

Phân lập và xác định một số hợp chất từ cây chân chim ba lá bắc ở Việt Nam

Chemical Constituents from *Shefflera tribracteolata* in Vietnam

Đoàn Lan Phương

*Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam-Số 18 Hoàng Quốc Việt
Đến Tòa soạn: 31-7-2017; chấp nhận đăng: 29-3-2018*

Tóm tắt

Từ cao butanol của cây chân chim lá bắc (*Shefflera tribracteolata* Bui) bằng các phương pháp sắc kí đã phân lập được 2 hợp chất là ginsenoside Rgl, { 3 β , 6 α , 12 β , 20S-tetrahydroxydammar-24-en 6-O-[β -D-glucopyranoside]}; gypenoside XVII {(3 β , 12 β)-20-[[6-O-(β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy]-12-hydroxydammar-24-en-3-yl β -D-glucopyranoside}. Cấu trúc các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phổ tử ngoại (UV), phổ hồng ngoại (IR), phổ khối lượng (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (1 H-, 13 C-NMR, DEPT, HMBC, HSQC và COSY).

Từ khóa: *Shefflera tribracteolata*, Araliaceae, saponin, ginsenoside Rgl, gypenoside XVII

Abstract

*Ginsenoside Rgl, { 3 β , 6 α , 12 β , 20S-tetrahydroxydammar-24-en 6-O-[β -D-glucopyranoside]}; gypenoside XVII {(3 β , 12 β)-20-[[6-O-(β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy]-12-hydroxydammar-24-en-3-yl β -D-glucopyranoside} were isolated from the methanolic extract of *Shefflera tribracteolata*. The structures of these compounds were elucidated using a combination of UV, IR, 1D and 2D NMR techniques (1 H-, 13 C-NMR, COSY, HSQC and HMBC) and MS analyses.*

Keywords: *Shefflera tribracteolata*, Araliaceae, saponin, ginsenoside Rgl, gypenoside XVII

1. Mở đầu

Chân chim (*Schefflera* Forst. & Forst. f.)-còn có các tên gọi khác: Ngũ gia bì hay Đáng. Trong họ Nhân sâm ở Việt Nam, Chân chim là chi lớn nhất, có thành phần loài rất đặc sắc, rất đa dạng; hiện đã thống kê được khoảng 56 loài (chiếm 39,7% tổng số loài của cả họ) và 4 thứ, trong số đó có tới 40 loài (chiếm 71,2% số loài trong chi, hay 28,4% tổng số loài của cả họ) là đặc hữu. Đây thực sự là nguồn tài nguyên chứa các hợp chất tự nhiên rất phong phú và có nhiều tiềm năng ở Việt Nam. Rất nhiều loài thuộc chi Chân chim đã được dùng làm thuốc chữa trị nhiều chứng bệnh khác nhau (như: phong thấp, đau nhức xương khớp, viêm nhiễm, kích thích tiêu hóa, ho, cầm máu, dị ứng...) trong y học dân tộc [1,2]. Song những nghiên cứu sâu về mặt sinh học và hóa học với các loài trong chi Chân chim lại còn rất khiêm tốn. Cho tới nay, các nghiên cứu về thành phần hóa học chỉ mới có ở một vài loài, chủ yếu là từ loài chân chim (*Schefflera heptaphylla* (L.)). Từ lá, vỏ thân và rễ của loài Chân chim đã tách, phân lập, xác định được các hợp chất triterpenoid như (như: Acid 3 α -hydroxylup-20 (29)-en-23,28-dioic; acid 3 α ,11 α -dihydroxy-lup-20 (29)-en-23,28-dioic; acid 3-epibetulinic [acid 3 α -

hydroxy-lup-20 (29)-28-oic]; acid oleanonic (acid 3-oxo-12-oleanen-28-oic); acid 3-epi-betulinic 3-O-sulphat); các hợp chất triterpen glycosid (như: 3 α -hydroxy-lup-20 (29)-en-23,28-dioic 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1-4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1->6)]- β -Dglucopyranoside; acid 3 α , 11 α -dihydroxy-lup-20 (29)-en-23,28-dioic 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1->4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1->6)]- β -D-glucopyranosid; acid 3-epibetulinic 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1->4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1->6)]- β -D-glucopyranoside; acid 3-epi-betulinic 3-O- β -D-6'-acetyl-glucopyranoside-28-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1->4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1->6)]- β -D-glucopyranoside; acid 3-epi-betulinic 3-O-sulphat 28-O-[α -L-rhamnopyranosyl (1->4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1->6)]- β -D-glucopyranoside); cùng các hợp chất oligosaccharide; các asiaticoside; các cauloside C...[3,4].

