

MỘT SỐ HỢP CHẤT CÔ LẬP TỪ CAO CHLOROFORM CỦA THÂN CÂY MẬT GẤU MAHONIA NEPALENSIS DC.

Hồ Thị Kiêm Ngân¹, Dương Trần Thiện Toàn¹, Nguyễn Thị Lan Hương²,
Nguyễn Thị Hồng Hạnh^{3*} và Nguyễn Hữu Duy Khang²

¹Học viên cao học, Trường Đại học Sài Gòn

²Trường Đại học Sài Gòn

³Trường Đại học Đồng Tháp

*Tác giả liên hệ: nthhanh@dthu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 03/02/2020; Ngày nhận chỉnh sửa: 12/5/2020; Ngày duyệt đăng: 15/5/2020

Tóm tắt

Từ dịch chiết cao chloroform thân cây mật gấu được thu hái tại Buôn Mê Thuột, Đắk Lắk, Lâm Đồng, Việt Nam, chúng tôi đã ly trích và xác định cấu trúc 3 hợp chất: 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (1); 2,3-dimethoxyphenol (2); 2-methylpyridin-3-ol (3). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều kết hợp so sánh với các tài liệu tham khảo. Các hợp chất này lần đầu tiên được tìm thấy trong thân cây *Mahonia nepalensis* DC. mọc ở Việt Nam.

Từ khóa: Cây mật gấu, dị vòng, họ Berberidaceae, *Mahonia nepalensis* DC..

COMPOUNDS ISOLATED FROM THE CHLOROFORM EXTRACT OF MAHONIA NEPALENSIS DC. TRUNK

Ho Thi Kiem Ngan¹, Duong Tran Thien Toan¹, Nguyen Thi Lan Huong²,
Nguyen Thi Hong Hanh^{3*}, and Nguyen Huu Duy Khang²

¹Post - graduate student, Sai Gon University

²Sai Gon University

³Dong Thap University

*Corresponding author: nthhanh@dthu.edu.vn

Article history

Received: 03/02/2020; Received in revised form: 12/5/2020; Accepted: 15/5/2020

Abstract

From the chloroform extract of *Mahonia nepalensis* DC. trunk, collected in BanMeThuot, DakLak, VietNam, three compounds were isolated, namely 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (1), 2,3-dimethoxyphenol (2), and 2-methylpyridin-3-ol (3). The chemical structures of these compounds were determined by 1D, and 2D-NMR spectra in comparison with the related literature. These compounds were found for the first time in *Mahonia nepalensis* DC. growing in Vietnam.

Keywords: *Mahonia nepalensis* DC., heterocyclic, Berberidaceae.

1. Đặt vấn đề

Cây Mật gấu có tên khoa học *Mahonia nepalensis* DC., họ Hoàng liên gai (Berberidaceae). Một số địa phương gọi là Hoàng bá gai, Thích hoàng liên, Tông phênh (Nguyễn Thị Mai và cs. và cs., 2009). Cây Mật gấu mọc hoang, thường gặp ở một số tỉnh vùng núi cao và mát như Cao Bằng, Hà Giang, Lai Châu, Lào Cai, Lâm Đồng. Theo kinh nghiệm dân gian, cây Mật gấu có công dụng chữa một số bệnh. Cụ thể, cây Mật gấu thường dùng chữa ho lao, sốt cơn, khạc ra máu, lưng gối yếu mỏi, chóng mặt ù tai, mất ngủ, chữa viêm ruột, tiêu chảy, kiết lị, viêm da dị ứng, viêm gan, viêm nha chu (Weicheng Hu và cs., 2016). Rễ có tác dụng làm chất giãn cơ, chất chống oxy hóa và chất chống nấm (Tian-Jye Hsieh và cs., 2004). Thân cây có tác dụng kháng viêm, kháng khuẩn, chống nấm, điều trị các bệnh về da như bệnh chàm, vẩy nến (Nguyễn Thị Mai và cs., 2009). Trên thế giới đã có những nghiên cứu về loài cây Mật gấu, cụ thể Awantika Singh và cs. (2017) đã phát hiện bằng UPLC-MS các hợp chất từ rễ cây Mật gấu, bao gồm: reticuline, oblongine, magnoflorine, isoboldine, isocorydine, glaucine, demethyleneberberine, jatrorrhizine, palmatine, berberine, thalifendine, berberrubine, 8-oxojatrorrhizine, 8-oxoberberine... Ở Việt Nam, nhóm nghiên cứu Đoàn Thị Kim Đào (2016) đã xác định được thành phần hóa học trong thân cây một số chất như sau: campesterol, tetradecanoic acid, pentadecanoic acid, hexadecanoic acid, heptadecanoic acid, octadecanoic acid, cis-13-octadecenoic acid, (9Z,12Z)-octadecadienoic acid-thành phần chủ yếu là các acid. Điều đó cho thấy, cây Mật gấu hay thân cây Mật gấu là một nguồn dược liệu quý, có tiềm năng cần tiến hành nghiên cứu.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Thân cây Mật gấu *Mahonia nepalensis* DC., họ Hoàng liên gai (Berberidaceae) được thu hái tại thành phố Ban Mê Thuột, tỉnh Đắk Lắk, Việt Nam

