

THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA RỄ CÂY HÀ THỦ Ô TRẮNG

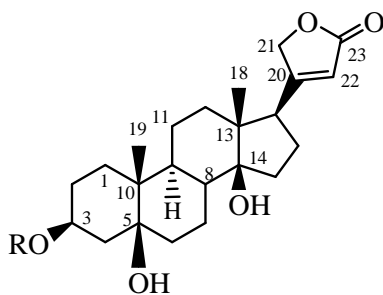
Bùi Xuân Hòa⁽¹⁾, Nguyễn Minh Đức⁽²⁾, Trần Lê Quan⁽¹⁾

(1) Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM

(2) Trường Đại Học Y Dược Tp. HCM

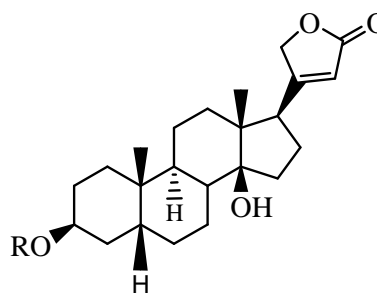
(Bài nhận ngày 24 tháng 01 năm 2011, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 25 tháng 10 năm 2011)

TÓM TẮT: Từ dịch chiết metanol của rễ cây hà thủ ô trắng, ba hợp chất khung cardenolid đã được cô lập, trong đó 17 α -H-periplogenin-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2-O-acetyl-3-O-methyl- β -fucopyranoside và periplogenin-3-O- β -cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -glucopyranoside là các hợp chất lần đầu tiên được tìm thấy trong rễ cây hà thủ ô trắng. Ngoài ra một dẫn xuất cardenolid đã biết là 17 α -H-periplogenin-3-O- β -digitoxopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- β -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -glucopyranoside cũng được cô lập. Cấu trúc các hợp chất này được làm sáng tỏ bằng các phương pháp phổ nghiệm.



1 R = (3-O-Ac-Dtl)⁴-Glc

2 R = Cym⁴-Glc



3 R = Dtl⁴-Glc⁶-Glc

Dtl: β -digitalose

Glc: β -glucose

Cym: β -cymarose

MỞ ĐẦU

Cây hà thủ ô trắng có tên khoa học là *Streptocaulon juvenas* Merr., thuộc họ Asclepiadaceae³. Hà thủ ô trắng thuộc loại dây leo dài từ 2 – 5 m. Thân và cành màu hơi đỏ hay nâu đỏ, có rất nhiều lông. Lá mọc đối, hình mọc dài, đầu nhọn, đáy tròn hoặc hơi hình nón cụt, có lông mịn và nhiều ở mặt dưới, mặt trên cũng có lông nhưng ngắn hơn^{1,3}. Tiếp theo bài báo đã được công bố trước đây [3], trong bài báo này, chúng tôi tiếp tục công bố các kết quả thực nghiệm về tách chiết và xác

định cấu trúc hóa học của ba hợp glycosid được cô lập từ dịch trích metanol rễ cây hà thủ ô trắng là **1**, **2**, và **3**.

THỰC NGHIỆM

Thiết bị và các điều kiện thí nghiệm

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer của Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam và tại phòng Phân tích trung tâm trường Đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh. Sắc ký bản

mỏng được thực hiện trên bảng silica gel trắng sẵn (Merck, Kielselgel 60 F₂₅₄, 250 μm), bảng silica gel pha đảo RP₁₈ (Merck RP₁₈, 250 μm). Các cấu tử trên bản mỏng được phát hiện bằng đèn tử ngoại bước sóng 256 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 25% phun đều lên bản mỏng và sấy ở nhiệt độ cao cho đến khi hiện màu. Sắc ký cột được thực hiện trên silica gel pha thuận (40 – 63 μm, Merck) và pha đảo với chất hấp phụ RP₁₈ (40 μm, Nacalai Tesque).

