

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CAO HEXAN CỦA LÁ CÂY TRẮC BÁCH DIỆP (*BIOTA ORIENTALIS*)

Đến Tòa soạn 21 - 4 - 2015

Nguyễn Thị Thảo Ly, Nguyễn Diệu Liên Hoa, Nguyễn Thị Lệ Thu

Phòng thí nghiệm Hợp chất Tự nhiên và Hóa dược, Khoa Hóa,

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

CHEMICAL CONSTITUENTS OF A HEXANE EXTRACT OF THE LEAVES OF *BIOTA ORIENTALIS*

Seven compounds, vanilline (1), ferulic acid (2), *n*-docosyl ferulate (3), 3-oxo- α -ionol (4), pinusolidic acid (5), 3 β -hydroxyisopimaric acid (6) and 7-hydroxy-5,6,4'-trimethoxyflavone (7), were isolated from a hexane extract of the leaves of *Biota orientalis* collected in Ho Chi Minh City. Their structures were determined using NMR (^1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC, HMBC) and HRESIMS techniques.

1. MỞ ĐẦU

Trắc bách diệp (trắc bá, trắc bá diệp hay bá tử) có tên khoa học là *Biota orientalis* (L.) Endl., *Platycladus orientalis* (L.) Franco hay *Thuja orientalis* L., thuộc họ Tùng (Cupressaceae) [1, 2]. Cây được trồng khắp nơi để làm cảnh và làm thuốc, là thành phần trong nhiều bài thuốc dân gian trị ho, sốt, làm thuốc cầm máu, lợi tiểu, giúp tiêu hóa [2]. Về thành phần hóa học, loài này chứa chủ yếu chất béo, terpenoid và flavonoid [2]. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 7 hợp chất từ cao hexan của lá cây trắc bách diệp.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Lá cây trắc bách diệp được thu hái tại thành phố Hồ Chí Minh vào năm 2011.

Khối phổ phân giải cao HRESIMS ghi trên máy Bruker micrOTOF-QII (80 eV). Phổ NMR ghi trên máy NMR Bruker Avance 500 [500 MHz (^1H) và 125 MHz (^{13}C)] với TMS là chất chuẩn nội ($\delta = 0,00$ ppm) và CDCl_3 là dung môi. Độ bội trong phổ ^{13}C NMR được xác định bằng phổ DEPT. Sắc ký cột (SKC) được thực hiện trên silica gel 60 (40-63 μm , Merck) hay RP-18 (40-63 μm , Merck). Sắc ký bản mỏng (SKBM) được thực hiện trên bản silica gel 60 F₂₅₄ (250 μm , Merck) hay RP-18 F₂₅₄S (250 μm ,

Merck). Sắc ký lọc gel được thực hiện trên Sephadex LH-20 (GE Healthcare, CHCl₃-MeOH 50%). Các cấu tử trên bản mỏng được phát hiện bằng đèn tử ngoại, phun xịt với dung dịch H₂SO₄/EtOH 50% hoặc dung dịch FeCl₃/EtOH (để phát hiện hợp chất phenol). Tất cả dung môi đều được chưng cất lại trước khi sử dụng.

2.2. Phương pháp tiến hành

Lá cây được phơi khô, xay nhỏ (3 kg) rồi chiết Soxhlet với hexan. Thu hồi dung môi thu được cao hexan (196 g). SKC cao này trên silica gel (hexan-EtOAc) thu được 7 phân đoạn (T1-T7).

