

# TÌM HIỂU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA THÂN CÂY SƠN CÚC BA THÙY (*WEDELIA TRILOBATA* (L.) HITCH.), HỌ CÚC (ASTERACEAE)

• Phan Đức Toàn<sup>(\*)</sup>, Lương Thị Mỹ Thuật<sup>(\*\*)</sup>,  
Phạm Thị Bích Ngọc<sup>(\*\*)</sup>, Tôn Thất Quang<sup>(\*)</sup>

## Tóm tắt

Thân cây Sơn cúc ba thù (*Wedelia trilobata* (L.) Hitch.) được thu hái tại quận 7, thành phố Hồ Chí Minh. Từ cao petroleum ether, một hợp chất được cô lập là acid 3 $\alpha$ -tigloyloxy-9 $\beta$ -hydroxy-ent-kaur-16-en-19-oic (4). Từ cao chloroform, ba hợp chất được cô lập là 5-hydroxymethylfurfuran (1), acid 4-hydroxy-3-methoxybenzoic (2), acid ent-kaura-9(11),16-dien-19-oic (3). Trong số chúng, hai hợp chất (1) và (2) là các hợp chất lần đầu tiên được báo cáo có hiện diện trong cây Sơn cúc ba thù.

Từ khóa: *Wedelia trilobata*, furfuran, ent-kaurane.

## 1. Đặt vấn đề

Cây Sơn cúc ba thù, có tên khoa học là *Wedelia trilobata* (L.) Hitch. (tên khác là *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski), thuộc họ Cúc (Asteraceae). Cây có nguồn gốc từ miền nhiệt đới Nam Mỹ. Loài thực vật này cũng đã được sử dụng để làm thuốc thảo dược truyền thống để chữa trị chứng đau lưng, chuột rút cơ, thấp khớp, các vết thương khó lành, lở loét, sưng tấy, viêm khớp, sốt, đặc biệt là khả năng kháng sốt rét tại Việt Nam. Cho đến bây giờ, các nghiên cứu về hóa thực vật đã chỉ ra thành phần hóa học trong cây có sự hiện diện của các nhóm hợp chất như terpenoid (sesqui-, diter- và triterpenoid), steroid, flavonoid và phenolic, trong đó có một số hợp chất có hoạt tính sinh học đáng kể [5]. Trong bài báo này, chúng tôi tiến hành cô lập và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất cô lập được từ thân cây Sơn cúc ba thù, một bộ phận của cây chưa được nghiên cứu nhiều trên thế giới để góp phần làm rõ thêm sự phong phú đặc điểm hóa thực vật.

## 2. Nội dung

### 2.1. Nguyên liệu

Thân cây Sơn cúc ba thù được thu hái vào tháng 10/2013 tại quận 7, thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu được nhận danh bởi Hoàng Việt, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên Thành phố Hồ Chí Minh.



Hình 1. Cây Sơn cúc ba thù

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F<sub>254</sub> (Merck). Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel cỡ hạt là 0,040 – 0,063 nm và pha đảo RP-18 (30-50  $\mu$ m). Phát hiện vết bằng đèn tử ngoại hai bước sóng 254 và 365 nm, hoặc phun dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% trong ethanol và hơ nóng trên bếp điện.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Phổ <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz), <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) được ghi trên máy Bruker Avance 500 với tetramethylsilane (TMS) làm chất nội chuẩn.

