

CÁC HỢP CHẤT LIGNAN VÀ NORTRITERPEN TỪ QUẢ NGŨ VỊ TỬ THE LIGNANS AND NORTRITERPENOID FROM THE FRUITS OF *SCHISANDRA SPHENANTHERA* REHDER ET WILS.

Trần Quang Hưng, Phạm Thị Ninh, Trình Thị Thủy, Trần Văn Sung

Viện Hoá học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18-Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
E-mail: tranvansungvhh@gmail.com.vn

Tóm tắt:

Hai hợp chất lignan là *schizandrin*, *angeloylgomisin P* và một hợp chất nortriterpen là *henridilacton A* đã được phân lập từ quả Ngũ vị tử (*Schisandra sphenanthera* Rehder Et Wils.). Cấu trúc hóa học của các chất phân lập được xác định trên cơ sở dữ liệu phổ khối (ESI-MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR). Ba hợp chất trên thể hiện hoạt tính độc tế bào khi thử trên bốn dòng tế bào ung thư người là: IC_{50} 18,6-66,8 $\mu\text{g/mL}$.

Abstract:

Two known lignans *schizandrin*, *angeloylgomisin P* and nortriterpenoid, *henridilactone A* have been isolated from *Schisandra sphenanthera* fruits. Their structures were elucidated on the basis of ESI-MS and NMR spectral data. In addition, the three compounds showed the cytotoxic activities on four human cancer cell lines with IC_{50} values in the range of 18,6 - 66,8 $\mu\text{g/mL}$.

1. Mở đầu

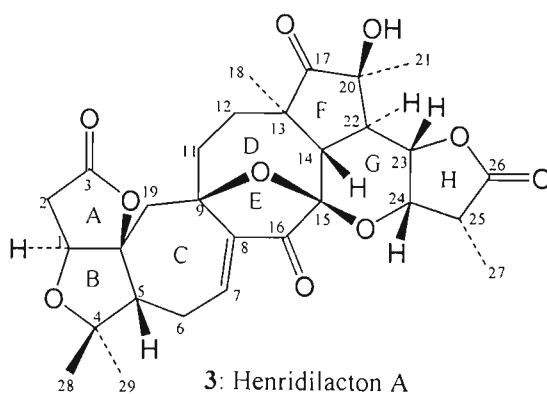
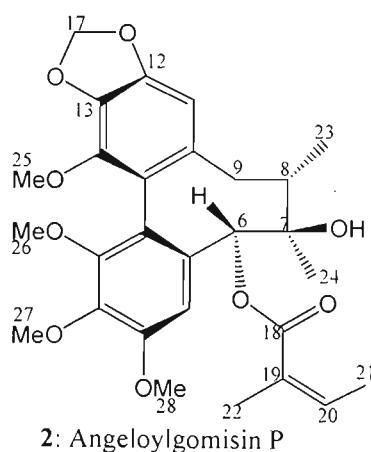
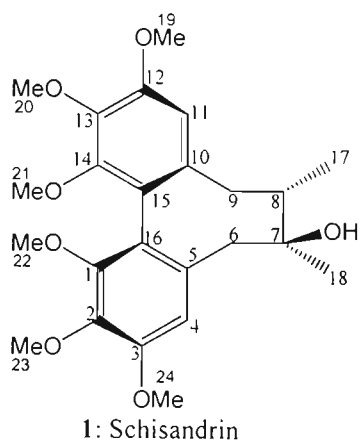
Ngũ vị tử (*Schisandra sphenanthera* Rehder Et Wils., họ Schisandraceae) là một cây thuốc có trữ lượng lớn ở Kontum, mới được phát hiện ở Việt Nam vào khoảng năm 2007. Đồng bào dân tộc huyện Trà My, tỉnh Quảng Nam và Tây nguyên dùng cây này trị bệnh gan, mật rất tốt. Quả Ngũ vị tử (NVT) là một loại thuốc quý được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền Trung Quốc [1, 2]. Nước sắc hạt có thể làm giảm men gan tới 55% trong trường hợp bị bệnh [2,3]. Các công bố trước đây cho thấy, các hợp chất lignan như phenandilacton A-C, sphenanlacton A-D, schizantherin A là thành phần hóa học đặc trưng của quả Ngũ vị tử (NVT) [1,2,7,8]. Ngoài ra từ quả NVT còn có các hợp chất triterpen như acid schizandronic (acid ganwuweizic), acid anwuweizic và schisanol [1], trong khi từ *S. chinensis* chưa tìm thấy các hợp chất này. Ở Việt Nam, cho đến nay mới chỉ có một bài báo của tác giả Phan Văn Kiệm và cộng sự (2007) về thành phần hóa học của quả Ngũ vị tử thu hái tại Kon Tum [2]. Với mục tiêu tiếp tục tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học và để có cơ sở khoa học đưa hạt NVT Việt Nam vào sử dụng thay thế NVT Trung Quốc hàng năm phải nhập với số lượng lớn (50-70 tấn), chúng tôi tiếp tục nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của quả cây này. Bài này sẽ thông báo kết quả về phân lập và xác định cấu trúc hóa học của hai hợp chất lignan là *schizandrin* (1), *angeloylgomisin P* (2) và một hợp chất nortriterpen là *henridilacton A* (3) từ quả Ngũ vị tử thu mua tại Quảng Nam.

