

## VỀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA RỄ CÂY MẬT NHÂN (*EURYCOMA LONGIFOLIA* JACK.)

Nguyễn Thanh Tâm<sup>1</sup>, Trần Thị Phương Thảo<sup>1</sup>, Trần Văn Lộc<sup>1</sup>, Ngô Thị Thủy<sup>2</sup>, Nguyễn Duy Như<sup>2</sup>,  
Trần Văn Sung<sup>1\*</sup>

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

<sup>2</sup> Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Tuệ Linh

Đến Tòa soạn 15-12-2013

### Abstract

Phytochemical study of the water extract of the roots of *Eurycoma longifolia* Jack. led to the isolation of three alkaloids 9,10-dimethoxycanthin-6-one (4), 9-hydroxycanthin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (5),  $\beta$ -carboline-1-propanoic acid (6), one coumarin isoscoupletin (1) and  $\beta$ -sitosterol (3) whereas from the ethanol/water extract of the roots of this plant, six compounds were isolated including one quassinoid eurycomanol (8), glucose (7),  $\beta$ -sitosterol (3), daucosterol (2) as well as alkaloids (5) and coumarin (1). Their structures were elucidated by the mass, NMR spectroscopy and comparison with published data. Compound (1) has been isolated for the first time from this plant.

**Keywords:** *Eurycoma longifolia* Jack., alkaloids, quassinoid, eurycomanol,  $\beta$ -carboline-1-propanoic acid, 9,10-dimethoxycanthin-6-one, 9-hydroxycanthin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside.

### 1. MỞ ĐẦU

Mật nhân là cây thuốc được sử dụng trong dân gian từ rất lâu, có tên khoa học là *Eurycoma longifolia* Jack., họ Thanh Thất (Simaroubaceae). Cây mật nhân còn được gọi với những tên khác như cây bá bệnh, bách bệnh, hậu phác nam, tongkat ali (tên Malaysia)... Cây được phân bố rải rác ở các tỉnh miền Trung và miền Đông Nam Bộ. Trên thế giới, mật nhân được tìm thấy ở các nước Đông Nam Á như Thái Lan, Indonesia, Malaysia, Lào... Bộ phận dùng của cây gồm: lá, vỏ thân, quả và rễ. Tuy nhiên, theo Đông y, rễ cây mật nhân lâu năm là quý nhất. Theo kinh nghiệm dân gian, rễ chữa khí hư, huyết kém, ăn uống không tiêu, trong ngực có cục tích, gân khớp cứng, xương yếu, chữa từ thời cảm mạo, sốt rét, ngộ độc, say rượu. Vỏ cây dùng để trị các trường hợp tiêu chảy, nôn mửa, đau lưng. Quả chín ăn được, chữa ỉa, tiêu chảy. Lá nấu nước trị ghê, lở ngứa [1, 2].

Các công trình nghiên cứu khoa học cho thấy thành phần chính của cây mật nhân là các hợp chất quassinoid, triterpen, biphenyl-neo-lignan và alkaloid. Nhiều chất có hoạt tính trị sốt rét, kháng ung thư và trừ giun sán [3]. Hiện nay, cây mật nhân được khai thác theo hướng nghiên cứu ở nước ngoài để dùng làm thuốc kích dục nam (sâm ALIPAS của Mỹ). Các chất quassinoid và alkaloid được chiết xuất từ mật

nhân giúp tăng cường năng lượng hoạt động và sức bền, thúc đẩy sản xuất hormone sinh dục nam nội sinh [4]. Ở Việt Nam, sản phẩm "Viên giải độc gan Tuệ Linh" của Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Tuệ Linh được bào chế từ cây mật nhân và cả gai leo có chức năng hỗ trợ điều trị các bệnh viêm gan, tăng cường chức năng giải độc gan, giải độc rượu. Trong bài báo này, chúng tôi thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất từ dịch chiết nước và cồn/nước của rễ cây mật nhân.

### 2. THỰC NGHIỆM

#### 2.1. Phương pháp và thiết bị

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D- và 2D-NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS làm chất nội chuẩn cho <sup>1</sup>H và tín hiệu dung môi làm chuẩn cho <sup>13</sup>C-NMR. Phổ khối ESI-MS được đo trên máy Agilent LC-MSD-Trap SL. Phổ hồng ngoại IR (KBr) được ghi trên máy IMPACT-410 của hãng Nicolet. Sắc ký bản mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng silica gel Merck 60 F<sub>254</sub>. Sắc ký cột sử dụng silical gel (Merck) cỡ hạt 0.04-0.063 và 0.063-0.200 mm. Phát hiện vết chất trên lớp mỏng bằng đèn tử ngoại (UV  $\lambda$  254 nm) và thuốc thử vanillin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đặc.

