

## CÁC HỢP CHẤT PHENOLIC PHÂN LẬP TỪ CÂY *Tylophora* sp.

**HOÀNG LÊ TUẤN ANH, BÙI HỮU TÀI, DƯƠNG THỊ DUNG,  
VŨ MẠNH HÀ, NGUYỄN XUÂN NHIỆM, NGUYỄN HOÀI NAM,  
NGUYỄN XUÂN CƯỜNG, CHÂU VĂN MINH, PHAN VĂN KIÊM**

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

**NGUYỄN VĂN DU, TRẦN HUY THÁI,  
HÀ TUẤN ANH, BÙI VĂN THANH, TRẦN MINH HỘI**

*Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật,  
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

Chi Đậu dài (*Tylophora* R. Br.) thuộc họ Thiên lý (Asclepiadaceae) gồm có khoảng 60 loài khác nhau. Chúng thuộc loại dây leo, phân bố ở vùng khí hậu nhiệt và cận nhiệt đới. Ở Việt Nam chi Đậu dài có tám loài. Một số loài được sử dụng trong các bài thuốc cổ truyền như *Tylophora ovata* (Đậu dài xoan), *T. indica* (Đậu dài ấn), *T. tenuis* (Đậu dài mảnh)... Các nghiên cứu về hóa học chi *Tylophora* đã công bố phân lập các chất thuộc lớp alkaloid, secoiridoid và phenolic (Yao S. và nnk., 2008; Cai Y. và nnk., 1991). Tuy nhiên những nghiên cứu trong nước về hóa học các loài thuộc chi *Tylophora* còn rất ít.

Bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc của ba hợp chất phenolic từ dịch chiết metanol cây *Tylophora* sp. bao gồm hai chất dạng khung lignan: Cyclooolivil (**1**), olivil (**2**) và một chất dạng khung flavan-3-ol: Catechin (**3**).

### I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Mẫu thực vật

Mẫu của loài *Tylophora* sp. được thu tại Vườn Quốc gia (VQG) Yok Đôn, tỉnh Đắk Lắk. Tên khoa học do PGS. Vũ Xuân Phương giám định (hiện tại vẫn chưa thu được mẫu chuẩn cho việc xác định chính xác tên khoa học của loài). Mẫu tiêu bản, số hiệu CTTN-23 thu tại Krông Na, huyện Buôn Đôn, tỉnh Đắk Lắk, tọa độ 107<sup>0</sup>47'288"E, 12<sup>0</sup>56'423"N, được lưu giữ tại Phòng Thực vật dân tộc học, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

#### 2. Hóa chất, thiết bị

*Sắc ký lớp mỏng* (TLC): Thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F<sub>254</sub> (Merck 1,05715), RP-18 F<sub>254s</sub> (Merck); các vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254nm và 365nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ đến khi hiện màu.

*Sắc ký cột* (CC): Được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063mm (240-430 mesh). Silica gel pha đảo YMC có cỡ hạt là 30-50µm (Fujisilisa Chemical Ltd.).

*Phổ cộng hưởng từ hạt nhân* (NMR): Đo trên máy Bruker AVANCE 500 tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### 3. Phân lập các hợp chất

Mẫu cây *Tylophora* sp. được phơi, sấy khô ở 50°C và được nghiền thành bột (1,5kg). Lượng mẫu này được chiết nóng bằng metanol ba lần, sau đó gộp các dịch chiết lại cất loại dung môi dưới áp suất thấp thu được 70g cặn chiết metanol. Cặn chiết này được phân bố vào 1l nước cất rồi bổ sung clorofoc, lắc đều để phân lớp qua đêm (3 lần). Cất loại cloroform bằng máy cất quay chân không thu được phân đoạn cloroform (30g). Phần nước còn lại tiếp tục được bổ sung etyl axetat, lắc đều rồi để phân lớp qua đêm (3 lần). Cất loại etyl axetat thu được phân đoạn etyl axetat (15g) phần còn lại dịch nước.

