

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CỦA MỘT SỐ DẪN XUẤT NAPHTHOPYRONE VÀ ANTHRAQUINONE TỪ CŨ SÂM ĐẠI HÀNH (*Eleutherine bulbosa*)

Nguyễn Thị Hồng Vân^{1,*}, Lưu Tuấn Anh¹, Lê Minh Hà¹, Ngô Thị Phương¹,
Trịnh Anh Viên², Phạm Quốc Long¹

¹*Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện HLKHCNVN,*

18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.

²*Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh – cơ sở Thanh Hóa*

*Email: van762004@yahoo.com

Đến Toà soạn: 01/7/2012; Chấp nhận đăng: 31/8/2013

TÓM TẮT

Hai dẫn xuất naphthopyrone là eleutherinol (**1**) và eleutherinoside A (**2**) đã được phân lập từ căn chiết etyl axetat của củ sâm đại hành (*Eleutherine bulbosa*) cùng với một dẫn xuất anthraquinone là 1,3,6-trihydroxy-8-methyl-anthraquinone (**3**). Cấu trúc của cả 3 hợp chất này đã được xác định dựa vào các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1 chiều và 2 chiều.

Từ khoá: sâm đại hành, naphthopyrone, eleutherinol, eleutherinoside A, anthraquinone, 1,3,6-trihydroxy-8-methyl-anthraquinone, *Eleutherine bulbosa*.

1. MỞ ĐẦU

Cây Sâm đại hành (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urban) thuộc họ Lay đơn (Iridaceae), là loại cây thảo cao 20 – 30 cm, thân hành, có củ màu đỏ. Ở Việt Nam, cây mọc hoang ở nhiều nơi, dân gian thường sử dụng củ sấy khô làm thuốc uống chữa các chứng bệnh thiếu máu, vàng da, hoa mắt, nhức đầu, tiêu viêm, ho lao, ho gà, thương tích lưu huyết, viêm họng cấp và mạn, tê bại do thiếu dinh dưỡng, đình nhọt, viêm da, lở ngứa, chốc đầu trẻ em, tổ đũa, vẩy nến. Loại này cũng phổ biến ở vùng Nam Mỹ và các nước khu vực Đông Nam Á và thường được dùng trong y học dân gian để chữa trị các chứng bệnh về tim và phục hồi vết thương [1, 2]. Các nghiên cứu trước đây cho thấy củ sâm đại hành có chứa các hợp chất naphthoquinon cùng một số dẫn xuất của anthraquinon và naphthalen [3, 4]. Các hợp chất này thể hiện những hoạt tính sinh học đáng chú ý như kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm giảm đau, gây độc tế bào... [5]. Trong chương trình nghiên cứu về thành phần hóa học củ sâm đại hành, chúng tôi đã phân lập được một số hợp chất naphthopyran từ củ sâm đại hành [6]. Trong bài báo này, chúng tôi tiếp tục trình bày việc phân lập và xác định cấu trúc của hai dẫn xuất của naphthopyrone là eleutherinol (**1**) và eleutherinoside A (**2**) cùng một dẫn xuất của anthraquinone là 1,3,6-trihydroxy-8-methyl-anthraquinone (**3**) từ củ sâm đại hành.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Củ sâm đại hành (*Eleutherin bulbosa*) được thu hái tại Chí Linh, Hải Dương vào tháng 2 năm 2012. Mẫu cây đã được TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Khoa học Công nghệ Việt Nam, giám định tên khoa học. Mẫu tiêu bản số VMN-B0001369 được lưu giữ tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Hóa chất và thiết bị

Sắc kí lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Aluofolien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715). Phát hiện vết chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 368 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10 %, sấy khô rồi hơi nóng từ từ trên bếp điện đến khi hiện màu. Sắc kí lớp mỏng điều chế được thực hiện trên bản mỏng thủy tinh tráng sẵn Merck 60 F₂₅₄, kích cỡ 20 × 20 cm. Sắc kí cột được tiến hành với chất hấp phụ là silicagel Merck, pha thường, cỡ hạt là 0,040 – 0,063 mm (240 - 430 mesh). Điểm nóng chảy được đo trên máy BOTIUS (Heiztisch Mikroskop) của Đức. Phổ khối ion hóa bụi electron (ESI-MS) được đo trên máy AGILENT 1100 LC-MSD Trap spectrometer. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR (500 MHz) và ¹³C-NMR (125 MHz) được đo trên máy Bruker AM500-FT-NMR, sử dụng TMS làm chất nội chuẩn.