## 2.2. Nguyên liệu thực vật

Mẫu rễ cây mật nhân được thu hái và định danh bởi các cán bộ của Công ty TNHH Tuệ Linh, tiêu bản được lưu tại Công ty.

## 2.3. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

1,2 kg cao chiết nước của rễ cây mật nhân (mẫu do Công ty Tuệ Linh cung cấp) được hòa tan trong nước, sau đó chiết với *n*-butanol (3x5lit). Quay cất dung môi dưới áp suất giảm thu được 110 g cặn chiết *n*-BuOH tương ứng.

500 g rễ cây mật nhân đã sấy khô được nghiền nhỏ và chiết với cồn/nước (1:1) 3 lần ở nhiệt độ 50 °C. Sau khi cất loại dung môi thu được 50 g cao chiết cồn/nước.

*Phân lập các chất từ dịch chiết nước của rễ cây mật nhân:*

50 g cặn chiết *n*-BuOH được đưa lên cột silica gel, giải hấp bằng dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (9,5:0,5-7:3) và sau đó được thêm nước vào dung môi rửa giải với tỉ lệ tăng dần từ 1-4 %, thu được 75 phân đoạn. Sắc kí lại phân đoạn 10 trên cột silica gel (dung môi rửa giải: *n*-hexan:EtOAc (9:1) thu được 43 mg chất 1. Chất rắn của phân đoạn 7 được rửa lại bằng MeOH thu được chất 3. Phân đoạn 12 được đưa lên cột Sephadex LH20, sau đó làm sạch lại trên cột silica gel (dung môi rửa giải:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  = 8:2) thu được 35 mg chất 4. Tiến hành sắc ký cột silicagel phân đoạn 35 (dung môi rửa giải:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  = 85:15) thu được 15 mg chất 5. Làm sạch lại phân đoạn 40 trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  = 85:15 thu được 28 mg chất 6.

*Phân lập các chất từ dịch chiết cồn/nước của rễ cây mật nhân:*

50 g cao chiết cồn/nước (1/1) được đưa lên cột silica gel, giải hấp bằng dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (9,5:0,5-7:3) và sau đó được thêm nước vào dung môi rửa giải với tỉ lệ tăng dần từ 1-4 %, thu được 65 phân đoạn. Phân đoạn 4 được sắc kí lại trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải: *n*-hexan: EtOAc = 9:1 thu được 21 mg chất 1 và 32 mg chất 3. Sắc kí lại phân đoạn 22 trên cột silica gel với hệ dung môi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  = 85:15 thu được 4 phân đoạn nhỏ (A1-4). Kết tinh lại phân đoạn A4 trong MeOH thu được 22 mg chất 2. Phân đoạn 28 được tách lại trên cột Sephadex LH20, rửa giải bằng MeOH thu được 5 phân đoạn (B1-5). Phân đoạn B1 được kết tinh lại trong MeOH thu được 25 mg chất 5. Phân đoạn B3-5 được làm sạch lại trên cột silica gel với hệ dung môi:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ =85:15 thu được 12 mg chất 8.

Chất rắn của phân đoạn 64-65 được kết tinh lại trong MeOH thu được 120 mg chất 7.

**Isoscoepoletin (1):** Bột vàng nhạt,  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$ , ESI-MS  $m/z$ : 193,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 191,4  $[\text{M}-\text{H}]^-$  <sup>1</sup>H-NMR: ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz),  $\delta_{\text{H}}$  (ppm),  $J$  (Hz): 7,65 (1H, d,  $J$  = 9,42, H-4), 6,88 (1H, s, H-8), 6,86 (1H, s, H-5), 6,23 (1H, d,  $J$  = 9,42, H-3), 3,92 (3H, s, 6- $\text{OCH}_3$ ).

<sup>13</sup>C-NMR: ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz),  $\delta_{\text{C}}$  (ppm),  $J$  (Hz): 162,31 (C-2), 150,64 (C-10), 149,93 (C-6), 145,00 (C-7), 143,96 (C-4), 112,21 (C-3), 111,09 (C-9), 107,96 (C-5), 103,13 (C-8), 56,18 (6- $\text{OCH}_3$ ).

**Daucosterol (2):** Bột màu trắng, các dữ liệu phổ trùng khớp với tài liệu tham khảo [5].

**$\beta$ -Sitosterol (3):** Bột màu trắng, các dữ liệu phổ trùng khớp với tài liệu tham khảo [6].

**9,10-Dimethoxycanthin-6-one (4):** Bột vàng nhạt,  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ . Phổ khối lượng ESI-MS  $m/z$ : 281,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR, xem bảng 1.

