

# TỔNG HỢP VÀ HOẠT TÍNH ĐỘC TẾ BÀO CỦA MỘT SỐ DẪN XUẤT CỦA 4',5,6-TRIHIDROXY-3,3',7-TRIMETOXYFLAVON ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ CÂY MILIUSA BALANSAE

Đến Tòa soạn 2-5-2003

ĐỖ THỊ THU HƯƠNG<sup>1</sup>, TRẦN VĂN SUNG<sup>1</sup>, NGUYỄN HẢI NAM<sup>2</sup>, AHN BYUNG ZUN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

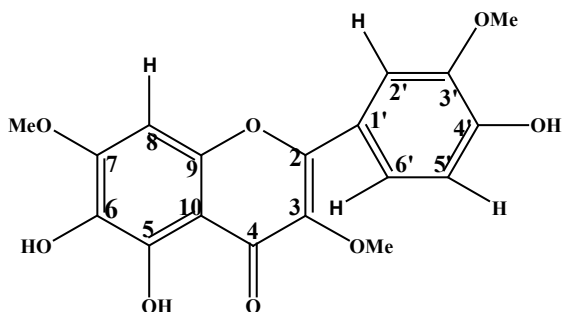
<sup>2</sup>Khoa Dược, Trường Đại học quốc gia Chung Nam, Hàn Quốc

## SUMMARY

From 4',5,6-trihydroxy-3,3',7-trimethoxyflavon [Chrysosplenol C] isolated from the *Milium balansae* Fin. & Gagnep., seven ester and four ether derivatives have been synthesized. The cytotoxic activity against B16-murine melanoma of these compounds were determined. One of them (compound 12) showed a moderate activity.

## I - ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong quá trình sàng lọc các hợp chất có hoạt tính sinh học của những cây họ Na của Việt Nam, chúng tôi đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học chất 4',5,6-trihydroxy-3,3',7-trimethoxyflavon từ cây Mai liễu (*Milium balansae*), thu hái tại Côn Sơn, Hải Dương [1, 2]. Cây này được sử dụng ở Trung Quốc để chữa bệnh viêm cầu thận và bệnh dạ dày [3]. Hợp chất flavon 1 có hoạt tính kìm hãm sự phát triển của tế bào ung thư. Vì vậy, chúng tôi tiến hành tổng hợp một số dẫn xuất của nó để thử hoạt tính sinh học.



1: 4',5,6-trihydroxy-3,3',7-trimethoxyflavon

Chúng tôi đã tổng hợp các este và ete của 1.

## II - PHÂN THỰC NGHIỆM

### Thiết bị, hóa chất

Các sản phẩm phản ứng được tinh chế bằng sắc ký cột với chất hấp phụ silicagel (Merck) 60 F<sub>254</sub> hoặc bằng phương pháp kết tinh. Phổ hồng ngoại (FTIR) được đo trên máy NICOLET-IMPACT 410. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân được đo trên máy JEOL-90MHz và trên máy Bruker-500 MHz trong dung môi CDCl<sub>3</sub>.

### Tổng hợp các dẫn xuất este của chất 1

**Chất 2:** 4',5,6-triaxetyl-3,3',7-trimethoxyflavon: Hòa tan 40 mg chất 1 vào 0,4 ml piridin. Dung dịch được thêm 0,56 ml anhydric axetic và để ở nhiệt độ thường trong 24 giờ. Sau đó sản phẩm được hòa tan trong etyl axetat (EA) và rửa bằng nước cất. Kết tinh trong EA-hexan. T<sub>nc</sub> = 190 - 192°C; IR (KBr), ν (cm<sup>-1</sup>): 2940, 1765, 1630, 1625, 1459, 1370, 1209, 1034, 817; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 7,73 (1H,d), 7,64 (1H,dd), 7,17 (1H,d), 6,88 (1H,s), 3,93 (3H,s), 3,91 (3H,s), 3,80 (3H,s), 2,46 (3H,s), 2,35 (3H,s), 2,34 (3H,s).