2.3. Chiết tách và phân lập các chất

Thực hiện quá trình chiết kết hợp siêu âm và gia nhiệt 5 kg bột khô củ sâm đại hành trong dung môi metanol ở 50 °C, (3 lần × 2 giờ mỗi lần). Tổng dịch metanol sau đó được cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 800 g cao chiết metanol tổng. Hòa tan cao metanol tổng trong nước và lần lượt chiết với các dung môi có độ phân cực tăng dần là n-hexan, etyl axetat và n-butanol thu được các dịch chiết tương ứng. Cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 40 g cao chiết n-hexan (kí hiệu EB/A), 53 g cao chiết etyl axetat (kí hiệu EB/B) và 67 g cao n-butanol (kí hiệu EB/C). Phần dịch nước còn lại được tiến hành sắc kí trên cột dianion với dung môi rửa giải là metanol, sau khi cô quay để thu hồi dung môi thu được 12 g cặn EB/D.

Cặn EB/B (53 g) được tiến hành phân lập trên sắc kí cột với chất hấp phụ silicagel pha thường, hệ dung môi rửa giải n-hexan:axeton (từ 90 : 1 đến 1 : 1, v/v) thu được 7 phân đoạn (kí hiệu từ B1 đến B7). Phân đoạn B5 được tiếp tục sắc kí cột trên silicagel pha đảo với hệ dung môi rửa giải MeOH:H₂O (6:1, v/v) thu được hợp chất **1** (12 mg, bột màu trắng). Sau khi tinh chế phân đoạn B3 bằng sắc kí lớp mỏng điều chế với hệ dung môi rửa giải n-hexan:xeton (4:1, v/v) thu được chất hợp **3** (6 mg, bột màu trắng).

Cặn EB/D (12 g) được sắc kí trên cột dianion với dung môi rửa giải theo nồng độ tăng dần MeOH (0 % MeOH:100 % H₂O; 25 % MeOH, 50 % MeOH, 75 % MeOH, và 100 % MeOH) thu được 5 phân đoạn (kí hiệu từ C1 đến C5). Phân đoạn C3 tiếp tục được tiến hành sắc kí cột trên silica gel pha thường và rửa giải với hệ dung môi CHCl₃ : MeOH : H₂O (5 : 1 : 0,15, v/v/v) thu được 3 phân đoạn nhỏ hơn kí hiệu từ C3.1 đến C3.3. Từ phân đoạn C3.2, bằng sắc kí cột trên silica gel pha đảo và rửa giải bằng hệ dung môi MeOH : H₂O (1 : 1, v/v) thu được chất hợp **2** (9 mg, bột màu trắng).

Hợp chất 1: Eleutherinol

Chất bột màu trắng, m.p. 308 – 310 °C, ESI-MS m/z 257 [M+H]⁺

¹H-NMR (500 MHz, MeOH) δ (ppm): 6,18 (1H, s, H-3); 7,19 (1H, s, H-6); 6,56 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-7); 6,58 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-9); 2,37 (3H, s, 2-Me); 2,71 (3H, s, 5-CH₃); 10,05 (1H, s, 8-OH); 10,15 (1H, s, 10-OH).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH) δ (ppm): 156,8 (C-1); 163,5 (C-2); 112,1 (C-3); 178,6 (C-4); 116,3 (C-4a); 134,4 (C-5); 124,8 (C-6); 138,7 (C-6a); 102,9 (C-7); 156,9 (C-8); 101,2 (C-9); 159,3 (C-10); 107,2 (C-10a); 19,4 (2-Me); 23,0 (5-Me).

