

Ba hợp chất depside phân lập từ phân đoạn 4 của cao *n*-hexane của loài địa y *Usnea aciculifera* (Parmeliaceae) thu hái tại thành phố Đà Lạt

○ HUỖNH MINH NHẬT, TRẦN HỒNG NGỌC QUYÊN, TRẦN THỊ KIM THƠ, ĐỖ THỊ MỸ LIÊN*
Viện Công nghệ Môi trường-Năng lượng, Đại học Sài Gòn, TP. Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Ba hợp chất depside đã được cô lập từ phân đoạn 4 cao n-hexane của loài địa y Usnea aciculifera - thu hái tại thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam. Cấu trúc của ba hợp chất trên được xác định bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều với tên gọi lần lượt là methyl diffractaic ester (1), barbatic acid (2) và lecanorin (3). Đây là lần đầu tiên các hợp chất này được tìm thấy trong loài địa y Usnea aciculifera.

Giới thiệu

Địa y là dạng thực vật bậc thấp đặc biệt, là kết quả cộng sinh của nấm (mycobiont) và một thành phần quang hợp (photobiont) thường là tảo (green alga) hay vi khuẩn lam (cyanobacterium).^[1] Địa y thường được sử dụng trong y học cổ truyền như điều trị vết thương, viêm da, các bệnh về hô hấp và tiêu hóa.^[2] Hầu hết các hợp chất tìm thấy trong địa y chủ yếu là các hợp chất phenolic với nhiều hoạt tính sinh học như: khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, hạ sốt và gây độc tế bào.^[3] *Usnea aciculifera* là loài địa y sợi, phân bố chủ yếu ở vùng cao nguyên TP. Đà Lạt và là loài địa y ít được nghiên cứu về mặt hóa học và dược tính. Tính đến nay chỉ có ba báo cáo về thành phần hóa học của loài địa y này.^[4-6] Do đó, việc tiếp tục khảo sát thành phần hóa học của loài địa y này là hết sức cần thiết. Trong bài báo này, ba hợp chất depside đã được phân lập và xác định cấu trúc bằng các phương pháp sắc ký thường quy và phương pháp phổ nghiệm NMR.

Thực nghiệm

Thiết bị và hóa chất

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân đo trong dung môi DMSO-*d*₆ và Acetone-*d*₆ bằng máy Bruker Avance III (tần số 500 MHz đối với phổ ¹H-NMR và 125 MHz với phổ ¹³C-NMR) và máy Bruker 400 AVANCE (tần số 400 MHz đối với phổ ¹H-NMR và 100 MHz với phổ ¹³C-NMR). Kỹ thuật sắc ký lớp mỏng TLC sử dụng bảng mỏng silica gel F₂₅₄ (200 μm, Merck), hiện vết bằng thuốc thử 5% vanillin-H₂SO₄/ EtOH.

Sắc ký cột được thực hiện với silica gel 60 (0.040-0.063 mm, Himedia).

Nguyên liệu

Địa y *Usnea aciculifera* được thu hái tại TP. Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 6/2018 và được định danh bởi nhà thực vật học TS. Harrie Sipman (khoa thực vật học, viện bảo tàng Berlin - Dahlem, đại học Freie Berlin, Đức. Mẫu tiêu bản thực vật ký hiệu SGU-005 được lưu trữ tại Phòng thí nghiệm thực hành - Khu thí nghiệm thực hành - Đại học Sài Gòn.