**Chất 3:** 4',5,6-tributyroyl-3,3',7-trimetoxyflavon: 20 mg chất **1** được hòa tan trong 0,35 ml piridin. Dung dịch được thêm 0,44 ml anhydric butylic. Quá trình được tiến hành tương tự như ở chất **2**.  $T_{nc} = 125 - 127^{\circ}\text{C}$ ; IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2968, 1756, 1630, 1625, 1467, 1415, 1352, 1243, 1165, 827;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 7,73 (1H,d), 7,63 (1H,dd), 7,16 (1H,d), 6,88 (1H,s), 3,93 (3H,s), 3,87 (3H,s), 3,79 (3H,s), 2,74 (2H,t), 2,60 (2H,t), 2,57 (2H,t), 1,78  $\rightarrow$  1,85 (6H,m), 1,05  $\rightarrow$  1,09 (9H,m).

**Chất 4:** 4',5,6-trivaleroyl-3,3',7-trimetoxyflavon: 20 mg chất **1** được hòa tan trong 0,7 ml piridin. 0,25 ml valeryl clorua được cho tiếp vào. Quá trình tiếp theo tương tự như ở chất **2**. Chất tinh khiết được phân lập bằng sắc ký cột silicagel với dung môi EA-hexan.  $T_{nc} = 103 - 105^{\circ}\text{C}$ ; IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2960, 1759, 1630, 1625, 1469, 1417, 1352, 1224, 1139, 823,  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 7,72 (1H,d), 7,63 (1H,dd), 7,16 (1H,d), 6,88 (1H,s), 3,93 (3H,s), 3,90 (3H,s), 3,79 (3H,s), 2,77 (2H,t), 2,62 (2H,t), 2,59 (2H,t), 1,73  $\rightarrow$  1,80 (6H, m), 1,45  $\rightarrow$  1,51 (6H, m), 0,96  $\rightarrow$  1,00 (9H,m).

**Chất 5:** 4',5,6-trihexanoyl-3,3',7-trimetoxyflavon: 20 mg chất **1** được hòa tan trong 0,35 ml piridin. Dung dịch được thêm 0,25 ml hexanoyl clorua. Điều kiện phản ứng tương tự như ở chất **2**. Chất sạch được tinh chế qua cột silicagel với hệ dung môi EA-hexan.  $T_{nc} = 93 - 95^{\circ}\text{C}$ ; IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2926, 1757, 1630, 1610, 1469, 1363, 1224, 1096, 820;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 7,73 (1H,d), 7,63 (1H,dd), 7,16 (1H,d), 6,88 (1H,s), 3,93 (3H,s), 3,90 (3H,s), 3,79 (3H,s), 2,76 (2H,t), 2,61 (2H,t), 2,59 (2H,t), 1,76  $\rightarrow$  1,82 (6H,m), 1,38  $\rightarrow$  1,45 (12H,m), 0,92  $\rightarrow$  0,96 (9H,m).

**Chất 6:** 4',5,6-tribenzoyl-3,3',7-trimetoxyflavon: 30 mg chất **1** được cho vào 0,7 ml piridin. Dung dịch được cho tiếp 0,15 ml benzoyl clorua. Điều kiện phản ứng tương tự như ở chất **2**. Tinh chế sản phẩm bằng cột sắc ký.  $T_{nc} = 72 - 73^{\circ}\text{C}$ ; IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2931, 1747, 1633, 1450, 1262, 1225, 1023, 821, 707;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8,08  $\rightarrow$  8,18 (các H ở vòng benzoyl), 7,80 (1H,d), 7,72 (1H,dd), 7,50  $\rightarrow$  7,56 (5H ở vòng thơm benzoyl), 7,39  $\rightarrow$  7,43 (các H ở vòng benzoyl),

7,30 (1H,d) 7,02 (1H,s), 3,93 (3H,s), 3,88 (3H,s), 3,76 (3H,s).

