

CÁC TRITERPEN TỪ THÂN CÂY BA SOI HỌ THẦU DẦU (EUPHORBIACEAE)

Hà Thị Thoà¹, Đoàn Thị Mai Hương¹, Phạm Văn Cường¹, Marc Litaudon²,
Nguyễn Văn Hùng¹, Châu Văn Minh¹

¹Viện Hóa sinh biển, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Hóa học Các hợp chất thiên nhiên, Gif sur Yvette, CH Pháp

Đến Tòa soạn ngày: 10/5/2010

1. MỞ ĐẦU

Họ thầu dầu (*Euphorbiaceae*) là một trong những họ lớn và phức tạp nhất trong hệ thực vật Việt Nam cũng như trên thế giới. Theo hệ thống phân loại của nhiều tác giả, họ Thầu dầu thuộc lớp Ngọc lan, phân lớp Sô, liên bộ Thầu dầu, bộ Thầu dầu [1, 2]. Trên thế giới, họ Thầu dầu có khoảng 300 chi với 8.000 loài, còn ở Việt Nam họ Thầu dầu có 79 chi với 459 loài. Cây *Macaranga denticulate* có tên tiếng việt là Ba soi hay Mã rạn rặng thuộc họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*), trong y học cổ truyền cây được dùng để trị bệnh viêm gan thể hoàng đản, trị bụng trướng nước và bí tiểu tiện, lá cây được dùng sắc nước làm thuốc lọc máu và phòng bệnh cho phụ nữ sau khi sinh đẻ [3]. Sau khi thử hoạt tính sinh học sơ bộ cho thấy dịch chiết etyl acetat của thân cây thể hiện hoạt tính chống ung thư đối với dòng tế bào ung thư KB với giá trị % ức chế là 34% ở nồng độ 10 µg/ml, chính vì vậy chúng tôi lựa chọn thân cây Ba soi làm mục tiêu nghiên cứu. Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi thông báo về việc phân lập được 4 hợp chất triterpenoid (1-4) từ căn CH₂Cl₂ của thân cây Ba soi.

2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết bị và nguyên liệu

Điểm nóng chảy được đo trên máy Boetius. Phổ khối ESI-MS ghi trên máy sắc kí lỏng ghép khối phổ LC/MSD Agilent series 1100. Phổ NMR được đo trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS làm chất chuẩn nội. Phổ hồng ngoại được đo trên máy hiệu FTIR Impact – 410. Sắc kí lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng silica gel Merk 60 F₂₅₄. Sắc kí cột được tiến hành với silica gel cỡ hạt 40 - 63 µm và sephadex LH-20 (Aldrich).

Thân cây Ba soi (*Macaranga denticulata*) được thu hái tại Sapa, Lào Cai ngày 11/7/2006. Tên cây được Thạc sỹ Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định. Mẫu tiêu bản số VN1677 hiện đang được lưu giữ tại phòng tiêu bản của Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Xử lí mẫu thực vật và chiết tách

Mẫu thân cây sau khi thu hái, được sấy khô trong phòng có hệ thống hút ẩm, sau đó xay nhỏ thu được nguyên liệu thô (1,14 kg), đem ngâm chiết với dung môi CH_2Cl_2 ở nhiệt độ phòng (3 L \times 3 lần \times 24 giờ). Tổng dịch chiết được cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 10,7 g cặn chiết CH_2Cl_2 . Bã còn lại tiếp tục đem ngâm chiết với MeOH ở nhiệt độ phòng (3 L \times 3 lần \times 24 giờ), rồi cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 32,5 g cặn metanol. Từ cặn chiết CH_2Cl_2 , sau khi tiến hành sắc kí cột silica gel với hệ dung môi n-hexan/EtOAc gradient, chúng tôi thu được 9 phân đoạn chính kí hiệu từ F1-F9.

