b	112,89	-	113,14	-	112,91	-
OCH ₂ O	102,44	5,85 (d, 13,5)				
9-OCH ₃	-	-	56,69	3,82 (s)	55,93	3,76 (s)

Đo trong ^aCD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz, *Các tín hiệu bị chồng chập.



Hình 2: Các tương tác HMBC chủ yếu của 1-3

Hợp chất 3 phân lập được dưới dạng bột, màu trắng. Các cặp tín hiệu cộng hưởng quan sát được trên phổ ¹H- và ¹³C-NMR của 3 bao gồm δ_H 5,48 (H-11a) δ_C 80,12 (C-11a); δ_H 4,23 3,54 (H₂-6) δ_C 67,58 (C-6); và δ_H 3,54 (H-6a) δ_C 40,94 (C-6a) cho thấy hợp chất 3 cũng có khung pterocarpan. Hai hệ tín hiệu tương tác thuộc hệ tương tác spin ABX [δ_H 7,31 (d, 8,5), 6,51 (dd, 2,5; 8,5), 6,33 (d, 2,5); và δ_H 7,18 (d, 8,0), 6,45 (dd, 2,5; 8,0), 6,40 (d, 2,5)] quan sát thấy trên phổ ¹H-NMR chỉ ra rằng cả vòng A và vòng D đều chứa một nhóm thế để tạo thành hệ ABX. Cặp tín hiệu cộng hưởng tại δ_H 3,76 (s) và δ_C 55,93 cho thấy sự có mặt của một nhóm metoxi. Tiếp đó, vị trí các nhóm thế trên vòng A và D cũng được xác định dựa trên phân tích các tương tác nhận được trên phổ hai chiều HMBC (hình 2). Proton H-1 (7,31 d, J = 8,5 Hz) tương tác HMBC với C-11a (δ_C 80,12) và C-3 (δ_C 160,16) cho thấy nhóm hydroxyl thế tại vị trí

C-3 của vòng A. Tương tự, proton H-7 (7,18 d, J = 8,0 Hz) tương tác HMBC với C-6a (δ_C 40,94) và C-9 (δ_C 162,63) và proton của nhóm metoxi (δ_H 3,76) tương tác với C-9 cho phép xác định nhóm metoxi thế tại vị trí C-9 của vòng D. Cấu hình tương đối của H-6a/H-11a cũng được xác định là *cis* qua hằng số tương tác $J_{H-6a/H-11a} = 6,5$ Hz [4, 5]. Hơn nữa các dữ kiện phổ ¹H và ¹³C-NMR của 3 hoàn toàn phù hợp với các dữ kiện phổ tương ứng đã được công bố của hợp chất 3-hydroxy-9-metoxipterocarpan [5]. Như vậy cấu trúc hóa học của chất 3 được xác định là 3-hydroxy-9-metoxipterocarpan, một hợp chất được phân lập lần đầu tiên từ cây *D. oliveri*.

Lời cảm ơn: Công trình được hỗ trợ từ đề tài của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, theo hướng Đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Tiến Bản (chủ biên). *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, tập II, Nxb. Nông nghiệp, 779-786 (2003).
2. Bộ Khoa học và Công nghệ - Viện Khoa học Việt Nam. *Sách đỏ Việt Nam*, phần II. Phần thực vật, Nxb. Khoa học tự nhiên và Công nghệ, 193-194 (2007).
3. Võ Văn Chi. *Từ điển Cây thuốc Việt Nam*, tập II, Nxb. Y học, 1047-1054 (2012).
4. E. Bedir, I. Calis, R. Aquino, S. Piacente, C. Pizza. *Trojanoside H: A cycloartane-type glycoside from the aerial parts of Astragalus trojanus*, *Phytochemistry*, **51**, 1017-1020 (1999).
5. A. L. Piccinelli, F. M. Campo, R. O. Cuesta, H. I. Márquez, F. De-Simone, L. Rastrelli. *Isoflavonoids isolated from Cuban Propolis*, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 9010-9016 (2005).
6. Dictionary of Natural Products on DVD, version 18.1, Copyright® 1982-2009 CRC Press.

Liên hệ: Phan Văn Kiệm

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
E-mail: phankiem@vast.ac.vn
ĐT: 0983555031.