Thu hái và xử lý mẫu nguyên liệu, ly trích và cô lập các hợp chất

Trích 8 kg bột thô rễ hà thủ ô với MeOH (đun hoàn lưu, 3 giờ × 3 lần) được 857 gam cao thô MeOH. Trích cao MeOH với CHCl₃ bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng được 190,6 gam cao CHCl₃. Thực hiện sắc ký cột Diaion HP – 20 phần dịch nước còn lại sau khi chiết với CHCl₃ lần lượt bằng các dung môi 100% H₂O (ký hiệu H₁); H₂O – MeOH (tỷ lệ thể tích H₂O : MeOH = 3:1, ký hiệu H₂); H₂O : MeOH = 1 : 1 (ký hiệu H₃); H₂O : MeOH = 1 : 3 (ký hiệu H₄) và MeOH 100% (ký hiệu H₅). Cô cạn các phân đoạn thu được từ cột Diaion được các cao tương ứng là H₁ (491,2 gam), H₂ (29,8 gam), H₃ (44,6 gam), H₄ (29,6 gam), H₅ (4,3 gam). Thực hiện sắc ký cột silica gel phân đoạn cao H₃ (40 gam), hệ dung môi giải ly lần lượt là hỗn hợp CHCl₃:MeOH:H₂O với các tỷ lệ lần lượt là 9:1:0,1; 8:2:0,2; 20:6:1; 14:6:1; và 6:4:1 kết hợp với sắc ký cột pha đảo (chất hấp phụ RP-18, hệ dung môi giải ly là hỗn hợp H₂O, MeOH, MeCN với các tỷ lệ MeOH:MeCN:H₂O là 1:1:6; 1:1:5; 1:1:4; 1:1:3;

1:1:2; 1:1:1; hỗn hợp MeCN:H₂O là 1:4; 1:3; 1:2; 1:1), chúng tôi cô lập được các hợp chất **1**, **2** và **3**.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ phần dịch nước còn lại của cao metanol rễ cây hà thủ ô trắng sau khi chiết với CHCl₃, bằng các phương pháp sắc ký pha thuận và pha đảo, chúng tôi cô lập được ba hợp chất **1**, **2**, **3**.

Hợp chất **1**: Chất bột vô định hình không màu, tan trong metanol. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **1** cho thấy tín hiệu cộng hưởng của ba mũi đơn methyl ở δ_H 1,00 (3H, s, H-18); 0,97 (3H, s, H-19); 1,56 d (6,5 Hz H-6'), proton carbinol ở δ_H 4,34 (1H, br s, H-3); một nhóm oxymetylen ở δ_H 5,10 m; 5,34 dd (2H, J=8,0; 18,5 Hz; H-21); một proton olefin ở δ_H 6,12 (1H, br, s, H-22). Phổ ¹H-NMR còn cho thấy sự diện diện của hai proton anomer ở δ_H 4,80 (1H, d, J=8,0 Hz H-1') và δ_H 5,10 (1H, d, J=7,5 Hz H-1'') nên hợp chất **1** là một aglycon gắn hai đường. Các tín hiệu cộng hưởng trong phổ ¹H và ¹³C-NMR của hợp chất **1** cho thấy phần aglycon có các giá trị cộng hưởng δ_C và δ_H tương tự như hợp chất periplogenin glucosid đã được cô lập trước đây từ rễ cây hà thủ ô trắng.³ Phổ ¹³C-NMR DEPT 90 và DEPT 135 cho thấy các mũi cộng hưởng ứng với 39 carbon, trong đó có ba nhóm methyl, một nhóm metoxy, một nhóm acetyl, mười một nhóm metylen, mười lăm nhóm metin; một vòng γ-lacton bất bão hòa có các tín hiệu của carbon olefin ở δ_C 117,7 (C-22); một carbon của nhóm carbonyl lacton ở δ_C 174,6 (C-23); tín hiệu của một carbon tứ cấp oxygen hóa ở δ_C 84,6 (C-14), tín hiệu carbon

