

PRO_16

CÁC HỢP CHẤT GLYCOSIDE TỪ RỄ CÂY CÁT SÂM (*Millettia speciosa*) Ở NGHỆ AN

Nguyễn Thị Hương¹, Nguyễn Tân Thành², Nguyễn Thị Thanh Ngọc³,
Nguyễn Văn Quốc², Nguyễn Thị Ngân⁴, Lê Thị Mỹ Châu^{2,*}

¹Viện Sư phạm Tự nhiên, Trường Đại học Vinh

²Viện Công nghệ Hóa, Sinh và Môi Trường, Trường Đại học Vinh

³Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghệ Đông Á

⁴Viện Công nghệ Sinh học & Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Tp HCM

*Email: chaultm@vinhuni.edu.vn

TÓM TẮT

Ba chất glycoside, bao gồm: (3 β ,4 α)-3,19,23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid β -D-glucopyranosyl ester (**1**), sinapyl alcohol 4-O-glucoside (**2**) và daidzein-7-O- β -D-glucopyranoside (**3**) đã được phân lập từ củ của cây cát sâm (*Millettia speciosa*) thu hái từ Nghệ An. Cấu trúc của chúng được làm sáng tỏ dựa trên cơ sở phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) một và hai chiều, phổ khối lượng (MS). Đây là báo cáo đầu tiên về thành phần hóa học của loài Cát sâm ở Việt Nam.

Từ khoá: *Millettia speciosa*, (3 β ,4 α)-3,19,23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid β -D-glucopyranosyl ester, sinapyl alcohol 4-O-glucoside và daidzein-7-O- β -D-glucopyranoside.

1. MỞ ĐẦU

Millettia speciosa (Cát sâm) là một loài thuộc họ Cánh bướm (Labiatae) phân bố ở nhiều tỉnh miền Bắc Việt Nam như Bắc Ninh, Vĩnh Phúc, Phú Thọ... [1] và ở nhiều nước Châu Á, Châu Phi, Bắc Úc [2]. Trong Y học cổ truyền Trung Quốc loài này được sắc thích hợp với ý dĩ nạc, có thể giúp bổ huyết, bổ gan, tỳ vị và khi phụ nữ mang thai, họ thường ăn *Millettia speciosa* trộn với cơm, có thể dưỡng huyết, bồi bổ cơ thể và loại bỏ độc tố [3] Trong nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy, loài *Millettia speciosa* có chứa nhiều các hoạt chất như alkaloid, terpenoid, phenolic, saccharide và những hoạt chất này đã làm cho loài có nhiều hoạt tính như bảo vệ gan, ngăn ngừa ho, chống hen suyễn, tăng cường khả năng miễn dịch [4, 5, 6], ngoài ra còn thể hiện hoạt tính chống viêm, chống oxy hóa, chống huyết khối, kháng u [7, 8, 9]. Vào đầu những năm 1970, *Millettia speciosa* đã được sử dụng làm nguyên liệu chính trong nhiều loại thuốc để điều trị bệnh thận. Ngày nay, mọi người ngày càng có nhận thức về *Millettia speciosa* cùng với sự phát triển của các loại thuốc và thực phẩm chức năng vì giàu flavonoid, isoflavonoid, tinh bột và chứa nhiều hoạt tính [10], đồng thời, nó còn được sử dụng trong một số loại rượu chăm sóc sức khỏe, trà sức khỏe và đồ uống chức năng. Trong nghiên cứu này của chúng tôi cũng đã tìm thấy 3 hợp chất glycoside và đây là nghiên cứu đầu tiên được công bố về thành phần hóa học của loài Cát sâm ở Việt Nam.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị

Điểm nóng chảy của hợp chất được đo trên máy Yanagimoto MP-S3, các góc quay cực quang học được đo bằng máy đo phân cực JASCO DIP-370. Phổ ^1H - và ^{13}C -NMR, COSY, NOESY, HMQC và HMBC đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker AV-III 500 với tetramethylsilane (TMS) với độ dịch chuyển được sử dụng đơn vị chuẩn δ (ppm). Phổ khối lượng (ESI) và phổ khối lượng (ESI-MS) được đo trên máy Agilent 1200 LC-MSD. Sắc kí cột với silica gel (Kieselgel 60, 70 - 230 mesh và 230 - 400 mesh, Merck). Sắc kí bản mỏng (TLC) Kieselgel 60 F254 (Merck) và những hợp chất trên bản mỏng được hiện màu bằng đèn UV hai bước sóng, hơi tinh thể iot.