### 2.3. Chiết xuất và cô lập

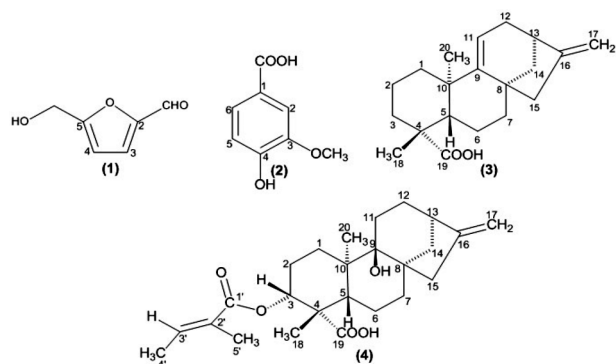
12,5 kg bột khô thân cây Sơn cúc ba thù được trích nóng với methanol bằng phương pháp đun hoàn lưu trong 4 giờ. Cô quay thu hồi dung môi thu được 1,5 kg cao methanol thô. Hòa tan cao methanol thô vào nước rồi tiến hành chiết lỏng-lỏng với các đơn dung môi có độ phân cực tăng dần hexane, chloroform, ethyl acetate, rồi cô quay và thu hồi dung môi dưới áp suất thấp thu được các cao tương ứng.

<sup>(\*)</sup> Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

<sup>(\*\*)</sup> Học viên cao học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Tiến hành sắc ký cột silica gel trên cao hexane (120 g) với hệ dung môi hexane:ethyl acetate (0-100% ethyl acetate) và ethyl acetate:methanol (10-100% methanol) thu được 14 phân đoạn (H1-H14). Phân đoạn H5 (24,2 g) được sắc ký cột silica gel, dung môi rửa giải hexane:ethyl acetate (5-100% ethyl acetate) và chloroform:methanol (0-100% methanol) thu được 12 phân đoạn (H5A-H5M). Sắc ký cột silica gel phân đoạn H5E (4,4 g), dung môi rửa giải hexane:ethyl acetate (0-100% ethyl acetate) và chloroform:methanol (0-50% methanol) thu được 11 phân đoạn. Sắc ký cột silica gel phân đoạn H5E4 (1,1 g), dung môi rửa giải hexane:chloroform (0-100% chloroform) và chloroform:methanol (0-30% methanol) thu được 8 phân đoạn. Sắc ký lớp mỏng điều chế phân đoạn H5E44 với hệ dung môi chloroform:acetone (9:1) thu được hợp chất (4) (6,6 mg).

Sắc ký cột silica gel trên cao chloroform (30 g) với hệ dung môi hexane:ethyl acetate (5-100% ethyl acetate) thu được 18 phân đoạn (C1-C18). Tại hệ dung môi hexane:ethyl acetate (1:1) tách được kết tủa có khối lượng lớn, kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất (1) (68,6 mg). Sắc ký cột silica gel phân đoạn C2 (1,5 g) với hệ dung môi chloroform:methanol (2-98% methanol) thu được 7 phân đoạn (C2A-C2G). Sắc ký cột phân đoạn C2D (30 mg), dung môi rửa giải chloroform:methanol 95:5 thu được hợp chất (2) (8 mg). Phân đoạn C5 (500 mg) tách trên cột silica gel, dung môi rửa giải chloroform:methanol (0-40% methanol), thu được 6 phân đoạn (C5A-C5E). Sắc ký cột phân đoạn C5A (150 mg), dung môi rửa giải hexane:ethyl acetate (7:3; 5:5) thu được 4 phân đoạn. Phân đoạn C5A1 tiếp tục sắc ký cột silica gel pha đảo RP-18 với hệ dung môi methanol:nước (1:1) thu được hợp chất (3) (16 mg).



Hình 2. Cấu trúc hóa học của các hợp chất cô lập được

### 5-Hydroxymethylfurfuran (1)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 9,55 (1H, *s*, H), 7,21 (1H, *d*,  $J = 3,5$  Hz, H-3), 6,50 (1H, *d*,  $J = 3,5$  Hz, H-4), 4,69 (2H, *s*).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 152,4 (C-2), 123,0 (C-3), 110,1 (C-4), 160,9 (C-5), 57,6 ( $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 177,8 ( $-\text{CHO}$ ).

### Acid 4-hydroxy-3-methoxybenzoic (2) (acid vanillic)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 7,44-7,42 (2H, *m*, H-2, H-6), 6,83 (1H, *d*,  $J = 9,0$  Hz, H-5), 3,55 (3H, *s*,  $-\text{OCH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 167,4 ( $-\text{COOH}$ ), 150,9 (C-4), 147,1 (C-3), 123,4 (C-6), 122,0 (C-1), 115,0 (C-5), 112,8 (C-2), 55,5 (3- $\text{OCH}_3$ ).

