

## THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA RỄ CÂY HÀ THỦ Ô TRẮNG

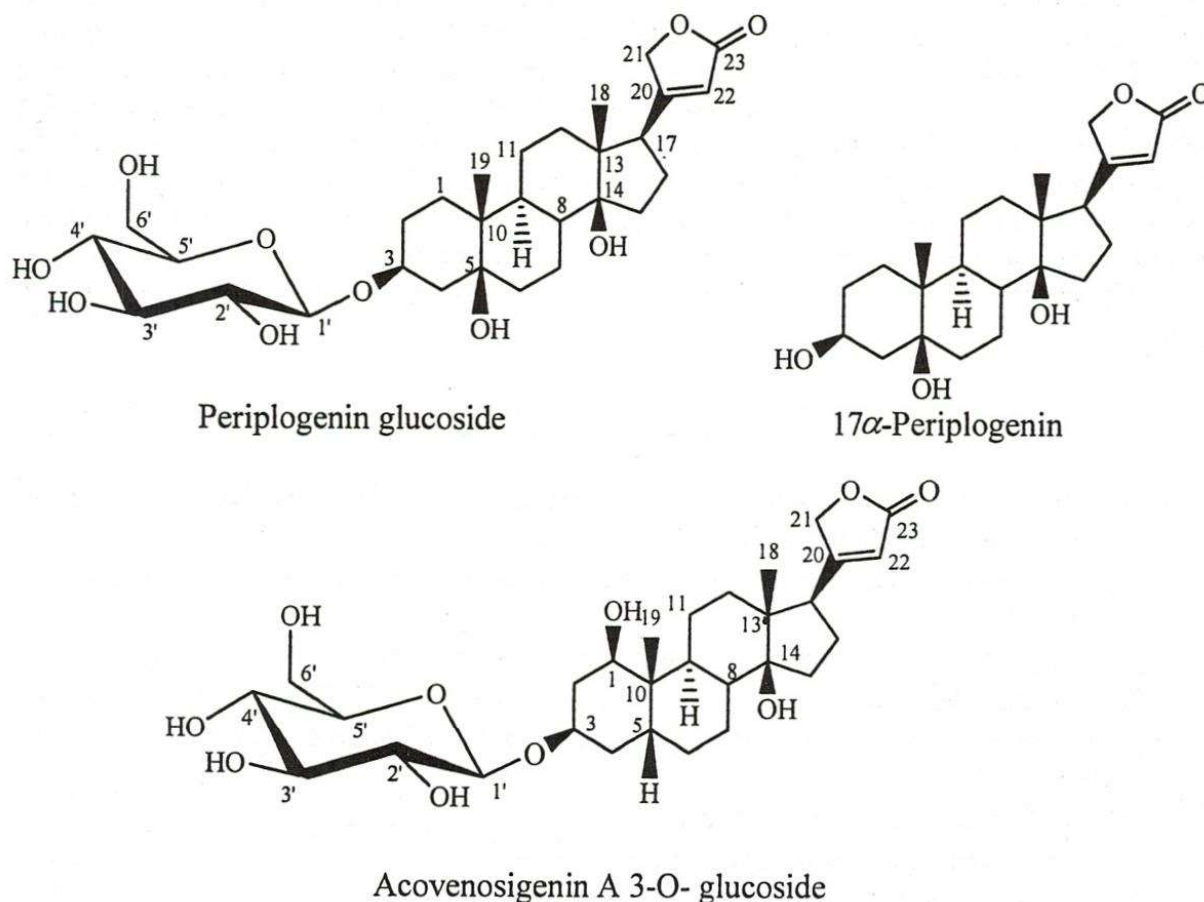
Bùi Xuân Hào<sup>(1)</sup>, Nguyễn Thị Hồng Yến<sup>(1)</sup>, Nguyễn Minh Đức<sup>(2)</sup>, Trần Lê Quan<sup>(1)</sup>

(1)Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(2)Trường Đại học Y Dược Tp. HCM

(Bài nhận ngày 08 tháng 01 năm 2009, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 24 tháng 08 năm 2009)

**TÓM TẮT:** Ba hợp chất khung cardenolid đã được cô lập từ rễ cây hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juvenas*). Cấu trúc các hợp chất này được làm sáng tỏ bằng các phương pháp phổ nghiệm. Trong số các hợp chất đã được cô lập, acovenosigenin A 3-O-glucosid là một dẫn xuất mới có khung cardenolid.



