

MỘT HỢP CHẤT TAXAN DITERPENOID MỚI ĐƯỢC CÔ LẬP TỪ VỎ CÂY THÔNG ĐỎ *TAXUS WALLICHIANA* ZUCC., HỌ THÔNG ĐỎ (TAXACEAE)

Trần Thị Kim Thảo*
Trường Đại học Phú Yên

Tóm tắt

Từ phân đoạn F cao diclometan của vỏ cây thông đỏ *Taxus wallichiana* Zucc., họ Thông đỏ thu hái tại Lâm Đồng, một hợp chất taxan diterpenoid mới đã được cô lập có tên gọi là 2,5-diacetoxy-10-methoxy-14-(2'-methyl-3'-hydroxy)butyryl-oxy-4(20),11-taxadiene. Đây là hợp chất mới chưa được công bố trên thế giới. Cấu trúc của 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.

Abstract

A new taxane diterpenoid compound isolated from the barks of *Taxus wallichiana* Zucc. (Taxaceae)

From the F fraction of the dichloromethane extract of the *Taxus wallichiana* Zucc (Taxaceae) barks, collected in Lam Dong province, a new taxane diterpenoid compound was isolated, called 2,5-diacetoxy-10-methoxy-14-(2'-methyl-3'-hydroxy)butyryl-oxy-4(20),11-taxadiene. This is a new unpublished compound in the world. The chemical structure of this compound was determined by 1D and 2D NMR spectra and comparison with the published data.

Key words: *Taxus wallichiana* Zucc. Taxaceae, taxane 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 Vì), 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, Philipping 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

* Email: tranthikimthaok30@gmail.com

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 F 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 một hợp chất taxan diterpenoid từ phân đoạn F 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 (HSQC, HMBC) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất này được nhận danh là 2,5-diacetoxy-10-methoxy-14-(2'-methyl-3'-hydroxy)butyryl-oxy-4(20),11-taxadiene, một hợp chất mới chưa được công bố trên thế giới.

2. Thực nghiệm

2.1. Điều kiện thực nghiệm

- 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 F (3,40 g) với hệ dung môi Ete dầu hỏa - Cloroform (0%-100% Cloroform) thu được 10 phân đoạn (F1-10). Tiến hành SKC phân đoạn F6 (622,3 mg) với hệ dung môi ED: CHCl_3 (0%-100% CHCl_3) thu được 5 phân đoạn (F61-F65). Tiến hành SKC phân đoạn F62 (80,8 mg) với hệ dung môi H: CHCl_3 (0%-100% CHCl_3) thu được 3 phân đoạn (F621-F623). Tiến hành SKC phân đoạn F621 (53,2 mg) với hệ dung môi ED: CHCl_3 thu được 3 phân đoạn (F6211-F6213). Tiến hành sắc ký điều chế phân đoạn F6213 (25,3 mg) trên bản silica gel với hệ dung môi giải ly H: CHCl_3 (1:9) thu được 5,3 mg hợp chất tinh khiết.

3. Kết quả và biện luận

Hợp chất được cô lập dưới dạng bột vô định hình màu trắng, tan tốt trong CHCl_3 . Sắc ký bản mỏng với hệ dung ly H- CHCl_3 (1:9) và hiện hình bằng dung dịch H_2SO_4 20% hơi nóng cho vết tròn màu tím.