vào tháng 12 năm 2016. Sau khi thu hái, thân cây được rửa sạch, phơi khô và xay nhuyễn thành bột.

2.2. Hóa chất và thiết bị

Silica gel sắc ký cột cỡ hạt 0,040 – 0,063 mm và bản mỏng silicagel 60-F₂₅₄ của hãng Merck, Đức. Các dung môi công nghiệp hãng Chemsol (Việt Nam) được chưng cất trước khi sử dụng gồm: n-hexane (H), petroleum ether (PE), chloroform (C), ethyl acetate (EA), methanol (MeOH), acetone (Ac), isopropanol (IPA). Phổ ¹H-NMR (500 MHz) và ¹³C-NMR (125 MHz), kết hợp với kỹ thuật phổ hai chiều HMBC... được đo trên máy cộng hưởng từ hạt nhân BRUKER AC 500 MHz tại Phòng Thí nghiệm phân tích trung tâm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh. Đèn UV ở bước sóng 254-365 nm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Chuẩn bị mẫu phân tích

Bột thân cây Mật gấu (9 kg) được chia làm nhiều phần trích nóng với MeOH. Mỗi phần trích khoảng 200 g bột và 1,5 l MeOH, trích 3 lần mỗi lần trong 3 giờ. Toàn bộ dịch trích sau khi cô quay thu hồi dung môi dưới áp suất thấp thu được cao MeOH thô (850 g).

Cao MeOH thô được hòa tan với 500 ml methanol bằng sóng siêu âm, sau đó trích lỏng-lỏng với đơn dung môi có độ phân cực tăng dần thu được các cao tương ứng sau: n-hexane (73 g), chloroform (412 g), ethyl acetate (70 g), acetone (100 g) và methanol (45 g).

Tiến hành khảo sát trên cao chloroform (412 g) với các hệ dung môi khác nhau.

2.3.2. Phân lập chất từ cao chloroform thân cây mật gấu

Tiến hành khảo sát thành phần hóa học cao chloroform (412 g) được ly trích từ cây Mật gấu dựa trên sắc ký cột silica gel pha thường cùng với hệ dung môi giải ly là H:EA (0 – 100% EA). Tiếp tục với hệ dung môi C:MeOH có độ phân

cực tăng dần (5%-100% MeOH). Kết quả thu được các phân đoạn nhỏ được đánh số từ A đến K. Phân đoạn D (9,76 g) tiến hành giải ly với hệ dung môi H:C (5:5) độ phân cực tăng dần đến 100%C. Từ phân đoạn nhỏ thu được, khảo sát trên TLC, chọn phân đoạn có vết chất để tiếp tục giải ly với hệ dung môi H:EA (9:1) theo độ phân cực tăng dần đến 100%EA, theo dõi bản mỏng chọn phân đoạn phù hợp để tinh chế bằng sắc kí lớp mỏng với hệ dung môi H:C:Ac (9:0,8:0,2) thu được hợp chất **1** (7 mg) và **2** (10 mg). Tương tự khảo sát phân đoạn E (3,12 g) với hệ dung môi H:Ac với độ phân cực tăng dần. Sau đó sử dụng sắc kí điều chế với hệ dung môi H:C:EA với tỷ lệ (6:3:1) thu được hợp chất **3** (4,50 mg).