Cặn chiết etyl axetat (15g) được hòa tan bằng metanol, tẩm silica gel (tỷ lệ 1: 1,2, w/w), cất loại dung môi đến khô, nghiền mịn. Hỗn hợp này được phân tách thành 3 phân đoạn TT1, TT2 và TT3 trên cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải clorofoc/metanol/nước (2/1/0,15, v/v). Phân đoạn TT2 (3g) tiếp tục được phân tách thành 2 phân đoạn nhỏ hơn TT2A và TT2B trên cột sắc ký silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải clorofoc/metanol/nước (5/1/0,1, v/v). Hợp chất (1) (7mg) và (2) (5mg) thu được sau khi tinh chế phân đoạn TT2B trên cột sắc ký silica gel pha đảo sử dụng hệ dung môi rửa giải metanol/nước (1/2, v/v).

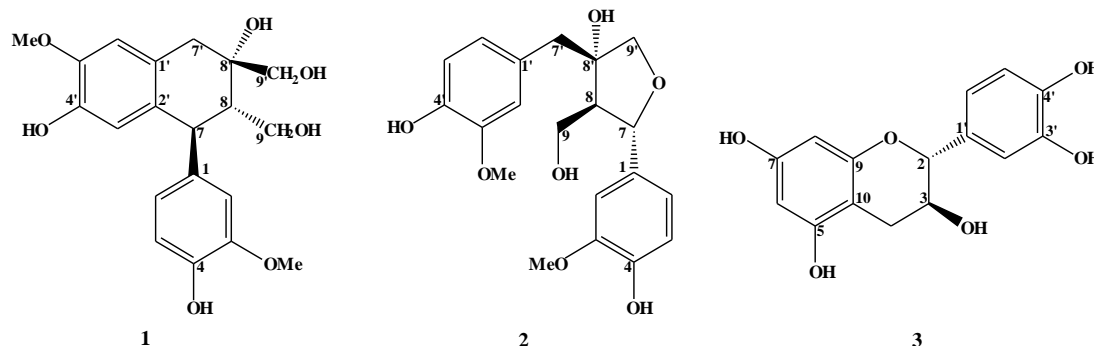
Phân đoạn TT2A được phân tách thành 2 phân đoạn nhỏ hơn TT3A và TT3B trên cột sắc ký silica gel pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol/nước (1/1,5, v/v). Hợp chất (3) (6mg) thu được sau khi tinh chế phân đoạn TT3A trên cột sắc ký silica gel pha đảo sử dụng hệ dung môi metanol/nước (1/4, v/v).

#### Thông tin về 3 hợp chất phân lập được như sau:

*Cycloolivil* (1): Bột vô định hình, màu vàng nhạt. Công thức phân tử  $C_{20}H_{24}O_7$  (M = 376);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CD_3OD-d_4$ ) và  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CD_3OD-d_4$ ) xem bảng 1.

*Olivil* (2): Bột vô định hình, màu vàng nhạt. Công thức phân tử  $C_{16}H_{12}O_6$  (M = 300);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CD_3OD-d_4$ ) và  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CD_3OD-d_4$ ) xem bảng 1.

*Catechin* (3): Bột vô định hình, màu vàng nhạt. Công thức phân tử  $C_{15}H_{14}O_6$  (M = 290);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CD_3OD-d_4$ )  $\delta_H$  (ppm): 6.86 (d,  $J = 1.5$  Hz, H-2'), 6.77 (d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), 6.74 (dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, H-6'), 5.94 (d,  $J = 2.5$  Hz, H-8), 5.87 (d,  $J = 2.5$  Hz, H-6), 4.57 (d,  $J = 7.5$  Hz, H-2), 3.99 (m, H-3), 2.88 (dd,  $J = 16.0, 5.5$  Hz, H-4a), 2.53 (dd,  $J = 16.0, 8.5$  Hz, H-4b);  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CD_3OD-d_4$ )  $\delta_C$  (ppm): 157.85 (C-7), 157.58 (C-5), 156.93 (C-9), 146.26 (C-3'), 146.26 (C-4'), 132.28 (C-1'), 120.04 (C-6'), 116.11 (C-5'), 115.29 (C-2'), 100.87 (C-10), 96.35 (C-6), 95.56 (C-8), 82.88 (C-2), 68.83 (C-3), 28.51 (C-4).



