

CÁC HỢP CHẤT ISOFLAVONOID VÀ PHENOLIC PHÂN LẬP TỪ RỄ CÂY XẠ CAN (*Belamcanda chinensis*)

HOÀNG LÊ TUẤN ANH, BÙI HỮU TÀI, PHẠM HẢI YẾN,
ĐAN THỊ THÚY HẰNG, NGUYỄN THỊ CÚC, DƯƠNG THỊ HẢI YẾN,
DƯƠNG THỊ DUNG, NGUYỄN XUÂN NHIỆM, PHAN VĂN KIÊM

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

LÃ VĂN KÍNH

Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam,

Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Xạ can còn được gọi là rễ quạt, có tên khoa học là *Belamcanda chinensis* L. thuộc họ Lay on (Iridaceae). Cây dạng thân cỏ, sống dai, mọc hoang khắp Việt Nam, được trồng làm thuốc và cảnh. Theo kinh nghiệm dân gian, xạ can thường được dùng làm thuốc kháng khuẩn, tiêu viêm, tiêu đờm, chữa ho, ho gà, viêm họng, khản tiếng, viêm amidan, chữa sốt, thông kinh, bí đại tiểu tiện, sung vú, tắc tia sữa, đau nhức tai, rắn cắn (Đỗ Tất Lợi, 2000). Trên thế giới có rất nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài này. Thành phần hóa học chủ yếu được tìm thấy trong rễ và thân rễ của loài này là các hợp chất thuộc khung triterpenoid, xanthone, chalcone, isoflavonoid và stilbene (Wozniak D. và nnk., 2010). Ở Việt Nam hiện có rất ít nghiên cứu về thành phần hóa học của loài *B. chinensis*.

Bước đầu nghiên cứu về thành phần hóa học loài *B. chinensis* bài báo này sẽ thông báo việc phân lập và xác định cấu trúc hóa học của hai isoflavone là irisfloreentine (1), irilin D (2) và một dẫn xuất stilbene là (*trans*)-resveratrol (3).

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu rễ cây xạ can được cung cấp bởi PGS. TS Lã Văn Kính, Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam (Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam).

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufoalien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP-18 F_{254s} (Merck); các vết chất được phát hiện dưới đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254nm và 365nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ 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 (230-400 mesh). Silica gel pha đảo có cỡ hạt 30-50 µm (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.

Mẫu rễ cây Xạ can (*B. chinensis*) 5,0kg tươi được phơi khô, sấy ở 50°C và được nghiền thành bột thu được 1,7kg. Ngâm chiết 1,7kg rễ khô đã nghiền thành bột với metanol ba lần, sau đó gộp các dịch chiết lại loại dung môi dưới áp suất thấp thu được 150g cặn chiết metanol. Cặn metanol được tạo huyền phù với 2 lít nước cất và chiết lần lượt bằng clorofoc và etyl axetat. Sau khi đuổi dung môi dưới áp suất thấp thu được cặn clorofoc (40,0g), etyl axetat (50,0g) và dịch nước.

Phân đoạn etyl axetat (50g) được tẩm vào 100g silica gel, cô đuổi dung môi cho đến khi thu được bột toi, khô. Tiến hành sắc ký cột nhờ silica gel pha thường cỡ hạt 230-400 mesh (0,04-0,063mm), rửa giải bằng hệ dung môi clorofoc/metanol với độ phân cực tăng dần (từ 20: 1-0: 1, v/v) thu được 4 phân đoạn chính là F1 (16,0g), F2 (5,5g), F3 (9,5g) và F4 (19,0g).

Phân đoạn F1 được đưa lên cột sắc ký pha đảo RP-18 rửa giải với hệ dung môi axeton/nước (3/1, v/v) thu được 2 phân đoạn tương ứng là F1A và F1B. Sau khi tinh chế phân đoạn F1B trên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi rửa giải clorofoc/metanol (15/1, v/v) thu được hợp chất **1** (12mg).

