

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CAO BENZEN VÀ CAO CLOROFOM CỦA CÂY AN ĐIỀN NHÁM – *HEDYOTIS RUDIS* PIERRE EX PIT., HỌ CÀ PHÊ (RUBIACEAE)

Mai Anh Hùng^{*}, Từ Đức Dũng[†], Nguyễn Kim Phi Phụng[‡]

1. Mở đầu

Chi *Hedyotis* (họ Cà phê Rubiaceae) có khoảng 160 loài, phân bố chủ yếu ở Trung Hoa, Ấn Độ, Nhật Bản, Indonesia, Thái Lan và Việt Nam. Trong đó có nhiều loài đã được ngành y học cổ truyền Việt Nam và Trung Hoa sử dụng để điều trị các chứng bệnh như bọng, lỵ, rắn cắn, viêm ruột thừa, viêm gan, viêm amidan và đặc biệt là có hoạt tính kháng nhiều dòng tế bào ung thư, như ung thư phổi A549, ung thư buồng trứng SK-OV-3, ung thư dạ dày SNU-1, ... [1,2]



Hình 1. Cây An điền nhám - *Hedyotis rudis* Pierre ex Pit.

Tuy chưa có công trình nào công bố về thành phần hóa học cũng như dược tính của cây *Hedyotis rudis* Pierre ex Pit. nhưng chúng tôi hy vọng rằng cây *Hedyotis rudis* cũng sẽ thừa hưởng những đặc tính quý báu của các cây cùng chi.

Bài này nhằm giới thiệu hai axit tritecpen đã cô lập được từ các phân đoạn cao benzen và cao clorofom của cây

Hedyotis rudis thu hái ở vùng núi Langbiang (huyện Lạc Dương, tỉnh Lâm Đồng).

2. Kết quả và thảo luận

Hợp chất (1)

Hợp chất (1) được cô lập từ phân đoạn cao clorofom, có dạng bột màu trắng.

Phổ IR (KBr, cm^{-1}): 3433 (OH); 2966-2870 (CH); 1690 (C=O); 1042 (C-O).

^{*} CN, Khoa Hóa học - Trường ĐH Sư phạm Tp.HCM

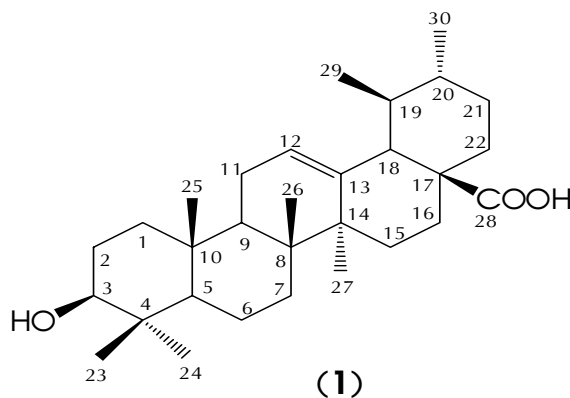
[†] CN, Khoa Hóa học - Trường ĐH Khoa học tự nhiên Tp. HCM

[‡] PGS.TS, Khoa Hóa học - Trường ĐH Khoa học tự nhiên Tp. HCM

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6 , δppm): 5,13 (m; H-12); 3,01 (dd; 10,0Hz; 5,0Hz; H-3); 2,11 (d; 11,5Hz; H-18).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp với DEPT-NMR (125MHz, DMSO- d_6 , δppm) cho thấy có sự xuất hiện tín hiệu của nguyên tử cacbon cacboxylic ở vùng từ trường thấp 178,4 (–COOH). Đồng thời có cặp tín hiệu ở 138,3 (>C=) và 124,7 (–CH=), đây là cặp tín hiệu đặc trưng của nối đôi dạng >C=CH– của hợp chất có khung ursan-12-en. Do đó, hợp chất (1) có thể là một axit tritecpen có khung sườn ursan-12-en.

So sánh các tín hiệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT của (1) với axit ursolic [3] (bảng 1) cho thấy có sự tương hợp. Do đó, chúng tôi khẳng định hợp chất (1) đã cô lập được là axit ursolic.