### Acid ent-kaura-9(11),16-dien-19-oic (3) (acid grandiflorenic)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 5,24 (1H, *t*,  $J = 3,0$  Hz, H-11), 4,91 (1H, *d*,  $J = 1,0$  Hz, H-17a), 4,79 (1H, *s*, H-17b), 2,77 (1H, *brs*, H-13), 2,61 (1H, *d*,  $J = 16,0$  Hz, H-15a), 1,66 (1H, *dd*,  $J = 11,0, 8,5$  Hz, H-5), 1,60 (1H, *dd*,  $J = 10,5, 5,5$  Hz, H-14a), 1,24 (3H, *s*, H-18), 1,02 (3H, *s*, H-20).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 40,9 (C-1), 20,3 (C-2), 38,4 (C-3), 45,1 (C-4), 46,8 (C-5), 18,6 (C-6), 29,8 (C-7), 42,4 (C-8), 156,1 (C-9), 38,9 (C-10), 115,0 (C-11), 38,1 (C-12), 41,4 (C-13), 44,9 (C-14), 50,4 (C-15), 158,7 (C-16), 105,6 (C-17), 28,4 (C-18), 184,9 (C-19), 23,7 (C-20).

### Acid 3 $\alpha$ -tigloyloxy-9 $\beta$ -hydroxy-ent-kaur-16-en-19-oic (4)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 6,87 (1H, *qd*,  $J = 7,5, 1,5$  Hz, H-3'), 4,81 (1H, *s*, H-17a), 4,78 (1H, *s*, H-17b), 4,62 (1H, *dd*,  $J = 12,0, 4,5$  Hz, H-3 $\beta$ ), 2,71 (1H, *brd*,  $J = 18,0$  Hz, H-15a), 2,64 (1H, *brs*, H-13), 2,39 (1H, *qd*,  $J = 13,0, 4,0$  Hz, H-2a), 2,16 (1H, *dd*,  $J = 11,5, 2,5$  Hz, H-14a), 2,01 (1H, *dd*,  $J = 15,5, 7,5$  Hz, H-11a), 1,83 (3H, *s*, H-5'), 1,79 (3H, *d*,  $J = 7,5$  Hz, H-4'), 1,30 (3H, *s*, H-18), 1,19 (3H, *s*, H-20).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 30,6 (C-1), 23,9 (C-2), 78,5 (C-3), 48,0 (C-4), 49,3 (C-5), 21,4 (C-6), 35,9 (C-7), 49,0 (C-8), 76,7 (C-9), 43,7 (C-10), 30,1 (C-11), 34,5 (C-12), 42,2 (C-13), 40,3 (C-14), 43,7 (C-15), 154,7 (C-16), 103,4 (C-17), 24,1 (C-18), 179,1 (C-19), 17,3 (C-20), 167,6 (C-1'), 128,8 (C-2'), 137,4 (C-3'), 14,4 (C-4'), 12,0 (C-5').