**Chất 7:** 4',5,6-triphenoxycacboxyl-3,3',7-trimetoxyflavon: 36 mg chất **1** được hòa tan trong 0,7 ml piridin. Dung dịch được cho thêm 0,22 ml phenoxycacboxyl clorua. Quá trình được tiến hành giống như ở chất **2**.  $T_{nc} = 71 - 72^{\circ}\text{C}$ ; IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2934, 1788, 1633, 1495, 1238, 778, 689;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 7,78 (1H,d), 7,66 (1H,dd), 7,38  $\rightarrow$  7,46 và 7,25  $\rightarrow$  7,31 (các hidro trong vòng phenoxycacboxyl), 7,36 (1H,d), 6,97 (1H,s), 4,02 (3H,s), 3,97 (3H,s), 3,88 (3H,s).

**Chất 8:** 4',6-dimethylcambamyl-5-hydroxy-3,3',7-trimetoxyflavon: 36 mg chất **1** được hòa tan trong 0,7 ml piridin. Dung dịch được cho thêm 0,15 mg dimethylcambamyl clorua. Quá trình được tiến hành giống như ở chất **2**.  $T_{nc} = 231 - 232^{\circ}\text{C}$ ; IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3436, 2930, 1724, 1669, 1601, 1463, 1362, 1160, 1028, 832;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 12,60 (1H,s), 7,75 (1H,d), 7,66 (1H,dd), 7,23 (1H,d), 6,53 (1H,s), 3,93 (3H,s), 3,92 (3H,s), 3,85 (3H,s), 3,18 (3H,s), 3,15 (3H,s), 3,04 (6H,s).

#### Tổng hợp các dẫn xuất ete của chất 1

**Chất 9:** 5,6,7,3,3',4'-hexametoxyflavon: 50 mg chất **1** được cho vào trong 5 ml axeton khan. Dung dịch được cho thêm 178 mg dimethylsunfat và 211 mg  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Phản ứng diễn ra ở nhiệt độ  $40^{\circ}\text{C}$  trong 2 giờ có hồi lưu. Tinh chế sản phẩm qua cột silicagel.  $T_{nc} = 138 - 139^{\circ}\text{C}$ ; IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2932, 1732, 1621, 1602, 1585, 1512, 1472, 1259, 1150, 996, 794;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 7,71 (1H,dd), 7,70 (1H,d), 6,99 (1H,d), 6,75 (1H,s), 4,02 (3H,s), 3,98 (3H,s), 3,97 (6H,s), 3,92 (3H,s), 3,89 (3H,s), 3,87 (3H,s).

**Chất 10:** 4',5,6-tribenzyloxy-3,3',7-trimetoxyflavon: 36 mg chất **1** được cho vào 5 ml axeton khan. Dung dịch được cho thêm 62 mg  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 67 mg NaI và 0,17 ml benzyl clorua. Phản ứng diễn ra ở nhiệt độ  $40^{\circ}\text{C}$  trong 3 giờ, có hồi lưu. Sản phẩm được kết tinh và lọc chân không.  $T_{nc} = 90^{\circ}\text{C}$ ; IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3033, 2931, 1615, 1615, 1512, 1455, 1348, 1222, 1148, 999, 813, 698,  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 7,74 (1H,d), 7,63 (1H,dd), 7,32  $\rightarrow$  7,47 (các H ở các vòng benzyl),

m), 7,00 (1H,d), 6,73 (1H,s), 5,24 (2H,s), 5,16 (2H,s), 5,02 (2H,s), 3,97 (3H,s), 3,91 (3H,s), 3,86 (3H,s).