Bảng 1. Số liệu phổ NMR của (1) so sánh với axit ursolic

Vị trí C	Hợp chất (1) (DMSO- d_6)			Axit ursolic (DMSO- d_6)
	DEPT	δ_{H} ppm (J, Hz)	δ_{C} ppm	δ_{C} ppm
1	-CH ₂ -		38,3	38,2
2	-CH ₂ -		27,0	27,0
3	>CH-OH	3,01 (dd; 10,0; 5,0)	77,0	76,8
4	>C<		38,5	38,5
5	>CH-	0,66 (m)	54,9	54,8
6	-CH ₂ -		18,0	18,0
7	-CH ₂ -		32,8	32,7

8	>C<		41,7	41,6
9	>CH-		46,9	46,8
10	>C<		36,6	36,3
11	-CH ₂ -		22,9	22,8
12	-CH=	5,13 (m)	124,7	124,6
13	>C=		138,3	138,2
14	>C<		41,7	41,6
15	-CH ₂ -		27,6	27,5
16	-CH ₂ -		23,9	23,8
17	>C<		47,1	47,0
18	>CH-	2,11 (d; 11,5)	52,5	52,4
19	>CH-		38,6	38,4
20	>CH-		38,5	38,4
21	-CH ₂ -		30,2	30,2
22	-CH ₂ -		36,4	36,5
23	-CH ₃	0,90 (s)	28,3	28,3
24	-CH ₃	0,87 (s)	15,3	15,2
25	-CH ₃	0,68 (s)	16,1	16,1
26	-CH ₃	0,75 (s)	17,0	17,1
27	-CH ₃	1,04 (s)	23,3	23,3
28	-COOH		178,4	178,3
29	-CH ₃	0,81 (d; 6,5)	17,1	16,9
30	-CH ₃	0,91 (d; 9,0)	21,1	21,1

Hợp chất (2)

Hợp chất (2) được cô lập từ phân đoạn cao benzen của cây *Hedyotis rudis*, có dạng bột màu trắng (kết tinh trong CHCl₃).

Phổ ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃, δppm): 5,23 (dd; 3,5Hz; 3,5Hz; H-12); 4,49 (dd; 7,5Hz; 6,5Hz; H-3); 2,18 (d; 11,0Hz; H-18); 2,04 (s; H-2').

Phổ ¹³C-NMR kết hợp với DEPT-NMR (125MHz, CDCl₃, δppm) cho thấy ở vùng từ trường thấp, ngoài tín hiệu của nguyên tử cacbon cacboxylic tại 183,7 (-COOH) còn có tín hiệu của nguyên tử cacbon cacboxylat tại 171,0 (-COO-). Bên cạnh đó là cặp tín hiệu đặc trưng của nối đôi >C=CH- trên khung ursan-12-

en tại 143,7 (>C=) và 122,3 (-CH=). Do đó, hợp chất (2) có thể là một dẫn xuất dạng este của axit ursolic.

So sánh các tín hiệu phổ ^{13}C -NMR của (2) với phổ của axit 3 β -axetylursolic^[4] (bảng 2) cho thấy có sự tương hợp. Đồng thời các tương quan thu nhận được từ các phổ hai chiều như HSQC, HMBC và ^1H - ^1H COSY (bảng 2) của (2) đều phù hợp với cấu trúc của axit 3 β -axetylursolic. Do đó, chúng tôi đề nghị hợp chất (2) là axit 3 β -axetylursolic.

3. Thực nghiệm

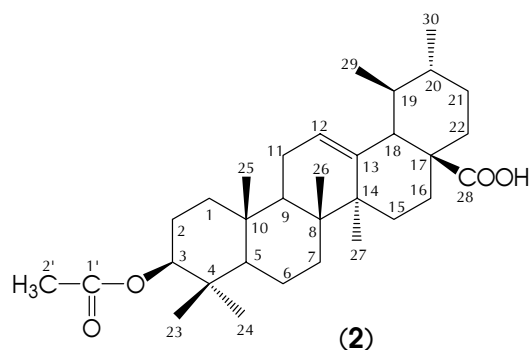
3.1. Nguyên liệu

Cây tươi được thu hái tại vùng núi Langbiang, thuộc huyện Lạc Dương, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 07 năm 2008. Tên khoa học của cây được xác định là *Hedyotis rudis* Pierre ex Pit. bởi dược sĩ Phan Đức Bình, Phó Tổng biên tập Bán nguyệt san Thuốc và Sức Khỏe. Cây được lưu mẫu trong quyển lưu giữ tiêu bản thực vật, kí hiệu mẫu số US-C016 tại Bộ môn Hóa hữu cơ, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Tp.HCM.

