

Hai dẫn xuất oxazol mới phân lập từ cây mạ mân (*Aganope balansae* Gagnep.)

Trần Quốc Toàn¹, Nguyễn Duy Thuận²,
Nguyễn Tiến Đạt³, Nguyễn Phương Thảo³,
Hoàn Thanh Hương³, Châu Văn Minh³,
Phan Văn Kiệm³

¹Trường Cao đẳng Dược Trung ương - Hải Dương, Bộ Y tế

²Viện Dược liệu, Bộ Y tế

³Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên,
Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đặt vấn đề

Cây mạ mân hay còn gọi là cóc kèn *balansae* có tên khoa học là *Aganope balansae* (Gagnep.) Phan Ke Loc, thuộc họ Đậu (Fabaceae). Đây là một cây gỗ nhỏ phân bố chủ yếu ở miền Bắc nước ta. Theo y học dân tộc, nước sắc của rễ và gỗ cây mạ mân có tác dụng lợi tiểu và dùng để chữa các bệnh gan và vàng da [1]. Theo hiểu biết của chúng tôi, cây này hoàn toàn chưa được nghiên cứu về mặt hoá học cũng như hoạt tính sinh học tại Việt Nam cũng như trên thế giới. Trong công trình trước đây, chúng tôi đã thông báo kết quả tách chiết và xác định cấu trúc hóa học của 4 hợp chất mới là 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S,3S,4R)-2N-[(2'R)-2'-hydroxyoctadecanoyl]-14(E/Z)-docosene-1,3,4-triol, 1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S,3S,4R)-2N-[(2'R)-2'-hydroxyoctadecanoyl]-14(E/Z)-tetracosene-1,3,4-triol, 1-O-(octadec-4-en-1-oyl)-3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopyranoside]-glycerol, 1-O-(octadec-4,6-diene-1-oyl)-3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopyranoside]-glycerol, và 4 hợp chất đã biết là 5,6-didehydrokawain, 4-hydroxychalcone, β -sitosterol và daucosterol từ dịch chiết methanol từ phần thân và rễ cây mạ mân [2]. Bài báo này thông báo quá trình phân lập và xác định cấu trúc hóa học của hai dẫn xuất mới oxazol được phân lập lần đầu tiên từ thiên nhiên là 4-hydroxyoxazol 4-O- β -D-glucopyranosid và 4-hydroxyoxazol từ dịch chiết methanol từ phần thân và rễ cây mạ mân.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Mẫu thực vật

Rễ cây *Aganope balansae* (Gagnep.) Phan Ke Loc, Fabaceae (mạ mân) được thu hái vào tháng 2 năm 2008 tại Km 07, Phường Quang Trung, Thị xã Hà Giang. Mẫu được ông Ngô Văn Trại, Phòng Tài nguyên thực vật, Viện Dược liệu giám định tên khoa

học. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện Dược liệu.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập các hợp chất

Sắc ký lớp mỏng (TLC)

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck 1,05715), RP₁₈ F_{254s} (Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng trên bếp điện từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột (CC)

Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là Silicagel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh). Silicagel pha đảo YMC (30-50 m, Fujisilisa Chemical Ltd.).

Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất

a. Điểm nóng chảy đo trên máy Kofler micro-hotstage

b. Phổ khối lượng phun mù điện tử (Electrospray ionization mass spectra) được đo trên máy AGILENT 1100 LC-MSD Trap.

c. Phổ cộng hưởng từ nhân NMR được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer.

Việc phân tích được tiến hành tại phòng thí nghiệm của Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam và Viện Dược liệu.

Phân lập hợp chất

Rễ cây mạ mân đã phơi khô, xay nhỏ (2 kg) được chiết ba lần với MeOH, dịch chiết được gom lại rồi cô cạn thu được 45 g cạn chiết. Cạn MeOH sau