2.2. Nguyên liệu

Mẫu củ cây Cát sâm (*Millettia speciosa*) được thu hái ở Nghệ An vào tháng 10/2019 được TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam định danh, tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hóa sinh biển, Công nghệ môi trường, Trường Đại học Vinh.

2.3. Phân lập các hợp chất

Mẫu củ cây Cát sâm được làm sạch, phơi khô (5,3 kg) được xay nhỏ và chiết với metanol (10 L \times 3) ở nhiệt độ phòng, cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được cao màu nâu (575 g). Dịch chiết được chiết lần lượt với hexan, etyl acetate, và butanol, thu được các cao hexan (11 g), etyl axetat (129 g), butanol (143 g), và phần tan trong nước (21 g). Cao butanol được tiến hành sắc kí cột silica gel với dung môi rửa giải cloroform : metanol (50:1, 30:1, 10:1, 5:1) thu được 8 phân đoạn chính. Phân đoạn 3 (3,2 g) được sắc kí cột trên silica gel với hệ dung môi rửa giải cloroform : metanol (15:1, 10:1, 7:1, 5:1) thu được chất **1** (83 mg). Phân đoạn 3 (2,9 g) được phân tách bằng sắc kí cột với hệ dung môi rửa giải cloroform : metanol (9:1, 5:1, 1:1) thu được chất **2** (52 mg) và chất **3** (23 mg).

Hợp chất 1: Tinh thể hình kim, đ.n.c 213 - 214 °C; ESI-MS m/z : 649,3 $[\text{M-H}]^+$; ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 5,17 (1H, d , $J = 8,0$ Hz, Glc-1'), 4,14 (1H, d , $J = 5,0$ Hz, H_a-23), 3,71 (1H, s , H_b-23), 3,61 (1H, dd , $J = 11,0, 5,5$ Hz, H-3), 3,60 (1H, dd , $J = 11,0; 5,5$ Hz, H_b-6'), 3,45 (1H, m , H_a-6'); 3,19 (1H, m , H-3'), 3,13 (1H, m , H-5'), 3,10 (1H, m , H-4'), 3,08 (1H, m , H-2'), 1,28 (3H, s , H-27), 1,19 (3H, s , H-29), 0,87 (3H, s , H-25), 0,67 (3H, s , H-26), 0,54 (3H, s , H-24); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 175,61 (COOH), 138,2 (C-13), 127,1 (C-12), 94,1 (C-1'), 77,6 (C-5'), 76,7 (C-3'), 72,3 (C-2'), 71,7 (C-19), 70,5 (C-3), 69,6 (C-4'), 64,6 (C-23), 60,7 (C-6'), 53,2 (C-18), 47,4 (C-17), 46,8 (C-5), 46,5 (C-9), 41,8 (C-4), 41,4 (C-14), 41,2 (C-20), 39,5 (C-8), 38,1 (C-1), 36,7 (C-22), 36,2 (C-10), 32,2 (C-7), 28,0 (C-15), 26,6 (C-2), 26,4 (C-29), 25,8 (C-16), 25,1 (C-21), 23,2 (C-11), 23,9 (C-27), 17,8 (C-6), 16,6 (C-26), 16,0 (C-27), 15,0 (C-30), 12,6 (C-24).