Hình 1. Cấu trúc hoá học của ba hợp chất (1)-(3)

## II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

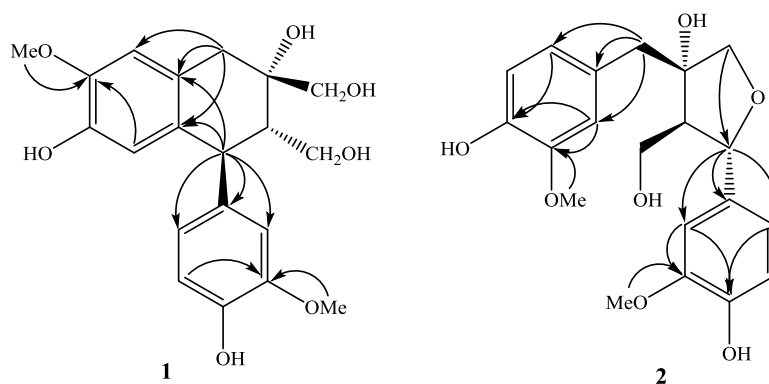
Hợp chất (1) thu được dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Trên phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton và các tương tác trên phổ 2 chiều HSQC cho thấy các cặp tín hiệu cộng hưởng: Tín hiệu của hai nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,80/ $\delta_C$  56,34 và  $\delta_H$  3,83/ $\delta_C$  56,32), một nhóm methylen ( $\delta_H$  2,6; 3,23/ $\delta_C$  39,67), hai nhóm hydroxymethyl ( $\delta_H$  3,57; 3,80/ $\delta_C$  60,63;  $\delta_H$  3,79; 3,63/ $\delta_C$  69,12), hai nhóm methyl ( $\delta_H$  4,05/ $\delta_C$  44,51 và  $\delta_H$  2,04/ $\delta_C$  47,24) và năm proton thơm  $\delta_H$  6.23-6.77. Các phân tích trên phổ  $^{13}C$ -NMR và DEPT cho thấy trong phân tử hợp chất (1) có 20 nguyên tử carbon bao gồm: Hai nhóm methoxy, ba nhóm methylen, bảy nhóm methyl (trong đó có 5 olefin methyl), tám carbon bậc bốn (trong đó có 7 olefin carbon bậc 4). Qua đó cho thấy chất (1) có cấu trúc dạng lignan. Các tương tác nhận được trên phổ HMBC giữa  $H_2-7'$  ( $\delta_H$  2,6; 3,23) và  $C-1'$  ( $\delta_C$  126,00),  $C-2'$  ( $\delta_C$  133,15),  $C-6'$  ( $\delta_C$  112,61); cùng với các tương tác HMBC giữa  $H-7$  ( $\delta_H$  4,05) và  $C-1$  ( $\delta_C$  138,01),  $C-2$  ( $\delta_C$  113,63),  $C-6$  ( $\delta_C$  123,30),  $C-1'$  ( $\delta_C$  126,00),  $C-2'$  ( $\delta_C$  133,15) đã chỉ ra rằng lignan (1) có dạng 4-aryltetralin. Tương tác HMBC giữa  $H_2-9$  ( $\delta_H$  3,57; 3,80) với  $C-7$  ( $\delta_C$  44,51),  $C-8$  ( $\delta_C$  47,24),  $C-8'$  ( $\delta_C$  74,63) cho nhóm hydroxymethylen thứ nhất thể tại  $C-8$ . Tương tự, tương tác HMBC giữa  $H_2-9'$  ( $\delta_H$  3,79; 3,63) với  $C-8$  ( $\delta_C$  47,24),  $C-7'$  ( $\delta_C$  39,67),  $C-8'$  ( $\delta_C$  74,63) cũng chứng tỏ nhóm hydroxymethylen còn lại thể tại vị trí  $C-8'$ . Ngoài ra, tín