3.2. Chiết tách và cô lập các hợp chất

Mẫu cây tươi (14,0kg) được rửa sạch, để khô tự nhiên, sấy ở 65°C trong 48 giờ và được xay nhuyễn thành dạng bột (2,0kg). Dịch chiết trong quá trình ngâm dầm mẫu cây với etanol 96° ở nhiệt độ phòng được cô quay dưới áp suất thấp để thu được cao thô etanol (100,0g). Tiến hành sắc kí cột silica gel pha thường lần lượt bằng các dung môi ete dầu hỏa 60-90, benzen, clorofom, etyl axetat và metanol để điều chế các phân đoạn cao có độ phân cực tương ứng.

Bằng các phương pháp sắc kí cột silica gel và sắc kí điều chế nhiều lần phân đoạn cao clorofom (16,5g) và cao benzen (23,0g), bước đầu đã cô lập được hợp chất (1) (14,0g) và (2) (60,0mg) tương ứng. Quá trình chiết tách và cô lập các hợp chất khác trong các phân đoạn cao này và các phân đoạn cao khác vẫn đang được tiếp tục thực hiện.



Bảng 2. Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT và tương quan HSQC, HMBC, $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY của hợp chất (2) so sánh với phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, Piridin- d_5) của axit 3β -axetylursolic

Vị trí C	Axit 3β -axetylursolic (Piridin- d_5)		Hợp chất (2) (CDCl_3)			
	DEPT	δ_{C} ppm	HSQC		HMBC (H \rightarrow C)	$^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY
			δ_{C} ppm	δ_{H} ppm (J, Hz)		
1	-CH ₂ -	38,4	38,3	1,65 (m) và 1,07 (m)	C-2; C-3; C-5	H-2; H-3; H-25
2	-CH ₂ -	24,1	23,6	1,87 (m) và 1,07 (m)	C-23	H-1
3	-CH-O-	80,9	81,0	4,49 (dd; 7,5; 6,5)	C-2; C-10; C-23; C-24; C-1'	
4	>C<	38,0	39,5			
5	>CH-	55,7	55,3	0,82 (m)	C-3	
6	-CH ₂ -	18,6	18,2	1,52 (m) và 1,36 (m)	C-1; C-5; C-8; C-10; C-24	H-24
7	-CH ₂ -	33,5	32,8	0,92 (dd; 11,5; 8,5)	C-5; C-9; C-26	H-11; H-26
8	>C<	40,0	41,9			
9	>CH-	47,9	47,5	1,54 (m)	C-11; C-27	
10	>C<	37,2	37,7			
11	-CH ₂ -	23,7	23,3	1,91 (m) và 1,07 (m)	C-9; C-12; C-13; C-25	H-9; H-12; H-25

