

Các hợp chất alkaloid phân lập từ lá cây Thuốc thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban)

Nguyễn Trung Tường^{1*}, Phạm Thanh Kỳ², Phan Văn Kiệm³, Nguyễn Xuân Nhiệm³

¹Viện Dược liệu

²Trường Đại học Dược Hà Nội

³Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài 1/9/2016, ngày chuyển phản biện 5/9/2016, ngày nhận phản biện 29/9/2016, ngày chấp nhận đăng 10/10/2016

Trong nghiên cứu, 3 hợp chất alkaloid đã được phân lập từ lá của cây Thuốc thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban), bao gồm: N-methylcorydaldin (PVS-11B), thalipholin (PVS-7A1), moupinamid (PVS-7A3). Trong đó, 2 hợp chất thalipholin (PVS-7A1), moupinamid (PVS-7A3) lần đầu tiên được công bố phân lập từ cây Thuốc thượng. Các hợp chất phân lập đã được xác định cấu trúc dựa trên các thông số vật lý và phương pháp phổ: điểm chảy, phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân và phổ khối lượng.

Từ khóa: alkaloid, cây Thuốc thượng, moupinamid, N-methylcorydaldin, thalipholin.

Chỉ số phân loại 3.4

Alkaloids isolated from the leaves of *Phaeanthus vietnamensis* Ban

Summary

Three alkaloids were isolated from the leaves of *Phaeanthus vietnamensis* Ban. Their structures were elucidated as N-methylcorydaldine (PVS-11B), thalipholine (PVS-7A1), and moupinamid (PVS-7A3) by NMR and MS spectra as well as comparison with those reported in the literature.

Keywords: alkaloid, moupinamid, N-methylcorydaldine, *Phaeanthus vietnamensis*, thalipholine.

Classification number 3.4

Đặt vấn đề

Cây Thuốc thượng (*Phaeanthus vietnamensis* Ban) thuộc họ Na (Annonaceae), là một loài đặc hữu của Việt Nam, được phân bố tại Thừa Thiên - Huế, Quảng Nam, Đà Nẵng. Dân gian dùng nước của lá non nhỏ mắt chữa đau mắt đỏ; vỏ rễ, vỏ thân, lá đem nấu cao dán chỗ mụn nhọt sưng tấy; dùng chữa đau bụng, tiêu chảy, kiết lỵ, cầm máu vết thương ngoài da [1]. Nghiên cứu về thành phần hóa học của loài này cho biết sự có mặt của các alkaloid [2]. Bài báo này trình bày kết quả phân lập và xác định cấu trúc 3 hợp chất alkaloid từ lá loài Thuốc thượng, góp phần định hướng nghiên cứu tác dụng dược lý của loài cây này.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Mẫu nghiên cứu: cây Thuốc thượng được thu hái tại Hòa Vang, Đà Nẵng. Tên khoa học được xác định là *Phaeanthus vietnamensis* Ban, họ Na-Annonaceae bởi TS Bùi Văn Thanh - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Mẫu tiêu bản (PV152206) được lưu trữ tại Phòng Thực vật dân tộc học, Viện Sinh thái và tài nguyên sinh vật.

Nguyên liệu dùng chiết xuất là lá cây Thuốc thượng, sau khi thu hái được phơi, tán thành bột thô, bảo quản nơi khô, mát.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập và xác định cấu trúc: phân lập các hợp chất bằng sắc ký cột, sắc ký lớp mỏng, sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản

*Tác giả liên hệ: Email: tuongds@gmail.com

mỏng tráng sẵn silicagel 60 F₂₅₄ (Merck). Thuốc thử hiện màu là dung dịch acid sulfuric 10% và đèn tử ngoại bước sóng 254 và 365 nm. Sắc ký cột được thực hiện bởi chất hấp phụ là silicagel pha thường (0,040-0,063 mm, Merck), pha đảo RP-18 (30-50 µm, Fuji Silysia Chemical Ltd).

Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được dựa trên các thông số vật lý và phương pháp phổ bao gồm: điểm chảy, phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân và phổ khối lượng. Điểm chảy được đo trên máy Yanaco MP-S3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-, ¹³C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC được ghi trên máy Varian MR-400 FT-NMR. Phổ khối lượng phân giải cao được đo trên máy AGILENT 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS system.

Chiết xuất và phân lập các hợp chất tinh khiết: lá loài Thuốc thượng được phơi khô, xay thành bột thô (3,5 kg), sau đó chiết siêu âm với methanol (3 lần×8 L, 2h ở 50°C). Cắt loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 210 g cặn chiết methanol. Cặn chiết này sau đó được phân bố đều trong dung dịch acetic acid 5% (2,0 L) rồi chiết lần lượt với *n*-hexan, chloroform và EtOAc; cắt loại dung môi được các cặn chiết tương ứng, *n*-hexan (PL1, 14,0 g), chloroform (PL2, 25,0 g), EtOAc (PL3, 3,0 g), và H₂O (PL4, 168,0 g). Lốp nước sau đó được trung hòa bằng dung dịch NH₃, rồi chiết với chloroform, cắt loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn chloroform (PL4A, 30,0 g). Cặn chiết PL4A được phân tách trên cột silicagel với hệ dung môi CHCl₃-MeOH (20:1→2,5:1, v/v) thu được 4 phân đoạn, PL4A1 (1,4 g), PL4A2 (0,6 g), PL4A3 (2,3 g) và PL4A4 (3,5 g). Phân đoạn PL4A1 được phân tách tiếp trên cột sắc ký silicagel pha đảo RP-18, rửa giải với hệ dung môi MeOH-H₂O (4:1, v/v) thu được 3 phân đoạn PL4A1A-PL4A1C. Phân đoạn PL4A1A phân tách tiếp trên cột sắc ký silicagel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexan-CHCl₃-EtOAc (1:1:1, v/v/v) thu được hợp chất **PVS-11B** (9,5 mg). Phân đoạn PL4A2 được phân tách trên cột sắc ký silicagel pha đảo RP-18, rửa giải với hệ dung môi MeOH-H₂O (4:1, v/v) thu được 3 phân đoạn, PL4A2A-PL4A2C. Tiếp tục tiến hành sắc ký phân đoạn PL4A2A trên hệ thống hệ thống HPLC sử dụng cột J'sphere, ODS H-80, 250×20 mm, pha động 30% acetonitrile, tốc độ dòng 4 mL/phút thu được các hợp chất **PVS-7A1** (26,0 mg) và **PVS-7A3** (40,0 mg).

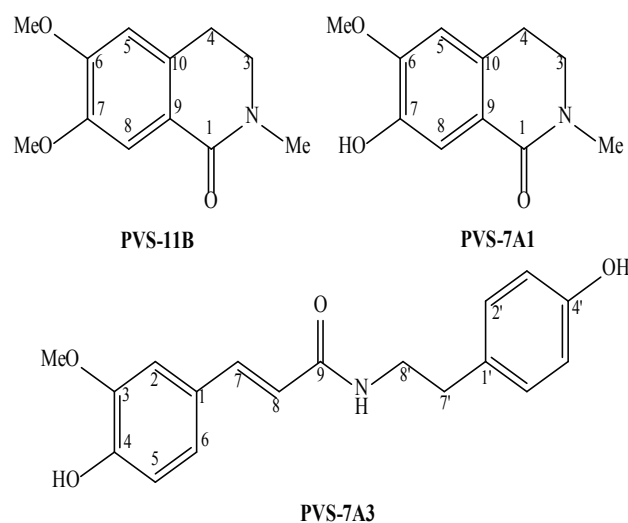
***N*-methylcorydaldin (**PVS-11B**):** chất bột màu vàng nhạt; điểm chảy: 125-127°C; HR-ESI-MS *m/z* 222,1113 (tính toán lý thuyết cho công thức

[C₁₂H₁₅NO₃]⁺, 222,1125 [M+H]⁺); ¹H- và ¹³C-NMR (xem bảng 1).

