

## GINSENOSIDE Rg<sub>1</sub> VÀ L-TRYPTOPHAN TỪ CÂY LƯỢC VÀNG (*CALLISIA FRAGRANS*)

ISOLATION OF GINSENOSIDE Rg<sub>1</sub> AND L-TRYPTOPHAN FROM *CALLISIA FRAGRANS*

**Trần Thu Hương<sup>1</sup>, Lê Huyền Trâm<sup>1</sup>, Trần Thượng Quảng<sup>1</sup>, Trần Thị Minh<sup>1</sup>  
Phan Văn Kiệm<sup>2</sup>, Nguyễn Phương Thảo<sup>2</sup>, Nguyễn Tuấn Anh<sup>1</sup>, Hồ Đức Cường<sup>1</sup>**

1: Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội

2: Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

### TÓM TẮT

Cây Lược vàng, còn gọi là cây Lan vòi, có tên khoa học là *Callisia fragrans* (Lindl.) Woods, thuộc họ Thài lài (Commelinaceae), vốn có nguồn gốc từ Trung Mỹ, sau đó được di thực đến nhiều nơi khác. Bài báo này thông báo quá trình phân lập và xác định cấu trúc của ginsenoside Rg<sub>1</sub> và L-tryptophan từ dịch chiết metanol của cây Lược vàng nhằm định hướng cho những nghiên cứu sâu hơn tiếp theo.

Từ dịch chiết metanol của cây Lược vàng, đã phân lập được 2 hợp chất là sterol ginsenoside-Rg<sub>1</sub> có khung dammarane và 1 axit amin L-tryptophan. Cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng các phương pháp phân tích phổ ESI-MS, phổ NMR 1 chiều và 2 chiều, cùng với việc so sánh với các tài liệu chuẩn. Đây là lần đầu tiên các hợp chất này được phân lập từ cây Lược vàng. Hợp chất Ginsenoside-Rg<sub>1</sub> được nghiên cứu có hoạt tính gây độc tế bào và hoạt tính kháng vi sinh vật chọn lọc mạnh. Tryptophan và ginsenoside-Rg<sub>1</sub> đều có hoạt tính sinh học cao.

### ABSTRACT

*Callisia fragrans* (Lindl.) Woods (Comelinaceae) originated from Central America, and is acclimatized to other places. This paper reports on isolation process and structure elucidation of ginsenoside Rg<sub>1</sub> and L-tryptophan from methanolic extract of *Callisia fragrans* (Lindl.) Woods.

From the methanolic extract of *Callisia fragrans* (Lindl.) Woods, a dammarane type sterol ginsenoside-Rg<sub>1</sub> and an acid amin, tryptophan were isolated. Their structures were identified by the analysis of ESI-MS, 1D- and 2D-NMR spectra and in comparison with the literature values. These compounds were isolated for the first time from *C. fragrans*. Ginsenoside-Rg<sub>1</sub> has been reported as a cytotoxic agent and shows strong and selective antimicrobial activity. Tryptophan and ginsenoside-Rg<sub>1</sub> have remarkable biological activities.

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Lược vàng, còn gọi là cây Lan vòi, có tên khoa học là *Callisia fragrans* (Lindl.) Woods, thuộc họ Thài lài (Comelinaceae), vốn có nguồn gốc từ Trung Mỹ, sau đó được di thực đến nhiều nơi khác. Hiện cây này mọc hoang hoặc được trồng nhiều ở Nga, Việt Nam, Úc... Cho đến nay mới chỉ có một vài nghiên cứu về thành phần hoá học của cây Lược vàng và kết quả cho thấy trong cây này có chứa các hợp chất glyco-, phospholipid, axit béo, các chất màu carotinoit và chlorophyll, tocopherol, một số hợp chất vòng thơm như quercetin, axit gallic, axit caffeic [1, 2]. Trong dân gian, cây này đã được sử dụng rất rộng rãi ở Nga và Việt Nam trong việc hỗ trợ và chữa trị nhiều bệnh như ung thư, bỏng, viêm nhiễm, lao phổi, bệnh tim mạch..., tuy nhiên tác dụng dược lý của cây này lại chưa