Hợp chất 2: Eleutherinoside A

Chất bột màu trắng, m.p. 275278 ESI-MS m/z 417 [M-H]⁻.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 6,18 (1H, s, H-3); 7,27 (1H, s, H-6); 6,89 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-7); 6,66 (1H, $J = 2,1$ Hz, H-9); 2,35 (3H, s, 2-Me); 2,70 (3H, s, 5-CH₃); 4,98 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-1'); 3,24 (1H, t, $J = 7,6$ Hz, H-2'); 3,36 (1H, m, H-3'); 3,19 (1H, t, $J = 8,3$ Hz, H-4'); 3,28 (1H, m, H-5'); 3,49 (1H, dd, $J = 5,5$ Hz, 11.4 Hz, H-6'α); 3,69 (1H, dd, $J = 1,2$ Hz, 11,4 Hz, H-6'β).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆), δ_c , ppm: 156,3 (C-1); 163,7 (C-2); 112,1 (C-3); 178,5 (C-4); 117,1 (C-4a); 134,7 (C-5); 125,5 (C-6); 138,1 (C-6a); 101,5 (C-7); 158,5 (C-8); 103,1 (C-9); 156,5 (C-10); 108,7 (C-10a); 19,5 (C-2-Me); 23,0 (C-5-Me); 100,0 (C-1'); 73,2 (C-2'); 77,1 (C-3'); 69,6 (C-4'); 76,7 (C-5'); 60,6 (C-6').

Hợp chất 3: Deoxyerythrolaccin (1,3,6-trihydroxy-8-methyl-anthraquinone)

Chất bột màu trắng (12 mg), m.p. 325 – 327 °C, ESI-MS m/z 271 [M+H]⁺.

¹H-NMR (500 MHz, MeOH) δ (ppm): 6,40 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-2); 6,94 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-4); 7,31 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-5); 6,80 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-7); 2,61 (3H, s, 8-CH₃).

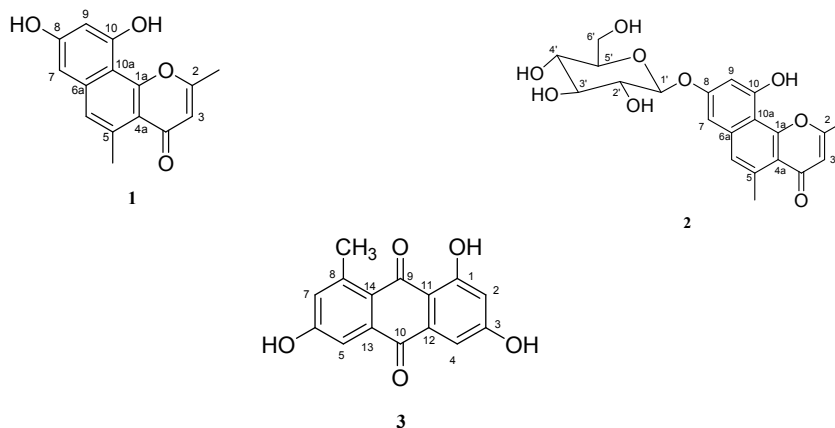
¹³C-NMR (125 MHz, MeOH) δ (ppm): 166,2 (C-1); 109,3 (C-2); 165,3 (C-3); 108,2 (C-4); 113,3 (C-5); 163,0 (C-6); 125,6 (C-7); 146,6 (C-8); 189,5 (C-9); 184,1 (C-10); 111,6 (C-11); 135,8 (C-12); 138,3 (C-13); 124,3 (C-14); 24,2 (8-CH₃).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bằng phương pháp sắc kí cột kết hợp trên silicagel pha thường, pha đảo và trên dianion với các hệ dung môi rửa giải khác nhau, từ cặn chiết etyl axetat của củ sâm đại hành, chúng tôi đã phân lập được ba hợp chất sạch kí hiệu là **1**, **2** và **3**.