hiệu của  $C-8'$  (tín hiệu của nguyên tử carbon bậc 4 nhận được trên phổ DEPT) có độ chuyển dịch hóa học  $\delta_C$  74,63 gợi ý rằng nhóm thế còn lại tại  $C-8'$  là nhóm hydroxyl. Tiếp đó, vị trí của các nhóm thế trong nhân benzene cũng lần lượt được xác định dựa trên phân tích phổ HMBC. Các tương tác HMBC giữa  $H-3'$  ( $\delta_H$  6,23, s) với  $C-7$  ( $\delta_C$  44,51),  $C-1'$  ( $\delta_C$  126,00),  $C-4'$  ( $\delta_C$  144,85),  $C-5'$  ( $\delta_C$  147,02) cùng với các tương tác HMBC giữa  $H-6'$  ( $\delta_H$  6,62, s) với  $C-2'$  ( $\delta_C$  133,15),  $C-4'$  ( $\delta_C$  144,85),  $C-5'$  ( $\delta_C$  147,02),  $C-7'$  ( $\delta_C$  39,67) cho thấy nhân benzene thứ nhất bị thế tại bốn vị trí 1',2',4',5'. Thêm vào đó, tương tác HMBC giữa  $H-3'/C-5'$  quan sát được với cường độ mạnh đồng thời lại nhận thấy tương tác HMBC của  $H-MeO$  ( $\delta_H$  3,83)/ $C-5'$  đã cho thấy nhóm methoxy thế tại  $C-5'$  và nhóm hydroxyl thế tại  $C-4'$ . Nhân benzene còn lại bị thế tại ba vị trí 1,3,4 được khẳng định dựa trên tương tác HMBC giữa  $H-7$  ( $\delta_H$  4,05) với  $C-2$  ( $\delta_C$  113,65),  $C-6$  ( $\delta_C$  123,30) cùng với tín hiệu dạng doublet ( $J = 8,5$  Hz) của  $H-5$  ( $\delta_H$  6,77) quan sát được trên phổ  $^1H$ -NMR. Thêm vào đó, tương tác HMBC với cường độ mạnh giữa  $H-5$  và  $C-3$  ( $\delta_C$  148,63) và tín hiệu tương tác HMBC của  $H-OMe$  ( $\delta_H$  3,80)/ $C-3$  cho phép khẳng định nhóm methoxy thế tại  $C-3$ . Cuối cùng, cấu hình tương đối của chất (1) cũng được xem xét. Giả sử vị trí  $C-7$  có cấu hình beta, hằng số tương tác  $J_{H-7/H-8} = 12,0$  Hz cho thấy dạng hình học của hai nhóm thế  $C-7/C-8$  có dạng *trans* điều đó có nghĩa là  $C-8$  có cấu hình alpha. Nhóm hydroxymethylen tại  $C-8'$  có cấu hình beta dựa trên sự trùng khớp về các dữ kiện phổ  $^{13}C$ -NMR của (1) so sánh với cyclooolivil như đã công bố (Sugiyamam và *nnk.*, 1993) (bảng 1). Như vậy cấu trúc hóa học của chất (1) được xác định là cyclooolivil.

