

được GB.Bu-01 là: 3-O- β -D-glucopyranosyl-20-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 6)- α -L-arabinopyranosyl]-3 β ,12 β ,20 β -trihydroxydammar-24-en.

Đây là công bố đầu tiên về dammaran saponin phân lập từ loài *Gynostemma burmanicum* King ex Chakrav. (giáo cổ lam Miến Điện) thu hái ở Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

1. Phạm Thanh Kỳ, Vũ Đức Cảnh, Phạm Thanh Hương, Nguyễn Kim Phượng (2007). "Nghiên cứu tác dụng hạ cholesterol máu của dược liệu giáo cổ lam - *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino." *Tạp chí Dược học*, số 373, tháng 5/2007, tr. 9-10.

2. Phạm Thanh Kỳ, Phan Thị Phi Phi, P. T. T. Anh (2007). "Nghiên cứu tác dụng lắng đọng ứng miễn dịch của dược liệu giáo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino)." *Tạp chí Thông tin Y Dược*, 5, tr. 35-38.

3. Phạm Thanh Kỳ, Phạm T. Hương, T. L. V. Hiền (2007). "Nghiên cứu tác dụng ức chế khối u của saponin chiết từ giáo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino)." *Tạp chí Thông tin Y Dược*, 11.

4. Phạm Thanh Kỳ (2006). *Thực tập Dược liệu (phần hóa học)*.

5. Cho. Lee., et al. (2010). "Physicochemical characterization and NMR assignments of ginsenosides Rb1, Rb2, Rc, and Rd isolated from *Panax ginseng*". *J. Ginseng Res.*, Vol 34, No. 2, pp. 113-121.

(Ngày nhận bài: 06/07/2016 - Ngày duyệt đăng: 01/09/2016)

Các hợp chất triterpenoid từ cây bực nâu (*Mallotus mollissimus* (Geisel.) Airy-Shaw)

Phan Minh Giang*, Ngộ Thị Thu Huyền, Phan Tổng Sơn
Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
*E-mail: phanminhgiang@yahoo.com

Summary

*Taraxerol, taraxerone, epitaraxerol, oleanolic acid and β -sitosterol were isolated for the first time from the leaves of *Mallotus mollissimus* (Geisel.) Airy-Shaw (Euphorbiaceae). The compounds were extracted from the leaves into a methanol extract and isolated here from through liquid - liquid extraction and column - chromatographic techniques. Their structures were determined by using spectroscopic methods (IR, MS, NMR)*

Keywords: *Mallotus mollissimus*, Euphorbiaceae, triterpenoid, taraxerane.

Đặt vấn đề

Chi *Mallotus* (họ Euphorbiaceae) có sự đa dạng sinh học và cấu trúc hóa học. Phạm Hoàng Hộ (năm 1999) đã thống kê 33 loài *Mallotus* của Việt Nam^[1]. Các nghiên cứu trong khoảng 30 năm cho thấy các loài *Mallotus* sinh tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp thuộc các nhóm terpenoid, steroid, flavonoid, benzopyran, coumarinolignoid và phenolglycosin; các chất này có một phổ rộng các hoạt tính sinh học hữu ích như chống ung thư, bảo vệ gan, chống oxy hóa ...^[2]. Nhiều loài *Mallotus* là các cây thuốc cổ truyền do đó các hợp chất trong các cây *Mallotus* của Việt Nam rất được chú ý nghiên cứu như các loài ba bét trắng (*M. apelta*), ba bét nhàn (*M. glabriusculus*), bùm bực nâu (*M. paniculatus*), ba bét đỏ (*M. metcalfeanus*), ruồi khế (*M. plicatus*), cánh kiến (*M. philippensis*), ba bét lùn (*M. nanus*), bùm bực gai (*M. barbatus*) và bùm bực bóng to (*M. macrostachyus*)^[3].

Cây bực nâu (*M. mollissimus* (Geisel.) Airy-Shaw, syn. *M. ricinoides* (Pers.) Müll.-Arg.) của Việt Nam chưa được nghiên cứu về thành phần hóa học nhưng đã có một số công bố về hoạt tính chống oxy hóa và kháng ký sinh trùng Leishmania của *M. mollissimus*^[4,5]. Bài báo này lần đầu tiên công bố các kết quả phân lập và xác định cấu trúc của 4 chất triterpenoid và β -sitosterol từ lá cây bực nâu.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Phương pháp và thiết bị

Phổ hồng ngoại (IR) được ghi trên thiết bị Impact-410-Nicolet FT-IR spectrometer. Phổ khối lượng phun điện tử (ESI-MS) được ghi trên hệ thống LC/MSD Trap Agilent Series 1100. Các phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (¹H-NMR, 500 MHz) được ghi trên thiết bị Bruker Avance 500 với tetrametylsilan (TMS) là chất chuẩn nội zero ($\delta = 0$). Độ chuyển dịch hoá học δ được biểu thị bằng ppm, J tính theo Hz. Sắc ký lớp mỏng

● Nghiên cứu - Kỹ thuật

được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Aluofolien 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, CHLB Đức) với lớp silica gel dày 0,2 mm trên nền nhôm. Phát hiện vết chất bằng thuốc thử vanilin/H₂SO₄ đặc 1%. Sắc ký cột (CC, FC và Mini-C) được thực hiện trên chất hấp phụ silica gel (Merck, Darmstadt, CHLB Đức) với các cỡ hạt 63-200, 40-63 và 15-40 µm.

Nguyên liệu thực vật

Nguyên liệu thực vật là lá cây bực nâu (*M. mollissimus* (Geisel.) Airy-Shaw) được thu thập vào tháng 7 năm 2013 ở xã Kim Linh, huyện Vij Xuyên, tỉnh Hà Giang, giám định bởi nhà thực vật học Sa Nhật Tâm (Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Hà Giang).

Chiết và phân lập

Lá được phơi khô trong bóng râm, sau đó được sấy tiếp trong tủ sấy ở nhiệt độ 40-50 °C. Mẫu khô được nghiền thành bột mịn. Bột lá khô cây bực nâu (2 kg) được ngâm chiết trong methanol ở nhiệt độ phòng 5 lần, mỗi lần 3 ngày. Dịch chiết methanol được cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được phần chiết methanol. Phần chiết này được hòa trong nước cất và chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần từ *n*-hexan và diclometan thu được các dịch chiết tương ứng. Sau khi được làm khan bằng Na₂SO₄, các dịch này được cất loại dung môi dưới áp suất giảm cho các phần chiết *n*-hexan (157,9 g) và diclometan (40 g).

40 g phần chiết *n*-hexan được phân tách bằng sắc ký cột thường (CC) trên silica gel, rửa giải với hệ dung môi gradient *n*-hexan-aceton 90:1, 49:1, 19:1, 15:1, 12:1, 9:1, 6:1, 3:1, 1:1, cho 15 nhóm phân đoạn. Nhóm phân đoạn 3 (0,23 g) được phân tách bằng sắc ký cột tinh chế (Mini-C) trên silica gel với hệ dung môi gradient *n*-hexan-ethyl acetat 19:1, 3:1 cho chất 1 (2,9 mg). Nhóm phân đoạn 4 (0,34 g) được phân tách bằng Mini-C trên silica gel với hệ dung môi *n*-hexan-aceton 19:1, 9:1 và tinh chế tiếp bằng Mini-C trên silica gel với hệ dung môi *n*-hexan-ethyl acetat cho chất 2 (4,8 mg). Nhóm phân đoạn 10 (1,8 g) được phân tách nối tiếp bằng CC và Mini-C trên silica gel với hệ dung môi *n*-hexan-ethyl acetat 30:1 cho chất 3 (5 mg). 40 g phần chiết diclometan được phân tách CC trên silica gel, rửa giải với hệ dung môi gradient *n*-hexan-aceton 29:1, 19:1, 9:1, 6:1, 3:1, 1:1 cho 12 nhóm phân đoạn. Nhóm phân đoạn 1 (0,8 g) được phân tách Mini-C trên silica gel với hệ dung môi gradient *n*-hexan-ethyl acetat 99:1, 50:1, 19:1 cho chất 4 (7 mg). Nhóm phân đoạn 3

được kết tinh trong dung môi chạy cột ở nhiệt độ phòng cho chất 5 (5 mg).

Kết quả và thảo luận

Phần chiết methanol lá cây bực nâu được phân bố lần lượt giữa H₂O và *n*-hexan, CH₂Cl₂ để cho các phần chiết tương ứng. Các phần chiết này được phân tách bằng sắc ký cột gradient (CC và Mini-C) cho 4 chất triterpenoid 1, 3-5 và β-sitosterol (2). β-Sitosterol (2) được nhận dạng bằng cách so sánh TLC phân tích và phổ IR với chất chuẩn. Các hợp chất triterpenoid được xác định cấu trúc bằng phổ khối lượng (ESI-MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và so sánh các giá trị phổ với của các chất được công bố.

Taraxerol (1): Bột vô định hình màu trắng.

$R_f = 0,35$ (TLC, silica gel, *n*-hexan-EtOAc 9:1, v/v). ESI-MS (chế độ dương): m/z 427,3 ([M+H]⁺) (C₃₀H₅₁O), 409,2 ([M+H-H₂O]⁺). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) 0,8 (3H, s, 23-CH₃), 0,82 (3H, s, 28-CH₃), 0,91 (6H, s, 27-CH₃, 30-CH₃), 0,93 (3H, s, 24-CH₃), 0,95 (3H, s, 29-CH₃), 0,98 (3H, s, 25-CH₃), 1,09 (3H, s, 26-CH₃), 3,19 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 4,5 Hz, H-3), 5,53 (1H, dd, $J = 8,0$ Hz, 3,0 Hz, H-15).

β-Sitosterol (2): Tinh thể hình kim màu trắng.

$R_f = 0,44$ (TLC, silica gel, *n*-hexan-EtOAc 4:1, v/v). IR: (ν_{max} , cm⁻¹) 3433, 1644, 1464, 1378, 1057.

Acid oleanolic (3): Bột vô định hình màu trắng. $R_f = 0,28$ (TLC, silica gel, *n*-hexan-EtOAc 9:1, v/v). ESI-MS (chế độ dương): m/z 457,2 ([M+H]⁺) (C₃₀H₄₉O₃), 439,2 ([M+H-H₂O]⁺). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) 0,76 (3H, s, 26-CH₃), 0,78 (3H, s, 29-CH₃), 0,9 (3H, s, 25-CH₃), 0,91 (3H, s, 29-CH₃), 0,93 (3H, s, 30-CH₃), 0,99 (3H, s, 24-CH₃), 1,14 (3H, s, 27-CH₃), 2,83 (1H, dd, $J = 13,5$ Hz, 4,0 Hz, H-18), 3,22 (1H, dd, $J = 11,0$ Hz, 4,5 Hz, H-3), 5,27 (1H, t, $J = 3,5$ Hz, H-12).

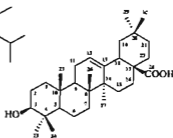
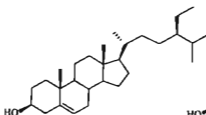
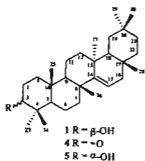
Taraxeron (4): Bột vô định hình màu trắng. $R_f = 0,32$ (TLC, silica gel, *n*-hexan-EtOAc 9:1, v/v). ESI-MS (chế độ dương): m/z 425,2 ([M+H]⁺) (C₃₀H₄₉O), 407,2 ([M+H-H₂O]⁺). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) 0,83 (3H, s, 28-CH₃), 0,91 (3H, s, 30-CH₃), 0,92 (3H, s, 27-CH₃), 0,96 (3H, s, 29-CH₃), 1,07 (3H, s, 26-CH₃), 1,08 (3H, s, 24-CH₃), 1,09 (3H, s, 25-CH₃), 1,14 (3H, s, 23-CH₃), 2,37 (1H, ddd, m, H-2a), 2,57 (1H, ddd, m, H-2b), 5,56 (1H, dd, $J = 8,5$ Hz, 3,0 Hz, H-15).

Epitaraxerol (5): Bột vô định hình màu trắng. $R_f = 0,37$ (TLC, silica gel, *n*-hexan-(CH₂)₂CO 4:1, v/v). ESI-MS: m/z 427,2 ([M+H]⁺) (C₃₀H₅₁O), 409,2 ([M+H-H₂O]⁺). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) 0,82 (3H, s, 24-CH₃), 0,86 (3H, s, 28-CH₃),

● Nghiên cứu - Kỹ thuật

0,92 (6H, s, 27-CH₃, 30-CH₃), 0,94 (3H, s, 23-CH₃), 0,95 (6H, s, 25-CH₃, 29-CH₃), 1,09 (3H, s,

26-CH₃), 3,39 (1H, s br, H-3), 5,52 (1H, dd, *J* = 8,5 Hz, 3,0 Hz, H-15).



Phổ *ESI-MS* của 1 cho pic ion giá phân tử ở *m/z* 427,3 ($[M+H]^+$) và pic ở *m/z* 409,2 ($[M+H-H_2O]^+$) giả thiết một công thức phân tử C₃₀H₅₀O của một hợp chất triterpenoid. Tính toán sự thiếu hụt hydro cho thấy 1 có thể là một triterpenoid năm vòng có một nối đôi trong phân tử. Phổ *¹H-NMR* (CDCl₃) của 1 xác định các tín hiệu cộng hưởng từ proton của 8 nhóm methyl bậc ba ở δ_H 0,8 (3H, s), 0,82 (3H, s), 0,91 (6H, s), 0,93 (3H, s), 0,95 (3H, s), 0,98 (3H, s) và 1,09 (3H, s), một nhóm oxymethin ở δ_H 3,19 (1H, dd, *J* = 11,5 Hz, 4,5 Hz) và một proton olefinic của một nối đôi thế ba lần ở δ_H 5,53 (1H, dd, *J* = 8,0 Hz, 3,0 Hz). Nhóm hydroxy được giả thiết là ở vị trí C-3 xuất phát từ dữ kiện phổ *¹H-NMR* (δ_H 3,19, dd) và sự phát sinh sinh vật của các triterpenoid đi từ squalen-2,3-oxid. Các dữ kiện phổ *¹H-NMR* của 1 hoàn toàn phù hợp với phổ của taraxerol từ *Myrica rubra* [9]. Hoá lập thể 3β của nhóm hydroxy đã được xác định nhờ hằng số tương tác lớn diaxial của H-3 (*J* = 11,5 Hz).

Công thức phân tử C₃₀H₄₈O₃ của 3 được giả thiết từ phổ *ESI-MS* qua pic ion giá phân tử ở *m/z* 457,2 ($[M+H]^+$) và pic ở *m/z* 439,2 ($[M+H-H_2O]^+$). Phổ *¹H-NMR* (CDCl₃) của 3 chỉ ra sự có mặt của 7 nhóm methyl bậc ba ở dạng singlet ở δ_H 0,76 (3H), 0,78 (3H), 0,9 (3H), 0,91 (3H), 0,93 (3H), 0,98 (3H) và 1,14 (3H), một nhóm oxymethin ở δ_H 3,22 (1H, m) và một proton olefinic ở δ_H 5,27 (1H, t, *J* = 3,5 Hz). Các tín hiệu này phù hợp với một chất oleanan C₃₀ có một nhóm methyl bị oxy hóa thành nhóm acid carboxylic. Nhóm hydroxy được giả thiết liên kết vào C-3 từ sự phát sinh sinh vật của các chất oleanan từ squalen qua squalen oxid. Nhóm này được định hướng 3β do hằng số tương tác *J* = 11,0 Hz của hai proton diaxial H-2/H-3. So sánh phổ của 3 với phổ của các chất oleanen-12-en trong các tài liệu tham khảo đã xác định được cấu trúc của chất này là acid oleanolic [9].

Phổ *ESI-MS* của 4 cho một pic ion giá phân tử ở *m/z* 425,2 ($[M+H]^+$) và pic ở 407,2 ($[M+H-H_2O]^+$)

cho giả thiết về công thức phân tử C₃₀H₄₈O của một triterpenoid. Phổ *¹H-NMR* (CDCl₃) của 4 cho thấy sự có mặt của các tín hiệu cộng hưởng từ proton của 8 nhóm methyl singlet ở δ_H 0,83 (3H, s), 0,91 (3H, s), 0,92 (3H, s), 0,96 (3H, s), 1,07 (3H, s), 1,08 (3H, s), 1,09 (3H, s) và 1,14 (3H, s) và một proton olefinic của một nối đôi thế ba lần ở δ_H 5,56 (1H, dd, *J* = 8,5 Hz, 3,0 Hz). Tính toán sự thiếu hụt hydro cho thấy đây là một triterpenoid năm vòng có một nối đôi thế ba lần và một nhóm carbonyl trong phân tử. Hai proton ở δ_H 2,37 (1H, m) và 2,57 (1H, m) cộng hưởng ở các tần số của các proton ở các vị trí liên kề với một nhóm carbonyl, do đó mảnh cấu trúc -CO-CH₂-CH₂- đã được thiết lập. Trên cơ sở các dữ kiện phổ *MS* và *NMR* 4 đã được xác định là taraxeron [9].

Phổ *ESI-MS* của chất 5 cho một pic ion giá phân tử ở *m/z* 427,2 ($[M+H]^+$) và pic ở *m/z* 409,2 ($[M+H-H_2O]^+$) giả thiết công thức phân tử C₃₀H₅₀O của một triterpenoid. Phổ *¹H-NMR* (CDCl₃) của 5 xác định các tín hiệu cộng hưởng từ proton của 8 nhóm methyl bậc 3 ở δ_H 0,82 (3H, s), 0,86 (3H, s), 0,92 (6H, s), 0,94 (3H, s), 0,95 (6H, s) và 1,09 (3H, s), một nhóm oxymethin ở δ_H 3,39 (1H, s br) và một proton olefinic của một nối đôi thế ba lần ở δ_H 5,52 (1H, dd, *J* = 8,5 Hz, 3,0 Hz). Các dữ kiện phổ này tương tự như của chất 1, tuy nhiên sự khác biệt ở hằng số tương tác nhỏ giữa H-2 và H-3 (s br), cho thấy H-3 ở vị trí equatorial. Các dữ kiện phổ *¹H-NMR* của 5 phù hợp với phổ của epitaraxerol được phân lập từ lá cây *Mallotus apelta* [10].

Kết luận

Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 4 hợp chất triterpenoid là taraxerol, acid oleanolic, taraxeron, epitaraxerol và β-sitosterol từ lá cây bực nâu (*Mallotus mollissimus* (Geisel.) Airy-Shaw). Sự phát hiện các chất taraxeran đặc biệt là các epime taraxerol/epitaraxerol có thể đáng chú ý về sự phân loại thực vật theo hóa học của các loài

● Nghiên cứu - Kỹ thuật

Mallotus; cặp epime này mới chỉ được phát hiện đồng thời trong *M. apelta* và *M. macrostachyus*. Các terpenoid-steroid này là các thành phần chính và có thể xác định hoạt tính sinh học của nhóm chất lipid ít phân cực trong lá cây bực nâu.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.01-2012.10.

Tài liệu tham khảo

1. Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản Trẻ, Thành phố Hồ Chí Minh.
2. C. Rivière, V. N. T. Hong, Q. T. Hong, G. Chataigne¹, N. N. Hoai, B. Dejaegher, C. Tistaert, T. N. T. Kim, Y. V. Heyden, M. C. Van, J. Quetin-Leclercq (2010), "Mallotus species from Vietnamese mountainous areas: phytochemistry and pharmacological activities", *Phytochem. Rev.*, 9, 217-253.
3. M. G. Phan, M. T. Vu, T. S. Phan (2013), "Phytochemical studies on *Mallotus barbatus*", *Chemistry of Natural Compounds*, 49, 129-130.
4. Vũ Minh Trang, Đỗ Thị Kim Huệ, Phan Tống Sơn, Phan Minh Giang (2012), "Nghiên cứu thành phần hóa học cây bùm bực gai (*Mallotus barbatus*) và cây bùm bực

bông to (*Mallotus macrostachyus*), họ Euphorbiaceae", *Tạp chí Hóa học*, 50, 466-470.

5. M. G. Phan, M. T. Vu, T. S. Phan, K. Matsunami, Hideaki Otsuka (2013), "The first occurrence of a Mallotus 3,4-seco-taraxerane triterpenoid from *Mallotus barbatus*", *Records of Natural Products*, 7, 157-160.

6. I. W. Kusuma, N. M. Sari, H. Kuspradini (2015), "Search for antimicrobial and antioxidant activities from plants used by Bentian tribe in East Kalimantan". *UNEJ Open conference system, International conference on food, agriculture, and natural resources*.

7. L. Monzote, A. Piñón, W. N. Setzer (2014), "Antileishmanial potential of tropical rainforest plant extracts", *Medicines*, 1, 32-55.

8. N. Sakurai, Y. Yaguchi, T. Inoue (1987), "Triterpenoids from *Myrica rubra*", *Phytochemistry*, 26, 217-219.

9. Z. Guvenalp, H. Ozbek, A. Kuruzum-Uz, C. Kazaz, L. O. Demirezer (2009), "Secondary metabolites from *Nepeta heliotropifolia*", *Turk. J. Chem.*, 33, 667-675.

10. V. K. Phan, V. M. Chau, T. H. Hoang, H. N. Nguyen, J. J. Lee, Y. H. Kim (2004), "Pentacyclic triterpenoids from *Mallotus apelta*", *Arch. Pharm. Res.*, 27, 1109-1113.

(Ngày nhận bài: 08/06/2016 - Ngày duyệt đăng: 01/09/2016)

Một số hợp chất phân lập từ rễ cây ba kích (*Morinda officinalis* How.) trồng ở tỉnh Quảng Ninh

Vũ Đức Lợi¹, Nguyễn Tiến Vững², Nguyễn Thị Thúy An³

¹Khoa Y Dược, ĐH Quốc gia Hà Nội

²Viện Pháp y Quốc gia

³Học viện Quân y

*E-mail: ducloi82@gmail.com

Summary

From the ethanol extracts of the roots of *Morinda officinalis* (How.) collected in Quang Ninh province, three compounds (1-3) were isolated by chromatographic methods and identified as: 12 α -Hydroxyevodol (1), friedelan-3-one (2), daucosterol (3). Their structures were elucidated by IR, MS and NMR. The compounds (1) and (2) were isolated from roots of *Morinda officinalis* (How.) for the first time.

Keywords: 12 α -Hydroxyevodol, friedelan-3-one, daucosterol.

Đặt vấn đề

Vị thuốc ba kích được lấy từ rễ phơi hay sấy khô của cây ba kích. Vị thuốc này được dùng để chữa dương ủy di tinh, phong thấp cước khí, gân cốt yếu mềm, lưng gối mỏi đau. Là một vị thuốc bổ trí não và tinh khí, ba kích còn chữa các bệnh liệt dương, xuất tinh sớm, di mộng tinh, phụ nữ kinh nguyệt không đều, bệnh phong thấp [1, 2].

Các công trình nghiên cứu hóa học về cây ba kích (*Morinda officinalis* How.) chủ yếu được tiến hành ở Trung Quốc, các kết quả nghiên cứu đã phân lập được một số thành phần trong cây chủ yếu là các anthraquinon bằng phương pháp sắc ký hiện đại [3, 7]. Một số nghiên cứu về hoạt tính sinh học cũng đã được tiến hành và kết quả chỉ ra dịch chiết ba kích có tác dụng chống viêm,