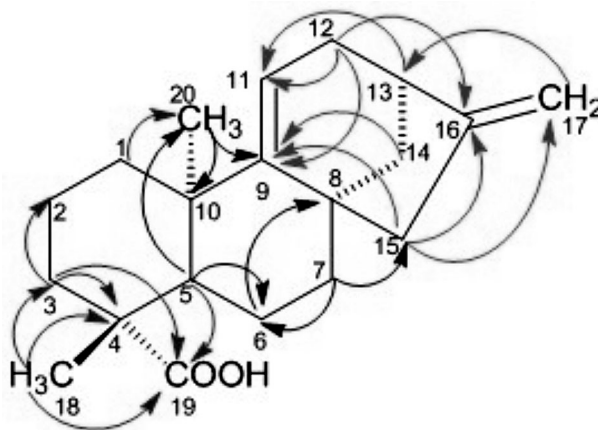
### 3. Kết quả thảo luận

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho thấy 2 tín hiệu của proton olefin đặc trưng của vòng furan tại  $\delta$  7,21 (H-3, *d*,  $J = 3,5$  Hz) và 6,50 (H-5, *d*,  $J = 3,5$  Hz), tín hiệu của proton carbinol loại  $-\text{CH}_2\text{OH}$  tại  $\delta$  4,69. Tại  $\delta$  9,55 (1H, *s*) là tín hiệu proton của nhóm formyl  $-\text{CHO}$ . Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cho thấy hợp chất có 6 tín hiệu carbon, trong đó có 5 tín hiệu của carbon  $sp^2$  ở vùng từ trường thấp (với sự hiện diện của 1 nhóm carbon carbonyl tại  $\delta$  177,8) và 1 tín hiệu của carbon carbinol tại  $\delta$  57,6. Từ sự phân tích dữ liệu phổ NMR của hợp chất (1) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [2], chúng tôi kết luận hợp chất (1) là 5-hydroxymethylfurfuran.

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho thấy hợp chất (2) có ba tín hiệu của proton benzene, trong đó có một tín hiệu tại  $\delta$  6,83 (1H, *d*,  $J = 9,0$  Hz, H-5), hai tín hiệu trong vùng  $\delta$  7,44-7,42 (2H, *m*, H-2, H-6); ngoài ra còn một tín hiệu của proton methoxy tại  $\delta$  3,80 (3H, *s*). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cho thấy hợp chất có 8 carbon, bao gồm một carbon methoxy ( $-\text{OCH}_3$ ) tại  $\delta$  55,5, một carbon carbonyl loại ester tại  $\delta$  167,4, hai carbon  $sp^2$  mang oxygen tại  $\delta$  150,9, 147,1 và bốn carbon benzene trong vùng  $\delta$  123,4-112,8. Từ sự phân tích dữ liệu phổ NMR của hợp chất (2) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [1], chúng tôi kết luận hợp chất (2) là acid 4-hydroxy-3-methoxybenzoic.

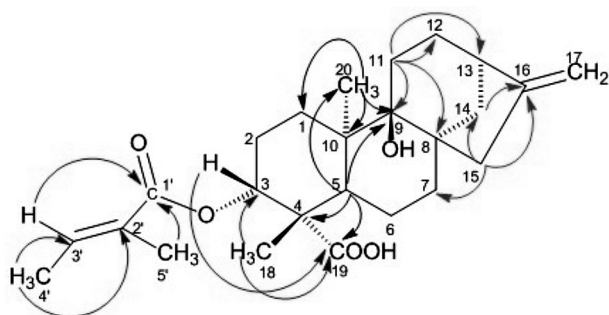
Phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  kết hợp với phổ hai chiều HSQC, HMBC cho thấy hợp chất (3) có 20 tín hiệu carbon, trong đó có 17 tín hiệu đặc trưng của diterpenoid có khung ent-kaurane (với 2 tín hiệu carbon olefin  $>\text{C}=\text{CH}_2$  tại  $\delta$  158,7 (loại  $>\text{C}=\underline{\text{C}}=$ ) của C-16 và 105,6 (loại  $=\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ) của C-17, tương ứng với hai *gem*-proton olefin lần lượt tại  $\delta$  4,91 (H-17a, *s*) và 4,79 (H-17b, *s*); tín hiệu hai nhóm methyl có dạng mũi đơn lần lượt tại  $\delta$  1,24 và 1,02). Ngoài ra còn có tín hiệu của 1 carbon carboxyl tại  $\delta$  184,9 của  $-\text{COOH}$  và 13 tín hiệu carbon  $sp^3$  trong vùng  $\delta$  50,4 – 18,6. Hai carbon còn lại là của nối đôi  $>\text{C}=\text{CH}-$  tại  $\delta$  156,1 (loại  $>\underline{\text{C}}=$ ) của C-9 và 115,0 (loại  $=\underline{\text{C}}\text{H}-$ ) của C-11. Tín hiệu C-16 và C-9 được quy kết dựa trên tương quan HMBC giữa các proton H-17a,b với C-16; H-12 ( $\delta$  2,42), H-14 ( $\delta$  1,60), H-15 ( $\delta$  2,61) và H-20 ( $\delta$  1,02) với C-9. Nhóm