được nghiên cứu nhiều. Một vài báo cáo tại các nước Đông Âu cho thấy cao chiết và nước ép cây Lược vàng có tác dụng bảo vệ gan, tăng cường hoạt động của cơ, ức chế vi sinh vật gây bệnh trong ruột [1, 3]. Mới đây, một nhóm nghiên cứu ở Viện Dược liệu đã chỉ ra rằng với liều 50 g lá tươi/kg thể trọng, Lược vàng không có tác dụng chống viêm nhưng có khả năng kháng khuẩn yếu trên chủng *Staphylococcus aureus* [4]. Qua những nghiên cứu bước đầu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của cây Lược vàng, chúng tôi đã phân lập được hợp chất flavon C-glucosit, isoorientin- là một hợp chất có rất nhiều hoạt tính sinh học lý thú [5]. Bài báo này tiếp tục thông báo quá trình phân lập và xác định cấu trúc của ginsenoside Rg<sub>1</sub> và L-tryptophan từ dịch chiết metanol của cây Lược vàng nhằm định hướng cho những nghiên cứu sâu hơn tiếp theo.

## II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Mẫu thực vật

Cây Lược vàng *Callisia fragrans* (Lindl) Woods được thu hái tại Thanh Hoá vào tháng 11/2008 và được TS Ninh Khắc Bản xác định tên khoa học. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, VAST.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 1. Phương pháp phân lập các hợp chất

a. *Sắc ký lớp mỏng (TLC)*: Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F<sub>254</sub> (Merck 1,05715), RP<sub>18</sub> F<sub>254s</sub> (Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng trên bếp điện từ từ đến khi hiện màu.

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

#### 2. Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất

- Điểm nóng chảy đo trên máy Kofler micro-hotstage
- Phổ khối lượng phun mù điện tử (Electrospray Ionization mass spectra) được đo trên máy AGILENT 1100 LC-MSD Trap.
- Phổ cộng hưởng từ nhân NMR được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer.

### 2.3 Phân lập hợp chất

Mẫu toàn cây Lược vàng đã phơi khô và xay nhỏ (1,4 kg) được ngâm chiết trong metanol (2 L x 3 lần). Dịch chiết được gom lại và cô cạn dưới áp suất giảm, thu được 40 g cặn chiết metanol. Cặn chiết này được hòa trong nước rồi chiết phân đoạn lần lượt với *n*-hexan, cloroform, thu được các cặn *n*-hexan (10 g), cloroform (13 g) và cặn nước (17 g) tương ứng. Phân cặn nước sau đó được lọc qua cột dianion HP20 với hệ dung môi gradient từ 0-100% metanol/nước, thu được 3 phân đoạn được ký hiệu là CFW1-3. Phân đoạn CFW1 (6,0 g) được phân tách trên cột sắc ký nhồi silica gel với hệ dung môi rửa giải là EtOAc-MeOH-H<sub>2</sub>O (4:1:0,2) thu được hợp chất **1** (10 mg) và **2** (12 mg) dưới dạng chất rắn dạng bột.

*Hợp chất (1): Ginsenoside Rg1* {3β,6α,12β, 20S-Tetrahydroxydammar-24-en 6-O-[β-D-glucopyranoside]-20-O-[β-D-glucopyranoside]}: Chất rắn dạng bột, nhiệt độ nóng chảy 194-195°C;

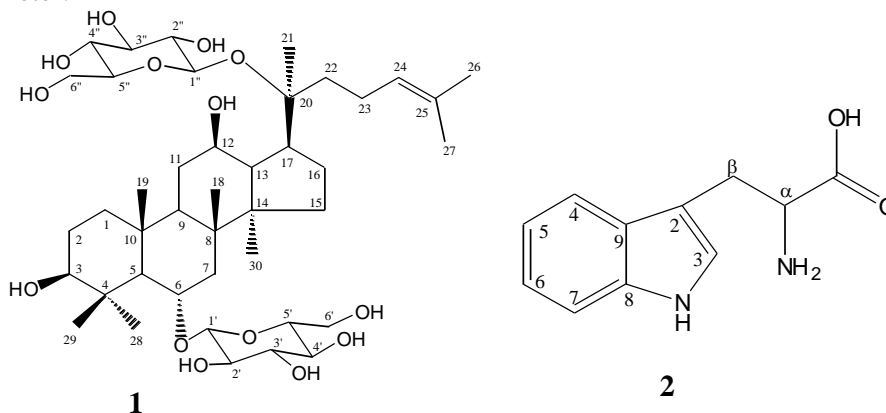
Phổ khối lượng ESI-MS (positive) *m/z* 823 [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub>, M= 800.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) và <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD): xem bảng 1.