Chân chim lá bắc (*Shefflera tribracteolata*) được tìm thấy ở một số vùng ở Việt Nam như Nghệ An, Thừa Thiên-Huế. Chúng tôi tiến hành phân lập bằng các phương pháp sắc ký và xác định được cấu trúc các hợp chất *ginsenoside Rgl*, { 3 β , 6 α , 12 β , 20S-tetrahydroxydammar-24-en 6-O-[β -D-glucopyranoside]}; *gypenoside XVII* {(3 β , 12 β)-20-[[6-O-(β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy} -12-hydroxydammar-24-en-3-

* Corresponding author: Tel.: (+84)904221818
Email: doanlanphuong75@gmail.com

yl β -D-glucopyranoside} từ chân chim lá bắc. Cấu trúc hoá học của các hợp chất được làm sáng tỏ bằng sự kết hợp các phương pháp phổ hồng ngoại (IR), phổ khối lượng (MS), phổ cộng hưởng từ (NMR). Các hợp chất này lần đầu tiên phân lập từ loài chân chim lá bắc (*Shefflera tribracteolata*).

2. Thực nghiệm

2.1 Thiết bị

Sắc ký lớp mỏng sử dụng loại tráng sẵn silica gel 60F₂₄₅ (Merck), hiện hình bằng đèn UV và hơi iot. Chất hấp phụ silica gel 230-400 mesh (Merck) được sử dụng trong sắc ký cột. Nhiệt độ nóng chảy đo trên máy Yanaco MP-S3. Phổ tử ngoại UV được ghi trên máy Agilent UV-VIS. Phổ hồng ngoại IR được ghi trên máy Bruker 270-30, dạng viên nén KBr. Phổ khối lượng và chạm electron EI-MS đo trên máy MS-Engine-5989-HP. Phổ HR-ESI-MS đo trên máy micr OTOF-Q II 10187 (Phòng Phân tích Trung tâm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. HCM). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR, phổ ¹³C-NMR, DEPT, HMBC, HSQC và COSY được đo trên máy Bruker 125 MHz (Phòng Phân tích cấu trúc, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam).

2.2. Nguyên liệu

Mẫu thân và lá cây chân chim lá bắc (*Shefflera tribracteolata* Bui) được thu hái ở khu bảo tồn thiên nhiên Vũ Quang-Hà Tĩnh vào tháng 2/2016. Mẫu được định danh bởi PGS.TS. Trần Huy Thái, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên.

2.3. Phân lập các hợp chất

Mẫu thân và lá cây thu thập và sấy khô ở nhiệt độ từ 40⁰-50⁰C trong 48 giờ, sau khi sấy khô và xay nhỏ (2,0 kg) ngâm với MeOH, với thời gian 8 ngày, sau đó lọc và dịch lọc được cất giảm áp suất bằng thiết bị quay cất chân không thu được cao metanol (225 g). Phân bố cao metanol trong nước, sau đó chiết lần lượt với các dung môi etyl axetat và butanol, quay cất chân không thu được 95 g cao etyl axetat và 47 g cao butanol.

Cao butanol (47 g) được phân tách trên cột silicagel, với hệ dung môi rửa giải là cloroform: metanol (100:0, 40:1: 30:1; 20:1; 10:1: 4:1; 2:1) thu được 7 phân đoạn. Phân đoạn 5 được phân tách lại bằng sắc ký cột với hệ dung môi cloroform: metanol (20:1) thu được chất hợp chất 1 (28 mg) và hợp chất 2 (21,5 mg).

Hợp chất 1: chất bột màu trắng, điểm nóng chảy: 194-196°C., ESI-MS: m/z 801 [M + H]⁺, (tương ứng C₄₇H₇₂O₁₄, theo tính toán m/z 800); ¹H-NMR

(CD₃OD, 500 MHz) and ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz): xem bảng 1.