### 1. MỞ ĐẦU

Cây hà thủ ô trắng có tên khoa học là *Streptocaulon juvenas* Merr., thuộc họ Asclepiadaceae. Trong y học cổ truyền, dịch trích nước rễ cây hà thủ ô trắng dùng giải độc, chữa cảm sốt, trị vết sưng đau, vết thương do rắn cắn ... [1, 2]. Các thử nghiệm về hoạt tính kháng ung thư cho thấy dịch chiết metanol rễ cây hà thủ ô trắng có độc tính chọn lọc đối với năm dòng tế bào ung thư là tế bào ung thư tử cung Hela người, tế bào ung thư phổi người A549, tế bào ung thư chuột colon 26-L5, tế bào ung thư phổi chuột LLC và tế bào ung thư ruột kết chuột B16-BL6 chuột [3].

Trong bài này, chúng tôi giới thiệu một vài kết quả nghiên cứu tách chiết và xác định cấu trúc hóa học của ba hợp chất được cô lập từ phần dịch nước còn lại của cao metanol rễ cây hà thủ ô trắng sau khi đã chiết cao metanol với  $\text{CHCl}_3$ . Các hợp chất cô lập được là periplogenin glucosid, 17 $\alpha$ -periplogenin, acovenosigenin A 3-O-glucosid. Trong số các chất đã được cô lập, acovenosigenin A 3-O-glucosid là một hợp chất mới, lần đầu tiên được tìm thấy trên thế giới.

## 2. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ phần dịch nước còn lại của cao metanol rễ cây hà thủ ô trắng sau khi đã chiết với  $\text{CHCl}_3$ , bằng các phương pháp sắc ký cột silica gel, sắc ký cột silica gel RP-18, chúng tôi thu được ba hợp chất là periplogenin glucosid, 17 $\alpha$ -periplogenin, acovenosigenin A 3-O-glucosid. Cấu trúc hóa học các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phổ nghiệm.

**Periplogenin glucosid:** Chất bột vô định hình không màu, tan trong metanol. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của periplogenin glucosid cho thấy tín hiệu cộng hưởng của hai mũi đơn methyl ở  $\delta$  1,01 (3H, s, H-18); 1,07 (3H, s, H-19), proton carbinol ở  $\delta$  4,52 (1H, s, H-3); một nhóm oxymetylen -O-CH<sub>2</sub>- ở  $\delta$  5,00; 5,29 (2H, dd, J=18,5 và 1,5 Hz; H-21). Một proton olefin ở  $\delta$  6,12 (1H, br, s, H-22), một proton anomer ở  $\delta$  5,02 (1H, d, J=8, H-1'). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  DEPT 90 và DEPT 135 cho thấy các mũi cộng hưởng ứng với 29 carbon, trong đó có hai nhóm methyl, mười một nhóm metylen, mười nhóm metin; một vòng  $\gamma$ -lacton bất bão hòa có các tín hiệu của carbon olefin ở  $\delta$  117,7 (C-22); một carbon của nhóm carbonyl lacton ở  $\delta$  174,5 (C-23). Tín hiệu của một carbon tứ cấp oxygen hóa ở  $\delta$  84,7 (C-14) và tín hiệu carbon anomer của đơn vị đường ở  $\delta$  101,5 (C-1'). Phổ 2D NMR (COSY, HSQC và HMBC) giúp xác định chính xác vị trí cộng hưởng của toàn bộ các tín hiệu proton và carbon của periplogenin glucosid. Từ các số liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [4], khẳng định cấu trúc hợp chất cô lập được là periplogenin glucosid.

Tín hiệu cộng hưởng  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và tương quan HMBC của periplogenin glucosid được cho ở bảng 1.

**Bảng 1.** Số liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  và tương quan HMBC của periplogenin glucosid ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )

| Vị trí C | $\delta$ 1H (ppm), J (Hz) | $\delta$ 13C (ppm) | Tương quan HMBC (H tương quan C) |
|----------|---------------------------|--------------------|----------------------------------|
| 1        | 1,36 m; 2,20 m            | 26,1               |                                  |
| 2        | 1,95 m; 2,06 m            | 27,3               | C-3; C-5                         |
| 3        | 4,52 s                    | 74,0               |                                  |
| 4        | 1,58 m; 1,92m             | 36,3               | C-10                             |
| 5        |                           | 73,2               |                                  |
| 6        | 1,88 m; 2,06 m            | 33,2               |                                  |
| 7        | 1,30 m; 2,24 m            | 24,6               |                                  |
| 8        | 1,83 m                    | 40,9               |                                  |
| 9        | 1,63 m                    | 39,2               |                                  |
| 10       |                           | 41,2               |                                  |
| 11       | 1,26 m; 1,37 m            | 21,9               | C-3                              |
| 12       | 1,36 m; 1,42 m            | 39,9               | C-9                              |
| 13       |                           | 50,0               | C-8; C-14                        |
| 14       |                           | 84,7               |                                  |
| 15       | 1,94 m; 2,08 m            | 33,9               |                                  |