**9-Hydroxycanthin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (5):** Bột vàng nhạt  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7$ . Phổ khối lượng ESI-MS  $m/z$ : 433,4  $[\text{M}+2\text{H}_2\text{O}-\text{H}]^+$ . Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR: xem bảng 1.

**$\beta$ -Carboline-1-propanoic acid (6):** Bột vàng nhạt  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ . Phổ khối lượng ESI-MS  $m/z$ : Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR, xem bảng 2.

**Glucose (7):** Tinh thể không màu, các dữ liệu phổ trùng khớp với tài liệu tham khảo [7].

**Eurycomanol (8):** Bột vàng nhạt  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_9$ . Phổ khối lượng ESI-MS  $m/z$ : 410,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 411,9  $[\text{M}+2\text{H}]^+$ .

Phổ <sup>1</sup>H-NMR: ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz),  $\delta_{\text{H}}$  (ppm),  $J$  (Hz): 5,57 (1H, d,  $J$  = 1,11, H-18), 5,47-5,45 (2H, m, H-18, H-3), 4,74 (1H, t,  $J$  = 2,74, H-7), 4,64 (1H, s, H-15), 4,05-4,03 (1H, m, H-2), 3,98 (1H, s, H-12), 3,90-3,89 (1H, d,  $J$  = 9,00, H-30b), 3,76-3,74 (1H, d,  $J$  = 8,99, H-30a), 3,49-3,47 (1H, d,  $J$  = 7,95, H-1), 2,75 (1H, s, H-9), 2,52-2,28 (1H, m, H-5), 2,17-2,12 (1H, m, H-6a), 1,94-1,88, (1H, m, H-6b), 1,73 (3H, s, H-19), 1,26 (3H, s, H-17).

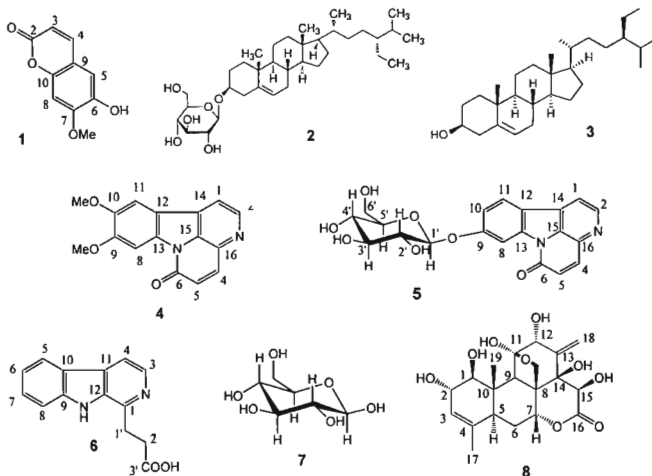
Phổ <sup>13</sup>C-NMR: ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz),  $\delta_{\text{C}}$  (ppm),  $J$  (Hz): 174,66 (C-16), 146,33 (C-13), 136,85 (C-4), 125,80 (C-3), 121,66 (C-18), 109,26 (C-11), 84,00 (C-1), 80,94 (C-12), 79,24 (C-14), 77,64 (C-15), 73,29 (C-2), 71,74 (C-7), 68,16 (C-30), 53,23 (C-8), 48,17 (C-9), 42,80 (C-10), 42,04 (C-5), 25,88 (C-6), 21,40 (C-17), 10,42 (C-19).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ dịch chiết nước của rễ cây mật nhân đã thu được 6 chất trong đó có 3 alkaloid thuộc khung canthin là 9,10-dimethoxycanthin-6-one (4), 9-hydroxycanthin-6-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (5),  $\beta$ -

carboline-1-propanoic acid (6), một coumarin isoscooletin (1) và  $\beta$ -sitosterol (3). Từ dịch chiết cồn nước đã thu được 6 chất là eurycomanol (8),  $\beta$ -D-glucose (7),  $\beta$ -sitosterol (3), daucosterol (2),

alkaloit (5), và coumarin (1). Qua tra cứu tài liệu cho thấy chất 1 lần đầu tiên được phân lập từ loài *Eurycoma longifolia* Jack..



Hình 1: Các chất phân lập được từ dịch chiết nước 1, 3, 4, 5, 6 và cồn/nước 1, 2, 3, 5, 7, 8 của rễ cây mật nhân *Eurycoma longifolia* Jack.