*Hợp chất (2): L-tryptophan*: Chất rắn dạng bột, nhiệt độ nóng chảy 276-280°C, độ quay cực [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = 35°, H<sub>2</sub>O.

Phổ khối lượng ESI-MS (positive) *m/z* 227 [M+Na]<sup>+</sup>, 205 [M+H]<sup>+</sup>, (negative) 203 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, M= 204.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) và <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): xem bảng 2.



Hình 1. Cấu trúc hoá học của 1 và 2

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** thu được dưới dạng chất rắn dạng bột từ phần nước của dịch chiết metanol cây Lược vàng sau khi đã loại bỏ căn chiết *n*-hexan và cloroform. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  xuất hiện các tín hiệu chồng chập tại vùng trường cao điển hình của một hợp chất có khung sterol, trong đó có 8 tín hiệu singlet của các nhóm methyl bậc ba tại  $\delta$  1,12 (H-18), 1,02 (H-19), 1,37 (H-21), 1,70 (H-26), 1,65 (H-27), 1,35 (H-28), 1,03 (H-29) và 0,97 (H-30), một nối đôi thế ba lần với sự có mặt của tín hiệu tại  $\delta$  5,13 (1H, t,  $J=7,0$  Hz, H-24). Hai tín hiệu của hai nhóm methyl dịch chuyển mạnh về phía trường thấp hơn tại  $\delta$  1,70 (H-26) và 1,65 (H-27) gợi ý rằng chúng đều được gắn vào nối đôi. Ngoài ra, trên phổ này còn xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng trong vùng từ  $\delta$  3,0- 4,5 ppm đặc trưng cho sự có mặt của các cacbon oximetin và oximetylen của hai phân tử đường cũng như cacbon oximetin khác. Hai phân tử đường glucose được nhận biết bởi các tín hiệu proton anome tại  $\delta$  4,37 (1H, d,  $J=8,0$  Hz, H-1') và 4,62 (1H, d,  $J=8,0$  Hz, H-1''). Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  xuất hiện tín hiệu của 42 nguyên tử cacbon, trong đó 12 tín hiệu được các định là thuộc vào 2 phân tử đường glucose [6-*Glc*:  $\delta$  105,58 (C-1'), 75,55 (C-2'), 79,11 (C-3'), 71,86 (C-4'), 78,34 (C-5'), 62,65 (C-6') 20-

*Glc*:  $\delta$  98,33 (C-1''), 75,42 (C-2''), 77,94 (C-3''), 71,82 (C-4''), 77,66 (C-5''), 63,02 (C-6''), và 30 tín hiệu còn lại thuộc vào phần aglycon với nối đôi duy nhất tại  $\delta$  125,87 (C-24) và 132,30 (C-25). Phân tích phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và các phổ DEPT cho thấy sự có mặt của tín hiệu cacbon bậc ba nối với nguyên tử oxi tại  $\delta$  84,96 (C-20) cùng với tín hiệu của cacbon CH tại  $\delta$  53,16 (C-17) điển hình cho hợp chất có khung dammarane mà phân tử đường glucose nối vào vị trí C-20 [6, 7]. Ba tín hiệu khác của các cacbon oximetin tại  $\delta$  79,93 (C-3), 80,89 (C-6) và 71,33 (C-12) cũng được xác định. Với những dữ kiện phân tích trên, công thức phân tử dự kiến của **1** sẽ là  $\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$  với khối lượng phân tử tương ứng  $M=800$ . Kết quả đo phổ khối lượng thu được pic với cường độ mạnh nhất tại  $m/z$  823  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  hoàn toàn phù hợp với công thức phân tử dự đoán. Với các phân tích cụ thể về tương tác HMBC (Hình 2, bảng 1) cho phép đưa ra cấu trúc của **1** như trên hình 1. Kết quả so sánh các giá trị phổ NMR của **1** với các giá trị phổ tương ứng của ginsenoside  $\text{Rg}_1$  { $3\beta,6\alpha,12\beta$ , 20*S*-Tetrahydroxydammar-24-en 6-*O*-[ $\beta$ -D-glucopyranoside]-20-*O*-[ $\beta$ -D-glucopyranoside]} hoàn toàn trùng khớp [6,7] (bảng 1).

