

NGHIÊN CỨU PHỔ NMR CỦA HỢP CHẤT 2-DEACETOXYTAXININE ĐƯỢC TÁCH TỪ PHÂN ĐOẠN E CAO DICLOMETAN CỦA VỎ CÂY THÔNG ĐỎ *TAXUS WALLICHIANA* ZUCC., HỌ THÔNG ĐỎ (TAXACEAE)

Trần Thị Kim Thảo*

Trường Đại học Phú Yên

Ngày nhận bài: 28/06/2019; Ngày nhận đăng: 10/02/2020

Tóm tắt

Từ phân đoạn E cao diclometan của vỏ cây thông đỏ *Taxus wallichiana* Zucc., họ Thông đỏ thu hái tại Lâm Đồng, hợp chất taxan diterpenoid có chứa nhóm cinamoyl đã được cô lập có tên gọi là 2-deacetoxytaxinine J. Cấu trúc của các hợp chất này được xác định bởi các phương pháp phổ cộng hưởng từ một chiều, hai chiều và so sánh với tài liệu tham khảo.

Từ khóa: *Taxus wallichiana* Zucc., thông đỏ, taxan diterpenoid.

1. Đặt vấn đề

Cây thông đỏ thuộc chi *Taxus*, họ Thông đỏ (Taxaceae) thuộc dạng cây to, thường xanh cao đến 20m. Chi *Taxus* có 7-8 loài trên thế giới, phân bố rải rác ở vùng ôn đới ẩm, vùng cận nhiệt đới và nhiệt đới núi cao bắc bán cầu.

Ở Việt Nam chi *Taxus* có 2 loài là *Taxus chinensis* thường gọi là “thông đỏ lá ngắn” và *Taxus wallichiana* Zucc. gọi là “thông đỏ lá dài”. Thông đỏ lá ngắn phân bố ở Trung Quốc, Ấn Độ, Malaysia và Việt Nam. Ở Việt Nam, cây phân bố rải rác ở vùng núi thuộc tỉnh Lào Cai (Hoàng Liên Sơn), Hà Tây (Ba Vi), Nghệ An (Quỳ Châu), Hòa Bình (Mai Châu), độ cao: 900 – 1600m. Thông đỏ lá dài: phân bố ở Nepal (vùng núi Himalaya), phía bắc Myanmar, Đông – Nam Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Philippines và Việt Nam. Ở Việt Nam, loài này cũng chỉ thấy ở một số vùng núi cao thuộc tỉnh Khánh Hòa, Lâm Đồng (Đà Lạt, Đơn Dương), Hà Giang (Thái An – Quản Bạ), độ cao phân bố từ 1400 – 1600m hoặc hơn.

Trong dân gian, cao lá khô và cao vỏ thông đỏ được dùng trị hen, viêm phế quản, nấc, tiêu hoá; cành và vỏ dùng trị bệnh thực tích, giun đũa; nước sắc của thân non dùng trị bệnh đau đầu. Đặc biệt, trong vỏ và lá cây thông đỏ có tác dụng diệt một số loại tế bào ung thư.[1]

Trong bài viết này, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học phân đoạn E cao diclometan của vỏ cây thông đỏ *Taxus wallichiana* Zucc., họ Thông đỏ thu hái tại Hồ Tiên, huyện Đơn Dương, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 03 năm 2010. Bằng các phương pháp sắc ký cột silica gel và sắc ký bản mỏng, chúng tôi đã cô lập được hợp chất taxan diterpenoid từ phân đoạn E cao diclometan trích từ vỏ cây thông đỏ. Sử dụng các phương pháp phổ nghiệm cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (^1H , ^{13}C -NMR), hai chiều (^1H - ^1H COSY) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất này được nhận danh là 2-deacetoxytaxinine J.

