

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC HÓA HỌC MỘT VÀI HỢP CHẤT TỪ LÁ CÂY ĐÒN VÕ (*Premna lucidula* Miq.)

ISOLATION AND STRUCTURE ELUCIDATION OF SOME COMPOUNDS FROM THE LEAVES OF *Premna lucidula* Miq.

Ngô Thị Phương¹, Lê Minh Hà¹, Tô Thị Ngọc Anh², Nguyễn Tuấn Anh², Nguyễn Minh Việt^{3,*}

DOI: <https://doi.org/10.57001/huih5804.51>

TÓM TẮT

Bốn hợp chất bao gồm friedelinol (1), ethyl *p*-methoxycinnamate (2), β -sitosterol (3) và 7-oxo- β -sitosterol (4) đã được phân lập từ dịch chiết *n*-hexan của lá cây Đòn võ (*Premna lucidula* Miq.) thu hái tại tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam. Cấu trúc của chúng được xác định bằng việc phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và so sánh với số liệu phổ công bố trong các tài liệu tham khảo. Trong đó, hợp chất ethyl *p*-methoxycinnamate (2) và 7-oxo- β -sitosterol (4) lần đầu tiên được phân lập từ chi *Premna*; hợp chất friedelinol (1) và β -sitosterol (3) lần đầu tiên được phân lập từ cây Đòn võ (*P. lucidula*).

Từ khóa: Đòn võ, *Premna lucidula* Miq., dịch chiết *n*-hexan, ethyl *p*-methoxycinnamate, β -sitosterol, friedelinol, 7-oxo- β -sitosterol.

ABSTRACT

Four compounds including friedelinol (1), ethyl *p*-methoxycinnamate (2), β -sitosterol (3), and 7-oxo- β -sitosterol (4) have been isolated from the *n*-hexan extract of the leaves of *Premna lucidula* Miq. collected in Thai Nguyen Province, Vietnam. The structures of these compounds have been identified based on Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and compared with spectral data published in the references. Compounds ethyl *p*-methoxycinnamate (2) and 7-oxo- β -sitosterol (4) were isolated from the genus *Premna* for the first time, while compounds friedelinol (1) and β -sitosterol (3) were reported from *P. lucidula* for the first time.

Keywords: *Premna lucidula* Miq., *n*-hexan extract, ethyl *p*-methoxycinnamate, β -sitosterol, friedelinol, 7-oxo- β -sitosterol.

¹Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

²Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

³Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: minhviet@hau.edu.vn

Ngày nhận bài: 10/7/2022

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 25/8/2022

Ngày chấp nhận đăng: 27/10/2022

1. GIỚI THIỆU

Cây Đòn võ có tên khoa học là *Premna lucidula* Miq., tên đồng vẫn (synonym) là *Premna flavescens* Wall. Ex C. B. Clarke thuộc họ Hoa môi (Lamiaceae) [1]. Cây Đòn võ là một dạng cây thân gỗ mọc hoang trên các vùng núi được phát hiện tại

một số nơi thuộc huyện Đông Hỷ, tỉnh Thái Nguyên [2]. Cây Đòn võ là một cây thuốc quý được người dân bản địa sử dụng. Lá của cây Đòn võ được sử dụng như một loại trà trong khi toàn bộ cây được sử dụng để điều trị bệnh thấp khớp và viêm xương khớp trong y học dân gian. Mặc dù cây Đòn võ được dùng trong dân gian làm thuốc chữa bệnh nhưng các nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của cây Đòn võ vẫn còn hạn chế. Cho đến nay mới có hai công bố của Nguyễn Huy Hùng và cộng sự [3], Lê Minh Hà và cộng sự [4] nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học trong tinh dầu lá Đòn võ. Trong bài báo này, chúng tôi báo cáo kết quả phân lập và xác định cấu trúc của 4 hợp chất: friedelinol (1), ethyl *p*-methoxycinnamate (2), β -sitosterol (3), và 7-oxo- β -sitosterol (4) từ cặn chiết *n*-hexan của lá Đòn võ.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Lá cây Đòn võ được thu hái tại xã Văn Hán, huyện Đông Hỷ, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam vào tháng 3 năm 2021. Mẫu cây đã được giám định bởi Tiến sĩ Nguyễn Thế Cường - Viện sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản số DV2021 được bảo quản tại Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Hoá chất và thiết bị

Sắc ký lớp mỏng (TLC): sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Aluofolien 60 F₂₄₅ (Merck 1,05715). Phát hiện vết chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254nm và 368nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10%, sấy khô rồi hơ nóng từ từ trên bếp điện đến khi phát hiện màu. Sắc ký cột (CC): Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là silicagel Merck, pha thường, cỡ hạt 0,040 - 0,063mm (240 - 430 mesh). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-(500MHz) và ¹³C-(125MHz) được đo trên máy Bruker AM500-FT-NMR sử dụng TMS làm chất nội chuẩn.