Hợp chất 2: Chất bột màu trắng, đ.n.c. 193 - 194 °C; ESI-MS m/z : 373 $[\text{M+H}]^+$; ^1H -NMR (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 6,72 (2H, s , H-3, 5), 6,48 (1H, d , $J = 16,0$ Hz, H-7), 6,35 (1H, dt , $J = 11,5, 5,0$ Hz, H-8), 4,91 (1H, d , $J = 7,5$ Hz, H-1'), 4,30 (2H, dd , $J = 11,5, 5,5$ Hz, H-9), 3,76 (6H, s , 2xCH₃O), 3,01-3,73 (6H, H-2', 3', 4', 5', 6'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 152,7 (C-2,6), 133,9 (C-1), 132,7 (C-4), 130,2 (C-1'), 128,5 (C-2'), 104,5 (C-1''), 102,6 (C-3,5), 77,2 (C-3''), 76,6 (C-5''), 74,2 (C-2''), 70,0 (C-4''), 61,5 (C-3'), 60,9 (C-6''), 56,4 (2,6-OCH₃)

Hợp chất 3: chất bột màu vàng nâu, đ.n.c: 246 - 247 °C; ESI-MS: m/z 417 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8,05 (1H, $J = 9,0$ Hz, H-8), 7,23 (1H, $J = 2,0$ Hz, H-6), 7,15 (1H, $J = 1,5$ Hz, H-5), 7,41 (2H, d , $J = 8,0$ Hz, H-2',6') và 6,82 (2H, d , $J = 8,0$ Hz, H-3',5'). ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 174,7 (C-4), 161,3 (C-7), 157,2 (C-4'), 157,0 (C-9), 152,2 (C-2), 130,0 (C-2',6'), 126,9 (C-5), 123,7 (C-1'), 122,3 (C-3), 118,5 (C-10), 115,6 (C-6), 115,0 (C-3',5'), 103,4 (C-8), 100,0 (C-1''), 77,2 (C-5''), 76,5 (C-3''), 73,1 (C-2''), 69,6 (C-4''), 60,6 (C-6'')

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

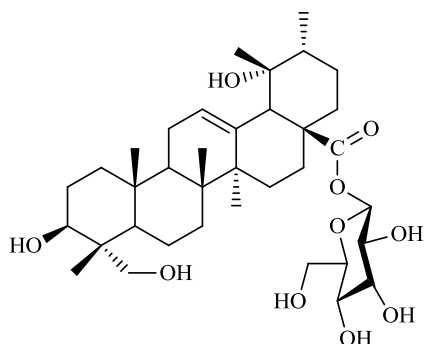
Từ cao methanol của rễ cây Cát sâm (*Millettia speciosa*) bằng các phương pháp sắc kí cột silica gel, chúng tôi đã phân lập được 3 hợp chất glycoside, cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phổ.

Hợp chất 1 là tinh thể hình kim, đ.n.c 213 - 214 °C. Phổ khối lượng ESI-MS của hợp chất 1 cho pic ion m/z 649,3 $[M-H]^+$ tương ứng với công thức phân tử $C_{36}H_{58}O_{10}$. Phổ tử ngoại của hợp chất 1 hấp thụ cực đại tại 199, 219 và 275 nm. Phổ IR của hợp chất 1 có các hấp thụ mạnh ở 3390, 1702 và 1612 cm^{-1} chứng tỏ có nhóm OH, nhóm C=O và cacbon mang liên kết đôi C=C trong phân tử. Phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR của hợp chất 1 có các tín hiệu của 1 gốc đường ở δ_C 94,1, C-1', δ_H 5,16 (1H, d , $J = 8,0$ Hz, H-1'), δ_C 72,3; 76,7; 69,6; 77,6; 60,7 (C-2', 3', 4', 5', 6'), δ_H 3,08 (H-2'), 3,19 (H-3'), 3,10 (H-4'), 3,13 (H-5'), 3,45; 3,60 (H-6'), hằng số tương tác J của proton anomeric bằng 8,0 Hz chứng tỏ đường này là đường β -glucosơ. Cả hai dữ kiện đều chứng tỏ rằng có một liên kết este giữa phần đường và aglycon. Phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho thấy tín hiệu của 36 nguyên tử cacbon bao gồm 6 nhóm methyl, 11 nhóm metylen, 11 nhóm metin, 1 cacbon carbonyl và 7 cacbon bậc 4. Từ các dữ liệu phổ MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT, HMBC, HSQC và COSY và so sánh với tài liệu có thể chứng minh chất 1 là (3 β ,4 α)-3,19,23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid β -D-glucopyranosyl ester. Hợp chất này được phân lập từ cây *I. rotunda*, *I. pedunculosa*, *I. oldbami* và cũng tìm thấy ở các cây *I. taubertiana*, *I. theezans*. Hợp chất này có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm [11].