2. Thực nghiệm

2.1. Điều kiện thực nghiệm

* Email: tranthikimthaok30@gmail.com

- Điểm nóng chảy được đo trên máy Büchi Melting Point B-545.
- Phổ ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, COSY, HSQC và HMBC: Ghi trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker ở tần số 500 MHz cho phổ ^1H -NMR và 125 MHz cho phổ ^{13}C -NMR.
- Sắc ký bản mỏng được thực hiện trên silica gel (Merk, Kielselgl 60 F₂₅₄, 250 μm).
- Sắc ký cột được thực hiện trên cột cổ điển silical gel (40-60 μm , Merck).

2.2. Phân lập các hợp chất

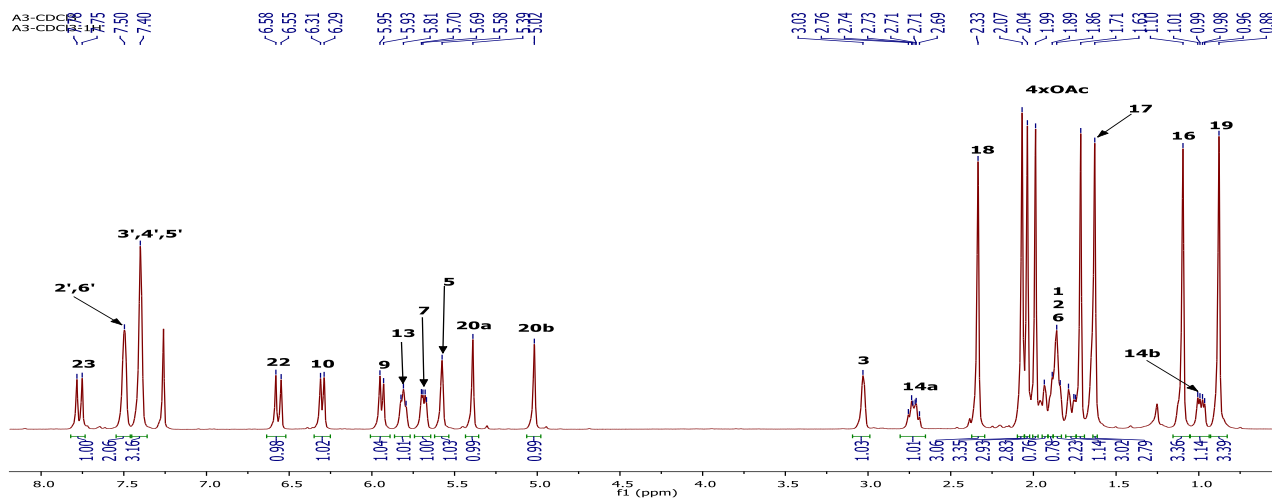
Vỏ cây thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) được lấy tại Hồ Tiên, huyện Đơn Dương tỉnh Lâm Đồng vào tháng 03 năm 2010 và được định danh bởi TS. Vương Chí Hùng, Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Đà Lạt, Lâm Đồng. Mẫu cây được phơi khô, xay nhỏ rồi trích nóng với metanol, lọc, cô quay thu hồi dung môi thu được cao metanol thô. Cao metanol được đem trích với các dung môi có độ phân cực tăng dần (diclometan và etyl acetat) thu được các cao tương ứng.

Thực hiện sắc ký cột silica gel pha thường trên cao diclometan (80,0 g), sử dụng các dung môi giải ly Ete dầu hỏa - Etyl acetat có độ phân cực tăng dần (0-100% Etyl acetat), sau đó chuyển qua các dung môi giải ly Cloroform - Metanol có độ phân cực tăng dần (5-30% Metanol) thu được 12 phân đoạn (**A-L**). Thực hiện SKC trên silica gel phân đoạn **E** (2,59 g) với hệ dung môi ED: EA (0%-100% EA) thu được 13 phân đoạn (**E1-13**).

