

PHÂN LẬP VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CÁC DITECPEN- γ -LACTON TỪ LÁ XUYỀN TÂM LIÊN (*ANDROGRAPHIS PANICULATA* NEES)

Đến Tòa soạn 27-3-2006

NGUYỄN VĂN ĐẬU, LÊ DUY HIẾU

Khoa Hóa học, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội

SUMMARY

By means of column chromatography four diterpenic γ -lactones were isolated from the leaves of *Andrographis paniculata* Nees (family Acanthaceae). Their chemical structures were elucidated by means of the modern physical methods (IR, MS and NMR) and identified as andrographolide (DM6) and neoandrographolide (DM7), and a mixture (DM4) consisting of 14-deoxyandrographolide (DA) và 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide (DDA). The preliminary examination of biological activities reveals that both compounds, andrographolide và neoandrographolide inhibit slightly only the strain *Pseudomonas aeruginosa*. Besides, andrographolide exhibits the ability to inhibit considerably the growth of Hep-2.

I - GIỚI THIỆU

Cây xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata* Nees, họ ô rô, Acanthaceae) phân bố phổ biến ở nhiều nước châu Á, Trung Quốc, Ấn Độ, Việt Nam,... Nó được dùng từ lâu trong các bài thuốc cổ truyền ở nhiều nước để chữa trị cảm sốt, viêm họng, nhiễm trùng, trị rắn cắn, tiêu chảy,... Trong những năm gần đây xuyên tâm liên còn được phát hiện làm tăng bài tiết mật, bảo vệ gan mật và cơ tim, điều hoà tuần hoàn máu và huyết áp; đặc biệt, có khả năng chống ung thư và kháng HIV [1 - 3].

Do có khả năng chữa trị nhiều loại bệnh, xuyên tâm liên đã được các nhóm nghiên cứu trên thế giới khảo sát khá kỹ về mặt hóa học và dược lí. Hai lớp chất chủ yếu là flavonoid và diterpen lacton đã được phân lập từ lá và rễ. Các diterpen lacton như andrographolit, neoandrographolide đã được chứng minh có khả năng bảo vệ gan chuột khỏi bị tổn thương bởi

các hepatotoxin như tetraclocarbon và *tert*-butylhydroperoxit (*t*-BHP) [4, 5]; 14-deoxyandrographolit (DA) và 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolit (DDA) làm giảm một cách đáng kể huyết áp và mạch tim trên chuột thử nghiệm [6]. Cho đến nay có rất ít công bố về thành phần hóa học của xuyên tâm liên Việt Nam ngoài hai diterpen lacton, neoandrographolit và andropanosit đã được phân lập từ cây xuyên tâm liên mọc ở Nha Trang [7, 8].

Với mục đích nghiên cứu qui trình phân lập các diterpen có hoạt tính sinh học từ cây xuyên tâm liên trồng ở Việt Nam trong bài báo này chúng tôi thông báo việc phân lập và nhận dạng cấu trúc của bốn diterpen lacton là andrographolit, neoandrographolit, 14-deoxyandrographolit (DA) và 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolit (DDA) cũng như sự khảo sát sơ bộ các hoạt tính kháng vi sinh vật và gây độc tế bào của chúng.

II - THỰC NGHIỆM

1. Điều chế căn chiết và phân lập

Lá cây xuyên tâm liên (1,5 kg) mua ở Hoà Bình (tháng 8/2005) được chiết với etanol theo qui trình chung thu được căn chiết diclometan (6,06g*, hiệu suất 0,403% so với mẫu khô) [11].

Căn chiết diclometan (2,9 g) được phân tách bằng phương pháp sắc kí cột trên silica gel, rửa giải đầu tiên với hỗn hợp diclometan-etylaxetat, tiếp theo với diclometan-metanol theo chế độ gradient tăng dần độ phân cực của hệ dung môi. Kết hợp với kết tinh phân đoạn, cuối cùng đã thu được cho ba chất, kí hiệu là **DM4**, **DM6** và **DM7** [11].

Chất **DM6**. Tinh thể không màu hình phiến; dnc. 244 - 245°C; $R_f = 0,62$ (CH_2Cl_2 -MeOH, 9:1, v/v); phát quang màu trắng xanh dưới ánh sáng tử ngoại (254 nm), hiện màu tím với vanilin/ H_2SO_4 .

