MỘT PHƯƠNG PHÁP MỚI LY TRÍCH VINDOLIN VÀ CATHARANTIN TỪ CÂY DỪA CẠN- *CATHARANTHUS ROSEUS G. DON (APOCYNACEAE)*

Trần Kim Qui, Tân Hoàng, Nguyễn Thị Thùy Nhi, Nguyễn Thị Ngọc
Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên
(Nhận được ngày 02/01/1998)

Tóm tắt:

Vindolin và catharantin được dùng làm dược phẩm có tác dụng hạ huyết áp và lượng đường trong máu, được trích từ cây Dừa cạn Catharanthus roseus G. Don (Apocynaceae). Hơn nữa hai alkaloid này lại là các bán phân của các alkaloid có tác dụng kháng ung thư như vinblastin, vincristin. Nhiều công trình nghiên cứu đã đề xuất phương pháp trích ly các alkaloid này, nhưng các qui trình này kém hiệu quả và lại qua nhiều công đoạn.

Trong bài này, chúng tôi trình bày phương pháp cô lập vindolin và catharantin qua sự trích ly bằng dung dịch đệm Mc Ilvaine và sau đó qua sắc ký cột alumin với hệ dung ly toluen-cloroform (3:2). Các alkaloid này được nhận danh bằng phép phổ nghiệm IR, UV, NMR và cho thấy trùng với mẫu chuẩn.

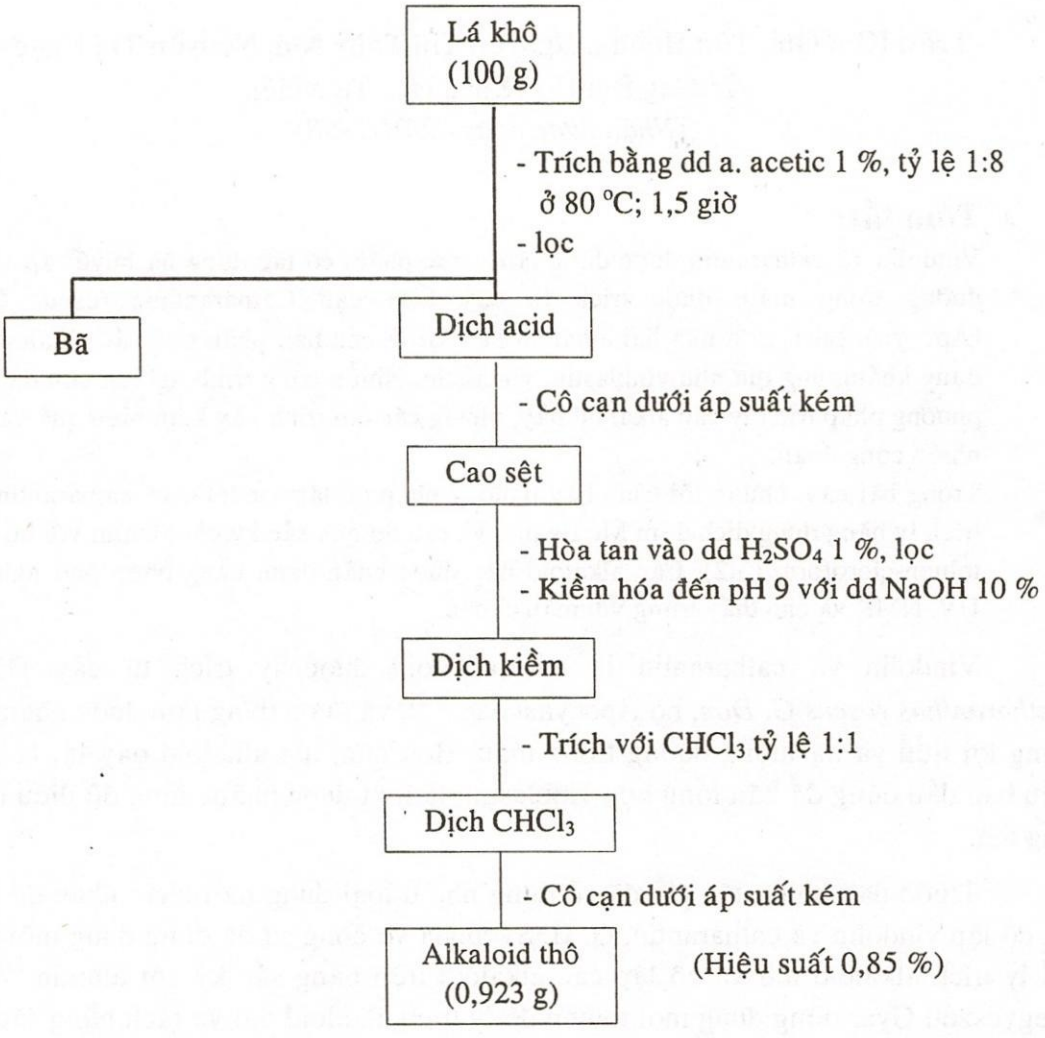
Vindolin và catharantin là các alkaloid được ly trích từ cây Dừa cạn *Catharanthus roseus G. Don*, họ Apocynaceae [1,2], và được dùng làm dược phẩm có tác dụng lợi tiểu và hạ lượng đường trong máu. Hơn nữa, hai alkaloid này lại là nguyên liệu ban đầu dùng để bán tổng hợp vinblastin, là một dược phẩm dùng để điều trị bệnh ung thư.