$-\text{COOH}$  tại C-19 có sự định hướng  $\alpha$ , được suy ra từ sự so sánh giá trị  $\delta_c$  của nhóm methyl tại C-4 ( $\delta_c$  trong hợp chất 3 là 28,4) với các diterpene *ent*-kaurane khác [4]: nếu nhóm methyl có sự định hướng  $\beta$  sẽ có giá trị  $\delta_c$  khoảng 29, giá trị  $\delta_c$  khoảng 16 nếu nhóm methyl có sự định hướng  $\alpha$ . Từ sự phân tích dữ liệu phổ NMR của hợp chất (3) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [4], chúng tôi kết luận hợp chất (3) là acid *ent*-kaura-9(11),16-dien-19-oic.



Hình 3. Tương quan HMBC trong hợp chất (3)

Phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT-NMR kết hợp với phổ hai chiều HSQC, HMBC cho thấy hợp chất (4) có 25 tín hiệu carbon, trong đó có 18 carbon của khung *ent*-kaurane, tương tự như hợp chất (3), ngoại trừ hợp chất (4) không có nối đôi  $>\text{C}=\text{CH}-$  tại vị trí C9-C11. Hợp chất (4) có nhiều hơn 5 carbon so với hợp chất (3), được xác định là của nhóm tigloyl với các tín hiệu đặc trưng như tín hiệu carbon carbonyl loại ester của C-1' tại  $\delta$  167,6; tín hiệu nối đôi  $>\text{C}=\text{CH}-$  tại  $\delta$  128,8 (loại  $>\underline{\text{C}}=$ ) của C-2' và 137,4 (loại  $=\underline{\text{C}}\text{H}-$ ) của C-3', tương ứng với proton olefin tại  $\delta$  6,87 (H-3', *dq*,  $J = 7,5, 1,5$  Hz); tín hiệu của hai nhóm methyl có dạng mũi đơn tại  $\delta$  1,79 và 1,83. Những tín hiệu này được xác định dựa trên tương quan HMBC giữa proton H-4' ( $\delta$  1,79) với C-2' và C-3', H-5' ( $\delta$  1,83) với C-1', H-3' ( $\delta$  6,87) với C-5' và C-1'. Theo tài liệu tham khảo [6, tr. 272-276], nhóm angeloyl cũng có những tín hiệu đặc trưng gần tương tự như nhóm tigloyl, tuy nhiên có thể phân biệt hai nhóm này dựa vào giá trị  $\delta_c$  của C-5', theo đó  $\delta_{c-5'}$  trong nhóm angeloyl là khoảng 20,6, ở nhóm tigloyl là 12,0 giống với hợp chất (4).



Hình 4. Tương quan HMBC trong hợp chất (4)

Hai vị trí carbon còn lại, một là của carbon oxymethine (loại  $>\underline{\text{C}}\text{H-O-}$ , C-3), có gắn nhóm tigloyl, được xác định dựa trên tương quan giữa H-18 ( $\delta$  1,30) với C-3 ( $\delta$  78,5), H-3 ( $\delta$  4,62, *dd*,  $J = 8,5, 4,5$  Hz) với C-19 ( $\delta$  179,1) và C-1'; một là của carbon carbinol tứ cấp C-9 tại  $\delta$  76,7, tín hiệu C-9 được quy kết dựa trên tương quan HMBC giữa H-5 ( $\delta$  1,78), H-18 ( $\delta$  1,30) và H-20 ( $\delta$  1,19) với C-9. Từ sự phân tích dữ liệu phổ NMR của hợp chất (4) kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [3], chúng tôi kết luận hợp chất (4) là acid

3 $\alpha$ -tigloyloxy-9 $\beta$ -hydroxy-*ent*-kaur-16-en-19-oic.