anomer của đơn vị đường digitalose ở δ_C 100,4 (C-1') và tín hiệu carbon anomer của đơn vị đường glucose ở δ_C 105,0 ppm (C-1''). Phổ HMBC cho thấy tương quan giữa proton anomer của đơn vị đường digitalose với C-3 của aglycon nên đơn vị đường thứ nhất gắn vào vị trí C-3; và proton H-3' tương quan với nhóm acetyl nên nhóm acetyl gắn ở C-2'. Phổ HMBC còn cho thấy proton anomer của đơn vị đường glucose có tương quan với C-4' của đơn vị đường digitalose nên đơn vị đường thứ hai gắn vào C-4'. Phổ 2D NMR (COSY, HSQC và HMBC) đã giúp xác định chính xác vị trí cộng hưởng của toàn bộ các tín hiệu proton và carbon của hợp chất **1**. So sánh với tài liệu tham khảo cho thấy **1** là 17 α -H-periplogenin-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1-4)-2-O-acetyl-3-O-methyl- β -fucopyranoside, là một dẫn xuất cardenolid lần đầu tiên đã được tác giả Myint-Khine⁴ cô lập được trong dịch trích metanol của rễ cây *S. tomentosum* vào năm 2004. Tín hiệu cộng hưởng ¹H- và ¹³C-NMR của hợp chất **1** được cho ở Bảng 1 và Bảng 2.

Hợp chất **2**: Chất bột vô định hình không màu, tan trong metanol. Phổ ¹H- và ¹³C-NMR của hợp chất **2** cho thấy các tín hiệu cộng

hưởng ¹H và ¹³C-NMR tương tự như periplogenin 3-O-(4-O- β -glucopyranosyl- β -digitalopyranosid)⁷ ngoại trừ có sự khác nhau ở tín hiệu của các đơn vị đường. Phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR của hợp chất **2** cho thấy sự diện diện của hai đơn vị đường là cymarose với proton anomer với δ_H 5,13 ppm (1H, d, J=9,5 Hz H-1') và δ_C là 97,4 ppm; δ_C của nhóm 3'-OMe là 58,6 và δ_C của C-6' là 18,7. Đơn vị đường thứ hai là glucose với δ_H 4,92 ppm (1H, d, J=8,5 Hz H-1'') và δ_C anomer là 106,6; δ_C của C-6'' là 63,1 ppm. Phổ HMBC cho thấy tương quan giữa proton anomer của đơn vị đường cymarose với C-3 của aglycon nên đơn vị đường thứ nhất gắn vào vị trí C-3; proton anomer của đơn vị đường glucose có tương quan với C-4' của đơn vị đường cymarose nên đơn vị đường thứ hai gắn vào C-4'. Nhờ vào phổ 2D NMR (COSY, HSQC và HMBC) đã giúp xác định chính xác vị trí cộng hưởng của toàn bộ các tín hiệu proton và carbon của hợp chất **2**. So sánh với tài liệu tham khảo⁵ cho thấy **2** là periplogenin-3-O- β -cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)-glucopyranosid. Tín hiệu cộng hưởng ¹H-NMR, ¹³C-NMR của hợp chất **2** được cho ở Bảng 1 và 2.

Bảng 1. Số liệu phổ ¹H-NMR của các chất 1 (C₅D₅N), 2 (C₅D₅N) và 3 (C₅D₅N)

| Vị trí | 1 | 2 | 3 |
|--------|----------------|----------------|------------------------|
| 1 | 1,30 m | 1,41 m | 1,72 m; 1,86 m |
| 2 | 1,69 m, 1,86 m | 1,67 m | 1,19 m; 1,69 |
| 3 | 4,34 br s | 4,28 br s | 4,17 s |
| 4 | 1,85 m; 1,49 m | 1,70 m | 1,52 m; 1,72 m |
| 5 | - | - | 2,38 dd (2,5; 12,0 Hz) |
| 6 | 1,72 m; 1,49 m | 1,50 m; 1,84 m | 1,41 m |