2.3. Chiết tách và phân lập các chất

Lá khô của cây Đòn võ (2kg) được nghiền thu được bột mịn, sau đó được ngâm chiết với ethanol ở 50°C, (3 lần, mỗi lần 24 giờ). Dịch chiết được gom lại, lọc qua giấy lọc và cất

loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 25g cặn chiết tổng PL/EtOH. Cặn ethanol sau đó được thêm 100ml nước cất ở nhiệt độ phòng rồi tiến hành chiết phân bố lần lượt bằng *n*-hexan, ethyl acetate với mỗi dung môi chiết 3 lần rồi gom các dịch chiết lại, thu được 3 dịch chiết tương ứng. Cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được các cặn chiết tương ứng là PL/*n*-hexan (6,4g), PL/ethyl acetate (7,2g), PL/nước (9,4g).

Phần cặn PL/*n*-hexan (6,4g) được tiến hành phân tách qua sắc ký cột silicagel pha thường, hệ dung môi rửa giải là gradient *n*-hexan : EtOAc (100:0, 70:30, 50:50, 30:70, 0:100) thu được 5 phân đoạn (ký hiệu là **F₁** đến **F₅**). Phân đoạn **F₃** (2,5g) tiếp tục được phân tách bởi sắc ký cột silicagel pha thường, hệ dung môi rửa giải là *n*-hexan : acetone (60:1) thu được 4 phân đoạn ký hiệu là **F_{3.1}** đến **F_{3.4}**. Phân đoạn **F_{3.3}** tiếp tục được phân tách bằng sắc ký cột silicagel pha thường với dung môi rửa giải là *n*-hexane-acetone (50:1) thu được 3 phân đoạn ký hiệu là **F_{3.3.1}** đến **F_{3.3.3}**. Phân đoạn **F_{3.3.2}** tiếp tục được phân tách trên cột sắc ký với hệ dung môi *n*-hexane-acetone (20:1) thu được hợp chất **1** (12,1mg) có dạng tinh thể hình kim, màu trắng. Hợp chất **3** (18,5mg) thu được sau khi kết tinh lại phân đoạn **F_{3.3.1}** bằng hỗn hợp *n*-hexan - ethyl acetate (2:1). Phân đoạn **F₅** (1,80g) được phân tách bằng sắc ký cột silicagel pha thường, hệ dung môi rửa giải là *n*-hexan:EtOAc (25:1) thu được 5 phân đoạn ký hiệu là **F_{5.1}** đến **F_{5.5}**. Phân đoạn **F_{5.2}** tiếp tục được phân tách bằng sắc ký cột silicagel pha thường với dung môi rửa giải là *n*-hexane-ethyl acetate (12:1) thu được hợp chất **2** (15,0mg). Phân đoạn **F_{5.3}** tiếp tục phân tách bằng sắc ký cột silicagel pha thường, hệ dung môi rửa giải là *n*-hexane-acetone (5:1) thu được hợp chất **4** (11,2mg) có dạng tinh thể hình kim, màu trắng.

Hợp chất 1: Friedelinol

Tinh thể hình kim, màu trắng.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,73 (1H, m, H-3); 1,17 (3H, s, H-28); 1,00 (3H, s, H-27); 0,99 (3H, s, H-30); 0,98 (3H, s, H-26); 0,96 (3H, s, H-24); 0,93 (3H, s, H-29); 0,89 (3H, d, *J* = 7,5Hz, H-23); 0,86 (3H, s, H-25).

¹³C-NMR (125MHz, CDCl₃) δ (ppm): 72,77 (C-3); 61,38 (C-10); 53,22 (C-8); 49,20 (C-4); 42,86 (C-18); 41,76 (C-6); 39,70 (C-14); 39,29 (C-22); 38,39 (C-13); 37,86 (C-5); 37,13 (C-9); 36,11 (C-2); 35,58 (C-16); 35,26 (C-11); 35,22 (C-19); 35,03 (C-29); 32,85 (C-21); 32,35 (C-15); 32,10 (C-28); 31,80 (C-30); 30,65 (C-12); 30,04 (C-17); 28,18 (C-20); 20,12 (C-26); 18,65 (C-27); 18,25 (C-25); 17,56 (C-7); 16,40 (C-24); 15,81 (C-1); 11,62 (C-23).

