KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CÂY CÒNG TÍA *CALOPHYLLUM SAIGONENSE*

Nguyễn Diệu Liên Hoa, Nguyễn Duy Linh, Phạm Đình Hùng
Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG-HCM
(Bài nhận ngày 11 tháng 6 năm 2004)

TÓM TẮT: *Cành và lá cây còng tía* ***Calophyllum saigonense*** *Pierre sinh tổng hợp nên stigmasterol, acid 3,4-dihidroxi-2-metoxibenzoic, acid 3,4-dihidroxibenzoic và amentoflavon. Cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^1H và ^{13}C NMR, DEPT 90 và 135), phổ tử ngoại (UV), phổ hồng ngoại (IR) và sắc kí lỏng kèm khối phổ (LC-MS).*

Mở đầu

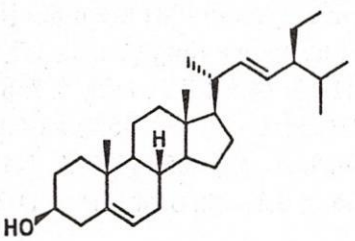
Calophyllum là một trong những chi lớn nhất của họ Bứa (Măng Cụt, Guttiferae) bao gồm khoảng 130 loài [1]; ở Việt Nam có tất cả 15 loài [2]. Chúng thuộc loại cây thân gỗ, thường gặp ở Đông Nam Á. Chi này có nhiều ứng dụng trong y học cổ truyền, tiêu biểu nhất là mù u (*C. inophyllum*). Nhựa và dầu mù u được dùng làm thuốc chữa các bệnh về da nói chung, chữa viêm chân răng, trị đau dạ dày và xuất huyết bên trong [3, 4].

Lúc đầu người ta chỉ tìm thấy dẫn xuất coumarin trong các loài *Calophyllum*. Tuy nhiên những nghiên cứu về sau cho thấy chi này còn chứa nhiều loại hợp chất khác như xanthon, benzophenon, flavonoid, biflavonoid, sterol, triterpenoid, acid và benzopiran.

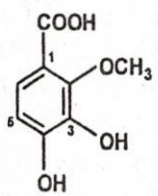
Chi *Calophyllum* có nhiều công dụng trong y học cổ truyền và các hợp chất thuộc chi này có triển vọng dùng làm thuốc trong y học hiện đại. Chính vì vậy chúng tôi khảo sát thành phần hóa học của một loài trong chi này là còng tía *Calophyllum saigonense* Pierre hay *Calophyllum calaba* L. (Wight) Stevens, thuộc họ Bứa (Măng cụt, Guttiferae), một loài cây được trồng và mọc hoang rải rác ở các vùng núi, rừng triền, đất cát từ Nghệ An qua Bảo Lộc đến phía Nam [2]. Thành phần hóa học của cây này đã được nghiên cứu ở Sri Lanka [5-9] và nhóm hợp chất tìm thấy phổ biến trong cây là xanthon, triterpenoid và dẫn xuất của acid chapelieric.

Kết quả và biện luận

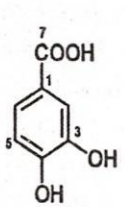
Cành và lá còng tía được phơi khô, xay nhỏ và trích Soxhlet với eter dầu hỏa. Sắc kí cột cao eter hỏa trên silica gel với nhiều hệ dung ly khác nhau thu được bốn hợp chất là stigmasterol (**1**), acid 3,4-dihidroxi-2-metoxibenzoic (**2**), acid 3,4-dihidroxi-benzoic (**3**) và amentoflavon (**4**).



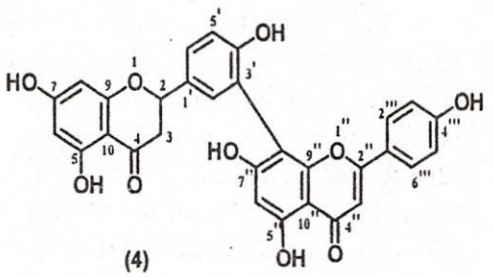
(1)



(2)



(3)



(4)

Cấu trúc của stigmasterol được xác định bằng cách so sánh phổ ^1H NMR và sắc ký bản mỏng với chất chuẩn.

Acid 3,4-dihidroxi-2-metoxibenzoic (**2**) thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu vàng nhạt, đnc. 186-188°C. **2** cho phản ứng màu xanh đậm với thuốc thử $FeCl_3$ trong metanol chứng tỏ đây là một phenol. Phổ UV cho các mũi hấp thu cực đại ở 208, 243, 264 và 390nm Phổ IR cho các mũi hấp thu đặc trưng của nhóm O-H (3364 cm^{-1}), C-H sp^3 (2822 cm^{-1}), C=O tiếp cách (1656 cm^{-1}), C=C hương phương (1623, 1489 cm^{-1}), C-O (1293, 1195 cm^{-1}).