Thalipholin (PVS-7A1**):** chất bột màu vàng nhạt; điểm chảy: 210-211°C; HR-ESI-MS *m/z* 208,0968 (tính toán lý thuyết cho công thức [C₁₁H₁₃NO₃]⁺, 208,0968 [M+H]⁺); ¹H- và ¹³C-NMR (bảng 1).

Moupinamid (PVS-7A3**):** chất bột màu vàng nhạt; điểm chảy: 146-147°C; HR-ESI-MS *m/z* 314,1370 (tính toán lý thuyết cho công thức [C₁₈H₂₀NO₄]⁺, 314,1387 [M+H]⁺); ¹H- và ¹³C-NMR (bảng 2).

Kết quả và bàn luận



Hình 1: cấu trúc hóa học của các hợp chất

Hợp chất **PVS-11B** thu được dưới dạng chất bột màu vàng nhạt; điểm chảy: 125-127°C. Công thức phân tử được xác định là C₁₂H₁₅NO₃ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS tại *m/z* 222,1113 (tính toán lý thuyết cho công thức [C₁₂H₁₅NO₃]⁺, 222,1125 [M+H]⁺). Phổ ¹H-NMR của **PVS-11B** cho biết sự có mặt của 2 proton thơm tại δ_H 6,79 (s) và 7,44 (s), 1 nhóm N-methyl tại δ_H 3,09 (s) và 2 nhóm methoxy tại δ_H 3,82 (s) và 3,85 (s), gợi ý sự có mặt của alkaloid có một vòng thơm. Phổ ¹³C-NMR và DEPT của **PVS-11B** cho thấy tín hiệu của 12 carbon gồm có: 1 carbon carbonyl tại δ_C 167,0; 4 carbon không liên kết trực tiếp với hydro tại δ_C 122,4; 149,3; 153,8 và 134,2; 2 nhóm methin tại δ_C 111,0 và 111,4; 2 nhóm methylen tại δ_C 28,2 và 49,5; 3 nhóm methyl tại δ_C 35,3 và 56,5×2. Phân tích số liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **PVS-11B** nhận thấy số liệu phổ của hợp chất này giống với số liệu phổ của *N*-methylcorydaldin [3]. Để xác định chính xác cấu trúc hóa học của hợp chất này, chúng tôi đã tiến hành đo thêm các phổ HSQC

và HMBC. Phổ HSQC cho biết thông tin về tín hiệu của các liên kết trực tiếp giữa H và C trong phân tử. Tương tác HMBC giữa proton *N*-Me (δ_{H} 3,09) và C-1 (δ_{C} 167,0)/C-3 (δ_{C} 49,5); giữa H-3 (δ_{H} 3,56) và C-1 (δ_{C} 167,0)/*N*-methyl (δ_{C} 35,3) gợi ý sự có mặt của nhóm carbonyl tại C-1 và nhóm methyl tại nguyên tử nito. Thêm vào đó, các tương tác HMBC giữa H-5 (δ_{H} 6,79) và C-4 (δ_{C} 28,2)/C-6 (δ_{C})/C-7 (δ_{C})/C-9 (δ_{C}); giữa H-8 (δ_{H} 7,44) và C-1 (δ_{C} 167,0)/C-6 (δ_{C} 153,8)/C-7 (δ_{C} 149,3)/C-10 (δ_{C} 134,1); và 2 nhóm methoxy tại (δ_{H} 3,85 và 3,82 lần lượt có tương tác HMBC với C-6 (δ_{C} 153,8) và C-7 (δ_{C} 149,3) đã gợi ý sự có mặt của 2 nhóm methoxy tại C-6 và C-7. Dựa vào các bằng chứng phổ trên và kết hợp so sánh số liệu phổ NMR của hợp chất *N*-methylcorydaldin cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **PVS-11B** là *N*-methylcorydaldin. Hợp chất này đã được Zaima và cộng sự công bố có mặt ở loài *Phaeanthus crassipetalus* [4]. Hợp chất này đã được N.T. Nghĩa và cộng sự công bố có mặt ở loài *P. vietnamensis* [2].