Chiết tách và phân lập

Bột địa y khô (1000.0 g) được trích kiệt với các loại dung môi lần lượt là *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate; phần dịch chiết được cô loại dung môi dưới áp suất thấp thu được các cao thô tương ứng là cao *n*-hexane (42.0 g), cao chloroform (24.0 g) và cao ethyl acetate (40.0 g). Tiến hành sắc ký cột với cao *n*-hexane với các dung môi có độ phân cực tăng dần với hệ dung môi *n*-hexane - EtOAc (9:1) đến EtOAc (100%) thu được thu được bảy phân đoạn (UH1 - UH7). Tiến hành sắc ký cột trên phân đoạn UH4 (8.6 g) với hệ dung môi *n*-hexane - EtOAc (9:1) thu được năm phân đoạn, ký hiệu từ 4.1 đến 4.5. Phân đoạn 4.3 được sắc ký cột bằng hệ dung môi giải ly *n*-hexane-CHCl₃ (6:4) cô lập được ba hợp chất, bao gồm 1 (5.4 mg), 2 (5.2 mg), 3 (6.0 mg).

Methyl diffractaic ester (1): Dạng bột màu trắng. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, ppm): 11.93 (1H, s, 3-OH), 6.59 (1H, s, H-5), 6.54 (1H, s, H-6'), 3.96 (3H, s, COOCH₃), 3.85 (6H, s, OCH₃), 2.54 (3H, s,

2.47 (3H, s, CH₃-3'), 2.19 (3H, s, CH₃-6), 2.17 (3H, s, CH₃-6').

Barbatic acid (2): Dạng bột màu trắng

¹H-NMR (Acetone-*d*₆, ppm): 11.42 (1H, s, 2-OH), 6.59 (1H, s, H-2'), 6.58 (1H, s, H-4'), 6.50 (1H, s, H-6'), 6.32 (1H, s, H-3), 6.31 (1H, s, H-5), 2.62 (3H, s, 6-CH₃) và 2.33 (3H, s, 3'-CH₃).

Lecanorin (3): Dạng bột màu trắng

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, ppm): 11.31 (1H, s, 2-OH), 6.60 (1H, s, H-2'), 6.52 (1H, s, H-4'), 6.40 (1H, s, H-5), 6.32 (1H, s, H-3), 2.66 (3H, s, 6-CH₃) và 2.61 (3H, s, 5'-CH₃).

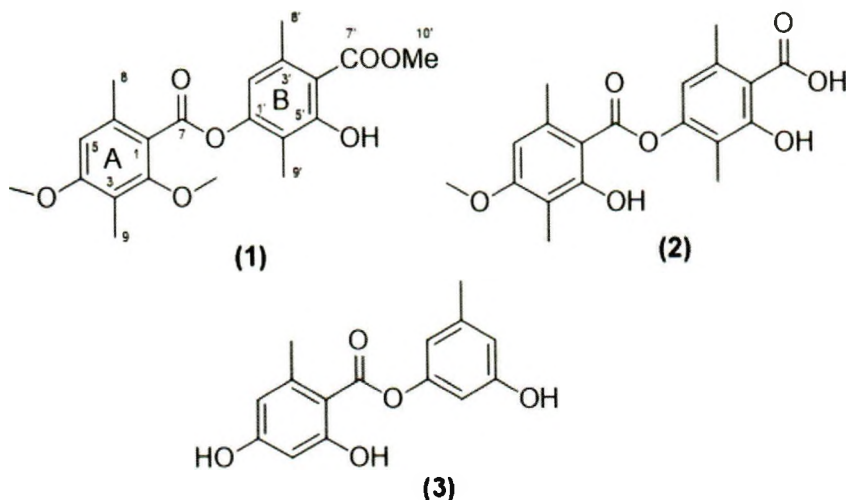
Dữ liệu phổ ¹³C-NMR của 1-3 được trình bày trong Bảng 1.