Hợp chất 2: chất bột màu trắng, điểm nóng chảy: 217-219°C; HR-ESI-MS m/z 946,5527 [M]⁺ (tương ứng C₄₈H₈₂O₁₈, theo tính toán m/z 946,5501); ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) and ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz): xem bảng 1.

3. Kết quả và thảo luận

Từ cao butanol của chân chim lá bắc (*Shefflera tribracteolata*) bằng các phương pháp sắc kí cột silica gel, chúng tôi đã phân lập được các hợp chất 1 và 2, cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phổ.

Hợp chất 1 là chất bột màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 194-196°C. Phổ ¹H-NMR của hợp chất 1 sự hiện diện các tín hiệu singlet của các proton thuộc tám nhóm metyl tại δ_H 0,96, 1,02, 1,03, 1,12, 1,35, 1,37, 1,65, và 1,70 (3H, s); hai proton anomeric tại δ_H 4,63 (1H, d, J = 8,0 Hz), và 4,37 (1H, d, J = 7,5 Hz) và một proton olefin tại 5,12 (1H, t, J = 7,0 Hz) cho phép dựa đoán sự hiện diện của một disaccharide triterpenoid. Phổ ¹³C-NMR và DEPT của hợp chất 1 cho thấy tín hiệu của 42 carbon, tương ứng với khung của một triterpenoid (bao gồm 8 nhóm metyl, 7 metin, 9 metylen và 6 carbon bậc 4) và hai gốc glucose (bao gồm hai cacbon anomeric tại δ_C 105,6 và 98,3; và hai cacbon oxymetylen tại δ_C 62,9 và 62,6). Các proton được quy gán tương ứng với các cacbon dựa trên phổ HSQC (Bảng 1). Dựa trên sự so sánh các dữ liệu phổ của hợp chất 1 và tài liệu có thể kết luận hợp chất 1 là ginsenoside Rg1 (Bảng 1) [8]. Cấu trúc của hợp chất 1 được xác định và làm sáng tỏ dựa trên kết quả phân tích phổ HMBC. Phổ HMBC cho thấy sự tương quan của tín hiệu của các nhóm metyl tại δ_H 1,02 (H-19), 1,03 (H-29) và 1,35 (H-28) với cacbon C-5 (δ_C 61,8); tương tác của H-5 (δ_H 1,15) và proton anomeric tại δ_H 4,37 (H-1' của 6-Glc) với cacbon C-6 (δ_C 80,9) cho phép xác định vị trí của gốc đường đầu tiên tại C-6. Vị trí của gốc đường thứ hai tại C-20 (δ_C 84,9) được xác định dựa trên phổ HMBC cho thấy sự tương quan của proton anomeric tại δ_H 4,63 (H-1" của 20-Glc) và tín hiệu của proton nhóm methyl tại δ_H 1,37 (H-21) với cacbon C-20 (δ_C 84,9). Ngoài ra, phổ HMBC cho thấy sự tương quan của proton của hai nhóm metyl tại 1,65 (H-27) và 1,70 (H-26) với cacbon olefin tại 125,8 (C-23)/ 132,3 (C-24) cho phép xác định vị trí của liên kết đôi tại C-23. Dựa vào các dữ kiện trên, cho thấy hợp chất 1 chính là ginsenoside Rg1. Ginsenoside Rg1 đã được khẳng định là một trong các thành phần tạo nên hoạt tính sinh học chính của loài *Panax ginseng* [9, 10]. Hợp chất 1 lần đầu tiên được phân lập từ loài *A. cochinchinensis*.