Hợp chất 2 thu được ở dạng tinh thể màu trắng. Trên phổ 1H -NMR của 2 xuất hiện các tín hiệu của hai proton thơm ở vị trí **meta** tại δ_H 6,72 (2H, s), hai proton olefin tại δ_H 6,35 (dt, $J = 11,5, 5,0$ Hz) và 6,48 (d, $J = 16,0$ Hz); hai nhóm methoxy tại δ_H 3,76 (6H, s); một proton anome tại δ_H 4,91 (d, $J = 7,5$ Hz) gợi ý sự có mặt của một phân tử đường. Trên phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT của 2 xuất hiện tín hiệu của 17 nguyên tử cacbon, trong đó có: 4 cacbon bậc bốn, 9 nhóm methine, 2 nhóm methylene và 2 nhóm methoxy. Các tín hiệu tại δ_C 104,5 (C-1''), 74,2 (C-2''), 77,2 (C-3''), 70,0 (C-4''), 76,6 (C-5'') và 60,9 (C-6'') khẳng định sự có mặt của đường β -D-glucopyranoside. Trên phổ HMBC thấy xuất hiện các tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 4,91) với C-3/C-5 (δ_C 102,6), C-4 (δ_C 132,7), C-2'' (δ_C 128,5), C-3'' (δ_C 61,5) gợi ý nhóm 3-hydroxyallyl liên kết với vòng thơm tại C-4; giữa 2,6-OCH₃ (δ_H 3,76) và C-2/C-6 (δ_C 152,7) khẳng định nhóm methoxy tại C-2/C-6 của vòng thơm. Phần đường liên kết với vòng thơm qua cầu oxi cũng được xác định bởi tương tác giữa H-1'' (δ_H 3,01) và C-1 (δ_C 133,9). Từ các kết quả thu được, kết hợp so sánh số liệu phổ của *hợp chất 2* với các số liệu tương ứng đã được công bố của *sinapyl alcohol 4-O-glucoside* nhận được sự phù hợp ở tất cả các vị trí [11]. Như vậy, hợp chất 2 được khẳng định là *sinapyl alcohol 4-O-glucoside* là một hợp chất phenyl propanoid.

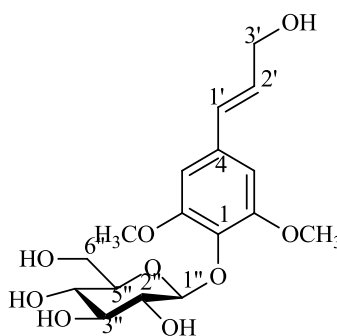
Chất 3 là chất bột màu vàng nâu, có điểm nóng chảy ở 246 - 247 °C. Phổ khối lượng va chạm electron (EI-MS) của chất 3 cho pic ion phân tử m/z 416 $[M]^+$ tương ứng với công thức phân tử $C_{21}H_{20}O_9$. Phổ 1H -NMR cho thấy tín hiệu doublet δ_H 8,05 (1H, $J = 9,0$ Hz), 7,23 (1H, $J = 2,0$ Hz),

7,15 (1H, $J = 1,5$ Hz) đặc trưng cho ba proton H-8, H-6 và H-5 của vòng A và hai tín hiệu tương tác với nhau theo hệ A_2B_2 tại δ_H 7,41 (2H, d , $J = 8,0$ Hz, H-2',6') và 6,82 (2H, d , $J = 8,0$ Hz, H-3',5'). Ngoài ra, phổ 1H -NMR còn xuất hiện tín hiệu của một proton anomeric ở δ_H 5,10 (1H, d , $J = 8,0$ Hz) đặc trưng cho proton H-1'', chứng tỏ trong chất **3** có chứa một gốc đường với các proton đặc trưng còn lại tại δ_H 3,70 (1H, m , H-6''a), 3,47 (4H, m , H-2'',3'', 5'', 6''b), 3,18 (1H, m , H-4''). Phổ ^{13}C -NMR và DEPT của chất **3** cho thấy tín hiệu của 21 cacbon, trong đó có 15 cacbon thuộc khung isoflavin và 6 cacbon của gốc đường. Các tín hiệu δ_C 100,0, 73,1, 76,5, 69,6, 77,2, 60,6 đặc trưng cho gốc đường glucose. Từ số liệu phổ của chất **3** và so sánh với tài liệu [12] có thể kết luận chất **3** thu được là một isoflavonoit có tên là daidzein-7-O- β -D-glucopyranoside.