Phân đoạn F2 được hòa tan bằng hỗn hợp clorofoc/methanol, bổ sung silica gel (tỷ lệ 1: 1) rồi tiến hành cất loại dung môi đến khô. Hỗn hợp sau đó được nghiền mịn rồi tiến hành sắc ký trên cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải là clorofoc/metanol (8/1, v/v) thu được 2 phân đoạn F2A và F2B tương ứng. Phân đoạn F2B được tinh chế trên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi rửa giải clorofoc/metanol/axit formic (80/10/1, v/v/v) thu được hợp chất **2** (10mg).

Phân đoạn F3 tiến hành sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải là $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (7: 1) thu được hai phân đoạn F3A và F3B. Phân đoạn F3B được tiếp tục tinh chế trên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi rửa giải clorofoc/metanol/nước (50/10/0,5, v/v/v) thu được hợp chất **3** (8mg).

Thông tin về 3 chất phân lập được như sau:

Irisflorentine (**1**): Bột vô định hình, màu vàng; Công thức phân tử $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_8$ ($M = 386$); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 7.81 (1H, s, H-2); 6,76 (1H, s, H-2'); 6.65 (1H, s, H-8); 6.08 (2H, s, OCH_2O); 4.09 (3H, s, 5-OMe); 3.89 (6H, s, 3'-OMe, 5'-OMe); 3.87 (3H, s, 4'-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) xem bảng 1.

Irilin D (**2**): Bột vô định hình, màu trắng; Công thức phân tử là $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$ ($M = 316$); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 8.07 (1H, s, H-2); 7.04 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6'); 6,87 (1H, dd, $J = 8,0; 2,0$ Hz, H-6'), 6.84 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.46 (1H, s, H-8); 3,89 (3H, s, 6-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) xem bảng 1.

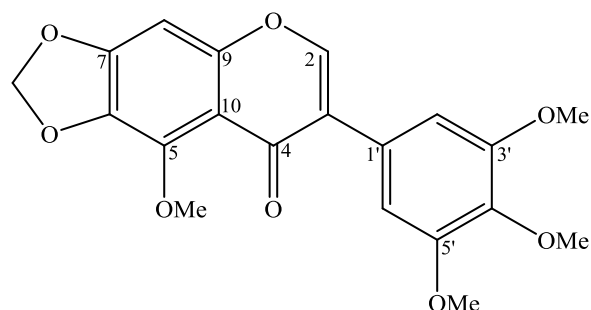
Resveratrol (**3**): Bột vô định hình; Công thức phân tử là $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$ ($M = 228$); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 7,37 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2'', H-6''); 6,98 (1H, d, $J = 16,5$ Hz, H-1); 6,82 (1H, d, $J = 16,5$ Hz, H-2); 6,78 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3'', H-5''); 6.46 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2', H-6'); 6.18 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-4'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) xem bảng 1.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu vàng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **1** xuất hiện hai tín hiệu singlet tại δ_{H} 7,81 và 6,65 đặc trưng cho vị trí H-2 và H-8 của cấu trúc isoflavonoid khi vòng A bị thế tại các vị trí 5, 6 và 7. Tín hiệu của hai proton vòng B cũng có dạng singlet có độ chuyển dịch hóa học giống nhau δ_{H} 6,76 cho thấy vòng này đã bị thế ở ba vị trí và có cấu trúc đối xứng. Ngoài ra, tín hiệu của hai proton xuất hiện ở δ_{H} 6,08 (2H, s) đặc trưng cho nhóm dioximethylen (OCH_2O) và tín hiệu của bốn nhóm metoxi ở δ_{H} 3,86 (3H, s), 4,08 (3H, s) và 3,98 (6H, s).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT của **1** xuất hiện tín hiệu của 20 nguyên tử carbon trong đó có bốn nhóm metoxi, một nhóm dioximethylen và còn lại 15 nguyên tử carbon đặc trưng cho 1 khung isoflavonoid. Phân tích chi tiết các tín hiệu trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ ta thấy tín hiệu của một nhóm carbonyl ($\text{C} = \text{O}$) tại vị trí C-4 ở δ_{C} 175,22, một nhóm methyl tại vị trí C-2 ở δ_{C} 150,75, một nhóm methyl của vòng A tại δ_{C} 93,25 (C-8) và 2 nhóm methyl của vòng B có cấu trúc đối xứng ở 106,80 (2C, C-2' và C-6'), hai nhóm metoxi cùng có độ dịch chuyển hóa học δ_{C} 56,29 liên kết với C-3' và C-5' cùng có độ chuyển dịch hóa học là δ_{C} 153,13. Tiến hành so sánh dữ kiện phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **1** với 3',5'-dimetoxiisoflavon-4'- O - β -D-glucopyranoside (Jin L. và nnk., 2008) và noririsflorentin (Woo W.S., 1993) cho phép ta xác định nhóm metoxi tại δ_{C} 61,29 liên kết với C-5 và nhóm metoxi tại δ_{C} 60,08 liên kết với C-4' của khung isoflavonoid đồng thời chứng tỏ