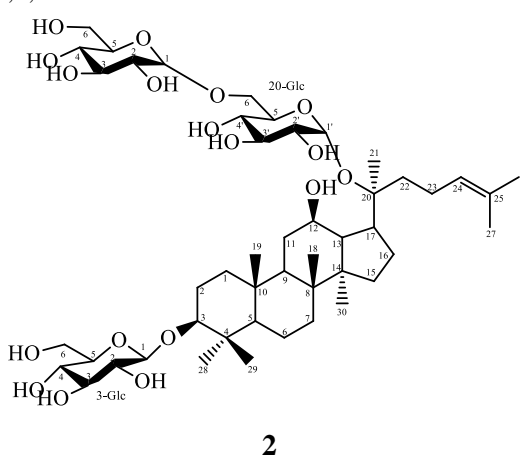
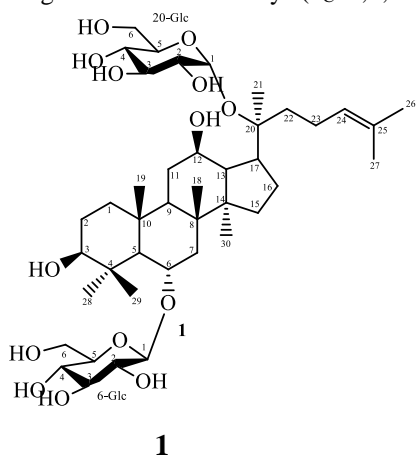
Bảng 1. Số liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C- NMR của hợp chất 1 và 2

TT Carbon	Hợp chất 1				Hợp chất 2			
	DEPT	δ _H ^a	δ _C ^a	δ _C [*]	DEPT	δ _H ^a	δ _C ^a	δ _C ^{**}
1	CH ₂	1,75/1,08*	40,5	38,8	CH ₂	1,75/1,08*	40,2	39,3
2	CH ₂	1,61/1,42*	27,2	26,7	CH ₂	1,61/1,42*	27,2	26,7
3	CH	3,12 (m)	77,7	77,1	CH	3,20 (m)	90,6	88,9
4	C	-	40,4	38,7	C		40,3	39,7
5	CH	1,15 (br s)	61,8	60,1	CH	1,14 (br s)	57,6	56,5
6	CH	4,11 (dt, 3,0, 10,5)	80,9	78,2	CH ₂		19,2	18,5
7	CH ₂	2,06 (dd, 3,5, 13,0)/1,68 *	45,3	44,1	CH ₂	2,05 (dd, 3,5, 13,0)/1,68 *	35,9	35,2
8	C	-	41,9	40,1	C		41,0	40,1
9	CH	1,51 (dd, 2,0, 13,0)	52,4	48,7	CH	1,53 (dd, 2,0, 13,0)	51,1	50,3
10	C	-	40,2	38,4	C		37,9	37,0
11	CH ₂	1,87/1,62 *	31,0	30,5	CH ₂	1,89/1,63 *	31,5	30,9
12	CH	3,70 (dd, 5,0, 10,0)	71,2	68,9	CH	3,50 (dd, 5,0, 10,0)	71,2	70,2
13	CH	1,77 (br d, 10,5)	50,6	48,1	CH	1,79 (br d, 10,5)	49,7	49,6
14	C	-	53,1	50,3	C		52,4	51,5
15	CH ₂	1,40/1,20 *	31,4	30,0	CH ₂	1,42/1,21 *	30,9	30,8
16	CH ₂	1,96/1,69 *	25,9	25,5	CH ₂	1,97/1,71 *	27,3	26,8
17	CH	2,30 (m)	52,4	50,5	CH	2,31 (m)	52,9	51,7
18	CH ₃	1,12 (s)	17,1	16,8	CH ₃	1,12 (s)	16,3	16,1
19	CH ₃	1,02 (s)	17,8	16,8	CH ₃	1,03 (s)	16,7	16,3
20	C	-	84,9	81,9	C		85,0	83,5
21	CH ₃	1,37 (s)	22,8	21,5	CH ₃	1,37 (s)	23,8	22,5
22	CH ₂	1,66/1,84 (t, 8,5)	36,6	35,3	CH ₂	1,68/1,85 (t, 8,5)	36,8	36,3
23	CH ₂	2,11 (m)	24,2	22,1	CH ₂	2,13 (m)	22,4	22,3
24	CH	5,12 (t, 7,0)	125,9	125,2	CH	5,13 (t, 7,0)	126,1	126,1
25	C	-	132,3	130,1	C		132,2	131,1
26	CH ₃	1,70 (s)	18,0	17,2	CH ₃	1,65 (s)	25,9	25,8
27	CH ₃	1,65 (s)	27,2	25,3	CH ₃	1,71 (s)	18,0	18,0
28	CH ₃	1,35 (s)	31,0	30,0	CH ₃	1,23 (s)	28,4	28,2
29	CH ₃	1,03 (s)	16,1	15,5	CH ₃	1,01 (s)	16,8	16,8
30	CH ₃	0,96 (s)	17,7	16,8	CH ₃	0,90 (s)	18,0	18,0
1'	CH	4,37 (d, 7,5)	105,6	104,5	CH	4,34 (d, 7,5)	106,7	107,0
2'	CH	3,23 (t, 8,5)	75,5	73,8	CH	3,24 (t, 8,5)	76,6	75,8
3'	CH	3,38 *	78,2	77,2	CH	3,39 *	78,6	78,8
4'	CH	3,30 *	71,2	70,0	CH	3,32 *	74,7	72,0
5'	CH	3,36 *	75,5	73,8	CH	3,38 *	78,3	78,4
6'	CH ₂	3,84 (dd, 1,5, 12,0)/3,65 *	62,9	64,1	CH ₂	3,86 (dd, 1,5, 12,0)/3,65 *	66,7	63,2
1''	CH	4,63 (d, 8,0)	98,3	96,6	CH	4,60 (d, 7,5)	98,1	98,2
2''	CH	3,11 (t, 8,5)	75,4	73,5	CH	3,13 (t, 8,5)	75,3	74,8
3''	CH	3,24 *	78,2	77,2	CH	3,27 *	78,6	79,3
4''	CH	3,33 *	71,7	70,1	CH	3,36 *	71,5	71,6
5''	CH	3,29 *	77,7	76,5	CH	3,31 *	77,5	77,1
6''	CH ₂	3,79 (dd, 2,0, 12,0)/3,67 *	61,8	61,1	CH ₂	3,81 (dd, 2,0, 12,0)/3,67 *	71,2	70,2
1'''					CH	4,33(d, 7,5)	105,5	105,4
2'''					CH	3,23 (t, 8,5)	75,7	75,3
3'''					CH	3,39 *	78,6	78,4
4'''					CH	3,31 *	71,7	71,8
5'''					CH	3,37 *	78,6	78,4
6'''					CH ₂	3,23 (t, 8,5)	62,9	62,9

