

CHIẾT XUẤT VÀ PHÂN LẬP CÁC HỢP CHẤT TỪ CAO CHLOROFORM CỦA LÁ CÂY GIÁC ĐẾ ĐỒNG NAI (*Goniothalamus donnaiensis*, Họ na Annonaceae)

Lê Thị Thu Hồng*

Khoa Dược, Đại học Lạc Hồng, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Lê Thị Thu Hồng <hongle@lhu.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 12-12-2023; Hoàn thành phản biện: 24-01-2024; Ngày chấp nhận đăng: 07-05-2024)

Tóm tắt. Hai hợp chất bao gồm một styryl lacton: goniodiol và một phytosterol: daucosretol được phân lập từ cao chloroform của lá cây Giác đế Đồng nai (*Goniothalamus donnaiensis*). Lá Giác đế Đồng nai được thu hái tháng 11 năm 2019 ở huyện Vĩnh Cửu, tỉnh Đồng Nai. Phân tích dữ liệu phổ MS, NMR và so sánh với tài liệu tham khảo để xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất. Hai hợp chất này lần đầu được phân lập từ lá của loài *Goniothalamus donnaiensis*.

Từ khoá: Giác đế Đồng nai, *Goniothalamus donnaiensis*, goniodiol, daucosterol

Extraction and isolation of compounds from chloroform extract of *Goniothalamus donnaiensis* leaves, Annonaceae

Le Thi Thu Hong*

Faculty of Pharmacy, Lac Hong University, Vietnam

* Correspondence to Le Thi Thu Hong <hongle@lhu.edu.vn>

(Received: 12 December 2023; Revised: 24 January 2024; Accepted: 07 May 2024)

Abstract. Two compounds including a styryl lactone: goniodiol, and a phytosterol: daucosretol were isolated from the chloroform extract of the leaves of *Goniothalamus donnaiensis*. Leaves of *G. donnaiensis* were collected in Vinh Cuu district, Dong Nai province in November 2019. Their chemical structures were elucidated by ESI-mass, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HSQC and HMBC spectra. These two compounds were first isolated from the leaves of *Goniothalamus donnaiensis*.

Keywords: *Goniothalamus donnaiensis*, goniodiol, daucosterol

1 Đặt vấn đề

Chi *Goniothalamus* (Giác đế) thuộc họ Na Annonaceae có 160 loài, có chứa hợp chất quan trọng là styryl – lacton, alkaloid, acetogenin. Các hợp chất này đã được nghiên cứu có nhiều tác dụng dược lý quan trọng: chống nấm, chống khối

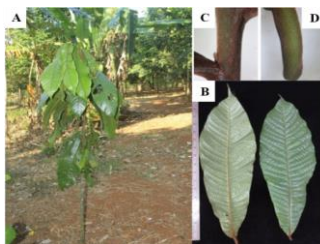
u, trừ sâu, gây độc tế bào, trong đó hoạt tính độc tế bào được quan tâm nhiều [1, 2]. Ở Việt Nam có 19 loài thuộc chi *Goniothalamus*, một số loài được sử dụng làm thuốc: trị đòn ngã tổn thương, gãy xương (*G. donnaiensis*); thuốc bổ và kích thích tiêu hóa (*G. vietnamensis*); rửa vết thương (*G.*

chartaceus); giải độc, trừ ban trái, đậu sồi (*G. gabriacianus*) [3]. Trong đó có loài Giác đế Đồng nai (*Goniothalamus donnaiensis* Fin. & Gagnep.) mới chỉ có vài nghiên cứu về thành phần hóa học được công bố. Năm 1997, Jiang Z và cộng sự từ rễ của loài này đã phân lập được hợp chất: 2 cặp đồng phân chứa gốc γ -hydroxymethyl- γ -lacton (Goniodonin và 34-*epi*-goniodonin, *cis*-goniodonin và 34-*epi-cis*-goniodonin) [4, 5]. Năm 1998 nhóm nghiên cứu này đã tiếp tục phân lập được các hợp chất: 2 cặp đồng phân chứa gốc γ -hydroxymethyl- γ -lacton (donnaienin C và 34-*epi*-donnaienin C, donnaienin D và 34-*epi*-donnaienin D); một nhóm C-4-acetoxyl (donnaienin) và 4 linear acetogenin (donhepocin, 34-*epi*-donhepocin, donhexocin, donbutocin) [6, 7]. Hiện tại trong nước chưa thấy công bố về nghiên cứu thành phần hóa học của loài Giác đế Đồng nai. Nghiên cứu “Chiết xuất và phân lập các hợp chất từ cao chloroform của lá cây Giác đế Đồng nai (*Goniothalamus donnaiensis*, Họ na Annonaceae)” được thực hiện với mục tiêu chiết xuất, phân lập, xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất từ phân đoạn chloroform.