|    |  |       |                  |
|----|--|-------|------------------|
| 16 | 1,76 m; 1,92 m   | 26,7  |                  |
| 17 | 2,80 m   | 51,3  | C-20, 21, 22     |
| 18 | 1,01 s   | 16,1  | C-12, 13, 14, 17 |
| 19 | 1,07 s   | 17,2  | C-1, 5, 9, 10    |
| 20 |  | 176,0 |                  |
| 21 | 5,00 m; 5,29 dd (1,5 Hz; 1,85 Hz)                      | 73,3  | C-20, 22         |
| 22 |  | 117,7 | C-17, 20, 21, 23 |
| 23 |  | 174,5 |                  |
| 1' | 5,02 m   | 101,5 | C-3              |
| 2' | 4,01 dd (8,5 Hz; 8,5 Hz)                               | 75,2  | C-3'             |
| 3' | 4,24 dd (8,5 Hz; 8,5 Hz)                               | 78,7  | C-2', 4'         |
| 4' | 4,20 dd (9,0 Hz; 9,0 Hz)                               | 71,7  | C-5', 6'         |
| 5' | 3,97 ddd (2,5 Hz; 5,5 Hz; 8,5 Hz)                      | 78,8  |                  |
| 6' | 4,36 dd (5,5 Hz; 11,5 Hz)<br>4,55 dd (2,5 Hz; 11,5 Hz) | 62,7  |                  |

**Acovenosigenin A 3-O-glucosid:** Chất bột vô định hình không màu, tan trong metanol. Khối phổ ESI (+) cho mũi  $[M+H]^+$  ở  $m/z$  553,1 cho biết phân tử khối bằng 552 ứng với công thức phân tử  $C_{29}H_{44}O_{10}$ . Phổ  $^1H$ -NMR của acovenosigenin A 3-O-glucosid cho thấy tín hiệu cộng hưởng của hai mũi đơn methyl ở  $\delta_H$  0,91 (3H, s, H-18); 1,11 (3H, s, H-19), hai proton carbinol ở  $\delta_H$  3,74 (1H, s, H-1) và 4,29 (1H, s, H-3); một nhóm oxymetylen  $-O-CH_2-$  ở  $\delta_H$  4,93 (1H, dd,  $J=18,1,5$ , H-21a) và 5,05 (1H, dd,  $J=18,5;1,5$ , H-21b) ở vùng trường thấp, một mũi ba ở  $\delta_H$  2,84 (1H, t,  $J=6$ , H-17). Một proton olefin ở  $\delta_H$  5,92 (1H, s, H-22), một proton anomer ở  $\delta_H$  4,36 (1H, d,  $J=8$ , H-1'). Phổ  $^{13}C$ -NMR DEPT 90 và DEPT 135 cho thấy các mũi cộng hưởng ứng với 29 carbon, trong đó có hai nhóm methyl, mười nhóm metylen, mười hai nhóm metin, trong đó có hai nhóm metin carbinol ở  $\delta_C$  73,8 (C-1) và 76,2 (C-3); một vòng  $\gamma$ -lacton bất bão hòa có các tín hiệu của carbon olefin ở  $\delta_C$  117,8 (C-22); một carbon của nhóm carbonyl lacton ở  $\delta_C$  177,2 (C-23). Tín hiệu của một carbon tứ cấp oxygen hóa ở  $\delta_C$  86,3 (C-14) và tín hiệu carbon anomer của đơn vị đường ở  $\delta_C$  102,2 (C-1'). Phổ 2D NMR (COSY, HSQC và HMBC) giúp xác định chính xác vị trí cộng hưởng của toàn bộ các tín hiệu proton và carbon của acovenosigenin A 3-O-glucosid. Tín hiệu cộng hưởng  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR của acovenosigenin A 3-O-glucosid được cho ở bảng 2.