12	-CH=	125,6	125,7	5,23 (dd; 3,5; 3,5)	C-8; C-9; C-11; C-18	H-11
13	>C=	139,4	138,0			
14	>C<	42,6	41,9			
15	-CH ₂ -	28,8	29,7	1,25 (m)		
16	-CH ₂ -	25,0	24,1	1,99 (dd; 13,5; 4,0)	C-28	H-22; H-27
17	>C<	48,2	48,0			
18	>CH-	53,6	52,5	2,18 (d; 11,0)	C-12; C-13; C-16; C-17; C-19; C-27; C-30	H-19; H-20
19	>CH-	39,6	39,3	1,33 (m)		H-18; H-21; H-30
20	>CH-	39,6	39,0	1,33 (m)		H-21; H-22; H-30
21	-CH ₂ -	31,2	30,6	1,50 (m)	C-20; C-22	H-19; H-20
22	-CH ₂ -	37,6	36,7	1,70 (m)		
23	-CH ₃	28,3	28,1	0,86 (s)	C-3; C-4	H-2; H-24
24	-CH ₃	17,1	16,7	0,85 (s)	C-3; C-4; C-5; C-10; C-23	H-2'
25	-CH ₃	15,7	15,4	0,95 (s)	C-1; C-9; C-10	H-1; H-11
26	-CH ₃	17,5	17,0	0,85 (s)	C-6; C-7; C-8; C-10	
27	-CH ₃	24,1	23,6	1,63 (s)	C-15	
28	-COOH	180,1	183,7			
29	-CH ₃	17,7	17,1	0,76 (d; 11,0)	C-20	H-19
30	-CH ₃	21,6	21,3	0,94 (d; 6,5)	C-20; C-21; C-22; C-29	H-19; H-20
1'	-COO-	170,7	171,0			
2'	-CH ₃	21,3	21,2	2,04 (s)	C-1'	

3.3. Phổ nghiệm

Phổ IR được ghi trên máy FTIR-8400S Shimadzu tại Phòng thí nghiệm Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm Tp.HCM (280 An Dương Vương, Q5, Tp.HCM).

Các phổ NMR (được ghi trên máy Bruker Avance 500 ở tần số 500MHz và 125MHz cho ^1H -NMR và ^{13}C -NMR tương ứng) tại Phòng NMR, Viện Hóa học và Khoa Học Công Nghệ Việt Nam (18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội).

4. Kết luận

Từ các phân đoạn cao clorofom và benzen của cây *Hedyotis rudis* Pierre ex Pit., chúng tôi đã bước đầu cô lập được hai hợp chất là axit ursolic (**1**) và axit 3 β -axetylursolic (**2**) tương ứng. Trong đó, hợp chất (**2**) lần đầu tiên được tìm thấy trong chi *Hedyotis* và đã cô lập được dưới dạng tinh khiết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Võ Văn Chi (1996), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, NXB Y Học Tp. HCM, tr. 104.
- [2]. Kim Sung Hoon, Ahn Byung-Zun, Ryu Shiyong (1998), “Antitumor effects of ursolic acid isolated from *Oldenlandia diffusa*”, *Phytotherapy research*, **12** (8), pp. 553-556.
- [3]. Gamal A. Mohamed and Sabrin R. M. Ibrahim (2007), “Eucalyptone G, a new phloroglucinol derivative and other constituents from *Eucalyptus globulus* Labill”, *ARKIVOC* (**XV**), pp. 281-291.
- [4]. Alexandre T. C. Taketa, Eberhard Breitmaier and Eloir P. Schenkel (2004), “Triterpenes and Triterpenoidal Glycosides from the Fruits of *Ilex paraguariensis* (Maté)”, *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 15, No. 2, pp. 205-211.

Tóm tắt

Ở Việt Nam và trên thế giới, cây An điền nhám – *Hedyotis rudis* Pierre ex Pit., họ Cà phê (Rubiaceae), vẫn chưa được nghiên cứu về mặt hóa học và dược tính. Từ phân đoạn cao benzen và cao clorofom của cây *Hedyotis rudis* Pierre ex Pit., chúng tôi đã cô lập được hai axit tritecpen là axit ursolic (1) và axit 3 β -axetylursolic (2). Cấu trúc của những hợp chất này đã được khẳng định bởi các dữ liệu phổ NMR và so sánh với tài liệu tham khảo.

Abstract

Examination of chemical elements of benzene and chloroform residues extracted from *hedyotis rudis pierre ex pit.*, rubiaceae

Chemically and pharmaceutically speaking, *Hedyotis rudis* Pierre ex Pit. Has not been studied in Vietnam and over the world yet. From the benzene and chloroform residues of the whole plant *Hedyotis rudis* Pierre ex Pit., two triterpenoid acids were isolated: ursolic acid (1) and 3 β -acetylursolic acid (2). The structures of these compounds were identified through the NMR data and compared with references.