| | | | |
|--------------|-----------------------------------|---|--|
| 7 | 2,24 m | 1,30 m | 2,08 m |
| 8 | 1,78 m | 1,85 m | 1,16 dd (3,5; 12,0 Hz) |
| 9 | 1,57 m | 1,63 m | 1,41 d (3,0 Hz) |
| 11 | 1,31 m; 1,23 m | 1,28 m | 1,30 m; 2,11 m |
| 12 | 1,36 m; 1,43 m | 1,83 m | |
| 15 | 1,84 m; 2,05 m | 1,84 m; 2,01 m | 2,05 m; 1,84 m |
| 16 | 2,07 m; 1,96 m | 2,00 m | 2,06 m; 1,95 m |
| 17 | 2,79 m | 2,79 m | 2,77 m |
| 18 | 1,00 s | 1,00 s | 1,00 s |
| 19 | 0,97 s | 1,07 s | 0,87 s |
| 21 | 5,10 m; 5,34 dd (8,0 Hz; 18,5 Hz) | 5,04 dd (1,5; 18,0 Hz) 5,32 dd (8,0 Hz; 18,5 Hz) | 5,01 s 5,28 d (16,5 Hz) |
| 22 | 6,12 br s | 6,12 br s | 6,12 s |
| 23 | - | | |
| 1' | 4,80 d (8,0 Hz) | 5,13 d (9,5 Hz) | 5,19 dd (9,5; 1,5 Hz) |
| 2' | 5,77 dd (10,0 Hz; 8,0 Hz) | 1,70 m | 2,16 (d 2,0 Hz) |
| 3' | 3,61 dd (10,0 Hz; 4,0 Hz) | 4,00 m | 4,47 d (2,5 Hz) |
| 4' | 4,42 d br (2,5 Hz) | 3,66 br | 3,69 dd (9,5; 2,5 Hz) 3,67 dd (9,5; 2,5 Hz) |
| 5' | 3,73 dd (12,5 Hz; 6,5 Hz) | 4,23 m | 4,29 m |
| 6' | 1,56 d (6,5 Hz) | 1,62 d (5,5 Hz) | 1,56 d (6,0 Hz) |
| 3'-OMe | 3,44 | 3,46 | 3,62 s |
| 2'- OCOMe | 2,18 | | |
| 1'' | 5,10 d (8,0 Hz) | 4,92 d (8,0 Hz) | 4,83 d (8,0 Hz) |
| 2'' | 3,95 m | 3,97 m | 4,00 m |
| 3'' | 4,21 t (8,5 Hz) | 4,24 m | 4,22 m |
| 4'' | 4,19 | 4,18 | 3,97 m |
| 5'' | 3,91 | 3,96 m | 4,23 m |
| 6'' | 4,31; 4,54 (br d 11,5) | 4,37; 4,55 (br d 12,5 Hz) | 4,92 m; 4,23 m |
| 1''' | | | 5,11 d (7,5 Hz) |
| 2''' | | | 4,03 m |
| 3''' | | | 4,22 m |

| | | | |
|-----|--|--|--|
| 4'' | | | 4,92 m |
| 5'' | | | 3,97 m |
| 6'' | | | 4,56 dd (2,5; 12,5 Hz) 4,37 dd (5,5; 12,0 Hz) |

Bảng 2. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các chất 1 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$), 2 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) và 3 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