Phổ EI-MS, m/z (%): 350 (M^+ ; 6,9), 332 (6,5), 281 (3,4), 256 (2,9), 227 (4,0), 187 (12,2), 159 (24,2), 133 (44,8), 121 (94,2), 105 (74,2), 91 (100), 79 (65,9), 67 (40,72), 55 (74,5).

Phổ IR (KBr, γ_{max} , cm^{-1}): 3397,6 và 3318,6 (OH), 3093 ($\text{CRR}'=\text{CH}_2$), 1727 (CO của γ -lacton), 1675 ($\text{CRR}'=\text{CHR}''$), 1648 ($\text{CRR}'=\text{CH}_2$), 1295, 1221 (C-O).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): 2,45 (2H, m, H-1); 1,82 (2H, m, H-2); 3,44 (1H, m, H-3); 1,38 (1H, d, $J_{56}=13,0$ Hz, H-5); 1,89 (1H, m, H-6a); 1,33 (1H, d, $J_{65}=13,0$ Hz, H-6b); 2,06 (2H, m, H-7); 1,95 (1H, m, H-9); 2,63 (2H, m, H-11); 6,87 (1H, td, $J_{11-12}=6,7$ và $J_{12-14}=1,7$ Hz, H-12); 5,03 (1H, d, $J=6,1$ Hz, H-14); 4,49 (1H, d, $J=6,1$ Hz, H-15a); 4,47 (1H, d, $J=6,1$ Hz, H-15b); 4,91 (1H, s, H-17a); 4,69 (1H, s, H-17b); 0,77 (3H, s, H-18); 4,14 (1H, d, $J=10,0$ Hz, H-19a); 3,41 (1H, d, $J=10,0$ Hz, H-17b); 1,24 (3H, s, H-20).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, MeOD): 38,13 (C-1); 29,03 (C-2); 80,92 (C-3); 43,68 (C-4); 56,32 (C-5); 25,21 (C-6); 38,97 (C-7); 148,77 (C-8); 57,39 (C-9); 39,96 (C-10); 25,71 (C-11); 149,35 (C-12); 129,80 (C-13); 66,65 (C-14); 76,14 (C-15); 172,64 (C-16); 109,22 (C-17);

15,54 (C-18); 64,98 (C-19); 23,38 (C-20).

Chất **DM7**. Tinh thể hình kim không màu; dnc. 178 - 179°C; $R_f = 0,55$ (CH_2Cl_2 -MeOH, 9:1, v/v); không phát quang tử ngoại, hiện màu tím với vanilin/ H_2SO_4 .

Phổ MS (LC-MSD-Trap-SL) m/z (%): 497 ($[\text{M}+1]^+$, 100), 319 (19,2), 301 (3,8); EI-MS, m/z (%): 319 (4,1), 288 (19), 205 (16), 191 (11), 175 (12), 153 (19), 121 (40), 109 (55), 81 (89), 69 (82), 55 (100).

Phổ IR (KBr, γ_{max} , cm^{-1}): 3572, 3425 (br.) (OH), 3084 ($\text{CRR}'=\text{CH}_2$), 1748 (CO của γ -lacton), 1648 (C=C), 1246 (C-OH) và 836 ($\text{CHR}''=\text{CRR}'$).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD): 1,80 (2H, m, H-1); 1,65 (2H, m, H-2); 1,98 (1H, m, H-3); 1,39 (1H, d, $J=13,0$ Hz, H-5); 1,42 (1H, d, $J=13,0$ Hz, H-6a) và 1,89 (1H, m, H-6b); 1,90 (2H, m, H-7); 1,47 (1H, m, H-9); 2,40 (2H, m, H-11); 2,13 (2H, m, H-12); 7,36 (1H, s, H-14); 4,80 (2H, d, $J=3,2$ Hz, H-15); 4,65 (1H, brs, H-17a) và 4,88 (1H, brs, H-17b); 0,73 (3H, s, H-18); 4,12 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H-19); 3,25 (1H, d, $J=9,5$ Hz); 1,08 (3H, s, H-20); 4,20 (1H, d, $J=7,8$ Hz, H-1'); 3,18 (1H, m, H-2'); 3,36 (1H, m, H-3'); 3,31 (1H, m, H-4'); 3,25 (1H, m, H-5'); 3,87 (1H, brd, $J=11,5$ Hz, H-6'a) và 3,69 (1H, brd, $J=11,5$ Hz, H-6'b).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, MeOD): 40,23 (C-1); 20,06 (C-2); 37,2 (C-3); 39,37 (C-4); 57,69 (C-5); 25,63 (C-6); 39,68 (C-7); 149,23 (C-8); 57,86 (C-9); 40,66 (C-10); 22,97 (C-11); 25,45 (C-12); 134,82 (C-13); 147,6 (C-14); 72,06 (C-15); 176,95 (C-16); 107,26 (C-17); 15,84 (C-18); 73,44 (C-19); 28,32 (C-20); 105,06 (C-1'); 75,27 (C-2'); 71,70 (C-3'); 78,24 (C-4'); 77,73 (C-5'); 62,77 (C-6').