Kết quả và thảo luận

Từ phân đoạn UH4 của cao *n*-hexane của địa y *U. aciculifera* ba hợp chất có khung sườn depsides (1-3) được cô lập bằng phương pháp sắc ký cột. So sánh dữ liệu phổ NMR của các hợp chất cô lập được với tài liệu tham khảo, các cấu trúc được xác định là methyl diffractaic ester (1), barbatic acid (2) và lecanorin (3)

Phổ ¹³C-NMR của hợp chất 1 cho thấy, có sự xuất hiện tín hiệu của 21 carbon gồm, trong đó có hai carbon ester tại δ_c 169.8 (C-7') và 165.6 (C-7); mười carbon tứ cấp tại δ_c 159.5 (C-4), 157.7 (C-2'), 156.4 (C-2), 151.6 (C-4'), 136.8 (C-6'), 134.7 (C-6), 119.3 (C-1), 116.4 (C-3), 116.3 (C-1'), 114.8 (C-3'); hai carbon methine tại δ_c 115.5 (C-5') và 108.4 (C-5); ba carbon methoxy tại δ_c 61.7 (2-OCH₃), 55.7 (4-OCH₃), 52.2 (7'-OCH₃); bốn carbon methyl tại δ_c 21.2 (C-9'), 19.4 (C-9), 9.1 (C-8'), 8.7 (C-8). Phổ ¹H-NMR cũng cho thấy có sự xuất hiện tín hiệu của hai nhóm methine cộng hưởng ở

Hình 1. Cấu trúc hóa học các hợp chất 1-3



δ_H 6.77 (1H, s, H-5) và 6.64 (3H, s, H-5'); ba tín hiệu của ba nhóm methoxy tại δ_H 3.90 (3H, s, 7'-OCH₃), 3.84 (3H, s, 4-OCH₃), 3.76 (3H, s, 2-OCH₃); bốn tín hiệu của bốn nhóm methyl tại δ_H 2.40 (3H, s, H-9), 2.39 (3H, s, H-9'), 2.09 (3H, s, H-8), 2.08 (3H, s, H-8'); một tín hiệu của nhóm hydroxy tại δ_H 10.63 (1H, 2'-OH). Dữ liệu phổ ¹H và ¹³C-NMR giúp đề nghị hợp chất 1 có hai vòng thơm, mỗi vòng thơm mang năm nhóm thế.

Phổ HMBC của hợp chất 1 cho thấy tương quan từ proton H-5 tới các carbon C-4, C-3, C-1; tương quan từ H-9 tới các carbon C-1, C-5, C-6; tương quan từ H-8 tới các carbon C-2, C-3, C-4; tương quan của hai nhóm methoxy tới carbon C-2 và C-4, các dữ liệu này giúp đề nghị vị trí các nhóm thế trên vòng A. Tương tự vậy phổ HMBC cho thấy tương quan của proton H-5' tới carbon C-4', C-3', C-1'; tương quan từ proton H-9' tới carbon C-6', C-5', C-1; tương quan từ proton H-8' tới carbon C-4', C-3', C-2'; tương quan của nhóm hydroxy tới C-3', C-2', C-1', các dữ liệu này giúp đề nghị vị trí nhóm thế trên vòng B trong cấu trúc 1. So sánh dữ liệu

phổ NMR của 1 với methyl diffractaic ester [7] cho thấy có sự tương đồng. Vì vậy, cấu trúc của 1 được xác định là methyl diffractaic ester.

Hợp chất 2 được cô lập dưới dạng bột màu trắng. Phổ ¹³C-NMR cho thấy hợp chất 2 có sự xuất hiện tín hiệu của 19 carbon bao gồm một carbon carboxylic acid, một carbon ester, mười carbon tứ cấp, hai carbon methine, một carbon methoxy, bốn carbon methyl. Phổ ¹H-NMR cũng cho thấy có sự xuất hiện tín hiệu của hai proton vòng thơm giống phổ proton của hợp chất 1 giúp đề nghị hợp chất 2 cũng có cấu trúc của hai vòng thơm mang năm nhóm thế, bên cạnh đó cũng thể hiện các tín hiệu của proton của một nhóm methoxy, bốn nhóm methyl và một proton hydroxy tương ứng.

So sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất 2 với hợp chất 1 nhận thấy chỉ có sự xuất hiện của một nhóm methoxy trên phổ NMR của 2, như vậy cấu trúc hóa học của 2 sẽ ít hơn 1 hai nhóm methoxy hay nói cách khác, nhóm methoxy gắn với C-2 và C-7' trong 1 đã được chuyển thành nhóm hydroxy. Kết hợp với

việc so sánh dữ liệu NMR của hợp chất 2 với barbatic acid trong tài liệu tham khảo^[9] có sự tương đồng nên đề nghị cấu trúc của 2 là barbatic acid.

Hợp chất 3 có dạng bột màu trắng. Dữ liệu phổ ¹H và ¹³C-NMR của 3 so với hợp chất 2 thì không thấy có tín hiệu của nhóm acid, không có tín hiệu của nhóm methoxy và chỉ xuất hiện hai nhóm methyl. So sánh dữ liệu phổ NMR của 3 với dữ liệu phổ của lecanorin ^[9] cho thấy có sự tương hợp. Do đó cấu trúc của 3 được xác định là lecanorin.

Kết luận

Ba hợp chất depside bao gồm methyl diffractaic ester (1), barbatic acid (2) và lecanorin (3) lần đầu tiên được phân lập từ địa y *Usnea aciculifera*. Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa vào dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR và so sánh với tài liệu tham khảo. Những kết quả nghiên cứu này sẽ đóng góp thêm những kiến thức mới về thành phần hóa học của loài thực vật này trong kho tàng thực vật của Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

1. Yousuf, S. và M.I. Choudhary, Lichens: *chemistry and biological activities, in Studies in natural products chemistry*. 2014, Elsevier, trang 223-259;
2. Hawksworth, D.L., Lichen Secondary Metabolites: *Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*. Springer International Publishing, ISBN 978-3-319-13374-4, 2015, 47(4), trang 277-278;
3. Ingolfsdottir, K., *Usnic acid*, *Phytochemistry*, 2002. 61(7), trang 729-736;
4. Truong, T. L. và cộng sự, A new depside from *Usnea aciculifera* growing in Vietnam. *Natural product*

Bảng 1. Dữ liệu phổ ¹³C-NMR của hợp chất 1-3

STT	1	2	3
	(DMSO-d ₆)	(Acetone-d ₆)	(DMSO-d ₆)
	δ _C		
1	119.3	110.6	108.1
2	156.4	153.5	160.6
3	116.4	105.3	100.5
4	159.5	164.0	161.2
5	108.4	107.5	110.0
6	134.7	141.0	140.4
7	165.6	170.8	167.6
8	8.7	7.9	21.6
9	19.4	23.7	
1'	116.3	117.1	151.3
2'	157.7	163.4	116.3
3'	114.8	111.3	142.2
4'	151.6	163.2	112.5
5'	115.5	117.1	165.7
6'	136.8	141.8	107.2
7'	169.8	174.3	171.8
8'	9.1	9.3	23.0
9'	21.2	24.8	-
2-OCH ₃	61.7	-	-
4-OCH ₃	55.7	56.1	-
7'-OCH ₃	52.2	-	-

communications 2014, 9 (8), 1934578X1400900831;

5. Tuong, T. L. và cộng sự, *Dimeric tetrahydroxanthones from the lichen Usnea aciculifera*, *Fitoterapia* 2019, 137, 104194;

6. Tuong, T. L. và cộng sự, *Tetrahydroxanthone-chromanone heterodimers from lichen Usnea aciculifera and their cytotoxic activity against human cancer cell lines*, *Fitoterapia* 2020, 147, 104732;

7. Garbarino, J. A. và cộng sự, *Studies on Chilean lichens*, X.

The phenolic constituents of Protousnea magellanica. *Journal of Natural Products* 1987, 50 (4), trang 745-747;

8. Yukiko Nishitoba và cộng sự, "Lichen acids, plant growth inhibitors from *Usnea longissima*", *Phytochemistry* 2017, 12, trang 3181-318;

9. Choudhary, M. I. và cộng sự, *New antiglycation and enzyme inhibitors from Parmotrema cooperi*. *Science China Chemistry* 2011, 54 (12), trang 1926-1931. ■