2. Kết quả và thảo luận

Dịch chiết methanol 95% (SSM) của hạt Ngũ vị tử sau khi loại dung môi dưới áp suất giảm được phân bố lần lượt trong các dung môi *n*-hexan, dichlometan, ethyl acetat và *n*-butanol. Các loại dung môi thu được các dịch chiết SSH (73,8g), SSC (49,7g), SSE (5,5g),

SSB (3,1g), tương ứng. Bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, sắc ký cột nhanh (flash chromatography) và sắc ký lọc gel trên sephadex LH-20 với các hệ dung môi thích hợp đã phân lập được chất **1**, **2** từ cặn dịch chiết n-hexan (SSH), chất **3** và β -sitosterol từ cặn dịch chiết dichlometan.

Phổ khối ESI-MS của chất **1** có pic ion giả phân tử ở m/z 433 $[M+H]^+$, kết hợp với phổ ^{13}C -NMR DEPT đã xác định được công thức phân tử của chất **1** là $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_7$. Phổ ^{13}C -NMR và phổ DEPT có tín hiệu của 24 carbon: 11xCq, 3xCH, 2xCH₂, 8xCH₃, trong đó có 6xOCH₃ (bảng 1). Từ dữ liệu phổ MS và NMR chúng tôi dự đoán chất **1** là một lignan có cấu trúc dạng dibenzo cyclooctan. Phổ ^1H -NMR có 2 tín hiệu singlet của 2 proton thơm, 6 methoxy singlet (δ_{H} 3,91-3,54, 6xCH₃O) và 2 methyl singlet ở phía trường cao (δ_{H} 1,26; 0,84). Hai nhóm methylen tại δ_{C} 40,78, 41,73, cùng với 2 nhóm methyl tại δ_{C} 29,68, 15,76 và một carbon bậc 3 gắn với oxy tại δ_{C} 71,75 gợi ý cho biết có một nhóm hydroxy gắn ở C-7 hoặc C-8. Từ số liệu phổ và so sánh trực tiếp với số liệu phổ tương ứng của schizandrin (bảng 1) [4], đã xác định được chất **1** chính là schizandrin (hay schisandrin), một lignan đã được phân lập từ quả Ngũ vị tử Trung Quốc (*S. chinensis*) [1] và Ngũ vị tử (*S. sphenanthera*) thu hái ở Kon Tum [2].



Chất **2** được tách ra ở dạng vô định hình. Phổ ^{13}C -NMR và DEPT của chất **2** có tín hiệu của 28 carbon, trong đó có 13xCq (1 carbonyl este), 5xCH, 2xCH₂ và 8xCH₃ (trong đó có 4xOCH₃) (bảng 1). Kết hợp phổ khối, phổ ^1H - và ^{13}C -NMR công thức phân tử của chất **2** được xác định là $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9$. Khi so sánh phổ ^1H - và ^{13}C -NMR với chất **1** ta thấy chất này chỉ có 4 nhóm methoxy nhưng có thêm 1 nhóm methylenedioxy (δ_{H} 5,89, d (1,4); 5,86, d (1,4); δ_{C} 100,5, C-17) và có một nhánh tigloyl hoặc angeloyl được thấy rõ qua cụm tín hiệu ở δ_{C} 165,78 (C-18), 127,06 (C-19), 139,87 (C-20), 15,63 (C-21), 28,12 (C-22) trong phổ ^{13}C -NMR. Điều này được khẳng định thêm qua pic ion ở m/z 415 $[M-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2]^+$ trong phổ khối ESI-MS. Cấu hình của OH-7 là β được xác định qua độ chuyển dịch hóa học của C-7 (δ_{C} 72,17), trong khi nếu là α thì tín hiệu của carbon này ở phía trường thấp hơn (δ_{C} 75,2)

[4,5]. So sánh chi tiết số liệu phổ của **2** với số liệu phổ tương ứng của chất tigloylgomisin P và angeloylgomisin P [5], đã xác định được chất **2** chính là angeloylgomisin P (schizantharin C), một lignan đã được phân lập từ quả *S. chinensis* và *S. sphenanthera* [1,4,8].