Chất 1 được phân lập dưới dạng bột màu vàng. Phổ khối của hợp chất này xuất hiện pic ion phân tử tại  $m/z$  193,4  $[M+H]^+$ , 191,4  $[M-H]^-$ . Phổ  $^1H$ -NMR của chất 1 xuất hiện tín hiệu của 4 proton thơm tại  $\delta_H$  7,65; 6,86; 6,88 và 6,23 ppm và một nhóm methoxy ( $\delta_H$  3,92 ppm). Phổ  $^{13}C$ -NMR cho tín hiệu của 10 cacbon trong đó có một cacbon carbonyl este mạch vòng ( $\delta_C$  162,31 ppm), 8 cacbon vòng thơm và một cacbon của nhóm methoxy ( $\delta_C$  56,18 ppm). Kết hợp phổ khối MS và phổ 1D-NMR cho thấy hợp chất này là một coumarin có công thức cấu tạo là  $C_{10}H_8O_4$ . Bằng việc kết hợp với phổ 2D-NMR (COSY, HSQC, HMBC), chất 1 được xác định là isoscooletin (có công thức cấu tạo như hình 1). Tương tác của proton H-4 ( $\delta_H$  7,65; d,  $J = 9,42$ )/H-3 ( $\delta_H$  6,23; d,  $J = 9,42$ ) được nhìn thấy rõ trên phổ COSY. Qua tra cứu tài liệu [8, 9] cho thấy rất khó phân biệt hai hợp chất isoscooletin (7-methoxy-6-hydroxy-chromen-2-one) và scooletin (7-hydroxy-6-methoxy-chromen-2-one) nếu chỉ dựa vào số liệu

phổ  $^1H$  và  $^{13}C$  NMR vì chúng tương đối giống nhau. Vị trí của nhóm thế hydroxyl và methoxy được xác định dựa vào phổ 2D-NMR. Trên phổ HMBC cho thấy tương quan giữa H-8 với C-10, C-OH (149,93), và C-OMe (145,00) và tương tác của H-5 với C-10, C-OH, C-OMe, và C-4. Trong đó có thể thấy rõ tương tác mạnh của H-8 với C-OMe và yếu với C-OH. Ngược lại H-5 lại có tương tác mạnh với C-OH và yếu với C-OMe. Qua đó có thể khẳng định nhóm thế hydroxyl được gắn với C-6 và nhóm thế methoxy được gắn với C-8. Vì vậy, hợp chất 1 có cấu trúc là 7-methoxy-6-hydroxy-chromen-2-one với tên gọi là isoscooletin. Hợp chất này khi được thử nghiệm ở nồng độ 4  $\mu g/ml$  trên 2 dòng virus viêm gan B là HBsAg và HBeAg cho hoạt tính mạnh hơn chất chuẩn là Lamivudine với cùng nồng độ [8]. Isoscooletin còn cho hoạt tính kháng khuẩn tốt tương đương với Ampicillin ở nồng độ 200  $\mu g/ml$  và đặc biệt chọn lọc với dòng vi khuẩn gram dương *Bacillus cereus* [10]. Kết quả này góp phần giải

thích cho việc sử dụng cây mật nhân trong bảo vệ gan theo kinh nghiệm dân gian.

Chất 4 thu được ở dạng chất rắn màu vàng. Phổ khối ESI-MS của 4 cho pic ion phân tử tại  $m/z = 281,3$   $[M+H]^+$  phù hợp với công thức phân tử là  $C_{14}H_{12}N_2O_3$ . Phổ  $^1H$  NMR của 4 cho các tín hiệu của 2 nhóm methoxy tại  $\delta_H$  4,09 (3H, s) và 4,04 (3H, s); phía trường thấp có 4 proton của 2 cặp tín hiệu doublet ở  $\delta_H$  8,77; 7,85 ( $J = 5,0$  Hz); 8,02; 6,96 ( $J = 10,0$  Hz) đặc trưng cho sự có mặt của vòng pyridin và lactam trong phân tử của 4. Phổ  $^{13}C$  NMR cho các tín hiệu của 2 nhóm oxymetyl; 6 nhóm metin,

bảy carbon bậc bốn, tín hiệu đặc trưng của nhóm carbonyl của amit tại  $\delta_C$  159,6. Kết hợp các dữ liệu phổ cho thấy chất 4 là một alkaloid canthin-6-one. Hai nhóm methoxy được xác định là ở vị trí C-9 và C-10 của 4 dựa vào hai tín hiệu singlet tại  $\delta_H$  8,21 (1H, s, H-8) và 7,49 (1H, s, H-11) trên phổ  $^1H$ -NMR. Từ các số liệu trên, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo [11] cho phép xác định cấu trúc của chất 4 là 9,10-dimethoxycanthin-6-one. Chất này có hoạt tính độc tế bào khá mạnh đối với dòng tế bào Fibrosarcoma HT-1080 ở người với nồng độ tác dụng  $IC_{50} = 5,0 \mu M$  [12].