nhóm dioximethylen đóng vòng với C-6 và C-7 của vòng A. Từ các dữ kiện phổ trên cho phép dự đoán **1** là irisflorentin.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của chất 1

Các kết quả dữ kiện phổ của chất **1** cũng hoàn toàn phù hợp với irisflorentin như đã được công bố trong tài liệu (Jung S.H. và nnk., 2002) (bảng 1). Do đó, cấu trúc của **1** được xác định là 5,3',4',5'-tetrametoxi-6,7-dioximetylenisoflavone hay irisflorentin (hình 1).

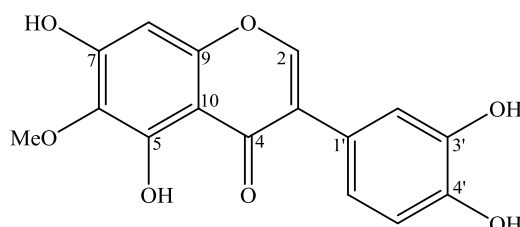
Bảng 1

Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của chất 1-3 và các chất tham khảo.

No.	Irisflorentine ^a	1 ^b	Irilin D ^c	2 ^d	No.	Resveratrol ^b	3 ^d
2	153,8	150,75	153,9	155,00	1	128,6	129,42
3	125,8	125,70	121,8	124,36	2	126,4	127,05
4	174,7	175,22	180,5	182,64	1'	140,4	141,33
5	142,3	141,76	153,2	155,00	2'	105,2	105,81
6	137,3	135,63	131,3	132,84	3'	159,1	159,65
7	155,3	154,68	157,4	158,75	4'	102,2	102,69
8	94,1	93,25	93,7	94,97	5'	159,1	159,65
9	152,3	152,93	152,6	154,61	6'	105,2	105,81
10	114,8	113,80	104,8	106,74	1''	129,5	130,46
1'	128,7	127,40	121,6	123,82	2''	128,3	128,80
2'	107,8	106,80	115,3	116,37	3''	115,9	116,51
3'	153,9	153,13	144,8	146,24	4''	157,6	158,36
4'	138,6	137,10	145,4	146,82	5''	115,9	116,51
5'	153,9	153,13	116,5	117,49	6''	128,3	128,80
6'	107,8	106,80	119,9	121,74			
OCH ₂ O	103,6	102,23					
OMe	61,3 60,5 56,5	61,29 60,85 56,29	59,9	60,93			

Do trong: ^a) Acetone-*d*₆, ^b) CDCl₃, ^c) DMSO-*d*₆, ^d) CD₃OD-*d*₄.