Hợp chất (2) phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Cũng giống như chất (1), các tín hiệu cộng hưởng trên phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR của (2) cũng cho thấy chất (2) có cấu trúc dạng lignan với hai nhóm thế methoxy ( $\delta_H$  3,87/ $\delta_C$  56,33 và  $\delta_H$  3,87/ $\delta_C$  56,35). Tuy nhiên, khác với (1), trên phổ HMBC chỉ quan sát thấy các tương tác của  $H-7$  ( $\delta_H$  4,75) với  $C-1$  ( $\delta_C$  135,33),  $C-2$  ( $\delta_C$  111,54),  $C-6$  ( $\delta_C$  120,8) trong khi không thấy các tín hiệu tương tác giữa  $H-7$  với  $C-1'$ ,  $C-2'$ , hay  $C-6'$  cho thấy ở (2) không có sự đóng vòng giữa  $C-7$  và  $C-2'$ . Đồng thời sự xuất hiện tín hiệu tương tác HMBC giữa  $H_2-9'$  ( $\delta_H$  3,63; 3,84) và  $C-7$  ( $\delta_C$  85,83) cho thấy có sự đóng vòng giữa  $C-9'$  và  $C-7$ .

Dữ kiện phổ NMR của (1) (2) và các chất tham khảo

No.	Cycoolivil	(1)		Olivil	(2)	
	$\delta_c^a$	$\delta_c^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., J in Hz)	$\delta_c^a$	$\delta_c^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (mult., J in Hz)
1	138,5	138,01	-	135,5	135,33	-
2	114,0	113,63	6.68*	111,8	111,54	7,17 (d, 1,5)
3	149,2	148,63	-	148,7	149,01	-
4	146,2	145,53	-	147,3	147,18	-
5	116,1	115,72	6.77 (d, 8.5)	115,9	115,80	6,74*
6	123,6	123,30	6.68*	120,8	120,76	6,90 (dd, 8,0; 1,5)
7	44,9	44,51	4.05 (d, 12.0)	85,8	85,83	4,75 (d, 7,5)
8	47,6	47,24	2.04 (dt, 4,0; 12.0)	61,9	61,91	2,32 (dt, 7,5; 6,0)
9	60,9	60,63	3.57 (dd, 4,0; 11.0) 3.80*	60,9	60,78	3,85 (d, 11,5; 6,0) 3,76 (dd, 11,5; 6,0)
1'	126,5	126,00	-	130,5	130,40	-
2'	133,6	133,15	-	115,5	115,22	6,93 (br s)
3'	117,4	117,09	6.23 (s)	149,8	148,56	-
4'	145,3	144,85	-	146,3	146,14	-
5'	147,5	147,02	-	115,9	115,68	6,76 (d, 8,0)
6'	113,0	112,61	6.62 (s)	124,0	123,86	6,74*
7'	40,0	39,67	2.64 (d, 16.5) 3.23 (d, 16.5)	40,7	40,62	3,01 (d, 14,0) 2,93 (d, 14,0)
8'	75,0	74,63	-	82,6	82,59	-
9'	69,5	69,12	3.63 (d, 11.0) 3.79 (d, 11.0)	78,0	77,94	3,84 (d, 9,0) 3,63 (d, 9,0)
4- OMe	56,4	56,34	3.80 (s)	56,6	56,35	3,87 (s)
3'-OMe	56,4	56,32	3.83 (s)	56,6	56,33	3,87 (s)

Đo trong <sup>a)</sup>CD<sub>3</sub>OD-*d*<sub>4</sub>, <sup>b)</sup>125 MHz, <sup>c)</sup>500 MHz, <sup>\*</sup>Các tín hiệu bị chồng chập.



Hình 2. Các tương tác HMBC (H → C) chính của (1) và (2)

Vị trí các nhóm thế ở nhân benzen của (2) cũng được khẳng định dựa trên phân tích phổ hai chiều HMBC và các hằng số tương tác spin H-H nhận được trên phổ  $^1\text{H-NMR}$ . Trước tiên, tín hiệu tương tác HMBC giữa H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  4,75) với hai olefin metin carbon C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  111,54) và C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  120,76) cùng với tín hiệu dạng doublet của H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  7,17,  $J = 1,5$  Hz), double doublet của H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  6,90,  $J = 8,0$ ; 1,5 Hz) cho thấy nhân benzen thứ nhất bị thế tại ba vị trí 1,3,4. Hơn nữa trên phổ HMBC của (2) nhận thấy cả H-2 và H-6 đều có tín hiệu tương tác mạnh với C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  147,18) cho thấy nhóm hydroxyl thế tại vị trí C-4, qua đó chứng tỏ nhóm metoxi thế tại C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  149,01). Điều này cũng phù hợp tín hiệu tương tác HMBC nhận được của H-2/C-3 và H-OMe ( $\delta_{\text{H}}$  3,87)/C-3. Tương tự ta cũng nhận thấy vòng benzen còn lại cũng thế dạng 1,3,4 và hai nhóm thế hydroxyl và metoxi cũng lần lượt thế tại vị trí C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  146,14) và C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  148,56). Cấu hình tương đối ở vòng furan cũng được xem xét dựa trên phân tích phổ  $^1\text{H-}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$ . Hằng số tương tác spin  $J_{\text{H-7/H-8}} = 7,5$  Hz cho thấy các nhóm thế tại C-7/C-8 có cấu hình *E*. Cấu hình tại C-8/C-8' cũng xác định là *E* dựa trên sự phù hợp các giá trị phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của (2) và olivil như công bố trong tài liệu (Abe F. và *nnk.*, 1995) (bảng 1). Như vậy cấu trúc hóa học của (2) được xác định là olivil.