Bảng 1: Số liệu phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR của chất 4, 5 và số liệu trong [11], [13]

| Vị trí | 4<br>(CDCl <sub>3</sub> )    |                 | 9,10-dimethoxy-<br>canthin-6-one<br>(CDCl <sub>3</sub> ) [11] |                 | 5<br>(DMSO-d <sub>6</sub> )       |                 | canthin-6-one 9-O- $\beta$ -<br>glucopyranoside<br>(DMSO-d <sub>6</sub> ) [13] |                 |
|--------|------------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
|        | $\delta_H$ (ppm, J/Hz)       | $\delta_C$ /ppm | $\delta_H$ (ppm, J/Hz)                                        | $\delta_C$ /ppm | $\delta_H$ (ppm, J/Hz)            | $\delta_C$ /ppm | $\delta_H$ (ppm, J/Hz)                                                         | $\delta_C$ /ppm |
| 1      | 7,85<br>(1H, d, $J = 5,0$ )  | 115,6           | 7,80<br>(1H, d, $J = 4,9$ )                                   | 115,5           | 8,21 (1H, d,<br>$J = 5,0$ )       | 114,4           | 8,15 (1H, d,<br>$J = 5,0$ )                                                    | 114,3           |
| 2      | 8,77<br>(1H, d, $J = 5,0$ )  | 145,5           | 8,76<br>(1H, d, $J = 5,4$ )                                   | 145,7           | 8,79 (1H, d,<br>$J = 5,0$ )       | 146,0           | 8,75 (1H, d,<br>$J = 5,0$ )                                                    | 145,9           |
| 3      |                              |                 |                                                               |                 |                                   |                 |                                                                                |                 |
| 4      | 8,02<br>(1H, d, $J = 10,0$ ) | 139,4           | 7,97<br>(1H, d, $J = 9,8$ )                                   | 139,6           | 8,13 (1H, d,<br>$J = 10,0$ )      | 140,1           | 8,08 (1H, d,<br>$J = 10,0$ )                                                   | 139,9           |
| 5      | 6,96<br>(1H, d, $J = 10,0$ ) | 128,8           | 6,93<br>(1H, d, $J = 9,8$ )                                   | 128,6           | 6,97 (1H, d,<br>$J = 10,0$ )      | 128,3           | 6,93 (1H, d,<br>$J = 10,0$ )                                                   | 128,2           |
| 6      |                              | 159,6           |                                                               | 159,6           |                                   | 159,0           |                                                                                | 158,9           |
| 7      |                              |                 |                                                               |                 |                                   |                 |                                                                                |                 |
| 8      | 8,21 (1H, s)                 | 100,3           | 8,17 (1H, s)                                                  | 100,3           | 8,17 (1H, d,<br>$J = 2,0$ )       | 104,6           | 8,12<br>(1H, d, $J = 2,0$ )                                                    | 104,5           |
| 9      |                              | 152,4           |                                                               | 152,3           |                                   | 159,8           |                                                                                | 159,7           |
| 10     |                              | 148,1           |                                                               | 148,0           | 7,31 (1H, dd,<br>$J = 8,5; 2,5$ ) | 116,7           | 7,27 (1H, dd,<br>$J = 8,5; 2,0$ )                                              | 116,5           |
| 11     | 7,49 (1H, s)                 | 104,1           | 7,43 (1H, s)                                                  | 104,0           | 8,29 (1H, d,<br>$J = 8,5$ )       | 124,6           | 8,23<br>(1H, d, $J = 8,5$ )                                                    | 124,4           |
| 12     |                              | 116,4           |                                                               | 116,4           |                                   | 118,3           |                                                                                | 118,2           |
| 13     |                              | 134,7           |                                                               | 134,6           |                                   | 140,0           |                                                                                | 139,9           |
| 14     |                              | 130,8           |                                                               | 130,6           |                                   | 129,5           |                                                                                | 129,3           |
| 15     |                              | 131,9           |                                                               | 131,9           |                                   | 131,9           |                                                                                | 131,8           |
| 16     |                              | 135,5           |                                                               | 135,7           |                                   | 135,4           |                                                                                | 135,3           |
| OMe-9  | 4,09 (3H, s)                 | 56,6            | 4,08 (3H, s)                                                  | 56,6            |                                   |                 |                                                                                |                 |
| OMe-10 | 4,04 (3H, s)                 | 56,5            | 4,03 (3H, s)                                                  | 56,4            |                                   |                 |                                                                                |                 |
| H-1'   |                              |                 |                                                               |                 | 5,04<br>(1H, d, $J = 8,0$ )       | 101,0           | 5,02<br>(1H, d, $J = 8,0$ )                                                    | 101,0           |
| H-2'   |                              |                 |                                                               |                 |                                   | 73,3            |                                                                                | 73,2            |
| H-3'   |                              |                 |                                                               |                 |                                   | 77,2            |                                                                                | 77,2            |
| H-4'   |                              |                 |                                                               |                 |                                   | 69,5            |                                                                                | 69,5            |
| H-5'   |                              |                 |                                                               |                 |                                   | 76,5            |                                                                                | 76,5            |
| H-6'   |                              |                 |                                                               |                 |                                   | 60,5            |                                                                                | 60,5            |