2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Lá cây Giác đế đồng nai được thu hái tại huyện Vĩnh Cửu, tỉnh Đồng Nai vào tháng 11/2019. Mẫu được định danh bởi PGS. TS. Trương Thị Đẹp và lưu ở Khoa Dược trường Đại học Lạc Hồng với mã số GD112019.



Hình 1. Cây Giác đế Đồng nai

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất các cao phân đoạn

Dược liệu được làm sạch, phơi khô, xay bột thô. 2 kg bột khô dược liệu (1 mẫu) được chiết ngâm kiệt bằng cồn 70%. Bột dược liệu được làm ẩm với cồn 70% trong 2 tiếng sau đó nạp vào bình chiết, bổ sung dung môi cho ngập mặt dược liệu. Sau 10 tiếng bắt đầu rút dịch chiết (tốc độ 2 ml/phút). Rút tới khi kiểm tra dịch chiết không còn cặn trên phiến kính. Cồn dịch chiết thu được cao lỏng. Cao lỏng được làm lạnh để loại bớt chlorophyll. Dịch sau khi loại chlorophyll được cô đặc thu được cao toàn phần. Cao tổng được tách thành các phân đoạn có độ phân cực khác nhau bằng cách chiết phân bố lỏng – lỏng với các dung môi: *n*-hexan, chloroform (CF), ethyl acetat (EA). Loại dung môi để được các cao tương ứng: cao *n*-hexan, cao CF, cao EA, cao nước.

Phân lập các hợp chất

Sắc ký cột: pha tĩnh: silica gel pha thuận cỡ hạt 0,040 - 0,060 mm (Merck, Đức); pha động: *n*-hexan - chloroform - methanol (Chemsol, Việt nam) theo tỷ lệ phù hợp; thể tích hứng 100 ml.

Dung dịch rửa giải được kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM), gom các dung dịch giống nhau thành các phân đoạn. Loại bỏ dung môi các phân đoạn và để lạnh. Các phân đoạn có tủa sẽ được xử lý tách riêng tủa. Tinh chế tủa bằng phương pháp kết tinh trong các dung môi khác nhau để được hợp chất tinh khiết. Kiểm tra độ tinh khiết của các hợp chất bằng SKLM.

Xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập

Tiến hành xác định liệu phổ MS (ALIGENT 1100 MC-LSD Trap của Viện công nghệ hóa học), NMR (BRUKER-AV-500, tại phòng Cấu trúc – Viện hóa học – Viện hàn lâm khoa học công nghệ Việt Nam). Dựa trên dữ liệu phổ tiến hành biện

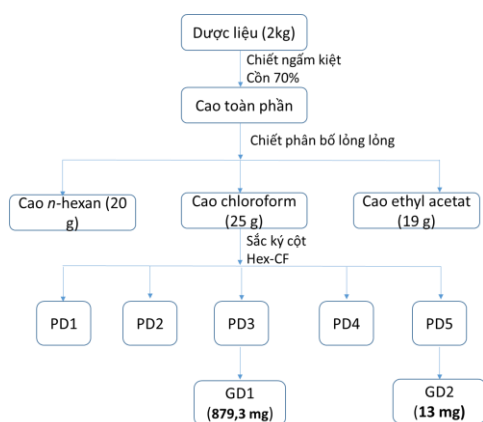
giải, so sánh với dữ liệu đã công bố để xác định cấu trúc các hợp chất phân lập.

3 Kết quả và bàn luận

3.1 Chiết xuất, phân lập các hợp chất

Từ 2 kg bột lá khô qua chiết xuất và tách phân đoạn thu được 20 g cao n-hexan, 25 g cao CF, 19 g cao EA.