^{a)} đo trong dung môi CD₃OD, δ_C^{*} của ginsenoside Rg1 đo trong dung môi DMSO-d₆ [5]; δ_C^{**} của gypenoside XVII đo trong dung môi PYRIDINE-d₅ [6]; * các tín hiệu overlapped

Hợp chất 2 là chất bột màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 217-219°C. Phổ khối lượng HR-ESI-MS m/z 946,5527 $[M]^+$ tương ứng với công thức phân tử $C_{48}H_{82}O_{18}$ (theo tính toán m/z 946,5501). Phổ 1H -NMR của hợp chất 2 cho thấy tín hiệu singlet của 6 nhóm methyl tại δ_H 1,12 (H-18), 1,03 (H-19), 1,37 (H-21), 1,23 (H-28), 1,01 (H-29) và 0,90 (H-30). Ngoài ra, trên phổ 1H -NMR còn có hai tín hiệu của 2 nhóm methyl tương quan với 2 cacbon vinyl tại δ_H 1,65 ppm (3H, s, H-26) và 1,71 (3H, s, H-27). Trong vùng trường thấp, 2 tín hiệu của proton liên kết với cacbon no gắn với oxy ở δ_H 3,42 (1H, m, H-3), 3,50 (1H, H-12), tín hiệu cộng hưởng của proton vinylic xuất hiện tại δ_H 5,15 (H-24). Tín hiệu của 3 proton anomeric của 3 gốc đường glucose tại δ_H 4,33 (1H, *d*, 7,0 Hz, H-1'), 4,60 (1H, *d*, 7,5 Hz, H-1''), 4,32 (1H, *d*, 7,5 Hz, H-1'''). Phổ ^{13}C -NMR và DEPT, kết hợp với phổ HSQC cho thấy xuất hiện tín hiệu của 48 nguyên tử cacbon, trong đó có 8 nhóm methyl (δ_C 16,3; 16,7;