Tiến hành SKC phân đoạn **E12** (422,7 mg) với hệ dung môi ED: CHCl_3 (0%-100% CHCl_3) thấy xuất hiện kết tinh. Lọc lấy kết tinh, rửa nhiều lần bằng CHCl_3 thu được chất rắn kết tinh hình kim, màu trắng (19,4 mg) đặt tên hợp chất **1**.

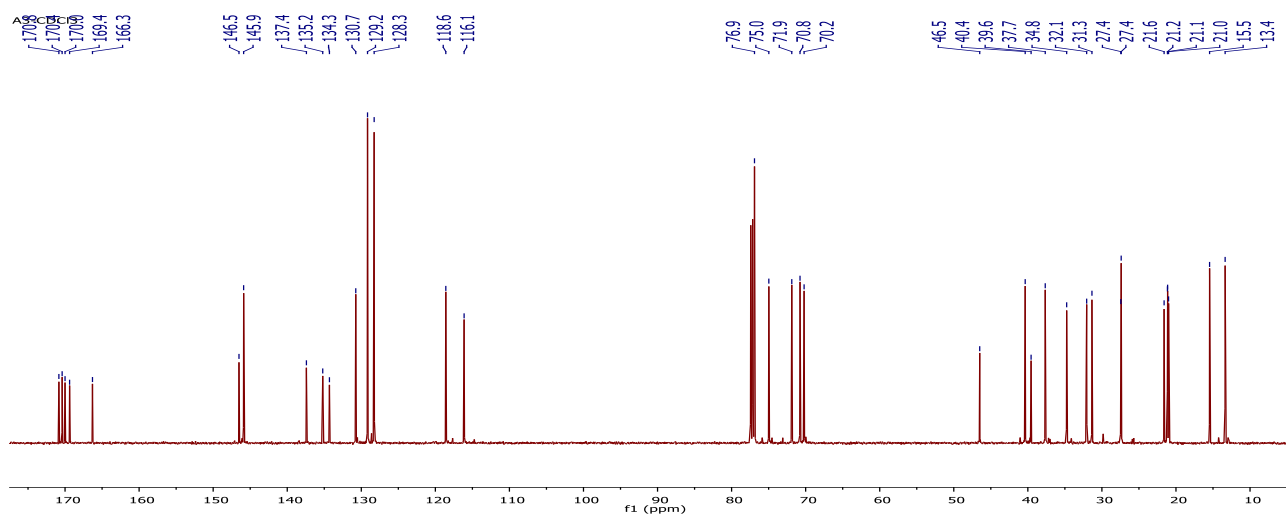
Hợp chất **1** dạng kết tủa trắng, kết tinh ở dạng tinh thể hình kim trong dung môi ED: CHCl_3 (9:1), tan tốt trong CHCl_3 . Sắc ký bản mỏng với hệ giải ly ED: CHCl_3 (7:3) hiện hình với thuốc thử H_2SO_4 20% hơi nóng cho vết tròn màu nâu đen, nhiệt độ nóng chảy 146-147°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -29,2° ($c=0,01$; CHCl_3).