**Chất 11:** 4',6-digeranyloxy-5-hydroxy-3',7-trimetoxyflavon: 20 mg chất **1** được hòa vào trong 0,7 ml dimetylformamit. Dung dịch được thêm vào 34,5 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> và 0,9 ml geranyl bromua. Phản ứng diễn ra ở nhiệt độ thường trong 24 giờ. Tinh chế sản phẩm bằng cột sắc ký. Dẫn xuất này ở dạng dầu. IR (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3502, 2923, 1731, 1655, 1594, 1455, 1261, 992, 813, 619; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 12,58 (1H,s), 7,71 (1H,dd), 7,68 (1H,d), 6,98 (1H,d), 6,48 (1H,s), 5,60 (1H,t), 5,53 (1H,t), 5,08 (2H,m), 4,72 (2H,d), 4,64 (2H,d), 3,96 (3H,s), 3,95 (3H,s), 3,87 (3H,s), 2,02 → 2,14 (8H,m), 1,77 (3H,s), 1,68 (3H,s), 1,67 (3H,s), 1,66 (3H,s), 1,64 (3H,s), 1,59 (3H,s).

**Chất 12:** 4',6-diallyloxy-5-hydroxy-3,3',7-trimetoxyflavon: 36 mg chất **1** được hòa trong 5 ml axeton khan. Dung dịch được thêm vào 62 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,11 ml allyl clorua và 67 mg NaI. Phản ứng diễn ra ở 40°C trong 2 giờ, có hồi lưu. T<sub>nc</sub> < 50°C; IR (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3436, 2921, 1653, 1587, 1473, 1324, 1266, 1146, 1009, 800; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 12,63 (1H,s), 7,69 (1H,d), 7,68 (1H,dd), 6,99 (1H,d), 6,49 (1H,s), 6,13 (2H,m), 5,46 (1H,m), 5,36 (1H,m), 5,33 (1H,m), 5,21 (1H,m), 4,72 (1H,t), 4,71 (1H,t), 4,62 (2H,t), 4,61 (2H,t), 3,96 (3H,s), 3,95 (3H,s), 3,87 (3H,s).

### Thử hoạt tính độc tế bào

Tất cả các dẫn xuất tổng hợp được đem thử hoạt tính độc tế bào đối với dòng tế bào u hắc sắc tố da chuột (B16-murine melanoma). Các giá trị IC<sub>50</sub> kháng tế bào B16 của các dẫn xuất được trình bày ở bảng 1. Quy trình thử hoạt tính được tiến hành theo tài liệu [4].

### III - NHẬN XÉT KẾT QUẢ

Trong chất **2**, nhìn chung 3 nhóm OH dễ dàng phản ứng để tạo các dẫn xuất este và ete. Tuy nhiên, trong một số trường hợp nhóm 5-OH không tham gia phản ứng do tạo cầu nối hidro với nhóm C=O ở vị trí 4 làm cho tác nhân phản ứng khó tấn công vào. Số liệu phổ

<sup>1</sup>H-NMR của các proton thơm được đưa ở bảng 2.

Bảng 1: Hoạt tính kháng tế bào B16 của các dẫn xuất tổng hợp

Hợp chất	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
1 (crysosplenol C)	4,07
2	> 10
3	> 10
4	> 10
5	> 10
6	> 10
7	> 10
8	> 10
9	> 10
10	> 10
11	5,37
12	3,99

Trong phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton của các sản phẩm este và ete (từ chất **2** đến chất **10**), độ chuyển dịch hóa học của proton ở vị trí C<sub>8</sub> và C<sub>5</sub>, bị đẩy về phía trường thấp hơn so với chất ban đầu ( $\Delta\delta_{C_8} \approx 0,17 - 0,46$  ppm trừ chất **8** và  $\Delta\delta_{C_5} \approx 0,15 - 0,35$  trừ chất **9** và **10**). Ở phổ của các chất **11** và **12** thì các proton ở C<sub>8</sub> và C<sub>5</sub>, có  $\delta$  dịch chuyển về phía trường cao, ( $\Delta\delta_{C_8} = -0,08$  và  $-0,07$ ), ( $\Delta\delta_{C_5} = -0,03$  và  $-0,02$ ), ngược lại với các sản phẩm este. Sự chuyển dịch hóa học của các proton ở C<sub>2</sub> và C<sub>6</sub> không thay đổi nhiều. Phổ <sup>1</sup>H-NMR và IR của các sản phẩm este và ete có các tín hiệu phù hợp với cấu trúc của chúng.