**Bảng 2.** Số liệu phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR của acovenosigenin A 3-O-glucosid (MeOD).

| Vị trí C | $\delta^1H$ (ppm), J (Hz) | $\delta^{13}C$ (ppm) |
|----------|---------------------------|----------------------|
| 1        | 3,74 s                    | 73,8                 |
| 2        | 2,10 m                    | 32,5                 |
| 3        | 4,29 s                    | 76,2                 |
| 4        | 1,88 m                    | 30,1                 |
| 5        | 2,04 s                    | 31,8                 |
| 6        |                           | 27,2                 |
| 7        |                           | 22,4                 |
| 8        |                           | 42,8                 |

|    |   |       |
|----|---|-------|
| 9  |   | 38,5  |
| 10 |   | 40,8  |
| 11 |   | 22,1  |
| 12 |   | 41,1  |
| 13 |   | 50,9  |
| 14 |   | 86,3  |
| 15 |   | 33,3  |
| 16 |   | 28,1  |
| 17 | 2,84 t (6Hz)  | 52,1  |
| 18 | 0,91 s  | 16,4  |
| 19 | 1,11 s  | 19,2  |
| 20 |   | 178,4 |
| 21 | 4,93 dd (18,0 Hz; 1,5 Hz);<br>5,05 dd (18,5 Hz; 1,5 Hz) | 75,4  |
| 22 | 5,92 s  | 117,8 |
| 23 |   | 177,2 |
| 1' | 4,36 d (8,0 Hz)   | 102,2 |
| 2' | 3,17 dd (9,0 Hz; 1,5 Hz)                                | 75,1  |
| 3' | 3,37 t (9 Hz)   | 78,1  |
| 4' |   | 71,6  |
| 5' |   | 78,1  |
| 6' | 3,68 dd (12,0 Hz 5,5 Hz);<br>3,89 dd (12,0 Hz; 1,5 Hz)  | 62,7  |

**Periplogenin:** Tinh thể hình kim không màu (MeOH), tan trong metanol. Dựa vào kết quả phân tích phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT 90, DEPT 135 kết hợp với phổ 2D NMR (HSQC và HMBC) đồng thời so sánh với tài liệu tham khảo [4], chúng tôi kết luận đã cô lập được một hợp chất từ cây hà thủ ô trắng là  $17\alpha$ -periplogenin. Tín hiệu cộng hưởng  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của periplogenin được cho ở bảng 3.

**Bảng 3.** Số liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của periplogenin (MeOD)

| Vị trí C | $\delta ^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $\delta ^{13}\text{C}$ (ppm) |
|----------|-----------------------------------|------------------------------|
| 1        |                                   | 26,1                         |
| 2        |                                   | 28,5                         |
| 3        | 4,15 s                            | 69,1                         |
| 4        |                                   | 36,0                         |
| 5        |                                   | 76,2                         |
| 6        |                                   | 37,8                         |
| 7        |                                   | 24,8                         |
| 8        |                                   | 41,9                         |
| 9        |                                   | 40,9                         |
| 10       |                                   | 41,7                         |
| 11       |                                   | 22,7                         |
| 12       |                                   | 40,2                         |

|    |  |       |
|----|--|-------|
| 13 |  | 50,9  |
| 14 |  | 86,3  |
| 15 |  | 33,4  |
| 16 |  | 28,0  |
| 17 | 2,86 m   | 52,0  |
| 18 | 0,91 s   | 16,3  |
| 19 | 0,96 s   | 17,2  |
| 20 |  | 178,3 |
| 21 | 4,93 dd (18,5 Hz; 1,5 Hz)<br>5,05 dd (18,5 Hz; 1,5 Hz) | 75,3  |
| 22 | 5,92 d (1,5 Hz)  | 117,8 |
| 23 |  | 177,2 |

### 3. THỰC NGHIỆM

#### 3.1. Thiết bị và các điều kiện thí nghiệm

- Các mẫu chất tách được từ rễ cây hà thủ ô trắng được đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân tại phòng NMR Viện Hóa học Viện Khoa học Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, trên máy Bruker Avance 500 [500 MHz ( $^1\text{H}$ ) và 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ )] với TMS là chất nội chuẩn, dung môi  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

- Sắc ký bản mỏng được thực hiện trên bảng silica gel trắng sẵn (Merck, Kielselgel 60  $\text{F}_{254}$ , 250  $\mu\text{m}$ ), bảng pha đảo  $\text{RP}_{18}$  (Merck  $\text{RP}_{18}$ , 250  $\mu\text{m}$ ). Các cấu tử trên bản mỏng được phát hiện bằng đèn tử ngoại bước sóng 256 nm và bằng dung dịch  $\text{H}_2\text{SO}_4$  20%, sấy nóng sau khi phun thuốc thử.