Hợp chất **1** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, có khối lượng phân tử 256 dựa vào pic ion giả phân tử tại m/z 257 [M+H]⁺ trên phổ ESI-MS, tương ứng với công thức phân tử C₁₅H₁₂O₄. Phổ ¹H-NMR của **1** có các tín hiệu đặc trưng của 2 proton thơm ghép cặp meta tại δ_H 6,56 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-7) và δ_H 6,58 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-9); một tín hiệu singlet của 1 proton olefin tại δ_H 6,18 (1H, s, H-3) và một tín hiệu singlet khác của 1 proton thơm tại δ_H 7,19 (1H, s, H-6). Ngoài ra trên phổ ¹H-NMR của **1** còn xuất hiện 2 tín hiệu singlet của proton thuộc 2 nhóm methyl tại δ_H 2,37 (3H, s, CH₃-2) và δ_H 2,71 (3H, s, CH₃-5). Tương ứng trên phổ ¹³C-NMR và DPET chỉ ra sự có mặt của 15 vạch tín hiệu tương ứng với 15 nguyên tử cacbon, trong

đó có 2 tín hiệu của cacbon thuộc nhóm methyl tại δ_C 19,4 (CH₃-2) và δ_C 22,97 (CH₃-5), 4 tín hiệu của cacbon thuộc nhóm metin tại δ_C 112,1 (C-3), 124,8 (C-6), 102,9 (C-7), 101,1 (C-9), 8 tín hiệu của C bậc 4 và một tín hiệu của cacbon thuộc nhóm cacbonyl vòng lacton tại δ_C 178,6. Các dữ liệu phổ thu được của **1** phù hợp với dạng khung naphthopyrone khá phổ biến trong các loài *Eleutherine* [7]. So sánh các dữ liệu phổ trên với các số liệu phổ đã công bố, hợp chất **1** được xác định là eleutherinol và có công thức như trong hình vẽ 1 [8].



Hình 1. Cấu trúc của các hợp chất **1-3** phân lập từ củ sâm đại hành.

Phổ ¹H-NMR của hợp chất **2** cho thấy hợp chất này cũng chứa khung naphthopyrone được đặc trưng bởi hai proton thơm ghép cặp meta với nhau tại δ_H 6,89 (1H, d, H-7) và δ_H 6,66 (1H, d, H-9) với hằng số tương tác *J* đều bằng 2,1 Hz; một tín hiệu singlet tại δ_H 6,18 (1H, s, H-3) và một tín hiệu singlet của 1 proton thơm khác ở δ_H 7,27 (1H, s, H-6); ngoài ra còn có 2 nhóm CH₃ tại δ_H 2,35 (3H, s, Me-2) và δ_H 2,70 (3H, s, Me-5). Nhưng khác với **1**, trên phổ ¹H-NMR của hợp chất **2** còn thấy sự xuất hiện của một cấu tử đường glucose thông qua sự xuất hiện của các tín hiệu proton của các nhóm metin có độ chuyển dịch hóa học nằm trong khoảng từ 3,19 đến 3,69 ppm và 1 tín hiệu proton anome tại δ_H 4,98 (d, *J* = 7,6 Hz). Phổ ¹³C-NMR và DEPT của **2** cũng cho thấy, ngoài sự xuất hiện 15 tín hiệu của khung naphthopyrone tương tự như của hợp chất **1**, hợp chất **2** còn thấy xuất hiện thêm các tín hiệu của 5 nguyên tử cacbon có độ chuyển dịch hóa học nằm trong vùng từ 60,6 đến 77,1 ppm và 1 tín hiệu của cacbon anome tại δ_C 100 ppm, điều này cho thấy trong cấu trúc của **2** còn có sự xuất hiện của một cấu tử đường glucose gắn vào khung naphthopyrone. Phổ khối lượng phun mù điện tử của **2** cho thấy có pic ion giả phân tử tại *m/z* = 417 [M-H]⁻ chứng tỏ **2** có khối lượng phân tử 418, nhiều hơn **1** một cấu tử đường glucose. Các liên kết giữa C và H được chỉ ra ở phổ HMQC đều phù hợp với các kết luận trên. Cấu hình dạng β của C anomeric được xác định dựa vào hằng số tương tác *J*_{H-1',H-2'} = 7,6 Hz. Phổ HMBC của **2** cho thấy sự tương tác giữa H-1' (δ_H 4,98) với C-8 (δ_C 158,5), điều này khẳng định cấu tử đường glucose được gắn vào vị trí C-8 của khung naphthopyrone. Từ các dữ liệu trên, kết hợp với tài liệu tham khảo [9], hợp chất **2** được xác định là eleutherinoside A và có cấu trúc như ở hình 1. Hợp chất eleutherinoside A thể hiện có hoạt tính chống đái đường tốt với giá trị IC₅₀ là 0,5 mM [10].