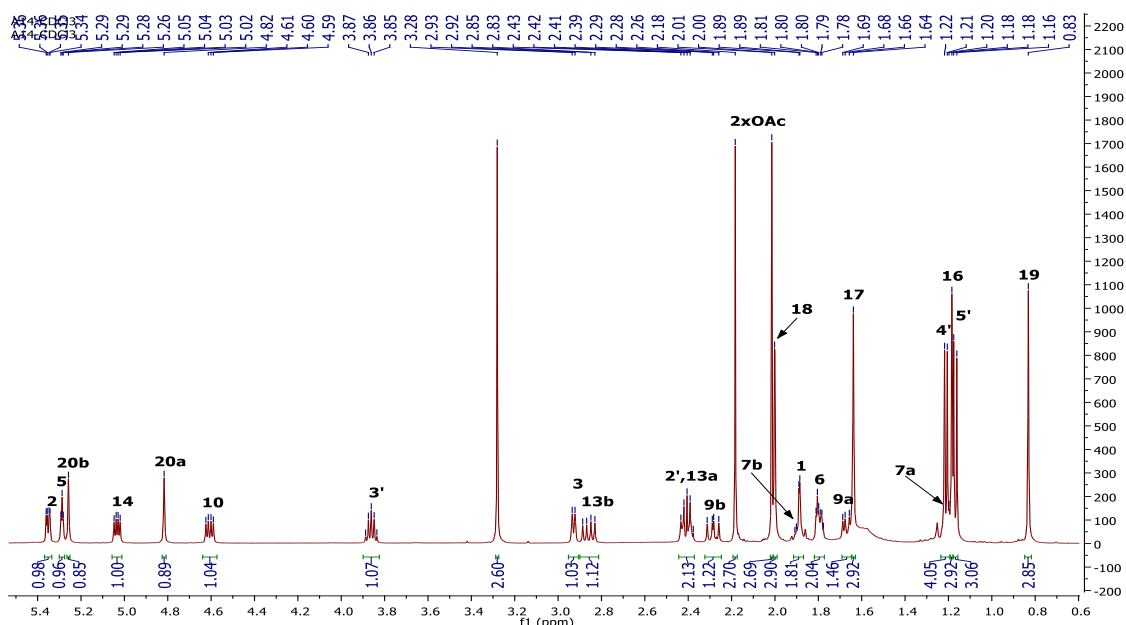
Phổ ^1H -NMR của hợp chất cô lập được cho tín hiệu của bốn nhóm methyl tứ cấp [δ_{H} 1,18 (s, 16-Me); 1,64 (s, 17-Me); 2,00 (s, 18-Me); 0,83 (s, 19-Me)] đặc trưng cho

khung taxan-diterpen. Hai nhóm methyl acetyl [δ_H 2,02 (s, 2-OAc); 2,18 (s, 5-OAc)]; bốn proton oxymethine [δ_H 5,35 (1H; *dd*, $J=6,5; 2,0$ Hz, H-2); 5,29 (1H; *t*, $J=2,5$ Hz, H-5); 4,61 (1H; *dd*, $J=11,5; 5,5$ Hz, H-10); 5,03 (1H; *dd*, $J=9,5; 4,5$ Hz, H-14)], hai proton methine [δ_H 1,89 (1H; *d*, $J=2,0$ Hz, H-1) và 2,93 (1H; *d*, $J=6,5$ Hz, H-3)], bốn nhóm methylene [δ_H 1,79 (*m*, H-6 α ; H-6 β); 1,90 (*m*, H-7 α); 1,21 (*m*, H-7 β); 1,66 (*dd*, $J=15,0; 5,5$ Hz, H-9 α); 2,29 (*dd*, $J=15,0; 11,5$ Hz, H-9 β)] và [2,86 (*dd*, $J=19,0; 9,5$ Hz, H-13 α); 2,41 (*m*, H-13 β)] một nhóm exomethylene [δ_H 5,26 (1H, s, H-20 α) và 4,82 (1H, s, H-20 β)]. Từ đó, chúng tôi đề nghị hợp chất cô lập được có khung taxane-diterpene.

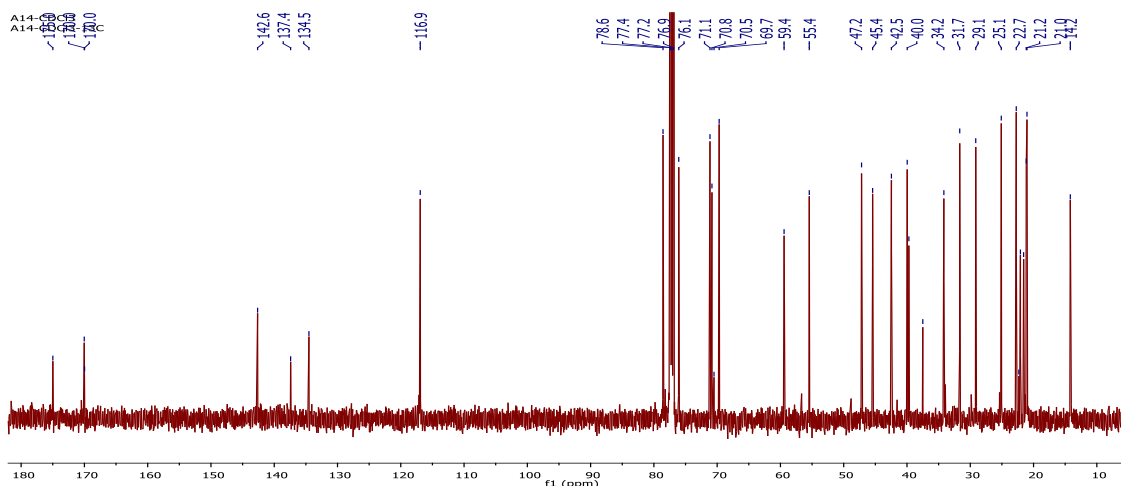
Ngoài ra, phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất cô lập được còn xuất hiện thêm tín hiệu của hai nhóm methyl [δ_H 1,21 (3H, *d*, $J=6,5$ Hz, H-4'); 1,17 (3H; *d*, $J=7,5$ Hz, H-5')]; một proton methine [δ_H 2,41 (1H; *quin*, $J=7,5$ Hz, H-2')] và một proton oxymethine [δ_H 3,86 (1H; *quin*, $J=6,5$ Hz, H-3')] chứng tỏ có mang nhánh 2'-methyl-3'-hydroxy butyrate.