Bảng 1: số liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của hợp chất **PVS-11B** và **PVS-7A1**

			PVS-11B		PVS-7A1
C	δ_{C}	$\delta_{\text{C}}^{\text{a)}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a)}$ (mult., J, Hz)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a)}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a)}$ (mult., J, Hz)
1	165,0	167,0	-	167,1	-
3	48,4	49,5	3,56 (t, 6,8)	49,6	3,52 (t, 8,4)
4	27,5	28,2	2,92 (t, 6,8)	28,2	2,89 (t, 8,4)
5	109,3	111,0	6,79 (s)	110,8	6,75 (s)
6	152,0	153,8	-	152,4	-
7	148,0	149,3	-	146,5	-
8	110,5	111,4	7,44 (s)	115,1	7,33 (s)
9	121,9	122,4	-	122,6	-
10	131,6	134,1	-	132,7	-
<i>N</i> -Me	35,2	35,3	3,09 (s)	35,3	3,06 (s)
6-OMe	56,1	56,5	3,85 (s)	56,4	3,86 (s)
7-OMe	56,0	56,5	3,82 (s)		

^{a)}Đo trong CD_3OD , δ_{C} của *N*-methylcorydaldin [3]

Hợp chất **PVS-7A1** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, vô định hình; điểm chảy: 210-211°C. Công thức phân tử của hợp chất **PVS-7A1** được xác định là $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_3$ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS m/z 208,0968 (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_3]^+$, 208,0968 $[\text{M}+\text{H}]^+$). Phổ ^1H -NMR của **PVS-7A1** cho biết sự có mặt của 2 proton thơm tại δ_{H} 6,75 (s) và 7,33 (s), 1 nhóm *N*-methyl tại δ_{H} 3,06 (s) và 1 nhóm methoxy tại δ_{H} 3,86 (s). Phổ ^{13}C -NMR và DEPT của **PVS-7A1** cho thấy tín hiệu của 11 carbon, bao gồm: 1 carbon carbonyl, 4 carbon không liên kết

trực tiếp với hydro, 2 nhóm methin, 2 nhóm methylen và 2 nhóm methyl. Phân tích số liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **PVS-7A1** cho thấy số liệu phổ của **PVS-7A1** giống với của *N*-methylcorydaldin [3] ngoại trừ sự vắng mặt của 1 nhóm methoxy tại C-7. Để khẳng định chính xác vị trí của các nhóm chức trong phân tử, chúng tôi đã tiến hành đo phổ HSQC và HMBC. Tương tác HMBC giữa proton *N*-Me (δ_{H} 3,06) và C-1 (δ_{C} 167,1)/C-3 (δ_{C} 49,6); giữa H-3 (δ_{H} 3,52) và C-1 (δ_{C} 167,1)/*N*-Me (δ_{C} 35,3) đã xác định vị trí của nhóm carbonyl tại C-1 và nhóm methyl tại nguyên tử nito. Các tương tác HMBC từ H-5 (δ_{H} 6,75) đến C-4 (δ_{C} 28,2)/C-6 (δ_{C} 152,4)/C-7 (δ_{C} 146,5)/C-9 (δ_{C} 122,6); từ H-8 (δ_{H} 7,33) đến C-1 (δ_{C} 167,1)/C-6 (δ_{C} 152,4)/C-7 (δ_{C} 146,5)/C-10 (δ_{C} 132,7); từ methoxy (δ_{H} 3,86) đến C-6 (δ_{C} 152,4) cho phép xác định vị trí của nhóm methoxy và hydroxyl lần lượt tại C-6 và C-7. Dựa vào các bằng chứng phổ nêu trên, hợp chất **PVS-7A1** được xác định là thalipholin. Hợp chất này đã được phân lập từ loài *Phaeanthus saccopetaloides* [5]. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên phân lập được từ loài *P. vietnamensis*.