1.1.1. Phân lập chất

SKC phân đoạn T3 (5,8 g) trên silica gel (hexan-axeton) thu được 8 phân đoạn (T3.1-T3.8). SKC phân đoạn T3.5 (47,0 mg) trên silica gel (hexan-EtOAc rồi CHCl₃-axeton) thu được **7** (5,1 mg). SKC phân đoạn T3.3 (1,3 g) lần lượt trên silica gel (hexan-EtOAc), Sephadex LH-20, silica gel (hexan-axeton) rồi trên RP-18 (MeOH-H₂O) thu được **3** (18,5 mg). SKC phân đoạn T4 (3,1 g) trên silica gel (hexan-axeton rồi hexan-EtOAc) thu được **5** (9,4

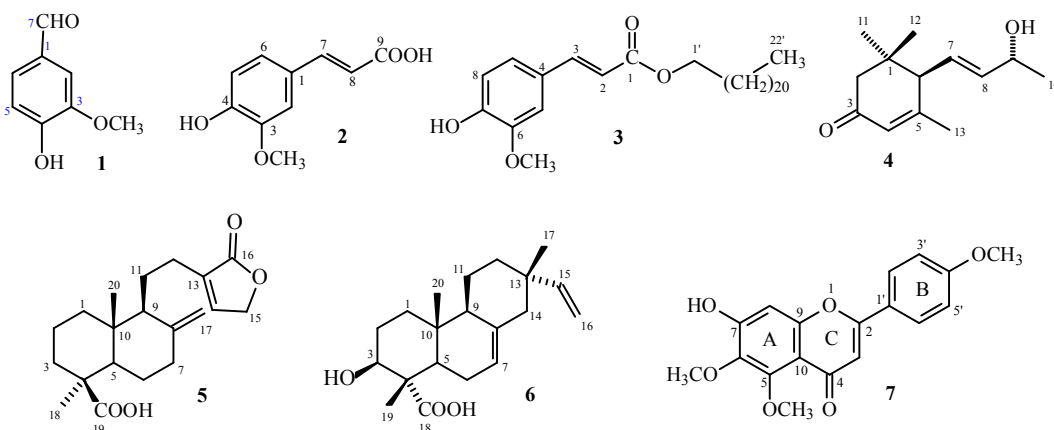
mg). SKC phân đoạn T5 (2,2 g) trên silica gel (hexan-EtOAc) thu được 23 phân đoạn. SKC phân đoạn T5.3 (42,0 mg) nhiều lần trên silica gel (CHCl₃-axeton) thu được **4** (2,5 mg). SKC phân đoạn T5.17 (44,0 mg) trên silica gel (hexan-axeton rồi CHCl₃-axeton) thu được **1** (2,1 mg). SKC phân đoạn T6 (3,2 g) trên silica gel (hexan-EtOAc) thu được 10 phân đoạn (T6.1-T6.10). Tinh chế phân đoạn T6.2 (98,0 mg) trên silica gel (hexan-EtOAc) thu được **2** (4,5 mg). Tinh chế phân đoạn T6.3 (66,0 mg) trên silica gel (hexan-EtOAc) thu được **6** (16,2 mg).

1.1.2. Xác định cấu trúc hóa học

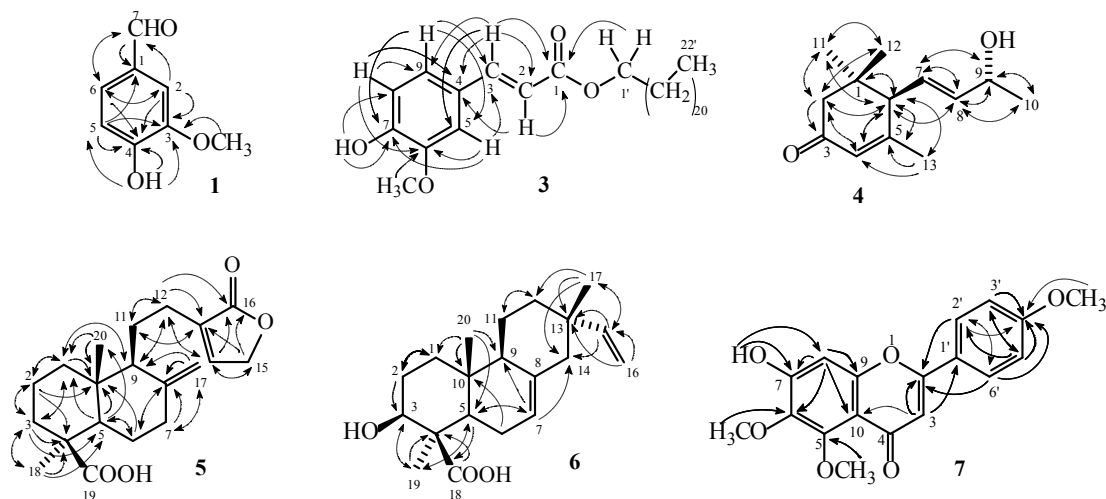
Việc xác định cấu trúc hóa học được thực hiện bằng các phương pháp phổ (¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT, HSQC, HMBC và HRESIMS) và so sánh số liệu phổ với tài liệu tham khảo.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Bằng phương pháp sắc ký cột cao hexan của lá cây trắc bách diệp trên silica gel, RP-18 và Sephadex LH-20, chúng tôi đã phân lập được 7 hợp chất (**1-7**, Hình 1).