20 g cao CF qua sắc kí cột với hệ dung môi pha động n-hexan-chloroform với tỷ lệ tăng dần thu được 5 phân đoạn (PD1-5). PD3 được cô bột dung môi, để bay hơi tự nhiên thu được kết tinh. Kết tinh lại nhiều trong dung môi methanol thu được kết tinh màu trắng, gọi là **GD1 (879,3 mg)**. PD5 thu được tủa có màu bông màu trắng. Tiến hành rửa lại trong dung môi CF-MeOH (2:8, v/v) nhiều lần. Kết quả thu được tủa bông màu trắng gọi là **GD2 (13 mg)**.



Hình 2. Sơ đồ tóm tắt quy trình phân lập các hợp chất từ lá Giác đề Đồng nai

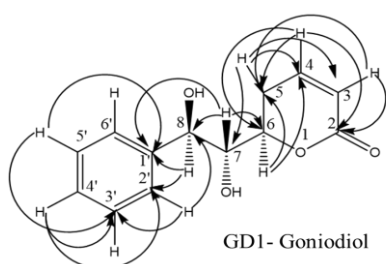
3.2 Xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập

Hợp chất GD1 có dạng tinh thể hình kim không màu, tắt quang ở UV 254, không phát quang ở UV 365, màu xám với thuốc thử vanilin-sulfuric (TTVS) **Phổ ESI-MS** m/z $[M + Na]^+ = 257,16$ tương ứng với $M = 234$ ứng với công thức phân tử $C_{13}H_{14}O_4$. **Phổ NMR:** Phổ ^{13}C -NMR có 11 tín hiệu, trong đó có 2 tín hiệu đối xứng nên GD1 có 13 carbon. 1 tín hiệu carbonyl $>C=O$ 166,8 ppm. 2 tín hiệu carbon methin $-CH<$ đối xứng 128,5;129,1 ppm cách nhau khoảng < 1 ppm nên dự đoán GD1 có 1 vòng thiom không có nhóm thế. 3 tín hiệu carbon methoxy $>HCO-$ δ_c 78,5; 76,2; 73,6. 1 tín hiệu carbon $-CH_2-$ δ_c 27,1. Tất cả carbon còn lại đều ở vùng trường thấp có độ dịch chuyển trên 100 ppm. Vậy GD-01 có 13 carbon: 1 carbon $C=O$, 1 vòng thiom không có nhóm thế. Cặp tín hiệu proton ghép cặp *cis* với hằng số ghép 10 Hz: 6,02 (1H, *ddd*, $J=10;3;1$ Hz, H-2) và 7,13 (1H, *ddd*, $J=9,5;6;2$ Hz, H-3) do đó GD1 có 1 nối đôi. Ngoài ra trên phổ HMBC, hai tín hiệu proton này đều tương tác với $>C=O$ 166,8 ppm và $-CH_2-$ 27,1 ppm, tín hiệu proton 7,13 ppm cho tương tác với carbon $>HCO-$ δ_c 78,5. Như vậy dự đoán GD-01 có 1 vòng lacton 6 cạnh. Từ tất các dữ liệu trên dự đoán GD1 là goniidiol. So sánh với dữ liệu phổ của GD1 và goniidiol trình bày ở bảng 1 [5]. Hai dữ liệu gần như trùng khớp, do đó dự đoán GD1 là goniidiol (Hình 1).

Bảng 1. So sánh dữ liệu phổ NMR của GD1 (MeOD) và goniidiol (CDCl₃)

C	DEPT	GD1 (MeOD; 125/500 MHz)			Goniidiol (CDCl ₃ ; 100/400 MHz) [8]	
		δ_c	δ_H , m, (J, Hz)	HMBC (\rightarrow C)	δ_c	δ_H , m, (J, Hz)
2	$>C=O$	166,8	–		163,8	–
3	$-CH=$	121,0	6,02 <i>dd</i> (10;3)	2,5	120,5	5,97 <i>dd</i> (10;2,4)
4	$-CH=$	149,0	7,13 <i>ddd</i> (9,5;6;2)	2,5,6	146,2	6,93 <i>ddd</i> (9,6;6,4;2)
5	$-CH_2-$	27,1	2,79 <i>m</i>	3,4,7	26,0	2,78 <i>tdd</i> (18,8;10,8;2)