Hợp chất (3) thu được dưới dạng tinh thể màu vàng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  xuất hiện tín hiệu của hai proton ở vị trí *meta* với nhau tại  $\delta_{\text{H}}$  5,87 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz, H-6), 5,94 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz, H-8), đồng thời phổ  $^1\text{H}$  cũng xác định sự xuất hiện của một vòng thơm thế kiểu 1,3,4 bởi các tín hiệu cộng hưởng  $\delta_{\text{H}}$  6,86 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-2'), 6,77 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-5'), 6,74 (1H, dd,  $J = 8,0$ , 1,5 Hz, H-6'). Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu của một nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  4,57 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz, H-2), một proton nối với oxy tại 3,99 (1H, m, H-3) và hai proton của nhóm methylen tại 2,53 (1H, dd,  $J = 16,0$ , 8,5 Hz, H<sub>a</sub>-4), 2,88 (1H, dd,  $J = 16,0$ , 5,5 Hz, H<sub>b</sub>-4). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  xuất hiện tín hiệu của 15 nguyên tử carbon trong đó tín hiệu của hai nhóm metin tại  $\delta_{\text{C}}$  82,88 và 68,83 là phù hợp với vị trí C-2 và C-3 của khung 3-hydroxyflavan. So sánh các dữ kiện phổ của hợp chất (3) với các dữ kiện phổ của chất catechin (Yao S., 2008) thấy có sự phù hợp hoàn toàn. Như vậy hợp chất (3) là catechin.

### III. KẾT LUẬN

Bước đầu đã phân lập và xác định cấu trúc của ba hợp chất phenolic từ dịch chiết metanol cây *Tylophyra* sp. bao gồm hai chất dạng khung lignan: Cycloolivil (1), olivil (2) và một chất dạng khung flavan-3-ol: Catechin (3).

**Lời cảm ơn:** Công trình được hoàn thành nhờ sự hỗ trợ kinh phí của đề tài thuộc Chương trình Tây Nguyên III của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Tiến Bản (chủ biên), 2005. Danh lục các loài thực vật Việt Nam. Tập 3. NXB. Nông nghiệp. Trang 74-75.
2. Yao S., Tang C.P., Ye Y., 2008. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 10: 591-596.
3. Abe F., Iwase Y., Yamauchi T., Honda K., Hayashi N., 1995. *Phytochemistry*, 39: 695-699.
4. Sugiyama., Nagayama E., Kikuchim., 1993. *Phytochemistry*, 33: 1215-1219.
5. Shen Z.B., Theander O., 1984. *Phytochemistry*, 24: 364-365.
6. Cai Y., Evans F.J., Robertsm.F., Phillipson J.D., Zenkm.H., Gleba Y.Y., 1991. *Phytochemistry*, 30: 2033-2040.

**ISOLATION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM *Tylophora* sp.**

**HOANG LE TUAN ANH, BUI HUU TAI, DUONG THI DUNG, VU MANH HA,  
NGUYEN XUAN NHIEM, NGUYEN HOAI NAM, NGUYEN XUAN CUONG,  
CHAU VAN MINH, PHAN VAN KIEM, NGUYEN VAN DU, TRAN HUY THAI,  
HA TUAN ANH, BUI VAN THANH, TRAN MINH HOI**

**SUMMARY**

Two lignans cyclooolivil (**1**), olivil (**2**), and a flavan-3-ol catechin (**3**) were isolated from the methanol extract of *Tylophora* sp. using various chromatographic experiments. The structure of isolated compounds were elucidated by spectroscopic methods including 1D- and 2D-NMR as well as and dicussed in comparison with the literatures.