So sánh phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất đã cô lập được với các hợp chất khác trong cùng loài này, chúng tôi nhận thấy phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất đã cô lập được cho các tín hiệu tương tự như của hợp chất yunnanxane [3], tuy nhiên so với yunnanxane [3] thì hợp chất này chỉ có sự hiện diện của hai nhóm -OAc [δ_H 2,02 (s, 2-OAc); 2,18 (s, 5-OAc)] nhưng lại xuất hiện thêm một nhóm -OMe [δ_H 3,28 (s)].

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất cô lập được cho các mũi cộng hưởng ứng với sự hiện diện của 30 carbon trong đó có hai nhóm acetyl [δ_C 170,0 (C-5); 170,0 (C-2)]; năm carbon oxymethine [δ_C 70,8 (C-2); 78,6 (C-5); 76,1 (C-10); 71,1 (C-14); 69,7 (C-3')]; ba carbon carbonyl ester [δ_C 170,0 (2-OAc); 170,0 (5-OAc) và 175,0 (C-1')]; hai carbon olefin trí hoá [δ_C 137,4 (C-11) và 134,5 (C-12)] và năm carbon oxymethine [δ_C 70,8 (C-2); 78,6 (C-5); 76,1 (C-10); 71,1 (C-14) và 69,7 (C-3')]. Ngoài ra, hợp chất cô lập được không có mũi cộng hưởng của carbon carbonyl C-13 và carbon methylene C-14 như các hợp chất trước mà thay vào đó lần lượt là carbon methylene [δ_C 40,0 (C-13)] và carbon oxymethine [δ_C 71,1 (C-14)] tương ứng. So sánh phổ ^1H và ^{13}C NMR nhận thấy hợp chất cô lập được có khung sườn tương tự yunnanxane [3] nhưng chỉ hiện diện 2 nhóm -OAc và xuất hiện thêm 1 nhóm -OCH₃.