- **5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (1)**, dạng gel màu vàng, tan trong dung môi chloroform, TLC hệ dung môi PE:IPA (9:1) $R_f = 0,4$. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ , ppm, J/Hz): 4,69 (2H, s, H-1''), 6,5 (1H, d, $J=3,5\text{Hz}$, H-4), 7,2 (1H, d, $J=3,5\text{Hz}$, H-3), 9,55 (1H, s, H-1'). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz, δ , ppm): 177,7 (C-1'); 160,8 (C-5); 152,4 (C-2); 122,9 (C-3); 110,0 (C-4); 57,6 (C-1'').

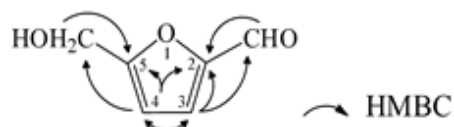
- **2,3-dimethoxyphenol (2)**, kết tủa vô định hình, tan trong dung môi chloroform, TLC hệ dung môi PE:IPA (9:1) $R_f = 0,45$. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ , ppm, J/Hz): 7,73 (1H, dd, $J=7,8; 1,8\text{Hz}$; H-6), 7,2 (1H, t, $J=8,0\text{Hz}$, H-5), 7,6 (1H, dd, $J=8,0; 1,7\text{Hz}$, H-4), 4,09 (3H, s, H-1'), 3,9 (3H, s, H-1''). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz, δ , ppm): 66,2; 56,2 (C-1'; C-1''), 165,0 (C-1), 152,0 (C-3), 148,0 (C-2), 125,0 (C-5), 124,0 (C-6), 117,0 (C-4).

- **2-methylpyridin-3-ol (3)**, dạng gel màu cam, tan trong dung môi methanol, TLC hệ dung môi C:EA (1:1) $R_f = 0,45$. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ , ppm, J/Hz): 7,12 (1H, dd, $J=5,0; 1,9\text{Hz}$; H-6), 7,06 (1H, dd, $J=8,0; 5,0\text{Hz}$, H-5), 7,85 (1H, dd, $J=8,0; 1,9\text{Hz}$, H-4); 2,40 (3H, s, H-1'). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz, δ , ppm): 154,0 (C-3); 147,7 (C-2); 139,2 (C-6); 123,6 (C-5), 123,3 (C-4), 18,4 (C-1').

3. Kết quả và thảo luận

Từ cao chiết chloroform, bằng các kỹ thuật sắc ký cột và sắc ký bản mỏng điều chế đã phân lập được 3 hợp chất. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp phổ 1D và 2D-NMR, so sánh tài liệu tham khảo.