- Sắc ký cột được thực hiện trên silica gel pha thuận (40 – 63  $\mu\text{m}$ , Merck) và silica gel pha đảo  $\text{RP}_{18}$  (40  $\mu\text{m}$ , Nacalai Tesque).

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

Rễ cây hà thủ ô trắng được thu hái ở huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang vào tháng 10 năm 2007. Nguyên liệu được cắt nhỏ, sấy ở 60 °C và xay thành bột thô. Trích 8 kg bột thô rễ cây hà thủ ô với MeOH (đun hoàn lưu, 3 giờ  $\times$  3 lần) lọc nóng và cô quay ở áp suất kém được 857 g cao thô MeOH. Trích cao MeOH với  $\text{CHCl}_3$  bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng được 190,6 g cao  $\text{CHCl}_3$ . Thực hiện sắc ký cột Diaion HP-20 phần dịch nước còn lại sau khi chiết với  $\text{CHCl}_3$  lần lượt bằng các dung môi 100%  $\text{H}_2\text{O}$  (ký hiệu  $\text{H}_1$ );  $\text{H}_2\text{O}$ -MeOH (tỷ lệ thể tích  $\text{H}_2\text{O}$ -MeOH 3:1, ký hiệu  $\text{H}_2$ );  $\text{H}_2\text{O}$ -MeOH 1:1 (ký hiệu  $\text{H}_3$ );  $\text{H}_2\text{O}$ -MeOH 1:3 (ký hiệu  $\text{H}_4$ ) và MeOH 100% (ký hiệu  $\text{H}_5$ ). Cô cạn các phân đoạn thu được từ cột Diaion được các cao tương ứng là  $\text{H}_1$  (491,2 g),  $\text{H}_2$  (29,8 g),  $\text{H}_3$  (44,6 g),  $\text{H}_4$  (29,6 g) và  $\text{H}_5$  (4,3 g). Thực hiện sắc ký cột silica gel phân đoạn cao  $\text{H}_4$  (28 g), hệ dung môi giải ly lần lượt là hỗn hợp  $\text{CHCl}_3$ -MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  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 ngược pha (chất hấp phụ  $\text{RP}-18$ , hệ dung môi giải ly là hỗn hợp MeOH-MeCN- $\text{H}_2\text{O}$  với các tỷ lệ là 1:1:4; 1:1:3; 1:1:2; 1:1:1; hỗn hợp MeCN- $\text{H}_2\text{O}$  là 1:3; 1:2; 1:1), chúng tôi cô lập được các hợp chất periplogenin glucosid, 17 $\alpha$ -periplogenin, acovenosigenin A 3-O-glucosid

#### 4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, từ mẫu rễ cây hà thủ ô trắng 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  $\text{CHCl}_3$ . Bằng kỹ thuật sắc ký trên cột Diaion HP – 20, bản mỏng, sắc ký cột trên silica gel pha thường, pha đảo RP-18 chúng tôi đã cô lập được ba hợp chất periplogenin glucosid, 17 $\alpha$ -periplogenin, acovenosigenin A 3-O-glucosid. Cấu trúc các hợp chất này được xác định bằng các kết quả phổ nghiệm như  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, DEPT, HSQC và HMBC, LC – MS. Trong các hợp chất cô lập được, acovenosigenin A 3-O-glucosid là một hợp chất mới lần đầu tiên được cô lập trên thế giới.

### CHEMICAL CONSTITUENTS FROM THE ROOTS OF *STREPTOCAULON JUVENTAS*

Bui Xuan Hao<sup>(1)</sup>, Nguyen Thi Hong Yen<sup>(1)</sup>, Nguyen Minh Duc<sup>(2)</sup>, Tran Le Quan<sup>(1)</sup>

(1) University of Science, VNU-HCM

(2) The University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

**ABSTRACT:** Three cardenolides were isolated from the root of *Streptocaulon juvenas* Merr. Their structures were elucidated by their spectral data. A new cardenolide derivative named acovenosigenin A 3-O-glucosid from the metanol extract of the root of *Streptocaulon juvenas* Merr.

**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]. 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. Bull.*, 26, 1431-1435, (2003)
- [4]. 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)