

CÁC HỢP CHẤT LIMONOIT TỪ CÂY TỨ CHÊ BA, HỌ CHANH CAM

Đến Tòa soạn 6-12-2002

BÙI KIM ANH, DƯƠNG ANH TUẤN, TRẦN VĂN SUNG, NGUYỄN MẠNH CUỒNG

Viện Hóa học, Trung tâm KHTN&CNQG

SUMMARY

Two limonoids limonin and limonexic acid have been isolated from the dichloromethane extract of leaves of *Tetradium trichotomum*, besides three indolopyridoquinazoline alkaloids, rutaecarpine, evodiamine, N^{13} -methyl rutaecarpine and β -sitosterol. The structures of these compounds were determined by spectroscopic methods.

I - MỞ ĐẦU

Cây Tứ chẻ ba tên khoa học là *Tetradium trichotomum* Lour. [*Evodia trichotoma* (Lour.) Spreng] là loại cây bụi thuộc họ cam quýt (Rutaceae) [1]. Trong một công bố trước đây [2] chúng tôi đã thông báo việc chiết tách và xác định cấu trúc của ba hợp chất indolopyridoquinazolin ancaloit từ lá cây này. Trong bài này chúng tôi thông báo việc chiết tách và xác định hai hợp chất limonoit: limonin và limonexic axit từ lá cây Tứ chẻ ba.

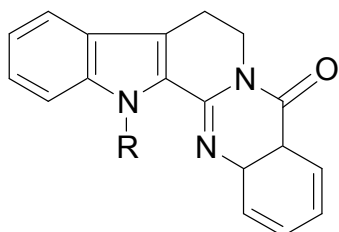
II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Dịch chiết diclometan từ lá cây tứ chẻ ba sau khi loại dung môi dưới áp suất giảm, được chạy sắc ký cột nhiều lần trên silicagel với hệ dung môi giải hấp là n-hexan và lượng etyl

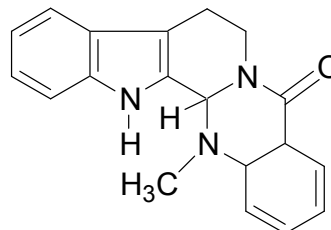
axetat tăng dần, sau cùng là hệ dung môi etyl axetat/metanol (8 : 2). Các chất thu được từ cột lần lượt là ba indolopyridoquinazolin ancaloit (1-3), limonin (4) và limonexic axit (5).

Chất 4: Phổ khối phân giải cao (HRLC - MS, ion âm) của chất 4 cho pic ion tại $m/z = 469,1877$ $[M-1]^-$, phù hợp với công thức tổng là $C_{26}H_{30}O_8$ ($M = 470$). Phổ khối ion hóa bụi electron (ESI-MS ion âm) cho pic ion tại $m/z = 469$ $[M-1]^-$, phổ khối ESI-MS ion dương cho pic ion tại $m/z = 471$ $[M+1]^+$.

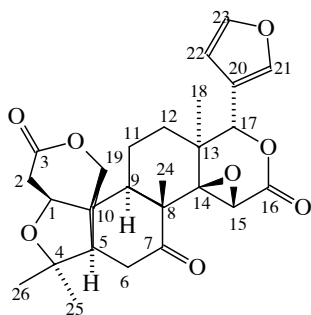
Số liệu phổ hồng ngoại (FTIR), phổ 1H - và ^{13}C -NMR của chất 4 hoàn toàn trùng với các số liệu phổ của limonin [3] được tách từ hạt cam sành Việt Nam khi ghi trong cùng điều kiện. Limonin là một hợp chất limonoit có nhiều trong hạt các loài *Citrus* và là một chất đặc trưng cho họ cam quýt (Rutaceae).



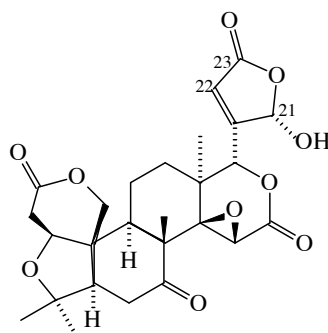
- 1: R = H Rutaecarpin
2: R = CH_3 , N^{13} -methyl rutaecarpin



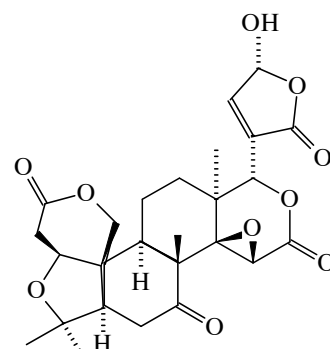
- 3: Evodiamin



4: Limonin



5: Limonexic acid



6: Isolimonexic acid

Bảng 1: Số liệu phổ ¹H-NMR của limonin (4) và limonexic acid (5) (δ: ppm, DMSO, 500 MHz)