Hợp chất 1 dạng gel màu vàng, tan trong dung môi chloroform. Phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy sự hiện diện tín hiệu của 2 proton olefin ghép với nhau H-3 ($\delta_{\text{H}} 7,20$, d, $J=3,5\text{Hz}$) và H-4 ($\delta_{\text{H}} 6,50$, d, $J=3,5\text{Hz}$). Một tín hiệu proton aldehyde -CHO ($\delta_{\text{H}} 9,55$, s) và một nhóm oxymethylene [$\delta_{\text{H}} 4,69$ (2H, s)]. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp với phổ HSQC cho thấy hợp chất **1** có tất cả 6 tín hiệu carbon bao gồm 1 carbon carbonyl ($\delta_{\text{C}} 177,7$); 1 carbon oxymethylene ($\delta_{\text{C}} 57,6$); 2 carbon olefin C-3 ($\delta_{\text{C}} 122,9$) và C-4 ($\delta_{\text{C}} 110,0$), 2 carbon olefin mang oxygen C-2 ($\delta_{\text{C}} 152,4$) và C-5 ($\delta_{\text{C}} 160,8$). Dữ liệu phổ HMBC cho thấy các sự tương quan sau: proton aldehyde ($\delta_{\text{H}} 9,55$) có tương quan với carbon C-2 ($\delta_{\text{C}} 152,4$) và C-3 ($\delta_{\text{C}} 122,9$); proton oxymethylene (-CH₂O-) ($\delta_{\text{H}} 4,69$) cho tương quan với carbon C-4 ($\delta_{\text{C}} 110,0$) và C-5 ($\delta_{\text{C}} 160,8$); proton olefin H-3 ($\delta_{\text{H}} 7,20$) cho tương quan với C-2 ($\delta_{\text{C}} 152,4$), C-4 ($\delta_{\text{C}} 110,0$), C-5 ($\delta_{\text{C}} 160,8$) và carbon aldehyde -CHO ($\delta_{\text{C}} 177,7$); proton olefin H-4 ($\delta_{\text{H}} 6,50$) cho tương quan với C-2 ($\delta_{\text{C}} 152,4$), C-3 ($\delta_{\text{C}} 122,9$) và C-5 ($\delta_{\text{C}} 160,8$). Với đặc điểm trên, tra cứu tài liệu thấy trùng khớp với 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (Hình 1). Hợp chất này đã được tìm thấy trước đây trong cây *Hydrangea chinensis* (Ashraf Taha Khalil và cs., 2003), và đây là lần đầu tiên được phát hiện trong thân cây Mật gấu.

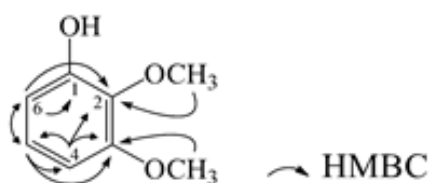


Hình 1. 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (1)

Hợp chất 2 kết tủa vô định hình. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **hợp chất 2** cho thấy có sự hiện diện của vòng benzene 1, 2, 3 trí hoán [$\delta_{\text{H}} 7,73$

(dd, 7,8; 1,8 Hz; H-6); δ_H 7,20 (t, 8,0 Hz; H-5); δ_H 7,16 (dd, 8,0; 1,7 Hz; H-4)], ngoài ra còn có tín hiệu của 2 nhóm methoxy (δ_H 4,09, s) và (δ_H 3,91, s). Phổ ^{13}C -NMR kết hợp với phổ HSQC của hợp chất **2** cho thấy có tất cả 8 tín hiệu carbon bao gồm: 6 tín hiệu carbon của vòng benzene nằm trong vùng từ 115,0 – 165,0 ppm và 2 tín hiệu của nhóm methoxyl (δ_C 66.2) và (δ_C 56.2). Dữ liệu phổ HMBC cho thấy: proton của hai nhóm methoxy lần lượt cho tương quan với 2 carbon nhân thơm mang oxygen tại (δ_C 148,2) và (δ_C 152,1), proton H-4 cũng cho tương quan với 2 carbon này; như vậy 2 nhóm methoxy được xác định gắn vào 2 carbon (δ_C 1482, C-2) và (δ_C 152,1, C-3) của vòng benzene. Còn lại một carbon có độ dịch chuyển hóa học ở vùng trường thấp (δ_C 165,0) được xác định là của carbon nhân thơm mang nhóm hydroxyl C-1.

- Từ các phân tích trên kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo (Maja Lambert và cs., 2006), cấu trúc hợp chất **2** được đề nghị là 2,3-dimethoxyphenol (Hình 2), và đây là lần đầu tiên được phát hiện trong cao chloroform của thân cây Mật gấu.