| Vị trí | 1 | 2 | 3 |
|--------|-------|-------|-------|
| 1 | 25,8 | 26,0 | 30,8 |
| 2 | 26,4 | 26,4 | 27,1 |
| 3 | 75,9 | 76,0 | 73,3 |
| 4 | 35,5 | 35,4 | 30,7 |
| 5 | 75,3 | 73,7 | 37,1 |
| 6 | 34,8 | 35,5 | 27,2 |
| 7 | 24,3 | 24,4 | 22,0 |
| 8 | 40,9 | 41,0 | 42,0 |
| 9 | 39,1 | 39,3 | 35,9 |
| 10 | 41,1 | 41,2 | 35,6 |
| 11 | 21,9 | 22,0 | 21,6 |
| 12 | 40,0 | 39,9 | 39,9 |
| 13 | 50,0 | 50,0 | 50,2 |
| 14 | 84,65 | 84,7 | 84,7 |
| 15 | 33,1 | 33,1 | 33,2 |
| 16 | 27,3 | 27,3 | 27,3 |
| 17 | 51,3 | 51,3 | 51,5 |
| 18 | 17,2 | 16,2 | 16,2 |
| 19 | 16,2 | 17,2 | 24,0 |
| 20 | 175,9 | 175,9 | 176,0 |
| 21 | 73,7 | 73,7 | 73,8 |
| 22 | 117,7 | 117,7 | 117,7 |
| 23 | 174,6 | 174,5 | 174,5 |
| 1' | 100,4 | 97,4 | 96,8 |
| 2' | 71,8 | 36,7 | 37,2 |
| 3' | 82,8 | 78,4 | 78,3 |
| 4' | 74,8 | 83,0 | 83,7 |

| | | | |
|--|-------|-------|-------|
| 5' | 71,0 | 69,6 | 69,4 |
| 6' | 17,4 | 18,7 | 18,8 |
| 3'-OMe | 58,1 | 58,6 | 58,8 |
| $\begin{array}{c} \text{—C— (2'-OCOCH}_3\text{)} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ | 170,2 | | |
| CH ₃ (2'-OCOCH ₃) | 21,2 | | |
| 1'' | 105,0 | 106,6 | 106,6 |
| 2'' | 76,0 | 75,4 | 75,3 |
| 3'' | 78,3 | 78,5 | 78,5 |
| 4'' | 71,8 | 71,9 | 71,8 |
| 5'' | 78,6 | 77,8 | 78,5 |
| 6'' | 63,1 | 63,1 | 70,9 |
| 1''' | | | 105,7 |
| 2''' | | | 75,3 |
| 3''' | | | 78,5 |
| 4''' | | | 72,0 |
| 5''' | | | 78,5 |
| 6''' | | | 62,9 |

Hợp chất **3**: Chất bột vô định hình không màu, tan trong metanol. Phổ NMR của hợp chất **3** cho thấy các tín hiệu cộng hưởng ¹H- và ¹³C-NMR tương tự như digitoxigenin 3-O-β-genitiobioside⁷ ngoại trừ tín hiệu của ba đơn vị đường là khác nhau. Phổ ¹H-NMR; ¹³C-NMR và DEPT-NMR cho thấy sự diện diện của ba đơn vị đường là cymarose với proton anomer ở δ_H 5,19 ppm (1H dd 9,5; 1,5 Hz H-1'), δ_C anomer là 96,8 ppm; δ_C của nhóm 3'-OMe là 58,8; δ_C của C-6' là 18,8. Đơn vị đường thứ hai là glucose với δ_H 4,83 ppm (1H d 8,0 Hz H-1''); δ_C anomer là 106,6 và δ_C của C-6'' là 70,9 ppm. Đơn vị đường thứ ba là glucose với δ_H 5,11 ppm (1H d 7,5 Hz H-1'''); δ_C anomer là

105,7 và δ_C của C-6''' là 62,9 ppm. Phổ HMBC cho thấy tương quan giữa proton anomer của đơn vị đường cymarose với C-3 của aglycon nên đơn vị đường thứ nhất gắn vào vị trí C-3; proton anomer của đơn vị đường glucose thứ hai tương quan với C-4' của đơn vị đường thứ nhất nên đơn vị đường thứ hai gắn vào vị trí C-4' của đơn vị đường thứ nhất; proton anomer của đơn vị đường thứ ba có tương quan với C-6'' của đơn vị đường thứ hai nên đơn vị đường thứ ba gắn vào C-6''. So sánh với tài liệu tham khảo^{5,7} cho thấy hợp chất **3** là 17α-H-periplogenin-3-O-β-digitoxopyranosyl-(1→4)-O-β-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-glucopyranoside. Tín hiệu cộng hưởng ¹H- và

^{13}C -NMR của hợp chất **3** được cho ở Bảng 1 và 2.