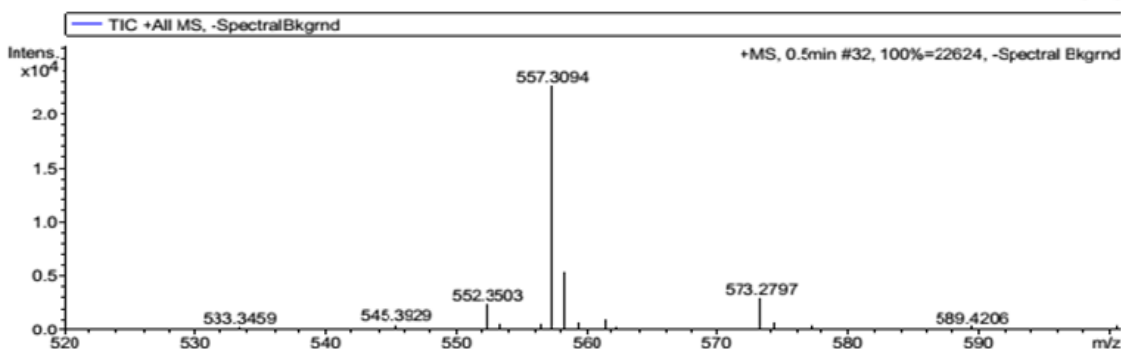


Hình 1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất



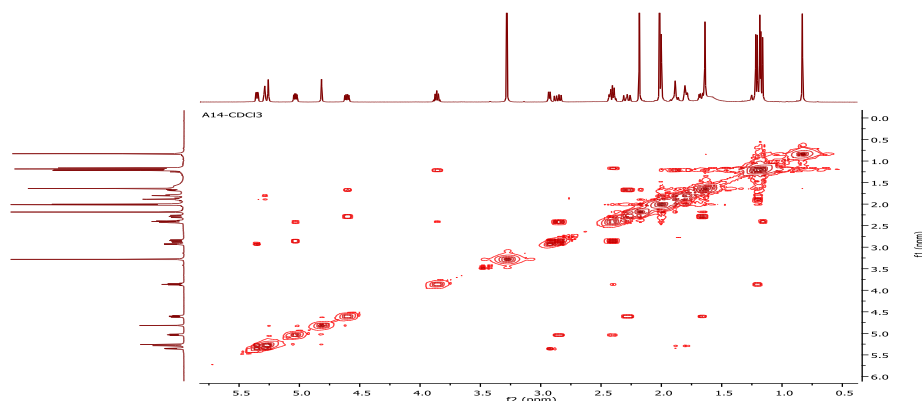
Hình 2. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất

Từ các dữ liệu trên, công thức phân tử của hợp chất cô lập được đề nghị là $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8$, điều này được xác nhận bởi mũi ion phân tử giả $[\text{M}+\text{Na}]^+$ tại $m/z=557,3094$ trên khối phổ phân giải cao HR-ESI-MS, sai lệch 0,4 milimass so với tính toán lý thuyết $[\text{M}+\text{Na}]^+$ lý thuyết = 557,3090.



Hình 3. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất

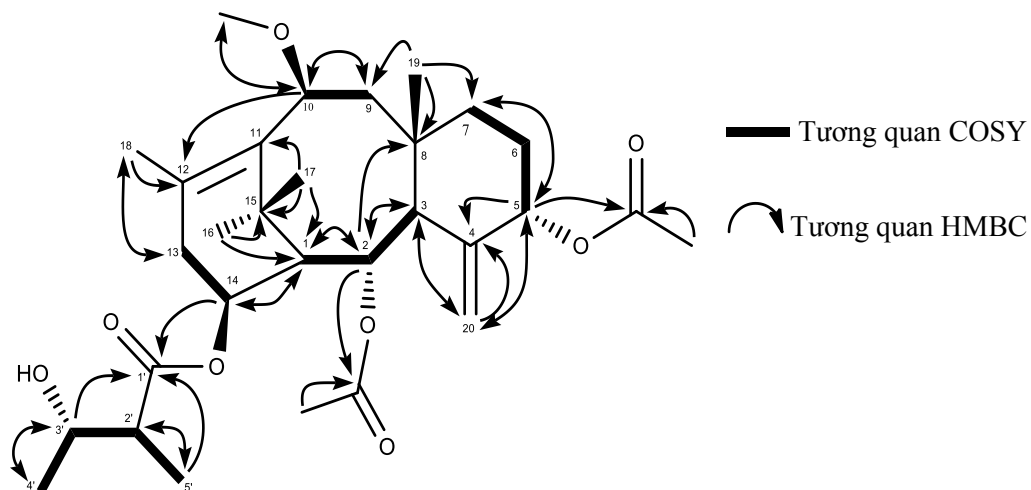
Phổ COSY của hợp chất cô lập được cho thấy H-2 (δ_{H} 5,35 (dd, $J=6,5$; 2,0 Hz)] tương quan với proton δ_{H} 2,93 là H-3 ($J_{23}=6,5$ Hz) và proton δ_{H} 1,89 là H-1 (d, $J_{12}=2,0$ Hz). Mặc khác, phổ COSY còn cho tương quan H-3 (δ_{H} 2,93) với H-20 β (δ_{H} 4,82) và H-20 α (δ_{H} 5,26) chứng tỏ nhóm exomethylen gắn vào vị trí C-4. Proton δ_{H} 5,29 là H-5 (t, $J=2,5$ Hz) cho tương quan với các tín hiệu cộng hưởng tại δ_{H} 1,79 (m) và δ_{H} 1,90 (m) chứng tỏ hai tín hiệu này là H-6 và H-7. Bên cạnh đó, hai tín hiệu cộng hưởng (δ_{H} 1,66) và (δ_{H} 2,29) cùng cho tương quan với proton tại δ_{H} 4,61 là H-10 ($J_{10,9\alpha}=5,5$ Hz; $J_{10,9\beta}=11,5$ Hz), hai tín hiệu cộng hưởng (δ_{H} 2,41) và (δ_{H} 2,86) cùng cho tương quan với proton tại δ_{H} 5,03 là H-14 ($J_{14,13\alpha}=4,5$ Hz; $J_{14,13\beta}=9,5$ Hz) chứng tỏ hai nhóm methylene lần lượt gắn tại C-9, C-13. Ngoài ra, phổ COSY còn cho thấy tương quan của H-2' (δ_{H} 2,41) với các tín hiệu cộng hưởng tại δ_{H} 3,86 là H-3' ($J_{2'3'}=6,5$ Hz), δ_{H} 1,17 là H-5' ($J_{2'5'}=7,5$ Hz) và tương quan của H-3' (δ_{H} 3,86) với tín hiệu cộng hưởng tại δ_{H} 1,21 là H-4' ($J_{3'4'}=6,5$ Hz) chứng tỏ có nhánh 2'-methyl-3'-hydroxybutyrate.