Bảng 1. Số liệu phổ ^{13}C - và ^1H -NMR của chất **1**, **2** [CDCl_3 , 125/500 MHz, δ (ppm)] và schizandrin [4]

C	Schizandrin [4]	1		C	2	
	δC	δC	δH (JHz)		δC	δH (JHz)
1	151,90	151,77		1	151,85	
2	140,80	140,69		2	140,49	
3	152,30	152,29		3	152,05	
4	110,50	110,38	6,61 s	4	109,87	6,46 s
5	131,80	131,77		5	130,61	
6	40,90	40,78	2,39 m; 2,36 m	6	84,39	5,59 s
7	71,80	71,75		7	72,17	
8	41,80	41,73	1,88 m	8	42,41	1,94 m
9	34,40	34,22	2,67 m; 2,64 m	9	36,39	2,29 dd (14,0; 9,8) 2,15 d (14,0)
10	133,80	133,78		10	135,16	
11	110,10	109,94	6,54 s	11	102,63	6,76 s
12	152,00	151,95		12	148,71	
13	140,30	140,13		13	134,21	
14	151,60	151,47		14	141,69	
15	122,80	122,71		15	122,22	
16	124,20	124,09		16	121,17	
17	15,90	15,76	1,26 s	17	100,50	5,89 d (1,4) 5,86 d (1,4)
18	29,70	29,68	0,84 d (7,2)	18	165,78	
19	56,00	55,88	3,89 s	19	127,06	
20	60,90	60,64	3,84 s	20	139,87	5,99 m
21	60,50	60,47	3,88 s	21	15,63	1,85 dd (5,7; 1,5)
22	60,50	60,51	3,58 s	22	19,69	1,55 s
23	60,90	60,82	3,59 s	23	18,88	1,39 s
24	56,00	55,82	3,91 s	24	28,12	1,14 d (7,2)
				25	60,57	3,56 s
				26	58,98	3,73 s
				27	60,79	3,91 s
				28	55,79	3,89 s

Phổ ^{13}C -NMR và DEPT của chất **3** có tín hiệu của 29 carbon bao gồm: 11xCq (trong đó có 4 nhóm carbony ở δ 176,98; 180,27; 199,28; 221,04), 8xCH, 5xCH₂, 5xCH₃. Từ số liệu phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho thấy đây có thể là một nortriterpen. Phổ ^1H -NMR tín hiệu triplet của nhóm methin olefin (7,12, t, $J=7,7$ Hz), 3 nhóm methoxy (δ_{H} 4,66; 4,39; 4,27); 4 methyl singlet (δ 1,43; 1,08; 1,15; 1,30) và 1 methyl doublet (δ 1,18, $J=7,8$ Hz) (bảng 2). Qua phân tích phổ và so sánh với tài liệu [6], đã xác định được cấu trúc của chất **3** là henridilacton A, một nortriterpen lần đầu tiên được Rong Tao Li và cộng sự phân lập từ cây *Schisandra henryi* var. *yunnanensis* năm 2004 [6]. Đây là lần thứ hai chất này được phân lập từ chi *Schisandra* [7,8].

Ngoài ba chất trên, từ dịch chiết chloroform chúng tôi còn phân lập β -sitosterol dưới dạng tinh thể hình kim, có nhiệt độ nóng chảy 134-135°C. Cấu trúc của chất này được khẳng định bằng cách so sánh với số liệu phổ ^{13}C -NMR của β -sitosterol [9].

Bảng 2. Số liệu phổ ^{13}C - và ^1H -NMR của henridilacton A (3)

[CD₃OD, 125/500 MHz, δ (ppm), J Hz]

C	δC	δH	C	δC	δH
1	75,41	4,26 <i>d</i> (6,5)	16	199,28	
2	39,80	2,35 <i>m</i> ; 2,94 <i>m</i>	17	221,04	
3	176,98		18	20,81	1,43 <i>s</i>
4	84,12		19	42,80	
5	58,79	1,83*	20	84,53	
6	24,52	1,94 <i>m</i> ; 2,24 <i>m</i>	21	24,45	1,08 <i>s</i>
7	137,11	7,12 <i>t</i> (7,7)	22	46,54	2,99 <i>m</i>
8	138,68		23	72,23	4,66 <i>br s</i>
9	74,77		24	81,24	4,39 <i>dd</i> (4,1; 2,1)
10	96,35		25	42,50	2,96 <i>m</i>
11	36,01	1,93 <i>m</i> ; 2,23 <i>m</i>	26	180,27	
12	31,80		27	7,99	1,18 <i>d</i> (7,2)
13	50,62		28	27,96	1,15 <i>s</i>
14	42,80		29	27,86	1,30 <i>s</i>
15	99,21				