Trước đây nhiều tác giả đã sử dụng nhiều loại dung môi khác nhau để ly trích và cô lập vindolin và catharantin. G. H. Svoboda và cộng sự đã dùng dung môi benzen để ly trích alkaloid thô và cô lập các alkaloid trên bằng sắc ký cột alumin [3]; G. R. Vegyeszeti Gyar dùng dung môi toluen để ly trích alkaloid thô và tách bằng sắc ký cột silicagel [4]; Isao Ivagaki và cộng sự dùng metanol [5]; còn Huen Lee và cộng sự đã dùng CO_2 lỏng để trích ly alkaloid [6]. Các phương pháp trên đều sử dụng dung môi hữu cơ rất tốn kém tuy nhiên hiệu quả vẫn không cao.

Trong bài này, chúng tôi sử dụng dung dịch loãng acid acetic trong nước để trích alkaloid toàn phần và tách các alkaloid bằng dung dịch đệm Mc Ilvaine.

Alkaloid toàn phần trong cây dừa cạn được trích theo sơ đồ sau đây :

Sơ đồ ly trích alkaloid bằng nước



Để tách vindolin và catharantin từ hỗn hợp alkaloid thô, chúng tôi sử dụng dung dịch đệm Mc Ilvaine ở các phân đoạn pH khác nhau và kiểm tra phân đoạn có chứa các alkaloid trên bằng sắc ký bản mỏng silicagel với thuốc hiện màu SCAP (gồm 1 g sulfat cerium amonium, 10 g acid ortophosphoric). Kết quả cho thấy vindolin và catharantin hiện diện ở phân đoạn pH = 6, có màu hồng chuyển dần sang xanh (đối với vindolin) và màu xanh chuyển dần sang vàng (đối với catharantin) với thuốc thử SCAP.

Sau đó phân đoạn pH có chứa vindolin và catharantin được cho qua cột sắc ký alumin và rửa giải bằng các dung môi toluen, cloroform. Kết quả sắc ký cột được trình bày trong bảng sau :

P. ĐOẠN (300 ml)	DUNG LY	MÀU THEO TT SCAP	NHẬN DANH
1 – 5	Toluen	Không màu	
6 – 9	Toluen-Cloroform (60:40)	Không màu	
10 – 13	- " -	Màu hồng	Vindolin
14 – 16	Toluen-Cloroform (50:50)	Không màu	
17 – 20	- " -	Màu xanh	Catharantin
21 – 25	- " -	Không màu	

Vindolin thu được với hiệu suất 0.16 %, được kết tinh trong eter, cho tinh thể dạng bột màu trắng, không tan trong nước, tan trong etanol, cloroform. Xác định các tính chất hóa lý như sau : Dđ. 154 °C (eter etil) (lý thuyết : 154 - 155 °C), $[\alpha]^{20} = -18^{o}$ ($CHCl_3$) (đúng với lý thuyết).

Phổ tử ngoại của vindolin được ghi trên máy SHIMADZU UV-1201 cho 3 mũi hấp thu cực đại λ_{max} 212.0 nm (lg ε = 4.50), 250.4 nm (lg ε = 3.72) và 304.5 nm (lg ε = 3.50), trùng với lý thuyết.

Phổ hồng ngoại của vindolin được ghi trên máy SHIMADZU IR-470 cho các mũi đặc trưng 3380 cm^{-1} (O-H), 1727 (C=O), 1609-1643 (C=C) và 1250 (C-O), trùng với phổ chuẩn.