C	DEPT	GD1 (MeOD; 125/500 MHz)			Goniodiol (CDCl ₃ ; 100/400 MHz) [8]		
		δ _c	δ _H , m, (J, Hz)	HMBC (→ C)	δ _c	δ _H , m, (J, Hz)	
			2,34 <i>ddd</i> (19;4;1)	3,4		2,19 <i>ddd</i> (18,4;6;4)	
6	>CH-	78,5	5,02 <i>ddd</i> (12,5;4;1,5)	4,5	76,8	4,78 <i>ddd</i> (11,6;3,6;2,4)	
7	>CH-	76,2	3,61 <i>dd</i> (9;1,5)	2,5,6,8,1'	75,0	3,71 <i>dd</i> (7,6;2,4)	
8	>CH-	73,6	4,79 <i>d</i> (9,5)	6,7,1',2'	73,6	4,93 <i>d</i> (7,2)	
1'	>C=	144,3	-		140,8	-	
2'/6'	>CH-	128,5	7,46 <i>m</i>	8,3'	128,2	7.32-7.43 <i>m</i>	
3'/5'	>CH-	129,1	7,36 <i>m</i>	1',3'/5'	128,7		
4'	>CH-	128,6	7,29 <i>m</i>	2',3'	126,6		
	-OH						



Hình 3. Công thức hóa học của hợp chất GD1

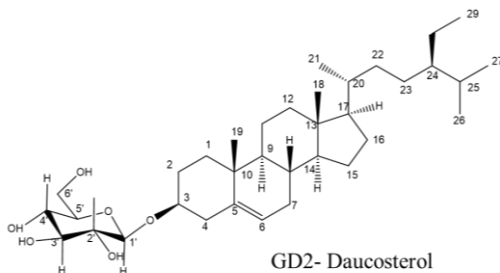
Hợp chất GD2 có dạng tựa vô định hình không tắt quang ở UV 254, không phát ở UV 365 cho màu tím với TTVS *Phổ MS* m/z [M-H]⁻ = 575,12, GD2 có số khối là 576. *Phổ NMR*: Trên phổ ¹³C-NMR có 35 tín hiệu carbon, tín hiệu của 1 carbon ở δ_c 101,3 và 5 tín hiệu trong vùng 60-80 ppm cho thấy sự hiện diện của một phân tử đường glucose. Các

tín hiệu ¹³C còn lại có những đặc điểm cấu trúc của steroid. Tín hiệu cộng hưởng ở δ_c 121,7 là tín hiệu đặc trưng của carbon olefinic C-6, tín hiệu ở δ_c 140,41 là tín hiệu đặc trưng của C-5 (C_{IV}). Trên phổ ¹H-NMR cho thấy các cộng hưởng ở δ_H trong vùng 0,65 – 0,99 ppm là tín hiệu của các nhóm methyl (-CH₃) trong phân tử. Căn cứ vào tính chất hóa lý và đặc điểm phổ ¹³C-NMR thì rất có thể DG2 là một sterol có gắn đường. So sánh phổ ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) của GD2 với ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) của của β-sitosterol-3-O-β-D-glucopyranosid [8] thì thấy dữ liệu trùng khớp. Vậy hợp chất GD2 là β-sitosterol-3-O-β-D-glucopyranosid (Daucosterol).

Bảng 2. So sánh dữ liệu phổ NMR của GD2 (DMSO-*d*₆, 500 MHz) và β-sitosterol-3-O-β-D-glucopyranosid (DMSO-*d*₆, 500 MHz)

GD2 (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 125MHz)						Daucosterol (DMSO- <i>d</i> ₆ , 125 MHz) [8]							
C	δ _c	C	δ _c	C	δ _c	C	δ _c	C	δ _c	C	δ _c	C	δ _c
1	36,7	10	36,0	19	19,4	28	23,1	1	36,1	19	18,8	28	22,5
2	31,9	11	21,1	20	37,3	29	12,3	2	31,3	20	36,7	29	11,9
3	77,2	12	39,5	21	19,1	1'	101,3	3	76,6	21	18,5	1'	100,7
4	38,8	13	42,3	22	33,8	2'	74,0	4	38,2	22	33,3	2'	73,4
5	140,9	14	56,7	23	26,0	3'	77,4	5	140,3	23	25,4	3'	76,9

GD2 (DMSO-d ₆ ; 125MHz)							Daucosterol (DMSO-d ₆ , 125 MHz) [8]						
6	121,7	15	24,3	24	45,6	4'	70,6	6	121,0	24	45,1	4'	70,0
7	31,9	16	28,3	25	29,2	5'	77,3	7	31,3	25	28,6	5'	76,7
8	30,0	17	55,9	26	19,6	6'	61,6	8	31,2	26	19,0	6'	61,0
9	50,1	18	12,2	27	20,2			9	49,5	27	19,6	28	19,6