Chất 5 được phân lập được dưới dạng chất rắn màu vàng. Phổ khối ESI-MS của 5 cho pic ion âm  $m/z = 433,4$   $[M+2H_2O-H]^-$ . Từ các dữ kiện phổ khối,  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR cho thấy chất 5 có cùng cấu trúc khung với 4 và là một alkaloid canthin-6-one. Tuy nhiên nhóm thế của 2 chất này là khác nhau. Phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR của 5 không có tín hiệu của 2 nhóm thế methoxy, thay vào đó có sự xuất hiện tín hiệu của một đường glucose. Điều này được thấy rõ qua cụm tín hiệu của 5 nhóm oxymethin  $[(\delta_H 3,24-5,04)$  và  $(\delta_C 69,5-101,0)$ , tín hiệu của một nhóm oxymethylen  $[\delta_H 3,73$  (1H, ddd,  $J = 12,0$ ; 5,5; 2,0 Hz), 3,57-3,53 (1H, m);  $\delta_C 60,5$ )] cùng với tín hiệu của bốn proton của nhóm OH ở  $\delta_H 5,46-4,58$  ppm. Tín hiệu của proton anome tại  $\delta_H 5,04$  (1H, d,  $J = 8,0$ ; H-1') đặc trưng cho đường  $\beta$ -glucopyranose. Ở phía trường thấp trên phổ  $^1H$ -NMR của 5 xuất hiện dãy tín hiệu dạng ABX tại  $\delta_H 8,29$  (1H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-11), 8,17 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-8), 7,31 (1H, dd,  $J = 8,5$ ; 2,0 Hz, H-10). Từ các số liệu phổ trên

Bảng 2: Số liệu phổ  $^1H$ - và  $^{13}C$ -NMR của chất 6 và tài liệu tham khảo

| Vị trí | 6 (DMSO- $d_6$ )         |                  | Axit $\beta$ -carboline-1-propionic (DMSO- $d_6$ ) [15] |                  |
|--------|--------------------------|------------------|---------------------------------------------------------|------------------|
|        | $\delta_H$ (ppm, J/Hz)   | $\delta_C$ (ppm) | $\delta_H$ (ppm, J/Hz)                                  | $\delta_C$ (ppm) |
| 1      |                          | 140,46           |                                                         | 140,36           |
| 2      |                          |                  |                                                         |                  |
| 3      | 8,24 (1H, d, $J = 5,0$ ) | 137,33           | 8,24 (1H, d, $J = 5,0$ )                                | 137,29           |
| 4      | 7,94 (1H, d, $J = 5,0$ ) |                  | 7,94 (1H, d, $J = 5,0$ )                                |                  |
| 5      | 8,19 (d, $J = 7,5$ )     |                  | 8,13 (1H, dd, $J = 8,0$ ; 1,5)                          |                  |
| 6      | 7,60 (1H, d, $J = 8,0$ ) | 127,92           | 7,60 (1H, dd, $J = 8,0$ ; 1,5)                          | 127,77           |
| 7      | 7,23 (1H, $J = 7,5$ )    |                  | 7,21 (1H, dd, $J = 8,0$ ; 1,5)                          |                  |
| 8      | 7,54 (1H, d, $J = 7,5$ ) | 111,99           | 7,53 (1H, dd, $J = 8,0$ ; 1,5)                          | 111,89           |
| 9      |                          | 144,09           |                                                         | 144,03           |
| 10     |                          |                  |                                                         |                  |
| 11     |                          |                  |                                                         |                  |
| 12     |                          | 134,07           |                                                         | 133,98           |
| 1'     | 2,88 (2H, t, $J = 7,5$ ) | 31,39            | 2,87 (2H, t, $J = 7,5$ )                                | 31,29            |
| 2'     | 3,36 (2H, t, $J = 7,5$ ) | 28,09            | 3,34 (2H, t, $J = 7,5$ )                                | 28,04            |
| 3'     |                          | 174,20           |                                                         | 174,07           |

cho thấy đường này gắn với C-9 hoặc C-10 của 5. So sánh các dữ liệu phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR của 5 với canthin-6-one 9-O- $\beta$ -glucopyranoside trong tài liệu tham khảo [13] thấy hoàn toàn phù hợp. Như vậy, kết luận chất 5 chính là canthin-6-one 9-O- $\beta$ -glucopyranoside. Chất 5 thể hiện hoạt tính ức chế khá mạnh sự phát triển đồng tế bào ung thư phổi A-549 với giá trị  $ED_{50}$  là 4,2  $\mu g/mL$  [14].

