

ALKALOID DIOKSOAPORFINA DARIPADA AKAR *THOTTEA CORYMBOSA*

Siti Zaiton bt Mat So'ad

Fakulti Sains Gunaan, Universiti Teknologi MARA Pahang

Nik Idris Yusoff

Pusat Pengajian Sains Kimia & Teknologi Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, UKM

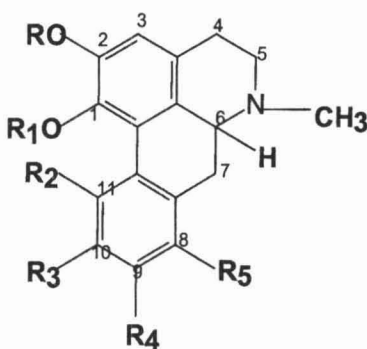
ABSTRAK

Estrak kloroform yang bersifat toksik dengan nilai LC_{50} ~188 ppm melalui ujian kematian anak udang memberikan satu komponen dari kelas 4,5-dioksaporfina. Komponen tersebut ialah sefaradion-A yang ditemui buat pertama kalinya daripada akar *Thottea corymbosa*.

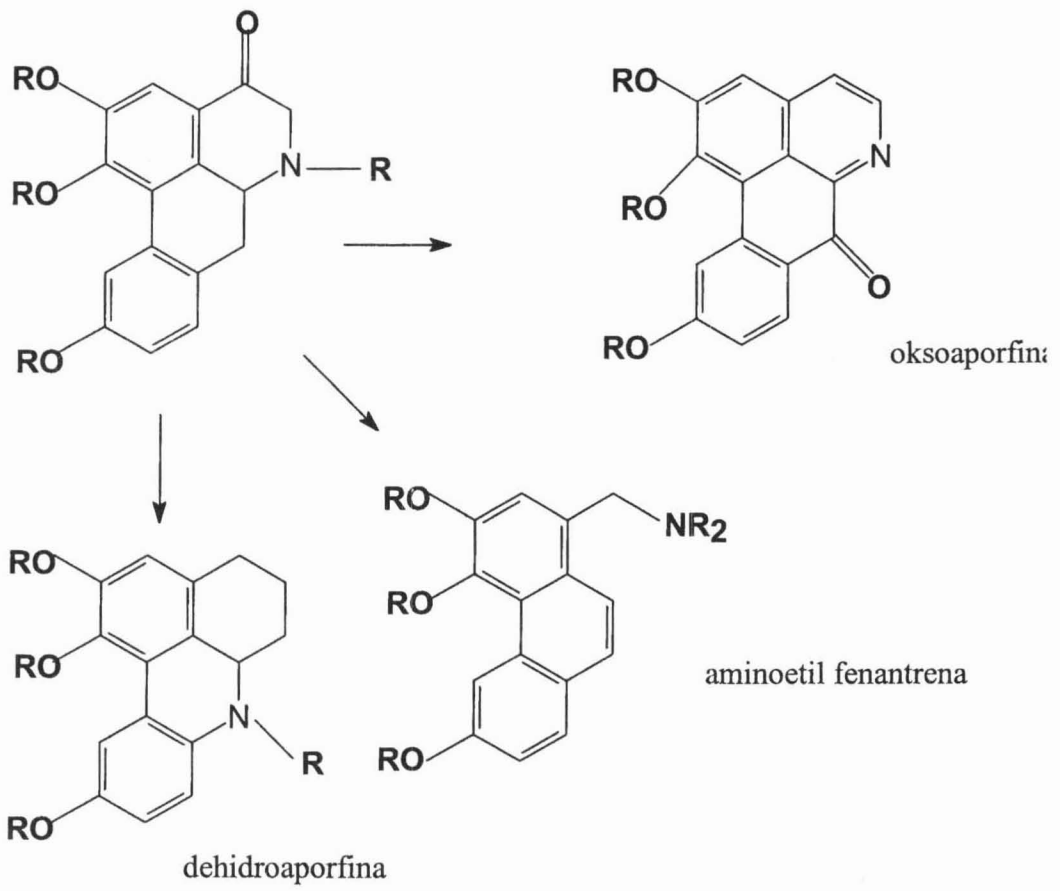
PENGENALAN

Aporfina merupakan kumpulan alkaloid isokuinolina yang kedua terbesar selepas bisbenzilisokuinolina (Chen & Zhu1987). Antara alkaloid terbitan aporfina ialah dehidroaporfina aminoetil fenantrena dan oksoaporfina. Terdapat juga kumpulan aporfina kuarterner dengan dua kumpulan metil berikatan yang biasa terdapat dalam bentuk garam. Kedudukan 1 dan 2 biasa wujud dalam bentuk tertukarganti oleh kumpulan hidroksi, metoksi atau metilena dioksi. Kedudukan lain yang biasa tertukarganti ialah 9, 10 dan 11. Kadangkala terdapat juga pada kedudukan 3 dan 8. Dalam sesetengah kes, kumpulan OH terletak pada C7, manakala steporfina 3 adalah satu-satunya alkaloid aporfina yang teroksida pada kedudukan 4 (Rajah 1.1). Dalam keadaan yang berbeza pelbagai terbitan aporfina boleh ditemui seperti yang diringkaskan dalam Rajah 1.2.