Bảng 1. Dữ kiện phổ NMR của **1**

C	$\delta_c^{\#}$	$\delta_c^{\$}$	$\delta_c^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ mult, ( $J = \text{Hz}$ )	HMBC (H→C)
1	39,5	39,6	40,23	1,08/1,78*	
2	27,6	28,0	27,61	1,62/1,68*	
3	78,6	78,8	79,93	3,37*	
4	40,1	40,4	40,49	-	
5	61,3	61,5	61,85	1,15*	6, 19, 28, 29
6	77,8	80,2	80,89	4,11	1'
7	44,9	45,3	45,37	1,66/2,07*	
8	41,0	41,3	41,94	-	
9	49,9	50,1	50,64	1,50 dd (13,5, 2,5)	8, 10, 11, 18, 19
10	39,5	39,8	40,42	-	
11	30,8	30,8	31,01	1,37/1,88	
12	70,3	70,4	71,33	3,68*	
13	48,9	49,2	49,62	1,78	12
14	51,3	51,5	52,45	-	

15	30,6	31,0	31,56	1,18/1,63	
16	26,4	26,7	27,26	1,41/1,96	
17	51,6	51,8	53,16	2,30 m	13, 16, 20
18	17,4	17,9	17,67	1,12 s	7, 8, 9, 14
19	17,4	17,7	17,79	1,02 s	1, 5, 9, 10
20	83,3	83,5	84,96	-	
21	22,3	22,5	22,83	1,37 s	17, 20, 22
22	35,9	36,2	36,68	1,65/1,84	
23	23,2	23,4	24,21	2,11 m	
24	125,8	126,1	125,87	5,13 t (7,0)	23, 26, 27
25	130,9	131,1	132,30	-	
26	25,7	25,9	25,79	1,70 s	24, 25, 27
27	17,7	17,7	17,91	1,65 s	24, 25, 26
28	31,6	31,8	31,42	1,35 s	3, 4, 5, 29
29	16,2	16,5	16,11	1,03 s	3, 4, 5, 28
30	17,0	17,3	17,16	0,97 s	8, 13, 14, 15
<b>6-Glc</b>					
1'	105,7	106,0	105,58	4,37 d (8,0)	6
2'	75,3	75,5	75,55	3,23*	1', 3'
3'	80,0	79,6	79,11	3,38*	
4'	71,6	72,0	71,86	3,34*	
5'	79,3	79,2	78,34	3,14*	
6'	62,9	63,0	62,65	3,67/3,80*	
<b>20-Glc</b>					
1''	98,1	98,3	98,33	4,62 d (8,0)	20
2''	74,9	75,2	75,42	3,13*	1''
3''	78,8	78,8	77,94	3,38*	3''
4''	71,3	71,7	71,82	3,31*	
5''	77,8	78,2	77,66	3,29*	
6''	62,6	63,2	63,02	3,67/3,84*	

<sup>a</sup>Đo trong CD<sub>3</sub>OD, <sup>b</sup>125 MHz, <sup>c</sup>500 MHz, \*tín hiệu bị che khuất, <sup>#</sup>δ<sub>C</sub> của ginsenoside Rg<sub>1</sub> [6], <sup>\$</sup>δ<sub>C</sub> của ginsenoside Rg<sub>1</sub> [7]

Hợp chất **2** cũng thu được từ dịch chiết nước giống như hợp chất **1**. Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR (đo trong DMSO-*d*<sub>6</sub>) xuất hiện các tín hiệu của một vòng benzen thế 1,2 tại δ 7,57 (1H, dd, *J* = 7,5, 1 Hz, H-4), 7,05 (1H, td, *J* = 7,5, 1 Hz, H-5), 6,96 (1H, td, *J* = 7,5, 1 Hz, H-6), 7,35 (1H, dd, *J* = 7,5, 1 Hz, H-7), và một nối đôi thế ba lần

tại δ 7,26 (1H, br s, H-3). Ngoài ra còn có tín hiệu của một nhóm metylen tại δ 3,33 (1H, dd, *J* = 4,0, 10,5 Hz, H<sub>a</sub>-β), 3,02 (1H, dd, *J* = 8,5, 15,0 Hz, H<sub>b</sub>-β) và tín hiệu của nhóm metin tại δ 3,54 (1H, dd, *J* = 4,0, 8,5 Hz, H-α). Phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất này xuất hiện tín hiệu của 11 nguyên tử cacbon, trong đó tín hiệu của