Phổ ^{1}H-RMN của vindolin được ghi trên máy với TMS làm chất nội chuẩn so sánh với các tri số do Gorman dã công bố [7] cho thấy :

Loại Proton	Giá trị δ (ppm)	
	Lý thuyết [7]	Thực đo
-OCH_3 (thơm) (s, 3H)	3.800	3.774
-N-CH_3 (s, 3H)	2.680	2.622
-$COOCH_3$ (s, 3H)	3.800	3.842
-$OCOCH_3$ (s, 3H)	2.070	1.994
Nhân thơm (s, 3H)	6.080 - 6.910	7.264
=CH (mũi đa, 2H)	5.880	5.906
-CH_2 (Etil) (mũi đa, 2H)	1.250	1.254
-CH_3 (Etil) (mũi đa, 3H)	0.840	0.841

Catharantin thu được với hiệu suất 0.11 %, được kết tinh trong MeOH, cho tinh thể dạng bột màu trắng, không tan trong nước, tan trong etanol, cloroform. Xác định các tính chất hóa lý như sau : Dđ. 128 °C (eter etil) (lý thuyết : 126 - 128 °C), $[\alpha]^{20}$ = 29° ($CHCl_3$) (đúng với lý thuyết).

Phổ tử ngoại của catharantin được ghi trên máy SHIMADZU UV-1201 cho 3 mũi hấp thu cực đại λ_{max} 226.2 nm (lg ε = 4.60), 284.5 nm (lg ε = 3.78) và 292.3 nm (lg ε = 3.70), trùng với lý thuyết.

Phổ hồng ngoại của catharantin được ghi trên máy SHIMADZU IR-470 cho các mũi đặc trưng 3400 cm^{-1} (N-H), 1714 (C=O), 1603-1627 (C=C) và 1268 (C-O), trùng với phổ chuẩn.

Phổ ^{1}H-RMN của catharantin được ghi trên máy với TMS làm chất nội chuẩn so sánh với các tri số do G. Biichi dã công bố [8] cho thấy :

Loại Proton	Giá trị δ (ppm)	
	Lý thuyết [8]	Thực đo
-$COOCH_3$ (s, 3H)	3.800	3.797
-NH (s, 1H)	7.000 - 8.000	7.264
NHân thơm (s, 4H)	7.080 - 7.650	"
-CH_3 (Etil) (mũi đa, 3H)	0.850	0.842
-CH_2- (Etil) (mũi đa, 2H)	2.050	2.062
-CH_2-N (mũi đa, 2H)	2.400	2.315
-CH (mũi đa, 1H)	1.700	1.674

A NOVEL EXTRACTION METHOD OF VINDOLINE AND CATHARANTHINE FROM THE *CATHARANTHUS ROSEUS G.DON (APOCYNACEAE)*

Trần Kim Qui, Tân Hoàng,
Nguyễn Thị Thùy Nhi, Nguyễn Thị Ngọc

Abstract:

Vindoline and catharanthine considered as mong the most active clinical drug in the treatment of high blood pressure and high concentration of glucose in blood, were extracted from the Catharanthus roseus G. Don (Apocynaceae). Moreover those two alkaloids are the components of the binary anticancer alkaloids vinblastine and vincristine. Several research teams investigated the methods of extraction of those alkaloids, but those process of extraction, about thirty, showed low efficacity and are no longer general and efficaceous method.

In the present paper, we describe the isolation process of vindoline and catharanthine by successive extraction with Mc Ilvaine'buffer solution and then by chromatography on alumina with eluent toluene-chloroform (3:2). The alkaloids extracted were characterized by the spectrocopic method IR, UV, NMR and showed to be identical with the authentic sample.

Tài liệu tham khảo

1. G. H. SVOBODA. *Lloydia* **24**, 173-178 (1961)
2. ĐỖ TẤT LỢI. "Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam", trang 324-326. NXB Khoa học và Kỹ thuật (1981)
3. N. NEUSS, G. H. SVOBODA, M. GORMAN. *J. Am. Assoc. Sci. Ed.* **48**, 659-666 (1959)
4. G. R. VEGYESZETI GYAR R. T., *Hung.* **153**, 200 (cl. C070) Oct 22, 1966, Appl Sept 16, 1965.
5. ISAO IVAGAKI, MINAHAM OGAWA, SANSEI NISKIBE, *Naguya Shiritsen Daigaku Yakugakubu Kiyo* **7**, 64-66 (1965).
6. HUEN LEE, WONG HI HONG, JI HO YOON, KYRE MIN SANG, SANG SOO SWAK, JAN ROYOL LIN. *Biotechnol. Tech.* **6** (2), 127-130 (1992).
7. GORMAN et al., *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 1058 (1962)
8. G. BIICHI et al., *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 999-1005 (1970)