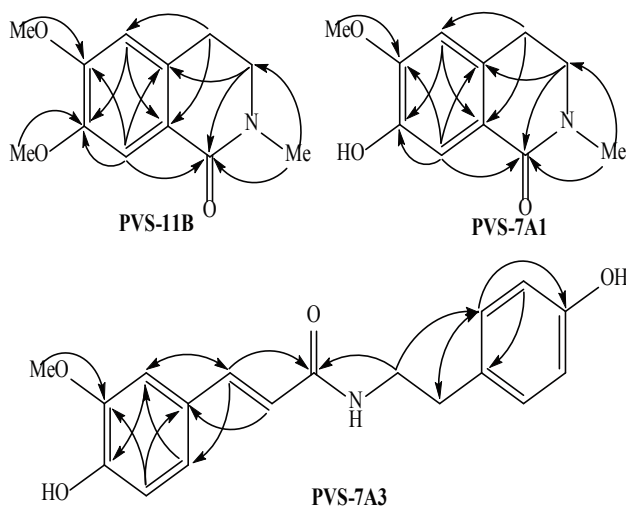
Hợp chất **PVS-7A3** thu được dưới dạng chất bột màu vàng nhạt; điểm chảy: 146-147°C. Công thức phân tử của hợp chất **PVS-7A3** được xác định là $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}_4$ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS m/z 314,1370 (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}_4]^+$, 314,1387 $[\text{M}+\text{H}]^+$). Phổ ^1H -NMR của hợp chất **PVS-7A3** cho biết sự có mặt của các proton tại δ_{H} 6,77 (1H, d, $J = 8,0$ Hz); 6,99 (1H, dd, $J = 2,0$; 8,0 Hz), và 7,07 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) đặc trưng cho sự có mặt của vòng thơm hệ ABX, các proton tại δ_{H} 6,70 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) và 7,02 (2H, d, $J = 8,0$ Hz) đặc trưng cho sự có mặt của vòng benzen thế para, một liên kết đôi ($-\text{CH}=\text{CH}-$) có cấu hình *E* tại δ_{H} 6,38 (1H, d, $J = 16,0$ Hz) và 7,41 (1H, d, $J = 16,0$ Hz) và một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,83 (3H, s). Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **PVS-7A3** cho biết sự xuất hiện tín hiệu của 18 nguyên tử carbon trong đó có 1 carbon carbonyl, 5 carbon không liên kết trực tiếp với proton; 9 methin, 2 methylen và 1 methoxy. Phân tích số liệu phổ của **PVS-7A3** cho thấy cấu trúc của **PVS-7A3** giống với của hợp chất moupinamid [6]. Thêm vào đó, số liệu phổ của các hợp chất được xác định dựa vào phân tích phổ HSQC và HMBC. Tương tác HMBC giữa H-2 (δ_{H} 7,07) và C-4 (δ_{C} 149,8)/C-6 (δ_{C} 123,2)/C-7 (δ_{C} 142,0); giữa H-6 (δ_{H} 6,99) và C-2 (δ_{C} 111,5)/C-4 (δ_{C} 149,8)/C-7 (δ_{C} 142,0) đã chứng minh sự có mặt của nhóm feruloyl. Các tương tác HMBC giữa H-2'/H-6' (δ_{H} 7,02) với C-4' (δ_{C} 156,9)/C-7' (δ_{C} 35,8) đã gợi ý sự

có mặt của nhóm hydroxyl tại C-4'. Nhóm feruloyl và tyramine liên kết thông qua cầu nito được xác định dựa trên tương tác HMBC giữa H-8' (δ_H 3,44) và C-9 (δ_C 169,1). Từ các dữ liệu phổ trên và kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất **PVS-7A3** được xác định là moupinamid. Hợp chất này đã được phân lập từ loài *Phaeanthus saccopetaloides* [5].