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, từ mẫu rễ cây hà thủ ô được thu hái ở huyện Tịnh biên, tỉnh An Giang, chúng tôi đã khảo sát thành phần hóa học phần dịch nước còn lại của cao metanol rễ cây hà thủ ô trắng sau khi đã trích cao này với

CHCl_3 . Bằng kỹ thuật sắc ký pha thuận và pha đảo với các hệ dung môi thích hợp, chúng tôi cô lập được các hợp chất **1**, **2** và **3**. Trong số các hợp chất cô lập được, $17\alpha\text{-H-periplogenin-}\beta\text{-glucosyl-(1-4)-2-O-acetyl-digitalose}$ và $\text{periplogenin-3-O-}\beta\text{-cymaropyranosyl-(1}\rightarrow\text{4)-glucopyranosid}$ là hai hợp chất lần đầu tiên được tìm thấy trong dịch trích metanol của rễ cây hà thủ ô trắng.

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE ROOT OF *STREPTOCAULON JUVENTAS* MERR.

Bui Xuan Hao⁽¹⁾, Nguyen Minh Duc⁽²⁾, Tran Le Quan⁽¹⁾

(1) University of Science, VNU HCM

(2) Pharma Medical University of HCM city

ABSTRACT: From the methanol extract of the root of *Streptocaulon juvenas* Merr, three cardenolide derivatives were isolated. Their structures were determined by spectroscopic methods. This is the first time that $(17\alpha\text{-H-periplogenin-3-O-}\beta\text{-D-glucopyranosyl-(1-4)-2-O-acetyl-3-O-methyl-}\beta\text{-fucopyranoside (1)}$ and $\text{periplogenin-3-O-}\beta\text{-cymaropyranosyl-(1}\rightarrow\text{4)-}\square\text{-glucopyranoside (2)}$ were isolated from the root of *S. juvenas* together with the known $17\alpha\text{-H-periplogenin-3-O-}\beta\text{-digitoxopyranosyl-(1}\rightarrow\text{4)-O-}\beta\text{-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{6)-O-}\beta\text{-glucopyranoside (3)}$.

Key words: cardenolides, *Streptocaulon juvenas*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1039-1041, (1995).
- [2]. Võ Văn Chi, *Từ điển Cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Thành phố Hồ Chí Minh, 537-538 (1996).
- [3]. Bùi Xuân Hào, Nguyễn Thị Hồng Yên, Nguyễn Minh Đức, Trần Lê Quan, Thành phần hóa học của rễ cây hà thủ ô trắng, *Tạp chí phát triển khoa học và công nghệ*. 12, 72-77 (2009).
- [4]. Myint Myint Khine, Katrin Franke, Norbert Arnold, Andrea Porzel, Jürgen Schmidt and Ludger A. Wessjohann, *A new cardenolide from*

- the roots of Streptocaulon tomentosum*, *Fitoterapia*, 75, 779-781 (2004).
- [5]. Gerhard Prinsloo, J.J. Marion Meyer, Ahmed A. Hussein, Eduardo Munoz, Rocio Sanchez. *A cardiac glucoside with in vitro anti-HIV activity isolated from Elaeodendron croceum*. *Natural Product Research*, 24, 1743 – 1746 (2010).
- [6]. Jun-ya Ueda, Yasuhiro Tezuka, Arjun H. Banskota, Quan Le Tran, Qui Kim Tran, Ikuo Saiki and Shigetoshi Kadota, *Antiproliferative Activity of Cardenolides Isolated from Streptocaulon juvenas*, *Biol. Pharm.l Bull.*, 26, 1431-1435, (2003).
- [7]. Jun-ya Ueda, Yasuhiro Tezuka, Arjun H. Banskota, Quan Le Tran, Qui Kim Tran, Ikuo Saiki and Shigetoshi Kadota, *Constituents of Vietnamese Medicinal Plant Streptocaulon juvenas and their Antiproliferative Activity*, *J. Nat. Prod.*, 66, 1427 -1433, (2003).