Phổ ^{13}C NMR kết hợp với DEPT 90 và 135 cho các mũi cộng hưởng ứng với sự hiện diện của 8 carbon trong đó có một carbon của nhóm C=O tiếp cách (δ_C 175.8), một carbon của nhóm $-OCH_3$ (δ_C 62.0, q) và sáu carbon hương phương. Trong số sáu carbon hương phương có 3 carbon mang oxigen (δ_C 150.7, 147.1 và 145.9, mỗi mũi s), một carbon trí hoán (δ_C 117.7, s) và hai carbon mang hidrogen (δ_C 123.4 và 113.8, mỗi mũi d). Phổ ^1H NMR cho các mũi cộng hưởng ứng với sự hiện diện của một nhóm -OH [δ_H 8.11 (1H, br s)], một vòng benzen 1,2,3,4-tứ hoán với hai proton hương phương ghép cặp *orto* [δ_H 7.36 (1H, d, J = 9.1 Hz) và 7.17 (1H, d, J = 9.1 Hz)] và một nhóm $-OCH_3$ [δ_H 3.93 (3H, s)]. Phổ LC-MS của 2 cho mũi *m/z* 184 ứng với công thức phân tử $C_8H_8O_5$.

Mũi cộng hưởng ứng với nhóm metoxil trong phổ ^{13}C NMR xuất hiện ở vùng từ trường thấp (δ_C 62.0) cho thấy nhóm -OMe gắn trên carbon hương phương mang 2 nhóm thế ở vị trí *orto*. Phổ ^1H NMR của 2 không có sự hiện diện của mũi cộng hưởng ứng với nhóm -OH kiềm nối ở vị trí *orto* đối với nhóm -COOH (δ_H ~ 11-14) chứng tỏ một vị trí *orto* đối với nhóm -COOH là nhóm -OMe. Vị trí *orto* thứ hai phải mang hidrogen. Như vậy với sự hiện diện của hai proton ghép cặp *orto*, 2 chỉ có thể là acid 3,4-dihidroxi-2-metoxibenzoic để có thể thỏa được các dữ liệu phổ trên.

Acid 3,4-dihidroxibenzoic (**3**) cô lập dưới dạng tinh thể hình lập phương không màu, đnc. 196-197°C, cho kết quả dương tính với thuốc thử $FeCl_3$. Phổ IR cho các mũi hấp thu đặc trưng của nhóm -OH (3535 cm^{-1}), nhóm C=O tiếp cách (1665 cm^{-1}), nhóm C=C hương phương (1592 cm^{-1}).

Phổ ^1H NMR cho thấy có sự hiện diện của một vòng benzen 1,3,4-tam hoán [δ_H 7.53 (1H, d, J=2.0 Hz), 7.49 (1H, dd, J=2.0 và J=8.3 Hz) và 6.90 (1H, d, J=8.3Hz)]. Phổ ^{13}C NMR và DEPT cho biết **3** có 7 carbon trong đó có một carbon carbonil tiếp cách (δ_C 168.3) và sáu carbon hương phương bao gồm hai carbon mang oxigen (δ_C 150.1 và 145.5, mỗi mũi s), một carbon trí hoán (δ_C 122.9, s) và một carbon mang hidrogen (δ_C 123.7, 117.5 và 115.7, mỗi mũi d). Phổ LC-MS của **3** cho mũi *m/z* 154 phù hợp với công thức phân tử $C_7H_6O_4$. Vậy **3** có thể là acid 3,4-dihidroxibenzoic hay acid 2,4-dihidroxibenzoic. Phổ ^1H NMR của **3** không có sự hiện diện của mũi cộng hưởng ứng với nhóm -OH kiềm nối nào. Điều này chứng tỏ vị trí *orto* đối với nhóm -COOH không mang nhóm thế -OH. Vậy hợp chất này là acid 3,4-dihidroxibenzoic (**3**). Kết quả trên phù hợp với tài liệu tham khảo [10]. Acid 3,4-dihidroxibenzoic có tính kháng oxid-hóa, chống sự đông máu và ngăn cản sự phát triển của ung bướu [11].

Amentoflavon (**4**) thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu vàng nhạt, phân hủy ở 253-257°C, $[\alpha]_D$ +358.3 (trong aceton), cho phản ứng dương tính với dung dịch $FeCl_3$ trong alcol. Phổ IR cho thấy có sự hiện diện của nhóm OH (3445 cm^{-1}), nhóm C=O tiếp cách (1633 cm^{-1}), nhân benzen (1605 cm^{-1}). Phổ tử ngoại có các mũi hấp thu cực đại ở 225, 270, 293 và 339 nm cho thấy hợp chất này có thể là một flavonoid hay biflavonoid.