Hình 1. Cấu trúc hóa học của **1-7**



Hình 2. Các tương quan HMBC chính trong **1** và **3-7**

Hợp chất 1: Tinh thể màu trắng. Phổ ^1H (Bảng 1) và ^{13}C NMR (Bảng 2) kết hợp với phổ HMBC (Hình 2) cho thấy **1** có 8C bao gồm một carbon carbonyl của aldehyd, một vòng benzen mang ba nhóm thế ở vị trí 1,2,4 và một nhóm metoxyl. Phân tích tương quan HMBC (Hình 2) và so sánh số liệu phổ với tài liệu tham khảo [3] cho thấy hợp chất này là 4-hydroxy-3-metoxymethylbenzaldehyde hay vanillin (**1**).

Hợp chất 2: Tinh thể màu trắng. Phổ ^1H (Bảng 1) và ^{13}C NMR (Bảng 2) cho các tín hiệu cộng hưởng ứng với 10C gồm một carbon carbonyl của acid carboxylic, 6C của một vòng benzen 1,2,4- tam hoán, một nối đôi C=C ghép cặp *trans* và một nhóm metoxyl. Trong 6C của nhân benzen, có 2C mang oxygen. So sánh với tài liệu tham khảo [4, 5] xác nhận hợp chất này là acid ferulic (**2**).

Hợp chất 3: Tinh thể màu trắng. Khối phổ phân giải cao (HRESIMS) cho thấy hợp chất có công thức phân tử $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{O}_4$ (m/z 525,3946 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, trị số tính toán cho $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{O}_4\text{Na}$ là 525,3914) với độ bất bão

hòa là 6. So sánh phổ ^1H (Bảng 1) và ^{13}C NMR (Bảng 2) của hợp chất này với phổ của **2** cho thấy hai hợp chất có cùng nhóm thế trên nhân benzen, cùng có nối đôi C=C ghép cặp *trans* và cũng mang một carbon carbonyl của acid carboxylic hay ester. Ngoài ra, phổ NMR còn cho thấy phân tử có 1 nhóm oxymetylen, 1 nhóm metyl và nhiều nhóm metylen. Phân tích tương quan HMBC (Hình 2) và kết hợp với phổ HRESIMS cho thấy hợp chất này là *n*-docosyl ferulat (**3**).

Hợp chất 4: Tinh thể màu trắng. Phổ ^1H (Bảng 1) và ^{13}C NMR (Bảng 2) cho các tín hiệu cộng hưởng ứng với 13C, gồm một carbon carbonyl, một nối đôi C=C ghép cặp *trans*, một nối đôi C=C tam hoán, một nhóm metylen, hai nhóm metin trong đó có một nhóm mang oxygen, một carbon bậc bốn, một nhóm metyl vinyl, một nhóm metyl bậc hai và hai nhóm metyl bậc ba. Phân tích tương quan HMBC (Hình 2) và so sánh với tài liệu tham khảo [6] cho thấy hợp chất này là 3-oxo- α -ionol (**4**).