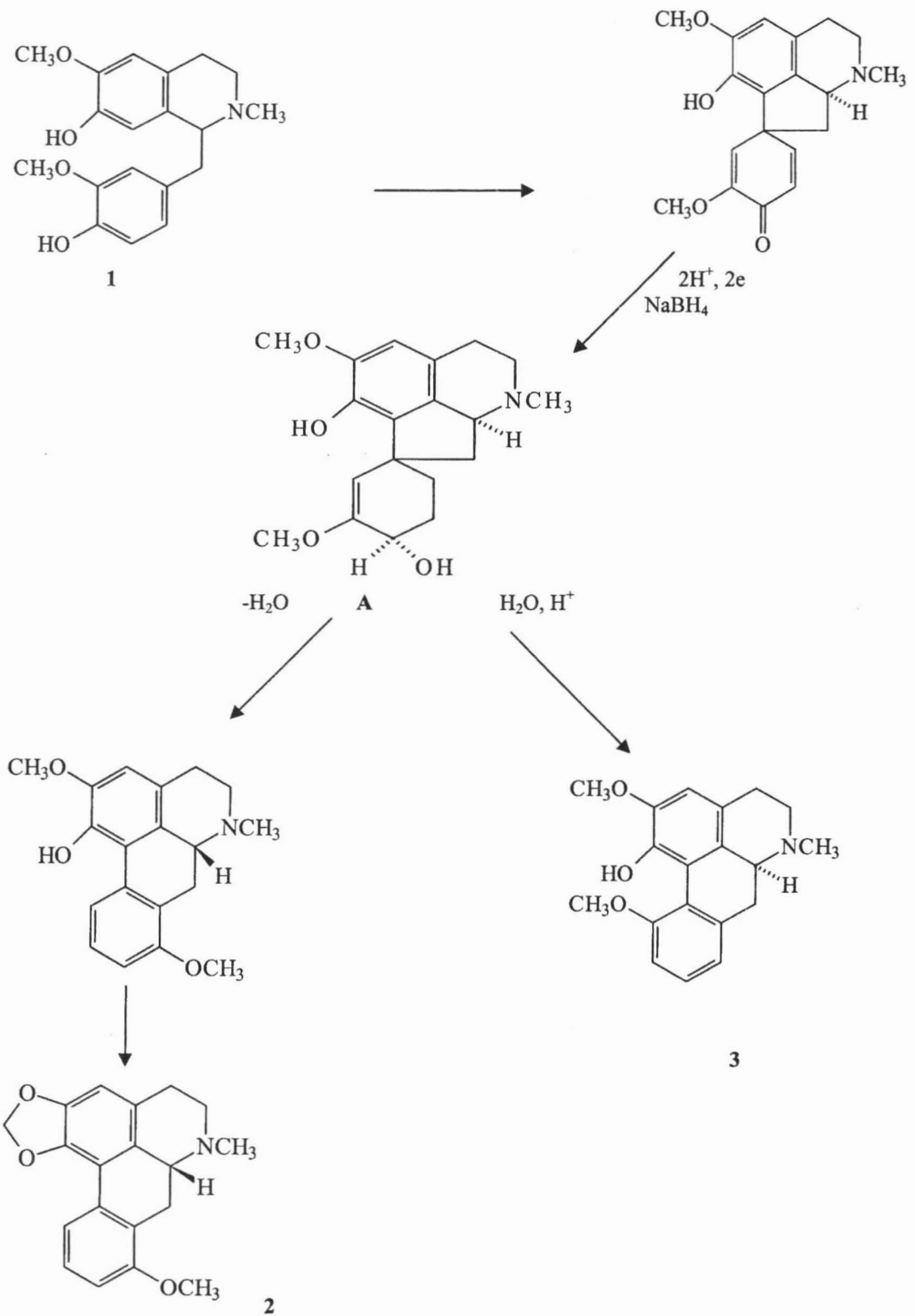
Alkaloid aporfina dibiosintesis dari tetrahidroisokuinolina fenolik samada daripada tindakbalas penggandingan oksidasi secara terus atau secara tak langsung dari mekanisma yang melibatkan perantaraan dienon. Proses penggandingan oksidasi secara terus berlaku samada dalam kedudukan orto-para atau orto-orto. Contoh bagi biosintesis aporfina melalui proses penggandingan oksidasi secara terus dilihat dalam penghasilan (-)-isotobaina 1 dan stefanina 2 (Rajah 1.3). Sejak tahun 1963, banyak contoh yang melibatkan penyusunan bermangkinkan asid dalam penghasilan struktur aporfina yang telah dicadangkan bagi membuktikan hubungkait biogenetik bagi aporfina dan terbitan-terbitannya yang terbentuk secara semulajadi. Ianya telah banyak memberi manfaat dalam kemotaksonomi tumbuhan dan penghasilan ubat-ubatan sintetik bagi tujuan komersial. Pemencilan alkaloid daripada famili Aristolochiaceae yang dijalankan oleh para penyelidik terhadap genus Aristolochia (Wiar 2000) dan Asarum ada melaporkan penemuan oksoaporfina (Pelletier, 1983)



Rajah 1.1 : Kerangka asas aporfina



Rajah 1.2 : Terbitan aporfina



Rajah 1.3 : Carta alir tindakbalas penggantian pengoksidaan secara terus dalam penghasilan aporfina.

BAHAN DAN KAEDAH

Pengekstrakan dan pemencilan komponen-komponen daripada ekstrak kloroform akar *Thottea corymbosa* (ACB) :

1.1 Kromatografi Turus Kilat Kering keatas ACB

Ekstrak mentah kloroform, ACB (9.18 g) berwarna kuning tua yang bersifat toksik menunjukkan nilai LC_{50} ~188 ppm melalui ujian kematian anak udang. Pemonitoran dengan KLN menggunakan sistem pelarut heksana:etil asetat (1:1, v/v) menunjukkan ia mengandungi enam komponen major bersifat pendarflor pada panjang gelombang maksimum. Pemfraksian dengan kromatografi turus kilat kering dilakukan bagi mempermudah proses pemencilan komponen-komponen. Pemisahan kromatografi turus kilat kering ACB menggunakan sistem pelarut gabungan heksana, etil asetat dan metanol dengan keketuban meningkat.