Phổ ^1H -NMR hợp chất **1** cho tín hiệu của bốn nhóm methyl tứ cấp [δ_{H} 1,10 (s, 16-Me); 1,63 (s, 17-Me); 2,33 (s, 18-Me); 0,88 (s, 19-Me)] đặc trưng cho khung taxan-diterpen. Bốn nhóm methyl acetyl [δ_{H} 1,71 (s, 13-OAc); 1,99 (s, 10-OAc); 2,04 (s, 9-OAc); 2,07 (s, 7-OAc)]; năm proton oxymethine [δ_{H} 5,81 (1H; t, $J=8,0$ Hz, H-13); 5,69 (1H; dd, $J=11,0$; 4,5 Hz, H-7); 5,58 (1H; s; H-5); 5,94 (1H; d, $J=11,0$ Hz, H-9); 6,30 (1H; d, $J=11,0$ Hz, H-10)], hai proton methine [δ_{H} 1,86 (1H; m, H-1) và 3,03 (1H; s, H-3)], ba nhóm methylene ([δ_{H} 1,89 (m, H-2a); 1,77 (dd, $J=16,0$; 5,0; H-2b)]; [1,93 (m, H-6a); 1,85 (m, H-6b)] và [2,73 (dt, $J=10,0$; 3,0; H-14a); 0,99 (dd, $J=14,0$; 6,5; H-14b)]); một nhóm exomethylene [δ_{H} 5,02 (1H, s, H-20a) và 5,39 (1H, s, H-20b)] và một nhóm cinamoyl [δ_{H} 6,57 (1H, d, $J=15,5$ Hz, H-22); 7,77 (1H, d, $J=15,5$ Hz, H-23), 7,40 (1H, m, H4'); 7,40 (2H, m, H-3', H-5') và 7,50 (2H, m, H-2' và H-6')].



Hình 1: Phổ ^1H -NMR của hợp chất **1**

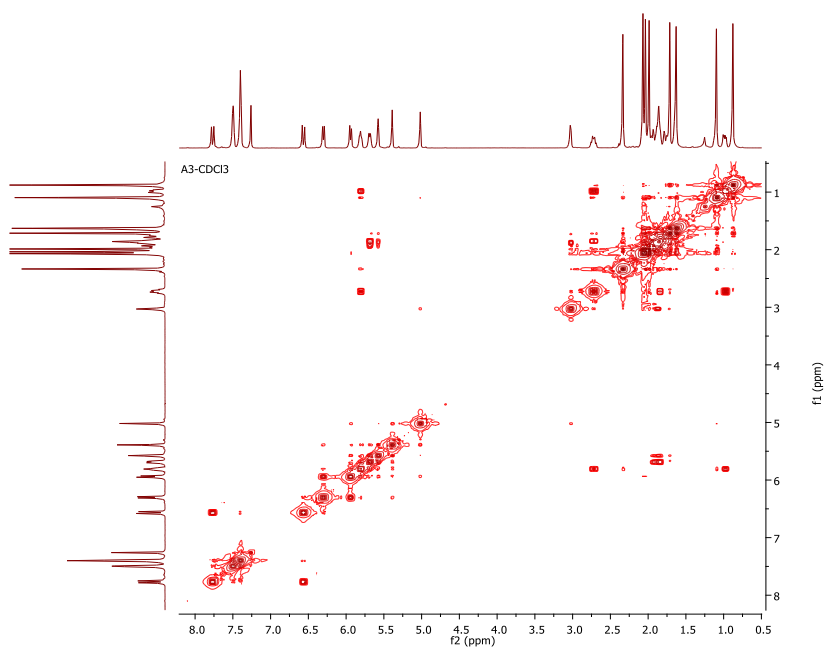
Phổ ^{13}C -NMR hợp chất **1** cũng cho các mũi cộng hưởng ứng với 35 carbon bao gồm bốn carbon carbonyl ester [δ_{C} 170,0 (7-OAc); 170,4 (9-OAc); 169,4 (10-OAc) và 170,8 (13-OAc)], hai carbon olefin trí hoán [δ_{C} 135,2 (C-11) và 137,4 (C-12)] và năm carbon oxymethine [δ_{C} 75,0 (C-5); 70,2 (C-7); 76,9 (C-9); 71,9 (C-10) và 70,8 (C-13)].