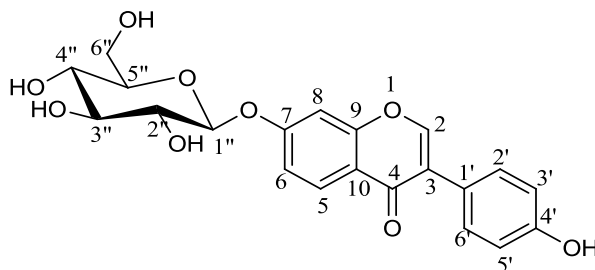


(3 β ,4 α)-3,19,23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid

β -D-glucopyranosyl ester (**1**)



Sinapyl alcohol 4-O-glucoside (**2**)



Daidzein-7-O- β -D-glucopyranoside (**3**)

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu thành phần hóa học của rễ cây Cát sâm (*Millettia speciosa*) thu thập ở Nghệ An, chúng tôi đã phân lập được 3 hợp chất là (3 β ,4 α)-3,19,23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid β -D-glucopyranosyl ester (**1**), sinapyl alcohol 4-O-glucoside (**2**) và daidzein-7-O- β -D-glucopyranoside (**3**). Cấu trúc của những hợp chất này được xác định dựa vào kết quả phân tích các loại phổ 1D và 2D-NMR và MS.

Lời cảm ơn: Các tác giả cảm ơn đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo mã số B2020-DHV-02 đã tài trợ kinh phí.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, 1999.
2. Wu D. and Kai L., in Flora of China, ed. Z. Y. Wu, Science Press, Beijing, **24** (2000), 333.
3. Đỗ Huy Bích và cộng sự, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập 1, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2004.
4. Wei Y., Wu F., Zeng H., Lu S., Chen Y., J. Guangxi Acad. Sci., **26** (2010), 380.
5. Zhong X., Tu D., Wang L., J. Guangxi Uni., **18** (2015), 73.
6. Soby S., Bates R., H. V. Etten, Phytochemistry, **45** (1997), 925.
7. Zheng Y., Pu H., Ma J., J. Guangdong Coll. Pharm., **24** (2008), 58.
8. R. Chen, H. Pu, H. Jiang, Y. ZhengChen, Food Res. Dev., **35** (2014), 31.
9. Liu D., Tang L., Wang Y., J. Guangzhou Uni. Trad. Chin. Med., **26** (3) (2009), 266.
10. Uchiyama T., Heterocycles, 2003,60, 655.
11. Wang C., Chao Z., Sun W., Wu X., Ito Y., J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol., **37** (2014), 2363.
12. Fedoreyev S. A., Bulgakov V. P., Grishchenko O. V., Veselova M. V., Krivoschekova O. E., Kulesh N. I., Denisenko V. A., Tchernoded G. K., Zhuravlev Y. N., J. Agric. Food Chem. **56** (16) (2008), 7023.

ABSTRACT

GLYCOSIDES FROM ROOTS OF *MILLETTIA SPECIOSA* IN NGHEAN PROVINCE

Study on extracts of *Millettia speciosa* collected at Nghean province roots led to the isolation of three glycoside, including (3 β ,4 α)-3,19,23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid β -D-glucopyranosyl ester, sinapyl alcohol 4-O-glucoside and daidzein-7-O- β -D-glucopyranoside. Their structure elucidation were determined on the basis of one and two-dimensional NMR and spectrometric methods in combination.

Keywords: *Millettia speciosa*, (3 β ,4 α)-3,19,23-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid β -D-glucopyranosyl ester, sinapyl alcohol 4-O-glucoside and daidzein-7-O- β -D-glucopyranoside.