Hợp chất 2: Ethyl *p*-methoxycinnamate

Tinh thể kim màu trắng.

¹H -NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,63 (1H, d, *J* = 15,5Hz, H-2); 7,48 (2H, d, *J* = 9,0Hz, H-6, H-8); 6,90 (2H, d, *J* = 9,0Hz, H-5, H-9); 6,30 (1H, d, *J* = 15,5Hz, H-3); 4,26 (2H, q, *J* = 7,5Hz, CH₂-1); 3,83 (3H, s, OCH₃); 1,33 (3H, t, *J* = 7,5Hz, H-2).

¹³C-NMR (125MHz, CDCl₃) δ (ppm): 167,3 (C-1); 161,3 (C-3); 144,2 (C-2); 129,7 (C-7 và C-8); 127,2 (C-7); 115,7 (C-4); 114,3 (C-5 và C-9); 60,3 (C-1); 55,3 (OCH₃-7); 14,3 (C-2).

Hợp chất 3: β-sitosterol

Tinh thể hình kim, màu trắng.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,35 (1H, t, *J* = 5,0Hz, H-6); 3,53(1H, m, H-3); 1,01 (3H, s, CH₃-18); 0,93 (3H, d, *J* = 7,5Hz, CH₃-21); 0,84 (3H, d, *J* = 7,0Hz, CH₃-29); 0,83 (6H, d, *J* = 6,5Hz, CH₃-26, 27); 0,68 (3H, s, CH₃-19).

¹³C-NMR (125MHz, CDCl₃) δ (ppm): 140,74 (C-5); 121,71 (C-6); 71,80 (C-3); 56,77 (C-14); 56,07 (C-17); 50,14 (C-9); 45,84 (C-24); 42,32 (C-13); 42,27 (C-4); 39,78 (C-12); 37,25 (C-1); 36,50 (C-10); 36,14 (C-20); 33,95 (C-22); 31,91 (C-7, 8); 31,62 (C-2); 29,16 (C-25); 28,24 (C-16); 26,09 (C-23); 24,30 (C-15); 23,07 (C-28); 21,08 (C-11); 19,81 (C-26); 19,39 (C-27); 19,04 (C-21); 18,78 (C-18); 11,98 (C-29); 11,86 (C-19).

Hợp chất 4: 7-oxo-beta-sitosterol

Tinh thể hình kim, màu trắng.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,69 (1H, s, H-6); 3,67 (1H, m, H-3); 2,23 (1H, t, *J* = 11,0Hz, H-8); 1,20 (3H, s, H-19); 0,93 (3H, d, 7,0Hz, H-21); 0,84 (6H, d, *J* = 7,5Hz, H-26, 29); 0,83 (3H, d, *J* = 7,5Hz, H-27); 0,68 (3H, s, H-18).

¹³C-NMR (125MHz, CDCl₃) δ (ppm): 202,30 (C-7); 165,07 (C-5); 126,15 (C-6); 70,56 (C-3); 54,76 (C-17); 50,01 (C-9); 49,99 (C-14); 45,88 (C-24); 45,45 (C-8); 43,14 (C-13); 41,84 (C-4); 38,74 (C-12); 38,31 (C-10); 36,38 (C-1); 36,10 (C-20); 33,99 (C-22); 31,23 (C-2); 29,19 (C-25); 28,57 (C-16); 26,35 (C-23); 26,16 (C-15); 23,10 (C-28); 21,25 (C-11); 19,81 (C-26); 19,07 (C-27); 18,95 (C-21); 17,33 (C-19); 11,99 (C-18,29).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ phần cặn chiết *n*-hexan của lá Đòn vôi, bằng các phương pháp sắc ký, chúng tôi đã phân lập được 4 hợp chất sạch ký hiệu là **1**, **2**, **3** và **4**.

Hợp chất 1: Friedelinol

Hợp chất **1** thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Dữ liệu phổ ¹H-NMR của hợp chất **1** cho thấy tín hiệu của 7 nhóm methyl dạng singlet và 1 nhóm methyl dạng doublet tại δ_H 0,86 (3H, s, H-25); 0,89 (3H, d, *J* = 7,5Hz, H-23); 0,93 (3H, s, H-29); 0,96 (3H, s, H-24); 0,98 (3H, s, H-26); 0,99 (3H, s, H-30); 1,00 (3H, s, H-27); 1,17 (3H, s, H-28). Phổ ¹³C-NMR của **1** cũng xuất hiện tín hiệu của 30 nguyên tử C. Điều này gợi ý **1** cũng có bộ khung friedelin trong phân tử [3]. Phổ ¹³C-NMR của **1** xuất hiện tín hiệu của nguyên tử cacbon tại δ_C 72,77. Những phân tích trên cho phép dự đoán sự có mặt của nhóm hydroxyl ở hợp chất **1**. So sánh dữ kiện phổ thu được của hợp chất **1** với tài liệu tham khảo [5] thấy hoàn toàn trùng khớp. Do đó hợp chất **1** được xác định là **friedelinol**.

