

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC THÂN CÂY VỌNG CÁCH (*Premna serratifolia* L.)

• Huỳnh Anh Duy^(*), Nguyễn Thị Huyền Linh^(*),
Lâm Văn Nam^(*)

Tóm tắt

Vọng cách được sử dụng rộng rãi như vị thuốc trong dân gian. Tuy nhiên, hiện nay có ít nghiên cứu về loài cây này. Nghiên cứu này nhằm làm sáng tỏ thành phần hóa học, góp phần làm phong phú thêm các dữ liệu về loài thực vật này. Từ phân đoạn chloroform và ethyl acetate của dịch chiết cồn, bằng kỹ thuật sắc ký cột đã phân lập được 3 hợp chất: ethyl *p*-hydroxycinnamate (**PS1**), 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (**PS2**) và 4-hydroxybenzaldehyde (**PS3**). Cấu trúc của các hợp chất trên được xác định bằng phương pháp phổ MS và NMR, có so sánh với các tài liệu tham khảo. Những hợp chất này lần đầu tiên được phân lập từ thân cây Vọng cách.

Từ khóa: Vọng cách, 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde, 4-hydroxybenzaldehyde, ethyl *p*-hydroxycinnamate.

1. Đặt vấn đề

Từ lâu, Vọng cách với tên khoa học là *Premna serratifolia* L., họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae) là một cây thuốc được sử dụng rộng rãi trong y học dân gian Việt Nam như: Chữa xơ gan, kháng viêm, trị sốt, đái tháo đường, đau dây thần kinh... Từ đó cho thấy đây là một nguồn dược liệu tiềm năng trong tương lai. Qua tìm hiểu, đến nay ở Việt Nam cũng như trên thế giới có ít các công trình nghiên cứu về loài cây này. Tại Việt Nam, bước đầu nhóm nghiên cứu Nguyễn Thị Bích Hằng và cộng sự công bố 5 hợp chất: acid *p*-hydroxycinnamic, scutelanoside II, premancoryboside III, leonurisode A và rutin từ vỏ thân cây Vọng cách. Bên cạnh đó, hiện chưa tìm thấy nghiên cứu ở ngoài nước. Vì vậy, nghiên cứu nhằm mục tiêu phân lập, xác định cấu trúc các chất tinh khiết, góp phần làm sáng tỏ các dữ liệu về loài cây này.



Hình 1. Cây Vọng cách

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu thân cây Vọng cách được thu hái tại thành phố Cần Thơ vào tháng 6/2015, được định

danh bằng khảo sát đặc điểm hình thái thực vật học, so sánh với tài liệu tham khảo [2]. Mẫu được lưu tại Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ. Dược liệu được rửa sạch, phơi khô trong râm, xay nhỏ thành bột mịn.

2.2. Chiết xuất, tách phân đoạn

Bột thân cây Vọng cách (5 kg) được ngâm dầm trong ethanol 96%, thu dịch chiết, cô quay thu được cao ethanol tổng (350 g).

Cao ethanol tổng được phân tán vào nước cất, siêu âm 15 phút, thu dịch nước.

Dịch nước được tiến hành chiết phân bố lỏng - lỏng với các dung môi có độ phân cực khác nhau kết hợp với việc thay đổi pH, thu được các phân đoạn chloroform (0,55 g) và ethyl acetate (16 g).

Phân đoạn chloroform và ethyl acetate được tiến hành sắc ký cột để phân lập, kết hợp các phương pháp tinh chế để thu chất tinh khiết.

Mẫu chất tinh khiết được gửi đo phổ MS, NMR tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Từ đó, dựa vào các dữ liệu phổ học trên để xác định cấu trúc các hợp chất.

2.3. Kết quả nghiên cứu

Phân lập chất tinh khiết từ phân đoạn chloroform

Phân đoạn chloroform được tiến hành sắc ký cột pha thường (silica gel cỡ hạt 40 - 60 μ m) với hệ dung môi n-hexane - ethyl acetate tỷ lệ tăng dần. Kết quả thu được 9 phân đoạn, ký hiệu từ PSC1 đến PSC9. Từ phân đoạn PSC3, kết hợp sắc ký lớp mỏng điều chế, phân lập được 1 hợp chất ký hiệu PS1 (6 mg).