Từ phân đoạn F1 sau khi chạy sắc kí cột silica gel với hệ dung môi n-hexan/ CH_2Cl_2 gradient thu được chất **2** (8 mg) và chất **3** (4 mg). Từ phân đoạn F2 sau khi kết tinh với hệ dung môi n-hexan/axeton thu được 9 mg chất **1**. Từ phân đoạn F6 sau khi chạy sắc kí cột silica gel với hệ dung môi n-hexan/axeton gradient thu được chất **4** (4 mg).

3-acetylaleuritolic (1): ESI-MS: m/z 497 $[\text{M}-\text{H}]^-$. FT-IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3430; 3166; 2931; 1732; 1690; 1583; 1466; 1372; 1246; 1028; 892; 806; 701; 610; 555; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0,83 (1H, m, H-5), 0,85 (3H, s, CH_3 -23), 0,88 (3H, s, CH_3 -24), 0,88 (3H, s, CH_3 -30), 0,91 (3H, s, CH_3 -27); 0,92 (3H, s, CH_3 -29), 0,94 (3H, s, CH_3 -25), 0,95 (3H, s, CH_3 -26), 1,93 (1H, dd, $J = 3,5$; 14,5 Hz, H-16), 2,03 (1H, s, OCOCH_3), 2,29 (1H, m, H-18), 2,37 (1H, dd, $J = 8,0$; 14,5 Hz, H-16), 4,46 (1H, dd, $J = 5,5$; 10,5 Hz, H-3), 5,52 (1H, dd, $J = 3,0$; 7,5 Hz, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 15,7 (C-25), 16,6 (C-24), 17,3 (C-11), 18,8 (C-6), 21,3 (OCOCH_3), 22,5 (C-27), 23,5 (C-2), 26,2 (C-26), 28,0 (C-23), 28,7 (C-30), 29,3 (C-20), 30,8 (C-22), 31,4 (C-16), 31,9 (C-29), 33,3 (C-21), 33,7 (C-13), 35,4 (C-19), 37,3 (C-1), 37,4 (C-13), 37,7 (C-4), 38,0 (C-10), 39,1 (C-8), 40,8 (C-7), 41,5 (C-18), 49,1 (C-9), 51,5 (C-17), 55,6 (C-5), 80,9 (C-3), 116,9 (C-15), 160,6 (C-14), 171,2 (OCOCH_3), 184,1 (C-28).

Epitaraxerol (2): ESI-MS: m/z 427 $[\text{M}+\text{H}]^+$; FT-IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3429; 2928; 2857; 1742; 1639; 1462; 1385; 1235; 1039; 840; 704; 657; 602; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0,82 (3H, s, CH_3 -28); 0,86 (3H, s, CH_3 -24); 0,91 (3H, s, CH_3 -27), 0,91 (3H, s, CH_3 -30), 0,92 (3H, s, CH_3 -23); 0,94 (3H, s, CH_3 -25), 0,94 (3H, s, CH_3 -29), 1,10 (3H, s, CH_3 -26), 3,40 (1H, br s, H-3), 5,53 (1H, dd, $J = 3,5$; 8,5 Hz, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 15,2 (C-25), 17,5 (C-11), 18,8 (C-6), 21,3 (C-27), 22,2 (C-24), 25,1 (C-2), 26,1 (C-26), 28,2 (C-23), 28,8 (C-20), 29,8 (C-28), 29,9 (C-30), 32,3 (C-1), 33,1 (C-21), 33,4 (C-29), 33,8 (C-12), 35,2 (C-22), 35,8 (C-17), 36,7 (C-19), 37,4 (C-4), 37,6 (C-13), 37,8 (C-16), 38,1 (C-10), 41,3 (C-7), 48,8 (C-5), 49,0 (C-9), 49,3 (C-18), 76,9 (C-3), 117,7 (C-15), 158,2 (C-14).