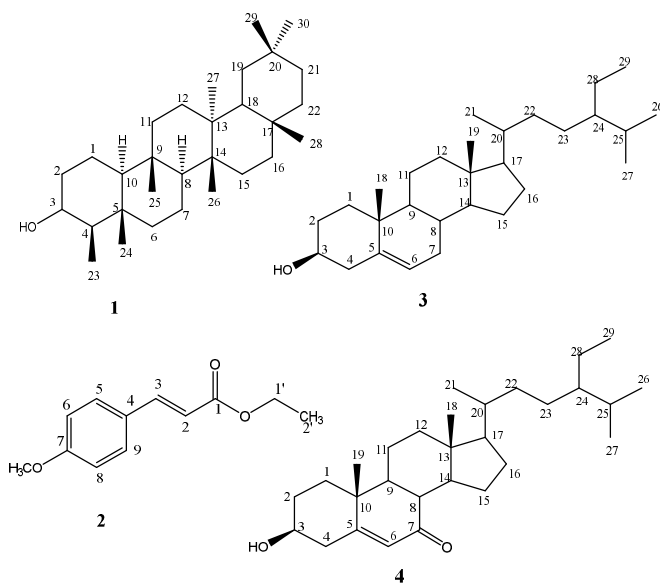
Hợp chất 2: Ethyl *p*-methoxycinnamate

Hợp chất **2** thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Dữ liệu phổ ¹H-NMR và HSQC của hợp chất **2** cho thấy tín hiệu của một nhóm methyl (δ_H 1,33, t, *J* = 7,5Hz), một nhóm oxygenated methylene (δ_H 1,33, q, *J* = 7,5Hz), và một nhóm methoxy (δ_H 3,83). Hai olefinic proton δ_H 7,63 (1H, d, *J* = 15,5Hz, H-2); 6,30 (1H, d, *J* = 15,5Hz, H-3) và bốn proton thơm tại δ_H 6,90 (2H, d, *J* = 9,0Hz) và 7,48 (2H, d, *J* = 9,0Hz) gợi ý sự có mặt của một dẫn xuất *p*-coumarate.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **2** cho thấy tín hiệu của 12 nguyên tử cacbon. Tám carbons [114,3 (C-5,9); 115,7 (C-4); 127,2 (C-7); 129,7 (C-7,8); 144,2 (C-2); 161,3 (C-3)] và một nhóm carbonyl group tại δ_{C} 167,3 được gán cho bộ khung *p*-coumarate. Tương tác HMBC từ δ_{H} 3,83 tới C-7 (δ_{C} 127,2) khẳng định rằng nhóm methoxy được gắn vào vị trí C-7. Do đó, hợp chất **2** được xác định là **ethyl *p*-methoxycinnamate** khi so sánh với dữ liệu phổ trong tài liệu tham khảo [6].

Hợp chất 3: β -sitosterol

Hợp chất **3** thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **3** cho thấy tín hiệu của 1 olefinic proton tại δ_{H} 5,35 (H-6); 1 proton multiplet tại δ_{H} 3,53 (H-3); 6 nhóm methyl trong đó có 2 nhóm methyl góc dạng singlet tại δ_{H} 0,68 (CH_3 -19) và 1,01 (CH_3 -18), gợi ý sự có mặt của khung steroid. Tương ứng trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp với phổ DEPT của hợp chất **3** cho thấy tín hiệu của 29 nguyên tử C. Trong đó có 2 nguyên tử C olefin tại δ_{C} 140,74 (C5) và 121,71 (C6). Tín hiệu của nguyên tử cacbon tại δ_{C} 71,80 gợi ý nguyên tử C này gắn với một nhóm hydroxy, phù hợp với nhóm thế OH gắn vào vị trí C3 của khung steroid. So sánh dữ kiện phổ thu được của hợp chất **3** với dữ kiện phổ NMR của β -sitosterol trong tài liệu tham khảo [7] thấy hoàn toàn trùng khớp. Do vậy, hợp chất **3** được xác định là **β -sitosterol**.