^(*) Trường Đại học Cần Thơ.

- **Hợp chất PS1:** Dạng hình kim màu trắng. Tan tốt trong chloroform, ethyl acetate, ít tan trong n-hexane, gần như không tan trong ether dầu hòa.

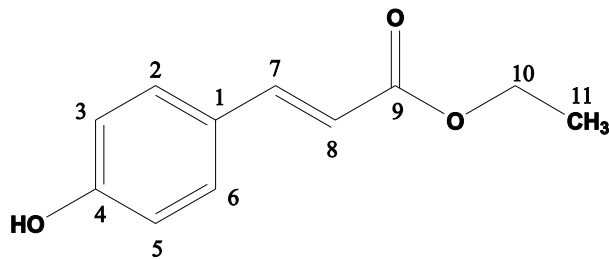
Phổ $[M+H]^+$ cho tín hiệu mũi ở m/z 193 trong khi phổ $[M-H]^-$ cho tín hiệu ở m/z 191, kết hợp với thông tin từ phổ NMR, công thức phân tử PS1 được dự đoán là $C_{11}H_{12}O_3$ ($M = 192$ đvC).

Phổ 1H -NMR (500 MHz, DMSO) cho thấy các giá trị H của vòng thơm tại δ 6,85 (2 H, *d*, $J = 8,5$ Hz), 7,42 (2 H, *d*, $J = 8,5$ Hz); H nối đôi ngoại vòng cấu hình *trans* tại δ 6,29 (1 H, *d*, $J = 16$ Hz), 7,64 (1 H, *d*, $J = 16$ Hz). H của nhóm $-CH_2CH_3$ tại δ 4,26 (2 H, *q*, $J = 7$ Hz) và δ 1,33 (3 H, *t*, $J = 7$ Hz).

Phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO) cho thấy các giá trị của C vòng thơm tại δ 115,92; 127,09;

129,97 và 157,98. Giá trị δ 167,8 của nhóm $-COO-$.

Sau khi phân tích các dữ liệu phổ MS, NMR kết hợp các tài liệu tham khảo, xác nhận **PS1** là **ethyl *p*-hydroxycinnamate** hay còn được gọi là ethyl *p*-coumarate.



Hình 2. Công thức của ethyl *p*-hydroxycinnamate

Bảng 1. So sánh dữ liệu phổ NMR của PS1 với tài liệu tham khảo

Vị trí C/H	PS1		ethyl <i>p</i> -hydroxycinnamate [1]	
	δC (125 MHz, DMSO)	δH (500 MHz, DMSO)	δC (125 MHz, CDCl ₃)	δH (500 MHz, CDCl ₃)
C-1	127,09		126,76	
C-2, 6	129,97	7,42, <i>d</i> , 8,5 Hz	130,1	7,41, <i>d</i> , 8,5 Hz
C-3, 5	115,92	6,85, <i>d</i> , 8,5 Hz	115,92	6,88, <i>d</i> , 8,5 Hz
C-4	157,98		158,25	
C-7	144,60	7,64, <i>d</i> , 16 Hz	144,96	7,64, <i>d</i> , 16 Hz
C-8	115,49	6,29, <i>d</i> , 16 Hz	115,07	6,30, <i>d</i> , 16 Hz
C-9	167,80		168,20	
C-10	60,54	4,26, <i>q</i> , 7 Hz	60,72	4,28, <i>q</i> , 7 Hz
C-11	14,33	1,33, <i>t</i> , 7 Hz	14,25	1,34, <i>t</i> , 7 Hz

Phân lập chất tinh khiết từ phân đoạn ethyl acetate

Phân đoạn ethyl acetate được tiến hành sắc ký cột pha thường (silica gel cỡ hạt 40 - 60 μ m) với hệ dung môi n-hexane - ethyl acetate tỷ lệ tăng dần. Kết quả thu được 8 phân đoạn, ký hiệu từ PSE1 đến PSE8. Từ phân đoạn PSE5, kết hợp sắc ký lớp mỏng điều chế, phân lập được 2 hợp chất ký hiệu PS2 (10 mg) và PS3 (6 mg).

- **Hợp chất PS2:** Tinh thể dạng mảng, màu vàng nhạt. Tan tốt trong acetone, chloroform.