H	Limonin (4)	Limonin [4]	Limonexic acid (5)	Isolimonexic acid [4]
1	4,10 d (3,8)	4,06 d (3,6)	4,25 dd	
2	2,73 d (16) 2,61 dd (16,4, 4,0)	2,72 d (16,1) 2,60 dd (16,1, 3,6)	2,77 d 2,50 - 2,66 m	
5	2,27 dd (15,7, 3,3)	2,27 dd (15, 3,0)	2,27 dd	
6	3,12 t (15,2) (H-6ax) 2,56 m (H-6eq)	3,11 t (15) H-6ax 2,53 - 2,41 m (H-6 eq)	3,09 t (H-6ax) 2,50 - 2,66 m (H-6eq)	
9	2,46 dd	2,53 - 2,41 m	2,50 - 2,66 m	
11	1,71 m		1,73 m	
12	1,83 m, 1,25 m		1,92 m, 1,27 m	
15	4,10 s	4,10 s	4,11 s	
17	5,48 s	5,46 s	5,25 s	5,24 s
18	1,00 s	0,97 s	1,02 (trùng lặp)	1,01
19	4,92d (13,1) 4,48 d (13,1)	4,92 d (13) 4,47 d (13)	4,89 d 4,49 d	
21	7,72 d (0,9)	7,72 d (1)	6,23 s	–
22	6,50 d (1,7)	6,5 dd (1,8, 1)	7,58 s	7,55 d
23	7,66 d (1,7)	7,66 dd (3,5, 1,8)	–	6,20 d
24	1,11 s	1,09 s	1,16 s	1,15
25	1,03 s	1,01 s	1,02 (trùng lặp)	1,01
26	1,20 s	1,17 s	1,19 s	1,19
23-OH	–	–	–	8,02 s
21-OH	–	–	7,91 s	

d = doublet, dd = doublet của doublet; t = triplet, m = multiplet, s = singulet. Hằng số tương tác tính bằng Hz và để trong ngoặc.

Chất 5: Phổ khối ion hóa bụi electron ion âm (ESI-MS) cho pic ion tại $m/z = 501 [M-1]^-$, ESI-MS ion dương cho pic ion tại $m/z = 503 [M + 1]^+$. Phổ khối phân giải cao ion âm cho pic ion tại $m/z = 501,2719$ phù hợp với công thức là $C_{26}H_{29}O_{10}$. Phổ khối phân giải cao ion dương cho pic ion tại $m/z = 503,1917$ tương ứng với công thức tổng là $C_{26}H_{31}O_{10}$. Như vậy công thức tổng của chất 5 là $C_{26}H_{30}O_{10}$. So với chất 4 thì trong phân tử chất 5 có thêm hai nguyên tử oxi (32 đơn vị khối). Phổ hồng ngoại (FTIR) của chất 5 tương tự như của chất 4 nhưng có thêm đỉnh hấp thụ của dao động hóa trị của nhóm OH ở số sóng 3349 và các đỉnh hấp thụ của nhóm cacbonyl từ 1726 đến 1764 cm^{-1} . Phổ 1H -NMR của chất 5 chỉ khác phổ của chất 4 ở vùng có các tín hiệu của vòng furan. Ở vùng của vòng furan chỉ thấy hai singulet ở $\delta = 7,58$ (1H, H-22) và 6,23 (1H, H-21). Như vậy chất 5 chỉ khác chất 4 ở mức độ oxi hóa của vòng furan. Sau khi tham khảo tài liệu chúng tôi thấy chất 5 có thể là limonexic axit hoặc isolimonexic axit [4]. Nhưng theo tài liệu [4] thì phổ 1H -NMR của isolimonexic axit có hai dublet ở $\delta = 7,55$ (H-22) và 6,20 (H-23), trong khi đó chất 5 có hai singulet ở $\delta = 7,58$ (H-22) và 6,23 (H-21) (xem bảng 1).

Như vậy có thể kết luận chất 5 là limonexic axit chứ không phải isolimonexic axit. Kết luận này đã được khẳng định thêm bởi các phổ 1H , 1H -COSY, 1H , ^{13}C -HSQC, 1H , ^{13}C -HMBC và 1H , ^{13}C -HSQC-TOCSY. Bảng 1 là số liệu phổ 1H -NMR của chất 4 và 5 có so sánh với số liệu trong tài liệu [4].

Theo chúng tôi, đây là lần đầu tiên limonin và limonexic axit được phân lập từ lá cây Tứ chẻ ba (*Tetradium trichotomum*). Limonexic axit (còn gọi là limonexin) đã được phân lập từ cây *Phellodendron amurense* và từ một số loài *Citrus* khác [5].