Hợp chất **3** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ khối cho pic ion giả phân tử tại *m/z* 271 [M+H]⁺ tương ứng với công thức phân tử C₁₅H₁₀O₅. Phổ ¹H-NMR của **3** có tín hiệu của 2 cặp proton thơm ở vị trí meta với nhau tại δ_H 6,40 (1H, d, *J* = 2,7 Hz, H-2), 6,94 (1H, d, *J* = 2,7

Hz, H-4), 7,31 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-5) và 6,80 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-7); một tín hiệu singlet tại δ_H 2,61 ppm tương ứng với sự xuất hiện của một nhóm CH_3 . Trên phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho thấy tín hiệu của 15 nguyên tử C, trong đó có 12 nguyên tử C vòng thơm dao động trong khoảng 108,2 ppm cho đến 166,2 ppm và 2 nguyên tử cacbon của 2 nhóm carbonyl tại δ_C 184,9 (C-10) và δ_C 189,5 (C-9) gợi ý cho thấy sự có mặt của bộ khung anthraquinone khá phổ biến ở các loài *Eleutherine*; ngoài ra trên phổ DEPT còn cho thấy tín hiệu của 1 nhóm CH_3 gắn với vòng thơm ở δ_C 24,2 ppm (8-Me). Các dữ kiện phổ này đều phù hợp với tín hiệu cho trên phổ 2 chiều HMQC và HMBC. Trên phổ HMQC thấy tương tác của C-H liên kết trực tiếp với nhau gồm các tương tác C-2 với H-2, C-4 với H-4, C-5 với H-5, C-7 với H-7. Phổ HMBC cho tín hiệu của tương tác giữa C và H cách nhau 3 liên kết gồm các tương tác của H-2 với C-1, C-3, C-4, C-11; H-4 với C-2, C-3, C-10, C-11; H-5 với C-6, C-7, C-10, C-14; H-7 với C-5, C-6, C-14 và 8- CH_3 ; đặc biệt, tương tác của proton của nhóm CH_3 -8 với các cacbon C-7, C-8, C-14 đã cho thấy nhóm CH_3 được gắn vào vị trí C8 của bộ khung anthraquinone. So sánh các dữ liệu thu được với các số liệu đã công bố thấy hoàn toàn trùng khớp [11]. Do vậy, hợp chất **3** được xác định là 1,3,6-trihydroxy-8-methyl-anthraquinone, có công thức như hình 1.

4. KẾT LUẬN

Từ cặn chiết etyl axetat và cặn chiết nước của củ Sâm đại hành (*Eleutherine bulbosa*) đã phân lập được hai dẫn xuất của naphthopyrone và một dẫn xuất của anthraquinone. Bằng các phương pháp phổ kết hợp gồm ESI-MS và 1D-NMR, 2D-NMR, cấu trúc của 3 hợp chất này đã được xác định là eleutherinol, eleutherinoside A và 1,3,6-trihydroxy-8-methyl-anthraquinone.