Phổ 1H -NMR (500 MHz, DMSO) cho thấy một tín hiệu proton methoxy ($-OCH_3$) tại δ 3,83 (3 H, *s*). Ba tín hiệu proton của vòng benzen có δ

6,95–7,43, ba proton trong đó proton ở δH 7,42 (1 H, *dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, H-6) ghép cặp *ortho* với proton δ 6,96 (1 H, *d*, $J = 8$ Hz, H-5) và ghép cặp *meta* với δ 7,38 (1 H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-2). Một tín hiệu proton aldehyde ($-CHO$) tại δ 9,77 (1 H, *s*).

Phổ ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO) kết hợp với phổ DEPT cho thấy một tín hiệu carbon carbonyl ($>C=O$) ở δ 191. Ba carbon methine của vòng thơm ($-CH=$) ở δ 126; 115,4 và 110,8. Ba carbon bậc 4 của vòng thơm ($>C=$) ở δ 153, 148,2 và 128,7. Một carbon methyl trong nhóm methoxy ($-OCH_3$) ở δ 55,6.

Sau khi phân tích các dữ liệu phổ NMR kết hợp với tài liệu tham khảo, xác nhận **PS2** là **4-hydroxy 3-methoxy benzaldehyde**.

Bảng 2. So sánh dữ liệu phổ NMR của PS2 với tài liệu tham khảo

Vị trí C/H	PS2		4-hydroxy 3-methoxy benzaldehyde [4]	
	δC (125 MHz, DMSO)	δH (500 MHz, DMSO)	δC (125 MHz, CDCl ₃)	δH (500 MHz, CDCl ₃)
C-1	128,7		129,8	
C-2	110,8	7,38 (1 H, <i>d</i> , 2 Hz)	108,8	7,38 (1 H, <i>d</i> , 2 Hz)
C-3	148,2		147,2	
C-4	153,0		151,8	
C-5	115,4	6,96 (1 H, <i>d</i> , 8 Hz)	114,4	7,06 (1 H, <i>d</i> , 8,2 Hz)
C-6	126,0	7,42 (2 H, <i>dd</i> , 2, 8 Hz)	127,6	7,40 (2 H, <i>dd</i> , 2, 8,2 Hz)
C-7	191,0	9,77 (1 H, <i>s</i>)	191,1	9,79 (1 H, <i>s</i>)
C-8	55,6	3,83 (3 H, <i>s</i>)	56,1	3,92 (3 H, <i>s</i>)

- **Hợp chất PS3:** Tinh thể dạng mảng, màu trắng. Tan tốt trong acetone, chloroform.

Phổ ¹H-NMR (500 MHz, DMSO) cho thấy 4 tín hiệu proton của vòng benzen có độ dịch chuyển hóa học trong khoảng δ 6,92–7,76. Nhận benzen mang hai nhóm thế ở vị trí *para*, nhận biết qua kiểu tách spin bốn vạch. Hai cặp proton này đối xứng ghép cặp *ortho* ở δ 7,76 (2 H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-2, H-6) và δ 6,93 (2 H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-3, H-5). Một tín hiệu proton aldehyde (–CHO) tại δ 9,78 (1 H, *s*).

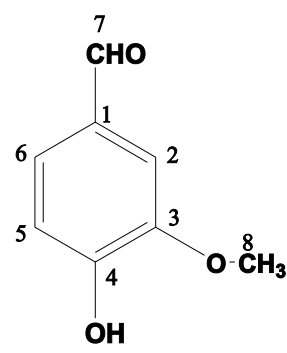
Phổ ¹H-NMR của PS3 tương tự như phổ ¹H-NMR của PS2, nhưng ít hơn một nhóm –OCH₃.

Phổ ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO) kết hợp với phổ DEPT cho thấy PS3 có 1 tín hiệu carbon carbonyl (>C=O) ở δ 191; 2 cặp carbon methine tương đương của vòng thơm (–CH=) có δ 132,1 và 115,8; 2 carbon bậc 4 của vòng thơm (>C=) ở δ 153 và 128,4.