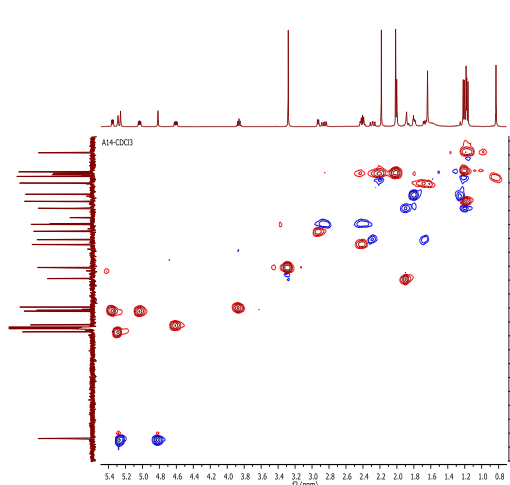
Hình 4. Phổ COSY của hợp chất

Để có thêm thông tin chính xác về hợp chất cô lập được, phổ HSQC, HMBC của hợp chất này đã được ghi nhận.

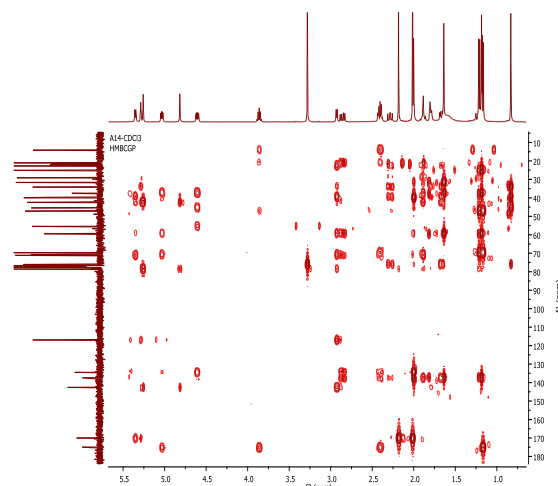
Phổ HMBC của hợp chất cô lập được cho tương quan giữa proton oxymethine H-2 (δ_H 5,35), H-5 (δ_H 5,29) với carbon carbonyl ester tương ứng [δ_C 170,0 (s, 2-OAc); δ_C 170,0 (s, 5-OAc)]. Do đó, tại C-2 và C-5 có mang nhóm thế -OAc. Bên cạnh đó, tương quan HMBC giữa proton methoxyl với carbon oxymethine C-10 (δ_C = 76,1) chứng tỏ nhóm methoxyl gắn tại C-10. Mặt khác, proton oxymethine H-3' (δ_H 3,86), proton methine H-2' (δ_H 2,41) và proton methyl H-5' (δ_H = 1,17) đều cho tương quan với carbon carbonyl ester δ_C = 175,0 (C-1') ; đồng thời, proton oxymethine H-14 (δ_H 5,03) cũng cho tương quan với carbon carbonyl ester δ_C = 175,0 (C-1') chứng tỏ nhánh (2'-methyl-3'-hydroxy butyrate) gắn tại C-14.