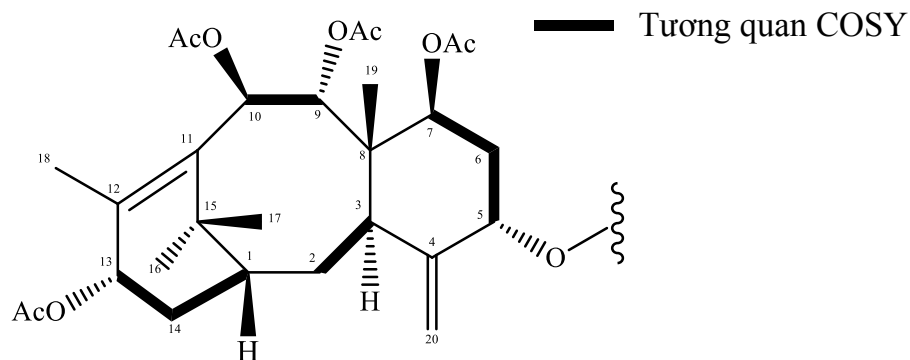
Hình 2: Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **1**

Các kết quả phổ nghiệm trên cho thấy hợp chất **1** có công thức phân tử $\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{O}_{10}$ với độ bất bão hòa 15, có bốn nhóm –OAc.

Phổ ^1H - ^1H COSY cho tín hiệu tương quan giữa H-6a (δ_{H} 1,93; *m*); H-6b (δ_{H} 1,85; *m*) với H-5 (δ_{H} 5,58; *s*) và H-7 (δ_{H} 5,69; *dd*); H-13 (δ_{H} 5,81; *t*) với H-14a (δ_{H} 2,73; *dt*) và H-14b (δ_{H} 0,99; *dd*); H-2a (δ_{H} 1,89; *m*) và H-2b (δ_{H} 1,77; *dd*) với H-3 (δ_{H} 3,03; *s*); H-9 (δ_{H} 5,94; *d*) với H-10 (δ_{H} 6,30; *d*) với hằng số ghép $J = 11,0$ Hz hiển thị sự ghép cặp *trans*.

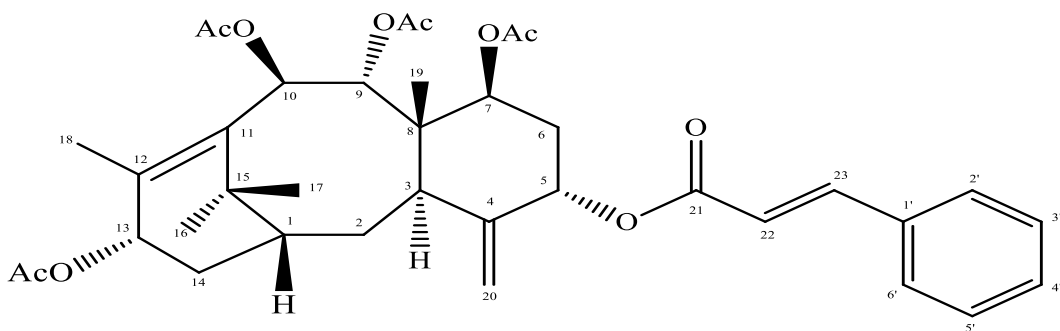


Hình 3: Phổ ^1H - ^1H COSY của hợp chất **1**



Hình 4: Tương quan ^1H - ^1H COSY của hợp chất **1**

Phân tích các dữ kiện phổ ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, ^1H - ^1H COSY và kết hợp với tài liệu tham khảo, cấu trúc hợp chất **1** được xác định là 2-deacetoxytaxinine J^[2].



Hình 5: Cấu trúc của hợp chất 2-deacetoxytaxinine J (Hợp chất **1**)

Bảng 1: Số liệu phổ ^1H -NMR (500Hz) và ^{13}C -NMR (125Hz) và tương quan ^1H - ^1H COSY của hợp chất **1** trong dung môi CDCl_3