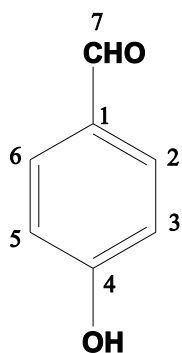
Sau khi phân tích các dữ liệu phổ NMR kết hợp với tài liệu tham khảo, xác nhận **PS3 là 4-hydroxy benzaldehyde.**

Bảng 3. So sánh dữ liệu phổ NMR của PS3 với tài liệu tham khảo

Vị trí C/H	PS3		4-hydroxy benzaldehyde [3]	
	δC (125 MHz, DMSO)	δH (500 MHz, DMSO)	δC (125 MHz, DMSO)	δH (500 MHz, DMSO)
C-1	128,7		128,9	
C-2,6	132,1	7,76 (2 H, <i>d</i> , 8,5 Hz)	132,6	7,76 (2 H, <i>d</i> , 9,0 Hz)
C-3, 5	115,8	6,93 (2 H, <i>d</i> , 8,5 Hz)	116,3	6,94 (2 H, <i>d</i> , 8,5 Hz)
C-4	163,4		163,8	
C-7	191,0	9,78 (1 H, <i>s</i>)	191,4	9,79 (1 H, <i>s</i>)



PS2



PS3

Hình 3. Công thức của 4-hydroxy 3-methoxy benzaldehyde (PS2) và 4-hydroxy benzaldehyde (PS3)

3. Kết luận

Từ thân cây Vọng cách, chúng tôi đã phân lập được 3 hợp chất tinh khiết. Trong quá trình tìm hiểu các tài liệu trong và ngoài nước về cây Vọng cách, nhận thấy rằng 3 hợp chất: ethyl *p*-hydroxycinnamate (PS1), 4-hydroxy 3-methoxy benzaldehyde (PS2) và 4-hydroxy benzaldehyde (PS3) lần đầu tiên được phân lập từ thân cây Vọng cách.

Từ kết quả nghiên cứu này, mong muốn góp phần làm phong phú thêm thành phần hóa học của cây Vọng cách. Trên cơ sở đó, cần tiếp tục những nghiên cứu để chứng minh tác dụng sinh học, kiểm nghiệm và tiêu chuẩn hóa dược liệu trong tương lai.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Cernerud, M., Reina, J. A., Tegenfeldt, J., & Moberg, C (1996), “Chiral Polymers via Asymmetric Epoxidation and Asymmetric Dihydroxylation”, *Tetrahedron: Asymmetry*, 7 (10), p. 2863-2870.
- [2]. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam - tập 1*, NXB Y học.
- [3]. Gui, R. Y., Xu, L., Kuang, Y., Chung, I. M., Qin, J. C., Liu, L., Yang, S. X., & Zhao, L. C. (2015), “Chaetominine, (+)-alantrypinone, questin, isorhodoptilometrins, and hydroxybenzaldehyde produced by the endophytic fungus *Aspergillus* sp. YL-6 inhibit wheat (*Triticum aestivum*) and radish (*Raphanus sativus*) germination”, *Journal of Plant Interactions*, 10 (1), p. 87-92.
- [4]. Lee, C. K., Lu, C. K., Kuo, Y. H., Chen, J. Z., & Sun, G. Z. (2004), “New Prenylated Flavones from the Roots of *Ficus beecheyana*”, *Journal of the Chinese Chemical Society*, (51), p. 437-441.

STUDYING CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE STEMS OF *Premna serratifolia* L.**Summary**

Premna serratifolia L. is widely used as folk medicine. However, little research has been done on this plant. This study aims to identify its chemical constituents, somehow providing more data related to the plant. Chloroform and ethyl acetate fractionated from ethanol extract by *Premna serratifolia* L. were isolated into 3 compounds: ethyl *p*-hydroxycinnamate (PS1), 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (PS2) and 4-hydroxybenzaldehyde (PS3). Their structures were identified by NMR and MS spectroscopic methods, compared with the relevant literature. These compounds were isolated for the first time from the stems of *Premna serratifolia* L.

Keywords: *Premna serratifolia* L., 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde, 4-hydroxybenzaldehyde, ethyl *p*-hydroxycinnamate

Ngày nhận bài: 09/7/2016; Ngày nhận lại: 12/8/2016; Ngày duyệt đăng: 10/10/2016.