Hình 4. Công thức hóa học của hợp chất GD2

Goniodiol thuộc nhóm hợp chất styryl – lacton, nhóm hợp chất đã được phân lập nhiều từ các loài thuộc chi *Goniothalamus* như *G. griffithii*, *G. tamirensis*, *G. cardiopetalus*, *G. marcanii*, *G. maewongensis* [1] và đã chứng minh có tác dụng gây độc tế bào ung thư cổ tử cung Hela [5], chống lại sự phát triển của cả 2 loại ung thư phổi (A549 và GLC4) thông qua cơ chế bắt giữ G2/M [9]. Daucosterol là một phytosterol đã được chứng minh có các tác dụng như: Chống ung thư, ức chế sự di chuyển và xâm lấn ở tế bào ung thư biểu mô đại tràng (HCT-116) [10], gây độc với tế bào ung thư vú (MCF-7) [11], tăng hoạt động miễn dịch chống lại *C. albicans* [12].

4 Kết luận

Từ 20 g cao CF thông qua quá trình phân lập và xác định được cấu trúc của hai hợp chất là goniodiol (879,3 mg) và daucosterol (13 mg). Hai hợp chất này lần đầu được báo cáo phân lập từ lá của loài Giác đế Đồng nai.

Tài liệu tham khảo

- Aslam MS, Ahmad MS, Mamat AS, Ahmad MZ, Salam F. *Goniothalamus*: Phytochemical and ethnobotanical review. *Recent advances in biology and Medicine*. 2016;2:34-47.
- Blázquez MA, Bermejo A, Zafra-Polo MC, Cortes D. Styryl-lactones from *Goniothalamus* species—A review. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*. 1999;10(4):161-70.
- Chi VV. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Hà Nội: NXB Y Học; 2018. 230,418 p.
- Jiang Z, Chen Y, Chen R-Y, Yu D-Q. Mono-tetrahydrofuran ring acetogenins from *Goniothalamus donnaiensis*. *Phytochemistry*. 1997;46(2):327-31.
- Thienthiti K, Tuchinda P, Wongnoppavich A, Anantachoke N, Soonthornchareonnon N. Cytotoxic effect of compounds isolated from *Goniothalamus marcanii* Craib stem barks. *Pharm Sci Asia*. 2017;44:86-95.
- Jiang Z, Chen R-Y, Chen Y, Yu D-Q. Two epimeric pairs of C-4-acetyl annonaceous acetogenins from *Goniothalamus donnaiensis*. *Planta medica*. 1998;64(04):362-6.
- Jiang Z, Chen Y, Chen R-Y, Yu D-Q. Linear acetogenins from *Goniothalamus donnaiensis*. *Phytochemistry*. 1998;49(3):769-75.
- Sheng Z, Dai H, Pan S, Wang H, Hu Y, Ma W. Isolation and characterization of an α -glucosidase inhibitor from *Musa* spp.(Baxijiao) flowers. *Molecules*. 2014;19(7):10563-73.
- Pradupsri P, Loetchutinat C, Nuntasaeen N, Meepowpan P, Tuntiwechapikul W, Pompimon W. Anticancer activities of styrylpyrone from the leaves and twigs of *Goniothalamus maewongensis* via cell

- cycle arrest. American Journal of Applied Sciences. 2009;6(12):2018-23.
10. Wang G-Q, Gu J-F, Gao Y-C, Dai Y-J. Daucosterol inhibits colon cancer growth by inducing apoptosis, inhibiting cell migration and invasion and targeting caspase signalling pathway. ||| Bangladesh Journal of Pharmacology. 2016;11(2):395-401.
 11. Esmaeili MA, Farimani MM. Inactivation of PI3K/Akt pathway and upregulation of PTEN gene are involved in daucosterol, isolated from *Salvia sahendica*, induced apoptosis in human breast adenocarcinoma cells. South African Journal of Botany. 2014;93:37-47.
 12. Lee J-H, Lee JY, Park JH, Jung HS, Kim JS, Kang SS, et al. Immunoregulatory activity by daucosterol, a β -sitosterol glycoside, induces protective Th1 immune response against disseminated *Candidiasis* in mice. Vaccine. 2007;25(19):3834-40.