1.2 Penulenan Fraksi ACB3

ACB3 (1.8 g) ialah fraksi gabungan setelah pengelusan menggunakan etil asetat 100 % dan metanol 100 % dan mempunyai nilai LC_{50} ~ 45.3 ppm. Analisa KLN menunjukkan fraksi ini mempunyai empat komponen major dan tiga komponen minor. Pemisahan dan penulenan dilakukan melalui kaedah kromatografi turus (50 cm), kromatografi turus mikro dan kromatografi lapisan nipis preparatif. Sistem pelarut gabungan heksana, etil asetat dan metanol digunakan sebagai pengelusi. AC6 diperolehi daripada hasil elusi etil asetat.

Sefaradion-A. AC6 (25 mg), hablur oren. KLN (gel silika) dengan sistem pelarut etil asetat: MeOH (9: 1, v/v), R_f 0.82. KG dengan $t_R = 45.87$ min. SJ m/z 305 [M^+ , $C_{18}H_{11}NO_4$], 277 [$M-CO$] $^+$, 260, 248, 163. RMN- 1H , δ : 8.97 (1H, m, H11), 8.12 (1H, s, H3), 7.87 (1H, m, H8), 7.67 (2H, m, H9, H10), 7.48 (1H, s, H7), 6.44 (3H, s, OCH_2O), 3.84 (3H, s, NCH_3).

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

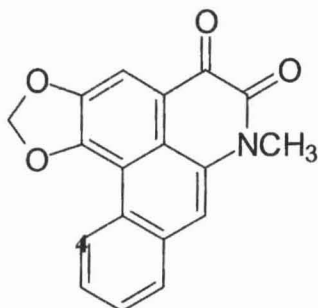
AC6 (25 mg) diperolehi daripada kromatografi turus dengan padatan gel silika terhadap ACB3 dengan pengelusi etil asetat 100 %. Ia merupakan komponen major yang keempat berjaya dipencilkan daripada fraksi kloroform. AC6 adalah hablur jejarum oren yang memberikan nilai R_f 0.82 di dalam sistem pelarut etil asetat: metanol, (9: 1, v/v). Apabila dianalisis di bawah cahaya ultralembayung pada panjang gelombang 346 nm, bintik berwarna oren terang diperhatikan manakala warna bintik berubah ke jingga bila disemur dengan reagen Dragendroff menunjukkan komponen adalah suatu alkaloid. Kromatografi gas bagi AC6 mempamerkan satu puncak pada t_R 45.87 min menunjukkan bahawa sebatian ini tulen sepenuhnya.

Spektrum UL menunjukkan serapan antara 372, 412 dan 498 nm iaitu corak serapan suatu aporfina. Spektrum jisim menunjukkan ion molekul pada 305 bersesuaian dengan formula molekul $C_{18}H_{11}NO_4$. Puncak asas pada m/z 277 adalah disebabkan kehilangan kumpulan NCH_3 daripada molekul. Ringkasan pemecahan ion adalah seperti dalam Jadual 1.1.

Spektrum RMN- 1H memberikan dua puncak singlet; satu daripadanya teranjak pada medan rendah iaitu δ 8.12 yang merupakan ciri bagi H3 dalam gelang A suatu dioksoaporfina. Proton singlet yang kedua pada δ 7.48 yang teranjak pada medan lebih tinggi merupakan H7 di dalam kerangka tersebut. Dua proton bagi kumpulan metilena dioksi ditunjukkan oleh puncak singlet pada δ 6.44 membuktikan C1 dan C2 dalam gelangan A telah berikatan. Proton-proton lain yang memberi puncak multiplet adalah pada δ 8.97 (1H, m), δ 7.87 (1H, m), δ 7.67 (2H, m) dan satu puncak singlet yang mewakili 3H dilihat pada δ 3.84. Perbandingan data dengan kajian-kajian lepas menunjukkan masing-masing mewakili H11, H8, H9 dan H10 manakala 3H mewakili kumpulan CH_3 yang berikatan dengan atom nitrogen di dalam gelangan dioksoaporfina yang amat menghampiri nilai RMN- 1H bagi Sefaradion-A. Data perbandingan antara proton-proton AC6 terhadap sefaradion -A dilihat dalam Jadual 1.2.