đó được hòa vào nước và chiết phân đoạn bằng CHCl_3 thu được 27 g cặn CHCl_3 và dịch nước. Phần dịch nước được phân tách bằng cột trao đổi ion HP20 với hệ dung môi nước/methanol (100/1, 1L, F1; 75/1, 1 L, F2; 50/50, 1 L; 25/75, 1 L, F3; và 0/100, 1 L, F4; v/v). Sau khi cất loại dung môi thu được các cặn dịch chiết có khối lượng tương ứng là F1 (5g), F2 (6g), F3 (2g), F4 (4g) và F5 (3g). Phân đoạn F4 (4g) được tiến hành phân lập trên sắc kí cột nhồi silicagel với hệ dung môi rửa giải là chloroform/methanol (7/1, 2L, v/v) thu được hợp chất 1 (12 mg) dưới dạng chất rắn không màu. Phân đoạn F5 (3g) được tiến hành phân lập bằng sắc kí cột nhồi

silica gel với hệ dung môi rửa giải là chloroform/methanol (10/1, 2L, v/v) thu được hợp chất 2 (31 mg) dưới dạng chất rắn không màu.

4-Hydroxyoxazole 4-O- β -D-glucopyranoside (1): Chất rắn không màu. Nhiệt độ nóng chảy 170-171°C. ESI-MS: m/z 247,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 269,7 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (positive), 245,7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (negative), $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_7^+$, $M=247$. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$) và $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$) xem Bảng 1.

4-hydroxyoxazole (2): Chất rắn không màu. Nhiệt độ nóng chảy 201-202°C. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) và $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) xem Bảng 1.

Bảng 1: Dữ kiện phổ NMR của 1 và 2

C	1			2			
	$\delta_c^{\text{a,c}}$	DEPT	$\delta_H^{\text{b,c}}$	HMBC (H-C)	$\delta_c^{\text{a,c}}$	DEPT	$\delta_H^{\text{b,c}}$
2	143,39*	CH	8,62 (1H, s)	4, 5	141,43*	CH	8,24 (1H, s)
4	141,88	C	-		140,23	C	
5	145,88*	CH	8,47 (1H, s)	2, 4	144,33*	CH	8,23 (1H, s)
1'	104,82	CH	4,69 (1H, d, J = 7,5 Hz)	4, 2', 3'			
2'	74,48	CH	3,45 *	1', 4'			
3'	78,32	CH	3,46 *	1', 4', 5'			
4'	71,18	CH	3,39 *	2', 6'			
5'	77,67	CH	3,46 *	4', 6'			
6'	62,37	CH	3,94 (1H, dd, J = 2,0, 12,0 Hz)	5', 4'			
			3,73 (1H, dd, J = 5,5, 12,0 Hz)	5', 4'			

^a 125 MHz, ^b 500 MHz, ^cĐo trong CD_3OD , * giá trị có thể đổi chỗ cho nhau trong từng cột,

* tín hiệu bị che lấp.

Kết quả và thảo luận

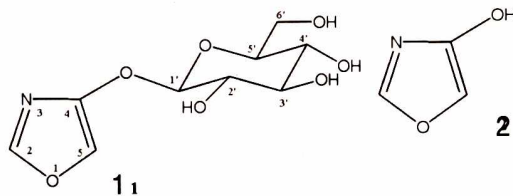
Hợp chất 1 và 2 thu được dưới dạng chất rắn không màu từ dịch chiết methanol rễ và thân cây mại nhân. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất 1 xuất hiện hai tín hiệu singlet cộng hưởng ở vùng trường khá thấp tại δ 8,62 và 8,47 được xác định là các proton olefin gán vào các nguyên tử cacbon nối với các dị tố N hay oxi. Ngoài ra, các tín hiệu xuất hiện ở vùng trường trung bình từ δ 3,39 đến δ 4,69 được gán cho một phân tử đường. Trong đó, tín hiệu của proton anome tại δ 4,69 xuất hiện dưới dạng doublet có hằng số tương tác $J_{1',2'} = 7,5$ Hz, khẳng định rằng H-1' và H-2' đều chiếm vị trí axial. Hai tín hiệu doublet của một doublet xuất hiện tại δ 3,94 (J = 2,0, 12,0 Hz) và δ 3,73 (J = 5,5, 12,0 Hz) được gán

cho hai proton của nhóm oximetylen của phân tử đường. Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của 1 xuất hiện tín hiệu của 9 nguyên tử carbon, trong đó 6 nguyên tử tại δ 104,82, 74,48, 78,32, 71,18, 77,67 (5 x CH) và 62,37 (CH_2) được xác định là thuộc vào phân tử đường β -D-glucopyranose, và 3 tín hiệu còn lại tại δ 145,39, 145,88 (2 xCH), và 141,88 (C) được xác định là các carbon olefin và chúng đều được nối với các dị tố N hay O.