Bảng 1 cho ta thấy, tất cả các dẫn xuất tổng hợp được đều không có hoạt tính độc với tế bào B16, ngoại trừ dẫn xuất **12**: 4',6-diallyloxy-5-hydroxy-3,3',7-trimetoxyflavon là có hoạt tính cao hơn crysosplenol C ban đầu, IC<sub>50</sub> = 3,99 µg/ml.

Bảng 2: Độ chuyển dịch hóa học ( $\delta$ , ppm) của các proton thơm của các chất 1  $\rightarrow$  12

Hợp chất	$^1\text{H-NMR}$ của vòng thơm			
<p>1. <math>\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{H}</math></p>	H-8 6,56 s	H-5' 7,01 d	H-6' 7,66 dd	H-2' 7,69 d
2. $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{COCH}_3$	6,89 s	7,17 d	7,64 dd	7,73 d
3. $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	6,88 s	7,16 d	7,63 dd	7,73 d
4. $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{CO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	6,88 s	7,16 d	7,63 dd	7,72 d
5. $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{CO}(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	6,88 s	7,16 d	7,63 dd	7,73 d
6. $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{COC}_6\text{H}_5$	7,02 s	7,30 d	7,72 dd	7,80 d
7. $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{C}_6\text{H}_5\text{OCO}$	6,97 s	7,36 d	7,66 dd	7,78 d
8. $\text{R}^1=\text{R}^3=(\text{CH}_3)\text{NCO}$ ; $\text{R}^2=\text{OH}$	6,53 s	7,23 d	7,66 dd	7,75 d
9. $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{CH}_3$	6,75 s	6,99 d	7,71 dd	7,70 d
10. $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	6,73 s	7,00 d	7,63 dd	7,74 d
11. $\text{R}^1=\text{R}^3=$ $\text{R}^2=\text{OH}$	6,48 s	6,98 d	7,71 dd	7,68 d
12. $\text{R}^1=\text{R}^3=\text{CH}_2\text{CH}:\text{CH}_2$ $\text{R}^2=\text{OH}$	6,49 s	6,99 d	7,68 dd	7,69 d

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Do Thu Huong, Christine Kamperdick, and Tran Van Sung. Homogentisic acid derivatives from *Milium balansae* (Annonaceae), Journal of Natural Products (submitted in 2004).
- Nguyễn Tiến Bản. Thực vật chí Việt Nam, 1. Họ Na - Annonaceae Juss.. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Tr. 308 - 309 (2000).
- Wu Rui, Ye Qi, Chen Neng Yu, Zang Guo Lin. Chin. Chem, Lett., Vol. 12, P. 247 - 248 (2001).
- Nguyen Hai Nam, Ha Thanh Huong, Hwan Mook Kim, and Byung Zun Ahn. Kor. J. Pharmacogn., Vol. 31, P. 77 - 81 (2000).
- Nguyen Hai Nam, Young Jae You, Yong Kim, Dong Ho Hong, Hwan Mook Kim, and Byung Zun Ahn. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 11, P. 1173 - 1176 (2001).
- Mai Ngoc Tam, Nguyen Hai Nam, Gyu Yong Song, and Byung Zun Ahn. Arch. Pharm. Med. Chem., Vol. 333, P. 189 - 194 (2000).
- Tokunaru Horie, Hideaki Tominaga, Isao Yoshida, and Yasuhico Kawamura. Bull. Chem. Soc. Jpn., Vol. 66, P. 877 - 881 (1993).
- Hideaki Tominaga and Tokunaru Horie. Bull. Chem. Soc. Jpn., Vol. 66, P. 877 - 881 (1993).