Hình 5. Tương quan HMBC và 1H - 1H COSY của hợp chất cô lập được

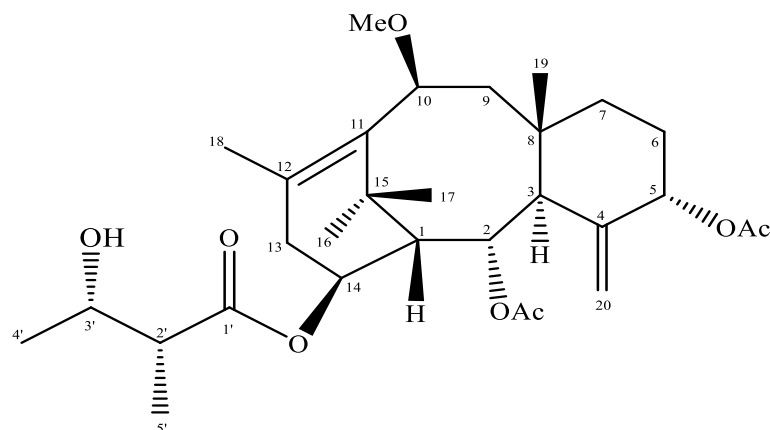


Hình 6. Phổ HSQC của hợp chất



Hình 7. Phổ HMBC của hợp chất

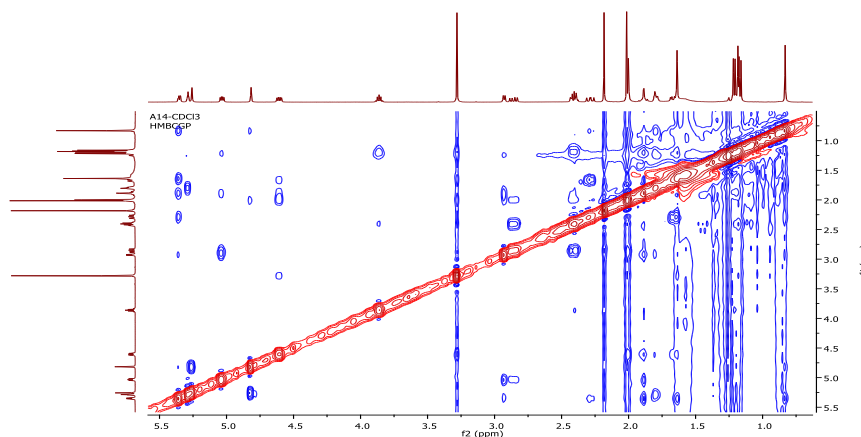
Từ các lý luận trên hợp chất cô lập được đề nghị là 2,5-diacetoxy-10-methoxy-14-(2'-methyl-3'-hydroxy)butyryl-oxy-4(20),11-taxadiene.



Hình 8. Cấu trúc của hợp chất

2,5-diacetoxy-10-methoxy-14-(2'-methyl-3'-hydroxy)butyryl-oxy-4(20),11-taxadiene

Hóa lập thể của hợp chất cô lập được xác định dựa vào phổ ROESY. Các tương quan giữa H-2 với H-1, H-2 với 17-Me, H-2 với 19-Me và 17-Me với 19-Me chứng tỏ H-1, H-2 định hướng β và nhóm 2-OAc định hướng α . Bên cạnh đó, H-3 và H-10 cùng cho tương quan với nhóm 2-OAc chứng tỏ H-10 định hướng α nên nhóm 10-OCH₃ định hướng β . Ngoài ra, H-14 tương quan với H-3 và H-16 chứng tỏ H-14 định hướng α và nhánh (2-methyl-3-hydroxy) butanoyl định hướng β . Từ hằng số ghép của H-5 ($t, J=2,5$ Hz) chứng tỏ H-5 ở vị trí xích đạo với định hướng β trong cấu trạng ghế của vòng C do đó nhóm 5-OAc ở vị trí trục với định hướng α . Dựa vào tài liệu tham khảo [3], lập thể của nhánh 2-methyl-3-hydroxybutanoyl là 2(R)-methyl-3(S)-hydroxybutanoyl.