Chất **DM4**. Tinh thể hình kim không màu; $R_f = 0,75$ (CH_2Cl_2 -MeOH, 9:1, v/v); hiện màu tím với vanilin/ H_2SO_4 .

Phổ MS (LC-MSD-Trap-SL) của 14-deoxyandrographolit (DA): m/z 334 (25), 316 (84), 298 (59), 286 (100), 258 (43), 224 (19); của 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolit (DDA): m/z 332 (27), 314 (100), 296 (93), 284 (40), 270 (19), 256 (59), 222 (6), 198 (15).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD) của 14-deoxyandrographolit (DA): 3,46 (1H, m, H-3); 7,09 (1H, brs, H-14); 4,77 (1H, d, $J = 2,1$ Hz; H-15); 4,88 (1H, brs, H-17a); 4,65 (1H, brs, H17b); 0,63 (3H, s, H-18); 4,17 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-19a) và 3,31 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-19b); 1,26 (3H, s, H-20); của 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolit (DDA): 3,48 (1H, m, H-3); 7,17 (1H, br, H-14); 6,12 (1H, d, $J = 15,8$ Hz, H-12); 6,87 (1H, brs, H-11); 4,81 (1H, d, $J = 1,5$ Hz; H-15); 4,78 (1H, brs, H-17a); 4,52 (1H, brs, H17b); 0,82 (3H, s, H-18); 4,21 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-19a) và 3,35 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-19b); 1,24 (3H, s, H-20).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, MeOD) của 14-deoxyandrographolit (DA): 39,0 (C-1); 22,7 (C-2); 80,7 (C-3); 42,9 (C-4); 54,7 (C-5); 28,2 (C-6); 38,3 (C-7); 146,9 (C-8); 56,1 (C-9); 39,1 (C-10); 21,9 (C-11); 24,5 (C-12); 134,7 (C-13); 144,2 (C-14); 70,2 (C-15); 174,4 (C-16); 107,3 (C-17); 15,2 (C-18); 64,2 (C-19); 22,7 (C-20); của 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolit (DDA): 38,6 (C-1); 21,9 (C-2); 80,5 (C-3); 42,8 (C-4); 55,3 (C-5); 28,0 (C-6); 36,6 (C-7); 148,1 (C-8); 61,7 (C-9); 38,6 (C-10); 136,0 (C-11); 121,1 (C-12); 129,3 (C-13); 143,1 (C-14); 69,7 (C-15); 172,4 (C-16); 109,1 (C-17); 15,9 (C-18); 64,2 (C-19); 22,8 (C-20)

2. Khảo sát hoạt tính sinh học

Hoạt tính sinh học được khảo sát tại Phòng thử nghiệm hoạt tính sinh học, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (Viện KH và CN Việt Nam).

a) Hoạt tính kháng vi sinh vật

Hoạt tính kháng vi sinh vật được khảo sát dựa trên kỹ thuật khuếch tán trong môi trường thạch dinh dưỡng đã trộn với nhũ dịch vi sinh vật có $10^6 - 10^7$ tế bào/ml với tỉ lệ 1% so với môi trường. Hoạt tính được xác định thông qua đường kính vùng ức chế sự phát triển của vi sinh vật (vòng vô khuẩn) sau một thời gian nuôi cấy ở nhiệt độ ủ tối ưu đối với mỗi chủng vi sinh vật riêng biệt. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) được xác định theo phương pháp Vanden Bergher và Vlietlinck. Các chủng vi sinh vật điển hình được thử gồm hai chủng vi khuẩn Gram(-): *Escherichia coli* DT 119 B14 và *Pseudomonas*

aeruginosa VM 201; hai chủng vi khuẩn Gram(+): *Bacillus subtilis* ATCC 6633 và *Staphylococcus aureus* ATCC 12228; hai chủng nấm mốc: *Aspergillus niger*; *Fusarium oxysporum*; hai chủng nấm men: *Candida albicans* ATCC 10231 và *Saccharomyces cerevisiae* (kết quả chi tiết xem [11]).