Hợp chất **2** phân lập dưới dạng bột màu trắng vô định hình. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **2** cũng nhận thấy xuất hiện hai tín hiệu singlet tại δ_{H} 8,07 và 6,46 đặc trưng cho vị trí H-2 và H-8 của cấu trúc isoflavonoid khi vòng A bị thế tại các vị trí 5, 6 và 7. Tín hiệu của ba proton vòng B tại δ_{H} 7,04 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) 6,85 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) và 6,88 (1H, dd, $J = 8,0, 2,0$ Hz) cho thấy vòng này đã bị thế tại vị trí để tạo thành hệ tương tác spin ABX. Ngoài ra, trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **2** còn xuất tín hiệu của một nhóm metoxi ở δ_{H} 3,89 (3H, s).

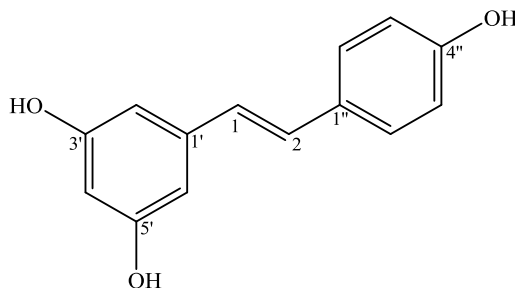


Hình 2. Cấu trúc hóa học của chất 2

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT của **2** xuất hiện tín hiệu của 16 nguyên tử carbon trong đó có một nhóm metoxi và 15 nguyên tử carbon đặc trưng cho khung isoflavonoid. Phân tích chi tiết các tín hiệu trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ ta thấy một nhóm carbonyl (C = O) tại δ_{C} 182,64 (C-4), một nhóm metin δ_{C} 155,00 (đặc trưng cho độ chuyển dịch hóa học của C-2 ở isoflavonoid), một nhóm metin của vòng A tại δ_{C} 94,97 (đặc trưng cho C-8 của flavonoid) qua đó cũng phù hợp với việc vòng A của **2** bị thế tại vị trí 5, 6, 7. Sáu tín hiệu cộng hưởng của nguyên tử carbon vòng B gồm ba nhóm metin ở δ_{C} 116,37, 117,49, 121,74, một carbon olefin bậc 4 tại δ_{C} 123,82 và hai oxiolefin carbon bậc 4 tại δ_{C} 146,24, 146,82. Các dữ kiện này cùng với hệ tương tác spin ABX của vòng B quan sát được trên phổ $^1\text{H-NMR}$ cho phép dự đoán vòng B bị thế bởi hai nhóm hydroxyl ở C-3' và C-4'. Một nhóm metoxi có độ dịch chuyển hóa học 60,93 khả năng liên kết với C-6 có độ chuyển dịch hóa học là δ_{C} 132,84. Qua đó có thể dự đoán cấu trúc hóa học của **2** là 5,7,3',4'-tetrahydroxyl-6-metoxiisoflavone.

Tiến hành so sánh dữ kiện phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **2** với hợp chất có cấu trúc trên đã được công bố (Horie T. và nnk., 1998) ta thấy sự tương đồng ở các vị trí tương ứng. Do đó, cấu trúc của **2** được xác định là 2',3',5,7-tetrahydroxyl-6-metoxiisoflavone hay còn có tên gọi khác là irilin D (hình 2).

Hợp chất **3** nhận được dưới dạng bột vô định hình. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **3** chỉ xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng trong vùng δ_{H} 6,18-7,38 ppm gợi ý cấu trúc dạng phenolic. Các tín hiệu proton xuất hiện tại δ_{H} 6,46 (2H, d, $J = 2,0$ Hz) và 6,18 (1H, t, $J = 2,0$ Hz) cho thấy sự có mặt của một vòng thơm có cấu trúc đối xứng bị thế ở ba vị trí 1, 3 và 5. Bên cạnh đó, sự xuất hiện của cặp tín hiệu thuộc hệ tương tác spin AA'BB' tại δ_{H} 6,78 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) và 7,37 (2H, d, $J = 8,5$ Hz) gợi ý tới sự có mặt của một nhân benzen thế para.