Phổ ^1H NMR cho các mũi cộng hưởng tương ứng với sự hiện diện của 2 nhóm -OH kiềm nối [δ_H 13.19 và 13.02 (mỗi mũi 1H, s, trao đổi với D_2O, 5-OH và 5″-OH)], một hệ thống vòng benzen 1,2,4-tam hoán [δ_H 8.14 (1H, d, J=2.4 Hz, H-2′), 8.04 (1H, dd, J=2.0 và J=8.5 Hz, H-6′) và 7.26 (1H, d, J=8.5 Hz, H-5′)], một hệ thống vòng benzen 1,4-nhị hoán [δ_H 7.67 (2H, d, J=8.7 Hz, H-2‴ và H-6‴) và 6.84 (2H, d, J=8.7 Hz, H-3‴ và H-5‴)], một hệ thống vòng benzen 1,2,3,5-tứ hoán [δ_H 6.53 (1H, d, J=1.7 Hz, H-8) và 6.25 (1H, d, J=1.7 Hz, H-6)] và 3 proton cô lập ở vùng từ trường thấp [δ_H 6.74 (1H, s, H-3), 6.67 (1H, s, H-3″) và 6.46 (1H, s, H-6″)].

Phổ ^{13}C NMR cho các mũi cộng hưởng ứng với sự hiện diện của 30 carbon, trong đó có hai carbon carbonil tiếp cách [δ_C 183.5 (s, C-4) và 183.1 (s, C-4′], 10 carbon hương phương mang oxigen [δ_C 165.1x2, 164.9, 163.4, 162.8, 162.7, 161.8, 160.3, 158.9 và156.2] và 18 carbon ở vùng từ trường thấp [δ_C 132.6 - 94.8)]. Phổ DEPT cho biết trong phân tử có 12 CH. Phổ LC-MS cho thấy mũi *m/z* ở 538. Từ những dữ liệu trên chúng tôi đề nghị công thức phân tử của **4** là $C_{30}H_{18}O_{10}$ với độ bất bảo hòa là 22.

So sánh các dữ liệu phổ trên với phổ của amentoflavon cô lập từ cây *Garcinia kola* [12] cho thấy **4** là amentoflavon. Hợp chất này cũng đã được cô lập từ cây còng tía. Amentoflavon có khả năng

kháng nhiều virus gây bệnh như *Avian myeloblastosis virus* (AMV)-RT, *Rous-associated virus-2* (RAV-2)-RT và *Moloney murine lcukemia virus* (MMLV)-RT [13].

Thực nghiệm

Đnc: không điều chỉnh. IR: KBr. UV: EtOH. NMR: 200 MHz (^{1}H) và 50 MHz (^{13}C) hay 400 MHz (^{1}H) and 100 MHz (^{13}C) với TMS là chất chuẩn nội (δ = 0.00 ppm) và aceton-d_6 là dung môi. SKBM: silica gel (Merck, Kielselgel 60F_{254}, 250μm) hay DIOL silica (Merck, HPTLC-Fertigplatten DIOL F_{254}s). SKC: silica gel (40 μm, Baker) hay DIOL silica (Merck, Lichroprep 40-63μm). Sắc kí cột thẩm thấu bằng gel: Sephadex LH-20. Quá trình cô lập các cấu tử hóa học được thực hiện bằng sắc ký cột và sắc ký bản mỏng. Phân đoạn nào cho vệt rõ dưới đèn tử ngoại mới được khảo sát tiếp.

Thu hái mẫu

Cành và lá còng tía được thu hái ở tỉnh Bà Rịa-Vũng Tàu và đã được Thầy Nguyễn Thiện Tịch, Bộ Môn Thực Vật Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên xác định tên khoa học.

Ly trích và cô lập

Mẫu được phơi khô, xay nhỏ (800 g) rồi trích bằng Soxhlet với eter dầu hỏa trong 30 giờ. Đuổi dung môi thu được cao eter dầu hỏa (22 g). Thực hiện sắc kí cột nhanh cao eter dầu hỏa trên silica gel với hệ dung ly acetat etil-eter dầu hỏa có độ phân cực tăng dần thu được 24 phân đoạn, mỗi phân đoạn 1 lít được gộp lại thành 7 phân đoạn (CSH1-CSH7).

Phổ ^{1}H NMR cho thấy phân đoạn 1 (1.2 g) và phân đoạn 2 (1.5 g) chứa chủ yếu chất béo nên không tiếp tục nghiên cứu.