Vị trí	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	^1H - ^1H COSY
1	1,86 (m)	40,4	14a
2a	1,89 (m)	27,4	3
2b	1,77 (dd, $J=16,0;5,0\text{Hz}$)		
3	3,03 (s)	37,7	2a
4		146,5	
5	5,58 (s)	75,0	6a, 6b
6a	1,93 (m)	34,8	5, 7
6b	1,85 (m)		
7	5,69(dd, $J= 11,0; 4,5\text{Hz}$)	70,2	6a, 6b
8		46,5	
9	5,94(d, $J= 11.0\text{Hz}$)	76,9	10
10	6,30 (d, $J=11.0\text{Hz}$)	71,9	9
11		135,2	
12		137,4	
13	5,81(t, $J= 8.0\text{ Hz}$)	70,8	14a, 14b
14a	2,72 (dt, $J= 10,0; 10,0 ; 3,0\text{Hz}$)	32,1	1, 13, 14b
14b	0,99 (dd, $J=14,0 ; 6,5\text{Hz}$)		13, 14a
15		39,6	
16	1,10 (s)	31,3	
17	1,63 (s)	27,4	
18	2,34 (s)	15,5	
19	0,88 (s)	13,4	
20a	5,39 (s)	116,1	20b
20b	5,02 (s)		20a
21		166,3	

22	6,57 (<i>d</i> , <i>J</i> = 15.5Hz)	118,6	23
23	7,77 (<i>d</i> , <i>J</i> = 15.5Hz)	145,9	22
7-OAc Me	2,07 (<i>s</i>)	170,0 21,6	
9-OAc Me	2,04 (<i>s</i>)	170,4 21,0	
10-OAc Me	1,99 (<i>s</i>)	169,4 21,1	
13-OAc Me	1,71 (<i>s</i>)	170,8 21,2	
1'		134,3	
2', 6'	7,50 (<i>m</i>)	129,2	
3', 5'	7,40 (<i>m</i>)	128,3	
4'	7,40 (<i>m</i>)	130,7	

Bảng 2: Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (500Hz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (125Hz) của hợp chất 1 và 2-deacetoxytaxinine J [2] trong dung môi CDCl_3

Vị trí	BT1		2-Deacetoxytaxinine J ^[2]	
	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1	1,86 (<i>m</i>)	40,4	1,84 (<i>m</i>)	40,4
2a	1,89 (<i>m</i>)	27,4	1,87 (<i>m</i>)	27,4
2b	1,77 (<i>dd</i> , <i>J</i> =16,0;5,0Hz)		1,76 (<i>dd</i> , <i>J</i> =15,0;5,0Hz)	
3	3,03 (<i>br s</i>)	37,7	3,01 (<i>br d</i> , <i>J</i> = 5,0Hz)	37,7
4		146,5		146,6
5	5,58 (<i>s</i>)	75,0	5,57 (<i>s</i>)	75,1
6a	1,93 (<i>m</i>)	34,8	1,93 (<i>m</i>)	34,8
6b	1,85 (<i>m</i>)		1,84 (<i>m</i>)	
7	5,69 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 11,0;4,5Hz)	70,2	5,69 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 11,3;5,0Hz)	70,3
8		46,5		46,6
9	5,94 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11.0Hz)	76,9	5,94 (<i>d</i> , <i>J</i> =11.1Hz)	77,0
10	6,30 (<i>d</i> , <i>J</i> =11.0Hz)	71,9	6,30 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11.1 Hz)	71,9