Hợp chất 5: Tinh thể màu trắng. Phổ ^1H (Bảng 1) và ^{13}C NMR (Bảng 2) cho thấy hợp chất có 20C gồm hai carbon carbonyl của acid carboxylic hay ester, một nhóm exometylen, một nối đôi $\text{C}=\text{C}$ tam hoán, hai nhóm metin, tám nhóm metylen trong đó có một nhóm mang oxygen, hai nhóm methyl bậc ba và hai carbon bậc bốn. Phân tích tương quan HMBC (Hình 2) cho thấy hợp chất này là acid pinusolidic (**5**). Các số liệu phổ của **5** phù hợp với tài liệu tham khảo [7].

Hợp chất 6: Tinh thể màu trắng. Phổ ^1H (Bảng 1) và ^{13}C NMR (Bảng 2) cho các tín hiệu ứng với 20C gồm một carbon carbonyl của acid carboxylic, một nhóm exometylen, một nối đôi $\text{C}=\text{C}$ tam hoán, một alcol bậc hai, hai nhóm metin, sáu nhóm metylen, ba nhóm methyl bậc ba và ba carbon bậc bốn.

Phân tích tương quan HMBC (Hình 2) và so sánh với tài liệu tham khảo [8] cho thấy hợp chất này là acid 3 β -hydroxyisopimaric (**6**).

Hợp chất 7: Tinh thể màu vàng. Phổ ^1H (Bảng 1) kết hợp phổ ^{13}C NMR (Bảng 2) cho các tín hiệu cộng hưởng ứng với một nhóm $-\text{OH}$ tự do, 18C gồm một carbon carbonyl liên hợp, ba nhóm metoxyl và 14C hương phương hay olefin trong đó có 6C mang oxygen. Các số liệu phổ cho thấy đây là một flavon mang ba nhóm $-\text{OCH}_3$ và một nhóm $-\text{OH}$. Phân tích tương quan HMBC (Hình 2) cho thấy hợp chất này là 7-hydroxy-5,6,4'-trimetoxylflavon (**7**).

*Bảng 1. Số liệu phổ ^1H NMR của 1-7 trong CDCl_3
(trị số trong ngoặc là J tính bằng Hz)*

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7
1					1,85 m 1,05 m	1,28 m	
2	7,42 d (1,8)	7,04 d (1,6)	6,29 d (15,9)	2,34 d (16,7) 2,09 d (16,7)	1,85 m 1,52 m	1,37 m	
3			7,61 d (15,9)		2,13 m 1,05 m	4,04 dd (11,7; 4,1)	6,64 s
4				5,90 s			
5	7,04 d (8,4)	6,93 d (8,2)	7,03 d (1,65)		1,32 m	1,92 m	
6	7,42 dd (8,4; 1,8)	7,11 dd (8,2; 1,6)		2,52 d (9,2)	1,98 m 1,85 m	1,55 m 1,30 m	
7	9,83 s	7,58 d (15,8)		5,54 ddd (15,3; 9,2; 1,0)	2,45 m 1,85 m	5,33 d (3,5)	
8		6,47 d (15,8)	6,91 d (8,2)	5,68 dd (15,3; 6,0)			6,38 s

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7
9	6,17 s		7,07 dd (8,2; 1,7)	4,35 qd (6,3; 0,8)	1,61 m	1,72 m	
10				1,30 d (6,3)			
11				0,96 s	1,85 m 1,61 m	1,38 m	
12				1,03 s	2,45 m 2,13 m	1,87 m 1,30 m	
13				1,91 d (1,1)			
14					7,09 t (1,5)	1,92 m 1,87 m	
15					4,76 d (1,8)	5,80 dd (17,6; 10,8)	
16						4,89 dd (17,5; 1,2)	
17					4,89 s 4,59 s	0,86 s	
18					1,24 s		
19						1,25 s	
20					0,60 s	0,90 s	
1'			4,19 t (6,8)				
2'			1,69 quint (7,2)				7,83 d (8,6)
3'			29,6				7,00 d (8,6)
4'			26,0				
5'							7,00 d (8,6)
6'							7,83 d (8,6)
22'			0,88 t (6,9)				
3-OCH ₃	3,97 s	3,94 s					