#### 4. Kết luận

Từ cao chiết methanol của thân cây Sơn cúc ba thù được thu hái vào tháng 10/2013, điều chế được 3 phân đoạn là petroleum ether, chloroform và ethyl acetate. Bằng các phương pháp sắc ký cột silica gel, sắc ký lớp mỏng và sắc ký lớp mỏng điều chế, một hợp chất đã được cô lập từ cao petroleum ether và ba hợp chất đã được cô lập từ cao chloroform của thân cây Sơn cúc ba thù. Kết hợp phân tích dựa trên các dữ liệu phổ nghiệm 1D, 2D-NMR cùng với so sánh tài liệu tham khảo, chúng tôi đã xác định được cấu trúc hóa học của bốn hợp chất là 5-hydroxymethylfurfuran (1); acid 4-hydroxy-3-methoxybenzoic (2), acid *ent*-kaura-9(11),16-dien-19-oic (3) và acid 3 $\alpha$ -tigloyloxy-9 $\beta$ -hydroxy-*ent*-kaur-16-en-19-oic (4). Trong đó, hai hợp chất (1) và (2) là các hợp chất lần đầu tiên được báo cáo có hiện diện trong cây Sơn cúc ba thù. Chúng tôi sẽ tiếp tục khảo sát hoạt tính sinh học của các hợp chất cô lập được./.

#### Tài liệu tham khảo

- [1]. El-Shanawany M. A., Sayed H. M., Ibrahim S. R. M., Fayed M. A. A. (2014), "Chemical constituents, anti-inflammatory, and antioxidant activities of *Anisotes trisulcus*", *Bull Fac Pharm*, (52), p. 9-14.
- [2]. Jadhav A. H., Kim H., Hwang I. T. (2012), "Efficient selective dehydration of fructose and sucrose in to 5-hydroxymethylfurfuran (HMF) using dicationic room temperature ionic liquids as a catalyst", *Catalysis Communications*, (21), p. 96-103.
- [3]. Ma B. J., Wen C. N., Yuan G., Ren F. C., Wang F., Liu J. K. (2013), "*ent*-Kaurane diterpenoids from the plant *Wedelia trilobata*", *Natural Products and Bioprospecting*, (3), p. 107-111.
- [4]. Qiang Y., Du D. L., Chen Y. J., Gao K. (2011), "*ent*-Kaurane diterpenes and further constituents from *Wedelia trilobata*", *Helvetica Chimica Acta*, (94), p. 817-823.
- [5]. Ren H., Xu Q. L., Luo Y., Zhang M., Zhou Z. Y., Dong L. M., Tan J. W. (2015), "Two new *ent*-kaurane diterpenoids from *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc.", *Phytochemistry Letters*, (11), p. 260-263.
- [6]. Webb G. A. (1995), *Annual reports on NMR spectroscopy*, Academic press, London, New York.

#### INVESTIGATING CHEMICAL CONSTITUENTS IN THE STEM OF *WEDELIA TRILOBATA* (L.) HITCH., (ASTERACEAE)

##### Summary

The stems of *W. trilobata* were collected in District 7, HCM City. From the petroleum ether, one compound isolated is 3 $\alpha$ -tigloyloxy-9 $\beta$ -hydroxy-*ent*-kaur-16-en-19-oic acid (4). From the chloroform, three compounds isolated are 5-hydroxymethylfurfuran (1), 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (2), *ent*-kaura-9 acid (11), 16-dien-19-oic (3). Among them, two compounds (1) and (2) are first found in *W. trilobata*.

Keywords: *Wedelia trilobata*, furfuran, *ent*-kaurane.

Ngày nhận bài: 27/10/2015; Ngày nhận lại: 04/5/2016; Ngày duyệt đăng: 27/6/2016.