

# PHÂN LẬP TRIBULOSIN, MỘT SPIROSTANOL SAPONIN TỪ CAO N-BUTANOL CÂY BẠCH TẬT LÊ (*TRIBULUS TERRESTRIS* L.)

Nguyễn Thế Chiến<sup>1</sup>, Phùng Văn Trung và Nguyễn Ngọc Hạnh<sup>2</sup>

## ABSTRACT

From *n*-butanol extract of *Tribulus terrestris* L., one spirostanol saponin tribulosin (TLB5) was isolated by chromatographic methods. Its structure was elucidated by modern spectroscopic methods such as: <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, COSY, DEPT, HSQC, HMBC, MS and compared with published literature.

**Keywords:** *Tribulus terrestris*, tribulosin, spirostanol saponin

**Title:** Isolation tribulosin, a spirostanol saponin from *Tribulus terrestris* L

## TÓM TẮT

Từ cao *n*-butanol của cây Bạch tật lê đã phân lập được một spirostanol saponin là tribulosin (TLB5) bằng các phương pháp sắc ký. Cấu trúc của nó được xác định bằng các phương pháp quang phổ hiện đại: <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, COSY, DEPT, HSQC, HMBC, MS và so sánh với các tài liệu tham khảo.

**Từ khóa:** Phân lập, Bạch tật lê, spirostanol saponin, tribulosin

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Bạch tật lê có tên khoa học là *Tribulus terrestris* L. (Hình 1) thuộc họ gai Chổng (*Zygophyllaceae*), còn có những tên khác như: Gai sấu, quí kiến sấu, gai ma vương, thích tật lê. Cây mọc rất phổ biến tại Ấn Độ, Trung Quốc, Việt Nam, vài vùng tại Châu Âu và Nam Phi.

Tại Việt Nam, cây Bạch tật lê mọc hoang dại ở những vùng đất khô, đất cát dọc vùng ven biển miền Trung từ Quảng Bình đến Bình Thuận.

Trong những năm gần đây, tác dụng dược lý và thành phần hóa học của cây Bạch tật lê được nghiên cứu rất nhiều trên thế giới, cho thấy nhiều kết quả về tăng cường thể lực, kích thích tình dục và kháng khuẩn (Jun-Dong-Zhang, Yong-Bin-Cao, Zheng Xu, 2005).

Trong bài báo này chúng tôi xin trình bày kết quả phân lập một spirostanol saponin là tribulosin.



**Hình 1: Bạch Tật lê**  
(*Tribulus terrestris*)

<sup>1</sup> Khoa Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Công nghệ hóa học – Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

## 2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Nguyên liệu

Toàn cây Bạch tật lê bỏ rễ do Trung tâm Nghiên cứu và Sản xuất Dược liệu Miền Trung cung cấp. Cây được thu hái hoang tại tỉnh Bình Thuận vào tháng 12/2007.

### 2.2 Chiết xuất và cô lập

Toàn cây khô, xay vỡ (5 kg) chiết với cồn loãng, sau khi loại cồn, phần dịch chiết sau đó chiết lần lượt với petroleum ether (PE), CHCl<sub>3</sub>, ethyl acetate (EtOAc), *n*-butanol (*n*-BuOH). Phần dịch chiết *n*-BuOH sau khi được cô quay chân không để loại dung môi thu được cao *n*-BuOH (TLB, m = 24 g). Cao TLB (24 g) được tách bằng sắc kí cột nhanh với hệ dung môi giải ly EtOAc : MeOH (MeOH : metanol) có độ phân cực tăng dần thu được 20 phân đoạn. Tại phân đoạn thứ 5 (TLB5) xuất hiện chất kết tinh dạng bột không màu (m = 40 mg), điểm tan chảy mp = 303-305°C (MeOH) tan trong hệ dung môi CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 1 : 1; Sắc ký bản mỏng (TLC) cho một điểm tròn có màu xanh đen khi phun với thuốc thử 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/EtOH, R<sub>f</sub> = 0.5 trong hệ dung môi giải ly *n*-BuOH : AcOH : H<sub>2</sub>O = 4 : 1 : 2 (AcOH : acid acetic) và R<sub>f</sub> = 0.45 trong hệ dung môi giải ly CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O = 65 : 35 : 10.