b) Hoạt tính gây độc tế bào (chống ung thư)

Hoạt tính gây độc tế bào được khảo sát theo phương pháp của Viện nghiên cứu ung thư Quốc gia Mỹ (NIC). Các dòng tế bào ung thư được thử là Hep-2 (ung thư màng gan người) và RD (ung thư màng tim người). Tế bào được khảo sát với mẫu thử ở 4-10 thang nồng độ khác nhau. Phiến thử nghiệm (gồm tế bào ung thư, môi trường nuôi cấy và mẫu thử) được ủ ấm trong bầu khí CO_2 ở 37°C trong thời gian 48 - 72 giờ. Kết quả được đọc trên máy Elisa ở bước sóng 495 - 515 nm. Nồng độ bán ức chế (IC_{50}) được tính trên chương trình Table curve (kết quả chi tiết xem [11]).

III - KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

Cận chiết diclometan của lá xuyên tâm liên được phân tách nhiều lần trên cột silica gel, rửa giải với các hỗn hợp dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-EtOAc}$ và $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ đã thu được ba chất, kí hiệu là DM4 và DM6 và DM7.

Chất DM6 có ion phân tử m/z 350 (M^+ , EI-MS) ứng với 20 nguyên tử cacbon ($^{13}\text{C-NMR}$) và 30 nguyên tử hydro ($^1\text{H-NMR}$). Phân tử của nó có 3 nhóm hydroxyl {ở phổ IR có dải hấp thụ ở 3397 cm^{-1} ; trong phổ $^1\text{H-NMR}$ (DMSO, ppm) có tín hiệu của 3 nhóm OH ở δ 5,71 (1H, d, $J = 6,1$ Hz, HO-C₁₄); δ 4,9 (1H, t, HO-C₁₉) và δ 3,83 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, HO-C₃); γ -lacton- α,β không no (1727 cm^{-1}) với nhóm metylen ngoại vòng, $>\text{CH}_2=$ (3093 ; 1648 cm^{-1}), nối đôi ba lần thế, $\text{CRR}'=\text{CHR}''$ (1675 cm^{-1}). Công thức phân tử được dự đoán là $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_5$. Khảo sát phổ $^{13}\text{C-NMR}$ (DEPT) kết hợp với $^1\text{H-NMR}$ và HMQC cho thấy DM6 có 5 nguyên tử cacbon bậc 4, trong đó 2C (δ_{C_4} 43,68 và $\delta_{\text{C}_{10}}$ 39,96) gắn với 2 nhóm CH_3 (singlet ở δ_{CH_3} 1,24 và singlet ở δ_{CH_3} 0,77); 1C thuộc nhóm $>\text{C}=\text{O}$ ($\delta_{\text{C}_{16}}$ 172,64); 1C của vòng xicloankan gắn với nhóm metylen

exocyclic ($>C=CH_2$; δ_{C8} 148,77), và 1C của liên kết đôi $C=C$ ba lần thế ($>C=CH-$; δ_{C13} 129,80). Sự có mặt của các nối đôi cũng được thấy rõ trong phổ NMR, thể hiện qua các tín hiệu của 2 proton thuộc nhóm $=CH_2$ ở δ 4,91 (s) và δ 4,69 (s) được gắn vào C-17 (C bậc 2, δ_{C17} 109,22) và của 1 proton H-12 thuộc nhóm $>C=CH-CH_2$ ở δ 6,87 (td, $J = 6,7; 1,7$ Hz; δ_{C12} 149,35). Độ chuyển dịch hóa học của proton này nằm ở trường mạnh hơn so với của proton vòng γ -lacton- α,β không no (khoảng δ 7,36) chứng tỏ đây là nối đôi liên hợp ngoại vòng. Phổ 1H -NMR còn cho thấy tín hiệu đặc trưng cho proton oximetin ở C3, với sự định hướng β -HO-CH< ở δ 3,44 (m, H-3) và tín hiệu của một proton oximetin khác thuộc vòng γ -lacton xuất hiện ở trường yếu hơn (δ 5,03; d, $J = 6,0$ Hz; H-14). Ngoài ra, còn có 1 nhóm oximetylen cô lập (δ 4,14; 1H, d, $J = 10,0$ Hz và δ 3,41; 1H, d, $J = 10,0$ Hz, H-19), và 1 nhóm oximetylen khác (δ 4,49; 1H, dd, $J = 10; 6,1$ Hz và δ 4,18; 1H, dd, $J=10; 2,1$ Hz; H-15). Trong phổ HMBC quan sát thấy sự tương tác của $H \rightarrow C$, chỉ sự kết nối giữa các nguyên tử cacbon sau:

a, CH_3 -20 $\rightarrow$ C-4 (bậc 4); CH_3 -20 $\rightarrow$ C-3 (oximetin); CH_3 -20 $\rightarrow$ C-5 (metin) và CH_3 -20 $\rightarrow$ C-19 (oximetylen).

b, CH_3 -18 $\rightarrow$ C-1; CH_3 -18 $\rightarrow$ C-5; CH_3 -18 $\rightarrow$ C-9 và CH_3 -18 $\rightarrow$ C-10.

c, CH_2 -17 $\rightarrow$ C-7; CH_2 -17 $\rightarrow$ C-8; CH_2 -17 $\rightarrow$ C-9.

d, $=CH$ -12 $\rightarrow$ C-11; $=CH$ -12 $\rightarrow$ C-13; $=CH$ -12 $\rightarrow$ C-14; $=CH$ -12 $\rightarrow$ C-16 (C=O lacton).

Phổ COSYGP còn khẳng định sự tương tác giữa các proton $H-12 \rightarrow H-11 \rightarrow H-9$; $H-2 \rightarrow H-3$; $H-6 \rightarrow H-7$,...

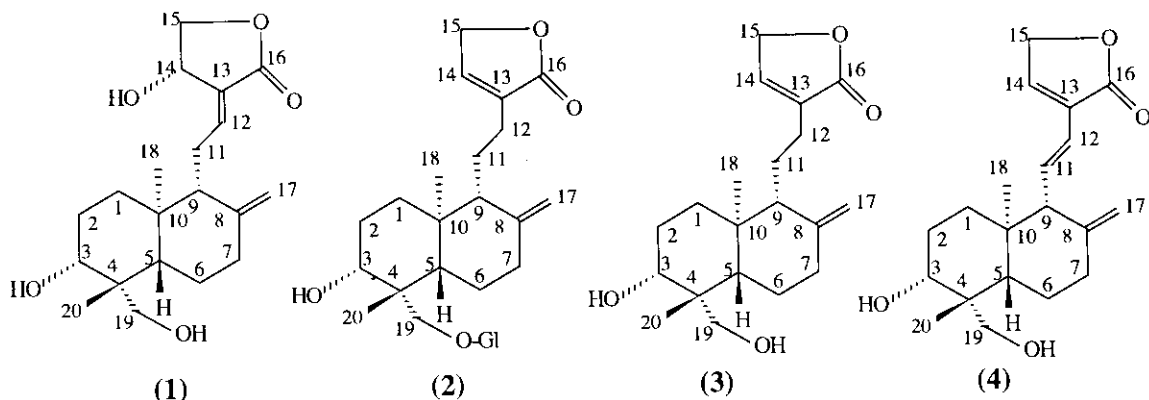
Sự phân tích về các phổ nêu ở trên khẳng định chất **DM6** là một ditecpen, phù hợp với các dữ liệu phổ đã công bố đối với andrographolit, một ditecpen lacton đã được tách ra từ cây xuyên tâm liên [9] (về các giá trị δ_H và δ_C , xem phần Thực nghiệm).

Chất **DM7**. Phổ ^{13}C -NMR (DEPT) và 1H -NMR cho thấy phân tử có 26 nguyên tử cacbon với sự có mặt của một gốc D-glucosơ. Phổ IR