Hình 3. Cấu trúc hóa học của chất 3

Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT của **3** xuất hiện tín hiệu của 14 nguyên tử carbon trong đó có 9 carbon metin và 5 carbon bậc bốn. Các giá trị carbon metin cộng hưởng tại vị trí δ_{C} 105,81 (C-2'; C-6'), 102,69 (C-4'), 128,80 (C-2''; C-6''), 116,51 (C-3''; C-5''), 129,42 (C-1) và 127,05 (C-2). Các giá trị carbon bậc 4 cộng hưởng tại δ 141,33 (C-1'), 159,65 (C-3'; C-5'), 130,45 (C-1'') và 158,36 (C-4''). Từ các dữ kiện trên cho phép dự đoán cấu trúc hóa học của **3** là resveratrol. Hơn nữa, cấu hình của liên kết đôi C-1/C-2 được xác định có cấu hình trans bởi độ lớn của hằng số tương tác $J_{\text{H-1/H-2}} = 16,5$ Hz. Kết hợp so sánh với các giá trị phổ 1D-NMR của *trans-resveratrol* đã được công bố (Woo W.S., Woo E.H., 1993) (bảng 1) cho phép xác định cấu trúc hóa học của chất **3** chính là *trans-resveratrol* (hình 3).

III. KẾT LUẬN

Bằng các phương pháp phổ kết hợp với sự so sánh với các tài liệu đã công bố, cấu trúc hóa học của ba hợp chất phân lập từ rễ cây *B. chinensis* lần lượt được xác định là: irisflorentine (**1**), irilin D (**2**) và (*trans*)-resveratrol (**3**).

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự tài trợ của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, đề tài “Nghiên cứu sản xuất một số chế phẩm có nguồn gốc thảo dược dùng để phòng và trị hội chứng hô hấp trên lợn và gà” do PGS.TS. Lê Văn Kính làm chủ nhiệm và ThS. Đặng Vũ Lương, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giúp đỡ các phổ NMR.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi, 2000. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Y học.
2. Horie T., Shibata C., Yamashita K., Fujii K., Trukayamam., Ohtruru Y., 1998. Chem. Pharm. Bull., 46: 222- 230.
3. Jin L., Chen H.S., Jin Y.S., Liang S., Xiang Z.B., Lu J., 2008. J. Asian Nat. Prod. Res., 10: 89-94.
4. Jung S.H., Lee Y.S, Lee S., Lim S.S., Kim Y.S., Shin K.H., 2002. Arch. Pharm. Res., 25: 306-312.
5. Solladié G., Pasturel-Jacopé Y., Maignan J., 2003. Tetrahedron, 59: 3315-3321.
6. Woo W.S., Woo E.H., 1993. Phytochemistry, 33: 939-940.
7. Wozniak D., Janda B., Kapusta I., Oleszek W., Matkowski A., 2010. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 696: 148-153.

ISOFLAVONOIDS AND PHENOLIC FROM THE ROOT OF *Belamcanda chinensis*

HOANG LE TUAN ANH, BUI HUU TAI, PHAM HAI YEN,
DAN THI THUY HANG, NGUYEN THI CUC, DUONG THI HAI YEN,
DUONG THI DUNG, NGUYEN XUAN NHIEM, PHAN VAN KIEM, LA VAN KINH

SUMMARY

From the methanol extract of *Belamcanda chinensis*, two isoflavonoids and one phenolic: irisflorentine (**1**), irilin D (**2**), and (*trans*)-resveratrol (**3**), were isolated by various chromatography methods. Their chemical structures were elucidated by NMR experiments and in comparison with previous reported data.