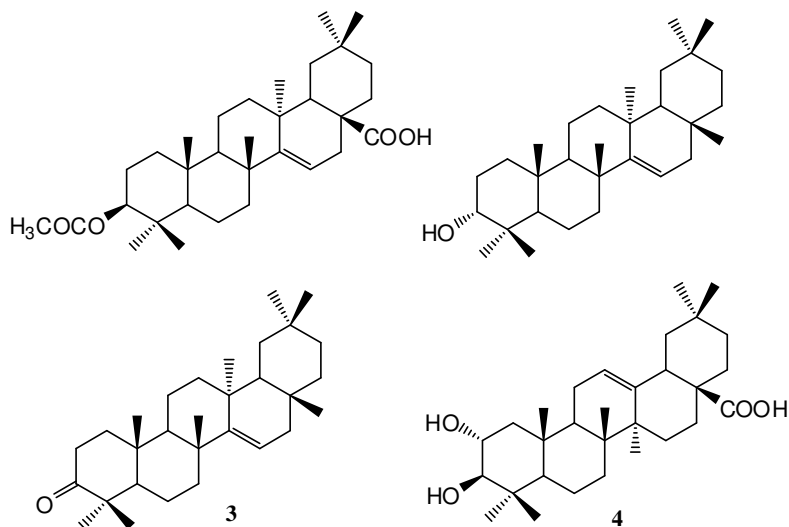
Taraxerone (3): ESI-MS: m/z 425 $[\text{M}+\text{H}]^+$; FT-IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3431; 2955; 2870; 1679; 1620; 1460; 1379; 1231; 969; 873; 693; 608; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0,83 (3H, s, CH_3 -26), 0,91 (3H, s, CH_3 -30), 0,92 (3H, s, CH_3 -28), 0,96 (3H, s, CH_3 -29), 1,07 (3H, s, CH_3 -24), 1,08 (3H, s, CH_3 -25), 1,09 (3H, s, CH_3 -23), 1,14 (3H, s, CH_3 -27), 2,33 (1H, m, H-1), 2,57 (1H, m, H-1), 5,50 (1H, dd, $J = 3,5$; 8,0 Hz, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 14,8 (C-25), 17,5 (C-11), 19,9 (C-6), 21,2 (C-24), 21,3 (C-30), 25,5 (C-27), 26,3 (C-23), 28,9 (C-20), 29,9 (C-26), 29,9 (C-28), 33,1 (C-22), 33,4 (C-29), 33,7 (C-21), 34,1 (C-2), 35,1 (C-7), 35,9 (C-12), 36,8 (C-16), 37,7 (C-10), 37,8 (C-13), 37,8 (C-18), 38,3 (C-1), 38,9 (C-8), 40,7 (C-19), 47,6 (C-4), 48,8 (C-9), 48,8 (C-18), 55,8 (C-5), 117,5 (C-15), 157,5 (C-14), 217,2 (C-3).

Acid 2 α , 3 β -dihydroxy-12-oleanen-28-oic (4): ESI-MS: m/z 471 $[\text{M}-\text{H}]^-$. FT-IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3478; 2950; 2865; 1690; 1464; 1390; 1279; 1184; 1039; 659; 568; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ_{H} 0,83 (3H, s, CH_3 -29), 0,84 (3H, s, CH_3 -30), 0,93 (3H, s, CH_3 -26), 0,96 (3H, s, CH_3 -24), 1,03 (3H, s, CH_3 -27), 1,04 (3H, s, CH_3 -23), 1,19 (3H, s, CH_3 -25), 2,87 (1H, dd, $J = 4,0$; 14,0 Hz, H-18), 2,93 (1H, d, $J = 9,5$ Hz; H-3 α), 3,64 (1H, ddd, $J = 4,5$; 9,5; 11,5 Hz; H-2 β), 5,27 (1H, t, $J = 3,0$ Hz; H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 17,1 (C-24), 17,4

(C-25), 17,7 (C-26), 19,6 (C-6), 23,9 (C-30), 24,1 (C-16), 24,6 (C-11), 26,4 (C-27), 28,1 (C-15), 29,3 (C-23), 31,6 (C-20), 33,6 (C-29), 33,8 (C-22), 33,9 (C-7), 34,9 (C-21), 39,3 (C-10), 40,5 (C-4), 40,6 (C-8), 42,7 (C-18), 42,9 (C-14), 47,2 (C-19), 47,6 (C-17), 48,1 (C-1), 48,7 (C-9), 56,7 (C-5), 69,5 (C-2), 84,4 (C-3), 123,4 (C-12), 145,3 (C-13), 181,8 (C-28).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