Chất 6 được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Kết hợp dữ liệu phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR và phổ khối (ESI-MS) cho pic ion phân tử tại  $m/z = 241$   $[M+H]^+$  phù hợp với công thức  $C_{14}H_{13}N_2O_2$ . Phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR cho thấy tồn tại cấu trúc của đơn vị propionic acid và  $\beta$ -carboline trong chất 6. Nó được thể hiện rất rõ qua các tín hiệu của 1 nhóm acid ( $\delta_C 174,2$ ), 2 nhóm methylen ( $\delta_H 2,88$  (2H, t,  $J = 7,5$  Hz),  $\delta_C 31,39$ ;  $\delta_H 3,36$  (2H, t,  $J = 7,5$  Hz),  $\delta_C 28,09$ ) trên phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR. Sự xuất hiện của 2 tín hiệu doublet có tương tác *ortho* tại  $\delta_H 8,24$  (1H, d,  $J = 5,0$ ) và 7,94 (1H, d,  $J = 5,0$  Hz), đặc trưng cho các proton dị vòng thơm H-3 và H-4; 4 proton vòng thơm H-5, H-6, H-7 và H-8 ở  $\delta_H 8,19$  (1H, d,  $J = 7,5$ ), 7,60 (1H, d,  $J = 8,0$ ), 7,23 (1H,  $J = 7,5$ ), 7,54 (1H, d,  $J = 7,5$ ) của  $\beta$ -carboline đã được thấy trên phổ  $^1H$ -NMR của 6. Các dữ liệu phổ  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR của 6 hoàn toàn phù hợp với số liệu phổ của  $\beta$ -carboline-1-propionic axit ghi trong cùng dung môi [15]. Vậy cấu trúc của chất 6 chính là axit  $\beta$ -carboline-1-propionic.

Chất 8 được phân lập dưới dạng tinh thể không màu, hình kim. Phổ khối lượng ESI-MS  $m/z$ : 410,5  $[M+H]^+$ , 411,9  $[M+2H]^+$  ( $C_{20}H_{26}O_9$ ). Phổ  $^1H$ -NMR cho tín hiệu của hai nhóm methyl  $\delta_H 1,73$  (3H, s, H-19), 1,26 (3H, s, H-17), tín hiệu của một nhóm exometylen và 1 proton olephin tại  $\delta_H 5,57$  (1H, d,  $J = 1,1$ , H-18) và 5,47-5,45 (2H, m, H-18 và H-3). Ngoài ra còn xuất hiện một số tín hiệu của proton metylen mạch vòng dạng AB 2,17-2,12 (1H, m, H-6a), 1,94-1,88, (1H, m, H-6b) và 3,90-3,89 (1H, d,  $J = 9,00$ , H-30b), 3,76-3,74 (1H, d,  $J = 8,99$ , H-30a). Bên cạnh đó còn có tín hiệu của 5 proton gắn với oxo trong khoảng từ 3,47-4,74 ppm và tín hiệu của hai proton metin khác từ 2,48-2,75 ppm.

Phổ  $^{13}C$ -NMR cho tín hiệu của 20 cacbon trong đó có 2 cacbon metyl, 3 cacbon metylen, 8 cacbon metin, 7 cacbon bậc 4 trong đó có một cacbon carbonyl  $\delta_C 174,66$ . Sự hiện diện của vòng ketal (C-11-C30) được khẳng định dựa trên tín hiệu trên phổ  $^{13}C$ -NMR  $\delta_C 68,16$  (C-30) và 109,26 (C-11) và tín hiệu của hai proton hệ spin AB 3,90-3,89 (1H, d,  $J = 9,00$ , H-30b), 3,76-3,74 (1H, d,  $J = 8,99$ , H-30a). Hệ vòng  $\delta$ -lacton được xác định dựa vào phổ  $^{13}C$ -NMR với tín hiệu của  $\delta_C 71,74$  (C-7) và 174,66 (C-16). Tín hiệu của proton H-7 tại  $\delta_H 4,74$  (1H, t,  $J = 2,74$ , H-7) chứng tỏ H-7 phải là một proton  $\beta$ -equatorial.