* Tín hiệu bị che phủ

Bảng 3: Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào

STT	Ký hiệu mẫu	Tên dòng tế bào			
		Lu <i>IC</i> ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	Hep-G ₂ <i>IC</i> ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	KB <i>IC</i> ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MCF-7 <i>IC</i> ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
1	SSM	113,23	112,67	89,48	93,86
2	SSH	80,00	77,93	80,00	80,24
3	SSC	>128	>128	88,07	>128
4	SSE	>128	>128	>128	>128
5	SSB	>128	>128	>128	>128
6	Schizandrin (1)	94,89	29,33	91,69	>128
7	Angeloylgomisin P (2)	23,05	59,35	39,11	18,6
8	Henridilaton (3)	>128	66,80	104,96	>128
	Elipticine	0,31-0,62	0,31-0,62	0,31-0,62	0,31-0,62

SSM: dịch chiết tổng methanol, **SSH:** dịch chiết n-hexan, **SSC:** dịch chiết dichlometan, **SSE:** dịch chiết ethyl acetat, **SSB:** dịch chiết n-butanol

KB: ung thư biểu mô, **Hep-G₂:** ung thư gan, **Lu:** ung thư phổi, **MCF-7:** ung thư vú.

Kết quả thăm dò hoạt tính gây độc tế bào đối với 4 dòng ung thư ở người: KB (ung thư biểu mô), Hep-G₂ (ung thư gan), Lu (ung thư phổi) và MCF-7 (ung thư vú) (bảng 3) cho thấy dịch chiết n-hexan (SSH) có hoạt tính mạnh nhất và dịch chiết chloroform (SSC) có hoạt tính chọn lọc đối với dòng tế bào KB. Chất 1 và 2 tách từ dịch chiết n-hexan (SSH) đều có hoạt tính mạnh hơn dịch chiết ban đầu. Trong đó chất 2 có hoạt tính mạnh hơn nhiều so với 1 mặc dù cả 2 chất này đều có cùng 1 kiểu khung. Chúng tôi cho rằng rất có thể nhóm

methylenedioxy, angeloyl, có liên quan đến hoạt tính. Hoạt tính của chất **3** tách từ dịch chiết chloroform (SSC) kém hơn nhiều so với chất **1** và **2** tách từ dịch chiết n-hexan, chứng tỏ các hợp chất lignan đóng vai trò quan trọng trong hoạt tính sinh học của quả Ngũ vị tử.

Lời cảm ơn:

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn CN. Ngô Văn Trại, Viện Dược liệu Trung ương, ThS. Nguyễn Thế Anh, Viện Hóa học về việc xác định mẫu thực vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yan L., Dao-Feng C., “Analysis of *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera*”, J. of Chromatography A, 1216 (11), 1980-1990 (2009)
2. Bùi Thị Bằng, Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Thị Nụ, Phan Văn Kiệt, Nguyễn Xuân Nhiệm, Phạm Hải Yên, Nguyễn Hải Đăng, “Cấu trúc hóa học của một số chất phân lập từ quả Ngũ vị thu hái ở Kon Tum”, Tạp chí Dược liệu, 12 (3+4), 101-103 (2007).
3. Choi Y. W., Takamatsu S., Khan S., Srinivas P. V., Ferreira D., Zhao J., Khan I. A., “Schisandrene, a dibenzocyclooctadiene lignan from *Schisandra chinensis*: structure-antioxidant activity relationships of dibenzocyclooctadiene lignans”, J. Nat. Prod., 69 (3), 356-359 (2006).
4. Ikeya Y., Taguchi H., Yosioka I. and Kobayashi H., “The constituents of *Schisandra chinensis* Baill. VIII. The structures of two new lignans, tigloylgomisins P and angeloylgomisins P”, Chem. Pharm. Bull., 28 (11), 3357-3361 (1980).
5. Heihachiro T., Hiroshi S., Kaoru N. and Itiro Y., “The constituents of *Schisandra chinensis* Baill. VI. ¹³C Nuclear magnetic resonance spectroscopy of dibenzocyclooctadiene lignans”, Chem. Pharm. Bull., 28 (8), 2414-2421 (1980).
6. Li R., Shen Y., Xiang W., Sun H., “Four novel nortriterpenoids isolated from *Schisandra henryi* var. *yunnanensis*”, European Journal of Organic Chemistry, 4, 807-811 (2004).
7. Xiao W.L., Huang S.X., Wang R.R., Zhong J. L., Gao X.M., He, F., Pu J.X., Zheng Q.T., “Nortriterpenoids and lignans from *Schisandra sphenanthera*”, Phytochemistry, 69, 2862-2866 (2008).
8. Dictionary of Natural Products on DVD, version 18:1, Copyright©1982-2009 Hampden Data Services Ltd. 2009.