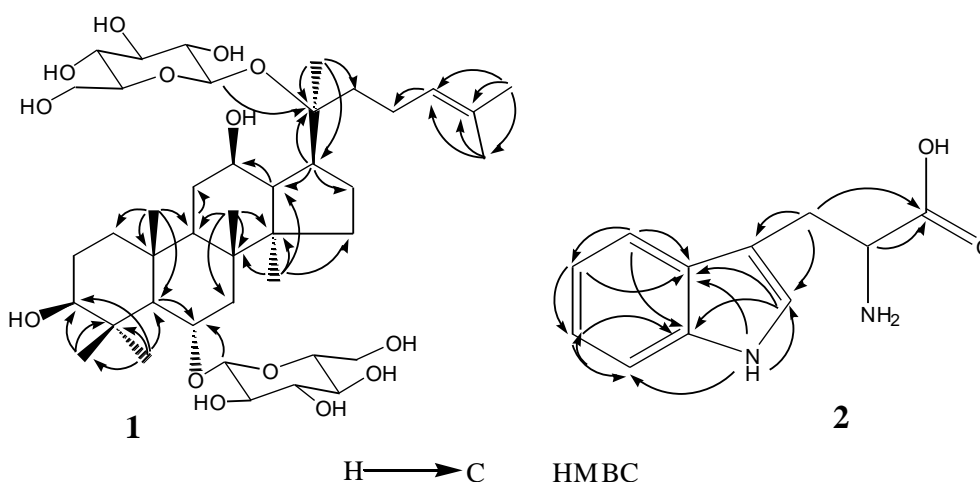
vòng benzen được khẳng định thêm tại  $\delta$  118,28 (C-4), 120,75 (C-5), 118,16 (C-6), 111,27 (C-7), 127,24 (C-9), 136,30 (C-8), nối đôi thể ba lần tại  $\delta$  109,47 (C-2), 124,07 (C-3), cacbon acid tại  $\delta$  171,50. Đặc biệt, tín hiệu cacbon CH tại  $\delta$  54,66 cho thấy cacbon này đã nối với nguyên tử nitơ. Bằng các phổ DEPT 135, DEPT 90, HSQC và HMBC có thể xác định được giá trị độ dịch chuyển hóa học của vòng benzen một cách chính xác. Từ tương tác HMBC giữa H- $\beta$  với C=O, C-2, C-3, C-9, tương tác giữa H- $\alpha$  với C-2, C=O, và H-3 với C-9 có thể gợi ý

cấu trúc của **2** là L-tryptophan, hợp chất có công thức phân tử  $C_{11}H_{12}N_2O_2$ . Kết quả so sánh các dữ kiện phổ NMR của **2** phù hợp với L-tryptophan [8]. Ngoài ra, phổ khối lượng ESI-MS xuất hiện các pic ion với cường độ mạnh tại  $m/z$  227  $[M+Na]^+$ , 205  $[M+H]^+$ , 203  $[M-H]^-$  hoàn toàn phù hợp với công thức phân tử  $C_{11}H_{12}N_2O_2$  của L-tryptophan. Các thông số vật lý khác như nhiệt độ nóng chảy (276-280°C) và độ quay cực ( $[\alpha]_{25}^D = 35^\circ$ ,  $H_2O$ ) của **2** hoàn toàn phù hợp với L-tryptophan.