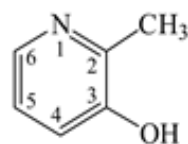


Hình 2. 2,3-dimethoxyphenol (2)

Hợp chất 3 dạng gel màu cam. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **3** cho thấy có 3 tín hiệu proton olefin [δ_H 7,12 (dd, $J=5,0$; 1,9 Hz, H-6); 7,06 (dd, $J=8,0$; 5,0 Hz, H-5); 7,85 (dd, $J=8,0$; 1,9 Hz, H-4) và 1 nhóm methyl 2,40 (s). Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **3** cho thấy có 6 tín hiệu carbon bao gồm 3 carbon olefin [C-4 (δ_C 123,3), C-5 (δ_C 123,6), C-6 (δ_C 139,2)], 2 carbon olefin trí hoán [C-2 (δ_C 147,7), C-3 (δ_C 154,0)] và 1 carbon methyl (δ_C 18,4).

- So sánh dữ liệu phổ H và ^{13}C -NMR của hợp chất **3** với 2-methylpyridin-3-ol (Mouhamad

Jida và Jean Ollivier, 2008) cho thấy có sự tương hợp. Vì vậy, cấu trúc của hợp chất **3** được đề nghị là 2-methylpyridin-3-ol (Hình 3). Đây là lần đầu tiên hợp chất (**3**) được phát hiện trong cao chloroform của thân cây Mật gấu.



Hình 3. 2-methylpyridin-3-ol (3)

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, ba hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ cao chloroform của thân cây Mật gấu bao gồm 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde (**1**), 2,3-dimethoxyphenol (**2**), 2-methylpyridin-3-ol (**3**). Các hợp chất này cần tiếp tục được đánh giá thêm hoạt tính sinh học nhằm tìm kiếm các hoạt chất sinh học quý từ nguồn thực vật tại Việt Nam./.

Tài liệu tham khảo

Đoàn Thị Kim Đào (2016), *Nghiên cứu chiết tách, xác định thành phần hóa học trong một số dịch chiết của thân cây mật gấu ở Cao Bằng*, Luận văn thạc sĩ khoa học, Đại học Đà Nẵng.

Tian-Jye Hsieh, Yi-Chen Chia, Yang-Chang Wu and Chung-Yi Chen (2004), “Chemical Constituents from the Stems of *Mahonia japonica*”, *Journal of the Chinese Chemical Society*, (51), pp. 443-446.

Weicheng Hu, Lei Wu, Qian Qiang, Lilian Ji, Xinfeng Wang, Haiqing Luo, Haifeng Wu, Yunyao Jiang, Gongcheng Wang, Ting Shen (2016), “The dichloromethane fraction from *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. leaves exerts an anti-inflammatory effect both in vitro and in vivo”, *Journal of Ethnopharmacology*, (188), pp.134-143.

Mouhamad Jida and Jean Ollivier (2008),

- “Convergent and selective synthesis of pyrrolidinones, piperidinones, dihydropyridinones and pyridinols from a common intermediate – potential precursors of bioactive products”, *European Journal of Organic Chemistry*, pp. 4041-4049.
- Ashraf Taha Khalil, Fang-Rong Chang, Chih-Chuang Liaw, Patnam Ramesh, Shyng-Shiou F. Yuan, Yang-Chang Wu (2003), “Chemical constituents from the *Hydrangea chinensis*”, *Archives of Pharmacal Research*, (261), pp.15-20.
- Maja Lambert, Lars Olsen, and Jerzy W. Jaroszewski (2006), “Stereo-electronic effects on ¹H nuclear magnetic resonance chemical shifts in methoxybenzenes”, *The Journal of Organic Chemistry*, (71), pp. 9449-9457.
- Nguyen Thi Mai, Tran Anh Tuan, Hoang Thanh Huong, Chau Van Minh, Ninh Khac Ban and Pham Van Kiem (2009), Bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Mahonia nepalensis*, *Journal of Chemistry*, (47), pp. 368-373.
- Awantika Singh, Vikas Bajpai, Sunil Kumar, Ajay Kumar Singh Rawat and Brijesh Kumar (2017), “Analysis of isoquinoline alkaloids from *Mahonia leschenaultia* and *Mahonia napaulensis* roots using UHPLC-Orbitrap-MSn and UHPLC-QqQLIT-MS/MS”, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, (7), pp. 77-86.