của chất này có các dải hấp thụ đặc trưng cho vòng γ -lacton- α,β không no (1748 cm^{-1}), nhóm hydroxyl (3425 cm^{-1}), nhóm metylen exocyclic, $>CH_2=$, ($3084; 1648\text{ cm}^{-1}$) và nối đôi ba lần thế, $CRR'=CHR''$ (1648 cm^{-1}). Phổ khối lượng (EI-MS) cho pic của aglycon m/z 301 ($M+1-Gl$). Như vậy, **DM7** là một glucosid ứng với công thức phân tử $C_{26}H_{40}O_8$. Khảo sát các phổ NMR của **DM7** có thể kết luận rằng chất **DM7** thuộc dãy labdan như chất **DM6**. Ví dụ, trong phổ NMR của **DM7** có các tín hiệu của nhóm metylen exocyclic (δ_H 4,65; brs và 4,88; brs) gắn với nguyên tử cacbon bậc 4 ở vị trí 7 (δ_C 39,68); tín hiệu của proton vinyl (δ_H 7,36; s) ở vòng γ -lacton- α,β không no gắn với C có δ_C 147,6; C-14, HMQC); các nhóm methyl (δ_{CH_3} 1,08 và 0,73) được gắn với các nguyên tử cacbon bậc 4 tương ứng (δ_C 28,32 và 15,84). Ngoài ra, khác với **DM6** phần aglycon của **DM7** không có nhóm HO-C₃. Nó có ít nhóm CH (3) và nhiều nhóm CH_2 hơn (10) và trong các phổ 1H - và ^{13}C -NMR không có tín hiệu đặc trưng cho proton metin của nhóm HO- HC_3 <. Sự có mặt của gốc đường cũng được thấy rõ trong phổ 1H - và ^{13}C -NMR. Chẳng hạn, các proton của glucosơ nằm trong khoảng δ_H 3,25-3,87 và các nguyên tử C ở δ_C 62,77- 75,27. Tín hiệu proton anome đặc trưng cho cấu hình β -D-glucopyranosơ xuất hiện ở δ_H 4,20 (d, $J=7,8$ Hz). Việc gắn gốc glucosơ vào vị trí C₁₉ cũng được khẳng định qua sự tương tác giữa proton anome, H₁, và C₁₉ (HMBC). Như vậy, từ sự phân tích các dữ liệu phổ nêu trên chất **DM7** được nhận dạng là neoandrographolit (về các giá trị δ_H và δ_C , xem phần Thực nghiệm).

Chất **DM4**. Phổ LC-MS cho thấy đây là một hỗn hợp của hai hợp chất có cấu trúc tương tự nhau nhưng phân tử lượng chỉ khác nhau 2 đơn vị. Ví dụ, chúng cho các mảnh phân rã có cùng mức độ phân bố (cường độ) với m/z : 314, 296, 284, 256, 332 (M^+ , **DM4-1**); 316, 298, 286, 258, 334 (M^+ , **DM4-2**).

Sự hình thành các mảnh phân rã này đặc trưng cho các hợp chất khung labdan có mặt trong cây xuyên tâm liên. Từ dữ liệu phổ 1H và ^{13}C -NMR công thức phân tử của **DM4-1** và **DM4-2** được dự đoán là $C_{20}H_{28}O_4$ và $C_{20}H_{30}O_4$, tương ứng. Phổ 1H -NMR chỉ sự có mặt của hai nhóm exometylen, H-17, thể hiện qua các cặp



(1) **DM6** (andrographolit); (2) **DM7** (neoandrographolit)
 (3) **DM4-2** (14-deoxyandrographolit, **DA**);
 (4) **DM4-1** (14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolit, **DDA**)

singlet rộng thứ nhất ở δ 4,88 (1H) và 4,78 (1H), và cặp singlet rộng thứ hai ở δ 4,60 (1H) và 4,52 (1H), ứng với mỗi chất trong **DM4**; cặp tín hiệu ở δ 7,17 (1H, *brs*) và 7,09 (1H, *brs*) được gán cho proton H-14 ở mỗi hợp chất. Sự tương tác giữa proton này với các proton metylen, H-15 { δ 4,81 (2H, d, $J = 2,1$ Hz) và 4,77 (2H, d, $J = 1,5$ Hz)} cũng được thấy rõ trong phổ COSYGP của **DM4**. Tín hiệu của proton oximetin, H-3 của mỗi chất xuất hiện ở δ 3,46 và 3,48 (1H, m) tương ứng, đặc trưng cho các dẫn xuất labdan với sự định hướng β -OH-C₃. Nhóm methyl bậc ba, H-18 của mỗi chất xuất hiện ở δ 0,82 và 0,63 (3H, s), tương ứng. Tương tự, tín hiệu của nhóm methyl bậc ba khác, H-20 nằm ở δ 1,26 và 1,24 ppm. Việc gán ghép này được khẳng định qua sự tương tác giữa $H_3 \rightarrow C_{20} \rightarrow C_4 \rightarrow C_{19}$, quan sát thấy trong phổ HMBC. Các proton của nhóm metylen H-19 được nhận dạng qua cặp tín hiệu ở δ 4,17 (d, $J = 11,0$ Hz) và cặp thứ hai ở δ 3,31 (d, $J = 11,0$ Hz), ứng với mỗi chất. Ngoài ra, trong phổ 1H -NMR còn có tín hiệu của 2 proton *trans*-vinyllic, $-CH=CH-$ ở δ 6,87 (dd, $J_{9,11} = 10,0$ và $J_{11,12} = 15,8$ Hz, H-11) và δ 6,12 (d, $J_{12,11} = 15,8$ Hz, H-12).