11		135,2		135,3
12		137,4		137,5
13	5,81 (t, J= 8.0 Hz)	70,8	5,81 (t, J= 8.4 Hz)	70,8
14a	2,73 (dt, J= 10,0 ;10,0 ;3,0Hz)	32,1	2,71 (dt, J=9,8 ;9,8 ;1,6Hz)	32,1
14b	0,99(dd, J=14,0 ;6,5Hz)		0,97 (dd, J=14,7 ;7,0Hz)	
15		39,6		39,6
16	1,10(s)	31,3	1,10 (s)	31,4
17	1,63 (s)	27,4	1,63 (s)	27,5
18	2,33 (s)	15,5	2,33 (s)	15,5
19	0,88 (s)	13,4	0,88 (s)	13,4
20a	5,39 (s)	116,0	5,38 (s)	116,2
20b	5,02 (s)		5,02 (s)	
21		166,3		166,4
22	6,57 (d, J= 15.5Hz)	118,6	6,57 (d, J= 16.1Hz)	118,7
23	7,77 (d, J= 15.5Hz)	145,9	7,77 (d, J= 16.1Hz)	146,0
7-OAc		170,0		170,1
Me	2,07 (s)	21,6	2,07 (s)	21,7
9-OAc		170,4		170,5
Me	2,04 (s)	21,0	2,04 (s)	21,1
10-OAc		169,4		169,5
Me	1,99 (s)	21,1	1,99 (s)	21,2
13-OAc		170,8		170,9
Me	1,71 (s)	21,2	1,71 (s)	21,2
1'		134,3		134,4
2', 6'	7,50 (m)	128,3	7,49 (m)	128,3
3', 5'	7,40 (m)	129,2	7,40 (m)	129,2
4'	7,40 (m)	130,7	7,40 (m)	130,8

3. Kết luận

Từ phân đoạn E cao diclometan của vỏ cây thông đỏ *Taxus wallichiana* Zucc., họ Thông đỏ thu hái tại Lâm Đồng đã cô lập được hợp chất 2-deacetoxytaxinine J. Cấu trúc của hợp chất này được xác định bởi các phương pháp phổ cộng hưởng từ một chiều, hai chiều, so sánh với tài liệu tham khảo cho thấy đây là một hợp chất mới, chưa được tìm thấy trong nước.

4. Đề xuất hướng nghiên cứu tiếp theo

- Tiến hành thử nghiệm hoạt tính sinh học của hợp chất 2-deacetoxytaxinine J đã cô lập được để làm sáng tỏ tác dụng chữa bệnh của hợp chất 2-deacetoxytaxinine J và cây thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) tại Việt Nam.
- Tiếp tục khảo sát các phân đoạn còn lại của vỏ cây thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) để tìm thêm chất mới □

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Rung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Trần Toàn (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập 2, NXB Đại học khoa học kỹ thuật, tr 897-900.
- [2] Trần Thị Kim Thảo, “Một hợp chất taxan diterpenoid mới được cô lập từ vỏ cây thông đỏ *Taxus wallichiana* Zucc., họ thông đỏ (Taxaceae)”, *Tạp chí Khoa học Đại học Phú Yên*, số 20, tháng 1, 2019.
- [3] Manli Zhang, Xinhua Lu, Jing Zhang, Shaoxia Zhang, Mei Dong, Chang hong Huo, Yucheng Gu, Taxanes from the leaves of *Taxus cuspidata*, *Chemistry of Natural Compounds*, 46(1), 2010.
- [4] SunL. X., ChenY., LiuL. X., JiaY. R., LiY. C., MaE. L., “Cytotoxic Constituents From *Wikstroemia indica*”, *Chemistry of Natural Compounds*, tập 48 (số 3), 2012, tr 495-496.

A study on NMR spectroscopy of compound 2-deacetoxytaxinine J isolated in E fraction from the dicloroform extract of the barks of *Taxus wallichiana* Zucc. (Taxaceae)

Tran Thi Kim Thao

Phu Yen University

Email: tranthikimthaok30@gmail.com

Received: June 28, 2019; Accepted: February 10, 2020

Abstract

*From the E fraction of the dichloromethane extract of the barks of *Taxus wallichiana* Zucc (Taxaceae) collected in the province of Lam Dong, a taxane diterpenoid compound containing cinamoyl group called 2-deacetoxytaxinine J is isolated. The chemical structure of this compound was elucidated by using NMR spectroscopy and compared with the published data.*

Key words: *Taxus wallichiana* Zucc., Taxaceae, taxane diterpenoid.