SKC nhanh phân đoạn CSH3 (880 mg) trên silica gel (eter dầu hỏa-aceton 2-5%) thu được 2 phân đoạn (CSH31-CSH32). Tinh chế phân đoạn CSH31 (460 mg) bằng phương pháp kết tinh lại nhiều lần trong metanol thu được stigmasterol (1) (98 mg).

SKC nhanh phân đoạn CSH6 (2.3 g) lần lượt trên silica gel (MeOH-$CHCl_3$ 1-10% rồi benzen-aceton 3-20%), sau đó với DIOL ($CHCl_3$-MeOH 1-5%) thu được acid 3,4-dihidroxi-2-metoxibenzoic (2) (33 mg).

Cho cloroform vào phân đoạn CSH9 (2.4 g) thấy có tủa vàng xuất hiện. Lọc thu được phần CSH9A (1.8 g) không tan. Thực hiện SKC nhanh CSH9A trên DIOL silica (eter dầu hỏa-aceton 20-50%) thu được 7 phân đoạn (CSH9A1-7). Phân đoạn 9A2 được SKC thẩm thấu trên Sephadex LH-20 ($CHCl_3$-MeOH, 1:1), tiếp theo là SKC nhanh trên DIOL silica (eter dầu hỏa-acetat etil 20-50% rồi eter dầu hỏa-aceton 10-50%) thu được acid 3,4-dihidroxibenzoic (**3**) (160 mg). Tinh chế phân đoạn CSH9A6 (180 mg) bằng cột Sephadex LH-20 ($CHCl_3$-MeOH 1:1) thu được amentoflavon (**4**) tinh khiết (120 mg).

CHEMICAL INVESTIGATION OF *CALOPHYLLUM SAIGONENSE*

Nguyen Dieu Lien Hoa, Nguyen Duy Linh, Pham Dinh Hung
Faculty of Chemistrys, University of Natural Sciences –VNU-HCM

ABSTRACT: *The branches and leaves of* ***Calophyllum saigonense*** *Pierre yielded stigmasterol, 3,4-dihydroxy-2-methoxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid and amentoflavon. The structures of the compounds were determined using NMR techniques (^{1}H and ^{13}C NMR, DEPT 90 and 135), UV, IR and LC-MS spectroscopy. Amentoflavon exhibits anti-virus properties while 3,4-dihydroxybenzoic acid is an antioxidant and free radical scavenger. The latter also inhibits development of neoplasm in animal models and platelet aggregation.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Reyes-Chilpa, R., Jimenez-Estrada, M. và Estrada-Muniz, E., *Journal of Chemical Ecology*, **23**, 1901 (1997).

[2]. Phạm Hoàng Hộ, *Cây cỏ Việt Nam*, quyển I, trang 457-461, NXB Trẻ, Thành phố Hồ Chí Minh (1999).

[3]. Võ Văn Chi, *Tự điển cây thuốc Việt Nam*, trang 154, 307 và 770, NXB Y Học, Thành phố Hồ Chí Minh (1997).

[4]. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa Học và Kỹ Thuật, Thành phố Hồ Chí Minh (1995).

[5]. Kumar, V., Sotheeswaran, S., Surendrakuma, S. và Balasubramaniam, S., *Phytochemistry*, **21**, 807 (1982).

[6]. Somanathan, R. và Sultanbawa, M. U. S., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **15**, 1935, (1972), lấy từ C.A. **77**, 111431a (1972).

[7]. Samaraweera, U., Sotheeswaran, S., Sultanbawa, M. U. S. và Balasubramaniam, S., *J. Chem. Soc. Perkin Trans*. I, 703 (1983).

[8]. Gunnatilaka, A. L., Jasmin-Desilva, A. M. Y., Sotheeswaran, S., Balasubramaniam, S. và Wazeer, M. I. M., *Phytochemistry*, **23**, 323 (1984).

[9]. Dharmaratne, H. R. W., Sotheeswaran, S., Balasubramaniam, S. và Reisch, J., *Phytochemistry*, **48**, 1957 (1986).

[10]. Yun-Choi, H. S., Kim, J. H. và Lee, J. R., *J. Nat. Prods.* **50**, 1059 (1987).

[11]. *Dictionary of Natural Products on CDROM*, Chapman and Hall (1998).

[12]. Terashima, K., Kondo, Y., Aqil, M., Waziri, M. và Niwa, M., *Heterocycles*, **50**, 283 (1999).

[13]. Vlietinck, A. J., De Bruyne, T., Apers, S. và Pieters, L. A., *Planta Medica*, **64**, 97 (1998).