Lời cảm ơn. Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của Đề tài cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số đề tài VAST 04.01/12-13. Tác giả xin cảm ơn TS. Nguyễn Quốc Bình đã thu hái và giám định mẫu thực vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi - Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, 1997, tr. 1029.
2. Đỗ Tất Lợi - Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, 2004, tr. 145.
3. Alves Tania Maria Almeida, Kloos Helmut et al. - Eleutherinone, a novel fungitoxic naphthoquinone from *Eleutherine bulbosa* (Iridaceae), *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **98** (5) (2003) 709-712.
4. Gallo Francesca R., Palazzino Giovanna et al. - Polyketides from *Eleutherine bulbosa*, *Natural Product Research* **24** (16) (2010) 1578-1586.
5. Bianchi C, Ceriotti G. - Chemical and pharmacological investigations of constituents of *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb. (Iridaceae), *Journal of Pharmaceutical Sciences* **64** (8) (2010) 1305-1308.
6. Nguyễn Thị Hồng Vân, Đỗ Thị Thanh Huyền, Ngô Thị Phương, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Bùi Kim Anh, Nguyễn Mạnh Cường, Nguyễn Tuấn Anh, Lê Minh Hà - Một số dẫn xuất naphthopyran phân lập từ củ sâm đại hành (*Eleutherine bulbosa*) ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* **50** (3A) (2012) 8-14.
7. Ah-Reum HAN, aHye-Young MIN, Joo-Won NAM, Na-Youn LEE, aAdam WIRYAWAN, Wahyu SUPRAPTO, Sang Kook LEE, Kang Ro LEE, and Eun-Kyoung SEO - Identification of a New Naphthalene and Its Derivatives from the Bulb of

- Eleutherine americana with Inhibitory Activity on Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Production, *Chem. Pharm. Bull.* **56** (9) (2008) 1314-1316.
8. Byung-Sun MIN, Jong-Pill LEE, Min-Kyun NA, Ren-Bo AN, Sang-Myung LEE, Hyeong-Kyu LEE, KiHwan BAE, and Sam-Sik KANG - A New Naphthopyrone from the Root of *Pleuropterus ciliinervis*, *Chem. Pharm. Bull.* **51** (11) (2003) 1322-1324.
 9. Tomohiro Ieyama, Maria D.P.T. Gunawan-Puteri, Jun Kawabata - α -Glucosidase inhibitors from the bulb of *Eleutherine americana*, *Food Chemistry* **128** (2011) 308–311.
 10. Sompol Paramapojn, Markus Ganzera, Wandee Gritsanapan, Hermann Stuppner - Analysis of naphthoquinone derivatives in the Asian medicinal plant *Eleutherine americana* by RP-HPLC and LC-MS, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **47** (2008) 990-993.
 11. Dieudonne Ngamga, Maurice D. Awoufack, Pierre Tane, Merhatibeb Bezabih, Berhanu M. Abegaz - Two new anthraquinones from *Gladiolus psittacinus*, *Biochemical Systematics and Ecology* **35** (2007) 709-713.

ABSTRACT

ISOLATION AND STRUCTURAL ELUCIDATION OF SOME NAPHTHOPYRONE AND ANTHRAQUINONE DERIVATIVES FROM *Eleutherine bulbosa*

Nguyen Thi Hong Van^{1,*}, Luu Tuan Anh¹, Le Minh Ha¹, Ngo Thi Phuong¹,
Trinh Anh Vien², Pham Quoc Long¹

¹*Institute of Natural Products Chemistry, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi*

²*Industrial University of Hochiminh city, Thanh Hoa city*

*Email: van762004@yahoo.com

Two naphthopyrone derivatives, including eleutherinol (**1**) and eleutherinoside A (**2**) have been isolated from the ethyl acetate extract of *Eleutherine bulbosa* together with an anthraquinone derivative 1,3,6-trihydroxy-8-methyl-anthraquinone (**3**). The structures of these compounds were determined by spectroscopic data analysis.

Keywords: naphthopyrone, eleutherinol, eleutherinoside A, anthraquinone, 1,3,6-trihydroxy-8-methyl-anthraquinone, *Eleutherine bulbosa*.