23,8; 25,9; 28,4; 16,8; 18,0; 18,0ppm); tín hiệu 3 của nguyên tử C gắn với oxy (δ_C 90,6; 85,0; 71,2 ppm); tín hiệu của 2 nguyên tử cacbon của liên kết đôi tại δ_C 126,1 và 132,2 ppm và tín hiệu của 3 nguyên tử cacbon C-1'; C-1'', C-1''' của 3 gốc đường glucozo (δ_C 106,7, 105,5 ; và 98,1 ppm). Phổ HSQC của hợp chất 2 ta thấy có tương quan: giữa; giữa H-3 tại δ_H 3,20 ppm và C-3 δ_C 90,6 ppm; giữa H-12 tại δ_H 3,50ppm và C-12 δ_C 71,2 ppm; giữa proton H-24 δ_H 5,15 ppm và C-24 δ_C 126,1 ppm; giữa proton H-1' δ_H 4,33 (1H, *d*, $J = 7,0$ Hz và C-1' δ_C 106,70 ppm; giữa proton H-1'' δ_H 4,60 (1H, *d*, $J = 7,5$ Hz) và C-1'' δ_C 98,1 ppm và giữa proton H-1''' δ_H 4,32 (1H, *d*, 7,5 Hz) và C-1''' δ_C 105,54 ppm. Kết hợp phổ dữ liệu phổ 1D-NMR và 2D- NMR và so sánh với tài liệu tham khảo [6] đã xác định Cấu trúc của hợp chất 2 là *gypenoside XVII*. Hợp chất 2 lần đầu tiên được phân lập từ loài thuộc chi *Panax*.



4. Kết luận

Nghiên cứu thành phần hóa học của thân và lá chân chim lá bắc (*Shefflera tribracteolata*) thu hái ở vườn quốc gia Vũ Quang, Hà Tĩnh, chúng tôi đã tiến hành phân lập và xác định được hai hợp chất *ginsenoside Rg1* { 3 β , 6 α , 12 β , 20S – tetrahydrodammar-24-en 6-O-[[β – D-glucopyranoside]} và *gypenoside XVII* {(3 β ,12 β)- 20-[[6- O- (β - D- glucopyranosyl)- β - D-glucopyranosyl]oxy]- 12- hydroxydammar- 24- en- 3- yl β - D- glucopyranoside}.

Tài liệu tham khảo

- [1] Nguyễn Tiến Bản (chủ biên), 2003. Danh lục các loài thực vật Việt Nam. Tập II. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội; Tr. 1063-1093.
- [2] Grushvitzky, I.V., Skvortsova, N.T., Ha Thi Dung & Arnautov, N.N., 1996. Fam. Araliaceae Juss.-Ngu gia bi. Vascular plants Synopsis of Flora, 2: 16-42.

- [3] Trần Văn Sung, Nguyễn Thị Thùy, Nguyễn Thị Hoàng Anh, 2011. Các hợp chất thiên nhiên từ một số cây cỏ Việt Nam. NXB. KHTN & CN, Hà Nội; Tr.: 233-284.
- [4] D.M. La, V.M. Chau, V.S. Tran, Q.L. Pham, V.K. Phan, H.T. Tran, M.H. Tran, K.B. Ninh, and M.H Le, Proceedings of the 5-th National Conference on Ecology and Biological Resources, Agriculture Publishing, Ha Noi, Viet Nam, 2013, 1152.
- [5] Bruno D., Monica L., Sergio R., Anna B., Enzo R., Leonardo S., Ezio B. (1995), Regioselective Enzyme - Mediated Acylation of Polyhydroxy Natural Compounds. A Remarkable, Highly Efficient Preparation of 6'-O-Acetyl and 6'-O-Carbocycetyl Ginsenoside Rg1, J. Org.Chem. 60,3637-3642
- [6] Cheng L-Qin, Ju-Ryun Na, Myung Kyum Kim, Myun-Ho Bang and Deok-Chun Yang (2007). Microbial Conversion of Ginsenoside Rb₁ to Minor Ginsenoside F₂ and Gypenoside XVII by Intrasporangium sp.GS603 Isolated from Soil. J. Microbiol. Biotechnol.17(12), 1937-1943.