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7
4-OH	6,17 s						
5-OCH ₃							3,96 s
6-OCH ₃			3,92 s				3,92 s
7-OH			5,88 s				6,57 s
9-COOH		5,80 s					
4'-OCH ₃							3,88 s

Bảng 2. Số liệu phổ ^{13}C NMR của 1-7 trong CDCl_3

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7
1	130,2	127,9	167,3	36,3	39,3	36,2	
2	109,1	109,9	115,8	47,8	20,0	26,8	161,1a
3	147,7	147,0	144,5	199,1	38,1	75,7	93,1
4	151,9	148,1	127,2	126,1	44,4	52,8	177,8
5	114,6	115,0	109,4	162,5	56,5	46,2	160,0
6	127,6	123,0	146,8	55,7	26,2	20,3	164,2
7	190,9	140,7	147,9	126,9	38,8	120,9	159,9a
8		122,0	114,7	138,8	147,5	135,8	96,3
9		183,4	123,0	68,5	55,9	52,1	161,0a
10				23,9	40,7	35,1	107,8
11				27,3	22,1	25,0	
12				28,1	24,8	37,5	
13				23,6	135,1	36,9	
14					143,9	46,0	
15					70,2	150,3	
16					174,4	109,5	
17					106,9	21,6	
18					29,1	182,1	
19					183,4	11,1	
20					12,9	15,4	
1'			64,6				124,0
2'			28,8				127,9
3'			29,6				114,6

Vị trí	1	2	3	4	5	6	7
4'			26,0				162,3
5'							114,6
6'							127,9
20'			31,9				
21'			22,6				
22'			14,0				
3-OCH ₃	56,3	56,1					
5-OCH ₃							56,0
6-OCH ₃			56,0				56,6
4'-OCH ₃							55,6
a: Có thể hoán đổi lẫn nhau.							

4. KẾT LUẬN

Bảy hợp chất là vanillin (**1**), acid ferulic (**2**), *n*-docosyl ferulat (**3**), 3-oxo- α -ionol (**4**), acid pinusolidic (**4**), acid 3 β -hydroxyisopimaric (**6**) và 7-hydroxy-5,6,4'-trimethoxyflavon (**7**), đã được phân lập từ cao hexan của lá cây trắc bách diệp thu hái ở Tp. Hồ Chí Minh. Cấu trúc hóa học của các chất này được xác định bằng phổ 1D NMR, 2D NMR và HREISMS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ, (2006) *Cây có vị thuốc ở Việt Nam*, NXB Trẻ, Tp. Hồ Chí Minh, trang 30.
2. Đỗ Tất Lợi, (1995) *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, trang 287-289.
3. Scott K. N., (1972) Carbon-13 nuclear magnetic resonance of biologically important aromatic acids. I. Chemical shifts of benzoic acid and derivatives, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 8564-8568.
4. Yoshioka T., Inokuchi T., Fujioka S., Kimura Y., (2004) Phenolic compounds and flavonoids as plant growth regulators from fruit and leaf of *Vitex rotundifolia*, *Z. Naturforsch.*, **59**, 509-514.
5. Park H. B., Lee H. K., Kim K. H., Lee II K., Noh H. J., Choi S. U., Lee K. R., (2009) Lignans from the roots of *Berberis amurensis*, *Nat. Pro. Sci.*, **15**, 17-21.
6. Brigida D. A., Marina D., Antonio F., Pietro M., Palma O. and Fabio T., (2004) Structure elucidation and phytotoxicity of C₁₃ nor-isoprenoids from *Cestrum parqui*, *Phytochemistry*, **65**, 497-505.
7. Yang H.O., Han B.H., (1998) Pinusolidic acid: a platelet-activating factor inhibitor from *Biota orientalis*, *Planta Med.*, **64**, 73-74.
8. Bruno M., Savona G., Gadea F. F., Rodriguez B., (1986) Diterpenoids from *Salvia greggii*, *Phytochemistry*, **25**, 475-477.