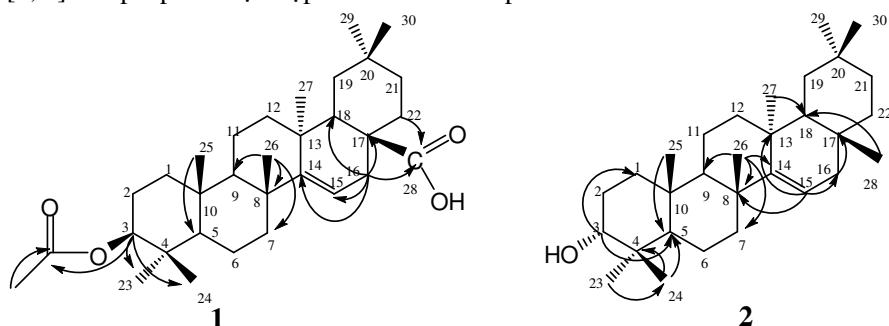
Từ cặn chiết CH_2Cl_2 , sau khi tiến hành sắc kí cột nhiều lần và kết tinh chúng tôi thu được 4 hợp chất triterpen là 3-acetylaleuritolic (**1**), epitaraxerol (**2**), taraxerone (**3**), axit maslinic (**4**). Cấu trúc của các hợp chất trên được xác định bằng sự kết hợp các phương pháp phổ khối lượng (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và phổ hồng ngoại (IR).



Chất **1** được phân lập dưới dạng tinh thể màu trắng. Phổ khối ion hóa bụi điện tử negative (ESI-MS) có pic ion ở m/z 497 $[\text{M}-\text{H}]^-$ tương ứng với công thức phân tử là $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$. Phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho tín hiệu của 32 cacbon trong đó có 4 cacbon lai hoá sp^2 và 28 cacbon lai hoá sp^3 tương ứng với 8 nhóm metyl, 10 nhóm metylen, 5 nhóm metin, 2 nhóm cacbonyl và 7 cacbon bậc bốn. Các dữ liệu phổ ^{13}C -NMR và MS cho phép xác định đây là 1 hợp chất triterpen. Trên phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu đặc trưng cho 7 nhóm metyl ở δ_{H} 0,85 (3H, s), 0,88 (3H, s), 0,88 (3H, s), 0,91 (3H, s), 0,92 (3H, s), 0,94 (3H, s), 0,95 (3H, s) và 1 nhóm axetat (OCOCH_3) ở δ_{H} 2,03 (3H, s) và một tín hiệu của proton metin olefinic ở δ_{H} 5,52 (1H, dd, $J = 3,0; 7,5$ Hz, H-15). Thêm vào đó, trên phổ ^1H -NMR có tín hiệu của 1 nhóm metin ở vị trí C-3 đã được acyl hoá ở δ_{H} 4,46, proton này bị tách dưới dạng double doublet với hằng số tương tác $J = 5,5; 10,5$ Hz cho biết cấu hình α của nó. Trên phổ HMBC thấy tín hiệu của H-3 tương tác với cacbon carbonyl $\text{C}=\text{O}$ ở δ_{C} 171,2 chứng tỏ rằng nhóm OCOCH_3 gắn với khung triterpen ở vị trí C-3. Tương tác trên phổ HMBC giữa H-22 và H-16 với cacbonyl C-28 ở δ_{C} 184,1, chứng tỏ C-28 gắn với khung triterpen ở vị trí C-17. Từ các dữ kiện phổ MS, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, COSY, HSQC, HMBC và so sánh với tài liệu tham khảo [4, 5] cho phép xác định cấu trúc của chất **1** là axit 3-acetylaleuritolic.