III - THỰC NGHIỆM

1. Hóa chất và thiết bị

Điểm nóng chảy đo trên máy Boetius của Đức, phổ hồng ngoại biến đổi Fourier đo trên

máy IMPACT 410 của hãng NICOLET (Mỹ) tại Viện Hóa học, Trung tâm KHTN&CNQG. Phổ khối phân giải cao được ghi trên máy Finigan (Mỹ) tại CHLB Đức. Phổ 1H -NMR (500 MHz) và ^{13}C -NMR (125 MHz) đo trên máy Bruker tại Đức, TMS được sử dụng làm nội chuẩn cho 1H -NMR và tín hiệu dung môi làm chuẩn cho ^{13}C -NMR. Sắc kí cột dùng silicagel Merck 60G, sắc kí lớp mỏng phân tích dùng bản SiO_2 tráng sẵn trên đế nhôm của Merck, độ dày 0,1 mm. Dung môi được cất lại và làm khan trước khi dùng.

Mẫu lá cây Tứ chẻ ba được thu tại xã Thượng Tiến, huyện Kim Bôi tỉnh Hoà Bình ngày 23/12/1999. Tên cây do TS. Vũ Xuân Phương - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật xác định. Tiêu bản số 2496 hiện được lưu giữ tại Phòng Tiêu bản thực vật, Viện sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Trung tâm KHCN&CNQG. Mẫu lá được phơi và sấy khô ở 40°C, xay nhỏ rồi ngâm chiết với dung dịch MeOH/H₂O (85 : 15), dịch chiết được cô kiệt dung môi dưới áp suất giảm, cặn được chiết siêu âm lần lượt với n-hexan, diclometan và metanol. Phần dịch diclometan được loại dung môi trong chân không, cặn được phân tách bằng sắc kí cột trên silicagel, dung môi giải hấp là n-hexan/EtOAc (9 : 1) và tăng dần đến EtOAc, EtOAc/MeOH 95 : 5, 9 : 1 và 8 : 2. Các phân đoạn thu được được tinh chế lại bằng sắc kí cột nhanh và sắc kí lớp mỏng điều chế trên silica gel với các hệ dung môi thích hợp sẽ thu được chất 1, 2, 3, 4 và 5.

Limonin (4): $C_{26}H_{30}O_8$, tinh thể trắng, điểm nóng chảy 288°C - 290°C ([3]: 298°C), hàm lượng: 0,00018% so với nguyên liệu khô, $R_f = 0,68$ (CH_2Cl_2 /MeOH 97 : 3).

Limonexic axit (5): $C_{26}H_{30}O_{10}$, tinh thể trắng, điểm nóng chảy 285°C - 288°C ([5]: 285°C - 286°C), hàm lượng 0,0001% so với nguyên liệu khô, $R_f = 0,55$ (CH_2Cl_2 /MeOH 97 : 3).

IV - KẾT LUẬN

Đã tiến hành nghiên cứu hóa thực vật cây

Tứ chế ba thu tại vùng núi Hòa Bình. Từ dịch chiết metylenclorua của lá cây này đã tách và xác định cấu trúc của β -sitosterol, rutaecacpin, N^{13} -metylrutaecacpin, evodiamin, limonin và limonexic axit. Theo chúng tôi, đây là lần đầu tiên các hợp chất này được phân lập từ cây Tứ chế ba.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện với sự giúp đỡ về tài chính của Dự án điều tra cơ bản thực vật tỉnh Hòa Bình - Viện Hóa học, Trung tâm KHTN&CNQG. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn TS. B. Fugmann, TS. H.Beck và TS. H. Mueller, Bayer AG, CHLB Đức đã giúp đo phổ MS và NMR. Tiến sĩ Vũ Xuân Phương-Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã giúp xác định tên khoa học cây Tứ chế ba.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ, Cây cỏ Việt Nam, Quyển II, Tr. 413, NXB Trẻ thành phố Hồ Chí Minh, in lần thứ hai, tháng 3 (2000).
2. Bùi Kim Anh, Trần Văn Sung, Nguyễn Mạnh Cường, Dương Anh Tuấn. Tạp chí Hóa học, T. 40, số 3, Tr. 72 - 75 (2002).
3. Bùi Kim Anh, Dương Anh Tuấn. Tạp chí Hóa học, T. 38, số 4, Tr. 25 - 30 (2000).
4. K. M. Ng., A. I. Gray, P. G. Waterman, P. P. H. But, Y. C. Kong. J. Nat. Prod., Vol. 50, No. 6, P. 1160 - 1163 (1987).
5. Dictionary of Natural Products on CD-ROM, Chapman & Hall/CRC., Version 10, 2 (2002).