Trên cơ sở phân tích các dữ liệu phổ nêu trên, kết hợp so sánh với độ chuyển dịch hóa học δ_C và δ_H công bố cho 14-deoxyandrographolit [10], chất **DM4** đã được nhận dạng là hỗn hợp của 14-deoxyandrographolid (DA) và 14-deoxy-11,12-

didehydroandrographolit (DDA) (về δ_C và δ_H của **DM4**, xem phần thực nghiệm).

Hoạt tính sinh học. Hai hợp chất **DM6** và **DM7** đã được khảo sát hoạt tính kháng đối với 4 chủng vi khuẩn (*Escherichia coli* DT 119 B14, *Pseudomonas aeruginosa* VM 201, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 và *Staphylococcus aureus* ATCC 12228) và 4 chủng nấm (*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Candida albicans* ATCC 10231 và *Saccharomyces cerevisiae*). Kết quả cho thấy hai chất này có mức kháng rất yếu các vi sinh vật thử nghiệm; ví dụ, đối với chủng vi khuẩn Gr(+), *Pseudomonas aeruginosa*, MIC của **DM6** là 12,5 μ g/ml và của **DM7** là 50 μ g/ml. Hoạt tính gây độc tế bào đã được khảo sát với tế bào ung thư màng tim người (RD) và tế bào ung thư gan người (Hep-2). Trong hai chất thử chỉ có **DM6** (andrographolide) ức chế sự phát triển của tế bào ung thư gan ở mức độ vừa phải (IC_{50} 3,06 μ g/ml).

Lời cảm ơn: Công trình này được hoàn thành trong khuôn khổ của chương trình Nghiên cứu Khoa học Cơ bản. Các tác giả cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của đề tài 51.01.05.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Ngọc Lộ, Phan Thanh Kỳ và nnk. Tạp chí Dược học, số 2, Tr. 5 - 7 (1984).

2. R. E. Kamdem, S. Sang and Chi-Tang Ho. J. Agric. Food Chem., 50, P. 4662 - 4665 (2002).
3. V. L. Reddy, S. M. Reddy, P. Krishnaiah, T. P. Rao, T. S. Ram. Nat. Prod. Res., Vol. 19, No. 3, P. 223 - 230 (2005).
4. K. K. Gupta, S. C. Taneja, K. L. Dhar, C. K. Atal. Phytochemistry, Vol. 22, No. 1, P. 314 - 315 (1983).
5. M. K. Reddy, M. V. B. Reddy, D. Gunasekar, M. M. Murthy, C. Caux, B. Bodo. Phytochemistry, Vol. 62, No. 8, P. 1271 - 1275 (2003).
6. C. Y. Zang, B. K. H. Tan. J. Ethnopharmacology, Vol. 56(2), P. 97 - 101 (1997).
7. Nguyễn Viết Tụ, Nguyễn Kim Hương, Trịnh Việt Hồng, Trần Trọng Trinh. Tạp chí Dược học, số 2, Tr. 7 - 8 (1984).
8. Nguyễn Mạnh Cường, Trần Văn Sung, CH. Kamperdick và G. Adam. Tạp chí Dược học, số 1, Tr. 13 - 14 (1997).
9. ACD/CNMR DB (v.6.12) International Database Record ID: 117720; Ref. Org. Magn. Reson., 1981, Vol. 16, P. 75 (1981).
10. ACD/CNMR DB (v.6.12) International Database Record ID: 117720; Ref. Org. Magn. Reson., Vol. 17, P. 302 (1981).
11. Nguyễn Văn Đậu, Lê Duy Hiếu. Hội nghị Khoa học và Công nghệ Hóa hữu cơ toàn quốc lần thứ 3, Hà Nội, 11-2005, Tr. 293.