Hình 1. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ lá Đền võ

Hợp chất 4: 7-oxo- β -sitosterol

Hợp chất **4** thu được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **4** cho thấy tín hiệu của 1 olefinic proton tại δ_{H} 5,69 (s, H-6), 1 proton dạng multiplet tại δ_{H} 3,67 (H-3), 6 nhóm methyl trong đó có 2 nhóm methyl góc tại δ_{H} 1,20 (3H, s, H-19) và 0,68 (3H, s, H-18), gợi ý hợp chất **4** có chứa khung tương tự β -sitosterol [8]. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **4** cũng cho các tín hiệu tương tự như hợp chất β -sitosterol [8]. Điểm khác biệt duy nhất của **4** là sự xuất hiện thêm tín hiệu của một nhóm oxo tại δ_{C} 202,30. Tương tác xa HMBC thu được giữa H-8 (δ_{H} 2,23) với nhóm oxo gợi ý

vị trí của nhóm oxo là C-7. So sánh dữ kiện phổ thu được của hợp chất **4** với hợp chất 7-oxo- β -sitosterol trong tài liệu tham khảo [9] thấy hoàn toàn trùng khớp. Do đó hợp chất **4** được xác định là **7-oxo- β -sitosterol**.

4. KẾT LUẬN

Từ phần cận chiết *n*-hexan của lá cây Đền võ (*Premna lucidula* Miq.), chúng tôi đã phân lập được bốn hợp chất friedelinol (**1**), ethyl *p*-methoxycinnamate (**2**), β -sitosterol (**3**), và 7-oxo- β -sitosterol (**4**). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định dựa vào phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR kết hợp so sánh với dữ liệu phổ của các chất tương ứng trong tài liệu tham khảo. Trong đó, hợp chất ethyl *p*-methoxycinnamate (**2**) và 7-oxo- β -sitosterol (**4**) lần đầu tiên được phân lập từ chi *Premna*; hợp chất friedelinol (**1**) và β -sitosterol (**3**) lần đầu tiên được phân lập từ cây Đền võ (*P. lucidula*).

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện nhờ sự hỗ trợ kinh phí của đề tài mã số UDNGDP.01/21-22 và NVCC 07.04/22-23.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Vu Xuan Phuong, 2007. *Thuc vat chi Viet Nam, quyen 2*. Science and Technics Publishing House, Hanoi.
- [2]. Pham Hoang Ho, 2003. *Cay co Viet Nam*. Tre Publishing House.
- [3]. Hung NH, Huong NT, Chung NT, et al., 2020. *Premna species in Vietnam: essential oil compositions and mosquito larvicidal activities*. *Plants*. 9(9), 1130.
- [4]. Ha LM, Phuong NT, Trang NTP, Thuy DTT, Hung LN, 2021. *Chemistry and molecular characteristics of Premna flavescens Wall. ex C. B. Clarke in Vietnam*. *Nat Prod Commun*. 16(9), 1-4.
- [5]. Hatem S. Abbass, Ehab A. Ragab, Abd El-Salam I. Mohammed, Atef A. El-Hela, 2015. *Phytochemical and Biological Investigation of Ficus mysorensis Cultivated in Egypt*. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 2015, 3(3), 396 - 407.
- [6]. Hasali, Nor Hazwani Mohd, et al., 2013. *Biotransformation of ethyl p-methoxycinnamate from Kaempferia galanga L. using Aspergillus niger*. *International Journal of Bioscience* 3(7), 148-155.
- [7]. Ododo M. M., Choudhury M. K., Dekebo A. H., 2016. *Structure elucidation of β -sitosterol with antibacterial activity from the root bark of Malva parviflora*. *Springer Plus*, 5(1), 6-10.
- [8]. Venkata Sai Prakash Chaturvedula, 2012. *Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of Rubus suavissimus*. *International Current Pharmaceutical Journal* 2012, 1(9), 239-242.
- [9]. Chun-Chao Zhao, Jian-Hua Shao, Xian Li, Jing Xu, Peng Zhang, 2005. *Antimicrobial Constituents from Fruits of Ailanthus Altissima SWINGLE*. *Arch Pharm Res*, 28(10), 1147-1151.

AUTHORS INFORMATION

Ngo Thi Phuong¹, Le Minh Ha¹, To Thi Ngoc Anh², Nguyen Tuan Anh², Nguyen Minh Viet³

¹Institute of Natural Products Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology

²Hanoi University of Science and Technology

³Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry