

trúc của 5 hợp chất chủ yếu bằng các phương pháp phổ (MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT, HMBC) từ cao chiết ethanol 90% thân rễ cây nghệ trắng bao gồm acid margaric (1), methyl maslinat (2), 1-O-(β-D-galactopyranosyl-2'-hydroxyditriaconta-10'-enoylamino]-8-octadecaen-1, 3, 4-triol (3), isorhamnetin (4), acid gallic (5). Đây là lần đầu tiên các hợp chất này được công bố phân lập từ cây nghệ trắng.

#### Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích (chủ biên) (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam II*, NXB Khoa Học Kỹ Thuật., tr.382.
2. Queen, Rosary Sheela X., Alex, Ramani V. (2011), Antimicrobial screening of *Polygonum barbatum* leaf extract, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 3(3), 117-118.
3. King H. K., Gupta M. K. (2012), Wound healing activity of *Polygonum barbatum* Linn. (whole plant), *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(3), 1084-1091.
4. Abdul Mazid Md., Datta B. K., Nahar L., Sarker S. D. (2011), Assessment of antitumour activity of two *Polygonum* species using potato disc assay, *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, 14(1), 37-40.
5. Queen, Rosary Sheela X., Alex, Ramani V. (2011), Pharmacognositic and phytochemical investigation on leaf of *Polygonum barbatum*, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 2(2), 174-179.
6. Mazid M. A., Datta B. K., Nahar L., Khairul Bashar S. A. M., Bachar S. C., Sarker S. D. (2011), Phytochemical studies on *Polygonum barbatum* (L.) Hara var. *barbata* (Polygonaceae), *Records of Natural Products*, 5(2), 143-146.
7. Ha T. T., Dau N. V., Dung N. T., Khoi N. M. (2014), Preliminary study on the chemical constituents from the rhizome of *Polygonum barbatum* L. in Vietnam, *Journal of Medicinal Materials- Hanoi*, 19(3), 309-312.
8. Sacchi R., Addeo F., Paolillo L. (1997), <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR of "Virgin olive oil: an overview", *Magnetic Resonance in Chemistry*, 35, 133-145.
9. Ding Y., Kinjo J., Yang C.-Y., Nohara T. (1991), "Triterpenes from *Mucuna birdwoodiana*", *Phytochemistry*, 30(11), 3703-3707.
10. Pittaya T., Yupa Pootaeng O., Photchana P., Walter C. T. (2004), Cerebrosides and a monoacylmonogalactosylglycerol from *Clinacanthus nutans*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 52(1), 27-32.
11. Bin Z., Jing R., Zhong Y. (2013), Isolation of a new cerebroside from *Codonopsis lanceolata*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 46, 26-32.
12. Eunjung L., Byoung-Ho M., Younghee P., Sungwon H., Sunhee L., Younggiu L., and Yoongho L. (2008), Effects of hydroxy and methoxy substituents on NMR data in flavonols, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 29(2), 507-510.
13. Kim J. E., Lee D. E., Lee K. W., Son J. E., Seo S. K., Li J., Jung S. K., Heo Y. S., Mottamal M., Bode A. M., Dong Z., Lee H. J. (2011), "Isorhamnetin suppresses skin cancer through direct inhibition of MEK1 and PI3-K", *Cancer Prevention Research*, 4(4), 582-591.
14. Liu J.-X., Di D.-L., Shi Y.-P. (2008), "Diversity of chemical constituents from *Saxifraga montana*", *Journal of the Chinese Chemical Society*, 55, 863-870.

*Tap chí Dược liệu, tập 20, số 6/2015 (Trang 333-336)*

## HAI HỢP CHẤT FARNESYL HYDROQUINON PHÂN LẬP TỪ NẤM LINH CHI

Phạm Thanh Bình<sup>1</sup>, Nguyễn Hải Đăng<sup>1</sup>, Trần Văn Thái<sup>1</sup>,  
Nguyễn Phương Đại Nguyên<sup>2</sup>, Nguyễn Tiến Đạt<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Tây Nguyên

\*Email: ngtiend@imbc.vast.vn

(Nhận bài ngày 14 tháng 10 năm 2015)

#### Tóm tắt

Hai hợp chất farnesyl hydroquinon đã được phân lập từ cao chiết methanol của thể quả nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*). Cấu trúc của chúng được xác định là ganomycin K (1) và ganomycin I (2) dựa vào các số liệu phổ ESI-MS, 1D và 2D NMR. Đây là lần đầu tiên các hợp chất này được phân lập từ loài *G. lucidum*.

Từ khoá: *Ganoderma lucidum*, Farnesyl hydroquinon, Ganomycin K, Ganomycin I.

#### Summary

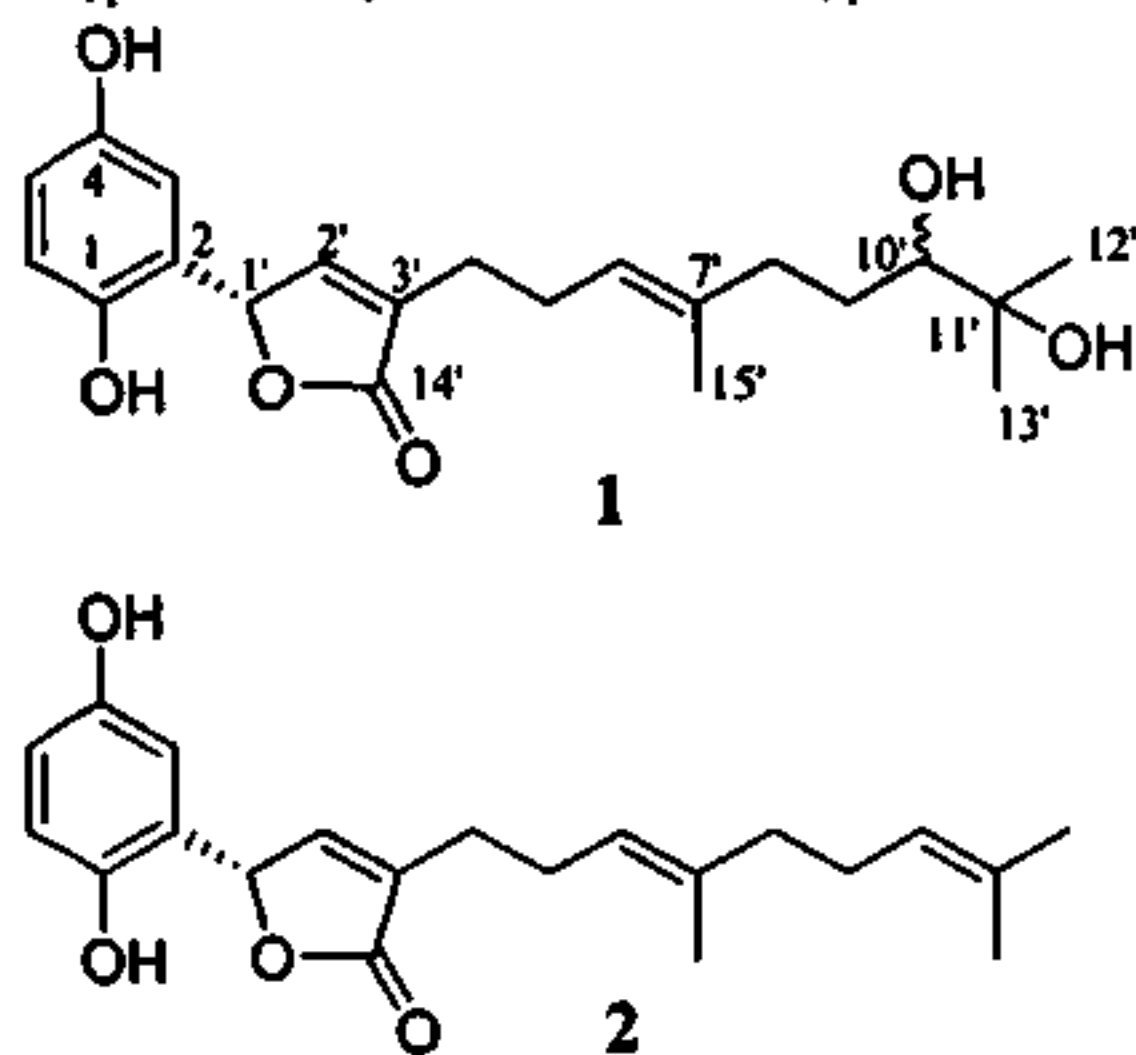
Isolation of Two Farnesyl Hydroquinones from *Ganoderma lucidum* (Leyss Ex. Fr.) Karst

Two farnesyl hydroquinones were isolated from the methanol extract of *Ganoderma lucidum* fruiting bodies. Their structures were determined as ganomycin K (1) and ganomycin I (2) by spectroscopic methods including ESI-MS, 1D and 2D NMR. These compounds were isolated for the first time from *G. lucidum*.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, Farnesyl hydroquinon, Ganomycin K, Ganomycin I.

## 1. Đặt vấn đề

Nấm linh chi có tên khoa học là *Ganoderma lucidum* (Leyss Ex. Fr.) Karst, thuộc họ Nấm lim (Ganodermataceae). Linh chi phân bố nhiều nơi ở nước ta như: Tuyên Quang, Bắc Cạn, Thái Nguyên, Tây Nguyên, Lâm Đồng và phân bố nhiều nơi trên thế giới. Đây là loại dược liệu đã được nghiên cứu nhiều về tác dụng sinh học, giúp khí huyết lưu thông, làm tăng sức cho tế bào giúp hấp thụ oxy tốt hơn, làm tăng sự miễn dịch của cơ thể và kéo dài quá trình lão hóa của cơ thể...[1]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy nấm linh chi chứa nhiều polysaccharid, steroid, triterpenoid, ngoài ra còn có các acid amin, protein, saponin, dầu béo... [2,3]. Đây là những thành phần quan trọng đóng góp vào các hoạt tính sinh học của nấm linh chi như kháng viêm, kháng khuẩn, chống oxy hóa, diệt khối u và giảm mỡ máu [3, 4]. Trong chương trình nghiên cứu các hoạt chất từ nguồn nấm dược liệu thiên nhiên Việt Nam, chúng tôi đã phân lập được hai hợp chất ganomycin K (1) và ganomycin I (2) (Hình 1) từ cao methanol của mẫu nấm linh chi (*G. lucidum*) thu thập tại Vườn Quốc gia Chu Mom Ray tỉnh Kon Tum. Bài báo này mô tả quy trình phân lập và xác định cấu trúc của hợp chất 1 và 2.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của hợp chất 1 và 2 phân lập từ nấm linh chi *G. lucidum*

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Thiết bị

Độ quay cực được xác định bằng máy JASCO P-2000 polarimeter. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân

ghi bằng máy Bruker AM 500 FT-NMR spectrometer với chất chuẩn nội là TMS. Phổ khối lượng phun mù điện tử đo trên hệ máy Agilent 1260 Series Single Quadrupole LC/MS Systems (Agilent Technologies, USA).

### 2.2. Mẫu thực vật

Thẻ quả nấm linh chi *Ganoderma lucidum* (Leyss Ex. Fr.) Karst được thu hái tại Vườn Quốc gia Chu Mom Ray tỉnh Kontum vào tháng 6/2014. Mẫu được TS. Nguyễn Phương Đại Nguyên, trường ĐH Tây Nguyên giám định tên khoa học. Mẫu tiêu bản (M-186.2014) được lưu trữ tại Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Trường Đại học Tây Nguyên.

### 2.3. Chiết và phân lập chất

Mẫu nấm sau khi thu hái về được phơi khô, xay nhỏ (850.0 g) và ngâm chiết với dung môi methanol (1.5 L × 3 lần) ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết sau đó được cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 40.0 g cặn chiết methanol. Cặn chiết này được hòa tan với nước (600 mL) rồi chiết phân đoạn lần lượt với *n*-hexan và ethyl acetat thu được các cặn chiết *n*-hexan (3.3 g) và ethyl acetat (17.5 g). Tiến hành sắc ký cặn ethyl acetat trên cột *silica gel* và rửa giải với hệ dung môi gradient (0% → 100% methanol trong diclometan) thu được 9 phân đoạn (GEB2.1 → GEB2.9). Phân đoạn GEB2.7 (2.5 g) trên cột *silica gel* pha đảo PR18 với hệ dung môi aceton-nước (1/1 v/v) thu được phân đoạn GEB5.3 (56.0 mg), từ phân đoạn này sắc ký trên cột *silica gel* với hệ dung môi rửa giải diclometan-methanol-nước (20/1/0,01 v/v/v) thu được hợp chất sạch 2 (6.1 mg) và một phân đoạn GEB9.4 (12.0 mg). Hợp chất 1 (4.0 mg) thu được khi tinh chế phân đoạn GEB9.4 bằng sắc ký lỏng bán điều chế (hệ máy Agilent 1260 Series, cột YMC J'sphere ODS-H80 kích thước 150 × 10 mm, S-4 μm, tốc độ dòng 1 ml/phút, thu mẫu ở thời gian lưu 17,5-19,1 phút).

**Ganomycin K (1):** Chất dầu màu vàng nhạt;  $[\alpha]_D^{24}$ : +12° (c 0.1, MeOH). ESI-MS (positive):  $m/z$  399  $[M+Na]^+$ .  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ),  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ): xem Bảng 1.

**Ganomycin I (2):** Chất dầu màu vàng;  $[\alpha]_D^{24}$ : +35° (c 0.1, MeOH). ESI-MS (negative):  $m/z$  341 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): xem Bảng 1.

### 3. Kết quả và thảo luận

Hợp chất 1 thu được dưới dạng dầu màu vàng nhạt. Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR trên vùng trường mạnh xuất hiện tín hiệu đặc trưng của 3 nhóm methyl tại  $\delta_H$  1.13 (3H, s, H-12'), 1.16 (3H, s, H-13'), 1.61 (3H, s, H-15'). Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu của hai proton olefin tại  $\delta_H$  5.21 (1H, br s, H-6'), 7.37 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-2'), hai proton nhóm methin tại  $\delta_H$  6.25 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz, H-1'), 3.24 (1H, m, H-10'). Hai nhóm methin này dịch chuyển về vùng thấp so với các nhóm methin thông thường do nó liên kết trực tiếp với nhóm hút điện tử mạnh, ví dụ như nhóm OH, và ba proton đặc trưng cho hệ vòng thơm ABX tại  $\delta_H$  6.48 (1H, d,  $J = 3,0$  Hz, H-3), 6.63 (1H, dd,  $J = 3,0, 8,5$  Hz, H-5), 6.70 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-6). Trên phổ <sup>13</sup>C-NMR xuất hiện tín hiệu của 21 nguyên tử carbon bao gồm 3 nhóm methyl, 4 nhóm methylen, 7 nhóm methin và 7 carbon không

chứa hydro. Trong đó tại vùng trường yếu xuất hiện tín hiệu một nhóm carbonyl tại  $\delta_C$  176.8 (C-14'), 4 tín hiệu carbon của 2 cặp nối đôi dạng (-CH=C<) tại  $\delta_C$  151.0/133.2 (C-2'/C-3'), 124.1/137.8 (C-6'/C-7'). Bên cạnh đó còn xuất hiện 6 tín hiệu carbon của một vòng thơm hệ ABX tại  $\delta_C$  148.9 (C-1), 123.4 (C-2), 113.3 (C-3), 151.4 (C-4), 117.2 (C-5), 117.3 (C-6). Trên vùng trường trung bình xuất hiện một tín hiệu của hai nhóm oxygenated methin tại  $\delta_C$  79.8 (C-1'), 79.1 (C-10') và một tín hiệu carbon bậc 4 liên kết với oxy tại  $\delta_C$  73.8 (C-11'). Vùng trường mạnh xuất hiện 3 tín hiệu của các nhóm methyl tại  $\delta_C$  24.9 (C-12'), 25.6 (C-13') và 16.2 (C-15'). Trên phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính như: H-1' tương tác với C-2, 3, 2', H-3 với C-1, 5, 1', H-5 với C-1, 3, 4, H-4' với C-2', 3', 14', H-6' với C-4', 8', 15', H-10' với C-9', 11', H-12' với C-13' và ngược lại. Từ những dữ kiện phân tích trên và so sánh với tài liệu tham khảo cho thấy số liệu phổ của 1 phù hợp hoàn toàn tất cả các vị trí với hợp chất ganomycin K đã được công bố từ loài nấm *G. pfeifferi* [5].

Bảng 1. Phổ <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) và <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) của hợp chất 1 và 2

Vị trí	1		2	
	$\delta_H$ mult. ( $J =$ Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ mult. ( $J =$ Hz)	$\delta_C$
1	-	148.9	-	146.9
2	-	123.4	-	122.3
3	6.48 d (3.0)	113.3	6.58 d (3.0)	112.8
4	-	151.4	-	149.7
5	6.63 dd (3.0, 8.5)	117.2	6.65 dd (3.0, 9.0)	116.6
6	6.70 d (8.5)	117.3	6.70 d (9.0)	116.9
1'	6.25 d (1.5)	79.8	6.19 d (s)	78.7
2'	7.37 d (1.5)	151.0	7.32 d (s)	149.0
3'	-	133.2	-	132.4
4'	2.36 m	26.1	2.31 m	25.7
5'	2.32 m	26.9	2.24 m	25.6
6'	5.21 br s	124.1	5.07 m	122.5
7'	-	137.8	-	136.7
8'	2.26 m, 2.03 m	37.7	1.95 m	39.5
9'	1.70 m, 1.34 m	30.7	2.02 m	26.5
10'	3.24 m	79.1	5.07 m	124.1
11'	-	73.8	-	131.4
12'	1.13 s	24.9	1.62 s	25.2
13'	1.16 s	25.6	1.57 s	17.6
14'	-	176.8	-	175.6
15'	1.61 s	16.2	1.55 s	16.0