Chất **2** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho tín hiệu của 30 cacbon trong đó có 2 cacbon lai hoá sp^2 và 28 cacbon lai hoá sp^3 tương ứng với 8 nhóm

metyl, 10 nhóm metylen, 5 nhóm metin và 7 carbon bậc bốn. Phổ khối ion hóa bụi điện tử (ESI-MS) có pic ion ở m/z 427 $[M+H]^+$. Các dữ liệu phổ ^{13}C -NMR và MS cho phép xác định công thức phân tử của chất **2** là $C_{30}H_{50}O$ và cho biết đây là 1 tritecpen 5 vòng cùng với 1 liên kết đôi và 1 nhóm hydroxy trong phân tử. Phổ 1H -NMR cho 8 tín hiệu singlet của 8 nhóm metyl ở δ_H 0,82 (3H, s), 0,86 (3H, s), 0,91 (3H, s), 0,91 (3H, s), 0,92 (3H, s), 0,94 (3H, s), 0,94 (3H, s), 1,10 (3H, s) và đặc biệt là tín hiệu ở δ_H 5,53 (1H, dd, $J = 3,5; 8,5$ Hz) của metin olefinic H-15. Tín hiệu của nhóm hydroxymetin dưới dạng broad singlet ở δ_H 3,40 (1H, br s, H-3) cho phép xác định proton này có cấu hình β . Trên phổ HMBC cho thấy tương tác giữa H-15 với C-16, C-13 và C-8, tương tác giữa H-16 với C-15, C-14, chứng tỏ có liên kết đôi giữa C-14 và C-15. Kết hợp phổ MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, COSY HSQC, HMBC và so sánh với tài liệu tham khảo [6, 7] cho phép kết luận hợp chất **2** chính là epitaraxerol.



Hình 1. Một số tương tác chính trên phổ HMBC của chất **1** và **2**

Chất **3** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ khối ion hóa bụi điện tử (ESI-MS) có pic ion ở m/z 425 $[M+H]^+$ tương ứng với công thức phân tử là $C_{30}H_{48}O_2$. Các dữ liệu phổ của hợp chất này gần giống dữ liệu của hợp chất **2**. Giống như chất **2**, trên phổ 1H -NMR của **3** có tín hiệu của 8 nhóm metyl ở δ_H 0,83 (3H, s), 0,91(3H, s), 0,92 (3H, s), 0,96 (3H, s), 1,07 (3H, s), 1,08 (3H, s), 1,09 (3H, s), 1,14 (3H, s) và 1 nhóm metin olefinic H-15 ở δ_H 5,50 (dd, $J = 3,5; 8,0$ Hz). Khác với **2**, trên phổ 1H -NMR mất đi tín hiệu cộng hưởng của proton thuộc nhóm hydroxymetin. Trên phổ ^{13}C -NMR dễ dàng nhận thấy tín hiệu cộng hưởng của 1 nhóm cacbonyl ở δ_C 217,2, không có tín hiệu của nhóm hydroxymetin. Như vậy có thể kết luận rằng chất này là một tritecpen thuộc khung olean như chất **2** trong đó nhóm hydroxymetin được thay thế bằng nhóm cacbonyl. Các dữ liệu phổ và tài liệu tham khảo [8, 9] đã cho phép xác định cấu trúc của chất này là taraxerone.

Hợp chất **4** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ khối ion hóa bụi điện tử negative (ESI-MS) có pic ion ở m/z 471 $[M-H]^-$ tương ứng với công thức phân tử là $C_{30}H_{48}O_2$. Phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho tín hiệu của 30 carbon trong đó có 3 carbon lai hoá sp^2 và 27 carbon lai hoá sp^3 tương ứng với 6 nhóm metyl, 8 nhóm metylen, 8 nhóm metin, 1 nhóm cacbonyl và 7 carbon bậc bốn. Các dữ liệu phổ ^{13}C -NMR và MS cho phép xác định công thức phân tử của chất **5** là $C_{30}H_{48}O_4$ và cho biết đây là 1 triterpen 5 vòng cùng với 1 liên kết đôi, 2 nhóm hydroxy và 1 axit trong phân tử. Trên phổ 1H -NMR có tín hiệu của 7 nhóm metyl dưới dạng singlet ở δ_H 0,83 (3H, s), 0,84 (3H, s), 0,93 (3H, s), 0,96 (3H, s), 1,03 (3H, s), 1,04 (3H, s), 1,19 (3H, s) và 1 proton olefinic ở δ_H 5,27 (1H, t, $J = 3,0$ Hz, H-12). Đồng thời trên phổ 1H -NMR còn cho tín hiệu của 2 nhóm hydroxy metin ở δ_H 3,64 (1H, ddd, $J = 4,5; 9,5; 11,5$ Hz, H-2 β); 2,93 (1H, d, $J = 9,5$ Hz; H-3 α). Hằng số tương tác của 2 proton cho phép xác định chúng ở dưới dạng H-2 β và H-3 α . Kết hợp các dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo [10] cho phép kết luận hợp chất **4** chính là axit maslinic.

Lời cảm ơn. Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ của chương trình học bổng quốc gia Unesco-I'Oreal vì sự phát triển phụ nữ trong khoa học và Dự án hợp tác Việt - Pháp. Các tác giả xin cảm ơn ThS. Đào Đình Cường và ThS. Nguyễn Quốc Bình đã thu hái và xác định mẫu thực vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn thực vật - Trường ĐH Dược Hà Nội, Thực vật học, NXB Y học, Hà Nội, 2005.
2. Võ Văn Chi, Dương Đức Tiến - Phân loại thực vật, NXB ĐH và THCN, Hà Nội, 1978.
3. Võ Văn Chi - Từ điển Thực vật thông dụng I, NXB KHKT, TP. Hồ Chí Minh, 2002.
4. Sapaluk Prachayasittikul, Saowapa Suphamong, Apilak Worachartcheewan - Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr, *Molecules* **14** (2009) 850-857.
5. S. Prachayasittikul, K. Buttrawong, A. Worachartcheewan, S. Ruchirawat, V. Prachayasittikul - Isolation of bioactive metabolites from root extracts of *Polyalthia Debilis*, *European journal of scientific research* **38** (4) (2009) 596-603.
6. Naengchomng W., Pinho P. M., Kijjoa A., Sawangwong P., Gonzalez M. J., Silva A. M. S., Eaton G., Herz W. - Clerodanes and other constituents of *Cleidion spiciflorum*, *Phytochemistry* **67** (2006) 1029-1033.
7. Phan Van Kiem, Chau Van Minh, Hoang Thanh Huong - Pentacyclic triterpenoids from *Mallotus apelta*, *Arch. Pharm. Res.* **27** (11) (2004) 1109-1113.
8. Nobuko Sakurai, Yoshikatsu Yaguchi and Takao Inoue - Triterpenoids from *Myrica rubra*, *Phytochemistry* **26** (1) (1986) 217-219.
9. Arot Manguro, Lawrence O., Midiwo, Jacob O., Kraus Wolfgang - Triterpenoids and Steroids of *Myrsine africana* Leaves, *Planta Medica* **63** (1997) 290.
10. Giorgio Bianchi, Nicoletta Pozzi, Giovanna Vlahov - Pentacyclic triterpene acids in Olives, *Phytochemistry* **37** (1) (1994) 205-207.

SUMMARY

TRITERPENOIDS FROM THE STEMS OF *MACARANGA DENTICULATE* (EUPHORBIACEAE)

In Vietnam, the genus *Macaranga* consists of 15 species, some of these species were widely used as traditional medicines to treat diseases tussive, pyretic, inflame, infection. The plant *Macaranga denticulate* was selected for chemical study because of its cytotoxic. From the stems of this plant, four triterpenoids 3-acetylaleuritolic (**1**), epitaraxerol (**2**), taraxerone (**3**), maslinic acid (**4**) were isolated. Their structures were elucidated by using IR, MS and NMR spectroscopic methods.

Liên hệ với tác giả:

Đoàn Thị Mai Hương, Viện Hóa sinh biển.

Email: doanhuong7@yahoo.com; dtmhuong@ich.vast.ac.vn