Hình 9. Phổ ROESY của hợp chất

Vậy cấu trúc của hợp chất cô lập được xác định là : 2 α ,5 α -diacetoxy-10 β -methoxy-14 β -[2'(*R*)-methyl-3'(*S*)-hydroxy]butyryl-oxy-4(20),11-taxadiene. Tương quan lập thể trên phổ ROESY của hợp chất cô lập được trình bày trong hình 3. Tra cứu trên phần mềm SciFinder tại trường Caltech University (USA) vào ngày 29/5/2014 cho thấy hợp chất cô lập được là một hợp chất mới chưa được công bố trên thế giới.

Hình 10. Tương quan ROESY của hợp chất cô lập được

Bảng số liệu phổ ^1H -NMR (500 MHz), ^{13}C -NMR (125MHz) và tương quan HMBC, COSY, ROESY của hợp chất cô lập được trong CDCl_3

Vị trí	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)	COSY	ROESY	Tương quan HMBC	
					J ₂	J ₃

1	1,89 (<i>d</i> , $J = 2,0\text{Hz}$)	59,4	2	2, 13 β	2, 14, 15	3, 11
2	5,35 (<i>dd</i> , $J = 6,5; 2,0\text{Hz}$)	70,8	1, 3	1, 9 β , 17, 19	1, 3	8, 2-OCO-
3	2,93 (<i>d</i> , $J = 6,5\text{Hz}$)	42,5	2	7 α , 14	2, 4, 8	1, 5, 7, 19, 20
4		142,6				
5	5,29 (<i>t</i> , $J = 2,5\text{Hz}$)	78,6	6, 7 α		4	7, 20, 5-OCO-
6	1,79 (<i>m</i>)	29,1	5, 7 β			
7 α	1,90(<i>m</i>)	34,2	6, 7 β			
7 β	1,21 (<i>m</i>)		6, 7 α	10	8	3, 5
8		39,7				
9 α	1,66(<i>dd</i> , $J = 15,0; 5,5\text{Hz}$)	45,4	9 β , 10	10	8, 10	3, 7, 11
9 β	2,29 (<i>dd</i> , $J = 15,0; 11,5\text{Hz}$)		9 α , 10	19		7, 19
10	4,61 (<i>dd</i> , $J = 11,5; 5,5\text{Hz}$)	76,1	9 α , 9 β	9 α , 2-OAc	9	12, 15, -OCH ₃
11		137,4				
12		134,5				
13 α	2,86(<i>dd</i> , $J = 19,0; 9,5\text{Hz}$)	40,0	13 β , 14	2-OAc	12, 14	1, 11, 18
13 β	2,41(<i>m</i>)		13 α , 14		12	11
14	5,03(<i>dd</i> , $J = 9,5; 4,5\text{Hz}$)	71,1	13 α , 13 β	3, 16	1	1', 2, 12, 15
15		37,5				
16	1,18 (<i>s</i>)	31,7			15	1, 11, 17
17	1,64 (<i>s</i>)	25,1			15	1, 11, 16
18	2,00(<i>s</i>)	21,0			12	11, 13
19	0,83 (<i>s</i>)	22,7			8	3, 7, 9

20 α	5,26 (s)	116,9	20 β		4	3, 5
20 β	4,82 (s)		20 α			
1'		175,0				
2'	2,41 (quin, J=7,5Hz)	47,2	3', 5'		1', 3', 5'	4'
3'	3,86 (quin, J=6,5Hz)	69,7	2', 4'		2', 4'	1', 5'
4'	1,21(d, J=6,5Hz)	21,2	3'		3'	2'
5'	1,17(d, J=7,5Hz)	14,2	2'		2'	1', 3'
2-OAc Me	2,02 (s)	170,0 21,6		3, 10	2- OCO-	
5-OAc Me	2,18 (s)	170,0 22,1		3	5- OCO-	
10-OMe	3,28 (s)	55,4		17		10

Đề xuất hướng nghiên cứu tiếp theo:

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

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Rung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, 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] 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.
- [3] Sheng-Hong Li, Hong-Jie Zhang, Xue-Mei Niu, Ping Yao, Han-Dong Sun, Hary H.S.Fong, Novel toxoids from the Chinese yew *Taxus yunnanensis*, *Tetrahedron*, 59, 37-45, 2003.

(Ngày nhận bài: 11/06/2018; ngày phản biện: 11/07/2018; ngày nhận đăng: 04/01/2019)