Hợp chất 2 thu được dưới dạng dầu màu vàng. So sánh dữ liệu phổ hợp chất này với hợp chất 1 cho thấy có sự tương đồng về cấu trúc lớp chất farnesyl hydroquinone [5]. Trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  trên vùng trường mạnh cũng xuất hiện tín hiệu đặc trưng của 3 nhóm methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1.55 (3H, s, H-15'), 1.57 (3H, s, H-13'), 1.65 (3H, s, H-12'). Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu của hai proton olefin chập tại  $\delta_{\text{H}}$  5.07 (2H, m, H-6', 10') và một proton olefin khác tại  $\delta_{\text{H}}$  7.32 (H-2'), một proton nhóm methin gắn trực tiếp với nguyên tử oxy tại  $\delta_{\text{H}}$  6.19 (H-1') và ba proton đặc trưng cho hệ vòng thơm ABX tại  $\delta_{\text{H}}$  6.70 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-6), 6.58 (1H, d,  $J = 3.0$  Hz, H-3) và 6.65 (1H, dd,  $J = 3.0, 9.0$  Hz, H-3). Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT, phân tử cũng chứa 21 nguyên tử carbon giống với hợp chất 2 bao gồm 3 nhóm methyl, 4 nhóm methylen, 7 nhóm methin và 7 carbon không chứa hydro. Trong đó tại vùng trường thấp xuất hiện tín hiệu một nhóm carbonyl tại  $\delta_{\text{C}}$  175.6 (C-14'), 6 tín hiệu carbon của 3 cặp nối đôi dạng ( $-\text{CH}=\text{C}<$ ) tại  $\delta_{\text{C}}$  149.0/132.4 (C-2'/C-3'), 122.5/136.7 (C-6'/C-7') và 124.1/131.4 (C-10'/C-11'). Bên cạnh đó còn xuất hiện 6 tín hiệu carbon của một vòng thơm hệ ABX tại  $\delta_{\text{C}}$  146.9 (C-1), 122.3 (C-2), 112.8 (C-3), 149.7 (C-4), 116.6 (C-5) và 116.9 (C-6). Trên vùng trường trung bình xuất

hiện một tín hiệu của nhóm oxygenated methin tại  $\delta_{\text{C}}$  78.7 (C-1') và vùng trường mạnh xuất hiện 3 tín hiệu của các nhóm methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  25.2 (C-12'), 17.6 (C-13') và 16.0 (C-15'). Từ những dữ kiện phân tích trên và so sánh với tài liệu tham khảo cho thấy số liệu phổ hợp chất này phù hợp hoàn toàn tất cả các vị trí với hợp chất ganomycin I đã được phân lập trước đó từ nấm *G. colossum* [6]. Hợp chất này đã được chứng minh có tác dụng ức chế enzyme HIV-1 protease với giá trị  $\text{IC}_{50} = 7,5 \mu\text{M}$  [6].

#### 4. Kết luận

Hai hợp chất ganomycin K (1) và ganomycin I (2) lần đầu tiên được phân lập từ phân đoạn cao methanol của mẫu nấm linh chi *G. lucidum* thu thập tại Vườn Quốc gia Chu Mom Ray tỉnh Kon Tum, Việt Nam. Kết quả này không những đóng góp vào việc làm rõ thành phần hóa học của loại dược liệu này mà nó còn tạo cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo về hoạt tính sinh học nhằm giải thích tác dụng chữa bệnh rất đa dạng của nấm linh chi trong dân gian.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam tài trợ (đề tài mã số VAST.UDCN.02/14-15). Nhóm nghiên cứu cảm ơn Viện Hoá học đã giúp đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR.

#### Tài liệu tham khảo

1. Võ Văn Chi. (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 1318-1319.
2. Baby S., Johnson A. J., Govindan B. (2015). Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry*, 114, 66-101.
3. Xia Q., Zhang H., Sun X., Zhao H., Wu L., Zhu D., Yang G., Shao Y., Zhang X., Mao X., Zhang L. and She G. (2014), A comprehensive review of the structure elucidation and biological activity of triterpenoids from *Ganoderma spp.* *Molecules* 19, 17478-17535.
4. Jasmina C., Jelena V., Mirjana S., Tatjana S., Jasmina G. (2014), Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate, *Journal of Ethnopharmacology*, 155, 312-319.
5. Timo H. J., Thomas J., Michael L., Ulrike L. (2013). Isolation of farnesulhydroquinones from the basidiomycete *Ganoderma pfeifferi*. *Natural Products Bioprospect* 3, 137-140.
6. Dine R. S., Ali M. Halawany E. I., Ma C. M., Hattori M. (2009). Inhibition of the dimerization and active site of HIV-1 protease by secondary metabolites from the Vietnamese mushroom *Ganoderma colossum*, *Journal Natural Products*, 72, 2019-2023.