### 2.3 Phương pháp nhận danh cấu trúc

Điểm nóng chảy được đo trên máy Electrothermal 9100 (UK) dùng mao quản không hiệu chỉnh. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân: <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, COSY, DEPT, HSQC, HMBC được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz độ dịch chuyển hóa học được tính theo δ (ppm), hằng số ghép cặp (J) tính bằng Hz. Phổ khối lượng được đo trên máy 1100 series LC/MS Trap Agilent. Sắc ký lớp mỏng sử dụng bản nhôm silica gel Merck 60F<sub>254</sub> tráng sẵn dày 0.2 mm. Sắc ký cột dùng silica gel 60, 0.04-0.06 mm Scharlau GE 0048.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

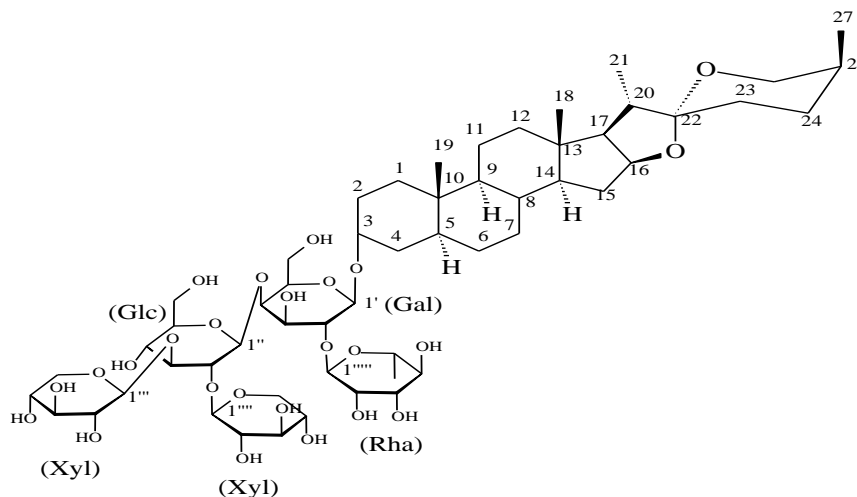
TLB5 thu được dưới dạng bột không màu, không tan trong EtOAc, CHCl<sub>3</sub>, tan ít trong MeOH, tan nhiều trong hỗn hợp CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1 : 1), điểm tan chảy mp = 303-305°C (MeOH).

Phổ khối lượng cho pic m/z của [MH+Na]<sup>+</sup> là 1174 và [M+2H<sub>2</sub>O] là 1186 ứng với công thức nguyên là C<sub>55</sub>H<sub>90</sub>O<sub>25</sub>.

Phổ <sup>1</sup>H-NMR trong DMSO δ ppm (Bảng 1) cho thấy trong phân tử TLB5 có năm nhóm methyl, trong đó có bốn nhóm ở δ ppm: 0.7 (3H, s, H-18); 0.75 (3H, H-19) và 0.92 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-21) và 1.00 (3H, d, J = 7 Hz, H-27) tương ứng với khung spirostanol steroid là tigogenin.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR cho δ ppm (Bảng 1) tương ứng với bốn nhóm methyl của aglycon là: 11.8 (CH<sub>3</sub>-19); 14.3 (CH<sub>3</sub>-21); 15.8 (CH<sub>3</sub>-18) và 16.0 (CH<sub>3</sub>-27). Một nhóm methyl ở 17.6 (CH<sub>3</sub> của đường rhamnose) phù hợp với proton ở 1.07 (d, J = 5.5 Hz).

Ngoài ra còn có năm carbon acetal (O-C-O) ở 98.1; 100.2; 103.1; 103.2; 103.4 tương ứng với năm carbon anomer của năm nhóm đường ở vị trí 1'; 1''; 1'''; 1''''; 1'''''. Kết hợp với phổ DEPT, HSQC, COSY; HMBC (Bảng 1) và so sánh với tài liệu đã công bố (Achenbach, H., Hubner, H. and Raiter, M., 1994) TLB5 được định danh là tribulosin: 3-O-[\beta-D-xylopyranosyl-(1\to2)-[\beta-D-xylopyranosyl-(1\to3)]-\beta-D-glucopyranosyl-(1\to4)-[\alpha-rhamnopyranosyl-(1\to2)-\beta-D-galactopyranosyl]-neotigogenin có công thức như Hình 2.