Bảng 2: số liệu phổ 1H - và ^{13}C -NMR của hợp chất **PVS-7A3**

C	δ_C^a	δ_C^a	δ_H^a (mult., J, Hz)
1	128,2	128,2	-
2	111,5	111,5	7,07 (d, 2,0)
3	149,3	149,2	-
4	149,9	149,8	-
5	116,6	116,4	6,77 (d, 8,0)
6	126,5	123,2	6,99 (dd, 2,0, 8,0)
7	142,0	142,0	7,41 (d, 16,0)
8	118,8	118,7	6,38 (d, 16,0)
9	169,5	169,1	-
1'	131,3	131,2	-
2', 6'	130,7	130,7	7,02 (d, 8,0)
3', 5'	116,2	116,2	6,70 (d, 8,0)
4'	156,9	156,9	-
7'	35,8	35,8	2,72 (t, 7,6)
8'	42,5	42,5	3,44 (t, 7,6)

^aĐo trong CD_3OD , ^b δ_C của moupinamid [6]



Hình 2: các tương tác HMBC chính của các hợp chất

N-methylcorydaldin, thalipholin, moupinamid có trong thành phần của nhiều loài cây với tác dụng kháng khuẩn, chống oxy hóa, chống kết tập tiểu cầu, ức chế tiết dịch vị dạ dày trên động vật thực nghiệm [7-9].

Kết luận

Từ lá cây Thuốc thượng *Phaeanthus vietnamensis* Ban thu hái ở Đà Nẵng đã phân lập được 3 alkaloid. Dựa vào số liệu phổ thu được, so với các tài liệu đã công bố, ba alkaloid được nhận dạng là: N-methylcorydaldin (**PVS-11B**), thalipholin (**PVS-7A1**), moupinamid (**PVS-7A3**). Trong đó hợp chất thalipholin (**PVS-7A1**), moupinamid (**PVS-7A3**) lần đầu tiên được công bố phân lập từ cây Thuốc thượng.

Tài liệu tham khảo

- [1] V.V. Chi (1997), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Hà Nội, NXB Y học, tr.485
- [2] N.T. Nghia, I. Valka, E. Weigl, V. Simanek, D. Cortes, A. Cave (1991), "Alkaloids from leaves of *Phaeanthus vietnamensis*", *Fitoterapia*, **62**, pp.315-318.
- [3] I.M. Said, N.A.A. Hamid, J. Latif, L.B. Din, B.M. Yamin (2005), "6,7-Dimethoxy-2-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-1(2H)-one", *Acta Crystallographica Section E*, **61**, pp.0797-0798.
- [4] K. Zaima, Y. Takeyama, I. Koga, A. Saito, H. Tamamoto, S. Azziz, M. Mukhtar, K. Awang, A.H. Hadi, H. Morita (2012), "Vasorelaxant effect of isoquinoline derivatives from two species of *Popowia perakensis* and *Phaeanthus crassipetalus* on rat aortic artery", *Journal of Natural Medicines*, **66**, pp.421-427.
- [5] T. Qian, S. Yang, L. Xu (1997), "Study on chemical constituents of *Phaeanthus saccopetaloides* (I)", *Natural Product Research and Development*, **9**, pp.32-34.
- [6] J. Ma, S.H. Jones, S.M. Hecht (2004), "Phenolic acid amides: a new type of DNA strand scission agent from *Piper caninum*", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **12**, pp.3885-3889.
- [7] Y.-S. Jin, J.-L. Du, Y. Yang, L. Jin, Y. Song, W. Zhang, H.-S. Chen (2011), "Chemical and biologically active constituents of *Salsola collina*", *Chemistry of Natural Compounds*, **47**, pp.257-260.
- [8] L.-Z. Xu, N.-J. Sun (1984), "Studies on chemical constituents of *Aristolochia moupinensis* Franch [J]", *Acta Pharmaceutica Sinica*, **1**, p.8.
- [9] D.K. Yadav, N. Singh, K. Dev, R. Sharma, M. Sahai, G. Palit, R. Maurya (2011), "Anti-ulcer constituents of *Annona squamosa* twigs", *Fitoterapia*, **82**, pp.666-675.