Spektrum COSY 1H - 1H dapat menentukan interaksi proton-proton di dalam AC6. Proton-proton di dalam kawasan δ 8.97 (1H, m), δ 7.87 (1H, m), δ 7.67 (2H, m) dan satu puncak singlet yang mewakili 3H dilihat pada δ 3.84. Proton-proton di dalam kawasan aromatik menunjukkan interaksi yang jelas di

mana H11 berinteraksi dengan H-9, 10 dan H8 juga menunjukkan interaksi dengan H-9, 10. Keempat-empat proton aromatik ini merupakan proton gelangan D bagi nukleus aporfina (Katsui & Sato 1966). H3 dan H7 tidak menunjukkan sebarang interaksi dengan proton yang lain kerana tiada jiran yang dapat memberikan kesan resonans terhadap kedua-duanya. Berasaskan data spektroskopi dan data literatur, AC6 dicadangkan sebagai sefaradion -A iaitu alkaloid 4, 5 -dioksoaporfina yang pernah dilaporkan hadir di dalam beberapa spesies *Aristolochia*. 4, 5 -dioksoaporfina berkemungkinan terhasil daripada pengoksidaan aporfina dan berfungsi sebagai perantara di dalam biosintesis aristolaktam.



Jadual 1.1 : Data pecahan ion AC6 berbanding dengan sefaradion-A (Chiang et al. 1998).

m/z	% kelimpahan relatif	
	AC6	Sefaradion-A
305[M ⁺]	87.5	61
277[M-NCH ₃] ⁺	100	100
260[M-NCH ₃ -O] ⁺	20	21
248[M-NCH ₃ -CO] ⁺	15	15
219[M-NCH ₃ -2CO] ⁺	10	11
207	17.5	18

Jadual 1.2 : Data anjakan kimia RMN-¹H bagi AC6 (400 MHz) berbanding dengan sefaradion-A (250 MHz) (Chiang et al. 1998).

Proton	AC6 (CDCl ₃)	Sefaradion-A (DMSO- <i>d</i> ₆)
H3	8.12, 1H, s	7.98, 1H, s
H7	7.51, 1H, s	7.91, 1H, s
H8	7.89, 1H, m	8.10, 1H, m
H-9, 10	7.67, 2H, m	7.71, 2H, m
NCH ₃	3.84, 3H, s	3.84, 3H, s
H11	8.97, 1H, m	8.96, 1H, m
-OCH ₂ O-	6.44, 2H, s	6.57, 2H, s

PENGHARGAAN

Jutaan terima kasih kepada Yayasan Felda yang menyumbangkan geran penyelidikan (kod D/12/2000) dan UiTM Pahang kerana galakan yang diberikan atas setiap aktiviti penyelidikan yang dijalankan.

RUJUKAN

- Chen, Z. L. & Zhu, D. Y. (1987). *The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology*. Jil. 31 Ed. A. Brossi. London: Academic Press.
- Chiang C.Y., Leu, Y.L., Chan, Y. Y. & Wu, T. S. (1998). Sodium aristolochates from the flowers and fruits of *Aristolochia zollingeriana*. *J. Chin. Chem. Soc.* **45**: 93-97.
- Pelletier, S. W. (1983). *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. Jil. I. New York: John Wiley and Sons.
- Katsui, N. & Sato, K. (1966). Alkaloids of *Lysichiton camtschaticense* Schott Var. *Japonicum* Makino. *Tetrahedron Letters* **50**: 6257 –6261.
- Shamma, M. (1972). *Isoquinoline Alkaloids: Chemistry and Pharmacology*. New York and London: Plenum Press.
- Wiar, C. (2000). *Medicinal Plants of Southeast Asia*. Kuala Lumpur: Pelanduk Publications.