Hình 2: Tribulosin

Bảng 1: Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , COSY và HMBC của TLB5

Vị trí C	$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\delta$ ppm)	$^1\text{H-NMR}$ ( $\delta$ ppm)	COSY (H-H)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	CH <sub>2</sub>	36.4	0.97; 1.62	H <sub>1</sub> /H <sub>2</sub> ; H <sub>1a</sub> /H <sub>1b</sub>
2	CH <sub>2</sub>	28.8	1.79	H <sub>2</sub> /H <sub>1</sub>
3	CH-O	75.5	3.25	
4	CH <sub>2</sub>	33.1	1.14; 1.62	H <sub>4a</sub> /H <sub>4b</sub> ; H <sub>4</sub> /H <sub>5</sub>
5	CH <sub>2</sub>	43.8	0.96	H <sub>5</sub> /H <sub>4</sub>
6	CH <sub>2</sub>	28.2	1.20	
7	CH <sub>2</sub>	31.1	1.12	
8	CH	34.5	1.46	
9	CH	53.6	0.61	
10	C <sub>q</sub>	35.1		
11	CH <sub>2</sub>	20.4	1.20; 1.46	

12	CH <sub>2</sub>	39.5	1.07; 1.63	H <sub>12a</sub> /H <sub>12b</sub>	
13	C <sub>q</sub>	40.0			
14	CH	55.5	1.06		
15	CH <sub>2</sub>	31.7	0.83; 1.14		
16	CH-O	80.1	4.26		
17	CH	61.6	1.65		H-17→C-16
18	CH <sub>3</sub>	15.8	0.70 (3H, s)		H-18→C-17, 12, 14, 13
19	CH <sub>3</sub>	11.8	0.75 (3H, s)		H-18→C-8, 10, 1, 5, 9
20	CH	41.4	1.66	H <sub>20</sub> /H <sub>21</sub>	
21	CH <sub>3</sub>	14.3	0.92 (3H, d, J = 6.5)	H <sub>21</sub> /H <sub>20</sub>	H-21→C-17, 22, 20
22	C (acetal)	108.7			
23*	CH <sub>2</sub>	25.2	1.34	H <sub>23</sub> /H <sub>24</sub>	
24*	CH <sub>2</sub>	25.4	1.87	H <sub>24</sub> /H <sub>23</sub>	
25	CH <sub>2</sub>	26.3	1.62	H <sub>25</sub> /H <sub>27</sub>	
26	CH <sub>2</sub> -O	64.1	26a: 3.21 (d, J = 10.0) 26b: 3.76 (d, J = 10.5)		
27	CH <sub>3</sub>	16.0	1.00 (3H, d, J = 7)	H <sub>27</sub> /H <sub>25</sub>	H-27→C-26, 24, 25

Bốn nhóm CH<sub>2</sub>-O của 6', 6'', 5''', 5'''' là 58.9; 61.2; 65.6; và 65.7 của bốn nhóm đường xylose, glucose và galactose.

#### 4 KẾT LUẬN

Từ cao *n*-butanol chiết từ cây Bạch tật lê đã cô lập được một spirostanol saponin là tribulosin (TLB5). Cấu trúc được xác định bằng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều kết hợp với khối phổ.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Tất Lợi, 1995. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Viện dược liệu, trang 720-722.
- Deepak M., G. Dipankar, 2002. *Tribulosin and  $\beta$ -sitosterol-D-glucoside the anthelmintic principles of Tribulus terrestris*, Phytomedicine, 9, 753-756.
- Yang Wang, Kazuhiro Ohtani, 1997. *Steroidal saponins from fruits of Tribulus terrestris*, Phytochemistry, 45, 811-817.

\* Vị trí có thể hoán đổi cho nhau.

- Wang Yan, *Chemical study on constituents of the Chinese medicinal plants Tribulus terrestris and Cordia dichotoma*, 1997. Hiroshima University School of Medicine, Japan, 1-64
- Jun-Dong-Zhang, Yong-Bing-Cao, Zheng Xu, 2005. *Invitro in vivo antifungal activities of the eight steroid saponin from tribulus terrestris L. with potant activity against Flucorazole-Resistant Fugal*, Biol, Pharm. Bull, 28 (12), 2211-2215.
- Jun-Dong-Zhang, Yong-Bing-Cao, Zheng Xu, 2006. *Antifungal activities and action mechanisms of compounds from Tribulus terrestris L.*, Journal of Ethwo pharmacology, 103, 76-84.
- Dragomir Dinchev, Bgdan Janda, Liuba Evstatieva, 2008. *Distribution of steroidal csaponin in Tribulus terrestris from different geographical regions*, Phytochemistry, 69, 176-186.
- Hans Achenbach, Harald Hubner, Wolfgang Brand, Melchior Reiter, 1994. *Cardioactive steroid saponins and other constituents from the aerial parts of Tribulus cistoides*, Phytochemistry, 45(6), 1527-1543.