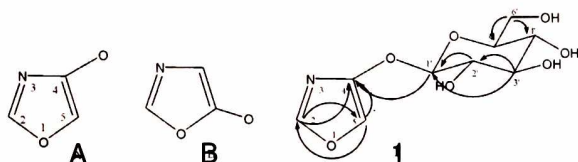
Hình 1: Cấu trúc hoá học của 1 và 2 (Xem hình trang bên)

Trên phổ khối lượng ESIMS xuất hiện các pic ion tại m/z 247,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 269,7 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (positive), 245,7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (negative), tương ứng với công thức phân tử $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_7^+$ và khối lượng phân tử

$M=247$. Như vậy, trừ phần cấu trúc đường glucose thì phần aglycon sẽ có công thức là C_3H_2NO . Với những dữ kiện trên, hai cấu trúc phần aglycon của **1** được dự kiến như nêu ra trên hình 2. Với cấu trúc B, tín hiệu C-4 không thể cộng hưởng tại δ 145,88 hoặc δ 145,39 bởi nguyên tử carbon này không nối với nguyên tử oxi, đồng thời C-5 lại phải có giá trị độ dịch chuyển hóa học cao hơn giá trị δ 141,88 do carbon olefin này nối với 2 nguyên tử oxi. Như vậy, cấu trúc A phù hợp cho phần aglycon của **1**. Xem xét các tương tác trên phổ HSQC và HMBC (bảng 1 và hình 2) có thể thấy được phân tử đường glucose được nối vào C-4 của vòng 4-hydroxyoxazol. Như vậy, cấu trúc hóa học của **1** được xác định là 4-hydroxyoxazol 4-O- β -D-glucopyranosid, một hợp chất mới lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên.



Hình 1: Cấu trúc hoá học của **1 và **2****



Hình 2: Hai cấu trúc phần aglycon dự kiến của **1 và một số tương tác HMBC chủ yếu của **1****

Các phổ NMR của **2** tương tự như các phổ tương ứng của **1**, tuy nhiên trên phổ của **2** không còn các tín hiệu của một phân tử đường. Điều này cho thấy hợp chất **2** có cấu trúc tương ứng với phần aglycon

của **1**. Ba tín hiệu của ba carbon olefin tại δ 140,23 (C), 141,43 (CH) và 144,33 (CH), cùng với hai tín hiệu singlet của hai proton olefin có nối với nguyên tử N hay O tại δ 8,24 và 8,23 hoàn toàn phù hợp với cấu trúc của 4-hydroxyoxazol. Hợp chất này đã được tổng hợp [3], tuy nhiên nó lại được phân lập lần đầu từ thiên nhiên.

Kết luận: Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, hai hợp chất oxazol mới là 4-hydroxyoxazol 4-O- β -D-glucopyranosid và 4-hydroxyoxazol đã được phân lập từ rễ và thân cây mậ mận Aganope balansae (Gagnep.) Phan Ke Loc, Fabaceae. Cấu trúc của nó được xác định bằng các phổ ESI-MS, 1D- và 2D-NMR.

Summary

From methanolic extracts of the roots and wood of *Aganope balansae* (Gagnep.) Phan Ke Loc (Fabaceae), two new oxazoles were isolated. Their structures were elucidated as 4-hydroxyoxazole 4-O- β -D-glucopyranoside and 4-hydroxyoxazole from the analysis of ESI-MS, 1D- and 2D-NMR spectra.

Tài liệu tham khảo

1. Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học (1999), trang 298.

2. Trần Quốc Toàn, Nguyễn Duy Thuận, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Phương Thảo, Hoàn Thanh Hương, Châu Văn Minh, Phan Văn Kiệm, Các hợp chất glycolipit và phenolic từ cây mậ mận (*Aganope balansae*), *Tạp chí Hóa học*, Tập 47(2), 2009 (đã được chấp nhận đăng).

3. Ignatius J. Turchi, Oxazole chemistry. A review of recent advances, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.*, 20 (1), 32-76 (1981).