Bảng 2. Dữ kiện phổ NMR của **2**

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ mult. (J in Hz)	HMBC (H→C)
2	110,31	109,47		
3	124,30	124,07	7,26 br s	2, 8, 9
4	118,40	118,28	7,57 dd (7,5, 1)	5, 8, 9
5	121,09	120,75	7,05 td, (7,5, 1)	6, 9
6	117,44	118,16	6,96 td (7,5, 1)	7, 8
7	111,07	111,27	7,35 dd (7,5, 1)	6, 8
8	134,93	136,30	-	
9	125,32	127,24	-	
$\alpha$	53,94	54,66	3,54 dd (4,0, 8,5)	2, 3, C=O
$\beta$	24,98	27,05	3,33 dd (4,0, 10,5) 3,02 dd (8,5, 15,0)	C=O
C=O	173,19	171,50	-	

<sup>a</sup>Đo trong DMSO-*d*<sub>6</sub>, <sup>b</sup>125 MHz, <sup>c</sup>at 500 MHz, <sup>#</sup> $\delta_C$  của L-Tryptophan of [8]



Hình 2. Một số tương tác HMBC chính của **1** và **2**

#### IV. KẾT LUẬN

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, 2 hợp chất ginsenoside-Rg<sub>1</sub> (1) và L-tryptophan (2) đã được phân lập từ cây Lược vàng. **Đây là lần đầu tiên các hợp chất này được tìm thấy từ cây Lược vàng.** Cấu trúc hóa học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ kết hợp như phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều, cùng với việc so sánh với các tài liệu đã công bố. Hợp chất Hợp chất ginsenoside Rg<sub>1</sub> là thành phần chính trong sâm (*Panax ginseng*) và có nhiều hoạt tính rất đáng quan tâm như gây độc tế bào và kháng sinh

chọn lọc [6,7]. Cùng với L-tryptophan, một acid amin, sự có mặt của ginsenoside Rg<sub>1</sub> và isoorientin [5] là những thành phần hoạt chất có những hoạt tính rất đáng lưu ý trong cây Lược vàng. Những kết quả này có thể tạo cơ sở khoa học cho những nghiên cứu về tác dụng dược lý của cây thuốc này theo hướng ứng dụng trong tương lai.

**Lời cảm ơn:** Tập thể tác giả trân trọng cảm ơn Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia NAFOSTED đã tạo điều kiện giúp đỡ về kinh phí để thực hiện công trình này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Chernenko T.V., Ul'chenko N.T., Glushenkova A.I., and Redzhepov D.*; Chem. Nat. Comp.; Vol. 43, 253-255 (2007).
2. *Olennikov D.N., Ibragimov T.A., Zilfikarov I.N., Chelombit'ko V.A.*; Chem. Nat. Comp.; Vol. 44, 776-777 (2008).
3. *Shantanova L.N., Radnayeva D.B., Tsybikova E.N.*; Сибирский Медицинский Журнал; Vol. 6, 85-87 (2008).
4. *Trịnh Thị Diệp*; Tạp chí Dược liệu; T13, số 6, (2008).
5. *Châu Văn Minh, Nguyễn Phương Thảo, Trần Thu Hương, Lê Văn Sang, Nguyễn Tiến Đạt, Ninh Khắc Bản, Phan Văn Kiệt*; Isoorientin phân lập từ cây Lược vàng và những hoạt tính đáng chú ý của hợp chất này; Tạp chí Hóa học (đã nhận đăng, 2009).
6. *Yahara S., KaJi K., and Tanaka O.*; Further study on dammarane-type saponins of roots, leaves, flower-buds, and fruits of *Panax ginseng* C.A. Meyer.; Chem. Pharm. Bull., Vol. 27(1), 88-92 (1979).
7. *Kim D. S., Chang Y. J., Zedk U., Zhao P., Liu Y. Q., and Yang C. R.*; Dammarane saponins from *Panax ginseng*.; Phytochemistry, Vol. 40(5), 1493-1497 (1995).
8. *Jinping T., Yingwu Y., Hongbing S., and Xiaofeng L.*; Magnesium chloride: an efficient <sup>13</sup>C NMR relaxation agent for amino acids and some carboxylic acids; Journal of Magnetic Resonance, Vol 159, 137-144, (2002).

*Địa chỉ liên hệ:* Trần Thu Hương - Tel: 0912.122.124, Email: huongtt@mail.hut.edu.vn  
Khoa CN Hóa Học – Trường Đại Học Bách Khoa Hà Nội  
Số 1, Đại Cồ Việt, Hà Nội