Thêm vào đó còn thấy tín hiệu của 4 cacbon gắn với nhóm hydroxyl tại 84,00 (C-1), 80,94 (C-12), 77,64 (C-15) và 73,29 (C-2). Kết hợp các dữ liệu phổ MS và NMR cho thấy chất 8 là một quassinoid có công thức cấu tạo là  $C_{20}H_{26}O_9$ . So sánh với tài liệu tham khảo cho thấy chất 8 chính là eurycomanol. Đây là một trong những thành phần chính tạo nên vị đắng của rễ cây mật nhân. Cùng với eurycomanone, eurycomanol được biết đến là một trong hai hoạt chất chính làm tăng cường và thúc đẩy hormone sinh dục nam testosterone [4].

Các chất daucosterol (2),  $\beta$ -Sitosterol (3) và glucose (7) được so sánh với chất chuẩn và tài liệu tham khảo [5-7] thấy hoàn toàn trùng khớp.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb. Y học, 412-413 (2004).
2. Đỗ Huy Bích và CS. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, tập 1, 116-118 (2004).
3. C. H. Teh, H. Morita, O. Shirota, K. L. Chan. 2,3-Dehydro-4a-hydroxylongilactone, a novel quassinoid and two known phenyl propanoids from *Eurycoma longifolia* Jack., *Food Chemistry*, **120**, 794-798 (2010).
4. BS. Low, PK. Das, KL. Chan. *Standardized quassinoid-rich Eurycoma longifolia extract improved spermatogenesis and fertility in male rats via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis*, **145**(3), 706-14 (2013).
5. P. Akhtar, M. Ali, M. Prashad, H. Farooqi, H. N. Khan. *Phytochemical investigation of fruits of Corylus cultrina Linn*, *Journal of Phytology*, **2**(3), 89-100 (2010).
6. V. S. P. Charturvedula, I. Prakash. *Isolation of stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol the dichloromethane extract of Rubus suaveolens*, *International Current Pharmaceutical Journal*, **1**(9), 239-242 (2012).
7. J. E. Gurst. *NMR and structure of D-glucose*, *J. Chem. Educ.*, **68**(12), 1003 (1991).
8. H. Li, C. Zhou, Y. Pan, X. Gao, H. Bai, L. Zhou, Z. Chen, S. Zhang, S. Shi, J. Luo, J. Xu, L. Chen, X. Zheng, Y. Zhao. *Evaluation of Antiviral activity of compound isolated from Ranunculus sieboldii and Ranunculus sceleratus*, *Planta Med.*, **71**, 1128-1133 (2005).
9. A. Darmawan, S. Kosela, L. B. S. Kardono, Y. M. Syah. *Scopoletin, a coumarin derivative compound isolated from Macaranga gigantifolia Merr.*, *J. Applied Pharmaceutical Science*, **2**(12), 175-177 (1991).
10. A. A. Bassuony, N. M. A. Hamid. *Antibacterial coumarins isolated from Launae resedifolia*, *Journal of Chemistry (Egypt)*, 65-68 (2006).
11. K. Mitsunaga, K. Koike, T. Tanaka, Y. Ohkawa, T. Sawaguchi, T. Ohmoto. *Canthin-6-one alkaloids from Eurycoma longifolia*, *Phytochemistry*, **35**(3), 799-802 (1994).
12. K. Miyake, Y. Tezuka, S. Awale, F. Li, S. Kadota. *Canthin-6-one alkaloids and a tirucallanoid from Eurycoma longifolia and their cytotoxic activity against a human HT-1080 fibrosarcoma cell line*, *Nat. Prod. Commun*, **5**(1), 17-22 (2010).
13. T. Kanchanapoom, R. Kasai, P. Chumsri, Y. Hiraga, K. Yamasaki. *Canthin-6-one and  $\beta$ -carboline alkaloids from Eurycoma hermandiana*, *Phytochemistry*, **56**, 383-386 (2001).
14. P. -C. Kuo, L. -S. Shi, A. G. Damu, C. -H. Huang, C. -H. Ke, J. -B. Wu, A. -J. Lin, K. F. Bastow, K. -H. Lee, T. -S. Wu. *Cytotoxic and antimalarial  $\beta$ -carboline alkaloids from the root of Eurycoma longifolia*, *Journal of Natural Products*, **66**(10), 1324-1327 (2003).
15. L. Kardono, C. K. Angerhofer, S. Tsauri, K. Padmawinata, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn. *Cytotoxic and antimalarial constituents of the roots of Eurycoma longifolia*, *Journal of Natural Products*, **54**(5), 1360-1367 (1991).
16. M. Darise, H. Kohda, K. Mizutani, O. Tanaka. *Eurycomanone and Eurycomanol, quassinoid from the roots of Eurycoma longifolia*, *Phytochemistry*, **21**(8), 2091-2093 (1982).

Liên hệ: Trần Văn Sung

Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Số 18, Đường Hoàng Quốc Việt, Quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

E-mail: tranvansungvhh@gmail.com

Điện thoại: 0084-4-37564794; Fax: 0084-4-8361283.